

# Enzymfreisetzung und Aktivierung der Kallikrein-Kinin-Systeme bei experimenteller Pankreatitis

## Untersuchungen in Pfortaderblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat

H. Waldner<sup>1</sup>, B. Vollmar<sup>2</sup>, P. Conzen<sup>2</sup>, A. Götz<sup>2</sup>, P. Lehnert<sup>3</sup>, E. Fink<sup>4</sup>, W. Brendel<sup>2</sup>, L. Schweiberer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Chirurgische Klinik und Poliklinik des Klinikums Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>2</sup> Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>3</sup> Medizinische Klinik des Klinikums Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>4</sup> Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie in der Chirurgischen Klinik und Poliklinik des Klinikums Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München

Eingegangen: 7. Dezember 1992

### Enzyme release and activation of kallikrein-kinin systems in experimental pancreatitis. Measurements in pancreatic blood, lymph and peritoneal exudate

**Abstract.** The clinical course of acute pancreatitis is strongly influenced by secondary cardiac, pulmonary and renal damage. The aim of the present study was to gather information about the compartment promoting the systemic damage. Therefore the activity of lipase, phospholipase A and plasmaprothrombin and the concentration of tissue kallikrein and kininogen were measured in portal venous blood, pancreatic lymph and peritoneal exudate. Anaesthetized pigs were subjected to fluid resuscitation to keep systemic haemodynamic parameters constant. The pancreas was isolated in situ. The pigs were randomly assigned to a control group ( $n = 9$ ) or one of the two pancreatitis groups ( $n = 10$  each). Pancreatitis was induced by i.a. infusion of free fatty acid (FFS) or retrograde infusion of 5% sodium taurocholate intraductally (NaT). In both pancreatitis groups the activity of lipase and phospholipase A increased. The most pronounced changes were seen in the peritoneal exudate (phospholipase A activity 40 min after induction: control 10.0 U/l, NaT 72.2 U/l). In both pancreatitis groups there was evidence for activation of the tissue kallikrein-kinin system in the form of an increase in the kallikrein concentration and a decrease in the kininogen concentration. Again the changes were most pronounced in the peritoneal exudate (tissue kallikrein 40 min after induction: control 14.7 ng/ml, NaT 452 ng/ml).

**Key words:** Pancreatitis – Phospholipase – Kallikrein – Lymph – Peritoneal exudate

**Zusammenfassung.** Das klinische Bild der akuten Pankreatitis wird entscheidend durch die sekundäre Schädigung von Herz-Kreislauf-System, Lunge und Niere bestimmt.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, durch Messungen in venösem Pankreasblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat die Kompartimente zu bestimmen, über die die systemischen Schädigungen vermittelt werden. An anästhesierten Schweinen wurden die systemischen, hämodynamischen Parameter durch gesteuerte Volumentherapie konstant gehalten. Die Schweine wurden randomisiert der Kontrollgruppe ( $n = 9$ ) oder einer der Pankreatitisgruppen zugeteilt (jeweils  $n = 10$ ). Die Pankreatitis wurde durch Infusion von freier Fettsäure in die Pankreasarterien (FFS) oder durch Infusion einer 5%igen Natrium-Taurocholat-Lösung retrograd in den Pankreasgang (NaT) ausgelöst. Nach Isolation des Pankreas wurde venöses Pankreasblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat gewonnen und die Aktivität von Lipase, Phospholipase A und Plasmaprothrombin sowie die Konzentration von Organkallikrein und Kininogen bestimmt. In beiden Pankreatismodellen fand sich ein Anstieg der Enzymaktivitäten. Die höchsten Aktivitäten fanden sich im Peritonealexsudat (Phospholipase A nach 40 min: Kontrolle 10,0 U/l, NaT 72,2 U/l). In beiden Pankreatismodellen fanden sich außerdem Hinweise für eine Aktivierung des Organkallikrein-Kinin-Systems durch den Anstieg der Organkallikreinkonzentration und den Abfall der Gesamtkininogenkonzentration. Die stärksten Veränderungen fanden sich wieder im Peritonealexsudat (Organkallikrein nach 40 min: Kontrolle 14,7 ng/ml, NaT 452 ng/ml).

Nach einer Initialphase mit abdominalen Beschwerden ist der Verlauf der schweren Pankreatitis durch das Versagen lebensnotwendiger Organe wie Herz, Kreislauf [4], Lunge [5] und Niere gekennzeichnet. Dieses Organversagen ist für die hohe Letalität der schweren Pankreatitis verantwortlich. Primäre Ursache für diese Organversagen soll die Aktivierung und Freisetzung von Pankreasenzymen, insbesondere von Proteinasen und Phospholi-

pase, toxischen Substanzen und vasoaktiven Mediatoren sein [6].

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, bei der akuten Pankreatitis zum einen die initiale Aktivierung von Enzymen und Freisetzung von Mediatoren im Pankreas und seiner unmittelbaren Umgebung nachzuweisen und zum anderen deren Freisetzung in die Kompartimente venöses Pankreasblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat selektiv zu erfassen.

