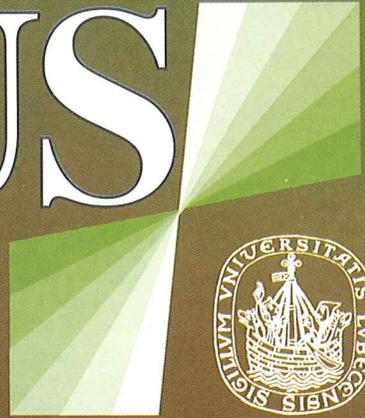
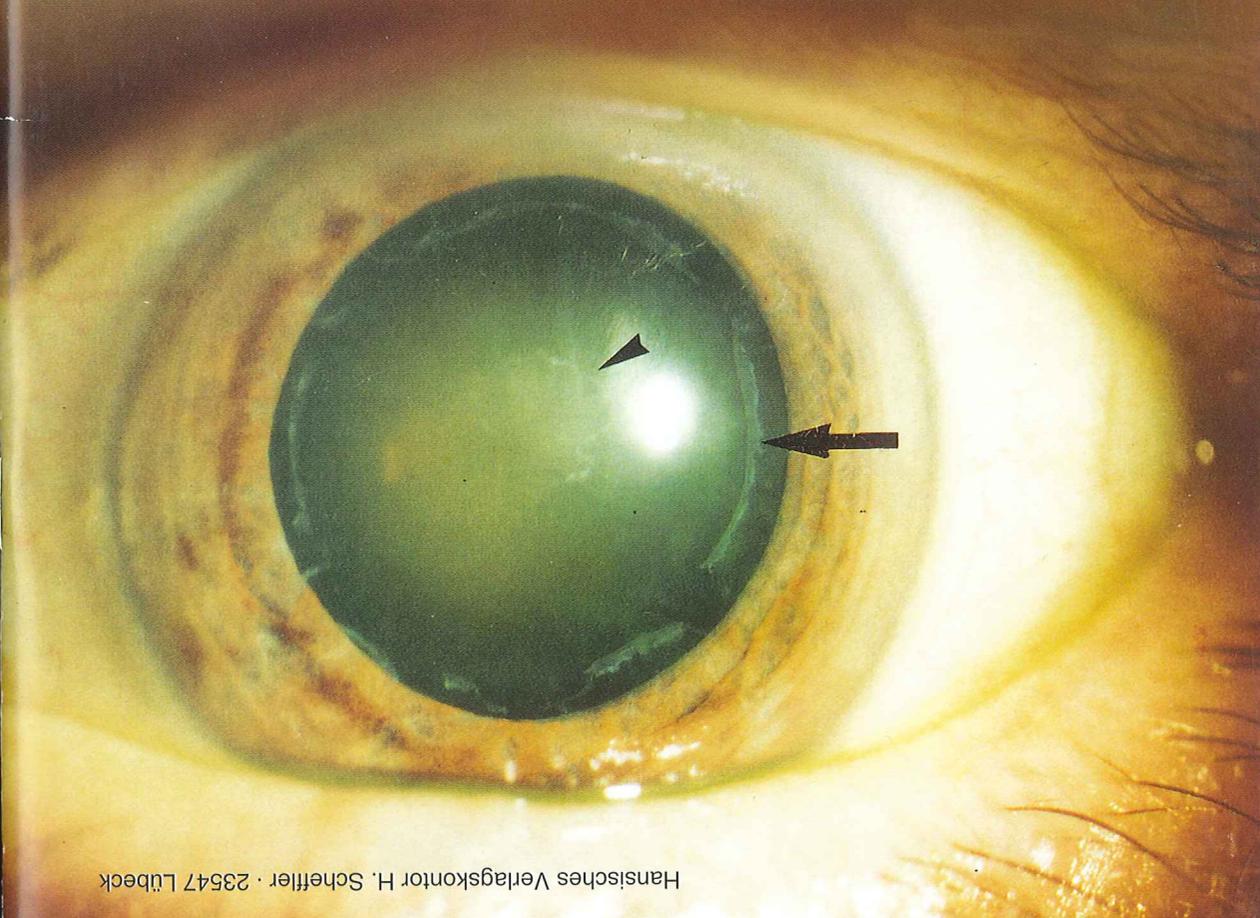


# FOCUS MUL



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



A black and white photograph of two young children, a boy and a girl, sitting together and working on a model car engine. They are both focused on their task, using tools like screwdrivers. The car is a classic model with a prominent headlight and a steering wheel. The background is dark, making the children and the car stand out.

SCHERING



Diagnostik

## Was gibt es Schöneres als einen Partner, auf den man sich verlassen kann?

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.



<http://www.kontrastmittel.de> Password: Berlin

**Schering  
Diagnostika**

**Wissenschaft plus Partnerschaft.**

# FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck  
17. Jahrgang – Heft 2 – April 2000

## Inhalt

---

### Editorial

Ein neuer Weg – Reformbemühungen im Studiengang Medizin 72

---

### Originalarbeiten

Immunmodulatorische Behandlungsstrategien maligner Tumoren am Beispiel des  
Großzellig Anaplastischen Lymphoms (ALCL) in einem Mausmodell  
C. Bittner, C. Jenetzky, R. Pietrzik, T. Gaiser, B. Wiedemann, H. Merz, A.C. Feller 74

Charakterisierung der extrazellulären Matrix beim Pseudoexfoliationssyndrom  
C. Wirbelauer, D. Reinhardt, H. Lünsdorf, E. Weber, H. Laqua, J. Winkler 82

Prader-Willi-Syndrom als Folge einer uniparentalen Disomie (UPD)  
K. Mennike, A. Müller, S. Purmann, F. Hinrichs, M. Hagedorn-Greiwe 88

Der Rekombinationsfaktor Rad51 in der Tumorentstehung: Überexpression in  
Tumoren, Zellzykluskontrolle und Chemoresistenz  
S. Miska, H. Maake, S.-Y. Wang, W. Hamdorf, J. Lüttges, H. Kalthoff, H.-W. Stürzbecher 96

Magenmukosa-Tonometrie bei großen allgemein chirurgischen Eingriffen  
Th. Uhlig, F. Seyfried, P. Schmucker 106

---

### Übersichten

Die gynäkologische Endoskopie im Wandel der Zeit  
E. Malik 114

---

### Studium generale

Revolutionen der Menschheitsgeschichte – Die anthropologische Dimension  
weltrevolutionärer Umbrüche  
D. Groh 121

---

### Aus der Hochschule

Personalien – Tagungen – Medizinische Gesellschaft 130

*Die Abbildung des Pseudoexfoliationssyndroms auf der Titelseite ist der ophthalmologischen Arbeit von Wirbelauer et. al. (S. 82 ff.) entnommen*

## Ein neuer Weg – Reformbemühungen im Studiengang Medizin

Schon seit längerer Zeit ist die deutsche Universität ins Gerede gekommen. An vielen Universitäten steht einer in den letzten Jahren stark gestiegenen Anzahl Studierender eine im Vergleich hierzu nur sehr gering vermehrte oder gar sistierende Anzahl von Hochschullehrern gegenüber. Gleichwohl sollen bei der aktuellen Situation der öffentlichen Haushalte die Zuschüsse für Lehre und Forschung nicht, wie eigentlich dringend erforderlich, ansteigen, sondern sogar abgesenkt werden. Dies ist natürlich ein ernsthaftes Problem und stellt eine effiziente akademische Ausbildung in Deutschland zusätzlich in Frage. Ein öffentlicher Diskurs hierüber wird jedoch, wie nicht verwunderlich, nach Möglichkeit vermieden. Statt dessen wird plakativer Weise auf eine dringend erforderliche Steigerung der Effizienz in der akademischen Lehre verwiesen.

Diese allgemeine Situation gilt auch für den Studiengang Medizin. In den mehrfach vorgelegten Entwürfen zu einer Novellierung der Ärztlichen Approbationsordnung wird jeweils in der Präambel die angeblich geringe Qualität des Medizinstudiums in Deutschland beklagt. Daten, welche dies belegen könnten, werden dabei nicht gezeigt. Auch wird in keiner Weise auf die Tatsache eingegangen, dass die Medizinischen Fakultäten durch Verwaltungsgerichte seit vielen Jahren gezwungen werden, wesentlich mehr Studierende zuzulassen, als sie eigentlich glauben verantworten zu können. Trotzdem ist die deutsche Medizinausbildung in Wirklichkeit besser als ihr Ruf: Im internationalen Vergleich schneiden junge deutsche Ärztinnen und Ärzte durchaus sehr gut ab, was die systematischen und theoretischen Kenntnisse anbelangt. Nur im Bereich der praktischen Fertigkeiten sind ihnen Berufsanfänger aus einigen Universitäten der USA und auch europäischer Länder in gewisser Weise überlegen. Wenn man sich vergegenwärtigt, dass gerade die praktische Ausbildung am Patienten die direkte Unterweisung des einzelnen Studierenden durch Hochschullehrer erfordert, und wenn man das Verhältnis von Studierenden und Hochschullehrern an den meisten deutschen Medizinischen Fakultäten mit denen der angesprochenen Fakultäten vor allem in den USA vergleicht, so wird klar, wo hier das Problem liegt.

Gleichwohl gibt es in Deutschland einige Universitäten, an denen ein günstigeres Verhältnis zwischen Auszubildenden und Auszubildenden besteht. Zu ihnen zählt die MUL. Die größere persönliche Nähe der Studierenden zu ihren Professoren trägt durchaus Früchte: Bei dem bundesweiten Vergleich der Examensergebnisse der Studierenden schneiden die aus Lübeck seit Jahren besonders gut ab. Dabei darf aber nicht vergessen werden, dass praktische Fertigkeiten weder in den zentralen Multiple-Choice-Prüfungen noch in den mündlichen Staatsexamina dargestellt werden. Die praktischen Fertigkeiten sind aber von allergrößter Bedeutung für den angehenden Arzt und seine Patienten. Es gibt deshalb an einigen Medizinischen Fakultäten in Deutschland Bemühungen, die Lehre noch stärker als bisher auf die eigentlichen Bedürfnisse des Arztes abzustellen. In Wirklichkeit wird dieser ja mit einem Problem konfrontiert, welches ihm sein Patient vorträgt, und muss in der Lage sein, dieses Problem auf der Basis seiner Kenntnisse durch eine strukturierte Erhebung der Krankengeschichte und eine gekonnte Untersuchung einzuengen und den Patienten dann der richtigen Behandlung zuführen. Das Zauberwort, welches auch in den verschiedenen Entwürfen zu einer Novellierung der Ärztlichen Approbationsordnung auftaucht, heißt deshalb Problemorientiertes Lernen, kurz POL. Dieses muss von einem praktischen Training in Erheben der Anamnese und Untersuchungstechniken begleitet werden. Dabei sollten sich so viele akademische Lehrer wie möglich um so wenige Studierende wie möglich kümmern.

Schon mehrere Medizinische Fakultäten haben einen Weg eingeschlagen, der auf diesen zuletzt geschilderten Prinzipien des Unterrichts basiert. In Deutschland gehören dazu die private Universität Witten-Herdecke, auch an der Humboldt-Universität in Berlin hat im Wintersemester 2000 ein Modellversuch zum Reformstudiengang Medizin nach den genannten Kriterien begonnen. Bereits vor Jahren hat sich die in vieler Hinsicht als Wegbereiter in Lehre und Forschung bekannte Harvard Medical School aufgemacht, um unter dem Begriff "New pathway" den Studiengang Medizin zu erneuern. Die Ludwig-Maximilians-Universität in

München hat mit Harvard Kontakt aufgenommen, um die dort erarbeiteten Erkenntnisse auf das deutsche System so zu übertragen, dass die reformierte Lehre mit der derzeit gültigen Approbationsordnung kompatibel bleibt.

Trotz der wie erwähnt guten Examensergebnisse Lübecker Studierender geht nun auch die Medizinische Fakultät der MUL diesen Weg, denn nichts ist so gut, dass man es nicht noch verbessern könnte. Eine vom Konvent der Medizinischen Fakultät eingesetzte Strukturgruppe hat unter Mitwirkung von mehreren überaus engagierten und effektiven Studierenden einen Plan hierfür entworfen. Beginnen wird das Projekt gemäß dem Beschluss des Konventes der Medizinischen Fakultät im Wintersemester 2000/2001. Konkret soll bei gleichzeitiger Reduktion der üblichen systematischen großen Frontalvorlesungen in den verschiedenen "Fächern" das Problemorientierte Lernen eingeführt und der Unterricht am Krankenbett in Kleingruppen intensiviert werden. Hierzu wird der im 1. klinischen Studienjahr zu bewältigende Stoff, wie er durch die Gegenstandskataloge vorgegeben ist, in der Endstufe in insgesamt sieben bis acht "Kurse" mit einer Dauer von jeweils einem Monat untergliedert, so dass die gesamte Vorlesungszeit von Winter- und Sommersemester damit ausgefüllt ist. Zu den Themen dieser Kurse zählen beispielsweise "Herz-Kreislauf-System und Lunge", "Ernährung und Verdauung", aber auch "Patient-Arzt-Beziehung und Geschichte der Medizin". Nach einer durchlaufenden systematischen Vorlesung von einer Stunde und einer weiteren Stunde einer auf das Thema des jeweiligen Kurses bezogenen Vorlesung am Vormittag werden nachmittags neben anderen Veranstaltungen wie Anamnesegruppen, Praktika in verschiedenen Fächern wie Pharmakologie und Mikrobiologie und Unterweisung in Spezialuntersuchungstechniken vor allem einmal wöchentlich für mehrere Stunden praktische Unterweisungen am Krankenbett (ein Arzt für jeweils zwei Studierende) und eben die POL-Gruppen durchgeführt werden.

Hier trifft sich ein speziell ausgebildeter "Tutor" mit jeweils acht Studierenden, denen ein zuvor auf der Basis eines tatsächlichen Patienten sorgfältig und detailliert ausgearbeiteter "Fall" vorgestellt wird, beginnend mit der Präsentation der Symptomatik und fortschreitend jeweils entsprechend den von den Studierenden

selbst vorgeschlagenen diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen. Hierfür stehen den Studierenden Lehrbücher und nach Möglichkeit ein PC mit Internetanschluss zum Nachschlagen zur Verfügung. Die Rolle des Tutors ist weitgehend eine passive. Neben der Präsentation des Falles soll er allenfalls dann eingreifen und Hinweise geben, wenn die Diskussion vollkommen in die falsche Richtung läuft. Auf diese Weise werden die Studierenden in den POL-Gruppen motiviert, sich selbst aktiv mit dem präsentierten Patienten auseinanderzusetzen, genauso wie sie es später in ihrer beruflichen Praxis tun müssen. Fehlende Kenntnisse müssen sich die Studierenden nach dem Ende der POL-Gruppen erarbeiten, so dass der Fall am folgenden Tag in der gleichen Gruppe vertieft besprochen und weiterverfolgt werden kann.

Der Aufwand für diese geplante Umstrukturierung des Studiengangs Medizin ist hoch. Nicht nur müssen die Fälle besprochen und ausgearbeitet werden, und für jeden Kurs braucht man etwa sieben davon, es müssen auch genügend Ärzte für den Unterricht am Patienten und für die POL-Gruppen bereit gestellt werden. Bei 200 Studierenden pro Jahr in Lübeck und einer Maximalgröße von acht in einer Gruppe müssen sich also mindestens 25 Hochschullehrer gleichzeitig als Tutoren um ihre Gruppen kümmern, es müssen Räume zur Verfügung gestellt und Lehrmittel wie Bücher und PC's angeschafft, bereitgestellt und letzterenfalls auch permanent betreut werden.

Die Medizinische Fakultät der MUL ist sich des Aufwandes wohl bewusst.

Trotzdem findet das Projekt breite Unterstützung. Es ist beschlossen, dass im Wintersemester 2000/2001 die Hälfte der Vorlesungszeit für die Kurse „Herz-Kreislaufsystem und Lunge“ und „Patient-Arzt-Beziehung und Geschichte der Medizin“ verwendet werden wird. Ziel ist eine umfassende Ausbildung in allen theoretischen und praktischen Belangen der Medizin, aber auch im angemessenen und menschlichen Umgang mit dem Patienten und nicht zuletzt auch mit dem Kollegen. Erfahrungen aus Harvard und München zeigen, dass der eingeschlagene neue Weg zu diesem Ziel führen kann.

P. Schmucker

Aus dem Institut für Pathologie (Direktor: Prof. Dr. med. A. C. Feller) und der \*Medizinischen Klinik I (Direktor: Prof. Dr. med. H.-L. Fehm) der Medizinischen Universität zu Lübeck

## Immunmodulatorische Behandlungsstrategien maligner Tumoren am Beispiel des Großzellig Anaplastischen Lymphoms (ALCL) in einem Mausmodell

C. Bittner, C. Jenetzky, R. Pietrzik, T. Gaiser, G. Wiedemann\*, H. Merz und A.C. Feller

### Zusammenfassung

Die Letalitätsrate der meisten malignen Lymphome ist trotz der Fortschritte in der Malignombehandlung immer noch sehr hoch. Um die Grenzen der konventionellen, etablierten Therapiemöglichkeiten zu überwinden, bedarf es neuer therapeutischer Ansätze. Eine der wichtigsten neuen Behandlungsstrategien ist der Versuch, das Immunsystem des erkrankten Organismus zur Krebsbekämpfung einzusetzen. Wir haben eine Reihe immuntherapeutischer Strategien an einem kürzlich etablierten Maus-Tiermodell des Großzellig Anaplastischen Lymphoms (ALCL) erprobt. Durch IL-9 Transfizierung von T-Lymphozyten aus C57Bl/6 Mäusen entstand die autonom teilungsfähige Lymphomzelllinie G6BB. Schon  $10^4$  Lymphomzellen waren in der Lage, ein letales Tumorstadium in syngenen, immunkompetenten C57Bl/6 Mäusen zu induzieren. Die zytologische, histologische sowie genotypische und phänotypische Analyse dieser Tumoren stellte ein hochmalignes Lymphom mit großer Ähnlichkeit zum humanen Großzellig Anaplastischen Lymphom vom T-Zell-Typ dar. Tumortragende Versuchstiere konnten ebenso wie zahlreiche an ALCL erkrankte Patienten nicht durch Hochdosis-Chemotherapie mit Cyclophosphamid kuriert werden. Deshalb bot dieses Maus-Tiermodell die Basis für die Erforschung neuer antitumoraler Immuntherapien in einem vollständig immunkompetenten Organismus.

Mit dem Ziel, das Immunsystem zur Tumorabwehr anzuregen, wurde neben weiteren Therapieansätzen das T- und NK-Zellen stimulierende Zytokin IL-2 sowie eine Kombination von TH1-Zytokinen (IL-12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF) mit Antikörpern gegen das TH2-Zytokin IL-10 eingesetzt. Grundlage für die Wahl der Zytokine war der Nachweis eines TH2-Zytokinprofils in der murinen Lymphomzelllinie G6BB. Auch humane ALCL-

Zelllinien und -Tumoren exprimieren TH2-Zytokine. In der im Folgenden dargestellten Versuchsreihe konnte ein signifikanter Antitumoreffekt mit der Zytokintherapie erzielt werden. Bemerkenswert ist, dass alle erfolgreich behandelten Tiere ein immunologisches Gedächtnis gegen die Tumorzellen entwickelten und bei erneuter Injektion von G6BB ein Tumorstadium abwehrten, während Tumorzellen des Lewis Lung-Karzinoms, B16V-Melanoms oder EL4-Lymphoms nicht abgewehrt werden konnten.

### Einleitung

Ein intaktes Immunsystem sollte der ungehemmten Teilung von Tumorzellen entgegenwirken. Immer noch ungeklärt ist, weshalb ein Organismus keine adäquate Immunität gegen Krebswachstum entwickelt. Einige Erklärungsmodelle werden diskutiert: Antigenverlust der Tumorzellen (Uyttenhove et al. 1983, Wortzel et al. 1983), Verlust der MHC-Expression (Hui et al. 1984), Herunterregulierung der Antigenpräsentierung (Restifo et al. 1991) sowie Immunsuppression durch die Tumorzellen selbst (Hsu et al. 1993) hemmen die zellvermittelte Immunantwort gegen den Tumor und führen zu wachsender Tumorgroße.

Das ALCL nimmt 2 bis 8 % der malignen Lymphome ein; die Letalitätsrate dieser Lymphomentität beträgt noch immer 40 bis 80% (in Abhängigkeit vom „International Prognostic Index“). Trotz verschiedener konventioneller Therapien sterben zahlreiche Patienten an fortgeschrittenem Tumorleiden.

Für die Erforschung der ALCL-Entstehung sowie die Entwicklung neuer immunmodulierender Therapiemöglichkeiten für an ALCL und anderen hochmalignen Lymphomen erkrankte Patienten ist ein in vivo Modell im immunkompetenten Organismus Voraussetzung. Bis vor kurzem waren nur einzelne Modelle des ALCL

in der immundefizienten SCID Maus bekannt (z. B. Merz, in press).

Durch die Kultivierung einer murinen T-Zelllinie, die nach Injektion in immunkompetente C57Bl/6 Mäuse das Wachstum eines hochgradig malignen Tumors induzierte, der in Wachstumsverhalten und Histologie enge Parallelen zum humanen ALCL aufwies, wurde es möglich, alternative Therapiekonzepte für diese Lymphomerkkrankung zu entwickeln:

Erfolgreich wurden mehrere Behandlungsansätze, wie die Vakzinierung der Tiere mit bestrahlten Tumorzellen alleine oder in Verbindung mit immunstimulierenden Nukleinsäuren (CpG-Oligonukleotide), durchgeführt.

Im Folgenden wird die Therapie tumortragender Mäuse mit definierten Zytokinen dargestellt. Diesem Therapieansatz liegt das Modell der Einteilung der T-Helferzellen in TH1- und TH2-Zellen zugrunde. Aus unreifen CD4<sup>+</sup> Vorläuferzellen differenzieren sich nach Stimulation zwei Arten von CD4<sup>+</sup> Effektorzellen, die jeweils unterschiedliche Zytokine sezernieren, unterschiedliche Rezeptoren exprimieren und zwei verschiedene Wege der Immunantwort induzieren. Sie wirken zum Teil synergistisch, können sich aber auch gegenseitig blockieren.

Im gesunden Organismus besteht eine funktionelle Balance zwischen den beiden TH-Populationen. Zu Beginn einer Immunreaktion wird je nach Erregerart einer der beiden TH-Arme zur Differenzierung und Proliferation angeregt und die zelluläre oder humorale Immunantwort ausgelöst. Gleichzeitig wird der jeweils andere Arm durch die sezernierten Zytokine blockiert bzw. gehemmt.

Die von uns untersuchte Tumorzelllinie G6BB weist ein TH2-Zytokinprofil auf, d.h. die Tumorzellen sezernieren kontinuierlich TH2-Zytokine. Daraus resultiert eine Imbalance der TH1- und TH2-Zytokine im murinen Organismus und eine effektive Immunantwort wird gehemmt. Über die Applikation von TH1-Zytokinen bzw. TH2-Zytokin-Antikörpern sollte diese Imbalance aufgehoben werden, um die Tumorabwehr zu unterstützen.

Es erfolgte eine Behandlung von C57Bl/6 Mäusen mit IL-2, einem Zytokin, das T- und NK-Zellen stimuliert, sowie einer Kombination der TH1-Zytokine IL-12, IFN- $\gamma$  und GM-CSF mit Antikörpern gegen das TH2-Zytokin IL-10.

## Material und Methoden

### *Tumormodell*

Es wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um J. v. Snick eine murine Zelllinie eines Großzellig Anaplastischen T-Zell-Lymphoms etabliert und be-

schrieben (Uyttenhove et al. 1991): Murine T-Zellen wurden isoliert und unter Zugabe von PMA kultiviert und kloniert. Die entstandene Zelllinie (TS1) konnte nur durch IL-9-Zugabe proliferieren und in Kultur gehalten werden. Nach Transfektion mit dem IL-9-Gen in „sense“-Konstrukten produzierten die Zellen autonom IL-9 und wurden immortalisiert (G6BB). Syngenen Mäusen wurden  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  oder  $1 \times 10^6$  G6BB-Zellen, suspendiert in 200  $\mu$ l PBS, subcutan in die rechte Flanke injiziert. In Abhängigkeit von der Tumordosis zeigte sich bei unbehandelten Tieren ein Tumorwachstum an der Injektionsstelle 9 bis 16 Tage nach Injektion der Tumorzellen. Nach 6 bis 12 Wochen zeigten unbehandelte Tiere Anzeichen einer progredienten Tumorerkrankung mit Gewichtsverlust, struppigem Fell und Inaktivität. Makroskopische und mikroskopische Untersuchungen ergaben einen Primärtumor von 2,5 bis 3 cm Durchmesser, hämatogener und lymphogener Tumordissemination in verschiedene Organe wie Lymphknoten, Leber, Milz, Lunge und Nieren. Der entstandene Tumor erwies sich in Wachstumsverhalten, morphologisch und immunhistochemisch als weitgehend identisch mit dem humanen ALCL.

Der Allgemeinzustand der Mäuse wurde täglich überprüft und das Tumorwachstum wurde zweimal pro Woche gemessen. In den Versuchsreihen wurden die Tiere bei einer Tumorgröße von 1,2 cm im Durchmesser getötet. Die therapeutischen Versuchsansätze wurden an Tieren mit der mittleren Tumordosis von  $1 \times 10^5$  G6BB-Zellen durchgeführt.

### *Zytokine*

Rekombinantes IL-2 wurde uns von der Firma Chiron, Ratlingen, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Rekombinantes murines IL-12, IFN- $\gamma$  und GM-CSF wurden von TEBU, Frankfurt, Deutschland, erworben. Sie wurden aus Baculovirus-infizierten T.ni-Zellen bzw. durch die Expression bestimmter muriner DNA in Escherichia coli gewonnen und chromatographisch aufgereinigt.

Anti-Maus IL-10 (ebenfalls von TEBU, Frankfurt, Deutschland) wurde aus Kaninchen gewonnen, die mit aufgereinigtem, rekombinatem IL-10 immunisiert wurden. Das gewonnene Antiserum wurde mit Protein-A-Chromatographie gereinigt.

### *Therapie*

IL-2 bzw. die oben genannte Kombination von Zytokinen und Zytokinantikörpern wurde täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen subcutan an den Tumorort (rechte Flanke) injiziert. Die Therapie wurde entweder gleichzeitig mit der Tumoringektion oder erst bei bereits manifestem Tumorwachstum (14 Tage nach Tumoringektion) begonnen.

Die Zytokin-/antikörperdosen betragen: 2,5 µg IL-2, 0,5 µg IL-12, 100 U IFN-γ, 4 µg GM-CSF und 1 µg Anti-IL-10, jeweils in 100 µl PBS aufgenommen.

### Chemotherapie mit Cyclophosphamid

Tiere mit einer Tumormasse im Durchmesser wurden mit 125 mg bzw. 250 mg Cyclophosphamid / kg KG (s.c. an den Ort des Tumors) therapiert. Unter dieser Therapie wurden regelmäßige Kontrollen des Blutbildes durchgeführt, welches sich durchschnittlich 10 Tage nach Chemotherapieapplikation erholt hatte. Es wurden insgesamt 6 Applikationen im Abstand von 10 Tagen vorgenommen.

### Nachweis der Langzeitimmunität

Erfolgreich behandelte Mäuse aus allen Versuchsgruppen, die über 120 Tage die s.c.-Injektion vitaler Tumorzellen überlebt hatten, ohne Tumorstadium zu zeigen, erhielten eine weitere Injektion von 10<sup>5</sup> G6BB-Zellen oder anderer Tumorzellen in tumorigener Dosis (Lewis Lung-Karzinomzellen, B16V-Melanomzellen bzw. EL4-Zellen (T-Zell-Lymphom) – alle von ATCC, Rockville, MD, USA, erworben).

### Ergebnisse

#### Tumormodell

T-Lymphozyten aus immunkompetenten, syngenen C57Bl/6 Mäusen wurden isoliert und in Kultur genommen. Es wurde beobachtet, dass die Zellen sich nur unter Zugabe von IL-9 teilten. Nach Transfektion mit dem IL-9-Gen in „sense“-Konstrukten produzierten die Zellen autonom IL-9 und wurden immortalisiert. Diese Wachstumsfaktor-unabhängige Zelllinie wurde G6BB genannt. Die Zellen wuchsen in vitro als nicht-adhärenente Einzelzellen, manchmal auch in kleineren Zellclustern. Die Verdopplungszeit betrug 18 bis 28 Stunden. Nach subcutaner oder intraperitonealer Injektion von 10<sup>6</sup> G6BB-Zellen in syngene Mäuse etablierte sich innerhalb von 6 bis 12 Tagen ein messbares Tumorstadium, das nach 35 Tagen bei allen Mäusen zum Tode führte. Nach Injektion von 10<sup>5</sup> Zellen konnte nach 12 bis 16 Tagen Tumorentstehung beobachtet werden, nach Injektion von 10<sup>4</sup> Tumorzellen führte der nach ca. 19 Tagen messbare Tumor etwas später bei allen Mäusen zum Tode (Abb.1).

Der entstehende Tumor erwies sich in Wachstumsverhalten, morphologisch und immunhistochemisch als weitgehend identisch mit dem humanen ALCL. Es zeigten sich große anaplastische Zellen und/oder Hodgkin- oder Sternberg-Reed ähnliche Zellen (Abb. 2). Die Lymphomzellen wuchsen in kohäsiven Zellverbänden mit geringer Infiltration neutrophiler und/oder eosinophiler Granulozyten. Zum Teil war eine diffuse

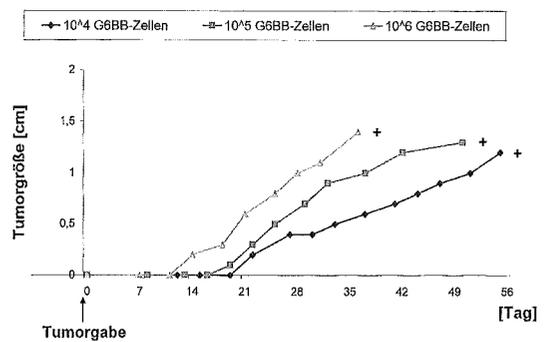


Abb. 1: Tumorstadium nach subcutaner oder intraperitonealer Injektion von 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup> oder 10<sup>6</sup> G6BB-Zellen in die immunkompetente C57Bl/6 Maus (Median, n=9)

Fibrosierung zu beobachten. Die großen Tumorzellverbände infiltrierten umgebendes Muskelgewebe und Weichteile. Hämatogene und lymphogene Disseminierung führte zur Infiltration zahlreicher Organe wie Lymphknoten, Leber, Milz, Lunge und Nieren. Befallene Lymphknoten zeigten ein typisches Ausbreitungsmuster der Lymphomzellen: Die Tumorzellen infiltrierten die Lymphknoten primär über die Lymphknoten-Sinus (Abb. 3) und breiteten sich dann in den T-Zonen bis zur Zerstörung der Lymphknotenstruktur aus (Abb. 4). Durch immunhistochemische Färbungen wurden T-Zell-Antigene wie CD3 und CD4, stimulierende Antigene wie CD25 und CD71 und zytotoxische Moleküle wie Granzyme nachgewiesen – Antigene, die auch durch humane ALCL exprimiert werden. Wie die meisten humanen Lymphome exprimiert auch die G6BB-Zelllinie ein TH2-Zytokinprofil: die Lymphomzellen produzieren die Zytokine IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL-13, wohingegen keine mRNA für IFN-γ, IL-2, TNF-α, IL-1 oder IL-12 gefunden wurde.

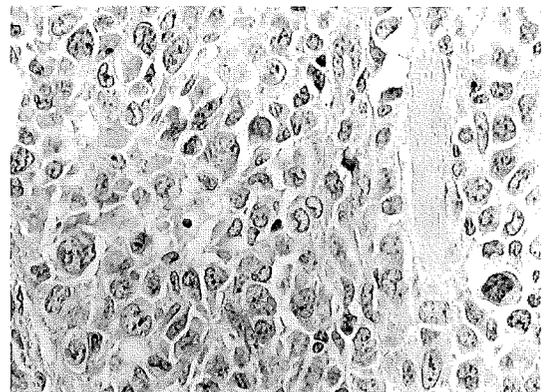


Abb. 2: Hautinfiltration des G6BB-Tumors mit typischen Hodgkin- und Sternberg-Reed ähnlichen Zellen. HE-Färbung. Originalvergrößerung 400-fach.

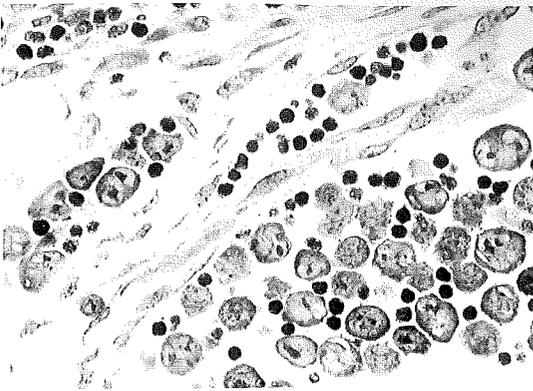


Abb. 3: Intrasinusoidales Ausbreitungsmuster von G6BB-Tumorzellen in einem infiltrierten Lymphknoten. Giemsa-Färbung. Originalvergrößerung 400-fach.

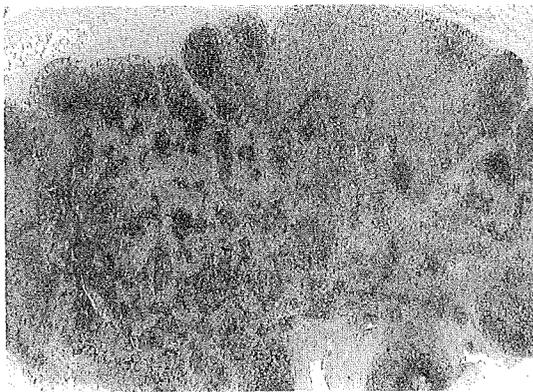


Abb. 4: Früher Lymphknotenbefall des ALCL mit typischem intrasinusoidalem Infiltrationsmuster und T-Zonen-Ausbreitung. HE-Färbung. Originalvergrößerung 20-fach.

#### *T-Zell Abhängigkeit der Immunantwort gegen die Lymphomzellen*

Durch den Vergleich der Tumorentstehungs- und -wachstumsgeschwindigkeit in immunkompetenten, syngenen C57Bl/6 Mäusen und in CD1nuBr Mäusen, denen das T-Zell-System fehlt, konnte eine Abhängigkeit der antitumoralen Immunreaktion vom T-Zell-System beobachtet werden. In den CD1nuBR Mäusen trat der Tumor einige Tage früher auf und wuchs mit höherer Geschwindigkeit als in C57Bl/6 Mäusen. Das lässt darauf schließen, dass in den C57Bl/6 Mäusen eine zwar schwache, aber dennoch signifikante T-Zell-abhängige Immunantwort stattfand. Diese Tatsache bot die Grundlage für den Versuch, eine Tumorthherapie durch immunstimulatorische Behandlungsansätze zu erforschen.

#### *Therapie mit Cyclophosphamid*

Einige Patienten, die an ALCL erkrankt sind, können durch Chemotherapie (z. B. mit dem Zytostatikum Cyclophosphamid) geheilt werden. Mäuse mit einem 0,4 cm durchmessenden G6BB-Tumor wurden mit 125 mg Cyclophosphamid pro kg Körpergewicht durch bis zu sechsmalige Injektion am Tumorort behandelt (jeweils in zehntägigem Intervall nach vollständiger Erholung des Blutbildes). Keine der so behandelten Mäuse zeigte eine signifikante Wachstumsverzögerung der Tumoren im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe. Bei Dosisescalierung auf 250 mg/kg KG zeigte sich bei allen Mäusen ein verzögertes Tumorwachstum mit vorübergehenden partiellen oder kompletten Remissionen, jedoch konnte die Tumorerkrankung bei keiner Maus geheilt werden und die Tiere wurden getötet, sobald das lokale Tumorwachstum 1,2 cm im Durchmesser betrug.

Diese Ergebnisse zeigen, dass das untersuchte Lymphom zwar chemotherapiesensibel ist, die Tiere aber nicht durch alleinige Chemotherapie geheilt werden können – eine Situation, die bei den Patienten vorliegt, die nach oder während einer Behandlung Tumorerregression erleiden und für die neue Behandlungsmethoden erforderlich sind.

#### *Zytokintherapie*

In einem gesunden Organismus steht die Synthese von Zytokinen durch die Zellen des Immunsystems in einem Gleichgewicht. Zytokine werden nur sezerniert, wenn sie im Rahmen einer Immunantwort benötigt werden. In Lymphomzellen wie G6BB funktionieren die entsprechenden Regulationsmechanismen nicht mehr, und einzelne Zytokine werden ununterbrochen sezerniert. Die Zytokinexpression von G6BB-Zellen wurde auf mRNA-Ebene untersucht, wobei die Expression eines TH2-Zytokin-Profiles beobachtet wurde: G6BB Zellen produzieren mRNA für die Synthese der Zytokine IL-4, 5, 6, 9, 10, 13, wohingegen keine mRNA für IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 oder IL-12 gefunden wurde.

Mit dem Ziel, eine Immunreaktion gegen die Tumorzellen durch die Verwendung immunstimulatorischer Zytokine zu induzieren, haben wir TH1-Zytokine (z. B. IL-2) oder Antikörper gegen das TH2-Zytokin IL-10 injiziert. Das durch die Tumorzellen verursachte TH2-Milieu im tumortragenden Organismus wurde hierdurch ausbalanciert.

Einem Cocktail aus den Zytokinen IL-12, IFN- $\gamma$  und GM-CSF wurde ein neutralisierender Antikörper gegen IL-10 hinzugefügt. IL-10 ist einer der wirksamsten immunsuppressiven Stoffe, da es sowohl Makrophagen, CTLs und NK-Zellen in ihrer Wirkung hemmt, als auch die Reifung von TH1-Zellen und die Synthese zytotoxischer Zytokine blockiert.

Da Zytokine in vivo schnell abgebaut werden und einige von ihnen – z.B. IL-2 – sehr toxisch sind, wurden sie lokal durch subcutane Injektion direkt an den Tumorort appliziert, um ihre Wirkung auf das Gebiet der primären pathogenen Reaktion zu konzentrieren. Alle Mäuse wurden über einen Zeitraum von 10 Tagen täglich behandelt. Die Therapie mit Zytokinen bzw. Anti-Zytokinen wurde entweder zum Zeitpunkt der Tumorzellinokulation am Behandlungstag 0 (simultane Therapie) begonnen, oder nach 14 Tagen, wenn das Tumorstadium bereits deutlich sichtbar war (subsequente Therapie).

Durch die alleinige Behandlung mit IL-2 bzw. einem Cocktail aus IL-12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF und Anti-IL-10 konnten ähnliche Resultate erzielt werden: Bei simultanem Therapiebeginn zeigten 2 der 7 behandelten Mäuse (29 %) in beiden Gruppen keinerlei Anzeichen für eine Tumorentstehung. Eine signifikante Verzögerung des Tumorstadiums mit verlängerter Überlebenszeit der Tiere konnte bei 4 Mäusen (57 %) der IL-2-Gruppe und bei 3 Mäusen (43 %) der Zytokincocktail-Gruppe beobachtet werden. Eine Maus (14 %) der IL-2-Gruppe und 2 Mäuse (29 %) der Cocktail-Gruppe zeigten im Vergleich zu unbehandelten Kontrollmäusen ein unverändertes Tumorstadium (Abb. 5a +b).

Bei Therapiebeginn 14 Tage nach Verabreichung der Tumorzellen konnte nur die IL-2-Therapie bei einer von 7 behandelten Mäusen (14 %) eine völlige Tumorentstehung erzielen. Mit der Kombinationstherapie konnte eine signifikante Verzögerung des Tumorstadiums bei 2 von 7 Tieren (29 %) erreicht werden. Alle anderen Mäuse – 6 bzw. 5 von 7 (86 bzw. 71 %) – zeigten ein unverändertes Tumorstadium im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Um einen additiven Effekt zu erzielen, wurden die Therapieansätze miteinander kombiniert und an 3 Tieren durchgeführt. Es konnte jedoch keine Verbesserung gegenüber der einzelnen Therapieformen erzielt werden.

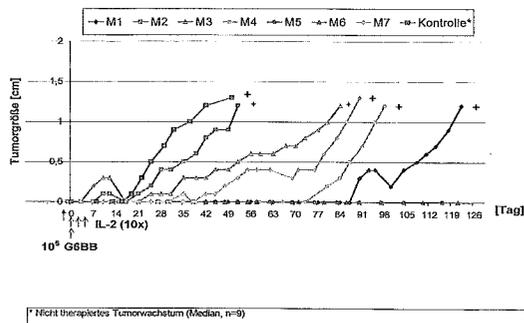


Abb. 5a: Tumorstadium nach subcutaner Injektion von  $10^5$  G6BB-Zellen und simultaner Therapie mit IL-2 sowie Kontrolltiere ohne Therapie (Median, n=9)

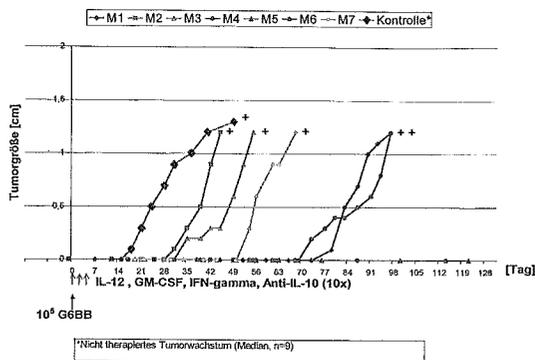


Abb. 5b: Tumorstadium nach subcutaner Injektion von  $10^5$  G6BB-Zellen und simultaner Therapie mit einem Zytokin-Antikörper-Cocktail (IL-12, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , Anti-IL-10) sowie untherapierte Kontrolltiere (Median, n=9)

### Vakzinierung und Oligonukleotid-Therapie als weitere erfolgreiche immunmodulatorische Therapiekonzepte gegen Lymphomerkrankungen

In weiteren Versuchsreihen wurden bestrahlte Tumorzellen alleine und in Kombination mit immunstimulierenden Nukleinsäuren (CpG-Oligonukleotiden) im Sinne einer Anti-Tumor-Vakzinierung in Versuchstiere injiziert. Auch hier konnten signifikante therapeutische Erfolge erzielt werden.

