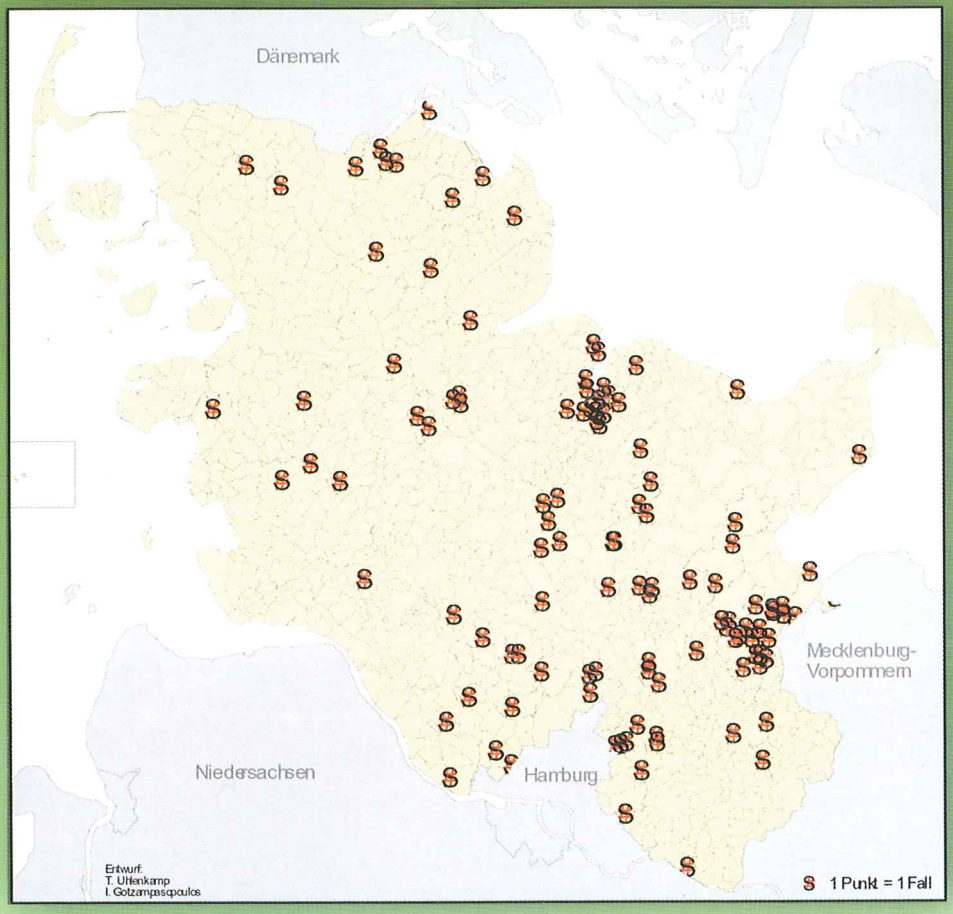
18. Jahrgang · Heft 3 · September 2001 C 5842

FOCUS MUL

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



Hansisches Verlagskontor H. Schefflier · 23547 Lübeck

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.

Schering Diagnostika

Wissenschaft plus Partnerschaft.

http://www.kontrastmittel.de

FOCUS MUL

Zeitschrift für Wissenschaft, Forschung und Lehre an der Medizinischen Universität zu Lübeck
18. Jahrgang – Heft 3 – September 2001

Inhalt

Editorial

Die gentechnische Revolution 140

Das Kolleg

Die Geschichte der Chromosomen – von ihrer Entdeckung bis zum künstlichen Humanchromosom
B. Kunze 142

Originalarbeiten

Die Blutgefäßversorgung der Haut der Palma manus und ihre klinische Bedeutung bei der Operation des Morbus Dupuytren
T. Elsner, U. Schramm, M. Schrader 151

Mechanismen der mütterlich/fetalen Toleranz
A. Kruse, H. Kirchner 155

Bakterielle Superantigene
L. Rink, H. Kirchner 162

Konzentration von Immunglobulinen im Vergleich zu Antikörpern gegen Streptococcus mutans im Speichel von Kindern
R. Göcke, M. Seyfarth 172

