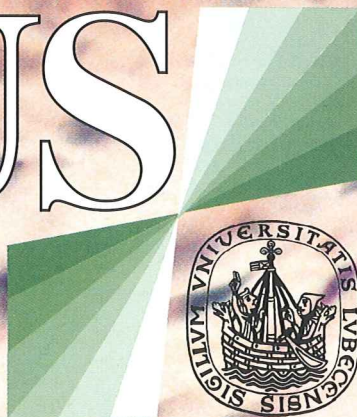
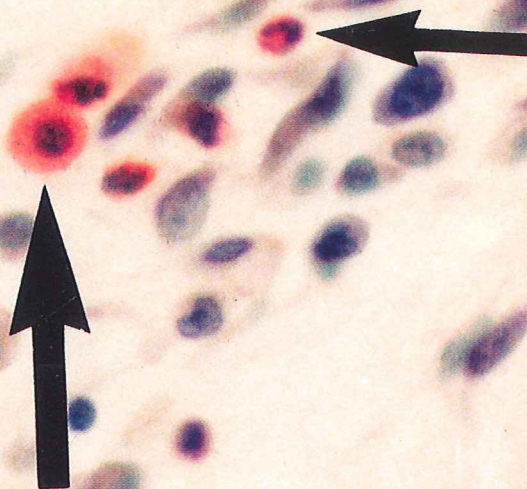


FOCUS MUL



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





SCHERING



Diagnostika

Wer sich in der bildgebenden Diagnostik für Schering entscheidet, hat einen Partner gefunden, der zusammen mit ihm an einer kontinuierlichen Verbesserung der Diagnosestellung arbeitet. Mit anspruchsvollem Service und zahlreichen Fortbildungsveranstaltungen, z. B. für MRT, Ultraschall und Spiral-CT. Gut, einen so kompetenten Partner an seiner Seite zu wissen.

**Schering
Diagnostika**

Wissenschaft plus Partnerschaft.

Inhalt

Editorial

Rationierung an der MUL!?	4
---------------------------	---

Originalarbeiten

Hypoxieinduzierte Genexpressionen – Hinweise auf den zellulären Sauerstoffsensor J. Fandrey	6
Fortschritte der forensischen Spurenanalytik durch Einsatz moderner molekulargenetischer Verfahren: Populationsdaten dreier ausgesuchter Genorte P. Minnasch, Ch. Meißner, N. von Wurmb, I. Gerling, M. Oehmichen	14
p53 Tumor-Suppressor-Gen: Prognostische Wertigkeit bei sporadischen kolorektalen Karzinomen H. Schimmelpennin, A. Warnecke, U. Roblick, U. Markert, R. Broll, G. Auer, H.-P. Bruch	20
Gibt es morphologische Parameter zur quantitativen Bestimmung der entzündlichen Infiltration des Peritoneums? A. Woltmann, S. Weiss, B. Martens, R. Broll, S. Krüger, H.-P. Bruch	27

Aktuelles

Catechol-O-Methyltransferase-Hemmer: Eine neue Strategie zur Behandlung des M. Parkinson C. Neusch, A. Moser	37
---	----

Die Summa-cum-laude-Dissertation

Bradykinin-Metabolismus an Rindertrachealepithelien D. Vordermark	41
--	----

Aus der Hochschule

Intensivmedizin und Menschenwürde P. Schmucker	47
---	----

Studium generale

Telematik - eine schmutzige Tochter der Telematik G. Krüger	51
--	----

Das Porträt

Professor Dr.-Ing. Eric Maehle	57
--------------------------------	----

Inhaltsverzeichnis Focus MUL 14 (1997)	33
--	----

Die Abbildung auf der Titelseite ist dem Beitrag „Gibt es morphologische Parameter zur quantitativen Bestimmung der entzündlichen Infiltration des Peritoneums?“ (S. 27 ff) entnommen.

Rationierung am Klinikum der MUL !?

Im Rahmen des Gesundheitsstrukturgesetzes (GSG) wurden die Budgets der Klinika gedeckelt, d. h. auf dem Stand von 1992 eingefroren. Auch wenn jetzt der Deckel etwas gehoben wird, die Budgets für einzelne Kliniken werden knapp und womöglich nicht ausreichend sein. Dieser Deckelung lag die Überlegung zugrunde, daß in den meisten Kliniken Sparreserven mobilisiert und Rationalisierungsmöglichkeiten ausgeschöpft werden können, so daß es trotz aller Einsparungen nicht zu Mängeln in der Versorgung der Patienten kommen müsse. Die Erfahrung zeigt, daß diese bittere Arznei gewirkt hat. Wie bei jedem wirksamen Medikament, gab es auch „Nebenwirkungen“: Kliniken, die bis 1992 wenig effizient gearbeitet hatten, wurden insofern belohnt, als sie leicht die notwendigen Einsparungen durchführen konnten, während solche Kliniken, die bereits 1992 effizient gewirtschaftet hatten, kaum Möglichkeiten zu weiteren Einsparungen fanden und so durch die Budgetierung bald in eine schwierige Situation kommen mußten. Das Klinikum der Medizinischen Universität Lübeck gehört zu den effizientesten Klinika der Bundesrepublik. Insofern ist es besonders lehrreich, die Folgen der Budgetdeckelung am Beispiel des Klinikums der MUL zu analysieren. Im folgenden soll dargestellt werden, daß die restriktive Handhabung der Budgets zu einer impliziten Rationierung führen kann mit schwer vorhersehbaren Folgen für eine angemessene Versorgung der Patienten.

Tatsächlich war das Klinikum gezwungen, bei gleichbleibenden Budgets die Leistungen zu steigern. Aus vielen Gründen, nicht zuletzt als Folge des Gesundheitsstrukturgesetzes, hat einerseits die Anzahl der zu behandelnden Patienten zugenommen, andererseits wiesen die Patienten im Durchschnitt gravierendere Krankheitsbilder als vor 1992 auf. Dies gilt zumindest für den größten Teil des Klinikums. Daß eine solche Entwicklung stattgefunden hat, ist durch entsprechende Erhebungen belegt (s. Die Quadratur des Kreises: Universitäre Maximalversorgung mit Minimalaufwand. Deutsches Ärzteblatt 91:2824 [1994]).

Einer Medizin, die auf Fortschritt setzt, ist die Kostensteigerung immanent („Fortschrittsfalle der Medizin“). Ohne Begrenzung von außen werden die Kosten steigen und einen immer größeren Teil des Bruttosozialprodukts aufbrauchen. Dies ist sozusagen der Kern-

satz der Medizinökonomik. Die einzige offene Frage ist dabei, zu welchem Zeitpunkt die Budgets nicht mehr ausreichen und über die Allokation der begrenzten Ressourcen, d. h. über konkrete Rationierungsmaßnahmen beschlossen werden muß. Durch die gemeinsamen Anstrengungen aller Beteiligten konnte das Budget des Klinikums 1997 eingehalten werden. Was ist zu tun, wenn dies 1998 nicht mehr gelingt? Was liegt näher, als bei denjenigen Kliniken anzusetzen, die „zuviel“ Geld ausgeben, und sie zum Sparen zu zwingen, indem man das Personal kürzt; also Wiederbesetzungssperre, Überstundensperre, Streichung von Stellen. Wenige Ärzte erbringen zwangsläufig weniger kostenträchtige Leistungen. Belohnungs- und Sanktionierungselemente sind schließlich integraler Bestandteil des Budgetkonzepts. Solche Maßnahmen sind dennoch falsch und für die MUL und unser Gesundheitswesen insgesamt gefährlich. Das Ergebnis ist nämlich, daß notwendige Rationierungsmaßnahmen einzelnen Kliniken aufgezwungen werden, andere bleiben verschont. Die betroffenen Kliniken sind in der Regel wiederum die leistungsstarken und effizienten Kliniken. Da die einzelnen Kliniken ohne Mitwirkung der Kassen, der Bevölkerung und des gesamten Gesundheitsapparates Rationierungsmaßnahmen nicht entwickeln können und dürfen, wird schließlich die Rationierungsaufgabe indirekt und implizit auf den Rücken der Assistenzärztinnen und -ärzte abgewälzt. Sie müssen – extrem zugespitzt – im Nachdienst Entscheidungen fällen, die sie am nächsten Tag womöglich die Stelle kostet. Ein unvorstellbares Szenarium.

Gibt es aus diesem Dilemma einen Ausweg? Vielleicht kann ein Blick über den Zaun weiterhelfen. In anderen europäischen Ländern wie Großbritannien, Schweden, den Niederlanden, insbesondere aber in den USA werden diese Probleme seit längerem erörtert. Es besteht weitgehend Einigkeit darüber, daß Rationierung nur als „Priorisierung“ denkbar ist. Priorisierung wiederum ist nur auf der Basis von Kosten-Nutzen-Analysen möglich, die – wenn auch unvollständig und diskussionswürdig – vorliegen. In dieser Hinsicht ist der Bundesstaat Oregon in den USA wohl am weitesten gegangen, der in mehrjährigen Bemühungen in Zusammenarbeit mit den Ärzten, den Geldgebern und den Patienten sowie den Politikern eine Prioritätenliste vorgelegt hat,

die zumindest als Diskussionsgrundlage wertvoll ist (N Eng J Med 337:651 [1997]: The Oregon health plan – lessons for the nation).

Noch ist nicht sicher, ob tatsächlich bereits jetzt Rationierungsmaßnahmen im deutschen Gesundheitswesen erforderlich sind. Sicher ist aber, daß solche Maßnahmen in naher Zukunft unabweislich notwendig werden und daß das Klinikum der MUL zu den Kliniken gehören wird, die hier eine Vorreiterrolle übernehmen müssen, ob sie es wollen oder nicht. Es wird Zeit, daß ein

Arbeitskreis gebildet wird, der konkrete Vorschläge zur Rationierung im Sinne der Priorisierung ausarbeitet. Bis dahin sollten implizite Rationierungsmaßnahmen wie Stellensperren etc. vermieden werden, weil durch solche ungeeigneten Maßnahmen die Leistungsfähigkeit des Klinikums beeinträchtigt wird und das Gesundheitswesen insgesamt Schaden nehmen könnte. Noch gehört das deutsche Gesundheitswesen zu den besten der Welt!

H. L. Fehm

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, H. L. Fehm, D. Kömpf

Wissenschaftlicher Beirat: H. Arnold, R. Birngruber, K. Diedrich, H. Dilling, H. v. Domarus, P. Dominiak, W. Dosch, D. v. Engelhardt, A. Fenner, B. Fischer, H.-D. Flad, W. Gross, H. Halsband, M. Herczeg, D. Hogrefe, W. Jelkmann, D. Jocham, H. A. Katus, R. Kessel, H. Kirchner, U. Knölker, E. Konecny, K. Kruse, W. Kühnel, H. Laqua, V. Linnemann, E. Maehle, P. Müller, D. O. Nutzinger, M. Oehmichen, Th. Peters, S. Pöppel, H.-H. Raspe, K. R. Reischuk, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, M. Schlaak, F. Schmielau, P. Schmucker, E. Schwinger, H. H. Sievers, W. Solbach, O. Strubelt, W. Traut, A.X. Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, H. H. Wolff (alle Medizinische Universität zu Lübeck)

Redaktion: Ch. Weiss, 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) 70 31-0

Anzeigen: Hansisches Verlagskontor H. Scheffler, Christiane Kermel

Druck: Verlag Schmidt-Römhild KG, Mengstraße 16, 23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-0

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. © 1998

ISSN 0940-9998

Profitieren Sie von unserer Kompetenz!

WEILAND BÜCHER

Überzeugen Sie sich von der großen Auswahl und Leistungsfähigkeit unserer medizinischen Fachbuchabteilung.

23552 Lübeck, Königstr. 67a, Tel. 04 51/1 60 06-0, 23562 Lübeck, Ratzeburger Allee 111-125, Tel. 04 51/50 24 60
23611 Bad Schwartau, Marktwiese 2, Tel. 04 51/2 19 87

Aus dem Institut für Physiologie der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. med. W. Jelkmann)

Hypoxieinduzierte Genexpressionen – Hinweise auf den zellulären Sauerstoffsensor

J. Fandrey

Zusammenfassung

Hypoxie induziert im Gewebe die vermehrte Expression der Gene für das Hormon Erythropoietin, den vasculären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF), die induzierbare Stickoxidsynthase (iNOS), Enzyme der Glykolyse u.a. Um auf eine Abnahme der Geweboxygenierung reagieren zu können, müssen die Zellen Veränderungen des Sauerstoffpartialdrucks (PO_2) messen können. Auf der Suche nach einer Struktur, die Veränderungen im PO_2 erkennen kann, ist eine Beteiligung von Hämproteinen am zellulären Sauerstoffsensor wahrscheinlich geworden. Hämproteine könnten Veränderungen des PO_2 messen, indem sie entsprechend ihrem Oxygenierungsgrad unterschiedliche biochemische Aktivität zeigen. So kann die Aktivität von *b*-Zytochromen den zellulären Redoxstatus beeinflussen, denn zu dieser Gruppe der Hämproteine gehören Enzyme, wie z. B. die NADPH-Oxidase, die in Leukozyten die Produktion von H_2O_2 katalysiert. Die menschliche Hepatomzelllinie HepG2 ist ein geeignetes Modell für die hypoxieinduzierte Genexpression, da diese Zelllinie in der Lage ist, in Abhängigkeit vom PO_2 Erythropoietin und VEGF zu bilden und in den Kulturüberstand zu sezernieren. In HepG2-Zellen war die Bildungsrate von H_2O_2 positiv korreliert mit dem perizellulären PO_2 . Unter normoxischen Bedingungen war der zelluläre H_2O_2 -Spiegel hoch und hemmte die Erythropoietinbildung. Unter hypoxischen Bedingungen, wenn wenig H_2O_2 und viel Erythropoietin gebildet werden, senkte exogen zugegebenes H_2O_2 den Erythropoietin mRNA-Spiegel und die Erythropoietinproteinproduktion. Behandlung der Zellen mit Katalase, um den H_2O_2 -Gehalt intrazellulär zu senken, ahmte trotz hohem perizellulären PO_2 hypoxische Bedingungen nach und erhöhte die Erythropoietinsynthese. H_2O_2 , in großen Mengen unter normoxischen Bedingungen vorhanden, war also in der Lage, die Expression hypoxieinduzierbarer Gene zu unterdrücken. Unter hypoxischen Bedingungen jedoch, wenn die Bildungsrate von H_2O_2 niedrig ist, können diese Gene in vollem Ausmaß exprimiert werden.

Summary

Hypoxia induces the expression of genes encoding for erythropoietin, vascular endothelial growth factor (VEGF), inducible nitric oxide synthase (iNOS), enzymes of the glycolytic pathway and other genes. Essential prerequisite for the cells is the ability to sense changes in their ambient partial pressure of oxygen (PO_2). In search of a structure that detects changes in the PO_2 , heme proteins of the type *b*-cytochrome family have been proposed to participate in the oxygen sensing process. Heme proteins easily react with O_2 and could initiate biochemical signalling pathways. They could influence the redox state of the cell since among the type *b*-cytochromes are enzymes such as the NADPH-oxidase that catalyzes the production of hydrogen peroxide (H_2O_2). The human hepatoma cell line HepG2 is capable of the oxygen dependent production of erythropoietin and served so far as an model of hypoxia-induced gene expression. In HepG2 cells H_2O_2 -production rate was positively correlated with the pericellular PO_2 . Under normoxia, erythropoietin production was low and H_2O_2 might have acted as an inhibitor of hypoxia-induced gene expression. Exogenous H_2O_2 added under hypoxic conditions decreased erythropoietin mRNA levels and erythropoietin protein production. Treatment with catalase to degrade H_2O_2 partially mimicked hypoxia despite a high pericellular PO_2 and increased erythropoietin synthesis. Thus, H_2O_2 – abundant under normoxic conditions – represses the expression of hypoxia-inducible genes. Under hypoxia, however, when H_2O_2 production decreases, full expression of these genes is permitted.

Einleitung

Die Zellen unserer Gewebe benötigen Sauerstoff zur Energiegewinnung. Sauerstoffmangel, Hypoxie, scheint in den meisten Fällen ein Zustand zu sein, der so schnell wie möglich korrigiert werden muß. Die Aktionspotentialfrequenz im Karotissinusnerv von den Glomera carotica oder der Kontraktionszustand der glatten Muskulatur in der Wand der Pulmonalarterien

werden durch Hypoxie moduliert (Acker, 1994). Ein Abfall des Sauerstoffpartialdrucks (PO_2) induziert die vermehrte Expression der Gene für Enzyme der Glykolyse und der Bildung vasodilatatorischer Substanzen, für den Glukosetransport und für zahlreiche Wachstumsfaktoren (Fandrey, 1995). Für die Tumorbilogie spielt der hypoxische Randsaum um die zentrale Nekrose eines soliden Tumors eine wichtige Rolle. Hier werden gefäßwachstumsfördernde Proteine gebildet, deren Wirkung durch das Einsprossen von Gefäßen ein weiteres Wachstum des Tumors erlaubt. Tumorzellen scheinen bei sehr niedrigen Sauerstoffdrücken einen Selektionsvorteil gegenüber nicht-malignen Zellen zu haben, da Hypoxie bei vielen Tumorzellen keinen programmierten Zelltod auslöst. In den vergangenen Jahren durchgeführte Untersuchungen zur sauerstoffabhängigen Genexpression haben unsere Kenntnisse über die Antwort der Gewebe auf Hypoxie vertieft. Ein gut bekanntes und wahrscheinlich das am besten untersuchte Beispiel für ein hypoxieinduzierbares Gen ist das des Erythropoietins, einem Glykoproteinormon, das die Proliferation und Reifung roter Blutvorläuferzellen im Knochenmark anregt (Jelkmann, 1992). Hypoxie steigert die Bildung des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF), ohne den es keine geordnete Angiogenese gibt (Risau, 1997), und des Enzyms Stickoxidsynthase, das für die Produktion des wichtigen Regulators des Gefäßtonus Stickoxid sorgt (Melillo et al, 1995). Untersuchungen über Enzyme des Glukosestoffwechsels haben ergeben, daß die zelluläre Anpassung an eine hypoxische Umgebung die Induktion der meisten Gene glykolytischer Enzyme induziert (Semenza et al., 1994, Kietzmann et al., 1996, 1997), während die Expression der Enzyme der Glykoneogenese unter hypoxischen Bedingungen reduziert wird. Aufgrund dieser Befunde wird als Ursache für die zonierte Expression von Enzymen der Glykolyse und der Glukoneogenese in der Leber das Verteilungsmuster der PO_2 -Werte innerhalb dieses Organs vermutet (Jungermann, 1995; Jungermann und Kietzmann 1996). Gemeinsam scheint all diesen sauerstoffregulierten Genen zu sein, daß ihre hypoxische Induzierbarkeit kritisch von der Aktivierung des Transkriptionsfaktorkomplexes Hypoxieinduzierbarer-Faktor-1 (HIF-1) abhängt (Semenza et al., 1992). HIF-1 ist ein dimerer Komplex, der aus zwei Mitgliedern einer Familie von Transkriptionsfaktoren gebildet wird, die alle eine basische Helix-Loop-Helix-PAS-Domäne haben (Referenzen bei Wenger und Gassmann, 1997). Während die α -Untereinheit mit einer scheinbaren molekularen Masse von 120 Kilodalton neu entdeckt wurde (Wang et al., 1995), war die β -Untereinheit bereits bekannt. Sie ist identisch mit dem Transkriptionsfaktor ARNT (für Aryl Hydrocarbonrezeptor Nukleärer Translokator; Reyes et al., 1992), dem Dimerisierungspartner des Dioxinrezeptors. Obwohl kürzlich unsere

Kenntnisse über die Aktivierung des HIF-1-Komplexes erheblich erweitert wurden, ist der zelluläre Weg seiner Aktivierung noch unklar. Ein zellulärer Sauerstoffsensor sollte zunächst in der Lage sein, Veränderungen im PO_2 in unmittelbarer Umgebung der Zellen zu messen und anschließend ein Signal zu bilden, das im Kern die Transkriptionsfaktoren sauerstoffabhängiger Gene aktiviert. Zunächst gibt es drei Möglichkeiten der PO_2 -abhängigen Genexpression:

- 1.) Die Expression von Genen wird moduliert durch Veränderungen des PO_2 , z. B. bei dem Enzym Phosphoenolpyruvat-carboxykinase (Kietzmann et al., 1992).
- 2.) Die Expression wird induziert durch Anoxie, unter Bedingungen, wo jeglicher Sauerstoff fehlt, z. B. beim Sarkomavirus – VL30 Retrotransposon (Estes et al., 1995).
- 3.) Die Expression wird induziert durch einen niedrigen PO_2 , z. B. bei Erythropoietin oder VEGF (Fandrey, 1995).

Im Folgenden soll die Situation für die letztgenannte PO_2 -abhängige Genexpression beleuchtet werden.

Ein *b*-Zytochrom als möglicher Sauerstoffsensor

Abbildung 1 faßt zunächst die Situation der zellulären Sauerstoffmessung zusammen. Veränderungen im PO_2

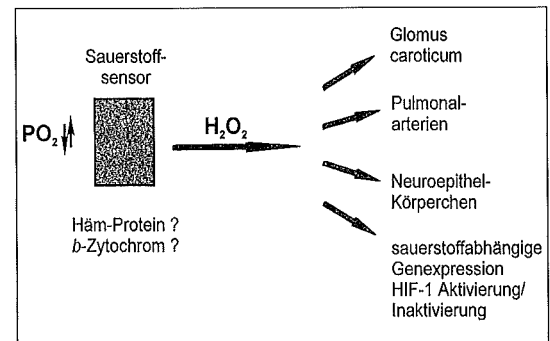


Abbildung 1: Signale vom zellulären Sauerstoffsensor steuern die Antwort auf PO_2 -Änderungen in verschiedenen Geweben

müssen von einem zellulären Sensor festgestellt werden, der in Abhängigkeit von den Veränderungen des PO_2 Signale bildet, die eine angemessene Antwort der Zellen auslösen. Untersuchungen aus früheren Jahren von Goldberg und Kollegen (1988) und unserer Gruppe (Fandrey et al., 1990) ergaben Befunde, die auf ein Hämprotein als Teil des zellulären Sauerstoffsensors hindeuten. Hämproteine können leicht mit Sauerstoff reagieren. In Analogie zur Hämoglobinfunktion liegt die Hypothese nahe, daß die Bindung von Sauerstoff an den Hämteil des Sauerstoffsensors eine Konformati-

onsänderung auslöst, die dann eine intrazelluläre Signalkaskade in Gang setzt (Goldberg et al., 1988).

Spektrophotometrische Analysen von Hepatomzellen der Linie HepG2, die sauerstoffabhängig Erythropoietin bilden, haben ergeben, daß diese Zellen ein nicht-mitochondriales Hämprotein enthalten, ein *b*-Zytochrom, das seine lichtabsorbierenden Eigenschaften in Abhängigkeit vom Oxygenierungsstatus der Zellen verändert (Görlach et al., 1993, 1994). Obwohl die Gruppe der *b*-Zytochrome sehr groß ist, erscheint uns eine spezielle Untergruppe dieser Hämproteine von besonderem Interesse. Zu dieser Gruppe gehören Oxi-dasen, wie zum Beispiel das NADPH-abhängige Enzym von Phagozyten, das die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies katalysiert. Um mögliche Bestandteile eines *b*-Zytochromkomplexes in HepG2-Zellen mit Hilfe der Westernblotanalyse oder der Immunhistochemie nachzuweisen, haben wir Antikörper verwendet, die gegen die verschiedenen Untereinheiten der NADPH-Oxidase aus Leukozyten gerichtet waren. Mit diesen Antikörpern ließen sich Proteine nachweisen, die den Komponenten der Oxidase in Leukozyten zur Bildung von H_2O_2 ähnlich sind (Görlach et al., 1993). Interessanterweise exprimieren HepG2-Zellen jedoch nicht die mRNA für diese Untereinheiten der NADPH-Oxidase (eigene, unveröffentlichte Untersuchungen). Daraus läßt sich schließen, daß das *b*-Zytochrom, das am Sauerstoffsensord der Zellen beteiligt sein könnte, zwar sehr eng verwandt, aber nicht identisch mit der NADPH-Oxidase von Phagozyten ist. Sollte ein *b*-Zytochrom, das reaktive Sauerstoffspezies bilden kann, für die sauerstoffabhängige Erythropoietinproduktion von Bedeutung sein, gilt es, folgende Fragen zu beantworten:

- 1.) Können HepG2-Hepatomzellen H_2O_2 bilden, und ist diese Bildung abhängig vom perizellulären PO_2 ?
- 2.) Hat der zelluläre Gehalt an H_2O_2 einen Einfluß auf die sauerstoffabhängige Genexpression?
- 3.) Lassen sich durch die pharmakologische Veränderung des zellulären H_2O_2 -Gehalts Situationen nachahmen, die einem hohen oder niedrigen PO_2 entsprechen?

Methoden

Hepatomzellen der Linie HepG2 von der American Type Culture Collection (ATCC No. HB 8065) wurden in Kulturmedium RPMI 1640 (Biochrom KG, Berlin) mit 10 % Kälberserum (Sigma Chemie, München) in Zellkulturplatten mit 24 Vertiefungen gezüchtet (Fandrey et al., 1990). Maushepatomzellen der Linien Hepa-1 und Hepa-1c4 wurden von Dr. O. Hankinson (UCLA, Los Angeles, USA) zur Verfügung gestellt und in α -Medium (Biochrom KG, Berlin) mit 10 % Kälberserum kultiviert. Das Medium (0.5 ml/cm^2) wurde 24 Stunden vor und bei Versuchsbeginn erneuert. Norm-

oxische und hypoxische Kulturbedingungen während der Experimente wurden wie bereits berichtet eingestellt (Wolff et al., 1993). Der perizelluläre PO_2 wurde mit einer sauerstoffempfindlichen Sonde auf dem Boden der Kulturschalen im Zellrasen gemessen (Metzen et al., 1995). Die Konzentration von in den Kulturüberstand sezerniertem Erythropoietin wurde mit einem Radioimmunoassay bestimmt und auf das Gesamtzelleiweiß bezogen. (Fandrey et al., 1990). Die VEGF-Konzentration wurde mit einem ELISA gemessen (R&D Systems, Wiesbaden). Wasserstoffperoxid im Zellkulturüberstand von HepG2-Zellen, die auf Zellkulturschalen mit gasdurchlässigem Boden gezüchtet worden waren (Wolff et al., 1993), wurde fluorimetrisch mit dem Farbstoff 123-Dihydrorhodamin ($25 \text{ } \mu\text{M}$; Molecular Probes, Eugene, USA) bestimmt (Ehleben et al., 1997). Alle übrigen verwendeten Chemikalien wurden von Sigma Chemie (München) bezogen.

Ergebnisse und Diskussion

H_2O_2 als mögliches Signalmolekül des Sauerstoffsensors

Die Ergebnisse in Abbildungen 2 und 3 beantworten die drei in der Einleitung gestellten Fragen. Aus der Abbildung 2 läßt sich entnehmen, daß die H_2O_2 -Bildungsrate in HepG2-Zellen eine enge Abhängigkeit vom perizellulären PO_2 zeigt. Die höchsten Bil-

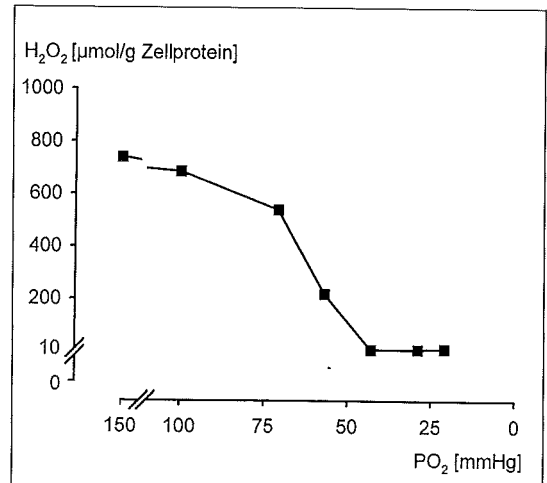


Abbildung 2: Wasserstoffperoxid (H_2O_2)-Bildung in humanen Hepatomzellen (HepG2) ist sauerstoffabhängig. HepG2-Zellen waren bis zur Konfluenz in Kulturschalen gezüchtet worden, die einen O_2 -durchlässigen Boden hatten. Die Zellen wurden verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen ausgesetzt, der perizelluläre PO_2 wurde mit einer sauerstoffempfindlichen Elektrode gemessen und ist auf der Abszisse angegeben.

dungsraten für H_2O_2 waren bei einem PO_2 von ≥ 90 mmHg meßbar und nahmen mit Reduktion des perizellulären PO_2 unter diesen Wert ab. Von besonderer Bedeutung ist, daß die größten Veränderungen in der H_2O_2 -Produktionsrate in einem PO_2 -Bereich gefunden wurden, der für die Regulation zellulärer Funktionen wichtig ist. Da diese Hepatomzellen in der Lage sind, sauerstoffabhängig Erythropoietin zu produzieren, wurde die Sekretion dieses Proteins in den Kulturüberstand gemessen. In Abbildung 3 ist gezeigt, daß bei einem perizellulären PO_2 von 143 mmHg die Erythropoietinproduktion niedrig war. Trotz hohem PO_2 konnte die Bildung von Erythropoietin durch Absenken des zellulären H_2O_2 -Gehalts infolge der Behandlung mit Katalase oder Dihydrorhodamin erhöht werden. Im Gegensatz dazu war die Erythropoietinkonzentration im Kulturüberstand von Zellen hoch, die bei einem PO_2 von 20 mmHg inkubiert worden waren. Wurde zu diesen Kulturen exogenes H_2O_2 in einer Konzentration von 250 $\mu\text{mol/l}$ zugegeben, so wurde die Produktionsrate dieser hypoxischen HepG2-Zellen signifikant ge-

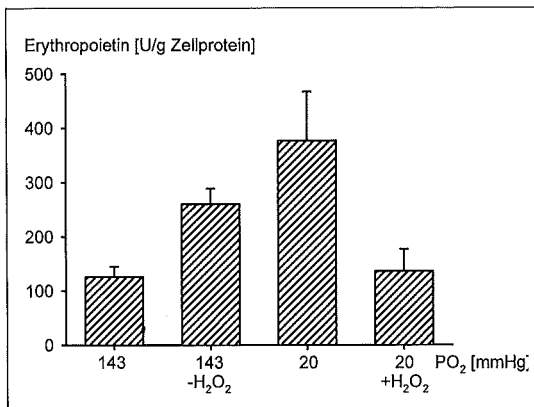


Abbildung 3: Die Bildung von Erythropoietin in HepG2-Zellen ist abhängig vom zellulären H_2O_2 -Gehalt. Angegeben ist die mittlere Erythropoietinproduktion ($\pm$ SD; $n=6$) während eines 24stündigen Experiments in HepG2-Kulturen, die als Monolayer gezüchtet wurden. Die Erythropoietinproduktion in normoxischen Kulturen (perizellulärer PO_2 : 143 mmHg) konnte durch Wegfangen von H_2O_2 ($-\text{H}_2\text{O}_2$; 2. Säule) stimuliert werden, wenn die Zellen mit Katalase (10 $\mu\text{g/ml}$ für 24 Stunden) inkubiert wurden. Im Vergleich zu Kontrollkulturen (1. Säule) produzierten HepG2-Kulturen mit reduziertem H_2O_2 -Gehalt signifikant mehr Erythropoietin (2. Säule). Auf der anderen Seite führte die Zugabe von exogenem H_2O_2 (250 $\mu\text{mol/l}$; 4. Säule) zu hypoxischen Kulturen (perizellulärer PO_2 : 20 mmHg) zu einer signifikanten Reduktion verglichen mit Kulturen, die nur hypoxisch inkubiert wurden (3. Säule).

senkt. Zusammenfassend läßt sich aus Abbildung 3 entnehmen, daß die hypoxieinduzierte Erythropoietinproduktion bei niedriger endogener Bildung von H_2O_2 durch die Zugabe von exogenem H_2O_2 gesenkt wird; dagegen ahmt der Abbau von viel endogen gebildetem H_2O_2 unter normoxischen Bedingungen zumindest teilweise den Effekt von Hypoxie nach. Sehr ähnliche Ergebnisse wie hier für das Erythropoietin gezeigt, konnten für glykolytische Enzyme gewonnen werden. Wir haben daher die Hypothese aufgestellt, daß ein b -Zytochrom mit Ähnlichkeit zur NADPH-Oxidase in PO_2 -abhängiger Art reaktive Sauerstoffspezies produziert (Fandrey et al., 1994). Vor allem H_2O_2 kommt als mögliches Signalmolekül in Betracht, das dann den Transkriptionsapparat sauerstoffabhängiger Gene kontrolliert. Diese Hypothese wird unterstützt durch Beobachtungen an anderen Sauerstoffsensorsystemen, wie in den Typ I-Zellen des Glomus caroticum, in den glatten Muskelzellen der Pulmonalarterien oder in den Neuroepithelkörperchen der Atemwege, die alle offenbar ein ähnliches Enzymsystem haben, wie wir es in HepG2-Zellen gefunden haben. Hier werden ebenso reaktive Sauerstoffspezies als mögliche Signalmoleküle für die intrazelluläre Signalübertragung diskutiert (siehe auch Abbildung 1; Acker, 1994; Fandrey, 1995; Bunn und Poyton, 1996). Abbildung 4 faßt unser gegenwärtiges Konzept für die zelluläre Sauerstoffmessung durch ein b -Zytochrom zusammen. Der Sensor-komplex mit dem b -Zytochrom wird möglicherweise durch Proteine gebildet, die große Ähnlichkeit mit den Untereinheiten der NADPH-Oxidase der Leukozyten haben. Dies wird angedeutet durch die Verwendung der Kürzel für die NADPH-Oxidase gp9 1, p22, p47, p67 (Channock et al., 1994). Dieses Enzymsystem sollte für die sauerstoffabhängige Bildung von H_2O_2 verantwortlich sein, das als Signalmolekül zum Beispiel die Öffnungswahrscheinlichkeit der Kaliumkanäle im Glomus caroticum beeinflusst (Acker, 1994), den Kontraktionszustand von glatten Muskelzellen verändert (Mohazzab-H et al., 1995) oder die Aktivität von Transkriptionsfaktoren reguliert (Bunn und Poyton, 1996).

Die Einflüsse von Wasserstoffperoxid auf die Aktivierung des Transkriptionsfaktors HIF-1

Wie bereits in der Einführung erwähnt, hängt die Expression hypoxieinduzierbarer Gene kritisch von der Aktivierung des Transkriptionsfaktorkomplexes HIF-1 ab. Unsere gegenwärtige Kenntnis von diesem und anderen cis-aktivierenden Elementen und trans-aktivierenden Faktoren, die verantwortlich sind für die Hypoxieinduzierbarkeit des Erythropoietingenenhancers, ist kürzlich in einem Übersichtsartikel zusammengefaßt worden (Bunn und Poyton, 1996). Die Tatsache, daß HIF-1 essentiell für die hypoxieinduzierbare Genexpression ist, zum Beispiel von VEGF, läßt sich aus Ab-

gradation von HIF-1 α -Protein bei einem hohen PO_2 und hohem intrazellulären H_2O_2 -Gehalt. Unter Hypoxie und niedrigem H_2O_2 -Gehalt wird die HIF-1 α -Untereinheit stabilisiert und kann akkumulieren. Die α -Untereinheit ist dann in der Lage, mit der β -Untereinheit zu dimerisieren und den HIF-1-Komplex zu bilden. Der HIF-1-Komplex bindet an DNA-Enhancerelemente der entsprechenden hypoxieinduzierbaren Gene und steigert deren Transkriptionsrate.

Der Wirkmechanismus von Wasserstoffperoxid

In kürzlich durchgeführten Untersuchungen konnten wir zeigen, daß der inhibitorische Effekt von H_2O_2 auf die hypoxieinduzierte Produktion von Erythropoietin das Ergebnis einer Reaktion vom Fenton-Typ sein könnte (Fandrey et al., 1997). In dieser Art von Reaktion entstehen aus H_2O_2 in Gegenwart von Eisenionen Hydroxylradikale. Die sehr reaktiven Hydroxylradikale könnten die HIF-1 α -Untereinheit angreifen und wären für die Hemmung der Genexpression unmittelbar verantwortlich. In Bezug auf die Hypothese, daß H_2O_2 das Signaleinkühl in der Zelle sein könnte, wäre solch eine Reaktion durchaus von Vorteil: Während die Halbwertszeit von H_2O_2 ausreichend lang ist, um eine Passage durch die Zelle zu erlauben, würde die Fenton-Reaktion in Gegenwart von Eisen das sehr reaktive Hydroxylradikal in unmittelbarer Nähe von Transkriptionsfaktoren bilden. Hinweise auf solch eine lokal beschränkte Reaktion konnten wir kürzlich gewinnen, indem wir einen H_2O_2 -empfindlichen Farbstoff nutzten, der ebenfalls die Gegenwart von Eisenionen benötigt, um zur Fluoreszenz angeregt zu werden (Ehleben et al., 1997). Betrachtet man die Ergebnisse dieser Reaktionskaskade im Hinblick auf die Erythropoietinbildung, so wird verständlich, daß der hemmende Effekt von H_2O_2 auf die Produktion von Erythropoietin durch Komplexierung von Eisen vollständig aufgehoben werden konnte (Fandrey et al., 1997). Darüber hinaus waren wir in der Lage, mit Thioharnstoffen, denen eine Wirkung als Fänger von Hydroxylradikalen zugeschrieben wird, den inhibitorischen Effekt von H_2O_2 auf die Erythropoietinproduktion aufzuheben. Diese Daten stützen weiter unser Konzept, daß Hydroxylradikale den inhibitorischen Effekt von H_2O_2 auf die Bildung von Erythropoietin vermitteln. Gegenwärtig werden Experimente durchgeführt, um herauszufinden, ob eine Reaktion vom Fenton-Typ auch für den destabilisierenden Effekt von H_2O_2 auf das HIF-1 α -Protein verantwortlich gemacht werden kann.

