

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. N. Roewer

**Wirkung organischer Lösungsmittel auf die Darmperistaltik.
Untersuchungen am Dünndarm von Meerschweinchen *in vitro***

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Anna Catrin Sara Welzholz

aus Lüdenscheid

Heusenstamm, Januar 2012

Referent: Herr Prof. Dr. med. Michael Herbert

Koreferenten: Herr Prof. Dr. rer.nat. Erhard Wischmeyer

Dekan: Herr Prof. Dr. med Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 4.02.2013

Die Promovendin ist Ärztin.

Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	9
2.1	Versuchsaufbau	9
2.2	Versuchsdurchführung	11
2.3	Substanzen	12
2.4	Versuchsreihen	13
2.4.1	Ethanol	14
2.4.2	Dimethylsulfoxid (DMSO)	16
2.4.3	Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)	16
2.4.4	Detergentien (SLS/CAPB am Bsp. von Pril®)	17
2.4.5	Effekt von Lösungsmitteln, Phtalaten und Detergentien auf die Wirkung von Midazolam und Fentanyl	17
2.5	Auswertung	19
2.5.1	Auswertungskriterien	19
2.5.2	Auswertungsschema	20
2.5.3	Statistik	21
3	Ergebnisse	22
3.1	Wirkung von Ethanol auf die Dünndarmperistaltik	22
3.1.1	Blockierung apaminsensitiver calciumaktivierter small conductance Kaliumkanäle	25
3.1.2	Antagonisierung von Opioidrezeptoren	26
3.1.3	Antagonisierung von CCK _A -Rezeptoren	26
3.1.4	Antagonisierung von CCK _B -Rezeptoren	27
3.1.5	Antagonisierung von GABA _A -Rezeptoren	27
3.2	Wirkung von DMSO auf die Dünndarmperistaltik	28

3.3	Wirkung von DEHP auf die Dünndarmperistaltik	28
3.4	Wirkung von Detergentien (SLS/CAPB) auf die Dünndarmperistaltik.....	29
3.4.1	Wirkung von SLS/CAPB bei extraserosaler Zugabe	29
3.4.2	Wirkung von SLS/CAPB bei endoluminaler Perfusion	30
3.5	Effekt von Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Wirkung von Midazolam	31
3.5.1	Vorbehandlung von extraserosal	31
3.5.2	Vorbehandlung von endoluminal	32
3.6	Effekt von Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Wirkung von Fentanyl	36
3.6.1	Vobehandlung von extraserosal	36
3.6.2	Vorbehandlung von endoluminal	37
4	Diskussion	40
5	Zusammenfassung	52
6	Literaturverzeichnis	54
7	Anhang	71
7.1	Auswertung der Hemmungen	71
7.2	Abbildungsverzeichnis	86
7.3	Tabellenverzeichnis	90
7.4	Substanznachweis	91

Abkürzungsverzeichnis

Aqua dest.	Aqua destillata
°C	Grad Celsius
μM	Mikromolar
Abb.	Abbildung
ACh	Acetylcholin
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
Bsp.	Beispiel
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CAPB	Cocamidopropylbetain
CCK	Cholecystokinin
d. h.	das heisst
DEHP	Di-(2-ethylhexyl)phthalat
DMSO	Dimethylsulfoxid
ENS	Enterisches Nervensystem
etc.	et cetera
Fa.	Firma
g	Gramm
GABA	γ-Aminobutyric acid (deutsch γ-Aminobuttersäure)
l	Liter
MEHP	Monoethylphthalat
min	Minuten
ml	Milliliter
mM	Millimolar
n	Anzahl; <i>hier</i> Anzahl untersuchter Segmente
NANC	non-adrenerg non-cholinerg
nM	Nanomolar
o. g.	oben genannte/r

Pa	Pascal
PC	personal computer
PPT	peristaltic pressure threshold (deutsch Schwellendruck)
PVC	Polyvinylchlorid
RfD	Referenzdosis
s.	siehe
SDS	Sodium Dodecyl Phosphate (deutsch Natriumdodecylphosphat)
SEM	standard error of the mean (deutsch Standardabweichung des Mittelwertes)
SLS	Sodium Lauryl Sulfate (deutsch Natriumlaurylsulfat)
TDI	tolerable daily intake (deutsch tolerierbare tägliche Einnahmedosis)
u.a.	unter anderem, und andere
vgl.	vergleiche
VIP	Vasoaktives intestinales Peptid
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Die Magen-Darm-Motilität weist bereits unter physiologischen Bedingungen eine große interindividuelle Variabilität auf. So gelten Stuhlentleerungen von einmal pro Tag bis hin zu einmal alle vier bis fünf Tage als normal. Diese Unterschiede können durch verschiedene Faktoren wie z. B. Nahrungszusammensetzung oder Gewohnheiten des Individuums beeinflusst werden (Herbert 2001).

Die Darmperistaltik wird durch das enterische Nervensystem (ENS) gesteuert und durch Dehnung der Darmwand ausgelöst. Das ENS ist mit über 10^8 Neuronen die größte Ansammlung von Nervenzellen außerhalb des zentralen Nervensystems (ZNS) (Schemann et al. 1999) und wurde bereits 1921 von Langley neben dem Sympathikus und Parasympathikus als ein eigenständiger Teil des autonomen Nervensystems beschrieben (Langley 1921). Es besteht aus afferenten (mechano- und/oder chemosensiblen) Neuronen, Interneuronen und Motoneuronen, welche in Abhängigkeit ihrer Funktion in den beiden Darmwandplexus, dem Plexus myentericus (Auerbach) zwischen Längs- und Ringmuskelschicht und dem Plexus submucosus (Meissner) zwischen Ringmuskelschicht und Darmmukosa, ein komplexes Netzwerk aufsteigender und absteigender sowie exzitatorischer und inhibitorischer Bahnen bilden. Die Neurone sind je nach Funktion und Lokalisation cholinerg, adrenerg oder non-adrenerg non-cholinerg (NANC), d. h. hier dienen weder Acetylcholin (ACh) noch Katecholamine, sondern Peptide wie Substanz P, vasoaktives intestinales Peptid (VIP), endogene Opiode (Enkephaline und Dynorphin) oder Stickstoffmonoxid (NO) als Transmitter. Ein Neuron kann mehrere dieser Transmitter in unterschiedlichen Kombinationen produzieren. Dadurch sind die Nervenzellen des ENS nicht nur elektrophysiologisch durch die Art des Aktionspotentials in Form von sogenannten IPSPs (inhibitorische postsynaptische Potentiale) und schnellen und langsamen EPSPs (exzitatorische postsynaptische Potentiale) charakterisiert, sondern auch durch ein chemisches Muster an Transmittern kodiert (Schemann et al. 1999). Alle

diese Faktoren stehen in einem sensiblen Gleichgewicht zueinander, dessen Ausgewogenheit für eine ungestörte Darmmotilität unverzichtbar ist.

Daher ist es verständlich, dass ein solch komplexes System durch zahlreiche exo- wie endogene Einflüsse beeinträchtigt werden kann. Dies kann sich sowohl in einer Motilitätssteigerung als auch in einer Abnahme der Motilität bis hin zu einer kompletten Hemmung der Peristaltik äußern. Die Liste möglicher Ursachen ist lang. Exemplarisch wären internistische Grunderkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus (diabetische autonome Neuropathie), Traumata jeglicher Art (chirurgische, ischämische, akzidentelle u. a.), angeborene Erkrankungen wie Morbus Hirschsprung, prädisponierende und allgemeine Faktoren sowie Medikamente zu nennen (Herbert 2001). In der Anästhesie von besonderer Bedeutung sind neben der pharmakologischen Beeinflussbarkeit der Darmtätigkeit auch die Magen-Darm-Atonie des Intensivpatienten und der postoperative paralytische Ileus. Letzterer tritt vor allem nach abdominalchirurgischen, aber auch nach retroperitonealen und extraabdominellen Eingriffen auf (Holte et al. 2000) und kann den gesamten Gastrointestinaltrakt betreffen. Abgesehen von einer durch chirurgische Manipulation ausgelösten Störung der Darmtätigkeit ist der Intensivpatient einer Vielzahl anderer Störfaktoren ausgesetzt, die eine Atonie des Magen-Darm-Traktes bewirken können. Dazu zählen u.a. die maschinelle Beatmung, Kreislaufinstabilitäten und Katecholaminpflichtigkeit, Elektrolytentgleisungen, Hypervolämie, Analgosedierung und therapeutisch eingesetzte Medikamente (Fruhwald et al. 2008). Besonders hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang die ausgeprägte inhibitorische Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität durch Opioide (De Luca et al. 1996; Kurz et al. 2003; De Schepper et al. 2004; Mehendale et al. 2006). Folge der gestörten Magen-Darm-Motilität können eine erhöhte Morbidität und Mortalität sein, da es durch eine gehemmte Peristaltik zu einer bakteriellen Überwucherung des Darmes mit anschließender bakterieller Translokation über die Darmwand in Lymphe und Blut kommen kann. Dies wiederum kann zu einer Sepsis und konsekutiv schlimmstenfalls zu einem Multiorganversagen führen.

Oben genannte Faktoren sind seit längerem Bestandteil klinischer und experimenteller Untersuchungen. Es stellte sich die Frage, ob auch Substanzen, die nicht *per se* als therapeutisches Agens verabreicht werden, aber dennoch zur Verabreichung von Medikamenten benötigt werden und/oder dabei nicht gemieden werden können, die Darmmotilität beeinflussen. Alle Substanzen und Infusionen werden in der Intensivmedizin über bisweilen lange und vielzählige PVC-haltige Perfusor- und Infusionsleitungen verabreicht. Zudem werden Infusionen heute fast immer in Plastikbehältnissen angeboten und gelagert. All diese Kunststoffmaterialien enthalten Phthalate als Weichmacher, die von den Kunststoffen kontinuierlich in die Umgebung und die verabreichten Lösungen abgegeben werden. Deren Wirkung auf die Darmmotilität ist ebenso unbekannt wie die von Detergentien. Letztere werden aus Gründen der Hygiene und der erwünschten Reinigungskraft in großem Maße in der Intensivmedizin eingesetzt und/oder befinden sich als Rückstände auf vielen medizinischen Gebrauchsgegenständen. Desweiteren gilt in *in vitro*-Experimenten mit Organpräparaten die Gepflogenheit, dass die Organbäder und Laborgläser nicht mit Detergentien gereinigt werden sollen oder zumindest ausgiebig mit Aqua dest. nachgespült werden, da Interaktionen von Detergentien mit den Organpräparaten befürchtet werden.

Im Fokus unserer Untersuchungen bezüglich organischer Lösungsmittel, die als Vehikel für schlechtlösliche Substanzen verwendet werden, standen Ethanol und Dimethylsulfoxid (DMSO).

Ethanol (C_2H_5OH), auch Ethylalkohol genannt, aus der Gruppe der aliphatischen Alkohole, entsteht aus der Vergärung von Mono-, Di- und Polysacchariden und ist das psychoaktive Agens alkoholischer Getränke (Pohorecky et al. 1988). Er wird im Körper durch Diffusion vollständig resorbiert und verteilt sich dann im gesamten Körperwasser einschließlich des ZNS, wo es seine berauschende, aber auch toxische Wirkung entfalten kann. Die molekularen Wirkmechanismen sind noch weitgehend unklar. Es konnte gezeigt werden, dass Ethanol $GABA_A$ -Rezeptoren (γ -Aminobuttersäure) stimuliert und neuronale Nikotinrezeptoren des Typs $\alpha_4\beta_2$ aktiviert. Darüber hinaus hemmt es NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat) und Kainatrezeptoren (Aktories et al. 2005).

Insgesamt sind die peripheren, systemischen Wirkungen sehr vielfältig und betreffen das Herz-Kreislauf-System, den Elektrolyt- und Wasserhaushalt, das respiratorische System sowie den Energiestoffwechsel. Dabei werden verschiedene Neurotransmittersysteme wie z. B. ACh, Monoamine und Neuropeptide, aber auch die Zellmembran, spannungsregulierte Ionenkanäle und second messenger-Systeme beeinträchtigt (Faingold et al. 1998). Die derzeitige Forschung befasst sich in dieser Hinsicht vor allem mit den Einflüssen von Ethanol auf die Bluthirnschranke und den Hirnstoffwechsel, die Mukosa des Gastrointestinaltraktes, die Temperaturregulation und den Glucosestoffwechsel. Neben seiner Rolle als Genussmittel dient Ethanol als Lösemittel schlecht- bis nicht wasser- oder salzlöslicher Substanzen und ist das am häufigsten gebrauchte Vehikel (Castro et al. 1995). Außerdem wirkt es hochkonzentriert fettlösend und keimtötend und findet so Gebrauch als Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

Dimethylsulfoxid (DMSO, C_2H_6OS) ist eine klare, geruchlose Flüssigkeit. Als amphiphatisches Molekül, das aufgrund seiner zwei unpolaren Methylgruppen und seiner hochpolaren Domäne sowohl in wässrigen als auch in organischen Medien löslich ist (Santos et al. 2003), dient es als Lösungsmittel für wasserunlösliche Substanzen. Einst ein Nebenprodukt der Holz- und Papierindustrie, findet es heutzutage sowohl in der Industrie als auch in den Naturwissenschaften eine breite Anwendung. Es kann Wasserstoffbrückenbindungen zerstören, Hydroxylradikale binden und verfügt über zahlreiche biologische, intra- wie extrazelluläre Wirkungen. Hierzu zählen die Stimulation der Zelldifferenzierung, die intrazelluläre elektrische Entkopplung und die intrazelluläre Cholesterolemobilisation (Santos et al. 2003). In der Medizin wird es als Vehikel, das die Absorption anderer Substanzen über Zellmembranen beschleunigt und somit deren Bioverfügbarkeit erhöht (Pestel et al. 2006), aber auch als eigenständiges Therapeutikum verwendet. Die Anwendungsgebiete dabei sind vielfältig, meist topischer, aber auch enteraler und parenteraler Natur. Bereits in den 1980er Jahren wurde es zur analgetischen und antiinflammatorischen Therapie rheumatoider Erkrankungen verwendet. Aufgrund seiner vielfältigen Wirkungsmechanismen können auch

zahlreiche Nebenwirkungen auftreten, die u.a. auch den Gastrointestinaltrakt betreffen (Jacob et al. 1986).

Neben diesen beiden schenken wir in der vorliegenden Arbeit den Phthalaten als ubiquitär vorkommende Kunststoffweichmacher besondere Aufmerksamkeit. Als Agens dieser Gruppe diente uns das am häufigsten verwendete Phthalat Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP).

Der Phthalatester **Di-(2-ethylhexyl)phthalat** (DEHP, $C_{24}H_{38}O_4$) ist das im Produktionsgebrauch wichtigste und im Hinblick auf sein ubiquitäres Vorkommen und seiner von allen Phthalaten größten endokrinologisch modulierenden Potenz bedeutendste Phthalat (Koch et al. 2003). Es findet sich als Weichmacher in den meisten Polyvinylchlorid(PVC)-Produkten wie Baustoffen, Beschichtungen, Elektrokabeln, Verpackungsmaterialien und Spielzeug. Außerdem dient es als industrielles Löse- und Schmiermittel und ist Bestandteil von Farben und Lacken sowie Kosmetika (Koch et al. 2003; Wittassek et al. 2007b). Im medizinischen Bereich ist es in der magensaftresistenten Beschichtung von Tabletten und in Anteilen von 10-80% vor allem in Verpackungen von Flüssigkeiten wie Blutkonserven und Ernährungsbeuteln, in Infusionsschläuchen, Dialyse- und Kathetermaterialien anzutreffen (Tickner et al. 2001; Green 2002; Wittassek et al. 2007b). Aufgrund seiner nicht kovalenten Bindung an PVC und seiner lipophilen aliphatischen Seitenketten kann es leicht in die PVC-umgebenden Medien, wie Flüssigkeiten und Nahrung abdiffundieren. Dadurch kommt es, wie schon in mehreren Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen nachgewiesen werden konnte, zu einer allgegenwärtigen DEHP-Exposition der Bevölkerung, wobei die toxikologisch relevanten Grenzwerte je nach Studienlage variieren. Koch und Kollegen (2006) gingen in ihren Untersuchungen von einem NOAEL (no observed adverse effect level, d. h. Dosis, bei der gerade noch kein Effekt beobachtet wird (Aktories et al. 2005)) von 4,8 mg/kg Körpergewicht/Tag, einer TDI (tolerable daily intake; synonym ADI, acceptable daily intake, entsprechend einer lebenslang tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge ohne Auftreten schädlicher Effekte (Aktories et al. 2005)) von 20-48 µg/kg Körpergewicht/Tag und einer Referenzdosis (RfD, d. h. einer Substanzmenge, die ein- oder

mehrmals ohne erkennbares Gesundheitsrisiko aufgenommen werden kann (Aktories et al. 2005)) von 20 µg/kg Körpergewicht/Tag aus (Koch et al. 2006). In Untersuchungen der Nürnberger Arbeitsgruppe um Koch stellte sich heraus, dass die deutsche Bevölkerung in ihrer DEHP-Exposition die TDI und RfD häufig überschreiten und Berechnungen zufolge täglich 13,8 µg/kg Körpergewicht/Tag aufnimmt (Koch et al. 2003). Darüber hinaus sind Hämodialysepatienten sowie Früh- und Neugeborene bei intensivmedizinischer Therapie überdurchschnittlich hohen Dosen von DEHP ausgesetzt (Tickner et al. 2001). Gleichzeitig zeigte sich in einer weiteren Untersuchung aber auch, dass Kinder in der Mehrheit Dosen unterhalb der TDI und RfD exponiert sind. Hierbei sind Jungen mehr als Mädchen und jüngere mehr als ältere Kinder betroffen (Wittassek et al. 2007a). Die toxischen Wirkungen von DEHP sind vielfältig, meist aber nur durch Tierversuche belegt, und können die Sexualorgane, Niere, Lunge, Leber und Herz sowie die intrauterine Fruchtentwicklung und die Kanzerogenese betreffen. Besonders eingehend wurden im Tiermodell die schädigenden Einflüsse auf die Reproduktionsorgane und die fetale Entwicklung untersucht. Beim Menschen wurden lungen- und lebertoxische Wirkungen von DEHP beschrieben (Ganning et al. 1984; Ganning et al. 1987; Roth et al. 1988). Die Toxizität geht nicht nur von DEHP, sondern auch von seinen Metaboliten aus. Hier spielt u.a. das erste Abbauprodukt von DEHP, das Monoethylhexylphthalat (MEHP), das im Darm durch enzymatische Hydrolyse von DEHP gebildet wird, eine wichtige Rolle (Tickner et al. 2001; Koch et al. 2006).

Unter einem eher experimentellen Gesichtspunkt untersuchten wir zuletzt auch die Wirkung von Detergentien auf die Darmperistaltik. Nachdem es eine Art „ungeschriebenes Gesetz“ ist, Organbäder und Laborgläser für *in vitro*-Untersuchungen an Organpräparaten nicht mit Detergentien zu reinigen, interessierte uns, ob diese in der Tat eine Auswirkung auf die Funktion der Präparation haben. Da diese häufig als Gemische vorliegen, diente uns als Untersuchungssubstanz die Verdünnung eines herkömmlichen Spülmittels (Prii[®] der Fa. Henkel).

Die fettlösende Wirkung von Spülmitteln wie Pril Original® der Firma Henkel wird von sogenannten Detergentien vermittelt. **Detergentien**, synonym Tenside oder Surfactants, sind waschaktive Substanzen, welche aus Schaum bildenden, netzend und dispergierend wirkenden organischen Verbindungen bestehen (dtv-Lexikon 1990). Die Moleküle bestehen aus einem lipophilen Schwanz- und einem hydrophilen Kopfteil, wodurch sie in der Lage sind, mit polaren, geladenen und unpolaren, ungeladenen Strukturen anderer Moleküle zu interagieren und somit die Oberflächenbeschaffenheiten, wie z. B. die Oberflächenspannung von Wasser, und die Löslichkeiten ihrer Reaktionspartner zu verändern (Cserhati et al. 2002). In Abhängigkeit der chemischen Struktur dieser Kopfgruppe lassen sich Tenside in vier Haupttypen einteilen (anionische, kationische, amphoterische und nicht-ionogene). Bei den in Pril® enthaltenden Detergentien handelt es sich um das anionische Natrium-Lauryl-Sulfat (**SLS**, Sodium Lauryl Sulfate; $C_{12}H_{25}NaO_4S$) und das amphoterische Cocamidopropylbetain (**CAPB**; $C_{19}H_{38}N_2O_3$) (Henkel 2009). Während SLS zu den primären synthetischen Detergentien zählt, die in den 1940er und 1950er Jahren als neue schäumende Reinigungsmittel entwickelt wurden und zunächst hauptsächlich in Körperreinigungsprodukten Verwendung fanden (Wolf et al. 2001), ist CAPB eines der wichtigsten sekundären, d. h. aus den primären Basisdetergentien weiterentwickelten Surfactants (Leidreiter et al. 1997). Eine Kombination der beiden o. g. Substanzen in Seifen, Shampoos, Reinigungsmitteln etc. vermindert das Potential dieser Produkte zu Hautirritationen und -austrocknung und erhöht deren Mildheitsgrad (Wolf et al. 2001). Neben ihrer Verwendung als Bestandteil von Reinigungsmitteln sind sie weit verbreitet in Technik und Forschung und somit in landwirtschaftlichen und in pharmazeutischen Verbindungen, aber auch als Kontaminanten in der Umwelt zu finden. Aufgrund ihres amphoterischen Charakters, durch den diese Tenside abhängig von ihren Reaktionspartnern als Säure (Protonendonator) oder als Base (Protonenakzeptor) reagieren können, verfügen sie durch die Bindung bioaktiver Makromoleküle, wie Proteine und Peptide, Enzyme und Dinukleotidsäuren (DNA, Dinucleotideacid) über ein ausgeprägtes Potential zu biologischer Aktivität (Cserhati et al. 2002).

Das Ziel dieser Arbeit war, die Wirkung o.g. organischer Lösungsmittel, Kunststoffweichmacher und Detergentien *per se* auf die Dünndarmperistaltik zu untersuchen. Dazu untersuchten wir mittels eines etablierten *in vitro*-Modells an Meerschweinchendärmen die Wirkung von Ethanol, DMSO, DEHP und SLS/CAPB auf die Darmtätigkeit. Ferner untersuchten wir, inwieweit diese Substanzen die peristaltikhemmende Wirkung der in der Intensivmedizin häufig eingesetzten Pharmaka zur Analgesie (Fentanyl) und Sedierung (Midazolam) beeinflussen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

Zur Untersuchung der Darmperistaltik wurden Dünndarmsegmente männlicher und weiblicher, erwachsener Meerschweinchen (Charles River, Sulzfeld, Stamm Hartley) mit einem Körpergewicht zwischen 377 und 576 g verwendet. Nach Tötung der Tiere durch Genickschlag und Ausbluten mittels Eröffnung der Carotiden erfolgte die Darmentnahme. Hierzu wurde das Peritoneum eröffnet und zunächst der ileozökale Übergang aufgesucht. Circa zehn Zentimeter proximal des Caecums wurde der Darm dann durch einen Faden abgeschnürt und aboral davon durchtrennt. Diese Markierung sollte später ein korrektes Einbringen der Darmsegmente im Organbad gewährleisten. Von dort aus wurde der gesamte Dünndarm in oraler Richtung bis zum Übergang in den Magen vorsichtig vom Mesenterium abpräpariert. Der so vollständig aus dem Situs herausgelöste Darm wurde bis zu seiner Verwendung bei Zimmertemperatur in oxygenierter Tyrodelösung (begast mit 95% Sauerstoff (O₂) und 5% Kohlendioxid (CO₂)) aufbewahrt. Die Lösung setzte sich zusammen aus Natriumchlorid (NaCl) 136,9 mM, Kaliumchlorid (KCl) 2,7 mM, Calciumchlorid (CaCl₂) 1,8 mM, Magnesiumchlorid (MgCl₂) 1,0 mM, Natriumhydrogencarbonat (NaHCO₃) 11,9 mM, Natriumdihydrogenphosphat (NaH₂PO₄) 0,4 mM und Glucose 5,6 mM (Herbert et al. 2002).

Die Untersuchung der Peristaltik erfolgte an etwa acht bis zehn Zentimeter langen Darmsegmenten. Diese wurden so in die Versuchsanordnung eingespannt, dass das orale Ende mit einem Tyrodezufuss und das aborale Ende über ein Y-Stück sowohl mit einem Druckabnehmer als auch mit einem Abfluss verbunden war (Abb. 1). So konnte das Darmsegment mit Hilfe einer Pumpe zwischen Tyrodebehältnis und Organbad kontinuierlich mit auf 37°C vorgewärmter Tyrodelösung (0,5 ml min⁻¹) perfundiert werden. Da sich das Abflussröhrchen vier Zentimeter über dem Niveau des Darmsegmentes befand, füllte sich das Darmlumen zunehmend gegen den Widerstand dieser

Wassersäule, die einem Druck von 400 Pa entsprach. Erst nach Überschreiten eines Schwellendrucks (PPT, peristaltic pressure threshold) wurde die peristaltische Welle ausgelöst (Abb. 2) und der Darm über den Abfluss entleert. Die Registrierung der intraluminalen Druckänderungen erfolgte über den Druckaufnehmer (Combitrans der Fa. Braun) in einem PC (personal computer) und einem Sechs-Kanal-Schreiber (Multi-Pen-Recorder, Fa. Rikadenki). Die verwendete Versuchsanordnung erlaubte die parallele Untersuchung und Aufzeichnung von fünf Organbädern gleichzeitig.

Die Exposition des Darmes mit den zu untersuchenden Substanzen erfolgte zum einen extraserosal durch Zugabe der Substanz zum Organbad (30 ml ebenfalls 37°C warmer, oxygenierter Tyrodelösung), wobei die zugegebene Menge 1 % des Badvolumens nicht überschreiten sollte. Zum anderen konnte sie auch von endoluminal mittels Perfusion von mit dem entsprechenden Wirkstoff versetzter Tyrodelösung durchgeführt werden (Herbert et al. 2002; Herbert et al. 2005).

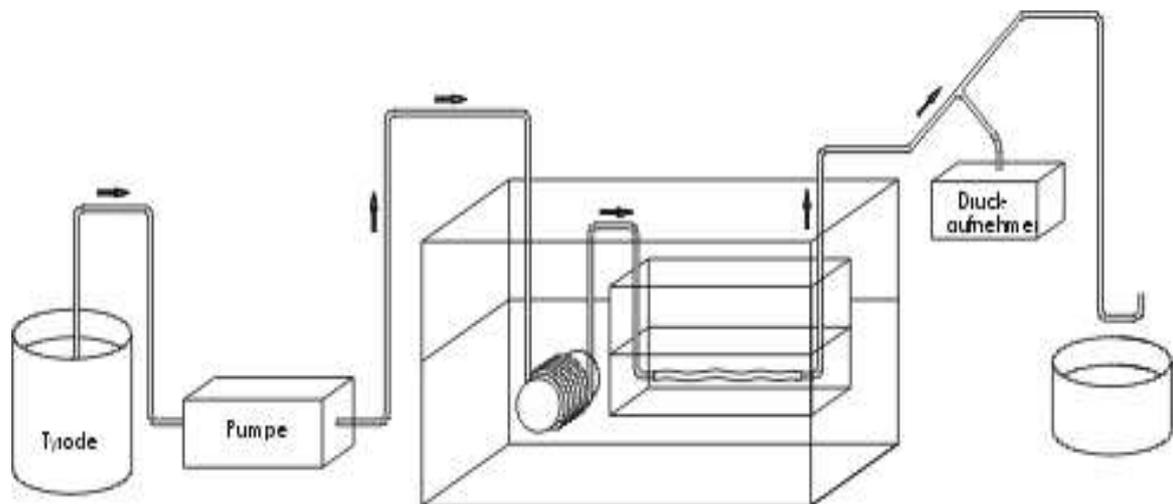


Abb. 1 Versuchsaufbau: In einem großen Wasserbecken, das auf 37°C aufgewärmt ist, befindet sich ein kleineres Becken, das mit 30 ml Tyrodelösung gefüllt ist und welches von dem umgebenden, 37°C warmen Wasser ebenfalls auf diese Temperatur erwärmt wird. In diesem kleinen Becken befindet sich das präparierte Darmsegment, welches zwischen zwei Glasröhrchen gespannt ist und mit Hilfe der Pumpe in physiologischer Flussrichtung (→) mit Tyrodelösung perfundiert wird. Ein Druckaufnehmer, der im Abtropfschenkel zwischengeschaltet ist, zeichnet die Druckverhältnisse im Darm auf.

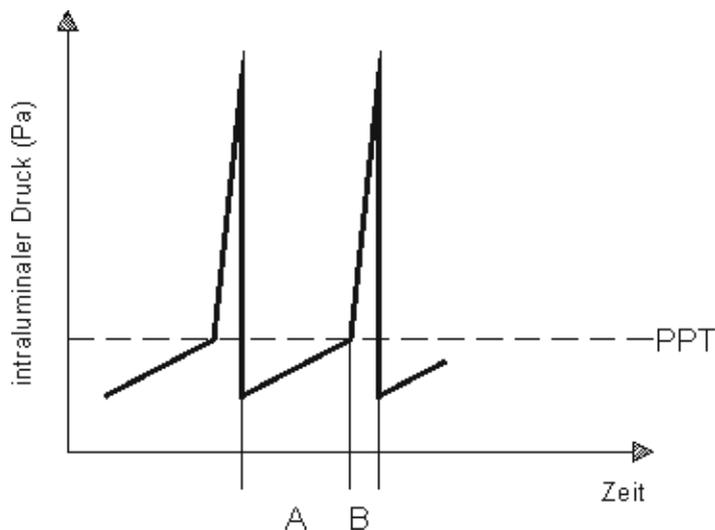


Abb. 2 Schematische Darstellung der intraluminalen Druckverhältnisse während peristaltischer Kontraktionen. Das Darmlumen wird mit Hilfe der Pumpe kontinuierlich mit Tyrodelösung gefüllt, was den intraluminalen Druck langsam ansteigen lässt (A). Erreicht der Druck im Laufe dieser präparatorischen Phase einen gewissen Schwellenwert (PPT, peristaltic pressure threshold), wird eine Darmkontraktion ausgelöst. Diese bewirkt einen spikeartigen Anstieg des Druckes im Darmlumen, welcher nach kurzer Zeit wieder auf den Ausgangswert zurückfällt (B).