Einfluss der Tumorlokalisation, der T-Kategorie und des Differenzierungsgrades von Kopf-Hals-Tumoren auf lokoregionäre Metastasierung
S. Remmert 178

Übersichten

Erste Ergebnisse des Vaskulitis-Registers in Nord- und Süddeutschland
E. Reinhold-Keller, R. Wagner-Bastmeyer, W. L. Gross 187

Aus der Hochschule

Forschung an den Grundlagen des Lebens – Bioethik und Verantwortung
K. L. Kohlwage 192

Personalia, Medizinische Gesellschaft 198

Das Titelbild zeigt die Verteilung gemeldeter Vaskulitis-Fälle (hier: bei Männern) in den Gemeinden Schleswig-Holsteins. Näheres dazu in dem Beitrag „Erste Ergebnisse des Vaskulitis-Registers in Nord- und Süddeutschland" in diesem Focus MUL, S. 187 ff.

Die gentechnische Revolution

Vor etwa 50 Jahren legten der Amerikaner James Watson und der Brite Francis Crick mit der Beschreibung der Doppelhelixstruktur der Desoxyribonukleinsäure (DNS) die Grundlagen zur Entschlüsselung des Genoms, dem Bauplans des Lebens. In den darauf folgenden Jahrzehnten lernten Wissenschaftler die Basenabfolge der DNS nicht nur zu sequenzieren (erste Basensequenzierung 1977), sondern auch gezielt zu manipulieren und für experimentelle Zwecke in Modellorganismen zu übertragen (erste erfolgreiche Plasmidtransfektion in Bakterien 1973). Ein weiterer technischer Durchbruch gelang 1985 mit der Einführung der Polymerasekettenreaktion (PCR) zur nahezu beliebigen Vervielfältigung auch geringster Mengen von DNS. Dies rückte schließlich die Realisierung eines lang gehegten Traumes in greifbare Nähe: Ist das Genom des Menschen erst bekannt, würde man die Ursachen und Entstehung vieler Krankheiten begreifen und durch gezielte Therapieansätze heilen können. Deshalb wurde 1990 das Humangenomprojekt (HGP) zur systematischen Sequenzierung aller 3 Milliarden Basen des menschlichen Genoms am National Institute of Health unter der Leitung von Watson begonnen. Am 15.2.2001 wurde schließlich in der renommierten Wissenschaftszeitschrift „Nature" eine noch vorläufige Sequenz des Humangenoms veröffentlicht. Kurz zuvor hatte jedoch Craig Venter mit seiner Firma Celera den Sieg im Rennen um die erste Humangenomsequenz für sich reklamiert.

Der Streit um den ersten Platz erregte die wissenschaftliche Gemeinde ein geraume Zeit, ging es doch letztlich auch um die wirtschaftliche Ausbeutung dieses Wissens- und Informationsvorsprungs bzw. um die Frage, ob das menschliche Genom freies Eigentum der gesamten Menschheit ist. Diese Auseinandersetzung wird verständlicher, wenn man sich vergegenwärtigt, dass sich in der letzten Dekade eine Biotechnologiebranche entwickelt hat, deren Wachstumspotenzial und Folgen gerne mit der Industrialisierung unserer Gesellschaft verglichen werden. In Deutschland sind, gefördert durch geeignete Rahmenbedingungen, viele „Biotech-Valleys" mit hochqualifizierten Arbeitsplätzen in zumeist jungen „Start-Up"-Unternehmen entstanden. In die börsennotierten Biotech-Unternehmen haben auch viele Kleinanleger ihre Hoffnungen auf schnellen Gewinn gesetzt. Worin begründet sich diese Euphorie?