Ausblick

Abbildung 6 faßt schematisch das gegenwärtige Konzept zusammen, wie die sauerstoffabhängige Genexpression im Hinblick auf verschiedene Transkriptions-

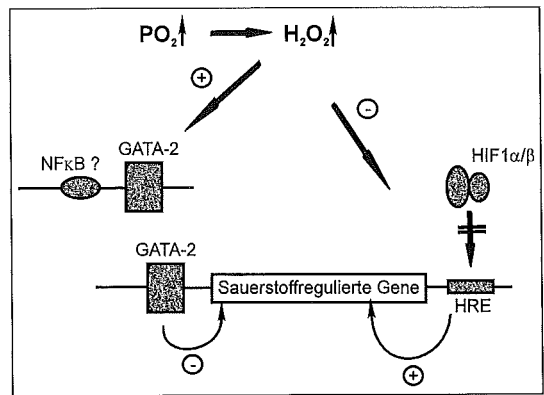


Abbildung 6: Normoxiereduzierte gegenüber hypoxieinduzierter Genexpression. Veränderungen im PO_2 werden umgesetzt in unterschiedliche zelluläre H_2O_2 -Spiegel. H_2O_2 könnte die hypoxieinduzierte Genexpression reduzieren, indem es die Bindung des HIF-1 α/β -Komplexes an die entsprechenden Hypoxie-Responsiven-Elemente (HRE) hemmt. Dies könnte durch die Destabilisierung der HIF-1 α -Proteinuntereinheit oder direkte Modifikation des HIF1 α/β -Komplexes durch Oxidation geschehen. Darüber hinaus könnte H_2O_2 Repressoren sauerstoffabhängiger Gene, wie zum Beispiel GATA-2, aktivieren. Die Expression von diesen Repressoren könnte kritisch von einem Transkriptionsfaktor abhängen, der durch H_2O_2 induziert wird, zum Beispiel NFkB.

faktoren geregelt sein könnte. Bei einem hohen PO_2 in unmittelbarer Nähe der Zellen und einem hohen H_2O_2 -Spiegel innerhalb der Zelle wird die Akkumulation und Bindung von HIF-1-Komplexen an DNA-Elemente verhindert, und deshalb die Induzierbarkeit dieses Enhancerelements aufgehoben. Zusätzlich konnten Imagawa und Kollegen (1997) zeigen, daß der Transkriptionsfaktor GATA-2 als ein Repressor des Erythropoietingens wirkt. In einer weiteren Studie fanden die Autoren, daß die GATA-2-Bindungsaktivität durch H_2O_2 gesteigert werden konnte (Imagawa et al., 1996). Dies könnte ein weiterer Weg für H_2O_2 sein, durch Aktivierung eines Repressors die Expression des Erythropoietingens unter hohem PO_2 zu hemmen. Wie bereits für den möglichen Wirkmechanismus von H_2O_2 bezüglich der HIF-1 α -Destabilisierung ausgeführt, muß noch experimentell geklärt werden, ob eine Reaktion vom Fenton-Typ bei der Aktivierung des Repressors beteiligt ist. Vor allem ist es bisher nicht bekannt, ob andere sauerstoffregulierte Gene durch die Aktivierung von GATA-2 in ihrer Expression unterdrückt werden. Alternativ könnte die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NFkB, der durch H_2O_2 induziert wird, eine Rolle spielen (Bäuerle, 1991).

Zusammenfassend können wir feststellen, daß unsere Kenntnis über die Instrumente, mit denen die Zellen unseres Organismus ihre Antworten auf Veränderungen der Sauerstoffversorgung orchestrieren, durch die Hilfe zellphysiologischer und molekularbiologischer Studien sehr gewachsen ist. Ein besseres Verständnis sauerstoffabhängiger Genexpression kann in der Zukunft der Behandlung von Patienten nützen. Die Aufklärung der Mechanismen, die bei Erkrankungen mit überschüssiger, destrukturierender Gefäßbildung, z. B. bei diabetischer Retinopathie oder Arthritis, eine Angiogenese auslösen, kann helfen, gezielt die Bildung der Gefäßwachstumsfaktoren zu begrenzen. Die größten Hoffnungen einer antiangiogenetischen Behandlung liegen derzeit in der Behandlung von Tumoren, deren Überleben von dem Einsprossen neuer Gefäße abhängt. Darüber hinaus könnte eine hypoxische Gewebeschädigung infolge einer Ischämie vielleicht vermindert werden, wenn wir verstehen, welche Signalwege die Zellen während der Hypoxie bereits in Gang setzen. Vor allem während der Rückkehr der Sauerstoffversorgung, der Reperfusion, werden gewebschädigende reaktive Sauerstoffspezies gebildet. Schutzmechanismen gegen diese Verbindungen werden während der Hypoxie aufgebaut, und es ist denkbar, diese Antwort der Zellen zu unterstützen. Trotzdem beginnen wir zu verstehen, daß diese Verbindungen in niedrigen, nicht toxischen Konzentrationen auch als Signalmoleküle in der Zelle wichtig sind. Die hier vorgestellten neuen Befunde haben unsere Erwartung verändert, nur zelluläre Signale zu finden, die unter Sauerstoffmangel verstärkt gebildet werden. In Zukunft werden wir auf Moleküle achten, die die Genexpression unter hohem PO_2 unterdrücken und deren Abwesenheit die Expression zahlreicher Gene gestattet. Vielleicht ist es in Zukunft treffender, statt von hypoxieinduzierter von normoxiereduzierter Genexpression sprechen.

Danksagung: Ich danke Frau B. Nürnberg für ihre Hilfe bei der Erstellung des Manuskripts.

Literatur

1. Acker H. Mechanisms and meaning of cellular oxygen sensing in the organism. *Respir Physiol* 1994;95:1-100.
2. Baueurle PA. The inducible transcription activator NF-KB: regulation by distinct protein subunits. *Biochim Biophys Acta* 1991;1072:63-80.
3. Bunn HF, Poyton RO. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Physiol Rev* 1991;76:839-885.
4. Chanock SJ, El Benna J, Smith RM, Babior BM. The respiratory burst oxidase. *J Biol Chem* 1994;269:24519-24522.
5. Ehleben W, Porwol T, Fandrey J, Kummer W, Acker H. Cobalt and desferrioxamine reveal crucial members of the oxygen sensing pathway in HepG2 cells. *Kidney Int* 1997;51:483-491.
6. Estes SD, Stoler DL, Anderson GR. Anoxic induction of a sarcoma virus-related VL30 retrotransposon is mediated by a cis-acting element which binds hypoxia-inducible factor 1 and an anoxia-inducible factor. *J Virol* 1995;69:6335-6341.
7. Fandrey J. Hypoxia-inducible gene expression. *Respir Physiol* 1995;101: 1-10.
8. Fandrey J, Seydel FP, Siegers CP, Jelkmann W. Role of cytochrome P_{450} in the control of the production of erythropoietin. *Life Sci* 1990;47:127-134.
9. Fandrey J, Frede S, Jelkmann W. Role of hydrogen peroxide in hypoxia-induced erythropoietin production. *Biochem J* 1994;303:507-510.
10. Fandrey J, Frede S, Ehleben W, Porwol T, Acker H, Jelkmann W. Cobalt chloride and desferrioxamine antagonize the inhibition of erythropoietin production by reactive oxygen species. *Kidney Int* 1997;51:492-496.
11. Goldberg MA, Dunning SP, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene: evidence that the oxygen sensor is a heme protein. *Science* 1988;242:1412-1415.
12. Görlach A, Holtermann G, Jelkmann W, Hancock JT, Jones SA, Jones OTG, Acker H. Photometric characteristics of haem proteins in erythropoietin-producing hepatoma cells (HepG2). *Biochem J* 1993;290:771-776.
13. Görlach A, Fandrey J, Holtermann G, Acker H. Effect of cobalt on haem proteins of erythropoietin-producing HepG2 cells in multicellular spheroid culture. *FEBS Lett* 1994;348:216-218.
14. Hoffman EC, Reyes H, Chu FF, Sander F, Conley LH, Brooks BA, Hankinson O. Cloning of a factor required for activity of the Ah (dioxin) receptor. *Science* 1991;252:954-958.
15. Huang LE, Arany Z, Livingston DM, Bunn HF. Activation of hypoxia-inducible transcription factor depends primarily upon redox-sensitive stabilization of its α -subunit. *J Biol Chem* 1996;271:32253-32259.
16. Imagawa S, Yamamoto M, Ueda M, Miura Y. Erythropoietin gene expression by hydrogen peroxide. *Int J Hematol* 1996;64:189-195.
17. Imagawa S, Yamamoto M, Miura Y. Negative regulation of the erythropoietin gene expression by the GATA transcription factors. *Blood* 1997;89:1430-1439.
18. Jelkmann W. Erythropoietin: Structure, control of production and function. *Physiol Rev* 1992;72:449-489.

19. Jungermann K. Zonation of metabolism and gene expression in liver. *Histochem* 1995;103:81-91.
20. Jungermann K, Kietzmann T. Zonation of parenchymal and nonparenchymal metabolism in liver. *Annu Rev Nutr* 1996;16:179-203.
21. Kietzmann T, Schmidt H, Probst I, Jungermann K. Modulation of the glucagon-dependent activation of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene by oxygen in rat hepatocyte cultures. Evidence for a heme protein as oxygen sensor. *FEBS Lett* 1992;311:251-255.
22. Kietzmann T, Freimann S, Bratke J, Jungermann K. Regulation of the gluconeogenic phosphoenolpyruvate carboxykinase and the glycolytic aldolase. A gene expression by O_2 in rat hepatocyte cultures. Involvement of hydrogen peroxide as mediator in the response to O_2 . *FEBS Lett* 1996;388:228-232.
23. Kietzmann T, Roth U, Freimann S, Jungermann K. Arterial oxygen partial pressures reduce the insulin-dependent induction of the perivenously located glucokinase in rat hepatocyte cultures: mimicry of arterial oxygen pressures by H_2O_2 . *Biochem J* 1997;321:17-20.
24. Melillo G, Musso T, Sica A, Taylor LS. A hypoxia-responsive element mediates a novel pathway of activation of the inducible nitric oxide synthase promoter. *J Exp Med* 1997;182:1683-1693.
25. Metzen E, Wolff M, Fandrey J, Jelkmann W. Pericellular PO_2 and O_2 consumption in monolayer cell cultures. *Respir Physiol* 1995;100:101-106.
26. Mohazzab-H. KM, Fayngersh RP, Kaminski PM, Wolin MS. Potential role of NADH oxidoreductase-derived reactive O_2 species in calf pulmonary arterial PO_2 -elicited responses. *Am J Physiol* 1996;269:L637-644.
27. Reyes H, Reisz-Porszasz S, Hankinson O. Identification of the ah receptor nuclear translocator protein (arnt) as a component of the DNA binding form of the Ah receptor. *Science* 1992;256:1193-1195.
28. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386:671-674.
29. Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12:5447-5454.
30. Semenza GL, Roth PH, Fang H-M, Wang GL. Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1994;269:23757-23763.
31. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O_2 tension. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1995;92:5510-5514.
32. Wenger RH, Gassmann M. Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1. *Biol Chem* 1997;378:609-616.
33. Wolff M, Fandrey J, Jelkmann W. Microelectrode measurements of pericellular pO_2 in erythropoietin-producing human hepatoma cell cultures. *Am. J. Physiol.* 1993; 265:C1266-C1270
34. Wood SM, Gleadle JM, Pugh CW, Hankinson O, Ratcliffe PJ. The role of the aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) in hypoxic induction of gene expression. *JBiolChem* 1996;271:15117-15123.

Messe-Neuheiten eingetroffen!



Die schönsten Modelle der Kölner Möbelmesse sind da. Zum Beispiel MACAO: ein bequemes Sofa mit hohen Armlehnen und weichen, fließenden Formen. Es paßt nicht nur in's Landhaus, sondern auch in jede Wohnung. MACAO und viele andere Messe-Neuheiten sind ab heute in unserer Ausstellung zu besichtigen.

REESE
DAS LÜBECKER EINRICHTUNGSHAUS
Töpferweg 20-22 • Lübeck • Tel.: 0451/ 830 44

Parkplätze vor der Tür.

Aus dem Institut für Rechtsmedizin (Direktor: Prof. Dr. med. M. Oehmichen), Medizinische Universität zu Lübeck

Fortschritte in der forensischen Spurenanalytik durch Einsatz moderner molekulargenetischer Verfahren: Populationsdaten dreier ausgesuchter Genorte.

P. Minnasch, Ch. Meißner, N. von Wurmb, I. Gerling, M. Oehmichen

Zusammenfassung

In den letzten Jahren hat sich in der Rechtsmedizin die DNA-Analyse mit der Polymerasekettenreaktion (PCR) zu der führenden Methode sowohl in der Identifizierung als auch bei kriminalistischen Spurenzusordnungen entwickelt. Auch im Bezug auf Vaterschaftswahrscheinlichkeiten können auf der Grundlage eigener regionaler Bevölkerungsstichproben Aussagen gemacht werden. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit die Allelverteilung von 232 schleswig-holsteinischen Probanden in den Genorten D1S80, HUMVWA und HUMTH01 untersucht. Die DNA wurde mittels PCR vervielfältigt, mit einer Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE) aufgetrennt und mit einer modifizierten Silberfärbung dargestellt. Die statistische Untersuchung der Allelfrequenzen mit dem χ^2 -Test ergab keine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gesetz. Die Heterozygotieraten und Diskriminierungsindizes befanden sich im erwarteten Rahmen, so daß die Systeme für rechtsmedizinische Anwendungen validiert werden konnten.

Summary

In recent years the polymerase chain reaction has become one of the most important methods in legal medicine both in identification and criminalistic sample assignments. Also with regard to paternity testing, statements can be given on the basis of own random samples of the regional population. Therefore, we examined allele distributions of 232 probands from Schleswig-Holstein in the gene loci D1S80, HUMVWA and HUMTH01. The DNA was amplified using PCR, fragments were separated on polyacrylamide gels (PAG) and detected with modified silver staining. The statistical investigation of the allele frequencies with the χ^2 -test showed no significant deviation from the Hardy-Weinberg-equilibrium. The heterozygosities and discrimination power were within the expected limits so that the systems are validated for application at the Institute of Legal Medicine, Medical University of Lübeck.

Einleitung

Mit der Einführung von molekularbiologischen Methoden in der Rechtsmedizin konnte die Vielfalt von Merkmalen auf der Ebene der DNA erstmals nachgewiesen werden. Diese Merkmalsvielfalt der untersuchten Genorte erlaubt mit höheren Wahrscheinlichkeiten als bisher eine Zuordnung von Körperflüssigkeiten, Geweben oder Spuren zu bestimmten Personen. Mit der PCR (Polymerasekettenreaktion) stand in der forensischen DNA-Typisierung (Merkmalsbestimmung) erstmals ein Verfahren zur Verfügung, mit dem aus sehr geringen Ausgangsmengen eine genau definierte DNA-Sequenz innerhalb weniger Stunden selektiv vervielfältigt werden kann. (MULLIS 1990). Gerade bei rechtsmedizinischen Fragestellungen ist es von besonderer Bedeutung, daß für die einzelne Untersuchung nur sehr wenig Material benötigt wird und daß dieses Verfahren trotz Zerstörung des Materials durch bakterielle Zersetzungsprozesse oder Umwelteinflüsse ein positives Ergebnis liefern kann. Die mit PCR zu vervielfältigenden Genorte werden als amplifizierbare Fragmentlängenpolymorphismen (AmpFLPs) bezeichnet, zu denen der untersuchte Genort D1S80 zählt (NAKAMURA et al. 1988).

Die Einsatzgebiete der PCR-gestützten DNA-Typisierungstechniken in der Rechtsmedizin liegen in der Identifikation von Proben und Zuordnung von Spuren (HEIDORN et al. 1995). Bei der Identifizierung können erhaltene Gewebereste Verstorbener (JEFFREYS et al. 1992), von Opfern von Massenkatastrophen (WHITTAKER et al. 1995) oder von abgetrennten Leichenteilen (SCHMITT und BENECKE 1997) untersucht werden. Ferner wurden sowohl Speichel, Haare (HIGUCHI et al. 1988) und Fingernägel (KANESHIGE et al. 1992) als auch Zähne und Knochen (LEE et al. 1991) erfolgreich typisiert. Auch die Analyse von am Tatort asservierten Blutspritzern und Epithelzellen, die an Zigarettenfiltern haften (HOCHMEISTER et al. 1991), war Gegenstand erfolgreicher Analysen. Daneben werden in der Rechtsmedizin Täter und Opfer dif-

ferenzierende Untersuchungen von vaginalen Mischspuren nach Vergewaltigung (ROEWER und EPPLEN 1992) sowie Wahrscheinlichkeitsberechnungen von Vaterschaften und Familienverhältnissen (CHAKRABORTY et al. 1994) vorgenommen.

Für die Spurenuordnung ist es wichtig, daß der Nachweis mit einer geringen Probenmenge durchgeführt werden kann, da in der Rechtsmedizin oftmals nur Spritzer oder Tropfen von Blut, Sperma oder Sekreten zur Verfügung stehen. Mit der Anwendung der PCR konnte die Nachweispmpfindlichkeit der Analyse in einem Bereich von 0,5 bis 15 ng DNA gesteigert werden. In Einzelfällen gelangen Typisierungen von bis zu 0,05 ng DNA (BRINKMANN und WIEGAND 1993), was einer DNA-Menge aus 10 Zellen entspricht.

In der forensischen DNA-Typisierung ist ferner von Bedeutung, daß auch teilweise zerstörtes (degradiertes) Erbmaterial positive Ergebnisse liefert, da die DNA-Moleküle aus Leichenmaterial Abbauvorgängen durch UV-Strahlung, Feuchtigkeit und Verwesung unterliegen (PÄÄBO 1989). Hier haben sich insbesondere die short tandem repeats (STRs), eine Untergruppe der AmpFLPs mit kurzen Wiederholungseinheiten, bewährt. Diese bestehen aus di- bis hexameren Motiven und führen auch noch bei Einsatz von hochdegradiertem Material zu auswertbaren Ergebnissen (WIEGAND et al. 1993). Die hier verwendeten Genorte HUMVWA und HUMTH01 zählen zu diesen STRs.

In dieser Studie zeigen wir die Allelverteilung von drei Genorten einer schleswig-holsteinischen Bevölkerungsstichprobe, die als Datenbank am Institut für Rechtsmedizin in Lübeck für die statistische Berechnung in der Spurenindividualisierung oder für die Bestimmung von Vaterschaftswahrscheinlichkeiten benötigt wird und geben weiterhin einen Überblick über die Möglichkeiten der DNA-Typisierung in der Rechtsmedizin.

Material und Methoden

DNA-Extraktion und Quantifizierung

Aus dekalzifiziertem, ungerinnbar gemachten Blut von 232 unverwandten anonymen Blutspendern des Instituts für Transfusionsmedizin der Medizinischen Uni-

versität zu Lübeck wurde DNA mit dem Super Quick Gene DNA-Extraktions-Kit (IMMUCOR) isoliert. Die DNA-Menge wurde erst spektralphotometrisch und anschließend durch einen Slot Blot mit dem Human DNA Quantitation System (GIBCO BRL) bestimmt. Dieser Slot Blot stellt einen humanspezifischen Nachweis dar, dessen Nachweisgrenze bei 20 pg humaner DNA liegt. Die extrahierte DNA wurde dabei auf einer Nylonmembran (PALL, BIODYNE) in einer Slot Blot Apparatur (GIBCO BRL) immobilisiert, mit der mit alkalischer Phosphatase markierten DNA-Sonde D17Z1 hybridisiert und die Signale mit LUMI PHOS 530 auf einem Röntgenfilm detektiert.

PCR-Amplifikation

Die PCR des AmpFLPs D1S80 wurde mit 10 ng DNA in einem 50 µl Reaktionsansatz mit jeweils 12,5 pmol Primer, 200 µM dNTP, 1 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl und 2,5 U Taq-Polymerase durchgeführt. Der Ansatz für die STRs HUMTH01 und HUMVWA enthielt 1 ng DNA in 25 µl Reaktionsansatz mit jeweils 12,5 pmol Primer, 50 µM jedes dNTPs, 1 mM MgCl₂, 50 mM KCl 10 mM Tris-HCl und 1 U Taq-Polymerase. Die eingesetzten Primerkombinationen sind in Tabelle 1 angeführt. Die DNA wurde in einem Gene Amp 9600 (PERKIN ELMER) nach folgenden Amplifikationsbedingungen vervielfältigt:

D1S80:	10 s bei 95°C, 10 s bei 67°C, 30 s bei 70°C für 27 Zyklen
HUMVWA:	15 s bei 94°C für 1 Zyklus, 45 s bei 94°C, 20 s bei 50°C, 30 s bei 72°C für 30 Zyklen
HUMTH01:	15 s bei 94°C für 1 Zyklus, 20 s 94°C, 20 s bei 64°C, 60 s bei 70°C für 10 Zyklen 20 s bei 90°C, 20 s bei 64°C, 60 s bei 70°C für 20 Zyklen.

Auftrennung der Amplifikate

Alle Amplifikationsprodukte wurden auf einer horizontalen Elektrophoresekammer (BIOPHORESIS, BIORAD) mit nativer Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE) aufgetrennt. Die Gele wurden mit der Flap

Tabelle 1: Primersequenzen der verwendeten Genorte D1S80, HUMTH01 und HUMVWA

Genort	Primersequenz	Quelle
D1S80	5'Strang: 5'-GAA ACT GGC CTC CAA ACA CTG CCC GCC G 3'Strang: 5'-GTC TTG TTG GAG ATG CAC GTG CCC CTT GC	KAISAI et al. 1990
HUMVWA	5'Strang: 5'-CCC TAG TGG ATG ATA AGA ATA ATC AGT ATG 3'Strang: 5'-GGA CAG ATG ATA AAT ACA TAG GAT GGA TGG	KIMPTON et al. 1992
HUMTH01	5'Strang: 5'-GTG GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT 3'Strang: 5'-GTG ATT CCC ATT GGC CTG TTC CTC	EDWARDS et al. 1991 WIEGAND et al. 1993

Technik (ALLEN 1980) auf Gel- Bond-Folie (BIO-ZYM) gegossen (11,8 x 23,8 cm). Die Gelkonzentrationen für D1S80 betrugen 7,5 % Acrylamid, 2 % PDA (Piperazindiacrylamid) und 60 mM Formate, für HUMTH01 und HUMVWA 9 % Acrylamid, 4 % PDA und 60 mM Formate. Als Katalysatoren der Polymerisierung wurden 240 µl 10 % APS (Ammoniumpersulfat) und 24 µl TEMED eingesetzt. Die Separation fand bei 800 V, 25 mA, 25 W für 1,5 h statt und wurde nach einer Auftrennungsstrecke von 18 cm beendet. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die Ergebnisse der horizonta-

len nativen PAGE der Genorte HUMVWA und HUMTH01. Als Negativ- bzw. Positivkontrollen wurden steriles Aqua bidest. bzw. die Zelllinie K562 eingesetzt. Zusätzlich wurden Proben des Genortes D1S80 in einer vertikalen Elektrophoresekammer SA 32 (GIBCO) mit nativer PAGE aufgetrennt. Die Gelmaße betrugen 17,2 cm x 33,8 cm x 0,4 mm, die Auftrennung erfolgte bei 2000 V, 100 mA, 25 W in 2 h 10 min. Die Ergebnisse der vertikalen nativen PAGE des Genortes D1S80 sind in Abbildung 3 dargestellt.

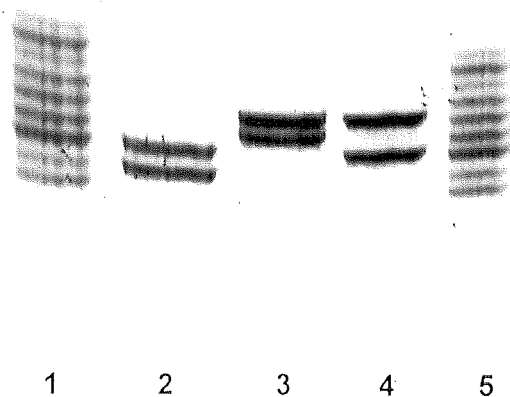


Abb. 1: Vergrößerter Ausschnitt aus einem nativen PAGE-Gel des Locus HUMVWA mit der Konzentration 9%T, 4%C und 60 mM Formate. Auf Bahn 2 bis 4 sind die amplifizierten Proben und auf den Bahnen 1 und 5 die Allelleiter mit den Allelen 13-21 abgebildet

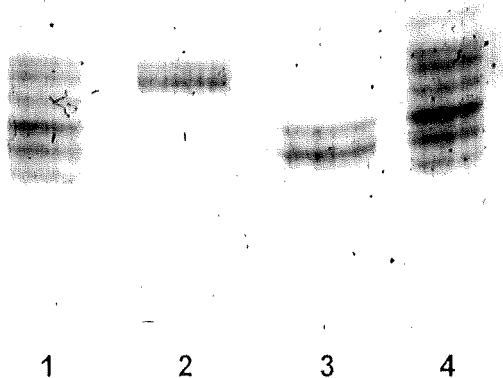


Abb. 2: Vergrößerter Ausschnitt aus einem nativen PAGE-Gel des Locus HUMTH01 mit der Konzentration 9%T, 4%C und 60 mM Formate. Auf Bahn 2 und 3 sind die amplifizierten Proben und auf den Bahnen 1 und 4 die Allelleiter mit den Allelen 5-10, incl. 9.3 abgebildet

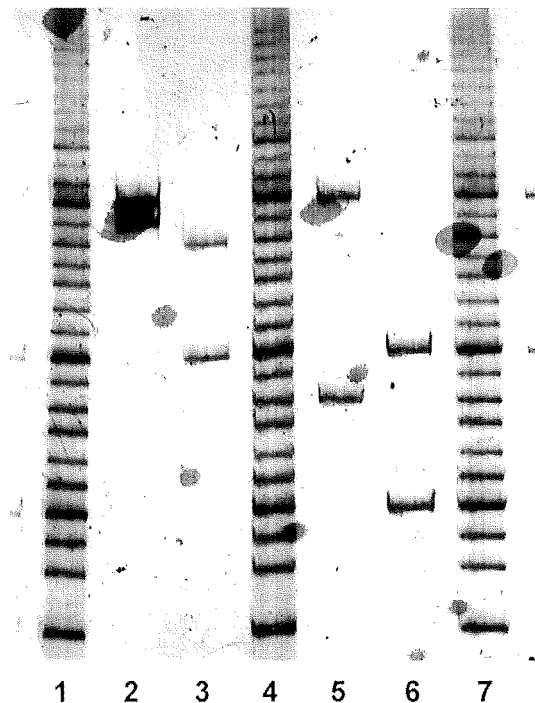


Abb. 3: Verkleinerter Ausschnitt aus einem nativen PAGE-Gel des Locus D1S80 mit der Konzentration 7,5 %T, 2 %C und 60 mM Formate. Auf Bahn 2, 3, 5, 6 sind die amplifizierten Proben und auf den Bahnen 1, 4, 7 die Allelleiter mit den Allelen 14-41 abgebildet

Silberfärbung

Die Silberfärbung für eine selektive DNA-Markierung basiert auf der Reduktion der an die DNA gebundenen Silberionen zu elementarem Silber (BUDOWLE et al. 1991). Es wurden einige Modifikationen der Methode vorgenommen, um einen geringeren Hintergrund gegenüber den spezifischen Signalen zu erlangen. Dieses Ziel wurde mit der Einfügung einer Waschzeit und der Reduktion der Silbernitratkonzentration erreicht (MEISSNER et al. submitted).

Für die statistischen Berechnungen wurden die Daten der 464 Chromosomen mit dem χ^2 -Test auf eine Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht getestet (FISHER 1951) und die Homo- und Heterozygotenraten sowie der Diskriminationsindex (DI) wurden berechnet (NEI und ROYCHOUDHURY 1974).

Ergebnisse

Die festgestellten Allelfrequenzen (d.h. Merkmalshäufigkeiten) der drei Genorte sind in den Abbildungen 4 bis 6 dargestellt. Von den 28 bekannten Allelen des Genortes DIS80, die nach ihrer Anzahl der Wiederholungseinheiten mit Ziffern von 14 bis 41 benannt sind, wurden 21 detektiert. Am häufigsten vertreten sind die Allele 18 und 24, die 105 und 167x auftraten. Die Allele 14, 15, 31, 35, 38, 39 und 41 wurden in dieser Bevölkerungsschichtprobe nicht gefunden. Da einzelne Allele teilweise sehr kleine Frequenzen aufweisen, wurde für diesen Genort ein Pooling zu 5 Klassen vorgenommen (SKOWASCH et al 1993). Die beobachtete Heterozygotenfrequenz liegt bei 0,84 und der Diskriminationsindex beträgt 0,93. Im χ^2 -Test weicht die Allelverteilung des Genortes DIS80 nicht signifikant vom Hardy-Weinberg-Gesetz ab ($\chi^2=5,6$).

Von den 9 bekannten Allelen des Genortes HUMVWA wurden 8 gefunden. Die Allele sind mit Ziffern von 13 bis 21 benannt, außerdem gibt es das Non-consensus-Allel 15.2. Die Allele 15.2 und 21 kommen in dieser Studie nicht vor. Das Allel 17 ist mit 122 Ereignissen am verbreitetsten, gefolgt von den Allelen 16 und 18, die 84 bzw. 88x vorkommen. Die Allelverteilung steht im Einklang mit dem Hardy-Weinberg-Gesetz ($\chi^2=16,3$), die Heterozygotenrate ist 0,82, und der DI konnte mit 0,94 bestimmt werden.

Im Genort HUMTH01 wurden von den 7 bekannten Allelen 5 gefunden. Die möglichen Allele sind mit 5 bis 10 beziffert und enthalten zusätzlich das Allel 9.3. Die Allele 5 und 10 wurden nicht detektiert, wobei das Allel 9.3 mit einem Vorkommen von 168 am häufigsten ist, gefolgt von 6 und 7, die je 94x gefunden wurden. Die Heterozygotenrate liegt bei 0,74 und der DI beträgt 0,90. Auch die Allelfrequenzen für HUMTH01 ergeben keine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gesetz ($\chi^2=11,6$).

Diskussion

In unserer Arbeit wird über ein hochsensitives Verfahren berichtet, das eine Identifikation von Proben und eine Zuordnung von Spuren zu einem Spurenleger auch aus kleinsten Ausgangsmengen erlaubt. Damit bietet sich die DNA-Typisierung z. B. der drei von uns untersuchten Genorte bei forensischen Fragestellungen an, in denen die Probenmenge sehr gering ist und in

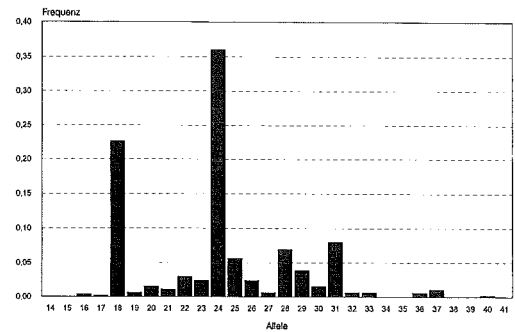


Abb. 4: Verteilung der Frequenzen des Populationsausschnittes (N=232) auf die 28 Allele des Genortes DIS80

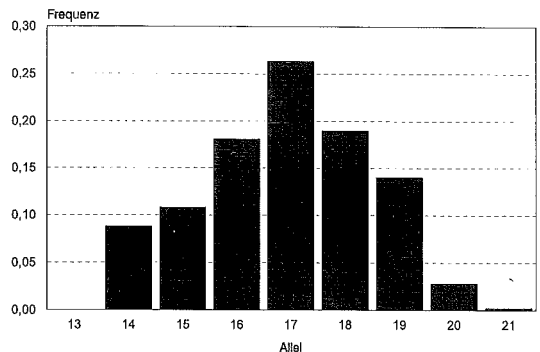


Abb. 5: Verteilung der Frequenzen des Populationsausschnittes (N=232) auf die 9 Allele des Genortes HUMVWA

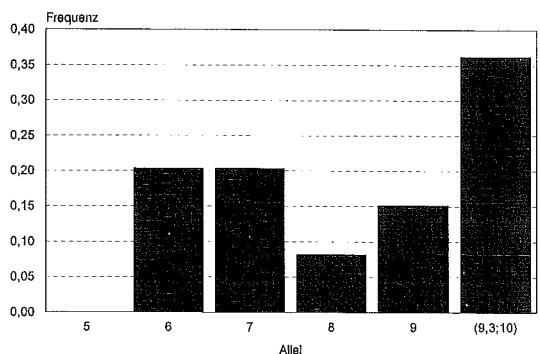


Abb. 6: Verteilung der Frequenzen des Populationsausschnittes (N=232) auf die 7 Allele des Genortes HUMTH01

denen beispielsweise eine Aussage darüber gemacht werden muß, ob Spuren am Tatort oder an der Tatwaffe von dem Verdächtigen bzw. Opfer stammen oder nicht. Allerdings müssen aufgrund der Sensitivität des Verfahrens und der Beweisschwere im Gerichtsverfahren

hohe Sicherheitskriterien beachtet werden. Diese müssen sowohl Probenverwechslungen und methodische Fehlerquellen als auch Ablesefehler verhindern. Schwierigkeiten bei der eindeutigen Interpretation eines Ergebnisses bereiten insbesondere zusätzlich auftretende Schattenbanden auf dem Elektrophoresegele. Dabei sind Genorte mit Wiederholungsmotiven von drei bis fünf Nucleotiden, zu denen HUMVWA und HUMTH01 gehören, weniger anfällig für diesen Artefakt und werden daher bevorzugt angewendet. Diese Schattenbanden erscheinen deutlich schwächer als die wahren Allele, da sie immer mit deutlich geringerer Effizienz gebildet werden (NAGY und ROEWER 1992). Daher ist bei Auftreten von Schattenbanden eine sichere Differenzierung von Mischspuren, die in rechtsmedizinischen Fragestellungen häufig auftreten, nicht gewährleistet. In Mischspuren ist DNA von mindestens zwei Personen enthalten, von denen meist eine von beiden in höherer Konzentration vorhanden ist. Typische Spuren dieser Art sind vaginale Abstriche nach Vergewaltigungen, in denen die DNA der vaginalen Epithelien und die der Spermien vorliegen. Die DNA-Analyse und ihre Auswertung erfordert in diesen Fällen besondere Erfahrung und birgt die Gefahr von Fehlinterpretationen. So wurde nach dem Bericht eines Nachrichtenmagazins ein Mann beschuldigt, eine Bekannte vergewaltigt und ermordet zu haben und aufgrund der Analyse des vaginalen Abstriches verurteilt. Dieser war jedoch im untersuchenden Labor mit dem Blut des Verdächtigen kontaminiert worden.

Dieses Beispiel verdeutlicht die Notwendigkeit von Richtlinien für genetische Analyseverfahren. Die Verfahren werden seit einigen Jahren mit regelmäßigen Ringversuchen, populationsgenetischen Untersuchungen und Verwendung von anerkannten statistischen Methoden standardisiert. Bei Einhaltung der gültigen Verfahrensregeln werden Gutachten in Gerichtsverfahren zu einem aussagekräftigen Hilfsmittel der Rechtsprechung. Beispielsweise wurde in dem amerikanischen Gerichtsverfahren des Mordfalles, in dem O. J. Simpson verdächtigt wurde, seine frühere Ehefrau und deren Freund ermordet zu haben, Analyseergebnisse anerkannt, die zeigten, daß der Angeklagte nicht als Verursacher der belastenden Spuren auszuschließen sei. In Zahlen ausgedrückt wurde aus den Typisierungsergebnissen von 37 Genorten eine Wahrscheinlichkeit von 1:41 Milliarden errechnet, daß das Material an einem Beweisstück, das in der Nähe des Hauses des Verdächtigen gefunden wurde, von den Opfern stamme. Trotz dieses Gutachtens erkannte das Gericht den Angeklagten als „nicht schuldig“ an, da Bedenken im Bezug auf eine Verunreinigung des Beweisstückes bei der Spurensicherung nicht ausgeräumt werden konnten (BENECKE 1996). In Europa sind die Vereinigungen, die die Entwicklungen auf dem Gebiet der

DNA-Analysen beeinflussen, die „European DNA Profiling Group“ (EDNAP) und die „DNA Commission of the International Society for Forensic Haematogenetics“, wobei u. a. das Bundeskriminalamt, der britische Home Office Forensic Science Service, die Metropolitan Police London und eine Reihe anderer europäischer forensischer Institutionen vertreten sind (GILL 1992).

Zur Kontrolle einer erfolgreichen Standardisierung werden bundesweit in den Laboren freiwillige halbjährliche externe Qualitätskontrollen durch Ringversuche durchgeführt, bei denen das DNA-Labor des Institutes für Rechtsmedizin der Medizinischen Universität Lübeck bereits mehrmals erfolgreich teilgenommen hat. Für die Berechnung der Übereinstimmungswahrscheinlichkeiten von Proben sind eigene Datenbanken notwendig, die aus den Allelverteilungen der regionsspezifischen Populationsstichprobe gebildet werden. Auch wenn in letzter Zeit eine Zusammenfassung von Stichprobendaten unterschiedlicher, aber ähnlicher geographischer Regionen praktiziert wurde (HUCKENBECK et al. 1996), so ist eine vollständige Übereinstimmung der regionalen mit den zusammengefaßten Daten statistisch nicht immer gegeben (MEISSNER et al. submitted). Da bei Zugrundelegen von Allelverteilungen, die nicht der ethnischen Zugehörigkeit des Beschuldigten entsprechen, Fehler von Wahrscheinlichkeitsberechnungen bis zu 5 Zehnerpotenzen gemacht werden können (MEYER et al. 1995), sollten möglichst regionale Datenbanken für jeden einzelnen Genort vorhanden sein (WALL et al. 1993). Konkret würde die Wahrscheinlichkeitsberechnung einer Blutspur am Tatort für einen in Schleswig-Holstein lebenden Beschuldigten auf der Basis der Datenbank einer asiatischen Bevölkerungsgruppe einen falschen Wert liefern, der dazu führen könnte, daß die Person im Gerichtsverfahren zu Unrecht entlastet bzw. belastet wird. Ähnliche Probleme würden sich ergeben, wenn ein Beschuldigter einer z. B. aus geographischen oder religiösen Gründen isolierten ethnischen Bevölkerungsgruppe entstammt, in der sich durch Häufung von Ehen unter blutsverwandten Personen völlig andere Allelfrequenzen für einen Genort als in der Grundgesamtheit ergeben können.

Die Typisierung von STRs hat in der routinemäßigen Spurenanalyse einen festen Stellenwert erreicht. Um die Anforderungen zum Einsatz in der forensischen Routine zu gewährleisten, wurden mit dieser Studie die Nachweisverfahren am Institut für Rechtsmedizin in Lübeck etabliert. Die Untersuchungen führen auch mit geringen Probenmengen zu sensitiven und zuverlässig reproduzierbaren Ergebnissen. Mit den erstellten Datenbanken können Wahrscheinlichkeiten in Vaterschaftsfragen und bei Spurensicherungen in der schleswig-holsteinischen Bevölkerung berechnet werden.

Ausblick

Eine Weiterentwicklung der Amplifikation einzelner Genorte besteht in der Simultanamplifikation mit einer sogenannten Multiplex-PCR, bei der zur Zeit bis zu acht STRs gleichzeitig vervielfältigt werden können (SCHUMM et al. 1997). Die gleichzeitige Vervielfältigung von mehreren Genorten ist für eine hohe statistische Aussagekraft nötig, da das einzelne STR-System für sich nur eine beschränkte Diskriminierungsaussage erlaubt. Da die amplifizierten Fragmente der STRs in einem bestimmten Größenbereich liegen und sich die Ergebnisse bei einer Simultananalyse überlagern können, ist eine Auflösung mit einer bis auf 1 bp differenzierende Auftrennung erforderlich (ROY et al. 1996). Der Einsatz eines DNA-Sequenzanalysegerätes gewährleistet ein solches Ergebnis und ist auch für zukünftige wissenschaftliche Entwicklungen auf dem Gebiet der DNA-Typisierung Voraussetzung.

