

AUS DER KLINIK FÜR CHIRURGIE
DER UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
DIREKTOR: PROF. DR. MED. H.-P. BRUCH

**NONADRENERGE – NONCHOLINERGE
INNERVATION DER MENSCHLICHEN
GALLENBLASE**

INAUGURALDISSERTATION

ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
- AUS DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT -

VORGELEGT VON

GEORG HOCHHEUSER
AUGSBURG

AUGSBURG 2004

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. H.-P. Bruch

2. Berichterstatter:

Priv. Doz. Dr. Thilo Wedel

Tag der mündlichen Prüfung:

7. 12. 2004

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 7.12.2004

I.	EINLEITUNG	3
II.	MATERIAL UND METHODEN	7
1.	UNTERSUCHTES MATERIAL UND PRÄPARATION.....	7
2.	VERSUCHSANORDNUNG	8
3.	VERWENDETE SUBSTANZEN	9
4.	STATISTISCHE ANALYSE	11
5.	VERSUCHSABLAUF	12
III.	ERGEBNISSE.....	15
1.	EINLEITENDE UNTERSUCHUNGEN.....	15
1. 1	Funktionsprüfung der Präparate	15
1. 2	Bestimmung des basalen Kontraktionstonus	16
2.	EFFEKT VON SODIUMNITROPRUSSID.....	17
2. 1	Absolutwerte der Reaktion auf Natriumnitroprussid.....	17
2. 2	Reaktivität und relative Reaktivität auf Natriumnitroprussid	17
2. 3	Einflüsse von Entzündung auf die Natriumnitroprussid-Antwort.....	19
3.	EFFEKT VON CHOLEZYSTOKININ.....	19
3. 1	Absolutwerte und Dosis-Wirkungs-Kurve.....	19
3. 2	CCK-Antwort im Vergleich zur Kalium-Antwort.....	20
3. 3	Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die Cholezystokinin-Reaktionen	22
4.	EFFEKT VON L-NITRO-ARGININ	22
4. 1	Erstgabe von L-Nitro-Arginin.....	22
4. 1. 1	Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die erste L-Nitro-Arginin-Antwort.....	23
4. 2	Beeinflussung der Wirkung von Natriumnitroprussid durch L-Nitro-Arginin	24
4. 3	Zweite Gabe von L-Nitro-Arginin.....	24
4. 3. 1	Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die zweite L-Nitro-Arginin-Gabe.....	25
4. 4	Effekt von L-Nitro-Arginin auf die Reaktionen auf Cholezystokinin.....	26

	Seite
4. 4. 1 Kontraktionswerte auf Cholezystokinin nach L-NAME-Gabe.....	26
4. 4. 2 CCK-Dosis-Wirkungs-Kurve nach L-NAME.....	28
4. 4. 3 Vergleich der Dosis-Wirkungs-Kurve vor und nach L-NAME.....	29
4. 4. 4 Wirkung der Einflussfaktoren auf die CCK-Werte nach L-NAME.....	30
5. EFFEKT VON L-ARGININ.....	30
5. 1 Gegenüberstellung der L-Arginin-Antwort mit den L-NAME-Antworten ..	31
6. EFFEKT VON KALIUM	32
6. 1 Absolutwerte.....	32
6. 2 Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die Kalium-Antwort....	33
IV. DISKUSSION.....	34
V. ZUSAMMENFASSUNG	38
VI. LITERATURVERZEICHNIS	41
VII. ANHANG	53
1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	53
2. CCK - DOSIS - WIRKUNGSKURVE NACH L-NAME	55
VIII. DANKSAGUNGEN.....	58

I. EINLEITUNG

Im Jahre 1988 wurde nachgewiesen, dass die bis dahin als „endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) bekannte Substanz Nitric Oxide (NO) entsprach (58). Dieser erste Nachweis der Produktion von NO im Säugetierorganismus eröffnete der Forschung ein völlig neues Feld.

Es konnte gezeigt werden, dass NO neben L-Citrullin in einer durch die Familie der NO-Synthasen (NOS) katalysierten Reaktion aus der Aminosäure L-Arginin und molekularem Sauerstoff entsteht (70). Die Enzyme der NOS-Familie setzen sich aus drei Gruppen zusammen (8). Konstitutive NOS existieren in Endothelzellen und Neuronen. Sie setzen als Antwort auf eine Rezeptorstimulation in Abhängigkeit von Calmodulin (10) und Calcium NO frei (50,59,60,61).

Eine induzierbare dritte Form der NOS wurde zuerst bei Makrophagen nachgewiesen und ist calciumunabhängig (51). Sie benötigt hingegen andere Faktoren (108).

In jedem Fall werden NADPH sowie Tetrahydrobiopterin als Kofaktoren benötigt (62). Die Wirkung wird durch eine Erhöhung der löslichen Guanylatzyklase und nachfolgenden Anstieg von zyklischem Guanidinmonophosphat (cGMP) in der Zielzelle entfaltet (40,54,85,86). In verschiedenen Veröffentlichungen wurden jedoch auch andere Mechanismen diskutiert wie zum Beispiel eine direkte Wirkung auf kontraktile Proteine durch Reduzierung ihrer Sensitivität gegenüber intrazellulärem Calcium (68,107). Auch eine Hemmung der durch Inositol-triphosphat mediierten Freisetzung von Calcium wurde inzwischen nachgewiesen (15).

Heute ist eine große Zahl biologischer Funktionen von NO bekannt. NOS wurde in verschiedenen Organen (37,69,95) und Zellarten (30,82,117) nachgewiesen.

NO spielt eine wichtige Rolle bei der Thrombozytenfunktion (4,21,79-84) und der körpereigenen Abwehr (29,30,39,51,100). Es scheint im ZNS an der Ausbildung

des Gedächtnisses (7,67,101) und der Motorik (106) beteiligt. Eine Rolle im Verlauf des Alterungsprozesses, beispielsweise bei der diastolischen Funktionsbeeinträchtigung des Altersherzens, wird diskutiert (120).

NO erwies sich schon bald als wesentlicher Faktor in der Regulation des vaskulären Basaltonus (3,46,97). Es ist ein endogener Vasodilatator (57,62) mit fundamentalem Einfluss auf Blutdruck und Perfusion (88,97). Es senkt sowohl den mittleren arteriellen Druck als auch den Gefäßwiderstand (76).

Auch bei der pulmonalen Hypertension kann durch Inhalation von NO in niedrigen Konzentrationen eine Vasodilatation erwirkt werden (74). Dies eröffnet neue Möglichkeiten bei der Behandlung des akuten Lungenversagens beim Erwachsenen (ARDS), zumal keine systemischen Nebenwirkungen beschrieben sind (46,93,94).

Am autonom innervierten Magen-Darm-Trakt konnte ebenfalls die konstitutive Form der NOS bzw. eine NonAdrenerge-NonCholinerge (NANC) Innervation mit NO als Transmitter nachgewiesen werden (5,20,52).

Bezüglich des hepatobiliären Traktes liegt eine große Anzahl von Untersuchungen vor. Im Tierversuch konnte bei verschiedenen Spezies sowohl am M. sphinkter oddi (2,42,63,115) wie an der Gallenblase (112) eine NANC-Innervation nachgewiesen werden. Andererseits gibt es Veröffentlichungen, die einer solchen NANC-Innervation widersprechen (14,17,36).

Der Nachweis, dass die nicht-induzierbare, neuronale NOS für die histochemische Reaktion der NADPH-Diaphorase verantwortlich zeichnet (32) bereitete den Weg für entsprechende Studien. Wie in anderen Organen (25,52) wurden daraufhin auch an der Gallenblase NADPH-Diaphorase-haltige Neurone beschrieben (13,113). Aktivitäten einer konstitutiven NOS konnten an Präparaten (26) und in vivo (38) nachgewiesen werden, diese neuronale NOS ist eisenabhängig (110). In einer neueren Publikation wurde jedoch berichtet, es gebe immunhistochemisch keinen Nachweis für eine NOS an der menschlichen Gallenblase (44), während andere,

ebenfalls aktuelle Arbeiten bereits die Rolle von NO als Transmitter bestätigten (23,38,99).

Die Entstehung von Gallensteinen ist ein multifaktorielles Geschehen. Eine Reihe von Faktoren wie die Nukleationszeit der Gallensalze (31), die Einnahme von Geschlechtshormonen (105) oder das Ungleichgewicht von nukleationsfördernden und -hemmenden Faktoren (24) sind hierbei bekannt. Nach allgemeiner Auffassung kommt jedoch der Gallenblasenmotilität eine zentrale Rolle in der Entstehung der Cholezystolithiasis zu (12,19,41). Daraus resultieren vielfältige Bemühungen, die Mechanismen der Innervation zu klären. Wäre eine inhibitorische NANC-Innervation der Gallenblase zweifelsfrei nachzuweisen, ließen sich möglicherweise entsprechende therapeutische Konsequenzen zur Therapie oder Prophylaxe der Volkskrankheit Cholezystolithiasis ziehen, ähnlich denen bei der Behandlung kardialer und pulmonaler Erkrankungen (s. o.).

So wurde die Gallenblasenmotilität steinerkrankter Patienten in verschiedenen Arbeiten behandelt. Es wurden große Unterschiede innerhalb des Kollektivs der Steinträger festgestellt, was spontane rhythmische Aktivitäten (27) und die Reaktionen auf Cholezystokinin (CCK) betrifft (47,114). Während eine Gruppe in gleicher Weise wie eine steinfreie Kontrollgruppe auf CCK reagiert, zeigt eine zweite Gruppe eine stark verminderte Reaktion auf CCK. Für diese beiden funktionell zu trennenden Untergruppen des Kollektivs von Steinträgern wurden die Bezeichnungen „Kontraktoren“ bzw. „Non-Kontraktoren“ gemäß ihrer Reaktionen auf CCK geprägt (27).

Auch bei Versuchen, die vermutete NOS zu beeinflussen, finden sich große Unterschiede zwischen Kontraktoren und Non-Kontraktoren (99).

In den Publikationen von Hanisch et. al. (27) und Sänger et. al. (99) waren die Präparate auch histologisch untersucht worden. Während die Non-Kontraktoren starke Entzündung und Nekrosen aufweisen, zeigt die Kontraktorgruppe deutlich geringere feingewebliche Veränderungen. Dies stimmt mit den Ergebnissen

anderer Arbeiten überein, wo eine herabgesetzte Kontraktilität bei histologisch nachgewiesener Entzündung der Gallenblase gezeigt werden konnte (9,28).

Liegt eine Entzündung der Gallenblase vor, treten verschiedene Mechanismen auf, die eine Relaxierung des Organs bewirken. Neben einer Erhöhung des Gallenblasen-Prostaglandins E₂ (34) wird ferner das Vorhandensein einer induzierbaren NOS diskutiert (99), unter Umständen auch eine NO-Erhöhung durch aktivierte Makrophagen (66), deren Fähigkeit zur Freisetzung von NO bereits seit längerer Zeit bekannt ist (29).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Kontraktor-Gruppe der Cholezystolithiasis-Patienten funktionell näher zu betrachten. Es sollten die Einflüsse der Faktoren Entzündung und Vernarbung auf die Kontraktilität innerhalb der Kontraktor-Gruppe untersucht werden. Ferner sollte angesichts der jüngst geäußerten Zweifel an der Existenz einer NOS in der menschlichen Gallenblase erneut die Wirkung eines NOS-Hemmers bzw. von L-Arginin an Streifenpräparaten der Gallenblasenwand aus der Kontraktor-Gruppe in vitro überprüft werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Untersuchtes Material und Präparation

Untersucht wurden die Gallenblasen von neun männlichen und zwölf weiblichen Patienten, die sich einer elektiven Cholezystektomie bei symptomatischer Cholezystolithiasis unterzogen. Die Patienten waren zwischen 24 und 79 Jahre alt. Das Durchschnittsalter betrug 52 Jahre.

In früheren Untersuchungen zur Gallenblasenentleerung bei Steinträgern konnte gezeigt werden, dass die individuellen Unterschiede in der Gallenblasenkontraktilität in keiner Weise mit Parametern wie Gewicht oder Größe der Patienten, Steingröße oder -zahl, Koliken in der Anamnese usw. korrelieren (77). Daher wurden keine derartigen individuellen Parameter in die Auswertung einbezogen.

Die Organe wurden direkt nach ihrer Entnahme in Ringer-Lösung ins Labor verbracht. Hier wurden die Gallenblasen präpariert. Es wurden Streifen von ca. 15 mm Länge und 5 mm Breite entnommen. Der Rest der Organe wurde in die Pathologie zur histologischen Untersuchung geschickt. Hierbei ergab sich für zehn der 21 Präparate der Befund einer chronischen Cholezystitis mit gering- bis mäßiggradiger Wandvernarbung.

Es ist gezeigt worden, dass die Gallenblase bezüglich Kontraktilität und Sensitivität auf Stimulierung nicht in sich homogen ist. Es besteht vielmehr ein abnehmender Gradient vom Fundus zum Infundibulum (103). Desweiteren zeigen zirkuläre Muskelstreifen höhere Aktivität und Sensitivität als longitudinale (45). Daher wurden als Versuchspräparate zirkuläre Streifen aus dem Gallenblasenfundus gewählt.

Da ferner deserosierte Präparate eine höhere Reagibilität auf CCK aufweisen (75), wurden Serosa und Bindegewebe von den Teststreifen abpräpariert, um direkten Kontakt der Tunica Muscularis mit der Lösung im Organbad zu gewährleisten. Die Präparationen wurden in Petri-Schalen mit oxygenierter Krebs-Lösung in der folgenden Zusammensetzung durchgeführt:

NaCl:	1,18 mmol/l	KCl:	4,7 mmol/l	MgCl ₂ ·6H ₂ O:	1,16 mmol/l
KH ₂ PO ₄ :	1,18 mmol/l	NaHCO ₃ :	14,9 mmol/l	Glucose:	5,5 mmol/l
CaCl ₂ ·2H ₂ O:	2,52 mmol/l				

2. Versuchsanordnung

Nun wurden an die Enden der Teststreifen Fäden geknotet. An deren Schlaufen wurden die Präparate am einen Ende an einem isometrischen Kraftaufnehmer (Modell SG 4 der Firma Swema, Svenska Mätapparater, Messbereich +/- 25-950 mN) über dem Organbad befestigt. Das andere Ende wurde an einem Häkchen im Organbad eingehängt, so dass die Präparate senkrecht hingen. Im Organbad selbst befand sich abermals Krebs-Lösung in der oben angegebenen Zusammensetzung, die von Carbogen-Gas (95% O₂, 5% CO₂) durchperlt wurde.