Schon seit vielen Jahren werden gentechnisch hergestellte Proteine, wie Insulin, erfolgreich vermarktet. Technisch ist es jetzt möglich, nicht nur naturidentische Stoffe rekombinant herzustellen, sondern auch durch maßgeschneiderte Antikörper und Medikamente über neue Therapieansätze beispielsweise zur Vernichtung von Krebszellen zu verfügen. Die Gentherapie, d. h. die Beeinflussung des Zellstoffwechsels durch gezielte Einschleusung zusätzlicher Nukleinsäuren in Zellen menschlicher Organe mit viralen oder virusähnlichen Genfähren, stellt ebenfalls einen neuen Therapieansatz dar, mit dem große medizinische Hoffnungen verknüpft sind. Auch die permanente gentechnische Veränderung natürlicher Eigenschaften von Organismen verspricht ein großes Marktpotenzial. Bakterien, Pflanzen und sogar Nutztiere werden gentechnisch so verändert, dass entweder unerwünschte Eigenschaften wegfallen oder aber nützliche zur Ertragsmaximierung verstärkt werden. Zur Sicherung der wirtschaftlichen Forschungserträge werden die veränderten Organismen patentrechtlich geschützt.

Bei vielen Mitmenschen ruft die bislang ungebremste gentechnische Schöpfungswut ethisch-moralische Bedenken hervor. Sie weisen auch zu Recht darauf hin, dass die Auswirkungen der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen auf die Ökosysteme und den Menschen als letztlich davon abhängigen Teil bislang kaum bekannt sind und nur unzureichend untersucht werden. Die Vorreiter der gentechnischen Revolution sind jedoch sehr ungeduldig, geht es doch neben dem Profit auch um hehre Ziele, wie die Produktion kostengünstiger Medikamente und Erschließung neuer Nahrungsquellen für Milliarden Menschen in der Dritten Welt. Um Nutztiere mit besonderen Eigenschaften unter Umgehung der natürlichen Vermehrungsschranken vervielfältigen zu können, wurde schließlich mit dem Klonen des Schafes Dolly 1997 ein weiterer Meilenstein erreicht. Das Klonen des Menschen wurde allgemein nur als eine Frage der Zeit bei der gegenwärtigen Geschwindigkeit des Fortschritts angesehen. Die breite öffentliche Diskussion der ethischen Grenzen des gentechnisch und medizinisch Machbaren hat jedoch nicht schon damals, sondern erst jetzt, im Gefolge der Veröffentlichung des Humangenoms, ernsthaft begonnen.

Angesichts dieser Entwicklungen und der Berichterstattung in den Medien hat der Betrachter bisweilen den Eindruck, dass mit der Erschließung des Humangenoms Pandora's Büchse erneut geöffnet wurde und Orwell's Visionen in Kürze vollständig realisiert werden. Dies entspricht glücklicherweise nicht den Tatsachen, denn die Entschlüsselung des Humangenoms hat auch Überraschendes zutage gefördert, das nachdenklich und respektvoller machen sollte. Die Genomsequenz allein ist so verständlich wie ein Zeitungsartikel

ohne Leer- und Satzzeichen. Nur ein geringer Teil der Sequenz scheint eine erkennbare Funktion zu besitzen und Proteine, die eigentlichen Bausteine des Lebens, zu kodieren. Die Zahl dieser Gene ist, in Anbetracht der Vielfalt der Merkmale der Individuen, deutlich geringer als bisher angenommen. Das übrige Genom scheint im Lauf der Evolution größtenteils „sinnlosen Sequenzmüll" angehäuft zu haben.

Speziesvergleichende Untersuchungen deckten zudem nur geringe Unterschiede zwischen dem Genom des Homo sapiens und dem seines nächsten Verwandten, den Menschenaffen, auf. Die Vielfalt des Lebens scheint vielmehr in der Vielfalt der Proteine begründet. Die Gesamtheit aller Proteine einer Zelle wird in Anlehnung an den Begriff Genom als Proteom bezeichnet. Bevor ein Protein, das von einem Gen kodiert wird, innerhalb oder außerhalb einer Zelle seinen Zielort erreicht und seine Funktion aufnimmt, erfährt es eine Reihe von Modifikationen, die wiederum von vielen weiteren Genen bestimmt werden. Neben der Funktion eines Proteins können auch seine Interaktionspartner und sein Abbau verändert sein und dadurch krank machen. Das Proteom weist also im Vergleich zum Genom eine deutlich größere Vielfalt auf und bestimmt letztlich die Eigenschaften und Funktion einer Zelle. Die Entstehung von Krankheiten ist daher auch deutlich komplexer als bislang angenommen.