Literatur

1. Allen RC. Rapid isoelectric focusing and detection of nanogram amounts of proteins from body tissues and fluids. *Electrophoresis* 1980;1: 32-37
2. Benecke M. Die DNA-Beweise im Fall O. J. Simpson. *Kriminalistik* 1996;7:481-483
3. Brinkmann B, Wiegand P. DNA-Analysen. *Kriminalistik* 1993;3:191-195
4. Budowle B, Chakrabarty R, Giusti AM, Eisenberg AJ, Allen RC. Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am J Hum Genet* 1991;48:137-144
5. Chakrabarty R, Jin L, Zhong Y. Paternity evaluation in cases lacking a mother and nondetectable alleles. *Int J Leg Med* 1994;197:127-131
6. Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet* 1991; 49:746-756
7. Fisher RA. Standard calculations for evaluating a blood group system. *Heredity* 1951; 5:95-102
8. Gill P. A report of an international collaborative experiment to demonstrate the uniformity obtainable using DNA profiling techniques. *Forensic Sci Int* 1992;52:29-43
9. Heidorn F, Wrobel G, Schneider V, Pöche H. Genetic typing of biological evidence using PCR. In Mangin P, Ludes B. *Acta medicae legalis*. Springer: Berlin 1995;48-51
10. Higuchi R, Beroldingen von CH, Sensabaugh GF, Erlich HA. DNA typing from single hairs. *Nature* 1988;332:543-546
11. Hochmeister MN, Budowle B, Jung J, Borer UV, Comey CT, Dirnhofer R. PCR-based typing of DNA extracted from cigarette butts. *Int J Leg Med* 1991;104:229-233
12. Huckenbeck W, Scheil H-G, West S, Demir K, Kanja J, Kaiser A, Hees V, Meyer W, Scholten D, Stancu V, Bronczek M, Bonte W. German data on the PCR based loci HUMVWA31, HUMTH01, HUMFES/FPS, HUMF13B and D1S80. In Carracedo A, Brinkmann B, Bär W. *Advances in Forensic Hämogenetics* 6. Springer: Berlin 1996;549-551
13. Jeffreys AJ, Allen MJ, Hagelberg E, Sonnenberg A. Identification of the skeletal remains of Joseph Mengele by DNA analysis. *Forensic Sci Int* 1992;56:65-76
14. Kaneshige T, Takagi K, Nakamura S, Hirasawa T, Sada M, Uchida K. Genetic analysis using fingernail DNA. *Nucleic Acids Res* 1992;20:5489-5490
15. Kasai K, Nakamura Y, White R. Amplifikation of a variable number of tandem repeats (VNTR) locus (pMCT118) by the polymerase chain reaction (PCR) and its application to forensic science. *J Forensic Sci* 1990;35:1196-1200
16. Kimpton C, Walton A, Gill P. A further tetranucleotide repeat polymorphism in the vWF gene. *Hum Mol Genet* 1992; 1:287
17. Lee CH, Ruano G, Pagliaro EM. DNA analysis in human bone and other specimens of forensic interest: PCR typing and testing. *J Forensic Sci Soc* 1991;31:213-216
18. Meissner C, Minnasch P, Wurmb von N, Gerling I, Oehmichen M. A study of three PCR-amplified loci in a Northern German population sample. *Hum Heridity* submitted
19. Meyer E, Wiegand P, Brinkmann B. Phenotype differences of STRs in 7 human populations. *Int J Leg Med* 1995;107:314-322
20. Mullis KB. Eine Nachfahrt und die Polymerase-Kettenreaktion. *Spektrum der Wissenschaften* 1990;6:60-67
21. Nagy M, Roewer L. Die PCR-Analyse. *Transfusionsmedizin* 1992;9:145-152
22. Nakamura Y, Carlson M, Krapcho K, White R. Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (pMCT118) on chromosome 1 p (D1 S80). *Nucleic Acids Res* 1988; 16:9364.
23. Nei M, Roychoudhury AK. Sampling variances of Heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 1974;76: 379-390
24. Pääbo S. Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning and enzymatic amplification. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:1939-1943
25. Roewer L, Epplen JT. Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplifikation of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int* 1992;53: 163-171
26. Roy R, Steffens DL, Gartside B, Jang GY, Brumbaugh JA. Producing STR locus patterns from bloodstains and other forensic samples using an infrared fluorescent automated DNA sequencer. *J Forensic Sci* 1996;41 :418-424
27. Schmitt C, Benecke M. Five cases of forensic short tandem repeat DNA typing. *Electrophoresis* 1997; 18: 690-694
28. Schumm JW, Sprecher CJ, Lins AM, Micka KA, Rabbach DR, Taylor JA, Bacher JW. Automated fluorescent detection of 8-locus and 4-locus STR Multiplexes. In: *International Society for Forensic Haemogenetics, 17th International congress*. Oslo 1997;20
29. Skowasch K, Wiegand P, Brinkmann B. pMCT 118 (D1S80): a new allelic ladder and an improved electrophoretic separation lead to the demonstration of 28 alleles. *Int J Leg Med* 1992; 105:165-168
30. Wall WJ, Williamson R, Petrou M, Papaioannou D, Parkin BH. Variation of short tandem repeats within and between populations. *Hum Mol Genet* 1993;2:1023-1029
31. Whitaker JP, Clayton FM, Urquhart AJ, Millican ES, Downes TJ, Kimpton CP, Gill P. Short tandem repeat typing of bodies from a mass disaster: high success rate and characteristics amplifikation patterns in highly degraded samples. *Biotechniques* 1995; 18:670-677
32. Wiegand P, Budowle B, Rand S, Brinkmann B. Forensic validation of the STR system SE33 and TC11. *Int J Leg Med* 1993;105:315-320

p53 Tumor-Suppressor-Gen: Prognostische Wertigkeit bei sporadischen kolorektalen Karzinomen

H. Schimmelpenning, A. Warnecke, U. Roblick, U. Markert, R. Broll, G. Auer*, H.-P. Bruch

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die immunhistochemische Expression des p53 Tumor-Suppressor-Gens an histologischen Schnitten von 208 sporadischen kolorektalen Karzinomen untersucht. Die Patienten wurden zwischen 1983 und 1988 an der Klinik für Chirurgie der Medizinischen Universität zu Lübeck operiert. In die Verlaufsanalyse wurden nur solche Patienten eingeschlossen, die kurativ operiert worden waren. Ferner wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen im weiteren Verlauf ein Zweitkarzinom entstand. Somit blieben für die statistische Analyse 142 Patienten. Die durchschnittliche postoperative Beobachtungszeit betrug 10,5 Jahre.

Insgesamt zeigten 62% der Fälle eine immunhistochemische p53-Expression. Alter, Geschlecht, Tumorlokalisation und -größe waren ohne Einfluß auf die Expressionshäufigkeit. Dahingegen zeigte sich eine p53-Expression signifikant häufiger bei Tumoren mit positivem Lymphknotenstatus, Fernmetastasen und einem avancierten UICC-Tumorstadium. Bezogen auf die 142 kurativ operierten Patienten war die p53-Expression ohne prognostische Bedeutung. Nur bei Analyse aller 208 Fälle zeigten Patienten mit p53-positiven Tumoren eine signifikant kürzere Überlebenszeit. Daher erscheint die prognostische Wertigkeit von p53 in erster Linie Ausdruck der positiven Interaktion mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium zu sein. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die immunhistochemische p53-Expression ohne Bedeutung für die Verlaufsbeurteilung kolorektaler Karzinome zu sein scheint.

Summary

Immunohistochemical p53 tumor suppressor gene expression was investigated in 208 sporadic colorectal carcinomas. The patients were operated at the Dept. of Surgery, Medical University Lübeck, between 1983 and 1988. In the survival analysis only those patients were included who had been operated curatively. Additionally, those patients were excluded who developed a secondary carcinoma. Thus the statistical analysis comprised 142 patients. The mean follow-up was 10.5 years. A total of 62% of the cases showed immunohistochemical p53 expression. Age, gender, tumor localization

and tumor size had no influence on the p53 distribution pattern. Tumors with a positive lymph node status, distant metastases, and advanced UICC tumor stages were however significantly more frequent p53 immunoreactive. When calculated on the 142 curatively operated patients p53 expression was not of prognostic value. Only when all 208 cases were included in the analysis patients with p53 positive tumors had a significantly shorter survival.

The prognostic value of p53 seems thus to be a result of the correlation with an advanced tumor stage. These findings seem to indicate that immunohistochemical p53 expression is without value for the assessment of prognosis in colorectal carcinomas.

Einleitung

Das kolorektale Karzinom ist mit einer Inzidenz von ca. 40.000 Neuerkrankungen jährlich nach dem Mammakarzinom der Frau und dem Bronchialkarzinom des Mannes die häufigste maligne Erkrankung in Deutschland. Eine weitere Zunahme der Erkrankungshäufigkeit ist zu verzeichnen.

Innerhalb der letzten 20 Jahre konnten Verbesserungen der Überlebensraten erreicht werden, die man hauptsächlich Modifikationen der operativen Technik und damit einer Erhöhung des Anteils kurativer Resektionen (R_0) zuschreiben muß. Einen weiteren wesentlichen Faktor zur Senkung der perioperativen Letalität stellt die moderne Intensivtherapie dar.

Die meisten kolorektalen Karzinome entstehen durch sporadische, d.h. erworbene, eine kleinere Anzahl durch vererbte genetische Defekte, von denen zumindest einige heute bekannt sind. Bei den zugrundeliegenden genetischen Anomalien scheint es sich um primäre Ereignisse in der Entwicklung dieser Tumoren zu handeln, die die neoplastische Transformation einleiten. Bei der Entstehung und Progression kolorektaler Karzinome kommt dem p53 Tumor-Suppressor-Gen eine große Bedeutung zu.

Genetische Veränderungen des p53 Tumor-Suppressor-Gens gehören zu den häufigsten Mutationen überhaupt. Das Gen wurde erstmals 1979 im Zusammenhang mit einer Komplexbildung mit dem SV 40-Tumorantigen beschrieben und ist auf dem kurzen Arm

des Chromosoms 17 lokalisiert (Miller et al. 1986). Es besteht aus 393 Aminosäuren und kodiert für ein phosphoryliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 53 kD. Das Protein besitzt eine Halbwertszeit von weniger als 40 Minuten und ist im Zytoplasma nur in sehr geringer Konzentration nachweisbar. Die Mutante dagegen zeigt eine wesentlich verlängerte Halbwertszeit von mehreren Stunden und ist in hohen Konzentrationen anzutreffen.

Wildtyp p53 hemmt die onkogeninduzierte maligne Transformation kultivierter Zellen.

Seine Hauptfunktion ist aber die Regulation der Zellproliferation und Differenzierung (Mercer 1992, Oren 1992). Es wurde daher auch als „Guardian of the genome“ bezeichnet (Lane 1992).

Einen wesentlichen Aufschluß über die Funktion des wt p53-Proteins brachte die Beobachtung, daß bei Einwirken von UV- und damit DNS-schädigender Strahlung Zellen mit einem Anstieg des wt p53-Proteinspiegels reagieren und ein Zellzyklusarrest in der G1-Phase initiiert wird (Lu und Lane 1993). Erst nach Beheben der Schädigung ist dann die Replikation möglich. So wird eine Weitergabe von Mutationen an die Tochterzellen verhindert.

Im Gegensatz dazu zeigen Zellen mit Mutationen auf beiden Allelen oder dominanter Mutation eines Allels eine inaktivierte p53-Suppressor-Funktion. Dies führt zur unbeeinflussten DNS-Synthese und möglichen Übertragung der Mutationen an die folgende Zellgeneration (Lu und Lane 1993). Zwei weitere Beobachtungen gaben maßgeblichen Aufschluß über zusätzliche Wirkmechanismen des Tumor-Suppressor-Gens: So reagieren unreife Lymphozyten nach strahleninduzierter DNS-Schädigung nicht mit einem Zellzyklusarrest, sondern mit einem p53-induzierten programmierten Zelltod (Apoptose). Ferner verhindert aktiviertes wt p53 in Mausembryo-Fibroblasten die Bildung überzähliger funktionell kompetenter Zentrosomen. Fukisawa et al. (1996) konnten zeigen, daß derartige zusätzliche Zentrosomen maßgeblich die mitotische Aktivität beeinflussen und durch eine asymmetrische Verteilung der Chromosomen zu numerischen Aberrationen führen.

Bezogen auf kolorektale Karzinome scheint die klinische Bedeutung der p53 Inaktivierung nach heutigem Kenntnisstand unsicher. Vor diesem Hintergrund untersuchte die vorliegende Studie die Bedeutung der p53 Expression an einem retrospektiven Patientenkollektiv mit langfristigen klinischen Verlaufsangaben.

Material und Methoden

Patienten

Seit 1979 wird an der Klinik für Chirurgie der Medizinischen Universität zu Lübeck (MUL) ein konsekutives Register zur Erfassung von Patienten mit kolorek-

talen Karzinomen geführt. Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes am 31.6.1996 wurden mehr als 1.500 Patienten wegen dieser Erkrankung operiert und registriert. Klinische Verlaufsangaben wurden im Rahmen der onkologischen Nachsorge an der eigenen Klinik erhoben oder von den behandelnden Hausärzten routinemäßig abgefragt. Um in der vorliegenden Studie im Rahmen einer retrospektiven Analyse hinsichtlich des klinischen Verlaufes valide Aussagen machen zu können, wurden aus dem Register die Patienten ausgewählt, die zwischen dem 1. Januar 1983 und dem 31. Dezember 1988 an einem kolorektalen Karzinom operiert wurden und für die vollständige Verlaufsangaben vorlagen (n=479).

An Hand der Krankenblätter und der histopathologischen Begutachtungen wurden die Journalnummern der Fälle ermittelt und die Paraffinblöcke vom Institut für Pathologie der MUL freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Von den ursprünglichen 479 Patienten mußten 271 ausgeschlossen werden, da sich entweder die Paraffinblöcke nicht auffinden ließen oder kein repräsentatives Tumormaterial enthielten. Die verbleibenden 208 Fälle bildeten die Grundlage für die Untersuchung.

Keiner der in die Studie integrierten Patienten verstarb innerhalb der ersten vier Wochen post operationem. Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum betrug 10,5 Jahre (Intervall 8 - 13 Jahre). Bei keinem der untersuchten Patienten wurde eine präoperative Strahlen- oder Chemotherapie oder eine adjuvante postoperative Chemotherapie durchgeführt. In die Verlaufsanalyse wurden nur solche Patienten einbezogen, die kurativ operiert wurden (R₀-Resektion). Auch Patienten, die später ein Zweitkarzinom entwickelten, wurden nicht in die Überlebenszeitanalyse eingeschlossen. Somit verblieben 142 Patienten für die Verlaufsuntersuchung. Von diesen entwickelten 24 (16%) im weiteren Verlauf ein Rezidiv und Metastasen, 20 Patienten (14%) ausschließlich Metastasen.

Präparate

Von allen 208 Paraffinblöcken wurden konsekutive 4 mm-Schnitte angefertigt. Der Erste und der Letzte wurden mit Haematoxylin-Eosin (HE) gefärbt, die weiteren Schnittpräparate wurden für die immunhistochemischen Färbungen auf Superfrost®/Plus Objektträgern (Menzel-Gläser, Braunschweig, #041300) plaziert und über Nacht bei 55-60 ° C getrocknet.

Morphologie/Klassifikation

Bei allen 208 Tumoren erfolgte die Stadieneinteilung nach den Richtlinien der UICC (1989) und die Einteilung der Differenzierungsgrade nach denen der WHO (World Health Organisation) (Jass und Sobin 1989).

Die immunhistochemischen Färbungen erfolgten einheitlich nach der Avidin-Biotin-Complex Methode (ABC). Hierzu wurden die Schnitte zunächst entparaffiniert und rehydriert. Nach mehrfachem Waschen unter fließendem Wasser wurden sie dann in Citratpuffer (pH 6,0) gestellt und in einem Mikrowellenofen zunächst mit 800W für sieben bis acht Minuten, anschließend mit 450W für zwei- bis dreimal fünf Minuten erhitzt. Verdunstete Flüssigkeit wurde in den Pausen durch Aqua dest. ersetzt, um ein Austrocknen zu verhindern. Einer Abkühlphase von 20 Minuten folgte das Spülen unter fließendem Wasser und ein Bad in Tris-Phosphat-Puffer (TPBS) für fünf Minuten.

Endogene Peroxydaseaktivität wurde durch Applikation von 0,5% H_2O_2 für 20 Minuten geblockt. Einer erneuten Spülung unter fließendem Wasser folgte die Inkubation mit BSA (Bovine Serum Albumine 1% in TPBS, Fraktion V, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, #A-4503) für 30 Minuten zur Unterdrückung unspezifischer Färbung. Der primäre monoklonale Antikörper DO-1 (Oncogene Science, Cambridge, MA, USA, #OP43) wurde in einer Verdünnung von 1 : 100 appliziert und die Präparate über Nacht in einer feuchten Kammer bei 4 ° C verwahrt. Hiernach wurden die Schnitte in TPBS dreimal für fünf Minuten gewaschen und dann mit dem biotinierten sekundären Antikörper (Anti-Maus IgG, #BA 2000, Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA), verdünnt in TPBS, für 30 Minuten inkubiert.

Nach dreimaligem Waschen in TPBS für jeweils fünf Minuten wurden die Schnitte nach Angaben des Herstellers mit dem Vectastain Elite™-Färbekit inkubiert (#PK 6100, Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA). Es folgte nochmaliges Waschen in TPBS für jeweils fünf Minuten und dann die Inkubation mit einer Diaminobenzidin-Lösung (DAB) als Chromogen für 7-10 Minuten. Anschließend wurden die Präparate mehrfach unter fließendem Wasser gewaschen und für 20-60 Sekunden mit Meyer's Hämatoxylin gegengefärbt. Zum Schluß erfolgte die Dehydratation in ansteigender Alkoholreihe, ein Xylenbad und die Eindeckelung in Aquatex (Merck KG, Darmstadt, #1.08562).

Positive Kontrollen waren Präparate von einem p53-immunoreaktiven kolorektalen Karzinom. Negative Kontrollen wurden durch den Ersatz des primären Antikörpers mit inaktiviertem Mausserum hergestellt.

Auswertungen

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbung erfolgte in vier Kategorien. Es wurden bei jedem Präparat mehrere Gesichtsfelder beurteilt und die Kategorie für die gesamte Tumorzellpopulation festgelegt. Jegliches Fehlen einer spezifischen Immunoreaktion

wurde als „0“ gewertet. Eine Anfärbung von bis zu 20% der Tumorzellpopulation war Kategorie 1, von bis zu 50% Kategorie 2 und über 50% Kategorie 3. Hierbei war zu beobachten, daß die Färbintensität in den Kategorien 2 und 3 zunahm.

Statistik

Die Zusammenhänge zwischen klinisch-pathologischen Daten und den immunhistochemischen Ergebnissen wurden mit dem Chi-Quadrat Test untersucht. Überlebenszeitanalysen erfolgten nach der Kaplan-Meier Methode (Kaplan und Meier 1958), Unterschiede zwischen den Patientengruppen wurden mit dem Log Rank Test analysiert.

Ergebnisse

Immunhistochemische p53-Expression

Bei der Evaluierung der immunhistochemischen p53-Expression wurde zwischen Fällen unterschieden, die in weniger als 20% der Tumorzellpopulation eine spezifische Immunoreaktion zeigten (Kategorien 0 und 1) und solchen, bei denen mehr als 20% der malignen Zellen p53 überexprimierten (Kategorien 2 und 3). Eine intrazytoplasmatische Färbung war selten und wurde nicht als positiv gewertet. Nicht-neoplastische Zellkerne waren negativ, insbesondere auch die der an den Tumor angrenzenden normalen Kolonschleimhaut (Abbildungen 1).

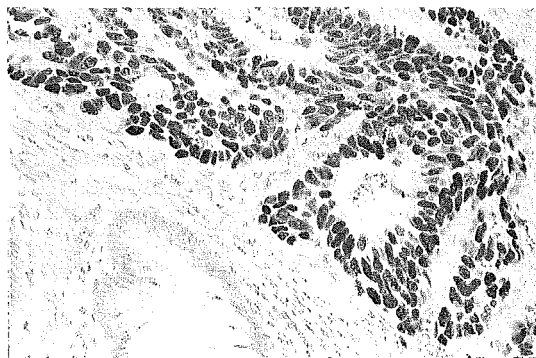


Abb. 1: Immunhistochemische Expression von mutan-tem p53 Protein in nahezu allen Tumorzellkernen. Die Kerne des angrenzenden Stromas und der benachbarten normalen Kolonmukosa sind negativ (ABC-Färbung, monoklonaler Antikörper DO-1, Gegenfärbung Meyer's Haematoxylin, x600).

Die Zusammenhänge zwischen der immunhistochemischen p53-Expression und den klinisch-pathologischen Daten sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Insgesamt wurden 130 (62%) der 208 Fälle als positiv eingestuft. Die Häufigkeitsverteilung der Tumoren mit p53-Ex-

Tab. 1: Korrelation der p53-Expression mit klinisch-pathologischen Daten von 208 Patienten mit sporadischen kolorektalen Karzinomen.

	Immunhistochemische p53-Expression			
	Negativ	Positiv	Gesamt	
Alter				
-70	36 (35)	66 (65)	102	n.s.
>70	42 (40)	64 (60)	106	
Geschlecht				
männlich	40 (40)	59 (60)	99	n.s.
weiblich	38 (35)	71 (65)	109	
Lokalisation				
Rechtskolon	20 (36)	34 (64)	54	n.s.
Linkskolon	59 (38)	95 (62)	154	
Tumorgröße				
T1	7 (50)	7 (50)	14	n.s.
T2	14 (40)	21 (60)	35	
T3	49 (36)	88 (64)	138	
T4	7 (39)	11 (61)	18	
unbekannt*	1 (33)	2 (66)	3	
Lymphknotenstatus				
N0	52 (43)	69 (57)	121	P = 0,05
N+	24 (30)	56 (70)	80	
unbekannt*	2 (29)	5 (71)	7	
Fernmetastasen				
M0	68 (42)	94 (58)	162	P = 0,006
M1	9 (20)	36 (80)	45	
unbekannt*	1 (100)		1	
Differenzierungsgrad				
G1	7 (25)	21 (75)	28	n.s.
G2	51 (43)	68 (57)	119	
G3	20 (33)	41 (67)	61	
UICC-Stadium				
I	18 (53)	16 (47)	34	P = 0,02
II	29 (39)	47 (61)	76	
III	20 (41)	29 (59)	49	
IV	9 (20)	36 (80)	45	
unbekannt*	2 (60)	2 (40)	4	
Prozentangaben in Klammern				
*Nicht in die statistische Analyse eingeschlossen.				
n.s. = Nicht signifikant				

pression war unter den Geschlechtern und den Altersgruppen konstant. Es bestand auch kein Zusammenhang zur Tumorgröße oder zum Differenzierungsgrad. Dahingegen war das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen und auch von Fernmetastasen mit einer erhöhten p53-Expression korreliert. Auch gab es einen Zusammenhang zum UICC Tumorstadium. Während nur knapp die Hälfte der Fälle (16 von 34) im Stadium

I eine p53-Expression aufwiesen, waren dies 80% der Fälle (36 von 45) im Stadium IV.

Für die Verlaufsanalyse wurden nur solche Patienten berücksichtigt, die kurativ operiert worden waren. Ferner wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen im weiteren Verlauf ein Zweitkarzinom entstand. Somit blieben für die statistische Analyse 142 Patienten. Bezogen auf die Überlebenszeit dieser Patienten war die Expression von p53 ohne statistische Signifikanz (Abbildung 2).

Diskussion

p53 Tumor-Suppressor-Gen Status und Waf1-Expression

Die Inaktivierung des p53 Tumor-Suppressor-Genes ist ein ausgesprochen häufiges Ereignis in humanen malignen Tumoren und relevant für deren Entwicklung und Progression (Davidoff et al. 1991, Gabbert et al. 1995, Hollstein et al. 1991, Isola et al. 1992, Shimaya et al. 1993, Sidranskay et al. 1991, Thor et al. 1992). Der Inaktivierungsmechanismus besteht meistens aus dem Verlust eines Alleles durch Deletion in Zusammenhang mit einer Mutation des verbliebenen Alleles (Levine et al. 1991). Hierdurch kommt es zur Bildung von mutantern p53 Protein, das eine wesentlich verlängerte Halbwertszeit hat. Es ist daher im Gegensatz zu normalem p53 Protein, das nur eine Halbwertszeit von etwa 20 Minuten besitzt, in formalin-fixiertem und paraffin-eingebetteten Geweben immunhistochemisch nachweisbar (Baas et al. 1994). Rodriguez et al. (1990) konnten durch Untersuchungen an 10 kolorektalen Kolonkarzinomzelllinien nachweisen, daß die immunhistochemische p53-Expression signifikant mit dem Vorhandensein von Mutation des p53 Genes korrelierte. Sie folgerten daraus, daß der immunhistochemische p53-Nachweis gleichbe-

deutend sei mit einer p53 Mutation, wenn auch einzelne wenige Mutationen nicht durch die Immunhistochemie zu erkennen seien. Ähnliche Resultate erhielten Vojtesek et al. (1993), die an 51 Präparaten die immunhistochemische p53-Expression mit den Ergebnissen des p53-Proteinnachweises mittels der ELISA-Technik verglichen. Auch hier war die Übereinstimmung hochsignifikant. Diese Beobachtungen ermöglichen retro-

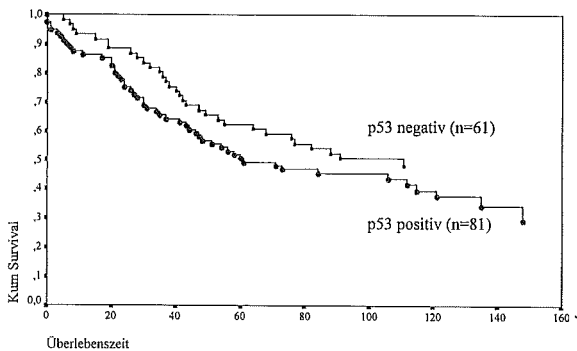


Abb. 2: Kaplan-Meier Überlebenszeitkurven von 142 Patienten mit sporadischen kolorektalen Karzinomen in Abhängigkeit der p53-Expression. Es bestand kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit weniger oder mehr als 20% p53-immunreaktiven Tumorzellen.

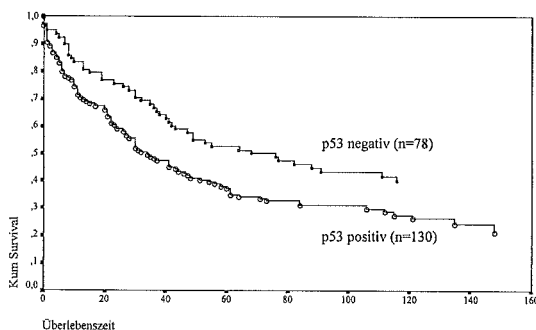


Abb. 3: Kaplan-Meier Kurven für alle 208 Patienten mit kolorektalen Karzinomen. Der Unterschied zwischen den Patienten mit p53-negativen Karzinomen und denen mit p53-positiven Tumoren ist signifikant ($P = 0,01$).

spektive Untersuchungen an klinischem Tumormaterial mit bekanntem Verlauf, um Aufschlüsse über eine mögliche prognostische Bedeutung der p53 Inaktivierung zu erhalten. Andere Nachweisverfahren wie die Gensequenzierung sind im Gegensatz dazu ausgesprochen aufwendig und daher nur auf geringere Fallzahlen anzuwenden (Rodrigues et al. 1990). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Untersuchung die immunhistochemische Methode gewählt. Dies geschah unter Beachtung der Tatsache, daß die p53-Überexpression nicht mit der molekularbiologischen Analyse einzelner Mutationen gleichzusetzen ist. Der komplette p53-Funktionsausfall durch Verlust beider Allele, eine bislang sehr selten nachgewiesene Störung, kann nämlich auch dazu führen, daß überhaupt kein Protein gebildet wird.

In den letzten Jahren beschäftigten sich mehrere Studien mit der Bedeutung des p53 Tumor-Suppressor-Genes als prognostischem Parameter in kolorektalen Kar-

zinomen. Zunächst berichteten Sun et al. (1992 und 1993) über eine Korrelation der immunhistochemischen p53-Überexpression mit dem Duke's Stadium und dem klinischen Verlauf bei 293 Patienten. In beiden Arbeiten wurden allerdings keine Angaben zum Resektionsausmaß gemacht und offenbar auch Patienten mit synchronen Fernmetastasen in die Analyse eingeschlossen. Die Häufigkeit einer nukleären p53-Überexpression wurde mit 39% angegeben und korrelierte signifikant mit dem Ploidie-Status, d.h. aneuploide Karzinome exprimierten häufiger p53. Ebenfalls 1992 folgte eine weitere Untersuchung von 107 kolorektalen Karzinomen unter Verwendung des polyclonalen Antikörpers CM1, wobei die p53-Expression mit 45,8% angegeben wurde. Von den Patienten waren 74 in verschiedenen Krankenhäusern in Manchester und 33 in Polen operiert wurden (Starzynska et al. 1992). In der Studie mit einer medianen Beobachtungszeit von 21 Monaten, in die auch 14 Patienten im Stadium Duke's D eingeschlossen waren und in der sich keine Angaben zum Resektionsausmaß finden, war die immunhistochemische p53-Überexpression von prognostischer Bedeutung.

In einer weiteren Studie (Yamaguchi et al. 1993) wurde der prognostische Wert der p53-Überexpression in Biopsien von insgesamt 203 Patienten mit kolorektalen Karzinomen untersucht, wobei auch hier Patienten im Stadium Duke's D eingeschlossen wurden und ebenfalls keine Aussage über den Resektionsumfang gemacht wurde. Eine wesentliche Beobachtung war die gute Übereinstimmung der immunhistochemischen p53-Expression in präoperativen Biopsaten und histologischen Schnitten vom Operationspräparat. Die Häufigkeit der p53-Expression wurde mit 59,6% angegeben. Es bestand keine signifikante Korrelation zur Tumoralokalisation, zum Differenzierungsgrad oder dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen, jedoch zu synchronen Lebermetastasen.

Eine Untersuchung an 52 kolorektalen Karzinomen (Morris et al. 1994) ergab unter Einbeziehung von Patienten im Stadium Duke's D eine immunhistochemische p53-Expressionshäufigkeit von 62% und keinen signifikanten Zusammenhang zur Lokalisation, dem Tumorstadium oder dem klinischen Verlauf (Beobachtungszeitraum 5 Jahre). Bosari et al. (1994) untersuchten 206 Patienten mit kolorektalen Karzinomen und einem Beobachtungszeitraum von ebenfalls fünf Jahren. Alle untersuchten Tumoren wurden an einem operativen Zentrum R₀-reseziert. Es wurde zwischen zytoplasmatischer und nukleärer p53-Expression unter Verwendung des polyclonalen Antikörpers CM1 unterschieden und dieser mit 50% bzw. mit 33% angegeben. Hierbei fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der zytoplasmatischen p53-Überexpression, nicht jedoch der nukleären, und dem klinischen Verlauf.

Eine finnische Arbeitsgruppe analysierte 144 Patienten mit langfristigen klinischen Verlaufsangaben, ohne jedoch Angaben zum Resektionsausmaß zu machen (Auvinen et al. 1994). Hinsichtlich des Tumorstadiums wurde zwischen „lokaler“, „regionaler“ und „entfernter“ Erkrankung unterschieden, so daß man auch hier davon ausgehen muß, daß nicht kurativ operierte Patienten eingeschlossen waren. Als immunhistochemische p53-Überexpression wurden solche Fälle gewertet, bei denen 20% der Tumorzellpopulation gefärbt waren, was bei insgesamt 69% der Tumoren beobachtet wurde. Es bestand eine Borderline-Signifikanz zwischen avancierten Tumorstadien und dem Nachweis von DNS-Aneuploidie, jedoch ein gesicherter statistischer Zusammenhang mit einer erhöhten S-Phase. Ferner war die 10-Jahres-Überlebensrate der Patienten mit p53-positiven kolorektalen Karzinomen signifikant kürzer als die von Patienten ohne p53-Nachweis. Goh et al. (1994) untersuchten p53-Punktmutationen an 187 kolorektalen Karzinomen, die sich bei 55% der Fälle fanden. Immunhistochemische p53-Überexpressionen mit vier verschiedenen Antikörpern, die alle gegen unterschiedliche Epitope gerichtet waren, fanden sich in 75% der Fälle. Der Verlust der Heterozygotizität auf Chromosom 17p war mit dem Auftreten von synchronen Fernmetastasen vergesellschaftet. Lymphogene Metastasen waren mit einem kompletten p53-Funktionsverlust korreliert, der zusätzlich zur Deletion eines Alleles durch eine Mutation des verbliebenen Alleles verursacht wurde.

Ähnliche Ergebnisse berichteten auch Tomoda und Kakeji (1995), die 144 kolorektale Karzinome immunhistochemisch untersuchten und eine positive Korrelation zwischen einer p53-Überexpression, DNS-Aneuploidie und dem Lymphknotenstatus fanden. In die Verlaufsuntersuchung mit einem Beobachtungszeitraum von weniger als drei Jahren wurden nur kurativ operierte Patienten eingeschlossen. Die p53-Expression war ohne prognostische Aussagekraft. Ein signifikanter prognostischer Wert wurde jedoch für den Ploidie-Status nachgewiesen.

Faßt man die bisherigen Erkenntnisse zusammen, so wird deutlich, daß von den untersuchten Tumoren 39%-69% der Fälle p53 exprimierten, wobei unterschiedliche Antikörper und Bewertungsmethoden zur Anwendung kamen. Die Kollektive waren zum Teil heterogen, d.h. die Patienten wurden an verschiedenen Zentren operiert und beinhalten oft auch solche, die nicht-kurativ operiert worden waren, sondern fortgeschrittene Tumorstadien mit Fernmetastasierungen aufwiesen. Überwiegend für solche Patientengruppen war die immunhistochemische p53-Expression von prognostischer Wertigkeit. Die Stadieneinteilung war darüber hinaus häufig nicht einheitlich und folgte nicht den Richtlinien der UICC. Somit liegen bislang keine substantiellen Ergebnisse zur Bedeutung des p53 Tumor-Suppressor-Genes als prognostischer Parameter für kolorektale Karzinome vor.

In der vorliegenden Studie an Tumormaterial von 208 Patienten, einer der umfangreichsten Analysen dieser Art, betrug der Anteil der p53-positiven Fälle 62% und läßt sich gut mit den Ergebnissen von Auvinen et al. 1994 vergleichen, die den gleichen Antikörper und die gleichen immunhistochemischen Bewertungsmaßstäbe verwendeten. In guter Übereinstimmung mit den bereits publizierten Resultaten fand sich ein enger Zusammenhang zwischen der p53-Überexpression und einem positiven Lymphknotenstatus, dem Vorkommen von synchronen Fernmetastasen, einem fortgeschrittenen Tumorstadium und DNS-Aneuploidie. Dahingegen war es in der vorliegenden Studie an 142 ausschließlich kurativ operierten Patienten mit langfristigen klinischen Verlaufsangaben nicht möglich, eine prognostische Bedeutung für die immunhistochemische p53-Expression nachzuweisen. Bei Einschluß aller 208 Patienten in die Analyse ergab sich allerdings auch in dieser Untersuchung eine signifikant kürzere Überlebenszeit für solche Patienten, deren Tumoren eine p53-Expression aufwiesen (Abbildung 3). Diese prognostische Wertigkeit ist aber offenbar lediglich Ausdruck der positiven Interaktion der p53-Überexpression mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium.



Schütt & Grundei Sanitätshaus GmbH

BERUFSKLEIDUNG FÜR MEDIZINER · SAUERSTOFFGERÄTE
REHABILITATIONSMITTEL · KOMPRESSIONSSTRÜMPFE
ROLLSTÜHLE · GESUNDHEITSSANDALEN · KRANKENBETTEN
KRANKENPFLEGEBEDARF · LEIBBINDEN · BRUCHBÄNDER
FUSSEINLAGEN · INHALIERGERÄTE · SAUERSTOFFGERÄTE

Auch am Klinikum
Ratzeburger Allee 111-125
im Wirth-Center

Lübeck:

Königstraße/Ecke Wahnstr.
Fackenburger Allee 30 a
Ratzeburger Allee 111-125
Grapengießerstraße 21

Bad Schwartau: Lübecker Straße 12

in jedem Fall.....Tel.: 04 51/89 07-0

SEIT ÜBER 20 JAHREN VERTRAGSPARTNER DER ORTHOPÄDISCHEN
KLINIK DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Im übrigen sollten bei exakter Analyse zum Vergleich von Tumoreigenschaften ohnehin nur konsekutive und homogene Patientenkollektive untersucht werden. Andernfalls ist es nicht verwunderlich, daß Patienten mit residuellen Tumoranteilen eine schlechtere Prognose haben als solche, bei denen der Tumor vollständig entfernt werden konnte. In der vorliegenden Untersuchung wurden daher alle Patienten mit unvollständiger Resektion und mit nachgewiesenen Zweittumoren im weiteren Verlauf konsequent ausgeschlossen.

Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse scheint die immunhistochemische Expression des p53 Tumor-Suppressor-Gens ohne Bedeutung für die Verlaufsbeurteilung kolorektaler Karzinome zu sein. Dennoch sind weitere Untersuchungen bis hin zu einer exakten p53 Mutationsanalyse von kolorektalen Karzinomen erforderlich, um weitere Aufschlüsse darüber zu erhalten, ob eine Korrelation zwischen bestimmten p53 Mutationsformen und einer verminderten Radio- bzw. Chemosensibilität besteht.

Literaturverzeichnis

1. Auvinen A, Isola J, Visakorpi T, Koivula T, Virtanen S, Hakama M: Overexpression of p53 and long-term survival in colon carcinoma. *Br J Cancer* 70:293-296, 1994.
2. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA, Vogelstein B, Hamilton SR: An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *J Pathol* 172:5-12, 1994.
3. Bosari S, Viale G, Bossi P, Maggioni M, Coggi G, Murray JJ, Lee AKC: Cytoplasmic accumulation of p53 protein: an independent prognostic indicator in colorectal adenocarcinomas. *J Natl C Inst* 86:681-687, 1994.
4. Davidoff AM, Herndon JE, Glover NS, Kerns B-JM, Pence JC, Iglehart JD, Marks JR: Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 110:259-264, 1991.
5. Fukisawa K, Taesaeng C, Kuriyama R, Rulong S, Vande Woude GF: Abnormal centrosome amplification in the absence of p53. *Science* 271:1744-1747, 1996.
6. Gabbert HE, Müller W, Schneiders A, Meier S, Hommel G: The relationship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastric carcinoma. *Cancer* 76:720-726, 1995.
7. Goh H-S, Chui-Sein C, Khine K, Smith DR: p53 and behaviour of colorectal cancer. *Lancet* 344:233-234, 1994.
8. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49-53, 1991.
9. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kalioniemi O-P: Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 84:1109-1114, 1992.
10. Jass JR, Sobin LH: Histological typing of intestinal tumours. 2nd ed. (International Histological Classification of Tumours). Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokio, 1989.
11. Kaplan EL, Meier P: Nonparametric estimation for incomplete observation. *J Am Stat Assoc* 53:457-481, 1958.
12. Lane, DP:p53, guardian of the genome. *Nature* 358:15-16, 1992.
13. Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351:453-456, 1991.
14. Lu X, Lane DP: differential induction of transcriptionally active p53 following UV or ionizing radiation: Defects in chromosome instability syndromes? *Cell* 75:765-778, 1993.
15. Mercer WE: Cell cycle regulation and the p53 tumor suppressor protein. *Crit Rev Eucar Gene Exp* 2:251-263, 1992.
16. Mietz JA, Unger T, Huibregtse JM, Howley PM: The transcriptional transactivation function of wild-type p53 is inhibited by SV40 large T-antigen and by HPV-16 E6 oncoprotein. *EMBO J* 11:5013-5020, 1992.
17. Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP: Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. *Nature* 319:783-784, 1986.
18. Morrin M, Kelly M, Berrett N, Delaney P: Mutations of Ki-ras and p53 genes in colorectal cancer and their prognostic significance. *Gut* 35:1627-1631, 1994.
19. Oren M: p53: the ultimate tumor suppressor gene? *FASEB J* 6:3169-3176, 1992.
20. Rodriguez NR, Rowan A, Smith MEF, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, Lane DP: p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci* 87:7555-7559, 1990.
21. Shimaya K, Shiozaki H, Inoue M, Tahara H, Monden T, Shimano T, Mori T: Significance of p53 expression as a prognostic factor in oesophageal squamous cell carcinoma. *Virch Arch (A) Pathol Anat* 422:271-276, 1993.
22. Sidransky D, von Eschenbach A, Tsai YC, Jones P, Summerhayes I, Marshall F, Paul M, Green P, Hamilton SR, Frost P, Vogelstein B: Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science* 253:706-709, 1991.
23. Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stern PL: Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 66:558-562, 1992.
24. Sun X-F, Carstensen JM, Zhang H, Stål O, Wingren S, Hatschek T, Nordenskjöld B: Prognostic significance of cytoplasmic p53 oncoprotein in colorectal adenocarcinoma. *Lancet* 340:1369-1373, 1992.
25. Sun X-F, Carstensen JM, Zhang H, Stål O, Zhang H, Nilsson E, Sjödhall R, Nordenskjöld B: Prognostic significance of p53 expression in relation to DNA ploidy in colorectal adenocarcinoma. *Virch Arch (A) Pathol Anat* 423:443-448, 1993.
26. Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HAT, Marcus JN, Schwartz L, Chen L-C, Mayall BH, Smith HS: Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 84:845-855, 1992.
27. Tomoda H, Kakeji Y: Immunohistochemical analysis of p53 in colorectal cancer regarding clinicopathological correlation and prognostic significance. *J Surg Oncol* 58:125-128, 1995.
28. UICC International Union against Cancer. TNM-Atlas, illustrated guide to the TNM/pTNM-classification of malignant tumours. Spiessl B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O, Sobin LH, Wagner G (Hrsg.). Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokio, 1989.
29. Vojtesek B, Fisher CJ, Barnes DM, Lane DP: Comparison between p53 staining in tissue sections and p53 protein levels measured by an ELISA technique. *Br J Cancer* 67:1254-1258, 1993.
30. Yamaguchi A, Nakagawara G, Kurosaka Y, Nishimura G, Yonemura Y, Miyazaki I: p52 immunoreaction in endoscopic biopsy specimens of colorectal cancer, and its prognostic significance. *Br J Cancer* 68:399-402, 1993.