Über die Enzym- und Mediatorenspiegel bei akuter Pankreatitis liegen für peripheres Blut diverse Untersuchungen vor [8, 11, 15]. Untersuchungen im peripheren Blut zur Aufdeckung pathophysiologischer Veränderungen sind in der Frühphase der Pankreatitis nur bedingt geeignet, da infolge der hohen Proteinasehemmaktivität im Blut und der hohen Clearancekapazität des retikuloendothelialen Systems diskrete Veränderungen damit nicht sicher erfaßt werden können [3].

Die Bedeutung verschiedener Kompartimente wie venöses Pankreasblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat für die Vermittlung systemischer Wirkungen, die letztendlich bei der akuten Pankreatitis zum Multiorganversagen führen, ist noch nicht geklärt. Als ein erster Schritt dazu wurde in der vorliegenden Untersuchung die Freisetzung der Pankreasenzyme Lipase und Phospholipase sowie die Konzentrationsänderungen von Komponenten der Kallikrein-Kinin-Systeme in den verschiedenen Kompartimenten quantitativ bestimmt. Durch die Bestimmung von Kallikrein und Kininogen sollten Hinweise für eine Freisetzung von Kinin, einem vasoaktiven Mediator, erhalten werden. Um dabei eine möglichst große Aussagekraft zu erreichen, wurden 2 pathogenetisch unterschiedliche Pankreatitismodelle verwendet, nämlich

- die retrograde Injektion von Gallensäure in den Pankreasgang und
- die intraarterielle Infusion von Ölsäure in das Pankreas.

## Methoden und Material

Nach Genehmigung durch die zuständigen Behörden wurden die Untersuchungen an Schweinen mit einem mittleren Körpergewicht von 30 kg durchgeführt.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Ketamin (8 mg/kg KG), Fluonitrazol (0,13 mg/kg KG) und Atropinsulfat (1,7 mg/kg KG). Nach Tracheotomie wurden die Tiere beatmet, die Narkose mit Sauerstoff, Lachgas und Enflurane (0,5–1 %) fortgeführt. Die Infusionstherapie mit physiologischer Kochsalzlösung wurde so gesteuert, daß der pulmonal-kapilläre Verschlussdruck und der arterielle Druck während des Versuchsablaufes konstant blieb. Zur Gewinnung von portalvenösem Blut, Lymphe und Exsudat wurde das Pankreas nach folgendem Vorgehen *in situ* isoliert: es wurden eine Splenektomie und eine Gastrektomie durchgeführt, außerdem wurden Dünn- und Dickdarm entfernt. Das Modell ist an anderer Stelle detailliert beschrieben [24]. Für die portalvenösen Blutentnahmen wurde die Pfortader, die nach oben genannter Präparation nur Pankreasblut führt, über die V. mesenterica superior kanüliert. Um die Lymphe von Zwerchfell, Milz und linksseitigem Pankreas kontinuierlich ableiten zu können, wurde der linke obere Lymphhauptstamm in Höhe der Nierenvene dargestellt und kanüliert [14]. Peritonealexsudat wurde aus der Bauchhöhle kontinuierlich abgesaugt.

## Biochemische Untersuchungen

Die Bestimmung des Gesamteiweißes in Pfortaderserum, Lymphe und Aszites erfolgte mit der Biuret-Methode. Die Aktivität der Enzyme Lipase und Phospholipase A wurde photometrisch bestimmt. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme bei 3000 *g* zentrifugiert und bei –20 °C eingefroren. Für die Messungen wurden sie aufgetaut und sofort bearbeitet. Die Lipase wurde in Pfortaderserum, Lymphe und Peritonealexsudat bestimmt [25]. Die Messungen der Phospholipaseaktivität erfolgte in Pfortaderserum, Lymphe und Peritonealexsudat [9]. Zur Beurteilung der Aktivität der Kallikrein-Kinin-Systeme wurden die Konzentrationen des Plasmaprokalikreins, des Gewebekallikreins und des Gesamtkininogens bestimmt. Nach Abnahme wurden die Proben sofort bei 3000 *g* für 10 min zentrifugiert und bei –70 °C eingefroren. Das Plasmaprokalikrein wurde als librierbares Plasmakallikrein gemessen. Die Bestimmung erfolgte auf photometrischer Basis mit einem Farbstofftest von Kabi-Vitrum. Die Messungen wurden im Pfortaderplasma durchgeführt. Gewebekallikrein wurde mit einem spezifischen Radioimmunoassay bestimmt. Die Kininogenkonzentration wurde durch Bestimmung des aus dem Kininogen freisetzbaren Kinins [18] ermittelt. Die Messungen erfolgten in heparinisiertem Pfortaderplasma, heparinisierten Lymphe und heparinisiertem Peritonealexsudat.