Daher wendet sich die internationale Forschergemeinde nach der Humangenomsequenzierung jetzt zunehmend der funktionellen Genom- und Proteomforschung in der zweiten Phase des Humangenomprojekts zu. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung trägt dieser Entwicklung Rechnung und legte ein Programm zur Errichtung eines Nationalen Genomforschungsnetzwerks zur Gesundheitsforschung auf. Im Verbund sollen Kompetenznetze an Universitäten und grundlagenorientierte Großforschungseinrichtungen fünf große Krankheitsgebiete erforschen. Gefördert wird insbesondere die funktionelle Genomforschung mit modernsten Hochdurchsatztechniken, die für das Humangenomprojekt entwickelt wurden. Die Universitäten Kiel und Lübeck konnten sich erfolgreich bewerben. Im Schwerpunkt Herz/Kreislauf-Forschung wurde neben den Standorten Berlin, Göttingen und München auch die Medizinische Universität zu Lübeck berücksichtigt.

Ein Team von Wissenschaftlern um Prof. Katus und Prof. Schwinger erhielt eine Förderung in Höhe von DM 5,79 Millionen für ein Projekt zur Erforschung der Ursachen und Mechanismen angeborener Herzfehlbildungen und Herzmuskelerkrankungen mit eingeschränkter Pumpfunktion. Dieses Team setzt sich aus Ärzten, Biologen, Doktoranden und technischem Assistenzpersonal der Medizinischen Klinik II, des Instituts für Humangenetik, der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, dem Forschungszentrum Borstel sowie Mitarbeitern von Max-Planck-Instituten und dem Deutschen Krebsforschungszentrum, DKFZ, zusammen.

Ziel dieses Projekts ist es, bei Patienten mit klinisch gut charakterisierter Herzmuskelerkrankung zunächst möglichst die krankheitsverursachende Mutation bzw. andere Sequenzvariationen bei bestimmten Genen mit Bedeutung für entzündliche Prozesse und Herzmuskelentwicklung zu identifizieren. Anschließend soll der Funktionszustand des Genoms, sog. Genexpressionsmuster, bei diesen Patienten mit Hilfe modernster Biochiptechnologie festgehalten werden. Die Mutationen bzw. Genomvariationen werden mit dem klinischen Beschwerdebild und diesen Genexpressionsmustern in Beziehung gesetzt, um krankheitsverursachende Prozesse auf molekularer Ebene verstehen zu können. Die Bedeutung der gefundenen Beziehungen wird durch vergleichende Untersuchungen an Normalkollektiven bzw. an Tiermodellen erhärtet.

Besonders interessant erscheint die Zielsetzung, durch Entwicklung eines diagnostischen „Herz-Chips" auch einer größeren Zahl von Patienten eine molekulargenetische Diagnosestellung und Prognoseabschätzung zu ermöglichen. Mit experimenteller Genetik und Familienuntersuchungen sollen zudem neue, bislang unbekannte Gene für die Entwicklung von Herzfehlbildungen und –muskelschwächen gefunden werden.

B. Ivandic, H. A. Katus, E. Schwinger

Aus dem Institut für Biologie (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Enno Hartmann) der Medizinischen Universität zu Lübeck

Die Geschichte der Chromosomen – von ihrer Entdeckung bis zum künstlichen Humanchromosom*