Gibt es morphologische Parameter zur quantitativen Bestimmung der entzündlichen Infiltration des Peritoneums?

A. Woltmann¹, S. Weiss¹, B. Martens¹, R. Broll¹, S. Krüger², H.-P. Bruch¹

Zusammenfassung:

Die entzündliche Aktivität des Peritoneums konnte bisher morphologisch nur semiquantitativ beurteilt werden. In einem standardisierten Rattenmodell wurde eine chronische abszedierende Peritonitis nach Laparotomie und Inokulation von 2 ml einer *Bacteroides fragilis* Suspension mit einer Konzentration von 10^9 CFU/ml induziert. Die entzündliche Infiltration des Peritoneums wurde quantitativ durch die Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung (NASDCE) bestimmt, durch die das Zytoplasma der Granulozyten und Gewebsmastzellen markiert wird. Peritonitis- (N=53) und Kontrollgruppe (N=15) wurden randomisiert in 3 Untergruppen eingeteilt ($N_{\text{Peritonitis}}=17/18/18$ vs. $N_{\text{Kontrolle}}=5/5/5$), die für jeweils 3/7/14 Tage beobachtet wurden. An den Tagen 3/7/14 wurden bei 2 von 17 / 13 von 18 und 12 von 18 Tieren intraabdominelle Abszesse in der Peritonitisgruppe diagnostiziert. Bei den Kontrolltieren wurden keine Abszesse gefunden ($p < 0,05$). Die Gesamtzellularität und NASDCE-Positivität an den Tagen 3/7/14 betrugen in der Peritonitisgruppe 301/409/280 (vs. 155/240/273 in der Kontrollgruppe) und 1,8/2,9/3,6% (vs. 0,7/0,9/1,4%) im abszeßfernen und 392/661/625 und 14,4/12,9/11,5% im abszeßnahen Kompartiment der Peritonistiere ($p < 0,05$). Wir schließen, daß der qualitative Aspekt einer Peritonitis z. B. in Form eines Abszesses durch eine quantitative morphologische Charakterisierung der entzündlichen Infiltration des Peritoneums ergänzt werden kann. Durch die NASDCE-Färbung kann der Anteil der Granulozyten und Gewebsmastzellen an der Gesamtzellularität als Hauptindikator der lokalen entzündlichen Infiltration einfach bestimmt werden. Diese Methode kann z. B. hilfreich sein zur Festlegung des Zeitpunkts für den endgültigen Bauchdeckenverschluß bei einer Etappenlavage.

Abstract:

The morphology of the inflammatory activity of the peritoneum has been measured qualitatively but quantitative assessments are not common. In a standardized rat model, we induced a chronic abscess forming peritonitis after laparotomy and inoculation of 2ml of a *Bacteroides fragilis* suspension at a concentration of 10^9 CFU/ml. The morphological inflammatory activity was determined quantitatively by staining the speci-

men of the peritoneum with naphthol-AS-D-chloracetate-esterase (NASDCE). However, through this staining the cytoplasm of granulocytes and tissue mast cells were marked. Peritonitis- (N=53) and controlgroup (N=15) were randomly divided in 3 subgroups ($N_{\text{Peritonitis}}=17/18/18$ vs. $N_{\text{Control}}=5/5/5$) and observed for 3/7/14 days, respectively. At days 3/7/14 we diagnosed intraabdominal abscesses in 2 out of 17 / 13 out of 18 / and 12 out of 18 animals in the peritonitis group. In controls there were no abscesses ($p < 0.05$). The total cellularity and NASDCE positive rates on days 3/7/14 in the peritonitis group were 301/409/280 (vs. 155/240/273 in controls) and 1.8/2.9/3.6% (vs. 0.7/0.9/1.4%) in the non abscess forming regions and 392/661/625 and 14.4/12.9/11.5% in the abscess surrounding regions in the infected animals, respectively ($p < 0.05$). We conclude, that the qualitative histological evidence of the morphological inflammatory activity of the peritoneum in form of an abscess can be supplemented by a quantitative method. Through NASDCE staining the granulocyte and tissue mast cell proportion of the total cellularity as main indicators of the local inflammatory activity can be estimated in peritonitis. This method can be helpful in the decision when to close definitively the abdomen in the course of a programmed lavage treatment in peritonitis.

Einleitung

Bei einer Peritonitis wird der Charakter der Entzündung heute nur qualitativ beschrieben. Als qualitative morphologische Parameter gelten Abszesse, Exsudate, Stuhl, Galleflüssigkeit oder fibrinöse Beläge [8]. Die Auswertung kann subjektiv semiquantitativ charakterisiert als wenig, mäßig und viel erfolgen.

Eine quantitative morphologische Bestimmung der entzündlichen Infiltration ist unüblich. Sie wäre aber von großem Nutzen, zum Beispiel wenn der richtige Zeitpunkt zum Bauchdeckenverschluß bei Etappenlavage wegen Peritonitis bestimmt werden soll. Hierzu existieren heute keine verlässlichen morphologischen Parameter, die die entzündliche Aktivität am Ort des Geschehens bestimmen. Die Bauchdecke wird verschlossen, wenn das Abdomen „sauber“ ist [1, 4, 9, 11]. Günstigstenfalls wird noch die klinische Situation für diese Entscheidung ins Kalkül gezogen.

So war es das Ziel der Studie, einfache morphologische Parameter anhand eines Tiermodells zu etablieren, die die entzündliche Infiltration und damit die Aktivität des Peritoneums bei Peritonitis exakt charakterisieren und objektiv quantitativ bestimmen.

Methoden

Tiermodell

Unsere Versuchstiere waren männliche, 9-11 Wochen alte, ca. 270-350g schwere Wistar-Ratten. Je 5 Tiere wurden in einem Käfig in einem 12-Stunden hell-dunkel Rhythmus bei einer Raumtemperatur von 21°C gehalten. Zur Ernährung wurde Altronium 1314 und Wasser ad libitum angeboten. Die Tiere wurden mehrmals täglich aufgesucht, um ihre Vitalfunktionen zu kontrollieren. Die Experimente waren von dem zuständigen Ministerium des Landes Schleswig-Holstein genehmigt.

Die Peritonitis wurde durch intraabdominelle Inokulation von 2ml einer *Bacteroides* (B.) fragilis Suspension induziert (American Type Culture Collection 25285, Rockville, Maryland, USA). B. fragilis wurde 18 Stunden vor Peritonitisinduktion in 50 ml Thioglycolat-Lösung eingebracht und anschließend bei 37°C anaerob bebrütet. Durch Verdünnung nach Keimzahlbestimmung wurde die Bakterien-Konzentration auf 10^9 CFU/ml eingestellt. Die Bakteriensuspension wurde mit 2ml eines bei 37°C verflüssigten Agars (Merck Nr. 11471) vermischt. So wurden unter Ketanest/Rompun Narkose nach Laparotomie je 1ml der skizzierten, frisch hergestellten Bakterien/Agar-Mischung in alle 4 abdominelle Quadranten inokuliert (N = 53). Einer Kontrollgruppe (N = 15) wurden nach Laparotomie lediglich 2 ml des verflüssigten Agars inokuliert.

Zur Verlaufsbeurteilung wurden die Versuchsgruppen randomisiert in 3 Untergruppen eingeteilt. Am Tag 0 erfolgte die Induktion der Peritonitis. Die Untergruppen wurden für 3/7/14 Tage beobachtet ($N_{\text{Peritonitis}} = 17/18/18$, $N_{\text{Kontrolle}} = 5/5/5$). Am Ende der jeweiligen Beobachtungszeit wurden die Tiere unter sterilen Kautelen und der oben skizzierten Narkose relaparotomiert und mikrobiologische Abstriche aus jedem Quadranten genommen. Zuletzt wurden pathologische makroskopische Befunde wie Abszesse dokumentiert und Probeexzisionen aus dem viszeralen (Leber, Milz, Darm, Omentum majus) und parietalen Peritoneum zur histologischen Aufarbeitung entnommen.

Standardparameter

Die mikrobiologischen Abstriche (Culturette[®], Becton Dickinson Heidelberg) und Blutkulturen (Bactec[®] Blutkultur Set NR 16A/17A, Becton Dickinson Heidelberg) wurden im Institut für Mikrobiologie der Medizinischen Universität zu Lübeck ausgewertet. Die

Abstriche wurden auf Selektivplatten (Mac Conkey Agar) und Blutagarplatten ausgestrichen und für 48 Stunden bei 36 +/- 1°C aerob und anaerob bebrütet. Anschließend wurden wachsende Keime durch ihr makroskopisches und mikroskopisches Wachstumsmuster (Gramfärbung) sowie biochemisch und serologisch identifiziert.

Histologie

Die histologischen Proben wurden in Formalin (5 %) fixiert, auf ca. 3 mm Dicke und Fingernagelgröße zugeschnitten, in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 %, 96 %, 100 %) entwässert, in Xylol getränkt und in Paraffin eingebettet. Mit dem Mikrotom wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Objektträger aufgezogen und getrocknet. Vor dem Färben wurden die Schnitte mit Xylol entparaffiniert und durch eine absteigende Alkoholreihe (100 %, 96 %, 70 %) eingewässert.

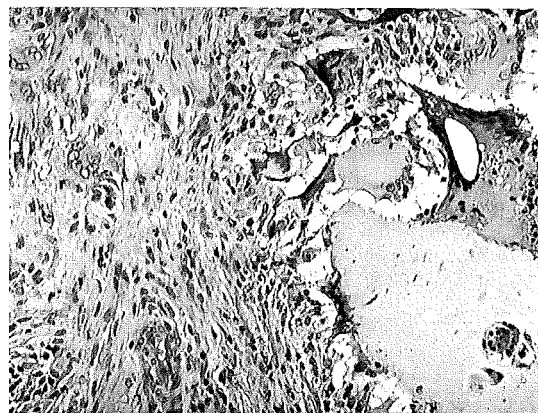


Abb. 1) Intraabdomineller Abszess am Tag 14, Peritonitisgruppe. Rechts Abszessinneres mit Agarresten, Zellschutt, neutrophilen Granulozyten und Bakterienrasen; links Abszessmembran mit fibroblastenreichem Bindegewebe und Fremdkörperriesenzellen. HE 250X.

Als Grundlage für die histologische Begutachtung diente eine Hematoxylin-Eosin (HE) Färbung. Intraabdominelle Abszesse wurden nur als solche gewertet, wenn sie sich histologisch verifizieren ließen (Abb. 1).

Die NASDCE-Färbung wurde nach Leder [7] mit folgenden Materialien durchgeführt: Pararosanilin-Lösung 4 %, Natriumnitrit-Lösung 4 %, Veronal-Acetat-Puffer pH 7.6, 2 N HCL, Naphthol-AS- D-Chloracetate (Sigma, St. Louis, Art.Nr. N-0758), N,N-Dimethylformamid (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Art.Nr. 822275) und Aquatex[®] (Merck, Darmstadt, Art.Nr. 8562).

Zunächst wurde die Lösung A hergestellt: 3 Tropfen Pararosanilin-Lösung 4 % wurden mit 3 Tropfen Natri-

umnitrit-Lösung 4 % gut vermischt und nach 60 Sekunden mit 90 ml Veronal-Acetat-Puffer pH 7.6 verdünnt. Der pH-Wert wurde mit 2 N HCL auf 6.3 eingestellt. Für die Lösung B wurden 30 mg Naphthol-AS-D-Chloracetat in 3 ml N,N-Dimethylformamid gelöst. Lösung A wurde dann mit Lösung B vermischt und anschließend filtriert. Nach sorgfältiger Entparaffinierung und Einwässerung wurden die Präparate hierin 30 Minuten inkubiert und daraufhin mit Leitungswasser gespült. Hierauf erfolgte eine Kernfärbung mit Hämalaun (10 Minuten). Nach erneuter Spülung mit Leitungswasser wurden die Schnitte zuletzt mit der Glycerin-Gelatine Aquatex[®] eingedeckt.

Zur quantitativen Auswertung wurden pro Präparat eines jeden Tieres aus Peritonitis- und Kontrollgruppe in der Regel 10 Gesichtsfelder aus dem Omentum majus bei 400 facher Vergrößerung ausgezählt und daraus ein Mittelwert gebildet. Die Fermentaktivität der NASDCE wurde durch einen homogenen, leuchtend roten Farbton im Zytoplasma der Granulozyten (G) und Gewebsmastzellen (GM) angezeigt (Abb. 2a-2c) [14]. Es wurde die Gesamtzellularität, der Anteil der NASDCE positiven Zellen und die Aufteilung nach G und GM bestimmt. Für die Tiere mit intraabdominellen Abszessen erfolgte die Auswertung getrennt nach abszeßfernen und abszeßnahen Regionen. Das innere Abszeßkompartiment wurde nicht ausgezählt.

Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse und ihre Prüfung auf Signifikanz erfolgte für die Beschreibung von Gruppenunterschieden mit dem U-Test nach Mann und Whitney, der für nicht-normalverteilte Meßwerte

gilt. Die Abhängigkeit zweier Variablen wurde mit dem exakten Test nach Fisher geprüft. Zur vergleichenden Quantifizierung wurden p-Werte errechnet. Wenn die p-Werte <0,05 lagen, wurden die Unterschiede als signifikant bezeichnet.

Ergebnisse

Die Letalität betrug in beiden Gruppen im Untersuchungszeitraum von 14 Tagen 0 %.

In der Peritonitis-Gruppe kam es nach der Bakterieninokulation zu einer chronischen abszedierenden Peritonitis. Intraabdominelle Abszesse wurden in der Peritonitisgruppe am Tag 3/7/14 bei 2/13/12 Tieren (12/72/67%) gefunden, in der Kontrollgruppe wurden keine Abszesse gefunden (Abb. 3). Die Unterschiede waren am Tag 7 und 14 signifikant ($p < 0,05$).

Das mikrobiologische Monitoring konnte bei 2 von 53 Tieren eine Translokation von Darmkeimen in die freie Bauchhöhle nachweisen (vergrünende Streptokokken). In der Peritonitisgruppe waren bei 8/10/7 Tieren die Abstriche B. fragilis positiv, in der Kontrollgruppe waren alle Abstriche steril. Die Unterschiede waren am Tag 7 signifikant ($p < 0,05$). Die Gesamtzellularität betrug am Tag 3/7/14 in der Peritonitisgruppe abszeßfern 301/409/280 und 392/661/625 abszeßnah, wogegen die Werte für die Kontrollgruppe bei 155/240/273 lagen (Abb. 4). Der Anteil der NASDCE positiven Zellen betrug in der Peritonitisgruppe abszeßfern 1,8/2,9/3,6% und 14,4/12,9/11,5% abszeßnah vs. 0,7/0,9/1,4% in der Kontrollgruppe (Abb. 5). Die Unterschiede waren signifikant, die Signifikanzniveaus sind im Detail den Abbildungen zu entnehmen. Die Anteile der G bzw.

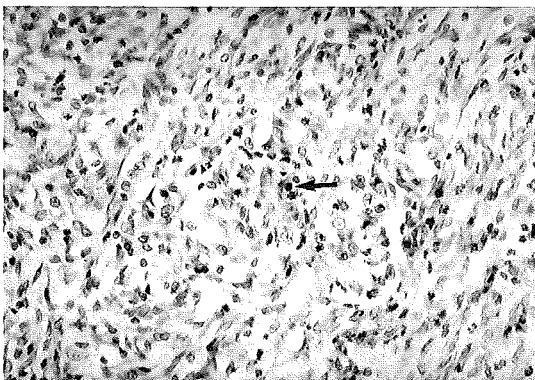


Abb. 2a) Abszeßnahe Region (Omentum majus) am Tag 7, Peritonitisgruppe. Hohe Gesamtzellularität (> 600 pro Gesichtsfeld 400 fach vergrößert), hoher Anteil NASDCE positiver Zellen (>10 %), hoher Anteil der Granulozyten (Pfeil) an den NASDCE positiven Zellen (99 %) im Vergleich zu den Gewebsmastzellen (1%). NASDCE und Hämalaungegenfärbung 400X.

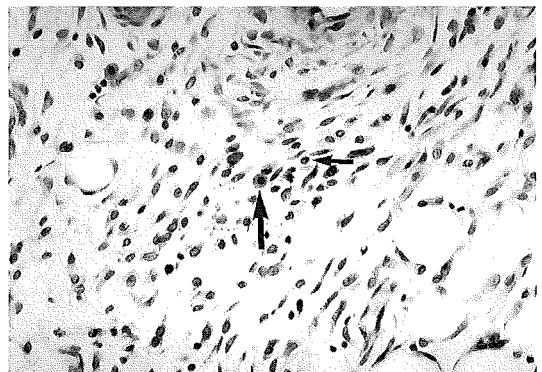


Abb. 2b) Abszeßferne Region (Omentum majus) am Tag 7, Peritonitisgruppe. Mittlere Gesamtzellularität (ca. 400 pro Gesichtsfeld 400 fach vergrößert), mittlerer Anteil NASDCE positiver Zellen (ca. 3 %), mittlerer Anteil der Granulozyten (kleiner Pfeil) an den NASDCE positiven Zellen (ca. 62 %), Gewebsmastzellen (großer Pfeil) ca. 38 %. NASDCE und Hämalaungegenfärbung 400X. (Siehe auch Titelseite)

GM an der Gesamtzellulartät betragen in der Peritonitisgruppe abszeßfern 0,5/1,8/1,1 bzw. 1,1/1,1/2,5 und 14,2/12,7/11,4 bzw. 0,2/0,2/0,1 abszeßnah, in der Kontrollgruppe 0,1/0,02/0,1 bzw. 0,7/0,9/1,3 (Tab. 1). Wenn man den Verlauf des prozentualen Anteils der G und GM an den NASDCE positiven Zellen (Tab. 2) betrachtete, fiel auf, daß in der Peritonitisgruppe abszeßfern zunächst (Tag 3) zwei Drittel des NASDCE positiven Infiltrates die GM, dann (Tag 7) die G und zum Ende der Beobachtung (Tag 14) wieder die GM bildeten. Im abszeßnahen Gebiet wurden fast nur G gefunden (98 - 99 %), wogegen die GM völlig in den Hintergrund (1 - 2 %) traten. In der Kontrollgruppe bildeten dagegen über den gesamten Zeitraum die GM den größten Teil der NASDCE positiven Zellen (92 - 98 %) gegenüber den G (2 - 8 %).

Diskussion

Die Behandlung der Peritonitis stellt auch heute noch eine der größten chirurgischen Herausforderungen dar. Bei der lokalen Peritonitis erfolgt nach der Primärherdsanierung, dem Debridement und einer ausführlichen Spülung des Abdomens der sofortige Bauchdeckenverschluß [2]. Dieses Prinzip ist seit über 70 Jahren unumstößlich [5] und als Standardverfahren in 85 % der Fälle erfolgreich [9]. Wenn eine diffuse Vier-Quadrantenperitonitis vorliegt stellt das gesamte Peritoneum den sekundären Infektionsherd dar. Der primäre Verschluß der Bauchhöhle ist nach dem Standardverfahren mit einem zu hohen Risiko einer Relaparotomie verbunden, weshalb eine Etappenlavage angeschlossen wird [5]. Hierbei wird das Abdomen nur provisorisch z. B. mit Folie verschlossen, um es alle 24 - 48 Stunden geplant erneut zu spülen [1]. Der Vorteil

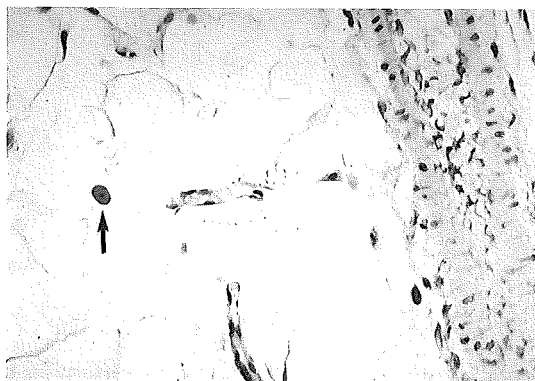


Abb. 2c) Omentum majus am Tag 7, Kontrollgruppe. Niedrige Gesamtzellulartät (< 300 pro Gesichtsfeld 400 fach vergrößert), niedriger Anteil NASDCE positiver Zellen (< 1 %), es werden nur Gewebsmastzellen markiert (Pfeil). NASDCE und Hämalaungegenfärbung 400X.

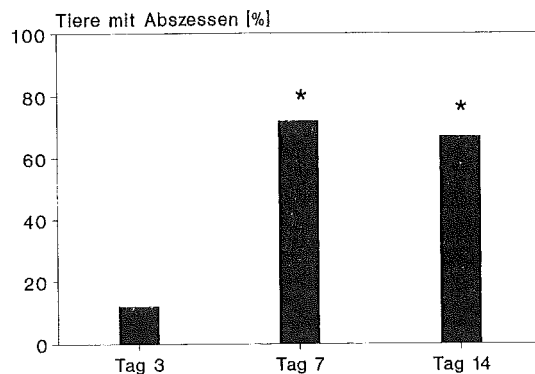


Abb. 3) Anteil der Ratten mit histologisch verifizierten intraabdominellen Abszessen in der Peritonitisgruppe [%], keine Abszesse in der Kontrollgruppe. Exakter Test nach Fisher; $p < 0,05$ * für den Vergleich zur Kontrollgruppe.

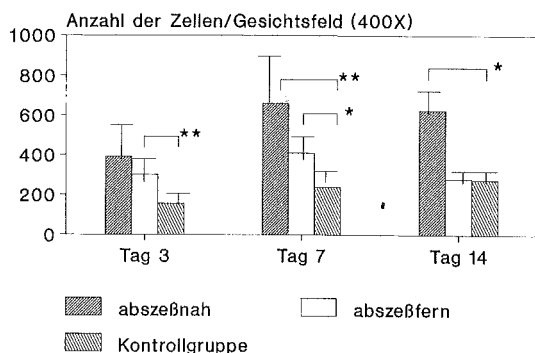


Abb. 4) Mittelwerte + SEM der Gesamtzellulartät (Gesichtsfeld 400 fach vergrößert) im Peritoneum abszeßnah und abszeßfern in der Peritonitis- und Kontrollgruppe. U-Test nach Mann und Whitney, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **

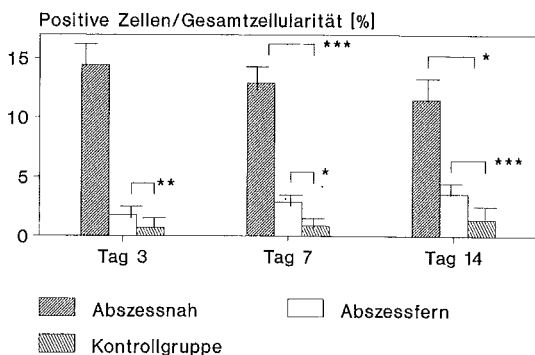


Abb. 5) Mittelwerte + SEM des Anteils der NASDCE positiven Zellen an der Gesamtzellulartät im Peritoneum abszeßnah und abszeßfern in der Peritonitis- und Kontrollgruppe. U-Test nach Mann und Whitney, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **, $p < 0,001$ ***.

	Granulozyten	Gewebsmastzellen	p-Wert
Tag 3	14,2/0,5/0,1	0,2/1,1/0,7	—/**/—/—
Tag 7	12,7/1,8/0,02	0,2/1,1/0,9	**/**/**/_
Tag 14	11,9/1,1/0,1	0,1/2,5/1,3	*/**/**/*
	(abszeßnah/abszeßfern/Kontrolle)		(a/b/c/d)

Tab 1) Anteil der Granulozyten (G) und Gewebasmastzellen (GM) an der Gesamtzellularität abszeßnah und abszeßfern in der Peritonitis- und Kontrollgruppe. U-Test nach Mann und Whitney, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **.

- a – G_{abszeßnah} vs. G_{Kontrolle}
b – G_{abszeßfern} vs. G_{Kontrolle}
c – GM_{abszeßnah} vs. GM_{Kontrolle}
d – GM_{abszeßfern} vs. GM_{Kontrolle}

	Granulozyten	Gewebsmastzellen	p-Wert
Tag 3	99/32/8	1/68/92	—/**/—/**
Tag 7	98/62/2	2/38/98	**/**/**/**
Tag 14	99/32/6	1/68/94	*/**/**/**
	(abszeßnah/abszeßfern/Kontrolle)		(a/b/c/d)

Tab 2) Anteil der Granulozyten (G) und Gewebasmastzellen (GM) an den NASDCE positiven Zellen abszeßnah und abszeßfern in der Peritonitis- und Kontrollgruppe. U-Test nach Mann und Whitney, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **.

- a – G_{abszeßnah} vs. G_{Kontrolle}
b – G_{abszeßfern} vs. G_{Kontrolle}
c – GM_{abszeßnah} vs. GM_{Kontrolle}
d – GM_{abszeßfern} vs. GM_{Kontrolle}

dieses erweiterten Behandlungsregimes liegt in der lokalen Kontrolle angelegter Anastomosen und des Infektionsherdes [4]. Durch die wiederholten offenen Spülungen ist eine zuverlässige Reinigung des Abdomens und eine dauerhafte Ausschaltung des intraabdominellen Sepsisherdes zu erwarten.

Den richtigen Zeitpunkt für den Bauchdeckenverschluß nach einer solchen Behandlung zu wählen, ist seit langem ein Problem. Objektive Kriterien existieren dafür nicht. Die Entscheidung wird meist subjektiv gefaßt und durch die Erfahrung des Operateurs begründet. Die Abdominalhöhle soll „sauber“ sein [1, 4, 9, 11]. Ein zu früher Verschluß des Abdomens und eine daraus resultierende Relaparotomie erhöht die Letalität eklatant [1]. Deshalb sollten zusätzlich der Rückgang der allgemeinen Infektionszeichen und die Besserung der Allgemeinsituation (Vitalfunktionen) gegeben sein, bevor das Abdomen verschlossen wird [3]. Andererseits sollte die Bauchhöhle nicht zu lange offen behandelt werden, da der Wechsel des Keimspektrums hin zu

Hospitalkeimen und eine Retraktion der Faszie droht. Die programmierte Etappenlavage belastet nicht nur den individuellen Patienten, sondern auch das behandelnde Personal und das Krankenhausbudget erheblich. Deshalb müssen neue Parameter entwickelt werden, die den rechtzeitigen Bauchdeckenverschluß objektiv anzeigen, damit nicht unnötig lange [2] oder aber zu kurz etappenlavagiert wird.

Ein histologisches Monitoring wird seit langem bei der Peritonitis gefordert [6]. Hierdurch können nicht nur wichtige Informationen für die Begleittherapie, wie z. B. gegen einen Pilzbefall, eingeholt werden, sondern die peritoneale Entzündung kann auch auf mikroskopischer Ebene beurteilt werden. Frühere Untersuchungen lassen jedoch auch nur qualitative oder semiquantitative Beurteilungen zu [6]. So verfolgten wir mit der vorliegenden Untersuchung das Ziel, objektive und quantitative Parameter für die morphologische entzündliche Aktivität des Peritoneums aufzustellen.

Die Experimente erfolgten an einem gut etablierten Tiermodell [10, 12, 13], bei dem nach Laparotomie und Inokulation von *Bacteroides fragilis* bei Ratten eine chronisch abszedierende Peritonitis induziert wird. Es erfolgt keine Herdsanierung, sondern die Peritonitis

wird durch eine zunehmende Abkapselung der infektiösen Herde gegen Ende der Beobachtungszeit überwunden. Die histologischen Untersuchungen fußten auf einer Standard HE-Färbung zum qualitativen Nachweis von Abszessen. Die eigentliche quantitative Charakterisierung erfolgte anhand der Naphthol-AS-D-Chloracetat-Esterase (NASDCE) Färbung. Die Technik ist ebenfalls seit langem etabliert und markiert Granulozyten (G) und Gewebasmastzellen (GM) [7, 14].

Gegenüber einer Kontrollgruppe wurde in der Verum Gruppe eine chronisch abszedierende Peritonitis induziert, deren Verlauf durch ein histologisches und mikrobiologisches Monitoring exakt dokumentiert wurde. Die quantitative histologische Auswertung ergab, daß bereits die Gesamtzellularität im Bereich des Peritoneums einen Parameter darstellt, mit dem die entzündliche Aktivität exakt charakterisiert werden kann. An den Tagen 3 und 7 lagen die Werte der Peritonitisgruppe signifikant über der Kontrollgruppe. Am

Tag 14, als die Tiere mit der zunehmenden Kompartimentierung der Abszesse die Peritonitis überwunden hatten, glichen sich die Werte abszeßfern wieder an. Dieser Zeitpunkt wird nach einer chirurgischen Herdsanierung sicher früher erreicht und muß für den Bauchdeckenverschluß genutzt werden.

Auch anhand des ermittelten Anteils der NASDCE positiven Zellen unterschieden sich die beiden Gruppen bereits ab dem dritten Tag signifikant. Ebenfalls signifikant waren die Unterschiede zwischen den abszeßfernen und abszeßnahen Regionen. Unter der Annahme, daß das abszeßferne Kompartiment im Modell einem sanierten Abdomen nach chirurgischer Herdsanierung entspricht, könnte die Hypothese aufgestellt werden, daß die Rate an NASDCE positiven Zellen wie im abszeßfernen Gebiet für den Bauchdeckenverschluß unter 4 % liegen sollte. Bei einer Infiltration von über 10 % ist wie in den experimentellen abszeßnahen Bereichen von einer ungenügenden Focussanierung des sekundären Infektionsherdes, nämlich des Peritoneums, auszugehen.

Interessant sind aber vor allem die Anteile der G und GM an den NASDCE positiven Zellen. Es zeigten sich nicht nur wiederum signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und Peritonitisgruppe. Am Tag 3 simuliert das Verhältnis der G/GM (32/68 % der NASDCE positiven Zellen) im abszeßfernen Gebiet eine mäßige entzündliche Aktivität. Am Tag 7 fällt jedoch am Höhepunkt der im Modell erzeugten Peritonitis eine Umkehr dieses Verhältnisses auf, das sich erst zum Ende der Beobachtung wieder den normalen Verhältnissen der Kontrollgruppe annähert. Im abszeßnahen Gebiet wird die eindeutig pathologische Situation durch ein Verhältnis G/GM = 98/2 % deutlich. Als Voraussetzung für den Bauchdeckenverschluß muß vielmehr das umgekehrte Verhältnis angestrebt werden, wie es von der Kontrollgruppe repräsentiert wird (G/GM = <10/>90 %).

Um verlässliche Empfehlungen geben zu können, müssen die Untersuchungen zunächst in der klinischen Situation durchgeführt werden. Bei einem ohnehin notwendigen histologischen Monitoring stellt dies keine zusätzliche Belastung für den Patienten dar. Die Methode kann einfach und schnell durchgeführt werden. Technisch ist die Färbung auch am Gefrierschnitt möglich. Das Verfahren erfordert eine enge Zusammenarbeit zwischen Chirurgen und Pathologen, die im Sinne der Patientenversorgung jedoch sowieso unabdingbar ist.

Literatur

1. Demmel N, Osterholzer G, Günther B (1993) Differenzierte Behandlungsstrategie der Peritonitis: Einzeitig geschlossen mit Drainage oder offen mit programmierter Reintervention/Lavage? *Zentralbl Chir* 118: 395-400.
2. Farthmann EH, Schöffel U (1990) Principles and limitations of operative management of intraabdominal infections. *World J Surg* 14:210-217.
3. Hoffmann R, Kessler W, Amgwerd R (1985) Das „offengelassene Abdomen“. Indikationen und Erfahrungen. *Helv chir Acta* 52:137-142.
4. Kern E, Klaue P, Arbogast R (1983) Programmierte Peritoneal-Lavage bei diffuser Peritonitis. *Chirurg* 54:306-310.
5. Kirschner M. (1926) Die Behandlung der akuten eitrigen freien Bauchfellentzündung. *Arch Klin Chir* 142:253-311.
6. Kujath P, Arbogast R, Kern E, Dämmrich J (1985) Histologische Untersuchungen während des Verlaufs der programmierten Peritoneal Lavage. *Chirurg* 56:170-172.
7. Leder L-D (1964) Über die selektive fermentcytochemische Darstellung von neutrophilen myeloischen Zellen und Gewebsmastzellen im Paraffinschnitt. *Klin Wochenschr* 42:553-558.
8. Maddaus MA, Ahrenholz D, Simmons RL (1988) The biology of peritonitis and implications for treatment. *Surg Clin North America* 68:431-443.
9. Teichmann W, Herbig B, Rosenbach B (1992) Stellenwert der geschlossenen, offenen und halboffenen chirurgischen Verfahren bei der Peritonitis. *Akt Chir* 27:300-303.
10. Volk HW, Schneider J, Dämmrich J, Döhl W, Hörl M, Bruch H-P (1990) Animal model for chronic abscess-forming peritonitis – histology and microbiology. *Eur Surg Res* 22: 347-355.
11. Wittmann DH, Aprahamian CA, Bergstein JM (1990) Etappenlavage: Advanced diffuse peritonitis managed by planned multiple laparotomies utilizing zippers, slide fastener, and Velcro® analogue for temporary abdominal closure. *World J Surg* 14:218-226.
12. Woltmann A, Lebeau A, Schult M, Kattenbeck K, Gatermann S, Broll R, Bruch H-P (1995) Effect of Clindamycin in a new standardized animal model for chronic abscess forming peritonitis. In: Engemann R, Holzheimer R, Thiede A (Hrsg) *Immunology and its impact on infections in surgery*. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 229-233.
13. Woltmann A, Schult M, Kattenbeck K, Broll R, Gatermann S, Lebeau A, Bruch H-P (1996) Die einmalige Spülbehandlung im standardisierten Tiermodell zur chronischen abszedierenden Peritonitis. *Chir Gastroenterol* 12: 253-256.
14. Yam LT, Li CY, Crosby WH (1971) Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Amer J Clin Path* 1971;55:283-290.