### Entwicklung einer Langzeitimmunität

Erfolgreich behandelten Mäusen, die mehr als 120 Tage nach Tumorzellinokulation tumorfrei geblieben sind, wurden 4, 6 oder 12 Monate nach der ersten Tumorzellgabe erneut  $10^5$  G6BB-Zellen s.c. injiziert. Alle Mäuse aus dieser Gruppe hatten eine Langzeitimmunität gegen G6BB entwickelt und blieben tumorfrei. Dagegen entwickelten alle Tiere, die nach erfolgreicher Behandlung gleichermaßen überlebt hatten und denen tumorogene Dosen anderer syngener Tumorzellen injiziert wurden – LL2 (Lewis Lung-Karzinom)-, B16V-Melanom- bzw. EL4-Lymphomzellen – einen Sekundärtumor, an dem sie verstarben. Diese Tatsache weist darauf hin, dass das entwickelte immunologische Gedächtnis, das durch die immunmodulatorische Therapie entstehen konnte, antigenspezifisch für G6BB-Zellen ist und nicht auf eine unspezifische Aktivierung des Immunsystems zurückzuführen ist.

### Diskussion

Durch die Einführung einiger intensiver chemotherapeutischer Behandlungsschemata, durch Kombinationen von Radiatio und Chemotherapie oder durch Hochdosis-Chemotherapie mit oder ohne Stammzelltrans-

plantation konnte die Rate der rezidivfrei Überlebenden erhöht werden. Dennoch sterben immer noch zu viele Patienten an der fortschreitenden Erkrankung.

Die derzeit einzigen zumindest teilweise wirksamen Therapien stellen aggressive Behandlungsformen dar mit zum Teil lebensbedrohlichen Nebenwirkungen, wie Zerstörung des Knochenmarks mit nachfolgenden Infektionen durch opportunistische Erreger oder sekundäre Folgeerkrankungen wie MDS, Leukämien oder andere Neoplasien.

Ein sehr aggressives hochmalignes Lymphom ist das ALCL: Es kann zwar bei über 50 % der Betroffenen geheilt werden, bei vielen anderen Patienten führt es jedoch trotz Behandlung zum Tode. Deshalb ist die Entwicklung neuer Therapeutika und neuer Therapieformen ohne lebensbedrohliche Nebenwirkungen dringend erforderlich. Darüber hinaus werden Therapeutika benötigt, die Tumorrezidive nach einer erfolgreichen primären Behandlung mit konventionellen Therapiemaßnahmen verhindern.

Bei der Entwicklung neuer Therapiemaßnahmen, wie z. B. immuntherapeutischer Agenzien, wurden für die präklinischen in vivo Untersuchungen hauptsächlich Mäuse und nicht humane Primaten als Versuchstiere verwendet. Diese Tiermodelle spiegeln aber häufig nicht die physiologischen und pathophysiologischen Vorgänge des menschlichen Organismus wider. Bis vor kurzem existierten nur wenige Tiermodelle für maligne Lymphomerkkrankungen. Unserer Arbeitsgruppe stand die kürzlich etablierte IL-9 transfizierte T-Zelllinie G6BB zur Verfügung, die nach Injektion in immunkompetente, syngene C57Bl/6 Mäuse das Wachstum eines Tumors induzierte, der dem menschlichen ALCL glich. Die IL-9 Überexpression in unreifen T-Zellen führte zur Entstehung eines T-lymphoblastischen Lymphoms. IL-9 wird in über 50 % aller ALCL-Zelllinien und aller Zelllinien, die aus dem ALCL hervorgegangen sind, wie auch beim M. Hodgkin, überexprimiert. G6BB-Zellen zeigten die gleiche Morphologie wie typische von ALCL gewonnene Zellen.

Durch RT-PCR-Analysen wurde ein TH2-Zytokinprofil der G6BB-Zellen nachgewiesen. In Analogie zum menschlichen ALCL exprimierten G6BB-Zellen mRNA für die Zytokine IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL-13, wohingegen die TH1-Zytokine IL-2, IFN- $\gamma$  und IL-12 nicht exprimiert wurden, genauso wenig wie GM-CSF. Es kann angenommen werden, dass diese Zellen Wachstumsfaktoren sezernieren, die autokrin aktivierend wirken bzw. parakrin die gegen die Tumorausbreitung gerichtete zytotoxische TH1-Antwort hemmen.

Nach subcutaner oder intraperitonealer Injektion von  $10^4$  bis  $10^6$  G6BB-Zellen in C57Bl/6 Mäuse entwickelten alle Tiere in einem Zeitraum von 8 bis 13 Tagen einen Tumor. Der zunächst lokal wachsende Tumor

disseminierte nach einiger Zeit hämatogen und lymphogen in zahlreiche Organe und führte 2 bis 3 Monate nach Tumorzellgabe schließlich zum Tode der Tiere. In therapeutischen Studien wurden die Tiere getötet, sobald der lokale Tumor eine Größe von 1,2 cm im Durchmesser erreichte.

Histologische Untersuchungen des Tumors ergaben in Morphologie und Wachstumsverhalten ein identisches Bild zum menschlichen ALCL.

Aufgrund der Tatsache, dass die Tumoren in vollständig immunkompetenten, syngenen C57Bl/6 Mäusen etwas schneller wuchsen als in Nacktmäusen ohne T-Zell-System, kann davon ausgegangen werden, dass eine – wenn auch schwache – T-Zell-abhängige Immunreaktion ausgelöst wird.

Bemerkenswert ist, dass bei bereits messbarem Tumorzustand eine Therapie mit dem potenten Zytostatikum Cyclophosphamid keine Heilung erzielte, auch nicht bei einer Dosiserhöhung auf 250 mg/kg KG (entsprechend der doppelten Dosis bei üblicher Hochdosis-Chemotherapie beim Menschen) und bis zu sechsmaliger Behandlung in nur zehntägigem Intervall.

Daher stellte dieses Tiermodell des ALCL eine optimale Grundlage für die Erforschung neuer, immunmodulatorischer Behandlungsansätze dar, zumal der Therapieerfolg einfach an einer Tumorabwehr mit ausbleibender Tumorentstehung bzw. rezidivfreier Heilung der Versuchstiere abgelesen werden kann.

Dem hier dargestellten Therapieansatz, der in der Verabreichung von TH1-Zytokinen bzw. TH2-Zytokin-Antikörpern besteht, liegt die Unterscheidung zweier Unterklassen von CD4<sup>+</sup> T-Zellen zugrunde – TH1- und TH2-Zellen mit ihrem unterschiedlichen Zytokinprofil. Während TH1-Zellen die zelluläre Immunantwort vermitteln, indem sie IL-2, IFN- $\gamma$  und Tumor Nekrose Faktor  $\beta$  (TNF- $\beta$ ) sezernieren, unterstützen TH2-Zellen die humorale Immunantwort durch die Produktion von IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 und IL-13. Da sich die beiden T-Zell-Unterarten durch die Produktion dieser Zytokine gegenseitig beeinflussen (Xu et al. 1998), kann angenommen werden, dass ein T-Zell-Tumor mit einem TH2-Zytokinprofil die gegen das Tumorzustand gerichtete zytotoxische Immunreaktion hemmt. Unsere Untersuchungen bestätigten dieses Modell.

Wurden geringe Mengen Zytokine an 10 Tagen an die Stelle der Tumorzellinjektion appliziert, konnten zum Teil bemerkenswerte therapeutische Erfolge erzielt werden. IL-2 alleine war genauso wirksam wie die Behandlung mit einer Kombination der Zytokine IL-12, IFN- $\gamma$ , GM-CSF mit Anti-IL-10 Antikörpern. 29 % der so behandelten Tiere konnten ein Tumorzustand abwehren, weitere 43 bis 57 % wiesen eine signifikante Wachstumsverzögerung des entstehenden Tumors auf. Durch Kombination dieser beiden Behandlungsmetho-

den konnte ein additiver Therapieerfolg nicht erzielt werden.

Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass T-Zellen die wichtigste Zellart bei der immunologischen Tumorabwehr in diesem System darstellen. Wie bereits erwähnt, ist IL-2 in der Lage, ein Co-Signal für die Aktivierung von T-Zellen bereitzustellen und kann außerdem der T-Zell-Hemmung durch Anergie entgegenwirken. Bei der Durchführung der lokalen Therapie konnten wir keinerlei Nebenwirkungen an den Versuchstieren feststellen.

In weiteren Versuchsreihen sollen die verschiedenen Therapieansätze – Zytokintherapie, Vakzinierung mit bestrahlten Tumorzellen und unspezifische Aktivierung des Immunsystems durch CpG-Oligonukleotide – miteinander kombiniert werden.

Neuere Veröffentlichungen berichten von einer erfolgreichen Induktion einer Tumormunität durch Transfektion von Tumorzellen oder Dendritischen Zellen mit Zytokingenen. Dies stellt jedoch eine aufwendige, im klinischen Alltag kaum regelmäßig durchführbare Methode dar. Dagegen bietet die lokale Applikation von Zytokinen eine leicht realisierbare Therapieform. Zytokine können in Form von biologisch abbaubaren Nanopartikeln verabreicht werden, womit eine tägliche Injektion überflüssig wird. Diese Behandlungsform verursacht minimale toxische oder systemische Nebenwirkungen.

Damit eröffnet die Behandlung mit tumorspezifischen Zytokinen als immunmodulatorisches Therapiekonzept ein neues erfolgversprechendes Konzept in der Tumorthherapie.

## Literatur

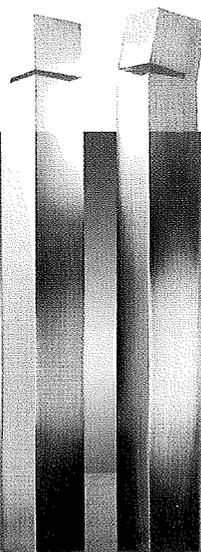
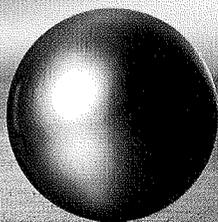
1. Hui K, Grosveld F, Festenstein H (1984) Rejection of transplantable AKR leukaemia cells following MHC DNA-mediated cell transformation. *Nature* 311 (5988): 750-752
2. Hsu SM, Waldron JW, Hsu PL, Hough AJ (1993) Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol* 24: 1040-1057
3. Merz H, Kapp U, Bittner C, Harder S, Lange K, Gaiser T, Müller A, Bentz M, Binder T, Diehl V, Feller AC (2000) L82, a new human t(2;5)(p23;q35) positive cell line induces tumors in SCID mice with features of anaplastic large cell lymphoma: a morphological, immunological, genetic and mRNA expression analysis. In press
4. Restifo NP, Esquivel F, Asher AL, Stotter H, Barth RJ, Bennink JR, Mule JJ, Yewdell JW, Rosenberg SA (1991) Defective presentation of endogenous antigens by a murine sarcoma. Implications for the failure of an anti-tumor immune response. *J Immunol* 147: 1453-1459
5. Uyttenhove C, Druetz C, Renauld JC, Herin M, Noel H, v. Snick J (1991) Autonomous growth and tumorigenicity induced by P40/interleukin 9 cDNA transfection of a mouse P40-dependent T cell line. *J Exp Med* 173: 519-522
6. Uyttenhove C, Maryanski J, Boon T (1983): Escape of mouse mastocytoma P815 after nearly complete rejection is due to antigen - loss variants rather than immunosuppression. *J Exp Med* 157: 1040-1052
7. Wortzel RD, Urban JL, Philipps C, Fitch FW, Schreiber H (1983) Independent immunodominant and immunorecessive tumor-specific antigens on a malignant tumor: antigenic dissection with cytolytic T cell clones. *J Immunol* 130: 2461-2466
8. Xu B, Aoyama K, Kitani A, Yu S, Matsuyama T, Matsushita T (1998) Interleukin-12 enhances contact hypersensitivity by modulating the in vivo pattern in mice. *J Interferon Cytokine Res* 18: 23-31



LB Kiel

# Ideen

Ideen  
**Ideen**



Sprache und Kunst geben die Ideen der Menschen weiter. Mit der Skulptur „Dialog“ des Künstlers Victor Bonato setzt die LB Kiel in ihrem Forum Private Banking daher ein Zeichen. Denn gerade im **Private Banking** ist der Dialog durch nichts zu ersetzen. Im individuellen Stil einer Privatbank und mit der hohen Leistungsfähigkeit einer international tätigen Großbank entwickeln wir gemeinsam mit Ihnen Ihre ganz private Vermögensstrategie: ganzheitlich, unabhängig, professionell und – so privat wie Ihre Ziele.

## setzen Zeichen

Bank des Nordens

**Landesbank Schleswig-Holstein**  
**Niederlassung Lübeck**  
Breite Straße 36-40, 23552 Lübeck  
[www.lb-kiel.de](http://www.lb-kiel.de) · [private.banking@lb-kiel.de](mailto:private.banking@lb-kiel.de)  
Ein Unternehmen der Finanzgruppe

Aus der <sup>1</sup>Klinik für Augenheilkunde der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. H. Laqua), dem <sup>2</sup>Institut für Medizinische Molekularbiologie der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. P.K. Müller), dem <sup>3</sup>Institut für Mikrobiologie der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig (Leiter: Prof. Dr. K.N. Timmis) und dem <sup>4</sup>Institut für physiologische Chemie der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg zu Halle (Direktor: Prof. Dr. Dr. T. Braun)

## Charakterisierung der extrazellulären Matrix beim Pseudoexfoliationssyndrom

C. Wirbelauer<sup>1</sup>, D. Reinhardt<sup>2</sup>, H. Lünsdorf<sup>3</sup>, E. Weber<sup>4</sup>, H. Laqua<sup>1</sup>, J. Winkler<sup>1</sup>

### Zusammenfassung

Das Pseudoexfoliationssyndrom (PEX) ist eine häufige Erkrankung bei alten Menschen und bei bestimmten ethnischen Bevölkerungsgruppen. Es ist charakterisiert durch systemische fibrilläre Ablagerungen, die auf der Linse, Iris und verschiedenen anderen Strukturen des vorderen Augensegmentes sichtbar werden. Die klinische Diagnose wird durch das typische Erscheinungsbild des Exfoliationsmaterials auf der Linsenvorderkapsel gestellt. Die Erkrankung kann ein- oder beidseitig sein und durch die Anhäufung von Exfoliationsmaterial und Pigment der Iris im Trabekelmaschenwerk kann sich ein Glaukom ausbilden.

Ultrastrukturell hatten die PEX-Fibrillen in unseren Untersuchungen ein charakteristisches Erscheinungsbild aus einem Komplex von globulären und fibrillären Untereinheiten, die sich in einer amorphen Grundmatrix zu unregelmäßigen Agglomeraten anordneten. Zwei Haupttypen von Fibrillen konnten differenziert werden, wobei typischerweise eine globuläre Periodizität vorgefunden wurde. In der Oberflächendarstellung wiesen die PEX-Auflagerungen der Linsenkapsel eine pflastersteinartige Gestalt auf. Die Charakterisierung der Grundmatrix zeigte eine intensive und homogene Markierung des PEX-Materials mit kationischem Gold, welches negativ-geladene Glykosaminoglykane nachweist. Immunhistochemisch waren Fibronectin, als Anteil der Basalmembranen, und Fibrillin-1, als Komponente der elastischen Fasern, spezifisch anfärbbar. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese einer Störung der Synthese der extrazellulären Matrix. Das Vorliegen von Proteinase im PEX-Material, wie Kathepsin B und L, weist zusätzlich auf mögliche Interaktionen mit den physiologischen Prozessen der Gewebe und der Beeinflussung des regulären Aufbaus der extrazellulären Matrix hin. In diesem Zusammenhang wird auf die systemische Beteiligung beim PEX-Syndrom eingegangen.

### Summary

The pseudoexfoliation syndrome (PEX) is a frequent disorder affecting elderly individuals. Characteristic findings include systemic fibrillar deposits on the lens, the iris, and also other structures of the anterior eye segment. The typical deposits of the exfoliation material on the anterior lens capsule enable the clinical diagnosis. Deposition of PEX material and pigment of the iris in the trabecular meshwork is a significant risk factor for the development of a secondary glaucoma.

In our investigations, the PEX material ultrastructurally revealed a complex arrangement of globular and fibrillar components agglomerated in an amorphous substance. Two different types of fibrils with globular periodicity were observed. Surface imaging of the PEX deposits on the lens capsule revealed a homogeneous cobble stone-like pattern. Further characterization showed an intense staining of the PEX material with colloidal cationic gold, indicating the presence of negatively charged glycosaminoglycans. Immunohistochemically, two extracellular proteins, fibronectin and fibrillin-1, were specifically labeled. These results support the hypothesis that the development of PEX originates from a misexpression of extracellular protein components. The detection of two lysosomal enzymes in the PEX material, cathepsin B and L, further indicates that the degenerative processes in extracellular matrix structures could be mediated by proteases. In this context also the systemic involvement in the PEX syndrome must be addressed.

### Einleitung

Das Pseudoexfoliationssyndrom (PEX) ist eine altersbezogene, generalisierte degenerative Fibrilopathie ungeklärter Ätiologie, die sich durch die Ablagerung eines abnormalen grauweißen, fibrillären Materials auf verschiedenen Strukturen des vorderen Augenseg-

ments auszeichnet. Die Diagnose kann nach Pupillen-erweiterung anhand des typischen spaltlampen-biomi-kroskopischen Befundes mit Vorliegen von Exfoliationsmaterial auf der Linsenvorderfläche und/oder dem Pupillarsaum gestellt werden (Abb. 1). Die genaue Ätiologie des PEX-Syndroms ist bisher, trotz erheblicher wissenschaftlicher Bemühungen seit dessen Erstbeschreibung im Jahre 1917, noch ungeklärt. Epidemiologisch ist eine Prävalenz von 10 bis 20 % nach dem 60. Lebensjahr bekannt, wobei es regionale Unterschiede gibt. Geographische und ethnische Zugehörigkeit sind wichtige Determinanten mit einer hohen Prävalenz in den skandinavischen Ländern. Ein familiäres Auftreten mit autosomal-dominantem Erbgang wird nach bisherigen Erkenntnissen angenommen, wobei erst kürzlich eine Assoziation mit dem Chromosom 2 festgestellt wurde und zusätzlich eine genetische Heterogenität vorliegen soll (2). Als mögliche Ursachen werden neben genetischen Faktoren auch nicht-genetische Auslöser, wie beispielsweise umweltbedingte Einflüsse wie UV-Licht oder immunologische und virale Ursachen, angenommen (2).

Im klinischen Bereich ist die wichtigste pathophysiologische Bedeutung durch die Ausbildung eines Sekundärglaukoms geprägt, d. h. einer Erhöhung des Augeninnendrucks, die zu einer Schädigung des Nervus opticus mit Sehverlust führt. Mit etwa 20 % ist es sogar die häufigste Ursache eines Sekundärglaukoms. Untersuchungen bei Patienten mit PEX zeigten, dass ultrastrukturelle Veränderungen im Kammerwinkel die Hydrodynamik des Kammerwassers beeinflussen und zu einer höheren Abflussresistenz führen (6, 14). Histologisch nachgewiesenes fibrilläres Material und Pigmentgranula im Trabekelmaschenwerk sind hauptsächlich für diese pathologische Erhöhung des intraokularen Druckes verantwortlich.

Das PEX-Syndrom ist außerdem ein bedeutsamer Risikofaktor bei der extrakapsulären Kataraktextraktion, die zu den am häufigsten durchgeführten Operationen zählt. Zum einen kommt es zu einer engeren Pupille als Folge degenerativer Irisveränderungen mit Atrophie der Iris Muskeln und Abnahme der Elastizität im Irisstroma. Zum anderen führt die veränderte Elastizität der Zonulafasern, die außerdem brüchig und vom Ziliarkörper und der Linsenkapsel abgetrennt sind, zu einer Beeinträchtigung des Halteapparates der Linse. Dadurch ist das Risiko einer Zonulolyse oder einer Kapselruptur mit nachfolgendem Glaskörperverlust, also eine schwerwiegende Komplikation im Bereich der Kataraktchirurgie, um etwa das 5-fache erhöht (6). Schließlich führen PEX-Ablagerungen auf der Hornhautrückfläche zu einer Verminderung der Endothelzellen um 10-20 % (15) mit drohender Endotheldekompensation und möglicher Beeinträchtigung der Transparenz der Hornhaut (6).

Neuerdings zeichnet sich außerdem die systemische Beteiligung aller Organsysteme ab mit potentiellen extraokulären funktionellen Veränderungen. Im Verlauf ersetzen und zerstören die fibrillären Ablagerungen, die nicht Teil des normalen Alterungsvorganges sind, sukzessive die normale extrazelluläre Matrix und führen letztendlich zur Atrophie und Degeneration der involvierten Zellen mit Beeinträchtigung der Funktion (6). Das eigentliche Problem sind somit nicht die PEX-Fibrillen selbst, sondern die Interaktion mit den betroffenen Geweben und den nachfolgenden Umbaureaktionen.

Da die genaue Zusammensetzung des PEX-Materials noch ungeklärt ist, führten wir ultrastrukturelle und immunzytochemische Untersuchungen zur Charakterisierung einzelner Bestandteile durch.

### **Patienten und Methoden**

Bei unseren Untersuchungen wurde nach entsprechender Aufklärung und Einwilligung der Patienten im Rahmen der Kataraktoperation der zentrale Anteil der Linsenkapsel durch eine Kapsulorhexis kreisförmig eröffnet. Bei 25 Patienten mit PEX (79±7 Jahre) sowie bei einer alterskorrelierten Kontrollgruppe (76±11 Jahre) wurden die Proben zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. Die Linsenkapsel wurde anschließend in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) mit 2 % Paraformaldehyd und 0,4 % Glutaraldehyd für 12 Stunden bei 4°C fixiert. Es folgten 3 Waschungen mit PBS-Glycin-Puffer. Anschließend wurden die Proben in einer ansteigenden Alkoholreihe entwässert und in Paraffin oder Kunstharz (LR-White) eingebettet.

### *Rasterelektronenmikroskopie*

Für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen wurden die Proben in 4 % Glutaraldehyd über Nacht bei 4°C fixiert, in einer ansteigenden Acetonreihe entwässert und anschließend einer Kritischen-Punkt-Trocknung unterzogen (CPD 030 Bal-Tec, Liechtenstein). Nach der Beschichtung der Proben mit einem dünnen Goldfilm (SCU 040 Balzers Union, Liechtenstein) wurden die Präparate mit einem Rasterelektronenmikroskop (DSM 982 Gemini, Zeiss, Oberkochen) bei einer Beschleunigungsspannung von 5 kV untersucht.

### *Markierung von sauren Glykosaminoglykanen*

Das Probenmaterial wurde zusätzlich mit kolloidalem kationischen Gold (CCG), gelöst in PBS und 0,1 % (w/v) Rinderserumalbumin (pH 2 oder 7), für 12 Stunden bei 4°C inkubiert. Anschließend wurden die Proben gewaschen, entwässert und in LR-White eingebettet. Für die Untersuchungen wurden Ultradünnschnitte (silberfarben) mit einem Ultramikrotom (OMU 3, Rei-

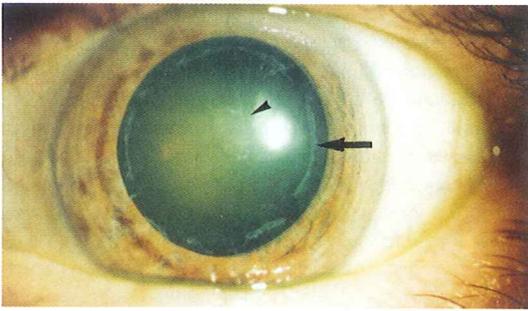


Abb. 1. Spaltlampen-biomikroskopische Diagnose des Pseudoexfoliationsyndroms. Das weißliche PEX-Material kann im Bereich der Linsenvorderfläche (Pfeilspitze – zentraler Anteil; Pfeil – peripherer Anteil) erkannt werden.

chert, Österreich) angefertigt. Die Untersuchungen erfolgten mit einem Transmissionselektronenmikroskop (Zeiss EM9, Oberkochen) bei einer Beschleunigungsspannung von 60 kV.

#### Immunhistochemie

Zur immunhistochemischen Proteincharakterisierung wurden Schnitte mit einer Dicke von 4-5  $\mu\text{m}$  verwendet. Die Schnitte wurden in Xylen und Aceton entparaffiniert und in einer 0,1 M Zitratlösung (pH 6) in der Mikrowelle für 6 Minuten bei 630 W inkubiert. Anschließend wurden die Proben über Nacht bei 4°C mit Antikörpern gegen Fibrillin-1, Kathepsin-B und -L, sowie Fibronectin inkubiert und mit sekundären Antikörpern markiert. Zuletzt wurden die Schnitte mit Hemaotoxylin-Eosin (HE) bzw. mit 4',6-diamidino-2-pheny-

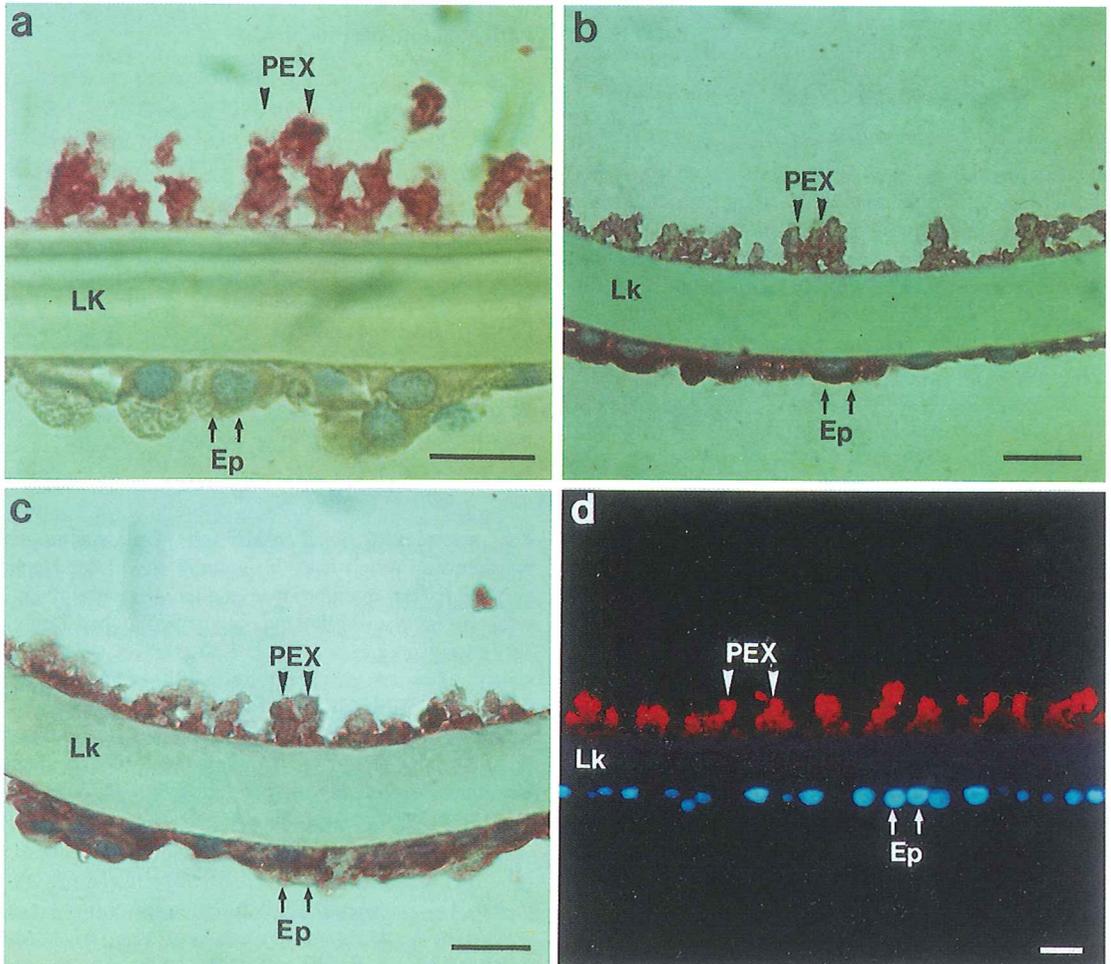


Abb. 3. Licht- (a, b, c) und immunfluoreszenzmikroskopische (d) Markierungen des PEX-Materials im Bereich der zentralen Linsenkapsel (LK). Die Auflagerungen haben eine bäumchenförmige Struktur und werden von spezifischen Antikörpern gegen Fibronectin (a), Kathepsin L (b), Kathepsin B (c) und Fibrillin-1 (d) markiert. Ep = Epithelzellen. Maßstab 15  $\mu\text{m}$

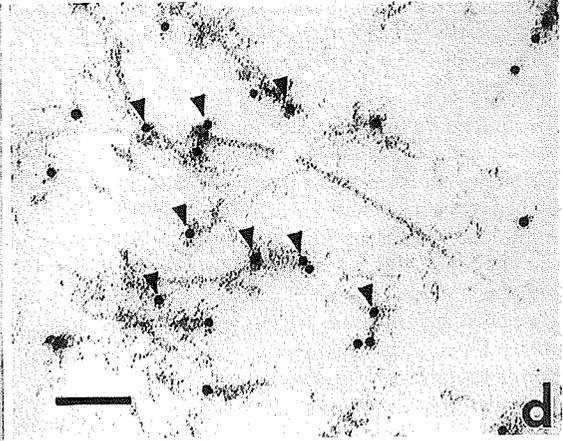
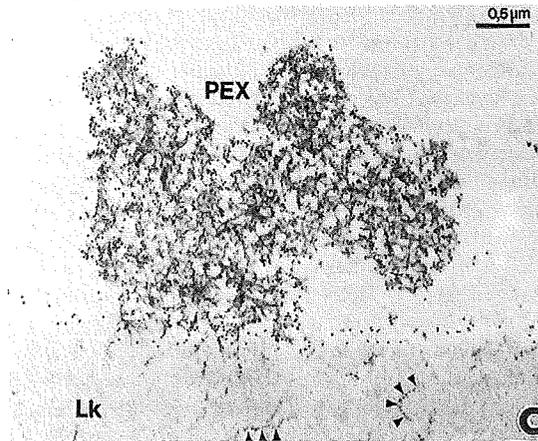
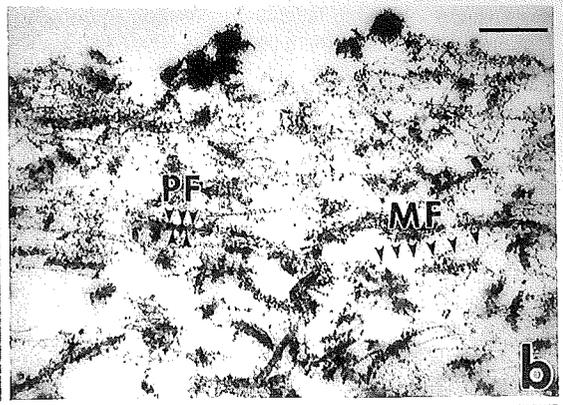
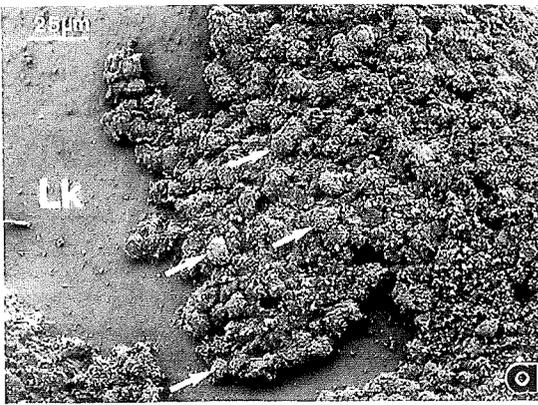


Abb. 2a. REM-Aufnahme des PEX-Materials im Bereich der zentralen Linsenkapsel (LK). Einzelne globuläre PEX-Aggregate wurden mit Pfeilen markiert.

Abb. 2b. TEM-Aufnahme des PEX-Materials im Bereich der zentralen Linsenkapsel. Mikrofibrillen (MF) und PEX-Fibrillen (PF) haben eine unregelmäßige Anordnung und verbinden sich zu diffusen Agglomeraten. Maßstab 0,3 µm.

Abb. 2c. Markierung mit kationischem Gold zum Nachweis negativ-geladener Glykosaminoglykane. Das PEX-Aggregat zeigt eine intensive Markierung mit Goldpartikeln. Die Linsenkapseloberfläche wird vergleichsweise schwach markiert. Auch innerhalb der Linsenkapsel sind deutlich fibrilläre Anteile zu erkennen (Pfeilspitzen). LK = Linsenkapsel.

Abb. 2d. Eine starke Vergrößerung eines aufgelockerten PEX-Aggregates zeigt, dass die Goldmarkierung auf kontrastschwache, nicht fibrilläre Bereiche begrenzt ist. Maßstab 0,1 µm.

lindol (DAPI) gefärbt. Die Ergebnisse wurden licht- bzw. fluoreszenzmikroskopisch ausgewertet (Axioskop, Zeiss, Oberkochen).

### Ergebnisse

Die rasterelektronenmikroskopische (REM) Darstellung zeigte im Bereich der Vorderfläche der Linsenkapsel Auflagerungen mit einer homogenen pflastersteinartigen Gestalt (Abb. 2a). Die Auflagerungen schienen hierbei teilweise abgeschilfert zu sein. Dieses kann durch eine mechanische Interaktion bei Kontakt-

flächen mit der im Auge darüber liegenden Iris und dessen physiologischen Bewegungen erklärt werden.

Die genaue morphologische Beschreibung mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) zeigte fibrilläre Auflagerungen (Abb. 2b). Die Fibrillen bestanden aus einem Komplex aus globulären und fibrillären Untereinheiten, die sich zu unregelmäßigen Agglomeraten anordneten. Zwei Haupttypen von Fibrillen konnten differenziert werden. Die einen waren kompakter mit einem maximalen Durchmesser von etwa 45 nm (Abb. 2b). Im Vergleich dazu hatten die Fibrillen

des zweiten Typs eine fadenartige Struktur mit einem Durchmesser von ca. 10 nm (Abb. 2b). Beide Fibrillentypen zeigten globuläre Periodizitäten.

Zur Charakterisierung der Grundmatrix wurden die Proben zusätzlich mit kationischem Gold markiert. Die Markierung erfolgte bei pH 2, um eine spezifische Reaktion mit den stark sauren Glykosaminoglykanen zu ermöglichen. Die PEX-Auflagerungen zeigten hierbei eine intensive und homogene Markierung mit den positiv geladenen Goldpartikeln (Abb. 2c). Bei stärkerer Vergrößerung wurde deutlich, dass nicht die Fibrillen selbst, sondern kontrastarme Zwischenbereiche mit Gold markiert wurden (Abb. 2d). Die Oberfläche der Linsenkapsel war hingegen nur vereinzelt mit Goldpartikeln belegt. In der Linsenkapsel selbst waren einzelne Fibrillen ohne Markierung deutlich zu erkennen (Pfeilspitzen), da die Größe der Goldpartikel von 15 nm ein Eindringen in die Basalmembran verhinderte.

Die Aufarbeitung des PEX-Materials durch immunhistochemische Untersuchungen ermöglichte eine nähere Charakterisierung des Proteinanteils. Die untersuchten Proben zeigten lichtmikroskopisch eine spezifische Anfärbung von Fibronectin (Abb. 3a) und der Kathepsine L und B (Abb. 3b und 3c), wobei die PEX-Auflagerungen eine charakteristische bäumchenförmige Morphologie aufwiesen. Weiterhin konnte eine ausgeprägte Fluoreszenz-Markierung von Fibrillin-1, eine Komponente der elastischen Fasern, im PEX-Material nachgewiesen werden (Abb. 3d).

## Diskussion

Das PEX-Material wurde im ophthalmologischen Bereich vor allem in den epithelialen Geweben, wie, das unpigmentierte Ziliarepithel, das Irispigmentepithel, das prääquatoriale Linsenepithel, das Hornhautendothel sowie das Trabekelwerksendothel histologisch nachgewiesen (6). Ferner konnten die typischen PEX-Fibrillen in Bindegewebszellen, Muskelzellen, vaskulären Endothelzellen und Perizyten beobachtet werden. In diesen Zelltypen erfolgt eine multifokale aktive Produktion, während auf intraokularen Strukturen auch passive Ablagerungen über das Kammerwasser möglich sind. Das PEX-Material scheint hierbei an der Zelloberfläche synthetisiert zu werden und konnte bisher nicht intrazellulär beobachtet werden (6). Die Ergebnisse unserer Arbeit stützen und erweitern frühere Untersuchungen der Linsenkapsel bei dieser Erkrankung (1, 6). Das PEX-Material kommt auf und in der Linsenkapsel sowie in der Umgebung des Linsenepithels vor (1). Durch die immunhistochemische Aufarbeitung des PEX-Materials wurde eine komplexe, enzymatisch resistente Proteoglykan-Verbindung nachgewiesen, welche aus einem Proteinkern umgeben von Polysaccharidketten besteht. Die Markierung der

Grundmatrix mit kationischem Gold weist negativ-geladene Glykosaminoglykane, beispielsweise Heparansulfat oder Chondroitinsulfat, im PEX-Material nach. Hierbei kann eine charakteristische zytochemische Verteilung der Goldpartikel an der Linsenkapseloberfläche und im PEX-Material vorgefunden werden. Die Markierung mit kolloidalem Gold legt die Vermutung nahe, dass neben spezifischen Protein-Wechselwirkungen auch eine elektrostatische Anziehung zwischen den PEX-Partikeln und der Linsenkapseloberfläche besteht. Diese Vermutung wird gestützt durch die Tatsache, dass eine gesunde Linsenkapseloberfläche deutlich stärker mit kolloidalem Gold markiert wird und daher eine stärker negativ geladene Oberfläche aufweist als eine mit PEX befallene Linsenkapsel.

Unsere Untersuchungen bestätigen und ergänzen die bisherigen immunhistochemischen Nachweise zur näheren Charakterisierung des Proteinanteils. Man findet zum einen nicht-kollagene Basalmembran-Komponenten, beispielsweise Entactin/Nidogen, Heparansulfat, Laminin oder Fibronectin (6). Zum anderen liegen auch Anteile des elastischen Fasersystems, unter anderem Elastin, Vitronectin, Amyloid-P und Fibrillin-1 (9, 13) vor. Auch Kollagen IV wurde vereinzelt nachgewiesen. Unsere Untersuchungen konnten strukturelle Komponenten identifizieren, welche sowohl den Basalmembranen als auch den elastischen Fasern zugeordnet werden können. Weiterhin konnten in anderen Untersuchungen amyloidähnliche Substanzen nachgewiesen werden (7). Obwohl die genaue biochemische Zusammensetzung des fibrillären Materials noch ungeklärt ist, wurden diese Ergebnisse zum einen als eine gestörte Basalmembran-Biosynthese (3, 6), zum anderen als eine besondere Form einer Elastose (9) interpretiert. Als weitere Komponenten konnten wir die Kathepsine B und L nachweisen. Die Kathepsine gehören zu einer Gruppe von intrazellulären lysosomalen Proteinasen, welche in der Lage sind, Basalmembranen abzubauen. Es ist somit naheliegend, dass möglicherweise die Kathepsine für eine partielle Auflösung der Linsenkapseloberfläche und der Zonulafasern als Folge der PEX-Auflagerungen verantwortlich sind (12).

Für den Kliniker besonders interessant ist, dass das PEX-Syndrom ein systemischer Prozess der extrazellulären Matrix ist und somit ein interdisziplinäres Problem darstellt. Das PEX-Material konnte bisher auch in der Bindehaut, der Lidhaut, den peribulbären und orbitalen Geweben, der Körperhaut und den viszeralen Organen, d. h. Lunge, Herz, Leber, Niere sowie den zerebralen Meningen festgestellt werden (9, 10, 11). Insbesondere der kutane Nachweis einer PEX-Fibrillose, ähnlich der okulären Form, scheint einen Anhalt auf eine besondere Form einer Elastose zu geben. Es ist aber noch unklar, ob die systemische Beteiligung mit klinischen Veränderungen assoziiert ist. Erste vorläufig-

ge Ergebnisse belegen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (5), eine erhöhte Permeabilität der Magen-Darm-Barriere (8) sowie eine Assoziation mit dem HLA-Typ (4).

Aus den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen konnten wir das Verständnis über das PEX-Syndrom erweitern. Durch die begrenzte Materialmenge und die geringe Löslichkeit des PEX-Materials sind jedoch weitere proteinbiochemische Analysen nur erschwert durchführbar. Eine Sequenzierung gereinigter Proteine aus dem PEX-Material könnte eine Identifikation von weiteren neuen Komponenten ermöglichen, um nachfolgend eine gezielte immunhistochemische Detektion mit spezifischen Antikörpern durchführen zu können. Auch die Analyse weiterer enzymatischer Komponenten, wie beispielsweise aus der Gruppe der Metalloproteinasen, könnte weitere Hinweise auf die Zusammensetzung des PEX-Materials liefern. Aus theoretischen Überlegungen sind schließlich Untersuchungen von Quervernetzungen der extrazellulären Matrixkomponenten, sogenannte advanced glycation end products (AGE), oder Bestimmungen der Konzentrationen an Wachstumsfaktoren Wege, weitere Aufschlüsse über die Gewebeinteraktionen zu erhalten. Zukünftige Untersuchungen sollten aber neben der weiteren biochemischen Charakterisierung auch die genetischen Ursachen dieses pathologisch veränderten Metabolismus der extrazellulären Matrix beinhalten. Von besonderer Bedeutung ist unserer Meinung nach eine interdisziplinäre Überprüfung der allgemeinen klinischen Relevanz dieser systemischen Beteiligung der extrazellulären Matrix. Weitere Untersuchungen sind bereits im Rahmen eines Teilprojektes des von der Fakultät der Medizinischen Universität zu Lübeck geförderten Forschungsschwerpunkts zur Charakterisierung der extrazellulären Matrix geplant und werden der Erweiterung des Grundlagenwissens, aber auch dem klinischen Verständnis dienen.

### Danksagung

Die Autoren danken Frau G. Müller und Frau V. Frank aus dem Labor der Klinik für Augenheilkunde für die ausgezeichnete Unterstützung bei der Verarbeitung der Gewebeproben.