## Versuchsablauf

Die Tiere wurden randomisiert einer der Versuchsgruppen zugeteilt, der Beobachtungszeitraum betrug 6 h. Die chirurgische Präparation und das Versuchsprotokoll war in allen Versuchsgruppen gleich.

Nach Erreichen eines Steadystate erfolgten die basalen Messungen. Proben für die Laboruntersuchungen wurden zu folgenden 5 Zeitpunkten abgenommen: am Ende des Steadystate, nach 40 min, 2 h, 4 h und 6 h.

Am Ende des Steadystates erfolgte die Abnahme von Pfortaderblut und peripankreatischer Lymphe, zu den späteren Zeitpunkten zusätzlich auch von Peritonealexsudat.

Es wurden 3 Versuchsgruppen gebildet:

- Kontrolle ( $n=9$ ),
- Freie-Fettsäure-Pankreatitis (FFS) ( $n=10$ ). Die FFS-Pankreatitis wurde durch Infusion von 0,1 ml/kg KG reiner Ölsäure (Oleic acid, Sigma) in den Truncus coeliacus über einen Zeitraum von 15 min induziert.
- Natrium-Taurocholat-Pankreatitis (NaT) ( $n=10$ ). Die NaT-Pankreatitis wurde durch Infusion von 1 ml/kg KG einer 5%igen Natrium-Taurocholat-Lösung (Taurocholic acid, Sigma T 0750) unter einem Druck von 20 cm Wassersäule in den Ductus pancreaticus ausgelöst.

## Statistik

In den Kurven und Tabellen sind jeweils die Mittelwerte und der Standardfehler der Mittelwerte (SEM) angegeben.

Die analytische Statistik erfolgte für den Innergruppenvergleich mit Rangvarianzanalyse nach Friedman und für den Zwischengruppenvergleich nach der Kruskal-Wallis-Analyse, da eine Normverteilung der Werte nicht angenommen werden konnte. Es handelte sich in beiden Tests um bindungskorrigierte Einzelvergleiche. Im Innergruppenvergleich wurde der Ausgangswert mit dem 40-min-Wert und dem 6-h-Wert verglichen. Das Signifikanzniveau betrug  $<0,05$ .

## Ergebnisse

### Histologie

Schon makroskopisch war an den Pankreaspräparaten des Ölsäuremodells ein Ödem zu erkennen. Histologische

Schnitte des Pankreas zeigten eine Verbreiterung der Interlobärsepten als Zeichen des Ödems. Außerdem waren kleine Nekroseherde im exokrinen Parenchym nachzuweisen, die aber jeweils nur Teile eines Läppchens betrafen. In den Gefäßen dieser Bereiche fanden sich Fibrinthromben.

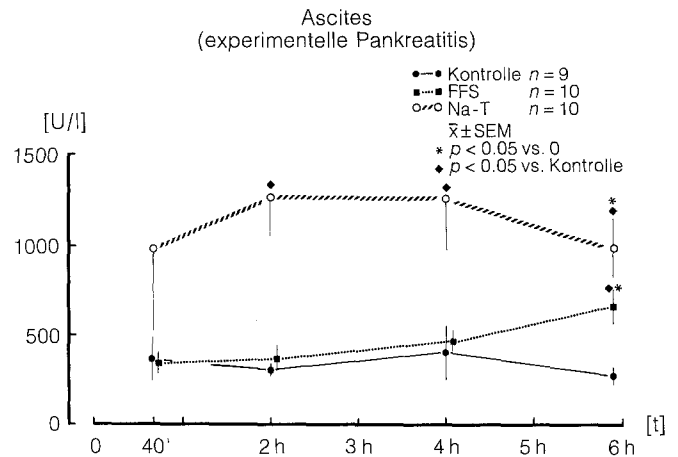
Durch die Natrium-Taurocholat-Infusion kam es makroskopisch zu fokalen, überwiegend im Kopfbereich lokalisierten hämorrhagischen Pankreasnekrosen. Histologisch fanden sich Nekrosebereiche neben vitalem Parenchym. Die Nekrosebereiche waren v.a. um das Pankreasgangsystem lokalisiert. In den Randbereichen der Nekrosen waren vermehrt Entzündungszellen nachweisbar.