FOCUS MUL



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

Inhalt

14. Jahrgang (1997)

Originalarbeiten

Die extravesikale Ureterostomiektomie H. Halsband, F. G. Schnekenburger	6
Labormarker des chronischen Alkoholabusus – Bestimmung des Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) F. Renner, R.-D. Kanitz	12
Cyclophosphamid: eine xenobiotische Noxe für die Oocytendifferenzierung H. Ocker, R. Johannisson	19
Die Rekonstruktion von mandibulofazialen Knochen- und Weichteildefekten durch Gewebettransfer aus dem Unterschenkel P. Sieg, A. Hasse	28
Die in vivo ³¹ P Magnet Resonanz Spektroskopie zur nicht invasiven Untersuchung des Energie-Metabolismus der Muskulatur U. H. Melchert, C. Melchert, G. Brinkmann	37
Schlafstörungen im Alter und Vasopressin B. Perras, J. Born, H. L. Fehm	44
Eine klinische und experimentelle Studie zur nasalen Besiedlung mit <i>Staphylococcus aureus</i> und ihrer Bedeutung für Exit-site Infektionen bei kontinuierlicher ambulanter Peritonealdialyse B. Kreft, S. Ilic, A. Leeker, U. Frei, M. Trautmann, K. Sack	82
Untersuchungen zur Erarbeitung eines rationalen Behandlungskonzepts des Alkoholentzugssyndroms T. Wetterling	88
Experimentelle Untersuchungen zur diagnostischen Feinnadelpunktion J.-A. Löffler, S. Krüger, R. Siegert	94
Repräsentation von sensomotorischer Informationsverarbeitung im vorderen Kleinhirn: Eine Studie mit funktioneller Magnetresonanztomographie M. F. Nitschke, U. H. Melchert, C. Hahn, H. Handels, K. Wessel, D. Kömpf	148
Identifizierung differentiell-exprimierter Gene in der großzellig anaplastischen Zell-Linie (ALCL) L82 I. Bettinger, H. Merz, A. C. Feller	206
Wechselwirkungen zwischen dem Tumorsuppressor p53 und dem Rekombinationsprotein Rad51 S. Buchhop, St. Miska, B. Nebe, H. Pommerenke, J. Rychly, H.-W. Stürzbecher	214
Ein experimentelles System für Hirntumor-Zellinvasion <i>in vitro</i> A. J. A. Terzis, H. Arnold	224
Inhibitorische Effekte des Gonadotropin-releasing Hormon-Agonisten Triptorelin auf Epidermal growth factor (EGF)-Wirkungen in humanen Ovarial- und Endometriumkarzinomzelllinien O. Ortmann, V. Müller, G. Grossmann, K. Trautner, B. V. Stuckrad, K.-D. Schulz, K. Diedrich, A. V. Schally, G. Emons	231
Erhöhte lösliche Interleukin-2-Rezeptor-Serumspiegel korrelieren zu Stadium und Aktivität der Langerhanszell-Histiozytose im Kindesalter C. Schultz, M. Klouche, B. Kroehnert, N. Richter, P. Bucky	238
FIRE AND ICE – Ganzkörperhyperthermie kombiniert mit Ifosfamid, Carboplatin und Etoposid (ICE) bei Patienten mit Kopf und Halsmalignomen K. Sommer, D. M. Katschinski, M. Mentzel, R. Touhidi, St. Remmert, Th. Feyerabend, G. J. Wiedemann	244
Mögliche Rolle des Ifosfamid-Metaboliten Chloracetaldehyd in der Tumorthherapie – Ein neues zytostatisches Target unabhängig von Mitoseapparat der Zelle? J. Kisro, S. Brüggemann, T. Wagner	251

Die totale Mesorektumexzision: Standardverfahren zur chirurgischen Therapie des Rektumkarzinoms C. Boos, A. Weigel, O. Schwandner, H.-P. Bruch	256
Stellenwert der sekundären radikalen Prostatektomie in der Behandlung des lokal begrenzten Prostatakarzinoms C. Durek, T. Riepe, P. Fornara, A. Böhle, R. Eichenauer, D. Jocham	261
Realisierung der Ganzkörperbestrahlung in einer modifizierten Technik T. Feyerabend, E. Ihnen, J. Kohlrausch, B. Riis, C. Melchert, D. Hebbinghaus, K. Hakelberg, E. Richter	268
Übersichten	
Interaktive Teleradiologie auf ISDN – Das KAMEDIN-System E. Rinast, I. Grande-Nagel, H. Handels, H.-D. Weiss	100
Klinische Relevanz von Erythropoietin W. Jelkmann	161
Evidence Based Medicine: Anlässe, Methoden, Probleme H. Raspe	170
Der besondere Fall – eine Kasuistik	
Oligosymptomatischer Verlauf einer hereditären Koproporphyrurie mit symptomatischer Epilepsie und Psychose G. Seidel, H. Djonlagic, H. Menzel, H.L. Fehm, D. Kömpf	177
Plötzliches Kammerflimmern bei einem jungen Mann mit Kardiomyopathie- Lentiginosis/LEOPARD-Syndrom A. Woywodt, J. Welzel, A. Dürholz, H. Haase, U. Wiegand, J. Potratz, A. Sheikhzadeh	184
„I suffered too much“: Die Narkose von Thomas Mann im Jahre 1946 aus heutiger Sicht – Ein anästhesiegeschichtlicher Vergleich K.-F. Klotz	184
Das Kolleg	
Experimentelle Modelle zum Studium der Immunpathologie idiopathischer inflammatorischer Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa und Morbus Crohn) A. C. Feller, H. Merz	75
Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen – Erkenntnisse mit Hilfe der hochauflösenden NMR-Spektroskopie Th. Peters	154
Aktuelles	
Die Assoziation von <i>Chlamydia pneumoniae</i> -Infektion und Arteriosklerose M. Maaß	142
Aus der Hochschule	
Akademische Freiheit? R.-M. Schütz	50
Klinische Grundlagenforschung – Chance für die Zukunft E. Th. Rietschel	104
Die Genetisierung der westlichen Zivilisation: Segen oder Fluch? J. M. Opitz	111
Studium generale	
Die Mutter in Arbeitswelt und Gesellschaft R. Nave-Herz	116
FOCUS MUL 15, Heft 1 (1998)	III

Autorenverzeichnis

Arnold, H.	224	Menzel, H.	177
Bettinger, I.	206	Merz, H.	75, 206
Böhle, A.	261	Miska, St.	214
Boos, C.	256	Müller, V.	231
Born, J.	44	Nave-Herz, R.	116
Brinkmann, G.	37	Nebe, B.	214
Bruch, H.-P.	256	Nitschke, M.F.	148
Brüggemann, S.	251	Ocker, H.	19
Buchhop, S.	214	Opitz, J.M.	111
Bucsky, P.	238	Ortmann, O.	231
Diedrich, K.	231	Perras, B.	44
Djonlagic, H.	177	Peters, Th.	154
Durek, C.	261	Pommerenke, H.	214
Dürholz, A.	184	Potratz, J.	184
Eichenauer, R.	261	Raspe, H.	170
Emons, G.	231	Remmert, St.	244
Fehm, H.L.	44, 177	Renner, F.	12
Feller, A.C.	75, 206	Richter, E.	268
Feyerabend, T.	244, 268	Richter, N.	238
Fornara, P.	261	Riepe, T.	261
Frei, U.	82	Rietschel, E.Th.	104
Grande-Nagel, I.	100	Riis, B.	268
Grossmann, G.	231	Rinast, E.	100
Haase, H.	184	Rychly, J.	214
Hahn, C.	148	Sack, K.	82
Hakelberg, K.	268	Schally, A.V.	231
Halsband, H.	6	Schnekenburger, F.G.	6
Handels, H.	100, 148	Schultz, C.	238
Hasse, A.	28	Schulz, K.-D.	231
Hebbinghaus, D.	268	Schütz, R.-M.	50
Ihnen, E.	268	Schwandner, O.	256
Ilic, S.	82	Seidel, G.	177
Jelkmann, W.	161	Sheikhzadeh, A.	184
Jocham, D.	261	Sieg, P.	28
Johannisson, R.	19	Siegert, R.	94
Kanitz, R.-D.	12	Sommer, K.	244
Katschinski, D.M.	244	Stuckrad, B.V.	231
Kisro, J.	251	Stürzbecher, H.-W.	214
Klotz, K.-F.	1	Terzis, A.J.A.	224
Klouche, M.	238	Touhidi, R.	244
Kohlrausch, J.	268	Trautmann, M.	82
Kömpf, D.	148, 177	Trautner, K.	231
Kreft, B.	82	Wagner, T.	251
Kroehnert, B.	238	Weigel, A.	256
Krüger, S.	94	Weiss, H.-D.	100
Leeker, A.	82	Welzel, J.	184
Löffler, J.-A.	94	Wessel, K.	148
Maaß, M.	142	Wetterling, T.	88
Melchert, C.	37, 268	Wiedemann, G.J.	244
Melchert, U.H.	37, 148	Wiegand, U.	184
Mentzel, M.	244	Woywodt, A.	184

Aus der Klinik für Neurologie (Direktor Prof. Dr. D. Kömpf) der Medizinischen Universität zu Lübeck

Catechol-*O*-Methyltransferase-Hemmer: Eine neue Strategie zur Behandlung des M. Parkinson

C. Neusch, A. Moser

Der Morbus Parkinson (idiopathisches Parkinson-Syndrom, IPS) zählt mit einer Prävalenz von 100-200 auf 100.000 Einwohner zu einer der häufigsten neurologischen Erkrankungen. Es handelt sich um eine chronisch-progrediente degenerative Erkrankung vorwiegend des höheren Alters (1% der Bevölkerung > 65 Jahre). Als pathophysiologisches Korrelat findet sich ein fortschreitender Ausfall melaninhaltiger Neurone in der Pars compacta der Substantia nigra sowie weiterer pigmentierter Areale (Locus coeruleus, dorsaler Vagus-kern). Durch die Projektion dieser Neurone in das Striatum (nigro-striatales System) kommt es zur funktionell bedeutsamen Erniedrigung des Dopamingehaltes im Bereich der terminalen Nervenendigung.

Der striatale Dopaminmangel wurde als grundlegende Störung beim M. Parkinson erkannt (1). Bei Verlust von etwa 90% der dopaminergen Neurone im Bereich der Substantia nigra mit entsprechendem Dopamin-Defizit im Striatum, kommt es zur Entwicklung der klinischen Kardinalsymptome (Rigor, Tremor, Hypokinese).

Die Ursache dieses degenerativen Prozesses ist weiterhin unklar, so daß eine kausale Therapiemöglichkeit nicht existiert. Das Behandlungsprinzip der symptomatischen Therapie beruht im wesentlichen auf zwei Ansätzen: Der Substitutionstherapie mit L-Dopa-Präparaten sowie dem Einsatz von spezifischen Dopaminagonisten mit Wirkung vorwiegend auf postsynaptische Dopaminrezeptoren (D_1 oder D_2 -Rezeptoren). L-Dopa wird, im Gegensatz zu Dopamin, über einen aktiven Transportmechanismus in das ZNS aufgenommen und dort zu Dopamin verstoffwechselt. Um einen Abbau des L-Dopa bereits in der Peripherie zu vermeiden und damit die Bioverfügbarkeit zu erhöhen, wird es üblicherweise in Kombination mit einem nur peripher-wirksamen Dopa-Decarboxylase-Hemmer (Benserazid oder Carbidopa) verabreicht.

Neben der Substitutionstherapie mit L-Dopa können Dopaminagonisten (Bromocriptin, Pergolid, α -Dihydroergocriptin) eingesetzt werden.

Weder L-Dopa noch Dopaminagonisten verhindern allerdings das Fortschreiten der Nigradegeneration.

L-Dopa besitzt möglicherweise sogar eine neurotoxische Wirkung auf das nigro-striatale System. Bereits nach 3-5 jährigem Verlauf kommt es zu einem deutlichen Wirkungsverlust der medikamentösen Therapie. Später entwickeln sich bei bis zu 50% der Patienten gefürchtete Spätkomplikationen, insbesondere in Form von tageszeitlichen Wirkungsschwankungen. Hierbei unterscheidet man Wirkungsschwankungen, die in Zusammenhang mit der Medikamenteneinnahme stehen („Wearing off“, „End of dose“-Akinesien, „Peak dose-Hyperkinesien“), von plötzlich auftretenden Schwankungen ohne erkennbaren Zusammenhang mit der Medikamenteneinnahme („Freezing“, „On-Off-Phänomene“).

Vorrangiges Ziel bei der medikamentösen Parkinson-Therapie ist es daher, das Auftreten der Spätkomplikationen möglichst lange hinauszuzögern. Von wesentlicher Bedeutung ist hierbei eine möglichst sparsame Dosierung von L-Dopa zu Beginn der Erkrankung sowie die Erzeugung eines gleichmäßigen L-Dopa-Plasmaspiegels. Ein Schwerpunkt der Forschungsanstrengungen der letzten Jahre lag deshalb auf der Entwicklung von klinisch einsetzbaren Catechol-*O*-Methyltransferase-Hemmern (COMT-Hemmer) mit dem Ziel, eine L-Dopa Dosisreduktion und eine Erhöhung der Bioverfügbarkeit von L-Dopa zu erreichen.

Biochemische Grundlagen der COMT-Therapie

L-Dopa wird in der Peripherie wie auch im ZNS durch zwei unterschiedliche Enzyme verstoffwechselt. Durch die Dopa-Decarboxylase (DDC) erfolgt die Abspaltung der Carboxylgruppe von L-Dopa und es entsteht Dopamin. Die Catechol-*O*-Methyltransferase (COMT) hingegen katalysiert die *O*-Methylierung von L-Dopa mit der Bildung von 3-*O*-Methyldopa (3-OMD). Bei oraler Gabe wird L-Dopa bereits in der Peripherie zu 70% durch die DDC zu Dopamin verstoffwechselt, während etwa 10 % durch die COMT zu 3-OMD *O*-methyliert wird. Weniger als 1% der verabreichten L-Dopa-Dosis erreicht letztendlich das ZNS. Seit langem hat sich deshalb in der Therapie des Mor-

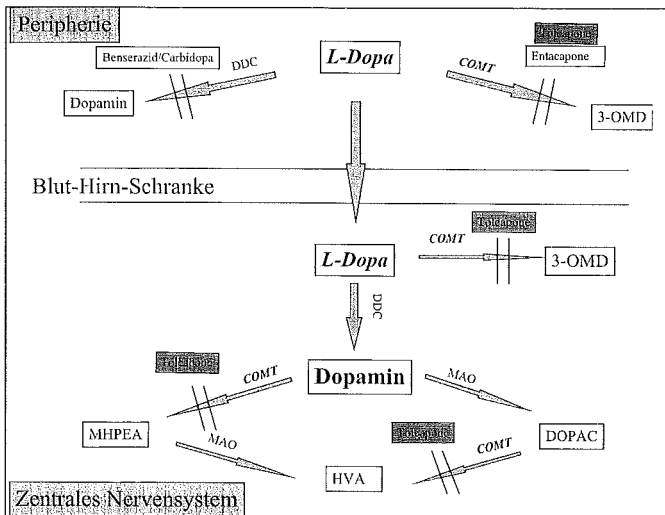


Abb.: 1: L-Dopa wird in der Peripherie sowie im ZNS durch die Dopa-Decarboxylase (DDC) und die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) zu Dopamin, respektive 3-O-Methyldopa (3-OMD) verstoffwechselt. Im ZNS entsteht als Stoffwechselprodukt durch die COMT zusätzlich 3-Methoxy-4-Hydroxy-Phenylethylamine (MHPEA).

Der Einsatz von einem COMT-Hemmer (Entacapone, Tolcapone) reduziert den Abbau von L-Dopa in der Peripherie und verhindert die Anreicherung von 3-OMD. Tolcapone kann zusätzlich die Blut-Hirn-Schranke passieren und die Verstoffwechselung von L-Dopa im ZNS hemmen.

bus Parkinson die Kombination von L-Dopa mit einem Dopa-Decarboxylase-Hemmer (Carbidopa, Benserazid) bewährt. Hierdurch wird in der Peripherie eine höhere Plasmakonzentration sowie eine höhere Bioverfügbarkeit von L-Dopa erzielt, so daß höhere L-Dopa Konzentrationen im ZNS erreicht werden.

Durch das vermehrte Angebot an L-Dopa im Plasma erhöht sich jedoch auch das Substratangebot für die COMT, was wiederum zu einem erhöhten Abbau von L-Dopa mit Anreicherung des Stoffwechselmetaboliten 3-OMD führt. 3-OMD akkumuliert nun aufgrund seiner deutlich längeren Halbwertszeit gegenüber L-Dopa (15 Stunden vs 1 Stunde) im Plasma. Dies führt zu einer Verdrängung von L-Dopa am gemeinsamen Transportmechanismus durch die Blut-Hirn-Schranke. Infolgedessen erreicht auch nach einer Kombinationstherapie mit L-Dopa/Dopa-Decarboxylase-Hemmer nur ein relativ kleiner Teil, nämlich nur 5-10% der oral verabreichten Dosis, seinen Wirkort im Gehirn.

Durch die Entwicklung von klinisch einsetzbaren COMT-Hemmern bietet sich nun die Möglichkeit, den alternativen Abbauweg von L-Dopa über die COMT und somit auch die Anreicherung von 3-OMD zu ver-

ringern. Dies soll zu einer weiteren Erhöhung der Bioverfügbarkeit sowie zu einer gleichmäßigeren Konzentration von L-Dopa sowohl im Plasma als auch im ZNS führen. Durch zentral wirksame COMT-Inhibitoren kann zusätzlich die Verstoffwechselung von L-Dopa zu 3-OMD sowie der Abbau von Dopamin zu Homovanillinsäure (HVA) direkt im ZNS gehemmt werden (2).

Catechol-O-methyltransferase (COMT)

Die COMT ist ein Enzym, das in Säugtieren in unterschiedlichen Organen sowohl in der Peripherie als auch im ZNS nachgewiesen werden kann. Im ZNS kommt die COMT dabei vorwiegend in glialen Zellen vor (3). Die COMT ist ein hauptsächlich intrazellulär gelegenes Enzym, das in zwei unterschiedlichen Isoformen vorkommt. Die lösliche Form des Enzyms (S-COMT, soluble COMT) stellt den überwiegenden Anteil des COMT-Gesamtgehaltes dar, während die MB-COMT (membrane-bound COMT) einen wesentlich geringeren Anteil aufweist (2,3). Die Bedeutung dieses Enzyms liegt im Abbau von biologisch aktiven oder toxischen Substanzen. Physiologische Substrate der COMT stellen L-Dopa, Catecholamine

(Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin) sowie deren hydroxylierte Metaboliten dar. Desweiteren werden auch verschiedene Pharmaka, wie z. B. Isoprenalin oder α -Methyldopa, über das Enzym verstoffwechselt.

Die COMT katalysiert den Transfer der Methylgruppe des aktivierten Kofaktors S-Adenosyl-L- Methionin auf eine der Hydroxylgruppen der Katecholsubstrate, bei 3,4-Dihydroxyphenyl-L-alanin (L-Dopa) auf die 3-Hydroxylgruppe. Es entsteht hierbei das Stoffwechselprodukt 3-O-Methyldopa (3-OMD).

COMT-Inhibitoren

Die ersten COMT-Hemmer (z. B. Ascorbinsäure, Tropolone, Gallensäuren) konnten aufgrund ihrer geringen Spezifität und Wirksamkeit sowie wegen ihrer toxischen Nebenwirkungen nicht in klinischen Studien eingesetzt werden. Erst die Entwicklung spezifisch wirksamer und gut verträglicher Präparate der zweiten Generation führten zu einer intensiven Anwendung und Testung in klinischen Studien.

Die COMT-Hemmer der zweiten Generation lassen sich in peripher und zentral wirksame Substanzen ein-

teilen. Entacapone stellt einen peripher-wirksamen COMT-Hemmer dar, während Tolcapone sowohl in der Peripherie als auch im ZNS wirksam ist. Beide Substanzen sind oral wirksam, gut verträglich und führen zu einer selektiven Hemmung der COMT.

Sowohl Tolcapone als auch Entacapone reduzieren dosisabhängig die S-COMT-Aktivität, so z. B. in menschlichen Erythrocyten. Der Wirkungseintritt bei der Substanzen ist sehr schnell, die maximale Hemmung wird bereits nach einer Stunde erzielt. 100 mg Tolcapone hemmen bereits 60 % des Enzyms, während mit 800 mg 90% inhibiert werden (4,5,6). Unter Entacapone wurden bei gleicher Dosierung 55% bzw. 82% des Enzyms gehemmt (7). Ein vollständiger Hemmverlust wird nach 12-15 Stunden beobachtet.

In einer doppelblinden, plazebo-kontrollierten Studie mit 42 männlichen Normalpersonen (8) wurde der Effekt von Tolcapone (100-800 mg/die) in Kombination mit L-Dopa/Benserazid auf die Plasmakonzentrationen von L-Dopa, 3-OMD sowie die COMT-Aktivität in Erythrocyten untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß Tolcapone rasch zu einer konzentrationsabhängigen Verminderung der COMT-Aktivität in Erythrocyten führt. Die Bildung von 3-OMD wurde dosisabhängig verringert, die Bioverfügbarkeit von L-Dopa, ausgedrückt als Fläche unter der Konzentration-Zeit-Kurve (Area under the curve, AUC) erhöht und die Halbwertszeit von L-Dopa verlängert, ohne die maximale L-Dopa Konzentration im Plasma zu erhöhen.

Zu ähnlichen Resultaten kamen Studien an Normalpersonen, die den peripher-wirksamen COMT-Hemmer Entacapone einsetzten (9).

Klinische Studien

In multizentrischen, doppelblinden, placebokontrollierten Studien wurde die Wirkung von Tolcapone auf medikamentenabhängige Spätkomplikationen untersucht (10,11).

Die zusätzliche Einnahme von Tolcapone (600 mg/die) bewirkte eine Reduktion der „Off“-Zeiten (=Zeiten schlechter Beweglichkeit) und eine Verlängerung der „On“-Zeiten (=Zeiten guter Beweglichkeit). Darüber hinaus kam es zu einer signifikanten L-Dopa-Einsparung. Zusätzlich wurde eine Verbesserung der motorischen Beweglichkeit, gemessen an der „United Parkinson's Disease Rating Scale“ (UPDRS) sowie in der Lebensqualität (gemessen am „sickness impact factor“, SIP) beschrieben.

In einer ersten Studie an Patienten schon im Frühstadium der Erkrankung (12), die noch nicht an motorischen Fluktuationen litten, wurde ebenfalls eine signifikante Verbesserung auf der UPDRS-Skala beobachtet. In der Verumgruppe konnte zudem eine Verzögerung erstmaliger Fluktuationen beobachtet werden.

Indikation

Der einzige derzeit in Deutschland zugelassene COMT-Hemmer Tolcapone (Tasmar®) wird als Kombinationstherapie zusammen mit L-Dopa/Benserazid oder L-Dopa/Carbidopa verabreicht. Tolcapone sollte bei Patienten eingesetzt werden, bei denen es unter einer L-Dopa Therapie zu Wirkungsfluktuation bzw. Spätkomplikationen gekommen ist. Der Einsatz im Frühstadium der Erkrankung unter dem Aspekt der Reduktion von Spätkomplikationen scheint nach den wenigen vorliegenden Studien derzeit noch nicht gerechtfertigt. Die Hemmung der COMT führt relativ rasch zu einer höheren Bioverfügbarkeit und Halbwertszeit von L-Dopa, so daß es zu Beginn der Behandlung zu Dyskinesien kommen kann. Deshalb wird empfohlen, die Therapie mit einer niedrigen Dosierung (dreimal 100 mg täglich) zu beginnen. Sollten hierunter Dyskinesien auftreten, wird die L-Dopa Dosierung entsprechend reduziert.

Tolcapone sollte nicht in Kombination mit unselektiven MAO-Hemmern oder in einer Kombination aus MAO-A und MAO-B-Hemmern verabreicht werden. Die gleichzeitige Hemmung beider Abbauewege von Katecholaminen kann zu ausgeprägten Nebenwirkungen, insbesondere zu kardiovaskulären Störungen, führen. Eine gleichzeitige Verabreichung entweder mit MAO-A oder MAO-B-Hemmern (z. B. Selegilin) in üblicher Dosierung kann zwar prinzipiell erfolgen, sollte aber wenn möglich vermieden werden.

Nebenwirkungen

Im Nebenwirkungsprofil kann zwischen dopaminergen und nicht-dopaminergen Nebenwirkungen unterschieden werden (Tabelle 2).

Tolcapone hat sich in größeren Studien als allgemein gut verträglich herausgestellt. Studienabbrüche aufgrund von Nebenwirkungen wurden nur in Einzelfällen berichtet.

Diskussion

Klinische Studien konnten einen signifikanten Therapieeffekt sowohl für den peripher-wirksamen COMT-Hemmer Entacapone, als auch für den peripher und zentral-wirksamen Hemmer Tolcapone nachweisen. Dabei zeigte sich in mehreren multizentrischen, doppelblind durchgeführten Studien an Parkinson-Patienten mit motorischen Fluktuationen, daß unter einer zusätzlichen Behandlung mit Tolcapone eine Verkürzung der sogenannten Off-Zeiten um teilweise bis zu 50% erzielt werden kann. Dieser Effekt wird im wesentlichen der erhöhten Bioverfügbarkeit und dem gleichmäßigeren Plasmaspiegel von L-Dopa unter einer zusätzlichen COMT-Hemmung zugeschrieben. Durch die Aufrechterhaltung eines gleichmäßigen Plasma

Dopaminerge Nebenwirkungen	Nicht-dopaminerge Nebenwirkungen
Dyskinesien	Dyspepsie
Orthostatische Hypotension	Abdominalkrämpfe
Müdigkeit	Diarrhöen
Halluzinationen	Harnverfärbungen
Übelkeit	Kopfschmerzen
Erbrechen	Schweißausbrüche
Schlafstörungen	
Anorexie	

Tabelle 1: Nebenwirkungen

spiegels von L-Dopa kann bei Patienten mit Wirkungsfluktuationen möglicherweise eine Unterschreitung der L-Dopa Schwellenkonzentration vermieden werden. Dies könnte die Wirkung auf medikamenten-abhängige Fluktuationen erklären. Parkinson-Symptome, die typischerweise nur gering auf eine L-Dopa Therapie ansprechen, lassen sich dagegen durch den Einsatz von COMT-Inhibitoren nicht verbessern.

Tolcapone hat sich als wirksamer erwiesen als Entacapone. Dies hängt möglicherweise mit der größeren Hemmpotenz und der geringeren Clearance dieser Substanz zusammen. Ob die experimentell nachgewiesene zentrale Hemmwirkung von Tolcapone darüberhinaus eine klinische Bedeutung hat, läßt sich derzeit noch nicht eindeutig belegen. Im Vergleich zur Kombinationstherapie von L-Dopa/Decarboxylase-Hemmer mit einem Dopamin-Agonisten haben die COMT-Inhibitoren den Vorteil, daß die Wirksamkeit schon zu Beginn der Behandlung einsetzt. Die bei Dopamin-agonisten notwendige Einschleichphase entfällt. Es muß zur Zeit offen bleiben, ob Tolcapone für Patienten ohne Fluktuationen eine sinnvolle Behandlungsstrategie darstellt. Eine Indikation für Tolcapone im Frühstadium der Erkrankung ließ sich nicht ableiten. Langzeitstudien sind notwendig um zu zeigen, ob ein frühzeitiger Einsatz von Tolcapone das Risiko von Spätkomplikationen verringert.

Zusammenfassend ist die COMT-Hemmung ein neues Therapie-Prinzip in den Spätphasen der Parkinson-Erkrankung. Das Dopamin-Spättsyndrom (s. o.), das sich nach einer therapeutisch erfolgreichen ersten Behandlungsphase von 4-8 Jahren („Honeymoon-Periode“) entwickelt, stellt heute das Problem der Parkinson-Therapie dar. Nach den bisherigen Erfahrungen scheint das neue Behandlungsprinzip der COMT-Hemmung eine wesentliche Verbesserung in der therapeutischen Beeinflussung der für den Patienten quälenden motorischen On-Off-Fluktuationen darzustellen. Ob darüberhinaus COMT-Hemmer auch eine neuroprotektive Wirkung aufweisen und das Auftreten von Spätkomplikationen verzögern, ist zur Zeit noch offen.

Literatur

1. Ehringer H. and Hornykiewicz. O Verteilung von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) im Gehirn des Menschen und ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen Systems. *Klin. Wschr.* 1961; 1236-1239.
2. Roth JA. Membrane-bound catechol-O-methyl transferase: a reevaluation of its role in the O-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmac.* 1992; 120: 1-29.
3. Guldberg HC. and Marsden CA. Catechol-O-methyl transferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmac. Rev.* 1975; 27: 135-206.
4. Zürcher G., Colzi A., and Da Prada M. Ro 40-7592: inhibition of COMT in rat brain and extracerebral tissues. *J. Neural. Transm.* 1990; Suppl. 32: 375-380.
5. Zürcher G., Dingemans J., and Da Prada M. Potent COMT inhibition by Ro 40-7592: in the periphery and in the brain. Preclinical and clinical findings. In *New Developments in Therapy of Parkinson's Disease*. 1991; pp. 37-43.
6. Borgulya J., Da Prada M., Dingemans J., Scherschlicht R., Schläppli B., and Zürcher G. Ro 40-7592. Catechol-O-methyl transferase (COMT) inhibitor. *Drugs future* 1991; 16: 719- 721.
7. Keränen T., Gordin A., Karlsson M., Korpela K., Pentikäinen PJ., Rita H., Schultz E., Seppälä L., and Wikberg T. Inhibition of soluble catechol-O-methyl transferase and single dose pharmacokinetics after oral and intravenous administration of entacapone. *Eur. J. clin. Pharmac.* 1994; 46: 151-157.
8. Dingemans J., Jorga K., Zürcher G., Schmitt M., Sedek G., Da Prada M., and Van Brummelen P. Pharmacokinetic- pharmacodynamic interaction between the COMT inhibitor tolcapone and single-dose levodopa. *Br. J. Clin. Pharmac.* 1995; 40: 252- 262.
9. Zürcher G., Dingemans J., and Da Prada M. Potent COMT inhibition by Ro 40-7592 in the periphery and in the brain. Preclinical and clinical findings. *Adv. Neurol.* 1993; 60: 641- 647.
10. Baas H., Beiske AG., Ghika J., Jackson M., Oertel WH., Poewe W., Ransmayr G.: Catechol-O-methyltransferase inhibition with tolcapone reduces the „wearing off“ phenomenon and levodopa requirement in fluctuating parkinsonian patients. *Neur. Neurosurg. and Psych.* 1997; 63: 421-428.
11. Kurth MC., Adler CH., Hilaire M., Singer C., Waters C., LeWitt P., Chernik DA., Dorfinger EE., Yoo K., and the Tolcapone Fluctuator Study Group I. Tolcapone improves motor function and reduces levodopa requirement in patients with Parkinson's disease experiencing motor fluctuations. *Neurology* 1997; 48: 81-87
12. Le Witt P. Treatment strategies for extension of levodopa effect. *Neurol. Clin.* 1992; 10: 511-526.

Bradykinin-Metabolismus an Rindertrachealepithelien*

D. Vordermark

Zusammenfassung

Als Ursache des trockenen Reizhustens unter Therapie mit ACE-Hemmern wurde eine lokale Akkumulation des Nonapeptids Bradykinin (BK) vermutet. In der vorliegenden Studie wurde deshalb an verschiedenen Präparationen des Rindertrachealepithels (intaktes Epithel, Überstand des intakten Epithels, Epithelzellen in Suspension und Kultur) der Metabolismus von ^3H -BK untersucht. Intaktes Trachealepithel baute BK – durch Hemmung von ACE oder neutraler Endopeptidase (NEP) nicht beeinflussbar – zu den Fragmenten [1-7]-BK und [1-5]-BK ab und setzte Peptidasen hoher Aktivität in das Medium frei. An Trachealepithelzellen in Suspension konnte NEP, nicht aber ACE nachgewiesen werden. Primärkulturen dieser Zellen zeigten niedrige BK-Abbauraten ohne Hinweis auf Vorliegen von ACE. Insgesamt sprechen diese Ergebnisse gegen eine Bedeutung von ACE bei der BK-Inaktivierung am Rindertrachealepithel. Im Vordergrund steht neben NEP eine nicht eindeutig charakterisierte Metalloprotease.

Summary

An accumulation of the nonapeptide bradykinin (BK) has been linked to the dry cough associated with the use of ACE inhibitors. We, therefore, examined various preparations of bovine tracheal epithelium (intact epithelium, supernatant of intact epithelium, epithelial cells in suspension and culture) regarding metabolism of ^3H -BK. Intact tracheal epithelium degraded BK to form [1-7]-BK and [1-5]-BK without effect of inhibition of ACE or neutral endopeptidase (NEP). Peptidasases of high BK-degrading activity were released into the supernatant. NEP, but not ACE, was identified in suspensions of tracheal epithelial cells. BK metabolism was low in primary cultures of these cells without ACE being detected. These results do not support an important role of ACE in BK degradation in bovine tracheal epithelium. Rather, NEP and a metalloprotease not yet characterized are the most active enzymes.

Einleitung

Der Einsatz von Angiotensin-Converting-Enzym-(ACE-) Hemmstoffen zählt zu den etablierten Prinzipien in der Behandlung der arteriellen Hypertonie und der Herzinsuffizienz. Eine häufige, gruppenspezifische Nebenwirkung der ACE-Hemmer ist ein trockener Reizhusten, dessen Inzidenz mit 0,7 bis 14 % angegeben wird und der häufig zu aufwendiger Diagnostik oder zum Absetzen der Medikation führt. Da nicht nur Angiotensin I, sondern auch das Nonapeptid Bradykinin (BK) Substrat des ACE ist, wurde eine lokale Akkumulation von BK in trachealem oder bronchialem Gewebe als Auslöser des Reizhustens vermutet (1). Als mögliche Mechanismen wurden eine Aktivierung entzündungsfördernder Peptide (Substanz P, Neuropeptid Y), eine Histaminfreisetzung oder ein lokaler Effekt auf die Prostaglandinsynthese genannt.

BK zählt neben dem Dekapeptid Kallidin (Lys-BK) zu den wichtigsten physiologischen Hormonen des Kallikrein-Kinin-Systems. Aus α_2 -Globulinen, den in Hepatozyten synthetisierten Kininogenen, werden BK und Kallidin durch Plasma- bzw. Gewebeskallikrein abgespalten (2). Zu den biologischen Effekten der Kinine zählen arterielle Vasodilatation, Plasmaexsudation, Aktivierung sensorischer Nervenfasern (z. B. Schmerzfasern) und die Stimulation der Freisetzung von endogenen Faktoren wie Prostaglandin, Noradrenalin oder endothelabhängigem relaxierendem Faktor (EDRF). An den Atemwegen wurden Bronchokonstriktion, bronchiale Vasodilatation, Zunahme der Plasmaexsudation, Aktivierung sensorischer C-Faser-Nervenendigungen, Stimulation der Freisetzung von Bronchodilatoren aus Epithelzellen und Steigerung der Schleimsekretion beschrieben (3). Da fast alle Gewebe und Körperflüssigkeiten mit BK-abbauenden Peptidasen (sog. Kininasen) ausgestattet sind, ist die Wirkung des Peptids meist lokal begrenzt (4). So liegt die Halbwertszeit (HWZ) von Bradykinin im Plasma unter 30 Sekunden (5). Von den bekannten Kininasen (Abb. 1) scheinen an den Atemwegen ACE und neutrale Endopeptidase (NEP) im Vordergrund zu stehen. Beide membrangebundenen Enzyme können BK durch Abspaltung des carboxyterminalen Dipeptids Phe-Arg inaktivieren, von ACE ist ein weiterer Abbau des [1-7]-BK zu [1-5]-BK bekannt.

* Die Dissertation wurde erstellt bei Prof. Dr. med. P. Dominiak, Direktor des Instituts für Pharmakologie der MUL unter Betreuung von Dr. med. A. Dendorfer.

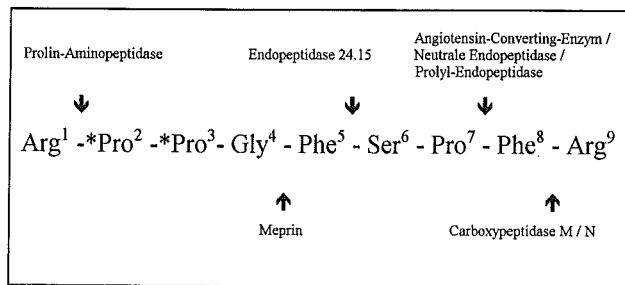


Abb. 1: Struktur des Bradykinin (BK) und Angriffsorte bekannter Kininasen. Von ACE ist neben der initialen Abspaltung des Fragments [1-7]-BK die konsekutive Produktion von [1-5]-BK bekannt. (*) bezeichnet die ³H-markierten Positionen des eingesetzten Peptids.

Funktionelle Untersuchungen am Trachealmuskel von Frettchen und Meerschweinchen in vitro ergaben eine dosisabhängige Verstärkung einer BK-induzierten Konstriktion durch spezifische Inhibition von ACE oder NEP (6, 7). An den Bronchien des Meerschweinchens in vivo konnte eine Steigerung der BK-abhängigen Plasmaexsudation durch ACE- bzw. NEP-Hemmung gezeigt werden, an der Trachea galt dies allerdings nur für NEP (8). ACE konnte biochemisch in einem Homogenat der Frettchentrachea – ohne nähere Lokalisationsangabe – nachgewiesen werden (6). Immunhistochemische Studien demonstrierten NEP auf dem Epithel, in submukösen Drüsen und im Bindegewebe der Lamina propria der Meerschweinchentrachea (9).

Direkte Messungen des BK-Abbaus an Epithelien der Atemwege liegen bisher nicht vor. In der vorliegenden Untersuchung wurde deshalb an verschiedenen Präparationen des Rindertrachealepithels unter spezifischer Enzymhemmung die Abbaurate für BK sowie das entstehende Metabolitenspektrum gemessen.

Methoden

Die Durchführung der Präparation, Inkubation und Peptidanalyse wurde an anderer Stelle ausführlich beschrieben (10, 11). Zur Untersuchung des intakten Trachealepithels wurden Gewebsstücke aus Tracheen frisch geschlachteter Rinder in eine Vorrichtung aus einer Zellkulturplatte mit aufgebohrten Böden und einer Plexiglasscheibe eingespannt, so daß jeweils 2 cm² große Inkubationsflächen des Trachealepithels abgegrenzt wurden. Über 180 min wurden diese Areale mit 0,43 nM ³H-BK inkubiert und Aliquots des Mediums zur Analyse entnommen. Solche Experimente wurden unter Kontrollbedingungen sowie unter Einsatz des ACE-Hemmstoffs Ramiprilat (0,25 µM) und des NEP-Inhibitors Phosphoramidon (10 µM) durchgeführt. Weitere Inhibitoren wurden in Einzelversuchen getestet.

Zur Untersuchung der vom Epithel in das Medium freigesetzten Kininasen wurde Trachealepithel mit Medium ohne ³H-BK inkubiert, Aliquots entnommen und diese erst in einer Zweitinkubation – in Abwesenheit von Gewebe – mit ³H-BK versetzt.

Trachealepithelzellen in Suspension wurden in Anlehnung an Groehlke et al. (12) aus frischen Tracheen isoliert und nach Zugabe von ³H-BK in einer Endkonzentration von 0,43 nM in Zellkulturplatten über 240 min inkubiert. Auch hier wurden Ramiprilat (0,25 µM) und Phosphoramidon (10 µM) eingesetzt.

In gleicher Weise gewonnene Zellen wurden in serumfreiem, supplementiertem Ham's F 12-Medium auf Kollagen-Typ-IV- beschichtete Zellkulturplatten ausgesät und drei Tage

nach Konfluenz in oben beschriebener Weise inkubiert. Neben Ramiprilat (0,25 µM) und Phosphoramidon (10 µM) wurde hier der Carboxypeptidaseninhibitor 2-Mercaptomethyl-3-Guanidi-noethyl-Thiopropansäure (MGTPA, 5 µM) getestet. Der epitheliale Charakter der kultivierten Zellen wurde mittels indirekter Immunfluoreszenz gegen Cytokeratin, ein epithelspezifisches Intermediärfilament des Cytoskeletts, gesichert (13). Die Analyse der Proben erfolgte per Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Zunächst wurden kommerziell erhältliche BK-Fragmente zur Erstellung eines Standardchromatogramms eingesetzt. Bei der Untersuchung der Inkubationsproben wurde zu den so für jedes Fragment bestimmten Retentionszeiten das Eluat gesammelt und die ³H-Aktivität im β-Counter gemessen. Diese Werte ermöglichten die Berechnung des prozentualen Anteils des jeweiligen Spaltprodukts an der eingesetzten Kinin-Gesamtmenge.

Zur Ermittlung der BK-Abbauaktivität in den einzelnen Präparationen wurden die BK-Konzentrationen für die einzelnen Versuche an eine monoexponentielle Gleichung angepaßt: $f(t) = A \cdot e^{-k_{BK} \cdot t}$. Dabei ist k_{BK} die Zeitkonstante des BK-Abbaus. Bei Inkubationen der Suspension gaben die Ergebnisse Anlaß zur Annahme einer biexponentiellen Abnahme von BK, so daß hier zwei Zeitkonstanten k_{BK1} und k_{BK2} ermittelt wurden: $f(t) = A_1 \cdot e^{-k_{BK1} \cdot t} + A_2 \cdot e^{-k_{BK2} \cdot t}$. Hierbei wurde die frühe, schnelle Phase des BK-Verlusts von 17 % als unspezifisch betrachtet und lediglich die langsame Komponente (k_{BK2}) dem eigentlichen BK-Abbau zugeschrieben. Die Inaktivierung von BK durch die Zellkultur ließ sich am besten durch eine lineare Anpassung darstellen. Alle Daten sind als Mittelwerte $\pm$ Standardfehler der Mittelwerte (sem) aus unabhängigen Experimenten angegeben. Die Effekte von Ramiprilat und Phosphoramidon wurden durch Varianzanalyse für unabhängige Daten und Post-Hoc-Test nach Dunnett geprüft, wobei $p < 0,05$ als signifikant betrachtet wurde.

Vergleiche zwischen den einzelnen Präparationen bezüglich ihrer BK-Abbauaktivitäten wurden anhand von Zellzählungen in Suspension bzw. histologischen Schnitten sowie der Bestimmung des Proteingehalts nach Lowry (14) angestellt.

