11. Jahrgang · Heft 4 · Oktober 1994 C 5842 F

FOCUS MUL

ZEITSCHRIFT FÜR WISSENSCHAFT, FORSCHUNG UND LEHRE AN DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Editorial

Medizin zwischen Naturwissenschaft und Geisteswissenschaft

Das Kolleg

Laparoskopie in der Urologie
P. Fornara, D. Jocham

Originalarbeiten

Molekularbiologische Charakterisierung des Proliferationsassoziierten Ki-67-Proteins
M. Duchrow, C. Schlüter, J. Gerdes

Strukturanalyse bakterieller Lipopolysaccharide
P. Holst

Die Expression des interzellulären Adhäsionsproteins-1 durch Nierenkarzinomzellen wird durch 1,25-Dihydroxycholekalziferol erhöht
B. Kreft, S. Brzoska, F. Müller, S. Kamp, C. Doehn, C. Höppner, K. Sack

Übersichten

GnRH-Antagonisten und In-vitro-Fertilisation. Ein Überblick
R. Felberbaum, T. Reissmann, W. Küpker, S. Al-Hasani, C. Diedrich, K. Diedrich

Chirurgischer Alltag in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts
O. Riha

Ethische Probleme in der Pädiatrie
K. Kruse

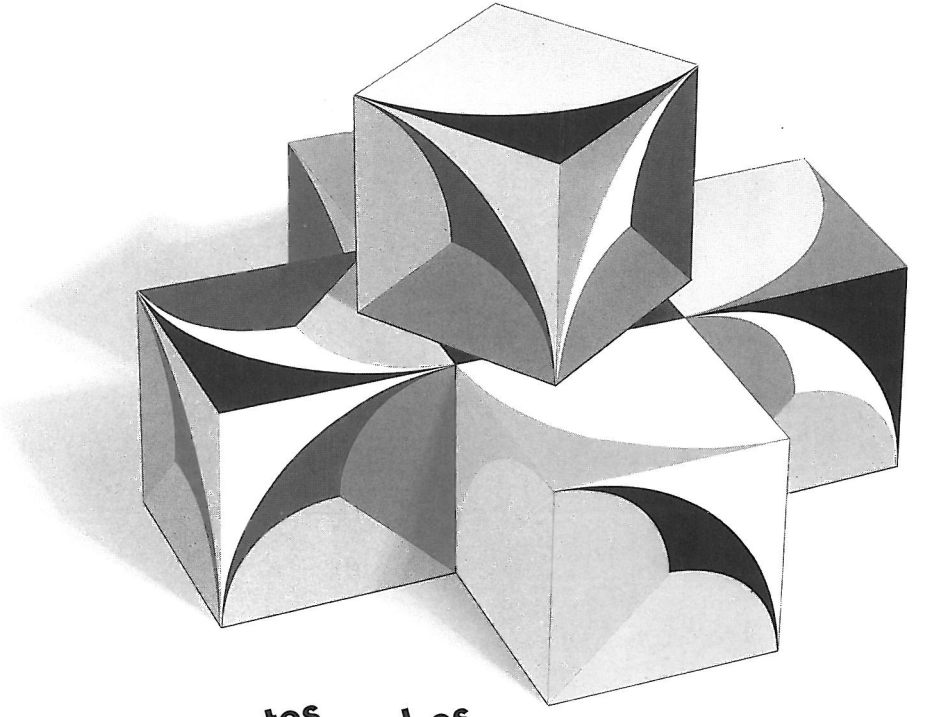
Aus der Hochschule

Hansisches Verlagskontor H. Scheffler · 23547 Lübeck

SCHERING

Diagnostika

Spitzenleistungen.



Weltweit erstes
dimeres nichtionisches
Röntgenkontrastmittel

Weltweit erstes
Kontrastmittel für die MRT

Weltweit erstes
Ultraschall-Kontrastmittel
für die Echokardiographie

Schering weist den Weg

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck
11. Jahrgang · Heft 4 · Oktober 1994

Inhalt

Editorial

Medizin zwischen Naturwissenschaft und Geisteswissenschaft 208

Das Kolleg

Laparoskopie in der Urologie
P. Fornara, D. Jocham 210

Originalarbeiten

Molekularbiologische Charakterisierung des Proliferationsassoziierten Ki-67-Proteins
M. Duchrow, C. Schlüter, J. Gerdes 219

Strukturanalyse bakterieller Lipopolysaccharide
P. Holst 226

Die Expression des interzellulären Adhäsionsproteins-1 durch Nierenkarzinomzellen wird durch 1,25-Dihydroxycholekalziferol erhöht
B. Kreft, S. Brzoska, F. Müller, S. Kamp, C. Doehn, C. Höppner, K. Sack 233

Übersichten

GnRH-Antagonisten und In-vitro-Fertilisation. Ein Überblick
R. Felberbaum, T. Reissmann, W. Küpker, S. Al-Hasani, C. Diedrich, K. Diedrich 240

Chirurgischer Alltag in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts
O. Riha 246

Ethische Probleme in der Pädiatrie
K. Kruse 251

Das Porträt

Prof. Linnemann 259

Aus der Hochschule

Medizin heute
E. Schwinger 261

Medizinische Gesellschaft

Medizin zwischen Naturwissenschaft und Geisteswissenschaft

Die Medizin ist in der Gegenwart aus verschiedenen Gründen in die Diskussion und Kritik geraten. Die Rede ist von Alternativmedizin und Erfahrungsmedizin, von Schulmedizin und Reparaturmedizin; gefordert wird die Einführung von Naturheilverfahren und Methoden wie Denkweisen außereuropäischer Kulturen; der naturwissenschaftlichen Objektivität wird die Subjektivität des Patienten und eine personale Beziehung zwischen Arzt und Patient gegenübergestellt; Forschung und Fortschritt stoßen auf Skepsis und Ablehnung.

Zugleich werden von der Bevölkerung große Erwartungen an die Medizin gerichtet; Leiden und Krankheiten sollen überwunden oder vermieden werden, proklamiert wird das Recht auf Gesundheit für alle Menschen. Behinderungen möchte niemand hinnehmen, vor allem nicht die Endlichkeit der menschlichen Existenz.

Theorie und Praxis der modernen Medizin stehen trotz eindrucksvoller Erfolge vor der Frage nach dem eigenen Selbstverständnis, nach dem Verhältnis von Grundlagenforschung und Therapie, nach den Beziehungen zu den Naturwissenschaften und Geisteswissenschaften, nach der Rolle in der modernen Gesellschaft, nach den Gefahren und nicht nur Chancen des Fortschritts.

Vor falschen Alternativen muß gewarnt werden: Physik und Chemie werden weiterhin wesentliche Grundlagen der Medizin bleiben, die sich in ihr aber – wie bereits die Biologie – nicht erschöpfen können. Grundsätzlich erweist sich der Gegensatz zwischen den Naturwissenschaften und den Geisteswissenschaften für die Medizin als unangemessen. Medizin ist als empirische Disziplin Erfahrungswissenschaft, ihre therapeutische Aufgabe, auf die auch die Diagnostik bezogen ist, macht sie zur Handlungswissenschaft. Medizin ist empirische Forschung mit den Mitteln der Beobachtung und des Experiments, ist Erklärung der Erscheinungen, Gesetzesbildung und Theorie, ist Diagnostik und Therapie, Prävention und Rehabilitation. Auf allen Ebenen läßt sich der Anteil der Naturwissenschaften wie zugleich der Geisteswissenschaften beobachten.

Jeder medizinische Forschungsbereich besitzt seine spezifischen theoretischen und spezifischen ethischen Probleme. Für die Psychiatrie ist, wie der Mediziner und Philosoph Karl Jaspers zu Beginn des 20. Jahrhunderts überzeugend ausgeführt hat, der Methodendualismus von naturwissenschaftlichem Erklären und geisteswissenschaftlichem Verstehen konstitutiv.

Induktion und Deduktion sind auch für die Medizin notwendige Formen wissenschaftlicher Erkenntnis. Ohne Hypothesen und ihre empirische Überprüfung durch Beobachtung und Experiment ist eine Erweiterung des Wissens mit entsprechenden diagnostisch-therapeutischen Fortschritten nicht möglich. Die Bewährung an der Empirie ist eine zentrale Bedingung der modernen Medizin, über die sich Psychosomatik und Anthropologische Medizin ebensowenig hinwegsetzen können wie Homöopathie oder Anthroposophische Medizin.

Medizinische Therapie kann auf Wirksamkeitsnachweise nicht verzichten. Diese Nachweise können aber ohne weiteres unterschiedlich ausfallen; auch subjektive Aussagen lassen sich quantifizieren, auch die Beziehung zwischen Arzt und Patient kann wissenschaftlich erfaßt und beurteilt werden. Der medizinische Wissenschaftsbegriff kann nicht nur an Mechanik, Physik und Biologie orientiert werden. Bacon, Newton, Comte, Whewell und Popper haben mit ihren Analysen über Beobachtung und Experiment unter Medizinern Beachtung und Zustimmung gefunden, zugleich aber auch einseitige Auffassungen über die Logik der Medizin verbreitet.

Medizinische Forschung und ärztliche Therapie sind auf Intuition angewiesen. Über den Wert und die Grenzen der Intuition wird kontrovers diskutiert, für jede positivistische Wissenschaftstheorie stellt sie ein Ärgernis dar. Aus dem medizinischen Alltag ist Intuition nicht hinwegzudenken; sie kann mit dem Mediziner Theodor Brugsch als ein „Schnellverfahren für die Erkennung verwickelter Vorgänge anstelle eines weitschweifigen Denkverfahrens“ angesehen werden.

Gesundheits- und Krankheitsbegriffe sind nicht nur Deskriptionen, sondern sind mit normativen Setzungen verbunden, sind Seins- und zugleich Werturteile. Krankheitsbegriffe und Ursachenkonzepte beeinflussen Art und Ziel ärztlichen Handelns; ein technomorphes Krankheitsverständnis legt eine technomorphe Arzt-Patienten-Beziehung nahe.

An der WHO-Definition der Gesundheit als „Zustand vollständigen körperlichen, geistigen und so-

zialen Wohlbefindens" beeindruckt, daß Gesundheit – wie auch Krankheit – nicht nur auf das Physische reduziert wird; der anthropologische Mangel dieser Definition liegt allerdings in der strikten Entgegensetzung von Gesundheit und Krankheit und der übertriebenen Hochschätzung der Gesundheit; Krankheit gehört wie Gesundheit zum Leben, Gesundheit muß nicht nur positiv sein, unter Gesundheit kann auch die Fähigkeit verstanden werden, Behinderungen und Schädigungen ertragen und in das Leben integrieren zu können.

Die Verabsolutierung der naturwissenschaftlichen Perspektive in der Medizin, der zugleich herausragende Leistungen im Bereich der Lebensverlängerung wie Qualitätssteigerung des Lebens zu verdanken sind, stößt bereits im ausgehenden 19. Jahrhundert unter Medizinern auf Skepsis und Ablehnung. Der Kliniker Bernhard Naunyn ergänzt seine programmatische Feststellung: „Medizin wird Wissenschaft sein oder sie wird nicht sein" mit der ebenso fundamentalen Aussage, daß Medizin Therapie sei: „da setzen uns Humanität und Pietät enge Grenzen".

Ohne Zweifel hat die sich seit dem 19. Jahrhundert vertiefende Trennung zwischen den Naturwissenschaften und Geisteswissenschaften ihre reduktionistischen Spuren in der Medizin und ihrem Selbstverständnis hinterlassen; gegenwärtige Kritik und Spannungen haben letztlich in dieser Trennung ihre Wurzel und werden nur durch ihre Überwindung ausgeglichen werden können. Auf verschiedene Initiativen – wie die Hospizbewegung und die Palliativmedizin – kann bereits hingewiesen werden; kunsttherapeutische Richtungen gewinnen ihrererseits an Bedeutung.

Vor allem aus der therapeutischen Aufgabe folgen charakteristische Unterschiede sowohl von den Naturwissenschaften als auch von den Geisteswissenschaften. Im Umgang mit dem leidenden und kranken Menschen nimmt Medizin Momente der Geisteswissenschaft auf, wird in einem spezifischen Sinn zu einer Kunst. Seit der Antike wird die Medizin als Einheit von Wissenschaft (scientia) und Kunst (ars) bezeichnet. Diese Einheit ist aber keineswegs spannungsfrei, der Akzent wird von den verschiedenen Medizinern und auch in den verschiedenen medizinischen Disziplinen abweichend gesetzt.

An einem ist aber kaum zu zweifeln: Medizin ist Wissenschaft und Praxis und nicht allein angewandte Naturwissenschaft; als Praxis hat Medizin es nicht mit Steinen, Pflanzen oder Tieren, sondern mit Menschen zu tun, die Bewußtsein und Sprache besitzen, in sozialen Beziehungen und einem kulturellen Kontext leben. Welche Lösung des Dualismus auch immer vertreten wird, in der Medizin verbinden sich Naturwissenschaft und Geisteswissenschaft.

Die Schriftleitung

DIE BANK-
VERBINDUNG
FÜR ALLE
LÜBECKER

Sparkasse zu Lübeck

Die Bankverbindung. Seit 1817.

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik der Medizinischen Universität zu Lübeck
(Direktor: Prof. Dr. med. D. Jocham)

Laparoskopie in der Urologie

P. Fornara, D. Jocham

Minimal-invasive Therapien werden seit vielen Jahren in verschiedenen Fachgebieten der Medizin angewendet. Historisch betrachtet liegen die Anfänge der Laparoskopie lange zurück. Die Erstbeschreibung erfolgte 1901 durch Kelling, der mit einem Zystoskop tierexperimentell (Hund) erstmals die Peritonealhöhle inspizierte und erstmals 1923 eine diagnostische Laparoskopie am Menschen durchführte.

Während der 60er Jahre wurde die Laparoskopie ausschließlich als diagnostisches Verfahren zur Inspektion der Organe des kleinen Beckens und seltener zum Staging intraabdomineller Metastasen eingesetzt. Die Erweiterung des Verfahrens auf die laparoskopischen Operationstechniken wurde von Semm propagiert, der als Gynäkologe die Entwicklung der laparoskopischen Operationstechniken vorantrieb.

Die laparoskopische Sicht in die Abdominalhöhle war damals limitiert, da nur der Operateur direkten Einblick in das Operationsfeld hatte. Eingriffe mit therapeutischer Zielsetzung, die eine Assistenz erforderten, konnten nur sehr begrenzt durchgeführt werden.

1986 wurde durch die Einführung einer direkt an das Laparoskop montierbaren Computer-Chip-TV-Kamera dieses Problem gelöst. Damit begann die Ära der videoassistierten intraabdominellen Chirurgie, die in der zweiten Hälfte der 80er Jahre eine rasante Entwicklung, insbesondere auf chirurgischer Ebene, erfuhr.

1987 wurde in Lyon von Mouret die erste laparoskopische Cholezystektomie durchgeführt.

Trotz der Vertrautheit mit endoskopischen Verfahren war überraschenderweise das Interesse der Urologen an der laparoskopischen Operationstechnik anfänglich eher gering. Cortesi berichtete erstmals 1976 über die diagnostische Wertigkeit laparoskopischer Verfahren beim Kryptorchismus. 1979 führten Wickham und Wittmoser eine retroperitoneale Ureterolithotomie durch (Beer und Staehler 1993).

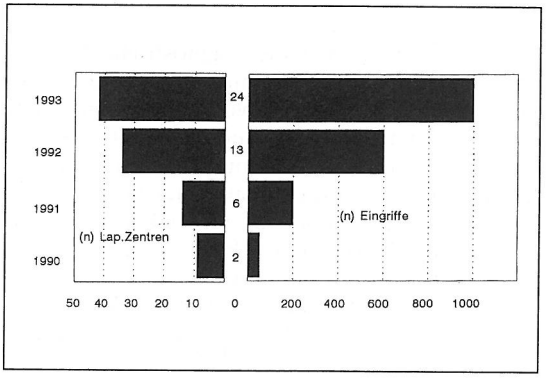
Laparoskopische Eingriffe in der Urologie

Historische Entwicklung

Indikation	*Autor*
Kryptorchismus (Diagnostik)	Cortesi, 1976
Ureterolithotomie (retroperitoneal)	Wickham u. Wittmoser, 1979
Pelvine Lymphknotenbiopsie (ohne Pneumoperitoneum)	Mazmann, 1983
Transperitoneale Pyelolithotomie	Eshghi, 1985
Transperitoneale pelvine Lymphadenektomie	Schüssler u. Vancaille, 1989
Transperitoneale Varicocelektomie	Winfield, 1989
Transperitoneale Nephrektomie	Clayman, 1990
Radikale Prostatektomie	Schüssler, 1991
Nephroureterektomie	Coptcoat, 1991
Adrenalektomie	Rassweiler, 1992
Retroperitoneale Lymphadenektomie	Hulbert, 1991 Janetscheck, 1992
Ileum conduit	Kozminski, 1992
Blasenteilresektion	Parra, 1992
Nephrektomie (bilateral)	Fornara, 1994

In der Bundesrepublik Deutschland wurden 1992 insgesamt 360 und 1993 (Hochrechnung) 680 Eingriffe an insgesamt 42 Kliniken durchgeführt. Lediglich an 16 Kliniken wurden mehr als 10 Eingrif-

fe/Jahr durchgeführt (Beer für den Arbeitskreis Minimal invasive Urologie, 1993) (Tabellen 1, 2, 3, 4 u. 5).

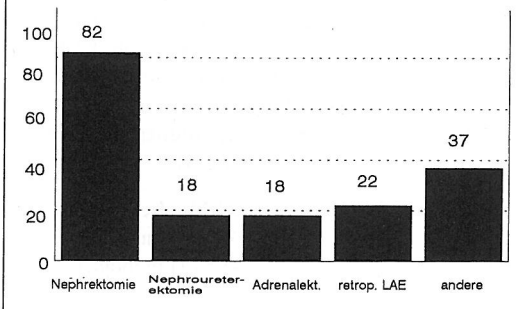


OP-Zahlen > 10 p. a.

	n
Angeschriebene Kliniken	322
Auswertbare Antworten	197 (61 %)
Unklar nach tel. Rücksprache	12 (4 %)
Kliniken mit Laparoskopieaktivität	49 (16 %)

Quelle: Beer f. AK Minimal invasive Urologie, 1993

Tabelle 1: Laparoskopie in der Urologie (Bundesweite Umfrage August 1993)

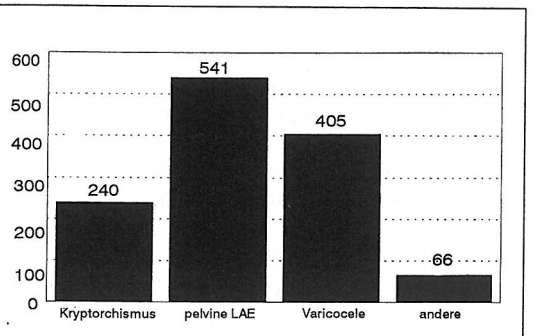


Andere Indiaktionen:

1.Nierencystenmarsupialisation	23
2. Nephropexie, -biopsie u. a.	8
3. Ureterocutaneostomie	4
4. Ureterolyse/HL-Stein	2

Quelle: Beer f. AK Minimal invasive Urologie, 1993

Tabelle 2: Indikationsspektrum oberes Retroperitoneum 1992-1993



Andere Indikationen:

1. Lymphocelenmarsupialisation	45
2. Blasen-OPs (Divertikel, PE, Perforation, Inkontinenz-OP)	11
3. distaler HL (Steine, Ueterolyse)	2
4. diagnostische Eingriffe	8

Quelle: Beer f. AK Minimal invasive Urologie, 1993

Tabelle 3: Indikationsspektrum unteres Retroperitoneum 1992-1993

Technische Komplikationsrate	3,7 %
Perioperative Nebenwirkungsrate	2,1 %
Konversionsrate gesamt	3,0 %
Konversionsrate (Zentren: n > 20)	1,6 %

Quelle: Beer f. AK Minimal invasive Urologie, 1993

Tabelle 4: Laparoskopie in der Urologie (Bundesweite Umfrage 1992-1993)

Technisch:	Bauchdeckenverletzung	n = 11
	Gefäßverletzungen	n = 9
	Blase-HL-Verletzung	n = 7
3,7 %	Darmverletzung	n = 3
	Nervenverletzung	n = 1
	Nachblutung	n = 10
	Lymphocelenbildung	n = 7
	Herniation, Ileus	n = 4
Andere:	Schulterschmerz, Lungenembolie,	
2,0 %	Myocardinfarkt, Pneumothorax,	
	Ekchymose	n = 29

Tabelle 5: Laparoskopie in der Urologie-Komplikationen (Bundesweite Umfrage August 1993)

Stand und Perspektiven der Laparoskopie in der Urologie

Derzeit werden eine Reihe laparoskopischer Eingriffe bei gut- und bösartigen Erkrankungen in der Urologie durchgeführt. Traditionell werden Eingriffe am Leistenring, im kleinen Becken sowie im oberen Retroperitoneum unterschieden.

Laparoskopische Eingriffe am Leistenring (gutartige Erkrankungen)

Diagnostisch-therapeutische bei Kryptorchismus

a) Orchiektomie von Bauchhoden

b) Orchidopexie

- *Funiculolyse*
- *Ligatur der Spermaticagefäße*
- *zweizeitige operative Orchidopexie nach Fowler-Stephens*
- *laparoskopische Präparation der Spermaticagefäße*

Transperitoneale Varicocelenligatur

Präparation der Vasa epigastrica vor Penisrevaskularisation (?)

Laparoskopische Eingriffe im kleinen Becken (gutartige Erkrankungen):

Lymphocelenfensterung

Blasendivertikelresektion

Harnröhrensuspensionsplastik

Laparoskopische Eingriffe im oberen Retroperitoneum (gutartige Erkrankungen):

Nephrektomie

Nephroureterektomie (mit transurethraler Auxiliärmaßnahme)

Nierenzystenresektion

Nierenbeckenplastik

Adrenalektomie

Laparoskopische „Advanced procedures"

Blasenteilresektion

Ureterolithotomie

Ileum conduit

Ureterolyse

Ureteroureterostomie

Harnleiterreimplantation

Derzeit werden vom Arbeitskreis Minimal-invasive Urologie lediglich Kryptorchismus, transperitoneale sekundäre Variocelenligatur sowie die Lymphocelenfensterung als klare Indikation für ein laparoskopisches Vorgehen angesehen.

Kryptorchismus

Indikationen

Im Vordergrund steht die diagnostische Laparoskopie bei Verdacht auf Bauchhoden, die bildgebenden Verfahren wie Kernspintomographie oder Computertomographie eindeutig überlegen ist und zusätzlich therapeutische Optionen bietet (Fahlenkamp, 1992). Im Falle eines atrophen Hodens kann direkt eine laparoskopische Orchiektomie durchgeführt werden. Bei hohem Entartungsrisiko kann diese auch indiziert sein, wenn bei normal entwickeltem Bauchhoden die anatomischen Verhältnisse (zu kurzer Ductus deferens) eine Verlagerung des Organs unmöglich machen.

Kryptorchismus tritt im Alter von 1 Jahr mit einer Inzidenz von 0,8 % auf, wobei ca. 20 % der maldeszendierten Hoden nicht tastbar sind. Eine Agenesie liegt in 20-50 % aller nicht tastbarer Hoden vor (Elder, 1989; Schäfer u. Brühl 1989; Janetschek 1994).

Die Lokalisationsdiagnostik mit bildgebenden Systemen bei Kindern ist als invasiv (CT) anzusehen und bei Kleinkindern oftmals nur unter Narkosebedingungen durchführbar. Allein zu diagnostischen Zwecken müssen über 10 % aller Kinder laparotomiert werden (Schäfer, 1989, Fahlenkamp 1992, Plotzker, 1992). Für die laparoskopische Diagnostik und Therapie des Kryptorchismus wird allgemein eine Sensitivitätsrate zwischen 89 und 98 % angegeben (Lowe, 1983, Green, 1985, Peloquin 1991, Fahlenkamp, 1992, Janetschek, 1994). In allen Fällen sind die Resultate den der bildgebenden Systeme in der Diagnostik deutlich überlegen, ohne den simultanen therapeutischen Effekt mit zu berücksichtigen (Tabelle 6).

	Laparoskopie	Bildgebende Verfahren
Cortesi (1976)	80 %	48 % (Phlebogr.)
Lowe (1984)	96 %	k. A.
Green (1985)	k. A.	56 % (CT)
Malone (1985)	94 %	37 % (Sono)
Das (1991)	95 %	50 %
Senoh (1991)	95 %	k. A.
Peloquin (1991)	95 %	64 % (NMR)
Fahlenkamp (1992)	98 %	k. A.
Janetschek (1994)	97 %	38-87 % (Lit.-Übersicht Sono + NMR + CT)

Tabelle 6: Kryptorchismus-Diagnostische Sensitivität verschiedener Verfahren

Die Erfolgsrate der Laparoskopie beim Kryptorchismus liegt bei 98,5 % (Janetschek, 1994; Tabelle 7).

Tansperitoneale laparoskopische Varicocelektomie

Die transperitoneale laparoskopische Ligatur der Venae spermaticae beim Varicocelenrezidiv ist einer der technisch einfachsten Eingriffe (Donovan und Winfield, 1992, Fahlenkamp, 1992, Hagood, 1992, Potempa, 1993).

Indikationen sind eine im Spermiogramm nachgewiesene Oligoasthenoteratozoospermie sowie lokale Beschwerden. Generell wird ein laparoskopisches Verfahren erst bei Versagen antegrader oder retrograder Sklerosierungsverfahren (Varicocelenrezidiv) propagiert.

Ergebnisse

Die Operationszeit beträgt im Mittel 35 Minuten (20-30), gerechnet vom Einführen der Verresnadel bis zur Hautnaht. Die Erfolgsrate liegt im Schnitt über 95 % (Donovan und Winfield 1992, Fahlenkamp 1992, Hagood 1992, Potempa 1993). Die Patienten verlassen in aller Regel am 1. oder spätestens am 2. postoperativen Tag beschwerdefrei die Klinik.

Stellenwert

Bei der transperitonealen laparoskopischen Varicocelenligatur liegen erste längerfristige Erfahrungen vor, die auf die hohe Effektivität des Verfahrens deuten (Fahlenkamp 1992).

Bei hoher Effektivität und geringer Invasivität der retrograden oder antegraden angiographischen Sklerotherapieverfahren bleibt die Bedeutung der transabdominellen laparoskopischen Varicocelenligatur als Primärschritt niedrig.

Der klinische Stellenwert der laparoskopischen Variocelenligatur muß im Hinblick auf Effektivität, Nebenwirkungsrate und Invasivität an den alternativen Therapieverfahren gemessen werden. Im Vergleich zu den Sklerosierungstechniken liegen die Vorteile des laparoskopischen Vorgehens in der Vermeidung der Strahlenbelastung und in der simultanen Therapierbarkeit von Kollateralvenen. Der endgültige klinische Stellenwert der laparoskopischen OP-Technik für die Therapie der einseitigen primären Varicocele ist derzeit noch nicht abschätzbar. Bilaterale Varicocelen und Varicocelenrezidive sollten jedoch aufgrund der hohen Effizienz und der fehlenden Notwendigkeit der Strahlenexposition laparoskopisch operiert werden (Beer und Staehler in: Jahrbuch der Urologie 1993).

Laparoskopische Lymphocelenfensterung

Persistierende Lymphocelen nach pelvinen Lymphadenektomien oder nach allogener Nierentransplantation können optimal laparoskopisch gefenstert werden. Insbesondere bei der Lymphocele nach Nierentransplantation stellt die laparoskopische Technik aufgrund des deutlich geringeren Infektionsrisikos, z. B. einer perkutanen Verödung oder der Harnleiterverletzungsgefahr, beim operativen Vorgehen eine valide Alternative dar (Tabelle 8).

Laparoskopische Blasenhalssuspensionsplastik

Schüssler und Vancaille haben eine laparoskopische Modifikation der Harnröhrensuspensionsplastik nach Marshall-Marchetti-Kranz zur Therapie der weiblichen Streßinkontinenz vorgestellt (Schüssler und Vancaille, 1991, Albala, 1992). Hierbei werden Blasenhals und Harnröhre laparoskopisch dargestellt und die entsprechenden Suspensionsnähte endoskopisch/laparoskopisch gesetzt. Problematisch erscheint dabei, bei bestehendem Pneumoperitoneum mit entsprechender Druckerhöhung auf den Blasenhals und Anhebung der Bauchdecken die exakte Spannung der Suspensionsfäden bzw. -knoten einzuschätzen.

Im Vergleich zu anderen – ebenfalls minimal-invasiven Verfahren, z. B. nach Stamey – ergeben sich

Autor	Patienten	Hoden	Erfolgsrate
Doig (1989)	77	87	100 %
Guiney (1989)	86	103	100 %
Naslund (1989)	21	21	95 %
Bloom (1991)	76	87	100 %
Diamond (1992)	107	109	97 %
Heiss (1992)	53	53	100 %
Plotzker (1992)	52	57	100 %
Rappe (1992)	47	50	98 %
Wilson-Storey (1992)	60	70	92 %
Fahlenkamp (1993)	56	65	98 %
Gesamt	635	702	98,5 %
Agenesie bzw. Rudiment:	5,5 %		
Bauchhoden:	51,0 %		
Vanishing Testis:	42,0 %		

Tabelle 7: Laparoskopie beim Kryptorchismus (N = 702)

LAD	nach N-TPL (n = 6)	nach pelv. (n = 3)
Analgetikaverbrauch	–	–
Hospitalisierungszeit (Tage)	2	2,7
Rekonvaleszenz (Tage)	7	5
OP-Zeit (min.)	45	37
Komplikationen	1 (substitutionsbedürftige Nachblutung)	–
Konversionsrate	–	–

Tabelle 8: Laparoskopische Lymphocelenfensterung (N = 9)

keine eindeutigen Vorteile für ein laparoskopisches

Vorgehen. Langzeitergebnisse liegen nicht vor.

Laparoskopische Nierenzystenresektion

Coptcoat und Wickham haben 1992 die ersten Ergebnisse über die laparoskopische Resektion und Marsupialisation von größeren Nierenzysten als Alternative zum offenen Eingriff nach Versagen der perkutanen Nierenzystenverödung beschrieben. Bei geringerer Morbidität und hoher Effektivität der perkutanen Sklerosierungsverfahren scheint die laparoskopische Nierenzystenresektion mir nicht als Routineverfahren sinnvoll. Vorteile eines laparoskopischen Vorgehens liegen in der besseren Übersicht, dem fehlenden Risiko eines retroperitonealen Spülflüssigkeitsextravasat (Einschwemmung) und der Möglichkeit einer ausgedehnten Resektion der Zystenwand.

Laparoskopische Nephrektomie

Indikationen zur transperitonealen laparoskopischen Nephrektomie (Clayman 1991 und 1992) sind Schrumpfnieren bei chronischer Pyonephritis oder Refluxnephropathie (mit Ureterektomie), renaler Hypertonus auf dem Boden einer malignen Nephrosklerose, einer Nierenarterienembolie bzw. einer kompletten Nierenarterienstenose oder einer renalen Dysplasie sowie bei chronischer Hydronephrose bei funktionsloser Niere. (Tabelle 9) Clayman publizierte 1991 erstmals die Technik der transperitonealen laparoskopischen Nephrektomie. Zwischenzeitlich wird von einigen Operateuren ein streng retroperitonealer Zugang zur Niere technisch optimiert.

- Schrumpfnieren
  (Chronische Pyelonephritis)
  (Refluxnephropathie mit Ureterektomie)
- Renale Hypertonie
  (mamligne Nephrosklerose)
  (Nierenarterienembolie, komplette Stenose)
  (Nierendysplasie)
- Chronische Hydronephrose
  (Wassersackniere)

Tabelle 9: Laparoskopische Nephrektomie-Indikationen

Ergebnisse:

Über die transperitoneale laparoskopische Nephrektomie liegen noch keine Langzeitergebnisse vor. Übereinstimmend geben alle Autoren (Tabelle 10)

Ergebnisse (N > = 300)	
OP-Zeit (min.)	115 (75-260)
Umstieg auf offene OP	10-20 %
Komplikationen	10 %
Clayman, 1991 u. 1992, Coptcoat, 1992, Schüssler, 1992, Beer, 1993, Rassweiler, 1993	

Tabelle 10: Laparoskopische Nephrektomie

bei transperitonealem Vorgehen Operationszeiten zwischen 1 Std. 15 Min. und 4 Stunden an. Ein Umsteigen auf die offen-operative Technik infolge von Blutungskomplikationen oder technischer Schwierigkeiten wird mit ca. 10-20 % angegeben. Eine korrekte Angabe der Komplikationsrate ist angesichts der unterschiedlichen Erfahrungen und der geringen Fallzahlen der einzelnen Zentren nicht definitiv möglich. Bei synoptischer Beurteilung aller bisher publizierten Daten dürfte sie bei ca. 10 % liegen. Neben Blutungskomplikationen werden Darmverletzungen, protrahierte postoperative Darmatonie sowie eine Sepsis nach Entfernung einer Pyonephrose angegeben. Übereinstimmend bestätigen alle Autoren die laparoskopietypischen Vorteile für den Patienten, wie minimaler Schmerzmittelbedarf, Verkürzung der Liegezeit sowie der Rekonvaleszenz und optimales kosmetisches Ergebnis. Als wesentlicher Nachteil wird neben den sehr langen Operationszeiten vor allem der Einsatz kostenaufwendiger Einmalinstrumente angeführt (Beer, 1993, Rassweiler, 1993 und 1994). (Tabelle 11)

Laparoskopische Adrenalektomie

Higashihara berichtete 1992 über erste Erfahrungen mit der transperitonealen laparoskopischen

	Laparoskopisch	konventionell
OP-Kosten	2.700	1.500
(Einmalmaterial)	(2.000)	(150)
Gesamte Behandlungskosten	5.300	7.300
Einnahmen der Klinik (Liegezeit x Pflegesatz)	4.200	8.400
Differenz	+ 1.100	+ 1.100
Berechnungsbasis:	Liegedauer	6 Tage / 12 Tage
	Rekonvaleszenz	12 Tage / 25 Tage
	Pflegesatz	600 DM
	Bruttolohnkosten	250 DM

Tabelle 11: Laparoskopie-Kostenvergleich Nephrektomie

Entfernung von Nebennieren. In mehreren Zentren liegen erste Erfahrungen an kleinen Patientengruppen vor (Beer, 1993). Die Operationszeit liegt zwischen 1,75 und 4,25 Stunden. Im Schnitt waren die Patienten zwischen dem 2. und 4. postoperativen Tag entlassungsfähig.

Fazit: Der laparoskopische Zugang erweitert die Palette der operativen Zugangswege im Rahmen der Nebennierenchirurgie, insbesondere bei Adenomen. Eine definitive Abschätzung der Wertigkeit ist zur Zeit nicht möglich.

Definitive und potentielle Auswirkungen der Laparoskopie auf den Patienten

Im allgemeinen werden im Zusammenhang mit der Laparoskopie positive und negative Auswirkungen auf den Patienten genannt:

Positiv:

Reduktion

- des operativen Traumas
- Analgetikaabusus, Streß, Infektionsrisiko, Darmatonie, Adhäsionen
- der Belastungszeit durch Anästhesie (manchmal)

kürzere Liegezeit

kürzere Rekonvaleszenzzeit (schnellere Wiederaufnahme der Arbeitstätigkeit)

potentieller Übergang in den ambulanten Bereich (ambulantes Operieren)

Negativ:

höheres Operationsrisiko (Tabelle 12)

individuell unterschiedliche Lernkurve (und Fähigkeiten) des Operateurs

längere Operationsdauer

derzeit keine Langzeitergebnisse

„Unphysiologische Applikation eines physiologischen Gases"

- Veränderte Atemmechanik
- Hyperkapnie
- Reduktion des Herzzeitvolumens
- Hypothermie

Tabelle 12: Laparoskopie in der Urologie-Anästhesiologische Besonderheiten

Auswirkungen und potentielle Wirkungen auf das klinische Personal

Durch die Laparoskopie wird der Trend zu immer kürzeren Innovationszyklen deutlich spürbar. Sie verlangt eine zunehmende Flexibilität der Ärzte, des Pflegepersonals und der Krankenhausverwaltung. Der Umgang mit hochkomplizierten technischen Geräten wird immer mehr zum Alltag des klinischen Personals gehören. Durch die Laparoskopie sowie die minimal-invasiven Techniken generell wird zusätzliches technisches Wissen an den Kliniken erforderlich.

Auf verwaltungstechnischer Ebene kann es durch Einführung minimal-invasiver Techniken zu einem höheren Pflege- und Verwaltungsaufwand kommen. In dieser Phase wird bei konstanter Bettenzahl und kürzerer Verweildauer des Patienten ein höherer Patientendurchfluß erfolgen. Erst in einer zweiten Phase nimmt dieser Aufwand wieder ab, z. B. wenn der Patientendurchfluß wieder auf das ursprüngliche Niveau zurückgeht. Unter Voraussetzung konstanter Patientenzahlen und sinkender Bettenzahlen ist erst dann von einem geringeren Pflegeaufwand bei etwa gleichem Verwaltungsaufwand auszugehen. Dies erfordert eine zunehmende Flexibilität im Pflege- und Verwaltungsbereich.

Auswirkungen auf das Gesundheitswesen

Das gegenwärtige Abrechnungssystem wird den minimal-invasiven Techniken nicht gerecht. Tagessätze bieten keine Anreize zur Einführung von initial teuren Techniken, welche die Verweildauer im Krankenhaus verkürzen. In der Regel sind die Kosten während der ersten Tage in der Klinik viel höher als die Tagessätze, so daß üblicherweise der Patient über eine gewisse Subventionsverweildauer im Krankenhaus bleiben muß, um die Kosten zu decken (Tabelle 13).

Als Alternativen zu den voll pauschalierten Tagessätzen bieten sich:

- verfahrensbezogene Sonderentgelte
- diagnosebezogene Fallkostenpauschalen
- direkte Kostenzuordnung zum Patienten

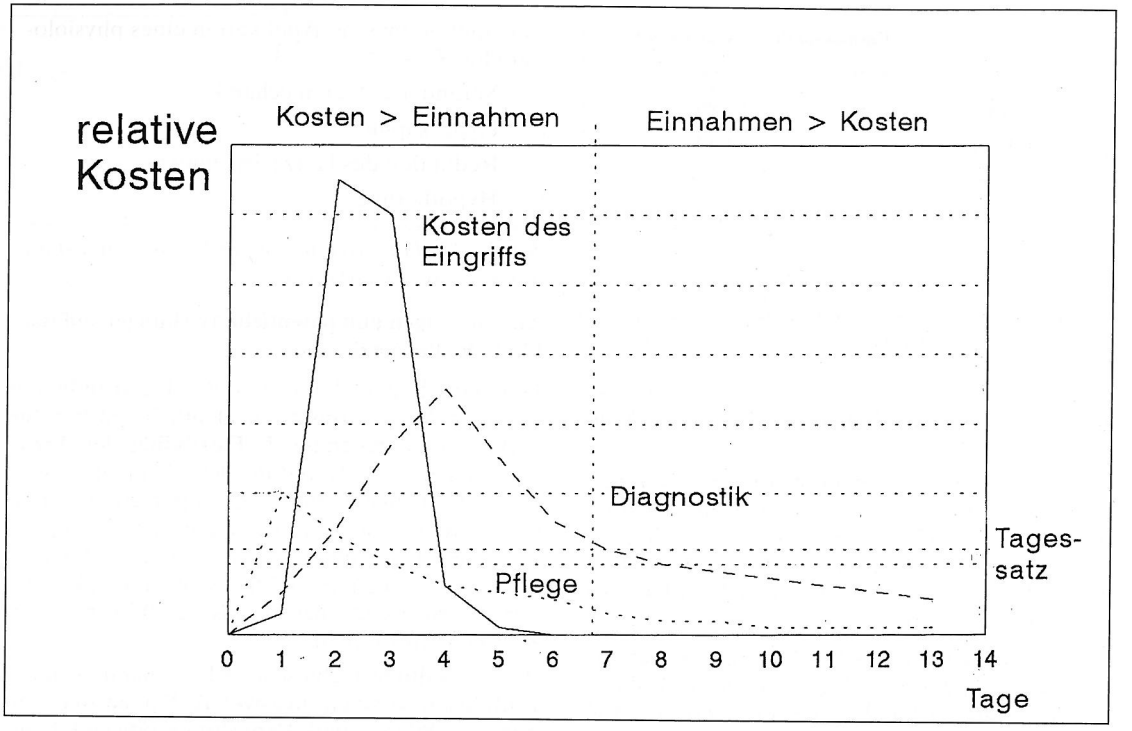


Tabelle 13: Qualitativer Kostenverlauf eines Krankenhausaufenthaltes

– Abteilungspflegesätze

Einige Kliniken berechnen verschiedene Tagessätze auf verschiedenen Stationen, auf denen vorwiegend Patieten mit ähnlichen Krankheitsbildern behandelt werden. Eine solche Kostenstruktur ist z. B. für eine Intensivstation durchaus denkbar.