### Biochemische Untersuchungen

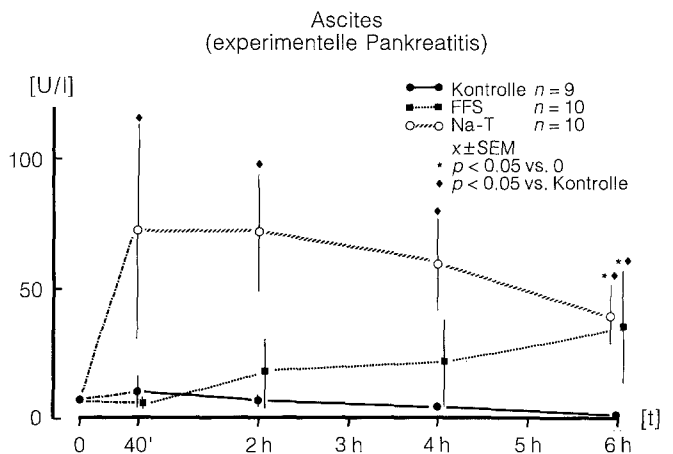
**Gesamteiweiß.** Die Gesamteiweißkonzentration fiel in Serum und Lymphe in allen 3 Versuchsgruppen über die 6stündige Versuchsdauer tendenziell ab; so lagen die Serumwerte in der Kontrollgruppe initial bei  $3,4 (\pm 0,26)$  g/dl und nach 6 h bei  $2,0 (\pm 0,88)$  g/dl. Die Gesamteiweißkonzentrationen im Peritonealexsudat zeigten hingegen keine Änderung über die Versuchsdauer; die Werte in der Natrium-Taurocholat-Gruppe waren bei der ersten Messung bei  $1,2 (\pm 0,23)$  g/dl nach 6 h bei  $1,1 (\pm 0,99)$  g/dl.

**Pankreasenzyme.** Die Lipaseaktivität stieg bei beiden Pankreatitisgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe in Serum, Lymphe und im Peritonealexsudat (Abb. 1) signifikant an. In der NaT-Gruppe fand sich im Serum bereits nach 40 min ein signifikanter Anstieg von  $54,4 (\pm 5,33)$  U/l auf  $142 (\pm 20,3)$  U/l. Im Peritonealexsudat war die Lipaseaktivität nach 6 h bei der FFS-Pankreatitisgruppe um das Doppelte, bei der NaT-Pankreatitis um das 3fache gegenüber der Kontrolle erhöht (Abb. 1). Unterschiedlich war die Kinetik des Aktivitätsanstiegs in den Pankreatitisgruppen. In der FFS-Gruppe kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Aktivität in allen Kompartimenten bis zum Versuchsende. Bei der NaT-Pankreatitis hingegen fand sich ein rascher Anstieg in den Anfangsphasen mit den höchsten Werten innerhalb von 2 h.

In der Kontrollgruppe kam es zu keiner Änderung der Phospholipaseaktivität in Serum, Lymphe und Peritonealexsudat (Abb. 2), sie lag über den gesamten Versuchszeitraum im Normbereich unter  $10$  U/l. In beiden Pankreatitisgruppen blieben die Phospholipaseaktivitäten in Serum und Lymphe unverändert; die Werte lagen im Normbereich. Im Peritonealexsudat wurde bei der FFS-Pankreatitis ein kontinuierlicher Anstieg der Phospholipaseaktivität beobachtet (Abb. 2). Bei der NaT-Pankreatitis fand sich bereits innerhalb von 40 min der PLA-Aktivität im Peritonealexsudat ein signifikanter Anstieg um das 7fache im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abb. 2). Die PLA-Aktivität blieb dann über die ganze Beobachtungsphase erhöht und lag nach 6 h bei einem Mittelwert von  $39 (\pm 12)$  U/l. Die PLA-A waren in jeder Gruppe im Peritonealexsudat höher als in der Lymphe.



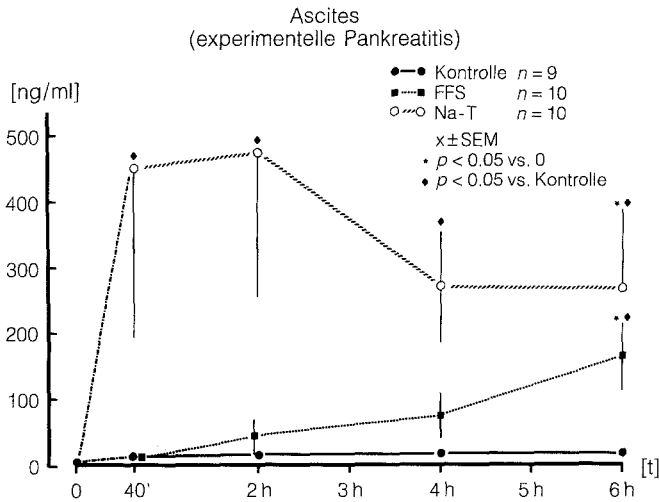
**Abb. 1.** Dargestellt sind die Mittelwerte ( $\pm$  SEM) der Lipaseaktivität in der Kontrollgruppe und in den beiden Pankreatitisgruppen (FFS und NaT) im Peritonealexsudat. Die Werte basal und während der 6stündigen Beobachtungsphase sind in U/l angegeben. In der Kontrollgruppe blieb die Lipaseaktivität nahezu konstant bei  $300$  U/l. In der FFS-Gruppe stieg sie signifikant von  $375$  auf  $640$  U/l an. In der NaT-Gruppe war schon der 40-min-Wert mit  $983,6$  U/l stark erhöht; nach 2 h lagen alle Werte signifikant über denen der Kontrollgruppe