2.2 Versuchsdurchführung

Auf das oben beschriebene Befestigen des Darmsegmentes folgte eine 30-minütige Äquilibrationsphase, die der Anpassung des Darmes an die Untersuchungsbedingungen diente. Dazu ruhte das Segment zunächst für zehn Minuten unperfundiert im Organbad, woraufhin es einmal gespült wurde und erneut zehn Minuten ruhte. Anschließend wurde mit der Perfusion begonnen, die für zehn Minuten ohne weitere Manipulationen durchgeführt wurde und der sich ein Wechsel der Badflüssigkeit anschloss. Erst jetzt wurde das Niveau des Abflussröhrchens, das sich zuvor auf Höhe des Darmsegmentes befand, auf vier Zentimeter angehoben und mit der Registrierung der Darmtätigkeit durch den PC und den Flachbettschreiber begonnen. In den folgenden 30 Minuten konnte sich der Darm an die neuen Perfusionsbedingungen gewöhnen.

Eine Substanzzugabe erfolgte jeweils am Ende einer Darmentleerung und erst dann, wenn für einen Vorlauf von etwa sechs bis zehn Kontraktionen eine

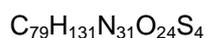
regelrechte peristaltische Aktivität vorlag. Letztere war durch eine konstante Frequenz der Darmkontraktionen von mindestens einer pro zwei Minuten und der Regelmäßigkeit des Schwellendruckes sowie des intraluminalen Druckes nach Darmentleerung (Wendepunkt der Kurve, Abb. 2) charakterisiert. Die Wirkung der Substanzen wurde an jeweils mindestens sechs Segmenten unterschiedlicher Meerschweinchen und Dünndarmregionen untersucht.

Nach Ablauf des Beobachtungsintervalls wurde die Perfusion beendet, der Abtropfschenkel abgeklemmt und der Darm distal durchtrennt, so dass der Abtropfschenkel in direkter Verbindung zum Organbad stand. Der so registrierte Druck entsprach dem Druck auf Dünndarzebene und diente als Nullwert. Anschließend wurde der Hauptabflussschenkel abgeklemmt, das Abflussröhrchen mit Wasser aufgefüllt und erneut der Druck, nun vier Zentimeter Wassersäule beziehungsweise 400 Pa entsprechend, registriert. Aufgrund dieser Kalibrierung wurde es möglich, die von dem Rikadenki-Schreiber graphisch aufgezeichneten und in Millimeter (mm) ausgemessenen Daten in Druckwerte in Pa umzurechnen.

2.3 Substanzen

Bei den verwendeten Versuchszugriffen handelt es sich um die unten aufgeführten Substanzen. Aufgeführt sind weiterhin die zugehörigen Wirkmechanismen. Zur näheren Beschreibung von Ethanol, DMSO, DEHP und SLS/CAPB s. Einleitung. Die genaue Zusammensetzung von Pril Original® sowie die Bezugsquellen der Substanzen finden sich im Anhang (Kapitel 7.2).

Apamin



Octapeptidgeres Bienengift (Habermann et al. 1965), Inhibitor apaminsensitiver, calciumaktivierter small conductance (SK) Kaliumkanäle (Hugues et al. 1982). Small conductance Kaliumkanäle sind eine Untergruppe calciumaktivierter Kaliumkanäle, die nur über einen, kleinen (small) Kanal zur Ausbildung ihrer Kaliumleitfähigkeit (conductance) verfügen.

Bicucullin

(6*R*)-6-[(5*S*)-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydro[1,3]dioxolo[4,5-*g*]isoquinolin-5-yl]furo[3,4-*e*][1,3]benzodioxol-8(6*H*)-one; C₂₀H₁₇NO₆

kompetitiver GABA_A-Rezeptorantagonist (Olsen et al. 1976)

Fentanyl

N-(1-(2-phenethyl)-4-piperidiny)-*N*-phenylpropanamid; C₂₂H₂₈N₂O

Reiner Agonist an μ-Opioidrezeptoren (Aktories et al. 2005)

Lorglumid (CR 1409)

N²-(3,4-dichlorobenzoyl)-*N,N*-dipentyl-α-glutamine; C₂₂H₃₂Cl₂N₂O₄

Kompetitiver Cholecystkinin (CCK_A)-Rezeptorantagonist (Makovec et al. 1985)

Midazolam (Ro 21-3981)

8-chloro-6-(2-fluorophenyl)-1-methyl-4*H*-imidazo[1,5-*a*]-[1,4]benzodiazepine; C₁₈H₁₃ClFN₃

Imidazobenzodiazepinderivat (Walser et al. 1978), Benzodiazepinrezeptor (GABA_A)-Rezeptoragonist (Amrein et al. 1988)

Naloxon (N-allylnoroxymorphone)

(1*S*-5*R*-13*R*-17*S*)-10,17-dihydroxy-4-(prop-2-en-1-yl)-12-oxa-4-

azapentacyclo[9.6.1.0^{1,13}.0^{5,17}.0^{7,18}]octadeca-7(18),8,10-trien-14-one; C₁₉H₂₁NO₄

Reiner Antagonist an Opioidrezeptoren (μ-, δ- und κ-Rezeptoren), (Aktories et al. 2005)

YM 022

1-(3-methylphenyl)-3-[(3*R*)-1-[2-(2-methylphenyl)-2-oxyethyl]-2-oxo-5-phenyl-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-yl]urea; C₃₂H₂₈N₄O₃

Kompetitiver, selektiver Gastrin/CCK_B-Rezeptorantagonist (Nishida et al. 1994)

2.4 Versuchsreihen

Die zu untersuchenden Substanzen waren die in der Einleitung bereits näher beschriebenen Lösemittel Ethanol und DMSO, der Kunststoffweichmacher

DEHP und Detergentien am Bsp. eines Gemisches von Natrium-Lauryl-Sulfat (SLS) und Cocamidopropylbetain (CAPB) in Form von Pril®.

Die beiden grundlegende Methoden, die Wirksamkeit dieser Substanzen auf die Dünndarmperistaltik zu ermitteln, bestanden zum einen darin, die Stoffe entweder ins Organbad zu pipettieren oder per Perfusion ins Darmlumen zu transportieren. Zum anderen wurden die Wirkstoffe sowohl in ihrer originären Wirksamkeit, also ohne Zugabe anderer Stoffe, geprüft als auch in Kombination mit anderen Substanzen, um die Wirkmechanismen durch Stimulation oder Blockierung bekannter Transduktionswege näher zu untersuchen. So ergaben sich die im Folgenden aufgeführten Versuchsreihen. Die Konzentrationsangaben der Substanzen beziehen sich auf die Substanzkonzentration im Organbad (extraserosal) bzw. in der perfundierten Tyrodelösung (endoluminal).

2.4.1 Ethanol

Die Wirkung von Ethanol auf die Peristaltik wurde in den extraserosalen Konzentrationen 0,1 %, 0,3 % und 1 % über einen Zeitraum von 120 Minuten beobachtet (Tab. 1a).

Zusätzlich erfolgten Testungen in Kombinationen mit 500 nM Apamin, 500 nM Naloxon, 3 M Lorglumid, 1 µM YM 022 sowie 10 µM Bicucullin. Hierfür wurden die Segmente jeweils 20 Minuten durch Zugabe o. g. Substanzen zum Organbad vorbehandelt und anschließend 0,3 % bzw. 1 % Ethanol dem Organbad zugeführt und die Peristaltik für weitere 60 Minuten beobachtet (Tab. 1b).

Tab. 1a

<i>Vorlauf*</i>	<i>120 min</i>	<i>n**</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	11
Tyrodelösung	Ethanol 0,1 %	10
Tyrodelösung	Ethanol 0,3 %	9
Tyrodelösung	Ethanol 1 %	10

* Der hier und in den Folgetabellen genannte Vorlauf bezieht sich auf die letzten sechs bis zehn Kontraktionen vor dem Beginn eines Versuches. Dieser erfolgte stets mit Tyrodelösung.

** n entspricht der Anzahl untersuchter Segmente

Tab. 1b

<i>Vorlauf</i>	<i>20 min</i>	<i>60 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	0,3 % Ethanol	12
Tyrodelösung	500 nM Apamin	0,3 % Ethanol	7
Tyrodelösung	500 nM Naloxon	0,3 % Ethanol	6
Tyrodelösung	Tyrodelösung	0,3 % Ethanol	6
Tyrodelösung	3 µM Lorglumid	0,3 % Ethanol	6
Tyrodelösung	1 µM YM 022	0,3 % Ethanol	9
Tyrodelösung	10 µM Bicucullin	0,3 % Ethanol	6
<i>Vorlauf</i>	<i>20 min</i>	<i>60 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	1 % Ethanol	15
Tyrodelösung	500 nM Apamin	1 % Ethanol	8
Tyrodelösung	500 nM Naloxon	1 % Ethanol	7
Tyrodelösung	Tyrodelösung	1 % Ethanol	6
Tyrodelösung	3 µM Lorglumid	1 % Ethanol	6
Tyrodelösung	1 µM YM 022	1 % Ethanol	9
Tyrodelösung	10 µM Bicucullin	1 % Ethanol	6

2.4.2 DMSO

Die Wirkung von DMSO auf die Peristaltik wurde in den Konzentrationen 0,1 %, 0,3 % und 1 % untersucht (Beobachtungszeitraum 120 Minuten, Tab. 2).

Tab. 2

<i>Vorlauf</i>	<i>120 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	6
Tyrodelösung	DMSO 0,1 %	9
Tyrodelösung	DMSO 0,3 %	7
Tyrodelösung	DMSO 1 %	7

2.4.3 DEHP

Die Wirkung von DEHP auf die Peristaltik wurde zunächst in den Konzentrationen 0,1 mM und 1 mM nach extraserosaler Substanzzugabe untersucht. Die Beobachtungszeit betrug 120 Minuten. DEHP war entweder in 0,1 % Ethanol oder in 0,1 % DMSO gelöst (Tab. 3).

Tab. 3

<i>Vorlauf</i>	<i>120 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	11
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	7
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	7
Tyrodelösung	1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	7
Tyrodelösung	1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	6

2.4.4 Detergentien (SLS/CAPB am Bsp. von Pril®)

Der Effekt von Detergentien am Bsp. des Detergentiengemisches Pril® aus SLS (Natrium-Lauryl-Sulfat) und CAPB (Cocamidopropylbetain) auf die Peristaltik wurde über 60 Minuten in den extraserosalen Verdünnungen 10^{-5} , 3×10^{-5} und 10^{-4} registriert (Tab. 4).

Tab. 4

<i>Vorlauf</i>	<i>60 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	7
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10^{-5}	7
Tyrodelösung	SLS/CAPB 3×10^{-5}	6
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10^{-4}	8

2.4.5 Effekt von Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Wirkung von Midazolam und Fentanyl

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Frage nachgegangen, ob Lösungsmittel wie DMSO und Ethanol bzw. der Weichmacher DEHP oder Detergentien (SLS/CAPB) die hemmende Wirkung von Midazolam und Fentanyl auf die Dünndarmperistaltik verändern.

Hierzu wurden vor der extraserosalen Zugabe von Midazolam (10 μ M, Tab. 5a) bzw. Fentanyl (3 nM, Tab. 5b) die Darmsegmente für 20 Minuten entweder extraserosal mit Tyrodelösung (Kontrollexperiment), 0,1 % Ethanol, 0,1 % DMSO oder 0,1 mM DEHP vorbehandelt. DEHP war dabei in separaten Experimenten sowohl in 0,1 % Ethanol als auch in 0,1 % DMSO gelöst.

In einer anderen Versuchsreihe wurden vor der extraserosalen Zugabe von Midazolam (10 μ M, Tab. 5c) bzw. Fentanyl (3 nM, Tab. 5d) die Darmsegmente für 60 Minuten entweder endoluminal mit Tyrodelösung (Kontrollexperiment), 0,1 % Ethanol, 0,1 % DMSO oder 0,1 mM DEHP perfundiert. Auch in dieser

Versuchsreihe war DEHP sowohl in 0,1 % Ethanol als auch in 0,1 % DMSO gelöst.

Das gleiche Versuchsdesign wendeten wir auch auf das Detergentiengemisch SLS/CAPB verschiedener Konzentrationen an: 60 Minuten endoluminale Perfusion von SLS/CAPB 10^{-6} , 10^{-5} bzw. 10^{-4} vor extraserosaler Zugabe von Midazolam (10 μ M, Tab. 5e). Vor der Zugabe von Fentanyl (3 nM, Tab. 5f) perfundierten wir die Versuchssegmente ausschließlich mit SLS/CAPB 10^{-4} .

Tab. 5a

<i>Vorlauf</i>	<i>20 min</i>	<i>60 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	10 μ M Midazolam	6
Tyrodelösung	0,1 % Ethanol	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 % DMSO	10 μ M Midazolam	8
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	10 μ M Midazolam	8

Tab. 5b

<i>Vorlauf</i>	<i>20 min</i>	<i>60 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	3 nM Fentanyl	7
Tyrodelösung	0,1 % Ethanol	3 nM Fentanyl	6
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	3 nM Fentanyl	7
Tyrodelösung	0,1 % DMSO	3 nM Fentanyl	8
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	3 nM Fentanyl	7

Tab. 5c

<i>30 min Perfusion</i>	<i>60 min Perfusion</i>	<i>30 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 % Ethanol	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 % DMSO	10 μ M Midazolam	7
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	10 μ M Midazolam	7

Anmerkung: Zur besseren Übersichtlichkeit wird hier und in den Folgetabellen auf die Nennung des Vorlaufs verzichtet.

Tab. 5d

<i>30 min Perfusion</i>	<i>60 min Perfusion</i>	<i>30 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	3 nM Fentanyl	7
Tyrodelösung	0,1 % Ethanol	3 nM Fentanyl	6
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	3 nM Fentanyl	7
Tyrodelösung	0,1 % DMSO	3 nM Fentanyl	7
Tyrodelösung	0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	3 nM Fentanyl	7

Tab. 5e

<i>30 min Perfusion</i>	<i>60 min Perfusion</i>	<i>30 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	10 µM Midazolam	11
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10 ⁻⁶	10 µM Midazolam	7
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10 ⁻⁵	10 µM Midazolam	7
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10 ⁻⁴	10 µM Midazolam	7

Tab. 5f

<i>30 min Perfusion</i>	<i>60 min Perfusion</i>	<i>30 min</i>	<i>n</i>
Tyrodelösung	Tyrodelösung	3 nM Fentanyl	6
Tyrodelösung	SLS/CAPB 10 ⁻⁴	3 nM Fentanyl	6

2.5 Auswertung

2.5.1 Auswertungskriterien

Der Schwellendruck, der nötig ist, um eine peristaltische Welle auszulösen (= PPT, peristaltic pressure threshold), wurde als quantitativer Parameter für den Effekt einer Substanz auf die Peristaltik herangezogen. Sinkt die Druckschwelle ab, zeigt dies eine Stimulation der Peristaltik, ein Anstieg des Schwellendrucks spiegelt hingegen eine Hemmwirkung auf die Peristaltik wider.

2.5.2 Auswertungsschema

Zur Vorbereitung der statistischen Auswertung wurden die Registrierungen der Druckveränderungen während peristaltischer Kontraktionen in Fünf-Minuten-Intervalle unterteilt. Die jeweils letzte vollständige Kontraktion innerhalb eines Fünf-Minuten-Intervalls wurde hinsichtlich ihrer Frequenz, der PPT und des intraluminalen Drucks am Ende der Entleerungsphase in Millimetern ausgemessen. Der Schwellendruck (PPT) wurde mit Hilfe der Kalibrierung in Druckwerte in Pascal (Pa) umgerechnet. Vom Vorlauf diente jeweils die fünftletzte und die letzte Kontraktion vor Applikation der Testsubstanz als Referenzwert. Für die Interpretation der Substanzeffekte ist die Änderung des Schwellenwertes (Δ PPT) von Bedeutung. Sie wurde durch Subtraktion des Schwellendrucks der letzten Kontraktion des Vorlaufs von den jeweiligen Druckschwellen nach Substanzzugabe ermittelt. Bei Testung von zwei Wirkstoffen nacheinander im selben Organbad wurde der PPT-Wert des letzten Fünf-Minuten-Intervalls nach der ersten Substanzzugabe zum Referenzwert der zweiten Substanzzugabe.

War der Darm bei einem intraluminalen Druck von 400 Pa maximal dilatiert und jegliche Peristaltik aufgehoben, lag eine komplette Hemmung vor. Ebenso wurden segmentale Kontraktionen geringer Druckamplitude, die zwar zu intraluminalen Druckschwankungen um den Ausgangsdruck von 400 Pa, jedoch nicht zu einem effektiven Ausstoß von Flüssigkeit aus dem Darmlumen führten, als Hemmung gewertet.

Die Auswertung unkoordinierter, hochfrequenter Kontraktionen geringer oder hoher Druckamplitude, aber ohne deutliche präparatorische Phase nach Zeitpunkt des Beginns, der Dauer, der Frequenz und dem Druckniveau sind im Anhang (s. 7.1) dargestellt.

Als Spontanaktivität werden erneute Darmkontraktionen nach einer kompletten Hemmung bezeichnet, sofern diese Kontraktionen eine Druckamplitude von

mindestens 200 Pa, jedoch keine abgrenzbare präparatorische Phase oder PPT aufwiesen und keine Darmentleerung zur Folge hatten.

Mit Recovery wird das Wiedereinsetzen regelrechter Kontraktionen bezeichnet, deren PPT-Werte um weniger als 20 Pa zu denjenigen vor der Hemmung abwichen.

2.5.3 Statistik

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mittels des Programmes Sigmastat 32 (Fa. SPSS Inc., Erkrath). Hierbei wurden die PPT-Werte mit dem Kolmogoroff-Smirnow-Test auf Normalverteilung geprüft und als Mittelwerte \pm SEM (standard error of the mean, Standardfehler des Mittelwertes) zur Darstellung gebracht. Diese Ergebnisse wurden mittels ANOVA (analysis of variance, Varianzanalyse) sowie post hoc Student-Newman-Keul-Test auf Signifikanzen getestet. Der Vergleich zweier Gruppen wurde mit dem Student-t-Test mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ durchgeführt (Herbert et al. 2005; Weis 2006).

Die grafische Darstellung der Daten erfolgte mit dem Programm Sigmaplot 8.0 (Firma SPSS Inc., Erkrath) in Form von Mittelwertskurven und Balkendiagrammen.

Die im Anhang aufgeführten Auswertungen der Hemmungen kommen als Mittelwerte \pm SEM zur Darstellung. Auf eine weitere statistische Auswertung wurde verzichtet, da schon bei visueller Betrachtung und Mittelwertbestimmung kein Trend zu erkennen war. Somit war die genaue Untersuchung der Hemmmuster als eigenständiger Auswertungsparameter nicht verwertbar und findet daher nur im Anhang Beachtung.

3. Ergebnisse

3.1 Wirkung von Ethanol auf die Dünndarmperistaltik

Während die Zugabe von Tyrodelösung zum Organbad keinen Effekt auf die Darmperistaltik hatte, zeigten sich nach Ethanolzugabe Anstiege der Schwellendrucke (ΔPPT) mit steigender Konzentration von Ethanol (Tab. 6, Abb. 3 und 4 A-D). Bei den getesteten Dosen von 0,1 %, 0,3 % und 1 % Ethanol im Organbad war die Peristaltik von jeweils zwei der untersuchten Segmente stellenweise funktionell gehemmt. Bei 1 % Ethanol kam es zusätzlich in einem von zehn Segmenten zu einer kompletten Hemmung, welche nach sechs Minuten einsetzte und bis zum Ende des Messintervalls von 120 Minuten anhielt. Insgesamt reagierte die Dünndarmperistaltik sehr heterogen auf die Zugabe von Ethanol, was an dem hohen Standardfehler (SEM) erkennbar ist.

Tab. 6 Veränderung des Schwellendrucks (ΔPPT) nach Zugabe von Ethanol verschiedener Konzentrationen zum Organbad

	ΔPPT^* (Pa)	0-20 min	0-60 min	60-120 min
Tyrodelösung	n=11	-1,0 ± 2,0	-1,3 ± 2,2	4,1 ± 6,8
Ethanol 0,1 %	n=10	13,9 ± 3,0	14,7 ± 3,6	29,8 ± 12,5
Ethanol 0,3 %	n=9	61,3 ± 46,9	41,0 ± 31,8	20,0 ± 13,5
Ethanol 1 %	n=10	186,7 ± 55,3	130,3 ± 47,8	67,8 ± 43,3

* ΔPPT entsprechend dem Mittelwert ± SEM in Pa

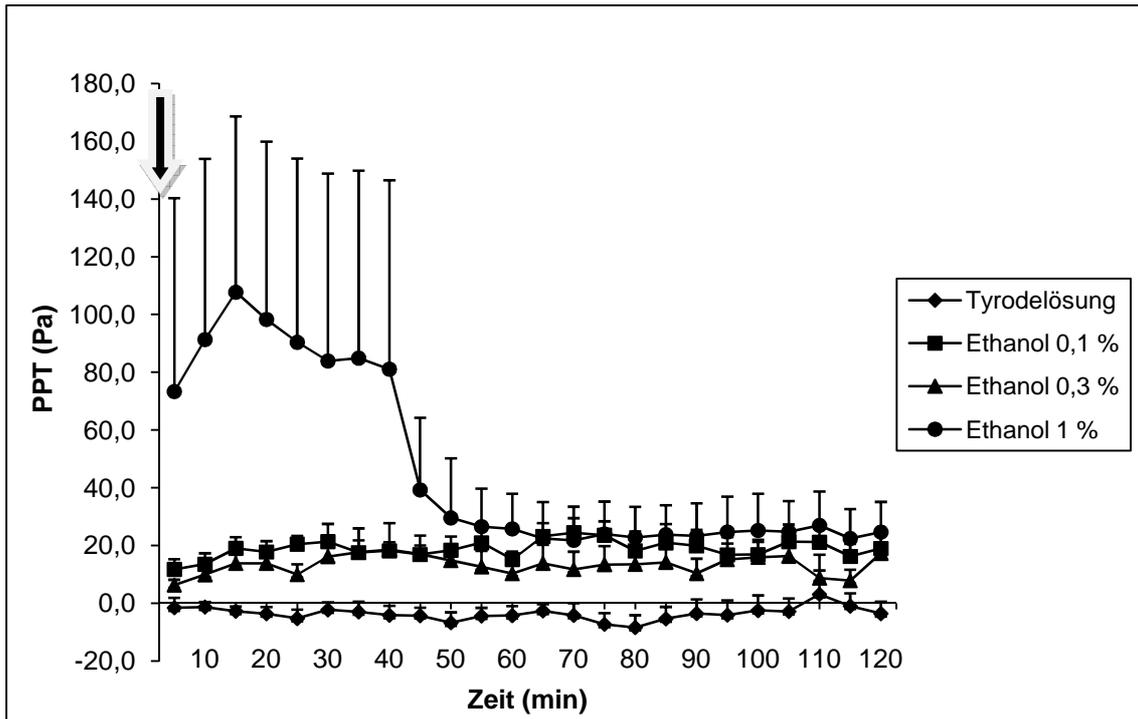


Abb. 3 Zeitlicher Verlauf und Dosis-Wirkungs-Beziehung des Schwellendrucks (PPT) nach Ethanol (extraserosale Konzentrationen 0,1 %, 0,3 % und 1 %). Die Symbole repräsentieren die Mittelwerte + SEM (Fehlerbalken) der Schwellendrücke, die über einen Zeitraum von 120 Minuten nach Substanzapplikation (↓) registriert wurden.

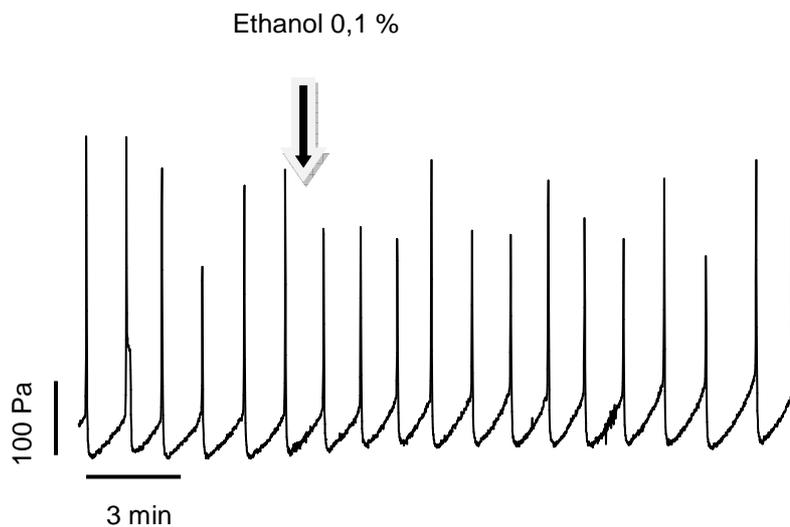


Abb. 4 A Originalregistrierung der intraluminalen Druckänderungen unter Einwirkung von 0,1 % extraserosalem Ethanol.

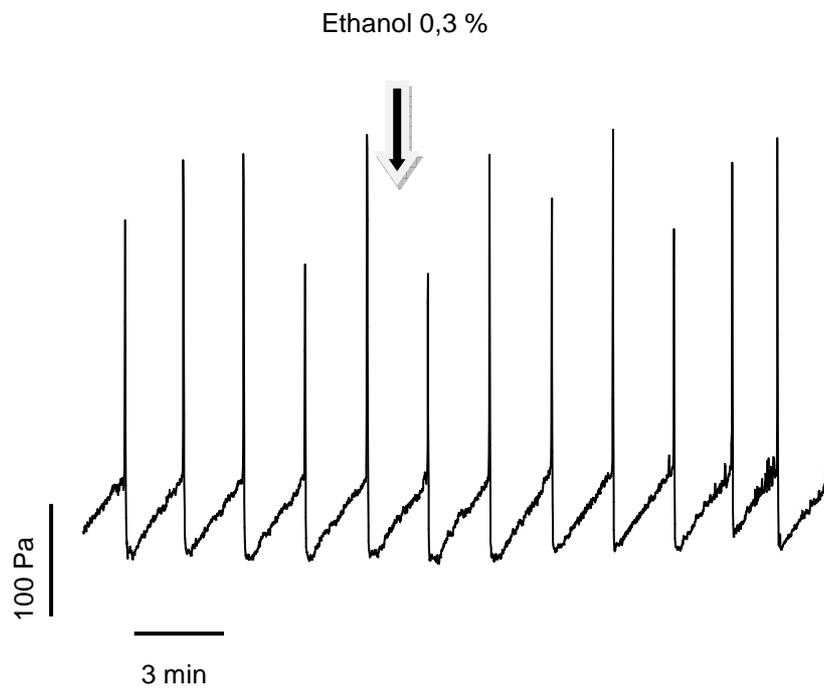


Abb. 4 B Originalregistrierung der intraluminalen Druckänderungen unter Einwirkung von 0,3 % extraserosalem Ethanol.

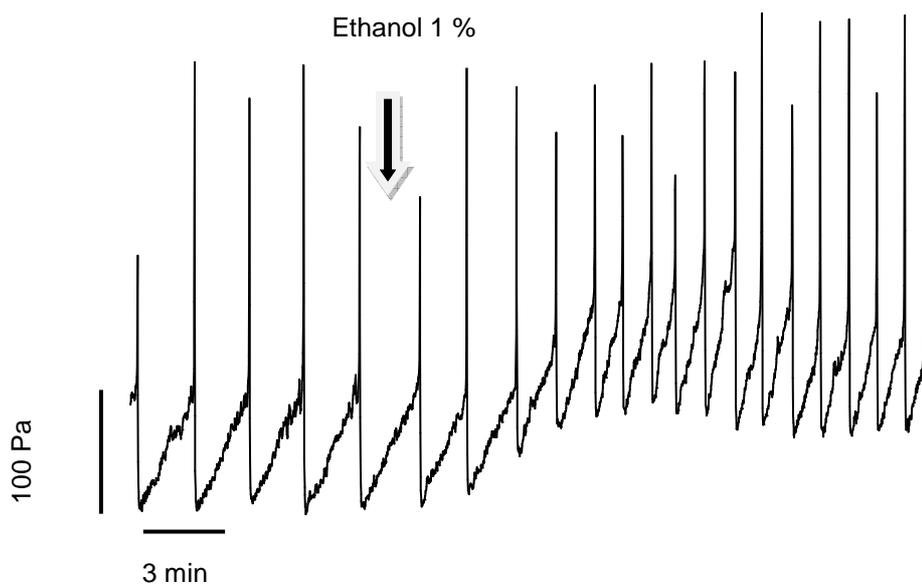


Abb. 4 C Originalregistrierung der intraluminalen Druckänderungen unter Einwirkung von 1 % extraserosalem Ethanol.