Volkswirtschaftliche Bedeutung

Um das volkswirtschaftliche Kostensenkungspotential der Laparoskopie zu beleuchten, sind in der Tabelle 14 „laparoskopische Fallzahlen und Liegezeiten bei den häufigsten Eingriffen der Allgemeinchirurgie" die Verkürzung der Liegezeiten und die Fallzahlen der in den nächsten Jahren häufigsten laparoskopischen Operationen in der Chirurgie zusammengefaßt.

Verfahren	Fallzahl/Jahr* konv. Operation	Liegezeit (Tage) laparosk. Operation	
Cholecystektomie	76.000	12	4
Hernienoperation	125.000	6	3
Appendektomie	90.000	6	3
Colonchirurgie	60.000	20	8

* alte Bundesländer

Tabelle 14: Fallzahlen und Liegezeiten bei den häufigsten laparoskopischen Eingriffen der Allgemeinchirurgie

Diese vier Eingriffe stellen knapp 70 % der jährlich ca. 520.000 allgemein chirurgischen Eingriffe in der alten Bundesrepublik dar. Es ergibt sich bei einem Übergang zu ca. 50 % laparoskopischen Eingriffen in den nächsten Jahren ein Sparpotential von ca. 1 Mio. Tagen oder ca. 3.000 Betten.

Andererseits könnte es – durch die Einfachheit und minimale Invasivität der Behandlungsmethode und im Hinblick auf die Auslastung vorhandener Geräte – zu einem Anstieg der behandelten Patienten, die schon bei geringerer Symptomatik oder gar prophylaktisch behandelt werden, führen.

Als Ergebnis einer Prognos-Studie, die kürzlich im Auftrag des BMFT durchgeführt wurde, kann Kostenreduzierung im Gesundheitswesen aufgrund kürzerer Liegezeiten nur durch eine konsequente Reduzierung der Bettenzahl erreicht werden. Daß dies nicht zwangsläufig immer der Fall und gerade in öffentlichen Häusern nicht erreichbar ist, bestätigt folgendes Beispiel: Von 1970 bis 1988 ist die durchschnittliche Verweildauer in Krankenhäusern der BRD (alte Bundesländer) von 24,9 auf 16,6 Tage zurückgegangen. Parallel hierzu redu-

zierte sich die Zahl der Betten von ca. 680.000 auf ca. 670.000 (entspricht 1,5 % Bettenreduzierung). Dafür erhöhte sich die Zahl der stationär behandelten Kranken von 9,3 Mio. auf 13,2 Mio. Im gleichen Zeitraum wurde in den USA bei ähnlicher Verkürzung der Liegezeiten eine Reduzierung um ca. 22 % erreicht.

Forensische Aspekte

Durch die Einführung der laparoskopischen Operationstechniken in der Urologie werden neuartige haftungsrechtliche und aufklärungstechnische Fragestellungen aufgeworfen.

Der Arzt (Steffen, 1992, Weißauer, 1993) muß grundsätzlich das therapeutische Verfahren, das bei gleicher Wirksamkeit risikoärmer erscheint, wählen. Festhalten darf er jedoch an einer Methode, die nach allgemeiner Auffassung einer anderen unterlegen ist, wenn er aus persönlicher Überzeugung diese bevorzugt (Prinzip der Methodenfreiheit). Er muß den Patienten darüber sorgfältig informieren.

Strafrechtlich trifft den Arzt bei Induktion von Gesundheitsschäden der Vorwurf des Übernahmeverschuldens, wenn er eine Operationstechnik wählt, die er nicht ausreichend beherrscht.

Das laparoskopische Operieren darf nur von demjenigen Arzt übernommen werden, der die klassische Methode voll beherrscht. Grundsätzlich muß die Aufklärung vor einem Eingriff auch eine Information über eine evtl. vorhandene alternative neue Methode einschließen. Diese Aufklärungspflicht obliegt dem Arzt auch im Rahmen der Aufklärung, wenn er aus derselben Überzeugung diese Methode prinzipiell ablehnt oder weder über technische oder persönliche Erfahrung verfügt (Beer und Staehler in: Jahrbuch der Urologie 1993).

Laparoskopie in der Urologie – Zukunftsperspektiven

Zur Zeit ist ein langfristiger Forschungs- und Entwicklungsbedarf festzustellen, wenn auch einige wenige Indikationen zunehmende allgemeine Akzeptanz finden (Kryptorchismus, Varicocelenrezidiv und Lymphocelenfensterung). Durch die Breitenwirkung versprechen grundsätzlich laparoskopische Verfahren ein erhebliches Nutzenpotential.

Zusammenfassend kann die Situation der Laparoskopie in der Urologie wie folgt charakterisiert werden:

- Der Diffusionsgrad laparoskopischer Verfahren in deutschen Krankenhäusern ist geringer als die Ausgereiftheit der Verfahren. In internationalen Vergleichen ist ein deutlicher Rückstand gegenüber den USA festzustellen. (Tabelle 15)

	D	USA
Cholecystektomie	< 20 % (y 10 %)*	ca. 75 %
Appendektomie	< 1 %	ca. 12 %
Hernienoperationen	< 0,1 %	ca. 5 %
* neue Bundesländer		

Tabelle 15: Anteil laparoskopischer Operationen zur Zeit

- Forschung und Entwicklung auf technischer Ebene inkl. der klinischen Innovationsstärke sind als exzellent zu bezeichnen. Rückstand besteht jedoch bei der klinischen und proklinischen Evaluierung. (Tabellen 16 u. 17)

  Bei der Diskussion eines möglichen berufspolitischen Handlungsbedarfes sollten folgende potentielle Ziele mit berücksichtigt werden:

- Generelle Tendenz von immer mehr Patienten, in den Genuß der für sie besten, minimal-invasiven Therapie zu kommen (gesundheitspolitisches Ziel). Dies setzt voraus, daß ein weitgehender Konsens bezüglich der besten Verfahren für eine Indikation besteht.
- Zunehmende Tendenz, indirekte Kosten (z. B. volkswirtschaftliche Kosten), die durch notwendige medizinische Eingriffe entstehen, bei Equi-Effektivität alternativer Therapieverfahren möglichst gering zu halten.

	Häufigkeit	Reife	Verbreitung	Weiterentw.-potential	Patienten-vorteil	zukünft. Patienten vorteil
Lap. Cholecystektomie	15/10.000	4	3	2	4	4
Lap. Appendektomie	12/10.000	3	2	2	3	3
Lap. Hernie	< 15/10.000	2	1	4	2	4
Skala: 1 (min.) - 5 (max.)						

Tabelle 16: Laparoskopie in der Chirurgie – Zukunftsperspektiven

	Häufigkeit	Reife	Verbreitung	Weiterentw.-potential	Patienten-vorteil	zukünft. Patienten vorteil
Endo. Standardverfahren	5/10.000	5	5	2	4	4
EWSL Niere	15/10.000	5	5	1	4	4
Perkutane Steintherapie	0,5/10.000	4	5	1	2	3
Transurethrale Steintherapie	2/10.000	4	4	3	3	4
Transur. Laser	0,5/10.000	3	2	3	3	3
PDT Blase	< 0,5/10.000	1	1	4	2	4
Laparoskopie	< 0,5/10.000	3	1	3	3	4
Skala: 1 (min.) - 5 (max.)						

Tabelle 17: Laparoskopie in der Urologie – Zukunftsperspektiven

Aus der Klinik für Chirurgie (Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Bruch) der Medizinischen Universität zu Lübeck[1] und dem Institutsbereich Immunologie und Zell-Biologie des Forschungsinstitutes Borstel (Direktor Prof. Dr. med. H.-D. Flad)[3]

Molekularbiologische Charakterisierung des Proliferations-assoziierten Ki-67 Proteins

M. Duchrow[1], C. Schlüter[2] und J. Gerdes[3]

Einleitung

Für die Tumorforschung ist die Untersuchung der Proliferation (Teilung) somatischer Zellen von elementarem Interesse. Zum einen liegt in der unkontrollierten Zellteilung einer der Schlüssel für die Tumorentstehung, zum anderen wird in der Routinediagnostik die quantitative Erfassung der Zellproliferation benötigt, um das biologische Verhalten von Neoplasien zu prognostizieren. Für die Funktion vielzelliger Organismen ist daher die Kontrolle bzw. Unterdrückung des Teilungspotentials der Zellen von entscheidender Bedeutung.

Die Aggressivität eines Tumors korreliert oft mit der Zellteilungsrate der entarteten Zellen. In der „klassischen" histopathologischen Tumordiagnose werden die Zellteilungsraten anhand der sich in Mitose befindlichen Zellen bestimmt. Da diese Bestimmung jedoch sehr zeitaufwendig ist, wurde nach einfach einzusetzenden „Proliferationsmarkern" gesucht. Einen solchen Marker stellt der monoklonale Antikörper (mAK) Ki-67 dar. Antikörper werden heute routinemäßig für verschiedenste spezifische Gewebeanfärbungen eingesetzt. Ki-67 wurde ursprünglich während der Herstellung von spezifischen Markern für Hodgin- und Reed-Sternberg-Zellen isoliert (Gerdes et al. 1983) und reagiert mit einem Antigen, das nur in den Kernen proliferierender Zellen (G_1-, S-, G_2-Phase und Mitose) exprimiert wird. In ruhenden Zellen (G_0-Phase) wird das Antigen nicht exprimiert (Abb. 1; Gerdes et al. 1984, Schrape, Jones & Wright 1987, Braun, Papadopoulos & Müller-Hermelink 1988, Tazzari et al. 1990, Bruno & Darzynkiewicz 1992).

Am Beispiel von peripheren Lymphozyten, die mit dem Lektin Phytohaemagglutinin A (PHA) stimuliert wurden, konnte gezeigt werden, daß die Expression des Ki-67 Antigens 24 bis 36 h nach der Aktivierung der Zellen mit PHA nachweisbar ist. Weiterhin konnte in einem experimentellen „Tumor-Xenograft-Modell" gezeigt werden, daß der Index, der mit monoklonalen Antikörpern gegen das Ki-67 Antigen bestimmt wurde, exakt mit der Wachstumsfraktion korreliert (McCormick et al. 1993). In der histopathologischen Routinediagno-

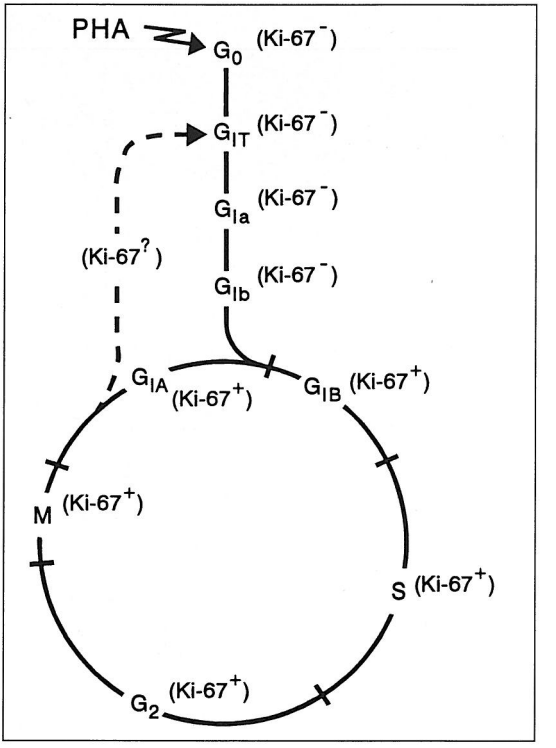


Abb. 1.: Schematische Darstellung des Zellzyklus. Das Ki-67 Protein (Antigen, an das der monoklonale Antikörper Ki-67 bindet) ist in allen aktiven Phasen des Zellzyklus (G_1-, S-, G_2-Phase und Mitose) nachweisbar, nicht jedoch in ruhenden Zellen (G_0-Phase). Periphere Blutlymphozyten können z.B. mit dem Lektin Phytohaemagglutinin A (PHA) zur Teilung angeregt werden.

[2] Momentane Adresse: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Schittenhelmstr. 7, 24105 Kiel

stik ist es daher möglich, mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen das Ki-67 Antigen sowie mit immunzytochemischen Methoden schnell und reproduzierbar die Wachstumsfraktion einer humanen Zell-Population zu bestimmen (Abb. 2; Brown & Gatter 1990, Gerdes 1990).

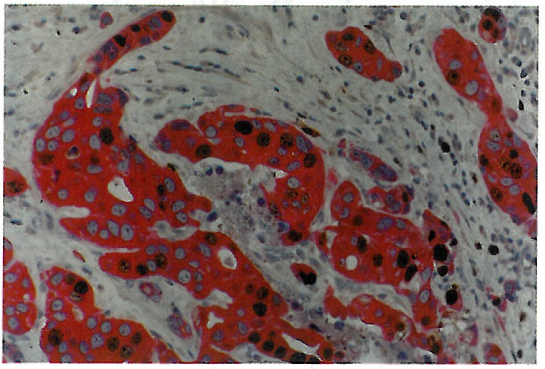


Abb. 2.: Doppelt-Immunfärbung einer Paraffinsektion (Brustkarzinom) mit Ki-67 äquivalentem polyklonalen Serum (braun) und KL1 (rot). Beispiel eines mit „Ki-67 äquivalenten polyklonalen Serum" (braun; Key et al., 1993b) und gegen Zytokeratin gerichteten monoklonalen Antikörper KL1 (rot) gefärbten Gewebeschnitts eines Brustkarzinoms. Die Kerne der proliferierenden Tumorzellen wurden mit dem Ki-67 äquivalenten polyklonalen Serum und dem auf Peroxidase basierenden Duett-System (Dako) braun gefärbt, während das tumorspezifische Antigen (Zytokeratin) mit KL1 und der „APAAP-Technik" (Alkalische-Phosphatase-Anti-Alkalische-Phosphatase-Technik) rot gefärbt wurde. Das Verhältnis der doppelt-positiven (proliferierenden) Tumorzellen zu den mit KL-1 spezifisch angefärbten Tumorzellen ergeben den Proliferationsindex.

Zahlreiche retrospektive Studien zeigten, daß die Determinierung der Wachstumsfraktion mit Ki-67 tatsächlich ein unabhängiger prognostischer Marker ist (Gerdes et al. 1987, Grogan et al. 1988, Hall et al. 1988, Bouzubar et al. 1989, Holte et al 1989, Nicholson et al. 1991, Tungekar et al. 1991, Wintzer et al. 1991, Fontana et al. 1992, Locker et al. 1992). In allen Tumorklassen, die bis jetzt untersucht wurden, besteht eine hochsignifikante Korrelation zwischen den Mittelwerten des Ki-67 Index und der histopathologischen Malignitätseinschätzung, wobei jedoch die individuellen Werte innerhalb der histopathologisch definierten Tumorstadien stark variieren. Aus diesem Grund sollte die Bestimmung der Tumor-Wachstumsfraktion mit Ki-67 eine objektive Hilfe zur Beurteilung eines Tumorfalls und von besonderer Bedeutung für die Auswahl einer individuellen Tumortherapie sein.

Obwohl der monoklonale Antikörper Ki-67 bereits 1983 isoliert wurde und seine Bedeutung in der histopathologischen Tumor-Einordnung bekannt war, konnte man ein Jahrzehnt lang nur sehr wenig über das Ki-67 Antigen („Ki-67 Protein") in Erfahrung bringen. Das Ki-67 Protein konnte bis heute weder angereichert noch biochemisch genau charakterisiert werden. Es wird allgemein als Nicht-Histon Kern-Protein beschrieben, das durch Proteasen sehr schnell abgebaut wird (Gerdes et al. 1983; Gerdes, 1990).

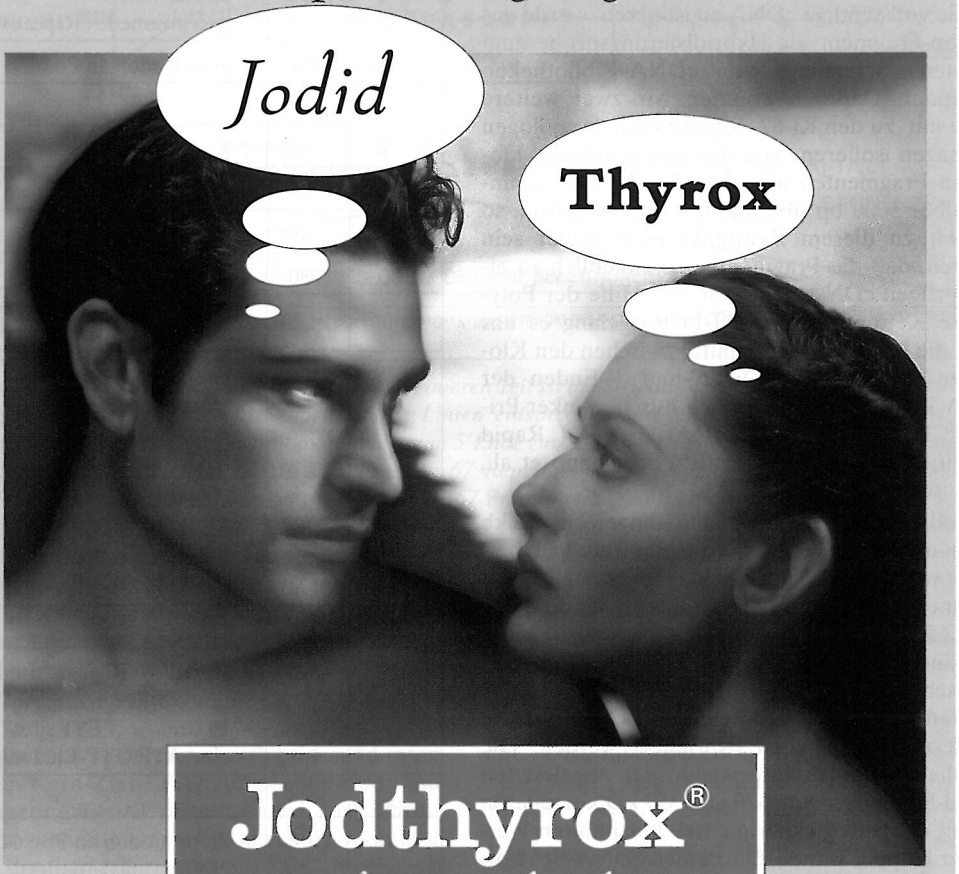
Immun-Klonierung und Immun-Blot des Ki-67 Proteins

Um mehr über das Ki-67 Protein in Erfahrung zu bringen, entschlossen wir uns, das Gen des Ki-67 Proteins zunächst zu klonieren und zu sequenzieren. Wir begannen die Klonierung des Ki-67 Protein-Gens, indem wir eine Lambda gt11 Expressions-Bibliothek aus cDNA der Zellinie IM9 ausplattierten und mit dem mAK Ki-67 färbten („Immunoscreening"). Von insgesamt 2 x 10^6 Plaques konnten schließlich 10 unabhängige positive Klone isoliert werden. Eine Sequenz-Analyse zeigte, daß acht der Klone identisch waren. Wir stellten fest, daß die Insertionen aller Klone repetitive Elemente von ca. 366 bp Länge enthielten, die wir „Ki-67 Repetitionen" nannten. Wiederum jede dieser Repetitionen enthält ein hochkonserviertes 66 bp langes „Ki-67 Motiv". Die resultierenden drei cDNA-Sequenzen zeigten keine signifikanten Homologien zu den in den Gen-Datenbanken „EMBL" und „GenBank" gespeicherten Sequenzen.

Nach der Umklonierung eines 1092 bp großen Fragments in geeignete Expressions-Vektoren konnte, wie es zu erwarten war, anhand von „Immun-Blots" demonstriert werden, daß die im richtigen Leseraster klonierten und in E. coli exprimierten Fragmente mit dem mAK Ki-67 reagierten. Weiterhin ergaben Northern Blot Analysen, daß das 1092 bp Fragment mit großen mRNA-Molekülen aus proliferierenden Zellen hybridisierte, nicht jedoch mit mRNA-Molekülen aus G_0-Phase Zellen (Gerdes et al. 1991). Mit Hilfe des gleichen cDNA-Fragments als Hybridisierungsprobe konnte das Gen schließlich auf dem langen Arm des Chromosoms 10 lokalisiert werden (l0q25-ter; Fonatsch et al. 1991).

Etwa zur gleichen Zeit gelang es unserer Mitarbeiterin Li Li erstmals, das native Ki-67 Protein über eine schnelle Protein-Präparationsmethode im Immun-Blot von Lysaten proliferierender Zellen als Doppel-Bande mit apparenten Molekulargewichten von 345 kD und 395 kD darzustellen (Gerdes et al. 1991). Diese Molekulargewichte korrelierten

Strumatherapie: Einzigartig in ihrer Art.



Jodthyrox®
Eine feste Verbindung.

Schnelle Strumarückbildung · Geringe Rezidivrate · Vereinfachte Therapie

Jodthyrox®. Zusammensetzung: Eine Tablette Jodthyrox enthält 100 µg Levothyroxin-Natrium und 130,8 µg Kaliumjodid, entsprechend 100 µg Jod. Andere Bestandteile: Carmellose-Natrium, Siliciumdioxid, Magnesiumdearat, Cellulose, Mannit. **Anwendungsgebiete:** Behandlung der Jodmangelstruma, Ergänzung des Jodbedarfs, insbesondere bei euthyreoter Struma des Jugendlichen, euthyreoter Struma diffusa des Erwachsenen, in der Schwangerschaft sowie zur Rezidivprophylaxe nach Operation einer Jodmangelstruma. **Gegenanzeigen:** Hyperthyreose jeglicher Genese, autonome Areale bzw. fokale Autonomien, echte Jodallergie, Dermatitis herpetiformis Duhring. **Nebenwirkungen:** Bei Jodüberempfindlichkeit Fieber, Hautausschlag, Rötung, Jucken und Brennen der Augen, Reizhusten, Durchfall, Kopfschmerzen (Tabletteneinnahme beenden). Gelegentlich: Zu Beginn der Therapie Tachykardie, Herz-Rhythmus-Störungen, Tremor, Unruhe, Schlaflosigkeit, Hyperhidrosis, Gewichtsabnahme, Durchfall (Tagesdosis reduzieren oder Medikation für mehrere Tage unterbrechen). Anwendung in Schwangerschaft und Stillzeit: Behandlung konsequent durchführen. Eine Gefahr für den Fötus ist bisher nicht bekannt geworden. Während der Laktation in die Muttermilch sezernierte Schilddrüsenhormone reichen zur Entwicklung einer Hyperthyreose oder Suppression der TSH-Sekretion beim Säugling nicht aus. Hinweise: Vor einer Schilddrüsenhormontherapie Koronarinsuffizienz behandeln, Jodthyrox-Therapie mit niedriger Dosierung einleiten und langsam steigern. Bei Koronarinsuffizienz, Herzinsuffizienz oder tachykarden Herz-Rhythmus-Störungen Hyperthyreosis factitia vermeiden (häufigere Kontrollen der Schilddrüsenhormonparameter). Bei Diabetes mellitus Blutzuckerspiegel in der Initialphase der Behandlung mit Jodthyrox regelmäßig kontrollieren. Bei Hypothyreose klären, ob gleichzeitig eine Nebennierenrindeninsuffizienz vorliegt. Diese müßte vor Einleitung einer Schilddrüsenhormon-Therapie behandelt werden. Autonomien der Schilddrüse durch eine gezielte Diagnostik vor Beginn der Therapie mit Jodthyrox ausschließen. **Wechselwirkungen:** Cholestyramin (Resorption von Levothyroxin gehemmt, Jodthyroxapplikation 4–5 Stunden vor Cholestyramingabe), Phenytoin, Salicylate, Furosemid (250 mg), Clofibrat (Verstärkung der Wirkung von Levothyroxin), intravenöse Gabe von Phenytoin (Konzentrationen der freien Schilddrüsenhormone erhöht, in Einzelfällen Entstehung von Herz-Rhythmus-Störungen begünstigt), Cumarinderivate (gerinnungshemmende Wirkung verstärkt), Antidiabetika (blutzuckersenkende Wirkung vermindert). **Handelsformen und Packungsgrößen:** Jodthyrox 50 Tabletten (N2) DM 14,95. 100 Tabletten (N3) DM 24,97. Klinikpackung. Jodthyrox ist verschreibungspflichtig. Angaben in der Packungsbeilage aufmerksam lesen. **Stand:** 9/1994.

E. Merck, 64271 Darmstadt. **MERCK**

gut mit der im Northern Blot zuvor ermittelten Größe der mRNA .

Die vollständige Klonierung und Sequenzierung

Um die vollständige cDNA zu isolieren, wurde das 1092-bp-Fragment als Hybridisierungsprobe zum erneuten „Screening" von cDNA-Bibliotheken verwendet. Dadurch konnten wir zwei weitere Klone mit zu den Ki-67 Repetitionen homologen Sequenzen isolieren. Von den insgesamt fünf klonierten Fragmenten mit einer Länge von zusammen über 5000 bp überlappten aber nur zwei, so daß wir zu diesem Zeitpunkt nicht sicher sein konnten, daß die Fragmente ausschließlich zu einer einzigen cDNA gehörten. Mit Hilfe der Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) gelang es uns dann, die fehlenden Abschnitte zwischen den Klonen zu amplifizieren. Die 5'-und 3'-Enden der cDNA konnten wir schließlich durch „Anker-Primer-PCR-Methoden", z.B. RACE-PCR („Rapid Amplification of cDNA Ends", Frohmann et al., 1988) isolieren.

Die vollständige cDNA hat eine Länge von 12,5 kb und ist in 15 Exons organisiert (siehe Tab. 1). Überraschenderweise konnten wir eine zweite cDNA mit einer Länge von 11,4 kb isolieren, die sich von der 12,5 kb cDNA durch die Abwesenheit eines vollständigen Exons von 1080 bp Länge (Exon 7) unterscheidet (Abb. 3). Mit Hilfe der RT-PCR konnten wir zeigen, daß beide mRNA-Formen in proliferierenden Zellen exprimiert werden. Die kalkulierten Molekulargewichte der abgeleiteten Peptid-Sequenzen von 329 und 359 kD korrelieren gut mit den zuvor experimentell bestimmten Werten der Doppel-Bande. Die beiden cDNA-Sequenzen sowie die abgeleiteten Peptid-Sequenzen zeigten allerdings keine signifikanten Homologien zu den in Datenbanken (EMBL, GenBank und Swiss-Prot) gespeicherten Sequenzen.

Sequenz-Analysen des Ki-67 Proteins

Die beiden Isoformen der abgeleiteten Ki-67 Peptid-Sequenzen haben kalkulierte Molekulargewichte von 358 761 D und 319 508 D mit errechneten isoelektrischen Punkten von PI=9,87 und PI=9,94. Das Protein sollte daher unter physiologischen Bedingungen stark positiv geladen sein; es enthält einen hohen Gehalt an zufällig verteilten Lysin-Aminosäuren (11,4 %). Der ebenfalls ungewöhnlich hohe Gehalt an zufällig verteilten Prolin-Aminosäuren (8,2 %) läßt vermuten, daß das Protein keine ausgeprägten alphahelikalen Domänen besitzt.

Das 13. Exon, das im Zentrum beider Isoformen liegt, enthält alle 16 aneinandergereihten Ki-67

Nr.	Größe [bp]	Eigenschaften und Homologien
1	107	– untranslatiert – zwei invertierte „Repeats" (24 bp)
2	181	– Start Codon an Pos. 89
3	79	
4	116	
5	67	
6	46	
7	1080	– alternativ gespleißt: ist in der kürzeren Form nicht vorhanden
8	176	– zwei „nuclear targeting sequences": Aminosäuresequenzen: KRRR und KRQR
9	313	
10	119	
11	172	
12	156	
13	6845	– 16 „Ki-67 Repeats" und Motive – Epitop(e) für den Ki-67 Antikörper – 10 strenge „PEST sites" – eine ATP/GTP-Bindungsstelle
14	444	
15	2614	– Stopp Codon an Pos. 64 – 2550 bp untranslatiert – drei Polyadenylierungs-Signale
Summe	**12515**	

Tab. 1: Die Exons der Ki-67 mRNA: Zusammenfassung der Eigenschaften und Homologien

Repetitionen, die zwischen 42 % und 62 % identische Aminosäuren mit der 122 Aminosäuren langen Konsensussequenz aufweisen (Abb. 1). Die 22 Aminosäuren der hochkonservierten Ki-67 Motive innerhalb dieser Repetitionen sind zu 71 % bis 100 % identisch. Die Repetitionen und Motive des Ki-67 Proteins, die ca. zwei Drittel der gesamten Ki-67 Protein-Sequenz bilden, wurden bislang bei keinem anderen Protein beschrieben, zumal keine signifikanten Homologien zu bekannten Sequenzen gefunden wurden. Obwohl es wahrscheinlich ist, daß die Repetitionen durch Tandem-Duplikationen entstanden sind, läßt sich dafür kein Beweis aus den Sequenzen selbst ableiten.

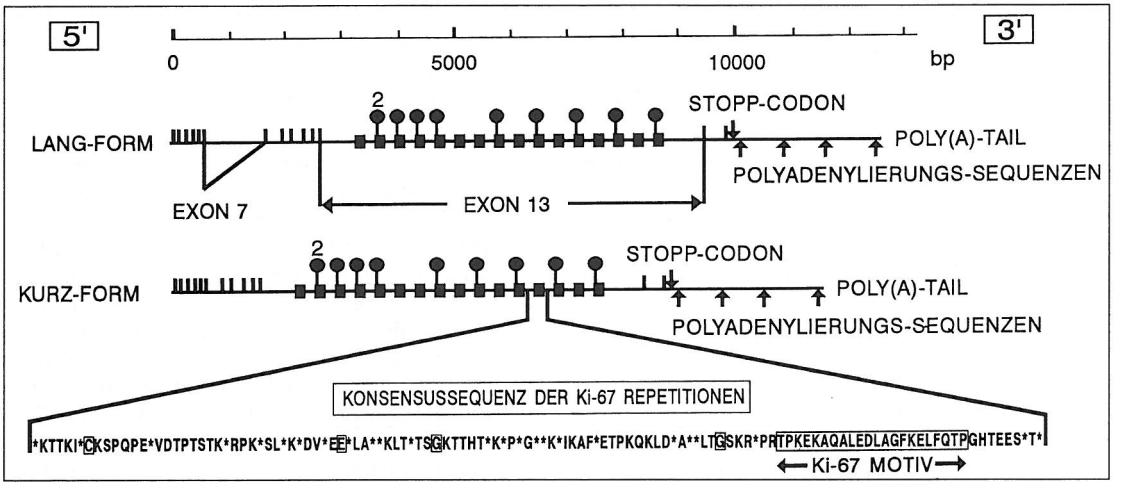


Abb. 3.: Aufbau und Struktur des Ki-67 Proteins. Im oberen Teil ist die Struktur der humanen Ki-67 Protein cDNA schematisch dargestellt. Die beiden horizontalen Linien entsprechen den mRNAs der beiden Ki-67 Proteine (Lang- und Kurz-Form) in Transkriptionsrichtung vom 5'Ende zum 3'Ende. Die Positionen der Introns sind durch vertikale Linien gekennzeichnet. Die 16 homologen Ki-67 Repetitionen des 13. Exons (6845 bp Länge) sind durch gefüllte Rechtecke angedeutet. Die Lang-Form der Ki-67 Protein mRNA enthält das Exon 7 (1080 bp), während der Kurz-Form Exon 7 fehlt. Die Positionen des Stopp-Codons und der vier potentiellen Polyadenylierungs-Sequenzen sind gekennzeichnet. Das erste Start-Codon (ATG, Translationsstart) befindet sich in Exon 2. Die Positionen von 10 „P-E-S-T Sequenzen" (Peptidsequenzen mit den Aminosäuren Prolin (P), Glutamin (E), Serin (S) und Threonin(T)) sind durch gefüllte Kreise gekennzeichnet. Die Aminosäure-Konsensussequenz der 16 Ki-67 Repetitionen wurde im unteren Teil der Abbildung wiedergegeben (int. Ein-Buchstaben-Kode). Sternchen deuten auf Aminosäure-Positionen mit weniger als 8 identischen Aminosäuren (Homologie-Grad < 50 %) hin, während besonders stark konservierte Aminosäuren in Kästchen eingerahmt sind.

Auf den beiden Isoformen des Peptids sind insgesamt zehn Kern-Ziel-Erkennungssequenzen („nuclear targeting sites") verteilt angeordnet, darunter acht sogenannte „bipartite nuclear targeting sites", die deutlich zeigen, daß das Ki-67 Protein aktiv in den Zell-Kern transportiert wird. Am C-terminalen Ende der Peptid-Sequenzen wurde eine potentielle ATP/GTP-Bindungsstelle des Motivs A („P-Loop") identifiziert (siehe Tab. 1), die auf eine mögliche Kinase-Aktivität des Ki-67 Proteins hinweist. Über 200 potentielle Phosphorylierungs-Stellen (143 Phosphokinase C-, 89 Caseinkinase II- und zwei Tyrosinkinase-Stellen), 19 N-Myristoylierungs- und drei Amidierungs-Stellen weisen auf eine vermutlich starke posttranslationale Modifizierung des Proteins hin. 10 starke und 40 schwache sog. P-E-S-T-Sequenzen (Peptidsequenzen mit den Aminosäuren Prolin (P), Glutamin (E), Serin (S) und Threonin(T)), die als potentielle Protease-Erkennungssequenzen dienen (Rogers et al., 1986; siehe Tab 1 und Abb. 1), könnten eine Erklärung für die relativ kurze biologische Halbwertszeit und Labilität des Ki-67 Proteins bieten. Die stark konservierte Cystein-Aminosäure an der Position 8 der Konsensussequenz (Abb. 1) könnte auf mögliche Disulfid-Brückenbildungen hindeuten, die aber wegen der reduzierenden Bedingungen im Zell-Kern als unwahrscheinlich gelten.

Das konservierte Ki-67 Motiv

Wie bereits erwähnt, codiert das zentrale Exon 13 für 16 aneinandergereihte Ki-67 Repetitionen von ca. 122 Aminosäuren Länge, die jeweils ein stark konserviertes, 22 Aminosäuren langes Ki-67 Motiv enthalten. Das Ki-67 Motiv ist offensichtlich stark immundominant, da es die Epitope des originalen mAK Ki-67 , verschiedener Ki-67 äquivalenter mAK (Key et al., 1992) sowie einer Reihe neuer mAK (MIB 1, MIB 2 und MIB 5; Key et al., 1993a; Becker et al., 1993; Key et al., 1993b) enthält, die durch Immunisierung mit dem rekombinant exprimierten 1092-bp-Fragment (s.o.) hergestellt wurden. Da das Ki-67 Antigen auch in anderen Spezies als homo sapiens mit Antikörpern gegen das Ki-67 Motiv nachgewiesen wurde (Falini et al, 1989), ist das Ki-67 Motiv wahrscheinlich eine wichtige Struktur zur Einleitung oder Aufrechterhaltung der Mitose in eukaryotischen Zellen.

Computer-Vorhersagen der dreidimensionalen Struktur des Ki-67 Motivs, die mit verschiedenen

Programmen durchgeführt wurden, ergaben immer eine Alphahelix (Schlüter et al., 1993). Die 16 Alphahelices der Ki-67 Motive haben eine typisch amphophile Struktur wie die Anordnung der geladenen und ungeladenen Aminosäuren zeigt:

TPKEKAQALEDLAGFKELFQTP (geladene Aminosäuren unterstrichen).

Man kann daher vermuten, daß das Ki-67 Protein über dieses Motiv mit anderen Makromolekülen oder Membranstrukturen in Wechselwirkung tritt.

Die absolute Notwendigkeit für den Zell-Zyklus

Die Abhängigkeit des Zell-Zyklus von der Expression des Ki-67 Proteins wurde von unserem Mitarbeiter Michael Kubbutat mit Hilfe der ^{3}H-Thymidin-Inkorporation in Zellen untersucht, die zuvor mit Sense- bzw. Antisense-Oligonukleotiden (0,5 bis 20 µM) inkubiert wurden. Die Oligonukleotide waren spezifisch für die ersten 20 codierenden Basen der Ki-67 Protein-mRNA. Die ^{3}H-Thymidin Inkorporation wurde Dosis-abhängig von Antisense- nicht aber von Sense-Oligonukleotiden herabgesetzt (Schlüter et al., 1993). Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, daß die Expression des Ki-67 Proteins eine wichtige Voraussetzung oder sogar absolute Notwendigkeit für die Aufrechterhaltung des Zell-Zyklus ist.

Zusammenfassung, Perspektiven und mögliche Funktionen des Ki-67 Proteins

Das Ki-67 Protein kann als Protease-sensibles alkalisches Zell-Kern Protein mit repetitiven Elementen und einem hohen Gehalt an zufällig verteilten Prolin- (8,2 %) und Lysin-Aminosäuren (11,4 %) beschrieben werden, das in zwei unterschiedlich großen Isoformen auftritt und das wahrscheinlich posttranslational modifiziert wird. Das Ki-67 Protein ist für die Aufrechterhaltung des Zell-Zyklus absolut erforderlich. Jede der 16 Ki-67 Repetitionen enthält ein konserviertes Ki-67 Motiv mit einem amphophilen und wahrscheinlich immundominanten Charakter. Erwähnenswert sind hunderte von potentiellen Phosphorylierungs- und anderen posttranslationalen Modifikations-Stellen sowie eine ATP-GTP-Bindungsstelle am C-terminalen Ende. Das Ki-67 Protein akkumuliert von der G_1-Phase zur Mitose, in der es seine maximale Konzentration in der Zelle erreicht. Unmittelbar nach Abschluß der Mitose erreicht das Ki-67 Protein sein Minimum, während es in ruhenden Zellen nicht nachweisbar ist. Die relativ kurze biologische Halbwertszeit des Proteins kann mit seiner hohen Protease-Sensibilität erklärt werden. Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß das Protein in jedem Zell-Zyklus de novo synthetisiert wird, ohne die Möglichkeit posttranskriptionaler oder posttranslationaler Regulation außer Betracht zu lassen.