### Literatur

1. Bergmanson JPG, Jones WL, Chu LWF (1984) Ultrastructural observations on pseudoexfoliation of the lens capsule: a re-examination of the involvement of the lens epithelium. *Br J Ophthalmol* 68:118-123
2. Damji KF, Bains HS, Stefansson E, Loftsdottir M, Sverrisson T, Thorgeirsson E, Jonasson F, Gottfredsdottir M, Allingham RR (1998) Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic Gen* 19:175-185
3. Eagle RC, Font RL, Fine BS (1979) The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 7:510-515
4. FitzSimon JS, Mulvihill A, Kennedy S, Finch A, Collum LMT, Eustace P (1996) Association of HLA type with pseudoexfoliation of the lens capsule. *Br J Ophthalmol* 80:402-404
5. Mitchell P, Wang JJ, Smith W (1997) Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol* 124:685-687
6. Naumann GOH, Schlötzer-Schrehardt U, Kühle M (1998) Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist – intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology* 105:951-968
7. Ringvold A, Husby G (1973) Pseudoexfoliation material - an amyloid-like substance. *Exp Eye Res* 17: 289-299
8. Ringvold A, Overgaard RG (1995) Increased IgA antibodies to gluten and gliadin in serum of persons with ocular pseudo-exfoliation. *Acta Ophthalmol Scand* 73:171-172
9. Streeten BW, Bookman L, Ritch R, Prince AM, Dark AJ (1987) Pseudoexfoliative fibrilloglycopathia in the conjunctiva. A relation to elastic fibers and elastosis. *Ophthalmology* 94:1439-1449
10. Streeten BW, Dark AJ, Wallace RN, Li ZY, Hoepner JA (1990) Pseudoexfoliative fibrilloglycopathia in the skin of patients with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol* 110:490-499
11. Schlötzer-Schrehardt U, Koca MR, Naumann GOH, Volkholz H (1992) Pseudoexfoliation syndrome – ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 110:1752-1756
12. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GOH (1994) A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 118:730-743
13. Schlötzer-Schrehardt U, von der Mark K, Sakai LY, Naumann GOH (1997) Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:970-984
14. Wirbelauer C, Anders N, Pham DT, Wollensak J, Laqua H (1998) Intraocular pressure in nonglaucomatous eyes with pseudoexfoliation syndrome after cataract surgery. *Ophthalmic Surg Lasers* 29:466-471
15. Wirbelauer C, Anders N, Pham DT, Wollensak J (1998) Corneal endothelial cell changes in pseudoexfoliation syndrome after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 116:145-149

# Prader-Willi-Syndrom als Folge einer uniparentalen Disomie (UPD)\*

K. Mennicke, A. Müller, S. Purmann, F. Hinrichs und M. Hagedorn-Greife

## Zusammenfassung

Prader-Willi-Syndrom (PWS) und Angelman Syndrom (AS) sind zwei auf Chromosom 15 im Bereich 15q11-13 lokalisierte Erkrankungen, die zwar phänotypisch völlig unterschiedlich sind, jedoch genetisch sehr große Ähnlichkeiten besitzen. Hierbei spielt in beiden Fällen das sog. genomische Imprinting, d. h. durch Methylierung bedingte genetische Prägevorgänge, die wesentliche Rolle. Beide Erkrankungen werden in der Mehrzahl durch Deletionen im Bereich 15q 11-13 verursacht, im Falle des PWS findet sich darüberhinaus in ca. 30 % eine uniparentale Disomie (UPD) 15 unterschiedlicher Genese.

Der Phänotyp ist dabei abhängig davon, welches elterliche Chromosom 15 deletiert oder aber im Falle der UPD nicht bzw. doppelt vorhanden ist. Bei einem durch UPD 15 verursachten PWS ist die Region 15q 11-13 auf beiden Chromosomen 15 väterlichen Ursprungs.

Das Prader-Willi-Syndrom ist klinisch durch eine Entwicklungsretardierung, Kleinwuchs und eine Hyperphagie mit massiver Adipositas besonders charakterisiert. Die Bedeutung der UPD in der Kausalität des PWS ist erst relativ spät erkannt worden und soll mit ihren diagnostischen Besonderheiten anhand zweier Kasuistiken von Patienten mit einem Prader-Willi-Syndrom vorgestellt werden.

## Summary

Prader-Willi syndrome (PWS) and Angelman syndrome are two phenotypically different diseases which both map to chromosome 15q11-13. Despite the clinical adverse picture they share remarkable genetic similarities. In both syndromes, deletions in the aforementioned region are found in the majority of cases. Moreover, uniparental disomy (UPD, i.e. the same parental origin of a chromosome/chromosomal region) of

chromosome 15 is frequently involved in the development of PWS. Genomic imprinting (activation/inactivation processes of chromosomal regions e.g. by methylation) plays a key role in the formation of both diseases which is particularly evident in individuals with UPD. Deletions as well as UPD may affect either maternally or paternally derived chromosomes 15 and clinical phenotype develops dependent on which chromosome is affected.

Prader-Willi syndrome is clinically characterised mainly by developmental delay, small stature and hyperphagia with massive adiposity.

Here we describe diagnostic proceedings and peculiarities in two patients with PWS due to UPD in chromosome 15 thus emphasising the relevance of UPD in the aetiology of PWS.

## Einleitung

Bestimmte Regionen des menschlichen Genoms unterliegen einer elternspezifischen Prägung, so dass nur das mütterliche oder das väterliche Allel exprimiert wird. Dieses genomische Imprinting ist ein epigenetischer Prozess, der bereits in der männlichen und weiblichen Keimbahn erfolgt. Bei der DNA-Modifikation handelt es sich um die Methylierung von CpG-Dinukleotiden am 5'-Kohlenstoffatom des Cytosinrestes (Horsthemke, 1998). Der Promotorbereich aktiver Genkopien ist meistens unmethyliert, während er bei inaktiven Genkopien methyliert ist. Das Säugetiergenom enthält vermutlich 100 bis 200 elternspezifisch exprimierte Gene, von denen bislang lediglich zwei Dutzend bekannt sind (Ledbetter und Engel, 1995). Die Gene scheinen nicht willkürlich über das Genom verteilt zu sein, sondern in bestimmten Regionen gehäuft aufzutreten. Die meisten imprinting-Gene wurden bislang auf Chromosom 15 in der Region 15q11-q13 isoliert. Deletionen des väterlichen Allels in dieser Region führen zum Prader-Willi-Syndrom (PWS), Deletionen des mütterlichen Allels führen zum Angelman-Syndrom (AS). Diese beiden genetischen Syndrome sind klinisch verschiedene, von

\* Gewidmet Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Schwinger zum 60. Geburtstag

auffälligem Verhalten begleitete Erkrankungen mit Entwicklungsstörungen. Beide Syndrome haben eine Inzidenz von ca. 1:15 000.

Klinisch fallen Kinder mit Prader-Willi-Syndrom bereits im Neugeborenen-Alter durch ausgeprägte Muskelhypotonie, begleitet von Trink- und Schreischwäche auf. Bei Knaben imponiert ein hypoplastisches Genitale. Die initialen Ernährungsschwierigkeiten schlagen in den ersten Lebensjahren in eine schwer steuerbare Hyperphagie um. In der Regel liegt eine Lernbehinderung vor. Weitere Leitsymptome sind Minderwuchs, kleine Hände und Füße sowie hypogonadotroper Hypogonadismus. Seltener sind Krampfanfälle, hypoglykämische präkomatöse Zustände und ein später auftretender Insulin-resistenter Diabetes mellitus. Die Prognose hängt sehr stark von der pädagogischen Förderung und der Kontrolle des Essverhaltens ab.

Die häufigste Ursache dieser Erkrankung ist eine Deletion im Bereich 15q11-q13, die bei ca. 70 % der Betroffenen vorliegt (Nicholls et al., 1998). Hierbei handelt es sich meistens um eine 3-4 Mbp umfassende interstitielle Deletion. Der Unterschied zwischen Angelman-Syndrom und Prader-Willi-Syndrom liegt nicht in der Größe des molekularen Defektes, sondern in dessen elterlichen Ursprung: Deletionen bei Angelman-Syndrom sind strikt mütterlicher Herkunft, wohingegen Deletionen beim Prader-Willi-Syndrom immer väterlicher Herkunft sind. Bisher bekannte Imprinting-Gene, die bei PWS deletiert bzw. mutiert sind, sind u. a. das Zinkfinger-Protein-Gen 127 (ZNF127), das SNRPN („small-nuclear-ribonucleinprotein-N-Gen“), das Nectin-Gen (NDN) sowie das IPW („imprinted in Prader-Willi syndrome region“) (Morrison und Reeve, 1998). In die Deletion einbezogen können weitere benachbarte Geneorte sein (z. B. Gen für Albinismus), die die Symptomatik erweitern bzw. eine Variabilität der klinischen Merkmalsausprägung erklären im Sinne eines Contiguous Gene Syndroms.

Fast alle Prader-Willi-Syndrom-Patienten ohne Deletion haben eine maternale uniparentale Disomie, die auf unterschiedliche Weise entstanden sein kann. Lässt sich die PWS/AS-Region demselben mütterlichen Chromosom 15 zuordnen, so spricht man von einer maternalen Isodisomie, sind die PWS/AS-Regionen beider mütterlicher Chromosomen 15 vorhanden, so handelt es sich um eine sog. maternale Heterodisomie.

Die Patienten haben zwar zwei Kopien der PWS-Gene, aber beide Kopien sind stumm, so dass ein vollständiger Funktionsverlust dieser Gene vorliegt.

Während Deletionen als Ursache für das PWS/AS schon vor längerer Zeit beschrieben wurden, hat man weitere Ursachen wie uniparentale Disomie und Imprinting-Mutationen erst im Verlauf der letzten Jahre in ihrer Bedeutung erkannt.

## Diagnostik bei Verdacht auf Prader-Willi-Syndrom

### 1. Cytogenetische Diagnostik

Die Chromosomenanalyse stellt eine humangenetische Basisdiagnostik dar, die allerdings nicht spezifisch zur Diagnose eines PWS/AS eingesetzt werden kann. Chromosomale Auffälligkeiten wie z. B. das Vorhandensein Robertson'scher Translokationen (wie im beschriebenen Fall 1), können aber Hinweise auf ein PWS/AS liefern.

Die Chromosomenpräparate können für eine weitergehende FISH-Diagnostik eingesetzt werden.

### 2. Fluoreszenzinsitu-Hybridisierung (FISH)

Mit einem Panel von Digoxigenin/Biotin markierten genomischen Sonden kann die gesamte Prader-Willi-/Angelman-Region dargestellt werden. Mikrodeletionen in diesem Bereich lassen sich mit einer/mehreren dieser Sonden in vielen Fällen nachweisen.

### 3. Molekulargenetische Diagnostik

Die elternspezifischen Methylierungsunterschiede im Bereich der PWS-Kandidatengene lassen sich auf DNA-Ebene mit Hilfe methylierungssensitiver Restriktionsenzyme oder nach Bisulfitbehandlung der DNA mit einer methylierungssensitiven PCR (MS-PCR) nachweisen (Kubota et al., 1997). Die Bisulfitbehandlung der DNA bewirkt die Modifikation der unmethylierten Cytosin-Moleküle zu Uracil, während 5-Methylcytosin unbeeinflusst bleibt.

Die anschließenden PCR-Amplifikationen mit sequenzspezifischen Primern, die methylierte von unmethylierter DNA unterscheiden können, ermöglichen dann jeweils den Nachweis der entsprechenden DNA-Abschnitte.

Ein Verlust des paternalen Allels durch eine uniparentale Disomie, eine Deletion oder eine Imprinting-Mutation verändert das normale Methylierungsmuster der DNA (Abb.1).

Steht nur die DNA des Patienten zur Verfügung, kann lediglich der klinische Verdacht auf ein PWS bestätigt oder weitestgehend ausgeschlossen werden, eine weitere Differenzierung zwischen Deletion, UPD oder Imprinting-Mutation ist hierbei nicht möglich.

Soll aber die Ursache der Erkrankung aufgeklärt werden, ist die Einbeziehung beider elterlichen DNAs erforderlich. Durch den Einsatz hochpolymorpher Mikrosatellitenmarker aus der PWS/AS-Region bzw. aus weiteren Regionen des Chromosoms 15 ist es möglich festzustellen, ob es sich um einen Verlust des paternalen Allels durch eine Deletion handelt, ob eine maternale UPD vorliegt oder ob bei unauffälliger Segregation der Mikrosatellitenmarker aufgrund der pathologi-

schen MS-PCR von einer Imprinting-Mutation ausgegangen werden muss.

## Falldarstellung I

### Klinik

Der 3-jährige Knabe ist das erste Kind gesunder junger Eltern. Nach anfangs unauffälligem Schwangerschaftsverlauf zeigte sich im letzten Drittel sonographisch eine intrauterine Wachstumsverzögerung. Die Geburt erfolgte zehn Tage vor dem errechneten Termin per Sectio. Körpermaße: Gewicht 2300 g, Länge 48 cm, Kopfumfang 32 cm. Postpartal bestand eine schwere Muskelhypotonie und eine ausgeprägte Trinkschwäche. In der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres wurden nach Einleitung von Krankengymnastik und Frühförderung allmählich motorische Fortschritte sichtbar. Freies Laufen wurde im Alter von 18 Monaten erreicht. Die Sprachentwicklung des zweisprachig aufwachsenden Jungen blieb längere Zeit retardiert, ist inzwischen jedoch deutlich verbessert. Nach problematischer Ernährung und Gewichtszunahme im ersten Lebensjahr entwickelte der Junge im zweiten Lebensjahr zunehmend Hunger, aß viel und ungesteuert und nahm deutlich an Gewicht zu. Die jetzt im Gegensatz zu früher erforderliche Begrenzung der Nahrungsaufnahme führte zu erheblichen Konflikten und Machtkämpfen in der Eltern-Kind-Beziehung.

### Cytogenetischer Befund

Die Chromosomenanalyse nach Lymphozytenkultur (Abb. 2) zeigte bei Chromosomendarstellung in Giemsa-

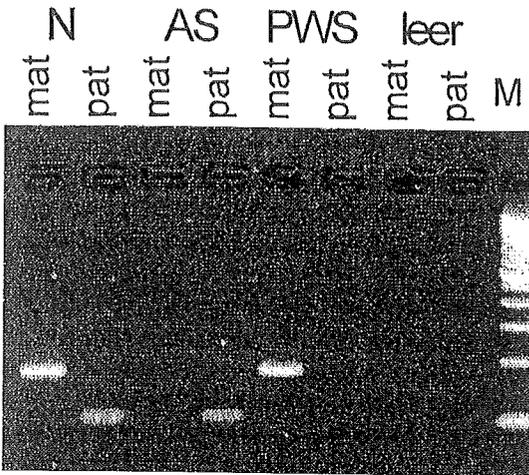


Abb. 1: Die Abbildung zeigt DNA einer Kontrollperson (N), eines Patienten mit Angelman-Syndrom (AS) und eines Patienten mit Prader-Willi-Syndrom (PWS) nach methylierungssensitiver PCR und Gel-elektrophoretischer Darstellung. Bei der Kontrollperson lässt sich sowohl das maternale (mat) wie auch das paternale (pat) Fragment amplifizieren. Patienten mit AS bzw. PWS zeigen nach MS-PCR nur ein Fragment: bei AS lässt sich nur das paternale, bei PWS nur das maternale Fragment nachweisen.

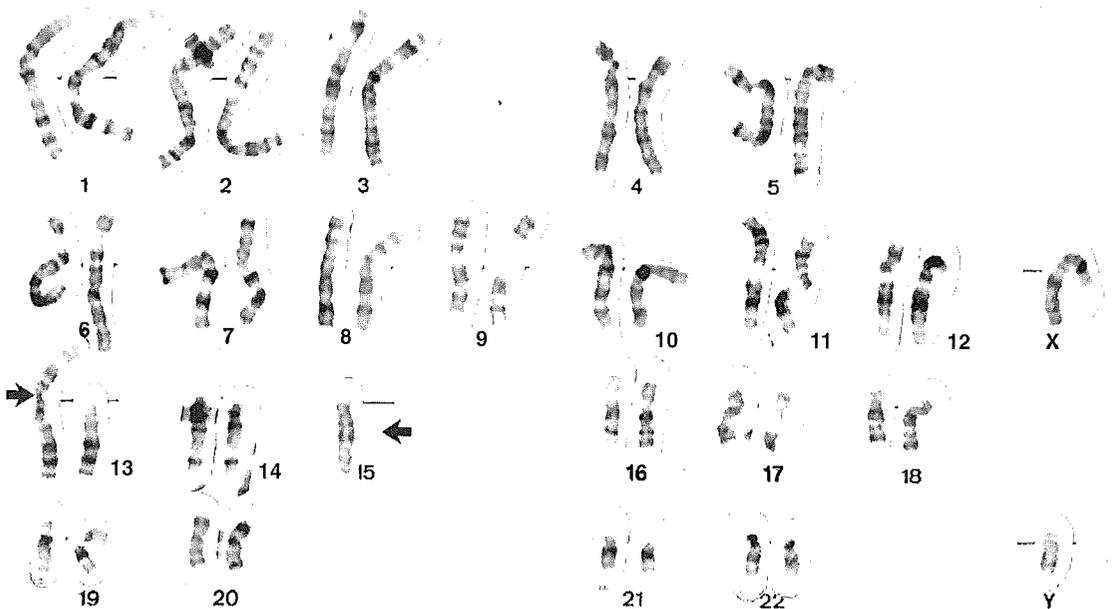


Abb. 2: Männlicher Karyotyp mit der 13/15-Translokation. Linker Pfeil: Translokationschromosom 13/15. Rechter Pfeil: fehlendes zweites freies Chromosom 15.

abänderung,(ca. 500 Banden im haploiden Chromosomensatz) eine balancierte Robertson'sche Translokation 13;15. Die Karyotypformel lautet: 45,XY,der (13;15) (q10;q10).

#### Fluoreszenzinsitu-Hybridisierung

Die Fluoreszenzinsitu-Hybridisierung (Abb. 3) mit Einsatz einer spezifischen Sonde für die Prader-Willi/Angelman-Region in 15q11-q13 und einer Sonde für die PML-Kontroll-Region zeigte regelrechte Signale.

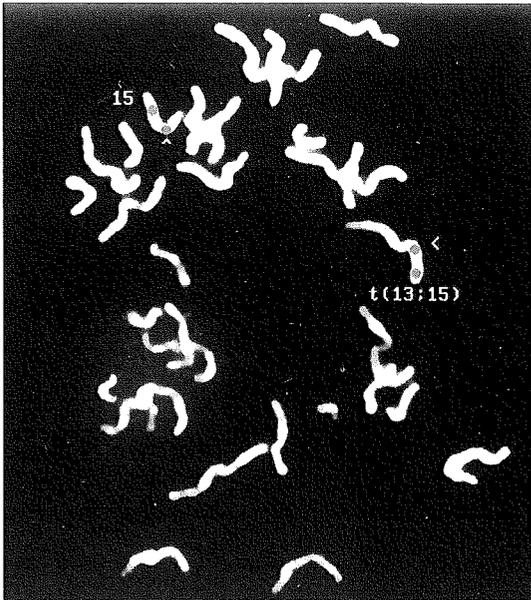


Abb. 3: Metaphase mit Propidiumjodid gefärbt. Eingesetzte Sonde spezifisch für folgende Regionen auf Chromosom 15: PWS/AS-Region 15q11-13 (durch Pfeil markiertes Signal); PML-Kontrollregion 15q22 (zweites Signal).

Die ergänzend durchgeführte Chromosomenanalyse bei beiden Eltern zeigte einen normalen weiblichen bzw. männlichen Chromosomensatz. Demzufolge ist die Robertson'sche Translokation bei dem Kind neu entstanden.

#### Molekulargenetischer Befund

Molekulargenetisch zeigte die zunächst durchgeführte MS-PCR ein typisches PWS-Muster, d. h. es konnte nur das maternale Fragment nachgewiesen werden. Das paternale Fragment war nicht darstellbar (siehe PWS-Patient in Abb. 1).

Im weiteren Verlauf wurde dann die chromosomale Region 15q11.1-q26.3 bei Vater, Mutter und Kind mittels hochpolymorpher Mikrosatellitenmarker im Rahmen einer Segregationsanalyse (Familienanalyse) untersucht. Diese ist (Abb. 4) im Stammbaum dargestellt:

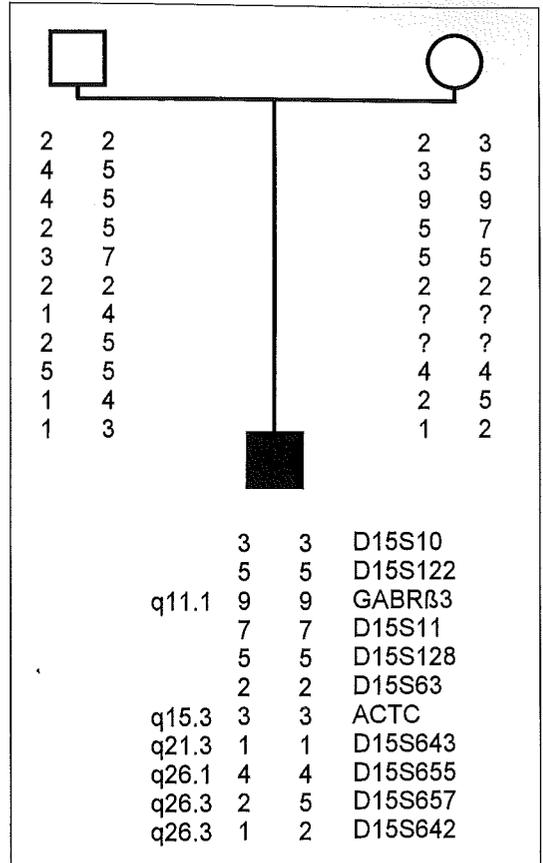


Abb. 4: Segregationsanalyse in der Region 15q11.1-26.3 bei Fall I (Vater, Mutter, Kind).

Die Marker D15S122 und D15S63 sind in der bestehenden Konstellation nicht ausreichend informativ. Die Marker GABRβ3 und D15S128 zeigen eine maternale UPD, erlauben aber keine weitergehende Differenzierung. Die Marker D15S10 und D15S11 hingegen zeigen, dass in dem entsprechenden Bereich von 15q11.1 eine maternale Isodisomie vorliegen muss. Der Patient hat im Vergleich mit den elterlichen DNAs jeweils nur das eine maternale Allel ererbt. Weiter distal liegende Marker zeigen eine nicht weiter differenzierbare maternale UPD, bei den ganz distal in 15q26.3 gelegenen Markern D15S657 und D15S642 sind jedoch beide Allele der Mutter nachweisbar, d. h. es muss in diesem Bereich von einer maternalen Heterodisomie ausgegangen werden.

Die molekulargenetische Diagnostik selbst kann eine Deletion in der PWS-Region nicht ausschließen, der durch die in diesem Fall isodisomen Marker D15S10 und D15S11 eingeschlossene Bereich ist aber so groß, dass eine Deletion mittels FISH sicher erfasst worden wäre.

## Falldarstellung II

### Klinik

Das 2-jährige Mädchen ist das 4. Kind einer gesunden, 35-jährigen Mutter aus zweiter Partnerschaft mit einem gleichaltrigen gesunden Mann. Nach unauffälligem Schwangerschaftsverlauf erfolgte eine Spontangeburt in der 39. Schwangerschaftswoche. Körpermaße: Gewicht 3530 g, Länge 53 cm, Kopfumfang 37 cm. Postpartal zeigte sich eine Trinkschwäche und eine extreme Muskelhypotonie. Im Alter von sechs Monaten bestand keine Kopfkontrolle, trotz Krankengymnastik und Frühförderung blieb die Muskelhypotonie zunächst bestehen. Die psychomentele Entwicklung machte Fortschritte, wenngleich nicht altersentsprechend. Nach anfänglicher Trinkschwäche in den ersten drei Wochen gestaltete sich die Ernährung im Verlauf einfacher, unter Flaschenernährung bestand eine ausreichende Gewichtszunahme.

### Cytogenetischer Befund

Wegen der Entwicklungsretardierung und Muskelhypotonie erfolgte eine Chromosomenanalyse (Abb.5), die einen normalen weiblichen Karyotyp 46,XX ergab.

### Fluoreszenzinsitu-Hybridisierung (FISH)

Wegen eines ersten Verdachts auf ein Prader-Willi-Syndrom erfolgte zusätzlich eine Fluoreszenzinsitu-Hybridisierung (Abb. 6) mit einer spezifischen Sonde für die Prader-Willi/Angelman-Region, die regelrechte Signale zeigte.

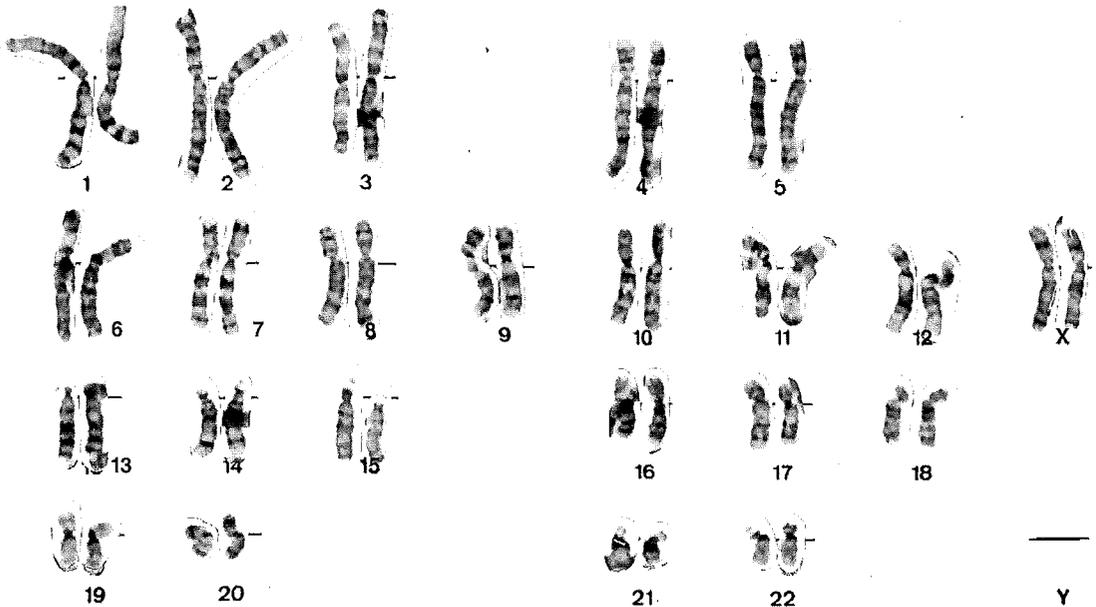


Abb. 5: Normaler weiblicher Karyotyp.

### Weiterer klinischer Verlauf

In der statomotorischen Entwicklung machte das Mädchen ab dem 8. Lebensmonat allmähliche Fortschritte, freies Sitzen mit 18 Monaten, Hochziehen zum Stand mit 22 Monaten. Auch die Sprachentwicklung machte Fortschritte, im Alter von 22 Monaten Bildung von einfachen Dreiwortsätzen. Ab dem 16. Lebensmonat zeigte sich eine deutliche Gewichtszunahme, trotz nur mäßiger Nahrungsaufnahme. Durch diese Entwicklung wurde der Verdacht auf ein Prader-Willi-Syndrom erhärtet, so dass nun eine molekulargenetische Diagnostik angeschlossen wurde. Durch strenge diätetische Maßnahmen mit Zufuhr einer niedrigen Kalorienzahl wurde bisher die Entwicklung einer Adipositas verhindert, das Körpergewicht liegt im oberen Bereich der Altersnorm.

### Molekulargenetische Diagnostik

Im Fall der Patientin 2 zeigte sich nach der MS-PCR nur das maternale Fragment und somit das typische Bild für PWS (siehe exemplarisch den PWS-Patienten in Abb.1).

Für die weiterführende Segregationsanalyse (Abb. 7) stand hier lediglich DNA der Mutter der Patientin zur Verfügung. Aus der Region 15q11.1 wurden sechs Mikrosatellitenmarker verwendet. Die Marker GABR $\beta$ 3, D15S11 und D15S128 waren informativ, d. h. die Mutter der Patientin zeigt jeweils zwei unterschiedliche Allele. Genau diese Allele lassen sich auch bei der Tochter nachweisen. Dieses Ergebnis weist auf das Vorliegen einer maternalen Heterodisomie hin.

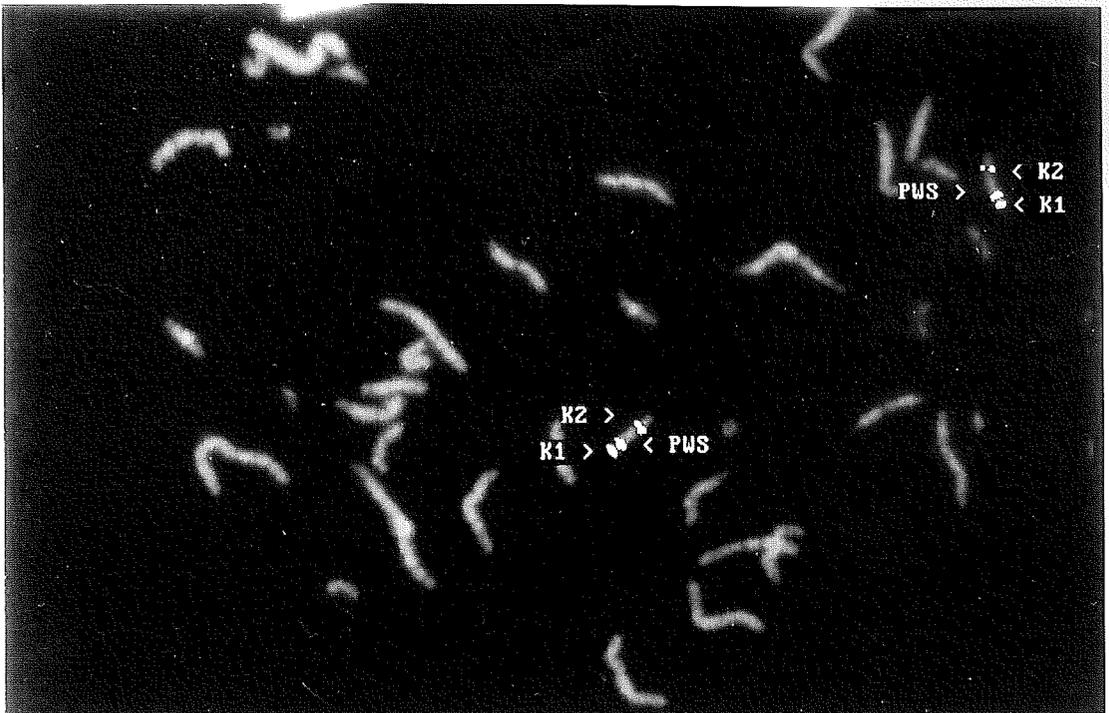


Abb. 6: Metaphase mit DAPI gefärbt. Eingesetzte Sonde spezifisch für folgende durch Pfeile markierte Regionen auf Chromosom 15: Zentromerregion (K1), direkt daneben PWS Region 15q11-13 (PWS); distal hiervon PML-Kontrollregion 15q22 (K2).

Da es sich bei den verwendeten Markern um hochpolymorphe Mikrosatellitenmarker handelt, ist es sehr unwahrscheinlich, dass beim Vater der Patientin bei allen sechs untersuchten Markern dieselben Allele wie bei der Mutter vorhanden wären. Insofern ist eine paternale Imprinting-Mutation zwar rein theoretisch denkbar, praktisch aber kaum vorstellbar.

### Diskussion

Die Entstehung einer UPD ist bei weitem nicht so häufig wie eine Trisomie, da immer zwei voneinander unab-

hängige Ereignisse in der Meiose und/oder Mitose stattgefunden haben müssen. Das gilt auch für die Fälle, bei denen Robertson'sche Translokationen oder Isochromosomen vorliegen. Bei einer UPD stammen beide Homologen eines Chromosomenpaares von nur einem Elternteil. Hat der Nachkomme von einem Elternteil beide Homologe geerbt, spricht man von einer Heterodisomie, liegen zwei identische Kopien des gleichen Chromosoms vor, handelt es sich um eine Isodisomie.

Mögliche Entstehungsmechanismen sind in der folgenden Darstellung aufgeführt:

#### Entstehungsmechanismen der UPD

- |                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>1. Gametenkomplementation:</b>   | Eine disome Gamete wird von einer nullisomen Gamete fertilisiert  |
| <b>2. „Trisomic Rescue“:</b>        | Eine disome Gamete wird von einer monosomen Gamete fertilisiert; die resultierende trisome Zygote verliert ein Chromosom in den frühen mitotischen Teilungen                                  |
| <b>3. Mitotische Duplikation:</b>   | Eine monosome Gamete wird von einer nullisomen Gamete fertilisiert; das monosome Chromosom wird in einer frühen mitotischen Teilung dupliziert  |
| <b>4. Postfertilisationsfehler:</b> | Eine normosome Gamete wird von einer normosomen Gamete fertilisiert; in einer frühen mitotischen Teilung geht ein homologes Chromosom verloren und das andere wird dupliziert oder vice versa |

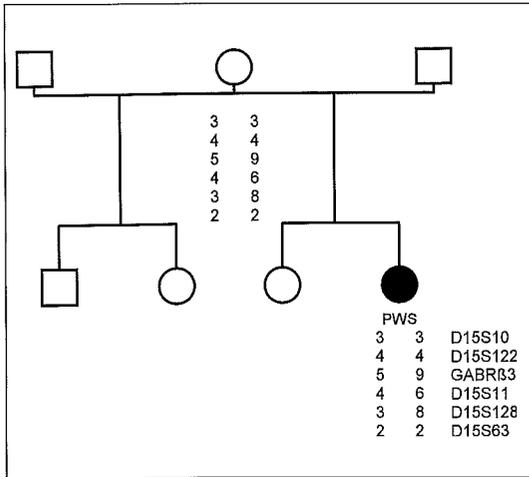


Abb. 7: Segregationsanalyse in der Region 15q11.1-13 bei Fall II (Mutter und Kind).

Am häufigsten von den hier beschriebenen Mechanismen tritt vermutlich das Trisomic-rescue auf, bei dem eine ursprünglich trisome Zygote in den frühen mitotischen Teilungen ein Chromosom wieder verliert.

Untersuchungen mittels hochpolymorpher Marker für Chromosom 15 haben gezeigt, dass ca. 71 % der zusätzlichen mütterlichen Chromosomen durch Segregationsfehler in Meiose I (daraus resultierend: maternale Heterodisomie), 13 % durch Segregationsfehler in Meiose II (daraus resultierend: maternale Isodisomie) und nur 16 % durch eine postzygotische Duplikation von Chromosom 15 (daraus resultierend: maternale Isodisomie) verursacht werden (Robinson et al., 1996). Neben der Deletion auf dem paternalen Chromosom 15q11-13 ist die maternale Heterodisomie 15 somit die zweithäufigste Ursache des PWS, sie liegt sicher auch bei unserem zweiten geschilderten Fall vor.

Klinisch unterscheiden sich Kinder mit PWS aufgrund (unterschiedlich entstandener) UPD nicht von denen mit Deletionen in der Region 15q11-13. Die meiotischen Fehler treten exponentiell gehäuft mit zunehmendem mütterlichen Alter auf, analog der Trisomie 21. Frauen über 40 Jahre haben ein Risiko für eine UPD 15 von etwa 1 unter 3400 Geburten.

Im Gegensatz zu den meiotischen Segregationsfehlern ist die durch postmitotische Duplikation entstandene UPD altersunabhängig.

Robertson'sche Translokationen entstehen durch zentrische Fusion von zwei akrozentrischen Chromosomen, also beim Menschen zwischen den Chromosomen 13, 14, 15, 21 und 22. Sie sind die häufigsten strukturellen Chromosomenaberrationen mit einer geschätzten Frequenz von 1 auf 1000 Neugeborene (Blouin et al., 1994).

Die Träger balancierter Robertson'scher Translokationen zeigen nur in Ausnahmefällen phänotypische Auffälligkeiten (< 1%, Gardner und Sutherland, 1996). Sie haben jedoch ein höheres Risiko, Gameten mit unbalanciertem Chromosomensatz zu bilden und daraus resultierend auch ein höheres Risiko, Kinder mit numerisch unbalanciertem Chromosomensatz zu bekommen.

Daneben sind in den letzten Jahren Fälle berichtet worden, in denen bei phänotypisch auffälligen, aber auch bei unauffälligen Trägern mit einer balanciert erscheinenden Translokation eine UPD für eines der am Umbau beteiligten Chromosomen nachgewiesen wurde. Es ist mittlerweile klar geworden, dass die phänotypischen Auswirkungen einer UPD je nach beteiligtem Chromosom sehr unterschiedlich sein können, das Spektrum reicht von asymptomatisch bis hin zu – beispielsweise bei der paternalen UPD 14 – sehr schweren Krankheitsbildern (Eggermann et al., 1998). Sicherlich hat das Ausmaß des Imprinting auf den entsprechenden Chromosomen hierauf einen maßgeblichen Einfluss.

Im Fall I ist der sehr ungewöhnliche Fall einer UPD mit teilweiser Isodisomie und teilweiser Heterodisomie bei einer de novo entstandenen Robertson'schen Translokation aufgetreten: Während im proximalen Bereich der Chromosomen 15, also in der PWS-Region, offenbar eine maternale Isodisomie vorliegt, zeigt der distale Bereich eine maternale Heterodisomie. De novo Robertson'sche Translokationen zwischen nicht-homologen Chromosomen, wie hier zwischen Chromosom 13 und 15, entstehen überwiegend in der Oogenese (Behrend et al., 1998), während homologe Robertson'sche Translokationen/Isochromosomen meistens postmeiotisch entstehen (Robinson et al., 1994).

Drei unterschiedliche Entstehungsmöglichkeiten dieses komplexen chromosomalen Geschehens sind denkbar, wobei wir die erstere favorisieren würden:

- Zunächst könnte eine Robertson'sche Translokation zwischen einem Chromosom 13 und einem freien Chromatid 15 aufgetreten sein. In der Meiose I fand im Weiteren dann ein Crossing over im distalen Teil des translozierten Chromatides 15 oder des rudimentären freien Chromatides 15 mit einem Chromatid des freien Chromosoms 15 statt. In der Meiose II kam es dann zur non-disjunction zwischen einem der Translokationschromatiden und einem der verbliebenen Schwesterchromatiden. Postzygotisch folgte ein „Trisomic-rescue“ durch Verlust des paternalen Chromosoms 15.
- Ebenfalls denkbar ist, dass zunächst eine Rekombination zwischen zwei Chromatiden der freien Chromosomen 15 stattgefunden hat, es dann im Verlauf der Meiose zur Translokation, nachfolgend Malsegregation und postzygotisch schließlich wiederum zum Trisomic-Rescue kam.

– Schließlich könnte nach meiotischer Rekombination und Non-disjunction postzygotisch auch eine freie Trisomie 15 vorgelegen haben, mit wiederum einem späteren Trisomic Rescue und der unabhängigen Entstehung einer 13/15-Translokation ebenfalls postzygotisch.

Eine Hetero-/Isodisomie bei gleichzeitig neu entstandener Robertson'scher Translokation ist bisher ein einziges Mal bei einer UPD 14 mit de novo Translokation zwischen Chromosom 13 und 14 beschrieben worden (Antonarakis et al. 1993). Antonarakis präferiert in seinem Fall ebenfalls den ersten oben diskutierten Entstehungsmodus.

Für die UPD 15 ist diese Konstellation mit insgesamt 4 konsekutiven Ereignissen (Bildung eines Translokationsproduktes, Rekombination, Malsegregation und Trisomic Rescue) in unserem Fall 1 erstmalig dokumentiert.

Das Wiederholungsrisiko für die jungen Eltern des betroffenen Patienten, ein weiteres Kind mit UPD 15 zu bekommen, ist als sehr gering einzuschätzen.

Grundsätzlich haben Träger einer familiären Robertson'schen Translokation hingegen ein etwas erhöhtes Risiko für Nachkommen mit UPD, das jedoch maximal nur etwa 1 % beträgt.

Pränatal ist eine Untersuchung hinsichtlich der UPD nach Amnionzell- und/oder Chorionzottenkultur möglich. Die UPD 15 wird zur Zeit beispielsweise dann untersucht, wenn in einer Pränataldiagnostik Hinweise auf ein Plazenta-Mosaik für Chromosom 15 vorliegen, eine das Chromosom 15 involvierende Robertson'sche Translokation de novo im Rahmen einer Pränataldiagnostik als Zufallsbefund festgestellt wurde oder Eltern mit Robertson'scher Translokation mit Chromosom 15 eine solche Untersuchung als Teil einer invasiven pränatalen Diagnostik wünschen.

## Literatur

1. Antonarakis S, Blouin J, Maher J, Avramopoulos D, Thomas G, Conover Talbot C (1993) Maternal uniparental disomy for human chromosome 14, due to loss of a chromosome 14 from somatic cells with t(13;14) trisomy 14. *Am J Hum Genet* 52: 1145-1152
2. Behrend SA, Canun S, MCaskill C, Page SL, Shaffer LG (1998) Molecular analysis of moicism for two different de novo acrocentric rearrangements demonstrates diversity in Robertsonian translocation formation. *Am J Med Genet* 16: 252-259
3. Blouin JL, Binkert F, Antonarakis SE (1994) Biparental inheritance of chromosome 21 polymorphic markers indicates that some robertsonian translocations t(21;21) occur postzygotically. *Am J Med Genet* 49: 363-368
4. Eggermann T, Mau U, Eggermann K (1998) Robertson'sche Translokationen und Uniparentale Disomie unter besonderer Berücksichtigung des Chromosoms 14. *Medgen* 10: 486-489
5. Gardner and Sutherland (1996) Chromosomal abnormalities and genetic counselling. Oxford University Press.
6. Horsthemke B (1998) Genomisches Imprinting beim Menschen: Grundlagen und klinische Relevanz. *Biospektrum* 5: 23-26
7. Kubota T, Das S, Christian SL, Baylin SB, Herman JG, Ledbetter DH (1997) Methylation-specific PCR simplifies imprinting analysis. *Nat Genet* 16: 16-17
8. Ledbetter D, Engel E (1995) Uniparental disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. *Hum Mol Genet* 4: 1757-1764
9. Morison I, Reeve A (1998) A catalogue of imprinted genes and parent-of-origin effects in humans and animals. *Hum Mol Genet* 7: 1599-1609
10. Nicholls R D, Saitoh S, Horsthemke B (1998) Imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet* 14: 194-200
11. Robinson W, Langlois S, Schuffenhauer S, Horsthemke B, Michaelis RC, Christian S, Ledbetter DH, Schinzel A (1996). Cytogenetic and age-dependent risk factors associated with uniparental disomy 15. *Prenatal Diagn* 16: 837-844
12. Robinson WP, Bernasconi F, Basaran S, Yuksel-Apak M, Neri G, Serville F, Balicek P, Haluza R, Farah LM, Luleci G (1994) A somatic origin of homologous Robertsonian translocations and isochromosomes. *Am J Hum Genet* 54: 290-302

# Der Rekombinationsfaktor Rad51 in der Tumorentstehung: Überexpression in Tumoren, Zellzykluskontrolle und Chemoresistenz\*

S. Miska<sup>1</sup>, H. Maacke<sup>1</sup>, Song-Yau Wang<sup>1</sup>, W. Hamdorf<sup>1</sup>, J. Lüttges<sup>2</sup>, H. Kalthoff<sup>3</sup>, H.-W. Stürzbecher<sup>1</sup>

## Zusammenfassung

Störungen der Wechselwirkungen zwischen Zellzyklusregulatoren und Proteinen, die an der Aufrechterhaltung der genetischen Integrität beteiligt sind, stellen einen wichtigen Schritt in der Tumorigenese dar. Eines der größten Probleme gegenwärtiger Krebstherapie ist die Entwicklung chemo- und radioresistenter Tumorzellen. Als molekulare Ursache für die Entstehung von Resistenz werden Veränderungen von DNA Reparaturmechanismen diskutiert. In Säugerzellen ist das Produkt des *rad51* Gens maßgeblich an der DNA Reparatur durch homologe Rekombination beteiligt. Unsere Befunde zeigen, dass das Rad51 Protein im Gegensatz zu Normalgeweben und zur konventionellen Monolayer-Zellkultur in 66 % der getesteten Adenokarzinome des Pankreas überexprimiert ist. Für funktionelle Studien wurde die induzierbar Rad51 überexprimierende Zelllinie UiRad51 etabliert. Überexpression von Rad51 in diesen Zellen führt zu einem Zellzyklusarrest durch Aktivierung von p21<sup>Waf-1</sup>, des Inhibitors Cyclin-abhängiger Proteinkinasen. Diese Daten weisen dem Rekombinationsfaktor Rad51 eine neue Funktion in der Regulation des Zellzyklus zu. Darüber hinaus führt Rad51 Überexpression zu einer Chemoresistenz gegenüber DNA Doppelstrangbruch induzierenden Agenzien. Übertragen auf die *in vivo* Situation in menschlichen Tumoren deuten diese Befunde darauf hin, dass die Überexpression von Rad51 auf diese Weise zur Entwicklung des malignen Phänotyps des Pankreaskarzinoms beitragen könnte.