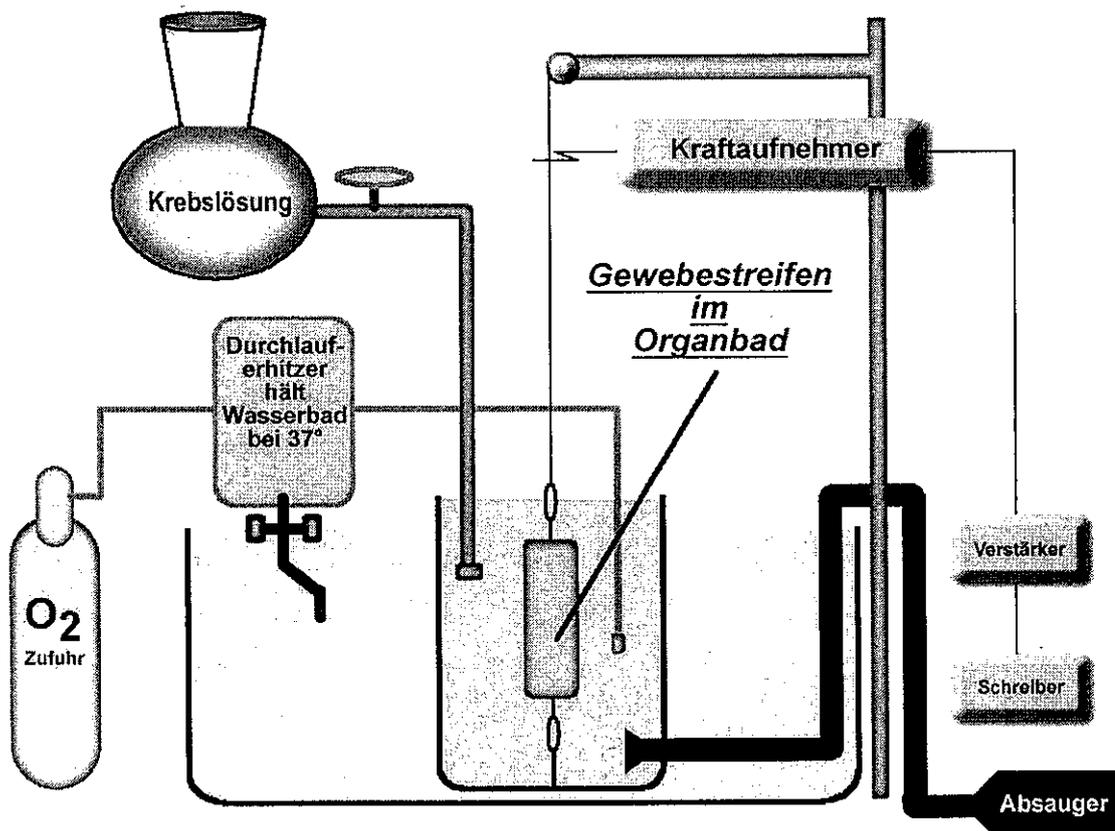


Abb. 1 - Organbad

Das gesamte Organbad mit einem Volumen von etwa 100 ml war umgeben von einem grösseren Wasserbad. Dieses wurde seinerseits von einem Durchlauf-erhitzer erwärmt und gab seine Wärme an das Organbad ab. So war dort eine konstante Temperatur von 37°C gewährleistet. Der gewünschte pH-Wert von 7,4 wurde in regelmäßigen Abständen mittels eines pH-Meters kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert.

Die Lösung im Organbad konnte über eine Saugvorrichtung abgesaugt werden. Über einen Zufluss zum Organbad war es möglich, frische Krebs-Lösung einzuleiten. Ein Austausch der Nährlösung war so rasch und vollständig zu bewerkstelligen. Diesem Organbad konnten die zu testenden Pharmaka in jeder beliebigen Konzentration zugegeben werden.

Der Kraftaufnehmer war an einem senkrecht stehenden Stab befestigt. An diesem Stab konnte er beliebig longitudinal verschoben werden. Die Vordehnung des am Kraftaufnehmer eingehängten Muskelstreifens ließ sich so stufenlos regeln. Zu Beginn der Versuche wurden die Präparate auf 15 mN vorgedehnt. Dieser Wert wurde nach Erstellung einer Ruhedehnungskurve ermittelt.

Bei den Messungen wurden die Impulse vom isometrischen Kraftaufnehmer, verstärkt durch einen zwischengeschalteten Messverstärker, auf einen Linearschreiber übertragen. Dort wurden sie kontinuierlich aufgezeichnet.

3. Verwendete Substanzen

Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-NAME) ist ein potenter kompetitiver Hemmer der NO-Synthase (63,89,90). Es wurde in dieser Funktion bereits in mehreren Arbeiten verwendet (1,72). Es wurde in einer Konzentration 300 Mikromol verabreicht.

L-Arginin (L-Arg) ist die Ausgangssubstanz der NO-Synthase (83). Es kann im menschlichen Körper in NO umgewandelt werden und bewirkt beim gesunden Menschen eine Zunahme des Gallenblasenvolumens prae- und postprandial

(18,43). Die durch L-NAME bewirkte Hemmung der NO-Synthese konnte unter Versuchsbedingungen durch die Gabe von L-Arg überwunden werden (3,88). Zu diesem Zweck wurde L-Arg im Versuchsablauf in einer Konzentration von 100 Mikromol eingesetzt. L-Arg kann jedoch auch Effekte haben, die nicht auf seine Umwandlung in NO zurückzuführen sind. Reaktionen auf L-Arginin sind daher mit Vorsicht zu betrachten (60).

Neben den eigentlichen Testsubstanzen L-Arg und L-NAME wurden Cholecystinin (CCK), Sodiumnitroprussid (SNP) und Kalium verwendet. Die Reaktion des Gallenblasengewebes auf die drei letztgenannten Stoffe ist gut erforscht. Diese Substanzen dienten als Referenzen, anhand derer eine Funktionskontrolle der Testgewebe möglich war.

Die Rolle von CCK in der Regulierung der Gallenblasen-Motilität ist seit 70 Jahren bekannt (33). Seine Funktion als wichtigster Mediator der postprandialen Kontraktion des Organes wurde bis in die jüngste Zeit immer wieder bestätigt (22,38,104). Seit der Beschreibung dosisabhängiger Kontraktionen (109) wurde CCK in vielen in-vitro-Studien eingesetzt (53,55,99), um die Einflüsse anderer Substanzen auf diese bekannte Reaktion zu studieren. Hanisch et al. haben in ihren in-vitro-Versuchen mit Gallenblasenstreifen für die Reaktion auf CCK eine untere Schwellenkonzentration im Organbad von 0,1 nmol festgestellt (27). Darüberhinaus wurde, wie schon in früheren Arbeiten (114), eine sogenannte Non-Kontraktor-Gruppe definiert. Diese bestand aus Präparaten, welche eine unverhältnismäßig hohe CCK-Konzentration zur Auslösung von Kontraktionen benötigte. Die Grenze, ab derer die Teststreifen in diese Gruppe fielen, lag bei einer CCK-Konzentration von 2nmol im Organbad. Ich benutzte in meinen Versuchen CCK-Konzentrationen von 0,1 nmol, 0,2 nmol sowie 1 nmol im Organbad, also maximal die Hälfte der beschriebenen Grenze zwischen Kontraktoren und Non-Kontraktoren, um Non-Kontraktor-Gallenblasen sicher aus den Untersuchungen auszuschliessen.

SNP ist ein Aktivator der löslichen Guanylatzyklase über Stimulation von Cyclischem Guanosin-Monophosphat (65). Dies bewirkt eine spontane Freisetzung

von NO, unabhängig von dem enzymatischen NO-Generation aus dem Substrat L-Arginin (16). Durch eine positive Reaktion der Gewebstreifen auf SNP ist die Möglichkeit einer Aktivierung der Guanylatzyklase durch NO dokumentiert. Dies entspricht ebenfalls einer Funktionskontrolle. Auch bezüglich SNP liegen Ergebnisse aus anderen Arbeiten vor (64).

4. Statistische Analyse

Die Dateneingabe erfolgte mit dem Programm Excel für Windows 7.0. Die Daten wurden anschließend in eine auf das Programmpaket SPSS für Windows 10.0. basierende Datei konvertiert. Mit diesem Programm erfolgte die statistische Analyse. Für die Textverarbeitung, für Schemazeichnungen und Graphiken kamen außerdem die Programme Word für Windows 7.0 sowie Excel für Windows 7.0 zum Einsatz.

Neben der Fallzahl N wurden die folgenden statistischen Lage- und Streuungsmaße berechnet: Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD), Minimum (Min) und Maximum (Max). An den Stellen im Text mit Bezug auf Mittelwerte, wurde den Mittelwerten die Standardabweichung gegenübergestellt in der Form $MW \pm SD$.

Für alle statistischen Analysen galt, dass eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ als signifikant und von $p < 0,01$ als hochsignifikant angesehen wurde.

In der statistischen Analyse wurden die folgenden Verfahren verwendet:

- Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson-Bravais (Produkt-Moment-Korrelation).
Bei diesem Verfahren wird unter Zugrundelegung einer Normalverteilung die Kovarianz zweier Variablen durch das Produkt der Standardabweichung dieser beiden Variablen dividiert.
- t-Test für gepaarte Stichproben.

Beim t-Test werden Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten unter Zugrundelegung einer Normalverteilung und unter Berücksichtigung von Standardabweichung und Fallzahl auf ihre Signifikanz überprüft.

- Univariate ein- und mehrfaktorielle Varianzanalyse nach der Regressionsmethode.

Die Varianzanalyse stellt eine Erweiterung des t-Tests auf mehr als zwei Mittelwerte dar.

5. Versuchsablauf

In anderen Arbeiten ist eine spontane rhythmische Kontraktilität von Gallenblasenmuskulatur beschrieben (87), welche im Organbad nach etwa 5 min (17) bis 30 min (45) zu beobachten ist. Dies konnte durch die eigenen Untersuchungen bestätigt werden. Darüber hinaus zeigten sich diese Kontraktionen meist für weitere 15 min zunehmend, bis ein stabiles Niveau der Eigenaktivität erreicht war. Daher wurde nach der Vordehnung der Präparate eine Ruhephase von mindestens 45 min vor Beginn der eigentlichen Versuche eingehalten, oft auch länger. In jedem Fall wurde das Erreichen eines konstanten Spontanaktivitätsmaximums der Präparate abgewartet, was in Einzelfällen bis zu 120 min dauerte.

Der Ablauf der Messungen ist in Abbildung 2 graphisch dargestellt (s.S.14). Die im folgenden in Klammern gesetzten Kürzel beziehen sich auf die gleichlautenden Bezeichnungen in dieser Abbildung, die jeweils die Messpunkte zum Abschluss einer Reaktion bezeichnen.

War das Maximum der Spontanaktivität erreicht (snpv), wurde zunächst SNP zugegeben, um eine maximale Entspannung der Teststreifen zu erhalten. Nach der maximalen Relaxierung (snp) wurde dann ein erneuter Ruhetonus abgewartet (snpn). Hierauf wurde die Kontraktionsfähigkeit des Gewebes durch Gabe der oben genannten ansteigenden Konzentrationen von CCK (ck1 = 0,1nmol, ck2 = 0,2nmol, ck10 = 1nmol) überprüft.

Nach Gabe der einzelnen Testsubstanzen wurde zumindest 30 min lang der Verlauf vor weiteren Maßnahmen beobachtet. War bis zu diesem Zeitpunkt noch kein konstantes Aktivitätsmuster erkennbar, so wurde gewartet, bis ein „steady state“ erreicht war. War die Reaktion auf CCK nicht befriedigend, wurden die Präparate an dieser Stelle von den weiteren Versuchen ausgeschlossen.

Um wieder einen Ruhezustand herzustellen, wurde nun eine Spülung des Organbades vorgenommen. Auch nach den Spülungen des Organbades wurde die Äquilibration des Präparates im neuen Milieu abgewartet. Diese war binnen 15 bis 30 min abgeschlossen (Inv).

Nun erfolgte die Gabe von L-NAME (In1), daraufhin eine neuerliche Dosis SNP (Insn). Nach der folgenden Spülung (Inv2) wurde die zweite Dosis L-NAME zum Organbad gegeben (In2). Nach einer Ruhephase (In2n) wurde die intakte Reaktivität der Präparate auch im Verlauf des Versuchs durch erneute Gabe der ansteigenden CCK-Konzentrationen kontrolliert (ckIn1 = 0,1nmol, ckIn2 = 0,2nmol, ckIn10 = 1nmol).

Nach der folgenden Ruhephase (ckn) erfolgte die Prüfung der Reaktion auf L-Arginin (Iarg). Um zu dokumentieren, dass die Präparate ihre Reaktivität auch bis zum Ende des in der Regel etwa 6-7h dauernden Versuches bewahrt hatten, wurde nach einer erneuten Pause (kalv) zum Abschluss jeden Versuchsdurchganges die Reaktion auf Kalium (kal) getestet.

Versuchsablauf

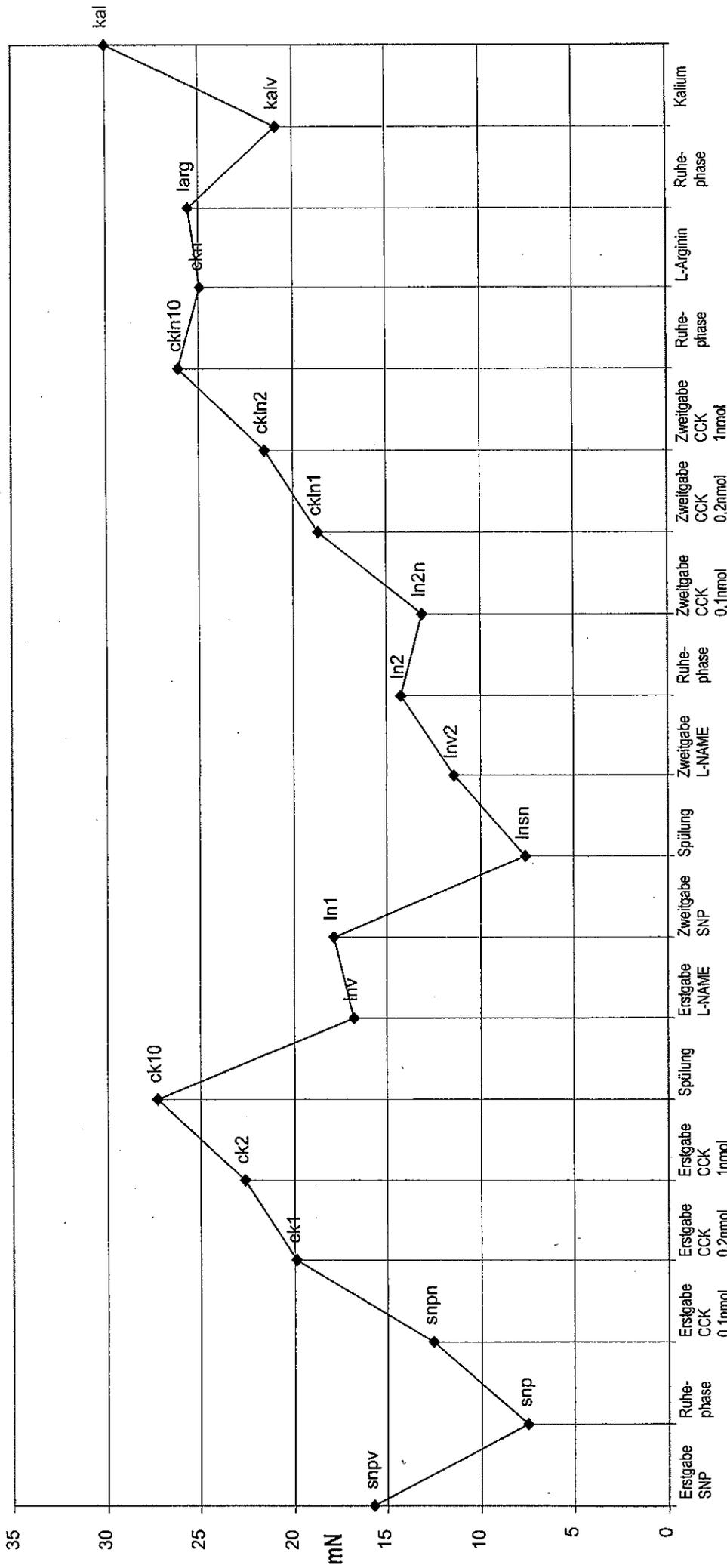


Abb.2 – Versuchsablauf

Die Abkürzungen in der Grafik bezeichnen die Messpunkte nach Gabe der Substanzen, die auf der X-Achse in zeitlicher Abfolge angegeben sind. Auf der Y-Achse sind die Messergebnisse in mN aufgetragen. Erläuterungen zu den Abkürzungen der einzelnen Messpunkte finden sich im Anhang.