Da das Ki-67 Protein einen hohen Überschuß an positiv geladenen Aminosäuren aufweist, kann man eine Nukleinsäure-bindende Eigenschaft postulieren. Damit könnte man die beobachtete starke Anfärbung der Nukleoli während der G_1-Phase erklären, die auf rein elektrostatischer Anziehung des Ki-67 Proteins durch *de novo* synthetisierte, negativ geladene rRNA beruhen könnte. Nach der Auflösung der Kernhülle ist das Ki-67 Protein überwiegend auf den Chromosomen und zufällig verteilt im Zytoplasma lokalisiert. Auch die Bindung an die Chromosomen könnte auf der elektrostatischen Anziehung des Ki-67 Proteins durch die negativ geladene DNA beruhen. Es ist daher nicht auszuschließen, daß das Ki-67 Protein eine Art Matrix der chromosomalen DNA bildet oder sogar zur Kondensation der Chromosomen beiträgt.

Weitere Untersuchungen werden zeigen, welche Rolle die beiden Isoformen der Ki-67 Proteine im Zell-Zyklus spielen. Die Aufklärung der primären Struktur des Proteins hat gezeigt, daß es sich um ein bisher beispielloses, einzigartiges Protein handelt.

Danksagung

Vielen Dank an die Dr. Mildred Scheel-Stiftung für Krebsforschung, die diese Arbeit (durchgeführt am Forschungsinstitut Borstel) im Rahmen des Projektes W 23/93/Ge 3 großzügig unterstützte. Mein besonderer Dank gilt Frau Claudia Wohlenberg für ihre hervorragende Assistenz und Frau Diplom-Biologin Monika Zingler für die Hilfe beim Abfassen dieses Manuskriptes.

Literaturverzeichnis

Becker M.H.G., Gerdes J., and Key G. (1994) New antibodies for the detection of the Ki-67 Protein. In Schmitt et al., eds. Excerpta Medica International Congress Series 1050. Elsevier, Amsterdam, in press.

Bouzubar N, Walker K.J., Griffiths K, Ellis I.O., Elston C.W., Robertson J.F.R., Blamey R.W., and Nicholson R.I. (1989) Ki-67 immunostaining in primary breast cancer: pathological clinical associations. Br. J. Cancer 59, 943 - 947.

Braun N., Papadopoulos T., and Müller-Hermelink H.K. (1988) Cell cycle dependent distribution of the proliferation associated Ki-67 antigen in human embryonic lung cells. Virchows Arch. B 56, 25 - 33.

Brown D.C. and Gatter K.C. (1990) Monoclonal antibody Ki-67 : its use in histopathology. Histopathology 17, 489 - 503.

Bruno S. and Darzynkiewicz Z. (1992) Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. Cell Prolif. 25, 31 - 40.

du Manoir S., Guillaud P., Camus E., Seigneurin D., and Brugal G. (1991) Ki-67 labelling in postmitotic cells defines different Ki-67 Pathways within the 2c compartment. Cytometry 12, 455 - 463.

Falini B., Flenghi L., Fagioli M., Stein H., Schwarting R., Riccardi C., Manocchi I., Pileri S., Pelicci P.G., Lanfrancone L. (1989) Evolutionary conservation in varius mammalian species of the human proliferation-associated epitope recognized by the Ki-67 monoclonal antibody. J.Histochem. Cytochem. 37, 1471- 1477.

Fonatsch C., Duchrow M., Rieder H., Schlüter C., and Gerdes J. (1991) Assignment of the human Ki-67 gene (MKI67-) to l0q25-qter. Genomics 11, 476 - 477.

Fontana D., Bellina M., Gubetta L., Fasolis G., Rolle L., Scoffone C., Porpiglia F., Colombo M., Tarabuzzi R., and Leonardo E. (1992) Monoclonal antibody Ki-67 in the study of the proliferative activity of bladder carcinoma. J. Urology. 148, 1149 - 1151.

Frohmann M.A., Dush M.K., and Martin G.R. (1988) Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: Amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 8998 - 9002.

Gerdes J., Schwab U., Lemke H., and Stein H. (1983) Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int. J. Cancer 31, 13 - 20.

Gerdes J., Lemke H., Baisch H., Wacker H.H., Schwab U., and Stein H. (1984) Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67 . J. Immunol. 133, 1710 -1715.

Gerdes J., Stein H., Pileri S., Rivano M.T., Gobbi M., Ralfkiaer E., Nielsen K.M., Pallesen G., Bartels H., Palestro G., and Delsol G. (1987) Prognostic relevance of tumor-cell growth fraction in malignant non-Hodgin's lymphomas. Lancet. II, 448 - 449.

Gerdes J. (1990a) Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. Sem. Cancer Biol. 1, 99 - 206.

Gerdes J. (1990b) Ki-67 und andere immunohistoloisch einsetzbare Proliferationsmarker. Focus MHL 7, Heft 3, 180 - 186.

Gerdes J., Li L., Schlüter C., Duchrow M., Wohlenberg C., Gerlach C., Stahmer I., Kloth S., Brandt E., and Flad H. -D . (1991) Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67 . Am. J. Pathol. 138, 867- 873.

Grogan T.M., Lippman S.M., Spier C.M., Slymen D.J., Rybski J.A., Rangel C.S., Richter L.C., and Miller T.P. (1988) Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by the monoclonal antibody Ki-67 . Blood 71, 1157 - 1160.

Guillaud P., du Manoir S., and Seigneurin D. (1989) Quantification and topographical description of Ki-67 antibody labelling during the cell cycle of normal fibroblastic (MRC-5) and mammary tumor cell lines (MCF-7). Anal. Cell. Pathol. 1, 25 - 39.

Hall P.A., Richards M.A., Gregory W.M., d'Ardenne A.J., Lister T.A., and Stansfeld A.G. (1988) The prognostic value of Ki-67 immunostaining in Non-Hodgin's Lymphoma. J. Pathol. 154; 223 - 235.

Holte H., De Lange Davies C., Beiske K., Stokke T., Marton P.F., Smeland E.B., Hoie J., and Kvaloy S. (1989) Ki-67 and 4F2 antigen expression as well as DNA synthesis predict survival at relapse/tumor progression in low-grade B-cell lymphoma. Int. J. Cancer. 44, 975 - 980.

Key G., Megetto F., Becker M.H.G., Al Saati T., Schlüter C., Duchrow M., Delsol G., and Gerdes J. (1992) Immunobiochemical characterization of the antigen detected by monoclonal antibody IND.64: Evidence that IND.64 reacts with the cell proliferation associated nuclear antigen previously defined by Ki-67 . Virchows Archiv B Cell Pathol. 62, 259 - 262.

Key G., Becker M.H.G., Baron B., Duchrow M., Schlüter C., Flad H.-D., and Gerdes J. (1993a) New Ki-67 equivalent murine monoclonal antibodies (MIB 1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 bp repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. Lab. Invest. 68, 629 - 636.

Key G., Petersen J.L., Becker M.H.G., Duchrow M., Schlüter C., Askaa J., and Gerdes J. (1993b) New antiserum against Ki-67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections. J. Clin. Pathol. 46, 1080 -1084.

Locker A.P., Birrell K., Bell J.A., Nicholson I., Elston C.W., Blamey R.W., and Ellis I.O. (1992) Ki-67 immunoreactivity in breast carcinoma: relationships to prognostic variables and short term survival. Eur. J. Surgical Oncology 18, 224 - 229.

McCormick D., Yu C., Hobbs C., and Hall P.A. (1993) The relevance of antibody concentration to the immunohistological quantification of cell proliferation-associated antigens. Histopathology 22, 543 - 547.

Nicholson R.I., Bouzubar N., Walker K.J., McClelland R., Dixon A.R., Robertson J.F.R., Ellis I.O., and Blamey R.W. (1991) Hormone sensitivity in breast cancer: influence of heterogeneity of oestrogen receptor expression and cell proliferation. Eur. J. Cancer 27, 908 913.

Rogers, S., R. Wells, and M. Rechsteiner. 1986. Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: The PEST hypothesis. Science. 234, 364 - 368.

Schlüter C., Duchrow M., Wohlenberg C., Becker M.H.G., Key G., Flad H.-D., and Gerdes J. (1993) The Cell Proliferation-associated Antigen of Antibody Ki-67: A Very Large, Ubiquitous Nuclear Protein with Numerous Repeated Elements, Representing a New Kind of Cycle-maintaining Proteins. J. Cell Biol. 123, 513 522.

Schrape S., Jones D.B., and Wright D.H. (1987) A comparison of three methods for the determination of the growth fraction in Non-Hodgkin's Lymphoma. British J. Cancer 55, 283 - 286.

Tazzari P.L., Bontadini A., Gobbi M., Tassi C., Dinota A., Visani G., Michieli M.G., Pileri S., Baccarani M., and Tura S. (1990) Comparison of the DNA content, bromodeoxyuridine incorporation and Ki-67 antigen expression in human acute myeloid leukemia. Leukemia and Lymphoma 3, 45 - 51.

Tungekar M.F., Gatter K.C., Dunnill M.S., and Mason D.J. (1991) Ki-67 immunostaining and survival in operable lung cancer. Histopath. 19, 545 - 550.

Verheijen R., Kuijpers H.J.H., van Driel R., Beck J.L.M., van Dierendonck J., Brakenhoff G.J., and Ramaekers F.C.S. (1989) Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferationrelated antigen II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. J. Cell Science 92, 531- 540.

Wintzer H.O., Zipfel I., Schulte-Mönting J., Hellerich U., and von Kleist S. (1991) Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. Cancer 67-, 421 428.

Aus dem Institutsbereich Immunchemie und Biochemische Mikrobiologie des Forschungsinstituts Borstel (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. E. Th. Rietschel)

Strukturanalyse bakterieller Lipopolysaccharide

O. Holst

Einleitung

Die Lipopolysaccaride (LPS) sind die Endotoxine der Gram-negativen Bakterien. Sie sind verantwortlich für eine Reihe von pathophysiologischen Effekten in höheren Tieren und im Menschen. So können LPS selbst in geringen Mengen eine Sepsis hervorrufen, die weiterhin bei Blutdruckabfall und Multiorganversagen in den Zustand des septischen Schocks übergeht, weltweit die häufigste Todesursache auf Intensivstationen. LPS sind zudem Antigene und damit im Prozeß der spezifischen Erkennung von Bakterien und deren Abwehr durch den Wirtsorganismus involviert. Weiterhin sind LPS starke Immunmodulatoren; so aktivieren sie z. B. Lymphozyten, Granulozyten, und Makrophagen.

LPS sind ein essentieller Zellwandbestandteil Gram-negativer Bakterien und somit eine Voraussetzung für deren Überleben (Rigidität der Zellwand, Schutz vor Gallensäuresalzen und Enzymen des Darmes, gegen Antibiotika und gegen Abwehrmechanismen des Wirtes). Die LPS befinden sich in der äußeren Lage der äußeren Membran; die innere Lage besteht aus Phospholipiden. Damit ist die äußere Membran im Gegensatz zur Cytoplasmamembran asymmetrisch aufgebaut. Neben LPS sind in der äußeren Lage der äußeren Membran auch andere Moleküle wie z. B. Kapselpolysaccharide und Proteine verankert (1).

Die LPS aller Gram-negativen Bakterien sind grundsätzlich ähnlich aufgebaut (3) (schematisch dargestellt in Abb. 1). Sie besitzen einen Lipidteil, das Lipoid A, welches das Molekül in der äußeren Membran verankert, und eine daran gebundene mehr oder weniger komplexe Zuckerkette. Diese umfaßt in verschiedenen Bakterienfamilien (z. B. *Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Legionellaceae, Brucellaceae, Pseudomonadaceae*) ein Oligosaccharid von bis zu 15 Zuckern (die sogenannte Kernregion) (4), welches mit einem aus Wiederholungseinheiten aufgebauten Polysaccharid (O-Antigen) substituiert ist. Dieser LPS-Typ wird S-Form (von *engl.* smooth, glatt) genannt. Ein zweiter LPS-Typ besteht nur aus Lipoid A und Kernregion (R-Form, von *engl.* rough, rauh). R-Form LPS wurde zuerst in Mutanten von Enterobakterien entdeckt, die im Gencluster der O-Antigen-Biosynthese defekt waren. Später wurde dieses LPS auch in Bakterien ohne bekannten genetischen Defekt nachgewiesen (z. B. *Bordetella pertussis, Haemophilus influenza, Neisseria gonorrhoeae, N. menigitidis, Chlamydia*).

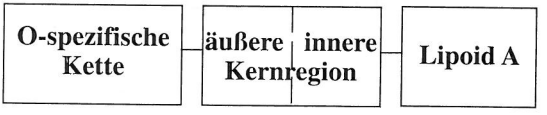


Abb.1: Schematischer Aufbau von LPS

Es ist heute allgemein akzeptiert, daß komplexe biologische Vorgänge nur verstanden werden können, wenn die molekularen Strukturen der beteiligten Reaktionspartner bekannt sind. So ist auch für das Verständnis der vielfältigen biologischen Aktivitäten von LPS die Kenntnis der primären und übergeordneten Strukturen (Konformation) unerläßliche Voraussetzung. Die folgenden Abschnitte geben eine kurze Übersicht über Methoden, die heute der LPS-Analytik zur Verfügung stehen. Diese werden am Beispiel der Analyse von R-Form LPS erläutert, sind aber grundsätzlich ebenso auf die Analyse von komplexer aufgebauten LPS anwendbar.

Analytik von LPS

Allgemeines

Lipopolysaccharide bestehen aus Zuckern, Fettsäuren und Phosphat. In seltenen Fällen wurden auch Sulfat und Aminosäuren nachgewiesen. Lipopolysaccharide sind damit amphiphile Moleküle, deren Analytik die Anwendung von Methoden der präparativen und analytischen Kohlenhydrat- und Lipidchemie erfordert, also einer komplexen und zeitaufwendigen Methodik. Zur Analyse werden Methoden aus organisch-präparativer Chemie (z. B. Extraktion und Fällung, Chromatographie, Elektrophorese), qualitativer und quantitativer chemischerAnalytik (Photometrie, Chromatographie), und physikalischer Analytik [Massenspektrometrie (5), Kernresonanz(NMR)-Spektroskopie (5,6)] eingesetzt.

Präparation von R-Form LPS

Nach Anzucht der Bakterien im Fermentor, Abtöten mit 0,5% Phenol, Zentrifugation und Waschen

mit Wasser erhält man z. B. im Falle von *Escherichia coli* in einem typischen Experiment 10 g/L Bakterienfeuchtmasse, die durch Extraktion mit Ethanol, Aceton und Diethylether entwässert und partiell entfettet wird. Aus der verbleibenden Bakterientrockenmasse (ca. 20% der Feuchtmasse) wird anschließend das LPS isoliert. Die zur Extraktion von S-Form LPS etablierte Methode (Extraktion mit Phenol/Wasser) (7) ist zur Isolierung von R-Form LPS im allgemeinen nicht anwendbar. Ende der sechziger Jahre wurde eine Extraktionsmethode entwickelt (8), die R-Form LPS in bereits sehr reiner Form liefert (weniger als 1% Protein und RNA). Das LPS wird zunächst mit einer Mischung aus Phenol/Chloroform/Petrolether mehrfach extrahiert und nach Abdestillieren des Chloroforms und des Petrolethers mit Wasser aus der Phenolphase gefällt, anschließend gewaschen und getrocknet. Die Ausbeuten liegen je nach Bakterienstamm zwischen 3 und 6% des Trockengewichts.

Reinigung von LPS

Obgleich R-Form LPS erfahrungsgemäß nur einen geringen Anteil an Protein und RNA besitzen, muß dies bei jeder neuen LPS-Präparation überprüft werden. Weiterhin ist eine Co-Extraktion von anderen Lipiden möglich. Die isolierten und vorgereinigten LPS werden daher zunächst auf eventuell vorhandene Lipide (mittels Dünnschichtchromatographie) und Proteine (z. B. mittels eines kommerziell erhältlichen Proteinnachweises) analysiert. Der Ribose- und Desoxyribosegehalt, ermittelt durch eine Neutralzuckeranalyse im Rahmen der Komponentenanalyse (s.u.), gibt Auskunft über den Anteil an Nukleinsäuren in der Präparation. Lipide werden durch Extraktion des LPS mit dem Laufmittel der Dünnschichtchromatographie abgetrennt. Proteine werden durch Proteinase K oder Trypsin verdaut, Nukleinsäuren durch DNase und RNase. In beiden Fällen werden die entstandenen Spaltprodukte durch Dialyse entfernt.

Da LPS saure Gruppen enthalten (Carboxyl- und Phosphatgruppen), findet man in den Präparaten überdies Metallionen wie Na^+, Ca^{2+} und Mg^{2+} und oft auch Polyamine wie Putrescin und Spermidin. Die Metallionen lassen sich durch Aufnahme von Atomabsorptionsspektren nachweisen und die Polyamine durch Hochspannungspapierelektrophorese (9); sie werden durch Elektrodialyse (10) abgetrennt. Die dadurch entstandenen LPS-Anionen werden anschließend neutralisiert (z. B. mit Triethylamin), so daß das LPS in einer einheitlichen Salzform vorliegt, die meist sehr viel besser in Wasser löslich ist als die natürliche, gemischte Salzform.

Fettsäureanalytik

Die Analyse der Anzahl, Natur und Position der Fettsäuren im Lipoid A geschieht mit Hilfe von Gaschromatographie ([GC, (11)] verbunden mit der Massenspektrometrie [GC-MS, (5)]. Generell liegen die Fettsäuren im LPS in Ester- und Amidbindung vor. Erstere läßt sich durch eine alkalische Verseifung quantitativ spalten, so daß derart gebundene Fettsäuren selektiv identifiziert werden können. Zur Spaltung der Amidbindung sind stark saure oder stark alkalische Bedingungen nötig. Da im Lipoid A immer 3-Hydroxyfettsäuren vorkommen, existieren zwei Arten von Fettsäureestern: solche mit Hydroxygruppen des GlcN und solche mit den Hydroxygruppen der 3-Hydroxyfettsäuren. Diese Esterbindungen lassen sich nicht durch eine einfache Analyse des alkalischen bzw. sauren Hydrolysats unterscheiden. Daher wurden Methoden entwickelt (12), mit denen selektiv die an GlcN ester bzw. amidgebundenen mit einer Fettsäure veresterten Hydroxyfettsäuren gaschromatographisch und massenspektrometrisch identifiziert werden können. Mit diesen Analysen kann jedoch nicht die Verteilung solcher Gruppen im Lipoid A bestimmt werden. Dieses Problem wird durch die Anwendung einer besonderen massenspektrometrischen Technik, der Laser-Desorptions-Massenspektrometrie (13), gelöst (erläutert am Beispiel des Lipoid A aus *E. coli*, Abb. 2). Das zu analysierende Lipoid A wird hierbei mittels eines Laserstrahls schonend ionisiert und anschließend massenspektrometrisch analysiert. Es entstehen nur sehr wenige Bruchstücke des Lipoid A, die, zusammen mit der Bestimmung der Molekülmasse, je-

Irgendwann braucht jeder mal einen Tip... unsere Bücher helfen weiter!

BUCHHANDLUNG WEILAND

23552 Lübeck
Königstraße 67a
Telefon (04 51) 1 60 06-0

23562 Lübeck
Ratzeburger Allee 111-125
Telefon (04 51) 5 02 10 11

23611 Bad Schwartau
Marktwiete 2
Telefon (04 51) 2 19 87

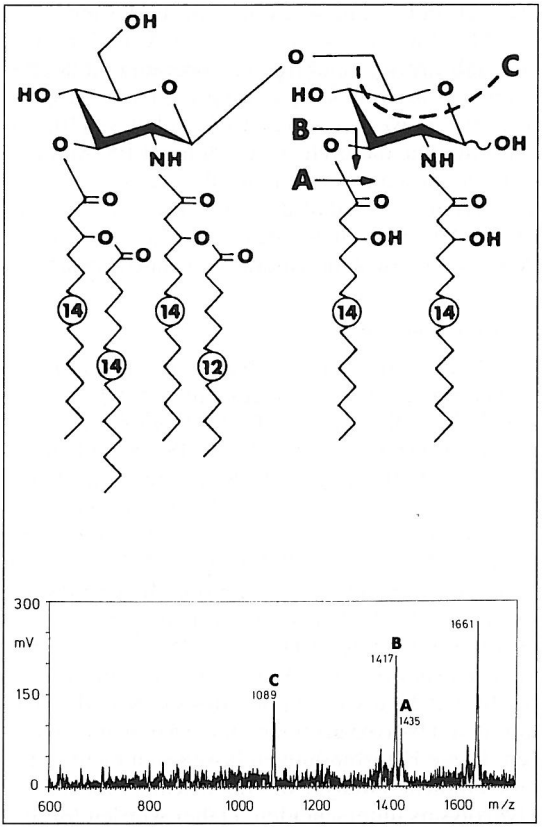


Abb.2: Fragmentierung und Laser-Desorptions-Massenspektrum des dephosphorylierten Lipoid A aus E. coli *J-5. Neben dem Molekülion [m/z 1661, $(M+Na)^+$], das die Molekülmasse identifiziert, erkennt man die Ionen der Fragmente A-C. Wichtig hiervon ist das Fragment C, welches ausschließlich durch die dargestellte Spaltung im reduzierenden GlcN gebildet wird. Damit ist die asymmetrische Fettsäureverteilung eindeutig gekennzeichnet*

doch für die Analyse der Fettsäureverteilung entscheidend sind. Mit dieser Methode konnte gezeigt werden, daß z. B. im *E. coli* Lipoid A (Abb. 3A) mit Fettsäuren veresterte 3-Hydroxyfettsäuren ausschließlich im zweiten (nichtreduzierenden) GlcN vorliegen, während sie im Lipoid A aus *Chromobacterium violaceum* (Abb. 3B) hingegen symmetrisch verteilt sind.

Kohlenhydratanalytik

Typisch für Lipoid A ist sein oft phosphoryliertes ß-(1-6)-verknüpftes Disaccharidgerüst, welches immer aus **D**-*gluco* konfigurierten Aminozuckern besteht. Meistens liegt **D**-Glucosamin (GlcN) vor, in Ausnahmefällen (z. B. in *Campylobacter jejuni*) wurde 2,3-Diamino-2,3-didesoxy-**D**-glucose

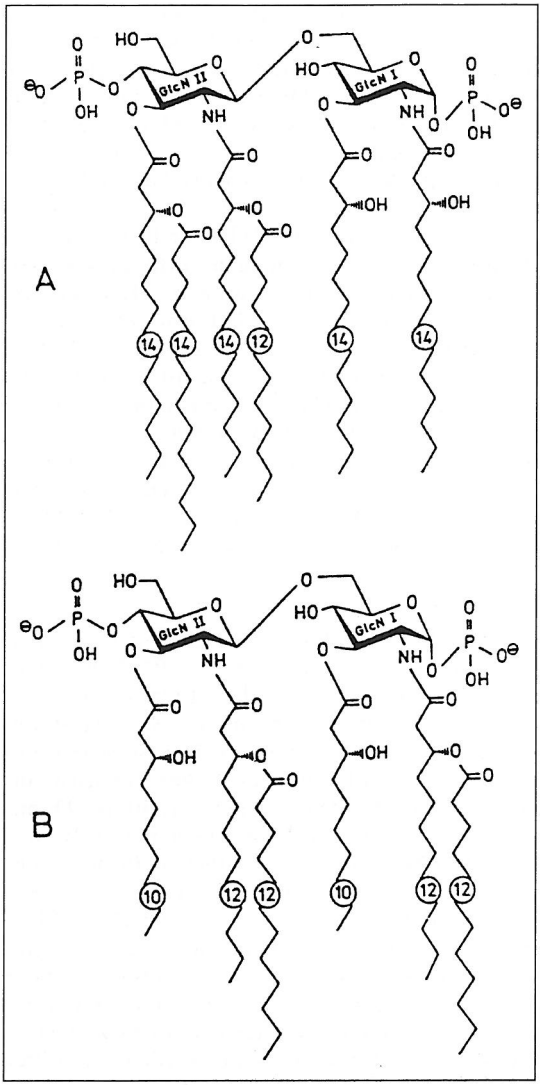


Abb.3: Strukturen der Lipoid A aus E. coli *(A, symmetrisches Acylierungsmuster) und* C. violaceum *(B, asymmetrisches Acylierungsmuster)*

(GlcN3N, Abb. 4) nachgewiesen (2,3). Die charakteristischen Kohlenhydratkomponenten der Kernregion sind ebenfalls in Abb. 4 dargestellt. Jedes LPS enthält mindestens ein Molekül der 3-Desoxy-**D**-*manno-octulopyranosonsäure* [Kdo (14)], welches die Kernregion mit dem Lipoid A verbindet. Bislang ist nur ein LPS bekannt (aus *Acinetobacter calcoaceticus*), in dem (neben Kdo) auch die **D**-glycero-**D**-*talo*-octulopyranosonsäure (Ko) diese Rolle übernehmen kann. Weitere wichtige Komponenten der Kernregion sind Heptopyranosen, die sowohl in der **L**-*glycero*-**D**-*manno*- als auch in der **D**-*glycero*-**D**-*manno*-Konfiguration auftreten.

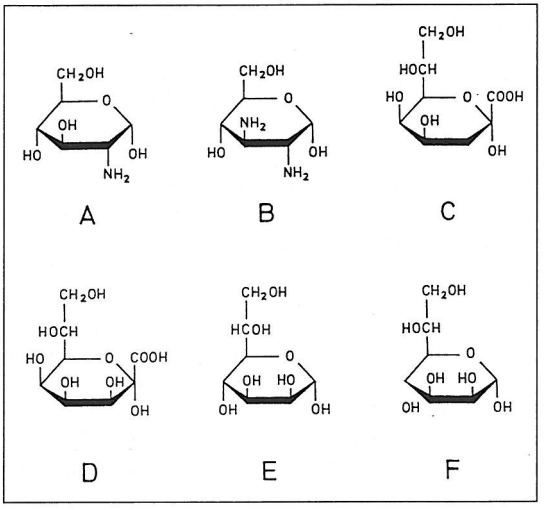


Abb.4: Charakteristische Kohlenhydratkomponenten von LPS. A, D-GlcN; B, **D**-*GlcN3N; C, Kdo; D, Ko; E, L*-glycero-**D**-manno-*heptose; F,* **D**-glycero-**D**-manno-*heptose*

Andere mögliche Komponenten der Kernregion sind Aminozucker (z. B. GlcN), Uronsäuren (z. B. **D**-Galacturonsäure, GalA), und neutrale Hexopyranosen. Zudem besitzt die Kernregion häufig Phosphat- bzw. Pyrophosphatgruppen, überdies auch oft Acetylgruppen (ester- und amidgebunden) und vereinzelt Aminosäuren, und die Phosphatgruppen können mit Ethanolamin oder Ethanolaminphosphat substituiert sein. Viele dieser Substitutionen sind nicht stöchiometrisch. Die hierdurch bedingte Heterogenität der LPS-Präparate wird zusätzlich durch den unterschiedlichen Status der Biosynthese in den Bakterien einer Kultur vergrößert, wodurch auch kürzerkettige Moleküle in einem LPS-Isolat vorliegen.

Insgesamt ist eine Reihe verschiedener Hydrolysen erforderlich, um die Komponenten eines LPS qualitativ und quantitativ zu erfassen. So erfordert z. B. die sehr stabile Bindung der GlcN-Moleküle des Lipoid A eine stark saure Hydrolyse, während zur Bestimmung der Kdo schwach saure Bedingungen ausreichend sind. Generell werden die freigesetzten Komponenten nach Umwandlung in geeignete Derivate mittels Photometrie (GlcN, Kdo, Phosphat) und Gaschromatographie [(11), Neutralzucker, Fettsäuren] nachgewiesen und quantifiziert (in nMol/mg LPS). Zusätzlich werden Aminozucker und andere Aminokomponenten (z. B. Ethanolamin) im Aminosäureanalysator bestimmt.

Zwei Eigenschaften der LPS-Präparate bedingen das Vorgehen in der Strukturanalytik: ihre Heterogenität, hervorgerufen durch unterschiedlich lange Zuckerketten, nicht-stöchiometrische Substitution der Zucker mit Phosphat und Anzahl und Art der estergebundenen Fettsäuren, und ihre Amphiphilie. Voraussetzung für eine vollständige Strukturanalyse ist die Isolierung von chemisch reinen Substanzen, deren Analyse eindeutige Schlußfolgerungen zulassen. Dies ist derzeit mit amphiphilen Molekülen nicht möglich (u. a. wegen der Micellenbildung). Sowohl die Amphiphilie als auch die Heterogenität werden durch einige wenige definierte Abbauschritte eliminiert bzw. reduziert. Durch Deacylierung und Dephosphorylierung (Abb. 5) (15) erhält man das (hydrophile) Kohlenhydratgerüst des LPS. Die erhaltenen Oligosaccharide unterscheiden sich nur in ihrer Zuckerzusammensetzung. Sie werden anschließend in Einzelkomponenten aufgetrennt. Hierzu bedient man sich verschiedener Methoden der präparativen Chromatographie. Die zunächst naheliegende Trennung nach Größe der Moleküle mittels Gel-

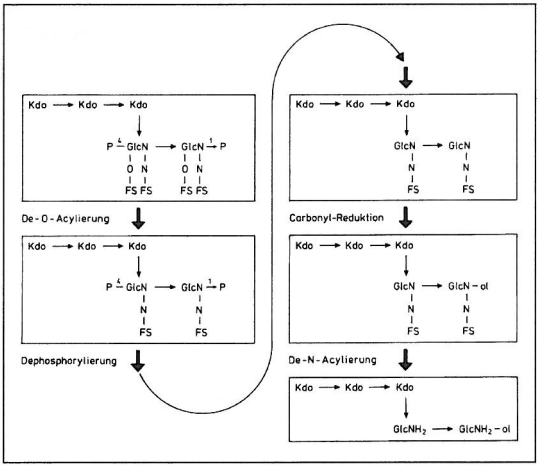


Abb.5: Abbauweg zur vollständigen Deacylierung und Dephosphorylierung von LPS (dargestellt am Beispiel des rekombinanten LPS aus E. coli *F515-207, welches die Kernregion des Chlamydien-LPS besitzt). Nach De-O-acylierung durch Hydrazinolyse erfolgt zunächst die Dephosphorylierung mittels Hydrolyse in wäßriger Flußsäure. Da die nachfolgende De-N-acylierung das nunmehr freie reaktive Zentrum („anomeres Zentrum") zerstören würde, wird die Substanz zunächst reduziert (Überführung der Aldehydgruppe in eine Alkoholgruppe), womit der Ring des ersten Zuckers eines Oligosaccharids geöffnet wird. Die quantitative De-N-acylierung kann dann entweder mittels erneuter Hydrazinolyse oder einer Hydrolyse in 4 M KOH erreicht werden. Der Vorteil der letzteren Methode liegt, neben der Zeitersparnis, in einer geringeren Artefaktbildung*

permeationschromatographie [Gelfiltration (16)] führt jedoch in den meisten Fällen nur zur Trennung von Substanzgruppen, die anschließend durch andere Methoden weiter aufgetrennt werden müssen. Hier empfehlen sich insbesondere Methoden der Hochdruckflüssigkeitschromatographie [HPLC (17)]. Aus den vielen Anwendungen dieses Trennverfahrens ragt seit einigen Jahren die analytische und präparative Trennung von Mono- und Oligosacchariden mittels der Hochdruckanionenaustauschchromatographie [HPAE (18,19)] hervor. Die Trennung beruht auf der unterschiedlichen Acidität der Hydroxylgruppen von Kohlenhydraten bei pH 13 (neutrale Mono- und Oligosaccharide werden zu mehrfach geladenen Anionen umgewandelt). Diese Methode wurde gerade in den letzten Jahren weltweit angewandt und hat nicht nur in unserer Arbeitsgruppe (20-24) zu hervorragenden Resultaten geführt.

Die Charakterisierung von Oligosaccharidstrukturen erfolgt hauptsächlich mittels Kernresonanzspektroskopie unter Anwendung verschiedener Experimente. Die ein- und zweidimensionale ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektroskopie (6) hat sich im letzten Jahrzehnt zur wohl wichtigsten analytischen Meßtechnik in der Kohlenhydratanalytik entwikkelt. Einer ihrer wesentlichen Vorteile ist, daß die Substanzen bei der Analyse nicht zerstört werden, so daß diese später für weitere chemische oder biologische Experimente eingesetzt werden können. Es lassen sich sowohl native als auch derivatisierte (z. B. acetylierte oder methylierte) Substanzen messen; je nach Leistung des Gerätes (Feldstärke des Magneten) auch in Mengen < 1 mg (Hochfeld-NMR).

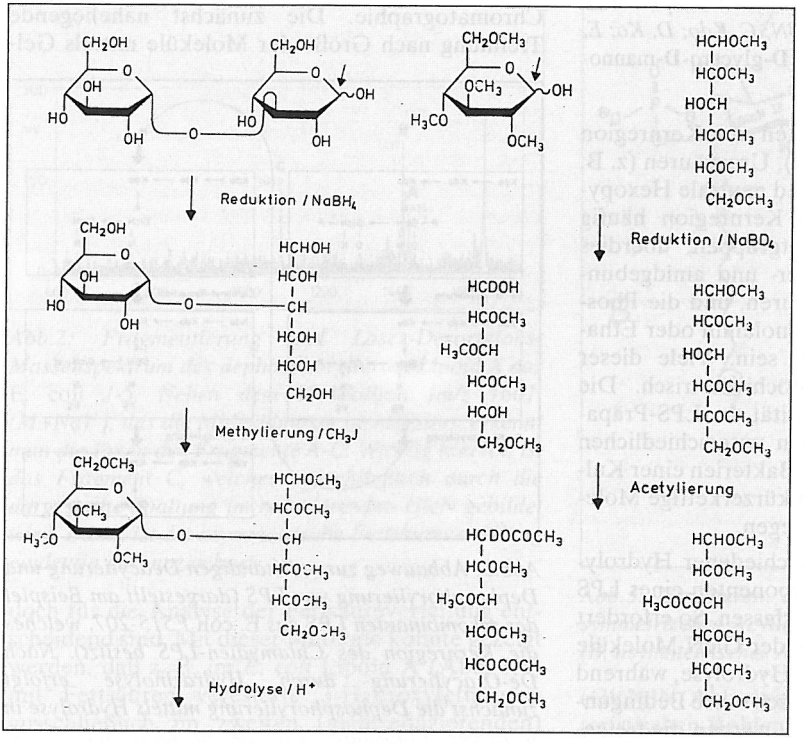


Abb.6: Verlauf einer Methylierungsanalyse, dargestellt am Beispiel des α-(1-3)-gebundenen Glucosedisaccharids. Nach Reduktion mit $NaBH_4$ wird das Molekül zunächst methyliert (mit Methyljodid), wodurch aus den freien OH-Gruppen Methylether (OCH_3) entstehen. Diese sind säurestabil, so daß sie in der nachfolgenden Hydrolyse zur Spaltung der glycosidischen Bindung erhalten bleiben. Durch die Hydrolyse entstehen ein freies anomeres Zentrum und eine freie OH-Gruppe an der Bindungsposition (0-3). Nach erneuter Reduktion (zwecks besserer Unterscheidung der Derivate mit Natriumbordeuterid, $NaBD_4$) wird acetyliert. Es sind damit zwei unterschiedliche Derivate entstanden, die sich eindeutig durch GC und GC-MS (vergl. Abb. 7) identifizieren lassen

Trotz der großen Vorzüge der NMR-Spektroskopie werden die Strukturen isolierter Oligosaccharide jedoch immer noch mittels weiterer Analysen verifiziert, so z. B. durch eine sogenannte Methylierungsanalyse [(25), an einem Beispiel in Abb. 6 erläutert]. Sie gibt zwar nur eingeschränkt Auskunft über die Konfiguration von Zukkermonomeren, kennzeichnet jedoch die Bindungspositionen der einzelnen Zuckermoleküle. Die Durchführung der Methylierungsanalyse erfordert GC (11) und GC-MS (5). Die erhaltenen Zuckerderivate (vergl. Abb. 6) werden zunächst gaschromatographisch analysiert, um a) die Qualität der Probe zu überprüfen, b) die erhaltenen Retentionszeiten mit denen von Standardsubstanzen zu vergleichen und c) anhand der Signalintensitäten ihre relativen molaren Mengen errechnen zu können. Nach dieser Analyse werden die Derivate mittels GC-MS analysiert, d. h., sie werden zunächst in einem direkt mit dem Mas-

senspektrometer gekoppelten Gaschromatographen aufgetrennt und anschließend einzeln massenspektrometrisch charakterisiert. Hierzu gelangen sie im Massenspektrometer in einen Strom hochenergetischer Ionen, welche aus den Derivaten ionisierte Bruchstücke erzeugen, die unterschiedliche Massen besitzen. Diese Massen werden qualitativ und quantitativ über eine Detektor-Rechner-Einheit erfaßt und ausgewertet. Das erhaltene Massenspektrum (Abb. 7) ist für jedes Derivat charakteristisch (26-28) und gewährleistet damit die eindeutige Identifizierung der Bindungsposition. Eine solche Analyse war bis vor einigen Jahren noch das wichtigste Instrument zur Strukturaufklärung von Polysacchariden im allgemeinen und LPS im speziellen.

Phosphatanalytik

Abschließend einige Anmerkungen zur Analyse der Phosphatsubstitution von LPS, die lange Zeit als besonders problematisch galt. Monophosphate können unter Bildung eines zyklischen Phosphats als Zwischenprodukt auch die benachbarte Hydroxylgruppe eines Zuckers substituieren (Phosphatmigration). Dadurch wird eine zusätzlich substituierte Position identifiziert, und die native Bindungsposition kann nicht mehr eindeutig festgelegt werden. Wir konnten nun in den letzten Jahren einen Abbauweg entwickeln (22), bei dem diese Phosphatmigration ausgeschlossen ist: es handelt sich hierbei um die Präparation von vollständig deacylierten Oligosacchariden unter Erhalt der Phosphatsubstitution. Das entstandene Oligosaccharidphosphatgemisch wird, nach Neutralisation und Entsalzung der Probe, mittels HPAE in reine Substanzen aufgetrennt, die dann hauptsächlich durch Kernresonanzspektroskopie strukturell analysiert werden. Damit sind die Positionen von Phosphatgruppen identifiziert; welche von ihnen jedoch als Phosphodiester oder Pyrophosphat vorliegt, bleibt weiterhin ungeklärt. Wir entwickeln derzeit Methoden, die dieses Problem lösen sollen.