## Summary

Molecular processes that could contribute to differences in chemo- and radioresistance of tumours include variations in DNA repair mechanisms. Moreover, dysregulation of the cross talk between cell cycle regu-

lators and proteins maintaining genetic integrity represents an important step towards tumorigenesis. In mammalian cells, the product of the *rad51* gene mediates DNA repair via homologous recombination. We describe that in contrast to normal tissue and conventional monolayer cell systems Rad51 protein accumulates to high-levels in 66 % of pancreatic adenocarcinoma specimens. To elucidate whether Rad51 is directly involved in growth regulation and the development of human cancer we established the inducibly Rad51 over-expressing cell line UiRad51. Over-expression of Rad51 induces cell cycle arrest via activation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21<sup>Waf-1</sup>. These data assign a novel function to over-expressed Rad51 in cell cycle control. Functional analysis revealed that Rad51 over-expression enhances survival of cells after induction of DNA double strand breaks. Applied to a situation of perturbations of Rad51 expression in human tumours, our data suggest that Rad51 might thus contribute to the malignant phenotype of pancreatic cancer.

## Einleitung

Seit einer Reihe von Jahren wird über die Bedeutung genetischer Instabilität für die Tumorentstehung kontrovers diskutiert. Neuere Arbeiten bestärken die Hypothese, dass die genomische Instabilität von Tumoren durch Veränderungen in definierten Genen hervorgerufen wird und dass solche Veränderungen früh im Verlauf der Tumorentstehung auftreten (Cahill *et al.* 1999). Die so entstandene genetische Instabilität beschleunigt die Tumorprogression durch die erhöhte Mutationswahrscheinlichkeit in Onkogenen und Tumorsuppressorgenen. Mutierte Onkogene oder Tumorsuppressoren bewirken einen selektiven Wachstumsvorteil für Krebszellen. Somit scheint genetische Instabilität von entscheidender Bedeutung für die Tumorbildung zu sein.

Homologe Rekombination ist eine der Triebkräfte der genetischen Variabilität und Evolution, gleichzeitig je-

\* Gewidmet Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Schwinger zum 60. Geburtstag

doch garantiert sie als Teil der DNA-Reparatur die Aufrechterhaltung genomischer Stabilität. Das Produkt des *rad51* Gens ist einer der Schlüsselfaktoren der homologen Rekombination und zeigt ausgeprägte strukturelle und funktionelle Homologie zum RecA Protein des Bakteriums *E. coli*. Während jedoch der Verlust von RecA/Rad51 bei Bakterien und Hefen lediglich zu einem Abfall der Rekombinationsrate und einer erhöhten Sensitivität gegenüber  $\gamma$ -Strahlung führt, ist er für Vertebraten letal (Lim and Hasty 1996; Tsuzuki *et al.* 1996). Folglich scheint Rad51 in höheren Organismen weitere Funktionen in der zellulären Homeostase zu erfüllen. Das Rad51 Protein interagiert mit den Tumorsuppressoren BRCA-1 (Scully *et al.* 1997), BRCA-2 (Sharan *et al.* 1997), die von entscheidender Bedeutung für die Entstehung familiär bedingter Formen des Mamma- und des Ovarialkarzinoms sind. Besonders hervorzuheben ist die Wechselwirkung von Rad51 mit dem Tumorsuppressor p53 (Stürzbecher *et al.* 1996). Die herausragende Rolle von p53 zeigt sich bereits darin, dass mehr als die Hälfte aller menschlichen Tumoren Funktionen des p53 Genprodukts verloren haben. Wildtyp p53 kontrolliert die Integrität der DNA, kontrolliert und verhindert, wenn erforderlich, die Proliferation geschädigter Zellen oder eliminiert diese durch programmierten Zelltod (zur Übersicht siehe Janus *et al.* 1999). Verlust der Funktion von p53 führt zu genomischer Instabilität und erhöhter Rate an homologer Rekombination (Bertrand *et al.* 1997; Mekeel *et al.* 1997). p53 bildet Proteinkomplexe mit Rad51 aus und supprimiert biochemische Aktivitäten seines bakteriellen Homologs RecA (Stürzbecher *et al.* 1996). Hieraus ergibt sich die Frage nach einer Beteiligung von Rad51 an der Tumorentstehung. Unsere Untersuchungen zeigen, dass Wildtyp Rad51 in sporadischen Tumoren des Pankreas überexprimiert wird. Überexpression von Rad51 in einem experimentellen *in vitro* Modell führt zu Zellzyklusarrest und Erhöhung der Resistenz gegenüber DNA Doppelstrangbrüchen.

## Material und Methoden

### Zellkultur

Die Humanen Pankreas-Zelllinien PACA 44, 818-4 und Panc89 sowie die Zelllinien UiRad51 und UiLacZ wurden in DMEM plus 10 % fetalem Kälberserum (PAA, Cölbe, Deutschland) bei 37° C und einer Atmosphäre von 5 % Kohlendioxid/95 % Luft kultiviert. Die Ecdyson-Analoga Muristeron A bzw. Ponasteron A (Invitrogen, de Schelp, Niederlande) wurden in absolutem Ethanol gelöst (1mM) und mit einer Endkonzentration von 1 $\mu$ M für die Induktion des ektopischen Rad51 (UiRad51) bzw. der  $\beta$ -Galaktosidase (UiLacZ) eingesetzt. Calicheamicin  $\gamma$ 1 (Wyeth-Ayerst Research, Pearl River, NY, USA) wurde in absolutem Ethanol gelöst

(100 $\mu$ M) und bei -80° C gelagert. Zur Bestimmung der Chemosensitivität wurden die Zellen für 16h mit ansteigender Konzentration von Calicheamicin  $\gamma$ 1 behandelt und direkt anschließend beziehungsweise 72h nach Absetzen der Droge mit Kristallviolett gefärbt.

### Etablierung der Zellklone UiRad51 und UiLacZ

Eine *rad51* cDNA (Stürzbecher *et al.* 1996) wurde in das Plasmid pIND inseriert und zusammen mit einem modifizierten pVgRxR (Miska *et al.*, zur Veröffentlichung eingereicht) in die Osteosarkomzelllinie U2-OS (Ponten and Saksela, 1967) mittels CaPO<sub>4</sub>-Präzipitation (Graham und van der Eb, 1973) transfiziert. G418 (500 $\mu$ g/ml, Life Technologies, Egenstein, Deutschland) und Zeocin (250 $\mu$ g/ml, Invitrogen) resistente Klone wurden mittels Klonierungsring isoliert, die Klone expandiert und auf Rad51 Überexpression getestet.

### Sera und monoklonale Antikörper

Der monoklonale Antikörper Do1 zur Detektion von p53 wurde von Calbiochem-Novabiochem (Bad Soden, Deutschland) erworben. Der monoklonale Antikörper 1G8 wurde gegen gereinigtes humanes Rad51 Protein hergestellt (Buchhop *et al.* 1996). Prof. J. Gerdes, Forschungszentrum Borstel, Deutschland, stellte freundlicherweise den monoklonalen Antikörper MIB-1 für die Detektion des Proliferationsmarkers Ki-67-Antigen zur Verfügung.

### Immunhistochemische Färbung

Es wurden 41 operative Resektionen (38 Whipple-Fälle und 3 linke Pankreatektomien) von Patienten mit duktalem Adenokarzinom des Pankreas entsprechend den Kriterien der WHO (Klöpffel *et al.* 1996) klassifiziert. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 59,7 Jahre (45-75). Die Tumorstadien waren pT2 (n=6), pT3 (n=29) und pT4 (n=6). Histologisch wurden 6 als Grad 1, 24 als Grad 2 und 11 als Grad 3 eingestuft. Die Schnitte wurden in neutral gepuffertem Formalin (4 %) fixiert und in Paraffin eingebettet. Aufeinander folgende, 5 $\mu$ m dicke Schnitte wurden auf Objektträger platziert, in Xylen entwacht, durch Alkohol passagiert und in PBS gewaschen. Zur Antigen-Demaskierung wurden die Schnitte in Citrat-Puffer eingetaucht (100mM Na-Citrat, pH 7,2) und für 3 min im Schnellkochtopf gekocht. Anschließend wurde die endogene Peroxidase-Aktivität durch 10minütige Inkubation mit 0,3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS blockiert. Die Schnitte wurden in einer feuchten Kammer für 1h bei Raumtemperatur mit dem gewünschten Antikörper inkubiert. Nach einem Waschschrift mit PBS wurde ein biotinylierter anti Maus-Antikörper (Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA) für 30 min hinzugefügt. Nach einem weiteren Waschschrift wurden die Schnitte mit ABC Com-

plex (Vector Laboratories Inc.) behandelt und anschließend mit DAB (Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid) als Substrat für die Peroxidase gefärbt. Gegenfärbung erfolgte mit Mayers Hämalaun (Merck, Darmstadt, Deutschland).

### Zellzyklusanalyse

Die Zellen wurden zum angegebenen Zeitpunkt trypsiniert, abzentrifugiert, in PBS gewaschen und resuspendiert. Ein 200µl Aliquot dieser Zellsuspension wurde in 1ml eiskaltes 70%iges Ethanol transferiert und bei 4° C bis zur weiteren Analyse aufbewahrt. So fixierte Zellen wurden abzentrifugiert, mit PBS gewaschen und mit 400µg/ml DNase-freier RNase für 1h bei Raumtemperatur verdaut. Anschließend wurde Propidiumjodid bis zu einer Endkonzentration von 15µg/ml zugegeben. 30.000 Zellen wurden auf einem Durchflusssytometer analysiert und mittels „cell fit“ Zellzyklus-Software ausgewertet (FACScan Version 2.0; Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland).

### CDGE Analyse der Rad 51 cDNA

Für die Suche nach Mutationen in der Rad 51 cDNA wurde die DGGE/CDGE- Technik verwendet. Das Prinzip beruht auf dem unterschiedlichen Schmelzverhalten von DNA unterschiedlicher Sequenz. Für die Analyse wurde die Rad 51 cDNA in vier verschiedene Fragmente unterteilt ( F1:1-208, F2: 161-495, F3: 443-732, F4: 691- 1020BP) und mittels PCR amplifiziert. Folgende Primer wurden verwendet:

F1 upper: 5' - GC- ATGGCAATGCAGATGCAGC-3'

F1 lower: 5' - TGGCTTCACTAATTCCTTA-3'

F2 upper: 5' - ATGCGCCAAAGAAGGAGCTA-3'

F2 lower: 5' - GC- GGTACCCTCAGTGTCAATGT-3'

F3 upper: 5' - TGACCGGGGTGGAGGTGAAGGA-3'

F3 lower: 5' - GC- GTGCATCTGCCTGGCTGA-3'

F4 upper: 5' - GC- GACTACTCGGGTTCGAGGTGA-3'

F4 lower: 5' - TCAGTCTTTGGCATCTCCACTCC-3' (=Rad 51 – stop)

GC: GC-clamp: CGCCCGCCGCGCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCCGCCCC

Die Bedingungen für die „Constant Denaturing Gel Electrophoresis“ (CDGE) wurden mittels „Denaturing Gradient Gel Electrophoresis“ (DGGE) auf einem Gradientengel von 0-7M Harnstoff ausgetestet.

Für die CDGE) wurde eine konstante Konzentration an Harnstoff und Formamid verwendet. Die Laufzeit der Gele betrug 5 Stunden ( 130 V, 56° C , 48 % denaturierende Konzentration für F4). Anschließend wurden die Banden mittels Silberfärbung sichtbar gemacht. (10 % Ethanol 10 min, 1 % Salpetersäure 5 min, 20 min AgNO<sub>4</sub> (2.02g/l) , Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (29,6 g/l) mit 540µl Formal-

dehyd/l (37 %), 10 % Essigsäure zum Stoppen der Reaktion.)

### Ergebnisse

Eingebunden in die kontrollierte Reparatur von DNA Doppelstrangbrüchen tragen Prozesse der homologen Rekombination zu einem erheblichen Anteil zur Aufrechterhaltung der genetischen Stabilität einer normalen Zelle bei. Bei Versagen dieser Kontrollmechanismen können dagegen unkontrollierte Rekombinationsereignisse zu genomischer Instabilität und letztlich zur malignen Transformation führen. Eine Reihe menschlicher Tumoren weist Aberrationen auf, die auf eine Beteiligung rekombinatorischer Ereignisse an deren Entstehung rückschließen lassen. Es lag folglich nahe, die Expression von Rad51 in Pankreas-Adenokarzinomen zu untersuchen. Abbildung 1 zeigt den immunhistochemischen Nachweis eines erhöhten Gehalts an Rad51 Protein in Tumorzellen, nicht aber im umliegenden Normalgewebe. Der Nachweis von Rad51 in den untersuchten Paraffinschnitten war hoch spezifisch. Das vom verwendeten monoklonalen Antikörper 1G8 erkannte Epitop kommt nur auf Rad51 Proteinen vor. Weiterhin ließ sich die Bindung zwischen 1G8 Antikörper und Rad51 durch einen Überschuss an korrespondierendem Peptid verhindern (Maacke et al. in Druck). Unter identischen Bedingungen wurden ebenfalls das nukleäre Proliferationsantigen Ki-67 und der Tumorsuppressor p53 in Tumorzellen nachgewiesen (Abb. 1). Es ergab sich allerdings keine strikte Korrelation zwischen der Expression von Rad51 und p53 in den Tumorschnitten. Der Anteil Rad51 positiver Zellen in unterschiedlichen Tumorzellen schwankte zwischen 5 % und 50 %. Tumorzellen wurden als positiv bewertet, wenn mehr als 5 % der Zellkerne eine intensive Rad51 spezifische Färbung aufwiesen. Gemäß diesen Kriterien wiesen 27 (66 %) von 41 Adenokarzinomen des Pankreas erhöhte Rad51 Spiegel auf. Um eine mögliche Korrelation mit etablierten Tumor Parametern zu ermöglichen, wurden darüber hinaus 107 duktales Tumoren der Brust analysiert. Hier zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Überexpression von Rad51 und dem histologischen Grading der Tumoren. Ferner ergab sich eine inverse Korrelation mit dem Östrogen-Rezeptor Status der Tumoren (Maacke et al. eingereicht).

Die Analyse des vollständigen kodierenden Bereichs des *rad51* Gens ergab keine Hinweise auf Mutationen. Es wurde etwa 20 Zelllinien und mehr als 10 Tumore mit verschiedenen Methoden auf Mutationen geprüft. Abbildung 2 zeigt als Beispiel das Ergebnis einer CDGE Analyse des Bereichs von bp691 bis 1020 der *rad51* cDNA aus drei Pankreaskarzinom-Zelllinien. Die Rad51 spezifischen DNA Sequenzen aus diesen Zelllinien zeigen ein Denaturierungsverhalten wie die

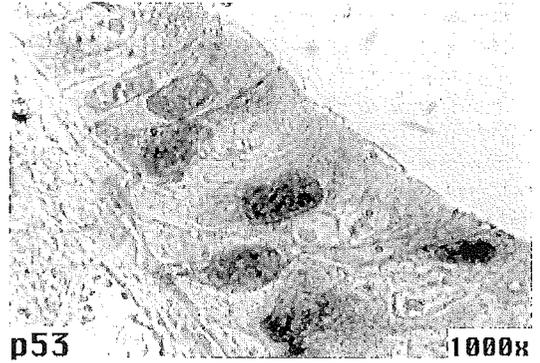
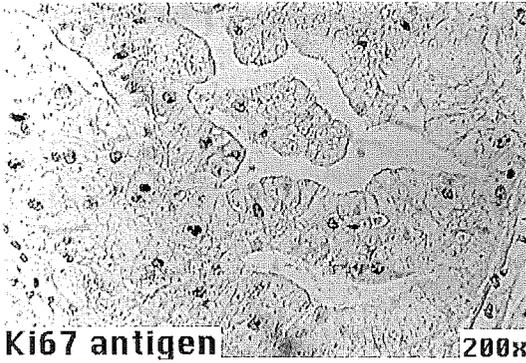
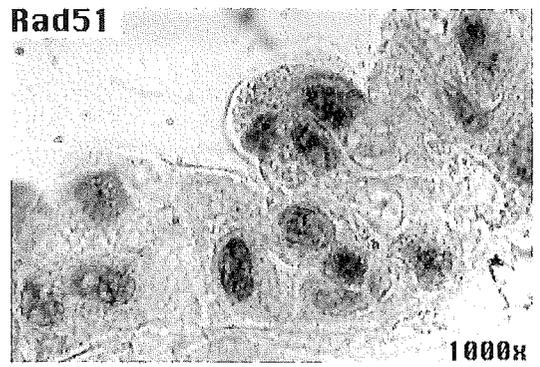
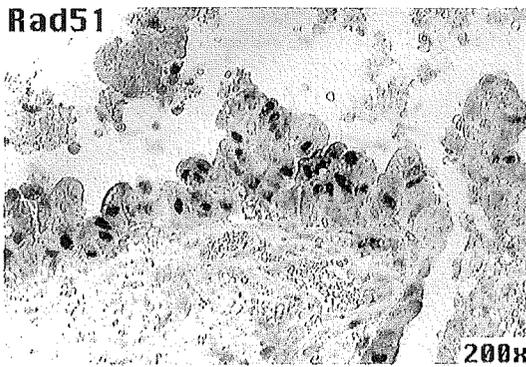


Abb. 1 Repräsentative immunhistochemische Darstellung von Rad51, Ki-67-Antigen und p53 in Paraffinschnitten von Adenokarzinomen des Pankreas.

Rad51 wurde in 5µm dicken Schnitten mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers IG8 detektiert. Der monoklonale Antikörper MIB-1 gegen das Ki-67 Antigen wurde verwendet, um proliferierende Zellen nachzuweisen. Der Tumorsuppressor p53 wurde mit dem monoklonalen Antikörper Do-1 detektiert. Die Proteine wurden mittels Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) als Substrat für die Peroxidase sichtbar gemacht. Vergrößerung wie auf den Einzelabbildungen angegeben.

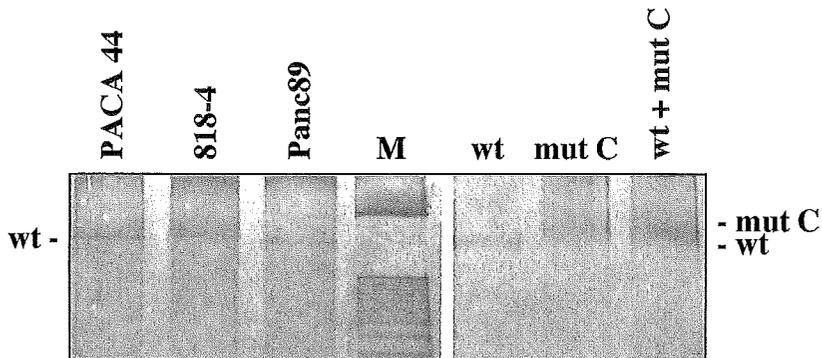
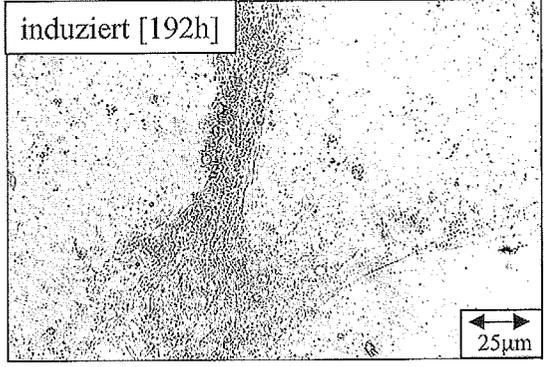
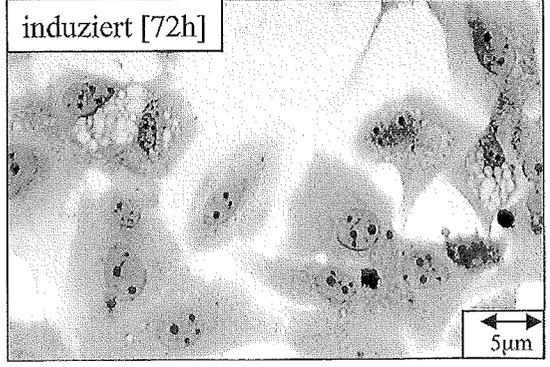
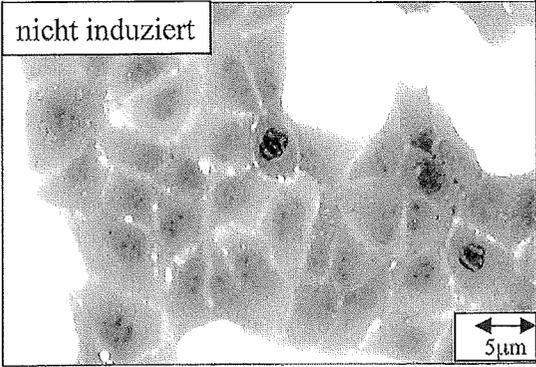
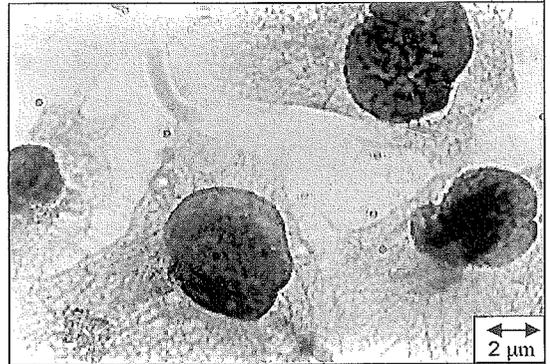
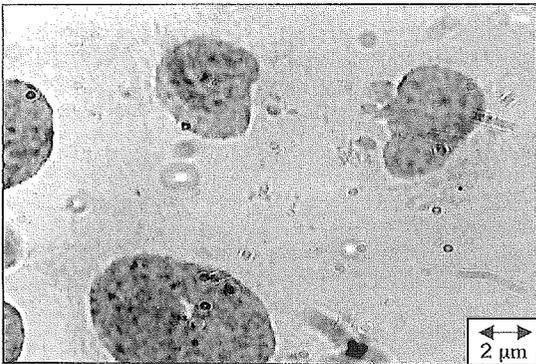
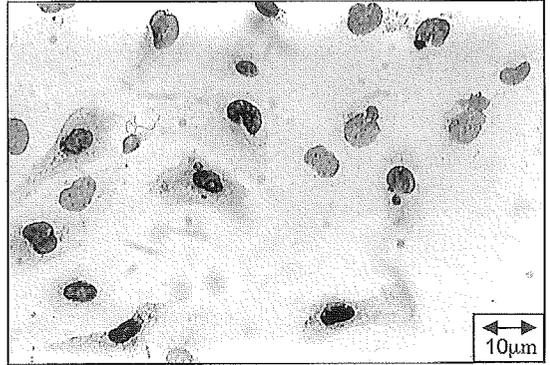
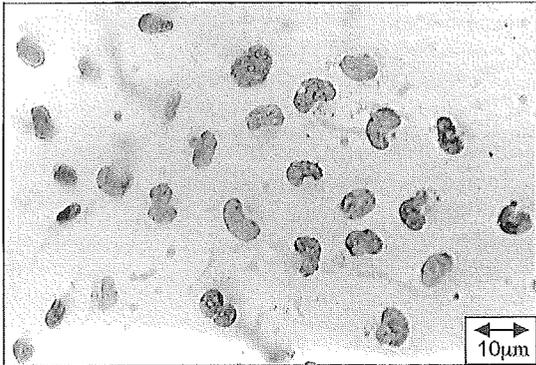


Abb. 2 Mutationsanalyse der kodierenden Region des rad51 Gens mittels CDGE  
 Negativkontrolle: Fragment der Wildtyp rad51 cDNA (wt); Positivkontrolle: Fragment einer durch in vitro Mutagenese hergestellten Variante der rad51 cDNA (mut C); PACA 44, 818-4, Panc89: mRNA isoliert aus den Pankreas Tumorzelllinien PACA 44, 818-4 und Panc89; Die Fragmente wurden auf einem „Constant Denaturing Gel“ bei konstanter Konzentration an Harnstoff und Formamid analysiert und mit Silberfärbung nachgewiesen. M: Molekulargewichtsmarker;



**nicht-induziert**

**induziert [24h]**



Wildtyp *rad51* Kontrolle. Die Veränderung des Rad51 Proteingehalts in Tumoren resultiert offensichtlich nicht aus Mutationen in der kodierenden Sequenz.

Um die biologischen Konsequenzen einer Überexpression von Rad51 studieren zu können, wurde aus der menschlichen Osteosarkomzelllinie U2-OS der induzierbar Rad51 überexprimierende Zellklon UiRad51 etabliert. Die Ausgangszelllinie ist molekulargenetisch gut charakterisiert, exprimiert funktionell aktives Wildtyp p53 in vergleichbaren Mengen wie untransformierte Fibroblasten und reagiert auf verschiedene DNA-Läsionen mit einem Zellzyklusarrest (Diller *et al.* 1990; van Oijen *et al.* 1998). Als Kontrolle wurde der Klon UiLacZ etabliert, der induzierbar das bakterielle Enzym  $\beta$ -Galaktosidase produziert. Die Konstruktion dieser Zellklone wurde so gewählt, dass Analoga des Insektenhormons Ecdyson, Muristeron A oder Ponasteron A, die Produktion des jeweiligen Proteins, Rad51 bzw.  $\beta$ -Galaktosidase, induzieren. Experimente an der Ratte zeigten keine pharmakologischen Wirkungen dieser Steroide (Masuoka *et al.* 1970). Eigene Analysen bestätigten, dass beide Substanzen keine Auswirkungen auf das Zellwachstum haben (Abb. 4A). Abbildung 3A zeigt die Induktion der Expression des Rad51 Proteins nach 24h Muristeron A Behandlung in der immunzytochemischen Analyse. Bereits in nicht induzierten Zellen kann das endogene Rad51 im Zellkern nachgewiesen werden. Nach Induktion jedoch, steigt der Rad51 Gehalt stark an. Immunpräzipitations-Analysen bestätigten eine 25fache Steigerung der Rad51 Syntheserate nach 24 Stunden (Daten nicht gezeigt). Wie das endogene Protein ist auch ektoptisch exprimiertes Rad51 im Zellkern lokalisiert. Die schwache zytoplasmatische Färbung detektiert wahrscheinlich frisch synthetisiertes Protein.

Überexpression von Rad51 führt zu einer Änderung der Zellmorphologie. Abbildung 3B zeigt den zeitlichen Verlauf dieser Änderungen nach Kristallviolett-Färbung. Bereits 24h bis 72h nach Induktion bilden sich Vakuolen im Zytoplasma, später sind Mikronuklei und „Stress-Fibres“ sichtbar. Nach etwa einer Woche bilden sich charakteristische Zellaggregate. Diese drastischen morphologischen Veränderungen könnten möglicherweise als Ausdruck eines bevorstehenden Zelltods gewertet werden. Jedoch ergab weder die Fär-

bung mit Annexin-V-FLUOS Hinweise auf Apoptose noch die Gegenfärbung mit Propidiumjodid Anhaltspunkte für einen nekrotischen Zelltod (Daten nicht gezeigt). Um zu testen, ob die Rad51 Überproduktion einen Einfluss auf die Proliferation der Zellen hat, wurden Wachstumskurven unter induzierten und nicht-induzierten Bedingungen erstellt. Die Proliferation der Parentalzelllinie U2-OS blieb unbeeinflusst von der Behandlung mit Muristeron A. Im Gegensatz hierzu führte die Induktion von Rad51 in UiRad51 Zellen zu einer deutlichen Wachstumsretardierung, während unbehandelte UiRad51 Zellen ein exponentielles Wachstum mit einer Verdopplungszeit von etwa 24h aufwiesen (Abb. 4A). Eine nähere Charakterisierung erfolgte durch Zellzyklus-Analysen. Bereits 26h nach Rad51 Induktion fällt der Anteil von Zellen in der DNA Synthese-Phase von 53,8 % auf 18,3 % und erreicht sein Minimum von 13 % 56h nach Induktion (Abb. 4B). In nicht-induzierten Kontrollzellen beträgt der Anteil an Zellen in der S-Phase zu den entsprechenden Zeitpunkten 55,1 %, 51,7 % und 40,5 %. Weiterhin zeigen diese Analysen, dass Rad51 offensichtlich sowohl einen Wachstumsarrest in der  $G_1$ - als auch in der  $G_2/M$ -Phase induziert. Wie die bereits beschriebenen Experimente ergab auch die Zellzyklus-Analyse keinen Hinweis auf Zelltod durch Apoptose. Molekulare Untersuchungen zeigten, dass der Rad51 induzierte Wachstumsarrest mit einer transkriptionellen Aktivierung des *waf-1* Gens korreliert. Das *waf-1* Gen kodiert für den Inhibitor Cyclin-abhängiger Proteinkinasen  $p21^{waf-1}$ , für den gezeigt wurde, dass er in U2-OS einen  $G_1$  und  $G_2/M$ -Arrest vermittelt (van Oijen *et al.* 1998). Obwohl  $p21^{waf-1}$  als p53 induzierbar bekannt ist (el Deiry *et al.* 1993), wird die Rad51 abhängige Aktivierung der *waf-1* Genexpression nicht durch den Tumorsuppressor p53 vermittelt, da weder eine Akkumulation von p53 noch eine Aktivierung als Transaktivator erfolgt (Miska *et al.* eingereicht zur Veröffentlichung).

Homologe Rekombination ist einer der Mechanismen, die zur Reparatur von Doppelstrangbrüchen in der DNA (DSB) beitragen. Um zu testen, ob ein hoher Gehalt an Rad51 die Effizienz der Reparatur solcher Schäden und damit die Resistenz der Zellen erhöht, wurden UiLacZ und UiRad51 Zellen mit dem DSB induzierenden Agens Calicheamicin  $\gamma 1$  behandelt. Die

*Abb. 3 Charakterisierung der Rad51 überexprimierenden Zelllinie UiRad51*

(A) UiRad51 exprimiert ektoptisches Rad51 Protein nach Induktion mit Muristeron A. Die Zellen wurden für 24h in Abwesenheit (nicht-induziert) bzw. in Anwesenheit von Muristeron A (induziert) kultiviert. Anschließend wurden die Zellen fixiert und Rad51 immunzytochemisch mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers 1G8 nachgewiesen. Vergrößerung wie in den Einzelabbildungen angegeben.

(B) Darstellung der Morphologie von UiRad51. Die Zellen wurden unter nicht induzierten Bedingungen und zu unterschiedlichen Zeiten bei Muristeron A Behandlung fixiert und mit Kristallviolett angefärbt. Zeitpunkt 192h zeigt unfixierte, lebende Zellen. Vergrößerung wie in den Einzelabbildungen angegeben.

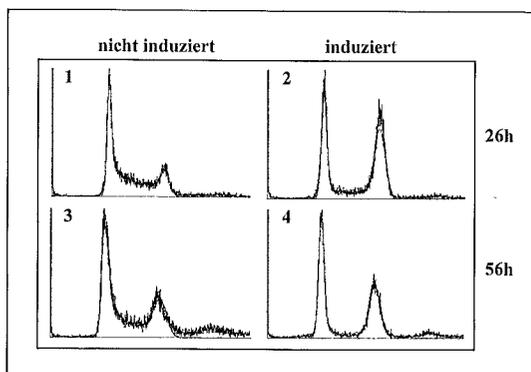
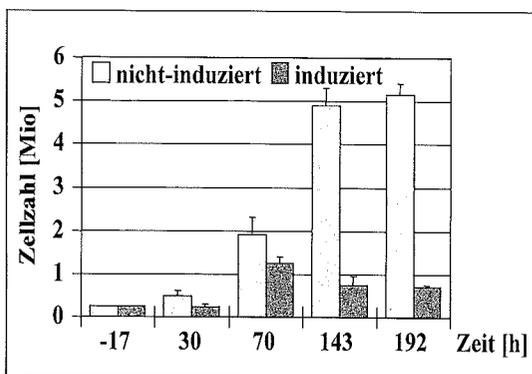


Abb. 4 Überexpression von Rad51 induziert einen Zellzyklusarrest in *UiRad51*.

(A) Wachstumsverhalten der Zellen unter nicht induzierten und induzierten Bedingungen. Es wurden jeweils  $2 \times 10^5$  Zellen pro Einzelansatz ausgesät. Die Hälfte der Ansätze wurde nach 17h mit Muristeron A behandelt, die andere Hälfte diente als Kontrolle ohne Muristeron A. Das Wachstum beider Kulturen wurde über 192h verfolgt. Zu den angegebenen Zeitpunkten wurde die Zellzahl bestimmt.

(B) Rad51 Überexpression induziert einen Zellzyklusarrest in  $G_1$  und  $G_2/M$ . *UiRad51* Zellen wurden für die angegebene Zeit in Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Muristeron A kultiviert. Die Zellzyklusverteilung wurde anschließend durch Durchflusszytometrie bestimmt.

Zellen wurden für 16h mit unterschiedlichen Konzentrationen der Droge behandelt. Die überlebenden Zellen wurden entweder sofort fixiert und angefärbt oder vorher für 72 h ohne Calicheamicin  $\gamma 1$  weiter kultiviert. Da die Überexpression von Rad51 einen Zellzyklusarrest induziert, ergeben sich nach 72 h unterschiedliche Zellzahlen in der nicht Calicheamicin  $\gamma 1$  behandelten Kontrolle (Abb. 5). Bei Zellen, die sofort nach Calicheamicin  $\gamma 1$  Behandlung fixiert wurden, sind keine Unterschiede in der Überlebensrate feststellbar. Nach 72h Zeit zur Reparatur entstandener DNA Schäden nimmt die Zahl überlebender Zellen mit steigender Calicheamicin  $\gamma 1$  Konzentration drastisch ab. Überexpression von Rad51 steigert jedoch die Überlebensrate verglichen mit Zellen, die nur den basalen Gehalt an Rad51 aufweisen (Abb. 5).

## Diskussion

Ziel dieser Studie war es, eine mögliche Beteiligung des Rekombinationsfaktors Rad51 an der Tumorentstehung zu untersuchen. Wir konnten zeigen, dass Wildtyp Rad51 in Adenokarzinomen des Pankreas überexprimiert wird. Überproduktion von Rad51 in einem hierfür etablierten Modellsystem führt zu einem Zellzyklusarrest in  $G_1$  und  $G_2/M$  und damit zu einem Anhalten der Zellproliferation. Die Erhöhung des Rad51 Gehalts bedingt darüber hinaus eine erhöhte Resistenz gegenüber Calicheamicin  $\gamma 1$ , einer DNA Doppelstrangbrüche induzierenden Droge.

In unserer Untersuchung fanden wir nur einen geringen Gehalt an Rad51 in als Monolayer kultivierten Pankreas-Zelllinien. Ein völlig anderes Bild ergaben hingegen

die Analysen an Tumorschnitten, in denen Rad51 eine deutlich höhere Expression aufweist. Der Gehalt an Rad51 in Zelllinien steigerte sich ebenfalls erheblich, wenn die Zellen nicht als Monolayer, sondern als dreidimensionale Kultur (Sphäroid) oder als Xenotransplantat in SCID-Mäusen wuchsen (Maacke et al. im Druck). Während ein erhöhter Gehalt des Tumorsuppressors p53 in Tumorzellen in der Regel auf Mutationen in der kodierenden Sequenz beruht, ist dies bei Rad51 nicht der Fall. In allen bisher getesteten Zelllinien als auch in den untersuchten Tumoren waren keine Mutationen in der kodierenden Sequenz nachweisbar. Folglich beschreiben unsere Ergebnisse zum ersten Mal die Überexpression eines auf genetischer Ebene unveränderten DNA Reparatur assoziierten Genprodukts in menschlichen Tumoren. Eine größere Studie an über 100 duktalem Mamma-Karzinomen in Zusammenarbeit mit der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe und dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Lübeck hat ergeben, dass die Überexpression von Rad51 mit dem histologischen Grading der Tumoren korreliert (Maacke et al. zur Veröffentlichung eingereicht).

Eingebunden in einen DNA Reparaturmechanismus trägt homologe Rekombination zur Aufrechterhaltung der genetischen Stabilität bei. Bei einem Verlust der Kontrolle dieser Prozesse sind jedoch genomische Instabilität und maligne Zelltransformation denkbare Konsequenzen. Wie bereits in der Einleitung hervorgehoben, gibt es Hinweise darauf, dass die normale Mutationsrate menschlicher Zellen nicht ausreicht, um die für die Transformation einer einzelnen Zelle erforderli-

chen Veränderungen zu generieren. Genetische Instabilität ist somit eine erforderliche Voraussetzung der Tumorigenese (zur Übersicht Cahill *et al.* 1999; Israel, 1996; Loeb, 1998; Strauss, 1998). Tatsächlich korreliert ein erhöhter Gehalt an Rad51 sowohl mit einer gesteigerten Radioresistenz (Vispe *et al.* 1998; Yanagisawa *et al.* 1998) als auch mit einer Erhöhung der Rekombinationsrate in Säugerzellen (Vispe *et al.* 1998; Xia *et al.* 1997). Dies konnte auch für bakterielles RecA Protein gezeigt werden (Shcherbakova *et al.* 2000). Bei Reduktion des Rad51 Gehalts erzielten Ohnishi und Mitarbeiter durch Einbringen Rad51 spezifischer anti-sense Oligonukleotide in humane Gliomzellen eine Erhöhung der Radiosensitivität (Ohnishi *et al.* 1998). Unsere Daten zeigen, dass die experimentelle Überexpression von Rad51 eine erhöhte Resistenz gegenüber Calicheamicin  $\gamma$ 1 verursachte DNA Doppelstrangbrüche verleiht. Ungeklärt ist bislang die Relevanz des Rad51 induzierten Zellzyklusarrests. Bisher gab es nur indirekte Hinweise auf eine Verbindung zwischen Rad51 und der Regulation des Zellzyklus durch die Interaktion mit Tumorsuppressorproteinen, die sowohl in Zellzykluskontrolle als auch in der DNA Reparatur von Bedeutung sind. Unsere Daten weisen Rad51 zusätzlich zu seinen klassischen Funktionen auch eine direkte Beteiligung an der Zellzykluskontrolle zu. Bisher ist es nicht möglich, zu unterscheiden, ob die Überexpression von Rad51 in Tumoren eine physiologische Antwort

auf einen bisher nicht identifizierten Stimulus darstellt, oder ob es sich um einen pathologischen regulatorischen Defekt handelt. Zusammen mit der Erhöhung der Chemoresistenz könnte der Zellzyklusarrest jedoch einen Mechanismus darstellen, der das Überleben der betroffenen Zellen sicherstellt. Hieraus ergibt sich ein Modell, in dem die Überexpression von Rad51 zur Tumorprogression beiträgt.

### Danksagung

Die Autoren danken der Wilhelm-Sander Stiftung (97.020.1) und der Deutschen Krebshilfe (10-0944-St II) für die finanzielle Unterstützung dieser Studie.

### Literatur

- Bertrand P, Rouillard D, Boulet A, Levalois C, Soussi T, Lopez BS (1997) Increase of spontaneous intrachromosomal homologous recombination in mammalian cells expressing a mutant p53 protein. *Oncogene* 14: 1117-1122
- Buchhop S, Donzelmann B, Nastainczyk W, Sturzbecher HW (1996) Isolation and characterization of six monoclonal antibodies raised against human RAD51 recombinant protein. *Hybridoma* 15: 205-210
- Cahill DP, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C (1999) Genetic instability and darwinian selection in tumours. *TIBS* 24 (Millennium Issue): M57-M60

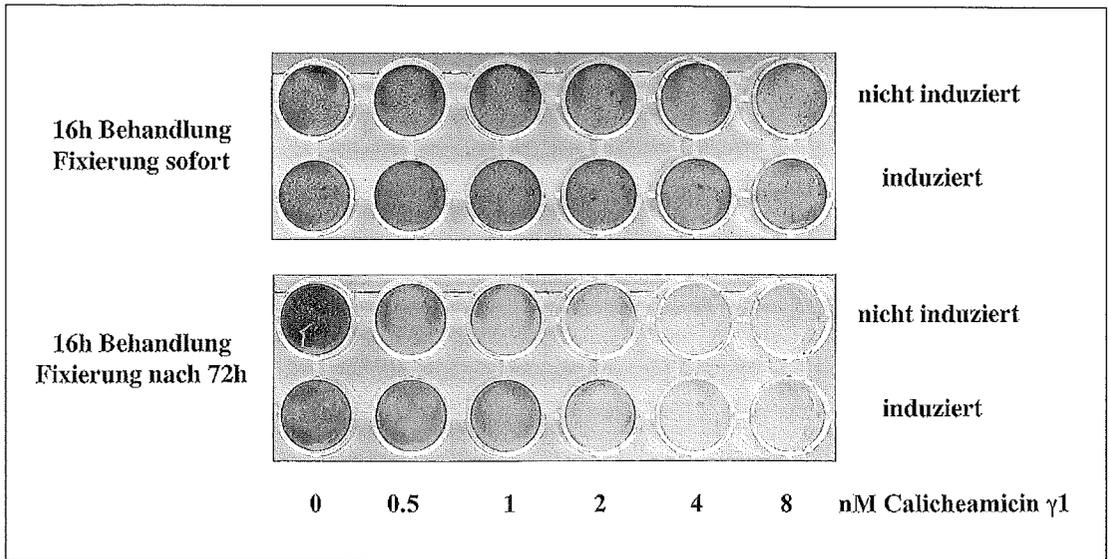


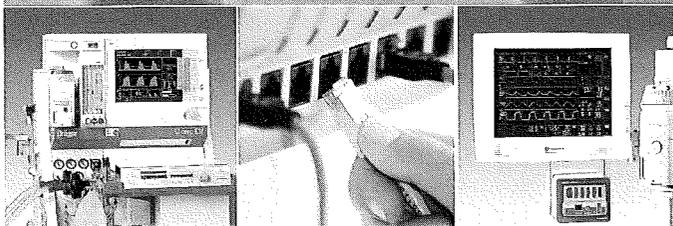
Abb. 5 Rad51 Überexpression steigert die Resistenz gegenüber DNA Doppelstrangbrüchen. Identische Zellzahlen von UiRad51 Zellen wurden ausgesät. Die Produktion des ektopischen Proteins wurde mit  $1\mu\text{M}$  Muristeron A induziert. 24h nach Induktion wurden die Zellen für 16h mit der angegebenen Konzentration Calicheamicin  $\gamma$ 1 behandelt, dreimal mit Medium gewaschen und entweder sofort gefärbt oder für 72h weiter kultiviert und anschließend mit Kristallviolett gefärbt.