III. ERGEBNISSE

Von den 47 ursprünglich untersuchten Präparaten kamen 24 zur Auswertung. Die übrigen zeigten nur sehr geringe Aktivität, oder der Versuch musste wegen Reaktionsverlustes der Präparate oder technischer Probleme abgebrochen werden.

1. Einleitende Untersuchungen

1.1 Funktionsprüfung der Präparate

In früheren Arbeiten zur Gallenblasen-Kontraktilität bei Steinträgern wurde deutlich, dass in diesem Patientenkollektiv zweierlei Gruppen zu unterscheiden sind.

In der einen Gruppe fand sich eine nur vernachlässigbar geringe Kontraktion auf die Gabe von CCK (sog. Noncontractors). Der andere Teil der Steinträger (Contractors) zeigte als Reaktion auf CCK Gallenblasenkontraktionen ohne signifikante Differenz zu denen einer Kontrollgruppe mit gesunden Probanden (27). Um die Noncontractor-Gruppe primär aus den Untersuchungen auszuschließen wurde neben dem Ausgangstonus und der Relaxierung nach SNP-Gabe zu Beginn der Messungen auch die Reaktionen der Präparate auf steigende Dosen von CCK überprüft. Hierbei ergaben sich für drei weitere Präparate unbefriedigende Werte. Dies entsprach einer negativen Funktionsprüfung. Diese drei Fälle wurden als Noncontractors aus der Auswertung genommen, so dass sich die folgenden Ausführungen auf 21 untersuchte Gallenblasen beziehen.

Alle zur Auswertung gelangten Organe zeigten spontane rhythmische Kontraktionen, die sich allerdings in Frequenz und Amplitude stark unterschieden. In den folgenden Abbildungen (s.S.16) wird dies exemplarisch demonstriert. In Abbildung 3a) wurden spontane rhythmische Kontraktionen mit einer Amplitude zwischen 62 mN und 89 mN dargestellt und in Abbildung 3b) Kontraktionen von 47 mN bis 58 mN. Es ist ferner deutlich zu erkennen, dass auch die Frequenz der Kontraktionen in den beiden Abbildungen sehr unterschiedlich ist.

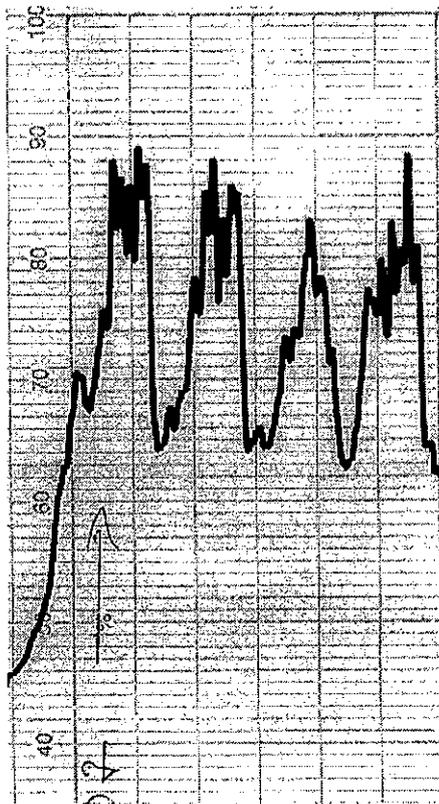


Abb. 3a) 62mN-89mN

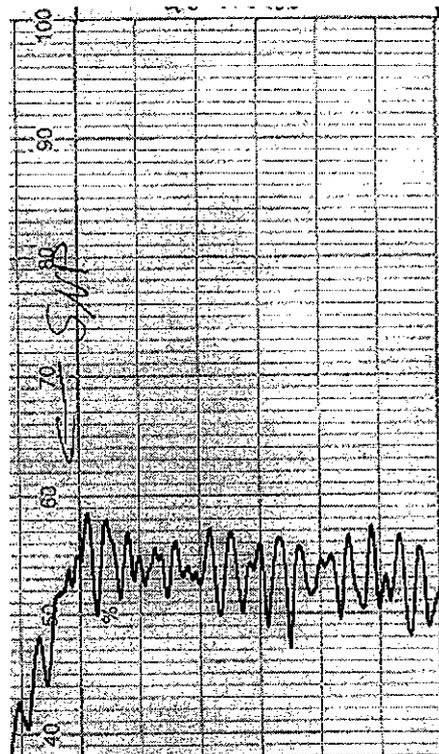


Abb. 3b) 47mN-58mN

1.2 Bestimmung des basalen Kontraktionstonus

Nach jeder Spülung in der neuen Nährlösung musste sich bei jedem Präparat während des Versuchsdurchlaufes mehrmals ein neuer Basaltonus einstellen. Die statistische Analyse mit dem t-Test für gepaarte Stichproben ergab, dass die Unterschiede zwischen dem Ausgangstonus zu Beginn der Versuche und dem Tonus nach einer Spülung in der neuen Nährlösung statistisch signifikant waren ($p < 0,05$). So zeigt sich in Tabelle 1 (s.S.17), dass der Ausgangstonus 15,74 mN mit einer Standardabweichung von 7,53 mN betrug. Nach Auswaschen des SNP war der durchschnittliche Tonus 12,54 mN mit einer Standardabweichung von 6,55 mN.

Für spezielle Untersuchungen (z.B. CCK-Dosis -Wirkungskurve, s.S.21) wurden deshalb die Messungen auf den Ausgangstonus bezogen und in % angegeben, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch einen unterschiedlichen Basaltonus zu vermeiden.

2. Effekt von Natriumnitroprussid

Zu Beginn des Versuches wurde den Präparaten SNP zugegeben. Zum einen sollte ein möglichst geringer und für alle Präparate vergleichbarer Ausgangstonus für die folgenden Messungen erreicht werden. Zum anderen, um Präparate mit zu schwachen Reaktionen gleich zu Beginn des Versuches erkennen zu können (Ausschluss einiger Präparate wegen mangelnder Reaktion auf CCK bzw. Natriumnitroprussid, s.o.).

2.1 Absolutwerte der Reaktion auf Natriumnitroprussid

Tabelle 1 zeigt die Relaxation als Reaktion auf Natriumnitroprussid. Es wird deutlich, dass der Ausgangstonus $15,74 \pm 7,53$ mN beträgt und nach Gabe von SNP ein Tonus von $7,49 \pm 3,94$ mN resultiert. Im t-Test für verbundene Stichproben war diese SNP-Relaxation statistisch hochsignifikant ($p < 0,001$). Daneben enthält die Tabelle 1 den Tonus, der sich nach Auswaschung des SNP wieder einstellte. Dieser betrug $12,54 \pm 6,55$ mN.

Tabelle 1: Absolutwerte der SNP-Reaktionen

Messung	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Ausgangstonus	21	15,74	7,53	6,10	30,50
SNP-Reaktion	21	7,49	3,94	2,50	17,50
Nach Auswaschen	21	12,54	6,55	4,00	24,00

Anmerkung: $p < 0,001$ im t-Test für verbundene Stichproben

2.2 Reaktivität und relative Reaktivität auf Natriumnitroprussid

Bezug nehmend auf die Absolutwerte der SNP-Reaktionen wurden der Absolutwert der Relaxation und die relative Reaktivität berechnet.

Die Reaktivität (dsn), d.h. der Absolutwert der Relaxation, ist die Differenz der Werte vor und nach der Gabe von SNP. Er wird berechnet, indem die Differenz von Ausgangstonus vor Gabe von SNP (snpv) und dem Tonus bei maximaler Relaxation nach Gabe von SNP (snp) gebildet wird.

Die Einheit ist mN:

$$\text{dsn} = \text{snpv} - \text{snp}$$

Bei der relativen Reaktivität (rdsn) handelt es sich um eine Verhältniszahl, bei welcher der Absolutwert der Relaxation (dsn) auf den Ausgangstonus bezogen wird. Durch Multiplikation mit 100 erhält die relative Reaktivität die Einheit %:

$$\text{rdsn} = (\text{snpv} - \text{snp}) / \text{snpv} \times 100$$

dabei bedeutet: snpv = Ausgangswert vor Gabe von SNP
 snp = maximale Relaxation nach SNP

Tabelle 2 enthält die statistischen Kennwerte zur Reaktivität und relativen Reaktivität auf Natriumnitroprussid. Es wird deutlich, dass bei SNP-Gabe durchschnittlich eine Verminderung des Tonus um $8,2 \pm 6,7$ mN erfolgte. Dies entspricht einer Verminderung um $46,8 \pm 27,7\%$ des Ausgangstonus.

Tabelle 2: Reaktivität und relative Reaktivität auf Natriumnitroprussid

Messung	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Reaktivität (dsn) [mN]	21	8,242	6,656	0,200001	22,100000
relative Reaktivität (rdsn) [%]	21	46,809	27,742	2,325590	81,851850

Mit diesen objektiveren Werten wurden auch die weiteren Untersuchungen durchgeführt.

2.3 Einflüsse von Entzündung auf die Sodiumnitroprussid-Antwort

Tabelle 3 zeigt den Einfluss von Entzündungen auf die relative Reaktivität. Es wird deutlich, dass die relative Reaktivität bei Vorliegen einer Entzündung mit durchschnittlich $37,4 \pm 26,7\%$ niedriger war als bei Fehlen einer Entzündung mit $56,2 \pm 22,1\%$. In der Varianzanalyse erreichten die Unterschiede jedoch nicht das nötige Signifikanzniveau ($p = 0,0564$).

Tabelle 3: Einfluss von Entzündungen auf die relative Reaktivität

Messung	N	relative Reaktivität (rdsn) [%]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Entzündung	10	37,40524	26,73028	2,32559	81,85185
Keine Entzündung	11	56,21365	22,08957	8,19672	76,47059

Anmerkung: $p = 0,0564$ in Varianzanalyse

3. Effekt von Cholezystokinin

3.1 Absolutwerte und Dosis-Wirkungs-Kurve

Tabelle 4 zeigt die Kontraktionsantworten der Präparate auf Cholezystokinin (CCK). In der ersten Zeile ist der Tonus nach Auswaschen des SNP wiedergegeben (siehe Abschnitt 2.1.). Es wird deutlich, dass der Tonus mit steigender CCK-Konzentration zunimmt. Bei einer Konzentration von 0,1 nmol im Organbad resultierte ein Tonus von $19,87 \pm 7,62$ mN, bei 0,2 nmol waren es $22,65 \pm 7,96$ mN und bei 1 nmol betrug der Tonus $27,75 \pm 8,35$ mN.

Tabelle 4: Absolutwerte der CCK-Reaktionen

Messung	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Nach Auswaschen von SNP	21	12,54	6,55	4,0	24,0
CCK (0,1 nmol)	21	19,87	7,62	8,5	36,0
CCK (0,2 nmol)	21	22,65	7,96	12,7	39,2
CCK (1,0 nmol)	21	27,75	8,35	15,3	52,1

Die in der Tabelle dargestellten Werte können graphisch als Dosis-Wirkungs-Kurve dargestellt werden, welche anschaulich den erwarteten dosisabhängigen Kontraktionsanstieg der Präparate zeigt:

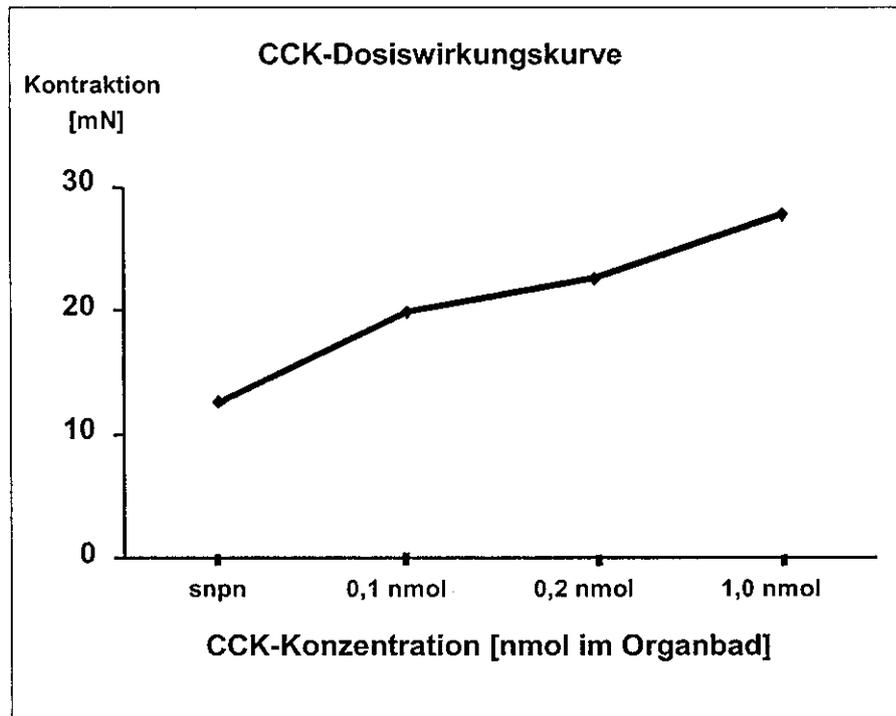


Abb. 4 - CCK-Dosiswirkungskurve

3. 2 CCK-Antwort im Vergleich zur Kalium-Antwort

Nach dem schon bekannten Muster wurden nun neue Variablen generiert, um die Reaktionen in % der erreichten Spitzenwerte der K^+ -Kontraktion darzustellen. Diese neuen Variablen heißen nach den eben erwähnten Konzentrationsstufen rck1 (0,1 nmol CCK), rck2 (0,2 nmol CCK) und rck10 (1,0 nmol CCK). Tabelle 5 (s.S.21) enthält die relative CCK-Antwort bezogen auf die Kalium-Antwort. Es fällt auf, dass rck10 > 100% ist. Dies rührt daher, dass einzelne Kaliumkontraktionen (definitionsgemäß = 100%) kleiner als die am selben Präparat bestimmten maximalen Cholezystokinin-Antworten sind.