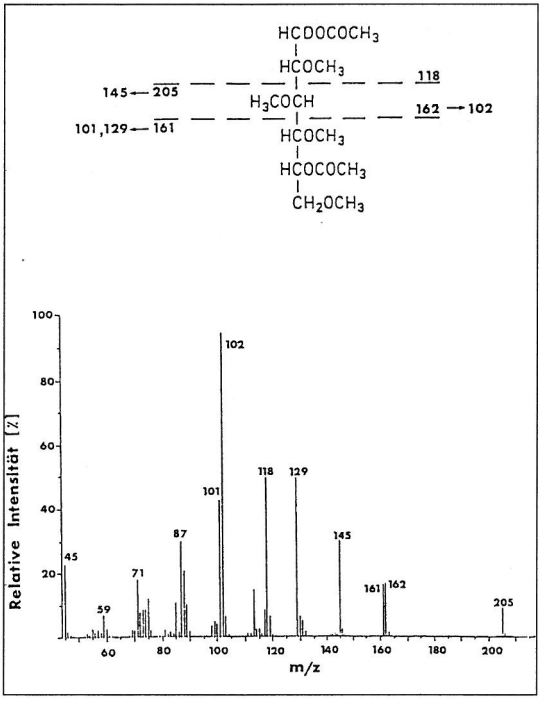


Abb.7: Fragmentierungsschema und Massenspektrum eines der Produkte der in Abb. 6 dargestellten Methylierungsanalyse

Ausblick

Die Analyse von LPS (und auch anderen komplexen Naturstoffen) erfordert insgesamt einen hohen Aufwand, der jedoch gerechtfertigt ist, denn obgleich Molekularbiologie, Zellbiologie, Immunologie und Klinische Medizin wichtige Beiträge zum Verständnis der Funktion von LPS liefern, erhält man ein vollständiges Bild nur durch die genaue Kenntnis der Primärstrukturen und Konformationen (räumliche Anordnungen) dieser Moleküle. Da die physiologischen Wirkungen von LPS, aber auch deren Neutralisierung, auf Wechselwirkungen mit anderen Molekülen (Rezeptorproteine, Antikörper) beruhen, ist zu deren Verständnis insbesondere die Kenntnis der Konformationen von LPS oder deren Kohlenhydratgerüsten sehr wichtig. Mit Konformationsanalysen ist bereits in einigen Fällen begonnen worden (23,29,30); insgesamt stellen solche Analysen von LPS und auch von z. B. LPS-Antikörper- oder LPS-Rezeptor-Komplexen noch eine große und faszinierende Herausforderung für den Analytiker dar. Gute Konformationsanalysen können jedoch nur nach vorausgegangenen möglichst vollständigen Analysen der chemischen Strukturen von LPS entstehen, da nur ein Maximum an solchen Daten zu einer realitätsnahen Berechnung der räumlichen Anordnung führen kann.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Helmut Brade und Herrn Prof. Dr. Ernst Th. Rietschel danke ich sehr für Anregungen und Förderung meiner Arbeiten. Allen Mitarbeitern und Kooperatoren, insbesondere unseren Laborantinnen Veronika Susott und Petra Hellerung, danke ich für eine fortwährend gute und kreative Zusammenarbeit. Die Arbeiten wurden durch die DFG gefördert (Ho 1259/3-1)

Literatur

(1) Lugtenberg, B., van Alphen, L.: Molecular architecture and functioning of the outer membrane of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria. Biochim. Biophys. Acta 737, 51-115 (1983)

(2) Rietschel, E. Th., Brade, H.: Bacterial endotoxins. Sci. Am. 267, 54-61 (1992)

(3) Holst, O., Ulmer, A. J., Brade, H., Rietschel, E. Th.: On the chemistry and biology of bacterial endotoxic lipopolysaccharides. In: Masihi, N. (Ed.) Immunotherapy of infections. New York: Marcel Dekker, 1994, 281-308

(4) Holst, O., Brade, H.: Chemical structure of the core region of lipopolysaccharides. In: Morrison, D. C., Ryan, J. L. (Eds.) Bacterial endotoxic lipopolysaccharides, Vol. 1. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992, 135-170

(5) Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B.: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. Stuttgart: Georg Thieme, 1987.

(6) Friebolin, H.: Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie. Weinheim: Verlag Chemie, 1992

(7) Westphal, O., Lüderitz, O., Bister, F.: Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. Z. Naturforsch. 7B, 148-155 (1952)

(8) Galanos, C., Lüderitz,O., Westphal, O.: A new method for the extraction of R-lipopolysaccharides. Eur. J. Biochem. 9, 245-249 (1969)

(9) Kickhöfen, B., Warth, R.: Eine Trennkammer für die Hochspannungselektrophorese nach dem Michlschen Prinzip. J. Chromatogr. 33, 558-560 (1968)

(10) Galanos, C., Lüderitz, O.: Electrodialysis of lipopolysaccharides and their conversion to uniform salt forms. Eur. J. Biochem. 54, 603-610 (1975)

(11) Schomburg, G.: Gaschromatographie. Weinheim: Verlag Chemie, 1987

(12) Wollenweber, H.-W., Rietschel, E. Th.: Analysis of lipopolysaccharide (lipid A) fatty acids. J. Microbiol. Methods 11, 195-211 (1990)

(13) Lindner, B., Zähringer, U., Rietschel, E. Th., Seydel, U.: Structural elucidation of lipopolysaccharides and their lipid A component: Application of soft ionization mass spectrometry. In: Fox, A., Morgan, L. S., Larsson, L., Odham, G. (Eds.) Analytical microbiology methods: New York: Plenum Press, 1990, 149-161

(14) Unger, F. M.: The chemistry and biological significance of 3-deoxy-**D**-*manno*-2-octulosonic acid (KDO). Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 38, 323-388 (1981)

(15) Holst, O., Brade, L., Kosma, P., Brade, H.: Structure, serological specificity, and synthesis of the genusspecific lipopolysaccharide epitope of *Chlamydia*. J. Bacteriol. 173, 1862-1866 (1991)

(16) Porath, J., Flodin, P.: Gel filtration: A method for desalting and group separation. Nature 183, 1657-1657 (1959)

(17) Unger, K. K. (Ed.): Handbuch der HPLC (Teil 1). Darmstadt: GIT-Verlag, 1989

(18) Weiß, J.: Ionenchromatographie. Weinheim: Verlag Chemie, 1991.

(19) Lee, Y. C.: High-performance anion-exchange chromatography for carbohydrate analysis. Anal. Biochem. 189, 151-162 (1990)

(20) Holst, O., Müller-Loennies, S., Lindner, B., Brade, H.: Chemical structure of the lipid A of *Escherichia* coli J-5. Eur. J. Biochem. 214, 695-701 (1993)

(21) Holst, O., Broer, W., Thomas-Oates, J. E., Mamat, U., Brade, H.: Structural analysis of two oligosaccharide bisphosphates isolated from the lipopolysaccharide of a recombinant strain of *Escherichia* coli F515 (Re chemotype) expressing the genus-specific epitope of *Chlamydia* lipopolysaccharide. Eur. J. Biochem. 214, 703-710 (1993)

(22) Holst,O. Thomas-Oates, J. E., Brade, H.: Preparation and structural analysis of oligosaccharide monophosphates obtained from the lipopolysaccharides of recombinant strains of *Salmonella minnesota* and *Escherichia coli* expressing the genus-specific epitope of *Chlamydia* lipopolysaccharide. Eur. J. Biochem., 183-194 (1994)

(23) Vinogradov, E. V., Stuike-Prill, R., Bock, K., Holst, O., Brade, H.: The structure of the carbohydrate backbone of the core-lipid-A region of the lipopolysaccharide from *Vibrio cholerae* strain H11 (non-O1). Eur. J. Biochem. 218, 543554 (1993)

(24) Müller-Loennies, S., Holst, O., Brade, H.: Chemical structure of the core-region of *Escherichia coli* J-5 lipopolysaccharide. Eur. J. Biochem., 224, 751-760 (1994)

(25) Lindberg, B.: Methylation analysis of polysaccharides. Meth. Enzymol. 28b, 178-195 (1972)

(26) Kochetkov, N. K., Chizhov, O. S.: Mass spectrometry of carbohydrate derivatives. Adv. Carbohydr. Chem. 21, 33-93 (1966)

(27) Lönngren, J., Svensson, S.: Mass spectrometry in structural analysis. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 29, 41-106 (1974)

(28) Lindberg, B., Lindh, F., Lundsten, J., Svensson, S.: Electron impact mass spectra of permethylated disaccharide alditols. Carbohydr. Res. 254, 15-23 (1994)

(29) Bock, K., Thomsen, J. U., Kosma, P., Christian, R., Holst, O., Brade, H.: A nuclear magnetic resonance spectroscopic investigation of Kdo-containing oligosaccharides related to the genus-specific epitope of *Chlamydia* lipopolysaccharide. Carbohydr. Res. 229, 213-224 (1992)

(30) Brade, H.: Chlamydial lipopolysaccharide: From the chemical structure to biomedical application. In: Forschungsinstitut Borstel, Jahresbericht 1993, 7-55

Aus der Klinik für Innere Medizin (Direktor: Prof. Dr. H. L. Fehm) und der Klinik für Urologie (Direktor: Prof. Dr. D. Jocham) der Medizinischen Universität zu Lübeck

Die Expression des interzellulären Adhäsionsprotein-1 durch Nierenkarzinomzellen wird durch 1,25-Dihydroxycholekalziferol erhöht

B. Kreft, S. Brzoska, F. Müller, S. Kamp, C. Doehn, C. Höppner, K. Sack

Zusammenfassung

Von 1,25-Dihydroxycholekalziferol (1,25-D3) ist bekannt, daß es die Expression von MHC Klasse II Antigenen durch Monozyten modifiziert. Auch die Produktion bestimmter Zytokine durch Lymphozyten und Monozyten wird durch 1,25-D3 reguliert. Das Interzelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM- 1) ist als kostimulierendes Signal für die Antigenpräsentation bedeutsam, zudem ist es als Ligand des „lymphocyte function associated antigen-1" (LFA-1) für die Bindung von Lymphozyten u.a. an Endothelzellen wichtig.

Wir haben mit Hilfe eines Enzym-Immunoassays geprüft, ob 1,25-D3 einen Einfluß auf die Expression von ICAM-1 durch epitheliale Zellinien hat. Wir fanden, daß 1,25-D3 konzentrationsabhängig sowohl die konstitutive, als auch die durch y-Interferon induzierte Expression von ICAM-1 renaler Karzinomzellen und nicht renaler Epithelzellinien erhöht.

Weitere Untersuchungen sollen klären, ob eine klinische Therapie mit 1,25-D3 bei dessen Mangel zum Beispiel im Rahmen einer chronischen Niereninsuffizienz zu einer modifizierten Expression von ICAM-1 führt.

Abstract

1,25-D3 is a potent immunomodulatory vitamin modulating MHC class II expression in monocytes and epithelial cells. However, the impact of 1,25-D3 on the expression of adhesion molecules in epithelial cells has not been investigated. Human renal tubular epithelial and renal carcinoma cells express ICAM-1, a ligand of the leukocyte function associated antigen-1 (LFA-1). Therefore, we asked the question whether 1,25-D3 is modulatory on ICAM-1 expression by renal carcinoma cells. Using an Enzyme-Linked Immunoassay we detected an increase of ICAM-1 expression by a renal carcinoma cell line (ACHN) cultured in the presence of 1,25-D3. Also, in ACHN cells stimulated with γ-IFN a significant stimulatory effect of 1,25-D3 was evident. ICAM-1 is crucial for the adhesion of LFA-1 expressing lymphocytes and is involved in antigen presentation. In addition, ICAM-1 may be of significance in lymphocyte lysis of tumor cells. Therefore, the impact of 1,25-D3 on ICAM-1 expression by renal and non renal carcinoma cells and renal tubular epithelial cells may of clinical importance.

Einleitung

Bei Patienten mit chronischer Nierenisuffizienz lassen sich Defekte der humoralen und zellulären Immunität nachweisen. Die Ursachen der gestörten zellulären Immunität in der Urämie und bei dialysierten Patienten sind nur zum Teil verstanden. Es ist in den letzten Jahren jedoch deutlich geworden, daß gestörte T-lymphozytäre Funktionen bei verschlechterter Nierenfunktion zum Teil auf eine Störung bei der Präsentation von Fremdantigen durch Makrophagen an T-Lymphozyten zurückzuführen sind.

Die Präsentation intrazellulär prozessierten Antigens an T-Lymphozyten erfolgt durch antigenpräsentierende Zellen (APZ). APZ exprimieren MHC Klasse II Moleküle, in deren Assoziation Fremdantigen als kurzstreckiges Peptid in physikalischen Kontakt zu T-Zellrezeptor positiven Lymphozyten gebracht wird (1, 2). Neben der Expression von MHC Klasse II Molekülen ist jedoch die Anwesenheit sogenannter kostimulierender Signale erforderlich, damit eine Aktivierung des T-lymphozytären Interleukin-2-Gens, eine T-Zellproliferation und deren klonale Expansion der Antigenpräsentation folgt. Als kostimulative Signale werden verschiedene membranständige, durch APZ produzierte Proteine diskutiert, wobei aufgrund neuerer Untersuchungen lösliche Faktoren (Zytokine) als kostimulierende Signale weniger wahrscheinlich sind (2). Das Interzelluläre Adhäsionsprotein-1 hat möglicherweise eine bedeutsame kostimulierende Funktion bei der Präsentation von Alloantigen. Eine Zusammenfassung des derzeiti-

gen Kenntnisstandes zur Bedeutung kostimulativer Faktoren wurde von Jenkins und Johnson (2) veröffentlicht.

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz weisen einen Mangel an dihydroxyliertem Vitamin D3 (1,25-D3) auf. Dieser Mangel führt häufig zu ausgeprägten Veränderungen des Calzium-und Phosphatstoffwechsels. Aufgrund einiger Literaturhinweise kann nun vermutet werden, daß zwischen dem Mangel and 1,25-D3 und der gestörten zellulären Immunität bei der chronischen Niereninsuffizienz eine ursächliche Verbindung besteht.

So existieren Hinweise darauf, daß die Expression von MHC Klasse II Molekülen und der oben beschriebene Vorgang der Antigenpräsentation durch 1,25-Dihydroxycholekalziferol beeinflußt werden. Dahingehende Untersuchungen wurden u.a. an monozytären Zellen (WEHI-3) vorgenommen. Es wurde gezeigt, daß nach Inkubation mit 1,25-D3 eine deutliche Zunahme der MHC Klasse II Expression durch diese Zellen und eine Stimulation ihrer antigenpräsentierenden Funktion nachweisbar ist (3). Zudem ist bekannt, daß die MHC Klasse II Produktion auch auf Epithelzellen (HEp- 2) durch 1,25-D3 reguliert wird (4).

Da verschiedene epitheliale Zellen (z.B. Nierenepithelzellen) in der Kultur MHC Klasse II Moleküle und ICAM-1 exprimieren und Nierentubuluszellen zur Antigenpräsentation in der Lage sind, andererseits regulative Effekte von 1,25-D3 auf die ICAM-1 Expression durch epitheliale Zellen bislang nicht untersucht wurden, prüften wir den Einfluß von 1,25-D3 auf die Expression des ICAM-1 zweier humaner epithelialer Zellinien.

Material und Methoden

Reagenzien

1,25-Dihydroxycholekalziferol wurde freundlicherweise von der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach-Whylen, zur Verfügung gestellt. Es wurde in 40% Ethanol gelöst und lichtgeschützt in Glasgefäßen bei -20°C aufbewahrt. Für die Versuche wurde es in dem jeweiligen Medium weiterverdünnt, der Alkoholgehalt war auf maximal 0,02% reduziert. Interferon-gamma (γ-IFN) wurde von Sigma (Deisenhofen) bezogen und in Phosphatpuffer (PBS, pH 7,2) gelöst in Aliquots von 10000 U/ml bei -80°C gelagert.

Die Zellkulturmedien und das bovine Serumalbumin (BSA) waren von Serva (Heidelberg). Der murine monoklonale Antikörper gegen das Interzelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1, anti CD54) kam von Dianova (Hamburg). Er wurde in 100 µl-Portionen 1:10 in PBS vorverdünnt bei -20°C aufbewahrt. Peroxidase konjugiertes Anti-Maus-IgG und 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin-6-Sulfonsäure) Ammoniumsalz (ABTS) waren von Sigma, Natriumacetat von Merck (Darmstadt).

Zellkultur

Die von der American Type Culture Collection (ATCC: CCL 23) bezogene humane HEp-2 Zellinie stammt aus einem Plattenepithelkarzinom des Larynx; sie wurde zu Untersuchungen der immunregulatorischen Funktion von 1,25-D3 herangezogen (4). Die permanente ACHN Zellinie stammt aus einem humanen Adenokarzinom der Niere und wurde ebenfalls vom ATCC (CRL-1611) bezogen. Sie hat sich als Modell für nephrologische (5) und onkologische (6) Untersuchungen bewährt.

Die Zellen wuchsen als adhärenter, konfluierender Zellrasen in 25cm^2-Kulturflaschen (Falcon) bei 37°C in 5% $C0_2$ und wasserdampfgesättigter Atmosphäre und wurden 2-3 mal pro Woche passagiert. Dazu wurden die Kulturflaschen nach Abgießen des verbrauchten Zellkulturmediums mit PBS gespült. Durch Inkubation mit Trypsin-EDTA (3 min bei 37°C) wurden die Zellen vom Flaschenboden abgelöst, Zugabe von FCS-haltigem Medium inaktivierte anschließend das Trypsin. Die Zellsuspension wurde 10 min bei 1000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das Zellpellet mit frischem Medium aufgenommen und auf sechs Flaschen verteilt.

Das für HEp-2 und ACHN Zellen verwendete Kulturmedium setzte sich aus Dulbecco's modified Eagle Medium (DMEM), 10% fetalem Kälberserum (FCS), 1% L-Glutamin und 1% Natrium-Pyruvat zusammen.

Bestimmung von HLA-DR und ICAM-l auf Epithelzellen

Die zu untersuchenden Zellen (HEp-2, ACHN) wurden in einer Konzentration von 10^4 Zellen/Vertiefung in 96-Loch-Flachboden-Mikrotiterplatten (Falcon) eingesät und, nachdem sie am Boden adhäriert waren (nach ca. 6h), mit 1,25-D3 (10^{-20}- 10^{-6} mol/l) und/oder γ–Interferon (0,25-500 U/ml) stimuliert. Anschließend wurden die Platten über 72h (HLA-DR) bzw. 24 h (ICAM- 1) bei 37°C inkubiert. Zur Vermeidung von Verdunstungsartefakten blieben die Vertiefungen am Rand der Mikrotiterplatten zellfrei und wurden mit Kulturmedium gefüllt.

Die Auswertung des Versuchs erfolgte mittels Sandwich-ELISA (7, 8). Dazu wurden die Zellen nach Abschluß der Inkubation und Entfernen des

Überstandes 1h bei Raumtemperatur mit 1% Paraformaldehyd (100µl/Vertiefung) fixiert. Vor jedem im Folgenden beschriebenen Arbeitsgang wurden die Platten dreimal mit PBS-Puffer (100µl/Vertiefung) gewaschen. Der Zellrasen wurde für 1h mit 2% BSA in PBS bei 37°C inkubiert, um unspezifische Proteinbindungsstellen abzusättigen. Danach erfolgte die Inkubation mit dem Primärantikörper für eine Stunde (anti-ICAM-1) oder über Nacht (anti-HLA-DR) (100µl/Vertiefung 1:1000 in 0,1% BSA/PBS) bei 37°C.

Als Sekundärantikörper diente Peroxidase konjugiertes Anti-Maus-IgG (100µl/Vertiefung 1:1000 in 0,1% BSA/PBS; 1h bei 37°C). Anschließend wurden 100µl/Vertiefung Substrat aus ABTS (1 mg/ml) und Wasserstoffperoxid (0,28µl 30% H_2O_2/ml) in 0,1 M Natriumacetat (pH 4,2) auf die Zellen gegeben. Die Messung der optischen Dichte erfolgte wiederholt bis zu 2h nach Substratzugabe bei 405 nm mit einem Plattenphotometer (Behring EL 311).

Die Detektion der ICAM-1-Expression erfolgte prinzipiell wie die der HLA-DR Antigene. Die Zellen wurden in einer Konzentration von $2x10^4$ Zellen/Vertiefung in 96-Loch-Flachbodenplatten eingesät und nach 6h mit 1,25-D3 und/oder γ-IFN stimuliert. Nach Fixation mit Paraformaldehyd und Blockierung mit 2% BSA/PBS wurden die Zellen 1h bei 37°C mit dem Anti-ICAM-1-Antikörper (100µl/Vertiefung, 1:1000 in 0,1% BSA/PBS) inkubiert und anschließend mit Peroxidase konjugiertem Anti-Maus-IgG (100µl/Vertiefung 1:1000 in 0,1% BSA/PBS) und Substrat versehen. Die Extinktion konnte nach 2h bei 405 nm abgelesen werden.

Statistik

Für jeden Versuch wurden Mittelwert, Standardabweichung, Median und 95%-Vertrauensbereich aus 6-12 Einzelmessungen bestimmt. Jeder Versuch wurde mindestens dreimal durchgeführt. Der statistische Vergleich der unabhägigen Stichproben erfolgte mittels U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (9).

Ergebnisse

ICAM-1 ist auf HEp-2 und ACHN Zellen mittels eines ELISA nachweisbar und wird durch γ-IFN stimuliert

Wir hatten in vorangegangenen Untersuchungen gezeigt, daß das ICAM-1 auf HEp-2 und ACHN Zellen mittels eines ELISA detektierbar ist (8). Ein Vorteil diese Methodik ist die relativ einfache Durchführbarkeit und bei Verwendung von 96-Lochplatten die gleichzeitige Analyse einer großen Zahl von Epithelzellen in einem simultanen Testansatz. Zudem ergibt sich im ELISA die Möglichkeit einer genauen quantitativen und damit statistischen Erfassung der Ergebnisse.

Abbildung 1 A und 1 B zeigen eine Dosis-Wirkungsbeziehung der Stimulation von ICAM-1 durch HEp-2 und ACHN Zellen in Abhängigkeit von der verwendeten Konzentration γ-IFN. Die geringste Dosis γ-IFN, die bei HEp-2 und ACHN Zellen in wiederholten Versuchen über 24 Stunden einen signifikanten Anstieg der ICAM-1 Expression erbrachte war 15 bzw. 7,5 U/ml.

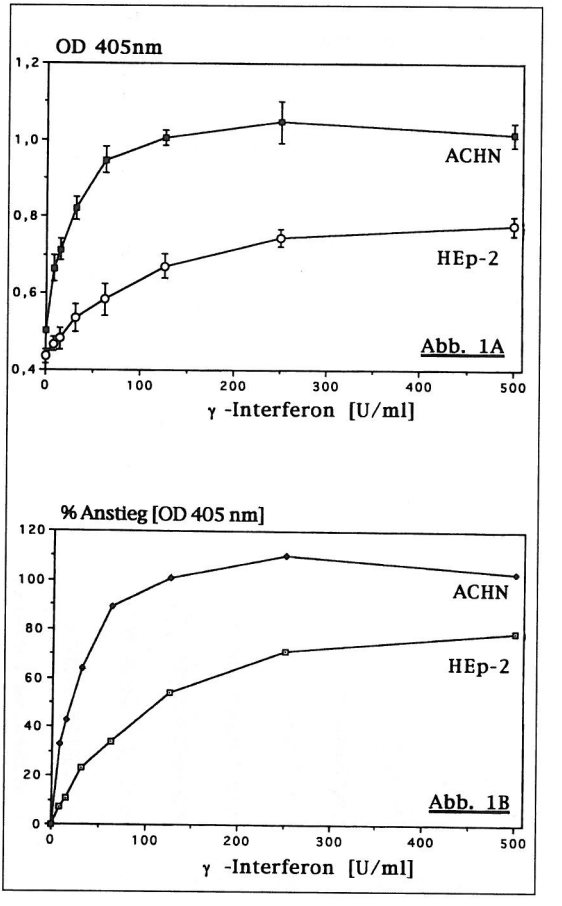


Abb.1: γ-Interferon stimuliert die Expression von ICAM-1 durch ACHN und HEp-2 Zellen. ACHN und HEp-2 Zellen wurden mit γ-Interferon (0-500 U/ml) über 24 Stunden inkubiert und die Expression von ICAM-1, wie im Methodenteil angegeben, bestimmt. Die Abbildung 1 A zeigt die optische Dichte (OD 405 nm; Mittelwert, Standardabweichung), die Abbildung 1 B den jeweiligen prozentualen Anstieg im Vergleich zur nicht mit γ-Interferon inkubierten Kontrollreihe.

1,25-D3 erhöht die MHC Klasse II (HLA-DR) Expression durch HEp-2 Zellen

In der Literatur ist beschrieben, daß 1,25-D3 die Expression von MHC Klasse II Molekülen durch HEp-2 erhöht. Diese Untersuchungen wurden mit einem fluoreszenztechnischen Verfahren durchgeführt und mikroskopisch ausgewertet (4). Es war zu prüfen, ob die von uns gewählte Methodik für eine Analyse immunregulatorischer Effekte von 1,25-D3 geeignet ist bzw. ob die uns zur Verfügung gestellte Substanz 1,25-D3 eine biologische Wirkung aufweist. Daher haben wir diese bekannten Daten überprüft.

Die in Abbildung 2 aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß auch in unserem Testsystem 1,25-D3 eine deutliche Erhöhung der MHC Klasse II (HLA-DR) Immunreaktivität von mit γ-Interferon stimulierten HEp-2 Zellen im ELISA bewirkt. Damit wird die Expression von HLA-DR Molekülen von HEp-2 Zellen durch 1,25-D3 erhöht.

Gleichartige Versuche bei ACHN Zellen konnten nicht vorgenommen werden, da diese Zellen auch durch hohe Konzentrationen von γ-IFN nicht zur Expression von HLA-DR Molekülen stimuliert werden konnten.

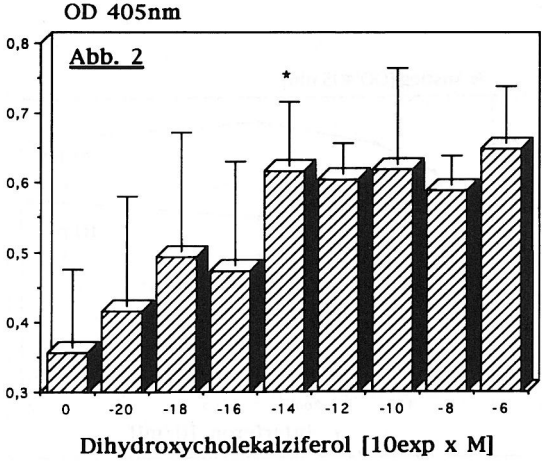


*Abb. 2: 1,25-D3 steigert die Expression von MHC Klasse II (HLA-DR) Molekülen durch HEp-2 Zellen. HEp-2 Zellen wurden über 72 Stunden mit 1,25-D3 (mol/l) in Kombination mit γ-Interferon (500 U/ml) inkubiert und die HLA-DR Expression wie im Methodenteil beschrieben detektiert. Mittelwert, Standardabweichung, * zeigt einen signifikanten Unterschied von $p < 0,05$ zur nicht mit 1,25-D3 inkubierten Kontrolle an.*

1,25-D3 steigert die konstitutive Expression von ICAM-1 durch HEp-2 und ACHN Zellen

Um regulatorische Einflüsse von 1,25-D3 auf die Produktion von ICAM-1 zu untersuchen, wurden HEp-2 und ACHN Zellen für 24 Stunden in Gegenwart von 1,25-D3 (10^{-20}-10^{-6} mol/l) kultiviert. Wie aus der Tabelle 1 und den Abbildungen 3 und

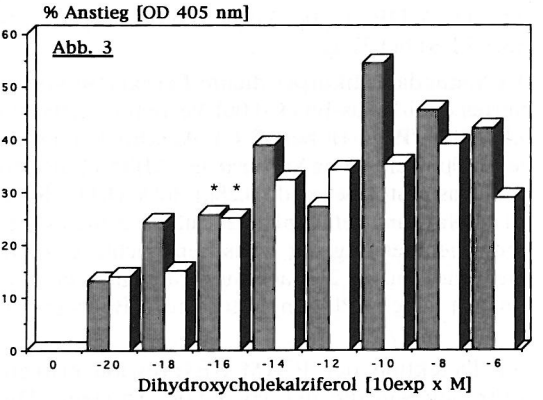


*Abb. 3: Prozentualer Anstieg der ICAM-1 Expression von ACHN-Zellen, die mit 1,25-D3 (mol/l) allein (schraffierte Säulen) oder kombiniert mit γ-IFN (500 U/ml, offene Säulen) inkubiert wurden. Vergleich jeweils zur nicht mit 1,25-D3 inkubierten Versuchsreihe. *: niedrigste Konzentration von 1,25-D3, die zu einer signifikanten Erhöhung der ICAM-1 Expression im Vergleich zur Kontrolle führte. Daten aus je einem repräsentativen Versuch.*

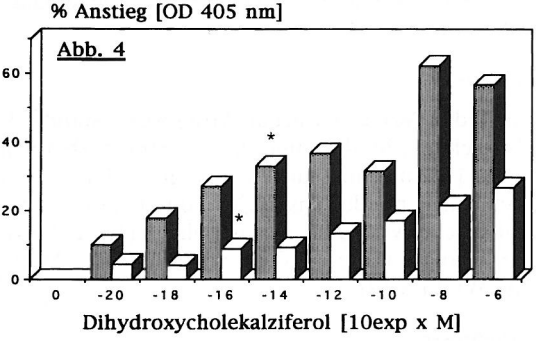


*Abb. 4: Prozentualer Anstieg der ICAM-1 Expression von HEp-2-Zellen, die mit 1,25-D3 (mol/l) allein (schraffierte Säulen) oder kombiniert mit γ-IFN (500 U/ml, offene Säulen) inkubiert wurden. Vergleich jeweils zur nicht mit 1,25-D3 inkubierten Versuchsreihe. *: niedrigste Konzentration von 1,25-D3, die zu einer signifikanten Erhöhung der ICAM-1 Expression im Vergleich zur Kontrolle führte. Daten aus je einem repräsentativen Versuch.*

Nr.	γ-IFN	1,25-D3	Daten	HEp-2 1.Exp.	HEp-2 2.Exp.	HEp-2 3.Exp.	γACHN 1.Exp.	γACHN 2.Exp.	γACHN 3.Exp.
1	0	0	M W: ±SD:	0,295 0,011	0,286 0,018	0,191 0,019	0,164 0,019	0,137 0,010	0,193 0,023
2	0	10^{-12}	M W: ±SD: %:	0,353* 0,022 20	0,339* 0,023 19	0,195 0,011 2	0,240* 0,032 46	0,197* 0,009 44	0,217 0,039 12
3	0	10^{-6}	M W: ±SD: %:	0,406* 0,025 38	0,365* 0,020 28	0,220* 0,012 15	0,233* 0,049 42	0,179* 0,015 31	0,220* 0,033 14

	γ-IFN	1,25-D3	Daten	HEp-2 1.Exp.	HEp-2 2.Exp.	HEp-2 3.Exp.	ACHN 1.Exp.	ACHN 2.Exp.	ACHN 3.Exp.
4	0	0	MW: ±SD:	0,129 0,011	0,142 0,012	0,154 0,008	0,092 0,003	0,092 0,003	0,090 0,002
5	500	0	MW: ±SD: %:	0,193** 0,021 50	0,209** 0,032 47	0,321** 0,024 108	0,149** 0,022 60	0,171** 0,011 86	0,133** 0,015 48
6	500	10^{-14}	MW: ±SD: %:	0,283** 0,017 47	0,264** 0,036 26	0,406** 0,018 26	0,195** 0,022 31	0,186** 0,033 9	0,189** 0,030 42
7	500	10^{-6}	MW: +SD: %:	0,330** 0,015 71	-	0,457** 0,037 42	0,181 ** 0,010 21	0,259** 0,024 51	0,204** 0,030 53

*Tabelle 1 und 2: 1,25-D3 steigertdie Expression von ICAM-1 durch ACHN und HEp-2Zellen. ACHN und HEp-2 Zellen wurden über 24 Stunden mit 1 ,25-D3 (mol/l) oder γ-Interferon (U/ml) allein (Tabelle 1) und in Kombination (Tabelle 2) inkubiert und die ICAM-1 Expression, wie im Methodenteil beschrieben, detektiert. Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und prozentuale Abweichung zur entsprechenden Kontrolle (Nr. 1 und Nr. 5). * und ** zeigen einen signifikanten Unterschied von p < 0,05 zur jeweiligen Kontrolle (Nr. 1 und Nr. 5) an.*

4 hervorgeht, wurde bei beiden Zellinien gefunden, daß 1,25-D3 eine deutliche Stimulation der konstitutiven ICAM-1 Expression bewirkt. Die niedrigste Konzentration, die zu einer signifikanten Zunahme der konstitutiven Immunreaktivität für ICAM-1 durch ACHN bzw. HEp-2 Zellen führte war 10^{-16} mol/l.

1,25-D3 stimuliert nicht nur die konstitutive, sondern auch die durch γ-Interferon gesteigerte ICAM-1 Expression von ACHN und HEp-2 Zellen.

Wir prüften dann, ob 1,25-D3 einen Einfluß auf die ICAM-1 Expression von Epithelzellen hat, die gleichzeitig mit γ-Interferon stimuliert wurden. Wie die Abbildungen 3 und 4 und die Tabelle 2 zeigen, konnte eine ICAM-1 Stimulation durch 1,25-D3 auch bei mit γ-Interferon inkubierten ACHN und HEp-2 Zellen nachgewiesen werden, wenngleich in Abhängigkeit von der Zellinie einerseits und der Höhe der gewählten Konzentration von γ-Interferon anderseits Unterschiede in der zum Nachweis einer signifikanten Erhöhung notwendigen Konzentration von 1,25-D3 zu beobachten waren.

Diskussion

Die Präsentation von Fremdantigen durch APZ an T-Lymphozyten ist von zentraler Bedeutung für die zelluläre Immunität. Neben vielfältigen Bedingungen für eine erfolgreiche Antigenpräsentation (z .B. intrazelluläres Prozessieren des Fremdeiweißes) ist die Expression von MHC Klasse II Molekülen einerseits und sogenannter kostimulativer Signale durch APZ andererseits essentiell für die erfolgreiche Antigenpräsentation.

Wir haben uns in der vorliegenden Arbeit die Frage gestellt, ob das den Kalzium- und Phosphathaushalt regulierende 1,25-D3 einen Einfluß auf die Expression eines als kostimulatives Signal diskutierten Zelloberflächenmoleküls, des Interzellulären Adhäsionsmolekül- 1 (ICAM- 1), hat. Hintergrund dieser These war die von mehreren Arbeitsgruppen beschriebene Beobachtung, daß 1,25-D3 die Produktion von Zytokinen (10), die

Expression von MHC Klasse II Molekülen (4, 11) und auch die Antigenpräsentation von Monozyten (12), bzw. monozytären Zellinien (13) modifiziert. Unseren Untersuchungen lag ferner die Kenntnis zugrunde, daß das ICAM- 1 immunakzessorische Funktionen bei der Antigenpräsentation u.a. durch Tubulusepithelzellen (14, 15, 23) hat und durch die von uns untersuchten Zellen exprimiert wird (8) .

Wir haben deutlich machen können, daß 1,25-D3 die Expression von ICAM-1 durch renale (ACHN) und nicht-renale Karzinomzellinien (HEp-2) erhöht. Hierbei war zu beobachten, daß dieser stimulative Effekt nicht auf eine Zellinie beschränkt war und sowohl bei nicht vorstimulierten, als auch bei bereits durch γ-Interferon stimulierten Zellen nachweisbar war.

Aus welchem Grund wurden die beiden Karzinomzellinien ACHN (humanes Nierenkarzinom) und HEp-2 (humanes Larynxkarzinom) für unsere Untersuchungen verwendet? Intensive Forschungen haben ergeben, daß eine Reihe von Epithelzellen, u.a. renale Tubulusepithelzellen unter bestimmten Bedingungen in vitro antigenpräsentierende Eigenschaften demonstrieren können (16). Da wir kürzlich stimulative Effekte von 1,25-D3 auf die ICAM-1 Expression humaner, SV40 virustransformierter Tubulusepithelzellen haben nachweisen können (24) und in vorangegangenen Untersuchungen gezeigt hatten, daß γ-Interferon das ICAM-1 auf ACHN Zellen stimuliert (8), interessierte uns, ob ein ähnlicher Einfluß von 1,25-D3 auch bei maligne entarteten und in Langzeitkultur gehaltenen Nierenkarzinomzellen (ACHN) vorliegt. Hierbei ist von Bedeutung, daß Nierenkarzinomzellen von Tubulusepithelien abstammen (17). Mit der humanen Larynxkarzinomzellinie HEp-2 verwendeten wir eine Zellinie, bei der Effekte von 1,25-D3 auf die MHC Klasse II Expression bereits nachgewiesen wurden. Zudem sind beide Zellinien kommerziell erhältlich, in der Kultur unproblematisch und in ihrer Zusammensetzung nicht heterogen. Dennoch kann die Verwendung von Karzinomzellinien für die dargestellte Fragestellung nur als ein erster Ansatz verstanden werden, wenn regulative Effekte des 1,25-D3 auf immunologische Prozesse in vitro analysiert werden sollen.

Wenn an eine mögliche klinische Bedeutung immunregulierender Funktionen des 1,25-D3 gedacht wird, so sind hier vor allem Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu erwähnen, bei denen aufgrund des fortschreitenden Verlustes von Nierengewebe der physiologischerweise erfolgende Hydroxylierungsschritt an der Position 25 des 1-Hydroxycholekalziferols zunehmend unterbleibt. Es kommt zu einem Mangel an biologisch aktivem 1,25-D3, der zur Vermeidung des resultierenden sekundären Hyperparathyreoidismus durch Gabe von 1,25-D3 ausgeglichen werden sollte.

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz leiden an einer zellulären Immundefizienz („urämische Immundefizienz"), die von klinischer Signifikanz ist (18) und zu einer erhöhten Inzidenz von Infektionen (19) und einer verminderten Immunität nach aktiver Immunisierung führt (20). Diese immunologische Dysregulation bei chronischer Niereninsuffizienz kommt z.B. in einer verminderten Sekretion von Interleukin-2 durch T-Lymphozyten zum Ausdruck (21), möglicherweise infolge Fehlens eines kostimulativen Signals von Monozyten (22). Bislang ist jedoch eine veränderte Expression des ICAM-1 oder anderer kostimulierender Faktoren bei Patienten mit Niereninsuffizienz nicht untersucht worden. Eine ursächliche Beteiligung des 1,25-D3-Mangels an der „urämischen Immundefizienz" ist daher z. Zt. lediglich spekulativ.

Unsere Untersuchungen geben einen weiteren Hinweis auf vorhandene Einflüsse des 1,25-D3 auf immunologische Prozesse in vitro, diese Erkenntnisse sollen durch eine Analyse möglicher immunmodulierender Eigenschaften dieses Vitamins in vivo erweitert werden.

Danksagung

Für die Unterstützung der Studie sei der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach-Whylen und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 367, B3 [B.K.]) gedankt. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist Teil der Promotionsarbeit von Frau Sabine Brzoska.