B. Kunze

Zusammenfassung

Die Erbsubstanz DNA liegt im Zellkern nicht isoliert vor, sondern ist mit Proteinen assoziiert. Beide Molekülgruppen bilden zusammen das Chromatin, welches wiederum die Chromosomen aufbaut. Auf diesen Chromosomen liegen die wichtigen Erbinformationen, die Gene, aufgereiht wie Perlen auf einer Kette. Die Erforschung der Chromosomen wurde im 19. Jahrhundert u. a. dadurch erschwert, dass diese kompakten Strukturen nur während der Kernteilung mikroskopisch zu erkennen sind. In den übrigen Phasen des Zellzyklus ist das Chromatin diffus im Zellkern verteilt. Chromosomen können mit verschiedenen Techniken angefärbt werden, die eine Identifizierung und Strukturanalyse ermöglichen. Solche Techniken finden besonders in der Pränatal- und in der Tumordiagnostik Anwendung. Die moderne Technik der in-situ Hybridisierung ermöglicht es, die Lokalisation einzelner Gene auf den Chromosomen zu untersuchen. Seit der Etablierung von künstlichen Chromosomensystemen ist die Klonierung sehr großer DNA-Strecken möglich, was eine enorme Bedeutung für die Projekte zur Sequenzierung vollständiger Genome hat.

Geschichte der Genetik

Die Genetik als wissenschaftliche Disziplin wurde durch den Augustinerpater Gregor Mendel (1822-1884) begründet. In den nach ihm benannten Vererbungsregeln beschreibt er den Vererbungsmodus im dominant-rezessiven Erbgang. Seine Ergebnisse erschienen im Jahr 1866 unter dem Titel „Versuche über Pflanzenhybride" in den Veröffentlichungen des naturforschenden Vereins Brünn. Manche der dort beschriebenen Ergebnisse hatten andere schon vor ihm beobachtet, aber keiner hatte die Ergebnisse bis dahin derart klar und präzise formuliert. Sein Verdienst ist es, dass er sich bei seinen Untersuchungen auf einige wenige distinkte Merkmale beschränkte, z. B. Samenfarbe und -form bei der Erbse. Das Besondere bei seinen Experimenten war die Größe der Stichprobe; er untersuchte für jedes Experiment hunderte von Pflanzen bzw. tausende von Samen. Die Ergebnisse wertete er dann statistisch aus.

Die Bedeutung seiner Untersuchungen wurde zum Zeitpunkt der Veröffentlichung allerdings nicht erkannt; seine Befunde gerieten vielmehr in Vergessenheit und wurden erst 34 Jahre später, im Jahr 1900, durch die Botaniker C. E. Correns, E. von Tschermak und H. de Vries wiederentdeckt.

Es gibt wohl mehrere Gründe, warum Mendels Ergebnisse zunächst nicht entsprechend gewürdigt wurden: (i) eine mathematische Beschreibung biologischer Prozesse war Mitte des 19. Jahrhunderts gänzlich ungewöhnlich. Man war vielmehr der Meinung, biologische Vorgänge seien viel zu komplex, um sie mathematisch zu erfassen. (ii) Mendels wichtiger Publikation (s. o.) folgte keine weitere, was wohl u.a. daran gelegen hat, dass er im Jahre 1868 Abt des Augustiner-Klosters in Brünn wurde und die administrativen Aufgaben ihm keine Zeit mehr zum Publizieren ließen. Ein Phänomen, das uns auch heute noch geläufig ist! Darüber hinaus ließen sich seine, an Erbsen und Bohnen gewonnenen Erkenntnisse, an einer weiteren Art, dem Habichtskraut, auf Grund einer speziellen, cytoplasmatischen Eigenschaft nicht reproduzieren. (iii) Mendel gebrauchte in seiner Veröffentlichung die Termini Erbmerkmale bzw. Erbfaktoren. Die zellulären Korrelate zu diesen Begriffen, die wir heute als Chromosomen oder Gene bezeichnen würden, waren damals noch nicht als solche bekannt. Dies hat mit Sicherheit auch dazu beigetragen, dass Mendels Ergebnisse nicht entsprechend gewürdigt wurden. Obwohl Chromosomen schon beschrieben worden waren, wurde ihre Bedeutung nicht erkannt bzw. falsch eingeschätzt.

Als einer der Ersten hatte der Schweizer Botaniker Carl Nägeli (1817-1891) seine Beobachtungen zu Kern- und Zellteilungen bei der Lilie veröffentlicht. 1842 be-

* Antrittsvorlesung vor der Technisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Medizinischen Universität zu Lübeck, 21. Juni 2001

schrieb er, dass der Inhalt der Zellkerne bei der Kernteilung auf die Tochterkerne verteilt würde. Damit beschrieb er schon Chromosomen, nannte sie aber „transitorische Zytoblasten".