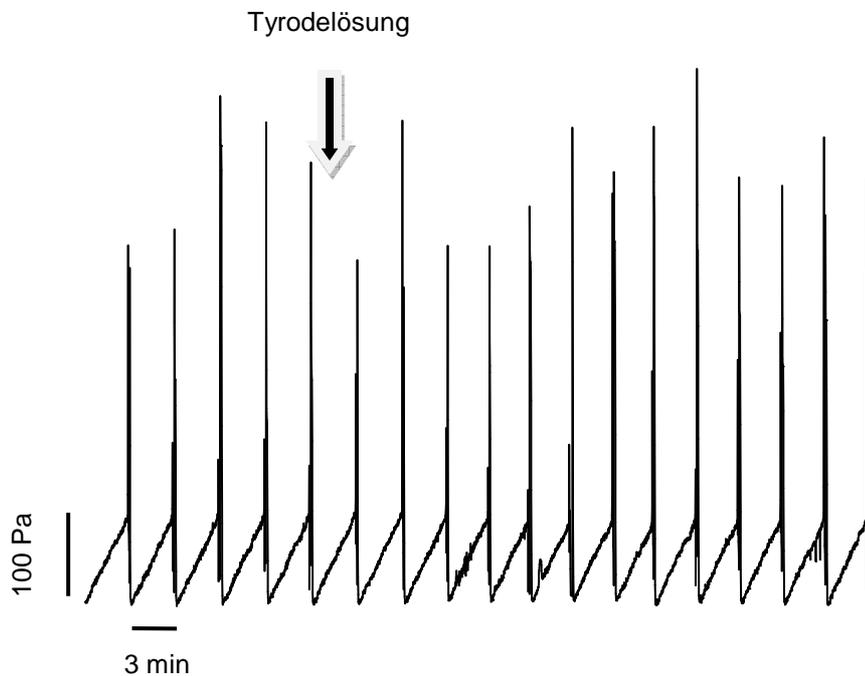


Abb. 4 D Originalregistrierung der intraluminalen Druckänderungen nach Zugabe von Tyrodelösung.

3.1.1 Blockierung apaminsensitiver calciumaktivierter small conductance Kaliumkanäle

Eine Vorbehandlung der Segmente mit 500 nM Apamin führte weder bei 0,3 % noch bei 1 % Ethanol zu einer Abweichung der Schwellendrücke von den Kontrollwerten mit Tyrodevorbehandlung (Abb. 5). Allerdings kam es bei 1 % Ethanol sowohl nach Vorbehandlung mit Tyrodelösung als auch nach Vorbehandlung mit Apamin zu temporären kompletten Hemmungen. Diese traten in vier von 15 Tyrodeexperimenten nach $3,5 \pm 2,0$ Minuten und in einem von acht Apaminexperimenten nach 10,2 Minuten auf.

Apamin (500 nM) hatte als Monosubstanz keine Auswirkungen auf die Peristaltik.

3.1.2 Antagonisierung von Opioidrezeptoren

Eine 20-minütige Vorbehandlung mit 500 nM Naloxon vor 0,3 % oder 1 % Ethanol brachte keine nennenswerte Änderung der PPT im Vergleich zur Kontrolle nach Vorbehandlung mit Tyrodelösung (Abb. 5).

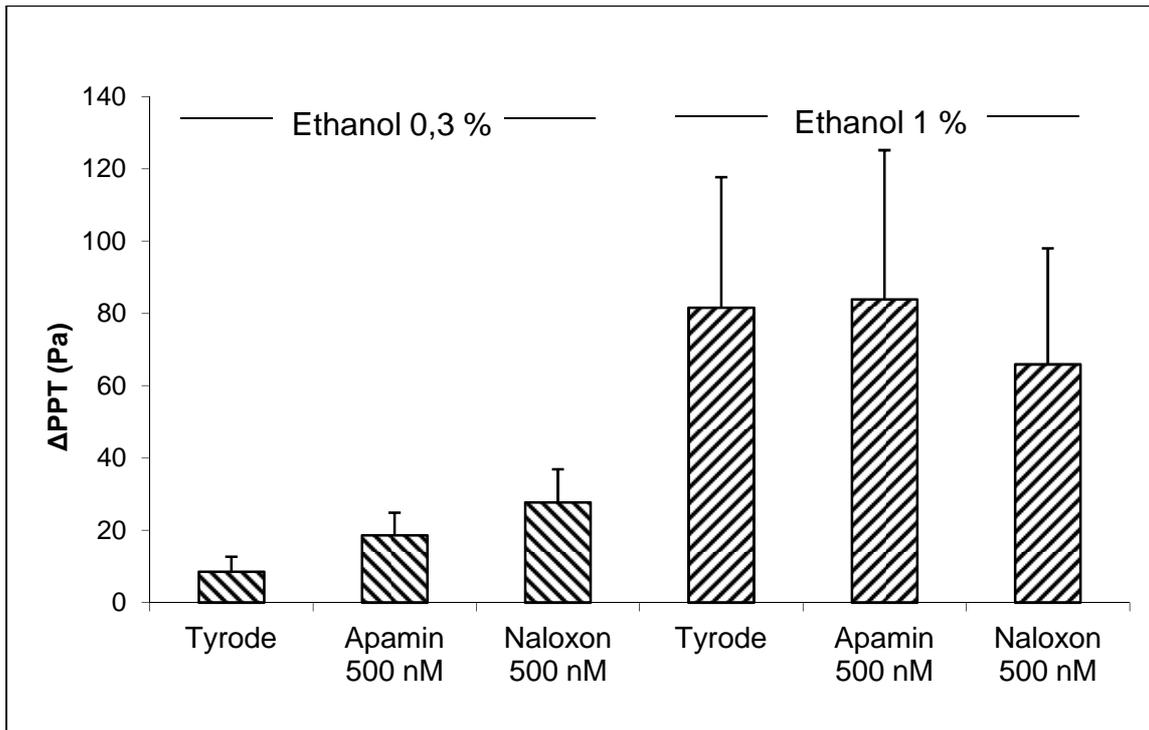


Abb. 5 Mittlerer Schwellenwertanstieg (Δ PPT) + SEM durch 0,3 % und 1 % Ethanol nach Vorbehandlung mit Tyrodelösung (Tyrode) sowie 500 nM Apamin und 500 nM Naloxon.

3.1.3 Antagonisierung von CCK_A-Rezeptoren

Segmente, die 20 Minuten lang mit 3 μ M Lorglumid vorbehandelt wurden, zeigten durch 0,3 % Ethanol keine Veränderung gegenüber den Tyrodekontrollen (Abb. 6). Allerdings sank der Schwellenwert bei 1 % Ethanol im Vergleich zur Kontrolle um etwa 20 Pa (Δ PPT Tyrodelösung – 1 % Ethanol 42,9 \pm 20,7 Pa vs. 19,4 \pm 12,5 Pa bei 3 μ M Lorglumid – 1 % Ethanol). Lorglumid (3 μ M) hatte keine Eigenwirkung auf die Peristaltik.

3.1.4 Antagonisierung von CCK_B-Rezeptoren

Auch die Vorbehandlung mit 1 μ M YM 022, ebenfalls ohne Eigenaktivität auf die Peristaltik, vermochte nicht die Ethanolreaktion zu beeinträchtigen (Abb. 6), obgleich es bei 1 % Ethanol bei einem von neun Segmenten direkt nach Ethanolapplikation für 17,3 Minuten zu einer kompletten Hemmung kam.

3.1.5 Antagonisierung von GABA_A-Rezeptoren

Bis auf eine leichte Schwellendrucksenkung von ca. 15 Pa unter 1 % Ethanol gegenüber der Tyrodekontrolle (Δ PPT Tyrodelösung – 1 % Ethanol $42,9 \pm 20,7$ Pa und $27,0 \pm 7,5$ Pa bei 10 μ M Bicucullin – 1 % Ethanol) blieb die Vorbehandlung mit 10 μ M Bicucullin sowohl bei 0,3 % als auch bei 1 % Ethanol ohne Effekt. Lorglumid (3 μ M), YM 022 (1 μ M) und Bicucullin (10 μ M) selbst führten nicht zu einer Veränderung des Schwellendrucks (Abb. 6).

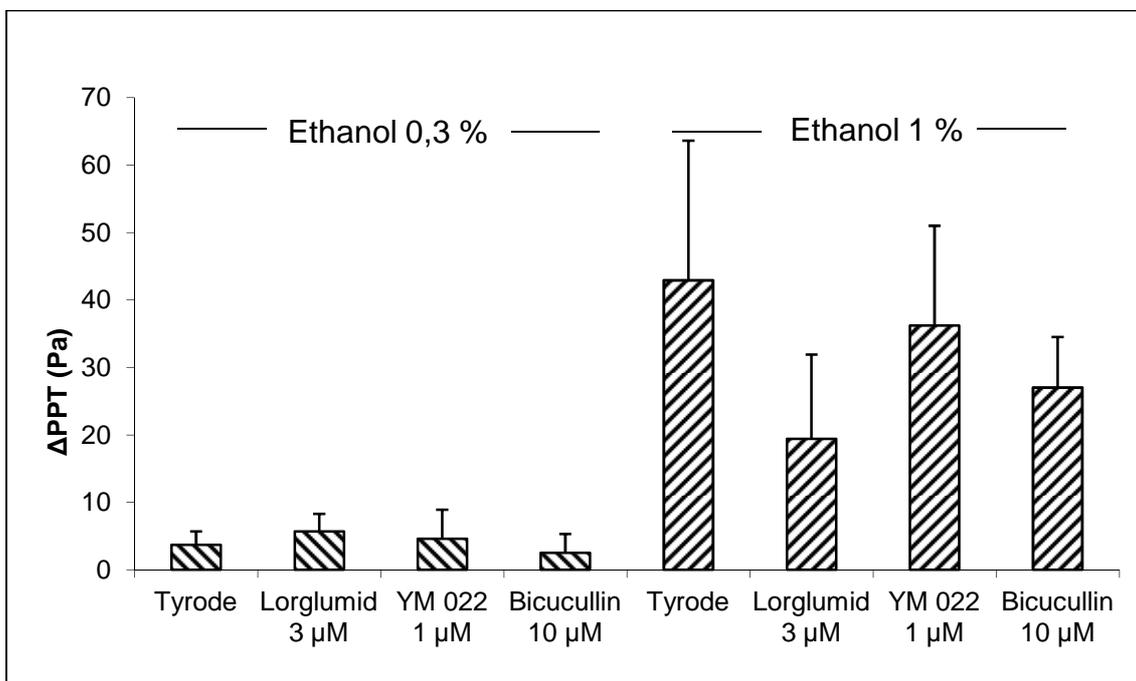


Abb. 6 Schwellenwertanstieg (Δ PPT) (Mittelwert + SEM) im Vergleich Ethanol 0,3 % zu Ethanol 1 % nach jeweiliger Vorbehandlung mit 3 μ M Lorglumid, 1 μ M YM 022, 10 μ M Bicucullin bzw. Tyrodelösung (Tyrode).

3.2 Wirkung von DMSO auf die Dünndarmperistaltik

Weder 0,1 % noch 0,3 % DMSO beeinflusste die Peristaltik. Lediglich unter 1 % DMSO konnte im Mittel ein dezenter, nicht signifikanter Anstieg des Schwellenwertes um $20,9 \pm 10,9$ Pa in der ersten bzw. $30,3 \pm 18,9$ Pa in der zweiten Stunde des Beobachtungszeitraumes beobachtet werden (Tab. 7).

Tab. 7 Änderungen des Schwellenwertes (ΔPPT) unter DMSO 0,1 %, 0,3 % und 1 %

	ΔPPT (Pa)	0-20 min	0-60 min	60-120 min
Tyrodelösung	n=6	$-0,1 \pm 2,0$	$-1,1 \pm 1,2$	$1,9 \pm 3,1$
DMSO 0,1 %	n=9	$-2,1 \pm 1,9$	$2,2 \pm 2,7$	$-2,3 \pm 5,6$
DMSO 0,3 %	n=7	$0,5 \pm 1,1$	$-1,3 \pm 1,8$	$-0,5 \pm 4,0$
DMSO 1 %	n=7	$2,8 \pm 3,7$	$20,9 \pm 10,9$	$30,3 \pm 18,9$

3.3 Wirkung von DEHP auf die Dünndarmperistaltik

Der Effekt von DEHP auf die Darmtätigkeit wurde analog zu den Versuchen an DMSO über eine Beobachtungszeit von 120 Minuten untersucht. Wir verwendeten hierbei die extraserosalen Konzentrationen 0,1 mM und 1 mM DEHP. Als Lösungsmittel für DEHP diente jeweils 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO.

In keiner dieser vier Versuchsreihen konnte eine Beeinflussung der Peristaltik beobachtet werden (Tab. 8).

Tab. 8 Schwellenwertänderungen (ΔPPT) unter extraserosaler Einwirkung von 0,1 mM und 1 mM DEHP, jeweils gelöst in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO

	ΔPPT (Pa)	0-20 min	0-60 min	60-120 min
Tyrodelösung	n=11	-1,0 ± 2,1	-1,3 ± 2,2	4,1 ± 6,1
0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	n=7	4,2 ± 3,3	4,7 ± 3,5	10,8 ± 14,4
0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	n=7	2,2 ± 2,2	-0,2 ± 1,8	-1,2 ± 3,9
1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	n=7	5,1 ± 1,6	4,3 ± 1,1	6,1 ± 3,0
1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	n=6	-0,8 ± 2,3	-1,5 ± 1,6	3,3 ± 2,4

3.4 Wirkung von Detergentien (SLS/CAPB) auf die Dünndarmperistaltik

Die Untersuchung der Wirkung von Detergentien am Bsp. des Gemisches SLS/CAPB (Priol[®]) auf die Dünndarmperistaltik erfolgte wie die der Phthalate zum einen durch Zugabe zum Organbad und zum anderen per endoluminaler Perfusion. Getestet wurden hierbei die Konzentrationen 10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} und 10^{-4} .

3.4.1 Wirkung von SLS/CAPB bei extraserosaler Zugabe zum Organbad

Verglichen zur Tyrodekontrolle traten unter Detergentienzugabe in der Verdünnung 10^{-5} keine wesentlichen Veränderungen der Peristaltik auf, wenn man davon absieht, dass eines der sieben Segmente in der 22. und der 37. Minute jeweils kurzfristig funktionell in seiner Peristaltik gestört war.

Bei einer Verdünnung von 3×10^{-5} zeigte sich eine Schwellenwertänderung von $13,4 \pm 4,7$ Pa (vgl. Tyrodelösung $1,3 \pm 2,7$ Pa) und es kam bei zwei der sechs Darmsegmente rezidivierend zu kurzzeitigen Hemmungen der Darmtätigkeit.

Auffällige, wenn auch statistisch nicht signifikante Schwellenwerterhöhungen traten erst bei einer Verdünnung von 10^{-4} auf. Hier waren drei von acht Segmenten ab $40,1 \pm 9,9$ Minuten bis zum Ende des Beobachtungsintervalls komplett gehemmt. Der Schwellenwertanstieg betrug dabei $112,6 \pm 32,0$ Pa (Abb. 7).

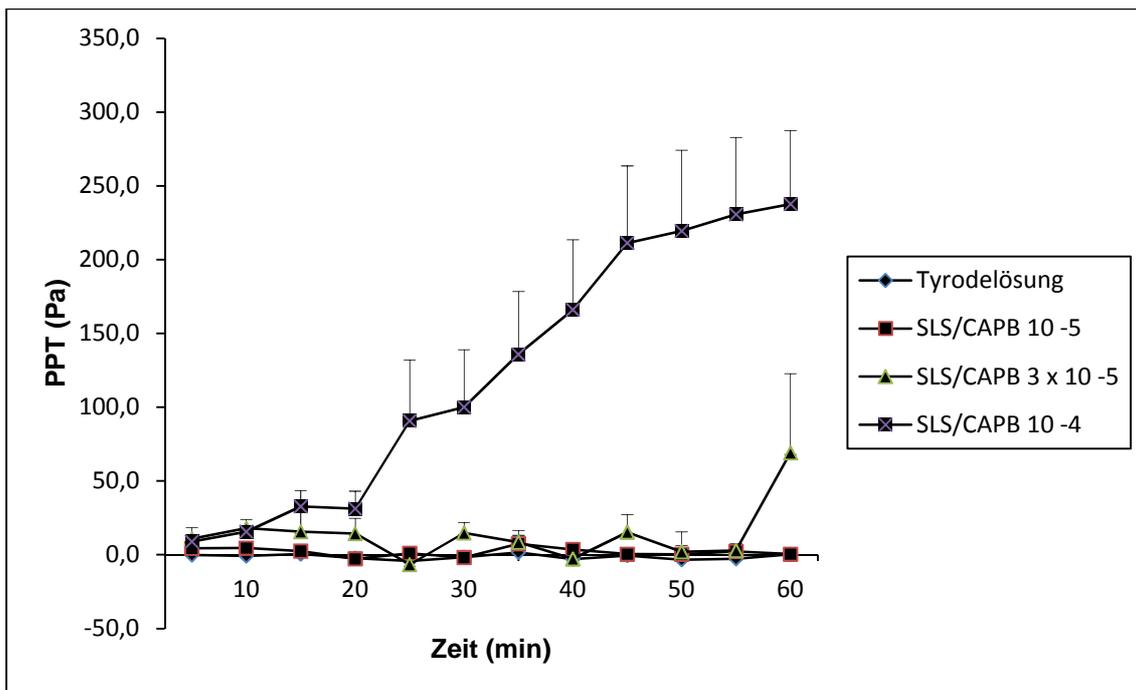


Abb. 7 Zeitverlauf sowie Dosis-Wirkungs-Beziehung des Effektes von SLS/CAPB 10^{-5} , 3×10^{-5} und 10^{-4} im Organbad mit Darstellung der Mittelwerte + SEM der Schwellendrücke (PPT) über ein Beobachtungsintervall von 60 Minuten.

3.4.2 Wirkung von SLS/CAPB bei endoluminaler Perfusion

Im Verlauf der endoluminalen Detergentienapplikation, welche nur in Verbindung mit Midazolam- ($10 \mu\text{M}$) bzw. Fentanylzugabe (3 nM) zum Organbad getestet wurde (s. Kap. 3.5.2 und 3.6.2), zeigte keine der getesteten Verdünnungen (10^{-6} , 10^{-5} und 10^{-4}) einen Effekt auf die Darmperistaltik. Die Schwankungen der Schwellendrücke fielen hingegen noch geringer aus als unter SLS/CAPB-Zugabe zum Organbad.

3.5 Effekt von Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Wirkung von Midazolam

3.5.1 Vorbehandlung von extraserosal

Lediglich nach Vorbehandlung mit 0,1 % Ethanol extraserosal kam es zu einem signifikanten Anstieg der PPT nach Midazolamapplikation ($10 \mu\text{M}$; $92,3 \pm 14,6 \text{ Pa}$ (Signifikanzniveau $p < 0,05$)) im Vergleich zur Vorbehandlung mit Tyrodelösung ($34,7 \pm 9,1 \text{ Pa}$) (Abb. 8). Nach Vorbehandlung mit 0,1 % Ethanol kam es in vier von sieben Segmenten zu Zeitintervallen phasenweiser funktioneller Hemmung (s. Verlauf der PTT in Abb. 9). Die Wirkung von SLS/CAPB auf die Wirkung von Midazolam wurde nur in Zusammenhang mit der endoluminalen Detergentienexposition untersucht (s.u.).

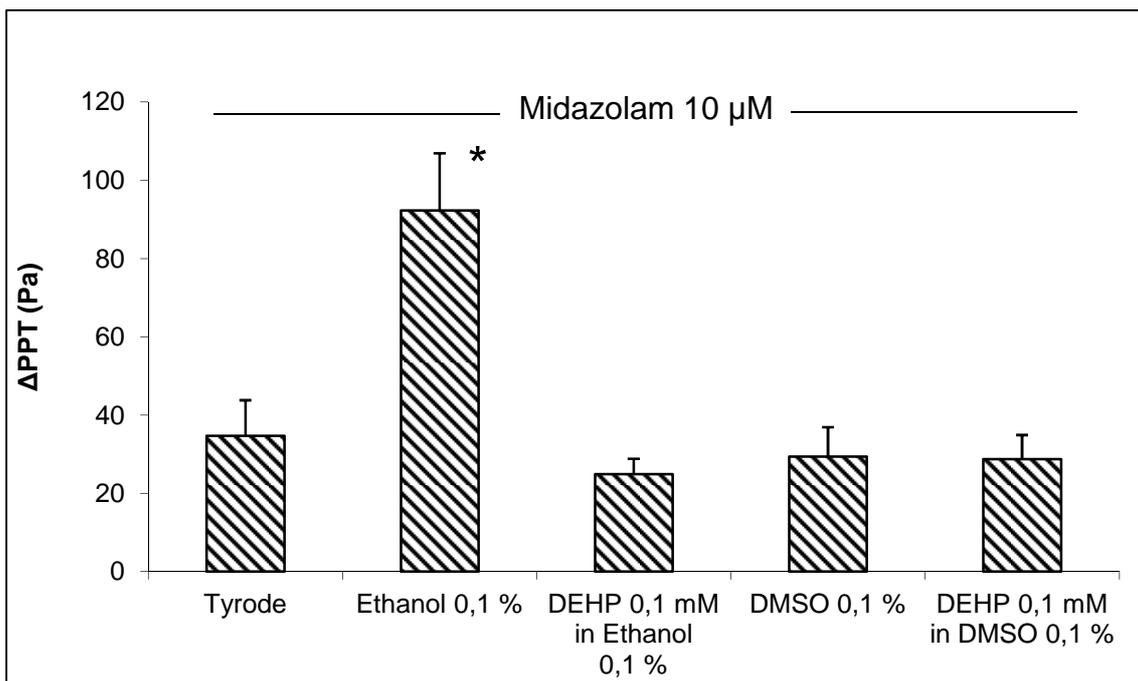


Abb. 8 DEHP-Effekt anhand der Schwellenwertänderungen (ΔPPT ; Mittelwert + SEM) nach Applikation von Midazolam ($10 \mu\text{M}$) zum Organbad.

* signifikanter Schwellenwertanstieg ($p < 0,05$)

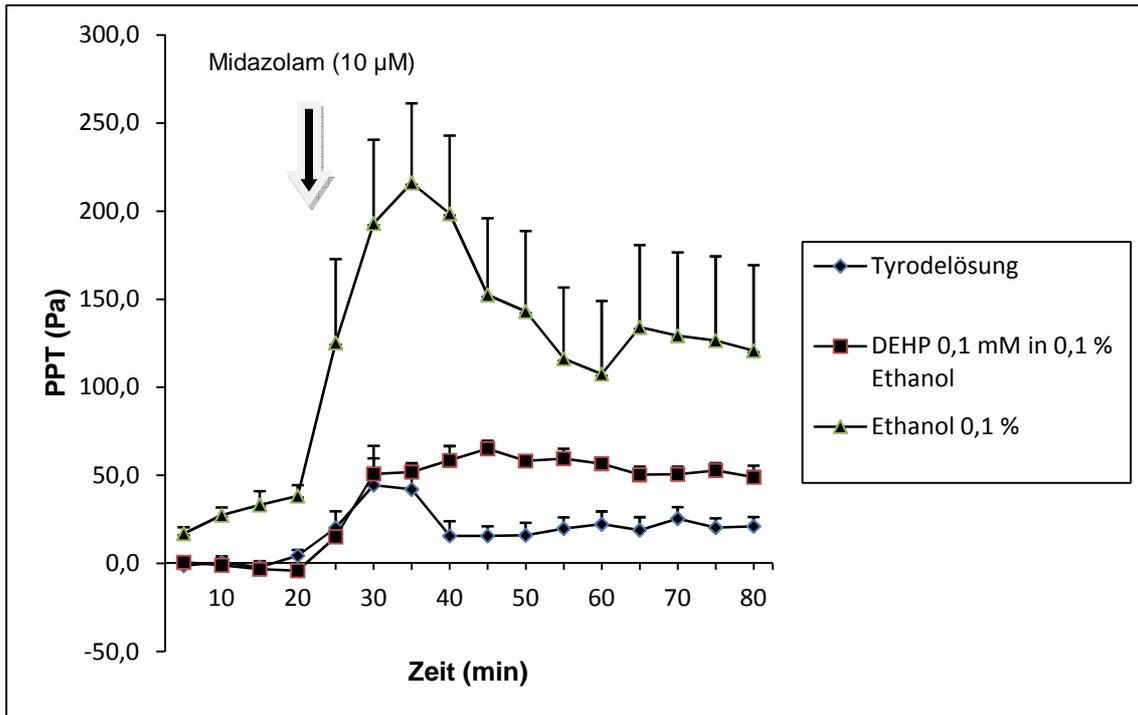


Abb. 9 Zeitverlauf und Dosis-Wirkungs-Beziehung für die extraserosale Midazolamwirkung (10 µM) nach Vorbehandlung mit Tyrodelösung, Ethanol 0,1 % und 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol. Die Symbole stehen für die Mittelwerte + SEM der PPT während der Vorbehandlung (20 Minuten mit Tyrodelösung, DEHP 0,1 mM in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % Ethanol) und für weitere 60 Minuten nach Zugabe von Midazolam (10 µM) (↓).

3.5.2 Vorbehandlung von endoluminal

Auch bei endoluminaler Perfusion von 0,1 % DMSO bzw. 0,1 % Ethanol sowie DEHP (0,1 mM) jeweils gelöst in diesen fand sich nur unter Vorbehandlung mit 0,1 % Ethanol eine signifikante Änderung des Schwellendrucks von $83,1 \pm 22,7$ Pa (Signifikanzniveau $p < 0,05$) gegenüber $49,2 \pm 13,7$ Pa der Tyrodekontrolle nach Midazolamzugabe (Abb. 10 und 11 A-B). Bei den übrigen Versuchsreihen ließ sich keine Abweichung der Schwellendruckanstiege von den Tyrodekontrollen feststellen (Abb. 12). Dies betraf sowohl die 60-minütige Perfusionsphase als auch die Schwellenwertänderungen nach Midazolamzugabe zum Organbad. Obgleich die Schwellendruckanstiege insgesamt etwas höher ausfielen als in den Experimenten mit rein extraserosaler Behandlung der Segmente.

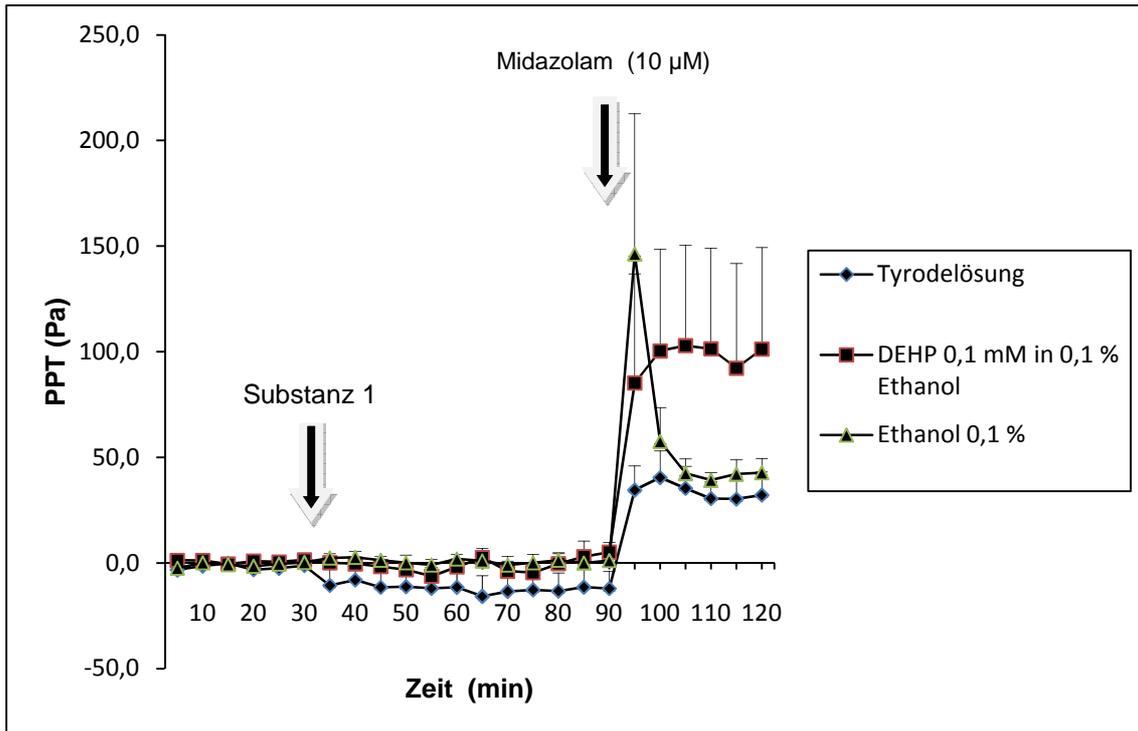


Abb. 10 Zeitverlauf und Dosis-Wirkungs-Beziehung für die extraserosale Midazolamwirkung (10 µM) bei mit Tyrodelösung, DEHP 0,1 mM in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % Ethanol *per perfusionem* vorbehandelten Segmenten. Die Symbole stellen die Mittelwerte + SEM der Schwellendrücke (PPT) dar, die über einen Zeitraum von 30 Minuten Tyrodeperfusion (allen Segmenten gleich), weiteren 60 Minuten endoluminaler Perfusion der ersten Substanz (Tyrodelösung, DEHP 0,1 mM in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % Ethanol; erster ↓) und abschließender Midazolamzugabe (10 µM) zum Organbad (zweiter ↓) aufgezeichnet wurden.

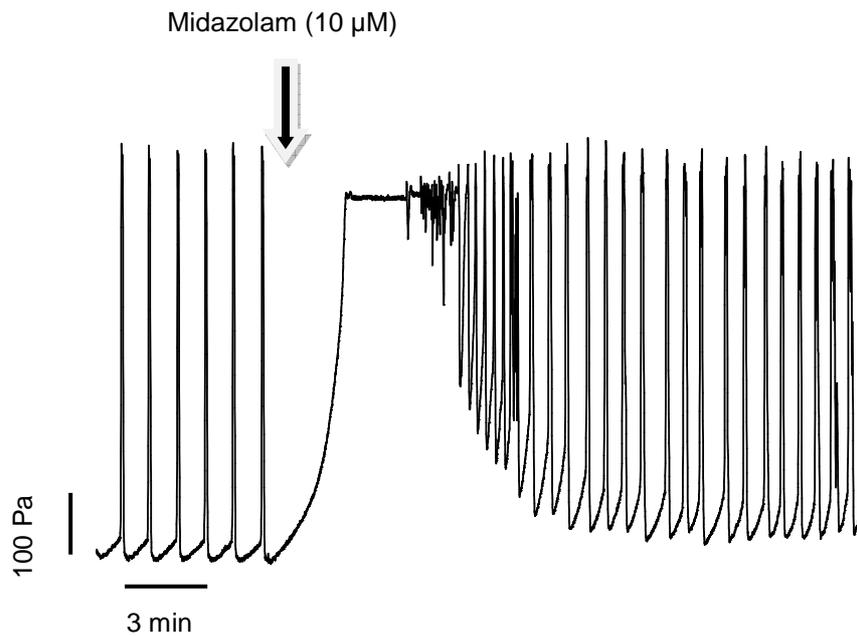


Abb. 11 A Originalregistrierung der intraluminalen Druckverhältnisse von mit 0,1 % Ethanol perfundierten Darmsegmente unter dem Einfluss von extraserosalem Midazolam (10 μM).