Literatur

1. Wuthrich RP, Glimcher LH, Yui MA, Jevnikar AM, Dumas SE, Kelley VE: MHC class ll, antigen presentation and tumor necrosis factor in renal tubular epithelial cells. Kidney International 37:783-792 (1990)
2. Jenkins NK, Johnson JG: Molecules involved in T-cell costimulation. Current Opinion in Immunology 5:361-367 (1993)
3. Morel PA, Manolagas SC, Provvedini DM, Wegmann DR, Chiller JM: Interferon-y-induced IA expression in Wehi-3 cells is enhanced by the presence of 1,25-dihydroxyvitamin D3. Journal of Immunology 136:2181-2186 (1986)
4. Tamaki K, Nakamura K: Differential enhancement of interferon-γ-induced MHC class ll expression of HEp-2 cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. British Journal of Dermatology 123:333-338 (1990)
5. Miki S, Iwano M, Miki Y, Yamamoto M, Yohokawa K, Sonoda T, Hirano T, Kishimoto T: Interleukin-6 (IL-6) functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. FEBS letters 250:607-610 (1989)

6. Ruzicka FJ, Schmid SM, Groveman DS, Cummings KB, Borden EC: Variation in the binding of ^{125}I-labeled interferon-β_{ser} to cellular receptors during growth of human renal and bladder carcinoma cells in vitro. Cancer Res. 47:4582-4589 (1987)

7. Rothlein R, Czajkowski M, O'Neill MM, Marlin SD, Mainolfi E, Merluzzi E: Induction of intercellular adhesion molecule 1 on primary and continuous cell lines by pro-inflammatory cytokines. Regulation by pharmacologic agents and neutralizing antibodies. Journal of Immunology 141:1665-1669 (1988)

8. Kreft B, Bohnet S, Carstensen O, Hacker J, Marre R: Differential expression of interleukin-6, intercellular adhesion molecule 1, and major histocompatibility complex class ll molecules in renal carcinoma cells stimulated with S fimbriae of uropathogenic Escherichia coli. Infection and Immunity 61:3060-3063 (1993)

9. Sachs L: Angewandte Statistik. 230-234 (1984)

10. Müller K, Haahr PM, Diamant M, Rieneck K, Kharazmi A, Bendtzen K: 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits cytokine production by human blood monocytes at the post-transcriptional level. Cytokine 4:506-512 (1992)

11. Tokuda N, Mizuki N, Kasahara M, Levy RB: 1,25-dihydroxyvitamin D_3 down-regulation of HLA-DR on human peripheral blood monocytes. Immunology 75:349-354 (1992)

12. Rigby WFC, Waugh M, Graziano RF: Regulation of human monocyte HLA-DR and CD4 antigen expression, and antigen presentation by 1,25dihydroxyvitamin D3. Blood 76:189-197 (1990)

13. Vey E, Zhang J-H, Dayer J-M: IFN-γ and $1,25(OH)_2D_3$ induce on THP-1 cells distinct patterns of cell surface antigen expression, cytokine production, and responsiveness to çontact with activated T cells. Journal of Immunology 149:2040-2046 (1992)

14. Brennan DC, Jevnikar AM, Takei F, Rubin-Kelley VE: Mesangial cell accessory functions: mediation by intercellular adhesion molecule-1. Kidney International 38:1039-1046 (1990)

15. van Seventer GA, Shimizu Y, Horgan KJ, Shaw S: The LFA-1 ligand ICAM-1 provides an important costimulatory signal for T cell receptormediated activity of resting T cells. Journal of Immunology 144:4579-4586 (1990)

16. Rubin-Kelley VE, Jevnikar AM: Antigen presentation by renal tubular epithelial cells. Journal of the American Society of Nephrology 2:13-26 (1991)

17. Thoenes W, Rumpelt HJ, Störkel S: Klassifikation der Nierenzellkarzinome/Tumoren und ihre Beziehung zum NephronSammelrohrsystem. Klinische Wochenschrift 68:1102-1111 (1990)

18. Köhler H, Girndt M, Dumann H, Klingel R: Immundefekt bei Niereninsuffizienz. Deutsche Medizinische Wochenschrift und Deutsche Medizintechnik 118:757-761 (1993)

19. Helm EB, Frei U, Fassbinder W: Tuberkulose bei Patienten mit chronisch intermittierender Dialysebehandlung. Münchener medizinische Wochenschrift 125:851-852 (1983)

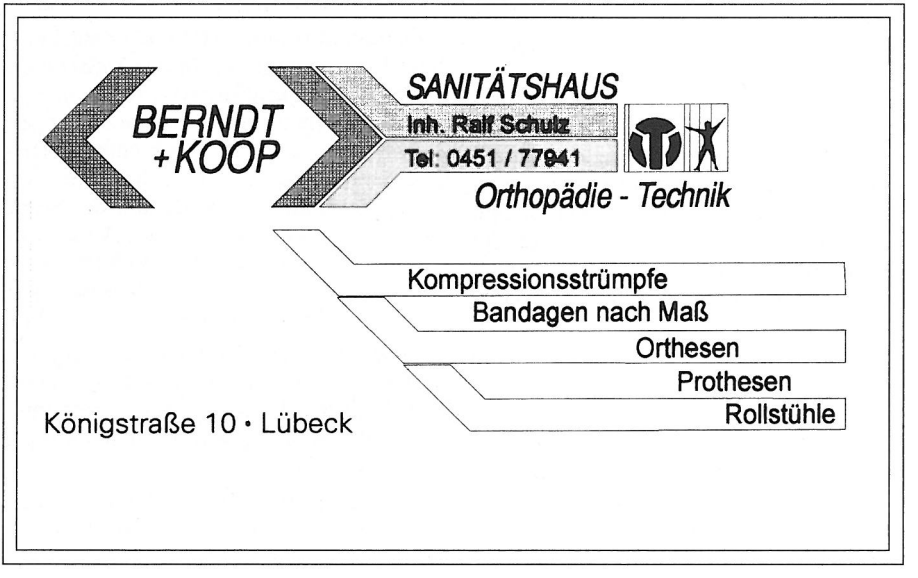
20. Köhler H, Arnold W, Renschin G, Dormeyer HH, Meyer zum Büschenfelde KH: Active hepatitis B vaccination of dialysis patients and medical staff. Kidney International 25:124-128 (1984)

21. Kurz P, Köhler H, Meuer S, Hüttenroth T, Meyer zum Büschenfelde KH: Impaired cellular immune responses in chronic renal failure: evidence for a T cell defect. Kidney International 29:1209-1214 (1986)

22. Meuer SC, Hauer M, Kurz P, Meyer zum Büschenfelde KH, Köhler H: Selective blockade of the antigen-receptor-mediated pathway of T cell activation in patients with impaired immune resposes. Journal of Clinical Investigation 80:743-749 (1987)

23. Jevnikar AM, Wuthrich RP, Takei T., Xu HW, Brennan DC, Glimcher LH, Rubin-Kelley VE: Differing regulation and function of ICAM-1 and class antigens on renal tubular cells. Kidney International 38: 417-425 (1990)

24. Kreft B, Brzoska S, Müller F, Daha, M R, van der Wonde F J, Sak K, : 1,25- dihydroxy cholecaliferol enhances the expression of MHC class II antigens and intercellular adhesion molecule - 1 by primary and SV 40 transfected human renal tubular epithelial cells. Kidney International (zur Veröfentlichung eingereicht).



Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. med. K. Diedrich) und der Asta Medica AG, Frankfurt[1]

GnRH-Antagonisten und In-vitro-Fertilisation

Ein Überblick

R. Felberbaum, T. Reissmann[1], W. Küpker, S. Al-Hasani, C. Diedrich und K. Diedrich

Zusammenfassung:

Das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), pulsatil vom mediobasalen Hypothalamus an die Hypophyse abgegeben, spielt die zentrale Rolle in der Steuerung des ovariellen Zyklus der erwachsenen Frau. Durch Veränderung der Molekularstruktur dieses Hormons ist es gelungen, sowohl agonistisch als auch antagonistisch wirksame Analoga herzustellen. Im Gegensatz zu den GnRH-Agonisten, die zunächst einen stimulierenden Effekt („flare up") an der Hypophyse ausüben, um dann über eine Verminderung der zellmembranständigen Rezeptoren („down regulation") zur Desensitivierung der Hypophyse zu führen, bewirken die Antagonisten eine sofortige Entkoppelung der Hypothalamo-hypophysär-ovariellen Achse im Sinne einer klassischen kompetitiven Hemmung am GnRH-Rezeptor. Der vorzeitige Anstieg des luteinisierenden Hormons (LH), eines der Hauptprobleme der ovariellen Stimulation im Rahmen eines Programmes der In-vitro-Fertilisation (IVF), läßt sich durch die begleitende Behandlung sowohl mit einem GnRH-Agonisten als auch mit einem GnRH-Antagonisten vermeiden. Allerdings führt die kurzzeitige Anwendung eines GnRH-Antagonisten zu einer deutlichen Verkürzung des Therapiezyklus und zu einer Verminderung des Verbrauchs von humanen Menopausengonadotropinen (HMG). Die bei den ersten Vertretern der GnRH-Antagonisten durch anapyhlaktoide Reaktionen verursachten Probleme aufgrund von Histaminfreisetzung, scheinen mit der jüngsten Generation dieser Präparategruppe überwunden zu sein.

Mit der Geburt des ersten Kindes nach erfolgreicher In-vitro-Fertilisation (IVF) und anschließendem Embryotransfer (ET) im Jahre 1978 begann eine neue Ära der Reproduktionsmedizin (20). Vornehmlich Kinderwunschpatientinnen mit einer tubaren Sterilität konnte hierdurch geholfen werden. Im Laufe der letzten Jahre wandelte sich jedoch das Indikationsspektrum zur IVF grundlegend. Im Vordergrund steht immer mehr die Behandlung der männlichen Subfertilität, die inzwischen schon mit über 50 % als Ursache einer ungewollten Kinderlosigkeit angesehen wird. Spektakulär anmutende Behandlungsmethoden wie die Intrazytoplasmatische Spermatozoeninjektion (ICSI) gelten zwar noch nicht als etablierte Routineverfahren, wie inzwischen die Standard-IVF es geworden ist, jedoch scheint auch dies nur eine Frage der Zeit zu sein (22).

Voraussetzung für einen Behandlungserfolg dieser Verfahren ist die Gewinnung reifer Eizellen und somit eine suffiziente ovarielle Stimulation. Von großer Bedeutung ist hierbei der Einsatz der Gonadotropin-Releasing-Hormone-Agonisten (GnRH-Agonisten), durch deren Anwendung es gelungen ist, einen vorzeitigen Anstieg des Luteinisierenden Hormons (LH) zu vermeiden, wie er bei einer Stimulation nur mit humanen Monopausengonadotropinen (HMG) immerhin in ca. 20 % der Fälle auftritt (7). In der Mehrzahl der Behandungszyklen wird unter vorhergehender Suppression mit einem GnRH-Agonisten stimuliert, vorzugsweise nach dem sogenannten langen Protokoll, welches eine vollständige Unterdrückung der Gonadenfunktion vor Beginn der Stimulation anstrebt (18). Hierbei wird der Agonist in der Mitte der Lutealphase am 20. Zyklustag in Form eines Depotpräparates oder ab diesem Tag als tägliche subcutane oder pernasale Gabe verabreicht.

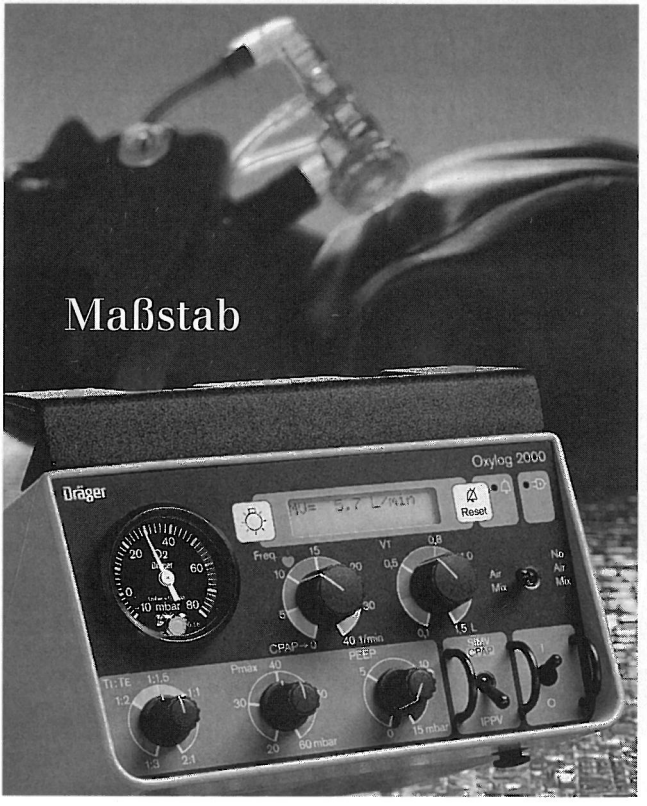
Bisher nur in kontrollierten Studien getestet, scheint der Einsatz von GnRH-Analoga mit antagonistischer Wirkung neue Perspektiven zu eröffnen. Ihre Wirkungsweise soll hier nun näher dargestellt werden.

Der menstruelle Zyklus der Frau wird gesteuert durch das Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und Ovar (2). Der Hypothalamus gibt das

Gonadotropin-Releasing-Hormon in pulsatiler Form aus seinem mediobasalen Anteil des Nucleus arcuatus über das hypophysäre Pfortadersystem an die Adenohypophyse ab. Er bewirkt hier die gleichfalls pulsatile Sekretion des Follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des Luteinisierenden Hormons (LH) aus den gonadotrophen Zellen. Der hypothalamische Pulsgenerator wird dabei von einer Reihe von Neurotransmittern, Neuropeptiden, Steroiden und endogenen Opioiden moduliert. Ein Pulsintervall beträgt beim Menschen etwa 70 bis 90 Minuten. Das GnRH ist ein Dekapeptid, das 1971 von den Arbeitsgruppen um Schally und Guillemin charakterisiert wurde (4, 16). Das GnRH-Molekül bindet an zellmembranständige Rezeptoren der gonadotrophen Zelle der Adenophypohyse. Über eine sogenannte Mikroaggregation der Rezeptoren kommt es zu einer Komplexbildung, die die Wirkung des GnRH erst ermöglicht. Die Konformation der Rezeptoren ändert sich, und die intrazellulären Second-Messenger-Systeme, die die Freisetzung der Gonadotropine bewirken, werden daraufhin aktiviert.(12)

GnRH-Agonisten

Nach erfolgreicher Charakterisierung und Synthetisierung des GnRH-Moleküls wurde das Dekapeptid mit dem Ziel, eine solche Substanz therapeutisch einsetzen zu können, strukturell an Position 6 und 10 modifiziert, um eine höhere Rezeptoranbindungsaffinität zu schaffen und um einen raschen enzymatischen Abbau zu verhindern (5). Der GnRH-Agonist hat eine 100-200fach höhere Affinität zu den GnRH-Rezeptoren als das natürliche GnRH. Es kommt zunächst zu einer vermehrten Ausschüttung der FSH- und LH-Speicher und zu einer vorübergehenden Vermehrung der membranständigen Rezeptoren (sog. Up-Regulation). Bei länger andauernder Einwirkung kommt es entsprechend der Wirkung einer GnRH-Dauerinfusion zur Abnahme der Rezeptorendichte. Die Agonisten-Rezeptorenkomplexe werden in die gonadotrophe Zelle aufgenommen (Internalisierung) und lysosomal aufgedaut. Die Neusynthese der Rezeptoren ist nicht in der Lage, den Rezeptorverlust rasch genug zu kompensieren. Gleichzeitig



Dräger

Intensivbeatmung jetzt auch während des Transports:

Oxylog 2000
Das Transport-Beatmungsgerät

Dräger hat das Prinzip der großen Mikroprozessor-gesteuerten Respiratoren in das Oxylog 2000 umgesetzt. Erstmalig integriert wurden: Exspiratorische Volumenmessung, optische und akustische Alarme für z. B. Diskonnektion, Stenose und Einstellfehler.

Verlangen Sie mehr Informationen.

Drägerwerk AG, Lübeck
Medizintechnik
Telefon (04 51) 882-42 44
Telefax (04 51) 882-38 81

Dräger.
Technik für das Leben.

werden die Postrezeptormechanismen gehemmt, und die Synthese von FSH und LH nimmt ab. Die Hypophyse wird desensitiviert und refraktär gegenüber hypothalamischem GnRH. FSH- und LH-Konzentrationen im Serum fallen ab, die ovarielle Steroidsynthese bleibt aus, die Follikulogenese arretiert. Man spricht dann von der sogenannten Down-Regulation. Nach Beendigung der Agonistenbehandlung setzt nach durchschnittlich 6 Wochen wieder ein hypothalamisch-hypophysär gesteuerter Zyklus ein (11).

Flare up

Bedeutsam bei der Applikation der GnRH-Agonisten ist der sogenannte Flare-up-Effekt. Der Suppression geht eine Stimulation der Gonadotropine voraus. Etwa 12 Stunden nach Anwendung steigen die FSH-Konzentrationen ca. fünffach und die LH-Konzentrationen im Serum fast zehnfach an. Die Östradiolwerte steigen kurzfristig um das Vierfache an. Eine ausdauernde Suppression setzt etwa nach 21 Tagen ein (15). In der klinischen Anwendung ist der Flare-up-Effekt eher unerwünscht. Das sofortige Einsetzen der Suppression bietet als erwünschten Vorteil die Anwendung der GnRH-Antagonisten.

GnRH-Antagonisten

GnRH-Antagonisten wurden parallel zur Entwicklung der Agonisten synthetisiert. Sie erwiesen sich als höchst wirksam. Die Gonadotropine im Serum beginnen bereits nach wenigen Stunden abzusinken (6). Jedoch traten bei den ersten Vertretern dieser Substanzklasse vermehrt allergische Nebenwirkungen bis hin zu schweren anaphylaktoiden Reaktionen auf, was zunächst eine weitere klinische Anwendung vereitelte. Grund der allergischen Reaktionen scheint der systemische histaminfreisetzende Effekt der GnRH-Antagonisten an mit GnRH-Rezeptoren besetzten Mastzellen zu sein (12).

Der Effekt der Antagonisten beruht auf einem völlig anderen Wirkprinzip als bei den Agonisten. Der GnRH-Antagonist konkurriert mit dem nativen

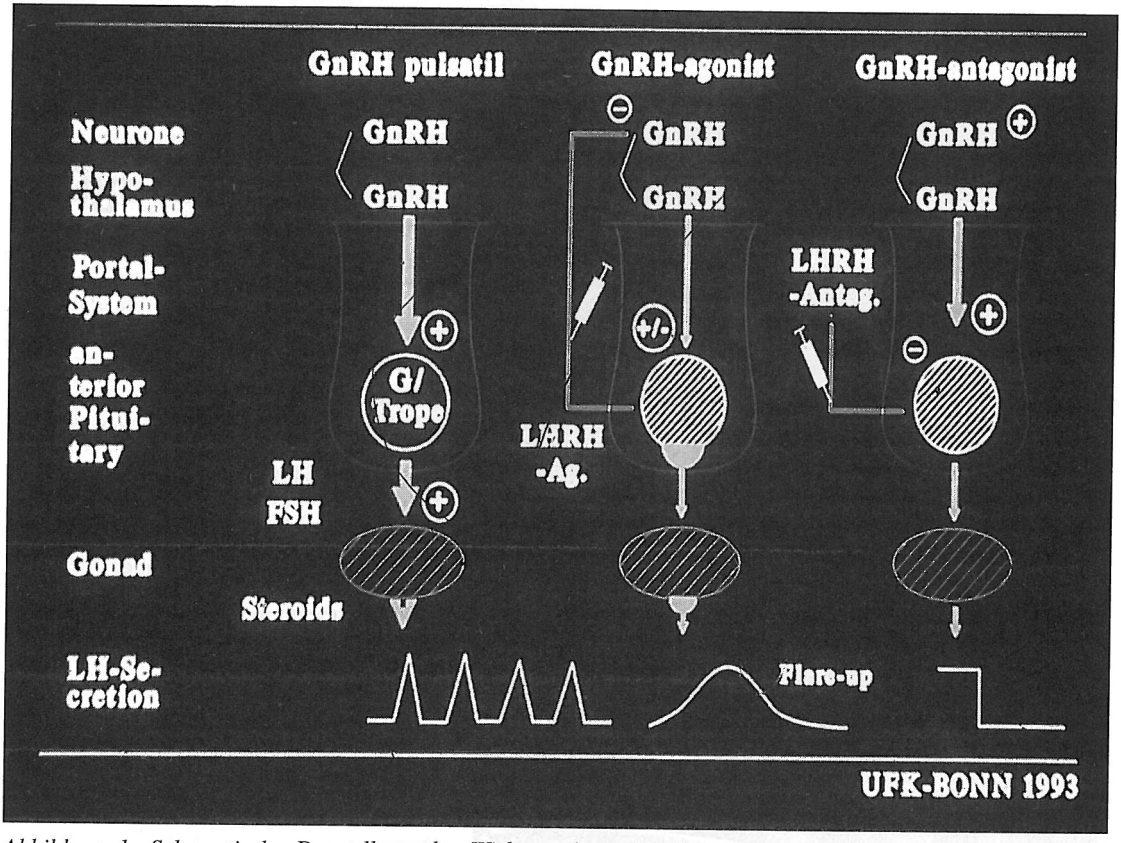


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Wirkung des pulsatil sezernierten nativen GnRH, der GnRH-Agonisten und der GnRH-Antagonisten (Diedrich 1993)

GnRH um die Bindung an den zellmembranständigen Rezeptoren, verhindert dort die Mikroaggregation und unterbindet die Postrezeptormechanismen. Der Antagonist bewirkt eine klassische kompetitive Hemmung am GnRH-Rezeptor, die dem Massewirkungsgesetz folgt. Die antagonisierende Wirkung an der Hypophyse setzt sofort ohne zusätzlichen stimulierenden Effekt ein (13).

Abbildung 1 illustriert in schematischer Form die Wirkung des nativen, pulsatil sezernierten GnRH, der GnRH-Agonisten und der GnRH-Antagonisten.

Mit den folgenden Generationen der GnRH-Antagonisten gelang es, sich dem Ziel einer möglichst nebenwirkungsfreien Präparation zu nähern. Für die Präparationen Nal-Glu, Antide und Cetrorelix liegen die meisten klinischen Daten vor, wobei allein das Cetrorelix mittlerweile die Marktreife erreicht zu haben scheint. In 4 Studien mit insgesamt mehr als 100 Probandinnen mußte keine Probandin wegen allergischer Nebenwirkungen ausgeschlossen werden (7, 13, 1, 14). Nach subkutaner Applikation von 3 mg Cetrorelix kommt es innerhalb von 8 Stunden zum signifikanten Abfall der LH-Konzentrationen. Nach 16 Stunden sind tief supprimierte Werte erreicht. Ein ähnliches Verhalten zeigt sich für LH, FSH und Östradiol bei mittzyklischer Gabe von 50 µg Nal-Glu pro kg Körpergewicht, wie Ditkoff 1991 bei gesunden Frauen mit normalem Zyklusverhalten zeigen konnte. Der ovulationsauslösende mittzyklische Peak wird unmittelbar unterbunden, wobei die LH-Suppression ausgeprägter zu sein scheint als die des FSH (8). Nach Absetzen der Antagonisten normalisiert sich die Gonadenfunktion innerhalb von Tagen, da es nicht, wie bei den Agonisten, zu einer Entspeicherung der gonadotrophen Hypophysenzellen kommt. Aufgrund der kompetitiven Hemmung ist es möglich, den antigonadotrophen Effekt des Antagonisten dosisabhängig zu titrieren, um je nach Indikation eine Basis-Östradiolkonzentration zu erhalten und somit gegebenenfalls typische Nebenwirkungen der Agonistentherapie wie Hitzewallungen und Trockenheit der Vagina zu vermeiden (3). Die Hypophyse selbst bleibt gegenüber dem stimulierenden Reiz des GnRH sensibel und ist weiterhin in der Lage, adäquat zu reagieren. Das zeigten GnRH-Teste, die präovulatorisch unter Cetrorelix-Therapie durchgeführt wurden (9). Ebenso kann die pulsatile GnRH-Applikation unter Antagonistentherapie einen ovulatorischen Zyklus wiederherstellen (18). Hieraus ergeben sich Möglichkeiten, die Ovulation ohne externe Gabe von humanem Choriongonadotropin (HCG) zu induzieren (17).

Anzahl der Eizellen pro Patientin: (n = 221)	10,5
Qualität der Eizellen:	
++	6,7 %
+(+)	33,5 %
+	42,5 %
o	17,3 %
Fertilisationsrate:	61,5 %
Qualität der transferierten Embryonen:	
**	44,6 %
*	42,9 %
(*)	12,5 %

Tab. I: Anzahl und Qualität der gewonnenen Eizellen, Fertilisationsrate und Qualität der transferierten Embryonen (n = 56) nach ovarieller Stimulation mit HMG und dem GnRH-Antagonisten Cetrorelix bei 21 Patientinnen.
*++: reife Eizelle, +(+): intermediäre Eizelle, +: unreife Eizelle, o: degenerierte Eizelle, **: idealer Embryo, *: guter Embryo, (*): schlechter Embryo*

Cetrorelix-Studie

In die neueste Antagonistenstudie der Universitätsfrauenklinik Lübeck wurden 22 Patientinnen aufgenommen. Voraussetzung waren ein normaler Zyklus, tubare Sterilität und Normozoospermie des Partners. Die Stimulation wurde ab dem 2. Tag des Zyklus mit einer Anfangsdosis von 2 Ampullen HMG begonnen. Ab Tag 5 erfolgte die individuelle Dosisanpassung. Die Gabe von Cetrorelix erfolgte ab dem 7. Zyklustag bis zum Tag der Ovulationsinduktion. Bei einem Leitfollikel von 20 mm Durchmesser und Östradiolwerten von 150-300 pg/ml pro Follikel erfolgte die Ovulationsinduktion mit 10.000 I.E. HCG, gefolgt von transvaginaler Follikelpunktion und Embryotransfer. 11 Patientinnen wurden mit einer Cetrorelix-Dosis von 1 mg s.c. per die behandelt, 11 Patienten erhielten lediglich 0,5 mg Cetrorelix. Bei durchschnittlich 12 Behandlungstagen bis zur Ovulationsinduktion wurden im Schnitt 26 Ampullen HMG appliziert. Bei keiner Patientin kam es zu einem endogenen LH-Anstieg. Die Östradiol-Hormonprofile sowie die regelmäßigen vaginalsonographischen Kontrolluntersuchungen gaben eine befriedigende ovarielle Follikelreifung wieder. Es wurden ca. 10 Oocyten pro Patientin gewonnen. Die Fertilisierungsrate lag bei 61,5 % und damit in dem bei normaler Eizellreifung und Normozoospermie zu erwartenden Be-

reich. In der mit 0,5 mg Cetrorelix behandelten Gruppe lag die Fertilisationsrate sogar bei 67,7 %. In jedem Fall kam es zu einem Embryotransfer. Allerdings mußte eine Patientin vorsichtshalber wegen einer geringfügigen Rötung an der Injektionsstelle des Cetrorelix aus der Studie ausscheiden. Tabelle I gibt die Anzahl und Qualität der gewonnenen Eizellen, deren Fertilisationsrate sowie die Qualität der transferierten Embryonen wieder. Die Beurteilung der Qualität erfolgte dabei nach mikroskopisch-morphologischen Kriterien (19, 21). Insgesamt wurden durch dieses Stimulationsprotokoll 7 Schwangerschaften erzielt.

Vorteile der GnRH-Antagonisten

Bei einem Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Agonisten-Stimulationsprotokolle erzielt das lange Protokoll die besten Ergebnisse. Das kurze und das ultrakurze Protokoll haben sicherlichen ihren Nachteil durch den einsetzenden Flare-up-Effekt mit vergleichbar schlechterer Eizellqualität und geringeren Schwangerschaftsraten. Nachteil des langen Protokolls ist die längere Behandlungsdauer und die Notwendigkeit höherer HMG-Dosen. Weiterhin scheint das Risiko eines ovariellen Hyperstimulationssyndroms (OHSS) geringfügig erhöht zu sein (18). Hingegen bieten die Antagonisten den Vorteil einer kürzeren Behandlungsdauer und den rascheren Suppressionseffekt. Die HMG-Dosis liegt vergleichbar dem ultrakurzen Protokoll bei etwa 26 Ampullen pro Zyklus. Die durchschnittliche HMG-Menge im langen Agonisten-Protokoll liegt bei durchschnittlich 40 Ampullen. Zukunftsaspekte ergeben sich hinsichtlich einer sichereren Stimulation von Patientinnen mit polycystischen Ovarien (PCOD) sowie auch in der Möglichkeit, eine Ovulationsinduktion ohne HCG-Gabe zur Prävention eines OHSS durchzuführen. Im gynäkologischen Bereich wären Studien sinnvoll, die Effektivität der Antagonisten bei Endometriose und Uterus myomatosus zu prüfen wie auch ihren Einsatz bei sexualsteroidabhängigen Malignomen, bislang allesamt eine Domäne der GnRH-Agonisten.

Literatur:

1. Behre H. M., Böckers A., Schlingheider A., Nieschlag E. (1994): Sustained suppression of serum LH, FSH and testosterone and increase of high-density lipoprotein cholesterol by daily injections of the GnRH-antagonist Cetrorelix over 8 days in normal men. Clin Endorinol 40: 241-248
2. Bettendorf G. (1989): Diagnostik und Therapie der gestörten Ovarialfunktion, in: Schirren C., Bettendorf G., Leidenberger F., Frick-Bruder V.: Unerfüllter Kinderwunsch, Deutscher Ärzte-Verlag GmbH Köln; 49-95
3. Bouchard P, Caraty A., Medalie D., et al. (1990): Mechanism of action and clinical uses of GnRH-antagonists in women. In: Bouchard P., Haour F., Franchimont P., Schatz B., eds.: Recent Progress on GnRH and Gonadal Peptides. Paris, Elsevier, 209-219
4. Burgus R., Butcher M., Amoss M., et al. (1972): Primary structure of the ovine hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone factor (LRF). Proc Natl Acad Sci USA 69: 278-282
5. Clayton R. N., Catt K. J. (1980): Receptor-binding affinity of gonadotrophin-releasing hormone analogs: analysis by radioligand receptor assay. Endocrinology 106: 1154-1159
6. Coy D. H., Horvath A., Nekola M. V., Coy E. J., Erchеigyi J., Schally A. V. (1982): Peptide Antagonists of LH-RH: large increases in antiovulatory activities produced by basic D-amino acids in the six position. Endocrinology 110: 1445-1447
7. Diedrich K., Diedrich C., Santos E., Zoll C., Al-Hasani S., Reissmann T., Krebs D., Klingmüller D. (1994): Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation, Hum Reprod. 9: 788-791
8. Ditkoff E. C., Cassidenti D. L., Paulson R. J., Sauer M. V., Wellington L. P., Rivier J., Yen S. S. C., Lobo R. A. (1991): The gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu) acutely blocks the luteinizing hormone surge but allows for resumption of folliculogenesis in normal women. Am. J. Obstet. Gynecol. 165: 1811-1817
9. Felberbaum R., Bauer O., Küpker W., Al-Hasani S., Zoll C., Germer U., Diedrich C., Diedrich K. (1994): Hormone profiles and pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH-Antagonists (Cetrorelix). Xth ESHRE Congress, 25.-29.06.1994, Br ussels
10. Gordon K., Danforth D. R., Williams R. F., Hodgen G. D. (1993): The combined use of GnRH antagonists with gonadotrophins or pulsatile GnRH in ovulation induction in: Bouchard P., Caraty A., Coelingh Bennink H. J. T., Pavlou S. N. eds.: GnRH, GnRH-Analogs, Gonadotropins and Gonadal Peptides. The Parthenon Publishing Group, London, 239-248
11. Gordon K., Hodgen G. D. (1993): Evolving role of Gonadotrophin-Releasing Hormone Antagonists. Trends Endocrinol Metab 3: 259-263
12. Kiesel L., Runnebaum B. (1993): Gonadotropin releasing-Hormon und Analoga-Physiologie und Pharmakologie. Gynäkol Geburtsh Rundsch 32: 22-30
13. Klingmüller D., Diedrich K., Sommer L. (1993): Effects of the GnRH antagonist Cetrorelix in normal women. Gynecol Endocrinol 7: 2
14. Klingmüller D., Schepke M., Enzweiler C., Bidlingsmaier F. (1993): Hormonal responses to the new potent GnRH antagonist Cetrorelix. Acta Endocrinologica 128: 15-18
15. Lemay A., Maheux R., Faure N., Jean C., Fazekas A. T. A. (1984): Reversible hypogonadism induced by a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) agonist (Buserelin) as a new therapeutic approach for endometriosis. Fertil Steril 41: 863-871
16. Matsuo H., Baba Y., Nair R. M. G., Arimura A., Schally A. V. (1971): Structure of porcine LH and FSH releasing factor. I. The proposed amino acid sequence. Biochem Biophys Res Commun 43: 1334-1339
17. Shalev E., Geslevich Y., Ben-Ami M. (1994): Induction of preovulatory luteinizing hormone surge by gonadotrophin-releasing

agonist for women at risk for developing the ovarian hyperstimulation syndrome. Hum. Reprod. 9: 417-419

18. Smitz J., Ron-El R., Tarlatzis B. C. (1992): The use of gonadotrophin releasing hormone agonists for in vitro fertilization and other procreation techniques: Experiences from three centres. Hum. Reprod. 7: suppl. 1.: 49-66

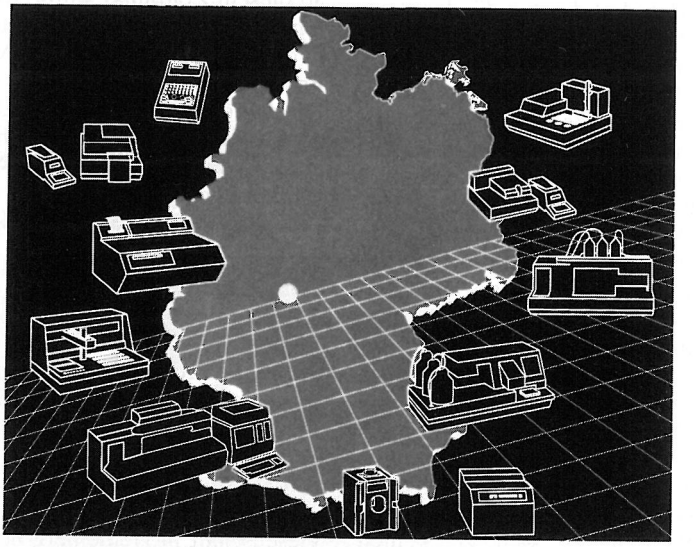
19. Staessen C., Camus M., Khan I., Smitz J., Van Waesberghe L., Wisanto A., Devroey P., Van Steirtheghem A. C. (1989): An 19-month survey of infertility treatment by in vitro fertilization, gamete and zygote intrafallopian transfer, and replacement of frozenthawed embryos. J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer. 1989; 6: 22-29

20. Steptoe P. C. and Edwards R. G. (1978): Birth after reimplantation of a human embryo, Lancet II, 366

21. Van der Ven H., Al-Hasani S., Hamerich U. (1984): In Vitro Fertilisation und Embryokultivierung beim Menschen: In Krebs D. (Hrsg.): Praktikum der extrakorporalen Befruchtung. Urban und Schwarzenberg; 95-118

22. Van Steirteghem A. C., Nagy Z., Joris H., Liu J., Staessen C., Smitz J., Wisanto A., Devroey P. (1993): High fertilization and implantation rates after intracytobplasmic sperm injection, Hum. Reprod. 8: 1061-1066

Diagnostik in Deutschland hat einen guten Namen: Behring



Behring bietet Ihnen ein umfassendes Diagnostika-Programm. Von qualitativen Screening-Testen für die ärztliche Praxis, die leicht zu handhaben und schnell abzulesen sind, bis zu hochspezifischen automatisierten Systemen für die quantitative Laboratoriumsdiagnostik.

Behring arbeitet intensiv an neuen Entwicklungen, die Ihre Probleme immer intelligenter und exakter lösen.

Sprechen Sie mit uns über

Proteindiagnostik
Gerinnungsdiagnostik
Mikrobiologie
Tumordiagnostik

Behringwerke AG
Postfach 1140, 3550 Marburg/Lahn

Behringwerke AG
Med. Information und Verkauf
Postfach 80 02 80
6230 Frankfurt/M. 80

BD 111019

BEHRING

Aus dem Institut für Medizin- und Wissenschaftsgeschichte der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor Prof. Dr. phil. D. von Engelhardt)

Chirurgischer Alltag in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts *

O. Riha

In der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts darf die Chirurgie als die „Königin der Medizin" bezeichnet werden. Die beiden Voraussetzungen für den Aufstieg des noch jungen akademischen Faches lagen außerhalb seiner engeren Zuständigkeit; es waren die Ausschaltung des Schmerzes und die Verhinderung der tödlichen Wundinfektionen. Erst die Entwicklung anästhesierender Verfahren ließ Zeit genug für kompliziertere Operationen, während vorher Eingriffe von der Schnelligkeit des Operateurs abhingen, was die Einsatzmöglichkeiten chirurgischer Maßnahmen entsprechend begrenzte.

Äther war als Substanz schon im 15. Jahrhundert bekannt. Im 19. Jahrhundert dienten die damit erzeugten Rauschzustände zunächst lediglich als Jahrmarktbelustigung, bis der Bostener Zahnarzt Thomas G. Morton 1846 nach einigen Experimenten erstmals in der Öffentlichkeit eine schmerzlose Zahnoperation unter Ätherverwendung vorstellte. Schon wenige Monate später präsentierte Robert Liston in London eine Beinamputation in Äthernarkose. Kurzum: innerhalb eines einzigen Jahres trat der Äther seinen Siegeszug um die Welt an, obwohl es nicht selten zu Operationszwischenfällen durch Herz-Kreislauf- oder Atmungsversagen kam; auch die Gefahr einer Leberschädigung wurde relativ frühzeitig erkannt. Chloroform, das der Edinburgher Gynäkologe James Y. Simpson 1847 zunächst in die Geburtshilfe einführte, bot eine Alternative. Die Vorteile gegenüber Äther waren groß: Es traten keine Erregungszustände beim Einschlafen auf, man erreichte eine bessere Entspannung der Patienten, es kam zu keinen Schleimhautreizungen (die bei Äther durch die damals unvermeidlichen Verunreinigungen die Regel waren), und vor allem ist Chloroform nicht explosiv. Allerdings wurden auch bei Chloroform schon bald nach seiner Einführung die ersten Todesfälle beschrieben.

Trotzdem: Die in den 1840er Jahren aufkommende relativ leicht handhabbare Anästhesie führte zu einer explosionsartigen Zunahme der Operationen, und zwar mit feineren Techniken und verbessertem Instrumentarium. Diese unbestreitbaren Erfolge hatten jedoch auch eine dunkle Kehrseite, denn zusammen mit der Zahl der Operierten stieg die Zahl der Hospitalbrandfälle und der Wundinfektionen allgemein. Diese Entwicklung wiederum lenkte die Bemühungen in die neue Richtung vorbeugender Hygiene: Ab 1865 konnte Joseph Lister gute Erfolge mit der antiseptischen Karbolsäure erzielen. Obwohl die Entdeckung der Bakterien durch Robert Koch (1878) zur Empirie die Begründung nachlieferte, bedurfte es zweier Chirurgengenerationen, bis sich tatsächlich überall die Asepsis in den Operationssälen durchsetzte. Erst ab diesem Zeitpunkt wurde die Chirurgie mit guten Aussichten eine lebensrettende Disziplin; vorher hatte die postoperative Mortalität bis zu 50 Prozent betragen. Nun waren endlich Eingriffe in Körperhöhlen möglich, so daß 1881 die erste Magenresektion, 1882 die erste Cholezystektomie und ab 1883 die Operation der Appendicitis gewagt werden konnten.