Ergebnisse

Abbau von ^3H -BK durch intaktes Trachealepithel:

Unter Kontrollbedingungen wurde ^3H -BK mit einer Konstante von $k_{\text{BK}} = 0,081 \pm 0,018 \text{ min}^{-1}$, entsprechend einer HWZ von $12,8 \pm 3,0 \text{ min}$ abgebaut, wobei primär überwiegend die Fragmente [1-7]-BK und [1-5]-BK entstanden ($n = 7$, Abb. 2a). Das gefundene Metabolitenspektrum deutete auf das Vorliegen von ACE oder NEP hin, so daß Versuche mit spezifischen Inhibitoren durchgeführt wurden. Der Einsatz des ACE-Hemmstoffs Ramiprilat ($0,25 \mu\text{M}$) hatte keinen signifikanten Effekt auf die BK-Inaktivierung ($k_{\text{BK}} = 0,072 \pm 0,020 \text{ min}^{-1}$, HWZ $15,6 \pm 3,4 \text{ min}$, $n = 7$, Abb. 2b). Die Anteile der primären Metaboliten [1-7]-BK und [1-5]-BK wurden durch Einsatz von Ramiprilat leicht modifiziert, dieser Effekt war jedoch nicht signifikant. Auch der Einsatz des NEP-Inhibitors Phosphoramidon ($10 \mu\text{M}$) zeigte keinen signifikanten Effekt auf die BK-Abbaurrate ($k_{\text{BK}} = 0,077 \pm 0,03 \text{ min}^{-1}$, HWZ $14,7 \pm 2,6 \text{ min}$) oder das Metabolitenspektrum ($n = 7$, Abb. 2c). Um die Dosierung oder einen atypischen Substanzeffekt als Ursache der fehlenden Wirkung des ACE-Hemmers auszuschließen, wurden Ramiprilat und – alternativ – der SH-Gruppen-haltige ACE-Inhibitor Zofenoprilat in Konzentrationen von $2,5$ und $25 \mu\text{M}$ getestet. Während beide Substanzen bei $2,5 \mu\text{M}$ wirkungslos waren, zeigten Zofenoprilat und Ramiprilat in einer Konzentration von $25 \mu\text{M}$ eine Hemmung des ^3H -BK-Abbaus um 32% bzw. 6% ($n = 2$). Allein der unspezifische Metalloproteasen-Hemmstoff o-Phenanthrolin bewirkte eine Reduktion der Inaktivierung von ^3H -BK um 50% ($n = 2$).

In einer weiteren Versuchsserie wurden [1-3]-BK, [2-3]-BK und Prolin als Endprodukte des BK-Abbaus nachgewiesen und so insgesamt $85,4 \pm 9,1 \%$ der eingesetzten Kiningesamtmenge nach 180 min identifiziert ($n=3$). Demnach wurden alle wesentlichen Fragmente in diese Analyse eingeschlossen.

Um festzustellen, ob der gemessene BK-Abbau lediglich an der Gewebeoberfläche oder – z. B. durch sezernierte Enzyme – im Überstand stattfindet, wurde intaktes Trachealepithel in Abwesenheit von ^3H -BK mit Medium inkubiert, von dem über 180 min Proben entnommen wurden. In einer Zweitinkubation wurden diese in Abwesenheit des Gewebes mit ^3H -BK versetzt ($n = 4$). Während die in das Medium freigesetzte Kininaseaktivität in den ersten 30 min relativ niedrig war (z. B. $k_{\text{BK}} = 0,014 \text{ min}^{-1}$ nach 5 min Gewebekontakt), lag die nach 60 min Erstinkubation im Medium

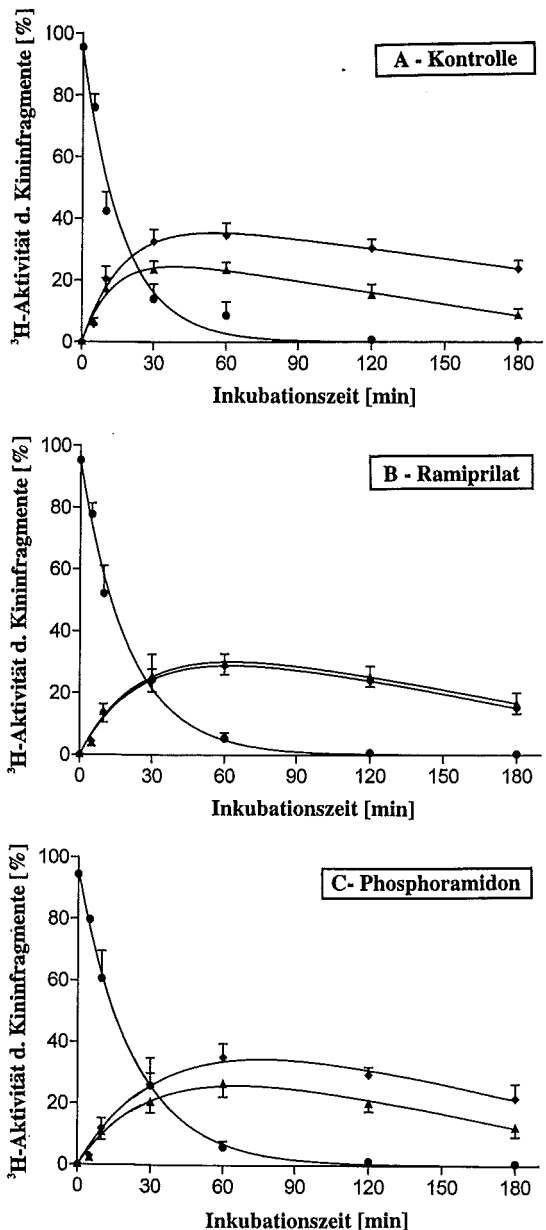


Abb. 2: Kinetik des Metabolismus von ^3H -Bradykinin (^3H -BK) auf intaktem Rindertrachealepithel ohne Pep-tidaseninhibitor (A), mit Ramiprilat ($0,25 \mu\text{M}$, B) und mit Phosphoramidon ($10 \mu\text{M}$, C). Dargestellt sind BK (●), [1-7]-BK (▲) und [1-5]-BK (◆), $n = 7$.

nachweisbare Enzymaktivität bereits höher als die intrinsische Aktivität des intakten Epithels. Nach 180 min Gewebekontakt betrug die Konstante des BK-Abbaus im Medium bereits $k_{\text{BK}} = 0,9 \text{ min}^{-1}$, was einer Reduktion von ^3H -BK auf unter 1% nach nur 6

min Zweitinkubation entsprach. Eine Betrachtung des Metabolitenspektrums in Versuchen am intakten Epithel und am Überstand in vergleichbaren Phasen des BK-Abbaus zeigte eine qualitativ und quantitativ weitgehende Übereinstimmung der gefundenen Fragmente.

Abbau von ³H-BK durch Trachealepithelzellen in Suspension: Nur in dieser Präparation zeigte sich bereits unter Kontrollbedingungen ein biphasischer Verlauf der BK-Abnahme mit schnellem initialem Abfall in den ersten 10 min ohne adäquate Produktion von Metaboliten und anschließendem flachem Verlauf der Abbaukurve (n = 4, Abb. 3). Da sich auch in Inkubatio-

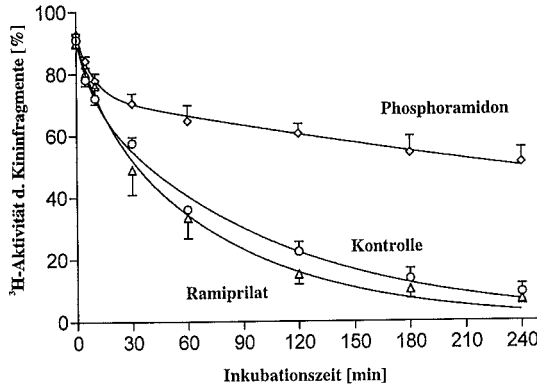


Abb. 3: Vergleich des Abbaus von ³H-Bradykinin (³H-BK) durch frisch isolierte Trachealepithelzellen in Suspension ohne Hemmstoffe (○), mit Ramiprilat (0,25 μM ▲) oder Phosphoramidon (10 μM ◇). Die BK-Abbauraten unter Phosphoramidon unterscheidet sich signifikant von der Kontrolle (p < 0,05; n = 4)

nen ohne jegliches Gewebe ein initialer Verlust von 13,4 % der eingesetzten Kininaktivität nach 5 min fand, wurde diese initiale BK-Abnahme als unspezifischer Effekt, z. B. Bindung von BK an die nur in dieser Präparation exponierten hydrophilen Böden der Kulturschalen, betrachtet und nur die langsame Phase als

Hemmstoff	Geschwindigkeit d. BK-Abbaus [%/min]	[1-8]-BK nach 240 min [%]	[1-7]-BK nach 240 min [%]
ohne	0,081 ± 0,017	5,8 ± 0,7	12,0 ± 1,1
Ramiprilat (0,25 μM)	0,064 ± 0,026	4,7 ± 0,5	10,2 ± 1,5
Phosphoramidon (10 μM)	0,046 ± 0,011	8,5 ± 2,1	4,0 ± 0,7 *

Tab. 1: Wirkung von Ramiprilat (0,25 μM) oder Phosphoramidon (10 μM) auf die Geschwindigkeit des BK-Abbaus sowie auf Anteile von [1-8]-BK und [1-7]-BK nach 240 min bei Inkubation konfluenter Trachealepithelzellkulturen mit ³H-BK (Mittelwerte ± sem, n = 7, * = p < 0,05).

zellspezifische Enzymaktivität gewertet. Wie auf dem intakten Trachealepithel spalteten auch die isolierten Epithelzellen [1-7]-BK und [1-5]-BK von BK ab. Der Einsatz der spezifischen Inhibitoren hatte keinen Einfluß auf den initialen, schnellen BK-Verlust (k_{BK1}, von 0,14 und 0,145 bzw. 0,134 min⁻¹ für Kontrolle, Ramiprilat 0,25 μM bzw. Phosphoramidon 10 μM; n = 4, Abb. 3). Die langsame Phase des eigentlichen enzymatischen BK-Abbaus (Kontrolle k_{BK2} = 0,01 ± 0,001 min⁻¹) wurde durch Phosphoramidon (10 μM, k_{BK2} = 0,0015 ± 0,0004 min⁻¹) signifikant gehemmt (p < 0,05). Ramiprilat (0,25 μM, k_{BK2} = 0,013 ± 0,002 min⁻¹) zeigte keine inhibitorische Wirkung.

Abbau von ³H-BK durch Trachealepithelzellen in Kultur: Primärkulturen der isolierten Trachealepithelzellen fielen bereits im Ansatz ohne Peptidaseninhibitor durch niedrige Abbauraten von BK über 240 min auf (n = 7, Tabelle 1). Als primäre Metaboliten entstanden [1-8]-BK sowie die auch in den anderen Präparationen beobachteten Fragmente [1-7]-BK und [1-5]-BK. Ramiprilat (0,25 μM) und Phosphoramidon (10 μM) konnten die Abbauraten nicht signifikant beeinflussen. Allerdings bewirkte der NEP-Inhibitor Phosphoramidon eine tendenzielle Senkung der Abbauraten sowie eine signifikante Reduktion der Entstehung von [1-7]-BK, des primären Metaboliten von NEP (Tabelle 1, p < 0,05). Der probatorische Einsatz des Carboxypeptidasen-Inhibitors MGTPA (5 μM) konnte die – nur in der Zellkultur aufgetretene – Bildung von [1-8]-BK komplett unterbinden, bei gleichzeitigem Anstieg der [1-7]-BK-Entstehung auf 14,1 ± 1,7 % (n = 2).

Vergleich spezifischer Enzymaktivitäten in den Präparationen: Unter Bezug der gemessenen BK-Abbaukonstanten in den verschiedenen Präparationen auf die jeweilige Zellzahl bzw. den Proteingehalt läßt sich – wegen der unterschiedlichen Kinetik nur abschätzend – ein Vergleich der spezifischen Enzymaktivitäten anstellen. Solchen Berechnungen zufolge ist die spezifische Kininase-Aktivität der intakten Trachealepithelzellen etwa um den Faktor 3,5 höher als die der isolierten Zellen in Suspension, deren Enzymaktivität wiederum das etwa 2,7fache der Epithelzellen in Kultur beträgt.

Diskussion

Der Einsatz spezifischer Inhibitoren der Kininasen ACE und NEP in Inkubationen des intakten Trachealepithels mit ³H-BK zeigte – trotz Entstehung der für diese Enzyme typischen Metaboliten in den Kontrollversuchen – keine Wirkung auf die BK-Abbauraten. Eine deutliche Hemmung des

BK-Abbaus wurde nur durch den probatorischen Einsatz des unspezifischen Metalloproteasen-Inhibitors o-Phenanthrolin erreicht. Der weitere Metabolismus erfolgte über die Fragmente [1-3]-BK, [2-3]-BK und Prolin. Eine Abdiffusion von BK oder Metaboliten in das Gewebe konnte ausgeschlossen werden. Vom intakten Trachealepithel werden Kininasen mit hoher, im Verlauf der Inkubation zunehmender Aktivität in das Medium freigesetzt. Ihr Metabolitenspektrum entspricht weitgehend dem des intakten Epithels selbst. Ein Artefakt durch Gewebsläsion oder Kontamination ist aufgrund des reproduzierbaren zeitlichen Verlaufs der Enzymfreisetzung unwahrscheinlich, vielmehr ist eine aktive Sekretion, z. B. aus in histologischen Schnitten dargestellten Drüsen anzunehmen. Auch die isolierten Zellen in Suspension zeigten keine Hemmung des BK-Abbaus zu [1-7]-BK bzw. [1-5]-BK durch Ramiprilat. Phosphoramidon bewirkte eine signifikante Inhibition der BK-Inaktivierung um 85 %, so daß in diesem Modell von dem Vorliegen von NEP auszugehen ist. Die kultivierten Zellen wiesen eine sehr niedrige Kininase-Aktivität auf, was primär mit einer Entdifferenzierung erklärt werden kann. So wird der Verlust der respiratorischen Differenzierung (Ausbildung von Zilien, Schleimproduktion) bei Trachealepithelien in Kultur häufig beobachtet (15). Als primärer Metabolit trat allein in der Zellkultur [1-8]-BK auf, dessen Entstehung in zwei Einzelversuchen mit MGT-PA unterbunden werden konnte. Hier wäre somit das Vorliegen einer Carboxypeptidase anzunehmen. Die Entstehung von [1-7]-BK, nicht aber die BK-Abbaurate, konnte signifikant durch Phosphoramidon gehemmt werden, so daß auch in diesem Modell die Wirkung von NEP nachgewiesen werden konnte. Die ACE-Hemmung blieb in der Zellkultur ebenfalls ohne Wirkung.

Faßt man die an den verschiedenen Präparationen erhobenen Daten zusammen, so läßt sich für den BK-Abbau am Rindertrachealepithel folgendes Modell entwickeln (Abb. 4): Der initial schnelle Abbau auf intaktem Epithel, bei Freisetzung von Kininasen hoher Aktivität (mit gleichem Metabolitenspektrum) erst in späteren Phasen der Inkubation, spricht dafür, daß ein oder mehrere Enzyme z. B. aus Trachealdrüsen in das Medium sezerniert werden, nach dem Mediumwechsel bei Inkubationsbeginn noch nicht meßbar im Überstand vorliegen, aber in noch epithelgebundener Form bereits am BK-Abbau teilnehmen. Diese Aktivität, an der ACE und NEP nicht in nennenswertem Umfang beteiligt sind, kann durch die vorliegenden Daten nicht eindeutig charakterisiert werden. Einziger Hinweis ist die Wirksamkeit des unspezifischen Metalloproteasen-Inhibitors o-Phenanthrolin. Unter Berücksichtigung der bekannten Kininasen (Abb. 1) kann das gefundene Metabolitenspektrum nur mit dem gemeinsamen Vorlie-

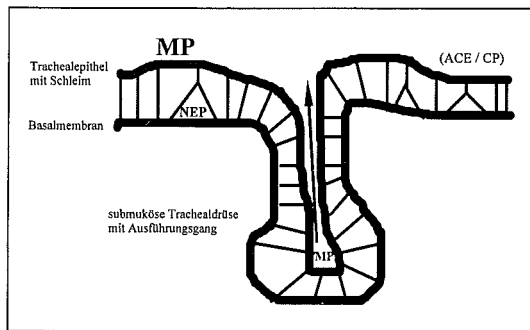


Abb. 4: Schematische Darstellung der Enzymverteilung im Rindertrachealepithel (MP: Metalloprotease; NEP: neutrale Endopeptidase; ACE: Angiotensin-Converting-Enzym; CP: Carboxypeptidase)

gen von Prolyl-Endopeptidase und Endopeptidase 24.15 erklärt werden. Beide wären durch o-Phenanthrolin hemmbar, spezifische Inhibitoren dieser Enzyme sind jedoch bisher nicht erhältlich. Denkbar ist auch die Existenz eines bisher nicht charakterisierten Enzyms. Unabhängig von dieser Peptidasen-Aktivität läßt der Nachweis von NEP an isolierten und kultivierten Zellen Rückschlüsse auf die Lokalisation dieses Enzyms zu. Möglicherweise hat NEP aufgrund eines Enzymbesatzes hauptsächlich der basolateralen Regionen des Trachealepithels im Modell der intakten Trachea keinen Zugang zum Inkubationsmedium, kann aber nach Vereinzeln der Zellen am BK-Abbau teilnehmen. Eine entsprechende Lokalisation wurde in einer immunhistochemischen Studie beschrieben (16).

Gleichzeitig könnte der Anteil der postulierten sezernierten Peptidasen durch Zerstörung glandulärer Strukturen während der Zellisolierung gesenkt werden, so daß die NEP-Aktivität bei den Zellen in Suspension im Vordergrund steht. Der Effekt von Ramiprilat auf die Anteile von [1-7]-BK und [1-5]-BK am intakten Epithel sowie die Unterdrückung der [1-8]-BK-Produktion durch MGTPA in Kultur lassen untergeordnete Rollen für ACE und eine Carboxypeptidase denkbar erscheinen. Eine Kompartimentierung der BK-spaltenden Enzyme wäre funktionell bedeutsam, da auch die Dichte der BK-Rezeptoren in den unterschiedlichen Regionen des Epithels der Atemwege stark variiert (17).

Der fehlende Nachweis einer Beteiligung von ACE an der BK-Inaktivierung steht zum Teil im Gegensatz zu den Ergebnissen funktioneller Untersuchungen, die z. B. eine Verstärkung der BK-induzierten Kontraktion durch ACE-Hemmung am isolierten Frettchen-Trachealmuskel ergaben (6). Abgesehen von möglichen Speziesunterschieden und einer Mitberücksichtigung nicht-epithelialer Enzyme ist hier vor allem die Möglichkeit indirekter BK-Wirkungen zu berücksichtigen. BK kann in den Atemwegen Neuropeptide freisetzen

(18), die – wie z. B. Neurokinin A oder Substanz P – ebenfalls Substrate von ACE und NEP sind (19). Eine Modulation von BK-Effekten durch Inhibitoren ist deshalb nicht mit einer BK-Akkumulation gleichzusetzen, was die Notwendigkeit einer direkten Messung des BK-Abbaus unterstreicht. Andere funktionelle Studien am Trachealepithel fanden Effekte von NEP-, nicht aber ACE-Hemmung und sind somit vereinbar mit den vorliegenden Ergebnissen (20).

Eine klinische Untersuchung, in der Patienten mit anamnestisch bekanntem sowie ohne Husten unter ACE-Hemmung über zwei Wochen mit Captopril (2 mal 25 mg/d) oder Placebo behandelt wurden, registrierte die inhierte BK-Konzentration, die den Atemwegswiderstand um 100 % steigerte (21). Dieser Wert unterschied sich weder zwischen Patienten mit und ohne Husten innerhalb der Captopril-Gruppe noch zwischen Captopril- und Placebo-behandelten Patienten mit Hustenanamnese. Diese klinischen Daten sprechen gegen eine BK-Akkumulation bei Husten unter ACE-Hemmung. Fraglich ist allerdings, ob der Atemwegswiderstand ein geeigneter Parameter für die Erfassung des Hustenrisikos ist.

Die klinische Bedeutung der vorliegenden experimentellen Ergebnisse betrifft vorwiegend die Pathophysiologie des ACE-Hemmer-assoziierten Hustens. Die Hypothese einer lokalen Akkumulation von BK unter ACE-Hemmung konnte an den jetzt untersuchten Präparationen des Rindertrachealepithels nicht bestätigt werden. ACE hatte hier keine Bedeutung für die Inaktivierung von BK. Vielmehr scheint eine sezernierte Metallopeptidase einen wichtigen Beitrag zum BK-Abbau auf Rindertrachealepithelen zu leisten. Auf die klinische Situation übertragen, könnte man vermuten, daß ein solches Sekret einen Schutzfaktor gegen eine lokale Akkumulation von BK in trachealem Gewebe darstellt. Obwohl die bisherigen Ergebnisse nicht für eine Beeinflussung BK-Inaktivierung durch Trachealsekret unter ACE-Hemmung sprechen, wäre es sinnvoll, die Bedeutung eines solchen Schutzfaktors an Patienten nachzuvollziehen. Denkbar wäre eine Untersuchung des Sputums oder der bronchoalveolären Lavage von Patienten, die unter der Therapie mit ACE-Hemmstoffen husten, hinsichtlich der BK-abbauenden Peptidasenaktivität. Letztendlich könnte eine im Bronchialschleim aktive Peptidase oder Protease auch im Rahmen der unspezifischen Infektabwehr bedeutsam sein.

Literatur

- Karlberg, BE: Cough and inhibition of the renin-angiotensin system. *J Hypertens Suppl*, S49-52 (1993)
- Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K: Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens and kininases. *Pharmacol Rev* 44, 1-80 (1992)
- Barnes PJ: Effects of bradykinin on airway function. *Agents Actions Suppl* 38/3, 432-8 (1992)
- Skidgel RA: Bradykinin-degrading enzymes: structure, function, distribution, and potential roles in cardiovascular pharmacology. *J Cardiovasc Pharmacol* 20 Suppl 9, S4-9 (1992)
- McCarthy DA, Potter DE, Nicolaides ED: An in vivo estimation of the potencies and half-lives of synthetic bradykinin and kallidin. *J Pharmacol Exp Ther* 148, 117-22 (1965)
- Dusser J, Nadel JA, Sekizawa K, Graf PD, Borson DB: Neutral endopeptidase and angiotensin converting enzyme inhibitors potentiate kinin-induced contraction of ferret trachea. *J Pharmacol Exp Ther* 244, 531-6 (1987)
- Frossard N, Stretton CD, Barnes PJ: Modulation of bradykinin responses in airway smooth muscle by epithelial enzymes. *Agents Actions* 31, 204-9 (1990)
- Lötvall JO, Tokuyama K, Barnes PJ, Chung KF: Bradykinin-induced airway microvascular leakage is potentiated by captopril and phosphoramidon. *Eur J Pharmacol* 200, 211-7 (1991)
- Kummer W, Fischer A: Tissue distribution of neutral peptidase 24.11 („enkephalinase“) activity in guinea pig trachea. *Neuropeptides* 18, 181-6 (1991)
- Dendorfer A, Vordermark D, Dominiak P: Degradation of bradykinin by bovine tracheal epithelium and isolated epithelial cells. *Brit J Pharmacol* 120, 121-29 (1997)
- Vordermark D, Dendorfer A, Dominiak P: Degradation of bradykinin by bovine tracheal epithelial cells in culture. *Pharm Pharmacol Lett* 6, 46-9 (1996)
- Groelke JW, Coalson JJ, Baseman JB: Growth requirements of ferret tracheal epithelial cells in primary culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 179, 309-17 (1985)
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Knepler R: The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31, 11-24 (1982)
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RS: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193, 265-275 (1951)
- Wu R, Wu MMJ: Effects of retinoids on human bronchial epithelial cells: differential regulation of hyaluronate synthesis and keratin protein synthesis. *J Cell Physiol* 127, 73-82 (1986)
- Nadel JA, Borson DB: Modulation of neurogenic inflammation by neutral endopeptidase. *Am Rev Respir Dis* 143, S33-6 (1991)
- Mak JC, Barnes PJ: Autoradiographic visualization of bradykinin receptors in human and guinea pig lung. *Eur J Pharmacol* 194, 37-43 (1991)
- Saria A, Martling CR, Yan Z, Theodorsson-Norheim E, Camse R, Lundberg JM: Release of multiple tachykinins from capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung by bradykinin, histamine, dimethylphenyl piperazinium and vagal nerve stimulation. *Am Rev Respir Dis* 137, 1330-5 (1988)
- Sekizawa K, Tamaoki J, Graf PD, Basbaum CB, Borson DB, Nadel JA: Enkephalinase inhibitor potentiates mammalian tachykinin-induced contraction in ferret trachea. *J Pharmacol Exp Ther* 243, 1211-17 (1987)
- Tamaoki J, Kobayashi K, Sakai N, Chiyotani A, Kanemura T, Takizawa T: Effect of bradykinin on airway ciliary motility and its modulation by airway neutral endopeptidase. *Am Rev Respir Dis* 140, 430-5 (1989)
- Overlack A, Muller B, Schmidt L, Scheid ML, Muller M, Stumpe KO: Cough induced by ACE-Inhibitors: A kinin related phenomenon? *Agents Actions Suppl* 38/3, 482-92 (1992)

Intensivmedizin und Menschenwürde*

P. Schmucker

Es ist nicht neu, daß die Einstellung der modernen Gesellschaft gegenüber der Medizin durchaus ambivalent ist. Auf der einen Seite wird ein therapeutisches Verfahren wie etwa eine Operation häufig intuitiv im Sinne eines mechanistischen Prozesses mit einklagbarer Erfolgsgarantie verstanden. Schon bei kleineren Abweichungen von dem als regelhaft verstandenen optimalen Verlauf wird als Ursache ärztliches Fehlverhalten vermutet. Eine nach dem aktuellen medizinischen und wissenschaftlichen Standard optimale Therapie für jeden einzelnen Patienten ist gerichtlich einklagbar.

Auf der anderen Seite begegnet die moderne wissenschaftlich fundierte Medizin größten Vorbehalten, die zugunsten sogenannter alternativer oder ganzheitlicher Verfahren bis hin zum Verzicht auf die Therapie führen können, wie sie gemäß der Schulmedizin allgemein als indiziert gilt. Lassen sie mich dies an einem Beispiel erläutern.

Am 17. Dezember 1981 bemerkt Prof. Peter Noll, Ordinarius für Strafrecht an der Universität Zürich, Blasenbeschwerden. Nach einigen diagnostischen Eingriffen am 19. und 22. Dezember stellt sich als Ursache ein Urothelcarcinom heraus. Nach der Aufklärung über die gängige Therapie, umfangreiche Operation mit Nachbestrahlung bei einer Chance zur vollständigen Tumoreradikation von etwa 50 % wird dies von dem Patienten abgelehnt. Der gesamte Krankheitsverlauf ist in dem bei Piper erschienenen Buch „Diktate über Sterben und Tod“ protokolliert. Die Ablehnung des Eingriffes wird von Peter Noll folgendermaßen begründet: „Ich will nicht in die chirurgisch-urologisch-radiologische Maschine hineinkommen, weil ich dann Stück um Stück meiner Freiheit verliere. Mit Hoffnungen, die zusehens kleiner werden, wird mein Wille gebrochen, und am Schluß lande ich dann doch in dem bekannten Sterbezimmer, um welches alle einen großen Bogen machen. Vorraum des Friedhofs.“

Lassen Sie mich zunächst einige Stichworte aus diesem Zitat aufnehmen, um später darauf zurückzukommen. Es ist hier die Rede von einer Maschine, die zum

Verlust der Freiheit des Patienten führe, es ist die Rede von gebrochenen Hoffnungen und einem gebrochenen Willen.

Die Vorbehalte konzentrieren sich, wie hiermit skizziert, in besonderer Weise auf invasive Verfahren und auf die sogenannte Apparatedizin. Die Intensivtherapie kann zweifellos als einer der Exponenten dieser Richtung der Medizin gelten. Entsprechend wird sie nicht selten mit negativen Konnotationen verknüpft. Auf der Intensivstation würden nicht selten, wie es in einem „Spiegel“-Artikel vor einigen Jahren hieß, „Patienten sinn- und würdelos von Apparaten ums Sterben gebracht“. Daß ich als Intensivtherapeut diese griffige Formulierung für falsch halte, wird nicht überraschen. Immerhin aber stellt sich tatsächlich die Frage nach der Wechselwirkung zwischen zwei so verschiedenen Begriffen wie Intensivmedizin und Menschenwürde. Lassen Sie mich deshalb zunächst ganz kurz auf diese beiden Begriffe eingehen.

Für ein medizinisches Auditorium ist klar, was mit Intensivmedizin gemeint ist. Definitionsgemäß bedarf der Intensivtherapie ein Patient, dessen Vitalfunktionen gestört sind und mit besonderen Methoden ersetzt oder aufrechterhalten werden müssen. Das bedeutet konkret, daß der Patient bei schweren Störungen der pulmonalen Funktion intubiert und beatmet werden muß, daß er bei gestörter Kreislauffunktion eine differenzierte Pharmakotherapie oder auch ein mechanisches Kreislaufunterstützungsverfahren braucht, daß bei ausgefallener Nierenfunktion harnpflichtige und toxische Substanzen durch intermittierende Hämodialyse oder durch kontinuierliche Hämofiltration eliminiert werden müssen, und daß ganz allgemein eine Vielzahl von physiologischen Parametern permanent überwacht und registriert werden. Das bedeutet, daß der Patient über eine Vielzahl von „Leitungen“ mit technischen Geräten verknüpft ist. Zumindest der Vorwurf der „Apparatedizin“ ist für die Intensivtherapie also sicherlich berechtigt. Intensivtherapie bedeutet aber häufig auch eine Störung des Bewußtseins. Das Zentrale Nervensystem kann primär durch Grund- oder Begleiterkrankungen gestört sein. Häufig machen es aber auch Schmerzen auf Grund dieser Erkrankung wie etwa nach einer großen Operation oder auch die Intensivtherapieverfahren selbst wie Beatmung mit einem

* Der vorliegende Beitrag von Professor Dr. med. Peter Schmucker, dem Direktor der Klinik für Anästhesiologie der Medizinischen Universität zu Lübeck, wurde als Referat auf dem Studententag „Ethik in der Medizin“ am 27. Juni 1997 in der MUL gehalten.

umgekehrten Atemzeitverhältnis erforderlich, den Patienten durch Analgetika oder auch Psychopharmaka soweit „ruhigzustellen“, daß ihm ein unnötiges Leiden erspart bleibt. Ich werde auf den wichtigen Punkt des eingeschränkten Bewußtseins zurückkommen.

Weniger vertraut als mit der Intensivmedizin als einem Feld meiner täglichen Tätigkeit war ich mit grundsätzlichen Überlegungen zum Begriff der Menschenwürde. In der 19. Auflage der Brockhaus-Enzyklopädie von 1991 liest man zu diesem Begriff: „Menschenwürde, der unverlierbare, geistlich-sittliche Wert eines jeden Menschen um seiner selbst willen. Nach Artikel 1 Absatz 1 Grundgesetz ist die Menschenwürde unantastbar. Sie zu achten und zu schützen ist Verpflichtung aller staatlichen Gewalt. Damit ist in Abkehr von einem Primat des Staates die Würde des Menschen an die Spitze der Rechtsordnung gestellt. Unantastbarkeit bedeutet Unzulässigkeit jeglicher Mißachtung der Menschenwürde. Eine Mißachtung ist in einer erniedrigenden Behandlung oder in der Behandlung des Menschen als „bloßes Objekt“ zu sehen (z. B. Folter)“. Die Menschenwürde ist also entsprechend dieser Definition etwas, was „unverlierbar“ jedem einzelnen Menschen innewohnt, was ihm also nicht genommen, aber immerhin verletzt werden kann. Sie ist, wie die Formulierung „der geistlich-sittliche Wert eines jeden Menschen um seiner selbst willen“ aussagt, in besonderer Weise an die Individualität des Patienten als geistiges Wesen gebunden.

Dabei ist klar, daß die besteht diese Etikette auf der Intensivstation? Nun, zunächst einmal zweifellos in nichts anderem als in einem ganz allgemein rücksichtsvollen und entgegenkommenden Umgang mit den Patienten wie eben mit allen anderen Menschen im gesellschaftlichen Leben überhaupt. Es gibt also gar keine besonderen Regeln. Der Rahmen des Umgangs des Personals mit dem Patienten ist also zunächst die Interaktion mit einer Person, die ebenso wie ein Mitglied des Personals perzipiert, empfindet und reagiert, jedoch in der Regel zunächst über weniger Information verfügt. Dies betrifft sowohl die Information zu allgemeinen medizinischen Fragen als auch die zur speziellen Situation des Patienten und seiner ihn unmittelbar betreffenden Umgebung. Grundregel ist also immer zuallererst die Höflichkeit und die Beratung, ähnlich wie beim Umgang von Verkaufspersonal mit einem Kunden. Die Bezeichnung „Kunde“ für den Patienten einer Abteilung scheint sich immer mehr einzubürgern. Mir persönlich ist dies aber zu wenig. Das Wort „Patient“ beinhaltet, daß es sich hier um eine Person handelt, welche ihr Leiden mehr oder weniger geduldiert erträgt. Die unbedingt erforderliche emotionale Zuwendung des Personals ist damit ausgedrückt. Daß alle Patienten grundsätzlich per „Sie“ angesprochen werden, braucht wohl nicht erwähnt zu werden.

Bei alledem ist allerdings zu berücksichtigen, daß jeder der genannten Punkte, nämlich Perzeption, Empfinden und Reaktion des Patienten in typischer Weise verändert sein können. Die Perzeption von äußeren Reizen kann bei bewußtlosen Patienten vollkommen aufgehoben sein. Zu beachten ist dabei allerdings, daß auch scheinbar tief bewußtlose Patienten etwa akustische Reize aufnehmen und so z. B. am Krankenbett geführte Gespräche erinnern und später wiedergeben können. Auf der anderen Seite der Skala wird von vielen Intensivpatienten eine besondere Empfindlichkeit gegenüber allen Reizen, wiederum vor allem gegenüber akustischen, angegeben. Zieht man ins Kalkül, daß die Intensivstation Tag und Nacht Ort eines bewegten und weiß Gott nicht lautlosen Lebens ist, so ist dies eine schwere Hypothek für den Patienten. Lärm sollte deswegen nach Möglichkeit vermieden werden. Ich möchte hier aber ausdrücklich anmerken, daß ich die Geräusche, die mit einer normalen Kommunikation bei angemessenem gutem Betriebsklima auf der Intensivstation verbunden sind, nicht für vermeidbar halte. Auf jeden Fall kann aber die nachhaltige Störung des Schlaf-Wach-Rhythmus sicher in vielen Fällen zu den bei den Patienten auf der Intensivstation häufig zutage tretenden psychischen Auffälligkeiten beitragen.

Was der Patient auf der Intensivstation empfindet, ist von einer Vielzahl von Faktoren abhängig und im Einzelfall kaum vorauszusagen. Auf Grund von Untersuchungen ist aber bekannt, was für den Patienten als besondere Belastung empfunden wird. Unter den fünf am häufigsten genannten Problemen betreffen drei ein Informationsdefizit. Der Patient beklagt, daß er über seinen aktuellen Zustand, über den weiteren Verlauf und die voraussichtliche Dauer der Erkrankung sowie über seine Umgebung zu wenig Informationen besitzt. Dazu kommt die Angst vor nicht angekündigten medizinischen Maßnahmen und Schmerzen sowie die bereits erwähnte Störung des Schlaf-Wach-Rhythmus. Demgegenüber spielt die auf der Intensivstation nicht ohne weiteres vermeidbare Verletzung von Schamgrenzen eine geringere Rolle.

Für den Umgang mit dem Patienten muß dies zur Folge haben, daß ihm ausreichend Informationen über seinen Gesundheitszustand, die derzeit laufenden und geplanten Maßnahmen und die voraussichtliche Dauer der Behandlung angeboten werden müssen, und dies wiederholt. Jede medizinische Maßnahme muß dem Patienten vorher angekündigt und erklärt werden, vor allem dann, wenn sie mit Schmerz verbunden ist. Daneben muß der Patient ja zumindest während einer Visite in Anwesenheit einer Vielzahl von Personen nicht unbedingt gänzlich unbedeckt daliegen.

Ein besonderes Problem stellt die Schwierigkeit der Kommunikation mit einem intubierten oder tracheotomierten, beatmeten Patienten dar. Häufig können sich

diese Patienten auch per Handschrift nicht oder nur mit großen Schwierigkeiten äußern, und die Kommunikation über Bildkarten läßt lediglich eine relativ kleine Anzahl an Äußerungen zu und hat sich in der Praxis aus meiner Sicht nicht bewährt. Kommunikation mit einem Patienten, der sich verbal nicht äußern kann, sich aber mitteilen möchte, erfordert vor allem viel Geduld und Zuwendung und führt trotzdem nicht immer zum Ziel.

Hier kann oft der großzügige Zugang von Angehörigen Abhilfe schaffen. Eine Restriktion der Besuchszeiten aus hygienischen Gründen ist mikrobiologisch gesehen vollkommen unangemessen: Die Probleme bereiten nicht die Keime, die Angehörige vielleicht mit hereinbringen könnten, sondern die eingeborenen Bakterien der Station mit ihren vielerlei Resistenzen.

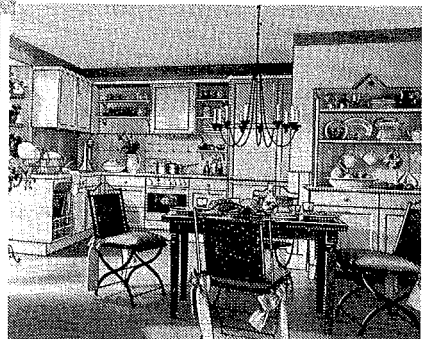
Eine immer wieder geäußerte Befürchtung im Zusammenhang mit medizinischer Behandlung, die auch in dem angeführten Zitat von Peter Noll zutage tritt, besteht in der Angst vor dem Verlust vor persönlicher Autonomie. Es ist evident, daß diese Angst im Zusammenhang mit Intensivtherapie berechtigt ist. Oberstes Ziel der Etikette auf der Intensivstation muß es deshalb sein, dem Patienten soviel Autonomie zu geben, wie nur irgend möglich ist. Grundlage dafür sind Gespräch, Information und Zuwendung. Lassen Sie mich aber noch auf einen anderen Punkt eingehen, nämlich auf die Verwendung von Score-Systemen. Score-Systeme sind Systeme zur Klassifikation des Schweregrades der Erkrankung eines intensivtherapiepflichtigen Patienten. Sie bringen den Zustand des Patienten durch einen Zahlenwert zum Ausdruck. Dabei finden unterschiedliche Parameter bei der Errechnung Eingang. Dazu gehören Laborwerte, physiologische Meßwerte wie Herzfrequenz und arterieller Druck, Art und Umfang von Verletzungen und Störungen von Organfunktionen, Daten aus der Anamnese des Patienten und Maßnahmen, die bei dem Patienten durchgeführt werden müssen. All diese Parameter werden je nach dem Grad der Abweichung vom Normwert oder der Invasivität der Maßnahme mit Punkten bewertet. Diese Punkte werden zu einer Gesamt-Punktzahl, dem Scorewert, addiert. Es gibt eine ganze Reihe von Score-Systemen. Ich nenne nur den TISS als Abkürzung für „Therapeutic Intervention Scoring System“ und den APACHE als Abkürzung für „Acute Physiology And Chronic Health Evaluation Score“. Der TISS sagt vor allem etwas über den Aufwand bei der Behandlung des Patienten aus und kann als Durchschnittswert über einen bestimmten Zeitraum bei der Ermittlung des Personalbedarfs herangezogen werden. Der APACHE ist dagegen wie auch eine ganze Reihe von anderen Score-Systemen u. a. auf die Prognose abgestellt. D. h., daß bei Erreichen einer bestimmten Punktzahl eine statistische Aussage darüber möglich ist, ob der Patient seinen Zustand noch

überleben wird oder nicht. Da der APACHE jeweils an einer großen Anzahl von Patienten validiert und aufgrund der Erfahrungen nachgebessert wird, liegt er inzwischen bereits in der 3. Generation als APACHE III vor.