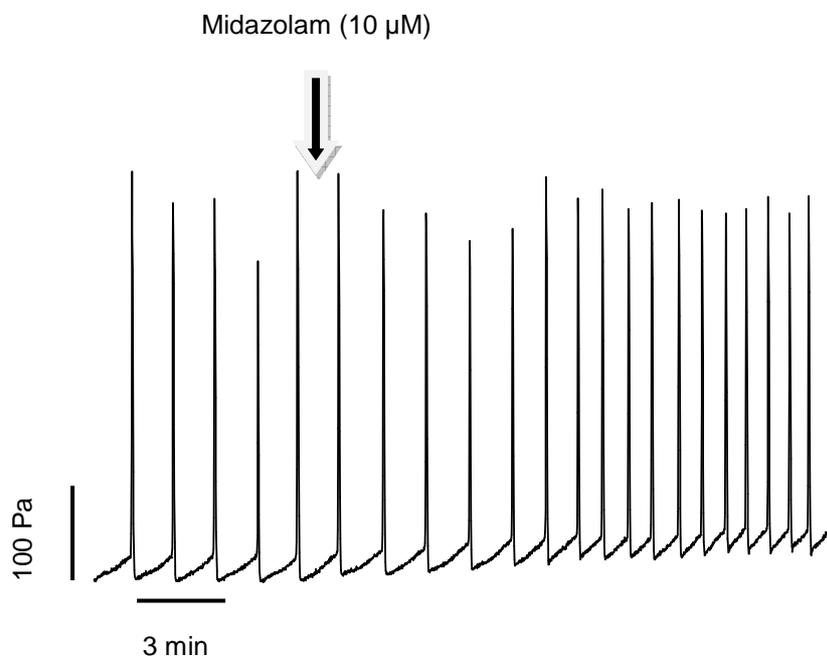


Abb. 11 B Originalregistrierung der intraluminalen Druckverhältnisse von mit Tyrodelösung perfundierten Darmsegmente unter dem Einfluss von extraserosalem Midazolam (10 μM).

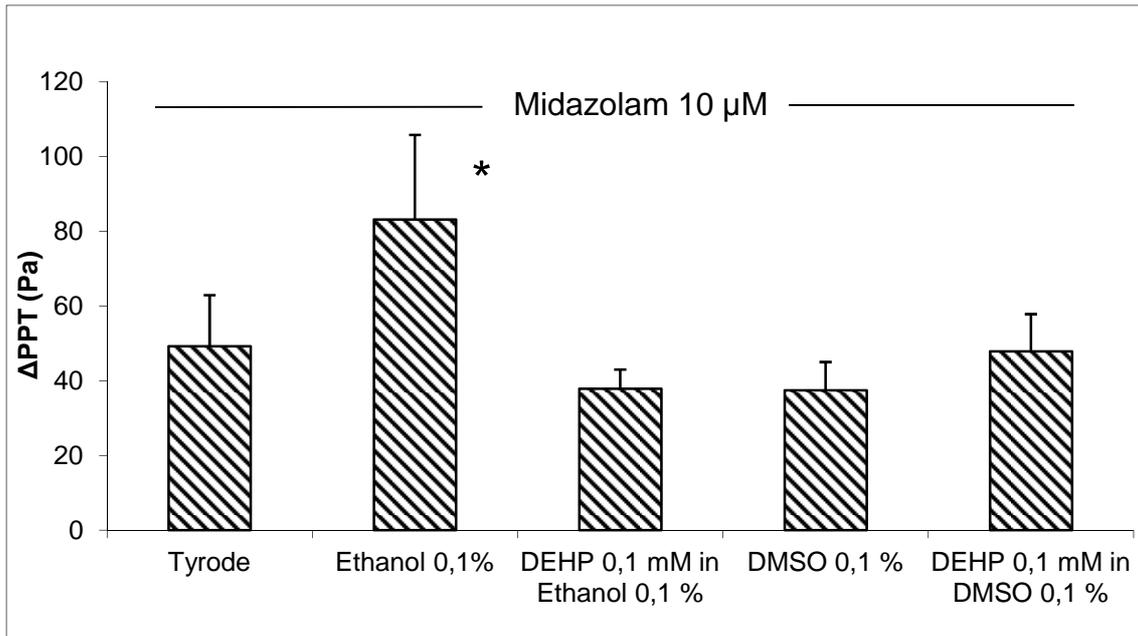


Abb. 12 Schwellenwertänderungen (Δ PPT; Mittelwert + SEM) unter extraserosaler Midazolameinwirkung ($10 \mu\text{M}$) bei endoluminaler Perfusion von DEHP ($0,1 \text{ mM}$ in $0,1 \%$ Ethanol respektive in $0,1 \%$ DMSO).

* signifikanter Schwellenwertanstieg (Signifikanzniveau $p < 0,05$)

Die Reaktion auf die extraserosale Einwirkung von Midazolam ($10 \mu\text{M}$) nach Vorbehandlung des Darmes durch 60-minütige Perfusion mit einer Detergentienlösung waren gegenüber den Tyrodekontrollen sowohl bei der Verdünnung 10^{-6} als auch 10^{-5} unverändert. Erst bei SLS/CAPB 10^{-4} konnte ein geringerer, obgleich nicht signifikanter Schwellendruckanstieg nach Midazolamzugabe beobachtet werden als in der Kontrolle (Δ PPT $41,4 \pm 8,0 \text{ Pa}$ bei Vorbehandlung mit SLS/CAPB 10^{-4} vs. $68,7 \pm 13,4 \text{ Pa}$ in der Tyrodekontrolle, Abb. 13).

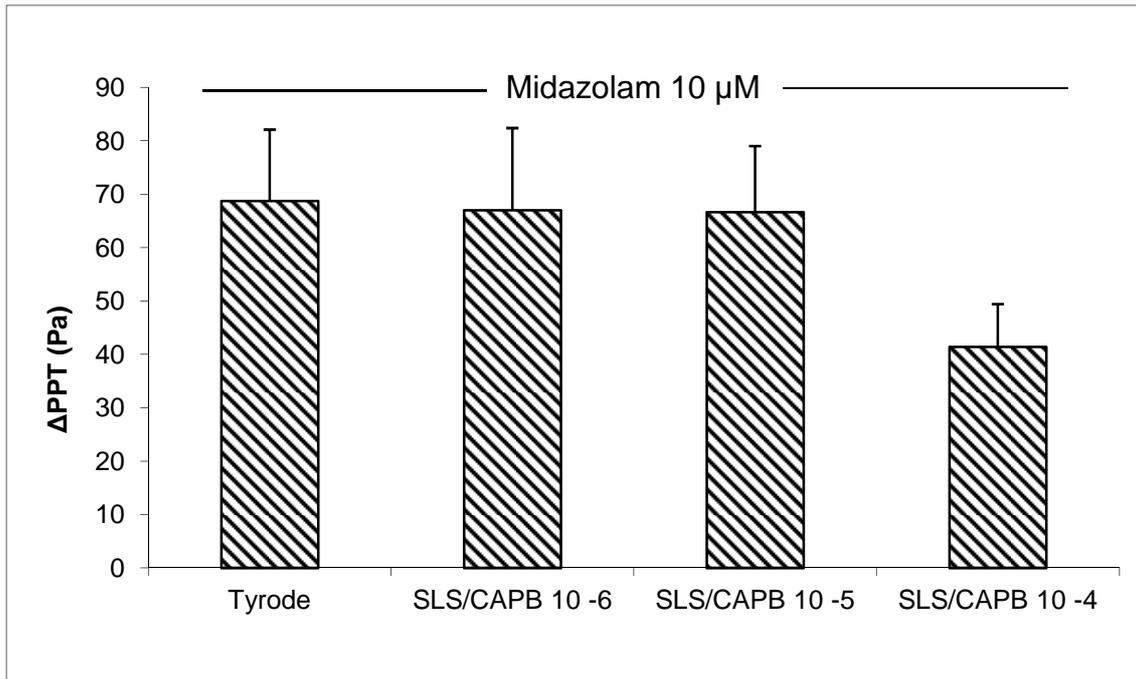


Abb. 13 Änderungen der PPT (Δ PPT als Mittelwert + SEM) durch Midazolamapplikation (10 μ M) nach endoluminaler Vorbehandlung mit SLS/CAPB in den Verdünnungen 10^{-6} , 10^{-5} und 10^{-4} gegenüber der Kontrollgruppe mit Perfusion von Tyrodelösung (Tyrode).

3.6 Effekt von Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Wirkung von Fentanyl

3.6.1 Vorbehandlung von extraserosal

Analog den Untersuchungen an Midazolam untersuchten wir die Beeinträchtigung der hemmenden Wirkung von Fentanyl auf die Dünndarmperistaltik. Nach Zugabe von Fentanyl (3 nM) traten gehäuft temporäre Beeinträchtigungen der Peristaltik bis hin zu kompletten Hemmungen nach Substanzzugabe auf. Insgesamt zeigte dennoch keine der Versuchsanordnungen (0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO bzw. 0,1 % Ethanol sowie DMSO 0,1% respektive Ethanol 0,1 % allein) in Ihrem Reaktionsverhalten Abweichungen von den Kontrollsegmenten, die mit Tyrodelösung vorbehandelt wurden. Es kam zu Schwellenwerterhöhungen zwischen 61 und 79 Pa (Tab. 9).

Auch in Verbindung mit Fentanyl (3 nM) wurde die Beeinflussung dessen Wirkung durch Detergentien nur bei einer endoluminalen Perfusion von SLS/CAPB (10^{-4}) untersucht (s.u.).

Tab. 9 Änderung des Schwellendruckes (Δ PPT) nach Zugabe von Fentanyl (3 nM) zum Organbad bei Vorbehandlung mit DEHP (0,1 mM in 0,1 % DMSO oder 0,1 % Ethanol) sowie dessen Lösemitteln 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO

	Δ PPT (Pa)	Vorbehandlung	3 nM Fentanyl
Tyrodelösung	n=7	-6,8 ± 1,9	78,9 ± 13,5
0,1 % Ethanol	n=8	58,9 ± 21,5	72,5 ± 14,3
0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol	n=7	2,3 ± 1,9	70,2 ± 19,4
0,1 % DMSO	n=6	3,7 ± 4,7	73,4 ± 18,5
0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO	n=7	-0,4 ± 1,7	60,8 ± 10,9

3.6.2 Vorbehandlung von endoluminal

Ähnlich den Ergebnissen der extraserosal vorbehandelten Darmsegmente verhielten sich die Segmente, die mit 0,1 % DMSO und 0,1 % Ethanol *per perfusionem* vorbehandelt wurden, annähernd wie die der Kontrollversuche mit Tyrodelösung. Es kam bei einigen Segmenten aller drei Versuchsreihen zu vorübergehenden kompletten Hemmungen nach Fentanylzugabe (3 nM). Der Schwellenwertanstieg lag bei $89,9 \pm 17,6$ Pa (Tyrodelösung – 3 nM Fentanyl), $79,9 \pm 13,9$ Pa (0,1 % DMSO – 3 nM Fentanyl) respektive $90,4 \pm 14,8$ Pa (0,1 % Ethanol – 3 nM Fentanyl) (Abb. 14).

Eindeutige Abweichungen von den Kontrollwerten konnten bei Vorbehandlung mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % DMSO und 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol nachgewiesen werden. So kam es bei in DMSO gelöstem DEHP zu einem verminderten Anstieg des Schwellendruckes von nur $49,2 \pm 12,2$ Pa. Im Gegensatz dazu fiel die Hemmung durch Fentanyl bei mit DEHP in Ethanol perfundierten Segmenten signifikant stärker aus ($182,2 \pm 46,4$ Pa; Signifikanzniveau $p < 0,05$). Außerdem kam es in zwei von sieben Segmenten zu

kompletten Hemmungen, die in beiden Fällen den gesamten Beobachtungszeitraum nach Fentanylapplikation andauerten (Abb. 15).

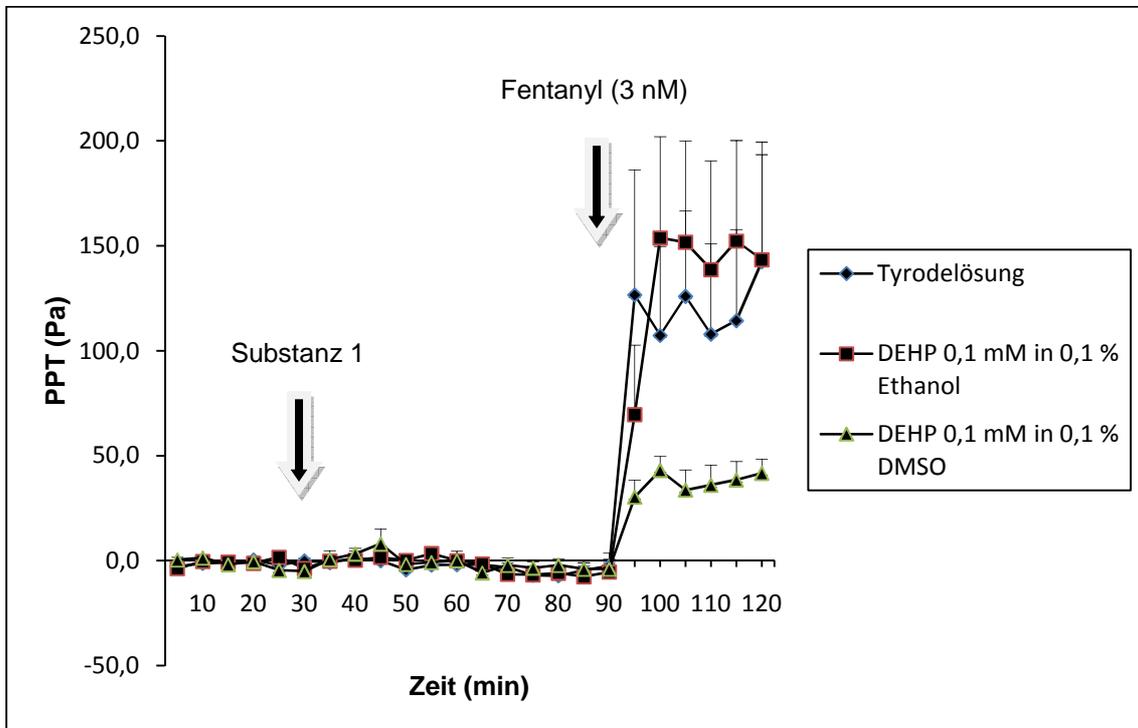


Abb. 14 Zeitlicher Verlauf und Dosis-Wirkungs-Beziehung der extraserosalen Wirksamkeit von Fentanyl (3 nM; zweiter ↓) auf mit DEHP 0,1 mM in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und Tyrode vorperfundierten Darmsegmenten (erster ↓). Zur Darstellung kommen die Mittelwerte + SEM der Schwellendrücke (PPT) über ein Gesamtintervall von 120 Minuten.

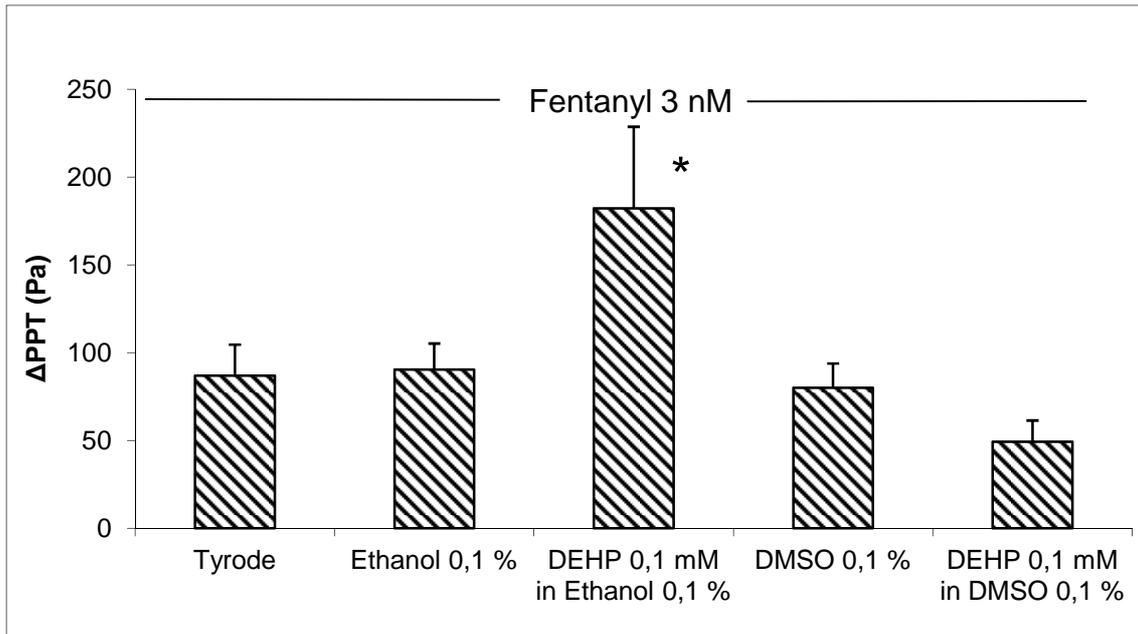


Abb. 15 Schwellenwertänderungen (ΔPPT ; Mittelwert + SEM) unter extraserosaler Fentanyleinwirkung (3 nM) bei endoluminaler Perfusion von DEHP 0,1 mM in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO.

* signifikanter Schwellenwertanstieg (Signifikanzniveau $p < 0,05$)

In drei von sechs Fällen kam es nach Fentanylapplikation bei mit 10^{-4} SLS/CAPB perfundierten Segment zu kurzdauernden Episoden kompletter Hemmung der Peristaltik. Die mittlere Schwellenwertabweichung nach oben durch Fentanyl (3 nM) lag bei $113,7 \pm 17,7$ Pa im Vergleich zu $65,3 \pm 17,5$ Pa bei Tyrodeperfusion (Tab. 10).

Tab. 10 Schwellenwertänderungen (ΔPPT) durch extraserosale Fentanylzugabe (3 nM) zum Organbad nach endoluminaler Vorbehandlung der Segmente mittels SLS/CAPB 10^{-4} bzw. Tyrodelösung im Schema 30 Minuten Tyrodeperfusion, 60 Minuten Perfusion der ersten Substanz (Tyrode respektive SLS/CAPB 10^{-4}) und 30 Minuten Beobachtung nach extraserosaler Fentanylapplikation (3 nM).

	ΔPPT (Pa)	1. Substanz	3 nM Fentanyl
Tyrodelösung	n=6	$-2,5 \pm 2,6$	$65,3 \pm 17,5$
SLS/CAPB 10^{-4}	n=6	$11,4 \pm 5,5$	$113,7 \pm 17,7$

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von organischen Lösungsmitteln, Phthalaten und Detergentien auf die Darmtätigkeit zu untersuchen.

Hierzu diente ein etabliertes, bereits vielfach vorbeschriebenes Versuchsmodell am Meerschweinchendarm (Holzer et al. 1995; Herbert et al. 2002; Shahbazian et al. 2002; Herbert et al. 2005), bei dem Dünndarmsegmente zwischen zwei Glasröhrchen gespannt werden, durch die eine kontinuierliche Perfusion des Darmes gewährleistet wird. An dessen Auswurfseite ist ein Drucktransducer angeschlossen, der den durch peristaltische Kontraktionen sich ändernden intraluminalen Druck aufzeichnet. Der Vorteil dieser Versuchsanordnung ist die Unabhängigkeit des Darmes vom zentralen Nervensystem (ZNS), so dass ausschließlich die peripheren, intrinsischen Effekte des enterischen Nervensystems (ENS) sowie die direkten Wirkungen auf die glatte Muskulatur des Dünndarms untersucht werden können. Dabei konzentrierten wir uns auf die Änderungen der intraluminalen Druckverhältnisse, vor allem der des Schwellendrucks bzw. PPT (peristaltic pressure threshold), der zur Auslösung einer Darmkontraktion überschritten werden muss. Die Frequenz der Darmkontraktionen als ein weiteres Auswertungskriterium war aufgrund ihrer fehlenden Sensitivität nicht geeignet (s. Anhang).

In der Zusammenschau der Ergebnisse aller Experimente der vorliegenden Arbeit zeigt sich, dass weder DEHP, Ethanol, DMSO noch Detergentien (SLS/CAPB) *per se* eine signifikant hemmende Wirkung auf die Dünndarmperistaltik haben. Jedoch vermochten Ethanol, sowohl extraserosal als auch endoluminal perfundiert, und in Ethanol gelöstes DEHP die hemmende Wirkung von Midazolam bzw. Fentanyl zu verstärken.

Dies lässt vermuten, dass **Ethanol** einen besonderen Einfluss auf die Dünndarmperistaltik haben könnte. In den Untersuchungen fiel auf, dass die Schwellendruckänderungen (Δ PPT) nach Zugabe von Ethanol, unabhängig von der jeweiligen Konzentration, sehr heterogen waren. Ursachen hierfür sind

derzeit nicht erkennbar. Während der Versuchsdurchführung wurde stets sorgfältig darauf geachtet, dass Ethanol dem Organbad nie direkt auf oder in die unmittelbare Nähe des Dünndarmsegments zupipettiert wurde. Die Wirkung von Ethanol auf den Körper ist bislang vornehmlich am ZNS untersucht, wohingegen der Wirkung von Alkohol auf den Gastrointestinaltrakt, trotz seiner klinischen Relevanz (Mincis et al. 1995; Bode et al. 2003), erst seit den letzten Jahrzehnten vermehrt Aufmerksamkeit geschenkt wird. Im Hinblick auf die Magen-Darm-Motilität führt Ethylalkohol sowohl per os als auch parenteral meist zu einer Hemmung der Magenentleerung und Verzögerung des Dünndarmtransits. Letzteres ist durch Veränderungen des interdigestiven Motilitätsmusters (Barboriak et al. 1970; Sanders et al. 1982; Jian et al. 1986; Scroggs et al. 1986; Krishnamra et al. 1987; Nasreen et al. 1989; Knight et al. 1992; Charles et al. 1995; Addolorato et al. 1997; Schmidt et al. 1997; Izbeki et al. 2001; Izbeki et al. 2002; Izbeki et al. 2004; Liu et al. 2006) und der ösophagocoecalen Transitzeit (Addolorato et al. 1997) bedingt. Allerdings ist dieser Effekt nicht immer zu beobachten, d. h. einige Untersuchungen zeigen keine oder nur gering ausgeprägte Änderungen der Magenentleerungszeit oder der Dünndarmperistaltik, wobei die größte Variabilität beim Menschen auftritt (Demol et al. 1985; Demol et al. 1986; Kolbel et al. 1986; Nasreen et al. 1989). Diese Heterogenität der Befunde stimmt mit unseren Ergebnissen überein. Bei extraserosaler Zugabe zum Organbad führte Ethanol zu einer vermeintlich dosisabhängigen Steigerung des Schwellendruckes im Vergleich zu den Kontrollen mit Tyrodelösung. Diese hemmenden Effekte zeigten aber eine so große Streuung, dass sie zu keinem signifikanten Ergebnis führten. In Bezug auf die physiologische Relevanz muss bedacht werden, dass wir im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen zwar niedrigere Ethanolkonzentrationen untersucht haben, die noch weit unter den nach oraler Alkoholaufnahme im Dünndarm vorkommenden Konzentration von etwa 2,5 % - 3,0 % liegen (Israel et al. 1969). Unsere Versuchskonzentrationen orientierten sich vielmehr an den korrespondierenden Blutalkoholkonzentrationen, 0,1 % entsprechend 1 ‰, 0,3 % entsprechend 3 ‰ usw.

Während Robles et al. von einem hauptsächlich systemisch vermitteltem Wirkmechanismus von Alkohol zur Störung der Dünndarmperistaltik ausgehen (Robles et al. 1974), konnten bis heute diverse direkte, lokale Störmechanismen durch Ethanol nachgewiesen werden. Diese betreffen u. a. die elektrophysiologischen Gegebenheiten, Ionenströme, Rezeptor- und Signaltransduktionswege. Wenn man die Zelle von außen nach innen betrachtet, wäre diesbezüglich die Anhebung der Membranfluidität und Mukosapermeabilität (Seil et al. 1977; Kalant et al. 1981; Collins et al. 1984; Lavo et al. 1992) als erste zu nennen. Diese führt zu einer erleichterten Stoffaufnahme über die Zellmembran (Lopez del Pino et al. 1983) sowie zu einer Beeinträchtigung der Funktionen der Zellmembran selbst oder der in ihr integrierten Proteine wie Rezeptoren und Ionenkanäle. Nach chronischer, jedoch nicht nach akuter Ethanolexposition konnte eine Störung der transmembranären Potentialdifferenz im Rattenjejunum und -ileum gezeigt werden (al-Balool et al. 1989). Von einer Änderung der Natrium- und Kaliumströme an *in vitro*-Präparaten menschlicher, fetaler, sensorischer Neurone berichtet Nieminen et al. (Nieminen 1987). Dies korreliert mit einer häufig beobachteten Störung der Natrium/Kalium-ATPase durch Ethylalkohol (Kalant et al. 1981; Collins et al. 1984; Brodie et al. 1987). Lu und Kollegen führen die motilitätshemmenden Einflüsse von Ethanol in Präparationen des Kaninchenjejunums *in vitro* auf eine Abschwächung des Calciumeinstroms in die Zelle zurück, die auf der Modulation spannungsabhängiger Calciumkanäle sowie calciumaktivierter Kaliumkanäle basieren (Lu et al. 1997). Durch eben diesen Mechanismus ließe sich auch die Verstärkung der inhibitorischen Wirkung von Midazolam erklären, da dieses calciumabhängige Kaliumkanäle aktiviert. Durch die durch Midazolam induzierte Hyperpolarisation kommt es zu einer Hemmung der Dünndarmperistaltik des Meerschweinchens *in vitro* (Wenderoth 2002).

Ein eher langfristiger Effekt einer Ethanolexposition könnte die direkte Beeinflussung kontraktile Proteine sein. Addolorato und Marway beschreiben die Hemmung ihrer Synthese durch Ethanol (Marway et al. 1993; Marway et al. 1996; Addolorato et al. 1997), wobei der Dünndarm am empfindlichsten auf

derartige Veränderungen reagiert (Marway et al. 1996). Darüber hinaus ist eine Hemmung der Stickstoffmonoxydsynthetase im Rattendünndarm beschrieben, die zu einer Verminderung des Stickstoffmonoxydangebotes (NO) führt, welches neben ATP (Adenosintriphosphat), VIP (vasoaktivem intestinalem Peptid) und PACAP (pituitary adenylyl cyclase activating peptide) einer der wichtigsten inhibitorischen Transmitter im Gastrointestinaltrakt und für die NANC-abhängige Relaxation der Darmmuskulatur verantwortlich ist (Boeckxstaens et al. 1993; Mizuta et al. 1999; Krecsmarik et al. 2006).

Aufgrund der starken Variabilität der peristaltischen Aktivität unter Ethanoleinfluss kombinierten wir die extraserosale Ethanoleinwirkung der Konzentrationen 0,3 % und 1 % im Organbad jeweils mit einer Vorbehandlung von Substanzen, die mit Opioid- (Naloxon) und CCK-Rezeptoren (Lorglumid und YM 022) sowie apaminsensitiven calciumaktivierten small conductance Kaliumkanälen (Apamin) interagieren, um mögliche Wirkmechanismen aufzudecken. Diese Kombinationen blieben, abgesehen von dezenten Schwellenwertänderungen unter Naloxon, Apamin und Lorglumid, allesamt ohne signifikante Veränderung der Peristaltik. In der Literatur hingegen wird von einer Aufhebung der alkoholbedingten Hemmung der Magenentleerung durch Lorglumid (CCK_A-Rezeptorantagonist) in Ratten berichtet (Izbeki et al. 2004). Cholezystokinin (CCK) hemmt physiologischerweise die Magenentleerung (Debas et al. 1975) und der CCK_A-Rezeptor im Ösophagus des Meerschweinchens vermittelt sowohl eine Kontraktion (Korpus) als auch Relaxation (unterer Ösophagusphinkter) der Muskulatur (Huang 2000). Die ATP-induzierte (apamininsensitive) und in variablem Ausmaß auch die durch Nervenstimulation ausgelöste Relaxation der menschlichen, glatten, zirkulären Colonmuskulatur wird im Gegensatz zur VIP-induzierten (apamininsensitiven) Relaxation der Darmmuskulatur (Costa et al. 1986) durch Apamin gehemmt (Boeckxstaens et al. 1993). Eine Modulation endogener opioidrezeptorvermittelter Signaltransduktion im ZNS durch Ethanol ist mehrfach beschrieben. Dabei scheint Ethanol überwiegend mit dem μ -Opioidrezeptor zu interagieren und dessen Bindungsaffinität zu erhöhen, was die hemmenden Wirkungen von Opioiden verstärkt. Dieser Effekt kann durch

Naloxon abgeschwächt bis inhibiert werden (Prunell et al. 1987; Charness 1989; Hyytia et al. 1993; Alvarez et al. 1998; Saland et al. 2005; Pastor et al. 2006). Obwohl in unseren Versuchsreihen der Schwellenwert nach extraserosaler Einwirkung von Fentanyl (3 nM; μ -Rezeptoragonist) auf mit 0,1 %-igen Ethanol vorbehandelten Segmenten gegenüber den Kontrollen mit Tyrodelösung unbeeinträchtigt blieb, wiesen Shabazian et al. eine Hemmung der Peristaltik des Dünndarms des Meerschweinchens durch μ - und κ -, aber nicht durch δ -Opioidrezeptoren nach (Shahbazian et al. 2002).