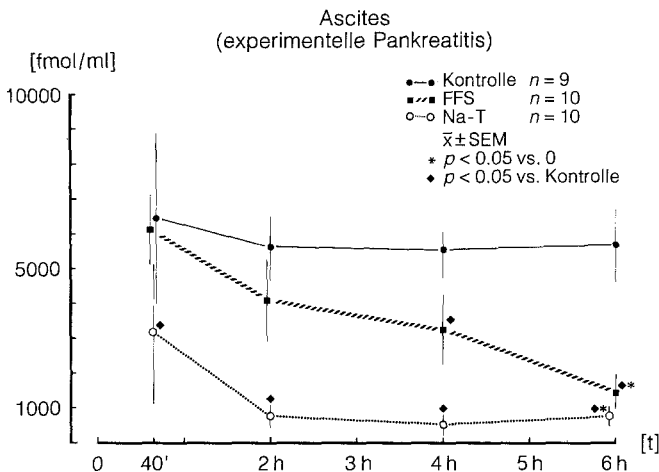
**Abb. 2.** Dargestellt sind die Mittelwerte ( $\pm$  SEM) der Phospholipase-A-Aktivität in der Kontrollgruppe und in den beiden Pankreatitisgruppen (FFS und NaT) im Peritonealexsudat. Die Werte basal und während der 6stündigen Beobachtungsphase sind in U/l angegeben. In der Kontrollgruppe lag die Phospholipaseaktivität unter  $10$  U/l. In der FFS-Gruppe fand sich ein kontinuierlicher Anstieg von  $6,5$  auf  $37,5$  U/l. Dieser Anstieg war noch 6 h signifikant gegenüber dem Ausgangswert und der Kontrollgruppe. Bei der NaT-Gruppe war schon der 40-min-Wert mit  $72$  U/l signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht

**Kallikrein-Kinin-Systeme.** Die Mittelwerte der generierbaren Plasma-Kallikrein-Aktivität im Pfortaderplasma, die der Prokallikreinkonzentration entsprechen, lagen in den Versuchsgruppen basal zwischen  $1842 (\pm 193)$  U/l und  $2051 (\pm 215)$  U/l. In der Kontrollgruppe und in der NaT-Gruppe fiel die Konzentration innerhalb von 6 h leicht ab. In der FFS-Gruppe war dagegen bereits der 40-min-Wert um  $41\%$  erniedrigt und fiel dann noch weiter ab.

Die Konzentration an Gewebekallikrein in der Kontrollgruppe blieb in Pfortaderplasma und peripankreati-



**Abb. 3.** Dargestellt sind die Mittelwerte ( $\pm$  SEM) der Organkallikreinaktivität in der Kontrollgruppe und in den beiden Pankreatitisgruppen (FFS und NaT) im Peritonealexsudat. Die Werte basal und während der 6stündigen Beobachtungsphase sind in ng/ml angegeben. In der Kontrollgruppe lagen die Konzentrationen zwischen 14,6 und 19,7 ng/ml. In der FFS-Gruppe kam es zu einem signifikanten Anstieg bis auf 160 ng/ml. Bei der NaT-Pankreatitis ist der 40-min-Wert mit 452 ng/ml signifikant erhöht. Er steigt innerhalb von 2 h noch leicht auf 477 ng/ml an, um dann auf 270 ng/ml abzufallen und auf diesem Niveau zu verbleiben



**Abb. 4.** Dargestellt sind die Mittelwerte ( $\pm$  SEM) der Gesamtkininogenkonzentrationen in der Kontrollgruppe und in den beiden Pankreatitisgruppen (FFS und NaT) im Peritonealexsudat. Die Werte sind in fmol/ml angegeben. Die Gesamtkininogenkonzentration änderte sich in der Kontrollgruppe nicht. In den Pankreatitisgruppen fand sich ein kontinuierlicher Abfall. In der FFS-Gruppe war der 6-h-Wert, in der NaT-Gruppe bereits der 40-min-Wert signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erniedrigt

scher Lymphe während der Versuche annähernd gleich hoch, sie lag bei Versuchsbeginn knapp über 2 ng/ml. In beiden Pankreatitisgruppen kam es zu einem Anstieg der Kallikreinkonzentration in Serum, Lymphe und Ascites (Abb. 5). Bei der FFS-Pankreatitis stiegen die Konzentrationen von Gewebekallikrein im Peritonealexsudat auf 160 ( $\pm$  51) ng/ml nach 6 h. In der NaT-Gruppe zeigte sich ein rascher Anstieg von Gewebekallikrein in Plasma, peripankreatischer Lymphe und Peritonealexsudat (Abb. 3)

schon innerhalb von 40 min; die Konzentrationen stiegen dann weiter an bis Versuchsende ( $p < 0,05$  vs. Kontrolle, vs. basal).