Die Jahre 1883-89 waren entscheidend für die Entwicklung der Lokalanästhesie, für die zunächst nur Kokain zur Verfügung stand. Carl Koller, einem unbekannten (und unbezahlten) Volontärarzt der Wiener Augenklinik, war es auf eine Anregung Siegmund Freuds hin gelungen, mit Kakaintropfen die Schmerzempfindung am Auge auszuschalten und ungestört und vor allem ohne Gefährdung des Patienten zu operieren. Über diese sensationelle Entdeckung ließ Koller einen Bekannten 1884 auf der Tagung der Deutschen ophthalmologischen Gesellschaft in Heidelberg berichten, da er selbst sich die Reise nicht leisten konnte. Von Heidelberg ausgehend verbreitete sich die Nachricht von den Möglichkeiten der Lokalanästhesie mit großer Geschwindigkeit. Siegmund Freud, der das Suchtpotential der Droge völlig unterschätzte, hatte in sieben Publikationen bis 1887 Kokain hoch gelobt; bald jedoch wurden Todesfälle durch septische bzw. toxische Lösungen bekannt. Am Auge benutzte man Konzentrationen bis zu 30 % und bei Infiltrationen bis zu 5 %, so daß in der Regel zwischen 0,6 und 1 g, aber bisweilen auch bis zu 4 g verabreicht wurden; zu einer tödlichen Atemläh-

* Antrittsvorlesung, gehalten am 2. Juni 1994 (gekürzt)

mung kann es schon ab 350 mg kommen. Die Entwicklung des weniger gefährlichen Procain-Hydrochlorids 1905 bedeutete somit einen gewaltigen Fortschritt.

Dieser kurze Ausflug in die klassische Ereignisgeschichte stellt eine traditionelle Art des Zugriffs auf historische „Realität" dar; wir haben dabei bereits spezifische Probleme früherer Chirurgengenerationen kennengelernt. Zur Rekonstruktion des klinischen Alltags wollen wir uns nun einem weiteren Quellentyp der Medizingeschichte zuwenden, und zwar der Biographie, denn nun tritt eine starke Persönlichkeit ins Rampenlicht, die der deutschen Chirurgie bis in die Nachkriegsjahre hinein ihren Stempel aufdrückte: Trotz der mit allen vorgestellten Anästhesieverfahren verbundenen Risiken wurde die Narkose in den uns interessierenden Jahrzehnten nicht von einem darauf spezialisierten Facharzt, sondern von den Chirurgen selbst durchgeführt, und zwar meist von einem wenig erfahrenen Anfänger, da die fortgeschrittenen Assistenten operierten. In vielen Kliniken übernahmen auch Pfleger oder Schwestern die Anästhesie. In Deutschland etablierte sich eine entsprechende Zusatz- bzw. Facharztausbildung nur langsam: erst 1952 wurde die Deutsche Gesellschaft für Anästhesie gegründet, während es in England schon 1893 eine Society of Anaesthesists gab. Bedingt war dies zum einen durch die politischen Entwicklungen, die zu einer weitgehenden Isolierung der deutschen Medizin vom internationalen Fortschritt führten. Wichtig war aber auch der Einfluß des berühmten Berliner Chirurgen Ferdinand Sauerbruch, der den alljährlichen Kongreß der Deutsche Gesellschaft für Chirurgie dominierte und ein entschiedener Gegner von Neuentwicklungen auf dem Gebiet der Anästhesie war.

Ferdinand Sauerbruch (1875-1951) konnte auch international zu seiner Zeit durch seine bahnbrechenden Entwicklungen in der Thoraxchirurgie das höchste Renommé für sich in Anspruch nehmen. Der bekannte Breslauer Ordinarius Johannes von Mikulicz-Radecki (1850-1905), unter dem Sauerbruch 1904-05 als unbezahlter Volontär arbeitete, hatte seinem Schüler die Aufgabe gestellt, ein Verfahren zu entwickeln, durch das bei der Operation eines thorakalen Ösophaguskarzinoms mit notwendiger Eröffnung des Brustkorbs der Lungenkollaps vermieden würde, und Sauerbruch fand eine erste (wenn auch unpraktische) Lösung

im Einsatz einer Unterdruckkammer. Nach Zwischenstationen in Greifswald und Marburg wurde Sauerbruch 1910 als Klinikdirektor nach Zürich berufen, wo er sich durch die operative Behandlung der Lungentuberkulose mittels Thorakoplastik einen Namen machte. Zuvor hatte man die Ruhigstellung einer befallenen Lunge durch einen künstlichen Pneumothorax bewerkstelligt; Sauerbruch führte dagegen die paravertebrale extrapleurale Resektion von 6-10 cm langen Stücken am Rückenabschnitt der ersten bis elften Rippe ein, was ein Absinken des Lungenvolumens um 1000 bis 1500 ml bewirkt. Die Erfahrungen waren gut: etwa ein Drittel der Fälle war in zwei bis vier Jahren ausgeheilt. 1918 wechselte Sauerbruch auf den Lehrstuhl nach München, in die damals mit 450 Betten größte chirurgische Klinik Deutschlands, wo er sich weiterhin mit großem (auch sozialmedizinischem) Engagement der Tuberkulosenbekämpfung und -behandlung widmete. Zusammen mit seinem Mitarbeiter Adolf Hermannsdorfer und dem Praktiker Max Gerson stellte er beispielsweise eine Diät zusammen, die vor allem bei Lupus vulgaris gute Erfolge erzielt haben soll. Progagiert wurde dabei der weitgehende Verzicht auf Kochsalz, Konserven, Geräuchertes sowie Essig; als Gewürze waren nur Kräuter, Zwiebeln und Zitronen erlaubt. Fleisch war auf 500 g pro Woche beschränkt, ebenso gab es Grenzen für Fisch, Malzbier, Kaffee und Tee. In Sauerbruchs Vita ist die Zeit in Berlin heute am geläufigsten: 1927 wurde er als Ordinarius an die Charité berufen, wo er zehn Oberärzte und 40 bis 50 Assistenten unter sich hatte. Sauerbruchs cholerisches Temperament, sein autoritärer Führungsstil und seine Operationspraxis mit mehreren Simultanoperationen, von denen er nur den kritischen „Kern" selbst übernahm und Einleitung wie Abschluß seinen Mitarbeitern überließ, wurden ebenso gefürchtet, wie sein Charme, sein persönlicher Einsatz für die Patienten, seine diagnostische Intuition und sein ausgeprägtes manuelles Geschick bewundert wurden. Es schadete Sauerbruchs Nachruhm sehr, daß ihn in seinen letzten Jahren eine relativ rasch fortschreitende Zerebralsklerose mehr und mehr an einer selbstkritischen Einschätzung seiner Arbeit hinderte. Trotz offenkundigen Fehlverhaltens wurde Sauerbruch als Identifikationsfigur der deutschen Chirurgie erst 1949 mit 74 Jahren emeritiert.

Wenn man eine solche Biographie nicht als „Hagiographie" liest, lassen sich sozialgeschichtlich interessante Entdeckungen machen. Erkennbar werden z. B. die katastrophalen Arbeitsbedingungen für junge Ärzte nach dem Examen, die sich ohne Bezahlung und auf unbestimmte Zeit, aber unter großem Erwartungsdruck das Anrecht auf eine reguläre Assistentenstelle erwerben mußten; eine medizinische Karriere setzte die finanzielle Unterstützung einer wohlhabenden Familie oder eines Gönners voraus. Andererseits gehörte das Veranstalten großer Gesellschaften ebenso zum gehobenen „bürgerlichen" Lebensstil wie vor allem die Beschäftigung von Hauspersonal. Diesen „patriarchalischen " Vorgaben im Privaten entsprechend waren auch die Klinikstrukturen extrem hierarchisch gegliedert und allein auf die Spitze hin ausgerichtet; die Idee einer Zusammenarbeit im Team ist eine sehr junge Entwicklung. Was das Krankheitsspektrum betrifft, so waren die Infektionen trotz des hygienischen Fortschritts und trotz der in den dreißiger Jahren entwickelten Sulfonamide noch immer eines der Hauptprobleme. Sauerbruchs Engagement im Kampf gegen die Tuberkulose zeigt, daß Mediziner sich immer wieder auch außerhalb der Grenzen ihres Fachs als Sozialmediziner, Epidemiologen, Hygieniker usw. betätigen mußten. Ressourcen für das Gesundheitswesen standen seitens des Staates nur in sehr begrenzter Menge zur Verfügung, auch in großen und renommierten Zentren; die Allokationsproblematik ist also nicht neu.

Eine dritte und letzte Quelle soll die zuletzt eingeschlagene Richtung unter ebenfalls sozialgeschichtlichen Aspekten ergänzen. Es handelt sich um die Krankenakten der Göttinger Universitätsklinik für Chirurgie aus den Jahren 1912-1950 (rund 400.000), von denen ich eine Stichprobe von rund 5 % ausgewertet habe (aus Allgemein-, Bauch- und Neurochirurgie). Die äußere Form entspricht ungefähr den noch heute gebräuchlichen Faltblättern, war bei der Einführung 1912 jedoch sehr modern. Das Material ist geprägt von einer lokalen Besonderheit, die in einer ungewöhnlichen Kontinuität in der Klinikleitung besteht: der Ordinarius Rudolf Stich (1875-1960) war von 1911 bis 1945 Klinikdirektor und wurde – wie angesichts des ausgeprägten Personalmangels der Kriegs- und Nachkriegszeit üblich – erst mit 70 Jahren emeritiert. Bei den Basisdaten fällt der befremdliche (schon damals ungewöhnliche und erst nach dem Zweiten Weltkrieg geänderte) Umstand auf, daß das Alter der Patienten statt ihres Geburtsdatums notiert wurde, was zu unzähligen, teilweise gravierenden Rechenfehlern führte. Doch nicht nur deshalb widersetzt sich diese Quelle der statistischen Auswertung: die Sozialstruktur des Patientenguts bleibt wegen fehlender Angaben zur Situation von Frauen, Kindern und Rentnern offen, die körperliche Verfassung der Patienten wurde – bedingt durch das Fehlen einer standardisierten Routine-

diagnostik und die Beschränkung auf den lokalen „Status chirurgicus" – meist nicht ausreichend dokumentiert, und schließlich ist in etwa einem Drittel aller Fälle wegen frühzeitiger Entlassung der Ausgang offen.

Dennoch bringt ein Blick in die Akten Einblicke in den Klinikalltag der Vorkriegszeit. In der Wundbehandlung z. B. spielte Lebertran eine wichtige Rolle; bei Verbrennungen war er Mittel der ersten Wahl. Schwefelsalbe half bei Ekzemen aller Art, besonders bei Allergien. Von großer Bedeutung waren die Schwermetalle: Bleiwasser, Quecksilber- und Silbersalbe wurden auf infizierte Wunden aufgetragen. Silberpräparate waren darüber hinaus für die Behandlung von Gonorrhoe und Harnwegsinfekten wichtig. Quecksilber diente als Diuretikum und wurde besonders (neben Arsen [Salvarsan] und Wismut) gegen die verbreitete Lues eingesetzt („Schmierkur"). Überhaupt ist die Hilflosigkeit der Vor-Antibiotika-Ära bei schweren Infektionen erschütternd. Unter völliger Verkennung der Pathophysiologie wurden z. B. heiße Leinsamenpackungen („Pappen") noch im Zweiten Weltkrieg (trotz immer wieder erlebter Mißerfolge und obwohl schon in Lehrbüchern davor gewarnt wurde) auf lebensbedrohliche Stirn- und Oberlippenfurunkel aufgelegt. Ebenso erfolglos mußten die wallartige Eigenblutumspritzung dieser Furunkel nach dem Königsberger Ordinarius Arthur Läwen und die Stauungsbehandlung nach dem Berliner Chirurgen August Bier (1861-1949) bleiben; bei letzterer legte man ein Staubändchen für 22 Stunden so eng um den Hals, daß die Patienten gerade noch schlucken konnten. Alle drei Maßnahmen wollten durch die erzeugte Hyperämie körpereigene Abwehrkräfte an den Krankheitsherd ziehen.

Auffallend ist der sparsame Morphiumgebrauch bei Schmerzzuständen, der nicht durch Mangel allein zu erklären ist, da dieses Mittel (meist wohl eigenmächtig von den Krankenschwestern) zur „Dämpfung" unruhiger Patienten großzügig verteilt wurde, was wiederum nicht selten eine tödliche Pneumonie zur Folge hatte. Obwohl Digitalis zur Verfügung stand, verließen sich die Ärzte bei Herzinsuffizienz lieber auf das schon im 18. Jahrhundert als Analeptikum benutzte Kampferöl, das als Depot von 5-10 ml tief intragluteal gespritzt wurde. Wie verbreitet diese Praxis auch außerhalb der Klinik noch war, zeigen die unzähligen Ölabszesse, die stationär gespalten werden mußten. Röntgenstrahlen spielten in der Diagnostik noch keine große Rolle; umso wichtiger waren sie – nahezu als Allheilmittel – in der Therapie. Fast alle Karzinome (auch Plattenepithel-Ca. und Geschwülste des Magen-Darm-Trakts) wurden prinzipiell nachbestrahlt, ebenso Basaliome und Adenome. Einer „Reizbestrahlung" wurden Mesenterialdrüsen-Tuberkulose, Narbenkeloide und Neuralgien ausgesetzt. Dazu kam die Strahlenbehandlung der Haut-Tuberkulose, allerdings mit katastrophalen Ergebnissen.

Ihre Medizinische Fachbuchhandlung
in Lübeck:

olumbus Buchhandlung St. Jürgen
Inh. Christoph Welge
Ratzeburger Allee 86
23562 Lübeck

Telefon (04 51) 59 75 73 oder 59 75 74
Telefax (04 51) 59 41 73

Öffnungszeiten:

Montag, Dienstag, Mittwoch und Freitag:	8.00–18.30 Uhr
Donnerstag:	8.00–20.30 Uhr
Samstag:	8.00–14.00 Uhr
langer Samstag:	8.00–18.00 Uhr oder 8.00–16.00 Uhr

Ethische Probleme des Klinikalltags zeigen sich besonders in den Auswirkungen der nationalsozialistischen Diktatur, z. B. durch Meldungen an das „Erbgesundheitsgericht" bei Epilepsie, „Schwachsinn", körperlicher Behinderung („Krüppel"), Tuberkulose und Alkoholismus; neben großzügig verteilten „freisprechenden " Attesten stehen dabei Anzeigen bloßer Verdachtsfälle. Auch Kriegsereignisse finden in den Akten ihren Niederschlag. Die Luftangriffe auf Kassel und Hannover im Oktober 1943 brachten Hunderte von Verletzten nach Göttingen, das auch als Lazarettstadt diente. Bisweilen fehlten Gipsbinden, manchmal Röntgenfilme, und Versorgungsengpässe zeigen sich auch im Verordnen von Lebensmittelzulagen bei Tuberkulose und Unterernährung. Die Patienten wurden ermahnt, ihre Lebensmittelabmeldung sowie eigene Handtücher und die Bettwäsche mitzubringen. Der im Roman bzw. Film „Der dritte Mann" thematisierte Mangel an Penizillin schlug sich in umfangreichen Antragsformularen nieder, denn das Antibiotikum mußte – nach vorheriger Genehmigung durch die Krankenkasse – vom britischen Roten Kreuz bezogen werden; eine Kostenübernahme wurde nur in lebensbedrohlichen Fällen garantiert, und gerade dann erwies sich oft der Verwaltungsweg als zu lang.

Was die Krankheitskosten betrifft, so lag der Tagessatz in den 30er und 40er Jahren bei 3,65 RM in der „Dritten" bzw. 6,25 RM in der „Zweiten Klasse", wo zudem alle Leistungen (einschließlich Medikamente und Verbandsmaterial) gesondert in Rechnung gestellt wurden. Zum Vergleich: der durchschnittliche Netto-Wochenlohn eines Industriearbeiters betrug zu dieser Zeit etwa 30 RM. Die Bakteriologie verlangte für einen Wassermanntest oder eine Bakterienkultur 3-6 RM, die Pathologie für eine histologische Beurteilung 5 RM, „falls es sich um einen zahlungsfähigen Pat. handelt". Um eine Vorstellung von der Höhe von privaten Arztrechnungen zu geben, hier zwei Beispiele aus der Neurochirurgie: Der Leiter dieser Abteilung bekam für eine Tumoroperation rund 600 RM, für eine fraktionierte Röntgen-Tiefenbestrahlung rund 300 RM.

Fassen wir zusammen: Für die Rekonstruktion des Alltags der Chirurgen in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts bedienten wir uns der Ergebnisse aus Ereignisgeschichte, Biographie und Krankenaktenauswertung. Zur Vervollständigung des Bildes wären weitere Quellen nötig, doch auch so dürfte eines klar geworden sein: Die „Gute alte Zeit" war nicht so gut, daß sie dieses Banal-Epitheton verdient hätte: viele wirkungsvolle Medikamente gab es noch nicht, archaische und gefährliche Therapien wurden eingesetzt, die diagnostischen Möglichkeiten waren eingeschränkt, die Arbeitsbedingungen unerfreulich. Nur weil die Chirurgie überhaupt „aktiv" viele Krankheitsursachen beseitigen konnte und nicht nur hilflos danebenstehen mußte, galt sie als „Königin der Medizin". Das Beiwort „gut" gehört jedoch eindeutig zu den Topoi der aus der Literaturwissenschaft bekannten „Laudatio temporis acti" und hat mit der geschichtlichen Realität nichts zu tun. Vielmehr liefert das Vergangene argumentative Munition in der Auseinandersetzung mit der heute verbreiteten Fortschrittsfeindlichkeit.

Literaturverzeichnis:

Anaesthesia: Essays on its history. Ed. Ruprecht J., van Lieburg M. J., Lee J. A., Erdmann W. Berlin Heidelberg New York Tokyo: Springer 1985

von Brunn, W.: Kurze Geschichte der Chirurgie. Berlin: Julius Springer 1928

Genschorek, W.: Ferdinand Sauerbruch. Leipzig: S. Hirzel 1985

Jacob, P., Pannwitz G.: Entstehung und Bekämpfung der Lungentuberkulose. 2 Bde. Leipzig: Georg Thieme 1901-02

Kraytman, M.: The complete patient history. New York: McGraw-Hill 1979

Lammel, H.-U.: Chirurgie und Nationalsozialismus am Beispiel der Berliner Chirurgischen Universitätsklinik in der Ziegelstraße. In: Exodus von Wissenschaften aus Berlin: Fragestellungen – Ergebnisse – Desiderate. Hg. Fischer, W., Hierholzer, K., Hubenstorf, M., Walther, P. T., Winaus, R. Berlin New York: Walter de Gruyter 1994, S. 568-591

Obermann, K.: Ärzte, Alltags- und Universitätsmedizin in Göttingen 1933-1945. Med. Diss., Göttingen 1990

Pernick, M.S.: A calculus of suffering: Pain, Professionalism, and anesthesia in nineteenth-century America. New York: Columbia University Press 1985

Reiser, S. J.: The clinical record in medicine. Annals of Internal Medicine 114 (1991), 902-907 u. 980-985

Ridder, R.: Chirurgie und Anästhesie: Vom Handwerk zur Wissenschaft. Stuttgart: S. Hirzel Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1993

Risse, G. B.: Hospital history: New sources and methods. In: Problems and methods in the history of medicine. Ed. Porter R., Wear A. London: Wellcome Institute 1987, S. 175-203

Risse, G. B., Warner J. H.: Reconstructing clinical activities: Patient records in medical history. Social History of Medicine 5 (1992), 183-205

Sauerbruch, F.: Das war mein Leben. Bad Wörishofen: Kindler u. Schiermeyer 1951

Schmiedebach, H.-P., Winau R., Häring, R.: Erste Operationen Berliner Chirurgen 1817-1931. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1990

Thorwald, J.: Die Entlassung: Das Ende des Chirurgen Ferdinand Sauerbruch. München, Zürich: Droemer Knaur 1960

Aus der Klinik für Pädiatrie der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. med. K. Kruse)

Ethische Probleme in der Pädiatrie

K. Kruse

Pädiatrie ist die Lehre vom Kind und seinen Krankheiten. Ihre Aufgabe ist die Vorsorge, Fürsorge und Behandlung des Kindes von der Geburt bis zum Abschluß des körperlichen Wachstums, also bis etwa zum 18. Lebensjahr.

Das minderjährige kranke Kind begibt sich mit Einwilligung der Eltern in die Abhängigkeit des Kinderarztes, der Hilfe verspricht und der seine Legitimation zum Tätigwerden aus dem an ihn herangetragenen Behandlungsauftrag ableitet. Das Kind und seine Eltern erwarten, daß der Arzt das Wohl des Kindes voranstellt; seinen Willen respektiert; versucht, sein Leben zu erhalten; ihm mit den zu treffenden Maßnahmen nützt und so wenig wie möglich schadet sowie die Vertrauensvorgabe durch eigene Vertrauenswürdigkeit rechtfertigt (Seidler, 1991). Rechtlich unterliegt das Wohl des Kindes den Regelungen des Art. 6 ll S.a Grundgesetz sowie den § 1666 ff BGB und 64 ff JWG.

Zwischen Arzt und krankem Kind stehen die Eltern, die den Arzt kritisch beobachten und deren Einstellung zu Gesundheit und Krankheit ihres Kindes die diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen des Arztes maßgeblich beeinflußt. In der Klinik spielt auch die Kinderkrankenschwester eine wichtige Rolle als Betreuerin, die therapeutische Maßnahmen umsetzt und bisweilen als Stellvertreterin der nicht anwesenden Mutter in einem besonders engen Vertrauensverhältnis zum Kind steht. Der in der Klinik tätige Kinderarzt muß im Rahmen seiner Weiterbildung lernen, unter den kritischen Augen von Eltern und Pflegepersonal mit dem kleinen Patienten behutsam umzugehen.

Ethische Aspekte der modernen Diagnostik

Die sprunghaft gestiegenen, faszinierenden diagnostischen Möglichkeiten der modernen Medizin haben für die Pädiatrie nicht nur Fortschritte, sondern auch Probleme gebracht. Der junge Arzt ist zunehmend geneigt, die modernen laborchemischen und technischen Methoden beim Kind einzusetzen. Sein Hang zur Überdiagnostik ist umso größer, je unerfahrener er ist. Andererseits ist auch der erfahrene Kinderarzt aus Sorge vor drohenden Kunstfehlerprozessen zunehmend bereit, eine gewisse Überdiagnostik in Kauf zu nehmen. Beschränkte er sich früher bei einem Kind mit rezidivierenden Kopfschmerzen auf klinische Untersuchung, Schädel-Röntgen und ein augenärztliches Konsil, stellt er jetzt zunehmend großzügiger die Indikation zur computertomographischen oder kernspintomographischen Untersuchung. Gefördert wird die Überdiagnostik durch den Druck der mitaufgenommenen, nach Hause drängenden Mutter, die möglichst alle Untersuchungen in 1 - 2 Tagen durchführen lassen möchte. Dies geht oft zu Lasten des kleinen Patienten, der nicht selten in ganz kurzer Zeit zahlreiche belastende Untersuchungen über sich ergehen lassen muß. Oft wäre eine mehrtägige stationäre Beobachtung und Minimaldiagnostik von Kindern mit unterschiedlichen Erkrankungen, wie z. B. Kopf- oder Bauchschmerzen, sinnvoller und humaner als der frühzeitige, oft überflüssige Einsatz zahlreicher technischer Untersuchungen. Wir lehren unsere Studenten die Stufendiagnostik, müssen aber aus Zeitdruck manchmal den 2. oder 3. diagnostischen Schritt vor dem ersten tun.

Aktuelle ethische Probleme in der Pädiatrie (Auswahl)

Diagnostik

- Überdiagnostik durch unerfahrene Ärzte, aus Angst vor Kunstfehlerprozessen oder auf Drängen der Eltern
- Aufklärung der Eltern bei Diagnose einer Erkrankung mit infauster Prognose

Therapie

- Fetale Therapie
- Grenzen der Therapie schwerstbehinderter Kinder
- Lebenserhaltende Maßnahmen bei Kindern mit infauster Prognose
- Organtransplantation
- Ablehnung einer Therapie durch Eltern oder Arzt
- Kontrollierte therapeutische Studien bzw. experimentelle Therapieformen bei Kindern

In der klinischen Praxis gibt es eine wachsende Minderheit von Ärzten, die ebenso naturwissenschaftlich wie psychosomatisch qualifiziert sind. Mit beiden Bereichen vertraut, kommen sie ohne einfache Addition der diagnostischen Untersuchungsergebnisse zu einer Diagnose.

Ein weiterer diagnostischer Problemkreis betrifft die Frage, wie weit man in der Abklärung eines Kindes mit unklarer Entwicklungsverzögerung oder morphologischen Auffälligkeiten gehen soll. Die verzweifelten Eltern haben bereits zahlreiche Ärzte konsultiert, sie streben verständlicherweise eine exakte Diagnose der Erkrankung ihres Kindes an, wollen Auskunft über Prognose, Therapie und Vererbung.

Der erfahrene Kinderarzt wird versuchen, die diagnostischen Maßnahmen in angemessener, den kleinen Patienten möglichst wenig belastender Weise durchzuführen. Dabei muß er bisweilen seinen Wissensdurst bremsen, sein diagnostisches Unvermögen bekennen und bereit sein, auswärtige Experten urn Rat zu ersuchen bzw. das Kind frühzeitig in ein auch weiter entferntes Zentrum zu überweisen.

Noch problematischer als die Diagnosestellung kann die Aufklärung der Eltern eines Kindes sein, bei dem eine Erkrankung mit infauster Prognose festgestellt wird. So wird der Arzt ein äußerst großes Einfühlungsvermögen aufbringen müssen, um den Eltern die Diagnose einer nicht therapierbaren Erkrankung wie eine progressive Muskeldystrophie vom Typ Duchenne oder eine spinale Muskelatrophie vom Typ Werdnig-Hoffmann mitzuteilen. Im ersten Fall ist mit einer Gehunfähigkeit der Patienten zwischen dem 8. und 12. Lebensjahr und dem Tod durch Ateminsuffizienz vor dem 20. Lebensjahr zu rechnen, während das Leiden der Kinder mit spinaler Muskelatrophie rasch progredient und im Verlaufe des 1. Lebensjahres meist infolge rezidivierender Infektionen der Atemwege zum Tode führt. Bei der Eröffnung solcher Diagnosen ist ein besonderes behutsames Vorgehen des Arztes in einer ruhigen, ungestörten Atmosphäre erforderlich.

Menschliche Zuwendung, Zuhören und das Gespräch sind in dieser Phase für nicht wenige Eltern von großer Bedeutung für die Verarbeitung der mitgeteilten Diagnose.

Ethische Aspekte und Grenzen der Therapie

Als ethisch besonders sensible Bereiche in der Kinderheilkunde gelten die Indikationen und Grenzen der Therapie des Feten und des schwerstbehinderten Kindes, lebenserhaltende Maßnahmen bei Kindern mit infauster Prognose, Organtransplantationen, Ablehnung einer erfolgversprechenden Therapie durch die Eltern sowie kontrollierte therapeutische Studien bzw. experimentelle Therapieformen bei Kindern. Ein zunehmendes Problemfeld stellt die neonatologische Intensivbehandlung dar.

Die Tatsache einer in den letzten Jahren zunehmend durchgeführten chirurgischen oder medikamentösen *Therapie intrauteriner Erkrankungen des Feten* hat neben rechtlichen auch ethische Fragestellungen eröffnet. Obwohl zahlreiche Behandlungsmethoden sich noch in einem experjmentellen Stadium befinden, stellen sie bereits einen festen Bestandteil in der perinatologischen Betreuung dar. Während eine intrauterine . Austauschtransfusion bei einer Rh-Sensibilisierung, eine über die Mutter durchgeführte Glucocorticoidtherapie zur Prophylaxe des Atemnotsyndroms oder zur Verhütung einer Virilisierung bei einem weiblichen Feten mit adrenogenitalem Syndrom bereits etablierte Maßnahmen darstellen, muß die Indikation zum Therapieeinsatz von Antiarrhythmika streng gestellt werden. Die vorgeburtliche Therapie erfordert eine vom Geburtshelfer koordinierte interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Perinatologen, Neonatologen, pädiatrischen Kardiologen, Genetikern, Chirurgen und Pathologen und sollte nur in perinatologischen Zentren durchgeführt werden. Trotz aller Fortschritte der pränatalen Diagnostik sollte die medikamentöse Therapie des Feten unter Beachtung der ethischen und rechtlichen Rahmenbedingungen auf wenige Fälle beschränkt bleiben (Übersicht bei Brodner und Shuster, 1987, sowie Reinhardt, 1988).

In einer Kinderklinik wird man immer wieder mit den *Grenzen der Therapie schwerstbehinderter Kinder* konfrontiert: Dabei reicht das Spektrum der Behinderung von infolge einer viertgradigen Hirnblutung tetraspastischen, blinden, nicht kontaktfähigen Kindern über geistig normale oder deutlich behinderte Kinder mit multiplen Fehlbildungen wie M. Down oder Myelomeningocele zu geistig normalen Kindern mit fast vollständiger Darmresektion aufgrund einer vorangegangenen nekrotisierenden Enterokolitis, die nur durch eine totale parenterale Ernährung am Leben gehalten werden können, oder solche, die wegen einer gestörten Atemregulation während des Schlafes lebenslang beatmet werden müssen.

Wo liegen die Grenzen der Therapie dieser Kinder, wenn sie z. B. mit einer ausgeprägten Pneumonie, Meningitis, Herzinsuffizienz, einem Status epilepticus oder Insuffizienz eines vielfach revidierten liquorableitenden Shunt-Systems stationär aufge-

nommen werden? Soll ein solches Kind auf der Intensivstation mit allen Konsequenzen der Reanimation und Langzeitbeatmung betreut oder auf einer anderen Station aus der Entscheidung heraus, es nicht mit allen Mitteln am Leben zu erhalten, aufgenomrnen werden?

Diesbezüglich kann und wird es auch in Zukunft keine festen Richtlinien geben. Wichtig für die Entscheidungsfindung wird in erster Linie die Haltung der Eltern sein. Wir alle wissen, daß schwerstbehinderte Kinder einen unglücklichen Einfluß auf die Familie ausüben können: Familien können zerbrechen, die Eltern nehmen Beruhigungsmittel, gesunde Geschwister werden vernachlässigt, die Eltern verzichten auf weitere Kinder aus der Sorge heraus, daß diese ebenfalls krank sein könnten oder sie gesunden Kindern keine angemessene Zuwendung geben könnten, weil es die Pflege des schwerbehinderten Kindes nicht zuläßt (Lorber 1978).

Auf der anderen Seiten sind mir zahlreiche Eltern bekannt, deren Partnerschaft erst durch die gemeinsame Betreuung eines schwerbehinderten Kindes gefestigt wurde und die in der Pflege ihres gemeinsamen Kindes eine sinnvolle Aufgabe erfahren haben. In der Beurteilung des Schweregrades der Behinderung von Kindern müssen wir die alten Begriffe von „Gesundheit" als „Abwesenheit von Krankheit oder Störungen sowie des Zustandes völligen körperlichen, seelischen und sozialen Wohlbefindens" anders definieren: „Gesundheit ist vielmehr die Bereitschaft und Fähigkeit und Kraft, mit den Begrenzungen oder Störungen oder Schädigungen zu leben, also den durch sie umgrenzten Horizont an Lebensmöglichkeiten auszuloten, zu erproben und einzuüben" (Grewel, 1993).

Anhand von drei klinischen Beispielen soll dies verdeutlicht werden.

Krankengeschichte 1:

Als 4. Kind gesunder Eltern wird 4 Wochen vor dem errechneten Termin ein Knabe mit Oesophagusatresie (Typ ll nach Vogt) geboren. Zwischen mehrfach notwendigen Operationen erleidet das Kind einen langdauernden Herz-Kreislaufstillstand und muß deswegen tracheotomiert und langzeitbeatmet werden. Das Kind entwickelt eine Tetraparese und bleibt psychomotorisch schwerstretardiert, muß mehrfach wegen einer subglottischen Trachealstenose operiert und wegen fehlender aktiver Nahrungsaufnahme ständig sondiert werden. Das inzwischen 3 Jahre alte Kind wird trotz der vielen Probleme, zahllosen Arzt- und Klinikkonsultationen und krankengymnastischen Behandlungen liebevoll in die insgesamt 6-köpfige Familie integriert und von den älteren 3 gesunden Geschwistern ohne Probleme akzeptiert. Vor einigen Wochen mußte das Kind erneut bei uns stationär behandelt werden. Bei der Visite war ich beeindruckt von der liebevollen Pflege und Betreuung des zwar schwerbehinderten, jedoch gut kontaktfähigen Kindes durch seine mitaufgenommene Mutter, die mir auf mein Befragen hin glaubhaft berichtete, daß sie trotz der vielen Probleme dieses Kind nicht missen möchte, und daß sie weder ihre gesunden Kinder, ihren Mann oder sich selbst vernachlässige.

Krankengeschichte 2:

Die jetzt 17 Monate alte Patientin ist das 1. Kind nicht verheirateter gesunder Eltern. Von Geburt an mußte es wegen zentraler, nur im Schlaf auftretender Apnoen (Undine-Syndrom) beatmet werden. Im Alter von 4 Monaten erfolgte wegen einer neuronalen intestinalen Dysplasie, also einer dem M. Hirschsprung-ähnlichen Erkrankung, eine Hemicolektomie mit Anlage eines Anus praeter und eines lleostomas. Zur Erleichterung der Beatmung wurde das Kind im Alter von 9 Monaten tracheotomiert. Der Säugling gedieh anfangs sehr schlecht und war psychomotorisch deutlich retardiert, die Pflege der Stomata gestaltete sich schwierig. Darüber hinaus gab es anfänglich Probleme unter den Eltern einerseits sowie zwischen Eltern und Pflegepersonal andererseits. Diese Spannungen traten später immer mehr in den Hintergrund, als das Kind, nicht zuletzt aufgrund der gemeinsamen liebevollen Betreuung durch Mutter, Kinderkrankenschwestern, Krankengymnastinnen und Ärzte, deutliche Fortschritte in der psychomotorischen Entwicklung machte und guten Sozialkontakt zeigte. Das Verhältnis zwischen Kind und Mutter, die seit Monaten in der Klinik übernachtet, wurde zunehmend enger. Die in den ersten Lebensmonaten wegen der vielen Probleme und fraglichen Prognose angestellten Überlegungen einer Minimaltherapie oder gar eines Abbruchs der Beatmung wurden zu

keinem Zeitpunkt von den Eltern geteilt und sind in der Zwischenzeit unvorstellbar geworden. Daran ändert auch die Tatsache nichts, daß in den nächsten Monaten eine umfangreiche Resektion weiterer von der neuronalen Dysplasie befallener Darmabschnitte erforderlich ist. Bis zu diesem Zeitpunkt wollen die Eltern die Pflege des Kindes, einschließlich einer Heimbeatmung, zu Hause selbst übernehmen und sehen der Zukunft ihres schwerbehinderten Kindes, in der Hoffnung auf eine später doch noch mögliche Schrittmacherimplantation, gelassen entgegen.

Krankengeschichte 3:

M. R. wurde als erstes Kind gesunder Eltern vier Wochen vor dem errechneten Termin mit einem Gewicht von 3010 g und einer Länge von 45 cm geboren. Wegen respiratorischer Insuffizienz erfolgte die sofortige Intubation und Beatmung. Kurze Zeit später wurde die Diagnose eines Jeune-Syndroms gestellt, einer durch sehr kurze Rippen charakterisierte, häufig letale konstitutionelle Skelettdysplasie (asphyxierende Thoraxdysplasie). Während einer über 2 Jahre notwendigen Langzeitbeatmung wurde zunächst diskutiert, ob die lebenserhaltenden Maßnahmen bei prinzipiell infauster Prognose ethisch vertretbar waren, zumal bei dieser Erkrankung oft im späteren Lebensalter z. T. schwerwiegende Störungen der inneren Organe (Niereninsuffizienz, Leber-Pankreasveränderungen) und eine Retinopathie auftreten können, und ein Ende der Beatmung nicht abzusehen war. Für die 20jährige Mutter wurde der kleine Patient zum Lebensinhalt, ständig hielt sie sich bei ihrem Kind auf, hatte wesentlichen Anteil an der Entwicklungsförderung, führte es täglich in einem mit einem tragbaren Beatmungsgerät ausgestatteten Kinderwagen durchs Klinikgelände und versorgte es schließlich nach Entlassung zu Hause mit Hilfe eines Heimbeatmungsgerätes. Das Kind machte zunächst verzögert, dann deutliche Entwicklungsfortschritte, wurde der Liebling der gesamten Kinderklinik. Thoraxkonfiguration und -funktion normalisierten sich allmählich, die Beatmung konnte im Alter von 2 Jahren beendet werden, der Junge ist jetzt im Alter von 6 Jahren nahezu beschwerdefrei und fast altersentsprechend entwickelt.

Einen weiteren sensiblen Problemkreis in der Kinderheilkunde stellen *lebenserhaltende Maßnahmen bei Kindern mit infauster Prognose* dar.

Die eigentliche Aufgabe des Arztes ist die Verlängerung des Lebens, doch sollen therapeutische Maßnahmen nicht nur nach dem Machbaren, sondern auch nach der Zumutbarkeit für die leidenden Patienten beurteilt werden. Wenn die Prognose einer Erkrankung infaust ist, also nach ärztlichem Wissen zum Tode führt und keine Aussicht auf Besserung besteht, kann es die ethische Verpflichtung des Kinderarztes sein, die konservative Behandlung, außer Schmerzlinderung und Pflege, einzustellen bzw. erst gar nicht zu beginnen. Diese Entscheidung kann natürlich nur in Übereinstimmung mit den Eltern getroffen werden. Voraussetzung für die Prognose einer jeden Erkrankung ist die exakte Diagnose und die Kenntnis ihres natürlichen Verlaufs bzw. der Beeinflußbarkeit durch die aktuellen therapeutischen Möglichkeiten. Eine *exakte Diagnose* muß also auch bei schwerkranken Kindern aus prognostischen und therapeutischen Konsequenzen angestrebt werden und dient nicht der wissenschaftlichen Neugier oder ärztlichen Selbstbestätigung .

Es gibt einige Erkrankungen mit absolut hoffnungsloser Prognose, die mit Sicherheit in absehbarer Zeit zum Tode führen und bei der alle ärztlichen Maßnahmen zur Lebensverlängerung unsinnig und inhuman wären. Beispiele sind Chromosomenaberrationen wie Trisomie 13 und 18 oder schwerste Hirnfehlbildungen wie Anenzephalie oder Holoprosenzephalie. In diesen Fällen soll sich die Versorgung auf Nahrungs- und Flüssigkeitszufuhr, liebevolle Pflege und – falls erforderlich – medikamentöse Schmerzbekämpfung und Sedierung beschränken. Keinesfalls sollen intensivmedizinische Maßnahmen und gezielte medikamentöse Behandlungen fortgeführt oder gar begonnen werden.

Eine aktive Maßnahme zur Verkürzung des Lebens ist jedoch grundsätzlich problematisch, insbesondere dann, wenn sie mit Problemen der Organspende verbunden ist.

Nicht selten ist die Entscheidung zur Beendigung lebensverlängernder Maßnahmen bei Kindern mit infauster Prognose für die beteiligten Ärzte, Schwestern und insbesondere die Eltern sehr schwer. Dabei fällt es manchmal leichter, ein schwer mißgebildetes Kind in den ersten Stunden nach der Geburt sterben zu lassen als nach einigen Monaten. Je länger man das Kind betreut, desto schwieriger wird der Abbruch therapeutischer Maßnahmen (Lenard 1990).