Tabelle 5: CCK-Antwort im Vergleich zur Kalium-Antwort

Konzentration CCK	N	Relative CCK-Antwort bezogen auf Kalium-Antwort [%]			
		Mittelwert	Standard- abweichung	Minimum	Maximum
Ruhetonus	21	50,00336	40,50127	8,74317	190,4762
CCK (0,1 nmol)	21	77,75558	55,86496	25,11144	285,7143
CCK (0,2 nmol)	21	87,13114	57,73249	28,96175	309,5238
CCK (1,0 nmol)	21	102,55780	49,64735	46,35958	285,7143

Zum besseren Vergleich der CCK-Antworten vor und nach Gabe von L-NAME in Unabhängigkeit vom jeweiligen Basaltonus (siehe 1.2) wurden die erhobenen Werte schließlich in Relation zur Kaliumreaktivität dargestellt. Die neuen Variablen heißen rdck1, rdck2 und rdck10 und errechnen sich wie im folgenden am Beispiel von rdck1 dargestellt:

$$rdck1 = (ck1 - snpn) / (kal - snpn) \times 100$$

Dabei ist snpn der für beide Werte festgelegte Ausgangstonus, erhoben jeweils m Anfang des Versuchsablaufes nach der ersten Gabe von SNP (siehe Abschnitt 2.1).

Sowohl diese neu generierten Relativwerte als auch die Absolutwerte der ursprünglichen Dosis-Wirkungs-Kurve wurden nun im gepaarten t-Test auf die Signifikanz der einzelnen Kontraktionszunahmen durch die jeweiligen Dosis-Erhöhungen von CCK hin untersucht. Lediglich für den Anstieg von rdck1 zu rdck2 ergab sich ein nicht signifikanter gepaarter t-Test ($p > 0,05$). Bei den anderen Reaktionen resultierten p-Werte von 0,0000 bis 0,0165 (Signifikanzgrenze $> 0,05$). Die p-Werte für die Dosis-Wirkungs-Kurve lagen beide bei 0,0000.

3.3 Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die Cholezystokinin-Reaktionen

Zur Überprüfung der Auswirkungen von Entzündungen und Vernarbungen auf die CCK-Reaktionen wurden Varianzanalysen gerechnet. Wie bei den später beschriebenen Kalium-Reaktionen (siehe Abschnitt 6.2.) waren bei den Cholezystokinin-Antworten keine signifikanten Einflüsse der genannten Faktoren zu beobachten. In der zweifaktoriellen Varianzanalyse zeigte sich, dass bei einer Konzentration des CCK von 0,1 nmol im Organbad weder Entzündungen ($p=0,8914$) noch Narben ($p=0,5854$) einen signifikanten Einfluss auf die relative CCK-Antwort in Bezug auf die Kalium-Antwort hatten. Auch bei einer CCK-Konzentration von 1,0 nmol war weder für Entzündungen ($p=0,8068$) noch Narben ($p=0,6845$) ein signifikanter Einfluss auf die CCK-Antwort nachweisbar.

4. Effekt von L-Nitro-Arginin

4.1 Erstgabe von L-Nitro-Arginin

Tabelle 6 enthält die statistischen Kennwerte zum Tonus vor und nach der ersten Gabe von L-NAME. Es wird deutlich, dass der durchschnittliche Tonus von $16,81 \pm 5,95$ mN auf $17,82 \pm 6,77$ mN stieg. Im t-Test für verbundene Stichproben erreichte dieser Unterschied jedoch nicht das nötige Signifikanzniveau ($p = 0,2421$).

Tabelle 6: Der Tonus vor und nach Erstgabe von L-NAME in der Gesamtgruppe

Messung	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
vor L-NAME	21	16,81	5,95	7,7	26,4
nach L-NAME	21	17,82	6,77	8,4	35,4

Anmerkung: $p = 0,2421$ im t-Test für verbundene Stichproben

In der Gesamtgruppe kam es also zu keiner signifikanten Kontraktion nach Gabe von L-Nitro-Arginin.

4. 1. 1 Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die erste L-Nitro-Arginin-Antwort

Im folgenden wurden Präparate mit und ohne Entzündung separat untersucht. Tabelle 7 zeigt das Ergebnis. In den 10 Fällen mit histologischem Entzündungsnachweis war eine Abnahme des Tonus um durchschnittlich $0,92 \pm 2,22$ mN von $18,12 \pm 6,55$ mN auf $17,20 \pm 6,39$ mN festzustellen. Bei den 11 Präparaten, in denen keine Entzündung nachweisbar war, nahm der Tonus um durchschnittlich $2,75 \pm 4,19$ mN zu. Weder in entzündeten noch in nicht entzündeten Gallenblasen war ein statistisch signifikanter Einfluss der Gabe von L-NAME auf den Tonus nachweisbar (jeweils $p > 0,05$ im t-Test für verbundene Stichproben).

Tabelle 7: Tonus vor und nach Erstgabe von L-NAME in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Entzündung

Messung	Entzündung (N=10)		Keine Entzündung (N=11)	
	Tonus [mN]		Tonus [mN]	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
vor L-NAME	18,12 ^{A)}	6,55	15,63 ^{B)}	5,39
nach L-NAME	17,20 ^{A)}	6,39	18,38 ^{B)}	7,36
Differenz	- 0,92	2,22	2,75	4,19

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)} $p = 0,2254$ ^{B)} $p = 0,0547$

Ferner wurde der Einfluss der Gabe von L-NAME auf den Tonus von Gallenblasen mit und ohne Vernarbungen untersucht. Tabelle 8 (s.S.22) zeigt, dass sich bei Gallenblasen mit Nachweis einer Vernarbung keine signifikante Änderung des Tonus durch die Gabe von L-NAME fand ($p > 0,05$ im t-Test für verbundene Stichproben). In den Fällen ohne Vernarbung des Präparates nahm der Tonus von $16,35 \pm 6,50$ mN auf $19,55 \pm 7,47$ mN zu. Dies war im t-Test für verbundene Stichproben statistisch signifikant ($p = 0,0104$).

Tabelle 8: Der Tonus vor und nach Erstgabe von L-NAME in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Vernarbung

Messung	Vernarbung (N=10)		Keine Vernarbung (N=11)	
	Tonus [mN]		Tonus [mN]	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
vor L-NAME	17,32 ^{A)}	5,58	16,35 ^{B)}	6,50
nach L-NAME	15,91 ^{A)}	5,67	19,55 ^{B)}	7,47
Differenz	- 1,14	2,70	3,20	3,37

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)}p = 0,1329 ^{B)}p = 0,0104

4.2 Beeinflussung der Wirkung von Natriumnitroprussid durch L-Nitro-Arginin

Im Versuchsablauf war zwischen die beiden Gaben von L-Nitro-Arginin eine zweite Dosis von Natriumnitroprussid geschaltet, um mögliche Einflüsse von L-NAME als NO-Synthase-Blocker auf die Wirkung von SNP untersuchen zu können. Zu diesem Zweck wurden die Reaktionen der Präparate auf Natriumnitroprussid vor und nach der Gabe von L-Nitro-Arginin verglichen. Im t-Test für gepaarte Werte war kein signifikanter Unterschied in den Reaktionen auf Natriumnitroprussid vor und nach der Gabe von L-NAME nachweisbar (s.Tab.9).

Tabelle 9: Wirkung von SNP vor und nach Gabe von L-NAME in der Gesamtgruppe

Messung	N	Tonus [mN]	
		Mittelwert	Standard-abweichung
SNP nach L-NAME	21	7,63	4,81
SNP vor L-NAME	21	7,49	3,94
Differenz	21	- 0,14	4,46

Anmerkung: p = 0,8886 im t-Test für verbundene Stichproben

4.3 Zweite Gabe von L-Nitro-Arginin

Nach einer Spülung der Präparate mit Krebslösung wurde die zweite Gabe von L-Nitro-Arginin verabreicht. Tabelle 10 (s.S.25) zeigt die Ergebnisse dieser

Untersuchung. Es zeigte sich, dass der Tonus nach der zweiten Gabe von L-Nitro-Arginin statistisch hochsignifikant zunahm ($p = 0,0018$). Vor der Gabe betrug er $11,36 \pm 5,89$ mN und nach der Gabe $14,23 \pm 6,13$ mN.

Tabelle 10: Der Tonus vor und nach zweiter Gabe von L-NAME in Gesamtgruppe

Zeitpunkt	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standard-abweichung	Minimum	Maximum
vor 2. L-NAME	21	11,36	5,89	2,25	24,8
nach 2. L-NAME	21	14,23	6,13	2,50	26,4

Anmerkung: $p = 0,0018$ im t-Test für verbundene Stichproben

4. 3. 1 Auswirkung von Entzündung und Vernerbung auf die zweite L-Nitro-Arginin-Gabe

Im folgenden wurden Präparate mit und ohne Entzündung getrennt analysiert. Tabelle 11 zeigt das Ergebnis. Sowohl bei Präparaten mit als auch ohne Entzündung nahm der Tonus in Reaktion auf die zweite Gabe von L-NAME zu. In den Fällen mit histologischem Entzündungsnachweis war nach der zweiten Gabe von L-NAME eine Zunahme des Tonus um durchschnittlich $2,68 \pm 4,02$ mN festzustellen, was im t-Test für gepaarte Stichproben nicht das nötige Signifikanzniveau erreichte ($p = 0,0799$). Bei den Präparaten, in denen keine Entzündung nachweisbar war, nahm der Tonus um durchschnittlich $2,82 \pm 3,03$ mN zu. Dies war statistisch signifikant ($p = 0,0114$).

Tabelle 11: Der Tonus vor und nach zweiter Gabe von L-NAME in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Entzündung

Messung	Entzündung (N=9)		Keine Entzündung (N=11)	
	Tonus [mN]		Tonus [mN]	
	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittelwert	Standard-abweichung
vor L-NAME	11,51 ^{A)}	7,95	11,44 ^{B)}	4,26
nach L-NAME	14,19 ^{A)}	7,75	14,26 ^{B)}	4,84
Differenz	2,68	4,02	2,82	3,03

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)} $p = 0,0799$ ^{B)} $p = 0,0114$

Ferner wurde der Einfluss der zweiten Gabe von L-NAME auf den Tonus von Gallenblasen mit und ohne Vernarbungen untersucht (s.Tab.12). Die Überprüfung des Faktors Vernarbung ergab abermals, wie schon auf die erste Gabe von L-NAME, dass nur Gallenblasen ohne Vernarbung signifikant auf L-Nitro-Arginin ansprachen. Bei den Gallenblasen **mit** Nachweis einer Vernarbung fand sich keine signifikante Änderung des Tonus durch die Gabe von L-NAME ($p > 0,05$ im t-Test für verbundene Stichproben). In den Fällen **ohne** Vernarbung des Präparates nahm der Tonus um $3,06 \pm 2,95$ mN zu von $11,45 \pm 3,58$ mN auf $14,50 \pm 3,62$ mN. Dies war im t-Test für verbundene Stichproben statistisch hochsignifikant ($p = 0,0063$).

Tabelle 12: Tonus vor und nach zweiter Gabe von L-NAME in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Vernarbung

Messung	Vernarbung (N=10)		Keine Vernarbung (N=11)	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
vor L-NAME	11,51 ^{A)}	8,36	11,45 ^{B)}	3,58
nach L-NAME	13,90 ^{A)}	8,52	14,50 ^{B)}	3,62
Differenz	2,39	4,06	3,06	2,95

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)} $p = 0,1145$ ^{B)} $p = 0,0063$

4. 4 Effekt von L-Nitro-Arginin auf die Reaktionen auf Cholezystokinin

Nachdem die Reaktion von Natriumnitroprussid durch L-NAME offensichtlich unbeeinflusst geblieben war (s. 4.2) folgte nun die Auswertung des Einflusses von L-Nitro-Arginin auf die Cholezystokinin-Antwort.

4. 4. 1 Kontraktionswerte auf Cholezystokinin nach L-NAME-Gabe

Beim zweiten Cholezystokinin-Durchlauf wurden die selben Konzentrationen wie im ersten gegeben. Nach Erreichen des jeweiligen Kontraktionsmaximums wurde jedoch immer noch vor Gabe der nächsthöheren Konzentration für eine länger andauernde Einwirkzeit (etwa 15 min) das weitere Verhalten der Präparate bezüglich der Kontraktionen abgewartet. Nach Ablauf dieses zusätzlichen Beobachtungszeitraumes wurden die resultierenden Werte zusätzlich zu den wie im

ersten Durchlauf bestimmten spontanen Kontraktionsmaxima ermittelt. Es sollte mit diesen zusätzlichen Werten überprüft werden, ob sich die unter Cholezystokinin (CCK) erreichten maximalen Kontraktionswerte während des angegebenen Intervalls nach der jeweiligen Cholezystokinin-Gabe signifikant noch weiter erhöhten oder etwa abschwächten.

Tabelle 13 (s.S.28) zeigt die Ergebnisse der Untersuchung. Der Ruhetonus nach der zweiten L-NAME-Gabe betrug $13,05 \pm 5,47$ mN. Nach Applikation von CCK in einer Konzentration von 0,1 nmol im Organbad betrug das Maximum der Kontraktion $18,65 \pm 4,88$ mN. Bei einer Konzentration von 0,2 nmol im Organbad waren es $21,48 \pm 4,67$ mN und bei einer Konzentration von 1,0 nmol waren es $26,03 \pm 5,69$ mN. Es zeigte sich also abermals ein dosisabhängiger Kontraktionsanstieg in den Präparaten, der sich von dem zu Beginn des Versuchsablaufes kaum unterscheidet. Weiterhin zeigte sich, dass die nach längerer Einwirkdauer erhobenen Werte sich von den Initialwerten, die unter der jeweiligen Dosis erreicht worden waren, nicht signifikant unterschieden (jeweils $p > 0,05$ im t-Test für gepaarte Stichproben). Dies bedeutet, dass auch gegen Ende des Versuchsablaufes, der insgesamt in der Regel immerhin etwa sieben Stunden dauerte, die Präparate in einem Zustand waren, der es ihnen erlaubte, einen einmal erreichten Tonus auch zu halten. Dies diente uns gewissermaßen als interne Qualitätskontrolle. Da kein signifikanter Tonusabfall bestand, fanden die Werte, die nach längerer Einwirkdauer erhoben worden waren, keine weitere Berücksichtigung. Es wurde vielmehr weiterhin, wie bereits zuvor, mit den Initialwerten nach Substanzzugabe gearbeitet.