Die Gesamtkininogenkonzentration war in der Kontrollgruppe und in den Pankreatitisgruppen in der Lymphe niedriger als im Plasma. In allen 3 Gruppen kam es im Plasma und in der Kontrollgruppe und der NaT-Gruppe auch in der Lymphe zu einem leichten, nicht signifikanten Abfall der Gesamtkininogenkonzentrationen; in der Lymphe der FFS-Gruppe fielen die Kininogenkonzentrationen über 6 h signifikant ab gegenüber dem Ausgangswert von 5457 ( $\pm$  933) fmol/ml und den Werten in der Kontrollgruppe. Im Peritonealexsudat wurde in beiden Pankreatitisgruppen ein signifikanter Abfall der Gesamtkininogenkonzentration über die gesamte Zeit beobachtet (Abb. 4), wobei der zeitliche Verlauf in den beiden Modellen unterschiedlich war. Bei der FFS-Gruppe war im Peritonealexsudat ein kontinuierlicher Abfall mit den niedrigsten Werten nach 6 h zu beobachten, während im NaT-Modell die Konzentration schon nach 40 min signifikant gegenüber der Kontrollgruppe vermindert war (Abb. 4).

## Diskussion

Ein Ziel der Untersuchungen war es, die bei Pankreatitis initial im Pankreas und peripankreatisch stattfindende Freisetzung von Enzymen und die Aktivierung von Mediatorsystemen nachzuweisen. Das Pankreas wurde dazu in situ isoliert. Das Modell wurde an anderer Stelle ausführlich dargestellt [24], obwohl durch die Präparation am Intestinum die Übertragbarkeit der gemessenen Werte auf andere Pankreatismodelle beeinträchtigt ist.

Die klinische Diagnose der akuten Pankreatitis wird durch den Nachweis erhöhter Enzymaktivitäten gestützt. In beiden Pankreatismodellen wurden erhöhte Lipase- und Phospholipase-A-Aktivitäten gemessen. Die Anstiege bewegen sich dabei in dem auch von anderen Gruppen beschriebenen Bereich. Während die Lipaseaktivität im Serum um das 3- bis 10fache [11, 12] und in der Lymphe etwa um das 10fache [13] ansteigt, sind im Peritonealexsudat Anstiege bis zum hundertfachen des Ausgangswertes nachzuweisen [11–13]. Die Phospholipaseaktivität steigt bei der experimentellen Pankreatitis nur im Peritonealexsudat innerhalb der ersten 5 h meßbar an [2, 10, 16]. In beiden Pankreatismodellen läßt sich somit eine Freisetzung von Pankreasenzymen als biochemisches Zeichen der akuten Pankreatitis nachweisen.

Eine Aktivierung des Plasma-Kallikrein-Systems im Blut konnten wir in dem Modell der biliären Pankreatitis nicht nachweisen. Auch Ruud et al. [15] fanden bei der NaT-Pankreatitis innerhalb der ersten 5 h keine Aktivierung des Plasma-Kallikrein-Systems im Blut, sondern nur im Ascites.

Der Abfall des Plasmaprokallikreins im FFS-Modell läßt sich durch eine direkte Aktivierung an der durch die Ölsäure geschädigten Gefäßwand erklären [23].

In beiden Pankreatismodellen waren ein Anstieg der Gewebekallikreinkonzentration und ein Abfall der Gesamtkininogenkonzentration in allen Kompartimenten

zu beobachten. Die vermehrte Gewebekallikreinfreisetzung dürfte in Folge eines fehlenden effektiven Inhibitorpotentials zu einem vermehrten Kininogenabbau und damit verbunden zu einer beträchtlichen Kininfreisetzung führen. Der gemessene Abfall des Kininogens um etwa 50 % im Peritonealexsudat ist deshalb bemerkenswert, da schon niedrige Kininogenkonzentrationen ausreichen, um starke lokale Wirkungen auszulösen. Auch von anderen Gruppen wurden Hinweise für eine Aktivierung des Gewebekallikrein-Kinin-Systems bei der akuten Pankreatitis beobachtet [17]. Kortmann [11] fand bei der NaT-Pankreatitis am Schwein im Plasma eine Verdopplung der Gewebekallikrein und einen Abfall der Kininogenkonzentration auf ein Drittel des Ausgangswerts. Im Aszites stieg die Kallikreinkonzentration sogar um das 10- bis 100fache an, bezogen auf den Ausgangswert im Plasma, während die Kininogenkonzentration unter die Nachweisgrenze fiel [11]. In der vorliegenden Studie ist die Erhöhung der Gewebekallikreinkonzentration im Aszites wesentlich stärker ausgeprägt als in der Pankreaslymphe und hier stärker als im Plasma.

Durch die Messung von Gewebekallikrein und Kininogen im venösen Pfortaderblut, peripankreatischer Lymphe und im Peritonealexsudat gibt es starke Hinweise für eine Gewebekallikrein-Kinin-Aktivierung im Pankreas bei der experimentellen biliären Pankreatitis.