4. Diller L, Kassel J, Nelson CE, Gryka MA, Litwak G, Gebhardt M, Bressac B, Ozturk M, Baker SJ, Vogelstein B, (1990) p53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcomas. *Mol Cell Biol* **10**: 5772-5781
5. el Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Vogelstein B (1993) WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* **75**: 817-825
6. Graham FL, van der Eb AJ (1973) A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA. *Virology* **52**: 456-467
7. Israel L (1996) Tumour progression: random mutations or an integrated survival response to cellular stress conserved from unicellular organisms? *J Theor Biol* **178**: 375-380
8. Janus F, Albrechtsen N, Dornreiter I, Wiesmuller L, Grosse F, Deppert W (1999) The dual role model for p53 in maintaining genomic integrity. *Cell Mol Life Sci* **55**: 12-27
9. Klöppel G, Solcia E, Longnecker DS, Capella C, Sobin LH (1996) WHO international histological classification of tumours. 2 ed. In: Histological typing of tumours of the endocrine pancreas. Springer, Berlin
10. Lim DS, Hasty P (1996) A mutation in mouse rad51 results in an early embryonic lethal that is suppressed by a mutation in p53. *Mol Cell Biol* **16**: 7133-7143
11. Loeb LA (1998) Cancer cells exhibit a mutator phenotype. *Adv Cancer Res* **72**: 25-56
12. Masuoka M, Orita S, Shino A, Matsuzawa T, Nakayama R (1970) Pharmacological studies of insect metamorphosing hormone: ponasterone A, ecdysterone, and inokosterone, in the rat. *Jpn J Pharmacol* **20**: 142-156
13. Mekeel KL, Tang W, Kachnic LA, Luo CM, DeFrank JS, Powell SN (1997) Inactivation of p53 results in high rates of homologous recombination. *Oncogene* **14**: 1847-1857
14. Ohnishi T, Taki T, Hiraga S, Arita N, Morita T (1998) In vitro and in vivo potentiation of radiosensitivity of malignant gliomas by antisense inhibition of the RAD51 gene. *Biochem Biophys Res Commun* **245**: 319-324
15. Ponten J, Saksela E (1967) Two established in vitro cell lines from human mesenchymal tumours. *Int J Cancer* **2**: 434-447
16. Scully R, Chen J, Plug A, Xiao Y, Weaver D, Feunteun J, Ashley T, Livingston DM (1997) Association of BRCA1 with Rad51 in mitotic and meiotic cells. *Cell* **88**: 265-275
17. Sharan SK, Morimatsu M, Albrecht U, Lim DS, Regel E, Dinh C, Sands A, Eichele G, Hasty P, Bradley A (1997) Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2. *Nature* **386**: 804-810
18. Shcherbakova OG, Lanzov VA, Ogawa H, Filatov MV (2000) Overexpression of bacterial RecA protein stimulates homologous recombination in somatic mammalian cells. *Mutation Research* **459**: 65-71
19. Strauss BS (1998) Hypermutability in carcinogenesis. *Genetics* **148**: 1619-1626
20. Stürzbecher HW, Donzelmann B, Henning W, Knippschild U, Buchhop S (1996) p53 is linked directly to homologous recombination processes via RAD51/RecA protein interaction. *Embo J* **15**: 1992-2002
21. Tsuzuki T, Fujii Y, Sakumi K, Tominaga Y, Nakao K, Sekiguchi M, Matsushiro A, Yoshimura Y, Morita T (1996) Targeted disruption of the Rad51 gene leads to lethality in embryonic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 6236-6240
22. van Oijen M, Medema RH, Slootweg PJ, Rijkse G (1998) Positivity of the proliferation marker Ki-67 in noncycling cells. *Am J Clin Pathol* **110**: 24-31
23. Vispe S, Cazaux C, Lesca C, Defais M (1998) Overexpression of Rad51 protein stimulates homologous recombination and increases resistance of mammalian cells to ionizing radiation. *Nucleic Acids Res* **26**: 2859-2864
24. Xia SJ, Shammam MA, Reis RJ (1997) Elevated recombination in immortal human cells is mediated by HsRAD51 recombinase. *Mol Cell Biol* **17**: 7151-7158
25. Yanagisawa T, Urade M, Yamamoto Y, Furuyama J (1998) Increased expression of human DNA repair genes, XRCC1, XRCC3 and RAD51, in radioresistant human KB carcinoma cell line N10. *Oral Oncol* **34**: 524-528



*Ihre Systemanforderungen können wachsen ...*

*... unsere Netzwerkfähigkeit ist grenzenlos*



Die einzigartige offene Netzwerkarchitektur der Patient Care Alliance ermöglicht eine unübertroffene Modularität: Heute stellen Sie mit anerkannten Spitzen-Technologien Ihren individuellen Anästhesie Arbeitsplatz zusammen. Morgen können Sie ihn mit Hilfe standardisierter Netzwerklösungen grenzenlos erweitern.

Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck. <http://www.draeger.com> – Technik für das Leben.

PATIENT CARE ALLIANCE

**Dräger**

# Magenmukosa-Tonometrie bei großen allgemeinchirurgischen Eingriffen

Th. Uhlig, F. Seyfried, P. Schmucker

## Zusammenfassung

Die gastrointestinale Tonometrie, d.h. die Messung des  $\text{CO}_2$ -Partialdruckes ( $\text{pCO}_2$ ) im Lumen des Magens mit einer nasogastralen Sonde, gilt als zuverlässiges Verfahren zur Beurteilung der Perfusion von Oberbauchorganen im Versorgungsgebiet des Nervus splanchnicus (Splanchnikusperfusion). Diese Messungen des  $\text{pCO}_2$  geben Hinweise auf die Durchblutung der Magenmukosa, die auf Zustände der Mangel durchblutung sehr schnell reagiert. Klinische Studien hierzu beschränkten sich im Wesentlichen auf den kardioanästhesiologischen Bereich. In der vorliegenden Arbeit wurden die Verlaufsprofile des Magenmukosa-pH (pHi) von Patientinnen und Patienten unter konventionellen und ausgedehnten laparoskopischen bauchchirurgischen Eingriffen sowie während Operationen an infrarenalen Bauchaortenaneurysmen erstellt. Bei diesen Gruppen war eine Veränderung der Oberbauchperfusion während der Operation zu erwarten. Als Vergleichsgruppe wurden Patientinnen und Patienten untersucht, die sich einer Operation an peripheren Gefäßen der unteren Extremität unterzogen. In dieser Gruppe waren keine Veränderungen der Oberbauchperfusion zu erwarten. Die Schwerpunkte der Auswertung lagen in der Feststellung operationstypischer Unterschiede in den Verlaufsprofilen des pHi. Insbesondere wurde auch der Frage nachgegangen, inwieweit ein ausgedehntes  $\text{CO}_2$ -Pneumoperitoneum, welches bei der Durchführung von Laparoskopien obligat ist, den pHi beeinflusst. Nach Zustimmung der lokalen Ethikkommission und schriftlicher Einverständniserklärung wurden 48 Patientinnen und Patienten in die Studie aufgenommen. Ergänzend zum anästhesiologischen Routinemonitoring erhielten alle Patientinnen und Patienten eine nasogastrale Tonometersonde. Vom Hautschnitt bis eine Stunde postoperativ wurde zu fünf Messzeitpunkten der pHi bestimmt. Zu diesen Zeitpunkten erfolgte jeweils auch eine arterielle Blutgasanalyse und eine Dokumentation von Kreislaufparametern. Der Magenmukosa-pH blieb bei den peripheren Gefäßeingriffen über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant. In den Gruppen der konventionellen und laparoskopischen bauchchirurgischen Eingriffe

sowie den Bauchaortenaneurysma-Operationen wurde ein Absinken des pHi um jeweils  $0,10 \pm 0,09$  Einheiten beobachtet, ohne dass sich weitere Anzeichen einer behandlungsbedürftigen Gewebshypoperfusion zeigten. Die Anlage eines  $\text{CO}_2$ -Pneumoperitoneums (laparoskopische Eingriffe) beeinflusst den intraoperativen Verlauf des pHi nicht. Bei den Bauchaortenaneurysma-Operationen stellte sich der Magenmukosa-pH-Verlauf im Gegensatz zu den offenen und laparoskopischen Eingriffen diskontinuierlich mit einer betonten Abnahme um das Ende der aortalen Klemmzeit dar. Durch entsprechende Volumengabe wurde der pHi in dieser Phase gestützt, so dass sich ein möglicher Einsatz der Magenmukosa-Tonometrie bei der Volumentherapie größerer Blutverluste andeuten könnte.

## Summary

The gastrointestinal tonometry via a nasogastric tube is regarded as a reliable procedure for the assessment of splanchnic perfusion. Clinical studies were essentially limited to the cardioanaesthetic field. In the present studies, the time course of the gastric intramucosal pH (pHi) was followed up in patients undergoing conventional and extensive laparoscopic laparotomies as well as aortic aneurysm repair. The control group consisted patients with peripheral vessel operations. The emphasis of the evaluation was put on the determination of differences between the time courses of the individual groups. Furthermore it was analysed whether an extensive pneumoperitoneum influences the gastric intramucosal pH. After approval of the local ethics committee and written informed consent, 48 patients were included into the study. All patients received a nasogastric tube in addition to the routine monitoring. Gastric intramucosal pH and arterial blood gases were determined at five measuring points perioperatively. The pHi remained constant in the case of the peripheral vessel operations. In the laparotomy groups a drop of the pHi by  $0,10 \pm 0,09$  units was observed. There was no evidence of abnormal tissue perfusion needing for treatment. An effect of pneumoperitoneum on pHi could not be shown. In spite of the open and laparoscopic laparotomies the aneurysm repair group showed a disconti-

nuous time course of pHi with strong decrease at the time of aorta declamping. By the administration of blood (Volume replacement) the pHi at the end of aortic clamping could be stabilized. Possibly the continuous measuring of the pHi can help to determine the optimal amount of volume replacement.

### Einleitung

Die Überwachung und Aufrechterhaltung der Gewebs-oxygenierung ist im Rahmen der Anästhesiologie und Intensivmedizin von fundamentaler Bedeutung. Als Indikatoren einer suffizienten Gewebsperfusion dienen zahlreiche Parameter wie Blutdruck, Herzzeitvolumen, Diurese, arterieller pH, Laktat Spiegel und Basendefizit. Jedoch ist mit einer alleinigen Optimierung dieser Parameter eine entscheidende Verbesserung der Morbidität und Mortalität kritisch Kranker nicht zu erzielen (Knichwitz 1997). In der klinischen Praxis ist eine Ver-

besserung des Sauerstoffangebotes über die drei Determinanten Herzzeitvolumen, gemischt-venöse Sauerstoffsättigung und Hämoglobingehalt Grundlage einer effektiven Therapie kritisch kranker Patienten. Es hat sich jedoch gezeigt, dass eine adäquate globale Sauerstoffversorgung nicht notwendigerweise regionale Organsysteme einschließt (Nimmo und Grants 1990). Neuere Konzepte konzentrieren sich daher auf ein regionales Monitoring besonders vulnerabler Organsysteme (Hamilton-Davies et al. 1997). In den letzten Jahren hat in diesem Zusammenhang der Gastrointestinaltrakt an Bedeutung gewonnen (Arnold et al. 1994). Die Darmmukosa ist aufgrund ihres speziellen anatomischen Aufbaus besonders empfindlich gegenüber Ischämie und Hypoxie, und sie erfüllt eine wichtige Barrierefunktion gegenüber den Darmbakterien, denen bei der Pathogenese der Sepsis und des Multiorganversagens (MODS) eine zentrale Bedeutung beigemessen wird (Marshall et al. 1993) (Abbildung 1).

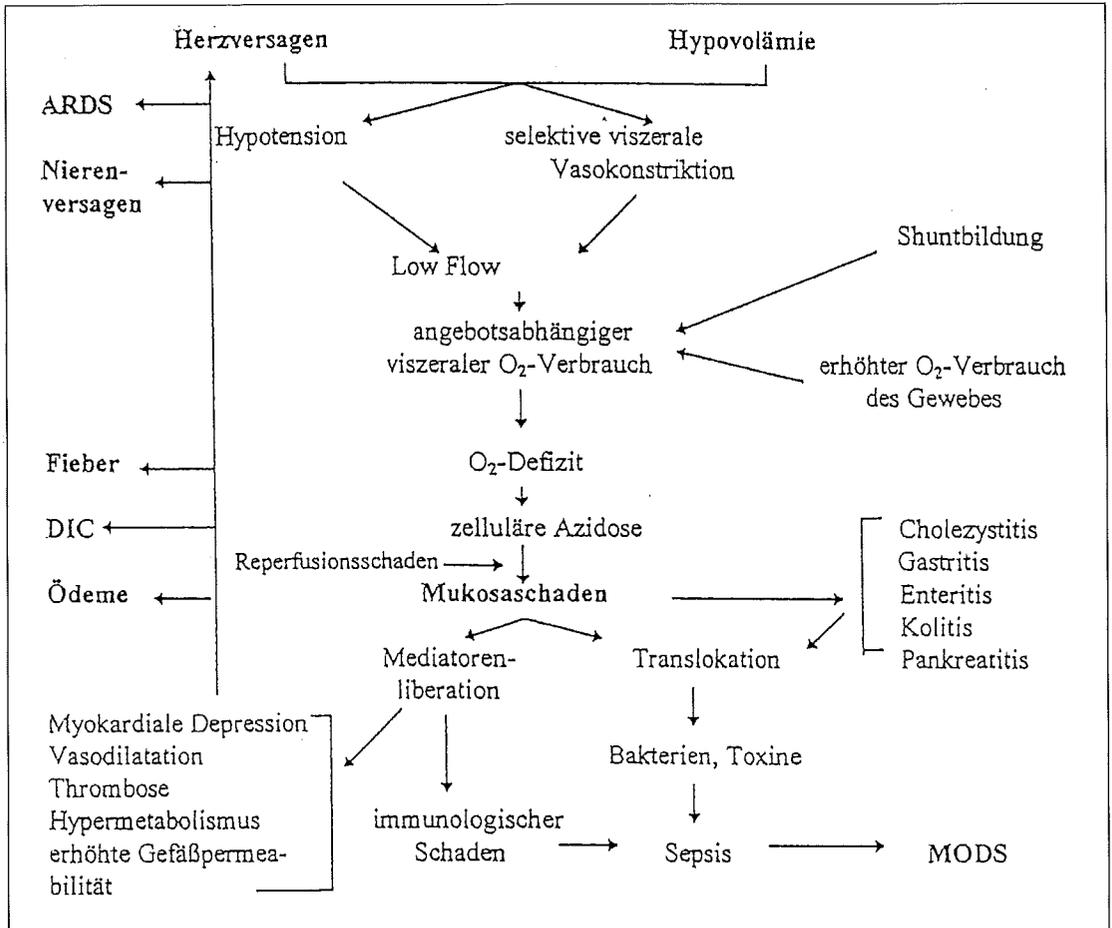


Abb. 1: Ursachen und Auswirkungen viszeraler Ischämie (modifiziert nach Haglund, 1989) [ARDS – akutes Lungenversagen, DIC – disseminierte intravasale Gerinnung, MODS – Multiorganversagen]

Da der Gastrointestinaltrakt unter klinischen Bedingungen einer direkten Messung nicht zugänglich ist, hat sich die gastrale Tonometrie zur indirekten Bestimmung des intramukosalen  $pCO_2$  ( $piCO_2$ ) bewährt (Fiddian-Green et al. 1995). Die konventionelle nasogastrale Tonometrie ist ein diskontinuierliches und indirektes Verfahren zur Bestimmung des intraluminären  $pCO_2$ . Das Messprinzip der intramukosalen pH-Messung beruht im Wesentlichen auf zwei Annahmen: Zum einen, dass sich der  $pCO_2$  in den oberflächlichen Mukosaschichten mit dem intraluminären  $pCO_2$  equilibriert und zum anderen, dass die Bikarbonatkonzentration in den Mukosazellen der Bikarbonatkonzentration im arteriellen Blut entspricht (Fiddian-Green et al. 1983). Unter diesen Annahmen kann der intramukosale pH-Wert (pHi) indirekt über die Henderson-Hasselbalch-Gleichung ( $pH=6,1+\log_{10}\{[HCO_3]/pCO_2*0,03\}$ ) errechnet werden, wenn gleichzeitig der intragastrale  $pCO_2$  und die Bikarbonatkonzentration im Plasma einer arteriellen Blutprobe bestimmt und in die Gleichung eingesetzt werden. Zur Messung des pHi wird eine Tonometersonde wie eine übliche Magensonde im Magen platziert. Am Ende der Sonde befindet sich ein für  $CO_2$  permeabler Silikonballon, der ein Füllvolumen von 3-5 ml aufnimmt. Der in situ liegende Ballon wird über ein separates Lumen im Sondenschlauch blasenfrei mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Am Ende der Messperiode wird diese Kochsalzlösung teilweise aus dem Ballon aspiriert und darin mit einem konventionellen Blutgasanalysator der  $piCO_2$  bestimmt. Gleichzeitig wird eine arterielle Blutgasanalyse zur Bestimmung der Bikarbonatkonzentration durchgeführt. In tierexperimentellen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass ein Anstieg des  $piCO_2$  mit Hypovolämie, Endotoxinämie, Hypoperfusion und Okklusion in der mesenterialen Strombahn korreliert (Knichwitz 1995). Bei Aortenaneurysmapatienten wurde der Zusammenhang von sinkendem pHi und der Entwicklung einer ischämischen Kolitis nachgewiesen (Soong et al. 1995). Eine höhere Inzidenz von Komplikationen, wie Sepsis, akutem Nierenversagen oder Transplantatabstoßung, fand sich bei Patienten, die sich einer orthoto-

pen Lebertransplantation unterzogen und im Verlauf der Untersuchung einen  $pHi < 7,32$  entwickelten (Downing et al. 1993). Patienten, die am Ende größerer elektiver chirurgischer Eingriffe einen  $pHi < 7,32$  aufwiesen, verweilten länger auf der Intensivstation, hatten eine ausgeprägtere Komplikationsrate und eine höhere Sterblichkeit (Mythen und Webb 1994). Die oben genannten Arbeiten zielten im Wesentlichen auf die Vorhersagekraft der konventionellen Magenmukosatonometrie hinsichtlich der Entstehung von Komplikationen nach Operationen ab. Der perioperative Verlauf des pHi wurde bis auf Untersuchungen während Operationen am offenen Herzen kaum analysiert. Ziel der vorliegenden Studie war es daher, pHi-Verlaufsprofile im allgemeinchirurgischen Zusammenhang zu erstellen. Außerdem wurde der Frage nachgegangen, ob die Anlage eines  $CO_2$ -Pneumoperitoneums, wie es bei laparoskopischen Eingriffen üblich ist, den Verlauf des pHi beeinflusst,

### Patienten und Methoden

Nach Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck und schriftlicher Einverständniserklärung wurden 48 Patientinnen und Patienten untersucht, die sich in der Klinik für Chirurgie der Medizinischen Universität zu Lübeck einer elektiven Operation unterzogen und zum erweiterten Monitoring vorgesehen waren. Das Kollektiv wurde mit jeweils 12 Patientinnen und Patienten vierfach geschichtet (konventionelle bauchchirurgische Eingriffe, ausgedehnte laparoskopische Eingriffe, Bauchaortenaneurysma-Operationen und als Kontrollgruppe Eingriffe an Gefäßen der unteren Extremität). Die personengebundenen Daten (Tabelle 1) unterscheiden sich hinsichtlich der Gruppen nicht ( $p > 0,05$ ).

Neben dem kliniküblichen erweiterten Monitoring (EKG, arterielle Blutdruckmessung, zentralvenöser Katheter sowie intraoperative Pulsoxymetrie und endexpiratorische  $CO_2$ -Messung) erhielten alle Patienten eine nasogastrale Tonometersonde (TRIP NGS-Katheter, Datex-Ohmeda). Von dem Hautschnitt bis eine

		Konventionell		Laparoskopie		BAA		Gefäß	
Geschlecht		5 (m) / 7 (w)		5 (m) / 7 (w)		8 (m) / 4 (w)		8 (m) / 4 (w)	
Alter	[Jahre]	69,33	12,13	64,17	10,52	68,42	8,16	71,50	13,37
Gewicht	[kg]	71,50	11,74	77,50	9,50	76,25	10,24	73,67	14,59
Größe	[cm]	166,50	6,96	168,83	6,53	168,58	8,92	172,17	8,95

Tab. 1: Personengebundene Daten [Mittelwerte und Standardabweichungen, m – männliche, w – weiblich, Konventionell – konventionelle bauchchirurgische Eingriffe, Laparoskopie – ausgedehnte laparoskopische Eingriffe, BAA – Bauchaortenaneurysma-Operationen, Gefäß – Eingriffe an Gefäßen der unteren Extremität]

Stunde postoperativ wurden zu fünf Messzeitpunkten mittels eines Blutgasanalysegerätes (Radiometer ABL520, RADIOMETER) Blutgasanalysen durchgeführt und der  $piCO_2$  bestimmt. Zusätzlich wurde in einer zentralvenösen Blutprobe die Laktatkonzentration photometrisch gemessen (Hitachi 717, BOEHRINGER; Kit von SIGMA). Außerdem wurden hämodynamische Parameter (Puls, arterieller Mitteldruck und zentraler Venendruck) und Beatmungscharakteristika (AMV, AZV, Atemfrequenz, PEEP, Plateau und Peak) festgehalten (PM8020, DRÄGER) sowie der Volumenstatus und die Gabe vasoaktiver Substanzen dokumentiert. Bei den Laparoskopien wurde  $CO_2$  bis zu einem intraabdominellen Druck von 14 mmHg in-

suffliert. Der intramukosale pH-Wert der Magenschleimhaut (pHi) wurde nach den Herstellerangaben bestimmt, um die Durchblutungssituation des Splanchnikusgebietes beurteilen zu können. Die Daten wurden mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows 7.5.2 (SPSS GmbH SOFTWARE) ausgewertet. Die Messwerte wurden nach Gruppen als Mittelwerte mit Standardabweichungen festgehalten. Daten innerhalb der Gruppen wurden mit dem t-Test bei gepaarten Stichproben verglichen und die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mittels der einfaktoriellem Varianzanalyse mit dem Post-Hoc-Mehrfachvergleich von Scheffe berechnet. Das Signifikanzniveau wurde mit 5 % ( $p < 0,05$ ) vorgegeben.

Hautschnitt	45 min nach Hs				105 min nach Hs				Hautnaht		1 h postoperativ	
MAP [mmHg]	K	94,06	19,63	105,39 * <sup>o</sup>	16,09	100,18	10,19	102,64	19,93	106,97	30,68	
	L	106,73	14,66	111,27	19,92	110,73	14,64	110,52	14,66	109,48	13,39	
	B	91,48	16,46	105,58 * <sup>o</sup>	13,90	108,64	13,49	102,42	10,41	119,89 * <sup>o</sup>	17,46	
	G	101,94	14,33	105,67	13,42	105,89	13,31	106,11	17,43	108,31	22,11	
AMV [l/min]	K	5,77	0,95	5,15 * <sup>o</sup>	0,66	5,42	0,97	5,68	1,41	6,30	1,98	
	L	5,72	0,83	6,31 * <sup>o</sup>	1,14	6,34	1,01	6,11	2,12	6,54	0,62	
	B	6,48	0,96	6,51	1,25	6,18	1,08	6,49	1,08	6,34	1,52	
	G	5,74	1,12	5,51	1,11	5,54	1,10	5,37	0,74	6,75	2,87	
pH	K	7,43	0,07	7,39 * <sup>o</sup>	0,07	7,37	0,06	7,38	0,04	7,33 * <sup>o</sup>	0,06	
	L	7,40	0,06	7,36 * <sup>o</sup>	0,04	7,36	0,05	7,35	0,03	7,33	0,05	
	B	7,41	0,06	7,40	0,05	7,32	0,06	7,36	0,03	7,34	0,04	
	G	7,42	0,04	7,40	0,04	7,40	0,06	7,39	0,07	7,36	0,06	
$pCO_2$ [mmHg]	K	31,35	3,02	35,56 * <sup>o</sup>	2,32	35,30	2,45	35,07	2,98	38,62	7,10	
	L	34,45	3,67	37,38 * <sup>o</sup>	2,65	35,87	1,94	36,18	3,06	38,05	4,66	
	B	35,76	6,02	35,96	6,16	37,80	6,04	35,48	3,55	39,63	4,42	
	G	35,82	4,66	37,88	3,13	37,72	3,03	40,11 * <sup>o</sup>	5,13	42,49	5,23	
BE	K	-2,41	4,31	-3,31	3,31	-4,38	3,59	-3,98	3,25	-4,98	3,21	
	L	-3,16	2,08	-4,07 * <sup>o</sup>	2,07	-4,85	2,70	-5,05	2,05	-5,91 * <sup>o</sup>	2,02	
	B	-1,60	2,76	-2,67	3,37	-5,94 * <sup>o</sup>	2,26	-4,78	1,31	-4,67	1,59	
	G	-0,68	3,18	-0,79	2,82	-0,74	3,18	-0,70	3,31	-1,18	3,31	
$piCO_2$ [mmHg]	K	26,98	5,91	29,78 * <sup>o</sup>	3,94	32,43	3,43	33,40	3,89	36,50 * <sup>o</sup>	4,36	
	L	31,85	5,16	35,17 * <sup>o</sup>	5,82	36,62	4,44	37,85	4,24	38,15	5,66	
	B	32,20	6,28	32,82	6,08	35,35	4,71	36,10	4,16	39,68 * <sup>o</sup>	6,19	
	G	32,22	3,54	35,56	6,83	35,60	3,69	37,78 * <sup>o</sup>	2,96	39,82	4,53	
pHi	K	7,44	0,07	7,42	0,06	7,36	0,06	7,35	0,06	7,31 * <sup>o</sup>	0,06	
	L	7,37	0,08	7,34	0,07	7,31	0,07	7,29	0,05	7,28	0,07	
	B	7,38	0,10	7,39	0,12	7,30	0,07	7,31	0,05	7,29	0,07	
	G	7,38	0,08	7,38	0,09	7,39	0,07	7,37	0,06	7,36	0,08	

Tab. 2: Hämodynamik [Mittelwerte und Standardabweichungen, K – konventionelle bauchchirurgische Eingriffe, L – ausgedehnte laparoskopische Eingriffe, B – Bauortenaneurysma-Operationen, G – Eingriffe an Gefäßen der unteren Extremität, Hs – Hautschnitt, MAP – arterieller Mitteldruck, AMV – Atemminutenvolumen, BE – Basenüberschuss,  $piCO_2$  – magenmukosaler  $pCO_2$ , pHi – magenmukosaler pH]; \*signifikanter Unterschied zum vorherigen Messwert

## Ergebnisse

Über den gesamten Beobachtungszeitraum herrschten stabile Kreislaufverhältnisse vor (Tabelle 2). Der arterielle Mitteldruck stieg in allen Gruppen nach dem Hautschnitt mäßig an. Komplikationen wurden weder intraoperativ noch eine Stunde post operationem beobachtet. Das Atemminutenvolumen wurde nach dem Hautschnitt in der Gruppe der konventionellen Laparotomien leicht gesenkt, bei den Laparoskopien leicht angehoben.

Der systemische Säuren-Basen-Status wurde beschrieben durch die Parameter arterieller pH, arterieller  $pCO_2$  und Basenüberschuss. Während der pH bei den Laparotomien bereits intraoperativ sank, zeigte sich dieser Befund bei den Gefäßeingriffen erst eine Stunde postoperativ. Sowohl bei den konventionellen als auch bei den laparoskopischen Laparotomien stieg der  $pCO_2$  45 min nach Hautschnitt an. Während der  $pCO_2$  bei den konventionellen Laparotomien im Vergleich zum Ausgangswert auch weiterhin auf einem gehobenen Niveau verblieb, zeigte sich bei den Laparoskopien ein

erhöhter Wert erneut erst eine Stunde postoperativ. Bei den Laparoskopien verringerte sich der Basenüberschuss bereits 45 min nach Hautschnitt, bei den konventionellen Laparotomien und Bauchaortenaneurysma-Operationen trat diese Veränderung erst 105 min nach Hautschnitt auf. In der Gruppe der Gefäßeingriffe blieb sowohl der Basenüberschuss als auch der pHi unverändert. Laparotomien und Bauchaortenaneurysma-Operationen zeigten im Hinblick auf den pHi zunächst einen identischen Verlauf (Abbildung 2).

Gegen Ende der aortalen Klemmzeit kam es bei den Bauchaortenaneurysma-Operationen zu einem akzentuierten Absinken des pHi auf  $7,30 \pm 0,07$  vs.  $7,38 \pm 0,10$  im Vergleich zum Zeitpunkt der Hautschnitte, der sich auf diesem niedrigen Niveau stabilisierte. Der magenmukosale  $pCO_2$  stieg in allen Gruppen kontinuierlich an, wobei sich größere Anstiege nach Beginn und Ende der Operation beobachten ließen. Die mittlere Operationsdauer betrug  $167,87 \pm 49,08$  min. Die Laparoskopien wiesen mit  $205,42 \pm 42,45$  min eine deutlich längere Operationszeit auf.

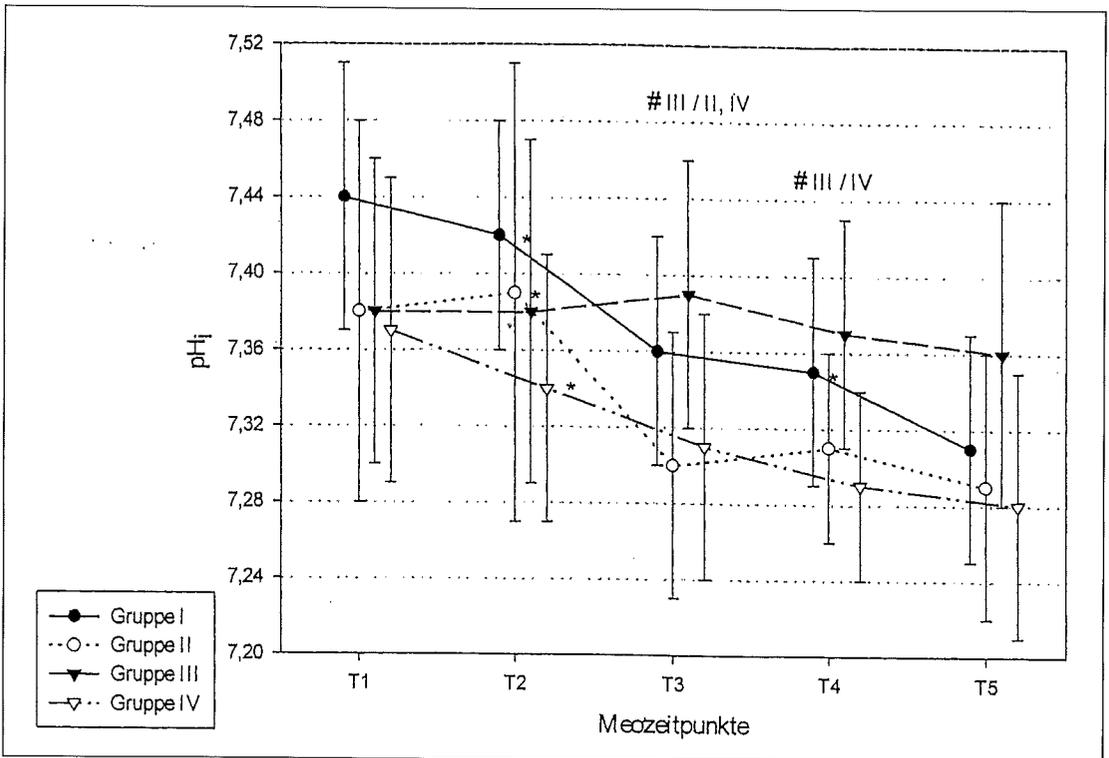


Abb. 2: pH<sub>i</sub>-Verlaufskurve [pH<sub>i</sub> – Magenmukosa-pH, Gruppe I – konventionelle bauchchirurgische Eingriffe, Gruppe II – Bauchaortenaneurysma-Operationen, Gruppe III – Eingriffe an Gefäßen der unteren Extremität, Gruppe IV – ausgedehnte laparoskopische Eingriffe, T1 – Hautschnitt, T2 – 45 min nach dem Hautschnitt, T3 – 105 min nach dem Hautschnitt, T4 – Ende der Hautnaht, T5 – 1 h postoperativ, \* –  $p < 0,05$  zwischen den Messzeitpunkten, # –  $p < 0,05$  zwischen den Gruppen]

## Diskussion

Obwohl die Magenmukosa-Tonometrie derzeit das einzige minimal-invasive Verfahren im klinischen Routinebetrieb zur Bestimmung der Perfusion der Oberbauchorgane im Versorgungsgebiet des Nervus splanchnicus ist (Träger et al. 1998), besteht eine Reihe technischer und methodischer Probleme (Gutierrez et al. 1996).

So kann Luft im Tonometerballon, längeres Lagern der Probe oder Verwendung von Messlösung aus dem für  $\text{CO}_2$  undurchlässigen Zuführungsschlauch zu einer Fehleinschätzung des  $\text{pHiCO}_2$  führen (Steuerik et al. 1998). In Abhängigkeit vom verwendeten Blutgasanalysator und der Messlösung können die Ergebnisse erheblich variieren, wodurch eine Vergleichbarkeit der Daten erschwert wird (Kolkman et al. 1997). In saurem Magensaft entsteht bei der Pufferung mit Bikarbonat  $\text{CO}_2$ , das im Magenlumen kumulieren und zu falsch niedrigen  $\text{pHi}$ -Werten führen kann. Um die durch Säurebildung bedingte intraluminale  $\text{CO}_2$ -Produktion zu verhindern, wurde die prophylaktische Gabe von  $\text{H}_2$ -Rezeptorblockern propagiert (Kolkman et al. 1994). Da der Magen bei Patienten zu Elektiveingriffen leer ist und eventuell vorhandenes Magensekret über die Magensonde leicht aspiriert werden kann (Fiddian-Green 1995), wurde in der vorliegenden Studie auf die Gabe von  $\text{H}_2$ -Rezeptorblockern verzichtet. Die Berechnung des  $\text{pHi}$  setzt voraus, dass die arterielle und die intramukosale Bikarbonatkonzentration gleich sind. Im hämorrhagischen oder septischen Schock aber ist die Bikarbonatkonzentration in der Magenschleimhaut geringer als im arteriellen Blut, so dass der  $\text{pHi}$  unter diesen Umständen überschätzt würde (Krafte-Jacobs et al. 1995). Neuere Studien verzichten daher zunehmend auf die Erhebung des  $\text{pHi}$  zugunsten der alleinigen Verlaufsbeobachtung des  $\text{pHiCO}_2$  oder der Beurteilung der arterio-intramukosalen  $\text{pCO}_2$ -Differenz, um Einflüssen durch den systemischen Säuren-Basen-Status zu entgegen (Zander 1998). Mittlerweile stehen automatische Tonometrie-Monitore zur Verfügung, die über einen integrierten  $\text{CO}_2$ -Sensor verfügen, wesentlich kürzere Equilibrationszeiten erfordern und gut reproduzierbare Messergebnisse liefern (Creteur et al. 1997; Guzman und Kruse 1997; Knichwitz et al. 1998). Diese Neuerungen werden die Diskussion über die Zuverlässigkeit der Methode zukünftig weitgehend überflüssig machen.

Der Magenmukosa-pH-Verlauf in der Kontrollgruppe mit Eingriffen an der unteren Extremität stellte sich ohne wesentliche Abweichungen linear dar. Anästhesiezeiten von etwa zwei Stunden in der applizierten Form zeigten damit keinen Einfluss auf den  $\text{pHi}$ . Bei den Zielgruppen (konventionelle bauchchirurgische Eingriffe, laparoskopische Eingriffe und BAA-Opera-

tionen) sank der Magenmukosa-pH im Verlauf der Operation und bis zur ersten postoperativen Stunde um  $0,10 \pm 0,09$  Einheiten, ohne Anzeichen einer behandlungsbedürftigen Gewebshypoperfusion zu bieten. Ein perioperativer Magenmukosa-pH-Abfall im oben genannten Bereich könnte somit bei bauchchirurgischen Eingriffen als normal bewertet werden.

Die konventionellen bauchchirurgischen und die laparoskopischen Eingriffe boten ein identisches  $\text{pHi}$ -Verlaufsprofil mit einer kontinuierlichen Abnahme des  $\text{pHi}$  vom Hautschnitt bis zum Zeitpunkt eine Stunde postoperativ, obwohl der arterielle Mitteldruck im Vergleich zum Ausgangswert erhöht war. Für diesen Umstand könnte die Freisetzung vasoaktiver Substanzen verantwortlich sein. Unabhängig vom offenen oder laparoskopischen Vorgehen kam es bei 30 Patienten zu einem Anstieg der AdrenalinKonzentration im peripheren Blut (Joris et al. 1992). Bei 15 laparoskopischen Eingriffen stiegen die Blutkonzentrationen von Vasopressin, Adrenalin und Noradrenalin an (Joris et al. 1993). Crozier (1993) machte für die simultane Freisetzung von vasoaktiven Substanzen bei offenen wie laparoskopischen Eingriffen einen niedrigen Schwellenwert verantwortlich, der bei jeder Manipulation am Leberhilus überschritten würde (Crozier 1993). Katecholamine, Vasopressin und Angiotensin II sind die wichtigsten Substanzen, die die Splanchnikusdurchblutung negativ beeinflussen (Takala 1996). Diese Zusammenhänge könnten erklären, warum bei großen bauchchirurgischen Eingriffen der arterielle Mitteldruck steigt und gleichzeitig der Magenmukosa-pH sinkt. Ein weiterer Hinweis darauf könnte eine Studie sein, in der bei großen bauchchirurgischen Eingriffen durch epidurale Blockade ein Absinken des Magenmukosa-pH verhindert werden konnte, indem die sympathikusvermittelte Katecholaminfreisetzung unterbunden wurde (Sutcliffe et al. 1996).

Bei den Bauchaortenaneurysma-Operationen verändert sich der  $\text{pHi}$  stufenförmig mit einem betonten Absinken des  $\text{pHi}$  um das Ende der aortalen Klemmzeit. Vom Hautschnitt bis 45 min danach kam es initial zu einer Anhebung des  $\text{pHi}$  von  $7,38 \pm 0,10$  auf  $7,39 \pm 0,12$ . Diese Beobachtung ließe sich durch die operationstechnischen Besonderheiten der Aortenchirurgie erklären. Nachdem die Aorta unterhalb der A. mesenterica superior abgeklemmt war, wurde das Herzminutenvolumen im Wesentlichen auf die obere Körperhälfte verteilt. Daraus resultierte wahrscheinlich eine verbesserte Durchblutung insbesondere des Magens, so dass im frühen Verlauf der Operation die Bestimmung des sigmoidalen Mukosa-pH-Wertes aussagekräftiger gewesen sein könnte. Demgegenüber steht eine Untersuchung, die unter diesen Bedingungen keinen Unterschied zwischen sigmoidalem und gastralem  $\text{pHi}$  ausmachen konnte (Englund et al. 1996). Dies legitimiert

die Interpretation der hier vorgelegten Ergebnisse im Sinne einer verbesserten gastralen Perfusion nach Abklemmen der Aorta. Nach Beendigung der aortalen Klemmzeit sank der pH zunächst. Eine forcierte Volumengabe um das Ende der aortalen Klemmzeit unterbrach den Abwärtstrend des Magenmukosa-pH und führte kurzfristig zu einer leichten Anhebung, ohne dass sich ein weiterer Anhalt für eine absolute Hypovolämie geboten hätte. An sechs gesunden Probanden, bei denen ein Verlust von 25 % des Blutvolumens herbeigeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass dieser Blutverlust sich weder in Veränderungen des arteriellen Mitteldrucks, der Herzfrequenz oder des ZVD widerspiegelte. Einzig der Magenmukosa-pH zeigte einen deutlichen Abfall (Hamilton-Davies et al., 1997). Dieser Sachverhalt lässt einen Einsatz der Magenmukosa-Tonometrie bei Operationen, die mit dem Risiko größerer okkultur Blutungen belastet sind, sinnvoll erscheinen.

Hinsichtlich der laparoskopischen Eingriffe hat sich in den letzten Jahren sowohl die Dauer des CO<sub>2</sub>-Pneumoperitoneums, die Art der Eingriffe, als auch der Grad der Traumatisierung erheblich verändert. Die Kombination aus CO<sub>2</sub>-Resorption, erhöhtem intraabdominellen Druck und der zur Vermeidung von Atelektasen eingesetzte PEEP beeinflussen die Hämodynamik auf globaler wie regionaler Ebene (Koivusalo et al. 1997). Nennenswerte Effekte werden aber erst ab bestimmten Schwellenwerten beobachtet. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass der steigende arterielle pCO<sub>2</sub> bei einem CO<sub>2</sub>-Pneumoperitoneum ohne angepasste Ventilation für ein Sinken der kardialen Auswurfleistung verantwortlich war. Ein mechanischer Einfluss des intraabdominellen Druckes (IAP) bis 15 mmHg wurde ausgeschlossen (Ho et al. 1992). Allerdings wurde ein Abfall des Herzzeitvolumens bereits bei einem geringeren IAP verzeichnet, wenn gleichzeitig ein PEEP von mehr als 6 mmHg appliziert wurde (Luz et al. 1994). Bei einer isolierten Erhöhung des IAP mittels Ringerlösung fand sich ein Absinken des mesenterial-arteriellen und mukosalen Blutflusses ab einem Druck von 20 mmHg (Diebel et al. 1992). In der vorliegenden Arbeit wurde die Ventilation angepasst, um eine Normokapnie zu gewährleisten. Intraoperativ wurde im Mittel ein PEEP von 3,49±1,75 mmHg appliziert. Die Obergrenze des intraabdominellen Druckes lag bei 14 mmHg. Damit können Einflüsse durch mangelnde CO<sub>2</sub>-Elimination, IAP und PEEP als ausgeschlossen gelten. Da sich die Verläufe im Hinblick auf den pH zwischen den konventionellen bauchchirurgischen Eingriffen und den Laparoskopien nicht unterschieden, konnte ein Einfluss durch ein CO<sub>2</sub>-Pneumoperitoneum auf den pH nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass sich die Magenmukosa-Tonometrie als ergänzendes Überwa-

chungsverfahren bei Operationen und/oder Patienten mit hohem Risiko eignet.