Die Problematik lebenserhaltender Maßnahmen bei Kindern mit infauster Prognose soll an der folgenden Krankengeschichte verdeutlicht werden:

Krankengeschichte 4:

Ein 4-jähriger Knabe erkrankt nach unauffälliger Vorgeschichte mit Nüchtern-Erbrechen und Kopfschmerzen. Kurz nach der Klinikaufnahme kommt es zu progredienter neurologischer Symptomatik und Atemstillstand infolge tumorbedingter Einklemmung des Hirnstammes in das Foramen magnum. Nach Tracheotomie erfolgt die Langzeitbeatmung. Kernspintomographisch wird neben dem Tiefstand der Kleinhirntonsillen eine Tumorinfiltration von Kleinhirn, Hirnstamm und Halsmark, ein konsekutiver Hydrocephalus sowie eine diffuse leptomeningeale Tumoraussaat, auch nach spinal, nachgewiesen. Im lumbal gewonnenen Liquor sind Tumorzellverbände erkennbar. Es erfolgt eine externe Liquorableitung und – trotz unklarer Ätiologie des ZNS-Tumors eine Chemotherapie, die zu einem Stillstand der Tumorprogression führt. Das komatöse Kind wird seither – trotz der schon aufgrund der Einklemmung infausten Prognose beatmet und künstlich ernährt. Bei den Eltern, insbesondere dem Vater, liegt eine nur zögernd voranschreitende Akzeptanz des Krankheitsgeschehens vor, die die Beziehung zu Ärzten und Pflegepersonal zum Teil schwierig macht. Eine mehrfach angebotene psychologische Betreuung wurde abgelehnt, eine Beendigung der Beatmung ist für die Eltern derzeit undenkbar. Sie erwägen jetzt die Heimbeatmung des komatösen Kindes.

Für zahlreiche Kinder ist der *Empfang eines Organs* lebensentscheidend. In vielen Fällen benötigen Patienten mit chronischem Nierenversagen

eine Nierentransplantation, bei schweren Herz- und Lebererkrankungen ist die Transplantation die einzige Überlebenschance. Die Transplantation von Organen im Kindesalter wirft neben medizinischen zahlreiche ethische Probleme für die Angehörigen des Spenders, im Falle einer Lebendspende auch für den Spender selbst, den Organempfänger sowie Ärzte und Pflegekräfte auf.

In der gegenwärtigen Situation erscheint es geradezu ein Gebot zu sein, die Eltern eines sterbenden Kindes, dessen Organe für eine Transplantation geeignet sind, um Einwilligung zur Organspende zu bitten. Dies stellt eine extreme emotionale Belastung für die Eltern und den Arzt dar. Am Sterbebett ihres Kindes wird der Arzt ihnen zunächst das Phänomen des Hirntodes erläutern und anschließend auf eine evtl. Organspende eingehen. In dem Gespräch muß der Arzt klarmachen, daß alle Bemühungen zur Lebensrettung des sterbenden Kindes erfolglos blieben. Er muß ihnen die Angst nehmen, ihr Kind zugunsten einer Organentnahme geopfert zu haben, da ja bei dem hirntoten Kind noch vordergründige Lebenszeichen wie Herz-Kreislauf-Funktion und Körperwärme bestehen. Die Erfahrung zeigt, daß die den Eltern im Gespräch eröffnete Möglichkeit, evtl. mehreren anderen Kindern durch die Organspende entscheidend zu helfen, eine positive Wirkung auslösen kann. Die Garantie, daß der Leichnam ihres Kindes später keine Spuren einer Entstellung aufweisen darf, ist für die Eltern ebenso wichtig, wie die Zusage, sie auf ihren Wunsch hin später über den Verlauf der Transplantation zu unterrichten. Lassen die Eltern im Gespräch eine ablehnende Haltung erkennen, ist diese zu respektieren.

Im Vergleich zur Organentnahme nach dem Tode des Spenders sind *Lebendspenden* eher selten. Eine Organspende durch Minderjährige, z. B. zwischen eineiigen Zwillingen, sollte prinzipiell nicht durchgeführt werden, da Minderjährige selbst die Risiken für ihr Leben nicht zuverlässig beurteilen können. Ebenso problematisch ist es, den Eltern die Last einer Entscheidung aufzuerlegen. Dies gilt natürlich nicht für die Knochenmarkstransplantation zwischen Minderjährigen, da sie einen ungefährlichen Eingriff für den Spender darstellt.

Bei einer Lebendspende eines nahen erwachsenen Angehörigen ist zu berücksichtigen, daß ein großer Erwartungsdruck von seiten Familie dem Spender eine freie Entscheidung nahezu unmöglich macht, und daß eine Abstoßung des von ihm gespendeten Organs zu psychischen Problemen führen kann.

Auch Organspenden von Lebenden, die keinerlei Beziehung zum Empfänger haben, d. h. Lebendspenden von Gefangenen und gegen Entgelt, sind nicht zu akzeptieren (Eigler 1982).

Im Hinblick auf den Patienten ist zu berücksichtigen, daß dieser erst lernen muß, mit dem fremden Organ zu leben, und es als sein eigenes Organ zu akzeptieren. Behandelnde Ärzte und Psychologen müssen dem transplantierten Kind dabei helfen, die seelische Belastung, mit dem Organ eines Verstorbenen zu leben, zu bewältigen (Reiter 1994). Für Ärzte und Pflegepersonal kann die Transplantation von einem verstorbenen Kind durch die zahlreichen Probleme wie Hirntoddiagnostik, Diskussion über die Organentnahme mit der Notwendigkeit der Weiterführung der Intensivtherapie und der Reaktionen der Eltern zu nicht unerheblichen psychischen Belastungen führen. Ärzten und Pflegekräften sollten die Bewältigung dieser zahlreichen Probleme durch entsprechende Schulungen und Aussprachen, evtl. in Form von Balintgruppen, erleichtert werden.

Es kommt vor, daß Eltern mit einer nach den gültigen Maximen der modernen Kinderheilkunde nötigen Behandlung ihres Kindes nicht einverstanden sind oder aber aus religiösen Gründen ihr Einverständnis nicht geben können. Beispiele sind die Ablehnung einer zytostatischen Behandlung oder eines operativen Eingriffs bei einer onkologischen

Erkrankung; die Ablehnung einer dringend notwendigen Bluttransfusion aus Angst vor einer Übertragung von AIDS oder aus religiösen Gründen (überzeugte Zeugen Jehovas); schwere Ernährungsstörungen und Rachitis als Folge einer Fehlernährung durch Eltern, die überzeugte Veganer sind und keine Behandlung mit Vitaminen, Spurenelementen und Eiweiß zulassen.

Rechtlich ist zunächst zu klären, ob es sich um eine „Fehlentscheidung" der Eltern handelt (Eser 1982). Bevor die Einverständnisverweigerung durch die Eltern als „Fehlentscheidung" eingestuft wird, sollten zunächst mögliche Gründe dafür erwogen werden. Z. B. Uneinigkeit unter den Eltern; mangelndes Verständnis der medizinischen Zusammenhänge hinsichtlich Indikation und Notwendigkeit einer Behandlung; Angst vor einer nebenwirkungsreichen Therapie; Mißtrauen gegenüber den Fähigkeiten des behandelnden Arztes; vermeintliche oder wirkliche Behandlungsalternativen; Gewissensgründe oder religiöse Überzeugungen.

Während einige dieser Gründe durch sorgfältige Aufklärung, Beauftragung eines anderen Arztes mit der Behandlung oder Überzeugung der Eltern nach Vorstellung ihres Kindes in anderen Behandlungszentren, welche die gleichen Therapierichtlinien empfehlen, behoben werden können, gibt es Situationen, in der die notwendige Behandlung des Kindes weiter verweigert wird. Der Kinderarzt muß in solchen Fällen entscheiden, ob er darüber hinweggehen kann oder eine staatliche Instanz einschalten muß. Bei einer relevanten „Fehlentscheidung" der Eltern, die eine Gefahr für das Kind zu werden droht, muß er den Willen der Eltern übergehen und ein Vormundschaftsgericht einschalten. Glücklicherweise ist ein solches Vorgehen eher die Ausnahme. Sie ist umso seltener, je einfühlsamer der Kinderarzt auf die Ängste der Eltern eines lebensbedrohlich erkrankten Kindes eingeht.

Bei einer Behandlungsverweigerung der Eltern aus religiösen Gründen, wie es immer wieder bei überzeugten Zeugen Jehovas gegenüber dringend notwendigen Blutübertragungen der Fall ist, muß das Vormundschaftsgericht eingeschaltet werden, da ein kindeswohlgefährdender Mißbrauch des elterlichen Sorgerechtes vorliegt.

Es gehört zu den wichtigsten Aufgaben des Kinderarztes, den Eltern klarzumachen, daß es zwischen ihnen und dem Arzt nicht um eine Rechtsposition, sondern um das Wohl des Kindes geht. Unter diesen Gesichtspunkten kann es auch einmal vorkommen, daß der Kinderarzt eine Behandlung ablehnt. Beispiele für solche selten vorkommenden Situationen sind eine geforderte Frischzellenbehandlung bei angeborenen Fehlbildungen, eine schwerwiegende Non-Compliance oder Behinderung einer unbedingt notwendigen Diagnostik (Lumbalpunktion bei Verdacht auf Meningitis oder Durchführung einer Dünndarmsaugbiopsie bei Verdacht auf Zöliakie) oder einer fachlichen Inkompetenz im Falle einer ganz speziellen Erkrankung, die im Interesse des Kindes viel besser durch einen evtl. vom Wohnort entfernt gelegenen Behandlungszentrum durchgeführt werden kann (z. B. seltene Stoffwechselstörungen oder spezielle Vergiftungsunfälle).

Der letztgenannte Punkt, nämlich die Erkennung der eigenen fachlichen Kompetenz, sollte eine ärztlich-ethische Verpflichtung darstellen. Er ist auch von den Chefärzten größerer Kinderkliniken zu berücksichtigen, indem sie ihre Einwilligung dazu geben, Kinder mit bestimmten seltenen Erkrankungen in eine andere Kinderklinik zu verlegen, in der entsprechende Spezialisten das Kind kompetent behandeln können.

Abschließend soll auf das ethische Dilemma *kontrollierter therapeutischer Studien bzw. experimentelle Therapieformen* bei Kindern eingegangen werden.

Zahlreiche unserer derzeitigen Therapien sind überliefert und werden zukünftig durch wirksamere Behandlungsformen abgelöst. Manche Fragen der Wirksamkeit und Verträglichkeit einer Therapie sind nur durch kontrollierte therapeutische Studien sicher zu beantworten.

Olbing (1982) faßt folgende Voraussetzungen für therapeutische Studien bei Kindern zusammen: Die Studie muß vernünftig sein, d. h. Aufwand und Belästigung der teilnehmenden Patienten müssen unter Berücksichtigung der ausreichend häufigen oder ernsthaften untersuchten Krankheit gerechtfertigt sein; die zugrundeliegende Frage darf nicht bereits beantwortet sein; die Frage darf nicht durch einfachere Methoden wie in vitro-Untersuchungen oder Tierexperimente zu beantworten sein; es müssen für die Beantwortung der Frage geeignete Methoden zur Verfügung stehen; bei Studien am Kind muß die untersuchte Methode zum Einsatz bei Kindern gleicher Altersstufe bestimmt und indiziert sein. Mit Ausnahme von altersspezifischen Erkrankungen (Atemnotsyndrom des Neugeborenen, Kernikterus u.a.) muß die Erprobung eines Medikamentes bei Erwachsenen und älteren Kindern vorausgegangen sein.

Immer sollen bei kontrollierten Studien im Kindesalter lokale und überregionale Ethik-Kommissionen sowie eine angemessene Aufklärung der

Eltern, ab dem 15. Lebensjahr auch der betroffenen Patienten selbst, und ein Versicherungsschutz gewährleistet sein. Ungezügelter Wissensdurst, übertriebenes Karrierestreben und materieller Vorteil des die Studie durchführenden Arztes sollen ausgeschlossen sein. Studien mit behinderten Kindern sollten auf Fragestellungen beschränkt bleiben, die für die Behinderung spezifisch sind.

Das ethische Dilemma kontrollierter therapeutischer Studien besteht darin, daß das kranke Kind einerseits Anspruch auf eine zuverlässig überprüfte Therapie hat, andererseits aber von vermeidbaren Belästigungen und Risiken klinischer Studien verschont werden soll.

In einem eindrucksvollen Vortrag auf der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde in Würzburg, der den Titel „Therapie im Kindesalter: Wissenschaft und Magie" trug, wies J. Spranger darauf hin, daß jedes unserer schulmedizinischen Medikamente und jeder physikalische Eingriff neben den naturwissenschaftlichen auch Placebo-Effekte hat. Zahlreiche von Spranger aufgeworfene Fragen stimmen nachdenklich: Wie hypoallergen ist die in letzter Zeit von Ernährungswissenschaftlern und Milchproduzenten empfohlene hypoallergene Milch? Werden unsere Kinder durch Zusatz von ungesättigten langkettigen Fettsäuren zur Nahrung wirklich klüger, größer oder scharfsichtiger? Kann man Richtlinien trauen, nach denen bis zu 1/3 aller ausgetragenen Neugeborenen eine behandlungsbedürftige Hyperbilirubinämie haben, daß bis zu 40% der Neugeborenen allergiegefährdet sind und bis zu 20% aller Kinder eine minimale cerebrale Dysfunktion und nach einigen Untersuchern bis zu 50% aller Kinder verhaltensgestört und behandlungsbedürftig sind? Als „magisch" bezeichnet Spranger Interventionseffekte, die sich naturwissenschaftlich nicht begründen lassen und deren Grundlage die menschliche Zuwendung ist. Spranger schlußfolgert: „Wir sollten uns zur Behandlung mit dem naturwissenschaftlich begründeten Eingriff bekennen, der auf allgemein gültiger Erfahrung beruht und sich kontrollieren läßt. Dies sollten wir mit der Magie der menschlichen Zuwendung verbinden im Wissen um die Schwankungsbreite des Normalen, mit dem Mut, das Normale als nicht behandlungsbedürftig zu akzeptieren. Und wir sollten in Bescheidenheit anerkennen, daß der größte Heiler die Natur und nicht der Arzt ist."

Literatur

1. Brodner RA, Schuster E (1987) Fetal therapy. Ethicel and legal implications of prenatal intervention and clinical application. Fetal Therapy 2: 57
2. Dean HJ (1990) Demographic outcome of growth hormone deficient adults. In: Holmes CS (ed) Psychoneuroendocrinology - Brain, behaviour, and hormonal interactions. Springer, New York, S 79-91
3. Eigler FW (1982) Nierentransplantation bei Kindern: Ethische Probleme aus der Sicht des Chirurgen. In: Müller H, Olbing H (Hrsg): Ethische Probleme in der Pädiatrie und ihren Grenzgebieten. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, S 231-239
4. EserA (1982) Ärztliches Handeln gegen den erklärten oder mutmaßlichen Willen der Eltern. Juristische Gesichtspunkte zum Thema. In: Müller H, Olbing H (Hrsg): Ethische Probleme in der Pädiatrie und ihren Grenzgebieten. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, S 1781- 87
5. Grewe/ H (1993) Medizin am Scheidewege – Kritische Anfragen an eine technologisch orientierte Medizin. Ethik Med 5: 170-183
6. Kruse K (1994) Therapie mit Wachstumshormon. Monatsschr Kinderheilkd 142, S 570-579
7. Lenard HG (1990) Das Recht zu leben und das Recht zu sterben in der Neonatologie. Kinderkrankenschwester 9: 1 O- 1 4
8. Lorber J (1978) Der Rückschlag des Pendels bei der Behandlung der Myelomeningocele. Monatsschr Kinderheilkd 126: 9-13
9. Olbing H (1982) Kontrollierte therapeutische Studien bei Kindern. In: Müller H, Olbing H (Hrsg): Ethische Probleme in der Pädiatrie und ihren Grenzgebieten. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, S 126-154
10. Praetorius F (1990) Überdiagnostik – Leiden durch Bilder. Ethik Med 2: 56-67
11. Reinhardt D (1988) Pränatale Arzneimittel-Therapie des Feten. Kinderarzt 19: 1573-1580
12. Reiter J (1994) Organspende und Organtransplantation. I. Psychologische Aspekte. Kinderarzt 25: 385-388
13. Seidler E (1991) Historische und ethische Aspekte der Kinderheilkunde. In: Keller/Wiskott, Lehrbuch der Kinderheilkunde, Thieme, Stuttgart, New York, 6. Aufl., S 1 -6
14. Spranger J (1994) Therapie im Kindesalter: Wissenschaft und Magie. Monatsschr Kinderheilkd 142: 84-89

Aus dem Institut für Humangenetik der MUL (Direktor Prof. Dr. E. Schwinger), Arbeitsgruppe Tumorcytogenetik (Leiterin Prof. Dr. Ch. Fonatsch)

Cytogenetik und Molekulargenetik maligner hämatologischer Erkrankungen

C. Schoch, A. Fabarius, H. Gudat, D. Haase, F. Mirghomizadeh, H. Rieder, S. Schnittger, Ch. Fonatsch

Erratum

Die Abbildung 5 dieses in Focus MUL 11, Heft 3 (1994), S. 178-186, erschienenen Beitrages ist irrtümlich schwarzweiß gedruckt worden. Der Verlag bedauert das Versehen und veröffentlicht das Foto hier korrekt in Farbe.

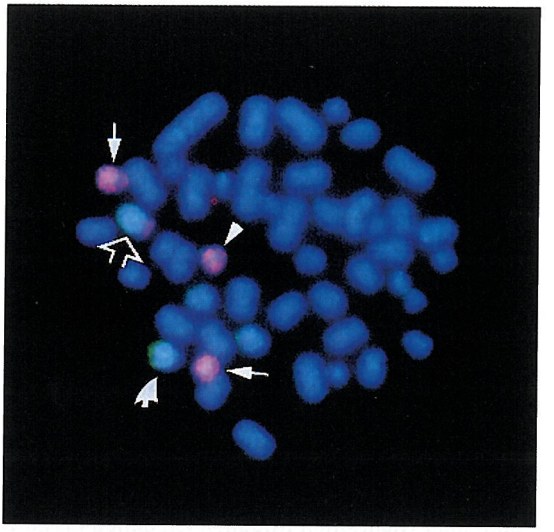


Abbildung 5: DAPI-gefärbte Metaphase (blau) einer Leukämiezelle der in Abbildung 4 angeführten Patientin nach Hybridisierung einer Probe für Chromosom 14 (grün) und Chromosom 18 (rot); die Anlagerung von Material von Chromosom 18 an ein Chromosom 14 (offener Pfeil) bestätigt die Translokation t(14;18)(q32;q21). Der an dem verkürzten Chromosom 18 (Pfeilspitze) angelagerte Anteil von Chromosom 14 liegt unterhalb des Auflösungsvermögens dieser Methode. Zwei normale Chromosomen 18 (Pfeile) und ein normales Chromosom 14 (gebogener Pfeil) sind ebenfalls gekennzeichnet.

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck

Herausgeber: Das Rektorat der Medizinischen Universität zu Lübeck

Schriftleitung: H.-P. Bruch, D. v. Engelhardt, H. L. Fehm, D. Kömpf, Ch. Weiss.

Wissenschaftlicher Beirat: H. Arnold, R. Birngruber, K.-W. Diederich, K. Diedrich, H. Dilling, H. v. Domarus, P. Dominiak, A. Ch. Feller, A. Fenner, H.-D. Flad, R. Gradinger, W. Gross, H. Halsband, W. Henkel, D. Jocham, R. Kessel, H. Kirchner, U. Knölker, R. Knuppen, K. Kruse, W. Kühnel, H. Laqua, G. M. Lösch, K. Lorentz, P. Müller, M. Oehmichen, S. Pöppl, H.-H. Raspe, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, F. Schmielau, P. Schmucker, R.-M. Schütz, E. Schwinger, O. Strubelt, W. Traut, A. X. Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, H. H. Wolff (alle Medizinische Universität zu Lübeck)

Redaktion: H. F. Piper, R. Labahn, Telefon (04 51) 5 00 30 04

Anschrift: Medizinische Universität zu Lübeck, Ratzeburger Allee 160, D-23562 Lübeck

Auflage: 5000 Exemplare

Verlag: Hansisches Verlagskontor Heinz Scheffler, Mengstraße 16, D-23552 Lübeck, Telefon (04 51) 16 05-0

Anzeigen: Hansisches Verlagskontor H. Scheffler, Christiane Kermel

Druck: Verlag Schmidt-Römhild KG, Mengstraße 16, 23552 Lübeck, Telefon (04 51) 16 05-0

Erscheinen: FOCUS MUL erscheint vierteljährlich

Redaktionsschluß: 6 Wochen vorher

Bezugspreis: Einzelheft DM 18,–, Jahresabonnement DM 70,– zuzügl. Versandkosten. In den Mitgliedsbeiträgen der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Medizinischen Universität zu Lübeck enthalten

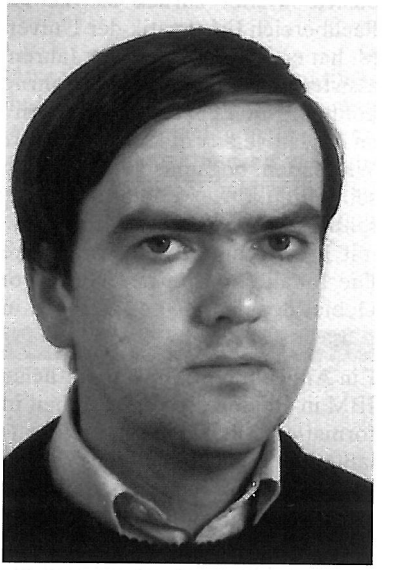
ISSN 0940–9998

Prof. Dr. rer. nat. Volker Linnemann,

Direktor des neuen Instituts für Informationssysteme

Der Computer hält seit längerem auch in vielen Gebieten der Medizin Einzug. Der Entschluß der Schleswig-Holsteinischen Landesregierung vom Februar 1990, an der Lübecker Universität einen neuen Studiengang Informatik mit dem Nebenfach Medizinische Informatik einzurichten, ist in Deutschland jedoch bislang neu. Als ein eigenständiges Fach wird die Medizinische Informatik bislang nur als Kombinationsstudiengang von der Universität Heidelberg und der Fachhochschule Heilbronn angeboten. Der Wissenschaftsrat bezeichnet deshalb die Einrichtung des zukunftsweisenden Studiengangs in Lübeck in seiner Stellungnahme vom Januar 1993 als ein Konzept mit Modellcharakter.

Wenn in diesem Jahr die Studienanfänger an der MUL begrüßt werden, können 28 „Pioniere" des neuen Studienganges Informatik bereits auf ein Jahr an der Lübecker Universität zurückblicken. Seit Dezember 1993 leitet Prof. Dr. rer. nat. Volker Linnemann dort das neu eingerichtete Institut für Informationssysteme.



Professor Linnemann wurde 1953 in Delmenhorst in Niedersachsen geboren, dort lebte er bis zu seinem Abitur 1972. Als einer der ersten begann er im gleichen Jahr mit dem Informatikstudium an der Technischen Universität Braunschweig. Schon während des Studiums konnte er durch eine Tätigkeit als Werkstudent bei den Vereinigten Flugtechnischen Werken, wo er an der Entwicklung eines Nahverkehrssimulationssystems beteiligt war, erste Erfahrungen in industrieller Umgebung erwerben. Die starke Verzahnung von Hochschulforschung und der Arbeit in der Industrie begleitet ihn während seines ganzen Werdegangs. Die industrielle Erfahrung hält Professor Linnemann für jeden Informatik-Hochschullehrer für sehr wichtig. Er bedauert, daß nur wenige diese Chance sehen, den Studenten ihr eventuelles späteres Arbeitsumfeld besser näherbringen zu können.

1977 schloß Professor Linnemann sein Studium mit einer Diplomarbeit ab, deren Thema schon die ersten Anfänge seiner späteren Spezialisierung auf das Gebiet der Programmiersprachen erkennen läßt: „Syntaxgesteuerte Generierung von ALGOL-68 Programmen". Nach seinem Examen war Professor Linnemann für zwei Jahre als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl D für Informatik an der TU Braunschweig im Forschungsprojekt „Suchrechner" beschäftigt.

1979 promovierte er bei Prof. Dr. Alber und Prof. Dr. Stiege. In seiner Dissertationsarbeit werden Sprachelemente zur Generierung und Umformung syntaktischer Strukturen auf der Basis von ALGOL-68 behandelt.

Ein DAAD-Stipendium ermöglichte es Professor Linnemann 1979, für einen einjährigen Studien- und Forschungsaufenthalt an die University of Toronto in Kanada zu wechseln. In Studien mit den kanadischen Wissenschaftlern beschäftigte er sich unter anderem mit Betriebssystemkonzepten (u.a. UNIX) und Rechnersystemen. Während der Zusammenarbeit mit Prof. Tsichritzis kristallisierte sich dort sein Forschungsschwerpunkt deutlich heraus: Datenbanken. Seine Forschungen sind in erster Linie benutzerorientiert. Er beschäftigt sich damit, wie ein Anwender sinnvoll mit einer Datenbank arbeiten kann. Ein wichtiger aktueller Aspekt liegt dabei in der Integration älterer Datenbanksysteme und konventioneller Karteisysteme in neue Datenbankumgebungen.

Nach seinem Auslandsaufenthalt ging Professor Linnemann als Systemingenieur in die Abteilung für SoftwareTechnologie der Nixdorf Computer AG in Paderborn. Von 1981 bis 1982 war er dort als Projektleiter an der Konzipierung und Implementierung einer Testumgebung für Software beschäftigt.

1982 zog es ihn nach seinem ersten Jahr in der Industrie wieder zurück an die Hochschule. Am Fachbereich Informatik der Universität Frankfurt/M. hat er sich in seinen vier Jahren als Hochschulassistent weitreichende Erfahrungen aneignen können. Mit Lehrveranstaltungen unter anderem an der University of Maryland, European Division, Wiesbaden, begann seine Lehrtätigkeit. Er nutzte seine Frankfurter Zeit aber auch dazu, einige wesentliche Forschungsarbeiten, teilweise zusammen mit Prof. Schmidt und Prof. Jarke, zu verfassen. Die Inhalte konzentrieren sich vor allem auf das Gebiet der rekursiven Anfragen in Datenbanksystemen.

Ein Angebot des Wissenschaftlichen Zentrums der IBM in Heidelberg zur Mitarbeit im Advanced Information Management Projekt (AIM-P) veranlaßte Professor Linnemann 1986 zu einem erneuten Wechsel in die industrielle Forschung. Neben einer Weiterfihrung der Arbeiten an rekursiven Anfragen im Zusammenhang mit komplex strukturierten Objekten arbeitete er maßgeblich an einem Prototypdatenbanksystem zur Unterstützung komplexer Objekte mit. Dieses System eignet sich besonders zur Unterstützung von Ingenieuranwendungen und ist damit auch für das Gebiet der Softwaretechnologie nutzbar.

Zusammen mit den Professoren Lockemann und Dillmann war er am Aufbau verschiedener Forschungskooperationen, unter anderem dem „Relational Robotics Database System", $R^2 D^2$, mit der Universität Karlsruhe beteiligt. Ein weiterer Schwerpunkt der Heidelberger Arbeit bestand in seiner Aufgabe als Projektleiter für die Durchfuhrung von Forschungsstudien mit ausgewählten Industriefirmen sowie in zahlreichen Gutachtertätigkeiten. Im Dezember 1990 wurde Professor Linnemann durch einen Outstanding Technical Achievement Award der Firma IBM für seine wissenschaftliche Arbeit dort ausgezeichnet.

1991 folgte er einem Ruf auf eine C3-Professur für Informatik an der Universität Würzburg. Dort vertrat er das Gebiet „Datenbanken". Mit dem Wissenschaftlichen Zentrum der IBM blieb er durch ein Kooperationsprojekt in Verbindung. Dieses beinhaltete den Einsatz der bei IBM entwickelten Datenbankprototypen in Lehre und Forschung, insbesondere in einem neuen Projektpraktikum „Datenbanksysteme".

Ein ähnliches Praktikum ist auch für Lübeck geplant. Professor Linnemann selbst freut sich auf die Zeit, wenn er im Hauptstudium seine Schwerpunktthemen unterrichten wird.

Für den innovativen Studiengang an der Lübecker Hochschule wünscht er sich unter anderem die Anschaffung verschiedener Datenbanksysteme, deren Umgang die Studenten soweit beherrschen sollen, daß sie sich in der Industrie zurechtfinden können. Er betont, daß der Studiengang in Lübeck ein „echtes" Informatikstudium mit dem Nebenfach Medizinische Informatik ist. Studenten, die hier das Grundstudium absolviert haben, sollen die Möglichkeit haben, an jede beliebige Universität wechseln zu können, genauso wie Lübeck Ortwechsler aufnehmen möchte, die z.B. an dem medizinischen Nebenfach interessiert sind.

Bei der derzeit noch niedrigen Studentenzahl haben die Lübecker Informatiker momentan sehr gute Arbeits- und Studienmöglichkeiten. Die 28 Studenten können jetzt noch zu jeder Zeit an den Rechnern arbeiten, ohne wie an anderen Universitäten lange warten zu müssen. Für das Wintersemester 1994/95 sind 40 der 59 Bewerber zugelassen worden. Damit ist Lübeck eine von sieben der insgesamt 39 Universitäten, an denen es für das Fach Informatik mehr Bewerber als Studienplätze gibt.

Langfristig gesehen, wird auch die Raumsituation zu einem Problem werden. Momentan sitzt der junge Direktor zusammen mit fünf weiteren Mitarbeitern in den Räumen der ehemaligen Seefahrtschule, mitten im Grünen. Die dem Gebäude anhaftende Romantik schwindet jedoch langsam beim Eintritt in die neu ausgestatteten Räume, die noch den Geruch der fabrikneuen technischen Geräte tragen. Professor Linnemann berichtet von der zeitraubenden und aufwendigen Beschaffung der nötigsten Erstausrüstung für den Neuaufbau des Instituts. Elf Workstations stehen für die Studenten bereit, Daten in sich aufzunehmen. Doch nicht nur darauf kommt es an, denn selbst der versierte Datenbankinformatiker lebt heute noch nicht losgelöst von den Lesesälen der Bibliotheken. Wie der Studiengang selbst muß auch die Informatik-Bibliothek erst noch heranwachsen.

Professor Linnemanns Erinnerungen an die Zeit vor dem PC gehören für uns schon der fernen Vergangenheit an. In wenigen Fächern ist die Entwicklung der letzten Jahre so rasant vorangegangen wie in der Informatik. Auf die Frage, warum er sich vor über zwanzig Jahren als einer der ersten auf die Immatrikulationslisten für den Studiengang Infor-

matik geschrieben hat, kann Professor Linnemann nur mit wahrem Interesse an dem Gebiet antworten. Der Begriff „Informatik" war damals nur wenigen bekannt, und PC's waren noch nicht erfunden. Auch das Arbeiten am Bildschirm begann erst. Es war durchaus noch üblich, daß man einen Stapel Lochkarten stanzen mußte, den man dann im Rechenzentrum abgab. Im günstigsten Fall hatte man dann seine Ergebnisse ein paar Stunden später. Wenn man zufällig irgendwo ein Komma vergessen hatte, begann die Prozedur von neuem. In den Schulen ging damals noch „die große Diskussion darum, ob man Taschenrechner bei schriftlichen Prüfungen zuläßt", und Professor Linnemann erinnert sich an den Kauf eines relativ einfachen Taschenrechners für 600,— DM.

Professor Linnemann sieht insofern ganz wesentliche Unterschiede in den beiden Studentengenerationen der Informatiker von 1972 und 1994, „als die meisten Studenten heute andere Voraussetzungen mitbringen, die durchaus nicht immer nur positiv sind". Die Vorstellungen, die Studenten heute von der Arbeit mit einem PC haben, entsprechen nicht unbedingt immer dem, „was man vom wissenschaftlichen Standpunkt her gerne möchte. Ein wichtiger Punkt in der Informatik ist, daß man systematisch Programme entwickelt und nicht immer nur ausprobiert".

Bis die organisatorischen Hürden der Anfangsphase gemeistert sind, fällt es Professor Linnemann schwer, sich seinen Urlaub zu genehmigen. Wenn er sich Freizeit gönnt, widmet er, der seit vier Jahren Vater ist, sie seiner Familie. Sobald er die Zeit dazu findet, möchte sich der Geiger auch um einen musikalischen Anschluß in Lübeck bemühen.

AUS DER HOCHSCHULE

Medizin heute *

E. Schwinger

Die Probleme um die Medizin sind heute so vielfältig, daß es bei diesem Thema schwerfällt, eine so wohlige und angenehme Atmosphäre zu verbreiten, wie man es sich bei einem Festvortrag wünscht. Ich glaube aber, es wäre gerade bei dem heutigen Anlaß falsch, nicht auch auf die veränderten Bedingungen und auf die Sorgen einzugehen, die die von der Universität kommenden Kolleginnen und Kollegen verständlicherweise haben müssen.

Wenn wir über „Medizin heute" nachdenken, sollten wir natürlich wissen, wie Medizin gestern war. So gravierende Veränderungen wie in den vergangenen zehn Jahren sind bisher in der Medizin zu keiner Zeit eingetreten. Ich möchte einige Bereiche nennen und mit der Diagnostik beginnen.

Die Techniken der bildgebenden ebenso wie der endoskopischen Verfahren haben in allen medizinischen Fächern einen Stand erreicht, der Mitte der 80er Jahre nicht denkbar schien. Diagnostische Laborverfahren werden immer subtiler, sie beziehen immer mehr immunologische und molekulargenetische Untersuchungstechniken ein, die z.B. im Bereich der Tumordiagnostik einen hohen Stellenwert gewonnen haben.

Noch evidenter sind die Veränderungen und Fortschritte in der Therapie. Die Perinatalmedizin hat die Neugeborenensterblichkeit gesenkt, viele Tumoren im Kindesalter sind „heilbar" geworden, die Verbesserung der pädiatrischen Intensivmedizin zeigt bemerkenswerte Erfolge. Die Einführung der „minimal invasiven" chirurgischen Techniken hat bereits in allen operativen Fächern zu völlig neuen Behandlungsmethoden geführt, und jeder, der diese neuen gering invasiven Techniken am Leib erfahren konnte, hat sie schnell schätzen gelernt.

Ähnliche Veränderungen finden sich im breiten Gebiet der Inneren Medizin mit ihren vielen Subspezialitäten. Neue Pharmaka, gentechnologisch entwickelte Medikamente in ausreichender Menge zu langfristig niedrigen Preisen, die Beeinflussung des Endokriniums und der Botensysteme, Veränderungen der Tumortherapie und vieles andere mehr. Last but not least wären die enormen Fortschritte der Reproduktions- und der vorgeburtlichen Medizin sowie die Tumorbehandlung innerhalb der Gynäkologie zu nennen.

Diese Aufzählung ist ganz bewußt lückenhaft und soll nur beispielhaft verstanden sein. Es ließen sich diese offensichtlich guten Nachrichten für wohl

*)Prof. Dr. med. Eberhard Schwinger, der Ärztliche Direktor des Klinikums und Direktor des Instituts für Humangenetik der MUL, sprach zu diesem Thema auf der Promotionsfeier der Medizinischen Universität zu Lübeck am 1. Juli 1994.

alle medizinischen Subspezialitäten fortsetzen. Ganz generell hat der Übergang von Forschung in angewandte Medizin heute ein rasantes Tempo erreicht.

Aber hier muß bereits kritisch angemerkt werden, daß dieses Tempo häufig die Chance einer zurückhaltenden Evaluierung verhindert und daß eine wirklich langfristig überzeugende Beurteilung von Entwicklungen häufig fehlt. Die Folge davon sind Geräteparks, die in vielen Kliniken und Instituten ungenutzt stehen, weil entsprechende Techniken, für die diese Geräte angeschafft worden waren, nicht das gehalten haben, was man sich ursprünglich von ihnen versprach.

Aber wir müssen uns leider auch mit anderen, sicherlich weniger guten Nachrichten nach dieser Aufzählung von Fortschritten auseinandersetzen.

Zwei Gegenthesen könnte man so formulieren: Die dargestellten modernen Entwicklungen führen zu einer übertriebenen Technisierung der Medizin. Es wird zwar eine ständig steigende durchschnittliche Lebenserwartung erreicht. Die individuelle Lebensqualität nimmt aber nicht entsprechend zu, sondern es wird persönlich oft Gegenteiliges empfunden. Der Patient wird durch das Übermaß an technischer Diagnostik und Therapie ständig verunsichert. Es wird viel zu wenig mit ihm gesprochen und so seine persönliche Mitwirkung am Heilungsprozeß eingeschränkt. Durch die technischen Entwicklungen ist die Medizin viel zu teuer geworden und kann so nicht weitergeführt werden.

Lassen Sie mich zu diesen mehr oder weniger bekannten Thesen einiges kommentieren: Es ist für mich unbestreitbar, daß die Technisierung der Medizin bei richtiger Nutzung ein Segen für viele Patienten ist, daß diese Nutzung heute aber übertrieben wird. Sowohl bei den niedergelassenen Ärzten als auch in den Kliniken tritt die klinische Untersuchung der Patienten und vor allem das Gespräch mit diesen in den Hintergrund. Stattdessen werden technisch-diagnostische „Großuntersuchungen" eingeleitet. Die so Behandelten werden vor allem bei nicht ausreichendem begleitenden Gespräch unzufrieden und finden nicht selten den Weg in diejenigen Praxen,in denen zwar Gespräche intensiv geführt werden, die notwendige wissenschaftlich fundierte medizinische Behandlung aber in den Hintergrund tritt.

Ich finde es, ohne jede Ironie, erstaunlich und bedauerlich, daß man heute glaubt, das normale ärztliche Gespräch lehren zu müssen, daß es psychologisch untermauert sein sollte und am besten ständig supervisiert sein müßte. Es gibt Situationen, in denen spezielle Kenntnisse zur Optimierung einer Gesprächsführung sehr hilfreich und eventuell auch unumgänglich notwendig sein können. Für das normale aufklärende und die Behandlung begleitende ärztliche Gespräch erscheint aber vor allem das Wollen des Arztes, das Sich-bewußt-dafür-Zeit-nehmen, der Respekt vor der Autonomie des Patienten und der gesunde Menschenverstand überwältigend wichtig zu sein.

Ich komme aus einem Fach der Medizin, in der genetische Beratung eine wichtige ärztliche Aufgabe darstellt. Es ist häufig erschütternd zu erleben, wie insbesondere Schwangere durch nicht genügend besprochene technische Untersuchungen und deren Ergebnisse verunsichert und beunruhigt werden, und es bedarf häufig großer Mühe, sie im Rahmen eines Beratungsgespräches wieder zu beruhigen und die Dinge wieder zurechtzurücken.

Eine der eben genannten Gegenthesen lautete, die Technisierung der Medizin hat diese zu teuer gemacht. Dies ist natürlich nur teilweise richtig. Die Medizin wird immer teurer und muß immer teuerer werden, weil immer mehr behandelt wird, wir statistisch immer älter werden und auch in hohen Altersgruppen immer mehr behandelt wird, und weil eben auch mehr Technik eingesetzt wird. Unsere Gesellschaft hat aber nun mit relativ breit getragenem Konsens festgestellt, daß die Kosten für das Gesundheitswesen zu hoch sind und daß zur Zeit Begrenzungen – unschön ausgedrückt, ist das die Deckelung – eingeführt werden müssen. Die einzelnen Kosten im Krankenhaus oder bei den Niedergelassenen werden budgetiert und Steigerungen nur in etwa entsprechend der Lohnsummensteigerung zugelassen.