Eine signifikante Verstärkung der inhibitorischen Wirkung von Fentanyl auf die Dünndarmperistaltik konnte in unseren Untersuchungen nur nach endoluminaler Vorbehandlung derer mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 %-igem Ethanol beobachtet werden. Da diese unter DEHP gelöst in 0,1 %-igem DMSO ebenso wie in der Kontrolle mit Ethanol 0,1 % ausblieb, kann nur vermutet werden, ob hierbei Ethanol oder DEHP der ausschlaggebende Faktor ist.

Abgesehen von den in der Einleitung bereits erwähnten Umweltvorkommen von **Phthalaten** gelten auch Medikamente zur oralen Einnahme, die zum Schutz vor frühzeitiger Freisetzung ihrer Wirkstoffe im Magen-Darm-Trakt beschichtet sind, als gesonderte Expositionsquelle, sofern diese Beschichtung Phthalate enthält (Hauser et al. 2004). Als Beispiele seien hier bestimmte Theophyllin-, Diclofenac- oder Nifedipintabletten sowie Medikamente aus der Gruppe der Phytopharmaka zu nennen. Desweiteren sind mehrfach Arbeiten über eine erhöhte DEHP-Exposition von Plasma- und Thrombozytenspendern, Bluttransfusionsempfängern und intensivpflichtiger Frühgeborener publiziert worden (Jaeger et al. 1972; Gayathri et al. 2004; Koch et al. 2005; Koch et al. 2006). Intensivpatienten gehören somit zu einer Risikogruppe mit der Gefahr einer überdurchschnittlichen DEHP-Belastung. Vor diesem Hintergrund untersuchten wir die Wirkung von Phthalaten am Bsp. von **DEHP** auf die Darmtätigkeit, zum einen in Hinblick auf die extraserosale und zum anderen auf die endoluminale Substanzwirkung und dies jeweils in Kombination mit der Zugabe von Midazolam respektive Fentanyl zum Organbad. Mit Ausnahme der o. g. Substanzabfolge mit Fentanyl verursachte DEHP, weder extraserosal noch

endoluminal appliziert, noch in Verbindung mit Midazolam oder Fentanyl (nur DEHP in Ethanol), eine signifikante Erhöhung der Schwellenwerte gegenüber den Kontrollen mit Tyrodelösung. Die untersuchte Dosis von DEHP orientierte sich an der geschätzten täglichen Aufnahme von 13,8 µg DEHP/kg Körpergewicht der Erlangerer Arbeitsgruppe Koch/Angerer (Koch et al. 2003). Demnach nimmt ein 80 kg schwerer Mensch 1104 µg DEHP/Tag auf, was näherungsweise unserer getesteten Dosis von 1 mM DEHP entspricht.

Die aktuelle Forschung beschäftigt sich derzeit mehr mit den allgemeinen Effekten von DEHP und der Frage, ob die ubiquitäre Exposition mit Phthalaten eine Gefahr für die Allgemeinbevölkerung darstellt als mit der Erforschung der Wirkmechanismen. Auf diesem Gebiet sind bislang nur die Funktion von DEHP als Peroxisomenproliferator (Peroxisomen = enzymhaltige zytoplasmatische Vesikel, die dem Abbau verschiedener Stoffe dienen) in der Leber und als endokriner Modulator und Störfaktor der Entwicklung und Funktion der Reproduktionsorgane näher untersucht (Mann et al. 1985; Sjöberg et al. 1985; Isenberg et al. 2000; Wang et al. 2001; Voss et al. 2005; Rusyn et al. 2006). Von größerer Bedeutung für unsere Untersuchungen sind jedoch die Ergebnisse von Aronson, Dhanya und Tavares (2003), die deutlich machen, dass DEHP durchaus auch Auswirkungen auf das elektrophysiologische Gleichgewicht erregbarer Zellen hat. So konnte an Ratten gezeigt werden, dass es nach intraperitonealer Gabe von 750 µg/100 g Körpergewicht zu einer reversiblen, direkten Hemmung der membranständigen Natrium/Kalium-ATPase in Hirn, Leber und Erythrozyten und zu einem intrazellulären Calciumanstieg in Erythrozyten kommt, ohne den beteiligten Mechanismus zu kennen (Dhanya et al. 2003). Eine Rattenherzperfusion *in vitro* mit 100 µl/l DMSO, was einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-4}$ M und der Dosis, die aus Blutproduktbeutel freigesetzt wird, entspricht, hat eine Abnahme der spontanen Herzfrequenz und der isometrischen, systolischen Spannung, eine Zunahme der diastolischen Spannung, der Phosphorylase-A-Aktivität und eine Verlängerung des PQ- und QT-Intervalls zur Folge (Aronson et al. 1978). An isolierten Magenmuskelpreparationen von Ratten kommt es durch DEHP und stärker noch durch seinen ersten Metabolit MEHP (Methylethylhexylphthalat), der

nach oraler Aufnahme im Dünndarm durch dort ansässige epitheliale Esterasen entsteht (White et al. 1980), zu einer Reduktion Prostaglandin E₂- (PGE₂) und acetylcholininduzierter Kontraktionen (Tavares et al. 1984). Wollte man den o. g. Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration in Erythrozyten auf den Darm übertragen, ließe sich dies in Einklang bringen mit der Tatsache, dass diese Reaktion durch die Anwesenheit von Ethanol noch verstärkt würde. Allerdings gibt es keine weitere Verstärkung in Kombination mit Midazolam, sondern nur der inhibitorischen Wirkung von Fentanyl. In Anbetracht der Tatsache, dass DEHP allein keinerlei Auswirkungen auf die Peristaltik hat, bleibt offen, ob die Dosis zu gering gewählt war, um eine Reaktion zu erkennen, oder ob doch eher die Wirkung von Ethanol in Verbindung mit Fentanyl (s.o.) verstärkt wird.

DMSO hingegen, das durch seine Fähigkeit freie Radikale abzufangen eine vielseitige Substanz mit zytoprotektiven Eigenschaften in Bezug auf Ischämie-, Strahlen- und Kälteschäden (Ravid et al. 1983; Yu et al. 1994) ist, und aufgrund seiner antinozizeptiven und antiinflammatorischen Eigenschaften zur Therapie verschiedener Erkrankungen wie z. B. der chronischen Polyarthritits und anderer Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises eingesetzt wird (Salim 1992; Colucci et al. 2008), scheint als Lösungsmittel nach unseren Untersuchungen wenig Effekte an der Peristaltik hervorzurufen. Immerhin verhielten sich die Segmente auf die Behandlung mit DMSO sehr homogen. So bewirkten 0,1 % und 0,3 % DMSO keinerlei Änderungen der Peristaltik. Lediglich unter 1 % DMSO kam es zu einem leichten, aber nicht signifikanten Anstieg des Schwellendrucks.

Zetler et al. beobachteten eine reversible Hemmung der Kontraktionen des Meerschweinchenileums *in vitro* (>0,1M DMSO) (Zetler et al. 1971) und auch Pestel et al. berichten über eine Verzögerung des Dünndarmtransits in Ratten durch DMSO (1g/kg p.o.) bei nicht gestörter Magenentleerungszeit (Pestel et al. 2006). Letzteres zeigt sich schon bei Bonnardeaux et al. in Form einer Abschwächung der Amplitude und Frequenz von Spontankontraktionen der glatten Muskulatur des Rattenduodenums, -rektums und -uterus *in vitro*

(Bonnardeaux 1971). Wohingegen Sams et al. eine verstärkte Antwort der glatten Magenmuskulatur des Meerschweinchens *in vitro* sowohl auf Muskel- als auch auf Nervenstimulation hin zeigten (Sams 1967). Alle o. g. Effekte traten allerdings bei höheren DMSO-Konzentrationen auf als denen, der hier vorliegenden Experimente. Obgleich in einer Untersuchung von Shiga et al. *in vitro* 1 % intravesikales DMSO, mit maximaler Effektstärke bei 3 % DMSO, eine Relaxation des Musculus detrusor vesicae von Hasen bewirkt (Shiga et al. 2007) wie es in einer anderen Untersuchung auch 10 % und 30 % DMSO vermögen (Birder et al. 1997; Melchior et al. 2003).

Die Beeinflussung von Muskel-, aber auch Nervenzellen durch DMSO begründet sich vor allem in der Störung von Ionenkanälen in Zellmembranen, intra- wie extrazellulärer Elektrolytzusammensetzungen und Enzymsystemen, die an der neuromuskulären Übertragung, Herstellung und Aufrechterhaltung elektrophysiologischer Eigenschaften erregbarer Zellen und der Integrität des kontraktilen Zellapparates beteiligt sind. Ein häufig nachgewiesenes Phänomen ist die Hemmung der Acetylcholinesterase im synaptischen Spalt oder auch an der neuromuskulären Endplatte (Sams et al. 1966; Sams 1967; Evans et al. 1973; Sawada et al. 1975; McLarnon et al. 1986; Kubota et al. 1998). Ebenfalls bekannt ist eine Hemmung der Stickstoffmonoxydsynthetase (McConnell et al. 1999) und eine Beeinflussung der Freisetzung von Stickstoffmonoxyd als einem Neurotransmitter des NANC-Systems aus afferent sensorischen Neuronen der Harnblase von Ratten und glatten Muskelzellen der Harnblasenwand (Birder et al. 1997). Eine Änderung des Ruhemembranpotentials oder der Generierung und Fortleitung eines Aktionspotentials durch DMSO wurde *in vitro* von Ogura et al. eingehend am Musculus papillaris von Meerschweinchenherzen untersucht. Hier wurden Hemmungen der Kalium-, Natrium- und Chloridströme über die Membran und eine Hemmung der intrazellulären Natrium/Kalium-ATPase beobachtet, welche sowohl durch direkte als auch durch indirekte, d. h. beispielsweise durch Änderung des Hydratationstatus von Molekülen, Einflüsse auf die Ionenkanäle erklärt werden. Hinzu kommt die Beeinflussung der Zelle durch DMSO als osmotisch wirksames Teilchen (Ogura et al. 1995). Ähnliche Ergebnisse auf Ebene der Zellhomöostase konnten in anderen Tiermodellen

durch andere Arbeitsgruppen geliefert werden (Burges et al. 1969; Sawada et al. 1975; Evans et al. 1993; Kajiwara et al. 1996; Larsen et al. 1996; Kosik-Bogacka et al. 2002). Auch von einer Störung des intrazellulären Calciumgehaltes (Santos et al. 2003) und einer Herabsetzung der Calciumsensitivität des kontraktile Zellapparates, auch ohne begleitende Störung des zytoplasmatischen Calciumkonzentration, wird berichtet (Shiga et al. 2007).

Aufgrund einer solchen Vielseitigkeit an Wirkmechanismen ist es verwunderlich, dass in unseren Untersuchungen die Dünndarmperistaltik des Meerschweinchens *in vitro* von DMSO unbeeinträchtigt blieb.

Vergleichbar unerwartet verhielt es sich mit der Wirkung von **Detergentien** auf die Dünndarmperistaltik. Dieser eher experimentelle Ansatz in der Reihe dieser Untersuchungen begründet sich in der Annahme, dass Detergentien organische Materialien *in vitro* schädigen und daher in wissenschaftlichen Laboren bei *in vitro*-Experimenten als Reinigungsmittel häufig nicht verwendet werden. Die Konzentrationen waren so gewählt, dass sie einem gewöhnlichen Gebrauch als Haushaltsspülmittel nahe kommen und schließlich die Konzentrationen 10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} und 10^{-4} getestet wurden. Als Testsubstanz diente uns das Gemisch der Detergentien Natrium-Lauryl-Sulfat (SLS) und Cocamidopropylbetain (CAPB) in Form von Pril Original®.

Unsere Untersuchungen erbrachten weder für die extraserosale noch für die endoluminale Exposition der Dünndarmsegmente mit SLS/CAPB signifikante Änderungen der Schwellenwerte. Allenfalls die Streubreite der gewerteten Schwellendrücke über die Gesamtbeobachtungszeit von 60 Minuten bei SLS/CAPB-Zugabe zum Organbad nahm mit steigender Substanzkonzentration zu. Bei endoluminaler Perfusion der Darmsegmente mit SLS/CAPB und zusätzlicher Applikation von Midazolam respektive Fentanyl zum Organbad waren lediglich bei einer SLS/CAPB-Verdünnung von 10^{-4} Änderungen der Schwellenwerte nach Zugabe von Fentanyl respektive Midazolam zum Organbad angedeutet. Diese äußerten sich bei Midazolam in einem dezenten Abfall der Schwellendrücke um ca. 25 Pa, wohingegen bei Fentanyl die

Schwellenwerte im Mittel um etwa 50 Pa im Vergleich zu den Kontrollen mit Tyrodelösung anstiegen.

Die Studienlage zu diesen Stoffen ist recht übersichtlich. Während eine Arbeitsgruppe aus Japan in den 1970er Jahren die Effekte von Detergentien auf die slow-wave-Aktivität am Rattenjejunum untersuchten (Takenaka et al. 1976), liegt das derzeitige Forschungsinteresse vor allem auf der Wirksamkeit von SLS auf Viren, Erregern sexuell übertragbarer Erkrankungen, Spermien und der Haut. Durch seine amphiphile chemische Struktur mit einer hydrophoben Kopfgruppe und einem lipophilen Schwanz ist SLS in der Lage, die Bilayerstruktur von Zell- und Zellorganellmembranen zu „verflüssigen“ und Lipide und Proteine somit aus Lipidmembranen herauszulösen (di Nardo et al. 1996). Dies erleichtert u. a. den Transport anderer Stoffe über die in ihrer Integrität gestörten Membran (Mitragotri et al. 2000). Zudem können durch Zerstörung von Wasserstoffbrückenbindungen Proteine entfaltet und in ihrer Funktion zerstört werden, so dass z. B. Viren mit Hüllstrukturen wie der Hülle von Herpes simplex Virus 1 und 2 u. a. inaktiviert werden (Piret et al. 2002). Genaue Angaben zur Wirkweise von SLS sind in der Literatur aber kaum zu finden. Es wurde schon mehrfach eine Interaktion von SLS mit membranständigen Calcium-ATPasen angenommen (Piret et al. 2002; Haineault et al. 2003) und es konnte 1971 durch Perkins und Kollegen eine Erhöhung der Adenylatcyclaseaktivität durch unspezifische Membranstrukturveränderungen im Rattencortex und nachfolgendem intrazellulärem cAMP-Anstieg (zyklisches Adenosinmonophosphat) nachgewiesen werden (Perkins et al. 1971). Ein Anstieg der intrazellulären cAMP-Konzentration durch SLS wurde auch im Rattenintestinum beobachtet, in Folge dessen die Absorption anderer Stoffe über die Darmwand zunimmt (Briseid et al. 1976). Obwohl oft von einer unspezifischen, konzentrationsabhängigen Reaktion von Lösemitteln wie u. a. auf die Kontraktilität glatter Muskelzellen des Meerschweinchenileums ausgegangen wird (Braak et al. 1990), ist SLS in Konzentrationen von $2,5 \times 10^{-4}$ – 5×10^{-4} in der Lage, die Zwerchfellkontraktionen von Ratten während direkter und indirekter Stimulation der Zwerchfellmuskulatur und das Aktionspotential des

Nervus phrenicus zu hemmen. Diese inhibitorische Wirkung fällt stärker aus, wenn sich das Präparat in calcium- oder kaliumhaltiger Lösung befindet und nimmt in kaliumfreier Lösung und bei Zugabe von Lidocain ab (Herlofson et al. 1996). Neben einer direkten, konzentrations- und zeitabhängigen Zerstörung des Dünndarmepithels der Goldbrasse durch oral aufgenommenes Natrium-Dodecyl-Sulfat (SDS, Sodium-Dodecyl-Phosphate), einem SLS verwandtem Detergens, in Konzentrationen von 5-15 mg/l (Ribelles et al. 1995) und der Erhöhung der transmuralen Potentialdifferenz durch SDS im Rattenjejunum (Feldman et al. 1975) sind in Zusammenschau mit unseren Versuchen die Ergebnisse einer Arbeitsgruppe aus Wisconsin, USA von besonderer Bedeutung. Fox und Kollegen wiesen eine selektive Ablation des Plexus myentericus und Störung der Verteilung peptiderger Neurone (Somatostatin, Substanz P, Metenkephalin und VIP) im Rattenjejunum durch Surfactants, u. a. auch 1 %-igem SLS nach (Fox et al. 1983). Auffällig an dieser Arbeit ist die nahezu ausschließliche Wirkung der getesteten Detergentien auf den Plexus myentericus mit Veränderungen der elektrischen Darmaktivität ohne Beeinträchtigung des Plexus submucosus und nur gering ausgeprägter direkter, schädlicher Wirkung auf Mucosazellen. Auf der anderen Seite führt die orale Aufnahme von SDS in einem anderen Versuchsmodell am Rattenmagen nicht zu einer Verzögerung der Magenentleerungszeit (Tomlin et al. 1993).

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass es sich um ein *in vitro*- und zudem um ein Tiermodell handelt. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den menschlichen Magen-Darm-Trakt zu zeigen bzw. zu bestätigen. Der Darm des Meerschweinchens ist in seinen Neurotransmittersystemen sehr gut untersucht (Bertaccini et al. 1987; Waterman et al. 1994a; Costa et al. 1996) und kommt dem des Menschen sehr nahe (Waterman et al. 1994b; Furness et al. 1995), auch wenn er laut Spencer et al. (1999) nicht dem nach Starling und Bayliss postuliertem „law of the intestine“ (Bayliss et al. 1899) gehorcht. Dieses setzt im Zuge einer peristaltischen Welle eine gegenläufige Innervation der zirkulären und longitudinalen Darmwandmuskulatur vor und nach einem Bolus voraus, die

eine davon ausgehende aborale Relaxation und orale Kontraktion induziert und die Propulsion des Darminhaltes ermöglicht (Spencer et al. 1999).

5. Zusammenfassung

Die Magen-Darm-Motilität von Patienten auf Intensivstationen unterliegt vielen hemmenden Einflüssen. Außer der Wirkung inhibitorisch wirksamer Pharmaka wäre denkbar, dass auch organische Lösungsmittel (Ethanol, DMSO), Detergentien (SLS/CAPB) und aus Perfusor- und Infusionsleitungen freigesetzte Weichmacher (Phthalate) die Dünndarmperistaltik *per se* beeinflussen oder die Wirkung inhibitorisch wirksamer Pharmaka (Midazolam, Fentanyl) modulieren.

Die Untersuchungen wurden *in vitro* am Dünndarm des Meerschweinchens durchgeführt. Der Parameter zur Beurteilung der inhibitorischen Wirkung auf die Peristaltik einer dem Organbad zugegebenen Substanz war die Änderung des intraluminalen Schwellendrucks Δ PPT (peristaltic pressure threshold) zur Auslösung von Peristaltik. Ein Anstieg der PPT zeigt eine inhibitorische Wirkung an.

In der Zusammenschau der Ergebnisse aller Experimente der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass weder DEHP, Ethanol, DMSO noch Detergentien (SLS/CAPB) *per se* eine konzentrationsabhängige, signifikant hemmende Wirkung auf die Dünndarmperistaltik haben. Jedoch vermochten Ethanol, sowohl extraserosal dem Organbad zugegeben als auch endoluminal durch das Dünndarmsegment perfundiert, und in Ethanol gelöstes DEHP die motilitätshemmende Wirkung von Midazolam bzw. Fentanyl zu verstärken.

In den Untersuchungen fiel auf, dass die Schwellendruckänderungen Δ PPT nach Zugabe von Ethanol, unabhängig von der jeweiligen Konzentration, sehr heterogen waren. Um den Mechanismus der Ethanolwirkung genauer zu charakterisieren, wurden Darmsegmente vor der Zugabe von Ethanol mit Antagonisten bzw. Blockern vermuteter Signaltransduktionswege vorbehandelt. Eingesetzt wurden Naloxon (Antagonist an Opioidrezeptoren), Apamin (Inhibitor von calciumaktivierten small conductance Kaliumkanälen), Bicucullin (Antagonist am GABA_A-Rezeptor), Lorglumid (Antagonist am Cholecystokinin CCK_A-Rezeptor) und YM022 (selektiver Antagonist am Gastrin/CCK_B-Rezeptor). Diese Antagonisierungsversuche ergaben keine signifikanten

Ergebnisse, da Ethanol in der Konzentration mit inhibitorischer Wirkung auf die Peristaltik zu heterogene Änderungen der PPT hervorrief.

Unter klinischen Gesichtspunkten könnten die hemmende Wirkung von Ethanol auf die Peristaltik sowie die Wirkungsverstärkung des motilitätshemmenden Midazolam und Fentanyl durch Ethanol bzw. in Ethanol gelöstes DEHP Faktoren sein, die zur Hemmung der Darmmotilität bei Intensivpatienten beitragen.

6 Literaturverzeichnis

- Addolorato, G., Capristo, E., Gasbarrini, G. und Stefanini, G. F.** (1997). Depression, alcohol abuse and oro-caecal transit time. *Gut* 41 (3): 417-8.
- Aktorries, S., Förstermann, U., Hofmann, F. B. und Starke, F.** (2005). Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. München Jena, Elsevier.
- al-Balool, F., Debnam, E. S. und Mazzanti, R.** (1989). Acute and chronic exposure to ethanol and the electrophysiology of the brush border membrane of rat small intestine. *Gut* 30 (12): 1698-703.
- Alvarez, C., Prunell, M. und Boada, J.** (1998). Effect of naloxone on behavioral changes induced by subchronic administration of ethanol in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 59 (4): 961-5.
- Amrein, R., Hetzel, W., Bonetti, E. P. und Gerecke, M.** (1988). Clinical pharmacology of dormicum (midazolam) and anaxate (flumazenil). *Resuscitation* 16 Suppl: S5-27.
- Aronson, C. E., Serlick, E. R. und Preti, G.** (1978). Effects of di-2-ethylhexyl phthalate on the isolated perfused rat heart. *Toxicol Appl Pharmacol* 44 (1): 155-69.
- Barboriak, J. J. und Meade, R. C.** (1970). Effect of alcohol on gastric emptying in man. *Am J Clin Nutr* 23 (9): 1151-3.
- Bayliss, W. M. und Starling, E. H.** (1899). The movements and innervation of the small intestine. *J Physiol* 24 (2): 99-143.
- Bertaccini, G. und Coruzzi, G.** (1987). Receptors in the gastrointestinal tract. *Pharmacol Res Commun* 19 (2): 87-118.

- Birder, L. A., Kanai, A. J. und de Groat, W. C.** (1997). DMSO: effect on bladder afferent neurons and nitric oxide release. *J Urol* 158 (5): 1989-95.
- Bode, C. und Bode, J. C.** (2003). Effect of alcohol consumption on the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 17 (4): 575-92.
- Boeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Herman, A. G. und Van Maercke, Y. M.** (1993). Involvement of nitric oxide in the inhibitory innervation of the human isolated colon. *Gastroenterology* 104 (3): 690-7.
- Bonnardeaux, J. L.** (1971). A comparison of the effects of three organic solvents: dimethyl sulfoxide, formamide, and propylene glycol, on spontaneous activity of isolated smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 49 (7): 632-41.
- Braak, K. und Frey, H. H.** (1990). Effects of solvents and detergents on the contractions of isolated smooth muscle preparations. *J Pharm Pharmacol* 42 (12): 837-41.
- Briseid, G., Briseid, K. und Kirkevold, K.** (1976). Increased intestinal absorption in the rat caused by sodium lauryl sulphate, and its possible relation to the cAMP system. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 292 (2): 137-44.
- Brodie, C. und Sampson, S. R.** (1987). Effects of ethanol on electrophysiological properties of rat skeletal myotubes in culture. *J Pharmacol Exp Ther* 242 (3): 1098-103.
- Burges, R. A., Blackburn, K. J. und Spilker, B. A.** (1969). Effects of dimethyl sulphoxide, dimethyl formamide and dimethyl acetamide on myocardial contractility and enzyme activity. *Life Sci* 8 (23): 1325-35.

- Castro, C. A., Hogan, J. B., Benson, K. A., Shehata, C. W. und Landauer, M. R.** (1995). Behavioral effects of vehicles: DMSO, ethanol, Tween-20, Tween-80, and emulphor-620. *Pharmacol Biochem Behav* 50 (4): 521-6.
- Charles, F. und Phillips, S. F.** (1995). Effects of ethanol, xylose, and glucose on canine jejunal motility. *Am J Physiol* 269 (3 Pt 1): G363-9.
- Charness, M. E.** (1989). Ethanol and opioid receptor signalling. *Experientia* 45 (5): 418-28.
- Collins, A. C., Smolen, A., Wayman, A. L. und Marks, M. J.** (1984). Ethanol and temperature effects on five membrane bound enzymes. *Alcohol* 1 (3): 237-46.
- Colucci, M., Maione, F., Bonito, M. C., Piscopo, A., Di Giannuario, A. und Pieretti, S.** (2008). New insights of dimethyl sulphoxide effects (DMSO) on experimental in vivo models of nociception and inflammation. *Pharmacol Res* 57 (6): 419-25.
- Costa, M., Brookes, S. J., Steele, P. A., Gibbins, I., Burcher, E. und Kandiah, C. J.** (1996). Neurochemical classification of myenteric neurons in the guinea-pig ileum. *Neuroscience* 75 (3): 949-67.
- Costa, M., Furness, J. B. und Humphreys, C. M.** (1986). Apamin distinguishes two types of relaxation mediated by enteric nerves in the guinea-pig gastrointestinal tract. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 332 (1): 79-88.
- Cserhati, T., Forgacs, E. und Oros, G.** (2002). Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environ Int* 28 (5): 337-48.
- De Luca, A. und Coupar, I. M.** (1996). Insights into opioid action in the intestinal tract. *Pharmacol Ther* 69 (2): 103-15.

- De Schepper, H. U., Cremonini, F., Park, M. I. und Camilleri, M. (2004).**
Opioids and the gut: pharmacology and current clinical experience.
Neurogastroenterol Motil 16 (4): 383-94.
- Debas, H. T., Farooq, O. und Grossman, M. I. (1975).** Inhibition of gastric emptying is a physiological action of cholecystokinin. *Gastroenterology* 68 (5 Pt 1): 1211-7.
- Demol, P., Singer, M. V., Hotz, J., Eysselein, V. und Goebell, H. (1985).**
Different actions of intravenous ethanol on basal (= interdigestive) secretion of gastric acid, pancreatic enzymes and bile acids and gastrointestinal motility in man. *Alcohol* 20 (1): 19-26.
- Demol, P., Singer, M. V., Hotz, J., Hoffmann, U., Hanssen, L. E., Eysselein, V. E. und Goebell, H. (1986).** Action of intragastric ethanol on pancreatic exocrine secretion in relation to the interdigestive gastrointestinal motility in humans. *Arch Int Physiol Biochim* 94 (3): 251-9.
- Dhanya, C. R., Indu, A. R., Deepadevi, K. V. und Kurup, P. A. (2003).**
Inhibition of membrane Na(+)-K+ Atpase of the brain, liver and RBC in rats administered di(2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP) a plasticizer used in polyvinyl chloride (PVC) blood storage bags. *Indian J Exp Biol* 41 (8): 814-20.
- di Nardo, A., Sugino, K., Wertz, P., Ademola, J. und Maibach, H. I. (1996).**
Sodium lauryl sulfate (SLS) induced irritant contact dermatitis: a correlation study between ceramides and in vivo parameters of irritation. *Contact Dermatitis* 35 (2): 86-91.
- dtv-Lexikon (1990).** Band 18 Sud-Tur. dtv Lexikon. Mannheim, München, F.A. Brockhaus GmbH und Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH & Co. KG.
- Evans, M. H. und Jaggard, P. J. (1973).** Some effects of dimethyl sulphoxide (DMSO) on the frog neuromuscular junction. *Br J Pharmacol* 49 (4): 651-7.

- Evans, M. S., Reid, K. H. und Sharp, J. B., Jr.** (1993). Dimethylsulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: a possible mechanism of analgesia. *Neurosci Lett* 150 (2): 145-8.
- Faingold, C. L., N'Gouemo, P. und Riaz, A.** (1998). Ethanol and neurotransmitter interactions--from molecular to integrative effects. *Prog Neurobiol* 55 (5): 509-35.
- Feldman, D. S., Rabinovitch, S. und Feldman, E. B.** (1975). Surfactants and bioelectric properties of rat jejunum. *Am J Dig Dis* 20 (9): 866-70.
- Fox, D. A., Epstein, M. L. und Bass, P.** (1983). Surfactants selectively ablate enteric neurons of the rat jejunum. *J Pharmacol Exp Ther* 227 (2): 538-44.
- Fruhwald, S., Holzer, P. und Metzler, H.** (2008). Gastrointestinal motility in acute illness. *Wien Klin Wochenschr* 120 (1-2): 6-17.
- Furness, J. B., Young, H. M., Pompolo, S., Bornstein, J. C., Kunze, W. A. und McConalogue, K.** (1995). Plurichemical transmission and chemical coding of neurons in the digestive tract. *Gastroenterology* 108 (2): 554-63.
- Ganning, A. E., Brunk, U. und Dallner, G.** (1984). Phthalate esters and their effect on the liver. *Hepatology* 4 (3): 541-7.
- Ganning, A. E., Brunk, U., Edlund, C., Elhammer, A. und Dallner, G.** (1987). Effects of prolonged administration of phthalate ester on the liver. *Environ Health Perspect* 73: 251-8.
- Gayathri, N. S., Dhanya, C. R., Indu, A. R. und Kurup, P. A.** (2004). Changes in some hormones by low doses of di (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP), a commonly used plasticizer in PVC blood storage bags & medical tubing. *Indian J Med Res* 119 (4): 139-44.