Tabelle 13: Absolutwerte der CCK-Reaktion nach L-NAME-Gabe

Messung	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Ruhetonus nach zweiter L-NAME-Gabe	21	13,05	5,47	3,30	25,00
CCK (0,1 nmol) Max ^{A)}	21	18,65	4,88	9,75	28,75
CCK (0,1 nmol) 15 Min ^{A)}	21	18,77	4,43	10,50	25,40
CCK (0,2 nmol) Max ^{B)}	21	21,48	4,67	13,00	30,90
CCK (0,2 nmol) 15 Min ^{B)}	21	21,62	4,68	13,10	30,90
CCK (1,0 nmol) Max ^{C)}	21	26,03	5,69	16,90	39,30
CCK (1,0 nmol) 15 Min ^{C)}	21	24,89	6,99	6,50	39,30

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)} p = 0,9041 ^{B)} p = 0,5135 ^{C)} p = 0,4277

4. 4. 2 CCK-Dosis-Wirkungs-Kurve nach L-NAME

Anhand der Werte aus der Tabelle 13 wurde zunächst eine Dosis-Wirkungs-Kurve erstellt, welche in der Abbildung 5 dargestellt ist. Es zeigte sich abermals ein dosisabhängiger Kontraktionsanstieg der Präparate, der sich von dem zu Beginn des Versuchsablaufes kaum zu unterscheiden schien (Vergleiche Abbildung 4 im Abschnitt 3.1):

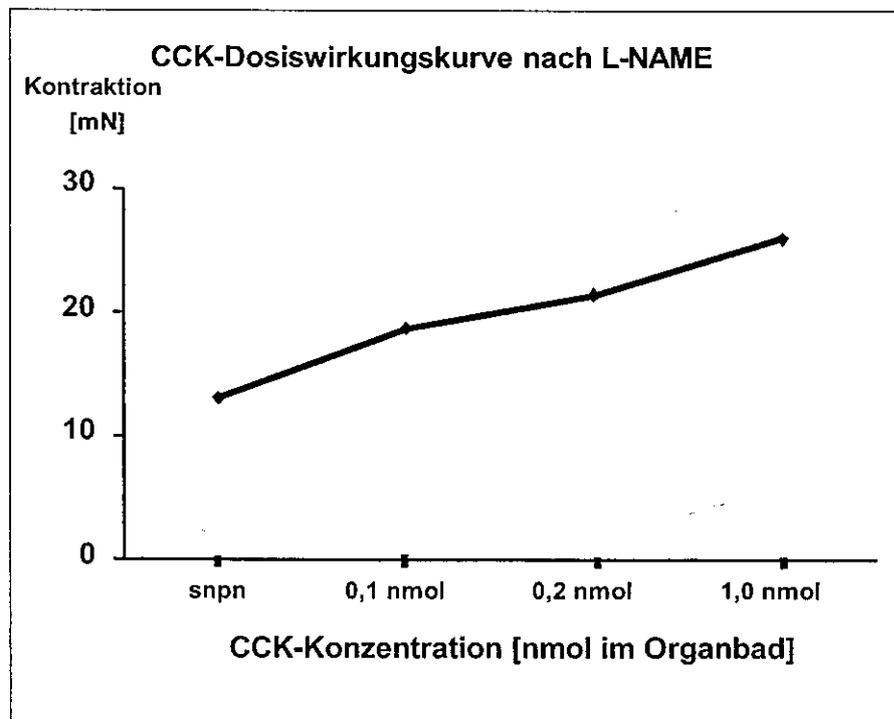


Abb. 5 - CCK-Dosiswirkungskurve nach L-NAME

4. 4. 3 Vergleich der Dosis-Wirkungs-Kurve vor und nach L-NAME:

Im Vergleich der Absolutwerte der Dosis-Wirkungs-Kurve auf CCK vor und nach der Gabe von L-NAME ergab der gepaarte t-Test für keine der drei CCK-Konzentrationen einen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$). In Abbildung 6 wird anschaulich, dass die beiden Kurven einen sehr ähnlichen Verlauf nehmen:

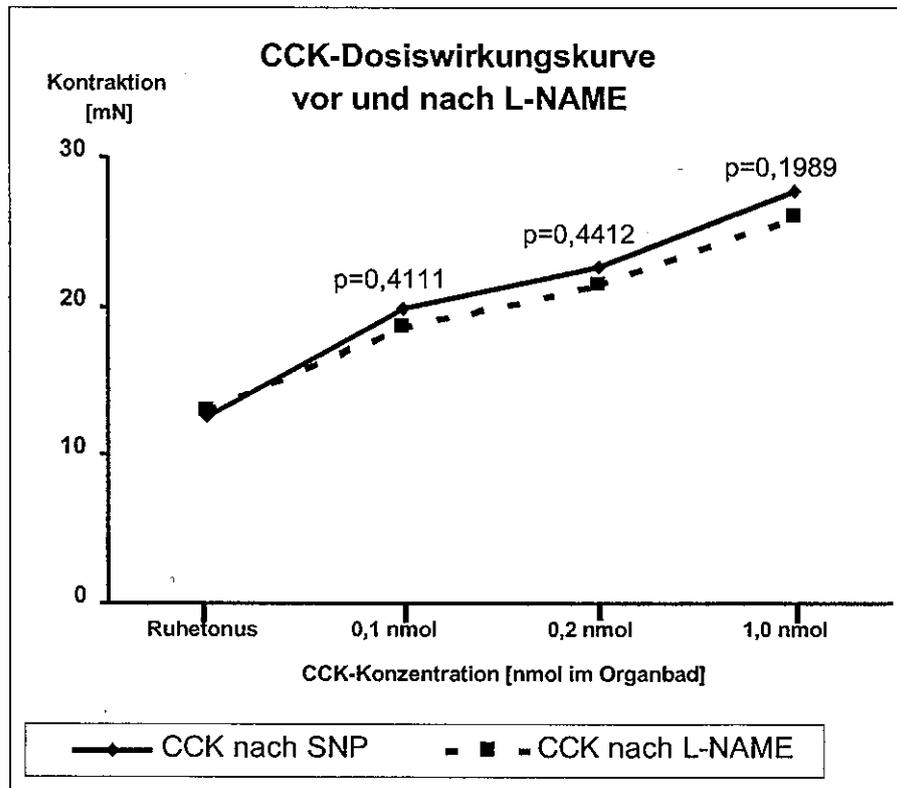


Abb. 6 - CCK-Dosiswirkungskurven vor und nach L-NAME

Nach dem zuvor angewendeten Muster (siehe 3.2) wurde auch die zweite Dosis-Wirkungs-Kurve in % der maximalen Kalium- Kontraktion und der maximalen Kalium-Antwort in Abhängigkeit vom jeweiligen Ausgangswert dargestellt (siehe Anhang: Seite 55, VII 2). Auch bei den vom verschiedenen Ausgangstonus unabhängigen Werten ließen sich keinerlei signifikante Unterschiede in der Kontraktionsantwort der Präparate vor und nach Gabe von L-Nitro-Arginin feststellen.

4. 4. 4 Wirkung der Einflussfaktoren auf die CCK-Werte nach L-NAME:

Nun folgte die Auswertung von möglichen Veränderungen der Reaktionen der Gallenblasen durch die üblichen Einflussfaktoren Cholezystitis und Wandvernarbung. Es fanden sich im gepaarten t-Test jedoch p-Werte von mindestens 0,0842, meist sogar um 0,8 und 0,9. Es waren also keine Veränderungen durch die genannten Einflussfaktoren zu verzeichnen.

5. Effekt von L-Arginin

Nach der zweiten Gabe von L-NAME und der Bestimmung seiner Wirkung auf die CCK-Antwort der Präparate erfolgte die Gabe von L-Arg. Nach den beobachteten Reaktionen auf L-NAME wurde ein hemmender Einfluss durch L-Arg auf den Präparate-Tonus erwartet. Daher wurde die Reaktivität auf L-Arg den Kraftänderungen unter der ersten und zweiten Gabe von L-Nitro-Arginin gegenübergestellt. Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse. Es ist ersichtlich, dass der Tonus unter Applikation von L-Arginin um durchschnittlich $0,66 \pm 2,37$ mN zunahm. Im t-Test für gepaarte Stichproben war diese Zunahme nicht signifikant ($p > 0,05$). Im Vergleich hierzu nahm der Tonus in den hier analysierten 19 Fällen bei der Erstgabe von L-NAME (L-NAME 1) um durchschnittlich $1,18 \pm 3,89$ mN zu und bei der zweiten Gabe (L-NAME 2 um durchschnittlich $2,73 \pm 3,50$ mN. Im t-Test waren die Unterschiede zwischen der Antwort auf L-Arginin und L-NAME 1 und 2 nicht statistisch signifikant ($p > 0,05$).

Tabelle 14: Tonusänderung durch L-Arginin und L-NAME

Messung	N	Tonusänderung [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
L-Arginin ^{A) B)}	21	0,66	2,37	-1,30	8,90
L-NAME 1 ^{A)}	21	1,18	3,89	-5,50	9,00
L-NAME 2 ^{B)}	21	2,73	3,50	-,41	12,50

Anmerkung: t-Test für verbundene Stichproben: ^{A)} $p = 0,639$ ^{B)} $p = 0,074$

5.1 Gegenüberstellung der L-Arginin-Antwort mit den L-NAME-Antworten

Entgegen unseren Erwartungen bestand keine lineare Korrelation zwischen der L-NAME-induzierten und der L-Arg-induzierten Antwort der Präparate. Die Korrelationsanalyse zwischen der L-Arg-induzierten Antwort und der ersten L-NAME-induzierten Antwort ergab einen Korrelationskoeffizienten $r = -0,090$ bei einem Signifikanzniveau von $p = 0,714$. Abbildung 7 verdeutlicht, dass kein Zusammenhang zwischen der L-Arg-induzierten Antwort und der ersten L-NAME-induzierten Antwort vorlag.

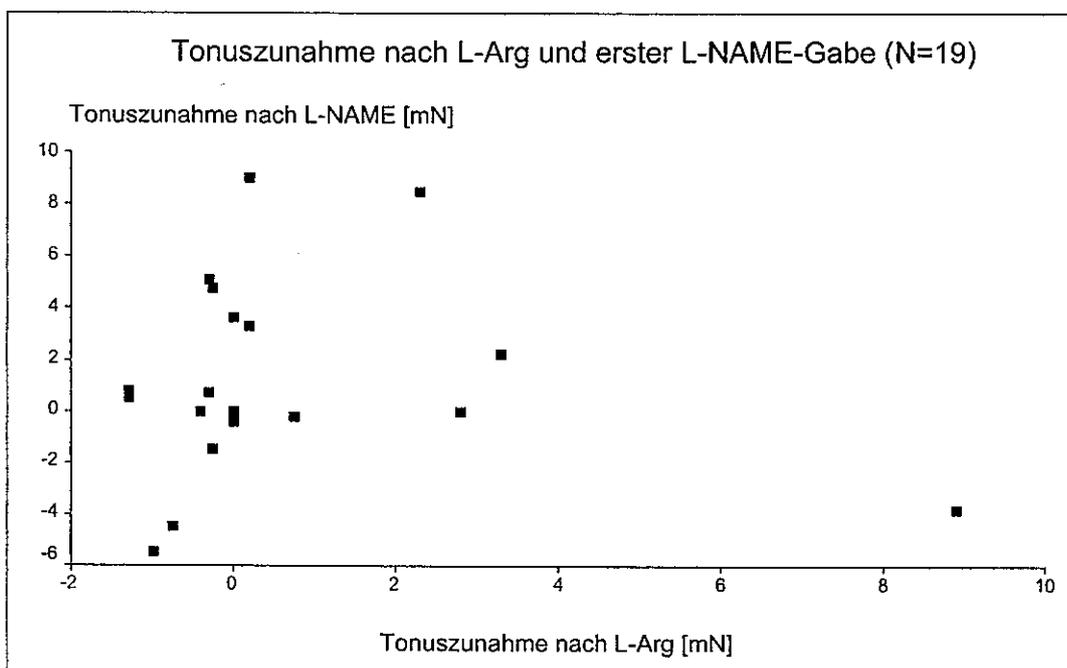


Abb. 7 - Streudiagramm der Tonuszunahme nach L-Arg und L-NAME 1

Die Korrelationsanalyse zwischen der L-Arg-induzierten Antwort und der zweiten L-NAME-induzierten Antwort ergab einen Korrelationskoeffizienten $r = -0,290$ bei einem Signifikanzniveau von $p = 0,229$. Abbildung 8 (s.S.32) verdeutlicht, dass auch kein Zusammenhang zwischen der L-Arg-induzierten Antwort und der zweiten L-NAME-induzierten Antwort vorlag.

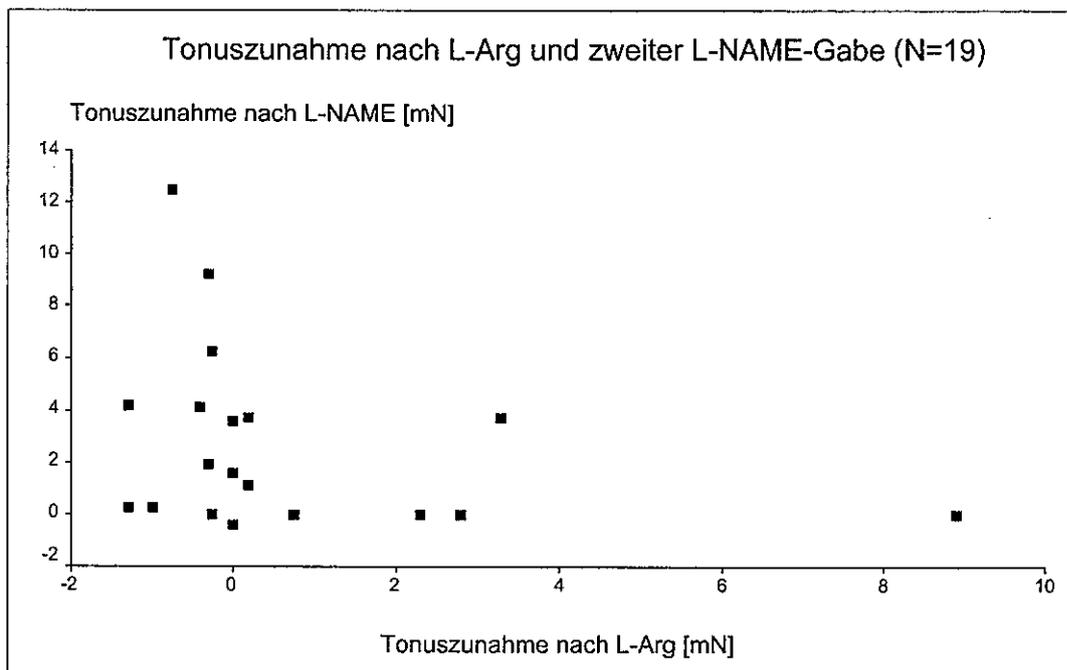


Abb. 8 - Streudiagramm der Tonuszunahme nach L-Arg und L-NAME 2

6. Effekt von Kalium

6.1 Absolutwerte

Tabelle 15 enthält die Absolutwerte der Reaktionen der Präparate auf Kalium. Es zeigte sich, dass der Tonus um durchschnittlich $8,26 \pm 7,25$ mN zunahm. Auffällig waren daneben die hohen Ausgangswerte, die zum Ende des Versuchsdurchlaufes im Durchschnitt erreicht wurden.