Der Gießener Zoologe Anton Schneider beschrieb 1873 erstmals detailliert die Kernteilung am Beispiel der Plattwürmer. Er beobachtete dabei „Fäden", die in einer bestimmten Weise auf die Tochterzellen verteilt werden. Auch seine Veröffentlichung fand keine entsprechende Würdigung, was wohl – wie wir heute sagen würden – am mangelnden „Impactfactor" des gewählten Journals lag; er veröffentlichte in den „Jahrbüchern der oberhessischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde".

Der Begriff *„Chromosom"* fand erst 1888 durch den Anatomen Heinrich Wilhelm Gottfried Waldeyer (Abb. 1) Eingang in die Literatur (25). Er meinte damit jene Strukturen im Zellkern, die andere vor ihm schon als Fäden, Schleifen, Segmente oder Elemente bezeichnet hatten. Den Terminus Chromosom leitete er ab von den griechischen Worten *Chromos* (Farbe) und *Soma* (Körper). Chromosom bedeutet damit streng übersetzt Farbkörper oder gefärbter Körper.

Aus dem Leben Waldeyers gibt es aber auch anderes Interessantes zu berichten. Nach Stationen in Breslau und Straßburg erhielt Waldeyer 1883 den Ruf auf den Lehrstuhl für Anatomie an der königlichen Universität Berlin (heute Humboldt-Universität). Er richtete dort einen Anatomiekurs mit 100 Mikroskopierplätzen ein, ein absolutes Novum für die damalige Zeit. Waldeyer war ein engagierter akademischer Lehrer; dennoch sprach er sich gegen die Zulassung von Frauen zum Medizinstudium aus. Er fand es unschicklich, dass Frauen anatomische Studien an Leichen vornehmen. Ab 1908 wurden auch Frauen zum Medizinstudium zugelassen und wurden natürlich auch von Waldeyer unterrichtet. Er führte allerdings getrennte Kurse für männliche und weibliche Studierende durch. Ihm war nämlich in den ersten gemeinsamen Veranstaltungen aufgefallen, dass nicht mehr die gesamte Aufmerksamkeit auf den Dozenten fokussiert war (H. Zacharias pers. Mitteilung, 31).

Als Begründer der „Chromosomentheorie der Vererbung" gilt der deutsche Zoologe, Cytogenetiker und Embryologe Theodor Boveri (1862-1915, Abb. 2). Er hatte mit dem Spulwurm *Ascaris* ein optimales Untersuchungsobjekt gefunden, da dieser nur über 4 Chromosomen verfügt und die Kernteilungsfiguren damit sehr überschaubar sind. Er stellte fest, dass in jeder Generation immer wieder die gleichen Chromosomenfiguren auftreten und postulierte daraufhin die Konstanz der Chromosomenzahl. Er stellte darüber hinaus

Abbildung 1: Wilhelm Gottfried Waldeyer (1836-1921) (Quelle: Photographien-Album der Curatoren, Professoren, Docenten und Beamten der königlichen Universität Breslau; Universitet Wroclawski; Biblioteka)

Abbildung 2: Theodor Boveri (1862-1915)

den Zusammenhang zwischen Mendels Erbmerkmalen und den Chromosomen her. Erstaunlicherweise veröffentlichte er schon 1914 seine Vermutung, dass Veränderungen in der Chromosomenstruktur für die Entstehung von Tumoren verantwortlich sein könnten (3).

Der Genetiker Thomas Hunt Morgan (1866-1945) führte 1907 die Fruchtfliege *Drosophila* als Untersuchungsobjekt in die Genetik ein. Mit Hilfe von Kreuzungsexperimenten wies Morgan die lineare Anordnung der Gene (Mendels Erbmerkmale) auf den Chromosomen nach. Basierend auf Rekombinationsereignissen während der Meiose (Reifungsteilung bei der Gametenbildung) ermittelte er den relativen Abstand der Gene zueinander. 1911 veröffentlichte er die erste Chromosomenkarte von *Drosophila*. Ihm zu Ehren wird der genetische Abstand zwischen Genen in Morgan (M) angegeben.