Durch die kontinuierliche Volumensubstitution, die stabile hämodynamische Bedingungen gewährleistete, konnten in unseren Versuchen Einflüsse der Hämodynamik etwa durch den hypovolämischen Schock auf biochemische Parameter minimiert werden. Eine Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Systems ist somit wahrscheinlich durch die Pankreatitis bedingt. Pathophysiologisch dürfte der Aktivierung des Gewebekallikrein-Kinin-Systems eine große Bedeutung zukommen. Sie kann die ausgeprägten lokalen Veränderungen im Bauchraum, die Permeabilitätsstörung mit Flüssigkeitsverlust aus dem intravasalen Raum, mit Hypovolämie und Ödemen sowie die starken Schmerzen im Bauchraum bei akuter Pankreatitis erklären.

Bei der Pankreatitis wurden von Papp et al. [13] in Serum und Lymphe nur ein leichter Anstieg der Lipase beschrieben, das Verhältnis der Aktivitäten in den beiden Flüssigkeiten blieb dabei unverändert. Die Phospholipaseaktivität war unter Kontrollbedingungen in Lymphe und Serum etwa gleich. Bei der Pankreatitis stieg die Aktivität der PLA in der peripankreatischen Lymphe nicht an. Die Veränderungen der Konzentration von Komponenten des Kallikrein-Kinin-Systems war in der peripankreatischen Lymphe quantitativ stärker ausgeprägt als im Blut. Die relativ geringen Anstiege der Enzymaktivitäten in der Pankreaslymphe während der Pankreatitis lassen sich durch eine Verlegung intrapancreatischer Lymphbahnen erklären; bei der Pankreatitis kommt es in den geschädigten Regionen zum Austritt von Erythrozyten und Zelldetritus in die Lymphbahnen [1]. Die geringen Konzentrationsänderungen von Lipase und Phospholipase sowie von Kallikrein und Kininogen in der peripankreatischen Lymphe können in unseren Modellen der akuten Pankreatitis keinen wesentlichen Anteil an den systematischen Wirkungen haben.

Experimentell und klinisch werden im Peritonealexsudat bei der Pankreatitis um ein Vielfaches höhere Enzymspiegel als in Lymphe oder peripherem Blut gefunden [12, 20]. Auch vasoaktive Substanzen wie Kinine und Prostaglandine wurden in hohen Konzentrationen nachgewiesen [7, 8, 11, 15, 21, 22].

Die Freisetzung in das Peritonealexsudat beginnt schon frühzeitig. Takada fand die höchsten Aktivitäten von Lipase, Amylase und Trypsin im Peritonealexsudat schon nach 1 h; danach fielen die Aktivitäten ab [20]. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, daß der frühzeitig gewonnene pankreatogene Aszites, wenn er gesunden Hunden i.v. verabreicht wird, eine hypotensive Wirkung hat, die im 16 h später gewonnenen Aszites nicht mehr nachweisbar ist. Der auch in unseren Versuchen gezeigte frühe Nachweis hoher Enzymkonzentration und die Veränderungen der Konzentration von Gewebekallikrein und Kininogen im Peritonealexsudat sprechen für eine initial lokale Aktivierung und Freisetzung bei der Pankreatitis. Durch die konsequente Ableitung des Aszites aus dem Bauchraum wurde die Resorption in den systemischen Kreislauf minimiert. Dies kann die geringen Anstiege von Lipase und PLA im Blut erklären. Im Gegensatz dazu konnten Mayer et al. [12] am Hund durch die Separation von Aszites die Enzymspiegel im Blut nicht vermindern. In seinem Modell erfolgte die Messung aber nur an dem überwiegend retroperitoneal gelegenen Pankreaskorpus und Pankreasschwanz mit Drainage durch retroperitoneale Lymphbahnen, so daß die Abgabe von Enzymen und Mediatoren in den freien Bauchraum sicher geringer war als in unserem Modell.

Es konnte gezeigt werden, daß es in beiden Pankreatismodellen zu einer frühzeitigen Freisetzung der Lipase in venöses Pankreasblut, Pankreaslymphe und einer Aktivierung der Phospholipase im Peritonealexsudat kommt. Der Anstieg der Gewebekallikreinkonzentration und der Abfall des Gesamtkininogens bei nahezu unverändertem Gesamteiweiß in beiden Pankreatismodellen sind ein Hinweis auf eine Aktivierung des Gewebekallikrein-Kinin-Systems. Die Veränderungen sind dabei jeweils im Peritonealexsudat am ausgeprägtesten. Die akute Pankreatitis ist initial ein lokales Geschehen im Pankreas und seiner Umgebung. Die Freisetzung und Aktivierung der Enzyme und die Änderung der Konzentration von Kallikrein und Kininogen in den Kompartimenten venöses Pankreasblut, Lymphe und Peritonealexsudat ist unterschiedlich. Im Peritonealexsudat lassen sich um ein Vielfaches (bis zu 50fach) höhere Konzentrationen nachweisen als in Lymphe oder venösem Pankreasserum, was für die „Vermittlung“ systematischer Wirkungen berücksichtigt werden muß.