Tabelle 15: Absolutwerte der Kalium-Reaktionen

Zeitpunkt	N	Tonus [mN]			
		Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Ausgangstonus	21	20,88	6,93	4,3	32,9
Kalium-Reaktion	21	29,92	11,53	12,6	67,3
Differenz	21	8,26	7,25	0,6	34,8

Anmerkung: $p < 0,001$ im t-Test für verbundene Stichproben

6.2 Auswirkung von Entzündung und Vernarbung auf die Kalium-Antwort

Um von dem hohen Basaltonus vor Gabe von Kalium in den Messungen unabhängig zu werden, wurde wiederum die Reaktivität der Präparate auf die zu untersuchende Substanz herangezogen. Es fanden sich keinerlei signifikante Einflüsse von Cholezystitis oder Vernarbung auf die Kalium-Antworten der Präparate. In gewohnter Weise wurden die Einflüsse varianzanalytisch geprüft. Dabei zeigte sich, dass weder das Vorliegen oder Fehlen einer Entzündung ($p = 0,6482$) noch das Vorliegen oder Fehlen von Vernarbungen ($p = 0,3142$) einen signifikanten Einfluss auf die Reaktivität der Präparate bezüglich Kalium hatte.

IV. DISKUSSION

Rhythmische Spontankontraktionen der Gallenblasen-Muskelstreifen von höchst unterschiedlicher Amplitude und Frequenz (siehe Ergebnisse 1.1) werden auch in anderen Arbeiten berichtet (53). Hier waren teilweise sogar in nebeneinander gelegenen Streifen derselben Gallenblase große Unterschiede im spontanen Aktivitätsmuster beobachtet worden (17).

Die Erfahrung ausgeprägter rhythmischer Spontanaktivität der meisten Präparate deckt sich insbesondere mit den Ergebnissen anderer Arbeiten, in denen zwischen Kontraktoren und Nicht-Kontraktoren bei den steinerkrankten Gallenblasen unterschieden wurde. Diese hohe Eigenaktivität wurde in steinfreien Gallenblasen nicht beobachtet (27,99). Da aber auch bereits gezeigt worden ist, dass die Spontankontraktionen ohne Einfluss auf die CCK-Antwort der Präparate sind (11), waren sie nicht Gegenstand weiterer Betrachtungen.

Die SNP-Reaktion in dem von mir untersuchten Kollektiv war signifikant wie auch in anderen Arbeiten (64). Es fand sich eine stärkere Reaktion auf SNP in Geweben ohne Entzündung. Dies wäre verständlich nach der Theorie, derzufolge bei Entzündung NO-Synthase induziert sein kann (6,56,66,91). Durch die induzierte NOS könnte eine cGMP-Erhöhung und nachfolgend eine Relaxierung ausgelöst werden. In diesem Falle könnte zusätzliches, aus SNP freigesetztes NO wesentlich weniger stark wirken.

Eine Hemmung dieser induzierten NOS müsste die Relaxierung in entzündeten Gallenblasen aufheben, alle Organe müssten auf externe NO-Zufuhr durch SNP wieder gleichartig reagieren. Daher erfolgte ein zweiter SNP-Durchlauf nach Gabe des NOS-Blockers L-NAME. Es zeigte sich jedoch eine Reaktion auf SNP, die sich nicht signifikant von der im ersten Durchlauf unterschied. Dies spricht gegen die Annahme einer ortsständigen induzierten NOS in entzündeten Organen.

Alle Organe dieses Versuches zeigten auf die Gabe steigender Dosen CCK dosisabhängige Kontraktionen wie vorbeschrieben (109,114) und auch in anderen

in-vitro-Studien reproduziert (27,99). In beiden Durchläufen mit CCK in ansteigender Dosierung wurden Werte ohne signifikante Unterschiede erreicht und konnten insbesondere auch noch im zweiten Durchgang gegen Ende des Versuchsablaufes über längere Zeit gehalten werden. Dies spricht für die Qualität des Organbades.

Es ist berichtet worden, dass im Tierversuch SNP die Kontraktilität auf CCK am Sphinkter Oddi deutlich inhibiert (63). Auch die Reaktion der Gallenblase auf CCK-Reiz konnte stark vermindert, bei niedrigen Dosen CCK sogar ausgelöscht werden (64). Umgekehrt verstärkte vorherige Gabe von L-NAME die CCK-Reaktionen (64), ein Phänomen, das auch von Untersuchungen am Menschen inzwischen berichtet wurde (37). In unseren Versuchen erfolgte die erste CCK-Messung im Anschluss an die Gabe von SNP, die zweite im Anschluss an die Gabe von L-NAME. Die CCK-Antwort zeigte sich in beiden Durchläufen ohne signifikanten Unterschied. Die Reaktivität der verwendeten Gallenblasenstreifen blieb im Verlauf der Versuche voll erhalten und im Gegensatz zu den angeführten Arbeiten unbeeindruckt von vorangegangener SNP- oder L-NAME-Gabe.

Die Reaktionen der Präparate auf CCK waren auch vom Vorliegen einer Entzündung unabhängig. Dies widerspricht abermals der Theorie einer induzierten NOS in entzündeten Geweben mit entsprechender relaxierender Wirkung, deckt sich jedoch mit den Ergebnissen in der Arbeit von Pomeranz (77). Hier war ebenfalls, wenn auch in einem kleinen Kollektiv, kein direkter Zusammenhang zwischen Entzündung und verminderter Gallenblasenkontraktilität nachweisbar.

In anderen Arbeiten sind starke Unterschiede in der Reaktion der Präparate auf CCK hinsichtlich ihres Vernarbungsgrades bis hin zum weitgehenden Reaktionsverlust beschrieben (114). Diese sogenannten „Non-Kontraktoren“ wiesen histologisch schwere entzündliche Veränderungen bis hin zu Nekrosen auf. Solche Präparate wurden in unserer Arbeit durch die einleitenden Funktionstests von vorneherein ausgeschlossen, so dass in unseren Versuchen ausschließlich „Kontraktoren“ untersucht wurden.

Doch auch die Kontraktor-Gruppe der Cholezystolithiasis-Patienten in sich ist wiederum in der Literatur als histologisch inhomogen beschrieben (99). Während 60 % der untersuchten Präparate milde Entzündung und Vernarbung zeigten, boten 40 % das Bild einer unauffälligen Mucosa. Eine differenzierte Untersuchung nach dem Einfluss dieser histologischen Unterschiede ist bisher in der Literatur nicht zu finden. Es wurde jedoch bereits im Tierversuch am Colon (92) und der Gallenblase (66) eine erhöhte NO-Synthese bei vorliegender Entzündung beschrieben. Daher wäre ein NANC- vermittelter funktioneller Unterschied innerhalb der Kontraktor-Gruppe analog zum histologischen Bild naheliegend.

Auch in unserem Kollektiv zeigten zehn der 21 Gallenblasen bei der histologischen Untersuchung Vernarbungen. Es wurden allerdings keine Nekrosen und ein lediglich leichter bis mittlerer Vernarbungsgrad nachgewiesen. Die Befunde waren also nicht so ausgeprägt wie bei den angesprochenen „Non-Konraktoren“ und in der CCK- Antwort unserer Präparate fand sich kein signifikanter Unterschied analog der histologisch nachgewiesenen Vernarbung. Es wäre denkbar, dass die Kontraktilitätsdefizite der „Non-Kontraktor“-Gallenblasen in anderen Arbeiten nicht auf der Wirkung einer vermuteten induzierten NOS beruhten, sondern auf der histologisch gezeigten massiven morphologischen Wandschädigung.

Die Reaktionen der Präparate auf L-NAME unterschieden sich in den beiden Durchläufen. Nach der zweiten Gabe des NOS-Hemmers stellte sich der erwartete signifikante Effekt in der gesamten Gruppe ein. Dies entspricht den Ergebnissen von Luman et al 1998 (44) mit L-N-Monomethylarginin, ebenfalls ein potenter NOS-Hemmer, sowie McKirdy et al 1994 (53). Allerdings war der Tonusanstieg in dem von uns untersuchten Kollektiv insgesamt gering.

Nach der ersten L-NAME-Gabe fand sich zudem im Gesamtkollektiv kein signifikanter Tonusanstieg. Dies wäre bei der Existenz einer NOS (35,38,98) zu fordern. Bei ferner von einigen Autoren postuliertem Anstieg der NOS-Aktivität in entzündeten Geweben (66,118) wäre zumindest in der Gruppe der Organe mit histologischem Nachweis einer Entzündung eine signifikante Reaktion auf L-NAME zu erwarten. Es fanden sich jedoch im Gegenteil nach beiden Gaben des NOS-

Hemmers ausgeprägtere Kontraktionen bei den Präparaten ohne histologische Entzündungszeichen. Diese Präparate zeigten sogar eine signifikante Reaktionsantwort auch im ersten L-NAME-Durchlauf, in dem sich für das Gesamtkollektiv noch keine Signifikanz ergab. Eine schlüssige Erklärung ist uns hierfür nicht zur Hand, ebensowenig für den insgesamt stärkeren Effekt von L-NAME im zweiten Durchlauf. Die Reaktion auf die zweite Gabe CCK, die im Versuchsablauf noch später erfolgte, zeigte keine signifikante Änderung im Vergleich zur ersten. Ein generelle Änderung im Reaktionsverhalten der Organe während der Dauer des immerhin sechs- bis siebenstündigen Versuchsablaufes kann als Ursache für die veränderte Reaktion auf L-NAME also ausgeschlossen werden. Literatur über in vitro-Arbeiten mit zwei aufeinanderfolgenden Versuchen der NOS-Hemmung ist mir trotz intensiver Recherche nicht bekannt, ein Vergleich mit Ergebnissen anderer Gruppen in diesem Punkt also nicht möglich.

In einigen Arbeiten zeigte L-Arginin als Ausgangssubstanz der NO-Synthese sowohl eine Erhöhung des postprandialen Gallenblasenvolumens (43) als auch eine Verminderung der Gallenblasenmotilität insgesamt (18). Hierbei wurde eine Erhöhung der Plasma-Nitritkonzentrationen auf das dreifache gemessen, es wurde gefolgert, NO sei ein potenter Hemmstoff der Gallenblasenmotilität (18). Beide Arbeiten waren in-vivo-Untersuchungen am Menschen, die Messungen an der Gallenblase erfolgten sonographisch. Es finden sich in der Literatur jedoch auch Arbeiten, in denen sich auf die intravenöse Gabe von L-Arginin hin sonographisch kein Effekt an der menschlichen Gallenblase zeigte (73).

In unseren Untersuchungen ließ sich kein signifikanter Effekt von L-Arg nachweisen. Die nicht signifikante Antwort auf L-Arginin scheint der Theorie des Vorhandenseins einer NOS in der Gallenblase zu widersprechen. Da jedoch die Zugabe von L-Arg im Versuchsablauf im Anschluss an eine maximale Vorkontraktion der Präparate durch CCK erfolgte, deckt sich der erhobene Befund mit den Erfahrungen anderer Gruppen. Dort waren zunächst signifikante NANC-Reaktionen an menschlichen Gallenblasen in vitro beobachtet worden. Im Anschluß an die Gabe steigender Dosen von CCK war jedoch keine Reaktionsantwort auf NOS-Hemmer oder L-Arg nachweisbar (99).

Die guten Reaktionen der Präparate auf das zuletzt dem Organbad zugegebene Kalium belegen, dass die Präparate bis zum Ende der Versuche ihre Kontraktionsfähigkeit erhielten. Auch auf die Werte nach Kalium-Gabe blieben Entzündung und Vernarbung ohne Einfluss.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Zusammenfassend stützen die von mir erhobenen Befunde die These einer NANC-Innervation der Gallenblase mit einer zwar geringen, doch signifikanten relaxierenden Wirkung (53). Mit einer vermehrten NOS-Aktivität in entzündeten Geweben, wie mehrfach in anderen Arbeiten postuliert (91,92), sind in der vorliegenden Arbeit jedoch lediglich die ersten Antworten auf SNP in Einklang zu bringen. Auch diese SNP-Antworten zeigten jedoch nach der Gabe von L-NAME nicht die zu erwartenden Veränderung. Daher scheint fraglich, ob der beobachtete Unterschied zwischen entzündeten und nicht entzündeten Geweben nicht auf einer anderen Ursache als NOS-Aktivitätserhöhung bei Entzündung beruht, umso mehr als alle anderen von uns erhobenen Werte zumindest eine durch Entzündung unbeeinflusste Reaktion der Präparate (z. B. auf CCK) zeigten.

Die vorherrschende Rolle von CCK bei der Auslösung von Gallenblasenkontraktionen ist nach wie vor unbestritten (22,38,104). Es wäre denkbar, dass im Vergleich zu diesem hochpotenten Kontraktionsreiz die relativ geringe inhibitorische Wirkung des NOS-Systems während der Kontraktionsphase quantitativ mit unseren Messverfahren nicht erfasst werden kann.

Einige Veröffentlichungen der jüngerer Zeit deuten auch darauf hin, dass die hauptsächliche Wirkung der NANC-Innervation möglicherweise gar nicht in der Regulation der Kontraktion, sondern vielmehr der interprandialen Phase zu sehen ist (99). NO spielt eine wichtige Rolle für den Gallenblasentonus interprandial. Es reguliert die Relaxierung der Muskulatur in dieser Phase und ist damit an der regelrechten Füllung der Gallenblase zwischen den Mahlzeiten beteiligt (98).

Ohnehin stellt sich die Regulation der Gallenblasenmotilität mittlerweile weit komplexer dar, als noch vor wenigen Jahren angenommen. So konnten in immunhistochemischen Untersuchungen in den intramuralen Ganglien der Gallenblase Substanz P, Neuropeptid Y und Somatostatin nachgewiesen werden (111). Eine Beteiligung dieser Neuropeptide an der Vermittlung der NANC-Reaktionen wird zumindest diskutiert (35).

Ferner fand sich in den NOS-immunreaktiven Nervenfasern in der fibromuskulären Schicht eine Co-Lokalisation von Pituitary Adenylate Cyclase Activating Peptide (PACAP), Somatostatin und Vasoaktivem Intestinalem Peptid (VIP) (48,112,113,116), und alle Neuronen der Meerschweinchen-Gallenblase sind immunreaktiv für Orphanin FQ/ Nociceptin (49).

Für PACAP konnte bei Meerschweinchen eine Transmitterrolle in inhibitorischen Neuronen der taenia coli nachgewiesen werden (102), an der vorkontrahierten Gallenblase wurde ebenfalls eine relaxierende PACAP- Wirkung gezeigt (71), VIP spielt nicht nur eine wichtige Rolle bei der Regulation der NO-Synthese in intestinalen Neuronen (8), sondern ist auch selbst in der Lage, relaxierend auf die Gallenblase zu wirken (96).

Im Tierversuch wurden bei vorliegender Entzündung erhöhte Spiegel des Gallenblasenprostaglandins PGE₂ gezeigt, welches zur Kontraktilitätsminderung auf der Ebene der intramuralen Ganglien führen könnte (34).