DNA-Verpackung im Zellkern

In den Körperzellen der meisten höheren Eukaryonten (Organismen mit einem Zellkern) befindet sich im Kern ein doppelter (diploider) Chromosomensatz. Er entsteht bei der Verschmelzung von Eizelle und Samenzelle, die jeweils einen einfachen (haploiden) Chromosomensatz besitzen. Reiht man die 3 Milliarden Basenpaare des menschlichen Genoms hintereinander auf, so ergibt sich ein DNA-Faden von einem Meter Länge. Im diploiden Satz also 2 x 1 Meter. Dieser DNA-Faden ist in mehrere kleinere Stücke unterteilt. Die DNA liegt im Zellkern nicht nackt vor, sondern ist mit Proteinen assoziiert. Die Proteine dienen dem Schutz der DNA, der Regulation der Genaktivität und besonders auch der DNA-Verpackung bzw. Komprimierung. Trotz ihrer starken negativen Ladung müssen die zwei Meter DNA auf kleinstem Raum im Zellkern untergebracht werden (der Durchmesser eines Zellkerns beträgt etwa 10 Mikrometer). Die negativ geladene DNA-Doppelhelix ist um ein Oktamer aus basischen Histonproteinen gewunden (11nm-Faden in Abb. 3). Die weitere Komprimierung erfolgt durch eine mehrstufige Spiralisierung, an der vielfältige Proteine beteiligt sind. Insgesamt erfolgt die Verkürzung des DNA-Fadens im Verhältnis 10.000 : 1. Befindet sich eine Zelle nicht in der Teilungsphase, so ist die DNA diffus im Zellkern verteilt (700nm-Faden in Abb. 3). Um während der Kernteilung (Mitose) eine korrekte Aufteilung der DNA auf die Tochterkerne (bzw. -zellen) zu ermöglichen, wird die DNA unmittelbar vor der Teilung noch um eine weitere Stufe komprimiert. Die daraus resultierenden kompakten Chromosomen (unterste Zeile in Abb. 3) sind optimale Transporteinheiten und sind mit einfachen lichtmikroskopischen Techniken gut zu analysieren. Für die Untersuchung am besten geeignet sind Chromosomen aus der mittleren Phase der Mitose (Metaphase). In dieser Phase sind die

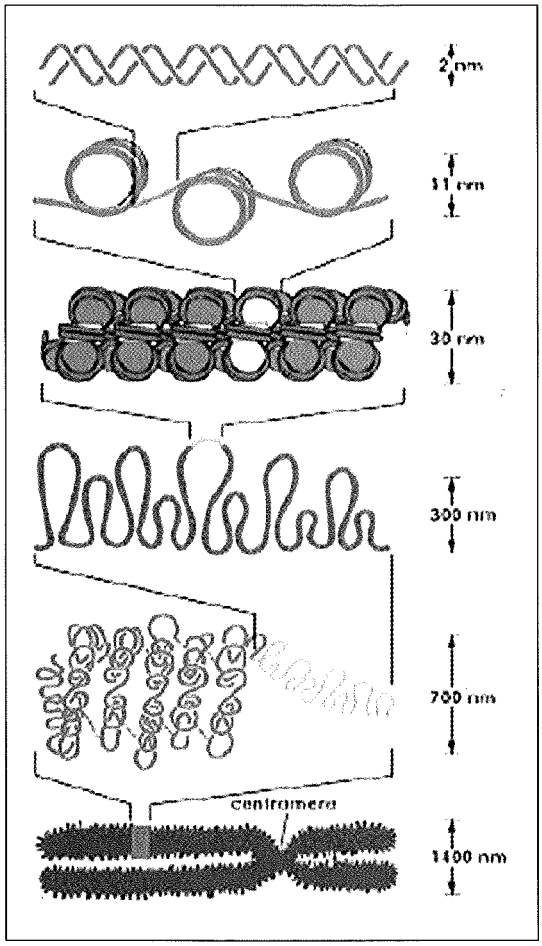


Abbildung 3: Mehrstufige DNA-Komprimierung - von der DNA-Doppelhelix (2 nm Faden) zum Metaphasechromosom (1400 nm Struktur) (Quelle – http://www.infobiogen.fr/services/chrom-cancer/index.html)