Im März und April d. J. ist die Anwendung von Score-Systemen ausgiebig öffentlich diskutiert und äußerst negativ bewertet worden. Diese Bewertung geht auf ein Mißverständnis zurück. Zieht man dieses Mißverständnis jedoch ins Kalkül, so sind die geäußerten Vorbehalte und Ängste durchaus verständlich. Lassen Sie mich das kurz erläutern:

Wird ein Score etwa nach APACHE III erreicht, der einen bestimmten Wert übersteigt und damit signalisiert, daß der Patient mit hoher Wahrscheinlichkeit seine Erkrankung nicht überleben wird, so stellt sich natürlich die Frage nach dem Sinn der Weiterführung der Intensivtherapie bzw. nach dem Abbruch der Therapie, welche naturgemäß innerhalb kurzer Zeit den Tod des Patienten zur Folge haben wird. Das Mißverständnis beruht nun darauf, daß intuitiv davon ausgegangen wurde, daß das Überschreiten des ominösen Punktwertes automatisch zum Abbruch der Therapie führen soll. Insbesondere die Möglichkeit einer weitgehend automatischen rechnergestützten Mitführung der Score-Systeme paßt natürlich gut in den Zusammenhang der angeblich seelenlosen Intensivmedizin.

Miele KÜCHEN



Wir beraten Sie gerne.
Ihre Wünsche und unsere Erfahrung
bringen die individuelle Lösung!

Schöppich hat 'Ihre' Küche

Bad Schwartau / Gewerbegebiet
Langenfelde 2-4 • ☎ 0451-280 880



Von einem Therapie-Abbruch aufgrund des Score-Wertes allein kann natürlich keine Rede sein. Dies ist schon deshalb klar, weil sich die Verknüpfung von Score-Wert und Prognose immer auf ein zurückliegendes Patienten-Kollektiv stützt und bei der Anwendung des Scores auf einen konkreten Patienten nicht nur die intensivtherapeutischen Verfahren sich inzwischen geändert haben, sondern möglicherweise auch der typische Krankheitsverlauf, das, was im Englischen als „natural history of disease“ bezeichnet wird. Es besteht also immer eine ganz grundsätzliche Lücke zwischen dem statistisch evaluierten Score-System und der tatsächlichen Prognose des Patienten. Entscheidend bei der Überlegung über die Weiterführung oder den Abbruch der Therapie ist immer die Betrachtung des einzelnen individuellen Patienten und der derzeitigen Situation. An diesem Punkt ergibt sich tatsächlich eine Berührung mit der angeführten Definition der „Menschenwürde“. Eine automatische Umsetzung eines bestimmten Score-Punktwertes auf eine therapeutische Entscheidung wie den Therapie-Abbruch würde nämlich den einzelnen Patienten nicht nur in sachlich unzulässiger Weise in ein zurückliegendes Patienten-Kollektiv eingliedern. Eine solche Entscheidung würde exakt einer Behandlung des Patienten als „bloßes Objekt“ entsprechen und damit die Kriterien einer menschenunwürdigen Behandlung erfüllen. Es kann, wie gesagt, keine Rede davon sein, daß dies bei der Mitführung von Score-Systemen gewollt ist. Das

Mißverständnis, dies sei doch so, liegt allerdings bei der derzeitigen Diskussion um Gesundheitsökonomie tatsächlich gar nicht so fern. Es ist deshalb m. E. von größter Bedeutung, diesen Punkt in den nächsten Jahren immer fest im Auge zu behalten.

Lassen Sie mich abschließend auf einen weiteren Gesichtspunkt hinweisen:

Die Furcht des Menschen vor dem Verlust der Autonomie als eines zentralen Gesichtspunktes seiner Würde im Rahmen der Intensivtherapie ist berechtigt. Es muß hier jedoch ganz deutlich darauf hingewiesen werden, daß die Ursache für den Verlust der Autonomie natürlich nicht in der Intensivtherapie selbst liegt, sondern in der zugrundeliegenden Erkrankung. Es ist nicht das therapeutische Verfahren, das den Menschen entkleidet, buchstäblich und im Hinblick auf seine sozialen, familiären und wirtschaftlichen, ja geistigen Errungenschaften, sondern die Erkrankung. Ist es eine intensivtherapiepflichtige Erkrankung, so ist es immer eine, die ohne Intensivtherapie, und vielleicht selbst mit ihr, zum Tod führt. Sherwin Nuland hat in seinem Buch „How we die“ eindringlich darauf hingewiesen, wie sehr das durch schwere Erkrankung und Sterben in Frage gestellt wird, was wir als Würde betrachten. Die Furcht vor der entwürdigenden Intensivtherapie ist deshalb m. E. in vieler Hinsicht eine Projektion: Die Furcht vor der Erkrankung und ihre Folgen wird übertragen auf ein therapeutisches Verfahren.

Telematik – eine schmucke Tochter der Informatik

G. Krüger *

Zusammen mit den Biotechnologien werden die digitalen Informations- und Kommunikationstechniken mit ihren vielfältigen Anwendungen in den kommenden Jahrzehnten weltweit die wirtschaftlichen und gesellschaftlichen Entwicklungen prägen. In den USA werden die Auswirkungen der digitalen Technik schon häufig als die dritte industrielle Revolution nach der Erfindung der Dampfmaschine und der Einführung der Elektrizität im 18./19. Jahrhundert bezeichnet. Bei kritischer Betrachtung kann man sich natürlich fragen, was das eigentlich umwälzende, das revolutionäre an diesem Umbruch sei. Bei der Dampfkraft war es auch für den Laien unmittelbar einsichtig, daß hier menschliche und tierische Muskelkraft durch die neue Maschine in exzellenter Weise ersetzt werden konnten. Und auch bei der Elektrizität, für die menschlichen Sinne ein abstraktes Phänomen, war der revolutionäre Fortschritt dem Bürger im wahrsten Sinne des Wortes unmittelbar einleuchtend, spätestens dann als die erste Glühlampe in seiner Wohnung die Nacht zum Tage machte, wie zeitgenössische Berichtersteller es emphatisch umschrieben. Bei den modernen Informationstechniken ist vielleicht noch die Innovation des maschinellen „Rechnens“, der Computer, als großer Fortschritt einsichtig, aber bei der Telekommunikation hört man oft die Frage: was ist eigentlich an der digitalen Telekommunikation so dramatisch. Schließlich kommunizieren wir mit dem klassischen analogen „Dampf“-Telefon schon lange weltweit, und Rundfunk und Fernsehen sind auch nicht gerade eine Erfindung dieses Jahrzehnts. Es lohnt sich also, der Frage nachzugehen, was die Grundlagen und Triebkräfte der digitalen Telekommunikation sind und warum sie wirklich einen Quantensprung in der Entwicklung von Technik und Gesellschaft bedeutet.

Geschichtliche Entwicklung

Die Idee der Übermittlung von Nachrichten über große Entfernungen mit Hilfe der Elektrizität ist schon im 18.

Jahrhundert nachweisbar. Seit man sich mit dem – damals in seinen physikalischen Grundlagen noch unverstandenen – Phänomen Elektrizität systematisch auseinandergesetzt hat, wollte man es auch zur Nachrichtenübermittlung benutzen. Es blieb aber bei untauglichen Versuchen, bis Gauss und Weber im Jahre 1833 in Göttingen mit ihrem historischen Versuch die Eignung des elektrischen Stroms zur Übertragung nachrichtentechnischer Signale nachweisen konnten.

Die tatsächliche praktische Nutzung der neuen Technik erfolgte durch die Zeiger- und Morsetelegraphen um 1840, und zwar mit einer Durchsetzungsgeschwindigkeit, die sich durchaus mit moderner Innovationsgeschwindigkeit vergleichen läßt. So gab es schon bald eine 11000 km Telegrafienlinie von London nach Kalkutta und in den sechziger Jahren des 19. Jahrhunderts die ersten interkontinentalen Unterseekabel. Während der Telegraf bis er nach 100 Jahren vom Fernschreiber abgelöst wurde, immer eine amtliche Einrichtung blieb, brachte das Telefon den Durchbruch zur individuellen Telekommunikation. Es wurde nach Vorarbeiten des deutschen Erfinders Philipp Reis (1860) im Jahre 1876 durch den Amerikaner Graham Bell zur Nutzungsreife entwickelt. Wirtschaftlich wurde das Telefon ein außerordentlicher Erfolg, die Statistiken zeigen, daß die Zahl der Telefonanschlüsse seit Anfang des Jahrhunderts in den Industriestaaten recht konstant mit 6 bis 7% jährlich gewachsen ist. Immerhin sind aber in Deutschland (West) mehr als 100 Jahre vergangen, bis die praktische Vollversorgung der Haushalte mit Telefonanschlüssen erreicht war.

Das stetige Nachfragewachstum und die in der Welt vorhandenen Anbietermonopole haben – und das ist für den Vergleich mit der heutigen ebenso wie mit der zukünftigen Entwicklung ein entscheidender Punkt – zu einer recht geringen Innovationsrate geführt. Für einen Betrachter zum Beispiel aus der Computerbranche herrschte in der klassischen Telekommunikation eine geradezu traumhafte technische Stabilität und damit auch Kompatibilität. Ein 50 Jahre altes Telefon läßt sich noch heute ohne jede Schwierigkeit an einem analogen Telefon-Netzanschluß betreiben, und auch ein intaktes Vorkriegs-Röhrenradio ist auf Mittel- und Langwelle noch empfangsbereit.

Wie sehr unterscheiden sich davon die kurzen Produktlebenszyklen der heutigen Computertechnik, und auch

* Prof. Dr. phil. nat. Dr. h.c. Gerhard Krüger, Direktor des Instituts für Telematik der Universität Karlsruhe, ist Vorsitzender des Beirats der Technisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Medizinischen Universität zu Lübeck zur Einführung des Studiengangs Informatik an der MUL. Er hielt am 30. Oktober 1997 in der Medizinischen Universität das hier wiedergegebene Auftaktreferat zur Vortragsreihe „Information und Kommunikation“ im Lübecker Studium generale.

in der digitalisierten Unterhaltungselektronik stolpern wir von einer (natürlich mit der Vergangenheit und der Konkurrenz inkompatiblen) „Produktinnovation“ zur anderen. Hier gebärdet sich die junge Digitaltechnik noch sehr unreif und konsumentenunfreundlich. Das gilt bekanntermaßen auch für die Bedienung der High-Tech-Geräte.

Vom Angebot her waren die klassischen Telekommunikationsdienste aus heutiger Sicht durch eine geringe Vielfalt gekennzeichnet. Sprach- und Musikkommunikation durch Telefon und Rundfunk, Bildkommunikation durch Fax und Fernsehen und eine eingeschränkte Text- und Datenkommunikation waren das Telekommunikationsangebot der letzten Jahrzehnte. Und jeder dieser Dienste war von den anderen fein säuberlich getrennt.

Digitalisierung der Telekommunikation

Der entscheidende qualitative Unterschied, der fundamentale Entwicklungssprung, der die zukünftige Telekommunikation von der klassischen Analogtechnik unterscheidet, ist die Digitalisierung aller technisch übermittelbaren Kommunikationsformen.

Gesprochene Sprache, Musik, alle Formen von Text, technische (Meß-) Werte, Standbilder wie Fotos und Graphiken, Bildsequenzen, Bewegtbilder wie Video usw. lassen sich ausnahmslos aus ihren ursprünglichen, meist analogen, Signalformen und -darstellungen nach einheitlichen Gesetzen digitalisieren. Die mathematische Grundlage für die umfassende Digitalisierbarkeit liefert u.a. das Abtasttheorem von Shannon und Raabe. Die digitale Darstellbarkeit jedweder technisch gestützten (Tele-) Kommunikation hat so grundsätzliche technische und wirtschaftliche Vorteile, daß sie gegenwärtig mit hoher Geschwindigkeit die klassische analoge Technik verdrängt.

Wichtig ist z.B. die Möglichkeit, digitale Datenströme auch beim Vorliegen starker Störungen perfekt regenerieren zu können. Ein entscheidender Vorteil für die Telekommunikation, deren Aufgabe es ja ist, Informationen über große Entfernungen zu transportieren. So entfällt das beim Analogtelefon übliche Krachen und Rauschen, und die Verständlichkeit selbst interkontinentaler Ferngespräche ist makellos. Ein weiterer zentraler Vorteil ist die beliebige Kombinierbarkeit der einzelnen Kommunikationsformen. Da die digitale Darstellung letztlich alles auf Folgen elementarer Binärzeichen (Bits), also „Null“ und „Eins“ reduziert, braucht ein Telekommunikationsübermittlungssystem nicht mehr zu unterscheiden, ob es eine Sprachsequenz, einen Textabschnitt oder eine in diesen Text eingebettete graphische Darstellung transportiert. Erst die Interpretation am Zielort – die „Sprechbits“ zum Lautsprecher, Text und Graphik auf den Bildschirm usw. –

trennt die unterschiedlichen Kommunikationsformen wieder voneinander. Durch diesen technischen Integrationseffekt ist die moderne digitale Telekommunikation im Sinne der integrierten Handhabung und Nutzung aller möglichen Kommunikationsformen inhärent multimedial, ein entscheidender Gesichtspunkt für die weitere Entwicklung.

Technische Innovationsfaktoren: Hardware

Die entscheidenden mathematisch-theoretischen Grundlagen der Digitalisierung wurden schon vor dem zweiten Weltkrieg erforscht und dokumentiert. Es stellt sich damit natürlich die Frage, warum es bis in die neunziger Jahre dauern mußte, bis sich eine breite Nutzung der geschilderten Vorteile durchzusetzen beginnt.

Die Antwort liegt in der praktisch/technischen Umsetzung. Die zu beherrschenden Funktionen und Abläufe in digitalen Systemen sind so komplex, daß sie sich wirtschaftlich weder in der früheren Elektronenröhrentechnik noch in Transistorschaltungen mit niedrigem Integrationsgrad verwirklichen lassen. Schon gar nicht war die mechanische bzw. elektromechanische Technik der bisherigen Telefonvermittlungen für die Digitalisierung verwendbar. Den Durchbruch brachte die Mikroelektronik.

Da die Integrationsdichte der Chips für typische Telekommunikationsfunktionen heute immer noch etwa um den Faktor 10 unter der von Mikroprozessoren und Speicherchips liegt, sind gerade im Telekommunikationsbereich noch erhebliche Leistungssteigerungen durch höher integrierte Bausteine zu erwarten, so daß auf absehbare Zeit weder von der funktionellen noch von der Kostenreduktionsseite ein Nachlassen der Dynamik zu erwarten ist.

Neben der Mikroelektronik prägt eine zweite hardware-getriebene Entwicklung die Gegenwart und noch mehr die Zukunft der leistungsgebundenen Telekommunikation. Ausgangspunkt sind hier dramatische Fortschritte in der Übertragungstechnik mit Lichtwellenleitern, populär Glasfasern genannt.

Abbildung 1 zeigt die seit 1975 erzielten Fortschritte. Dargestellt sind die steile Abnahme der Übertragungskosten bezogen auf die (Daten-) Übertragungsleistung, gemessen in Mbit/s, und die zu überbrückende Distanz. Die mit Pfeilen in das Bild eingezeichneten Angaben beziehen sich auf die zum jeweiligen Zeitpunkt erreichte Spitzenleistung eines optischen Übertragungssystems. Die Entwicklungslinie ist eindeutig: Telekommunikationskosten werden praktisch unabhängig von der Entfernung und nur schwach abhängig von der aufzubringenden Übertragungsleistung.

Der Einsatz der Glasfaser gewinnt aus heutiger Sicht vorerst seine größte Bedeutung bei der Kapazitätssteigerung auf den Fernverbindungen, auch und besonders

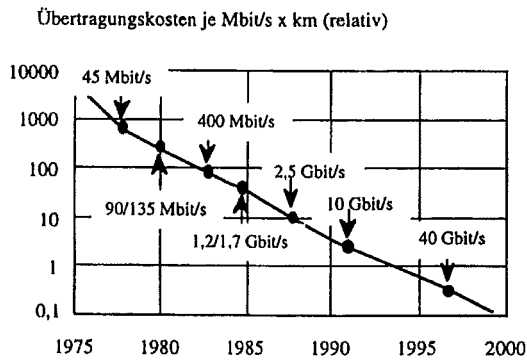


Abb 1: Kostentrend bei der Glasfaserübertragung (Alcatel 1994)

im Weitverkehrs- und interkontinentalen Bereich. Durch die explosionsartige Verbreitung der – zunehmend multimedialer werdenden – Internetkommunikation haben sich in den letzten zwei bis drei Jahren Anforderungen an die weltweiten Übertragungskapazitäten ergeben, die in der Zuwachsrate, aber auch in der absoluten Größe, den herkömmlichen Telefondienst deutlich übertreffen. Da dieser Anstieg ungebremst – möglicherweise überexponentiell – weitergehen wird, kann nur die Schaffung glasfaserbasierter Höchstleistungssysteme einen Kollaps der internationalen Telekommunikationsnetze verhindern. Durch das Aufbrechen der bisherigen Monopole und die weltweite Deregulierung der Telekom-Wirtschaft entstehen im Wettbewerb vieler privater Anbieter hohe neue Übertragungskapazitäten, wozu auch die noch zu besprechende Expansion der Nachrichtensatellitentechnik wesentlich beiträgt.

Eine kontrovers diskutierte Frage ist, ob die Glasfaser sich auch im Anschlußbereich des Teilnehmers, also im Ortsnetz, durchsetzen wird. Hier sieht sich die Glasfaser für den Teilnehmeranschluß zwei konkurrierenden leitungsgebundenen technischen Alternativen gegenüber. Einmal werden bei der Steigerung der Übertragungsleistung des herkömmlichen Kupferkabel- (Telefon-) Netzes erhebliche Fortschritte erzielt, das Stichwort ist hier DSL-Technologie (Digital Subscriber Line), so daß auch durch die heute liegenden Netze über den (Schmalband-) ISDN-Bereich von 144 kbit/s hinaus weit höhere Bitraten übertragen werden können, die eine individuelle Multimedia-Versorgung auch mit schnellem Rückkanal, z.B. für Bildtelefone oder andere Bewegt-Bildübertragungen, ins Internet ermöglichen. Den zweiten Konkurrenten zur Glasfaser bis ins Wohnzimmer stellen die Kabelverteilnetze dar, deren hohe Übertragungskapazitäten bisher ausschließlich für die Verteilung von Hörfunk- und Fernsehprogrammen genutzt werden. Sie können aber ohne großen technischen Aufwand auch für die Zwei-Wege-Kom-

munikation als breitbandige Medien für die individuelle Multimedia-Kommunikation einschließlich der gesamten Telefonie eingesetzt werden. Angebote einer telekommunikativen Vollversorgung auch der Privathaushalte von privaten Kabelnetzbetreibern gibt es bereits u.a. in den USA und Großbritannien. In der Bundesrepublik Deutschland stellt sich die Situation für eine multifunktionale Kabelversorgung übertragungstechnisch gesehen besonders günstig dar, da sie über das dichteste Kabelanschlußnetz der Welt verfügt. Abbildung 2 zeigt nach Angaben der Deutschen Telekom AG die dynamische Ausbreitung der Verkabelung in den letzten 15 Jahren. Angeschlossen sind nach neuesten Angaben 1997 ca. 25 Mio. Haushalte. Damit sind etwa zwei Drittel der Wohnungen in der Bundesrepublik bereits verkabelt, in knapp jeder zweiten Wohnung der Bundesrepublik wird der Kabelanschluß aktiv genutzt.

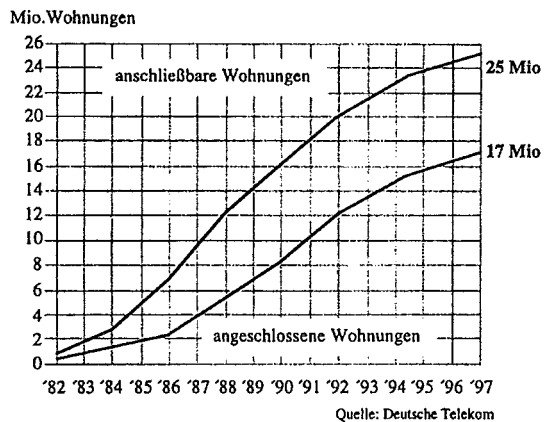


Abb. 2: Kabelanschluß in Deutschland

Zusätzlich im Gespräch, aber mit noch wenig erfolgreichen Ergebnissen, ist die Funkanbindung der Haushalte über feste terrestrische Funkstrecken kurzer Länge, um die für den Massenzugang entscheidenden und für die Telekommunikationsanbieter in ihren Verastelungen sehr teuren letzten Kilometer (last mile) zum Kunden zu überbrücken.

Insgesamt ermöglichen die Hardware-Innovationen in der digitalen Übertragungstechnik also erhebliche Leistungssteigerungen sowohl im Fernnetz als auch beim viel diffizileren und aufwendigeren Zugang zu den räumlich weit verstreuten Endbenutzern, so daß der heute dominierende Bandbreitenmangel, der den vielzitierten „data highway“, die Datenautobahn, in vielen Fällen zum Trampelpfad verkommen läßt, bald, wenn auch schrittweise, der Vergangenheit angehören wird. Durch die Nichtverfügbarkeit von wirtschaftlich nutzbarer Technik sind die Engpässe auf jeden Fall zukünftig nicht zu entschuldigen.

Die Bedeutung der Software in der Telekommunikation

Die jedem Informatiker – gelegentlich leidvoll – geläufige Dualität Hardware – Software prägt sich in der Telematik, die wir ja als Verbindung von Telekommunikation und Informatik verstehen, in besonderer Weise aus. Natürlich gilt auch in der Telematik der – man möchte ihn so nennen – erste Hauptsatz der Hardware-/Softwarebeziehungen: Der Fortschritt in der Hardware, so wie die Mikroelektronik oder die optische Technik zeigen, verläuft exponentiell (Beispiel Abb. 1), während man sich bei den Softwareprodukten schon über eine lineare Leistungs- und Qualitätssteigerung freuen würde. Andererseits ist ganz klar: Zukünftige Telekommunikationssysteme sind in erster Linie Softwaresysteme, also Informatiksysteme.

Ein drastisches Beispiel für diese These zeigt Abbildung 3. Am Beispiel der EWSD-Systeme der Siemens AG ist die Komplexitätszunahme der in digitalen Vermittlungssystemen eingesetzten Softwaresysteme seit 1980 aufgezeichnet. Da die absoluten Zahlen von 50 bis 60 Mio. Instruktionen wenig aussagen, ist als plastischer Vergleich die Softwareentwicklung für einige Meilensteine des US-amerikanischen Raumfahrtpro-

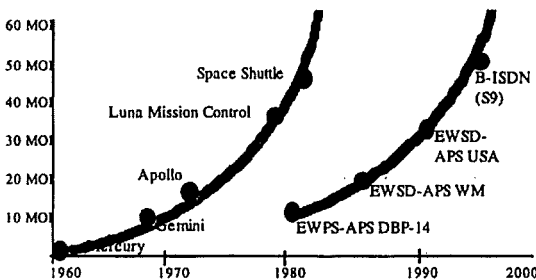


Abb. 3: Komplexitätszunahme von Vermittlungsrechner-Software (MOI = Millionen Objekt-Code Instruktionen)

gramms herangezogen. Es ist schon eindrucksvoll, wenn sich aus diesem Vergleich zeigt, daß der in den siebziger Jahren als gigantisch empfundene Softwareaufwand für das Mondlandeprogramm Apollo schon gut zehn Jahre später in einer digitalen Vermittlungsstelle steckte.

Für die moderne Telekommunikation, die Telematik, gilt über dieses Fallbeispiel hinaus die klare Aussage: Digitale Kommunikationssysteme sind ohne die breite Anwendung der wissenschaftlichen Ergebnisse und Innovationen der Informatik schon heute und erst recht in der Zukunft undenkbar.

Dabei tragen sehr viele Fachdisziplinen der Informatik grundlegendes Wissen zu Entwicklung und Betrieb von Telematiksystemen bei. Ohne den Versuch der

Vollständigkeit und einer Rangordnung seien einige Beispiele genannt: Netzinterne Vermittlungssysteme, aber auch Netzkoppler wie Brücken, Router usw., kommen ohne Realzeitbetriebssysteme genauso wenig aus wie fortgeschrittene multifunktionale Endgeräte. Von diesen Betriebssystemen werden beispielsweise bei Datenraten im Gigabit-Bereich extrem kurze Reaktionszeiten, ein hohes Maß an Parallelverarbeitung und natürlich eine Garantie des Einhaltens vieler zeitkritischer Grenzwerte verlangt.

Schon früh war in der Geschichte der Informatik die damals so genannte Datenfernverarbeitung mit der Datenbanktechnik verknüpft (DC/DB-, Data Communication/Data Base-Systems). Betrachtet man heute den (digitalen) Mobilfunk unter systemtechnischen Gesichtspunkten, dann ist er im Netzzinneren, also hinter der „Luftschnittstelle“ zum mobilen Gerät, bei vereinfachter Betrachtung nichts anderes als eine Ansammlung unterschiedlicher verteilter Datenbanken, die durch einen unaufhörlichen netzinternen Nachrichtenstrom abgefragt, verknüpft und aktualisiert werden.

Überhaupt sind die Computernetzwerke, das Rückgrat aller digitalen Telekommunikationssysteme, aus Sicht der Informatik verteilte DV-Systeme, auf die somit sehr viele Forschungsergebnisse der „Verteilungsforschung“ von der Algorithmenforschung über die hier genannten Gebiete bis zur Künstlichen Intelligenz angewendet werden können.

Unzweifelhaft ist inzwischen, daß die für die Vergangenheit geltende wirtschaftliche und technische Dominanz des Telefonierens durch die multimediale Kommunikation abgelöst wird. Die neue Dimension Multimedia bringt einerseits die geschilderten neuen Größenordnungen des Bedarfs an Übertragungsleistungen und Netzbelastungen. Auf der anderen Seite, und das ist aus Softwaresicht die weitaus größere Herausforderung, erfordern Multimedia-Endgeräte, besonders für die bidirektionale Nutzung, einen sehr hohen Softwareaufwand. Die auf der internationalen Funkausstellung 1997 in Berlin vorgestellten internetfähigen Fernseher („Web-Surfing Television“) sind nichts anderes als leistungsfähige Personal-Computer mit einer fernsehgemäß schlecht auflösenden – Fernsehumbildung darum.

Zwei Herausforderungen der Telematik an die Informatik erscheinen aus heutiger Sicht besonders gravierend und erfordern weitere hohe Forschungsanstrengungen. Das ist zum einen die Steigerung der Softwareproduktivität und, damit eng verbunden, zum anderen die Verbesserung der System- und Software-Zuverlässigkeit. Höhere Produktivität und Qualität sind notwendig, weil der am Beispiel der Vermittlungstechnik geschilderte quantitative Zuwachs an und in Softwareprodukten weiter anhält. Dabei ist weniger die Zunahme der Entwicklungskosten das Problem – er

läßt sich bei erfolgreichen Produkten auf die größeren Stückzahlen gut umlegen –, sondern vielmehr der inzwischen weltweit dramatische Mangel an Informatikern und Programmierern.

Von der Öffentlichkeit noch wenig zur Kenntnis genommen, hat sich zum Beispiel in Deutschland bei rückläufigen Absolventenzahlen die Nachfrage nach Informatikern/DV-Fachkräften 1997 nach einer Steigerung von 60 % im Vorjahreszeitraum nochmals um 50 % erhöht. Nach Angaben der Bundesanstalt für Arbeit liegen damit die Informatiker einsam an der Spitze der sonst eher stagnierenden Arbeitsmärkte für Akademiker. Man versucht zwar die offenbleibenden Stellen durch fachfremde „angelernte“ Jungakademiker zu besetzen, doch zeigt sich, auch nach Eingeständnis vieler Firmen, daß sich eine gute Informatikausbildung gerade für schwierige systemorientierte (Entwicklungs-) Aufgaben wie in der Telematik nicht in Schnellkursen vermitteln läßt. Bedauerlich ist allerdings, daß das Informatikangebot an Universitäten und Fachhochschulen weder im Hauptfach noch im Nebenfach in ausreichendem Maße wahrgenommen wird. Die Studienanfängerzahlen sind zwar – im Unterschied zu einigen „benachbarten“ Natur- und Ingenieurwissenschaften – stabil, teilweise sogar leicht steigend, doch wäre ein kräftiger Studentenzuwachs und damit verbunden eine weitere Förderung der Informatik schon aus Sicht der neuen Tätigkeitsfelder und Arbeitsmarktchancen der digital geprägten Gesellschaft der Zukunft sehr erwünscht und sinnvoll.

Nach diesem Exkurs kommen wir wieder zur Software-Zuverlässigkeit zurück. In großen Telematiksystemen kommt es, gelegentlich öfters als in der guten alten Zeit des Analogtelefons, zu Systemzusammenbrüchen, die dann über viele Stunden ganze (Telefon-) Teilnetze un erreichbar machen. Digitale Kommunikationssysteme sind außerdem leichter durch Angreifer (Hacker, Phreaker usw.) „von innen heraus“ bedrohbar als die robuste elektromechanische Vermittlungstechnik. Zuverlässigkeit und Unverletzbarkeit sind damit zentrale Forderungen an künftige Telematiksysteme, und dazu braucht es sehr solider Forschungsergebnisse aus der praktischen und theoretischen Informatik.

Die zweite qualitativ neue Dimension der Telematik stellen die Megadimensionen der globalen Gruppenkommunikation dar, die in der Technikentwicklung ohne Beispiel sind. Zwar hat schon heute das weltweite Telefonnetz über 900 Millionen Anschlüsse und wird daher gern als „größte (und ausgedehnteste) Maschine der Welt“ bezeichnet. Doch ist das klassische Telefonsystem im wesentlichen ein Mittel der Individualkommunikation, es hat seine netztechnische Aufgabe erfüllt, wenn es die (Sprech-) Verbindung zwischen zwei Teilnehmern hergestellt hat. Das neue Kommunikationsparadigma, repräsentiert durch das Internet, ist aber

gerade nicht auf die Zwei-Partner-Individualkommunikation beschränkt. Es ermöglicht vielfältige Formen der Gruppenkommunikation, auch für sehr große räumlich weit verteilte Gruppen. Der nächste Schritt in der Internetnutzung wird dann der Einbezug der sogenannten Massenkommunikation sein, wie sie heute nur das Fernsehen bietet. Im Gegensatz zum passiven Fernsehkonsum eröffnen sich dann auch im Videobereich die internetspezifischen Möglichkeiten der Individualisierung, der Interaktion und der Bereitstellung eigener Angebote.

Damit ist die große Trennlinie der klassischen Zeit aufgehoben: einerseits die für jeden Bürger zugängliche Individualkommunikation (Telefon, Telefax, auch Brief), andererseits die Beherrschung der Massenkommunikationsmedien (Rundfunk, Fernsehen, Druck-Medien) „als Sender“ nur in der Hand weniger Personen oder Gruppen. Viele hundert Millionen von Menschen parallel als Informationsanbieter und -konsumenten, wie wir sie im Internet oder seinen Nachfolgestrukturen zu erwarten haben, ist ein nie dagewesenes, gigantisches neues Phänomen.

Das gilt nicht nur in wirtschaftlicher, politischer und gesellschaftlicher Hinsicht, sondern auch in Bezug auf die Verwendbarkeit und Belastbarkeit unserer heutigen Informatikmethoden und -systeme. Von deren beliebiger Skalierbarkeit ist nicht auszugehen. Es wird vielmehr ein methodischer Quantensprung, eine neue Qualität bei der Schaffung von Informatiksystemen erforderlich sein. Die Beherrschung dieses Sprunges wird viele Fachdisziplinen der Informatik tangieren und stellt mit Sicherheit eine der größten Herausforderungen an die Kreativität der Informatikforschung in ihrer jungen Geschichte dar.

Mobilkommunikation

Die gern zitierte Zielsetzung auf dem Mobilkommunikationssektor fordert nichts geringeres als die universelle Erreichbarkeit, wofür der einprägsame Slogan „jedermann (oder -frau) zu jeder Zeit an jedem Ort“ steht. Fortschrittlich könnte man noch hinzufügen „mit jeder Kommunikationsform“. Denn es ist klar, daß die Mobiltechnik nicht beim Mobiltelefonieren halt macht, sondern wir schon in kurzer Zeit mobile funkgestützte Internet- und Multimedia-Geräte in der Markteinführung sehen werden.

Die Mobilkommunikation hat sehr viele Anwendungen, an die man vielleicht nicht unmittelbar denkt. So ist es nicht zwingend, daß ausschließlich Menschen mobil miteinander kommunizieren – warum nicht auch fahrerunabhängig, also ganz autonom, Fahrzeuge aller Art? Visionär kann man sich vorstellen, daß in wenigen Jahrzehnten praktisch alle Kraftfahrzeuge mit eigenen leistungsfähigen Internetrechnern mit Serverfunktionalität ausgerüstet sein werden. Diese bordeigenen Te-

lematiksysteme integrieren natürlich auch in automatischer Auswertung alle Informations- und Navigationshilfen, wie sie im satellitengestützten Global Positioning System (GPS), im Digital Audio Broadcast (DAB) und im „interaktiven“ Mobiltelefondienst GSM zur Verfügung stehen.

Die neuen Nutzungsformen mag ein Szenario erläutern, das vielleicht im Jahre 2010 Wirklichkeit sein wird: Bei einer Autobahnfahrt kommuniziert der eigene Bordrechner völlig selbständig mit allen anderen Bordrechnern in seiner Fahrumgebung. Die Fahrzeuge kennen sich also in ihren gegenseitigen Positionen, Geschwindigkeiten usw. An einem Stauende wird das vorausfahrende Fahrzeug per Internet meinem Bordrechner sofort von der Geschwindigkeitsreduktion Mitteilung machen, der dann entweder den Fahrer warnt oder – falls es zeitlich zu knapp wird – selbsttätig ein Bremsmanöver einleitet. Selbstverständlich wird auch der Hintermann per Internet-Zuruf gebremst. Bedenkt man, daß Rechner und Netze in Millisekunden und schneller reagieren können und auch keine Sichtverhinderung benötigen, ist unmittelbar einzusehen, daß hier ein großes Unfallverhütungspotential liegt. Sollte es trotzdem zum Unfall kommen, wird der die Airbag-Auslösung erkennende Bordrechner sofort eine Alarmmeldung an alle folgenden Fahrzeuge absetzen. Zentrale stationäre Server im Internet, die das Fahrzeug permanent „im Blick“ haben, erkennen ebenfalls den Unfall und verständigen umgehend die Polizei- und Rettungsfahrzeuge, die am nächsten zum Unfallort positioniert sind. Mit dieser Meldung werden die Hilfsfahrzeuge aus der im Internet vorhandenen Gesamtsicht der Verkehrssituation mit Navigationsinformation über den verkehrsgünstigsten Anfahrweg zur Unfallstelle versorgt. Visionär an diesem Beispiel sind vielleicht die Größenordnungen des Aufwandes für die Umsetzung, nicht aber die technischen Voraussetzungen; sie sind im wesentlichen schon heute gegeben.

Ein anderes, sehr lebensnahes Beispiel aus der Telemedizin ist der am Körper getragene Internet-(Mikro-) Computer, der fortlaufend wichtige Biosignale gesundheitlich gefährdeter Menschen automatisch erfaßt und auswertet. Bei sich abzeichnenden Gefahrensituationen wird gegebenenfalls ohne Beteiligung des Patienten über eine GSM-Funkschnittstelle medizinische Hilfe herbeiholt, wobei deren Umfang ansatzweise schon per Telediagnose aus den vom persönlichen Rechner gelieferten Diagnosedaten abgeschätzt werden kann.

„Jedermann zu jeder Zeit an jedem Ort“ bedeutet also nicht nur, daß man telefonisch auch im stillsten Winkel jederzeit erreichbar sein wird – eher eine Schreckensvision –, sondern daß sich unter dem Stichwort „universelle Mobilkommunikation“ ganz andere, heute noch kaum vorstellbare technische Möglichkeiten verbergen.

Allerdings: Weite Teile – in der Realität der überwiegende Teil – der Erdbevölkerung und damit verbunden große Abschnitte der Erdoberfläche sind kommunikationstechnisch kaum erschlossen. Hier gelten die Maßstäbe der entwickelten Industriestaaten nicht. Auch zukünftig ist nicht zuletzt wegen der räumlichen Ausdehnung von Staaten wie Rußland, China oder Indien eine flächendeckende terrestrische Kommunikationsinfrastruktur, ob kabelgebunden oder mit terrestrischer Funktechnik, nicht zu erwarten. Für die flächendeckende weltweite Erreichbarkeit („an jedem Ort“) ist daher die Satellitentechnik unverzichtbar.

Auch bei den Telekommunikations-Satelliten stehen wir im technologischen Umbruch. Dominieren bis heute die geostationären Satelliten in ca. 36000 km Höhe über dem Äquator, werden in Zukunft niedrig fliegende Satelliten, z.B. die als LEO (Low Earth Orbiting) Satelliten bezeichneten Systeme, eine große Rolle spielen. Ein solcher Satellit ist mit einem Satelliten-Handy ansprechbar, das sich in Größe und Gewicht kaum von einem heutigen GSM-Mobilfunkgerät unterscheidet. Die neue Generation der IRIDIUM-Satelliten kann da-

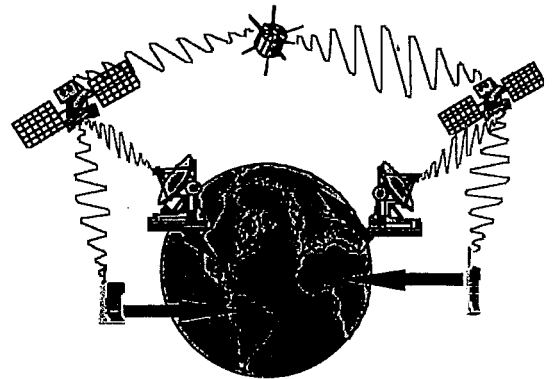


Abb. 4: Vermittlung über Satelliten

bei teilweise auf das Zwischenschalten von – aufwendigen – Erdstationen verzichten und eine Vermittlung über auf dem Weg liegende Nachbar-Satelliten vornehmen (Abb. 4). Das geschieht natürlich über dort eingebaute Telekommunikationsrechner bzw. über einen Verbund von Rechnern im Satelliten.

Die Telematik hält mit den dafür erforderlichen komplexen Vermittlungsfunktionen auch Einzug in die Satellitenwelt und bekommt so im wahrsten Sinne des Wortes eine weitere weltumspannende Perspektive.

(Literatur beim Verfasser)

Professor Dr.-Ing. Erik Maehle

Direktor des Instituts für Technische Informatik

So wie die Lübecker Informatik-Studenten, im fünften Jahr des neuen Studiengangs, noch zu dessen Pionieren zählen, taten es auch ihre heutigen Professoren, als sie vor gut fünfundzwanzig Jahren selbst studierten: Professor Dr.-Ing. Erik Maehle, Direktor des Instituts für Technische Informatik und einer der beiden Prodekane der Technisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, gehörte, 1970 in Erlangen, zu der ersten Studentengeneration in seinem Fach.