## Literatur

1. Arnold J, Hendriks J, Ince C, Bruining H (1994): Tonometry to assess the adequacy of splanchnic oxygenation in the critically ill patient. *Intensive Care Med* 20: 452-456
2. Creteur J, De Backer D, Vincent JL (1997): Monitoring gastric mucosal carbon dioxide pressure using gas tonometry: in vitro and in vivo validation studies. *Anesthesiology* 87: 504-510
3. Crozier TA (1993): Anästhesiologische Aspekte der minimal invasiven Chirurgie. *Zentralbl Chir* 118: 573-581
4. Diebel LN, Dulchavsky SA, Wilson RF (1992): Effect of increased intra abdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow. *J Trauma* 33: 45-48 (1992)
5. Downing A, Cottam S, Beard C, Potter D (1993): Gastric mucosal pH predicts major morbidity following orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 25: 1804
6. Englund R, Lalak N, Jacques T, Hanel KC (1996): Sigmoid and gastric tonometry during infrarenal aortic aneurysm repair. *Aust N Z J Surg* 66: 88-90
7. Fiddian-Green RG, McGough E, Pittenger G, Rothman E (1983): Predictive value of intramural pH and other risk factors for massive bleeding from stress ulceration. *Gastroenterology* 85: 613-620
8. Fiddian-Green RG (1995): Gastric intramucosal pH, tissue oxygenation and acid-base balance. *Br J Anaesth* 74: 591-606
9. Gutierrez G, Khan U (1996): Gastric tonometry monitoring. *Crit Care* 2: 193-198
10. Guzman JA, Kruse JA (1997): Continuous assessment of gastric intramucosal PCO<sub>2</sub> and pH in hemorrhagic shock using capnometric recirculating gas tonometry. *Crit Care Med* 25: 533-537
11. Hamilton-Davies C, Mythen MG, Salmon JB, Jacobson D, Shukla A, Webb AR (1997): Comparison of commonly used clinical indicators of hypovolaemia with gastrointestinal tonometry. *Intensive Care Med* 23: 276-281
12. Ho H, Gunter R, Wolfe B (1992): Intraperitoneal carbon dioxide insufflation and cardiopulmonary functions. *Arch Surg* 127: 928-933
13. Joris JL, Cigarini I, Legrand MJ, Jacquet NJ, De Groote D, Franchimont P, Lamy ML (1992): Metabolic and respiratory changes after cholecystectomy performed via laparotomy or laparoscopy. *Br J Anaesth* 69: 341-345
14. Joris JL, Noirot DP, Legrand MJ, Jacquet NJ, Lamy ML (1993): Hemodynamic changes during laparoscopic cholecystectomy. *Anesth Analg* 76: 1067-1071
15. Knichwitz G, Brüssel T (1997): Die intramukosale pCO<sub>2</sub> Messung als gastrointestinales Monitoring. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 32: 479-487
16. Knichwitz G, Van Aken H, Brüssel T (1997): Gastrointestinal monitoring using measurement of intramucosal pCO<sub>2</sub>. *Anesth Analg* 87: 134-142
17. Knichwitz G (1995): Die intramukosale pCO<sub>2</sub>-Messung. *Pro. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 30 (Suppl I): S10-S13

18. Koivusalo AM, Kellokumpu I, Ristkari S, Lindgren L (1997): Splanchnic and renal deterioration during and after laparoscopic cholecystectomy: a comparison of the carbon dioxide pneumoperitoneum and the abdominal wall lift method. *Anesth Analg* 85: 886-891
19. Kolkman JJ, Groeneveld AB, Meuwissen SG (1994): Effect of ranitidine on basal and bicarbonate enhanced intragastric pCO<sub>2</sub>: a tonometric study. *Gut* 35: 737-741
20. Kolkman JJ, Zwarekant LJ, Boshuizen K, Groeneveld AB, Steverink PJ, Meuwissen SG (1997): Type of solution and pCO<sub>2</sub> measurement errors during tonometry. *Intensive Care Med* 23: 658-663
21. Krafte-Jacobs B, Carver J, Wilkinson JD (1995): Comparison of gastric intramucosal pH and standard perfusional measurements in pediatric septic shock. *Chest* 108: 220-225
22. Luz CM, Polarz H, Bohrer H, Hundt G, Dorsam J, Martin E (1994): Hemodynamic and respiratory effects of pneumoperitoneum and PEEP during laparoscopic pelvic lymphadenectomy in dogs. *Surg Endosc* 8: 25-27
23. Marshall JC, Christou NV, Meakins JL (1993): The gastrointestinal tract. The undrained abscess of multiple organ failure? *Ann Surg* 218: 111-119
24. Mythen MG, Webb AR (1994): Intra-operative gut mucosal hypoperfusion is associated with increased postoperative complications and cost. *Intensive Care Med* 20: 99-104
25. Nimmo GR, Grants IS (1990): Oxygen transport in the critically ill: Clinical studies and therapeutic implications. *Intensive Therapy Clinical Monitoring* 4: 126-130
26. Soong CV, Halliday MI, Hood JM, Rowlands BJ, Barros DA (1995): Effect of low-dose dopamine on sigmoid colonic intramucosal pH in patients undergoing elective abdominal aortic aneurysm repair. *Br J Surg* 82: 912-915
27. Steverink GM, Kolkman JJ, Groeneveld ABJ, De Vries JW (1998): Catheter deadspace: a source of error during tonometry. *Br J Anaesth* 80: 337-341
28. Sutcliffe NP, Mostafa SM, Gannon J, Harper SJ (1996): The effect of epidural blockade on gastric intramucosal pH in the peri-operative period. *Anaesthesia* 51: 37-40
29. Takala J (1996): Determinants of splanchnic blood flow. *Br J Anaesth* 77: 50-58
30. Träger K, Brinkmann A, Radermacher P (1998): Magenmukosa-Tonometrie: Mehr als Splanchnikusperfusion und Sauerstoff-kinetik. *Anästhesiol Notfallmed Schmerzther* 33: Suppl 2, S91-S93

## 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, W. Kühnel, H. H. Wolff

**Wissenschaftlicher Beirat:** T. Aach, H. Arnold, R. Birngruber, K. Diedrich, H. v. Domarus, P. Dominiak, W. Dosch, D. v. Engelhardt, H. L. Fehm, A. Ch. Feller, A. Fenner, B. Fischer, H.-D. Flad, W. Gross, H. Halsband, M. Herczeg, D. Hogrefe, F. Hohagen, W. Jelkmann, D. Jocham, H. A. Katus, R. Kessel, H. Kirchner, U. Knölker, D. Kömpf, E. Konecny, K. Kruse, H. Laqua, V. Linnemann, E. Maehle, Th. Martinetz, P. Müller, D. O. Nutzinger, M. Oehmichen, Th. Peters, S. Pöpl, H.-H. Raspe, K. R. Reischuk, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, F. Schmielau, P. Schmucker, E. Schwinger, H. H. Sievers, W. Solbach, W. Traut, A.X. Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, (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 Verlagkontor Heinz Scheffler, Mengstraße 16, D-23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

**Anzeigen:** Hansisches Verlagkontor H. Scheffler, Christiane Kermel

**Druck:** Verlag Schmidt-Römhild KG, Mengstraße 16, 23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

**Erscheinen:** FOCUS MUL erscheint vierteljährlich

**Redaktionsschluss:** 6 Wochen vorher

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

ISSN 0940-9998

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Medizinischen Universität zu Lübeck  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. K. Diedrich)

## Die gynäkologische Endoskopie im Wandel der Zeit\*

E. Malik

Im Jahre 1805 wurde das Wahrzeichen Lübecks, das Holstentor, noch durch das sog. äußere Holstentor bedeckt. Dieses Renaissancetorhaus wurde im Jahre 1853 abgerissen.

Auf der Abbildung 1 erkennt man die hinter dem äußeren Holstentor gelegenen Türme des eigentlichen Holstentors. Links neben dem Holstentor entdeckt man die St. Marienkirche. Seit 1805 veränderte sich in Lübeck einiges, diese relativ kurze Zeitspanne reicht jedoch aus, um die gesamte Geschichte der Endoskopie beschreiben zu können. Über diese Geschichte, mit Fokussierung auf die gynäkologische Endoskopie, soll nachfolgend berichtet werden.

Der Wunsch des Menschen nach Inspektion von Körperhöhlen ist alt, bereits Hippokrates von Kos beschrieb 400 v. Christus Vaginal- und Rektalspekula. In den Ruinen von Pompeji, das durch einen Vulkanausbruch zerstört wurde, fand man ebenfalls ein dreiblättriges Vaginalspekulum.

An der Grenze zwischen alter und neuer Medizin steht Phillip Bozzini. Sein eigentliches Verdienst bestand in der Beschreibung eines Instrumentes, mit dessen Hilfe ein wenig traumatisches, minimal invasives, also endoskopisches Vordringen in Körperhöhlen möglich werden sollte. Er nannte dieses Instrument den Lichtleiter. Die Funktionsweise und die Anwendungsbereiche des Instrumentes wurden 1807 in Weimar erstmals unter dem Titel: „Der Lichtleiter oder Beschreibung einer einfachen Vorrichtung und ihrer Anwendung zur Erleuchtung innerer Höhlen und Zwischenräume des lebenden animalischen Körpers“ veröffentlicht.

Der von Bozzini beschriebene Lichtleiter bestand aus 3 Teilen: Einem mittleren, einem oberen und einem unter-

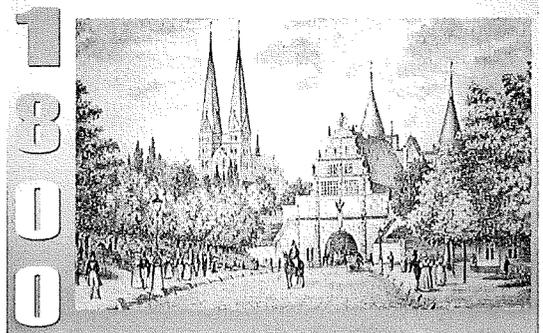


Abb. 1: Bremse U. Lübeck in Bildern – Damals und heute. 1990, Geiger-Verlag, Horb am Neckar

ren Teil. Der obere und untere Teil dienten jeweils der Luftzirkulation, der obere Teil der Abkühlung, z. B. durch Anwendung eines feuchten Schwammes. Der mittlere Teil beherbergte die eigentliche Lichtquelle, eine Kerze, welche über einen Federmechanismus stets auf gleicher Höhe gehalten wurde. Darüber hinaus beinhaltete der mittlere Teil des Instrumentes zwei Öffnungen, eine an der Vorderseite und eine an der Rückseite. Die Öffnung an der Vorderseite war zweigeteilt, jeweils eine für die sog. Licht- und Reflektionsleitung. Über die Lichtleitung wurde das Licht der Kerze über ein Spiegelsystem zum Objekt hin und von hier über die Reflektionsleitung zur hinteren Öffnung, also zum Beobachter, befördert. Der Augenschutz der hinteren Öffnung bestand aus einer Lederscheide. An der vorderen Öffnung wurden Spekula unterschiedlicher Breite und Länge zum Einführen in die verschiedenen Körperhöhlen angebracht (Abb. 2).

Bozzini nannte zahlreiche Einsatzbereiche seines Lichtleiters, darunter insbesondere sehr innovative geburtshilfliche Indikationen. So benannte er u. a. die Betrachtung der Höhle des Fruchtbläuters, was der heutigen Fetoskopie entspricht. Auch chirurgi-

\* Antrittsvorlesung im Rahmen der Habilitation im Fach Frauenheilkunde und Geburtshilfe an der Medizinischen Fakultät der Medizinischen Universität zu Lübeck am 1. Februar 2000

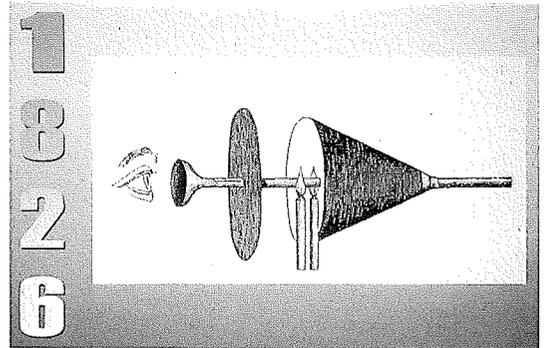
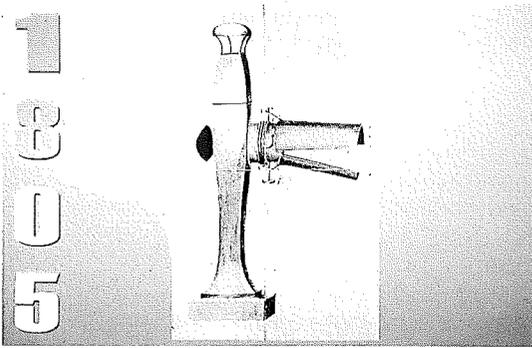


Abb. 2 und 3: Reuter MA. *Geschichte der Endoskopie – Handbuch und Atlas Band 1-4*. 1998, K. Krämer Verlag, Stuttgart und Zürich

sche Anwendungsbereiche wurden beschrieben, z. B. die Erkennung und Behandlung von Geschwüren in der männlichen und weiblichen Harnröhre, die Erkennung und Behandlung von Verwachsungen in der Scheide, im Muttermund und im Mastdarm sowie die Inspektion des Mund- und Rachenraumes, der Nase und der Ohren. Die Historiker sind sich deshalb einig, dass dieses Instrument, das mit künstlichem Licht, einer Kerze, einem Spiegel- und Röhrensystem arbeitet, den Urtyp der weitverzweigten Endoskopiefamilie darstellt.

Bozzini selbst konnte die Früchte seiner Arbeit nicht ernten. Nach Veröffentlichung seines Lichtleiters wurde er von seinen Vorgesetzten auf eine Infektionsstation versetzt, wo er an Typhus erkrankte. Diese Erkrankung forderte sein Leben bereits 2 Jahre nach Veröffentlichung seines Werkes.

Zum Zeitpunkt der Beschreibung der Bozzini-Instrumente wurde Lübeck im Jahre 1806 von französischen Truppen unter Bernadotte erobert. General Blücher verlor die entscheidende Schlacht am Burgtor. Lübeck wurde zur Plünderung freigegeben.

Bozzini hatte zahlreiche Gegner und Neider, allerdings auch Mitstreiter. Einer dieser Mitstreiter war Pierre Ségalas, der im Jahre 1826 ein Urethrozystoskop auf der Grundlage der Bozzini-Instrumente vorstellte. Abbildung 3 präsentiert dieses neuartige Gerät, das aus 2 Röhren, 2 Spiegeln und 2 Kerzen bestand. Der an den Harnröhrentubus angrenzende konische Spiegel war nur 3,5 cm hoch. Der augennah platzierte Spiegel war konkav und reflektierte das Licht der zwischen den Spiegeln platzierten Kerzen in Richtung des konischen Spiegels und damit in die Harnröhre. Jean Antoine Desormeaux verbesserte 1843 entscheidend die Qualität der Endoskopie durch Einführung der Gasogenlampe. Gasogen ist ein Gemisch aus 96%-igem Alkohol und Terpentinegeist in einem Verhältnis von 4:1.

1879 dann die Revolution in Sachen Endoskopie: Thomas Alva Edison erfindet die Glühlampe, es beginnt die

Ära der Elektroendoskopie. Die Lichtintensität wurde nochmals erheblich gesteigert. Einer der Vorreiter dieser Zeit war Maximilian Karl Friedrich Nitze aus Berlin. Auch er gehörte zu der Ära der urologisch tätigen Endoskopiker, die die Endoskopie dieser Zeit bestimmten.

Nitze führte als Erster im Jahre 1894 die sog. Photoendoskopie durch. Somit wurde Gesehenes reproduzierbar, was einen erheblichen Fortschritt in der Ausbildung des Endoskopikers mit sich brachte. Nitze war es auch, der als Erster eine Gastroskopie durchführte. Er verlängerte hierzu sein Zystoskop um einige Zentimeter und führte dieses Instrument starr bis in den Magen vor.

Das 20. Jahrhundert begann wiederum mit einem Meilenstein der Endoskopie: Georg Kelling aus Hamburg beschrieb im Jahre 1901 erstmals den Aufbau eines Pneumoperitoneums, also die Möglichkeit der Entfaltung von präformierten Körperhöhlen. Er benutzte hierzu die sog. Lufttamponade, d. h. den Aufbau des Pneumoperitoneums mit filtrierter Luft. Sein Patient: Ein Hund. Diese Technik wurde im Jahre 1924 erheblich verbessert. Zollikofer (Schweiz) setzte erstmals CO<sub>2</sub> zum Aufbau des Pneumoperitoneums ein.

Im Jahre 1905 wurde in Lübeck die erste Frauenklinik gegründet, es war die Klinik der Schlegelstiftung, welche am Pferdemarkt entstand.

Im Jahre 1912 begann die Ära der endoskopisch tätigen Internisten. Sie begann mit der Beschreibung der ersten therapeutischen Laparoskopie durch Hans Christian Jacobeus (Stockholm). Er führte 14 Laparoskopien bei Patienten mit einem Aszites durch. Jacobeus prägte auch den Begriff Laparoskopie, der zuvor und auch danach synonym für die Begriffe Coelioskopie, Ventroskopie und Splanchnoskopie gebraucht wurde. Jacobeus' Bemühungen wurden durch Hans Kalk aus Berlin und John Radock aus Los Angeles zwischen den beiden Weltkriegen bis in den zweiten Weltkrieg hinein

fortgesetzt. Beide beschäftigten sich insbesondere mit den Oberbauchorganen, punktierten die Leber und entwickelten neue endoskopische Instrumente, die dem heutigen Standard schon sehr nahe kamen.

Erst 1942 begann die Geschichte der gynäkologischen Endoskopie. Albert Decker (New York) führte die sog. Culdoskopie in Knie-Ellenbogenlage durch. Hierzu wurde ein Trokar mit einer Optik durch den Cul-de-sac, also den Douglas'schen Raum in das kleine Becken eingeführt.

Decker führte diese Eingriffe nur zu diagnostischen Zwecken durch, diese Technik der Culdoskopie wurde in den Vereinigten Staaten jedoch bis in die Siebziger Jahre favorisiert.

1942, also auf der Höhe des Wirkens von Kalk und Ruddock, wurde Lübeck durch nur einen Luftangriff in der Palmsonntagnacht erheblich getroffen. 20 % der Altstadtfläche wurden zerstört, hierunter der Dom, die Petrikerche und die Marienkerche, 300 Menschen starben. Die Abbildung 4 zeigt die brennende Marienkerche.

Noch während der Kriegswirren führte Raoul Palmer aus Paris 1944 als erster Gynäkologe die Endoskopie in Europa ein. Er führte die Culdoskopie in sog. Lithotomieposition durch, d. h. die Patienten lagen auf dem Rücken und wurden kopftief gelagert. Dies ist die La-

gerung, die wir auch heute zur Durchführung der Endoskopie vornehmen; die Optik wurde jedoch anders als heute durch das hintere Scheidengewölbe in den Douglas'schen Raum platziert. Palmer operierte mit seiner Frau zunächst in Lokalanästhesie, erst ab 1952 in Vollnarkose und er führte als Erster therapeutische gynäkologische Eingriffe durch, u. a. insbesondere Sterilisationen, später sogar Follikelpunktionen.

Im Nachkriegsdeutschland berichtete Antonowitsch 1950 auf der Norddeutschen Gesellschaft zu Lübeck über 150 durchgeführte Culdoskopien. Die Indikationen für diese Eingriffe ähnelten den heutigen sehr, es handelte sich z. B. um die Therapie der Extrauterin gravidität, der Endometriose, um Sterilitätsdiagnostik bzw. um Eingriffe bei genitaler Tuberkulose, eine Indikation, die heute gänzlich aus unserem operativen Spektrum verschwunden ist. Weitere deutsche Pioniere der Endoskopie in der Nachkriegszeit waren Klaus Thomsen aus Hamburg und Hans Frangenheim aus Konstanz. Frangenheim haben wir insbesondere die Einführung der Elektrokoagulation, zunächst 1950 monopolar und 1972 bipolar zu verdanken.

Im Jahre 1960 wieder ein Meilenstein in der Geschichte der Endoskopie: Karl Storz aus Tuttlingen erfindet die Kaltlichtquelle. Erstmals ist es möglich, Licht über lichtleitende Glasfasern fortzuleiten, was die Qualität des Lichtes nochmals erheblich steigert. Zum Zeit-



Abb. 4: Graßmann A. *Lübeckische Geschichte*. 1997, Verlag Schmidt-Römhild, Lübeck

**Fraxiparin® 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0**

Wirkstoff: Nadroparin-Calcium. **Zusammen-**

**setzung:** 0,2 ml/0,3 ml/0,4 ml/0,6 ml/0,8 ml/

1,0 ml Injektionslösung enthalten: 1.900/2.850/

3.800/5.700/7.600/9.500 I.E. AXa Nadroparin-

Calcium (entsprechend 95-130 I.E. AXa/mg).

**Sonstige Bestandteile:** Calciumhydroxid/Salzsäure

10 % (zur pH-Einstellung), Wasser für Injektions-

zwecke. **Anwendungsgebiete:** Perioperative Throm-

boseprophylaxe: a) Peri- und postoperative Primär-

prophylaxe tiefer Venenthrombosen bei Patienten mit

niedrigem oder mittlerem thromboembolischem Risiko

(z.B. Allgemeinchirurgie). b) Peri- und postoperative

Primärprophylaxe tiefer Venenthrombosen bei Patienten

mit hohem thromboembolischem Risiko (z. B. orthopä-

dische Chirurgie, wie z. B. Hüftersatzchirurgie). Therapie

tiefer Venenthrombose. Thromboseprophylaxe und Ge-

rinnungshemmung bei extrakorporalem Kreislauf

während der Hämodialyse und Hämofiltration. **Gegen-**

**anzeigen:** Über-

empfindlichkeit

gegen Nadro-

parin-Calcium

und/oder Heparin, aktuelle oder aus der Anamnese be-

kannte heparinassoziierte Thrombozytopenie (Typ II),

akute Magen-Darm-Geschwüre, zerebrale Blutungen und

zerebrales Aneurysma, schwere Gerinnungsstörungen

(hämorrhagische Diathese, Mangel an Gerinnungs-

faktoren, schwere Thrombozytopenie), schwerer unkon-

trollierbarer Bluthochdruck, schwere Beeinträchtigung

der Leberfunktion, schwere Beeinträchtigung der

Nierenfunktion bei Patienten, die nicht wegen

Hämodialyse behandelt werden, akute infektiöse

Endokarditis, Verletzungen und operative Eingriffe am

Zentralnervensystem sowie am Auge und Ohr, intra-

okulare Blutungen oder andere aktive Blutungsprozesse,

Retinopathien, Glaskörperblutungen, Abortus immi-

nens, bei der Behandlung von tiefer Venenthrombose:

Regionalanästhesie. **Nebenwirkungen:** Bei etwa 3 %

der prophylaktisch behandelten Patienten traten Neben-

wirkungen auf. Häufig (> 1 %): Allgemein: Subkutane

Hämatome an der Injektionsstelle. Offene oder ver-

steckte Blutungskomplikationen (insbesondere an Haut,

Schleimhäuten, Wunden sowie im Bereich des

Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes). Anstieg der

Serum-Kalium-Konzentration. Anstieg der Aminotrans-

ferase-, Gamma-GT-, LDH- und Lipase-Konzentration.

Gelegentlich (> 0,1 % und < 1 %): Leichte, vorüber-

gehende Thrombozytopenie (Typ I). Selten (< 0,1 %): All-

gemein: allergische Reaktionen mit Symptomen wie

Übelkeit, Erbrechen, Temperaturanstieg, Kopfschmer-

zen, Urtikaria, Pruritus, Dyspnoe, Bronchospasmen,

Blutdruckabfall; Hautnekrosen an der Injektionsstelle,

anaphylaktoide Reaktionen, anaphylaktischer Schock,

vorübergehender Haarausfall, Antikörper-vermittelte

schwere Thrombozytopenie (Typ II). Endokrines System:

reversibler Hypoaldosteronismus. Leber: Transaminasen-

anstieg auf das 3- bis 5fache des Normalwertes, nor-

malerweise vorübergehend. Fälle von Priapismus wur-

den berichtet. Fälle von schweren unerwünschten

Arzneimittelwirkungen, wie z.B. intrakranielle Blutungen

und Augenblutungen, wurden ebenfalls berichtet.

Peridurale Blutungen im Lumbalbereich nach Katheter-

Spinalanästhesie, die zu Paraplegie führten, wurden

beobachtet. **Hinweis:** Kontrollen der Thrombozytenzahl

sollten regelmäßig durchgeführt werden (siehe

Gebrauchsinformation). Verschreibungspflichtig.

Sanofi~Synthelabo GmbH, 10898 Berlin

**Packungsgrößen:** Packungen mit 10 Fertigspritzen

(N1) für Fraxiparin 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; Packungen

mit 20 Fertigspritzen (N2) für Fraxiparin 0,3; 0,6; 0,8;

Klinikpackungen. Stand: April 2000.

**sanofi~synthelabo**

empfindlichkeit  
gegen Nadro-  
parin-Calcium



GRÜNER  
WIRD 'S  
NICHT!

## Das fortschrittliche Leistungsspektrum

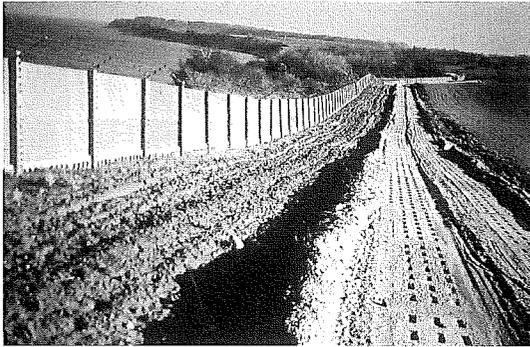
- Postoperative Thromboembolieprophylaxe in allen Risikobereichen
- Stationäre und ambulante Therapie der tiefen Venenthrombose
- Gerinnungshemmung bei Hämodialyse und Hämofiltration
- Einfache Dosierentscheidung nach klaren Kriterien
- Innovative Sicherheitsspritze für einfache und sichere Anwendung

**Fraxiparin®**

Das Menschenmögliche

punkt der Erfindung Storz's wird im Jahre 1961 in Berlin die Mauer errichtet.

Der Mauerbau hatte natürlich auch Auswirkungen auf Lübeck, auch hier entstehen unüberwindbare Grenzanlagen. Die Abbildung 5 zeigt eine Grenzanlage mit dem angrenzenden sog. Todestreifen in Lübeck-Schlutup. Dieses Areal wurde nach dem Fall der Mauer zu einem heute sehr gehegten Naturschutzgebiet ausgebaut.



1983 dann der endgültige Durchbruch in der Endoskopie: Es beginnt die Ära der Videoendoskopie. Welch Allyn Incorporated brachte das von Bell Laboratories konstruierte CCD (charge coupled device) an ein Videoendoskop an; das Bild konnte nun auf einem Monitor verfolgt werden. Die Ära der monookulären Betrachtung des Situs war vorüber, die Teamarbeit begann, die Ausbildungssituation wurde beträchtlich verbessert.

Diese Verbesserung der Bildübertragung von der Optik über eine Kamera auf einen Monitor revolutionierte die Endoskopie und trug zur gegenwärtigen Vielfalt der Indikationen bei.

Vor der Erörterung der Gegenwart sollen jedoch noch einige Pioniere der Vergangenheit geehrt werden: 1938 beschrieb Janos Veress aus Budapest die gleichnamige Insufflationsnadel. 1977 wurde die Medienwelt auf die Endoskopie gelenkt: Patrick Steptoe und Robert Edwards gelingt nach 3000 Laparoskopien erstmals eine erfolgreiche In-vitro-Fertilisation mit der Geburt von Luise Brown. Kurt Semm schließlich, ein Pionier der Gegenwart, beschrieb zahlreiche Nahtmaterialien, verbesserte das Instrumentarium beträchtlich und führte erstmals die endoskopische Appendektomie durch.

Im Jahre 1989 darf ein weiterer Durchbruch, diesmal in Lübeck, nicht unerwähnt bleiben. Die Mauer fällt, die Grenzen werden geöffnet.

Neben der Erfindung der Videoendoskopie trug die Einführung zahlreicher technischer Innovationen zum Bild der Gegenwart bei. Zu nennen wären hier insbesondere verbesserte und verkleinerte Instrumente, neue

Schneidegeräte, neue Koagulationssysteme; die Einführung des 3D-Bildes, die Einführung der gaslosen Laparoskopie, aber auch die Einführung von automatisierten, sprachgesteuerten Halteinstrumenten.

In der gynäkologischen Endoskopie der Gegenwart ist nahezu alles möglich. Durchgeführt werden Eingriffe am Uterus, an den Tuben, am Ovar, Eingriffe zur Behandlung der Endometriose aber auch ausgeprägte onkologische Eingriffe. So beschrieb Querleu 1991 erstmals die pelvine Lymphonodektomie, Childers 1993 die paraaortale Lymphonodektomie.

Heute konkurriert die laparoskopische radikale vaginale Hysterektomie experimentell mit der Wertheim-Meigs'schen Operation zur Behandlung des Zervixkarzinoms. Gegenwärtig werden endoskopische Eingriffe bereits in der Praenatalperiode im Sinne der Fetoskopy durchgeführt. Abgerundet werden die endoskopischen Techniken durch den Einsatz zahlreicher hysteroskopischer Techniken.

Diese Vielfalt der Indikationen erklärt jedoch das Problem der Gegenwart. Heute stehen nicht die technischen Innovationen, sondern die Interaktionen der endoskopisch tätigen Operateure im Vordergrund. Als größte Probleme der Gegenwart wären insbesondere zu nennen:

- eine Vielzahl von zum Teil nicht nachvollziehbaren Indikationen
- eine Vielzahl von nicht standardisierten Operationstechniken,
- eine zum Teil mangelhafte Ausbildungssituation der endoskopisch tätigen Operateure und
- insbesondere eine mangelnde Konsensbereitschaft der endoskopisch und offen chirurgisch tätigen Operateure.

Diese Probleme implizieren die Gefahr des unkritischen Gebrauchs der Technik, was leider auch durch Zahlen belegbar ist: So wird z. B. über einen hohen Anteil von operierten funktionellen Zysten (70 %), Zysten also, die sich innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 3 Monaten in 90 % der Fälle spontan zurückbilden, berichtet (Hesseling und de Wilde 1994). Eine Indikation zur Operation dieser Ovarialzysten besteht nur bei Beschwerden der Patientinnen. Ängste ob des unkritischen Gebrauchs der Technik wurden durch eine Publikation aus dem Jahre 1995 geschürt: Kindermann befragte 270 deutsche Kliniken und stellte fest, dass das Anoperieren von Ovarialkarzinomen mit Nachteilen für die Patientinnen verbunden sein kann, eine Zeitspanne von 7 Tagen zwischen der primären endoskopischen Operation und der Komplettierung des Eingriffes per laparotomiam vorausgesetzt. Als Nachteile wurden die Ausbildung von Stichkanalmetastasen und eine Progression der Erkrankung beschrieben.

Genährt wurde diese Befürchtung durch einige experimentelle Daten, welche die Verstärkung dieses Effektes durch den Einsatz des zum Aufbau des Pneumoperitoneums eingesetzten CO<sub>2</sub> am Tiermodell beschrieben. Ob diese zweifelsohne beunruhigenden Daten tatsächlich zu einer Prognoseverschlechterung führen, kann derzeit nicht abschließend beurteilt werden. Zwar deuten einige Ergebnisse aus der offenen Chirurgie darauf hin, dass eine Eröffnung des Tumors zu keiner Prognoseverschlechterung führe; diese Daten wurden bis dato aber durch keine Ergebnisse aus der Endoskopie verifiziert.

Die Befürchtung ob des unkritischen Gebrauchs der Technik wird auch im Rahmen der endoskopischen Hysterektomie evident. Die Indikationen für solche Eingriffe sind wenig nachvollziehbar. So bilden z. B. Blutungsanomalien in 1,9 % (Liu 1992) bis 37% (Malik et al. 1997) der Fälle, Schmerzen und Adhäsionen in 0 % (Malik et al. 1997) bis 65,1% (Liu 1992), Schmerzen und Blutungsanomalien in 0% (Liu 1992) bis 40,9% (Nezhat et al. 1995), Myome in 7,7% (Nezhat et al. 1995) bis 56,3% (Liu 1992) sowie Endometriose in 0% (Nezhat et al. 1995) bis 43,7% (Liu 1992) der Fälle die Indikation für eine Hysterektomie. Ein Zusammenhang ist keinesfalls erkennbar. Hinzu kommen die Probleme bei der Bewertung der Ergebnisse der endoskopischen Hysterektomien, die u. a. durch die Inhomogenität in der Durchführung und Bezeichnung des Eingriffes begründet sind.

1989 beschrieb Reich als Erster eine endoskopische Hysterektomie, ihm folgten zahlreiche andere Endoskopiker, die allesamt eine eigene Technik mit einem eigenen Klassifikationssystem beschrieben (Bruhat et al. 1992; Munro et Parker 1993; Garry et al. 1994; Johns et Diamond 1994).

Ein weiteres großes Problem in der Endoskopie der Gegenwart stellen die schweren Komplikationen dar. Hier seien, stellvertretend für viele andere endoskopische Eingriffe, die Komplikationen nach endoskopischen Hysterektomien im Vergleich zu den konventionellen vaginalen/abdominalen Hysterektomien zu nennen. Die Rate an urogenitalen Fisteln, Blasenläsionen und Ureterverletzungen ist nach endoskopisch durchgeführten Hysterektomien deutlich erhöht, was insbesondere auf eine höhere Komplikationsrate in der Anfangsphase der Anwendung der Technik zurückzuführen ist. Dies deutet auf eine unbefriedigende Ausbildungssituation hin, deren Verbesserung sollte somit zu einer zentralen Forderung der Gegenwart werden. Darüber hinaus ist eine Vereinheitlichung der Technik, eine Langzeitbeobachtung der Komplikationen und die Befolgung von Qualitätskontrollen sowie eindeutige Definitionen der Indikationen zu fordern.

Eine erhöhte Konsensbereitschaft der beteiligten Mediziner sollte in den Mittelpunkt der Gegenwartsbewältigung rücken. Semm sagte 1994 in einem Interview, nachdem er die Durchführung einer neuen Technik zur Entfernung von Myomen vorstellte: „Die Gynäkologen waren immer gegen mich. Einmal stellte ich die Myomektomie vor. Jemand zog den Stecker aus dem Diaprojektor und sagte: ‚Wir sind Wissenschaftler, merken Sie sich das‘.“

Nur wenn wir es schaffen, die Kommunikation erheblich zu verbessern, sind wir den Aufgaben der Zukunft gewachsen, einer Zukunft, deren Richtung wir nicht exakt kennen (Abb. 6).

Ganz gewiss jedoch wird der Computer im Mittelpunkt des Interesses liegen. Dies wird zumindest zum Einsatz von automatischen Assistenten, möglicherweise eines automatischen OP-Teams, ganz sicherlich zum Einsatz der Telemedizin und auch der Simulationen von Eingriffen führen. Gerade in der Simulation von Eingriffen sehe ich jedoch eine große Chance der Zukunft. Auf diesem Wege könnte die Ausbildungssituation des endoskopisch tätigen Chirurgen deutlich verbessert werden.

Nur wenn wir es schaffen, den Menschen in den Mittelpunkt dieser computergestützten Technologie zu set-

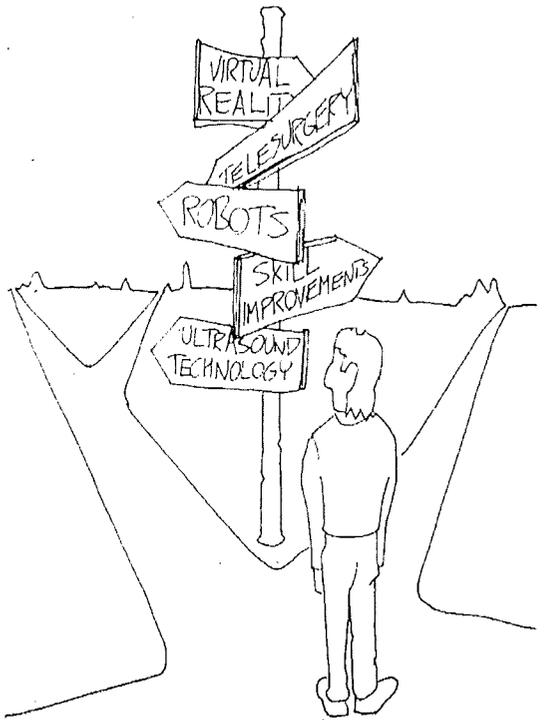


Abb. 6: Lytinsky GS. Highlights in the history of laparoscopy. 1996, B. Bernert Verlag, Frankfurt

zen, wird uns die Vision eines rein computerbeherrschten OPs noch langer erspart bleiben.

## Literatur

1. Bruhat MA, Mage G, Pouly JL, Manhes H, Canis M, Wattiez A. (1992) Laparoscopic hysterectomy in operative laparoscopy. McGraw Hill, New York
2. Childers JM, Hatch K, Tran A, Surwit EA. (1993) Laparoscopic para-aortic lymphadenectomy in gynecologic malignancies. Obstet Gynecol, 83: 741-747
3. Garry R, Reich H, Liu CY (1994). Laparoscopic hysterectomy – definitions and indications. Gynaecol Endosc, 3: 1
4. Hesselting M, de Wilde RL (1994). Sicherheit und Effizienz des endochirurgischen Managements benigner Adnextumoren in der Prämenopause: Eine prospektive Studie. Geburtsh Frauenheilk, 54: 437-439
5. Johns DA, Diamond MP (1994). Laparoscopically assisted vaginal hysterectomy. J Reprod Med, 39: 424-428
6. Liu CY (1992). Laparoscopic hysterectomy: Report of 215 cases. Gynecol Endoscopy, 2: 73
7. Malik E, Schmidt M, Scheidel P (1997): Komplikationen nach 106 laparoskopischen Hysterektomien, Zentralbl Gynäkol, 119: 611-615
8. Munro M, Parker W (1993). Classification of laparoscopic hysterectomy. Obstet Gynecol, 82: 624-629
9. Nezhat F, Nezhat CH, Admon D, Gordon S, Nezhat C (1995). Complications and results of 361 hysterectomies performed at laparoscopy. J Am Coll Surg, 180: 307-316
10. Querleu D, Leblanc E, Castelain B (1991). Laparoscopic pelvic lymphadenectomy. Am J Obstet Gynecol, 164: 579-581
11. Reich H, deCaprio J, Mc Flynn F (1989). Laparoscopic hysterectomy. J Gynecol Surg, 5: 213

## Themen der Kinderheilkunde Band 12

# „Drogen bei Kindern und Jugendlichen“

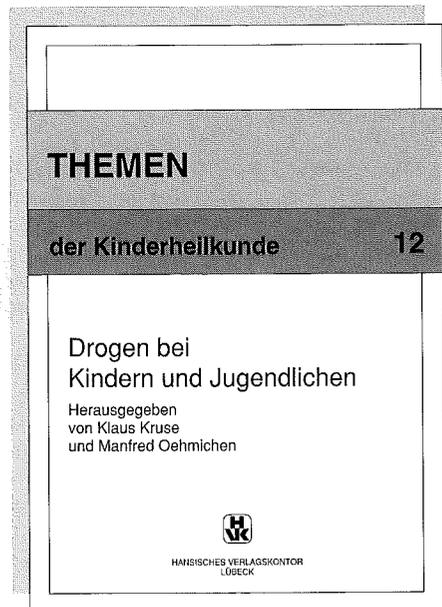
hrsg. von Klaus Kruse und Manfred Oehmichen

Die Zahl der Rauschgifttoten hat in den letzten Jahrzehnten in der westlichen Welt beängstigend zugenommen. Der Drogengenuß selbst gaukelt Leichtfertigkeit und Freiheit, Träume von schöneren Welten oder erhöhte Leistungsfähigkeit vor. Eine therapeutische Einflußnahme nach Beginn der Abhängigkeit erwies sich bisher durchgängig als äußerst schwierig. Der langfristige Schutz gegen Sucht und Drogen sind seelisch ausgeglichene, selbstbewußte Kinder, die sich zu selbständigen und kritikfähigen Jugendlichen und Erwachsenen entwickeln.

ISBN 3-87302-090-4 • 90 Seiten

Preis DM 24,80

**Im Buchhandel erhältlich oder  
zu beziehen über:  
Hansisches Verlagskontor  
Mengstraße 16  
23552 Lübeck**



# Revolutionen der Menschheitsgeschichte – Die anthropologische Dimension weltrevolutionärer Umbrüche<sup>1</sup>

D. Groh

## Einleitung

Revolutionen der Menschheitsgeschichte nenne ich solche, die tiefgehende Transformationsprozesse einleiteten und vollendeten. Und dies nicht nur in anthropologischer Hinsicht, sondern auch in Bezug auf die äußere Natur. Ich werde im Folgenden revolutionäre Umbrüche in der Geschichte unserer Gattung skizzieren, die diese Charakteristika erfüllen: Einmal die Neolithische Revolution und dann den revolutionären Umbruch, der unsere moderne Welt hervorbrachte. Letzterer gliedert sich in mehrere Etappen, deren Zusammenhang sich jedoch erst spät realisierte und noch später als solcher wahrgenommen wurde. Diese Etappen sind die Wissenschaftliche Revolution von ca. 1600 bis 1750, die großen politisch-gesellschaftlichen Revolutionen des 18. und beginnenden 19. Jahrhunderts, die Industrielle Revolution von ca. 1750 bis 1850. Sie alle kumulieren in einem Phänomen, das Reinhart Koselleck „Sattelzeit“ und Karl Polanyi „Great Transformation“ genannt hat und deren Kernzeit wohl die Periode zwischen 1750 und 1850 bildet.