- Green, J.** (2002). Plastic dangers. Leaching DEHP poses potential risk. *Mater Manag Health Care* 11 (9): 14-5.
- Habermann, E. und Reiz, K. G.** (1965). [On the biochemistry of bee venom peptides, melittin and apamin]. *Biochem Z* 343 (2): 192-203.
- Haineault, C., Gourde, P., Perron, S., Desormeaux, A., Piret, J., Omar, R. F., Tremblay, R. R. und Bergeron, M. G.** (2003). Thermoreversible gel formulation containing sodium lauryl sulfate as a potential contraceptive device. *Biol Reprod* 69 (2): 687-94.
- Hauser, R., Duty, S., Godfrey-Bailey, L. und Calafat, A. M.** (2004). Medications as a source of human exposure to phthalates. *Environ Health Perspect* 112 (6): 751-3.
- Henkel.** (2009). Abgerufen am 11.03.2009 von <http://www.henkel.de/verbraucherinformation-15122.htm>.
- Herbert, M. K.** (2001). Die Magen-Darm-Atonie beim Intensivpatienten. Mechanismen, Ursachen, Therapie. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 36 (6): 337-58; discussion 359, 401.
- Herbert, M. K., Roth-Goldbrunner, S., Holzer, P. und Roewer, N.** (2002). Clonidine and dexmedetomidine potently inhibit peristalsis in the Guinea pig ileum in vitro. *Anesthesiology* 97 (6): 1491-9.
- Herbert, M. K., Weis, R., Holzer, P. und Roewer, N.** (2005). Peristalsis in the Guinea pig small intestine in vitro is impaired by acetaminophen but not aspirin and dipyrrone. *Anesth Analg* 100 (1): 120-7.
- Herlofson, B. B., Brodin, P. und Roed, A.** (1996). The effects of sodium lauryl sulfate on the phrenic nerve diaphragm preparation from the rat. *Pharmacol Toxicol* 79 (5): 217-24.

- Holte, K. und Kehlet, H.** (2000). Postoperative ileus: a preventable event. *Br J Surg* 87 (11): 1480-93.
- Holzer, P., Schluet, W. und Maggi, C. A.** (1995). Substance P stimulates and inhibits intestinal peristalsis via distinct receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 274 (1): 322-8.
- Huang, S. C.** (2000). Functional CCK-A and Y2 receptors in guinea pig esophagus. *Regul Pept* 88 (1-3): 55-60.
- Hugues, M., Romey, G., Duval, D., Vincent, J. P. und Lazdunski, M.** (1982). Apamin as a selective blocker of the calcium-dependent potassium channel in neuroblastoma cells: voltage-clamp and biochemical characterization of the toxin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79 (4): 1308-12.
- Hyytia, P. und Sinclair, J. D.** (1993). Responding for oral ethanol after naloxone treatment by alcohol-preferring AA rats. *Alcohol Clin Exp Res* 17 (3): 631-6.
- Isenberg, J. S., Kamendulis, L. M., Smith, J. H., Ackley, D. C., Pugh, G., Jr., Lington, A. W. und Klaunig, J. E.** (2000). Effects of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) on gap-junctional intercellular communication (GJIC), DNA synthesis, and peroxisomal beta oxidation (PBOX) in rat, mouse, and hamster liver. *Toxicol Sci* 56 (1): 73-85.
- Israel, Y., Valenzuela, J. E., Salazar, I. und Ugarte, G.** (1969). Alcohol and amino acid transport in the human small intestine. *J Nutr* 98 (2): 222-4.
- Izbeki, F., Wittmann, T., Csati, S., Jeszenszky, E. und Lonovics, J.** (2001). Opposite effects of acute and chronic administration of alcohol on gastric emptying and small bowel transit in rat. *Alcohol Alcohol* 36 (4): 304-8.

- Izbeki, F., Wittmann, T., Csati, S. und Lonovics, J.** (2004). The mechanisms of the inhibitory effect of ethanol on gastric emptying involve type A CCK receptors. *Regul Pept* 117 (2): 101-5.
- Izbeki, F., Wittmann, T., Jancso, G., Csati, S. und Lonovics, J.** (2002). Inhibition of gastric emptying and small intestinal transit by ethanol is mediated by capsaicin-sensitive afferent nerves. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 365 (1): 17-21.
- Jacob, S. W. und Herschler, R.** (1986). Pharmacology of DMSO. *Cryobiology* 23 (1): 14-27.
- Jaeger, R. J. und Rubin, R. J.** (1972). Migration of a phthalate ester plasticizer from polyvinyl chloride blood bags into stored human blood and its localization in human tissues. *N Engl J Med* 287 (22): 1114-8.
- Jian, R., Cortot, A., Ducrot, F., Jobin, G., Chayvialle, J. A. und Modigliani, R.** (1986). Effect of ethanol ingestion on postprandial gastric emptying and secretion, biliopancreatic secretions, and duodenal absorption in man. *Dig Dis Sci* 31 (6): 604-14.
- Kajiwara, I., Kawamura, K., Hiratsuka, Y. und Takebayashi, S.** (1996). The influence of oxygen free radical scavengers on the reduction of membrane-bound Na(+)-K(+)-ATPase activity induced by ischemia/reperfusion injury in the canine kidney. *Nephron* 72 (4): 637-43.
- Kalant, H. und Woo, N.** (1981). Electrophysiological effects of ethanol on the nervous system. *Pharmacol Ther* 14 (3): 431-57.
- Knight, L. C., Maurer, A. H., Wikander, R., Krevsky, B., Malmud, L. S. und Fisher, R. S.** (1992). Effect of ethyl alcohol on motor function in canine stomach. *Am J Physiol* 262 (2 Pt 1): G223-30.

- Koch, H. M., Bolt, H. M., Preuss, R., Eckstein, R., Weisbach, V. und Angerer, J.** (2005). Intravenous exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): metabolites of DEHP in urine after a voluntary platelet donation. *Arch Toxicol* 79 (12): 689-93.
- Koch, H. M., Drexler, H. und Angerer, J.** (2003). An estimation of the daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and other phthalates in the general population. *Int J Hyg Environ Health* 206 (2): 77-83.
- Koch, H. M., Preuss, R. und Angerer, J.** (2006). Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *Int J Androl* 29 (1): 155-65; discussion 181-5.
- Kolbel, C. B., Singer, M. V., Mohle, T., Heinzl, C., Eysselein, V. und Goebell, H.** (1986). Action of intravenous ethanol and atropine on the secretion of gastric acid, pancreatic enzymes, and bile acids and the motility of the upper gastrointestinal tract in nonalcoholic humans. *Pancreas* 1 (3): 211-8.
- Kosik-Bogacka, D. I., Banach, B., Tyrakowski, T. und Wojciechowska, I.** (2002). Effect of capsaicin and dimethyl sulfoxide on ion transport in the selected experimental models. *Pol J Pharmacol* 54 (3): 267-74.
- Krecsmarik, M., Izbeki, F., Bagyanszki, M., Linke, N., Bodi, N., Kaszaki, J., Katarova, Z., Szabo, A., Fekete, E. und Wittmann, T.** (2006). Chronic ethanol exposure impairs neuronal nitric oxide synthase in the rat intestine. *Alcohol Clin Exp Res* 30 (6): 967-73.
- Krishnamra, N. und Limlomwongse, L.** (1987). The in vivo effect of ethanol on gastrointestinal motility and gastrointestinal handling of calcium in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 33 (1): 89-98.
- Kubota, K., Fujibayashi, K. und Saito, K.** (1998). Enhancing effect of dimethyl sulfoxide on nociceptive transmission in isolated spinal cord of newborn rat. *Eur J Pharmacol* 351 (2): 173-9.

- Kurz, A. und Sessler, D. I.** (2003). Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs* 63 (7): 649-71.
- Langley, J. N.** (1921). *The autonomic nervous system*. London, Heffner.
- Larsen, J., Gasser, K. und Hahin, R.** (1996). An analysis of dimethylsulfoxide-induced action potential block: a comparative study of DMSO and other aliphatic water soluble solutes. *Toxicol Appl Pharmacol* 140 (2): 296-314.
- Lavo, B., Colombel, J. F., Knutsson, L. und Hallgren, R.** (1992). Acute exposure of small intestine to ethanol induces mucosal leakage and prostaglandin E2 synthesis. *Gastroenterology* 102 (2): 468-73.
- Leidreiter, H. I., Gruning, B. und Kaseborn, D.** (1997). Amphoteric surfactants: processing, product composition and properties. *Int J Cosmet Sci* 19 (5): 239-53.
- Liu, K. J., Wang, S. L., Xie, D. P., Liu, P. Y., Wang, P. S. und Liu, C. Y.** (2006). Sexual differences of the inhibitory effect of ethanol on gastrointestinal motility: in vivo and in vitro studies. *Chin J Physiol* 49 (4): 199-203.
- Lopez del Pino, V., Hegazy, E., Hauber, G., Remmer, H. und Schwenk, M.** (1983). Isolated intestinal cells of guinea pig: a suitable model for assessing direct toxic effects of ethanol on the mucosa of the upper small intestine. *Arch Toxicol Suppl* 6: 322-6.
- Lu, G., Sarr, M. G. und Szurszewski, J. H.** (1997). Effects of ethyl alcohol on canine jejunal circular smooth muscle. *Dig Dis Sci* 42 (12): 2403-10.
- Makovec, F., Chiste, R., Bani, M., Pacini, M. A., Setnikar, I. und Rovati, L. A.** (1985). New glutaramic acid derivatives with potent competitive and specific cholecystokinin-antagonistic activity. *Arzneimittelforschung* 35 (7): 1048-51.

- Mann, A. H., Price, S. C., Mitchell, F. E., Grasso, P., Hinton, R. H. und Bridges, J. W.** (1985). Comparison of the short-term effects of di(2-ethylhexyl) phthalate, di(n-hexyl) phthalate, and di(n-octyl) phthalate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 77 (1): 116-32.
- Marway, J. S., Bateman, C. J. und Preedy, V. R.** (1993). The extraction of smooth muscle contractile and noncontractile proteins from the rat small intestine: measurement of protein synthesis and effects of ethanol toxicity. *Anal Biochem* 209 (1): 95-103.
- Marway, J. S., Bonner, A. B. und Preedy, V. R.** (1996). Characterization of contractile and non-contractile protein synthesis in the stomach, small and large intestine and caecum of the rat, and response to acute ethanol dosage. *Addict Biol* 1 (1): 85-92.
- McConnell, E. J., Wagoner, M. J., Keenan, C. E. und Raess, B. U.** (1999). Inhibition of calmodulin-stimulated (Ca²⁺ + Mg²⁺)-ATPase activity by dimethyl sulfoxide. *Biochem Pharmacol* 57 (1): 39-44.
- McLarnon, J. G., Saint, D. A. und Quastel, D. M.** (1986). The actions of dimethyl sulfoxide on neuromuscular transmission. *Mol Pharmacol* 30 (6): 631-8.
- Mehendale, S. R. und Yuan, C. S.** (2006). Opioid-induced gastrointestinal dysfunction. *Dig Dis* 24 (1-2): 105-12.
- Melchior, D., Packer, C. S., Johnson, T. C. und Kaefer, M.** (2003). Dimethyl sulfoxide: does it change the functional properties of the bladder wall? *J Urol* 170 (1): 253-8.
- Mincis, M., Chebli, J. M., Khouri, S. T. und Mincis, R.** (1995). [Ethanol and the gastrointestinal tract]. *Arq Gastroenterol* 32 (3): 131-9.

- Mitragotri, S., Ray, D., Farrell, J., Tang, H., Yu, B., Kost, J., Blankschtein, D. und Langer, R.** (2000). Synergistic effect of low-frequency ultrasound and sodium lauryl sulfate on transdermal transport. *J Pharm Sci* 89 (7): 892-900.
- Mizuta, Y., Takahashi, T. und Owyang, C.** (1999). Nitrenergic regulation of colonic transit in rats. *Am J Physiol* 277 (2 Pt 1): G275-9.
- Nasreen, R., Shaikh, H. A., Ali, S. T. und Ahmad, S. I.** (1989). Effect of triturated dilutions of ethanol on the peristaltic contractions of isolated rabbit intestine. *Pak J Pharm Sci* 2 (2): 55-74.
- Nieminen, K.** (1987). Effects of ethanol on the electrical membrane properties of cultured human sensory neurons. *Alcohol Alcohol Suppl* 1: 719-23.
- Nishida, A., Miyata, K., Tsutsumi, R., Yuki, H., Akuzawa, S., Kobayashi, A., Kamato, T., Ito, H., Yamano, M., Katuyama, Y. und et al.** (1994). Pharmacological profile of (R)-1-[2,3-dihydro-1-(2'-methylphenacyl)-2-oxo-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin-3-yl]-3-(3-methylphenyl)urea (YM022), a new potent and selective gastrin/cholecystokinin-B receptor antagonist, in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 269 (2): 725-31.
- Ogura, T., Shuba, L. M. und McDonald, T. F.** (1995). Action potentials, ionic currents and cell water in guinea pig ventricular preparations exposed to dimethyl sulfoxide. *J Pharmacol Exp Ther* 273 (3): 1273-86.
- Olsen, R. W., Ban, M. und Miller, T.** (1976). Studies on the neuropharmacological activity of bicuculline and related compounds. *Brain Res* 102 (2): 283-99.
- Pastor, R. und Aragon, C. M.** (2006). The role of opioid receptor subtypes in the development of behavioral sensitization to ethanol. *Neuropsychopharmacology* 31 (7): 1489-99.

- Perkins, J. P. und Moore, M. M.** (1971). Adenyl cyclase of rat cerebral cortex. Activation of sodium fluoride and detergents. *J Biol Chem* 246 (1): 62-8.
- Pestel, S., Martin, H. J., Maier, G. M. und Guth, B.** (2006). Effect of commonly used vehicles on gastrointestinal, renal, and liver function in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* 54 (2): 200-14.
- Piret, J., Roy, S., Gagnon, M., Landry, S., Desormeaux, A., Omar, R. F. und Bergeron, M. G.** (2002). Comparative study of mechanisms of herpes simplex virus inactivation by sodium lauryl sulfate and n-lauroylsarcosine. *Antimicrob Agents Chemother* 46 (9): 2933-42.
- Pohorecky, L. A. und Brick, J.** (1988). Pharmacology of ethanol. *Pharmacol Ther* 36 (2-3): 335-427.
- Prunell, M., Boada, J., Feria, M. und Benitez, M. A.** (1987). Antagonism of the stimulant and depressant effects of ethanol in rats by naloxone. *Psychopharmacology (Berl)* 92 (2): 215-8.
- Ravid, M., Van-Dyk, D., Bernheim, J. und Kedar, I.** (1983). The protective effect of dimethyl sulfoxide in experimental ischemia of the intestine. *Ann N Y Acad Sci* 411: 100-4.
- Ribelles, A., Carrasco, M. C., Rosety, M. und Aldana, M.** (1995). A histochemical study of the biological effects of sodium dodecyl sulfate on the intestine of the gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Ecotoxicol Environ Saf* 32 (2): 131-8.
- Robles, E. A., Mezey, E., Halsted, C. H. und Schuster, M. M.** (1974). Effect of ethanol on motility of the small intestine. *Johns Hopkins Med J* 135 (1): 17-24.

- Roth, B., Herkenrath, P., Lehmann, H. J., Ohles, H. D., Homig, H. J., Benz-Bohm, G., Kreuder, J. und Younossi-Hartenstein, A.** (1988). Di-(2-ethylhexyl)-phthalate as plasticizer in PVC respiratory tubing systems: indications of hazardous effects on pulmonary function in mechanically ventilated, preterm infants. *Eur J Pediatr* 147 (1): 41-6.
- Rusyn, I., Peters, J. M. und Cunningham, M. L.** (2006). Modes of action and species-specific effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the liver. *Crit Rev Toxicol* 36 (5): 459-79.
- Saland, L. C., Hastings, C. M., Abeyta, A. und Chavez, J. B.** (2005). Chronic ethanol modulates delta and mu-opioid receptor expression in rat CNS: immunohistochemical analysis with quantitative confocal microscopy. *Neurosci Lett* 381 (1-2): 163-8.
- Salim, A. S.** (1992). Oxygen-derived free-radical scavengers prolong survival in gastric cancer. *Chemotherapy* 38 (2): 135-44.
- Sams, W. M., Jr.** (1967). The effects of dimethyl sulfoxide on nerve conduction. *Ann N Y Acad Sci* 141 (1): 242-7.
- Sams, W. M., Jr., Carroll, N. V. und Crantz, P. L.** (1966). Effect of dimethylsulfoxide on isolated-innervated skeletal, smooth, and cardiac muscle. *Proc Soc Exp Biol Med* 122 (1): 103-7.
- Sanders, K. M. und Bauer, A. J.** (1982). Ethyl alcohol interferes with excitation-contraction mechanisms of canine antral muscle. *Am J Physiol* 242 (3): G222-30.
- Santos, N. C., Figueira-Coelho, J., Martins-Silva, J. und Saldanha, C.** (2003). Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochem Pharmacol* 65 (7): 1035-41.

- Sawada, M. und Sato, M.** (1975). The effect of dimethyl sulfoxide on the neuronal excitability and cholinergic transmission in *Aplysia* ganglion cells. *Ann N Y Acad Sci* 243: 337-57.
- Schemann, M., Reiche, D. und Neunlist, M.** (1999). Properties and functional aspects of the enteric nervous system. Problems of the gastrointestinal tract in anaesthesia, the perioperative period, and intensive care. M. K. Herbert, P. Holzer and N. Roewer. Berlin Heidelberg, Springer. S. 3-11
- Schmidt, T., Eberle, R., Pfeiffer, A. und Kaess, H.** (1997). Effect of ethanol on postprandial duodenojejunal motility in humans. *Dig Dis Sci* 42 (8): 1628-33.
- Scroggs, R., Abruzzo, M. und Advokat, C.** (1986). Effects of ethanol on gastrointestinal transit in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 10 (4): 452-6.
- Seil, F. J., Leiman, A. L., Herman, M. M. und Fisk, R. A.** (1977). Direct effects of ethanol on central nervous system cultures: an electrophysiological and morphological study. *Exp Neurol* 55 (2): 390-404.
- Shahbazian, A., Heinemann, A., Schmidhammer, H., Beubler, E., Holzer-Petsche, U. und Holzer, P.** (2002). Involvement of mu- and kappa-, but not delta-, opioid receptors in the peristaltic motor depression caused by endogenous and exogenous opioids in the guinea-pig intestine. *Br J Pharmacol* 135 (3): 741-50.
- Shiga, K. I., Hirano, K., Nishimura, J., Niuro, N., Naito, S. und Kanaide, H.** (2007). Dimethyl sulphoxide relaxes rabbit detrusor muscle by decreasing the Ca²⁺ sensitivity of the contractile apparatus. *Br J Pharmacol* 151 (7): 1014-24.
- Sjoberg, P., Lindquist, N. G., Montin, G. und Ploen, L.** (1985). Effects of repeated intravenous infusions of the plasticizer di-(2-ethylhexyl) phthalate in young male rats. *Arch Toxicol* 58 (2): 78-83.

- Spencer, N., Walsh, M. und Smith, T. K.** (1999). Does the guinea-pig ileum obey the 'law of the intestine'? *J Physiol* 517 (Pt 3): 889-98.
- Takenaka, A. und Ichikawa, S.** (1976). The effects of detergents on the slow wave frequency of rabbit jejunum. *Nippon Seirigaku Zasshi* 38 (5): 240-2.
- Tavares, I. A., Bennett, A., Gaffen, J. D., Morris, H. R. und Taylor, G. W.** (1984). The biological activities of phthalate esters on rat gastric muscle. *Eur J Pharmacol* 106 (2): 449-52.
- Tickner, J. A., Schettler, T., Guidotti, T., McCally, M. und Rossi, M.** (2001). Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. *Am J Ind Med* 39 (1): 100-11.
- Tomlin, J., Brown, N., Ellis, A., Carlsson, A., Bogentoft, C. und Read, N. W.** (1993). The effect of liquid fibre on gastric emptying in the rat and humans and the distribution of small intestinal contents in the rat. *Gut* 34 (9): 1177-81.
- Voss, C., Zerban, H., Bannasch, P. und Berger, M. R.** (2005). Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology* 206 (3): 359-71.
- Walser, A., Benjamin, L. E., Flynn, T., Mason, C., Schwartz, R. und Fryer, R. I.** (1978). Quinazolines and 1,4-benzodiazepines. 84. Synthesis and reactions of imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepines. *J. Org. Chem.* 43 (5): 936-944.
- Wang, T., Uezato, T. und Miura, N.** (2001). Inhibition effects of di(2-ethylhexyl)phthalate on mouse-liver lysosomal vacuolar H(+)-ATPase. *J Cell Biochem* 81 (2): 295-303.
- Waterman, S. A. und Costa, M.** (1994a). The role of enteric inhibitory motoneurons in peristalsis in the isolated guinea-pig small intestine. *J Physiol* 477 (Pt 3): 459-68.

- Waterman, S. A., Tonini, M. und Costa, M.** (1994b). The role of ascending excitatory and descending inhibitory pathways in peristalsis in the isolated guinea-pig small intestine. *J Physiol* 481 (Pt 1): 223-32.
- Weis, R.** (2006). Der Einfluss von Paracetamol, Acetylsalicyldäure, Metamizol und Tramadol auf die Darmperistaltik. In vitro-Untersuchungen am Dünndarm des Meerschweinchens. Inauguraldissertation.
- Wenderoth, H.** (2002). Wirkung des Benzodiazepins Midazolam auf die Dünndarmperistaltik des Meerschweinchens in vitro. Inauguraldissertation.
- White, R. D., Carter, D. E., Earnest, D. und Mueller, J.** (1980). Absorption and metabolism of three phthalate diesters by the rat small intestine. *Food Cosmet Toxicol* 18 (4): 383-6.
- Wittassek, M., Heger, W., Koch, H. M., Becker, K., Angerer, J. und Kolossa-Gehring, M.** (2007a). Daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) by German children -- A comparison of two estimation models based on urinary DEHP metabolite levels. *Int J Hyg Environ Health* 210 (1): 35-42.
- Wittassek, M., Wiesmuller, G. A., Koch, H. M., Eckard, R., Dobler, L., Muller, J., Angerer, J. und Schluter, C.** (2007b). Internal phthalate exposure over the last two decades--a retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health* 210 (3-4): 319-33.
- Wolf, R., Wolf, D., Tuzun, B. und Tuzun, Y.** (2001). Soaps, shampoos, and detergents. *Clin Dermatol* 19 (4): 393-7.
- Yu, Z. W. und Quinn, P. J.** (1994). Dimethyl sulphoxide: a review of its applications in cell biology. *Biosci Rep* 14 (6): 259-81.
- Zetler, G. und Langhof, H. J.** (1971). Dimethyl sulfoxide, a reversible inactivator of receptor-effector systems in the isolated guinea-pig ileum. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmakol* 270 (4): 361-77.

7 Anhang

7.1 Gesonderte Auswertung der Hemmungen

In der Annahme, dass die verschiedenen getesteten Substanzen unterschiedliche Hemmmuster aufwiesen, untersuchten wir die gehemmten Abschnitte hinsichtlich der Anzahl der Hemmungen, des Zeitpunktes der ersten Hemmung nach Substanzzugabe, der Dauer der einzelnen Hemmungen sowie der Gesamtdauer aller Hemmungen eines Segmentes. Diese gesonderte Auswertung ließ allerdings nach visueller Betrachtung der Mittelwerte keinen Trend erkennen, so dass wir sie weder auf Signifikanz testeten noch in die Beurteilung der Versuchsergebnisse einbezogen. Dennoch sind sie der Vollständigkeit halber im Folgenden aufgeführt. Zur Darstellung kommen die Mittelwerte + SEM.

7.1.1 DEHP

7.1.1.1 Anzahl der Hemmungen

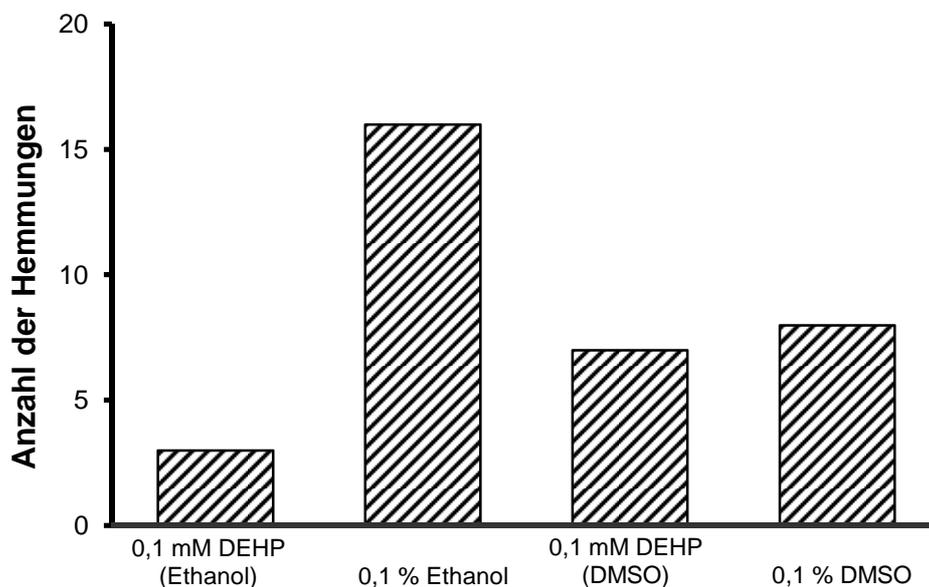


Abb. 16 Anzahl der Hemmungen nach extraserosaler Zugabe von 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO gegenüber den Kontrollen mit 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO.

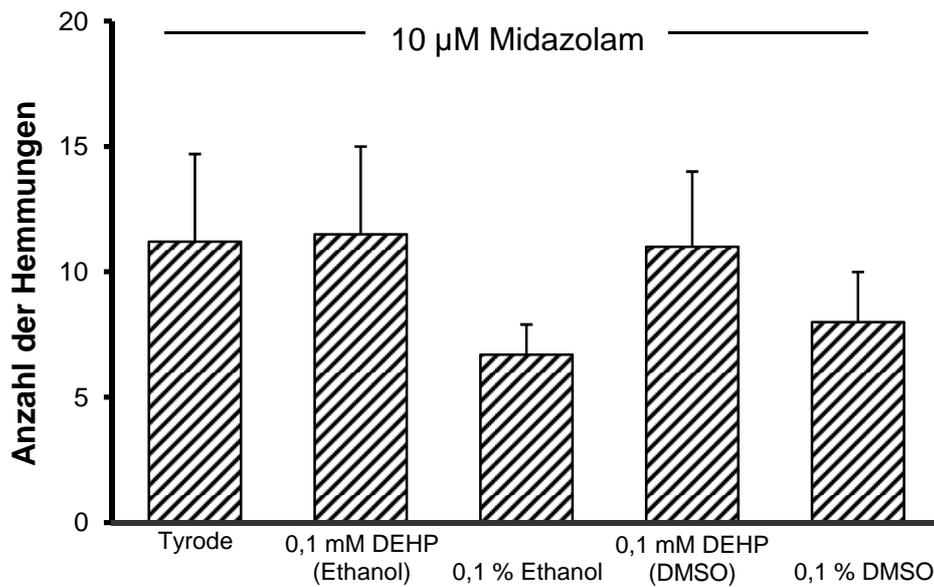


Abb. 17 Anzahl der Hemmungen nach extraserosaler Zugabe von Midazolam (10 µM) bei Vorbehandlung mit 0,1 mM extraserosalem DEHP in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und ihren Lösungsmittelkontrollen (0,1 % Ethanol, 0,1 % DMSO und Tyrode).

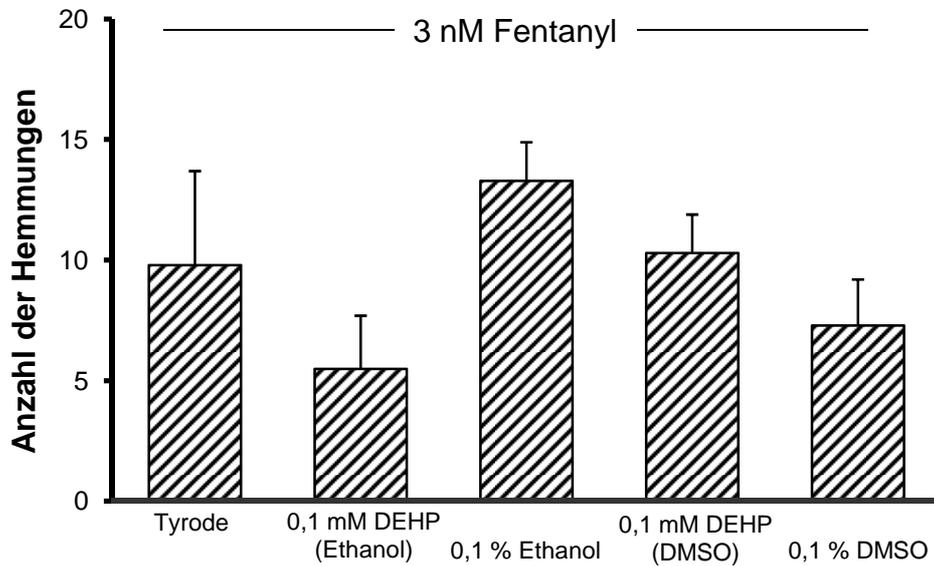


Abb. 18 Anzahl der Hemmungen nach extraserosaler Fentanylapplikation (3 nM) bei Vorbehandlung der Segmente mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und den zugehörigen Lösungsmittelkontrollen.