Aus Transistoren und Dioden bastelte er sich, 1951 im westfälischen Siegen geboren, schon als Jugendlicher den ersten eigenen Rechner. Programmiert wurde zunächst noch mit Lochkarten, erst während seines Studiums kamen die ersten Terminals auf. Im Schwerpunktfach spezialisierte er sich auf Betriebssysteme, Nebenfach Elektrotechnik. 1977 machte er sein Diplom, 1982 promovierte er mit einer Arbeit über „Fehlertolerantes Verhalten in Multiprozessoren – Untersuchungen zur Diagnose und Rekonfiguration“.

Professor Wolfgang Händler, sein akademischer Lehrer, gehört selbst zu den frühen Pionieren der Rechnerentwicklung in Deutschland. 1996 lud Professor Maehle ihn zu einer Gastvorlesung nach Lübeck ein. Thema im Hörsaal der ehemaligen Seefahrtsschule war Geschichtsträchtiges aus den allerersten Jahren: „Konrad Zuses Beiträge zur parallelen Datenverarbeitung“ – eine Hommage, wie es im Untertitel hieß, „für den Meister“.

Als Post-Doc war Professor Maehle ein Jahr am IBM Forschungslabor in Zürich und befaßte sich insbesondere im Rahmen des Token-Ring-Projektes mit lokalen Rechnernetzen. Seit 1981 war er in Erlangen Gruppenleiter eines Projektes zur Entwicklung eines 25-Prozessor-Parallelrechners, der 1985 als Experimentiersystem in Betrieb ging.

Die weiteren Stationen: 1987 C3-Professor für Praktische Informatik am Mathematischen Institut der Universität Augsburg, 1989 C4-Professur für Datentechnik im Fachbereich Elektrotechnik der Universität-Ge-

samthochschule Paderborn, 1991 Vorstandsmitglied des Paderborner Zentrums für Paralleles Rechnen und im Heinz-Nixdorf-Institut Paderborn, 1992 nochmals für ein halbes Jahr bei IBM in Zürich, am PRIZMA-Projekt zu Gigabit-Netzen. Zum 1. Dezember 1994 folgte er dem Ruf auf die C4-Professur an der Lübecker Uni und übernahm die Leitung des neu eingerichteten Instituts für Technische Informatik. Professor Maehle ist Sprecher des Fachausschusses „Systemarchitektur“ der Gesellschaft für Informatik, dem neben anderen die für Parallelrechner zuständige Fachgruppe zugehört.



Parallelrechner – Forschungsschwerpunkt in Professor Maehles Institut – machen von sich reden. Im vergangenen Jahr besiegte in New York der Parallelrechner Deep Blue mit seinen 512 Prozessoren auf spektakuläre Weise den Schachweltmeister Kasparow in einem regulären Turnier über sechs

Partien. Für Lübeck ist ein System mit 32 Prozessoren geplant, das in der Lage sein wird, über 10 Milliarden Rechenoperationen in der Sekunde auszuführen.

Bei den Leistungssteigerungen und sich ständig erweiternden Nutzungsmöglichkeiten von Computern wird oft zu wenig beachtet, daß sie sich nicht allein geschickterer Softwareentwicklung, sondern ganz wesentlich den rasanten Fortschritten bei der Hardware verdanken. Dies ist die Domäne der Technischen Informatik. Zur Zeit verdoppelt sich die Rechen- und Speicherleistung vergleichbarer Systeme etwa alle anderthalb Jahre. Man nimmt an, daß diese Steigerungsraten auch in den nächsten Jahren anhalten werden. Speziell bei den Parallelrechnern ist die Marktentwicklung gegenwärtig ausgesprochen dynamisch. Sie haben sich mittlerweile für besonders aufwendige wissenschaftliche Berechnungen als die geeignetsten Systeme durchgesetzt. Professor Maehle hat darüber seine Lübecker Antrittsvorlesung gehalten: „Parallelrechner – Höchstleistung durch Teamarbeit“.

Ein weiteres Spezialfeld der Technischen Informatiker in Lübeck ist Fehlertoleranz. Es werden Verfahren und

Software entworfen, die Systemzusammenbrüche bei auftretenden Komplikationen verhindern. Bedenkt man, daß bestimmte Rechneranwendungen für aufwendige wissenschaftliche Simulationen oft über viele Wochen laufen, läßt sich ermessens, wie notwendig derartige Sicherungssysteme sind.

Fehlertoleranz ist beispielsweise auch bei der Mustererkennung von Bedeutung, wie sie bei der Auswertung bildgebender Verfahren in der medizinischen Diagnostik oder bei mobilen, selbststeuernden Robotern benötigt wird. Solche experimentellen Roboter, die sich im Raum selbsttätig orientieren können, werden von Lübecker Informatik-Studenten im Rahmen ihres Elektronik-Praktikums konstruiert. Sie wurden im vergangenen Herbst, auf dem 2. Lübecker Hochschultag, in der Musik- und Kongreßhalle einem beeindruckten Publikum präsentiert. In allen diesen Arbeitsgebieten ergeben sich beispielsweise auch zahlreiche Anknüpfungspunkte zum Neuro-Computing.

Überhaupt sind die Kooperationen und Anwendungen der Technischen Informatik an der Lübecker Uni ausgesprochen interdisziplinär, nicht nur fächer-, sondern wirklich fakultätenübergreifend – eben Teamarbeit im besten Wortsinne. Gemeinsame Projekte bestehen zum Beispiel mit dem Institut für Medizintechnik bei der Entwicklung neuer Methoden zur nicht-invasiven Bestimmung der Narkosetiefe oder mit zahlreichen Partnern bei den bereits erwähnten Entwicklungen zur Mustererkennung, beispielsweise zur Beurteilung des Erfolges von Operationen am Augenhintergrund.

Thema Informatik in Lübeck und ihr spezifisches Profil: Professor Maehle hebt, mit Blick auf eines der Nachbarfächer, Multimedia als einen der vielversprechenden Schwerpunkte hervor. Das von Professor Herczeg aufgebaute Multimedia-Entwicklungszentrum Schleswig-Holstein (MESH) ist ein über die Uni-

versität bereits hinausgewachsenes Kooperationsprojekt. Weitere deutliche Impulse für die unmittelbare Zusammenarbeit von Informatikern und Medizinern erwartet Professor Maehle auch von der bevorstehenden Besetzung der Professur für Neuro- und Bioinformatik.

Seine bisherige Bilanz des Studiengangs Informatik an der Medizinischen Universität fällt nach wie vor ausgesprochen positiv aus. Er stützt sich dabei insbesondere auch auf die anhaltende, hervorragende bundesweite Nachfrage nach den Lübecker Studienplätzen. Äußerst dringend ist aber jetzt die zügige Errichtung des von Anfang an vorgesehenen Informatik-Gebäudes auf dem Campus. Die Planungen dazu sind leider zeitweise recht schleppend betrieben worden, so daß die Informatik-Institute gegenwärtig auf verschiedene Standorte in der Stadt verteilt sind.

Professor Maehle hat sich in Lübeck in besonderer Weise für die Einrichtung des Nebenfaches Elektrotechnik im Studiengang Informatik eingesetzt. Die Konzeption hat Modellcharakter: zusätzliche attraktive Studienspezialisierungsangebote – neben den bisherigen Nebenfächern Medizinische Informatik und Bioinformatik/Biomathematik – im Fernstudium, in Zusammenarbeit mit der Fernuniversität Hagen. Außer in Lübeck gibt es das für Elektrotechnik nur in Passau, mit einem Fernstudienzentrum und allen damit verbundenen Präsenzstudienanteilen am Ort tatsächlich nur in Lübeck.

Professor Maehle ist verheiratet und hat einen neunjährigen Sohn. Für sein Hobby, das Segeln, bietet Lübeck günstige Standortvorteile. Er hat schon während des Studiums die Ostsee durchkreuzt. Allerdings bleibt gegenwärtig für die Jolle auf dem Ratzeburger See und die Yacht in Travemünde kaum Zeit.

R. Labahn

Focus MUL Sonderheft Informatik

Als Focus MUL Sonderheft Informatik 1997 ist der Dreijahresbericht der Institute für Informatik und Mathematik der Medizinischen Universität erschienen. Der Bericht umfaßt den Zeitraum 1994-1996. Auf insgesamt 138 Seiten sind u.a. ein Abriß über den Aufbau der Informatik an der MUL sowie detaillierte Informationen über Forschung und Lehre an den Lübecker Informatik-Instituten enthalten. Für jedes Institut werden ein Personalspiegel, Forschungsschwerpunkte, Einzelprojekte und eine Publikationsliste aufgeführt. Das Focus MUL Sonderheft Informatik 1997 kann in der Informations- und Pressestelle der Medizinischen Universität, 23538 Lübeck, bezogen werden (0451/500-3004, presse@zuv.mu-luebeck.de).

Personalia

Ruf nach auswärts angenommen

Medizinische Fakultät:

Privatdozent Dr. med. Harald Freyberger, Klinik für Psychiatrie der Medizinischen Universität, hat einen Ruf auf die C4-Professur für Psychiatrie und Psychotherapie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald angenommen.

Professor Dr. med. Ursula Froster, früher Institut für Humangenetik und Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität, hat einen Ruf auf die C4-Professur für Humangenetik an der Universität Leipzig angenommen.

Privatdozent Dr. rer. soc. Dipl.-Psych. Reinhard Pietrowsky, Klinische Forschergruppe „Neuroendokrinologie“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Medizinischen Klinik I der Medizinischen Universität, hat einen Ruf auf die C3-Professur für Klinische Psychologie an der Universität Düsseldorf angenommen.

Privatdozent Dr. med. Michael Schulte-Markwort, Poliklinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie der Medizinischen Universität, hat einen Ruf auf die C3-Professur für Kinder- und Jugendpsychiatrie an der Universität Hamburg angenommen.

Ruf nach Lübeck angenommen

Technisch-Naturwissenschaftliche Fakultät:

Prof. Dr.-Ing. Til Aach, Aachen, hat den Ruf auf die C4-Professur für Signalverarbeitung und Prozeßchentechnik der Medizinischen Universität angenommen.

Medizinische Fakultät:

Privatdozent Dr. med. Peter Mailänder, Medizinische Hochschule Hannover, hat den Ruf auf die C3-

Professur für Plastische Chirurgie an der Medizinischen Universität angenommen.

Fachgesellschaften, Kommissionen

Medizinische Fakultät:

Professor Dr. phil. nat. Reginald Birngruber, Forschungsleiter des Medizinischen Laserzentrums Lübeck (MLL), wurde von der Optical Society of America zum Programme Chairman der Konferenz „Therapeutic Laser Applications“ beim „Spring Topical Meeting“ vom 8. bis. 12. März 1998 in Orlando, Florida, USA, gewählt. Im Jahre 1999 wird die Optical Society of America erstmals in Deutschland ein Topical Meeting abhalten, das während der Messe „Laser 99“ in München stattfinden soll. Für diese Konferenz wurde Professor Birngruber als Konferenz Chairman gewählt.

Professor Dr. med. Hasib Djonic, Medizinische Klinik I der Medizinischen Universität, wurde erneut in den Wissenschaftlichen Beirat der Deutschen Gesellschaft für Internistische Intensivmedizin und Notfallmedizin und der Österreichischen Gesellschaft für Internistische Allgemeine Intensivmedizin gewählt.

Professor Dr. med. Wolfgang Jekmann, Direktor des Instituts für Physiologie der Medizinischen Universität, wurde vom Ministerium für Umwelt, Natur und Forsten des Landes Schleswig-Holstein zum Mitglied der Tierschutzgesetz-Kommission berufen. Er wurde des weiteren ins Editorial Board der Fachzeitschrift „Bloodline – the online hematology resource“ (<http://www.bloodline.net>) aufgenommen.

Professor Dr. med. Dr. med. dent. Richard Kessel, Direktor des Instituts für Arbeitsmedizin der Medizinischen Universität, wurde zum Geschäftsführenden Vorstandsmitglied der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin gewählt. Er wurde außerdem mit Wirkung vom 1. Juli 1997 zum Mitglied der Sachverständigenkommission beim Insti-

VERSICHERUNGSMAKLERBÜRO

Unser Service für Ärzte und Studenten:

- Kostenlose Analyse bestehender Versicherungsverträge
- Vermittlung sämtlicher Rahmen- und Gruppenverträge mit Verbänden und Organisationen für Ärzte
- Dadurch konsequent preiswert •

EDV Sonderservice:

Krankenversicherungsvergleich	(40 Gesellschaften)
Lebensversicherungsvergleich	(103 Gesellschaften)
Rentenversicherungsvergleich	(103 Gesellschaften)
KFZ-Versicherungsvergleich	(106 Gesellschaften)

Finanzierungen • Niederlassungsberatung

Karl-Ludwig Jänicke GmbH

Königstraße 47 · 23552 Lübeck · Tel. 04 51/7 79 15 · Fax 04 51/70 46 23

Versicherungen

Jänicke

tut für medizinische und pharmazeutische Prüfungsfragen (IMPP), Mainz, berufen.

Professor Dr. med. Horst L a q u a, Direktor der Klinik für Augenheilkunde der Medizinischen Universität, wurde für vier Jahre zum Präsidenten der Norddeutschen Vereinigung der Augenärzte gewählt.

Professor Dr. rer. Günter S c h ä f e r, Direktor des Instituts für Biochemie der Medizinischen Universität, wurde vom Senat der Deutschen Forschungsgemeinschaft zum Mitglied des Senatsausschusses für Sonderforschungsbereiche und zugleich zum Mitglied des Bewilligungsausschusses für SFBs gewählt. Die Amtszeit begann am 1. Juli 1997 und beträgt zunächst dreieinhalb Jahre.

Professor Dr. med. Eberhard S c h w i n g e r, Direktor des Instituts für Humangenetik der Medizinischen Universität, wurde von der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik beauftragt, die Jahrestagung der Gesellschaft im Jahr 2000 in Lübeck vorzubereiten und zu leiten.

Professor Dr. med. Hans-Dieter W e i s s, Direktor des Institutes für Radiologie der Medizinischen Universität, wurde zum Präsidenten des Deutschen Röntgenkongresses 1999 in Wiesbaden gewählt.

Preise

Medizinische Fakultät:

Die von Privatdozent Dr. med. Andreas B ö h l e geleitete urologisch-immunologische Arbeitsgruppe aus der Klinik für Urologie der Medizinischen Universität und dem Forschungszentrum Borstel hat für die Arbeit „Die BCG-aktivierte Killerzelle: Untersuchung spezifischer Erkennungs- und Tötungsmechanismen zur Charakterisierung des Wirkprinzips der intravesikalen Immuntherapie mit Bacillus Calmette-Guérin“ (Koautoren: Ch. Durek, I. Schäfer, S. Brandau, A.J. Ulmer, H.-D. Flad und D. Jocham) den C.E. Alken-Preis 1997 erhalten. Außerdem erhält Herr Dr. Böhle von der Else Kröner-Fresenius-Stiftung, Bad Homburg, für sein Folgeprojekt „Untersuchungen zur Verminderung der Rezidivrate des Urothelkarzinoms durch Reduktion der lokalen Adhäsion und Implantation von Tumorzellen an die Blasenwand mittels adhäsionsinhibierender Oligopeptidgemische („Integrinblocker“) in urologischen Spüllösungen, seit 1997 mit neuartigen Versuchsansätzen u. a. der Phage Display Assay“ für ein weiteres Jahr eine Förderung in Höhe von 100.000 DM.

Dr. C h a i, Zhigang, Doktorand aus China an der Klinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie der Medizinischen Universität, wurde am 25. Oktober 1997 anlässlich der 3. Konferenz der „School of Stomatologie“ der Medizinischen Universität Peking für seine in Lübeck durchgeführte experimentelle Dissertation „The

amount of available tissue in the cleft palate and in the normal palate and related morphometry. An experimental study in trisomy 18 mice“ mit dem 2. Preis ausgezeichnet.

Dr. Dorit H a m a n n, Klinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie der Medizinischen Universität, wurde anlässlich der 47. Tagung der Schleswig-Holsteinischen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde am 25. Oktober 1997 in Kiel ein Preis für die beste Dissertation verliehen. Der Titel ihrer Arbeit lautet „Untersuchung morphometrischer Veränderungen der Schädelbasis und angrenzender Strukturen an Mäuseembryonen mit durch Trisomie 18 induzierten Gaumenspalten“.

Dr. med. Detlef K ö r t k e, bisher Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität und jetzt Neurologisch-Psychiatrische Klinik des Städtischen Klinikums Braunschweig, erhielt als einer der vier Preisträger von der Ministerin für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Kultur des Landes Schleswig-Holstein den Preis 1997 für ausgezeichnete akademische Lehre. Der Preis ist mit einer Zuwendung in Höhe von DM 10.000 für lehrbezogene Aktivitäten verbunden.

Professor Dr. rer. nat. Ewald K o n e c n y, Direktor des Instituts für Medizintechnik, und Professor Dr. med. Peter S c h m u c k e r, Direktor der Klinik für Anästhesiologie der Medizinischen Universität, haben einen Preis der American Society of Anesthesiology erhalten. Die Auszeichnung wurde ihnen im Oktober 1997 auf dem weltweit größten Fachkongress für Anästhesiologie in San Diego/USA zusammen mit ihren Mitarbeitern als aus Lübeck an dem Forschungsvorhaben „Assessment of Adequacy of Anaesthesia by Spontaneous and Evoked Brain Electrical Activity“ Beteiligten, nach 1996 in Atlanta/USA, bereits zum zweiten Mal verliehen.

Privatdozent Dr. med. Matthias M a a ß, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Medizinischen Universität, wurde für seine Arbeiten zur innovativen Diagnostik von Chlamydia-pneumoniae-Infektionen von der Stiftung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie der „bio Mérieux-Diagnostikpreis 1997“ in Höhe von DM 5.000 verliehen. Dr. Maaß erhielt außerdem für den Abstract „Coronary arteries harbour viable Chlamydia pneumoniae“ (Koautoren: E. Krause, S. Krüger, P.M. Engel, C. Bartels) auf dem 8th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 1997 in Lausanne/Schweiz die Auszeichnung als „Outstanding Abstract“.

Dipl.-Biol. Lisa M a r s h a l l, Klinische Forschergruppe „Neuroendokrinologie“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Medizinischen Klinik I der Medizinischen Universität, wurde von der Deutschen Gesellschaft für Schlafforschung und Schlafmedizin (DGSM) für ihre Arbeit „Scalp Recorded Direct Cur-

rent Brain Potentials during Human Sleep“ (Koautoren: M. Mölle, H.L. Fehm, J. Born) anlässlich des 5. Deutschen Kongresses für Schlafforschung und Schlafmedizin, „Schlaf und Müdigkeit“, vom 12. bis 15. Juni 1997 in Berlin mit dem Nachwuchspreis der DGSM ausgezeichnet. Der Preis ist von der Firma Weinmann, Hamburg, gestiftet und mit DM 6.500 dotiert.

Dr. med. Hartmut O c k e r erhielt für seine Dissertation „Veränderungen chromosomaler Paarungsstrukturen während der weiblichen Meiose nach Einwirkung von Cyclophosphamid – Eine Pachy-tänanalyse anhand des synaptonemalen Komplexes in den Oozyten der Hausmaus“ den staatlichen Universitätspreis 1997 der Medizinischen Fakultät der Medizinischen Universität. Die Arbeit wurde bei Privatdozent Dr. rer. nat. Reiner Johannisson im Institut für Pathologie der Medizinischen Universität angefertigt.

Dr. med. Eva R e i n h o l d - K e l l e r, Rheumaklinik Bad Bramstedt und Poliklinik für Rheumatologie der Medizinischen Universität, hat anlässlich der Regionaltagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie vom 19. bis 21. September 1997 in Düsseldorf den von der Firma Pharmacia & Upjohn geförderten und mit 1.000 DM dotierten Posterpreis erhalten.

Privatdozent Dr. med. Stephan R e m m e r t, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Medizinischen Universität, hat für seine erfolgreichen experimentellen und klinischen Studien zur Mikrochirurgie in der HNO am 11. Dezember 1997 den mit 5.000 DM dotierten Habilitationspreis der Medizinischen Gesellschaft zu Lübeck erhalten. Privatdozent Dr. med. Dr. med. dent. Ralf Siegert, Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Medizinischen Universität, wurde mit dem 3. Technologiepreis des Landes Mecklenburg-Vorpommern 1997 für ein neuartiges „Knochenleitungshörgerät mit Flüssigkeitsankopplung“ ausgezeichnet. Er wurde des weiteren als erster Vizepräsident in das Präsidium der „International Society for Jet-Cutting in Medicine“ gewählt. Die Gesellschaft mit Sitz in Schwerin hat sich die Erforschung und Förderung der Wasserstrahlanwendungen in der Humanmedizin zum Ziel gesetzt.

Dr. Julia W e l z e l, Klinik für Dermatologie und Venerologie der Medizinischen Universität, erhielt für ihre Arbeiten zur optischen Kohärenztomographie (OCT) der Haut einen Forschungspreis der Firma La Roche Posay in Höhe von FF 15.000 sowie den von der Firma Hoechst Marion Roussel geförderten Preis des 6. Hansischen Dermatologentreffens 1997 in Lübeck. Die in Kooperation mit dem Medizinischen Laserzentrum Lübeck (MLL) durchgeführten Arbeiten werden durch die Werner und Klara Kreitz-Stiftung zur Förderung der Krebsforschung unterstützt und wurden auch auf der MEDICA 1997 in Düsseldorf vorgestellt.

Technisch-Naturwissenschaftliche Fakultät:

Dr. rer. nat. Dipl.-Biochem. Dipl.-Biol. Franco Harald F a l c o n e erhielt für seine Dissertation „In-vitro-Freisetzung von Interleukin-4 aus humanen basophilen Granulozyten nach Stimulation mit Schistosoma mansoni Ei-Antigen (SEA) und anderen parasitären Extrakten“ den staatlichen Universitätspreis 1997 der Technisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Medizinischen Universität. Die Arbeit wurde bei Professor Dr. rer. nat. Ernst Theodor Rietschel im Forschungszentrum Borstel angefertigt.

Dr. rer. nat. Christian S c h i n d e l h a u e r hat für seine Dissertation „Average- und Median-Komplexitätsklassen“ den mit 5000 DM dotierten Professor-Otto-Roth-Preis 1997 der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Medizinischen Universität erhalten. Die Arbeit entstand bei Prof. Dr. math. Rüdiger Reischuk im Institut für Theoretische Informatik der Medizinischen Universität.

Krebsregister Schleswig-Holstein

Professor Dr. med. Dr. phil. Hans-Heinrich R a s p e, Direktor des Instituts für Sozialmedizin der Medizinischen Universität, ist zum Direktor der Registerstelle des Krebsregisters Schleswig-Holstein, des an das Universitätsinstitut angebundenen Institutes für Krebsepidemiologie e.V., ernannt worden.

Forschungsförderung

Medizinische Fakultät

Professor Dr. phil. nat. Reginald B i r n g r u b e r und Dipl.-Phys. Ralf E n g e l h a r d t, Medizinisches Laserzentrum Lübeck (MLL), wurde vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie eine Förderung für das Verbundprojekt „Optische Tomographie“, Teilvorhaben „Optische Kohärenztomographie zur mikroskopischen Darstellung von oberflächennahen Strukturen in menschlichem Gewebe“ bewilligt. Die Fördersumme beträgt 547.000 DM für den Zeitraum 1.8.1997 bis 31.7.1999, die Gesamtausgaben des Projekts betragen 614.000 DM.

Dr. med. Andreas D e n d o r f e r, Institut für Pharmakologie der Medizinischen Universität, ist von den Firmen Bristol-Myers Squibb Company und Sanofi mit dem „Irbesartan Research Awards Program“ über 25.000 \$ für seine Studie „Modulation of Real Sympathetic Outflow by Irbesartan“ ausgezeichnet worden.

Professor Dr. med. Horst L a q u a, Direktor der Klinik für Augenheilkunde, und Privatdozent Dr. rer. nat. Holger N o t b o h m, Institut für Medizinische Molekularbiologie der Medizinischen Universität, wurde für ihren Antrag „Der Glaskörper – Biochemische und biophysikalische Analyse seiner Strukturelemente“ eine

biologie der Medizinischen Universität, wurde für ihren Antrag „Der Glaskörper – Biochemische und biophysikalische Analyse seiner Strukturelemente“ eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft für zwei Jahre bewilligt.

Professor Dr. rer. Günter S c h ä f e r, Direktor des Instituts für Biochemie der Medizinischen Universität, wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft erneut ein Vorhaben im Normalverfahren bewilligt. Das Projekt „Mutagenese von *Sulfolobus acidocaldarius*: Differenzierung archaebakterieller Atmungssysteme“ wird für zwei Jahre mit einer Postdoc- und einer Doktorandenstelle sowie Sachmitteln in Höhe von DM 55.000 gefördert. Die Weiterförderung für ein drittes Jahr ist bereits in Aussicht gestellt.

Professor Dr. rer. nat. Alfred X. T r a u t w e i n und Dr. rer. nat. habil. Heiner W i n k l e r, Institut für Physik der Medizinischen Universität, wurde vom BMBF das Projekt „Polarisations- und Zeitabhängigkeit von kernresonanter Streuung zur Bestimmung der elektronischen und magnetischen Struktur von Metallzentren in Biomolekülen mittels Hyperfeinwechselwirkung im Mössbauerkern“ für drei Jahre mit Personal- und Sachmitteln in Höhe von insgesamt DM 168.400 bewilligt. Das Vorhaben ist Teil des Verbundprojekts 43 „Hochauflösende kernresonante Streuung von Synchrotronstrahlung: Entwicklung neuer Methoden und erste Anwendungen“ am Deutschen Elektronen-Synchrotron DESY in Hamburg.

Professor Dr. med. Karl W e s s e l, bisher Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität und seit Oktober 1997 Chefarzt der Neurologisch-Psychiatrischen Klinik des Städtischen Klinikums Braunschweig, und Privatdozent Dr. rer. soc. Dipl.-Psych. Rolf V e r l e g e r, Klinik für Neurologie der Medizinischen Universität, wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms „Mechanismen des Assoziativen Lernens“ als Fortsetzungsförderung des Projektes „Cerebellum und Assoziatives Lernen“ eine Sachbeihilfe bewilligt.

Gastwissenschaftler

Technisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Dr. Ken S a h a r a von der Hokkaido-Universität, Japan, hält sich vom 1.12.1997 bis 31.11.1998 als Gastforscher am Institut für Biologie der Medizinischen Universität auf. Dr. Sahara erhält ein Stipendium des japanischen Unterrichtsministeriums. Auf dem gemeinsamen Programm stehen molekulargenetische und cytogenetische Arbeiten über geschlechtsbestimmende und geschlechts-spezifisch exprimierte Gene.

Tagungen

3RD International Symposium on auricular and middle ear malformations, ear defects and their reconstructions

Fehlbildungen der Ohrmuschel und des Mittelohres zählen zu den häufigsten Fehlbildungen im Kopf-Halsbereich. Allein in Deutschland haben etwa zehntausend Patienten schwere angeborene Veränderungen des Ohres mit äußeren Entstellungen und schweren Hörstörungen.

Vom 6. bis 9. September 1997 fand in der Klinik für HNO-Heilkunde der Medizinischen Universität zu Lübeck das „3rd International Symposium on Auricular and Middle Ear Malformations, Ear Defects and their Reconstruction“ mit Gästen aus der ganzen Welt statt.

Im Rahmen von 60 Vorträgen und Postern sowie Round-table-Diskussionen wurde der heutige Stand der chirurgischen und epithetischen Rehabilitation dieser Patienten eingehend dargestellt und diskutiert, über die Behandlung der zusätzlichen Kieferdeformität wurde aus der Klinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie der Medizinischen Universität zu Lübeck berichtet. In der zweiten Hälfte des Symposiums demonstrierten die derzeit erfahrensten Ohrmuschel- und Mittelohrchirurgen aus Amerika, Japan und Deutschland ihre Techniken im Rahmen von insgesamt 15 Live-Operationen. Beeindruckend war dabei nicht nur die chirurgisch diffizile Technik, sondern insbesondere auch die zum Teil sehr unterschiedlichen Wege, die zum Erfolg führen.

Kurzfassungen der Vorträge und Poster werden in einem Symposiumssband der Zeitschrift „Face“ veröffentlicht.

H. Weerda, R. Siegert

Erstmalig bundesweiter **KINDER- REHAFÜHRER** erschienen!

„WER HILFT WEITER? Einrichtungen der Vorsorge und Rehabilitation für Kinder und Jugendliche“

Herausgegeben vom Kindernetzwerk e.V.
in Kooperation mit dem Bundesverband der Betriebskrankenkassen
und der Deutschen Gesellschaft für Sozialpädiatrie und Jugendmedizin

Gesamtkoordination: Raimund Schmid

ISBN 3-7950-1907-9 · 306 Seiten · DM 36,- zzgl. Versand.

Im Buchhandel erhältlich oder beim Verlag Schmidt-Römhild, Mengstraße 16, 23552 Lübeck



- ⊕ Beschreibung von **93 Reha- und Vorsorgeeinrichtungen** für Kinder und Jugendliche
- ⊕ Einmaliger Index mit **500 Indikationsschlagworten**
- ⊕ Allgemeiner **Informationsteil** über den derzeitigen Stand der Rehabilitation für Kinder und Jugendliche
- ⊕ Mit weiterführendem **Adress- und Serviceteil**

Dieser Kinder Rehaführer wendet sich an:

- Eltern mit ihren betroffenen Kindern u. Jugendlichen
- Nichtmedizinische Therapeuten wie Psychologen
- Pädagogen, Sozialarbeiter oder Erzieherinnen
- Frühförderstellen
- Apotheken
- Ärzte in Kliniken, Praxen und Gesundheitsämtern
- Krankenkassen
- Kur- und Rehazentren / Kinderkrankenhäuser
- Organisationen und Sozialverbände
- Behörden (Jugend- und Sozialämter)

NEU!
**KINDER-
REHAFÜHRER**

Tagungsankündigung:

Wie tief schlafe ich in der Narkose? Aktuelle Verfahren zur Bestimmung der Narkosetiefe

Lübecker Frühjahrssymposium der Klinik für Anästhesiologie und des Instituts für Medizintechnik der MUL am Samstag, dem 18. April 1998, 9:30 - 13:45 Uhr im Hörsaal Z 3 (Zentralklinikum) der MUL

Die im Thema des Frühjahrssymposiums 1998 gestellte Frage beschäftigt seit dem Beginn der Anästhesie nicht nur die Ärzte, sondern in besonderem Maße auch die Patienten. Hinter der von den letzteren häufig gestellten Frage „bekomme ich auch ja nichts mit?“ verbirgt sich die ernstzunehmende Sorge einer unzureichend tiefen Narkose mit der Folge von Schmerzen und anderen Wahrnehmungen während der Operation. Presseberichte tragen nicht zur Beruhigung der Öffentlichkeit bei.

Die Steuerung der Narkosetiefe erfolgte bislang empirisch auf der Basis von Kenntnissen über die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik der angewandten Narkosemittel sowie anhand von vegetativen Zeichen und hämodynamischen Parametern. Sie beruhte auf der Erfahrung von ganzen Generationen von Anästhesisten, war aber gerade deshalb stets auch von der persönlichen Erfahrung des einzelnen Narkosearztes abhängig. Darüber hinaus gibt es Zustände, welche die Beurteilung der hämodynamischen Parameter wie Blutdruck und Herzfrequenz erheblich erschweren. Es ist deshalb zu begrüßen, daß sich die Möglichkeit einer objektiven und quantitativen Messung des Grades der Ausschaltung des Bewußtseins immer deutlicher abzeichnet.

Bei der Durchführung einer Allgemeinanästhesie („Vollnarkose“) ist das Zielorgan der Pharmakotherapie das Gehirn. Äußerungen der Aktivität der Gehirn-

zellen sind die Hirnströme und die daraus abgeleiteten Hirnstromkurven. Es besteht deshalb die Möglichkeit, aus dem Elektroenzephalogramm Informationen über den Aktivitätszustand des Gehirnes und über seine Beeinflussung durch die Narkosemittel abzuleiten. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Ableitung von Hirnstromkurven, welche sich aus der Einspielung von sensorischen Reizen ergeben.

Diese akustisch oder somatosensorisch evozierten Potentiale zeigen, inwieweit Reize vom Zentralnervensystem aufgenommen oder verarbeitet werden. Neue Verfahren der Analyse von Hirnstromkurven und der Signalauswertung allgemein führen zu einer immer besseren Bewältigung der technischen Probleme im Umfeld des Operationssaales und einem höheren Verständnis der zugrundeliegenden physiologischen Veränderungen.

Es ist das Ziel des Symposiums, diese aktuellen Entwicklungen mit Hilfe von international anerkannten Experten aus verschiedenen Blickwinkeln zusammenfassend darzustellen. Aus dem Potential der Vorträge werden sich sicherlich anregende Diskussionen auch für die interdisziplinäre Zusammenarbeit auf diesem Feld ergeben.

H. Gehring, E. Konecny, W. Nahm, P. Schmucker
(Organisation, Information und Anmeldung: Tel. 0451/500-4057, Fax -3405)

Ankündigungen wissenschaftlicher Veranstaltungen an der MUL mit einem kurzen redaktionellen Text und allen erforderlichen Angaben bitte an FOCUS MUL, Medizinische Universität zu Lübeck, Informations- und Pressestelle, 23538 Lübeck, Fax 0451/500-3016, e-mail presse@zuv.mu-luebeck.de. Redaktionsschluß ist jeweils sechs Wochen vor Quartalsende.

KONGRESS

ORGANISATION

Ihr leistungsstarker
Partner mit über
30jähriger Erfahrung.



Kompetent bei der
Durchführung von

**KONGRESSEN
TAGUNGEN
SEMINAREN
SYMPOSIEN**
(auch via Satellit)

im gesamten
Bundesgebiet und dem
benachbarten Ausland.



Lassen Sie sich von uns
beraten!



Hansisches Verlagshaus
Mengstraße 16
23552 Lübeck
Tel. 04 51 / 70 31-205
Fax. 04 51 / 70 31-281

■ Anmietung
geeigneter
Räumlichkeiten

■ Hotel-
buchungen

■ Tagungsbüro

■ Industrie-
ausstellung

■ Teilnehmer-
verwaltung

■ Referenten-
betreuung

■ Bereitstellen
modernster
Technik und
Kommunikationssysteme

■ Drucksachen,
Herstellung und
Versand

■ Rahmen-
programm

■ Finanzplanung/
Abrechnung

■ PR unterstüt-
zende
Aktivitäten

Wissenschaftliche Sitzung am Donnerstag, dem 11. Dezember 1997

Das Malignom; Metastasierung und molekulare Strategien zur Analyse von Tumorgenexpression

Das metastasierende Basaliom

Das Basalzellkarzinom (Basaliom) galt zeitweise als sog. semi-maligner, relativ gutartiger Tumor. Rezidivierend zerstörendes Wachstum mit tödlichem Ausgang, meist durch Meningitis oder Arrosionsblutungen sowie, wenn auch selten, hämatogener und lymphogener Metastasierung sind für diesen Tumor jedoch typisch. (Eine Patientin mit einem derartigen Krankheitsbild, der der bekannte Chirurg Prof. Hackethal zum Suizid verholfen hat, ist vielen aus dem Fernsehen bekannt). Fünf Kasuistiken metastasierender Basalzellkarzinome sowie eine Analyse der Literatur sind Inhalt des Referates.

H. v. Domarus

Molekulare Techniken zur Isolierung tumorspezifischer Gene

Die Isolierung und Charakterisierung spezifisch exprimierter Gene ist für das Verständnis der Pathogenese definierter Lymphomentitäten sowie für diagnostische und möglicherweise therapeutische Strategien von großer Bedeutung. Zur Identifizierung solcher Gene stehen mehrere methodische Ansätze zur Verfügung (u. a. Differential Display-Methode; Subtrahierte cDNA-Bank Klonierung; Substraktions-Suppressions Hybridisierung und Expressionsklonierung). Sowohl die Differential Display-Methode als auch die subtrahierte cDNA-Bank Klonierung wurden in unserer Ar-

beitsgruppe zur Klonierung differentiell transkribierter Gene angewendet. U. a. wurde aus einer großzellig anaplastischen Lymphom (ALCL)-Zelllinie ein Gen isoliert, das restringiert in diesem Non-Hodgkin Lymphom transkribiert wird. Zur weiteren Charakterisierung wurde mit Hilfe der RT-PCR-Analyse dessen Transkription in Primärgeweben verschiedener Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphome sowie Normalgeweben untersucht. Ein spezifisches Gen-Produkt war nur in den ALCL-Fällen nachweisbar. Dieses Ergebnis zeigt, daß es möglich ist, mit Hilfe neuer molekularbiologischer Methoden Gene zu isolieren, die für das Verständnis der Pathogenese und damit auch für die Diagnostik und Therapie von malignen Lymphomen von Bedeutung sein können.

I. Bettinger

Bedeutung neuer tumorspezifischer Gene bei malignen Lymphomen

Die Bedeutung zytogenetischer Aberrationen ist seit langem durch die Identifizierung chromosomaler Translokationen in definierten Neoplasien bekannt. Die molekulargenetische Aufklärung distinkter Translokationen in Leukämien, soliden Tumoren und lymphatischen Neoplasien führte zur Identifizierung von tumorspezifischen Genen, die sowohl diagnostisch als auch funktionell bedeutsam sind. Die Charakterisierung solcher tumorspezifischer Gene führte zur Identifizierung von Rezeptorstrukturen, von Genen, die für die Signaltransduktion, für die Transkription oder im Zell-Zyklus eine Rolle spielen. An Beispielen der für maligne Lymphome wichtigen Translokationen *bcl1*, *bcl2* und *t(2;5)* soll auf die Bedeutung solcher Translokationen für die Pathogenese und auch die Diagnostik von malignen Lymphomen eingegangen werden.

H. Merz

Warum *hat Heinz B. immer noch* kein eigenes Haus ?



Eigentlich wollte Heinz B. (34) für sich und seine Familie schon lange ein Stadthaus kaufen. Doch seit zwei Jahren „wackelt“ sein Arbeitsplatz, und deshalb hat er Angst vor dem Risiko.

Das soll und kann sich jetzt ändern. SCHÜTT bietet die Lösung und die Sicherheit:



Das ist einmalig in Deutschland !!!

Die RÜCKNAHME-GARANTIE gilt:

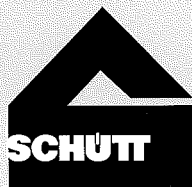
- Für alle Immobilienverkäufe •
- 5 Jahre ab Kaufvertrag ohne Angabe von Gründen •
- 90 % des notariellen Kaufpreises werden zurückerstattet •

Darüber sollten wir sprechen!

Wir laden Sie ein zum ausführlichen Infogespräch nach persönlicher Terminabstimmung:

Vertriebsbüro Hamburg, Tel.: 040/2 20 15 10

Vertriebsbüro Lübeck, Tel.: 04 51/ 47 00 11 11



Friedrich Schütt + Sohn Baugesellschaft mbH & Co. KG,
Wisbystraße 2, 23558 Lübeck, Tel.: (0451) 47 00 11 11

Bauen mit Vertrauen

All-In-One - Lösungen von **Clintec®** : Mehr Sicherheit in weniger Zeit

Compounding-Systeme



Dual Bag-Konzept



Das All-In-One - Konzept:

- senkt das Kontaminationsrisiko
- erhöht die Arzneimittelsicherheit
- optimiert die Patientencompliance
- verringert den Zeitaufwand
- reduziert den Materialeinsatz
- verbessert die Kosteneffektivität

Baxter

Baxter Deutschland GmbH • Bereich Clintec Parenterale Ernährung
Edisonstraße 3 - 4 • 85719 Unterschleißheim • Tel.: (089) 31701-683 / - 682 / - 225