VIP, PACAP, NPY und PGE₂ sind alle Beispiele für Substanzen, die im physiologischen oder im Entzündungszustand des Organs relaxierend wirken und die Wirkung von NO synergistisch unterstützen, modulieren oder kompetitiv unterdrücken könnten. Neben einer synergistischen oder kompetitiven Interaktion mit anderen Stoffen werden auch verschiedene Vermittlungen der NO- Wirkung, beispielsweise über Beta-Adrenozeptoren (35) oder nikotinische Rezeptoren (72) vermutet, die weiterer Untersuchungen bedürfen.

Die gezielte Eliminierung der möglichen Einflüsse anderer vermuteter Transmitter auf die NO-Wirkung hätten die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vielleicht erhellen können, den Rahmen meiner Versuche jedoch überschritten.

Zu jedem dieser widersprüchlichen Ergebnisse finden sich in der Literatur übereinstimmende Quellen. Die publizierten Arbeiten ergeben kein einheitliches Bild, wenn auch in jüngerer Zeit die Veröffentlichungen überwiegend eine NANC-Innervation der Gallenblase beschreiben. Durch die oben kurz angesprochenen Forschungsergebnisse über noch weitere, möglicherweise involvierte Transmitter ergibt sich allerdings ein ganz neues Bild der Gallenblaseninnervation. Hier müssen weitere Erkenntnisse gewonnen werden, um die Bedeutung des NANC-Systems für die Gallenblase einschätzen zu können. Dann ließe sich möglicherweise auch eine therapeutische Option ableiten, ähnlich dem Einsatz von Nitraten in der Kardiologie.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alcon S, Camello P, Salido GM, Scarpignato C, Pozo MJ
Neurotransmitters involved in the mechanical response of guinea pig gallbladder to electrical field stimulation
Biogenic Amines 1997; 13, No.4: 305-18
2. Allescher HD, Lu S, Daniel EE
Nitric oxide as putative nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitter in the opossum sphincter of Oddi
Can J Physiol Pharmacol 1993; 71:525-9
3. Amezcua JL, Palmer RMJ, de Souza BM, Moncada S
Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit
Br J Pharmacol 1989; 97:1119-24
4. Azuma H, Ishikawa M, Sekizaki S
Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation
Br J Pharmacol 1986; 88: 411-5
5. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Herman AG, Van Maercke YM
Involvement of nitric oxide in the inhibitory innervation of the human isolated colon
Gastroenterology 1993; 104:690-7
6. Boughton-Smith NK, Evans SM, Hawkey CJ, Cole AT, Balsitis M, Whittle BJ, Moncada S
Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease
Lancet 1993; 342:338-40
7. Böhme GA, Bon C, Stutzman JM, Doble A, Blanchard JC
Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation
European Journal of Pharmacology 1991;199:379-81
8. Bredt DS
Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology
Free Radic Res 1999; 31(6):577-96
9. Brugge WR, Brand DL, Atkins HL, Lane BP, Abel WG
Gallbladder dyskinesia in chronic acalculous cholecystitis
Digestive Diseases and Sciences 1986; 31, No 5:461-7
10. Busse R, Mülsch A
Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin
FEBS Lett 1990; 265:133-6

11. Cameron AJ, Phillips SF, Summerskill WHJ
Effect of cholecystokinin, gastrin, secretin and glucagon on human gallbladder muscle in vitro
Proc Soc Exp Biol Med 1969; 131:149-54
12. Chapman WC, Peterkin GA3rd, La Morte WW, Williams LF Jr.
Alterations in biliary motility correlate with increased gallbladder prostaglandin synthesis in early cholezystolithiasis in prairie dog
Dig Dis Sci 1989; 34(9): 1420-4
13. De Giorgio, Parodi JE, Brecha NC, Brunicardi FC, Becker JM, Go VL, Sternini C
Nitric oxide producing neurons in the monkey and human digestive system
J Comp Neurol 1994; 342:619-27
14. Delbro DS, Engberg G
Are there tonically active, inhibitory motor nerves in the guinea-pig gallbladder?
Acta Physiol Scand 1993; 149: 247-8
15. Dufour JF, Turner TJ, Arias JM
Nitric oxide blocks bile canalicular contraction by inhibiting inositol triphosphate-dependent Ca ++ mobilization
Gastroenterology 1995; 108:841-9
16. Feelisch M, Noack E
The in vitro Metabolism of Nitrovasodilators and their conversion into Vasoactive Species
In: Lewis BS, Kimchi A (Eds.)
Heart Failure- Mechanisms and Management
Berlin: Springer-Verlag, 1991:241-55
17. Feely TM, Clanachan AS, Scott GW
Contractility in human gallbladder muscle in vitro
Aliment Pharmacol Therap 1987; 1:607-16
18. Fiorucci S, Distrutti E, Quintieri A, Sarpi L, Spirchez Z, Gulla N, Morelli A
L-arginine/nitric oxide pathway modulates gastric motility and gallbladder emptying induced by erythromycin and liquid meal in humans
Dig Dis Sci 1995; 40, No.6:1365-71
19. Fridhandler TM, Davison JS, Shaffer EA
Defective gallbladder contractility in the ground squirrel and prairie dog during the early stages of cholesterol gallstone formation
Gastroenterology 1983; 85:830-6
20. Forster ER, Southam E
The intrinsic and vagal extrinsic innervation of the rat stomach contains nitric oxide synthase
Neuroreport 1993; 4(3): 275-8

21. Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA
Endothelium-derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation
Br J Pharmac 1987; 90:687-92
22. Glasbrenner B, Dominguez-Munoz JE, Nelson DK, Pieramico O, Holzwarth C, Riepl RL, Malfertheiner P
Postprandial release of cholecystokinin and pancreatic polypeptide in health and in gallstone disease: relationships with gallbladder contraction
The American Journal of Gastroenterology 1994; 89, No.3:404-10
23. Greaves R, Miller J, O'Donnell L, McLean A, Farthing MJG
Effect of nitric oxide donor, glyceryl trinitrate, on human gallbladder motility
Gut 1998; 42:410-3
24. Groen AK, Stout JPJ, Drapers JAG, Hoek FJ, Grijm R, Tytgat GNJ
Cholesterol nucleation-influencing activity in t-tube bile
Hepatology 1988; 8, No.2:347-52
25. Grozdanovic Z, Baumgarten HG, Brüning G
Histochemistry of NADPH-diaphorase, a marker for neuronal nitric oxide synthase, in the peripheral autonomic nervous system of the mouse
Neuroscience 1992; 48, No.1:225-235
26. Grozdanovic Z, Mayer B, Baumgarten HG, Brüning G
Nitric oxide synthase-containing nerve fibres and neurons in the gall bladder and biliary pathways of the guinea-pig
NeuroReport 1994; 5:837-40
27. Hanisch E, Hawlicek J, Jakobi R, Falk S
In-vitro-Aktivitätsmuster der Gallenblasenmuskulatur von Steinträgern und Nicht-Steinträgern- Differenzierte Antwort auf Cholecystokinin, Motilin und Neurotensin
Z Gastroenterol 1992; 30:5-11
28. Harolds JA, Johnson PL, Khalifa MA, Lin B, Thomas K
Correlation of gallbladder ejection fraction with pathologic grade for chronic inflammation
Southern Medical Journal 1998; 91, No. 2:147-150
29. Hibbs JB, Zdenek V, Taintor RR
L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells
J Immunol 1987; 138:550-65
30. Hibbs JB jr., Taintor RR, Vavrin Z, Granger DL, Drapier JC, Amber IJ, Lancaster JR jr.
Synthesis of nitric oxide from a terminal guanidino nitrogen atom of L-arginin: a molecular mechanism regulating cellular proliferation that targets intracellular iron
In: Moncada S, Higgs EA (eds.); *Nitric oxide from L-arginine: a bioregulatory system*. Elsevier, Amsterdam 1990 pp189-223

31. Holan KR, Holzbach RT, Hermann RE, Cooperman AM, Claffey WJ
Nucleation time : a key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease
Gastroenterology 1979; 77:611-17
32. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR
Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase
Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:2811-4
33. Ivy AC, Kloster G, Lueth HC, Drewyer GE
On the preparation of "cholecystokinin"
Am J Physiol 1929; 91, No. 1:336-45
34. Jennings LJ, Mawe GM
PGE2 hyperpolarizes gallbladder neurons and inhibits synaptic potentials in gallbladder ganglia
Am J Physiol 1998;274 (*Gastrointest Liver Physiol* 37):G493-G502
35. Khoursheed M, Krajci D, Oriowo MA, Kadavil E, Philip EK, Thulesius O
Neurogenic control of the ovine gallbladder: ultrastructural and functional study
Digestion 1998; 59:335-42
36. Kline LW, Zhang ML, Pang PK
Cyclic AMP induces a relaxation response in the bullfrog *Rana Catesbeiana*, but nitric oxide does not
J Exp Biol 1997; 200:2669-74
37. Knowles RG, Merrett M, Salter M, Moncada S
Differential induction of brain , lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat
Biochem J 1990; 270:833-36
38. Konturek JW, Konturek SJ, Pawlik T, Domschke W
Physiological role of nitric oxide in gallbladder emptying in men
Digestion 1997; 58:373-8
39. Kubes P, Suzuko M, Granger DN
Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion
Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:4651-5
40. Kukovetz WR, Holzmann S, Wurm A, Pösch G
Evidence for cyclic GMP-mediated relaxant effects of nitro-compounds in coronary smooth muscle
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1979; 310:129-38
41. La Morte WW, Schoetz DJ Jr., Birkett DH, Williams LF Jr.
The role of the gallbladder in the pathogenesis of cholesterol gallstones
Gastroenterology 1979; 77:580-92

42. Lonovics J, Jakab I, Szilvassy J, Szilvassi Z
Regional differences in nitric oxide-mediated relaxation of the rabbit sphincter of Oddi
Eur J Pharmacol 1994; 255:117-22
43. Luiking YC, Weusten BL, Portincasa P, Van Der Meer R, Smout AJ, Akkermans LM
Effects of long-term oral L-arginin on esophageal motility and gallbladder dynamics in healthy humans
Am J Physiol 1998; 6:G984-91
44. Luman W, Ardill JE, Armstrong E, Smith GD, Brett L, Lessells AM, Haynes WG, Gray GA, Mickley EJ, Webb DJ, Palmer KR
Nitric oxide and gall-bladder motor function
Aliment Pharmacol Ther 1998; 12:425-32
45. Mack AJ, Todd JK
A study of human gall bladder muscle in vitro
Gut 1968; 9:546-9
46. Mang H, Rügheimer E, Frostell GC
Gefahren und Möglichkeiten der Therapie mit inhaliertem Stickstoffmonoxid
Intensivmed 1992; 29:107-13
47. Masclee AAM, Jansen JB, Driessen WM, Geuskens LM, Lamers CB
Plasma cholecystokinin and gallbladder responses to intraduodenal fat in gallstone patients
Dig Dis Sci 1989; 34, No. 3:353-9
48. Mawe GM, Talmage EK, Cornbrooks EB, Gokin AP, Zhang L, Jennings LJ
Innervation of the gallbladder: structure, neurochemical coding, and physiological properties of guinea pig gallbladder ganglia
Micros Res Tec 1997; 39:1-13
49. Mawe GM, Ellis LM,
Chemical Coding of Intrinsic and Extrinsic Nerves in the Guinea Pig Gallbladder: Distribution of PACAP and Orphanin FQ
Anat Rec 2001; 262:101 – 109
50. Mayer B, Schmidt K, Humbert P, Böhme E
Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: a cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca^{2+} -dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanyl cyclase
Biochem Biophys Res Commun 1989; 164, No. 2:678-85
51. McCall, Feelisch M, Palmer RM, Moncada S
Identification of N-iminoethyl-L-ornithine as an irreversible inhibitor of nitric oxide synthase in phagocytic cells
Br J Pharmacol 1991; 102:234-38

52. McConalogue K, Furness JB
Projections of nitric oxide synthesizing neurons in the guinea-pig colon
Cell Tissue Res 1993; 271(3):545-53
53. McKirdy ML, McKirdy HC, Johnson CD
Non-adrenergic non-cholinergic inhibitory innervation shown by electrical field stimulation of isolated strips of human gall bladder muscle
Gut 1994; 35:412-6
54. Mellion BT, Ignarro LJ, Ohlstein EH, Pontecorvo EG, Hyman AL, Kadowitz PJ
Evidence for the inhibitory role of guanosine 3',5'-monophosphate in ADP-induced human platelet aggregation in the presence of nitric oxide and related vasodilators
Blood 1981; 57, No. 5:946-55
55. Messa C, Maselli MA, Cavallini A, Caruso ML, Pezzola F, Di Leo A
Sex steroid hormone receptors and human gallbladder motility in vitro
Digestion 1990; 46:214-9
56. Middleton SJ, Shorthouse M, Hunter JO
Relaxation of distal colonic circular smooth muscle by nitric oxide derived from human leucocytes
Gut 1993; 34(6): 814-7
57. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA
The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator
Hypertension 1988; 12:365-72
58. Moncada S, Radomski M, Palmer RM
Endothelium derived relaxing factor: identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function
Biochemical pharmacology 1988;37, No.13:2495-501
59. Moncada S und Palmer RM
The L-arginine:nitric oxide pathway in the vessel wall
In: Moncada S, Higgs EA (eds.); *Nitric oxide from L-arginine: a bioregulatory system*. Elsevier, Amsterdam 1990 pp 19-33
60. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA
Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology
Pharmacol Rev 1991; 43:109-41
61. Moncada S
The L-arginine:nitric oxide pathway
Acta Physiol Scand 1992; 145:201-27
62. Moncada S, Higgs EA
The L-arginine - nitric oxide pathway
N Engl J Med 1993; 329, No. 27:2002-12

63. Mourelle M, Guarner F, Moncada S, Malagelada JR
The arginine/nitric oxide pathway modulates sphincter of Oddi motor activity in guinea pigs and rabbits
Gastroenterology 1993; 105:1299-305
64. Mourelle M, Guarner F, Molero X, Moncada S, Malagelada JR
Regulation of gall bladder motility by the arginine-nitric oxide pathway in guinea pigs
Gut 1993;34:911-5
65. Murthy KS und Makhlof GM
Interaction of cA-kinase and cG-kinase in mediating relaxation of dispersed smooth muscle cells
Am J Physiol 1995; 268 (Cell Physiol 37):C171-80
66. Nilsson B, Diebro D, Hedin L, Conradi N, Thune A, Friman S, Wennmalm A, Yan ZQ, Svanvik J
Role of nitric oxide in induction of inflammatory fluid secretion by the mucosa of the feline gallbladder
Gastroenterology 1996; 110:598-606
67. O'Dell TJ, Hawkins RD, Kandel ER, Arancio O
Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: Evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger
Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88:11285-9
68. Ozaki H, Blondfield DP, Hori M, Publicover NG, Kato I, Sanders KM
Spontaneous release of nitric oxide inhibits electrical, Ca²⁺ and mechanical transients in canine gastric smooth muscle
J Physiol 1992; 445:231-47
69. Palacios M, Knowles RG, Palmer RM, Moncada S
Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands
Biochem Biophys Res Commun 1989; 165,NO. 2:802-9
70. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S
Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginin
Nature 1988; 333:664-6
71. Parkman HP, Pagano AP, Ryan JP
Dual effects of PACAP on guinea pig gallbladder muscle via PACAP-preferring and VIP/PACAP-preferring receptors
Am J Physiol 1997; 272:G1433-G1438 (n.v.)
72. Parkman HP, Pagano AP, Ryan JP
Investigation of endogenous neurotransmitters of guinea pig gallbladder using nicotinic agonist stimulation
Dig Dis Sci 1998; 43(10):2237-43