## Literatur

1. Anderson MC, Schiller WR (1968) Microcirculatory dynamics in the normal and inflamed pancreas. *Am J Surg* 115:118
2. Ascherl R, Müller F, Kurz M, Werner E, Wimmer B, Blümel G (1987) Phospholipase A (PLA) und akute hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis – Experimentelle Untersuchungen. *Langenbecks Arch Chir [Suppl]* 349

3. Balldin G (1980) On protease-antiporter imbalance with special reference to the protective role of protease inhibitors in acute pancreatitis. *Akademisk Ahandling, Malmö*
4. Bradley EL, Hall JR, Lutz J, Hamner L, Latthouf O (1983) Hemodynamic consequences of severe pancreatitis. *Ann Surg* 198:130
5. Cobo LC, Abraham E, Bland RB (1984) Sequential hemodynamic and oxygen transport abnormalities in patients with acute pancreatitis. *Surgery* 95:324
6. Creutzfeld W, Lankisch PG (1985) Acute pancreatitis: etiology and pathogenesis. In: Berk JE (ed) *Gastroenterology VI*, Saunders, Philadelphia London Toronto New Mexico Rio de Janeiro Sydney Tokyo
7. Farias LR, Frey CF, Holcroft JW, Gunther R (1985) Effect of prostaglandin blockers on ascites fluid in pancreatitis. *Surgery* 98:571
8. Galzer G, Gilliland EL, Aldridge MA (1987) The role of prostaglandins in acute pancreatitis. *Surg Annu* 19:175
9. Hoffmann GE, Schmidt D, Bastian B (1985) Bestimmung der Phospholipase A im Serum bei akuter Pankreatitis. *J Clin Chem Clin Biochem* 23:582–583
10. Hölbling N, El-Kalak H, Georgopoulos A et al. (1985) Phospholipase A1 and A2 in experimental acute pancreatitis in rats. *Res Exp Med* 185:131
11. Kortmann H (1984) Limitierte und unspezifische Proteolyse beim pankreatogenen Schock. *Habitationsschrift, Universität München*
12. Mayer AD, Airey M, Hodgson J, McMahon MJ (1985) Enzyme transfer from pancreas to plasma during acute pancreatitis. The contribution of ascitis fluid and lymphatic drainage of the pancreas. *Gut* 26:876
13. Papp N, Nemeth EP, Horvath EJ (1971) Pancreaticoduodenal lymph flow and lipase activity in acute experimental pancreatitis. *Lymphology* 4:48
14. Pissas A (1984) Anatomoclinical and anatomosurgical essay on the lymphatic circulation of the pancreas. *Anat Clin* 6:255
15. Ruud TE, Aasen AO, Kierulf P, Stadaas J, Aune S (1985) Studies in the plasma during experimental acute pancreatitis in pigs. *Scand J Gastroenterol* 20:877
16. Schröder T, Lempinen M, Nordling S, Kinmenen PKJ (1981) Chlorpromazine treatment of experimental acute fulminant pancreatitis in pigs. *Eur Surg Res* 13:143
17. Seung WP, Feldman BF (1985) Early phase components of the kallikrein kinin system in hemorrhagic ascitic fluid and plasma in the rat with induced acute pancreatitis. *Am J Vet Res* 46:1961
18. Siebeck M, Fink E, Weipert J, Jochum M, Fritz H, Spannagel M, Kroworsch P, Shimamoto K, Schweiberer L (im Druck) Inhibition of plasma kallikrein with aprotinin in porcine endotoxin shock. *J Trauma*
19. Steer ML, Meldolesi J (1984) Experimental acute pancreatitis: Relevance of models to clinical disease. In: Gyr KE, Singer MV, Sarles H (eds) *Pancreatitis – Concepts and classification*. Excerpta Medica, Amsterdam New York Oxford
20. Takada T, Apper HE et al. (1976) Vascularpermeability induced by pancreatic exudate-formed during acute pancreatitis in dogs. *Surg Gynecol Obstet* 143:779
21. Traverso LW, Pullos TG, Frey CF (1983) Hemodynamic characterization of porcine hemorrhagic pancreatitis ascites fluid. *J Surg Res* 34:254
22. Vollmar B, Waldner H, Schmand J, Conzen PF, Goetz AE, Habazettl H, Schweiberer L, Brendel W (1989) Release of arachidonic acid metabolites during acute pancreatitis in pigs. *Scand J Gastroenterol* 24:1253–1264
23. Vollmar B, Waldner H, Schmand J, Conzen PF, Goetz AE, Habazettl H, Schweiberer L, Brendel W (1991) Oleic acid induced pancreatitis in pigs. *J Surg Res* 50:1–9
24. Waldner H, Schmand J, Vollmar B, Goetz A, Conzen P, Schweiberer L, Brendel W (1990) Die Pankreasdurchblutung bei der experimentellen biliären Pankreatitis. *Langenbecks Arch Chir* 375:112–118
25. Weber H (1965) Mikromethode zur Bestimmung der Pankreaslipase im Serum. *Dtsch Med Wochensh* 26:1170