Ich persönlich finde es richtig, daß eine Gesellschaft sich entscheidet, wieviel die Gesundheit dieser Gesellschaft wert ist. Ich stimme nicht mit den Kolleginnen und Kollegen überein, die behaupten, daß im Gesundheitswesen keine Sparpotentiale ohne Verschlechterung der Patientenversorgung ausgeschöpft werden können. Nach jahrelangen überproportionalen Kostensteigerungen im Gesundheitswesen, und wir kennen aus dem Krankenhausbereich ja einzelne Gründe dafür, sind Einsparungsmöglichkeiten vorhanden.

Dies sind Bereiche, die Sie aber verständlicherweise zur Zeit weniger interessieren. Sie interessieren sich natürlich mehr für die Auswirkungen dieser Sparpolitik im ärztlichen Bereich. Ein Teil der Restriktionen betrifft ja auch die teilweise Begrenzung der Niederlassungsfreiheit und die Begrenzung der Personalausgaben in den Krankenhäusern, ja teilweise, wie auch bei uns, die Rücknahme

von Personalstellen durch den Krankenhausträger. Diese Veränderung von oben, das Eingreifen des Gesundheitsstrukturgesetzes in den ärztlichen Arbeitsmarkt und die damit verbundene Aufhebung aller Ausbildungspläne und Bedarfsprognosen, ist etwas, was man den Verantwortlichen wirklich als unverantwortlich vorwerfen muß.

Einzelne Institutionen fordern, daß die ärztliche Arbeit besser verteilt werden solle und daß z.B. Überbelastungen durch Überstunden abgebaut werden sollten. Dies erscheint einleuchtend, wenn auf der einen Seite Ärztinnen und Ärzte Stellen suchen und auf der anderen Seite viele vergütete Überstunden geleistet werden müssen. Nur, um einmal Zahlen zu nennen: Wenn in dem hiesigen Klinikum nur noch die Bereitschaftsdienste als Überstunden vergütet würden und keine Bezahlung für sonstige Überstunden mehr anfiele, könnten aus den umgeschichtenden Mitteln ca. 20 Assistentenstellen zusätzlich eingerichtet werden. Wohlgemerkt, es stünde dann keine Mark mehr zur Vergütung von reinen Überstunden zur Verfügung. Ich glaube, diese Zahlen relativieren etwas die mit diesen Argumenten geweckten Hoffnungen.

Es ist sicherlich keine besonders erfreuliche Situation, vor der Sie stehen. Viele von Ihnen haben aber bereits eine Stelle und der berufliche Weg beginnt sich abzuzeichnen. Andere werden schon bemerkt haben, wie schwer es sein kann, Stellen zu finden. Was kann man ganz allgemein raten?

Ich bin fest davon überzeugt, daß man aufgrund der eben aufgezeigten „natürlichen Zuwächse" für notwendige ärztliche Leistungen die jetzige restriktive Personalpolitik mittelfristig nicht aufrechterhalten kann. Es werden Ärztinnen und Ärzte gebraucht werden, und es werden auch mehr, vor allem besser qualifizierte gebraucht werden, sicherlich unter nicht mehr so günstigen wirtschaftlichen Rahmenbedingungen wie in der Vergangenheit. Insofern kann es für Sie nur das Bemühen um weitere Qualifikationen zu einer vielleicht weniger technisierten und damit auch kostengünstigeren Medizin geben. Sicherlich ist auch als Überbrückung der jetzigen schwierigen Zeit der Weg ins Ausland, den zur Zeit viele suchen, eine Möglichkeit. Wenn man diese Möglichkeit zur Qualifikation nutzen kann, wenn man während einer solchen Zeit Selbstvertrauen findet und etwas Gelassenheit – an der es uns ja nicht selten mangelt – dazulernen kann, dann kann eine solche aus der momentanen Not geborene Zeit ein großer Gewinn werden.

Ich möchte nicht mit dem Zitat einer weisen Frau oder eines berühmten Mannes enden. Statt dessen möchte ich Ihnen, quasi als Kontrastprogramm, erzählen, wie es in Ihrer Situation mir ergangen ist. Ich hatte 1965 das Staatsexamen in Bonn abgelegt, meine Doktorarbeit war eingereicht, ich hatte mich für eine Medizinalassistentenzeit Innere Medizin in Hannover entschieden und wollte noch einmal richtig Urlaub machen. Daraus wurde nichts. Jeden Morgen Punkt 7 Uhr riß mich das Telefon aus dem wohlverdienten Tiefschlaf, und mein zukünftiger Chef fragte mich, wann ich denn endlich anfangen würde, ich hätte mich doch nun ausreichend erholt und würde dringend gebraucht.

Meine Damen und Herren, es ist genau das, was ich Ihnen für Ihren zukünftigen Weg wünsche: Möge die Qualifikation, die Sie mit dem Abschluß Ihres Staatsexamens und Ihrer Doktorarbeit erreicht haben, zusammen mit Ihrem persönlichen Einsatz und Ihrer Weiterbildung die Voraussetzung dafür sein, daß Sie trotz der aufgezeigten schlechten momentanen Situation während Ihres Berufslebens immer gebraucht werden.

Personalia

Ruf an die Medizinische Universität angenommen

Priv.-Doz. Dr. med. Manfred Kaps, Gießen, hat den Ruf auf die Professur (C3) für Neurologie an der Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität angenommen. Er wurde für die Dauer von sechs Jahren zum Universitätsprofessor ernannt.

Ruf an die Medizinische Universität erteilt

Priv.-Doz. Dr. Sören Gatermann, Lübeck, wurde der Ruf auf die Professur (C3) für Medizinische Mikrobiologie an der Medizinischen Universität erteilt.

Prof. Dr. P. Imkeller wurde ein Ruf auf die Professur (C3) für Mathematik an der Medizinischen Universität erteilt.

Ruf nach auswärts angenommen

Prof. Dr. med. Andreas Gal, Institut für Humangenetik der Medizinischen Universität, hat einen Ruf auf die Professur (C4) für Humangenetik am Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg, angenommen.

Ruf nach auswärts erhalten

Priv.-Doz. Dr. Dr. Horst Michna, Institut für Anatomie der Medizinischen Universität, derzeit tätig bei der Schering AG Berlin (Institut für Onkologie), hat den Ruf auf die Professur (C4) für Experimentelle Morphologie an der Deutschen Sporthochschule Köln erhalten.

Wissenschafts- und Fachgesellschaften

Prof. Dr. med. Klaus Diedrich, Direktor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität, wurde zum ständigen Schriftführer der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe gewählt.

Prof. Dr. med. Wolfgang Kühnel, Direktor des Instituts für Anatomie der Medizinischen Universität, wurde erneut, auf die Dauer von 5 Jahren, zum Generalsekretär der „International Federation of Associations of «Anatomists" (IFAA) gewählt.

Priv.-Doz. Dr. med. Friedrich Karl Tegtmeyer, Klinik für Pädiatrie der Medizinischen Universität, wurde zum Sekretär der European Society for Pediatric Intensive care Medicine (ESPIC) gewählt.

Prof. Dr. med. Helmut H. Wolff, Direktor der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen Universität, wurde zum Vizepräsidenten der International Society of Dermatopathology gewählt.

Kommissarische Institutsleitung

Prof. Dr. rer. nat. Rupert Lasser, Direktor des Instituts für Mathematik der Medizinischen Universität, wurde zum Kommissarischen Direktor des Instituts für Medizinische Statistik und Dokumentation der MUL bestellt.

Ernennung zum apl. Prof.

Priv.-Doz. Dr. med. Ursula Froster, zuletzt Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität, wurde zur außerplanmäßigen Professorin ernannt.

Preise

Regine Gläser, Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin der Medizinischen Universität, wurde von der Gesellschaft für Nephrologie für ihre Arbeit „Entwicklung einer molekulargenetischen Technik zur prospektiven HLA-DRB1-Typisierung in der Nierentransplantation" der Preis für die beste Promotionsarbeit zugesprochen.

Priv.-Doz. Dr. med. Horst Harald Klein, Medizinische Klinik der Medizinischen Universität, wurde von der Deutschen Diabetes-Gesellschaft der Ferdinand-Bertram- Preis 1994 verliehen. Er arbeitete in den vergangenen Jahren vor allem über die Rolle der Insulinrezeptorkinase bei der Insulinsignalübertragung und der Insulinresistenz.

Dr. med. Wolfram Mittelmeier, Klinik für Orthopädie der Medizinischen Universität, wurde der Albert-Hoffa-Preis 1994 der Norddeutschen Orthopädievereinigung verliehen. Der Preis wurde ihm für seine Arbeiten auf dem Gebiet des Knochenersatzes, namentlich die Monographie „Knochenneubildung im ersatzschwachen Lager", zugesprochen.

Dr. med. Stefan Roszinski und Prof. Dr. med. Wilfried Schmeller, Klinik für Dermatologie und Venerologie, der Medizinischen Universität, wurden anläßlich der 34. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Phlebologie in Recklinghausen mit dem Senator-Pütter-Preis 1994 ausgezeichnet. Sie erhielten den Preis für ihre Arbeit „Invasive (intrakutane) und nicht-invasive (transkutane) Messungen des Sauerstoffpartialdrucks der Haut bei Patienten mit chronischer Veneninsuffizienz."

Priv.-Doz. Dr. med. Peter Vieregge, Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität, wurde für seine Arbeit „Die idiopathische senile Gangstörung" der Heinrich-Pette-Preis der Deutschen Gesellschaft für Neurologie verliehen. Zu gleichem Teil geht der Preis an Priv.-Doz. Dr. med.

Roland Martin, Universität Tübingen, für eine Arbeit zu Autoimmunmechanismen in der Pathogenese der Multiplen Sklerose.

Forschungsförderung

Prof. Dr. med. Wolfgang Gross, Direktor der Abteilung für Klinische Rheumatologie, Medizinische Universität und Rheumaklinik Bad Bramstedt, wurde im Rahmen des Förderschwerpunkts „Aufbau integrierter Strukturen zur Rheumaforschung an den vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Rheumazentren" der Verbundantrag „Vaskulitiden – Ätiopathogenese, Therapie, Epidemiologie" bewilligt.

Dr. med. Michael Tronnier und Prof. Dr. med. Helmut H. Wolff, Klinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen Universität, wurden für ihr Projekt „Beeinflussung melanozytärer Nävi durch Sonnenlicht" von der Deutschen Krebshilfe (Dr. Mildred Scheel-Stiftung) 170.000,- DM bewilligt.

Priv.-Doz. Dr. Rolf Verleger und Priv.-Doz. Dr. Karl Wessel, Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität, wurden für das Projekt „Entwicklung einer Meßumgebung zur Erfassung von Bewegungsstörungen neurologischer Patienten" von der Deutschen Forschungsgemeinschaft Personal- und Sachmittel bewilligt. Es soll ein Meßplatz entwickelt werden, bei dem die dosierte Kraftausübung beider Hände gemessen werden kann und EEG-Korrelate der Bewegungskontrolle abgeleitet werden.

„Erasmus" – europäischer Studentenaustausch

Der schon seit Jahren bestehende Studentenaustausch mit den Universitäten Bergen/Norwegen und Tartu/Estland wurde im letzten Jahr durch Aufnahme der Medizinischen Universität in das europäische Erasmus-Programm mit einem Studentenaustausch mit der Universität Graz/Österreich fortgesetzt. Nun erhielt die Medizinische Universität zu Lübeck in Brüssel auch grünes Licht für eine Erweiterung der Studentenmobilität mit den Universitäten Barcelona in Spanien und Caen in Frankreich. Das Interesse der Lübecker Studenten auch für diese Universitäten ist beträchtlich, die Erasmus-Förderungssumme für den europäischen Studentenaustausch von Lübeck aus wurde in Brüssel verdoppelt. Die Koordination des Austausches liegt bei Privatdozent Dr. med. Günter Wiedemann und beim Leiter des Akademischen Auslandsamtes der Universität, Peter Mühlhausen.

Tagungen

7. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft in Travemünde

Vom 17. bis 18. Juni 1994 fand in Lübeck-Travemünde unter der Leitung von Prof. Dr. med. Horst Laqua, Klinik für Augenheilkunde der Medizinischen Universität, die 7. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft statt. In sechs Sitzungen wurden schwerpunkmäßig Erkrankungen des Glaskörpers, der Makula, die Retinopathia praematurorum, Behandlung und Prophylaxe der Ablatio, die diabetische Netzhauterkrankung sowie Tumoren abgehandelt. Zusätzlich wurden wieder Kurse zur Fluoreszenzangiographie sowie ein Diabetes-Seminar angeboten.

Koch, Cusumano und Spitznas, Bonn, verglichen bezüglich einer optimalen Fundusausleuchtung bei der Glaskörperchirurgie in einer retrospektiven Studie handgehaltene Lichtleiter mit dem multiportalen Illuminationssystem (MIS). Das MIS ermöglicht eine risikoarme Glaskörperchirurgie, unterstützt bimanuelle Techniken und Weitwinkelbeobachtungssysteme und ist daher bei schwierigen Situationen vorzuziehen.

Hoerauf, Roider, Bopp, Lucke und Laqua aus Lübeck bzw. Bremen berichteten über Silikonölfüllung bei anliegender Netzhaut und betonten, daß diese Tamponade für ausgewählte Einzelfälle ein geeignetes Mittel mit überschaubaren Risiken zur Reduzierung der Blutungsneigung und schnellen Visusrehabilitation sei. Die vielfältigen Komplikationsmöglichkeiten der Silikonölinstallation wurden von Pavlovic und Mitarbeitern aus Gießen erwähnt. Die retrospektive Analyse der Silikonölablassung bei instabilem Netzhautbefund wies eine relativ hohe Komplikationsrate auf, z.B. eine 34% Reamotiorate, kann aber in ausgewählten Fällen durchaus vorgenommen werden.

Eine Erlanger Arbeitsgruppe um Knorr, Seltsam und Naumann analysierte in einer sorgfältigen histologischen immunhistochemischen und elektromikroskopischen Untersuchung 34 enukleierte Augen, die wegen proliferativer Vitreoretinopathie über die Pars plana vitrektomiert worden waren und eine Silikonölinstallation erhalten hatten. Foerster und Helbig, Berlin, berichteten über die Wiederanlegung des Ziliarkörpers durch Installation von 40% SF6-Gas nach sorgfältiger pars-plana Vitrektomie und anschließender transskleraler Kryobehandlung im Bereich des Zyklodialyse-

spalts, um eine Verklebung des Ziliarkörpers mit der Unterlage zu erreichen.

Robert Machemer, der Vater der Vitrektomie, berichtete anschließend über fünf Augen, bei denen er eine Relokation der Makula durchgeführt hatte. Bartz-Schmidt, Kirchhof und Heimann von der Kölner Universitätsaugenklinik untersuchten die Frage, ob durch eine primäre Vitrektomie bei Augen mit einer Pseudophakieamotio das PVR-Risiko vermindert werden kann. Die Autoren empfehlen die Ausdehnung der Vitrektomieindikation auf Pseudophakiemotiones ohne lokalisierbares Foramen.

Mittels Indocyaningrün (ICG)-Angiographie können im Natriumfluoreszein-Angiogramm schlecht abgrenzbare oder okkulte subretinale Membranen zu einem hohen Prozentsatz abgegrenzt werden und sind dann einer Laserbehandlung zugänglich. Autoren, die mit dem Scanning-Laser-Ophthalmoskop arbeiten, beschreiben Membranen mit sichtbaren Gefäßstrukturen in der Frühphase, während andere mit hochauflösenden digitalisierten Funduskamerasystemen späte Hyperfluoreszenzen beobachten. Diese Befunde konnten von Inhofen, Gelisken, Schneider und Kreissig aus Tübingen bestätigt werden.

M. Thomas, St. Louis, USA, einer der Pioniere der subretinalen Chirurgie, berichtete über die Chirurgie bei subretinalen Blutungen, bei altersbedingter Makulopathie, POHS (presumed ocular histoplasmosis syndrome) und subretinalen Neovaskularisationsmembranen. Im Vergleich zu „Abwarten oder Lasertherapie" scheint die Operation zumindest bei den ersten beiden Indikationen neue Chancen zu eröffnen, so daß alle drei Indikationsgebiete zur Zeit in prospektiven Studien in den USA untersucht werden.

Über die Optionen in der bulbuserhaltenden Therapie großer maligner Melanome der Uvea berichtete Prof. Bornfeld mit seinen Koautoren Foerster, Chauvel, Friedrichs und Flühs aus Berlin und Nizza. Bei gegebener Operabilität scheint die lokale Resektion die beste Therapiemodalität zu sein.

W. Smiddy aus dem Bascom Palmer Eye Institute in Miami, USA, berichtete über die modernen Möglichkeiten der Chirurgie des Makulaforamens. Bei der mikrochirurgischen Therapie des idiophatischen Makulaforamens mit Applikation eines Wachstumsfaktors auf das Foramen (TGF-ß 2) fanden sich deutlich bessere funktionelle und anatomische Ergebnisse als bei einer Kontrollgruppe. Jedenfalls ist das Makularfomaren, das bis vor wenigen Jahren als unbehandelbar galt, heute durchaus eine Erkrankung, die der operativen Therapie zugänglich ist. Anstelle von TGF-ß verwendeten Tilanus und Deutmann aus Nijmegen, Holland, Tissucol, einen biologischen Zweikomponentenkleber.

Über eine anatomische Besserung bei 30 operierten Augen berichteten Mester und Grewing, während die funktionellen Ergebnisse weitgehend mit dem präoperativen Befund korrelierten.

Bei einer Fragebogenuntersuchung konnten Ch. Remé und ihre Mitarbeiter Tobler, Anderegg und Fassen aus Zürich zeigen, daß Blinde und Sehschwache ein schlechteres Schlafverhalten hatten. Für den Augenarzt ist es wichtig zu wissen, daß die Erhaltung eines geringen Sehrestes für den Patienten wichtig sein kann, besonders bei Neugeborenen und Kindern ist die lichtbedingte Erfahrung der zirkadianen Rhythmik bedeutsam.

3rd International Lübeck Conference on the Pathophysiology and Pharmacology of Erythropoietin, May 27-29, 1994

Nach 1988 und 1991 lud das Institut für Physiologie der MUzL in diesem Jahr zum dritten Mal dazu ein, gemeinsam über (patho-) physiologische und pharmakologische Aspekte der Erythropoietin-(Epo)-Synthese und über Erfahrungen mit der Substitutionstherapie mit gentechnisch hergestelltem Erythropoietin (rHuEpo) zu diskutieren. Rund 200 Wissenschaftler und Ärzte aus sechs Kontinenten sind der Einladung nach Lübeck gefolgt.

Die Vorträge der ersten beiden Sitzungen haben deutlich gemacht, daß die Grundlagenforschungen zum Epo in erster Linie auf die Frage gerichtet ist, wie ein Sauerstoffmangel im Gewebe in eine erhöhte Expressionsrate des Epo-Gens übersetzt wird. Peter Ratcliffe aus Oxford hat berichtet, daß das Prinzip des sauerstoff-abhängigen Kontrollsystems, wie es für die Epo-Synthese beschrieben ist, offenbar sehr weit in der Biologie verbreitet ist. Der Mechanismus der hypoxisch induzierten Expression des Epo-Gens ist im Vergleich zu demjenigen anderer Gene (z. B. PGK, LDH) sehr ähnlich.

Hauptsächlich wird Epo beim Erwachsenen in der Niere, beim Fetus in der Leber produziert. Nach Untersuchungen von Marelyn Wintour aus Melbourne ist die Rolle der fetalen Niere bisher jedoch unterschätzt worden. Neben Leber und Niere haben die Arbeitsgruppen um Ryuzo Sasaki aus Kyoto und Christian Bauer aus Zürich das Gehirn als

weitere wichtige Epo-Quelle ausgemacht. Die physiologische Funktion von Epo im Gehirn ist bisher unbekannt.

Die vorgestellten klinischen Studien konzentrieren sich auf mögliche Erweiterungen des Indikationsspektrums für rHuEpo über die renale Anämie hinaus, u. z. vornehmlich im Bereich der Pädiatrie und Onkologie. Die Anämie bei Frühgeborenen ist weniger durch einen endogenen Epo-Mangel zu erklären; vielmehr kann die Erythropoiese nicht mit dem raschen Wachstum Schritt halten. Anne Grete Bechensteen aus Oslo wies daher darauf hin, daß bei diesen Patienten eine ausreichende Versorgung mit hochwertigen Proteinen besonders wichtig ist. Außerdem muß nach Untersuchungen von John Widness aus Iowa berücksichtigt werden, daß Frühgeborene im Vergleich zu Erwachsenen eine 3fach höhere Plasma-Clearance, eine 2fach kürzere Verweilzeit und einen deutlich größeren Verteilungsraum für Epo haben. Bezogen auf ihr Körpergewicht benötigen daher Frühgeborene 2- bis 3fach höhere rHuEpo-Dosen als Erwachsene.

Patienten mit chronischen Entzündungen oder malignen Erkrankungen sind oft anämisch und haben zum Grad ihrer Anämie zu niedrige Epo-Spiegel im Plasma. Der Grund hierfür ist, daß das Immunsystem dieser Patienten vermehrt Mediatoren freisetzt (IL-1, IL-6, IFN, TNF), die die Epo-Synthese auf Transkriptionsebene hemmen. Auch Patienten unter Chemotherapie leiden oft unter einer Anämie, weil Cytostatika (wie 5-FU oder VP.16) vermehrt erythrozytäre Vorläuferzellen absterben lassen; hier können nach einer von Willem Nijhof aus Groningen vorgestellten Studie hochdosierte rHuEpo-Gaben prophylaktisch wirken. Außerdem kann nach Arnold Ganser aus Frankfurt der kurative Effekt einer rHuEpo-Therapie durch gleichzeitige Gaben anderer hämatopoietischer Wachstumsfaktoren (IL-3, G-CSF, GM-CSF) verstärkt werden.

Dies sind nur einige „Glanzlichter" der insgesamt 80 Vortrags- und Posterthemen. Insbesondere die Untersuchungen zu den Wechselwirkungen und synergistischen Effekten der verschiedenen hämatopoietischen Wachstumsfaktoren haben das 'Blut-Bild' vollständiger werden lassen. Durch die 3tägige Veranstaltung wurde abermals unterstrichen, daß es durch die vorhandene Infrastruktur der MuzL und der Stadt Lübeck möglich ist, eine Tagung mit einem „high degree of gemütlichkeit" (Frank Bunn aus Boston) durchzuführen.

H. Pagel

Medizinische Gesellschaft zu Lübeck

Sitzung am 28. April 1994

Neue Methoden und ihre Anwendung in der Pharmakologie

Charakterisierung von ACE-Hemmer-Wirkungen an Zellkulturen

Das Konversionsenzym ist eine Dipeptidase, die Angiotensin II synthetisieren, Kinine jedoch inaktivieren kann. Die Wirkungen von ACE-Inhibitoren werden daher teilweise auf eine bessere Verfügbarkeit von Bradykinin zurückgeführt. Da Kinine als Gewebshormone hauptsächlich lokal wirksam sind, liegt es nahe, die Möglichkeiten kininvermittelter Reaktionen an Zellkulturmodellen aufzuzeigen. An Phäochromozytom- und Endothelzellen haben wir die Abbaumechanismen, die Stimulationseffekte und die Möglichkeiten einer Neusynthese von Bradykinin untersucht.

Es zeigte sich, daß Bradykinin die Noradrenalin-Freisetzung aus neuronalen und chromaffinen Zellen stimuliert, und daß es durch Aktivierung der NO-Synthese im Endothel vasodilatierend und organprotektiv wirken kann. Auf zellulärer Ebene könnte das Kinin-System besonders bedeutsam sein, da die Vorstufe des Bradykinins, das Kininogen, von den untersuchten Zellen gebunden oder sogar synthetisiert wird. Unter den verschiedenen zellulären Abbauwegen für Bradykinin stellt das Konversionsenzym immer einen wesentlichen Mechanismus dar. Dies unterstreicht die Möglichkeit einer lokalen Kumulation von Kininen unter ACE-Hemmung.

A. Dendorfer

Ionenstrommessungen („Patch-clamp technique") an Herzmuskelzellen

Die klassische Methode zur Untersuchung elektrischer Erscheinungen am Herzen ist die Ableitung monophasischer Aktionspotentiale am isolierten Vorhof oder Papillarmuskel. Diese Technik erlaubt eine grobe Klassifizierung von Antiarrhythmika nach ihrer Wirkung auf die Erregungsleitung,

Refraktärzeit und Plateaudauer des Aktionspotentials. Eine befriedigende Trennung der transmembranären Na^+-, K^+- und Ca^{2+}-Ströme ist jedoch nicht möglich. Dies gelingt heute an isolierten Herzmuskelzellen. Durch eine sogenannte Spannungsklemme kann hier das Membranpotential konstant auf jeden gewünschten Wert eingestellt werden. Es ist dadurch möglich, die verschiedenen Arten von Ionenkanälen gezielt zu aktivieren oder zu inaktivieren. Man kann dann in der sogenannten „whole-cell Konfiguration" den Strom eines bestimmten Ions über die gesamte Zellmembran messen und die zugehörige Strom-Spannungsbeziehung ermitteln. Es ist aber auch möglich, durch Isolation eines kleinen Membranstückchens (patch) in der Spitze einer Mikropipette die Leitfähigkeit und das Schaltverhalten eines einzelnen Ionenkanals zu untersuchen. Dies erlaubt eine sehr genaue Charakterisierung der Interaktion zwischen einem Pharmakon und seiner Bindungsstelle am Kanalprotein. Die Patch-clamp Technik wird daher unser Verständnis der subtilen Wirkunterschiede zwischen den zahlreichen Antiarrhythmika und den verschiedenen Gruppen positiv inotrop wirksamer Substanzen bereichern und vertiefen.

H. Brasch

Mikrodialyse und ihre Anwendungsmöglichkeiten

Die Mikrodialyse wurde erstmals 1966 von Bito et al. vorgestellt. Durch ständige Verbesserungen und Verfeinerungen gewann sie zunehmend an Bedeutung als Werkzeug für bioanalytische Messungen in der Hirnforschung. Diese Technik für in-vivo Bestimmungen der Neurotransmitter-Freisetzung in den Extrazellulärraum des Gehirns erlaubt kurze oder kontinuierliche Veränderungen in spezifischen Gehirnregionen zu messen und gestattet damit Aussagen über neuronale Funktionen. Obwohl die Messung der Neurotransmitter-Freisetzung in den Extrazellulärraum eine indirekte Technik für die Messung von Veränderungen der synaptischen Aktivität ist, stellt sie eine der effektivsten Methoden dar, um Veränderungen in spezifischen Neurotransmittersystemen aufzuzeigen und sie in Korrelation zu Verhaltensweisen sowie endokrinen und physiologischen Vorgängen zu setzen.

Mikrodialyse kann ebenfalls in peripheren Geweben und Blutgefäßen angewandt werden. So ist sie für pharmakologische Analysen (z. B. Bestimmungen der Gewebeverteilung bestimmter Pharmaka) ebenso geeignet wie für physiologische Untersuchungen (z. B. Veränderungen anaboler und kataboler Stoffwechselaktivitäten unter Streß und körperlicher Arbeit).

W. Häuser

Sitzung am 23. Juni 1994

Neue Entwicklungen in der Gynäkologie und Geburtshilfe

(Fortsetzung aus FOCUS MUL 3/94)

Neue, minimalinvasive endoskopische Techniken in der Gynäkologie und Geburtshilfe

Hochleistungsfähige, 0,42 mm im Durchmesser messende, flexible Endoskope können unter Zuhilfenahme eines zugleich eleganten, wie auch protektiven Transportmechanismus des Eversionskatheters dazu benutzt werden, in-vivo-Diagnostik endoluminaler tubarer Elemente durchzuführen. Detaillierte zusätzliche visuelle Informationen über die intratubaren Strukturen und deren makroskopische Morphologie ergänzen die Tubendiagnostik. In gleichem Maße erlauben auch hochleistungsfähige Leichtleitsysteme, den Durchmesser der laparoskopischen Optiken zu verkleinern, ohne Qualitätseinbußen zu erleiden. Es wird ein neues, 1,95 mm im Durchmesser messendes Laparoskop vorgestellt, welches, wie die Tuboskopie, in unserer Klinik maßgeblich mitentwickelt wurde. Hierdurch erweitert sich der Indikationsbereich für eine laparoskopische Diagnostik.

O. Bauer

Pränatale Diagnostik angeborener Herzfehler

Mittels der zweifelslos neuen fetalen Echokardiographie und der Doppler-Echokardiographie ist es bereits im 2. Schwangerschaftsdrittel möglich, die meisten Herzfehler nicht nur zu diagnostizieren, sondern auch im Einzelfall gewisse prognostische Aussagen zu machen. Schwierigkeiten in der Diagnostik bereiten nur noch wenige Herzfehler, insbesondere kleine Ventrikelseptumdefekte, Vorhofseptumdefekte, Aortenisthmusstenosen und Lungenvenenfehlmündungen sowie Aorten- und Pulmonalstenosen leichteren Grades. Mit der neuen Methode der transvaginalen Echokardiographie ist es darüber hinaus möglich, bei Risikopatientinnen schon in der 13. und 14. SSW schwere Herzfehler zu diagnostizieren. Beim Nachweis eines fetalen Herzfehlers können weitere pränatale Untersuchungen erfolgen, insbesondere eine Karyotypisierung. In einzelnen Fällen führt die Diagnose eines sehr schweren Herzfehlers auch zu einem Schwangerschaftsabbruch. In den anderen Fällen werden die Eltern auf die Geburt eines herzkranken Kindes vorbereitet. Art, Ort und Zeitpunkt der Entbindung werden geplant. Eine kinderkardiologische Diagnostik und notwendige medikamentöse und/oder chirurgische Maßnahmen können umgehend eingeleitet werden.

U. Gembruch

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck

Inhalt – 11. Jahrgang (1994)

Das Kolleg

Spondarthritiden
J. Kekow 6

Proliferative Netzhaut-Glaskörper-Erkrankungen: klinisch-morphologische Befunde und Therapie
S. Bopp 142

Laparoskopie in der Urologie
P. Fornara, D. Jocham 210

Originalarbeiten

NOS-Immunreaktivität und NADPH-Diaphorase-Reaktivität im intramuralen Nervensystem des Dünn-und Dickdarms
H.-J. Krammer, W. Kühnel, W. Sigge 12

HIV-I/II-Infektion und Schwangerschaftsanämie in Dar-es Salaam
O. Bauer, M. Kaisi, G. Quade, K. Dietrich, N.A.S. Hamoudu, D. Krebs 17

Cholinerge Einflüsse auf die postprandiale ACTH-undCortisolsekretion beim Menschen
K. Hansen, C. Doth, D. Uthgenannt, J. Born, H. L. Fehm 20

Die Beeinflussung der Prognose von Patienten mit kolorektalem Karzinom durch systematische Nachsorgung
D. Psathakis, E. Oevermann, H. Wenk, C. Schnepf, J. Bräuter, H.-P. Bruch 28

Die Messung von Therapieeffekten bei dementen Patienten mittels kognitiver Komponenten der evozierten Potentiale
E. Wascher, R. Verleger, D. Kömpf 36

Kortikale Strategien zu Blickzielbewegungen und Aufmerksamkeit-Langsame EEG-Potentiale vor selbst initiierten Sakkaden
W. Klostermann, D. Kömpf, R. Verleger, W. Heide, B. Waschkuhn, T. Seyfert 74

Operative Technik und perioperatives Risiko bei der Behandlung hochgradiger Stenosen der extracraniellen Halsschlagadern
I. Harling, H. Wenk, Ch. Kessler, D. Kummer, Ch. Knoll, G. Müller, M. Kaiser, A. Kooistra, J. Baumgart, H.-P. Bruch 81

Einflüsse akuter simulierter Höhenexposition auf Blutgase, Lungenfunktion und bronchiale Hyperreagibilität
K.-J. Wießmann, P. Caspari, K. Dalhoff 89

In vivo-Züchtung von Neomucosa zur Vergrößerung der Rezeptionsfläche beim Kurzdarm
W. Sigge 95

Die nekrotisierende Fasziitis-Drohen durch „Killerbakterien" neue Gefahren?
P. Kujath, P. Benecke, C. Eckmann, P. Moubayed 158

Das primäre bronchopulmonale Karzioid
D. Psathakis, R. Sassen, J. Hoyer, H.-P. Bruch 165

Kleinhirnblutungen-Pathophysiologie, Klinik, Diagnostik, Operationsindikation und operative Strategien
U. Kehler, G. Nowak, Th. Mayer, H. Töppich, H. Arnold 168

Molekularbiologische Charakterisierung des Proliferationsassoziierten Ki-67 Proteins
M. Duchrow, C. Schlüter, J. Gerdes 219

Strukturanalyse bakterieller Lipopolysaccharide
P. Holst 226

Die Expression des interzellulären Adhäsionsprotein-1 durch Nierenkarzinomzellen wird durch 1,25-Dihydroxycholekalziferol erhöht
B. Kreft, S. Brzoska, F. Müller, S. Kamp, C. Doehn, C. Höppner, K. Sack 233

Übersichten

Thermochemotherapie: Gründe für die Kombinationsbehandlung mit Hyperthermie und Chemotherapie
G.J. Wiedemann, Th. Feyerabend, M. Mentzel, S. Feddersen, W. Wößmann, H.J. Siemens, A.S. Mendoza, Th. Wagner 42

Thermochemotherapie: Die Kombinationsbehandlung mit Strahlentherapie, lokaler Hyperthermie und Chemotherapie
Th. Feyerabend, G.J. Wiedemann, Th. Wagner, S. Feddersen, E. Bruns, M. Mentzel, E. Richter 108

Dermatosen bei Kindern im ländlichen Afrika
W. Schmeller 112

Cytogenetik und Molekulargenetik maligner hämatologischer Erkrankungen
C. Schoch, A. Fabarius, H. Gudat, D. Haase, F. Hild, F. Mirghomizadeh, H. Rieder, S. Schnittger, Ch. Fonatsch 178

Illusionen und Halluzinationen aus der Sicht des Künstlers. Historische Betrachtungen über philosophische, psychophysiologische und pathophysiologische Deutungsversuche
H. F. Piper 187

GnRH-Antagonisten und In-vitro-Fertilisation. Ein Überblick
R. Felberbaum, T. Reissmann, W. Küpker, S. Al-Hasani, C. Diedrich, K. Diedrich 240

Chirurgischer Alltag in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts
O. Riha 246

Ethische Probleme in der Pädiatrie
K. Kruse 251

Der besondere Fall

Parasagittales Empyem des Subduralraumes – Computer-und Kernspintomographische Befunde
O. Jansen, H. Brückmann, G. Grau,U. Mißler, P. Vieregge 173

Studium generale

Der Ärzteverein zu Lübeck 1809-1993
B. Carrière 51

Die Lübecker Hochschulen als Wirtschaftsfaktor
W.-D. von Detmering 103

Forschung und Entwicklung an der Universität und in der Wirtschaft
E. Konecny 194

Al-Hasani, S. 240
Arnold, A. 168
Bauer, O. 17
Benecke, P. 158
Bopp, S. 142
Born, J. 20
Bräuter, J. 28
Bruch, H.-P. 28, 165
Brückmann, H. 173
Bruns, E. 108
Brzoska, S.
Carrière, B. 51
Casparin, P. 89
Dalhoff, K. 89
Detmering, W.-D. v. 103
Diedrich, C.
Diedrich, K. 17
Dodt, C. 20
Doehn, C. 233
Duchrow, M. 219
Eckmann, C. 158
Fabarius, A. 178
Feddersen, S. 42, 108
Fehm, H.L. 20
Felberbaum, R.
Feyerabend, Th. 42, 108
Fonatsch, C. 178
Fornara, P. 210
Gerdes, J. 219
Grau, A. 178
Gudat, H. 178
Haase, D. 178
Hamoudu, N. A. S. 17
Hansen, K. 20
Harling, I. 81
Heide, W. 74
Hild, F. 178
Holst, P. 226
Höppner, C. 233
Hoyer, J. 165
Jansen, O. 173
Jocham, D. 210
Kaiser, M. 81
Kaisi, M. 17
Kamp, S. 233
Kehler, U. 168
Kekow, J. 6
Kessler, Ch. 81
Klostermann, W. 74
Knoll, Ch. 81
Kömpf, D. 36, 74
Konecny, E. 194
Kooistra, A. 81
Krammer, H.-J. 12
Krebs, D. 17
Kreft, B. 233
Kruse, K. 251
Kühnel, W. 12
Kujahn, P. 158
Kummer, D. 81
Küpker, W. 240
Mayer, Th. 168
Mendoza, A. S. 42
Mentzel, M. 42, 108
Mirghomizadeh, F. 178
Mißler, H. 173
Moubayed, P. 158
Müller, F. 233
Müller, G. 81
Nowak, G. 165
Oevermann, E. 28
Piper, H. F. 178
Psathakis, D. 28, 165
Quade, G. 17
Reissmann, T. 240
Richter, E. 108
Rieder, H. 178
Riha, O. 246
Sack, K. 233
Sassen, R. 165
Schlüter, C. 219
Schmeller, W. 112
Schnepf, C. 28
Schnittger, S. 178
Schoch, C. 178
Seyfert, T. 74
Siemens, H.J. 42
Sigge, W. 12, 95
Töppich, H. 168
Uthgenannt, D. 20
Verleger, R. 36, 74
Vieregge, P. 173
Wagner, Th. 42, 108
Wascher, E. 36
Waschkuhn, B. 74
Wenk, H. 28, 81
Wiedemann, G. J. 42, 108
Wießmann, K.-J. 89
Wößmann, W. 42

Wir suchen für unsere Kunden

1-Familienhaus, 150 bis 180 m² Wohnfläche, stadtnahe Lage Nähe MUL, bis **DM 750.000,-**

1-Familienhaus, 120 bis 150 m² Wohnfläche, Lübeck bis Ratzeburg bis **DM 600.000,-**

Alt-Villa, um 200 m² Wohnfläche, sehr gute Lage in Lübeck, bis **DM 1,0 Mio**

Mehrfamilienhaus, gute, stadtnahe Lage, als Kapitalanlage, bis **DM 1,0 Mio**

RDM

K. JEPSEN & CO.

Immobilien · 23568 Lübeck · Travemünder Allee 16

Tel. 0451/3 11 17 · Fax 38 41 25

Seit Jahrzehnten bewährt

Ihr Vertrauen verpflichtet uns.

In der klinischen Ernährung vertrauen Sie seit Jahren auf Produkte der Salvia.

Eine komplette Palette an Infusionen, eine bedarfsgerechte Auswahl an Diätetica und zuverlässige Anwendungssysteme helfen Ihnen bei Ihrer täglichen Arbeit in der Klinik Erfolg zu haben.

Auch in Zukunft werden Sie sich darauf verlassen können.

Clintec Salvia setzt sich zum Ziel, die bisherige Kompetenz in der Klinik auszubauen und die Partnerschaft mit Ihnen weiter zu festigen.

Clintec Salvia bedeutet aber auch: Teilhabe an den Erkenntnissen der weltweiten Forschung, neue Impulse für eine moderne klinische Ernährung.

Clintec Salvia. Kompetent in der klinischen Ernährung. Ganz in Ihrem Sinne.

Clintec
SALVIA

Clintec Salvia GmbH & Co. OHG
Marketing und Produktinformation
Hertzstraße 10
69469 Weinheim