Abgesehen von den gesellschaftlich-politischen Revolutionen des 18. Jahrhunderts, die ich nicht behandeln werde, sind diese revolutionären Umbrüche Revolutionen ohne Subjekte, d. h. solche, die niemand intentional gewollt hat und von denen die Menschen, die sie erlebten, nicht wussten, dass sie sich in einer Epoche befanden, die wir uns erst spät angewöhnt haben, „revolutionär“ zu nennen.

Die politischen Revolutionen bis ins 18. Jahrhundert und auch noch viele ihrer Nachfolgerevolutionen waren Ereignisse, „événements“, deren Wirkung sich auf die Oberfläche der Geschichte beschränkte. Zu ihnen gehören etwa der Deutsche Bauernkrieg von 1525, die englische „Glorious Revolution“ von 1688, die revolutionären Ereignisse von 1830, die Jahre 1848/49, die deutsche Revolution der Jahre 1918/19 und viele andere mehr. Um die Begrifflichkeit von Fernand Braudel

und der Gruppe um die „Annales“, die ich eben schon andeutete, aufzunehmen, fallen die großen politisch-gesellschaftlichen Revolutionen des 18. Jahrhunderts sowie die des 20. Jahrhunderts, wie die Russische und Chinesische, wohl unter den Begriff der „conjonctures“; die von mir in diesem Vortrag behandelten Revolutionen jedoch sind Prozesse, welche wohl unter die „longue durée“ fallen, nicht zuletzt deshalb, weil sie auch unser geographisch-natürliches Umfeld stark veränderten.

Handelt es sich bei solchen anthropologisch tiefgehenden Umbrüchen überhaupt um Revolutionen? Handelt es sich z. B. bei der Neolithischen Revolution nicht um einen Prozess, der mehrere tausend, ja bis zu sieben-tausend Jahre dauerte? Was bleibt da von Arnold Gehlens Definition, Revolutionen seien Umwälzungen der Sozialordnung mittels Handfeuerwaffen? Um diese Fragen zu beantworten, erlauben Sie mir einen kurzen Exkurs zur Geschichte des Revolutionsbegriffs. Er hat ursprünglich eher mit Umdrehungen als mit Umwälzungen zu tun und nahm den Inhalt, den wir heute mit ihm verbinden, nämlich eine Umwälzung, die einen neuen Anfang setzt, erst in der zweiten Hälfte des 18. Jahrhunderts und zu Beginn des 19. Jahrhunderts an. Damals begann man unter dem Eindruck der großen politischen Revolutionen gerade solche Ereignisse, die strukturelle Veränderungen – ob im Bereich der Ökonomie, Gesellschaft oder Politik oder in allen zusammen – heraufführten und damit einen Neuanfang bedeuteten, Revolutionen zu nennen. Der Revolutionsbegriff verlor damit seine letzten Konnotationen mit dem Umschwung der Himmelskörper, mit der immerwährenden Wiederkehr des Gleichen, und wurde in etwa chronologisch parallel mit dem Zeitbegriff zu einem linearen. Die Zeitgenossen der Spätaufklärung und der Amerikanischen und Französischen Revolutionen formulierten dann aus ihrer Erkenntnis, dass sie politische Revolutionen neuen Typs erlebten, die ersten Ansätze für ein Begreifen der wissenschaftlichen Umwälzungen seit dem Erscheinen von Nikolaus Kopernikus' „De revolutionibus orbium caelestium“ im Jahre 1543. Sie sprachen von einer Revolution, die Kopernikus, Galilei, Newton heraufgeführt haben.

<sup>1</sup> Prof. Dr. phil. Dieter Groh, Historiker aus Konstanz, hielt den hier leicht gekürzt veröffentlichten Vortrag am 18. November 1999 zum Auftakt der Themenreihe „Revolution“ im Studium generale der Medizinischen Universität zu Lübeck.

1827 taucht zum ersten Mal der Begriff „Industrielle Revolution“ auf, der dann Ende des Jahrhunderts auch in einem Buchtitel über die englische Industrielle Revolution erscheint. Der Terminus Wissenschaftliche Revolution setzte sich seit den 30er Jahren unseres Jahrhunderts mit den Schriften von Alexandre Koyré und Herbert Butterfield durch. John Bernal veröffentlichte 1954 ein Buch mit dem Titel „The Scientific and Industrial Revolutions“. Von der nun einsetzenden Revolutionsrhetorik zeugen Eric Hobsbawm, der 1969 von der Industriellen Revolution als „the most fundamental transformation of human life in the history of the world recorded in written documents“ sprach, und der Sozialhistoriker Carlo Cipolla, der die Industrielle Revolution eine „revolution without precedent in the history of mankind except perhaps the Neolithic Revolution“ nannte. Und letztere? Sie erscheint als Begriff wohl zum ersten Mal 1936 in dem Buch des englischen Prähistorikers Gordon Childe, dessen Titel das marxistische Fortschrittsparadox seines Verfassers exakt wiedergibt: „Man makes himself“.

### Die Neolithische Revolution

Um Revolutionen zu verstehen, muss man wissen, was ihnen vorausging und auf welche Bedürfnisse, welcher Art auch immer, sie antworteten. Das gilt auch für die Revolution in der jüngeren Steinzeit, die vor ca. 12.000 Jahren einsetzte und die man kurz als Übergang zur Sesshaftigkeit, zur Hegung und schließlich Züchtung von Pflanzen und Tieren charakterisieren kann.

Die Forschung hat bereits seit längerer Zeit die Vorstellung, unsere Jäger-Sammler-Vorfahren hätten ihr Leben am unteren Rand des Existenzminimums gefristet, vom

ersten Tageslicht bis in die Nacht hinein Tieren nachgejagt und Früchte und Knollen gesammelt, ohne für Dinge jenseits der Befriedigung der täglichen Notdurft auch nur die geringste Zeit übrig zu haben, revidiert. Ein Aufsatz von Marshall Sahlins von 1968, der die Jäger-Sammler-Gesellschaften als erste Überflusssgesellschaften bezeichnete, war ein Signal für den Abschied von modernisierungstheoretischen Vorstellungen, die lange genug auch die ethnologische Forschung beherrscht hatten. Die Ökonomie unserer Vorfahren wurde gesteuert von dem Imperativ der Risikominimierung oder der Ruinvermeidung (Abb. 1). Aus dem Überlebensimperativ sämtlicher Subsistenzökonomien bis in die Neuzeit hinein lassen sich zwanglos zwei andere Kategorien ableiten: die der Unternutzung von Ressourcen und die Mußpräferenz (Abb. 2). Alle drei hängen zusammen wie ein Regelsystem, denn die Unternutzung oder die Unterproduktivität einer ökologischen Nische in Bezug auf ihre Carrying-Capacity oder Tragfähigkeit bot einen Puffer bei einer Verschlechterung der Bedingungen, was auf Risikominimierung hinauslief. Andererseits ermöglichte diese Unternutzung auch eine Auswahl der jeweils nach dem Gesichtspunkt des Aufwands günstigsten Ressourcen, kurz die Annäherung an eine optimale Input (Arbeit) – Output (Ertrag) – Ratio. Die aufzuwendende Zeit betrug im Verhältnis zu Ackerbaugesellschaften und auch zu unserer heutigen Gesellschaft lediglich einen Bruchteil, was wiederum die Mußpräferenz ermöglichte, die mit der Unternutzung systematisch verbunden war (Abb. 3). In der – nach unseren Maßstäben – freien Zeit fand innerhalb der Gruppe, des Stammes und auch über den Stamm hinaus eine rege Kommunikation statt: Feste wurden gefeiert, Rituale zelebriert, Besuche gemacht, Güter getauscht.

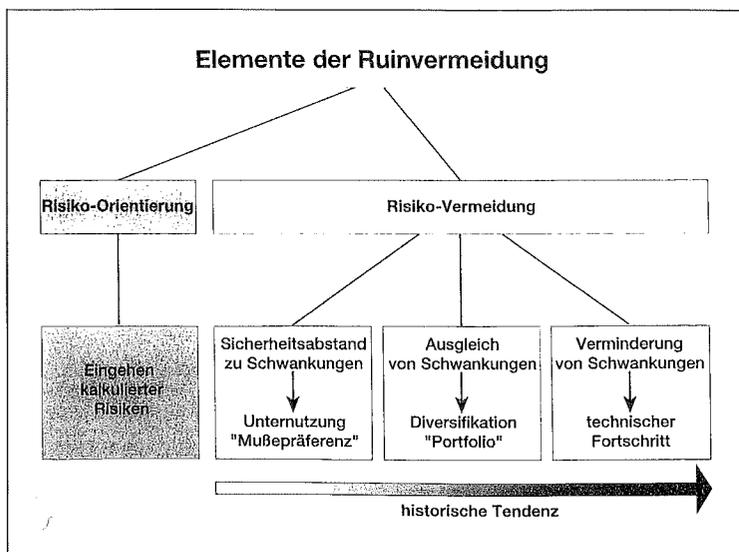


Abb. 1: Elemente der Ruinvermeidung: In Subsistenzökonomien ist zum längerfristigen Überleben ein breites Spektrum unterschiedlicher Verhaltensmuster sinnvoll. Bei drohendem Mangel oder akuter Gefahr kann das Eingehen kalkulierter Risiken per saldo die Überlebenschancen steigern. Unter weniger extremen Bedingungen ist Risikovermeidung gewöhnlich die effizientere Strategie, wobei die Varianten „Unternutzung“ und „Portfoliobildung“ unterschieden werden können. Technischer Fortschritt hingegen versucht, auf den Umfang des Ressourcenflusses selbst Einfluss zu nehmen (nach Siefeler – Müller-Herold 1996).

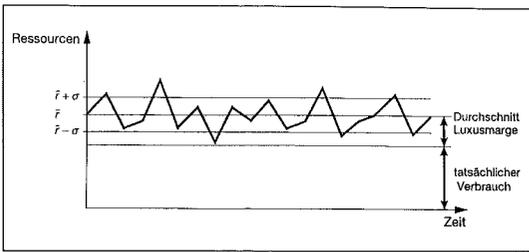


Abb. 2: Unternutzung: Durch Bevölkerungsbeschränkung ist der Bedarf an einer Ressource so niedrig, dass auch bei großen Schwankungen nach unten – etwa in solchen, die größer sind als die Standardabweichung  $\sigma$  – das Existenzminimum noch gewährleistet ist. Im Durchschnitt jedoch steht die Ressource in einer Menge zur Verfügung, die den tatsächlichen Verbrauch um eine Luxusmarge übersteigt ( nach Sieferle – Müller-Herold 1996).

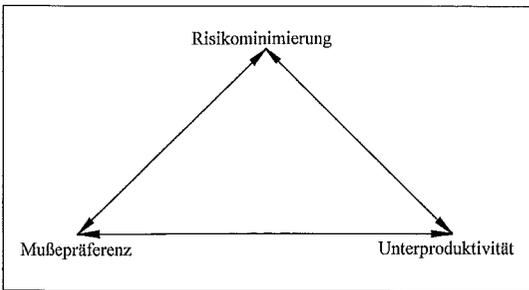


Abb. 3: Die zentralen Kategorien von Subsistenzökonomien: Risiko- und Ruinvermeidung, Mußpräferenz, Unternutzung und Unterproduktivität.

All dies festigte die Integration und Kohäsion der Familien und der Gruppen untereinander, die durch ständige Kommunikation und Tauschbeziehungen an einem Netz gegenseitiger Hilfe wirkten. Tauschbeziehungen erreichten zuweilen eine solche Intensität, dass ein amerikanischer Ethnologe, ohne auf Kritik zu stoßen, einen vielzitierten Aufsatz überschreiben konnte „Nobody eats his own pigs“. Solche Beziehungen kann man die soziale Seite der Risikominimierung nennen, wozu auch die oft sehr komplizierten Verwandtschaftssysteme zu zählen sind. Abgesehen von diesen Risiko- und Ruinvermeidungsstrategien gibt es noch die Diversifikation oder, modern gesprochen, die Portfoliobildung. Sie lässt sich vor allem in solchen Gruppen nachweisen, die in einer Mischform zwischen einem „primitiven“ Ackerbau, auch Schwendbau, Brandrodungskultur genannt, und der Jäger-Sammler-Tätigkeit leben, ohne dass man sagen könnte, sie befänden sich in einem Übergangsstadium. Sie diversifizieren die von ihnen angebauten Feldfrüchte in einer Weise, die dem spieltheoretisch errechneten Optimum ziemlich nahe kommt. Aber auch

reine Jäger-Sammler-Kulturen und Hirtenkulturen kennen diese Diversifizierungsstrategie, ob es nun um horizontale, regionale, um die Differenz zwischen Meeres- und Landressourcen geht, immer trifft man auf diese Untergruppe der Risikominimierungsstrategie.

Lawrence Slobodkin und Anatol Rapoport haben 1974 unter dem Titel „Eine optimale Strategie der Evolution“ einen Aufsatz veröffentlicht, den ich als Bestätigung meines Modells von Subsistenzökonomien betrachte. Ihr Argumentationsgang ist, reichlich verkürzt und grob skizziert, folgender: Risikominimierungsstrategie bedeutet auf Gattungs- oder Populationsebene die Minimierung des Risikos auszusterben. Spieltheoretisch formuliert handelt es sich um ein Ein-Personen-Spiel (gleich Gattung oder Population) gegen die Natur nach dem Vorbild des „Game of Ruin“. In diesem Spiel sehen die Regeln vor, dass keine Auszahlung erfolgt und die Gewinne stets reinvestiert werden, d. h. Gewinne im eigentlichen Sinn gibt es nicht. Die optimale Strategie ist diejenige, die die Dauer des gesamten Spiels, also das Überleben maximiert. Diese Strategie ist identisch mit einer Maximierungsstrategie, der zufolge das Risiko in jedem einzelnen Spiel minimiert werden muss:

Ein Spieler, dem es darum zu tun ist, die Wahrscheinlichkeit seines Ruins in unmittelbarer Zukunft zu minimieren, hat nur eine gute Strategie zur Verfügung. Da er das Glück, Ziel und Chancen nicht kontrollieren kann, ist das einzige, was er vermag, seinen Einsatz in jedem Spiel so weit wie möglich zu minimieren.

Das gilt auch analog für die Evolution von Gattungen und Populationen. Wenn man eine derartige Risikominimierungsstrategie, eine optimale Strategie biologischer Evolution, auf menschliche Populationen übertragen könnte, dann wäre der Nachweis gelungen, dass subsistenzökonomische Risikominimierungsstrategien evolutionsgeschichtlich gesehen tiefliegende Strukturen sind. Wobei Evolution hier nicht nur die Evolution unserer Gattung, sondern auch die der gesamten, ihr vorgängigen und parallel mit ihr verlaufenden biologischen Evolution meint. Wenn dem so ist und unsere Vorfahren sich oft im Einklang mit ihrer Umwelt befanden, ja, über alles Lebensnotwendige verfügen konnten, wenn sie sich an die Risikominimierungs- oder Ruinvermeidungsstrategie hielten, wie kam es dann zur Austreibung aus dem Paradies, vulgo Neolithische Revolution?

Die ältere Forschung zur Erklärung dieser menschheitsgeschichtlichen Zäsur hatte vergeblich universale Modelle entworfen und im Rahmen dieser Bemühungen Übergangsformen, Zwischenstadien, „missing links“ entdeckt. Sie blieb aber grundsätzlich an einem Interpretationsmodell orientiert, das den Übergang zu Sesshaftigkeit, Ackerbau und Viehzucht als Fortschritt zu einer „höheren“ Form der Kultur begriff. Erst als

man die Lebensform der Jäger-Sammler-Kulturen historisch ernst nahm und unter ökologischen Gesichtspunkten als optimal erkannte, konnte man die richtige Frage stellen, nämlich die, welcher Grund oder welche Gründe denn als Ursache dafür in Frage kommen, eine optimale Lebensform aufzugeben. Logischerweise muss es sich um eine Krise gehandelt haben. Relativ schnell wurde eine weitgehende Einigung darüber erzielt, dass eine notwendige, wenn auch noch keine hinreichende Bedingung für die Neolithische Revolution die Erwärmung nach der letzten Eiszeit mit ihren Folgen für Klima, Vegetation und Wildbestand gewesen sein muss. Diese Veränderungen haben offenbar an einigen Stellen der Erde den Homo sapiens sapiens, der vor ca. 100.000 Jahren aufgetreten ist, zum ersten Mal mit einer Subsistenzkrise konfrontiert.

Die Forschungsdiskussion erhielt dann Mitte der sechziger Jahre von außen, von der Entwicklungsökonomie, neue Anstöße. Aber auch sie endete, sehe ich recht, in einer Sackgasse, was durch die Fragestellung vorprogrammiert war, ob nun die Bevölkerungszunahme, die sich im Bevölkerungsdruck auf die Nahrungsbasis umgesetzt habe, die Ursache für den Übergang zu Sesshaftigkeit, Ackerbau und Viehzucht gebildet hat. Die neuere theoretisch inspirierte und empirisch gut fundierte Forschung spricht von „*incipient agriculture*“ und dem „*point of no return*“ zu vormaligen Lebensformen, der während einer drei- bis sieben-tausendjährigen Evolution vom Jagen und Sammeln zu Ackerbau und Tierhaltung einmal erreicht worden ist. Bevölkerungsdruck mag dann die Ursache dafür gewesen sein, dass der „*point of no return*“ überschritten wurde, nicht aber die Ursache zur *Initiierung* des Prozesses, der schließlich zur Neolithischen Revolution geführt hat.

Wie hat man sich nun diesen Übergang konkret vorzustellen? Er beginnt vor ca. 12.000 Jahren im Gebiet des fruchtbaren Halbmondes (Naher Osten: Schwarzes Meer im NW, Kaspisches Meer im N, Persischer Golf im S, Rotes Meer im SW), in Peru und in Mexiko, erfasst in den folgenden Jahrtausenden meist durch Diffusion die gesamte Erde, wird aber erst in der zweiten Hälfte unseres Jahrhunderts global vollendet. Die Unterschiede zwischen Alter und Neuer Welt sind dabei erheblich. Im fruchtbaren Halbmond ging man ungefähr gleichzeitig zur Züchtung von Halmgetreide (Gerste, Weizen) und Gemüse (Blatt, Wurzel, Hülsenfrüchte) sowie von Tieren (Ziegen, Schweinen, Schafen, Rindern, Hühnern) über. In der Neuen Welt erfolgte der Übergang zu Garten- und Hackbau, da Zugtiere fehlten und auch die Urformen von Halmgetreide nicht vorhanden waren. Ferner gab es dort bedeutend weniger für die Domestizierung geeignete Tiere und Pflanzen. Letztere beschränkten sich auf Kürbis, Mais, Bohnen, Avocados, später Kartoffeln, Tomaten.

Bereits im Mesolithikum begann das Verschwinden der Megafauna und der Rückzug der Rentiere nach Norden, also eine Verschlechterung der Nahrungsbasis. Die spezialisierten Großwildjäger, die gewohnt waren, in Gruppen zu jagen, mussten sich anderen Jagdformen anpassen: an kleinere Tiere, eine breitere Variation der Tierarten und darüber hinaus an eine intensivere Sammeltätigkeit. Höchstwahrscheinlich liegt in der stärkeren Hinwendung zum Sammeln eine Ursache für die spätere Züchtung: Pflanzen nahmen in allen Kulturen, für die es aus dieser Periode Quellen gibt, einen größeren Teil an der Gesamtdiät ein als früher. Außerdem wurden Tiere gejagt, die sich dann später als zur Zucht geeignet herausstellten. Also: Allmählicher, nicht zielgerichteter Anpassungsprozess an die durch den Klimawandel veränderte Umwelt.

Die Erwärmung und Austrocknung förderte nicht nur Rückzug und Aussterben bisher gejagter Tiere und das Vordringen anderer, *kleinerer*, die an Wald und Trockensteppe angepasst waren, sondern auch Rückzug und Aussterben vieler Pflanzenarten zugunsten anderer, die in wärmeren und trockeneren Klimata besser gediehen. Wie sich später herausstellen sollte, waren sie auch besser hegbar und domestizierbar.

Ökologisch gesehen war die Nahrungsbasis der Jäger-Sammler-Gruppen nach der Krise, die höchstwahrscheinlich durch das Verschwinden der meisten Großsäuger ausgelöst worden war, sehr ausbalanciert, d. h. das Nahrungssystem war gegen Krisen weitgehend abgepuffert, da sehr variationsreich. Die Balance hatte sich hin zu den Pflanzen verschoben, die Zahl der gejagten Arten hatte sich vergrößert.

Am Anfang bedeutete das Pflegen von Pflanzen – Schützen vor konkurrierenden Pflanzen und vor Tieren – allein, dass sie leichter zugänglich und ihre Ernte eher voraussehbar war. Ihr Beitrag zum Gesamtbudget der Jagd-Sammel-Ökonomie war beinahe zu vernachlässigen. „*Incipient agriculture*“ – eingebettet in eine unspezialisierte, ökologisch sichere Ökonomie – die die Arbeit (Mußpräferenz) erleichtern sollte, endete schließlich nach mehr als 5000 Jahren in einer hochspezialisierten Bauernwirtschaft, in der Menschen mehr arbeiten mussten als je in ihrer Geschichte. Was den allmählichen Übergang zuwege brachte, ist die Durchsetzung des Moments der *Effizienz* gegenüber dem der *Stabilität und Sicherheit*. Bereits die „*incipient agriculture*“ war unter mehreren Gesichtspunkten effizienter, so wie jede Spezialisierung höhere Effizienz bedeutet: Umwelt wurde homogener, wodurch der Ertrag zuerst anstieg, auch bezogen auf die aufgewendete Arbeit. Eine homogene Umwelt ist, weil die Zahl der Arten, systematisch gesprochen der Variablen, sich reduziert, *voraussehbarer*. An die Stelle der „Strategie“ der Ökosystementwicklung (Natur) tritt die Strategie der Entwicklung eines von Menschen gemachten, mehr

und mehr spezialisierten Ökosystems (Kultur). An einem bestimmten Punkt auf der Zeitachse ist keine Rückkehr zum Ausgangssystem mehr möglich, denn im Laufe des langen Prozesses hat sich die Bevölkerungszahl an die neu entstehende, mehr und mehr auf Domestizierung beruhende Umwelt angeglichen. Der entscheidende Faktor, die Schlüsselvariable für die Bevölkerungsvermehrung ist Sesshaftigkeit, denn sie verursacht höhere Fruchtbarkeit. Wenn die Menschen sich an die neue Umwelt, und das heißt auch an Krankheiten, gut angepasst haben, dann führt die höhere Fruchtbarkeit zur oft raschen Bevölkerungsvermehrung, die so stark wird, dass sie wahrgenommen und damit auch auf sie reagiert werden kann. Zwei Formen der Reaktion: Auswanderung – Intensivierung der Produktion. Bevölkerungsdruck mag also dafür verantwortlich sein, dass der „*point of no return*“ überschritten wurde, nicht aber für den Beginn des Prozesses, der zur Neolithischen Revolution führte.

Denn bis zu diesem Umbruch kann man von einer Bevölkerungsvermehrung nur insofern sprechen, als um 12.000 b.p. sich der *homo sapiens sapiens* – grob gesprochen – global ausgebreitet hatte. Aber die Bevölkerungsdichte blieb nahezu konstant. Diese Art von Globalisierung im weitgehenden Einklang mit der Umwelt kann als eigentliche Anpassungsleistung unserer Gattung gelten. Allerdings war sie, was die Vermeidung und Bewältigung ökologischer Probleme betraf, in den kleinen Gruppen, in denen unsere Vorfahren lebten und die im statistischen Schnitt (World Geographic Sample) 25 Personen ausmachten, wesentlich leichter zu leisten als in modernen Gesellschaften, in denen aufgrund ihrer hohen Komplexität die Rückkopplungsschleifen für die Verarbeitung kritischer Werte aus der Umwelt zu lang sind. Eine kleine Gruppe von Jägern, Sammlern und Schwendbauern wurde dagegen sehr rasch und direkt, d. h. ohne politisch-gesellschaftlichen Puffer, vom eigenen Verhalten betroffen, wenn dieses nicht umweltverträglich war.

Der Übergang von einer „*incipient agriculture*“ zu Ackerbau, Pflanzen- und Tierzüchtung sowie zur Sesshaftigkeit bedeutete die Verwandlung einer zumeist unvorhersagbaren in eine weitgehend vorhersagbare Umwelt. Diese Transformation wurde von einem Wandel der Anpassungsstrategien begleitet: Die Risikominimierungsstrategie, die in einer sich ändernden Umwelt die angemessenste ist, wurde durch eine Strategie abgelöst, die auf Spezialisierung basierte, da die Umweltbedingungen mehr und mehr voraussagbar wurden. Spieltheoretisch gesprochen wurde eine suboptimale Bedarfsdeckungsstrategie – nach dem Zufallsprinzip oder nach dem Minimaxprinzip verfahren – tendenziell durch eine Optimierungsstrategie nach dem Maximierungsprinzip ersetzt. Der Übergang von der einen zur anderen Umwelt und der dazugehörigen Stra-

tegie geschah weder plötzlich noch vollständig. Wurde jedoch der kritische oder „*point of no return*“ überschritten, dann war die neue Situation irreversibel und der einzig sich öffnende Entwicklungspfad war eine ständig effektiver werdende Agrarproduktion.

Was nun mit der Neolithischen Revolution in Gang gesetzt wurde, ist die sogenannte Risikospirale (Abb. 4). Ich übernehme diesen Begriff von Rolf-Peter Sieferle und Ulrich Müller-Herold. Der eben angesprochene Strategiewechsel bedeutete den Beginn dieser Spirale. Wir haben oben gesehen, dass die Unternutzung und die mit ihr eng verbundene Mußpräferenz eine der zentralen Kategorien von Subsistenzökonomien auf der Basis von Jagen und Sammeln sowie auf der einer „primitiven“ Ackerbaukultur war. Der Übergang zur agrarischen Produktionsweise, d. h. nach unserem Modell zur Verstetigung des Ressourcenflusses, führt nun zu einer weitgehenden Annäherung an den Durchschnittswert. Geschieht dies dauerhaft, schwindet die Luxusmarge, die gerade aus der Differenz zwischen tatsächlichem Verbrauch und Durchschnitt resultierte (Abb. 2). An die Stelle der Mußpräferenz tritt nun die agrargesellschaftliche, postlapsale Maxime: „Im Schweiß deines Angesichts sollst du dein Brot essen.“ Deshalb ist auch der Normalzustand agrarischer Hochkulturen, die sich dort zuerst entwickelten, wo die Neolithische Revolution am frühesten stattgefunden hatte, ein niedrigeres Versorgungsniveau für die Unterschichten – und das ist die große Mehrheit der Bevölkerung – verglichen mit dem Zustand vor der Neolithischen Re-

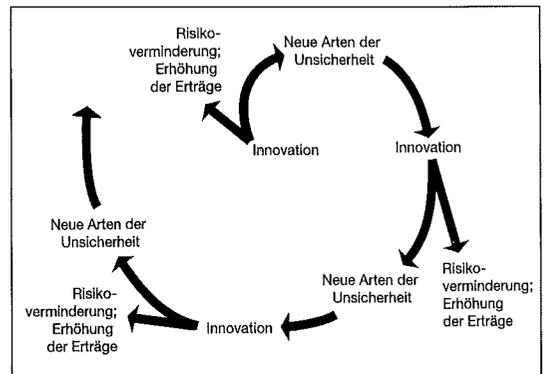


Abb. 4: Die Risikospirale als dynamisierendes Prinzip in der Entwicklung komplexer Gesellschaften: Die Verringerung eines bestimmten Risikos bringt neue Formen der Unsicherheit mit sich, die ihrerseits weitere (riskante) Bewältigungsstrategien provozieren. Auf diesem Weg formiert sich ein permanenter Innovationsdruck, woraus sich schließlich die Transformationen komplexer Gesellschaften bis hin zur Industrialisierung erklären lassen (nach Sieferle – Müller-Herold 1996).

volution, wo es übrigens soziale Stratifizierungen und deren Verfestigung nur in allerersten Ansätzen gegeben hat. Zugleich steigt aufgrund der Sesshaftigkeit die Bevölkerungsdichte, was zu Krisen führt, die wiederum – wenn es gut geht – durch Innovationen gelöst werden, wenn es schlecht geht, im Untergang der Kultur resultieren. Die Innovationen bringen zuerst immer eine zeitweilige Risikoverminderung durch Verstetigung des Ressourcenflusses. Aber die Lösung eines bestimmten Risikoproblems führt in neue Risiken hinein, die ihrerseits wieder nach riskanten Lösungen verlangen. „In the long run“ machen jedoch Bevölkerungswachstum und ökologische Probleme alle Innovationen wieder wett. Diese Spirale, die sich mit der Neolithischen Revolution in Gang gesetzt hat, schien jedoch durch die Industrialisierung und die Kapitalisierung des Warenverkehrs, der einem kleinen Teil der Weltbevölkerung einen historisch bis dahin noch nie erreichten Wohlstand bescherte, angehalten worden zu sein.

### Die Wissenschaftliche Revolution

Mit der Akzeptanz eines Begriffs von Revolution, der sich auch auf Wissenschaft und Technik bezieht, wird endgültig der traditionelle Revolutionsbegriff abgelöst. Ähnlich wie bei der Neolithischen Revolution erkennt

man, dass die Epoche davor unwiederbringlich verloren ist. Wenn sich nun alle agrarwirtschaftlichen, technischen und industriellen Innovationen, die oft auch revolutionären Charakter trugen, zwanglos an die Risikospirale anschließen oder als deren Ergebnisse gelten können, so ist dies in Bezug auf die Genesis der Wissenschaftlichen Revolution, die man von 1600 bis 1750 datiert, nicht der Fall.

Wenn ich sie trotzdem in meinem Vortrag behandle, dann aus zwei Gründen. Sie bildet erstens die *conditio sine qua non* für die Verwissenschaftlichung moderner Produktionsbedingungen, von der Forschung bis zur Produktion von Waren. Gleichwohl stellte sich ein direkter Zusammenhang ihrer Ergebnisse mit der Industriellen Revolution erst spät her: beginnend in der zweiten Hälfte des 19. und sich vollendend in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts. Der zweite Grund bezieht sich auf eine ihrer stärksten Triebkräfte, nämlich den Stündenfall des Menschen, vulgo die Austreibung aus dem Paradies unserer Jäger-Sammler-Vorfahren, wenn nicht rückgängig zu machen, so doch abzumildern durch eine neue Lektüre des „Buchs der Natur“.

Dazu musste zuerst ein prinzipielles, aus der Augustinischen Tradition stammendes Hindernis überwunden werden: das die Erfahrung äußerer Natur hemmende,

# MILANO



Schlicht.  
Elegant.  
Zeitlos.

Mit raffinierten  
Details und  
außergewöhnlicher  
Verarbeitung.

WK 662 **milano**,  
in Alcantara ab  
DM 3.995,-

Parkplätze direkt vor der Tür.

## MOEBEL REESE

DAS LÜBECKER EINRICHTUNGSHAUS  
Töpferweg 20-22 • Lübeck • Telefon: 0451/8 30 44  
info@moebel-reese.de • www.moebel-reese.de

ja, verhindernde Neugiervot. Petrarca hatte noch bei seiner wahrscheinlich fingierten Besteigung des Mont Ventoux um die Mitte des 14. Jahrhunderts mit diesem Verbot der *concupiscentia oculorum* stärker zu kämpfen als mit den Unbildern der Bergnatur. Die Denker und Künstler der späteren Renaissance hatten es dann hinter sich gelassen und damit auch der eminenten Rolle von Beobachtung und Experiment in der wissenschaftlichen Revolution den Weg bereitet. Die Reformation bot bezüglich des Neugiervots eine breite Palette von Positionen, angefangen mit Luther, der sich streng an Augustin hielt, bis zu Calvin, der zwar dessen negative Anthropologie übernahm, aber die Erforschung der Natur im Rahmen seiner Schöpfungstheologie als eine Form innerweltlicher Bewährung freigab. Die New Science, die sich seit dem Ende des 16. Jahrhunderts in England und auf dem Kontinent etabliert und die wissenschaftliche Neugier zu ihrem Prinzip erhoben hatte, wurde von ihren Vertretern als eine Art Gottesdienst gefeiert. In dessen Rahmen versuchten Galilei, Kepler, Boyle, Newton und viele andere die Gesetze, gemäß denen Gott die Natur zum Wohl des Menschen eingerichtet hatte, zu erforschen. Kepler schrieb 1596: „Die Natur gehorcht mathematischen Gesetzen, weil Gott diese Gesetze benutzt hat, als er die Natur schuf.“ Galilei las 1615 aus dem durch das Fernrohr geöffneten „Buch des Himmels“ die Größe und Herrlichkeit Gottes. Im selben Brief bekannte er, Gott offenbare sich in den Naturvorgängen, d. h. im „Buch der Natur“ nicht weniger großartig als in den heiligen Worten der Bibel. Und von diesem Buch meinte er bekanntlich, es sei in der Sprache der Mathematik geschrieben. Auch Newton betrachtete es als Ziel seiner wissenschaftlichen Arbeit, Beweisgründe für die Existenz Gottes zu finden und war zugleich überzeugt, dass sich weder Ursprung noch Struktur der Welt auf mechanische Ursachen zurückführen ließen, sondern einen intelligenten Schöpfer voraussetzten, „skilled in mechanics and geometry“.

Als skandalös musste der theologischen Orthodoxie, die sich am Augustinschen Neugiervot orientierte, der Anspruch der New Science erscheinen, das mathematisch formulierte Naturgesetz habe objektive Geltung für Vorgänge in der äußeren Natur. Skandalös nicht nur deshalb, weil die neue Naturwissenschaft die Phänomene in einer Weise beschrieb, die dem Wortlaut der Bibel und dem „gesunden Menschenverstand“ der Alltagserfahrung widersprach, sondern vor allem, weil sie der Natur ihr Verborgenes, ihre Geheimnisse entriß. Freilich bestätigten die gewonnenen Einsichten in die Gesetzmäßigkeiten natürlicher Abläufe implizit den alten erkenntnistheoretischen Vorbehalt gegen alles Sinnfällige. Dass die Erde sich bewegt, dass die Planeten in elliptischen Bahnen umlaufen, dass alle Körper auf der Erdoberfläche mit gleicher Beschleuni-

gung fallen, dass Körper ohne Einwirkung äußerer Kräfte im Zustand der Ruhe oder der geradlinigen gleichmäßigen Bewegung verbleiben, lässt sich mittels Augenschein nicht erkennen. Die Abwertung der sinnlichen Wahrnehmung galt allerdings nur ihrer naiven, ihrer Alltagsform, unter den künstlichen, „poietischen“ Bedingungen des Experiments wurden dagegen Beobachtung und Erfahrung für den Erkenntnisgewinn methodisch unverzichtbar.

Die Gewissheit der konstruktiven wissenschaftlichen Vernunft, mittels mathematischer Formeln wahre Aussagen über die Natur machen zu können, etablierte sich unter dem Schutz theologischer Garantien gegen ein Element der Platonischen Erkenntnislehre. Die Aufwertung des Status der materiellen Welt als Gegenstand möglicher Erfahrung sowie des menschlichen Erkenntnisvermögens konnte sich dabei auf Glaubenslehren berufen: auf die Lehre der *creatio ex nihilo*, die Lehre der Gottebenbildlichkeit des Menschen, vor allem aber auf das Dogma der Inkarnation.

Die Vorstellung, der Mensch sei berufen, die Schöpfungsgedanken Gottes nachzuvollziehen, da das Vermögen, in geometrischen Verhältnissen zu denken, aus dem Geist Gottes in den ebenbildlichen Geist des Menschen übergegangen sei, konnte *per analogiam* die Vorstellung einer Herrschaft des Menschen über die Natur aus sich hervortreiben – und vielleicht in brisanterer Weise, als der gutsherrliche Rat an die Verwalter des Gartens Eden, sie sollten sich die Erde untertan machen, es je vermochte. Dem Argument orthodoxer Theologen, der Mensch sei aufgrund seiner *natura lapsa* erkenntnisunfähig, konnten die Vertreter der New Science mit theologischen Argumentationsfiguren begegnen, die bereits von einigen Kirchenvätern entwickelt worden waren: Die erste lautete *ex malo bonum*, die zweite bezog sich auf das Fünklein gottgegebener Vernunft, das den Fall überdauert habe. Die erste besagte, erst der Sündenfall (*malum*) habe Kultur und Wissenschaft (*bonum*) ermöglicht, die zweite, dass dieses Fünklein bei gehöriger Anstrengung von Seiten der Menschen und einer gehörigen Gnadenportion von Seiten Gottes Menschen durchaus befähigen könne, die Gesetze der Natur zu erkennen. Wenn auch die Sinne infolge des Sündenfalls unzuverlässig geworden seien, meinte Robert Hooke, so könnten doch Teleskop und Mikroskop diese Folgen des Falls korrigieren. Die Metapher vom „Buch der Natur“ erfuhr, wie schon angedeutet, eine enorme Aufwertung. Was gleichzeitig auch eine Abwertung der durch Bücher überlieferten Autoritäten bedeutete, in Analogie zum Prinzip Lutherscher Bibelinterpretation: *sola scriptura*. Selbst noch die Mathematisierung der Natur, die Quantifizierung bisheriger Qualitäten, konnte sich auf einen neu verstandenen Satz aus der Weisheit Salomos (11, 20) stützen: „Du aber hast alles geordnet nach Maß, Zahl und Gewicht.“

Millenaristische Strömungen, Hoffnungen auf ein bald anbrechendes 1000jähriges Reich des Friedens, verbanden sich rasch mit den Neuen Wissenschaften. Daniel 12,4 bot dafür, zusammen mit einigen Stellen der Johannes-Apokalypse (20f.), einen Bezugspunkt.<sup>2</sup> Die Erwartung eines bald anbrechenden Millenniums, angesiedelt zwischen Theologie und Utopie, zog sich wie ein roter Faden durch die Pläne und Werke von Bacon über die Royal Society bis zu Newton und Leibniz. Von den „Christian Virtuosi“ der frühen Royal Society bis zum jungen Darwin waren Forscher der verschiedensten Disziplinen Gottes *design* auf der Spur. Glaubte Boyle im Bau des menschlichen und tierischen Körpers sowie in allen seinen Teilen die planvolle Tätigkeit Gottes zu entdecken, glaubte Newton, im Zusammendenken von irdischer und himmlischer Mechanik Gottes *design* enthüllt und im Gravitationsgesetz formuliert zu haben, so meinte noch der junge Darwin, dass das Selektionsprinzip Gottes Wirken im Reich der Biologie nachzeichne.

Gesichtspunkte unmittelbarer Verwertung der Entdeckungen und Experimente standen, abgesehen von der Medizin, nicht im Vordergrund des Interesses. Das gilt selbst für das institutionelle Flaggschiff der New Science, die 1660 gegründete Royal Society for the Advancement of Learning, auch wenn dort Fernrohre, Mikroskope, Vakuumpumpen als Experimentierinstrumente eine zentrale Rolle spielten. Die Auswahl von Forschungsgegenständen der Royal Society orientierte sich an einem umfassenden Naturbegriff, ihr Ziel war „the discovery of nature in all its operations“ (William Petty). So nimmt es nicht wunder, wenn in den „Transactions“ im 17. und 18. Jahrhundert auch von der natürlichen Moral, von Jurisprudenz und Naturrecht, von Ökonomie und Geschichte des Handels, von den natürlichen Grundlagen menschlichen Wirtschaftens, von Geographie oder der „Natürlichen Theologie“, den Werken Gottes, die Rede war.

Wenn man *die* Wissenschaftliche Revolution mit anderen Revolutionen in den Wissenschaften, die es vorher auch gegeben haben mag, vergleicht, dann unterscheidet sie sich konstitutiv hauptsächlich in folgenden Punkten: Sie betraf, wie bereits angedeutet, *alle* Bereiche menschlichen Wissens. Ihre Protagonisten stürzten die bisherige Wissenschaftsauffassung total um, indem sie

1. Experimente und Beobachtungen in den Vordergrund stellten, und zwar solche, die nach entsprechender Anleitung jeder machen konnte, im genauen Sinn des „Do it yourself!“;

2. nicht nur Experimente machten, sondern auch experimentelle Fakten schufen, etwa wie Robert Boyle mit seiner Luftpumpe, die ein Forscher (Steven Shapin) „the Scientific Revolution's greatest fact-making machine“ nannte. Oder indem sie Phänomene überhaupt erst produzierten, wie etwa Torricelli mit seinem Barometer, welches das Gewicht der Luft, das wir normalerweise nicht wahrnehmen können, sichtbar machte;

3. eine neue Idee von mathematischer Theorie und deren Anwendung propagierten, die sich mehr als zuvor am platonisch-pythagoräischen Vorbild orientierte;

4. die Bedeutung von Vorhersagen betonten und mit deren Hilfe auch ihre Theorien verifizierten oder falsifizierten;

5. neue Entdeckungen für die Zukunft verkündeten, die das Wissen über unsere Gattung und über die Welt vermehren und gleichzeitig unsere Herrschaft über die Naturkräfte verstärken würde;

6. zu letzterem Zweck wissenschaftliche Institutionen planten, gründeten und organisierten.

Vor einer Betrachtung im Sinne von eindeutigen Dichotomien ist jedoch zu warnen. Diese lauten z. B. induktive versus deduktive Methoden, Experiment versus theoretisches Wissen, Platon versus Aristoteles, Anti-Teleologie versus Teleologie, Rationalität versus Irrationalität, in unserem heutigen Sinne natürlich, Atheismus versus Theismus. Gerade weil die Natur wie ein von Gott geschriebener Text gelesen wurde, hatten neben experimentellen Methoden, die eher induktiv verfahren, auch deduktive ihre Chance, nämlich als mathematische Idealisierungen. Wenn auch die aristotelische Naturteleologie mitsamt der Theorie des natürlichen Ortes abgelehnt wurde, so wurde doch eine allgemeine Teleologie, die in der von Gott geschaffenen Natur waltete, eher verstärkt. Finalursachen, eine der vier von Aristoteles unterschiedenen, feierten fröhliche Urständ im Werk von Robert Boyle. Selbst für die Ausbildung einer Methodologie empirischer Wissenschaften ist die Schule des Paduaner Aristotelismus ungleich wichtiger geworden als der spekulative Platonismus, der von den Florentiner bis zu den Cambridger Platonikern reichte.

Was den mit der Wissenschaftlichen Revolution einhergehenden Rationalisierungsschub angeht, so wird, je weiter die Forschung fortschreitet, immer deutlicher, dass auch alchimische und hermetische Lehren bis hin zu Newton eine nicht unerhebliche Rolle spielten. Auch aus der Rezeption eines ursprünglich atheistischen Atomismus epikureischer Prägung kann kein Argument gegen die Vorherrschaft der *natural theology* in der Wissenschaftlichen Revolution abgeleitet werden. Denn wie uns ein Blick auf England lehrt, lassen sich aus dem Atomismus sowohl Gründe für den Atheismus als auch Gründe für den Theismus gewinnen.