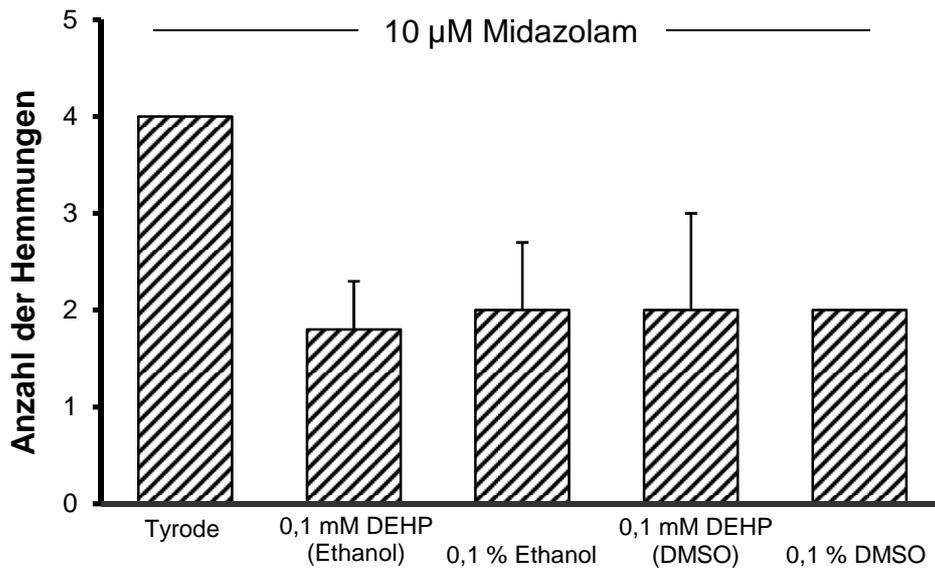


Abb. 19 Anzahl der Hemmungen nach extraserosaler Applikation von 10 µM Midazolam bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO, den entsprechenden Lösungsmitteln 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrolle mit Tyrodelösung.

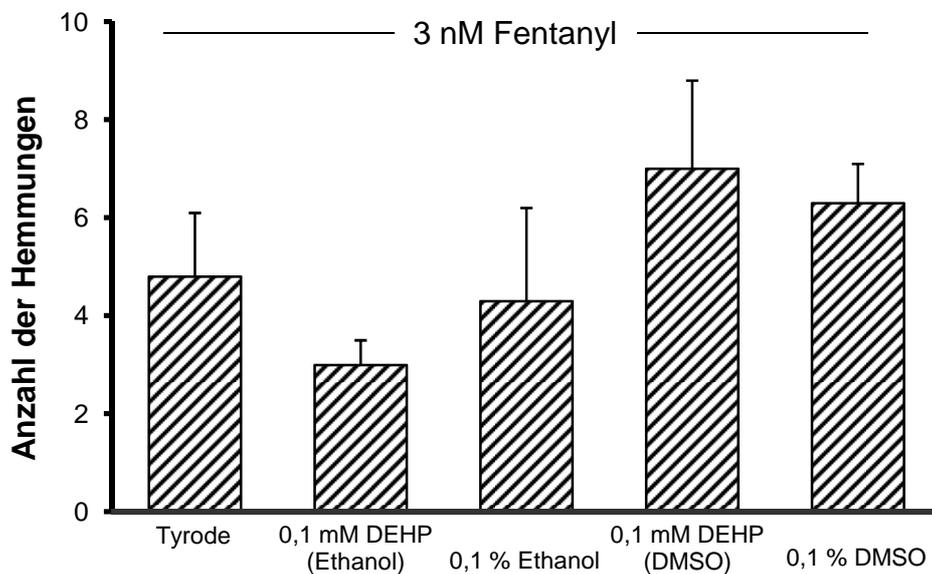


Abb. 20 Anzahl der Hemmungen nach Zugabe von 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO bzw. seiner Lösungsmittel 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrollen mit Tyrodelösung.

7.1.1.2 Zeitpunkt der ersten Hemmung

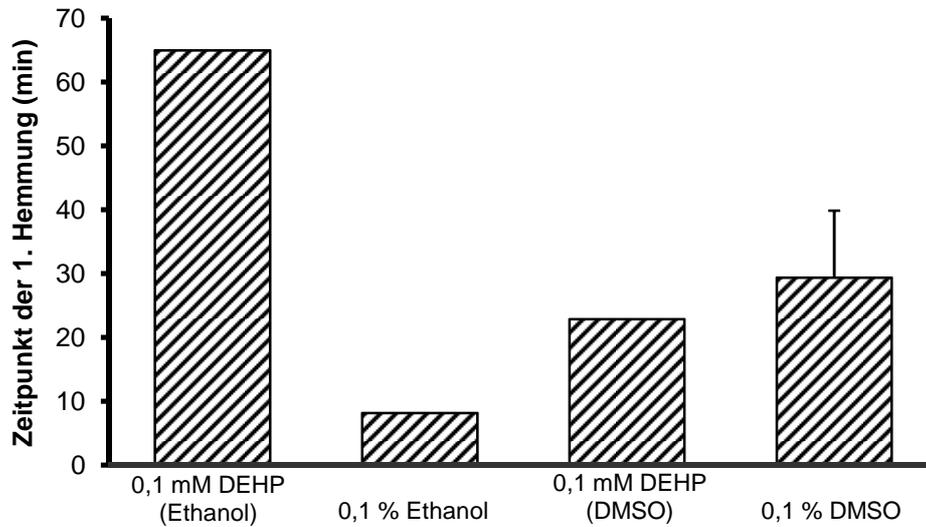


Abb. 21 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach extraserosaler Zugabe von 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO gegenüber den Kontrollen mit 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO.

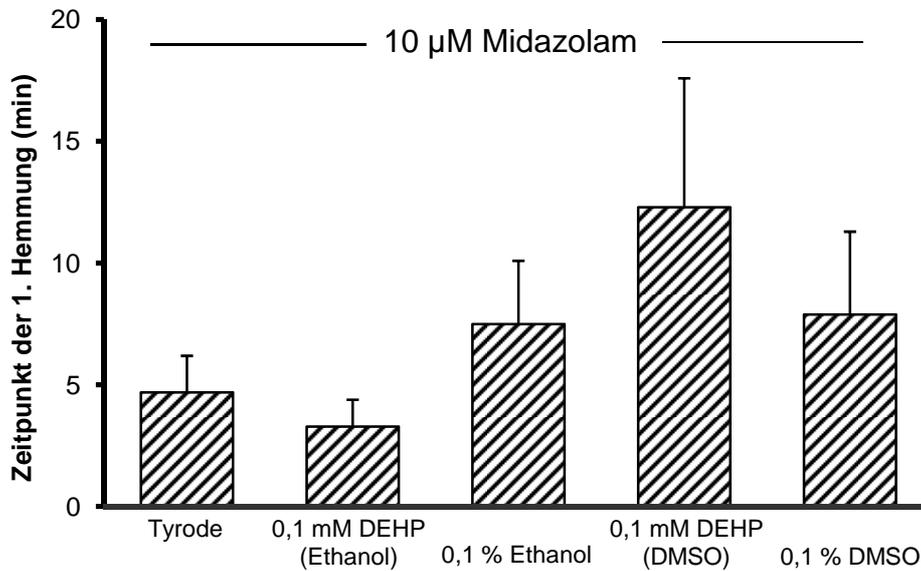


Abb. 22 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach extraserosaler Zugabe von Midazolam (10 µM) bei Vorbehandlung mit 0,1 mM extraserosalem DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und ihren Lösungsmittelkontrollen.

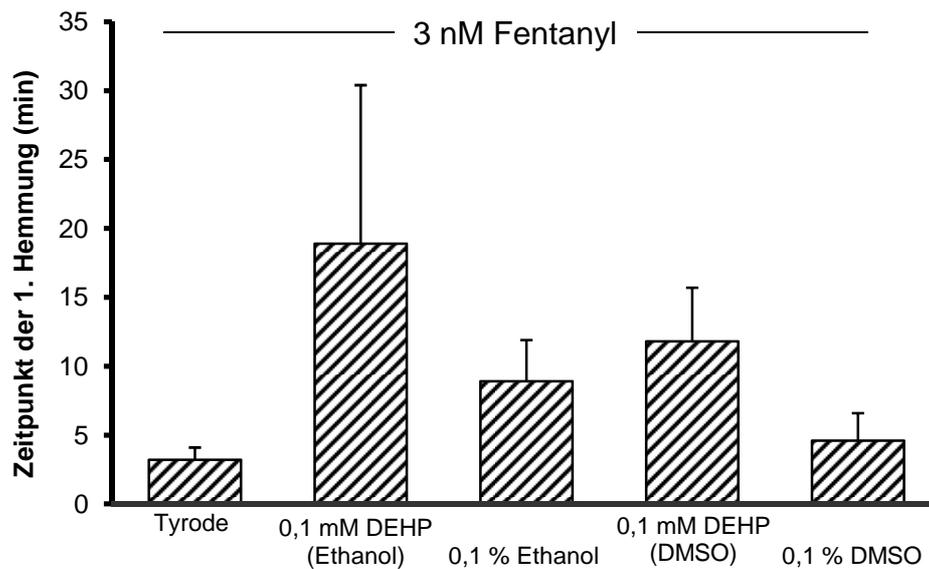


Abb. 23 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach extraserosaler Fentanylapplikation (3 nM) bei Vorbehandlung der Segmente mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und den zugehörigen Lösungsmittelkontrollen.

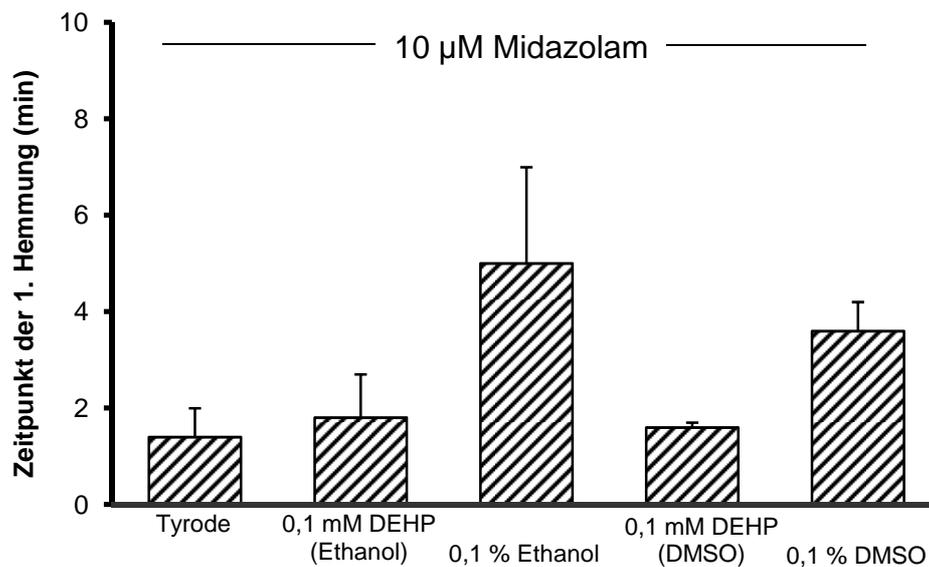


Abb. 24 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach extraserosaler Applikation von 10 µM Midazolam bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO, den entsprechenden Lösungsmitteln 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrollen mit Tyrodelösung.

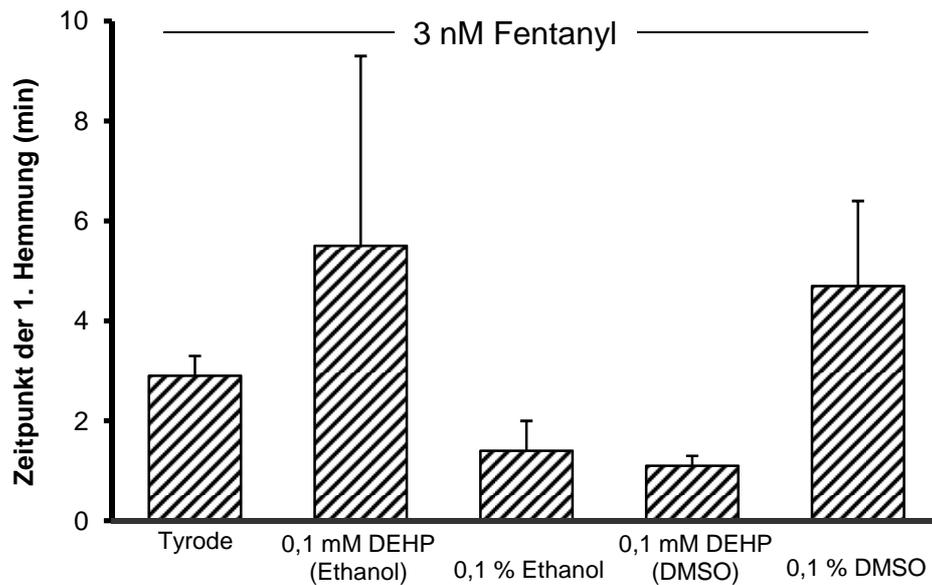


Abb. 25 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Zugabe von 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO bzw. seiner Lösungsmittel 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrollen mit Tyrodelösung.

7.1.1.3 Dauer einer einzelnen Hemmung

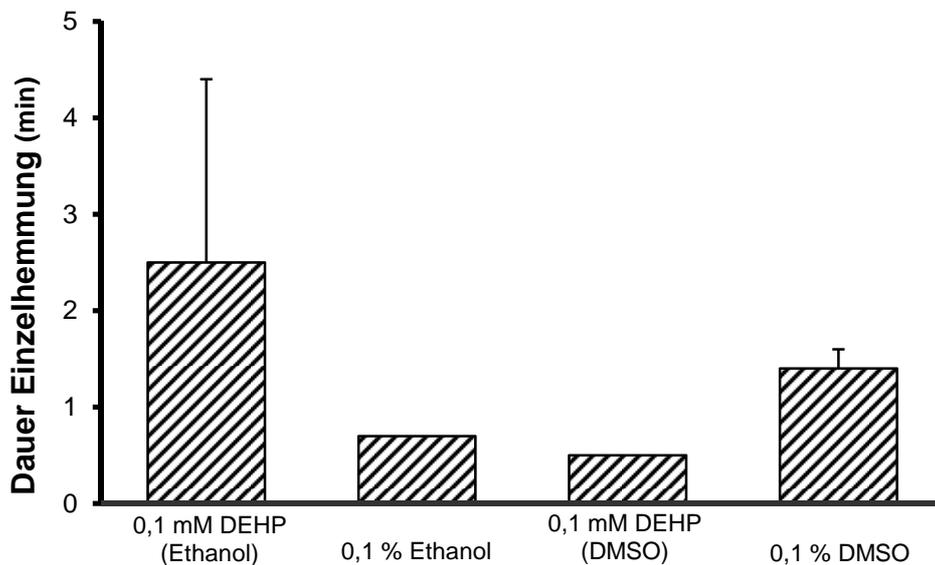


Abb. 26 Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Zugabe von 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO gegenüber ihren Kontrollen 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO.

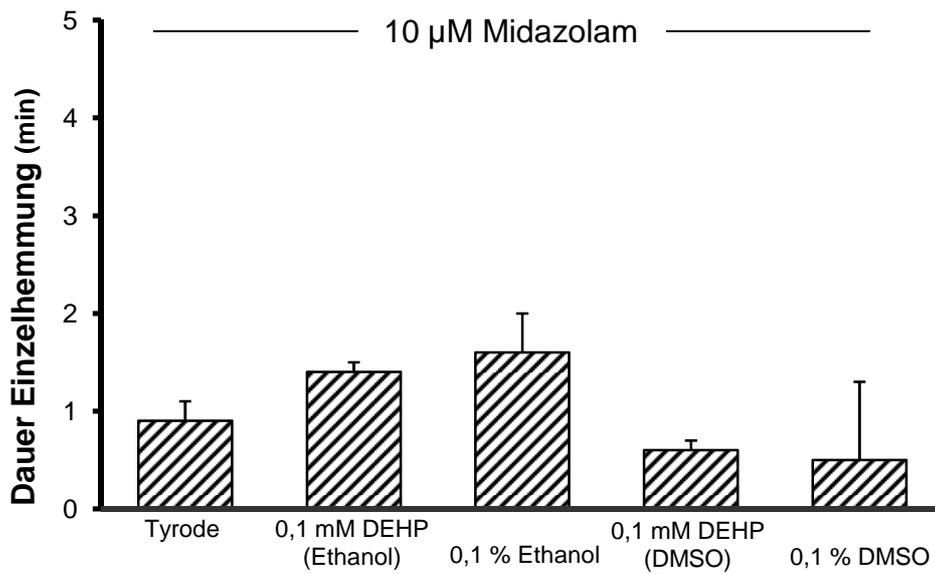


Abb. 27 Dauer einer einzelnen Hemmung nach Zugabe von extraserosalem Midazolam (10 µM) bei Vorbehandlung mit 0,1 mM extraserosalem DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und ihren Lösungsmittelkontrollen.

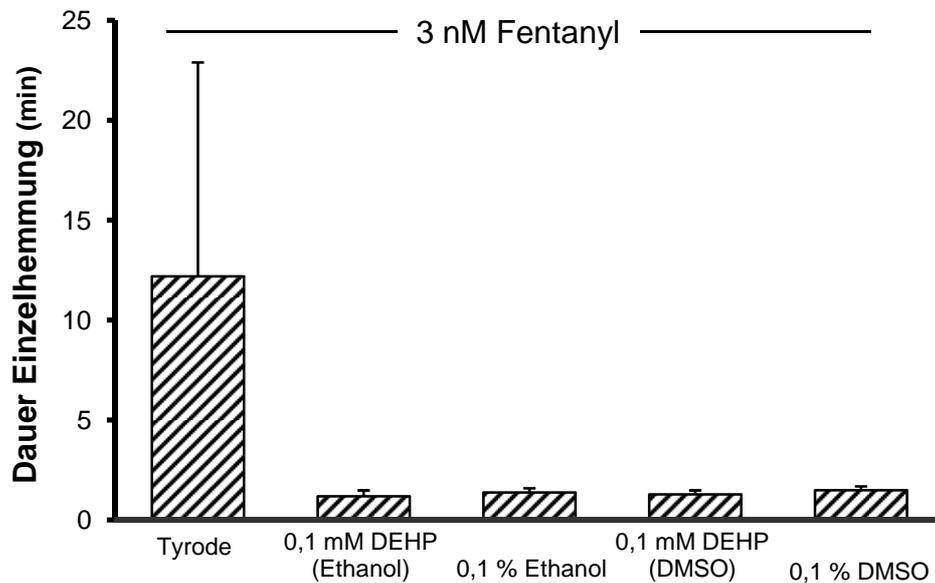


Abb. 28 Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Fentanylapplikation (3 nM) bei Vorbehandlung der Segmente mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und den zugehörigen Lösungsmittelkontrollen.

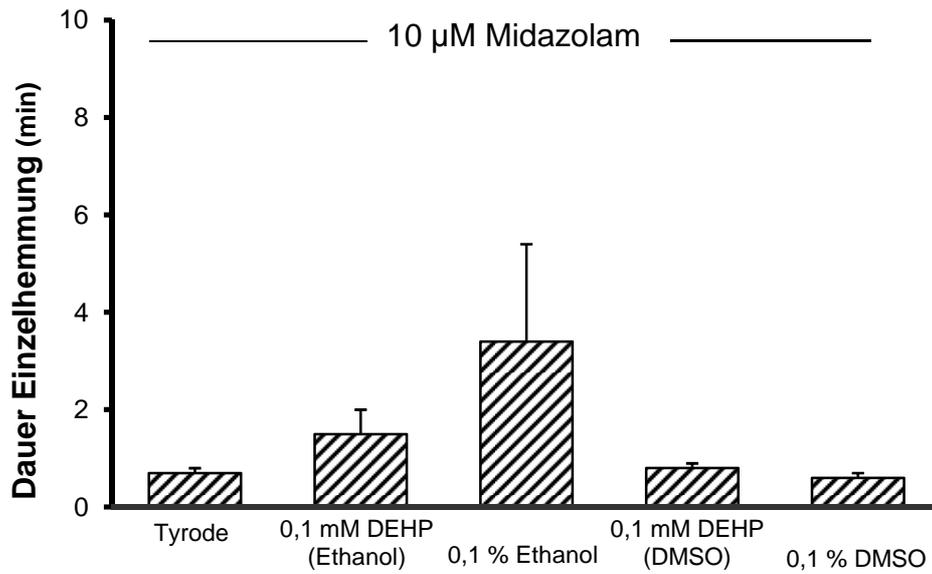


Abb. 29 Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Applikation von 10 µM Midazolam bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO, den entsprechenden Lösungsmitteln 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrollen mit Tyrodelösung.

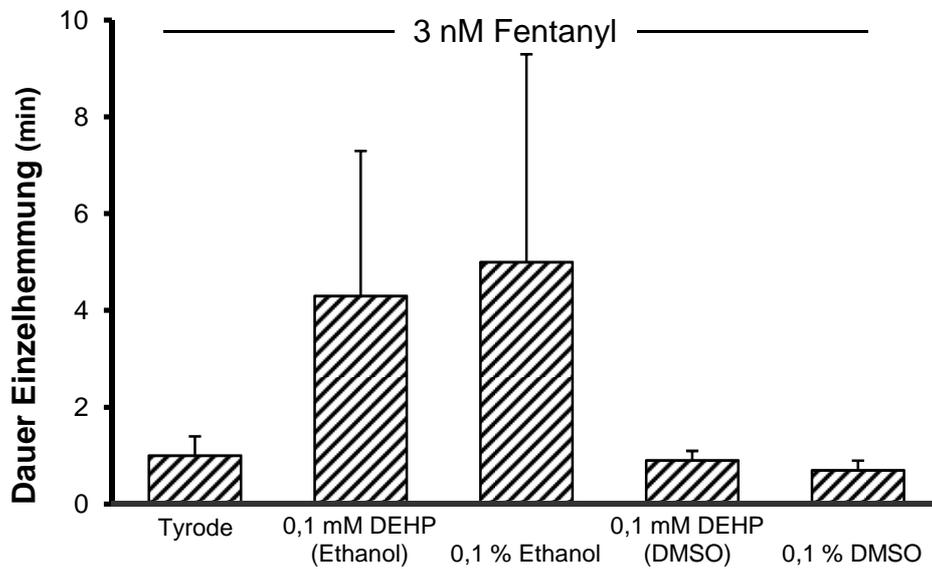


Abb. 30 Dauer einer einzelnen Hemmung nach Zugabe von 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO bzw. seiner Lösemittel 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrolle mit Tyrodelösung.

7.1.1.4 Gesamtdauer aller Hemmungen zusammen

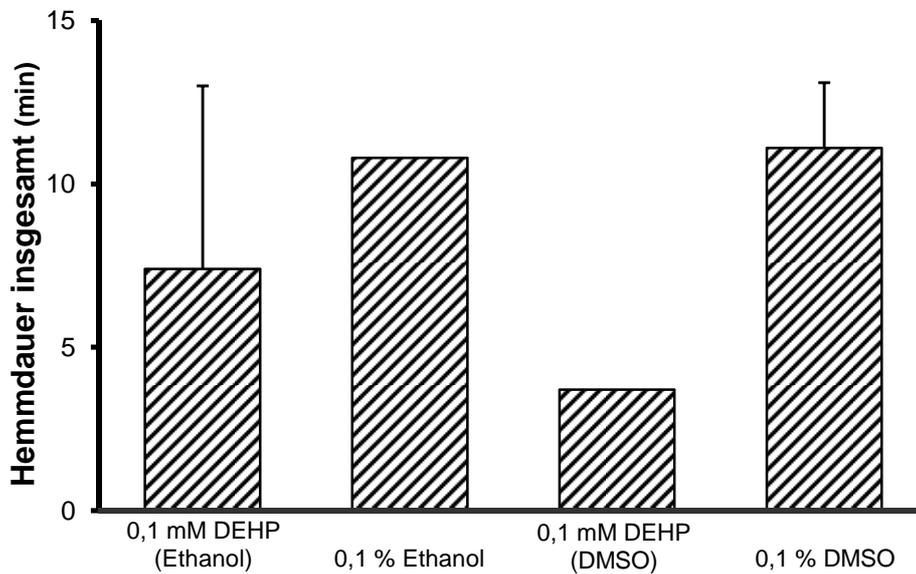


Abb. 31 Gesamtdauer aller Hemmungen nach extraserosaler Zugabe von 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO gegenüber ihren Kontrollen 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO.

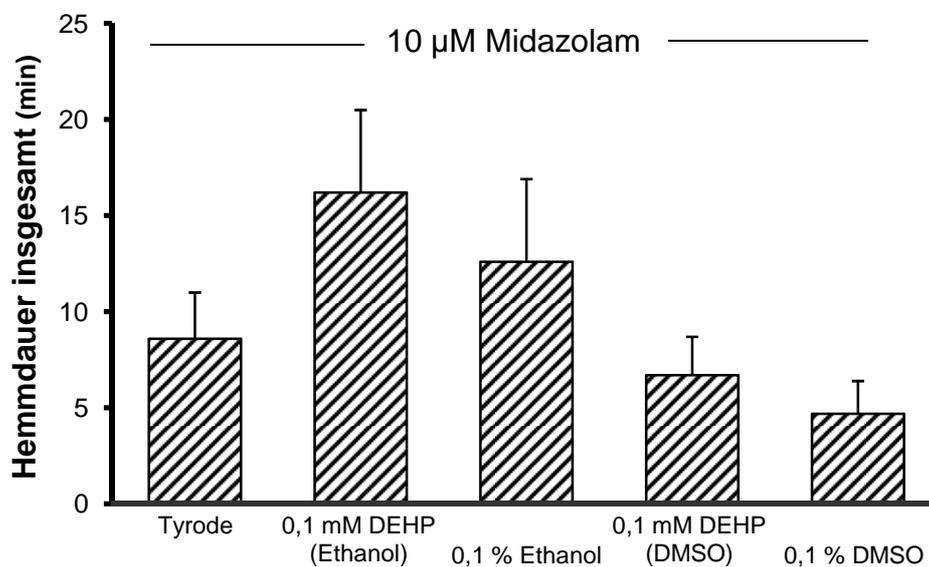


Abb. 32 Gesamtdauer aller Hemmungen nach Zugabe von extraserosalem Midazolam (10 µM) bei Vorbehandlung mit 0,1 mM extraserosalem DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und ihren Lösungsmittelkontrollen.

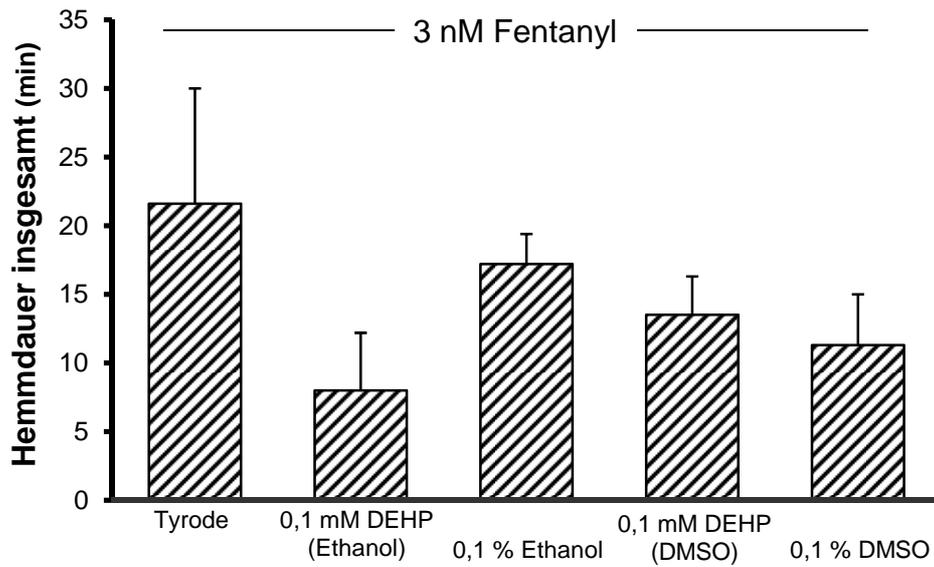


Abb. 33 Gesamtdauer aller Hemmungen nach extraserosaler Fentanylapplikation (3 nM) bei Vorbehandlung der Segmente mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol bzw. 0,1 % DMSO und den zugehörigen Lösungsmittelkontrollen.

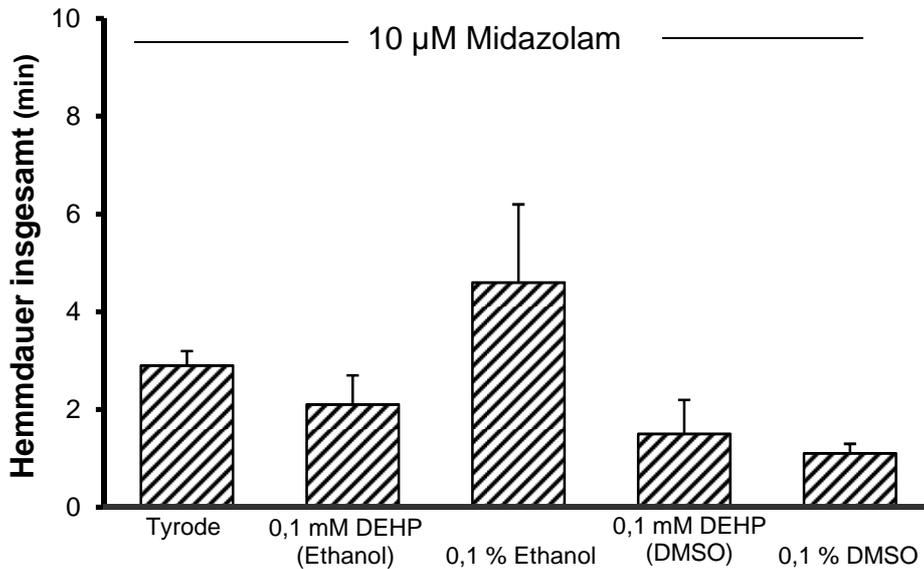


Abb. 34 Gesamtdauer aller Hemmungen nach extraserosaler Applikation von 10 µM Midazolam bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP gelöst in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO, den entsprechenden Lösungsmitteln 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrollen mit Tyrodelösung.