73. Pawlik T, Bednarz S, Thor P, Konturek JW
Effects of nitric oxide donors on gallbladder motility in humans
Gut 1996;39 (Suppl 3):A127-8
74. Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J
Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension
Lancet 1991; 338:1173-4
75. Persson CGA
Adrenoceptors in the Gall bladder
Acta pharmacol. et toxicol. 1972 ; 31:177-85
76. Petros AJ, Hewlett AM, Bogle RG, Pearson JD
L-arginine-induced hypotension
Lancet 1991; 337:1044-5
77. Pomeranz IS, Shaffer EA
Abnormal gallbladder emptying in a subgroup of patients with gallstones
Gastroenterology 1985; 88:787-91
78. Precht M, Kraft R
Biostatistik , 5. Auflage
R. Oldenbourg Verlag München Wien 1993
79. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S
The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium
Biochem Biophys Res Commun 1987; 148, No. 3:1482-9
80. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S
The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide
Br J Pharmacol 1987; 92:639-46
81. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S
Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium
Lancet 1987;1057-8
82. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S
Characterization of the L-arginin-nitric oxide pathway in human platelets
Br J Pharmacol 1990; 101(2): 325-8
83. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S
An L-arginine/ nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation
Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87(13):5193-7

84. Radomski MW, Moncada S
Biological role of nitric oxide in platelet function
In: Moncada S, Higgs EA, Berrazueta JR (eds.); Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system
Madrid: EDICOMPLET 1991: 45-56
85. Rand MJ
Nitroergic transmission: nitric oxide as a mediator of non-adrenergic, non-cholinergic neuro-effector transmission
Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 1992; 19:147-69
86. Rapoport RM, Murad F
Agonist-induced endothelium dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP
Circ Res 1983; 52:352-7
87. Ravdin IS, Morrison JL
Gallbladder Function
Archives of Surgery 1930; 810 ff
88. Rees DD, Palmer RM, Moncada S
Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure
Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86:3375-8
89. Rees DD, Schulz R, Hodson HF, Palmer RM, Moncada S
Identification of some novel inhibitors of the vascular nitric oxide synthase in vivo and in vitro
In: Moncada S und Higgs EA (eds.): Nitric oxide from L-arginine: a bioregulatory system; Elsevier, Amsterdam 1990 pp 485-7
90. Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S
Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo
Br J Pharmacol 1990; 101:746-52
91. Ribbons EA, Zhang XJ, Thompson JH, Greenberg SS, Moore WM, Kornmeier CM, Currie MG, Lerche N, Blanchard J, Clark DA, Miller MJ
Potential role of nitric oxide in a model of chronic colitis in rhesus macaques
Gastroenterology 1995; 108:705-11
92. Roediger WE, Lawson MJ, Nance SH, Radcliffe BC
Detectable colonic nitrite levels in inflammatory bowel disease- mucosal or bacterial malfunction?
Digestion 1986; 35:199-204
93. Rossaint R, Falke K
Pulmonalarterielle Drucksenkung mit Stickstoffmonoxid
Jahrbuch der Anästhesiologie und Intensivmedizin 1993: 67-72

94. Rossaint R, Gerlach H, Pappert D, Falke K
NO-Therapie des akuten Lungenversagens und kongenitaler Herzvitien
Münch med Wschr 1993; 135, Suppl 1:S29-36
95. Ross CA, Bredt D, Snyder SH
Messenger molecules in the cerebellum
TINS 1990; 13, No.6:216-223
96. Ryan JP
Motility of the gallbladder and the biliary tree
In L.R. Johnson (Ed.), Physiology of the Gastrointestinal Tract
Raven Press, New York 1987
97. Salazar FJ, Alberola A, Pinilla JM, Romero JC, Quesada T
Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition
Hypertension 1993; 22, No.1:49-55
98. Salomons H, Keaveny AP, Henihan R, Offner G, Sengupta A, LaMorte WW,
Afdhal NH
Nitric oxide and gallbladder motility in prairie dogs
Am J Physiol 1997; 272 (Gastrointest Liver Physiol 35):G770-8
99. Sängler P, Schneider H, Hanisch E
Nonadrenerge noncholinerge Regulation steinerkrankter und steinfreier humaner
Gallenblasen
Zentralbl Chir 1997; 122:418-24
100. Schmidt HH, Seifert R, Böhme E
Formation and release of nitric oxide from human neutrophils and HL-60 cells
induced by a chemotactic peptide, platelet activating factor and leukotriene B4
FEBS Lett 1989; 244, No. 2:357-60
101. Schumann EM, Madison DV
A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation
Science 1991; 254:1503-6
102. Schwörer H, Katsoulis S, Creutzfeldt W, Schmidt WE
Pituitary adenylate cyclase activating peptide, a novel VIP-like gut-brain peptide,
relaxes the guinea-pig taenia caeci via apamin-sensitive potassium channels
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 1992; 346: 511 - 514
103. Severi C, Grider JR, Makhlouf GM
Functional gradients in muscle cells isolated from gallbladder, cystic duct, and
common bile duct
Am J Physiol 1988; 255 (Gastrointest Liver Physiol 18):G647-52
104. Shaffer EA
Review article: control of gall-bladder motor function
Aliment Pharmacol Ther 2000; 14 +(Suppl.2):2-8

105. Shaffer EA, Taylor PJ, Logan K, Gadomski S, Corenblum B
The effect of a progestin on gallbladder funktion in young women
Am J Obstet Gynecol 1984; 148:504-7
106. Shibuki K, Okada D
Endogenous nitric oxide release required for longterm synaptic depression in the cerebellum
Nature 1991; 349:326-8
107. Sneddon P, Graham A
Role of nitric oxide in the autonomic innervation of smooth muscle
J Auton Pharmacol 1992; 12:445-56
108. Stuehr DJ, Fasehun OA, Kwon NS, Gross SS, Gonzalez JA, Levi R, Nathan CF
Inhibition of macrophage and endothelial cell nitric oxide synthase by diphenyleneiodonium and its analogues
FASEB J 1991; 5:98-103
109. Sturdevant RA, Stern DH, Resin H, Isenberg JI
Effect of graded doses of octapeptide of cholecystokinin on gallbladder size in man
Gastroenterology 1973; 64:452-6
110. Swartz-Basile DA, Goldblatt MI, Blaser C, Decker PA, Ahrendt SA, Sarna SK, Pitt HA
Iron deficiency diminishes gallbladder neuronal nitric oxide synthase
J Surg Res 2000; 90(1):26-31
111. Talmage EK, Pouliot WA, Cornbrooks EB, Mawe GM
Transmitter diversity in ganglion cells of the guinea pig gallbladder: an immunohistochemical study
The Journal of Comparative Neurology 1992; 317:45-56
112. Talmage EK, Mawe GM
NADPH-diaphorase and VIP are colocalized in neurons of gallbladder ganglia
Journal of the Autonomic Nervous System 1993; 43:83-90
113. Talmage EK, Pouliot WA, Schemann M, Mawe GM
Structure and chemical coding of human, canine and opossum gallbladder ganglia
Cell Tissue Res 1996; 284:289-302
114. Thompson JC, Fried GM, Ogden WD, Fagan CJ, Inoue K, Wiener I, Watson LC
Correlation between release of cholecystokinin and contraction of the gallbladder in patients with gallstones
Ann Surg 1982; 195, No. 5:670-5

115. Thune A, Delbro DS, Nilsson B, Friman S, Svanvik J
Role of nitric oxide in motility and secretion of the feline hepatobiliary tract
Scand J Gastroent 1995; 7:715-20
116. Uemura S, Pompolo S, Furness JB, Hardy KJ
Nitric oxide synthase in neurons of the human gall-bladder and its colocalization
with neuropeptides
J Gastroenterol Hepatol 1997; 12:257-65
117. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hansen A, Reibnegger G,
Wachter H
Tetrahydrobiopterin-dependent formation of nitrite and nitrate in murine fibroblasts
J Exp Med 1990; 172(6): 1599-607
118. Yamada T, Sartor RB, Marshall S, Specian RD, Grisham MB
Mucosal injury and inflammation in a model of chronic granulomatous colitis in rats
Gastroenterology 1993; 104:759-71
119. Yu P, De Pteris G, Biancani P, Amaral J, Behar J
Cholecystokinin-coupled intracellular signaling in human gallbladder muscle
Gastroenterology 1994; 106:763-70
120. Zieman SJ, Gerstenblith G, Lakatta EG, Rosas GO, Vandegaer K,
Ricker KM, Hare JM
Upregulation of the nitric oxide – cGMP pathway in aged myocardium: physiological
response to L-arginine
Circ. Res. 2001 Jan 19; 88(1): 97 - 102

VII. ANHANG

1. Abkürzungsverzeichnis der Messpunkte und berechneten Grössen

snpv	=	Ausgangstonus vor Gabe von SNP
snp	=	maximale Relaxierung nach Gabe von SNP
snpn	=	nach Spülung im Anschluss an Gabe von SNP
dsn	=	Reaktivität auf SNP = snpv-snp (also Ausgangstonus-bereinigt)
rdsn	=	dsn in % von snpv
ck1,2,10	=	maximale Kontraktion nach Erster Gabe von CCK 0,1, 0,2, 1 nmol
ln2n	=	Ruhtonus nach Zweiter L-NAME-Gabe, Ausgangstonus für zweiten CCK-Durchlauf
ckln1, 2, 10	=	maximale Kontraktion nach Zweiter Gabe von CCK 0,1, 0,2, 1 nmol nach L-NAME-Gabe
rck1, 2, 10	=	(ck1, 2, 10:kal) x 100, also maximale Kontraktion im ersten CCK-Durchlauf in % der Kalium-Kontraktion (Absolutwerte)
rlck1, 2, 10	=	(ckln1,2,10:kal) x 100, maximale CCK-Kontraktion im zweiten Durchlauf in % der Kalium-Kontraktion (Absolutwerte)
rdck1-10	=	(ck1,2,10 - snpn) : (kal - snpn) x 100; CCK-Reaktivität im ersten Durchlauf in % der Kalium-Reaktivität, tonusbereinigt

Fortsetzung:

rdlck1-10	=	$(ckln_{1,2,10} - ln_{2n}) : (kal - ln_{2n}) \times 100$; CCK-Reaktivität im zweiten Durchlauf in % der Kalium-Reaktivität, tonusbereinigt
Inv	=	Ausgangstonus vor Erster L-NAME-Gabe
ln1	=	nach Erster L-NAME
lnsn	=	Zweite SNP-Gabe nach Erster L-NAME
Inv2	=	Ausgangstonus vor Zweiter L-NAME
ln2,ln2n	=	Zweite L-NAME u. Ruhephase danach
larg	=	Reaktion auf L-Arginin
kalv	=	Ausgangstonus vor Kalium-Gabe
kal	=	maximale Kontraktion nach Kalium – Gabe

2. CCK - Dosis - Wirkungskurve nach L-NAME (in Prozent der Kaliumreaktion)

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
rlckv	21	48,61228	18,77860	8,029198	83,33333
rlck1	21	68,02711	23,67668	21,991080	125,00000
rlck2	21	77,25066	20,83839	32,838040	130,95240
rlck10	21	92,72020	22,18947	54,086180	162,69840

Es gilt : rick1 = (ckln1 : kal) x 100 usw.

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
rdlck1	21	47,20359	49,73057	-6,593412	214,2857
rdlck2	21	66,08693	58,07159	-4,395601	285,7142
rdlck10	21	100,8241	92,57226	8,791202	285,7142

Es gilt : rdlck1 = (ckln1-ln2n : kal-ln2n) * 100 usw.

Nun wurden diese Werte mit den entsprechenden vor L-NAME verglichen.

t-Test rick1 = rck1

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.
rlck1	21	68,027110	23,67668
rck1	21	77,755580	55,86496
diff	21	-9,728477	39,89916

Ho : diff = 0 (paired data)

t = -1,12 with 20 d. f.

Pr > |t| = 0,2771

2. CCK - Dosis - Wirkungskurve nach L-NAME (in Prozent der Kaliumreaktion)

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
rlckv	21	48,61228	18,77860	8,029198	83,33333
rlck1	21	68,02711	23,67668	21,991080	125,00000
rlck2	21	77,25066	20,83839	32,838040	130,95240
rlck10	21	92,72020	22,18947	54,086180	162,69840

Es gilt : $rlck1 = (ckln1 : kal) \times 100$ usw.

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
rdlck1	21	47,20359	49,73057	-6,593412	214,2857
rdlck2	21	66,08693	58,07159	-4,395601	285,7142
rdlck10	21	100,8241	92,57226	8,791202	285,7142

Es gilt : $rdlck1 = (ckln1 - ln2n : kal - ln2n) \times 100$ usw.

Nun wurden diese Werte mit den entsprechenden vor L-NAME verglichen.

t-Test $rlck1 = rck1$

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.
rlck1	21	68,027110	23,67668
rck1	21	77,755580	55,86496
diff	21	-9,728477	39,89916

$H_0 : diff = 0$ (paired data)

$t = -1,12$ with 20 d. f.

$Pr > |t| = 0,2771$

t-Test rck2 = rck2

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.
rck2	21	77,250660	20,83839
rck2	21	87,131140	57,73249
diff	21	-9,880471	41,91016

Ho : diff = 0 (paired data)

t = -1,08 with 20 d. f.

Pr > |t| = 0,2928

t-Test rck10 = rck10

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.
rck10	21	92,720200	22,18947
rck10	21	102,557800	49,64735
diff	21	-9,837618	30,74457

Ho : diff = 0 (paired data)

t = -1,47 with 20 d. f.

Pr > |t| = 0,1581

t-Test rdck1 = rdck1

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.
rdck1	21	76,86389	146,67660
rdck1	21	47,20359	49,73957
diff	21	29,66029	147,37250

Ho : diff = 0 (paired data)

t = 0.90 with 19 d. f.

Pr > |t| = 0,3794

VIII. DANKSAGUNGEN

Mein Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Bruch für die Überlassung des Themas sowie Herrn Prof. Dr. Broll für die Bereitstellung des Laborarbeitsplatzes. Herr Dr. Roblik las die Arbeit Korrektur. In besonderer Weise möchte ich mich bei Frau Dr. Dolores de Mattia für die aufmerksame Betreuung bedanken sowie bei Prof. Dr. Pohl für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung. Grosse Dankbarkeit gilt auch meinen Eltern, die mir durch ihre finanzielle Unterstützung das Medizinstudium überhaupt ermöglichten und meiner Frau Tina, die die Entstehung der Arbeit mit viel Verständnis sowie tatkräftiger Hilfe bei Korrektur und Formatierung begleitet hat. Ferner möchte ich mich bei den Laborassistentinnen für ihre allzeit freundliche und hilfsbereite Zusammenarbeit bedanken, die die Laborarbeit oft wesentlich erleichterte.