<sup>2</sup> „Du, Daniel, halte diese Worte geheim, und versiegle das Buch bis zur Zeit des Endes! Viele werden nachforschen, und die Erkenntnis wird groß sein.“ (zitiert nach *Die Bibel*. Einheitsübersetzung, Freiburg, Basel, Wien 1980 u. ö., S. 1019)

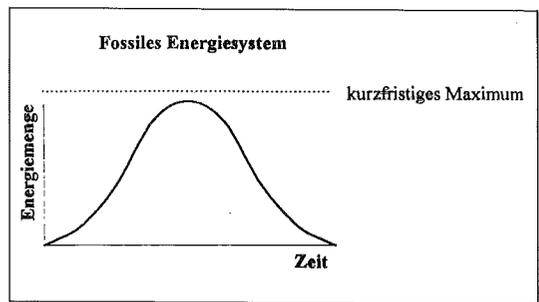
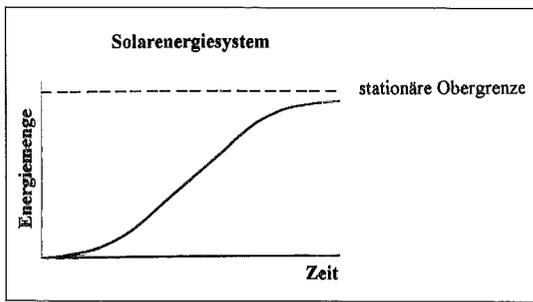


Abb. 5: Solarenergiesystem (a) und Fossiles Energiesystem (b).

## Die Industrielle Revolution

Wie schon erwähnt, konnten die Ergebnisse der Wissenschaftlichen Revolution des 17. und 18. Jahrhunderts erst relativ spät für den westeuropäischen Industrialisierungsprozess fruchtbar gemacht werden. Das gilt selbst noch für die wissenschaftlichen Revolutionen der späteren Zeit bis weit ins 19. Jahrhundert hinein. Wenn sich auch die Forschung heute einig darüber ist, dass es keine „Essenz“ der Wissenschaftlichen Revolution gegeben hat, so kann ich aus meiner Perspektive für die Industrielle Revolution zwei solcher essentiellen Charakteristika ausmachen: erstens, energiegeschichtlich betrachtet, den Übergang vom Holz, einer nachwachsenden Ressource, zu fossilen Brennstoffen, zu einer erschöpfbaren Ressource; zweitens, ökonomiegeschichtlich betrachtet, den Übergang von einer weitgehend stationären, auf ein Nullsummenspiel hinauslaufenden Ökonomie zu einer Wachstumsökonomie. Hatte bis dahin die gesamte Ökonomie – bäuerlich, handwerklich, protoindustriell und manufakturiell – bildlich gesprochen von den Zinsen der Solarenergie gelebt, von nachwachsenden Rohstoffen also, so leben wir spätestens seit Mitte des 19. Jahrhunderts vom Kapital, nämlich von fossilen Brennstoffen. Diese energetischen und ökonomischen Transformationsprozesse ermöglichen es auch, die Industrielle Revolution und die sich ausbildende Wachstumsökonomie zwanglos in das Modell der Risikospirale einzubauen. Die entscheidende Innovation der Weltgeschichte, die allenfalls noch mit der Neolithischen Revolution vergleichbar ist, entstand aus einem Brennstoffengpass, der nur mittels Kohle überwunden werden konnte. (Kontrafaktische Berechnungen haben gezeigt, dass ohne den massiven Einsatz von Kohle als zentrale Energieressource die Industrielle Revolution spätestens ab 1840 in eine gewerbliche Evolution und damit auch die sich entwickelnde industrielle Wachstumsökonomie wieder in eine stationäre Ökonomie übergegangen wäre; Abb. 5.)

Zum ersten Mal in der Geschichte war es einem Teil der Menschheit gelungen, sich vom ökologischen Krisenzyklus zu emanzipieren. Krisen waren spätestens

seit der ersten Weltwirtschaftskrise von 1857-59 vom Kapitalmarkt oder von der Industrieproduktion induziert und nicht mehr von den Schwankungen der agrarischen Produktion. Zum ersten Mal seit der Neolithischen Revolution konnten Güter permanent in einer Menge produziert werden, die das Bevölkerungswachstum mehr als ausglich; und über hundert Jahre lang verbreitete sich die Hoffnung, es könnten sich zuerst die führenden Industrienationen und dann die gesamte Menschheit aus dem ökologischen Krisenzyklus auf Dauer ausklinken. Umweltprobleme, die mit dem rasanten Bevölkerungswachstum, mit Rohstoffen, von den Wasservorräten angefangen, mit der Industrieproduktion, mit den Energiesystemen und mit der Entsorgung von Abfällen zusammenhängen, haben diese Hoffnung in einem ökologischen Katzenjammer eräuft (Abb. 5 b).

Wenn das stimmt, dann wären wir qualitativ nicht weiter gekommen als unsere Vorfahren nach der Neolithischen Revolution, für die jede aus einer Krise resultierende Innovation nur eine weitere Umdrehung der Risikospirale bedeutete. Doch eine Facette unserer gegenwärtigen Situation ist neu, die globale. Um ein Hegelsches Diktum leicht abzuwandeln: Die Welt ist seit der Globalisierung der industriellen Warenproduktion im Rahmen des Kapitalismus endgültig rund geworden. Wer jedoch steuert unser „Raumschiff Erde“ im nächsten Jahrtausend, und falls es gesteuert wird und nicht steuerlos durch den Weltraum rast, wohin? Doch das ist nicht mehr mein Thema.

## Literatur:

1. Dieter Groh, Strategien, Zeit und Ressourcen. Risikominimierung, Unterproduktivität und Mußpräferenz – die zentralen Kategorien von Subsistenzökonomien, in: Ders., Anthropologische Dimensionen der Geschichte (1992), 2. Aufl., Frankfurt/M. 1999, 54-113
2. Dieter Groh, Mobilität als Strategie und Ressource – Das Beispiel von Jäger-Sammlern und Hirtennomaden, in: GAIA 1, 1992, 144-152

3. Dieter Groh, Ruth Groh, Wissenschaftliche Revolution und Utopie. Die Royal Society, in: Akademie zwischen Kunst und Lehre, hg. v. Denys Zacharopoulos, Wien 1992, 11-16
4. Ruth Groh, Dieter Groh, Religiöse Wurzeln der ökologischen Krise. Naturteleologie und Geschichtsoptimismus in der frühen Neuzeit, in: Dies. Weltbild und Naturaneignung. Zur Kulturgeschichte der Natur (1991), 2. Aufl., Frankfurt/M. 1996, 11-91
5. Rolf P. Sieferle – Ulrich Müller-Herold, Überfluss und Überleben. Risiko, Ruin und Luxus in primitiven Gesellschaften, in: GAIA 5, 1996, 135-143
6. Rolf P. Sieferle, Der unterirdische Wald. Energiekrise und Industrielle Revolution, München 1982.

## AUS DER HOCHSCHULE

### Personalia

#### Auswärtiger Ruf

Prof. Dott. (Univ. Padua) Paolo F o r n a r a , Klinik für Urologie der MUL, hat den Ruf auf den Lehrstuhl für Urologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg angenommen und wird zum Direktor der dortigen Klinik und Poliklinik für Urologie ernannt. Er tritt die Nachfolge von Prof. Dr. J. Schnabel, der im Herbst 1997 verstorben ist, zum 1. Mai 2000 an.

Priv.-Doz. Dr. med. Burkhard K r e f t , Medizinische Klinik I der MUL, hat den Ruf auf eine C3-Professur für Innere Medizin (Klinische Infektiologie) an der Universität Regensburg erhalten.

#### Berufungen

Prof. Dr. med. Karl T i l l m a n n , zuletzt Chefarzt der Orthopädischen Abteilung der Rheumaklinik Bad Bramstedt, ist zum Kommissarischen Direktor der Klinik für Orthopädie der MUL berufen worden.

#### Sachverständigenkommissionen

Prof. Dr. med. Klaus D i e d r i c h , Direktor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der MUL, wurde zum Fachgutachter der Deutschen Forschungsgemeinschaft für das Gebiet Geburtshilfe und Gynäkologie gewählt.

Prof. Dr. med. Wolfgang L. G r o s s , Direktor der Poliklinik für Rheumatologie der MUL, ist von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zum Fachgutachter für das Gebiet Innere Medizin gewählt worden.

#### Fachgesellschaften, Veröffentlichungen

Der von Prof. Dr. phil. Dietrich v. E n g e l h a r d t , Direktor des Instituts für Medizin- und Wissenschaftsgeschichte der MUL, herausgegebene Band „Ethik im Alltag der Medizin – Spektrum der Disziplinen zwischen Forschung und Therapie“ (Birkhäuser; Basel, Boston, Berlin <sup>2</sup>1997) liegt jetzt auch in einer türkischen Ausgabe vor („Tibbin Gündelik Yasaminda Etik – Arastirmadan terapiye disiplinler yelpazesi“ – Übersetzerin: Dr. Ann Namal).

Prof. Dr. med. Thomas W a g n e r , Medizinische Klinik I der MUL, wurde in den Vorstand der Schleswig-Holsteinischen Krebsgesellschaft gewählt. Zu den vier onkologischen Forschungsprojekten an der MUL, die im Rahmen eines Förderungsschwerpunktes durch die Schleswig-Holsteinische Krebsgesellschaft im Förderungsjahr 1999/2000 unterstützt werden (Gesamtsumme ca. 250.000 Mark), siehe unter Forschungsförderung.

#### Preise

Dr. med. Peter B e h r e n s , Klinik für Orthopädie der MUL, wurde mit dem Förderpreis der Deutschen Ehlers-Danlos-Initiative ausgezeichnet. Der Preis ist mit 3.000 Mark dotiert. Dr. Behrens leitet die interdisziplinäre Lübecker Ehlers-Danlos-Spezialsprechstunde.

Dr. med. Johannes K l e i n , Medizinische Klinik I der MUL, hat einen mit 500 Dollar dotierten Travel Grant Award der Endocrine Society, Bethesda, Maryland/USA, für seine Arbeit „Disruption of the P85[alpha] Gene Differentially Alters Metabolic Responses to Insulin in a Brown Adipocyte Model“ erhalten. Die ausgezeichnete Arbeit befasst sich mit der Bedeutung der Phosphatidylinase, eines zentralen Zelleiweißes, für Zellfunktion, Zelldifferenzierung und Insulin-Empfindlichkeit. Die Untersuchungen entstanden zusammen mit Forschern der Harvard University, Boston, und werden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt. Sie sind Teil weiterer DFG-unterstützter Projekte zur Erforschung molekularer Mechanismen des sogenannten „Metabolischen Syndroms“ an der MUL.

Priv.-Doz. Dr. med. Hans-Günther M a c h e n s , Klinik für Chirurgie der MUL (Bereich Plastische Chirurgie, Handchirurgie, Intensiveinheit Schwerbrandverletzte), wurde von der British Association of Plastic Surgeons (BAPS) anlässlich ihrer Jahrestagung in London im Dezember 1999 mit dem Asklepios-Preis ausgezeichnet. Der mit umgerechnet 6.000 Mark dotierte Preis wurde ihm für die wissenschaftliche Präsentation seiner Untersuchungen zur Angiogeneseinduktion in verschiedenen Lappenmodellen der Ratte nach retrovi-

raler genetischer Modifikation von isogenen Fibroblasten verliehen.

Dr. phil. Ruth D e c k , Institut für Sozialmedizin der MUL, erhielt den Rehabilitationswissenschaftlichen Förderpreis 1999 der Karlsruher-Sanatorium-AG. Der Preis wurde ihr am 15. März 2000 für ihre Arbeit „Erwartungen und Motivationen von Patienten in der medizinischen Rehabilitation“ verliehen. Die Arbeit entstand im Rahmen eines binationalen Forschungsprojekts, das vom Forschungsverein der Landesversicherungsanstalt Schleswig-Holstein (vffr) gefördert wurde.

### **Forschungsförderung**

Prof. Dr. rer. nat. Thomas P e t e r s , Direktor des Instituts für Chemie der MUL, erhielt gemeinsam mit Projektpartnern an den Universitäten Hamburg, Basel und Kiel von der Volkswagen-Stiftung im Rahmen des Schwerpunkts „Konformationelle Kontrolle biomolekularer Funktionen“ für das Teilprojekt „Conformational control of the presentation of charged, hydrophilic and hydrophobic groups in carbohydrate-MAG interactions in the central nervous system“ eine Unterstützung in Höhe von 263.000 Mark über eine Laufzeit von drei Jahren. In dem Projekt sollen die Wechselwirkungen zwischen dem in den Nerven des Zentralnervensystems vorkommenden myelinassozierten Glycoprotein (MAG) und seinen natürlichen Inhibitoren sowie gezielt abgewandelten, synthetisch modifizierten Derivaten auf molekularer Ebene detailliert untersucht werden, um Substanzen mit verbesserten inhibitorischen Eigenschaften herstellen zu können, die für eine Regeneration nach Verletzungen zum Beispiel bei Querschnittsgelähmten einsetzbar wären.

Dr. med. Stefan Oliver P e t e r s , Medizinische Klinik I der MUL, erhielt von der Schleswig-Holsteinischen Krebsgesellschaft eine Projektförderung in Höhe von 37.000 Mark zur Teilfinanzierung eines PCR-Analysesystems in Kooperation mit dem Institut für Pathologie der MUL (Prof. Dr. med. Alfred C. Feller) zur gemeinsamen interdisziplinären Nutzung u. a. von Forschungsvorhaben auf dem Gebiet der Stammzellbiologie.

Dr. med. Hans-Joachim W a g n e r und Prof. Dr. med. Peter B u c s k y , Klinik für Pädiatrie der MUL, erhielten von der Schleswig-Holsteinischen Krebsgesellschaft eine Projektförderung in Höhe von 65.000 Mark zur Teilfinanzierung eines quantitativen PCR-Analysesystems für die frühzeitige Detektion von EBV-Infektionen nach Organtransplantation zur Prävention der Entwicklung sekundärer maligner Lymphome.

Priv.-Doz. Dr. med. Dr. med. Hendrik S c h i m m e l p e n n i g , Klinik für Chirurgie der MUL, erhielt von der Schleswig-Holsteinischen Krebsgesellschaft eine Förderung von 47.500 Mark zur Durchführung eines

Forschungsvorhabens zur Frühdiagnostik maligner Transformationen bei Patienten mit Colitis ulcerosa.

Dr. med. Martin L ö n i n g und Prof. Dr. med. Klaus D i e d r i c h , Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der MUL, erhielten von der Schleswig-Holsteinischen Krebsgesellschaft einen Förderungsbeitrag von 99.000 Mark für das Forschungsprojekt „Laparoskopische Fluoreszenzdiagnose von peritonealen Metastasen des Ovarialkarzinoms“.

Prof. Dr. med. vet. Jabbar A h m e d , Abteilung für Immunologie und Zellbiologie, Forschungsinstitut Borstel, wurde als Koordinator von der Europäischen Kommission das Forschungsvorhaben „Molecular and immunological characterization of merozoite antigens and their encoding genes of a Theileria species highly pathogenic for small ruminants in China: application for the development of diagnostics and vaccine“ bewilligt. Das Gesamtprojekt erhält im Rahmen des 5. Europäischen Rahmenprogramms eine Förderung von 650.000 Euro.

Dr. med. Frank M o o s i g , Poliklinik für Rheumatologie der MUL, wurde das MSD Stipendium Rheumatologie / Orthopädie 1999 zugesprochen. Das Stipendium ist mit 20.000 Mark dotiert und ermöglicht Herrn Moosig einen dreimonatigen Aufenthalt an der Mayo-Klinik in Rochester, USA.

### **Internationale Hochschulkontakte, Gastwissenschaftler**

Em. Prof. Dr. med. Christoph W e i s s , Ph.D. (Lond.), Institut für Physiologie der MUL, wurde zum *external examiner* der Medizinischen Fakultät der Universität Khartoum, Sudan, berufen.

Dr. phil. nat. Anastasya B a k h m e t , Anatomisches Institut der Medizinischen Akademie Setchenov in Moskau, ist in den Monaten April, Mai und Juni 2000 als Gastwissenschaftlerin am Institut für Anatomie der MUL tätig. Frau Dr. Bakmet erlernt immunhistochemische und elektronenmikroskopische Techniken und untersucht die Reaktion von Lymphknoten nach Einfluss verschiedener Antigene.

### **Kurz notiert**

Dr. Harald S e m m e l hat zum 1. März 2000 im Dekanat der Medizinischen Fakultät die neu geschaffene Stabstelle des Wissenschaftsreferenten angetreten. Neben der Betreuung des internen Forschungsförderungsprogramms der MUL mit Schwerpunktförderung sowie Junior- und Normalanträgen wird er die Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen der Fakultät insbesondere bei der Einwerbung von externen Drittmitteln unterstützen. Nach naturwissenschaftlich-analytisch orientiertem Studium an der Universität Bayreuth sowie Drittmittel-Forschungstätigkeit und Promotion an der CAU Kiel war Dr. Semmel seit 1994 an der Bran-

denburgischen Technischen Universität Cottbus mit Aufgaben der Wissenschaftsorganisation betraut.

Die **Gottfried Roder-Stiftung**, Lübeck, unterstützt die Anschaffung von Fachliteratur für Studium und Wissenschaft. Der Stiftungsvorstand hat der Lehrbuchsammlung der Zentralen Hochschulbibliothek Lübeck einen Betrag von 12.500 Mark zukommen lassen. Die aus den Stiftungsmitteln beschafften Bücher werden mit einem Hinweis auf die Stiftung versehen.

Prof. Dr. med. Lüder C. **Busch**, Institut für Anatomie der MUL, hat als Gewinner der Aktion „Mitglieder werben Mitglieder“ des Deutschen Hochschulverbandes einen Bücherscheck über 2.000 Mark erhalten. Der Gewinn kommt den Bibliotheken des Instituts für Anatomie und der Klinik für Anästhesiologie der MUL zu gute.

#### Erratum

Im Beitrag „Sicherheitskritische Mensch-Maschine-Systeme“ von M. Herczeg in FOCUS MUL 17, Heft 1 (2000), S. 6-12, wurden die Abbildungen 2 und 3 vertauscht. Die Redaktion bedauert das Versehen.

## Tagungen

### 95. Vortragsveranstaltung Schleswig-Holsteinischer Hals-, Nasen-, Ohrenärzte

Am 27. November 1999 fand die traditionell jährlich zwischen den Universitäts-HNO-Kliniken Kiel und Lübeck wechselnde Vortragsveranstaltung der schleswig-holsteinischen Hals-, Nasen-, Ohrenärzte, diesmal in Lübeck, statt. Im Hörsaal V1 wurde vor ungefähr 120 HNO-Ärztinnen/Ärzten und Logopädinnen/-päden über die Themen Infektionen und Tumoren im Gesichtsbereich, sowie funktionelle und organische Stimmstörungen referiert.

Im ersten Block wurde von *E. Gehrking* (HNO-Klinik UK Lübeck) die Differentialdiagnostik der Infektionen im Gesichtsbereich und der Ohrmuschel behandelt. Diese sind häufig schon wegen ihres charakteristischen klinischen Erscheinungsbildes durch Blickdiagnose beurteilbar. Die heute seltenen „klassischen“ Infektionskrankheiten wie Lues und Tuberkulose hingegen können sich auf vielfältige Art und Weise manifestieren und erfordern dann eine subtile Diagnostik. *K. Sommer* (HNO-Klinik UK Lübeck) erläuterte die Grundlagen der Antibiotikatherapie bei Gesichtsinfektionen. In seinem Referat wies er daraufhin, dass zur optimalen Therapie natürlich zu Anfang die richtige Diagnosestellung gehört, im weiteren die kritische Indikation zum Einsatz von Antibiotika, sowie der Erregernach-

weis mit Abklärung der Resistenzlage, die Auswahl des am besten geeigneten Antibiotikums und die Verlaufskontrolle während der Behandlung. Bei der Auswahl des besten Antibiotikums sind der Schweregrad der Krankheit, die Abwehrlage, Allergien, Leber- und Nierenfunktion und mögliche Nebenwirkungen in Betracht zu ziehen. Als Ursache für einen mangelnden Erfolg der Antibiotikatherapie können eine Mischinfektion, eine Infektion durch Chlamydien oder Anaerobier, eine Resistenzentwicklung, eine Virus- oder Pilzinfektion, eine Kollagenose oder ein Tumor, ein Immundefekt und letztendlich eine schlechte Compliance des Patienten in Frage kommen.

Die gut- und bösartigen Tumoren der Gesichtshaut fasste *M. Tronnier* (Hautklinik UK Lübeck) in einer Übersicht zusammen. Ein spezielles Augenmerk richtete er auf die Einteilung der malignen Melanome. Er wies noch einmal daraufhin, dass im Stadium I beim malignen Melanom noch eine Erfolgsaussicht auf Heilung von über 90 % besteht, dass also eine frühe Diagnosestellung bei dieser Erkrankung von entscheidender Bedeutung ist. Die Therapie der Wahl ist die komplette chirurgische Entfernung des Tumors mit einem Resektions Sicherheitsabstand von 1-3 cm, je nach Tumordicke. Im Gesichtsbereich bereitet dies erhebliche Probleme, je nach anatomischen und funktionellen Gegebenheiten muss der Sicherheitsabstand individuell variiert werden. Die Wertigkeit einer adjuvanten Therapie z. B. mit Interferon  $\alpha 2b$  wird unterschiedlich beurteilt und derzeit im deutschsprachigen Raum in einer multizentrischen Studie geprüft.

Bei lymphogener Metastasierung ist ebenfalls die chirurgische Therapie indiziert. Eine elektive Lymphknotenresektion wird in der Regel nicht mehr durchgeführt. Hier rückt als vorgeschaltete diagnostische Maßnahme mehr und mehr die „sentinel node biopsy“ in den Vordergrund. Dabei wird das Lymphabflussgebiet des Primärtumors mit radioaktiven Tracern markiert und der sogenannte Schildwächter-Lymphknoten, d. h. die erste lymphatische Filterstation mit Gammakameras intraoperativ identifiziert und entfernt. Nur bei nachgewiesener Mikrometastasierung erfolgt dann die Ausräumung des gesamten Lymphknotenbereichs. Beim Vorliegen von Fernmetastasen stehen eine Reihe von Zytostatika, oft in Kombination mit Immunmodulatoren wie Interferon alpha oder Interleukin-2 therapeutisch zur Verfügung.

Über die Möglichkeiten der Therapie von Hämangiomen im Gesichtsbereich mit Neodym-Yag-Laser berichtete *S. Maune* (HNO-Klinik CAU Kiel) in seinem Referat zur Lasertherapie bei gut- und bösartigen Tumoren des Gesichtsbereichs.

90 % aller Malignome im Gesichtsbereich sind Basaliome, Spinaliome und Melanome. So berichtete *S. Remmert* (HNO-Klinik UK Lübeck) in seinem Vortrag

über die Defektrekonstruktionen nach Entfernung von Malignomen im Gesichtsbereich. Die chirurgische Resektion als Therapie der Wahl beinhaltet auch die Dekkung der so entstandenen Defekte und die Rekonstruktion funktionell und ästhetisch wichtiger Gewebekomponenten. Im Gesicht finden dabei sowohl die natürlichen Spannungslinien der Haut als auch die verschiedenen ästhetischen Einheiten Berücksichtigung. Je nach Lokalisation, Größe und Tiefe des Defektes stehen dem Chirurgen die Nah- oder Fernlappen oder freie Transplantate zur Rekonstruktion zur Verfügung, wenn eine primäre Naht nicht möglich ist.

Bei Resektionsdefekten im Bereich der Ohrmuschel gelten diese Prinzipien in gleicher Weise, wie *H. Weerda* (HNO-Klinik UK Lübeck) schilderte. Hautdefekte an der Vorderfläche der Ohrmuschel können in der Regel nicht primär verschlossen werden, da die Haut hier auf dem darunterliegenden Knorpelgerüst wenig verschieblich ist. Zumeist werden daher freie Vollhauttransplantate oder regionäre Verschiebe- oder Inselappen erforderlich. Größere Defekte mit Knorpelverlust erfordern zusätzlich die Wiederherstellung mit Rippenknorpel der Haut

Der zweite Vortragsblock über die funktionellen und organischen Stimmstörungen wurde von *M. Hess* (Abt. für Hör-, Stimm- und Sprachheilkunde, UKE Hamburg) eröffnet. In seinem Vortrag über die Differentialdiagnostik und Therapie funktioneller Stimmstörungen wies er daraufhin, dass die Ursache einer funktionellen Dysphonie fast immer aufklärbar ist. Der Einsatz flexibler Laryngoskope ermöglicht hierbei die Inspektion und Beurteilung des Kehlkopfes und der Stimmbänder in physiologischer Stellung. Gründe für eine funktionelle Stimmstörung können konstitutioneller, habituel-ler, phonogener, psychogener oder symptomatischer

Natur sein. *J. Witte* (Abt. für Phoniatrie und Pädaudiologie der HNO-Klinik, UK Lübeck) schilderte anhand von Videosequenzen die Differentialdiagnostik organischer Stimmstörungen, deren Therapie durch *U. Reker* (Abt. Phoniatrie und Pädaudiologie der HNO-Klinik, CAU Kiel) näher erörtert wurde. Er betonte, dass der Nachweis organischer Veränderungen der Stimmlippen nicht im Kurzschluss auch deren operative Abtragung bedeutet. Gerade leichte Reinke-Ödeme mit sekundärer hyperfunktioneller Dysphonie profitieren mehr von einer logopädischen Behandlung als von einer Operation. Auch diejenigen Stimmstörungen, die primär funktioneller Natur sind und erst sekundär organische Veränderungen zeigen, wie z. B. Stimmlippenknötchen und Kontaktpachydermien sollten zunächst logopädisch behandelt werden.

Aus logopädischer Sicht ist die Therapie funktioneller Stimmstörungen laut *D. Fischer* (Abt. für Phoniatrie und Pädaudiologie der HNO-Klinik, UK Lübeck) ein wichtiges Arbeitsgebiet. Sie stellt eine Herausforderung an Kreativität und Einfühlungsvermögen dar, basierend auf fundierten Kenntnissen der Anatomie und Physiologie des stimmgebenden Apparates und verschiedener Wege bzw. Therapieansätze, die den Patienten wieder zu einer suffizienten Stimmgebung führen. Unerlässlich für eine erfolgreiche Therapie sind die Einbeziehung der emotionalen Befindlichkeit des Patienten und dessen Bereitschaft zur aktiven Auseinandersetzung mit sich selbst.

Die 96. Vortragsveranstaltung Schleswig-Holsteinscher Hals-, Nasen-, Ohrenärzte wird im Jahre 2000 ganz im Zeichen der Emeritierung von Prof. Dr. H. Rudert stehen und in Kiel stattfinden.

E. Gehrking und H. Weerda

**Was wir für Sie tun, hat ...**



**...Hand und Fuß**

- ◆ Orthopädie-Technik
- ◆ Rehabilitations-Technik
- ◆ Sanitätshaus
- ◆ Care-Center



**Schütt & Grundei**

Sanitätshaus am Klinikum®

Osterweide 2c

☎ 04 51 / 89 07 - 133

direkt  
gegenüber der  
MUL

# Medizinische Gesellschaft zu Lübeck

Wissenschaftliche Sitzung am 4. Mai 2000-04-28

## Das metabolische Syndrom

Einführung und Moderation:

Prof. Dr. H. L. Fehm, Medizinische Klinik I der MUL

### Molekulare Mechanismen des metabolischen Syndroms und des Energiestoffwechsels

Insulinresistenz und Adipositas sind zentrale Komponenten des metabolischen Syndroms. Die pathophysiologisch relevanten Mechanismen, die zur Assoziation dieser beiden Stoffwechselstörungen führen, sind kaum verstanden. Es gibt gegenwärtig jedoch Hinweise darauf, dass eine genetisch oder auch umweltbedingt veränderte Wirkung des sympathischen Nervensystems auf den Energie- und Insulinstoffwechsel bedeutsam ist. Zur Erforschung molekularer Interaktionen des sympathisch-adrenergen mit dem Insulin-Signalsystem eignet sich insbesondere brunes Fettgewebe. Zum einen ist dieses Gewebe insulin sensitiv und als endokrines Organ mit der Sekretion unter anderem von Leptin wichtig für die Regulation des Energiestoffwechsels, zum anderen ist braunes Fett auch sympathisch reich innerviert und durch Expression des thermoregulatorisch wirksamen „uncoupling protein-1“ (UCP-1) gekennzeichnet. Die Expression dieses mitochondrialen Proteins wird vom  $\beta_3$ -adrenergen Rezeptor kontrolliert und vermittelt die für braunes Fett charakteristische Energieabgabe in Form von Wärme. Der Autor hat eine Methode entwickelt, mit der erstmals aus verschiedenen Knock-out-Mausmodellen – auch solchen perinataler Letalität – Zelllinien mit Differenzierungspotential etabliert werden können. Bisherige Untersuchungen in diesem Modell haben verschiedene Mechanismen aufgedeckt, über die eine Stimulation  $\beta$ -adrenerger Rezeptoren die intrazelluläre Insulin-signalvermittlung hemmt. Auf funktioneller Ebene korrelieren diese molekularen Veränderungen mit einer stark verminderten Insulininduzierten Glukoseaufnahme (Klein J. et al., *J Biol Chem* (1999) 274: 34795-

34802). Andererseits hemmt eine kontinuierliche Insulinstimulation die  $\beta_3$ -adrener gesteuerte Expression des UCP-1 und damit die Energieabgabe (Klein j. et al., *Mol Endocrinol* (2000) im Druck). Es konnten also molekulare Wechselwirkungen gefunden werden, die einerseits Insulinresistenz und andererseits – eventuell reaktiv – eine Entwicklung der Adipositas begünstigende positive Energiebilanz induzieren. Die Kenntnis solcher Mechanismen könnte Grundlage für die Entwicklung einer gezielten Pharmakotherapie sein.

J. Klein

### Das Fishbone-Model des Glucose Metabolismus

Der Setpoint (Sollwert) für die Blutglukose-Regulation verändert sich unter psychologischen und pathophysiologischen Bedingungen: während des Schlaf-Wach-Zyklus, des Fastens, einer Schwangerschaft, nach rekurrierenden Hypoglykämien und bei Adipositas. Im hier vorgestellten mathematischen Modell („Fishbone-Model“) steht die Rolle dieser Setpoint-Setzung im Mittelpunkt.

Glukose ist das wichtigste Energiesubstrat für das Gehirn. Die Glukoseaufnahme ins Gehirn erfolgt insulin-unabhängig, die in Muskel- und Fettgewebe insulinabhängig. Das Grundprinzip in dem beschriebenen Modell ist, dass insulinunabhängige Glukosetransporter und insulinabhängige Glukosetransporter den relativen Anteil an Glukose regeln, welcher vom Gehirn aufgenommen werden kann. Die Glukosekonzentration wird an diversen Stellen im Körper gemessen. Entsprechend sind im „Fishbone-Model“ diese fünf „formalen“ Glukose-Sensoren in Reihe dargestellt. Die Aktivierung jedes dieser fünf Glukose-Sensoren führt zu einer vermehrten Glukoseaufnahme ins Gehirn: (1) durch eine positive exogene Glukosebilanz (2) durch eine endogene Glukoseumverteilung. Blut- bzw. Gehirn-Glukosekonzentration stellen das wesentliche Feedback-Signal dar, weitere Feedback-Signale sind die Hormone Leptin, Insulin und Cortisol.

A. Peters

Die Abstracts der übrigen Vorträge können angefordert werden.

# WER HILFT WEITER?

Schwer heilbare Krankheiten?

(Sexuelle) Gewalt gegen Kinder?

Behinderungen?

Rehabilitation?



## Bundesweite Wegweiser für Eltern und Ärzte

Schwer heilbare Krankheiten und Behinderungen bei Kindern stellen Eltern vor ganz spezielle Herausforderungen, denen sie allein oft nicht gewachsen sind. Deshalb hat das „Kindernetzwerk für kranke und behinderte Kinder und Jugendliche in der Gesellschaft“ unter dem Motto „Wer hilft weiter?“ eine bundesweit einmalige Reihe von Wegweisern herausgebracht, an der sich Eltern bei der Suche nach Hilfe orientieren können. Nach dem im Juni '99 neu aufgelegten bundesweiten Wegweiser über Eltern-Selbsthilfegruppen und dem „Kinder-Rehaführer“ ist nun auch ein Wegweiser zum Thema „(Sexuelle) Gewalt gegen Kinder und Jugendliche – Wer hilft weiter?“ erschienen. Betroffene finden in jedem Band eine ausführliche Zusammenstellung von Initiativen, Einrichtungen und Beratungsstellen mit Beschreibung in Stichworten und Kontaktadressen. Jeder Wegweiser enthält außerdem ein umfassendes Vorwort, das über den aktuellen Diskussionsstand und die Problematik des jeweiligen Themas informiert. Gerade für (Kinder-)Ärzte bietet die Reihe einen sinnvollen Überblick, der bei der Beratung der Patienteltern helfen kann.

**BESTELLEN SIE JETZT!**

**SCHMIDT RÖNHILD** Verlag Schmidt-Römhild, Mengstr. 16, 23552 Lübeck  
FAX: (04 51) 70 31-2 81, Tel. (04 51) 70 31-2 13

Hiermit bestelle/n ich/wir:

\_\_\_\_\_ Expl. Wer hilft weiter? Bd. 1:  
**Chronische Erkrankungen und Behinderungen bei Kindern und Jugendlichen. Ein bundesweiter Wegweiser über (Eltern-) Selbsthilfegruppen**  
ca. 800 Seiten, ISBN 3-7950-1909-5,  
48,- DM/350,- öS/44,50 sFr

\_\_\_\_\_ Expl. Wer hilft weiter? Bd. 2:  
**Einrichtungen der Vorsorge und Rehabilitation für Kinder und Jugendliche (Kinder-Rehaführer). Ein bundesweiter Wegweiser.**  
306 Seiten, ISBN 3-7950-1907-9,  
36,- DM/263,- öS/33,- sFr

\_\_\_\_\_ Expl. Wer hilft weiter? Bd. 3:  
**(Sexuelle) Gewalt gegen Kinder und Jugendliche.**  
**Ein bundesweiter Wegweiser.**  
480 Seiten, ISBN 3-7950-1908-7,  
39,80 DM/291,- öS/37,- sFr

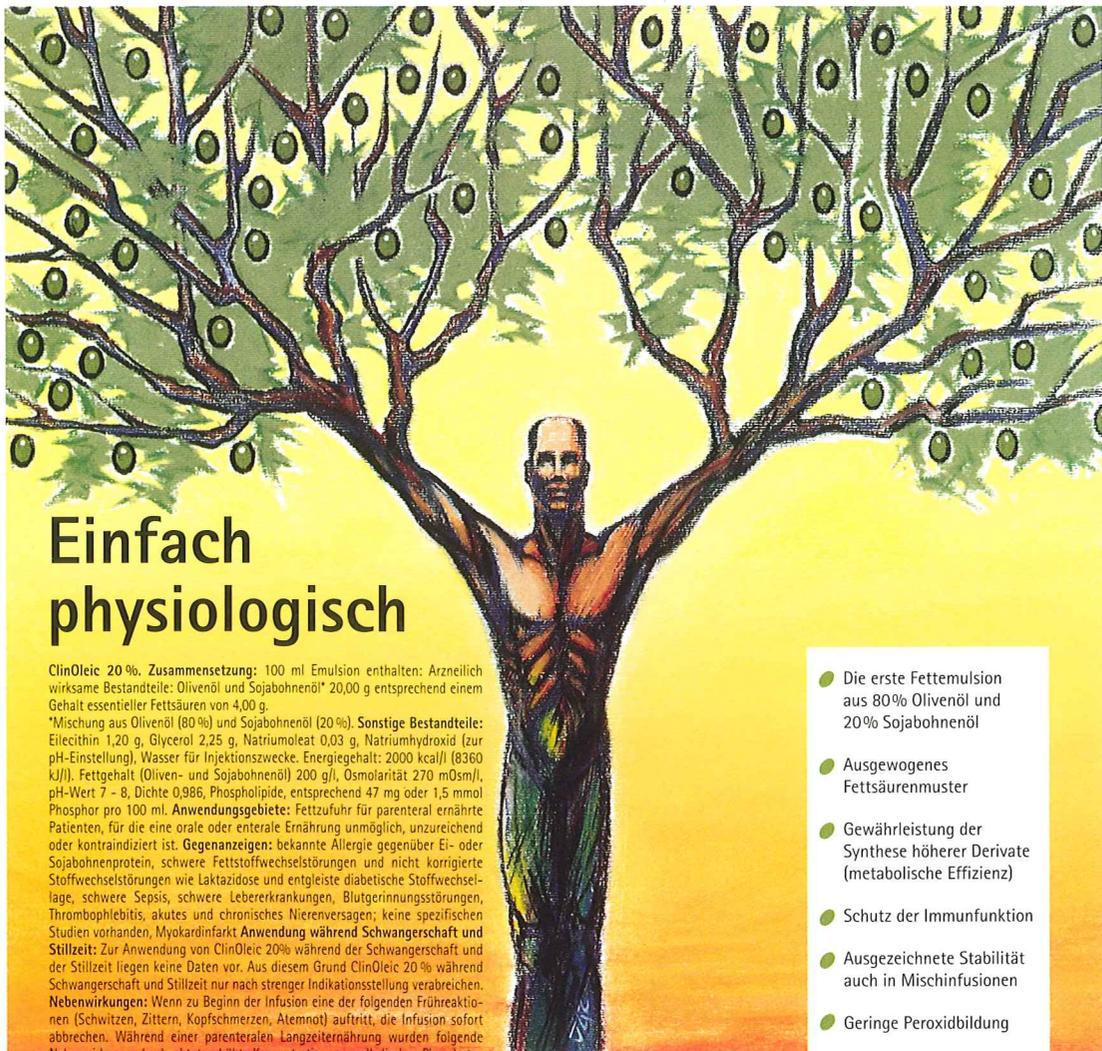
Name/Vorname \_\_\_\_\_

Vorwahl/Telefon \_\_\_\_\_

Straße/Hausnummer \_\_\_\_\_

PLZ/Ort \_\_\_\_\_

Datum/Unterschrift \_\_\_\_\_



## Einfach physiologisch

**ClinOleic 20 %.** **Zusammensetzung:** 100 ml Emulsion enthalten: Arzneilich wirksame Bestandteile: Olivenöl und Sojabohnenöl\* 20,00 g entsprechend einem Gehalt essentieller Fettsäuren von 4,00 g.

\*Mischung aus Olivenöl (80 %) und Sojabohnenöl (20 %). **Sonstige Bestandteile:** Eilecithin 1,20 g, Glycerol 2,25 g, Natriumoleat 0,03 g, Natriumhydroxid (zur pH-Einstellung), Wasser für Injektionszwecke. Energiegehalt: 2000 kcal/l (8360 kJ/l). Fettgehalt (Oliven- und Sojabohnenöl) 200 g/l, Osmolarität 270 mOsm/l, pH-Wert 7 - 8, Dichte 0,986, Phospholipide, entsprechend 47 mg oder 1,5 mmol Phosphor pro 100 ml. **Anwendungsgebiete:** Fettzufuhr für parenteral ernährte Patienten, für die eine orale oder enterale Ernährung unmöglich, unzureichend oder kontraindiziert ist. **Gegenanzeigen:** bekannte Allergie gegenüber Ei- oder Sojabohnenprotein, schwere Fettstoffwechselstörungen und nicht korrigierte Stoffwechselstörungen wie Laktazidose und entgleiste diabetische Stoffwechsellage, schwere Sepsis, schwere Lebererkrankungen, Blutgerinnungsstörungen, Thrombophlebitis, akutes und chronisches Nierenversagen; keine spezifischen Studien vorhanden, Myokardinfarkt **Anwendung während Schwangerschaft und Stillzeit:** Zur Anwendung von ClinOleic 20% während der Schwangerschaft und der Stillzeit liegen keine Daten vor. Aus diesem Grund ClinOleic 20% während Schwangerschaft und Stillzeit nur nach strenger Indikationsstellung verabreichen. **Nebenwirkungen:** Wenn zu Beginn der Infusion eine der folgenden Frühreaktionen (Schwitzen, Zittern, Kopfschmerzen, Atemnot) auftritt, die Infusion sofort abbrechen. Während einer parenteralen Langzeiternährung wurden folgende Nebenwirkungen beobachtet: erhöhte Konzentrationen an alkalischen Phosphatasen, Transaminasen und Bilirubin, selten: Hepatomegalie und Gelbsucht, moderate Thrombozytopenie. Bitte informieren Sie Ihren Arzt oder Apotheker über auftretende Nebenwirkungen, besonders jene, die nicht in der Gebrauchsinformation aufgeführt sind. **Vorsichtsmaßnahmen für die Anwendung und Warnhinweise:** Beim geringsten Anzeichen einer anaphylaktischen Reaktion (wie zum Beispiel Fieber, Frösteln, Hautrötung, Atemnot etc.) die Infusion sofort abbrechen. Plasmatriglyceridspiegel und Plasmatriglyceridclearance täglich messen. Unter laufender Infusion darf die Triglyceridkonzentration im Serum 3 mmol/l nicht überschreiten. Mit der Infusion erst beginnen, wenn die Triglyceridkonzentration im Serum auf den Ausgangswert zurückgegangen ist. Bei intravenöser Langzeit- oder Kurzzeiternährung je nach Gesundheitszustand des Patienten die alkalischen Phosphatasen und das Gesamt-Bilirubin regelmäßig bestimmen. Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes oder Stoffwechselstörungen vor der Verabreichung von ClinOleic 20% korrigieren. Fettemulsionen zusammen mit Kohlenhydraten und Aminosäuren verabreichen, um eine metabolische Azidose zu vermeiden. Blutzucker, Säure-Basen-Haushalt, Elektrolyte, Wasserhaushalt und Blutbild unbedingt regelmäßig überprüfen. Vor dem Gebrauch überprüfen, daß die Emulsion homogen ist und die Flasche keine Risse oder Splitter aufweist.

Pharmazeutischer Unternehmer: Baxter Deutschland GmbH, Edisonstr. 3-4, D-85716 Unterschleißheim, Tel.: (089) 3 17 01-0

- Die erste Fettemulsion aus 80% Olivenöl und 20% Sojabohnenöl
- Ausgewogenes Fettsäurenmuster
- Gewährleistung der Synthese höherer Derivate (metabolische Effizienz)
- Schutz der Immunfunktion
- Ausgezeichnete Stabilität auch in Mischinfusionen
- Geringe Peroxidbildung
- Positiver Einfluß auf den Antioxidantienstatus

Jetzt auch für die  
Pädiatrie

# ClinOleic®

Lösungen & Therapiesysteme

**Baxter**