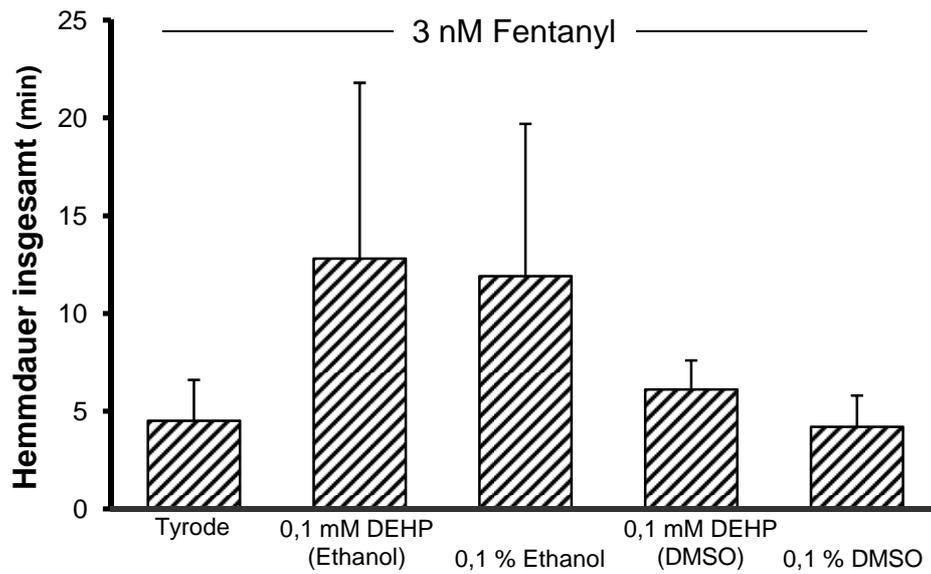


Abb. 35 Gesamtdauer aller Hemmungen nach Zugabe von 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit 0,1 mM DEHP in 0,1 % Ethanol respektive 0,1 % DMSO bzw. seiner Lösungsmittel 0,1 % Ethanol und 0,1 % DMSO sowie der Leerkontrolle mit Tyrodelösung.

7.1.2 Tenside SLS/CAPB am Bsp. von Pril®

7.1.2.1 Anzahl der Hemmungen

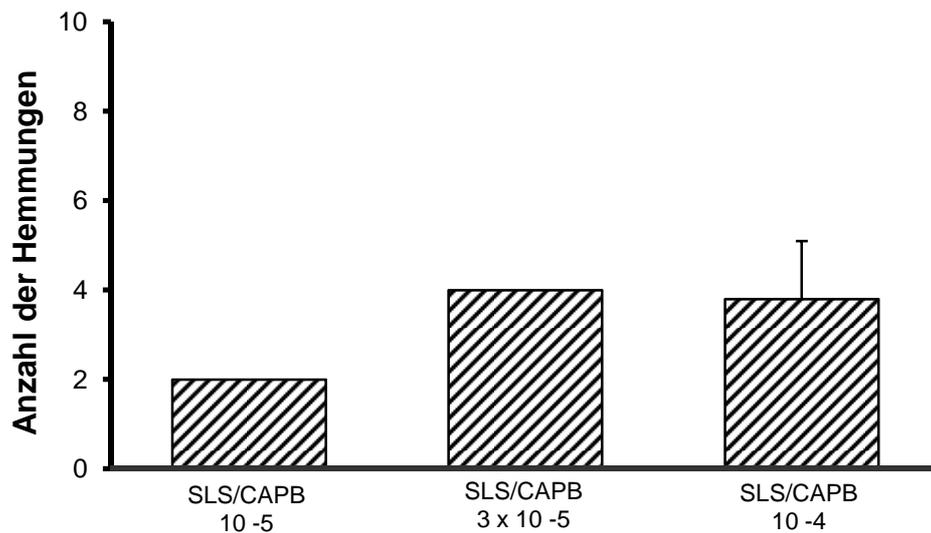


Abb. 36 Anzahl der Hemmungen nach Applikation von SLS/CAPB 10^{-5} , 3×10^{-5} oder 10^{-4} zum Organbad.

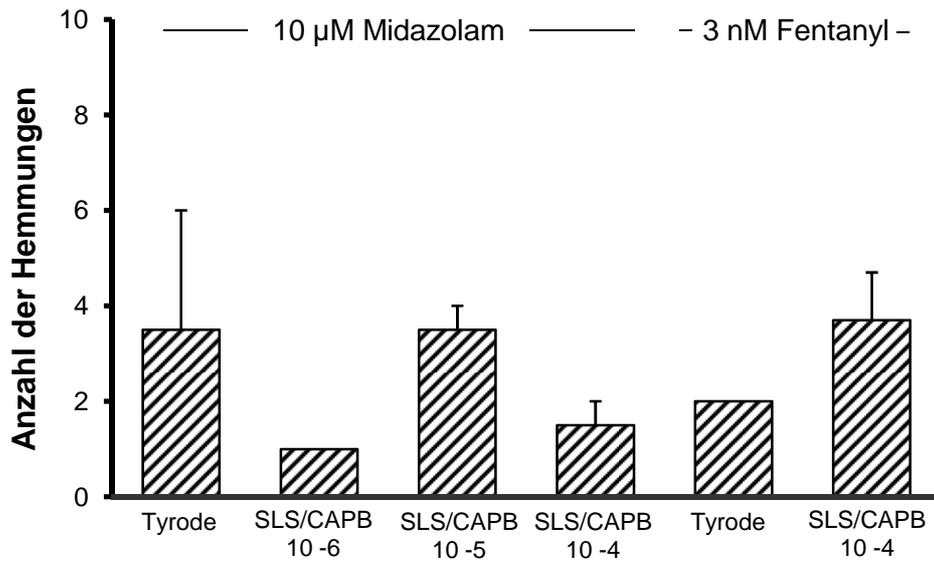


Abb. 37 Anzahl der Hemmungen nach Zugabe von 10 µM Midazolam bzw. 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit SLS/CAPB in den Verdünnungen 10⁻⁴, 10⁻⁵ und 10⁻⁶ respektive 10⁻⁴.

7.1.2.2 Zeitpunkt der ersten Hemmung

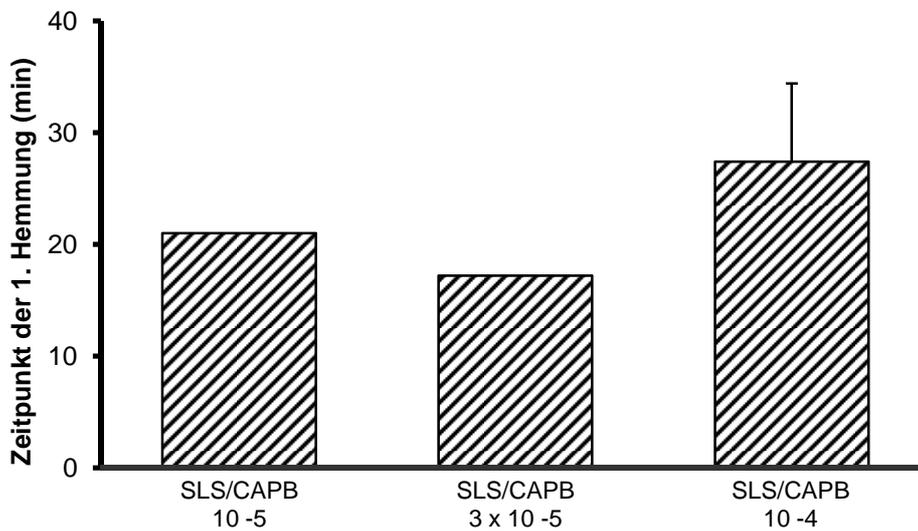


Abb. 38 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Zugabe von SLS/CAPB 10⁻⁵, 3x10⁻⁵ oder 10⁻⁴ zum Organbad.

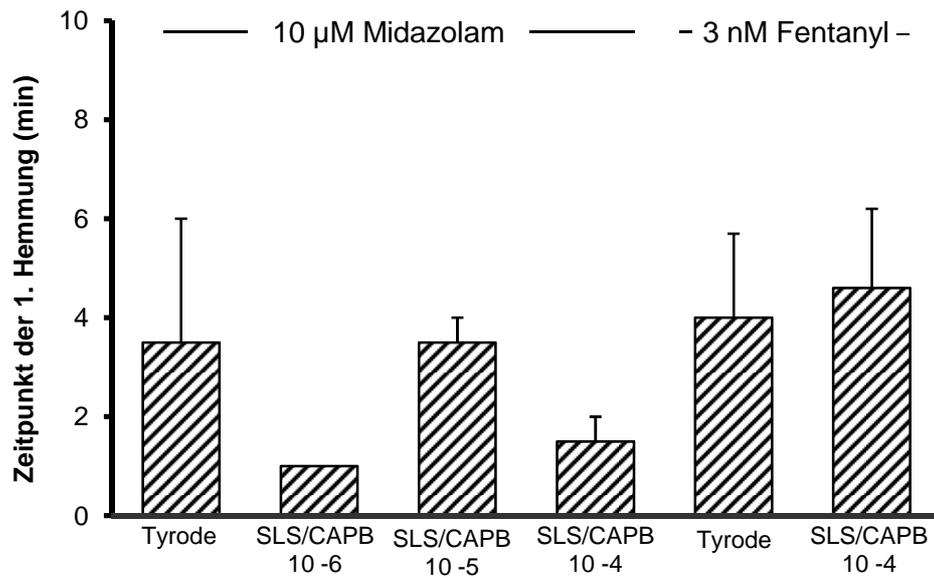


Abb. 39 Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Zugabe von 10 µM Midazolam bzw. 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit SLS/CAPB in den Verdünnungen 10⁻⁴, 10⁻⁵ und 10⁻⁶ respektive 10⁻⁴.

7.1.2.3 Dauer einer einzelnen Hemmung

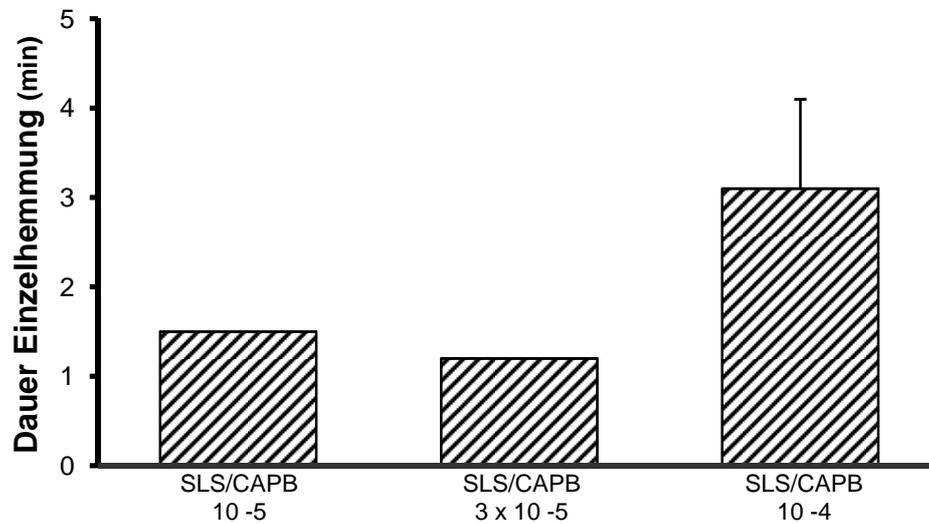


Abb. 40 Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Applikation von SLS/CAPB 10⁻⁵, 3x10⁻⁵ oder 10⁻⁴ zum Organbad.

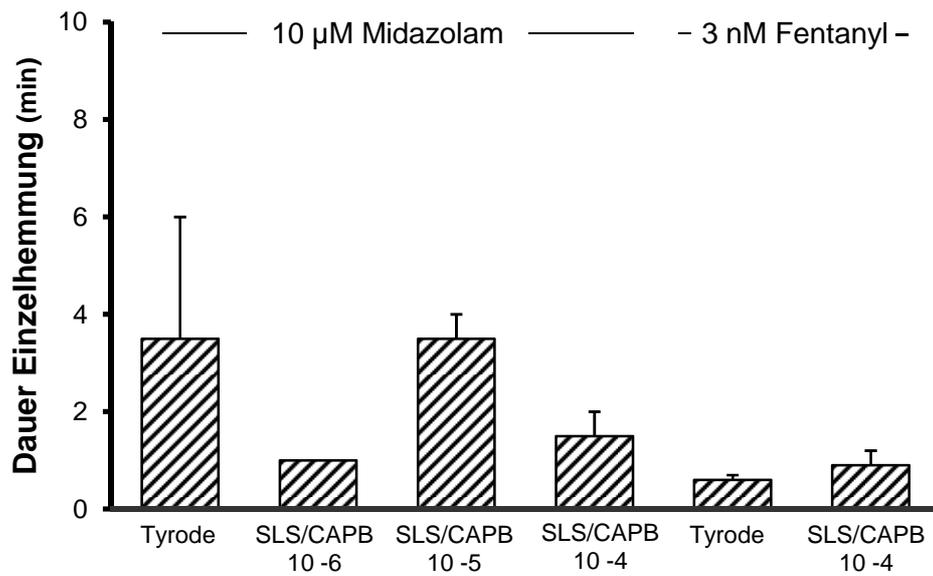


Abb. 41 Dauer einer einzelnen Hemmung nach Zugabe von 10 µM Midazolam bzw. 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit SLS/CAPB in den Verdünnungen 10⁻⁴, 10⁻⁵ und 10⁻⁶ respektive 10⁻⁴.

7.1.2.4 Gesamtdauer aller Hemmungen zusammen

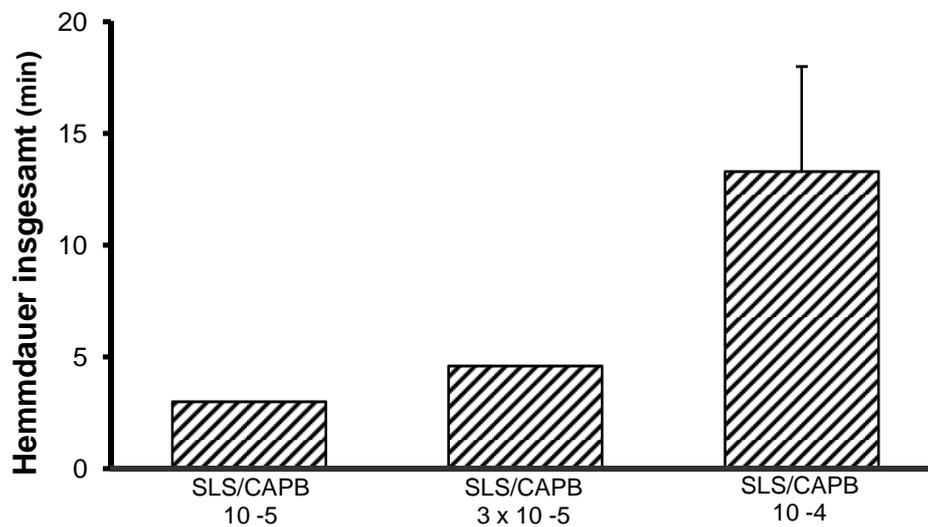


Abb. 42 Gesamtdauer aller Hemmungen nach Zugabe von SLS/CAPB 10⁻⁵, 3x10⁻⁵ oder 10⁻⁴ zum Organbad.

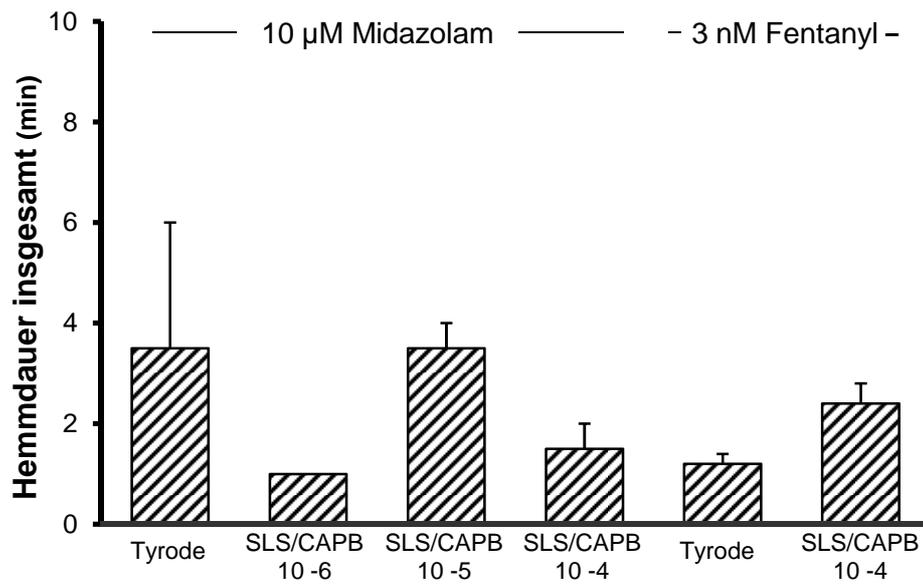


Abb. 43 Gesamtdauer aller Hemmungen nach Zugabe von 10 µM Midazolam bzw. 3 nM Fentanyl zum Organbad bei endoluminaler Perfusion mit SLS/CAPB in den Verdünnungen 10⁻⁴, 10⁻⁵ und 10⁻⁶ respektive 10⁻⁴.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Bildliche Darstellung des Versuchsaufbaus	10
Abb. 2	Schematische Darstellung der intraluminalen Druckverhältnisse	11
Abb. 3	PPT-Verlauf nach Ethanolzugabe zum Organbad 120 min	23
Abb. 4 A	Originalkurve 0,1 % Ethanol extraserosal 120 min	23
Abb. 4 B	Originalkurve 0,3 % Ethanol extraserosal 120 min	24
Abb. 4 C	Originalkurve 1 % Ethanol extraserosal 120 min	24
Abb. 4 D	Originalkurve Tyrode extraserosal 120 min	25
Abb. 5	Δ PPT (Mittelwert + SEM) nach Ethanolzugabe zum Organbad nach Vorbehandlung mit Apamin und Naloxon	26
Abb. 6	Δ PPT (Mittelwert + SEM) nach Ethanolzugabe zum Organbad nach Vorbehandlung mit Lorglumid, Bicucullin und YM 022	27
Abb. 7	PPT-Verlauf nach Zugabe von SLS/CAPB zum Organbad 60 min	30
Abb. 8	Δ PPT (Mittelwert + SEM) extraserosal mit DEHP vorbehandelter Segmente nach Zugabe von Midazolam zum Organbad	31
Abb. 9	PPT-Verlauf nach Midazolamzugabe zum Organbad (60 min) extraserosal mit DEHP (Ethanol) vorbehandelter Segmente (20 min)	32
Abb. 10	PPT-Verlauf nach Midazolamzugabe zum Organbad (30 min) <i>per perfusionem</i> mit DEHP (Ethanol) vorbehandelter Segmente (60 min)	33
Abb. 11 A	Originalkurve 0,1 % Ethanol (<i>per perfusionem</i>) – Midazolam (extraserosal)	34
Abb. 11 B	Originalkurve Tyrode (<i>per perfusionem</i>) – Midazolam extraserosal)	34

Abb. 12	Δ PPT (Mittelwert + SEM) nach Midazolamzugabe zum Organbad <i>per perfusionem</i> mit DEHP vorbehandelter Darmsegmente	35
Abb. 13	Δ PPT (Mittelwert + SEM) nach Midazolamzugabe zum Organbad <i>per perfusionem</i> mit SLS/CAPB vorbehandelter Darmsegmente	36
Abb. 14	PPT-Verlauf nach Fentanylzugabe zum Organbad (30 min) nach 60-minütiger endoluminaler Perfusion mit DEHP (Ethanol)	38
Abb. 15	Δ PPT (Mittelwert + SEM) nach Fentanylzugabe zum Organbad endoluminal mit DEHP perfundierter Darmsegmente	39
Abb. 16	Anzahl der Hemmungen nach extraserosalem DEHP	71
Abb. 17	Anzahl der Hemmungen nach Midazolamzugabe zum Organbad nach extraserosaler DEHP-Vorbehandlung	72
Abb. 18	Anzahl der Hemmungen nach Fentanylzugabe zum Organbad nach extraserosaler DEHP-Vorbehandlung	72
Abb. 19	Anzahl der Hemmungen nach Midazolamzugabe zum Organbad bei endoluminaler DEHP-Perfusion	73
Abb. 20	Anzahl der Hemmungen nach Fentanylzugabe zum Organbad bei endoluminaler DEHP-Perfusion	73
Abb. 21	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Zugabe von DEHP bzw. seiner Lösemittel zum Organbad	74
Abb. 22	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Midazolamzugabe zum Organbad nach extraserosaler Vorbehandlung der Segmente mit DEHP	74
Abb. 23	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Fentanylzugabe zum Organbad nach extraserosaler Vorbehandlung der Segmente mit DEHP	75
Abb. 24	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Midazolamzugabe zum Organbad nach endoluminaler Vorbehandlung der Segmente mit DEHP	75

Abb. 25	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Fentanylzugabe zum Organbad nach extraserosaler Vorbehandlung der Segmente mit DEHP	76
Abb. 26	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Zugabe von DEHP bzw. seiner Lösemittel zum Organbad	76
Abb. 27	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Zugabe von Midazolam zum Organbad mit extraserosalem DEHP vorbehandelter Darmsegmente	77
Abb. 28	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Fentanylzugabe zum Organbad mit extraserosalem DEHP vorbehandelter Darmsegmente	77
Abb. 29	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Applikation von Midazolam zum Organbad mit DEHP <i>per perfusionem</i> vorbehandelter Darmsegmente	78
Abb. 30	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Applikation von Fentanyl zum Organbad mit DEHP <i>per perfusionem</i> vorbehandelter Darmsegmente	78
Abb. 31	Gesamtdauer aller Hemmungen nach extraserosaler Zugabe von DEHP bzw. seiner Lösemittel zum Organbad	79
Abb. 32	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Midazolamapplikation zum Organbad extraserosal mit DEHP vorbehandelter Darmsegmente	79
Abb. 33	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Fentanylzugabe zum Organbad mit extraserosalem DEHP vorbehandelter Darmsegmente	80
Abb. 34	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Midazolamapplikation zum Organbad endoluminal mit DEHP vorbehandelter Darmsegmente	80
Abb. 35	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Fentanylzugabe zum Organbad <i>per perfusionem</i> mit DEHP vorbehandelter Darmsegmente	81

Abb. 36	Anzahl der Hemmungen nach Applikation von SLS/CAPB zum Organbad	81
Abb. 37	Anzahl der Hemmungen nach Midazolam- bzw. Fentanylzugabe zum Organbad endoluminal mit SLS/CAPB vorbehandelter Darmsegmente	82
Abb. 38	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Zugabe von SLS/CAPB zum Organbad	82
Abb. 39	Zeitpunkt der ersten Hemmung nach Midazolam- bzw. Fentanylzugabe zum Organbad endoluminal mit SLS/CAPB vorbehandelter Darmsegmente	83
Abb. 40	Dauer einer einzelnen Hemmung nach extraserosaler Zugabe von SLS/CAPB zum Organbad	83
Abb. 41	Dauer einer einzelnen Hemmung nach Midazolam- bzw. Fentanylzugabe zum Organbad endoluminal mit SLS/CAPB vorbehandelter Darmsegmente	84
Abb. 42	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Applikation von SLS/CAPB zum Organbad	84
Abb. 43	Gesamtdauer aller Hemmungen nach Zugabe von Midazolam bzw. Fentanyl zum Organbad <i>per perfusionem</i> mit SLS/CAPB vorbehandelter Darmsegmente	85

7.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1a	Versuchsreihe Ethanol extraserosal 120 min	15
Tab. 1b	Kombinationsversuche Ethanol extraserosal 20 – 60 min	15
Tab. 2	Versuchsreihe DMSO extraserosal 120 min	16
Tab. 3	Versuchsreihe DEHP extraserosal 120 min	16
Tab. 4	Versuchsreihe SLS/CAPB extraserosal 60 min	17
Tab. 5a	Kombinationsversuche Lösungsmittel/DEHP – Midazolam extraserosal 20 – 60 min	18
Tab. 5b	Kombinationsversuche Lösungsmittel/DEHP – Fentanyl extraserosal 20 – 60 min	18
Tab. 5c	Kombinationsversuche Lösungsmittel/DEHP – Midazolam endoluminal 60 – 30 min	18
Tab. 5d	Kombinationsversuche Lösungsmittel/DEHP – Fentanyl endoluminal 60 – 30 min	19
Tab. 5e	Kombinationsversuche SLS/CAPB – Midazolam endoluminal 60 – 30 min	19
Tab. 5f	Kombinationsversuche SLS/CAPB – Fentanyl endoluminal 60 – 30 min	19
Tab. 6	Δ PPT nach Ethanolzugabe zum Organbad 120 min	22
Tab. 7	Δ PPT nach Zugabe von DMSO zum Organbad 120 min	28
Tab. 8	Δ PPT nach Zugabe von DEHP zum Organbad 120 min	29
Tab. 9	Δ PPT nach Fentanylzugabe zum Organbad nach Vorbehandlung mit DEHP (extraserosal)	37
Tab. 10	Δ PPT nach extraserosaler Fentanylzugabe zum Organbad nach 60-minütiger Perfusion mit SLS/CAPB	39

7.3 Substanznachweis

Pril Original® - **Henkel KG & Co. KGaA**, Henkelstr. 67, 40589 Düsseldorf
Inhaltsstoffangabe nach Detergenzienverordnung ((EC) No 648/2004)

- Aqua
- Natrium-Lauryl-Sulfat (SLS)
- Cocamidopropylbetain (CAPB)
- Natriumchlorid
- Parfum
- Limonen
- 2-Bromo-2-Nitropropan-1,3-Diol
- Farbstoff
- Denatonium-Benzoat
- Methylchloroisothiazolinon
- Methylisothiazolinon

Versuchstiere

Charles River Laboratories Germany GmbH
Sandhofer Weg 7
97633 Sulzfeld

Fentanyl

Janssen-Cilag GmbH
Johnson & Johnson Platz 1
41470 Neuss

DMSO

Merck KGaA
Frankfurter Str. 250
64293 Darmstadt

Midazolam

Roche Diagnostics Deutschland GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim

Ethanol **Serva Electrophoresis GmbH**
Carl-Benz-Str. 7
69115 Heidelberg

Apamin, DEHP, Lorglumid **Sigma-Aldrich Chemie GmbH**
Riedstr. 2
89555 Steinheim

Bicucullin, Naloxon, YM 022 **Tocris Bioscience**
Moorend Farm Avenue
Bristol, BS11 0QI
United Kingdom

Danksagung

Zum Abschluss dieser Arbeit, mit der zugleich meine akademische Ausbildung und das Studium an der medizinischen Fakultät der Bayrischen Julius-Maximilians Universität zu Würzburg endet, gilt es einen Dank zu sagen allen denen, die mich in meinem Studium unterstützt haben, und ohne die vieles nicht gelungen und möglich geworden wäre.

So danke ich zum ersten meinen akademischen Lehrern und Mentoren, die mich in das wissenschaftliche Arbeiten eingeführt und in vielen Semestern so gefördert haben, dass ich das Studium erfolgreich gestalten konnte.

Herrn Professor Dr. Michael Karl Herbert danke ich für viele Anregungen, die mich gefördert haben, insbesondere aber für die stete fürsorgliche Betreuung dieser Dissertation. Als mein wissenschaftlicher Lehrer hat er mich zu dieser Arbeit angeregt und deren Entstehen mit Rat und Fürsorge wie ein wahrer "Doktorvater" begleitet.

Dr. Markus Schubring danke ich für die ausführliche und des Öfteren erheiternde Einarbeitung im Labor. Dr. Christian Fahr gilt mein Dank für seine hilfsbereite Unterstützung in allen technischen Fragen.

Herrn Prof. Dr. Erhard Wischmeyer danke ich vielmals für die Übernahme des Koreferats.

Zum zweiten danke ich auf das Herzlichste meinen lieben Eltern Beate und Ernst Welzholz, die mich liebevoll und fürsorglich in den vergangenen Jahren begleitet haben und ohne deren Selbstlosigkeit das Studium der Medizin und die Promotion nicht möglich gewesen wäre. In diesen Dank schliesse ich meinen Bruder Jan Carl Welzholz ein, der mir - wie stets - ein verständnisvoller Gefährte und in vielen wissenschaftstheoretischen Fragen ein guter Ratgeber war.

Heiko und Gisela Bost danke ich für die großherzige Unterstützung in meiner Studienzeit, die mir vieles ermöglicht und erleichtert hat. Insbesondere die kulinarischen Anregungen haben mir die Arbeit oft versüßt.

Winfried Röske danke ich für die kontinuierliche materielle und nicht nachlassende ideelle Förderung während der akademischen Ausbildung, die zu einem guten Gelingen des studium speciale et generale ein auch inspirierender Beitrag war.

Endlich danke ich in besonderer Verbundenheit Heiko Schultheis für seinen „eisernen Plan“, der zum Abschluss der Studienzeit in vielfältiger Hinsicht eine wichtige organisatorische Hilfe war.

Meinen Freundinnen und Freunden, gleich ob sie aus dem Fach kamen oder auch nicht, danke ich für die vielfältige phantasievolle und moralische Unterstützung während und die ausgleichenden Momente neben der Arbeit.

„Leider lässt sich eine wahrhafte Dankbarkeit mit Worten nicht ausdrücken“, bemerkte Johann Wolfgang von Goethe sehr richtig, aber auch in diesen Grenzen habe ich gerne ein Dankeswort an alle gerichtet, die mir immer eine liebevolle Begleitung waren und es immer noch sind.