Chromosomen maximal kondensiert (verkürzt) und ordnen sich nach Auflösung der Kernmembran in der so genannten Äquatorialebene der Zelle an.

Chromosomenstruktur

Die Struktur eines solchen Metaphasechromosoms zeigt schematisch Abbildung 4. In dieser Phase besteht das Chromosom aus zwei identischen Hälften, den Schwesterchromatiden, in denen jeweils eine durchgehende DNA-Doppelhelix verläuft. An den Enden der Chromatiden befinden sich besondere Strukturen, die Telomere. In diesem Chromosomenbereich ist die DNA nur wenig komplex, man findet dort keine Gene. Statt dessen befinden sich im Telomerbereich kurze, meist Guanin-reiche Oligonukleotidsequenzen, in vielfacher direkter Wiederholung. Beim Menschen

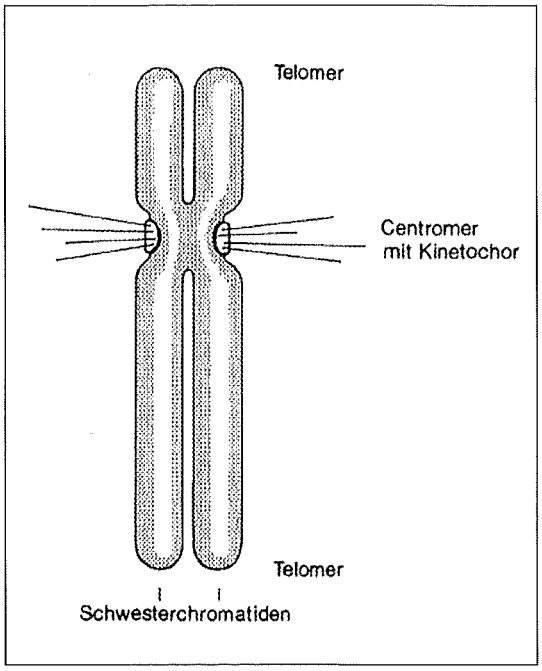


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Metaphase-Chromosoms (22)

handelt es sich um das Sequenzmotiv TTAGGG. An diese speziellen DNA-Sequenzen binden wiederum spezifische Proteine, so dass eine besonders stabile Chromatinstruktur ausgebildet wird (zur Übersicht: 2, 16). Ihre Aufgabe ist der chemische und mechanische Schutz der Chromosomenenden. Telomere sind damit Schutzkappen vergleichbar, die auf jedes Chromosomenende aufgesteckt sind. Geht ein Telomer z. B. durch den Bruch einer Chromatide verloren, so wird

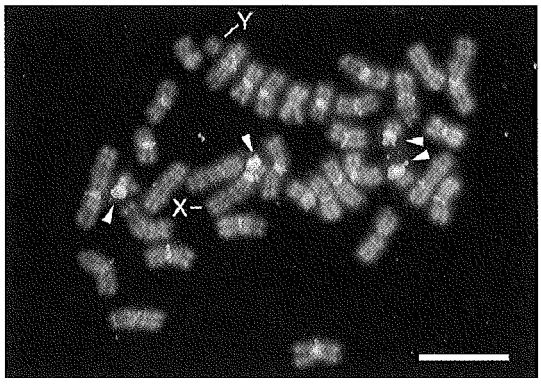


Abbildung 5: Fluoreszenz in-situ Hybridisierung an centromerischer DNA der Stachelmaus Acomys dimidiatus. X,Y-Geschlechtschromosomen, Pfeilköpfe markieren kleine, akrocentrische Chromosomen, Maßstab: 10 µm (12)

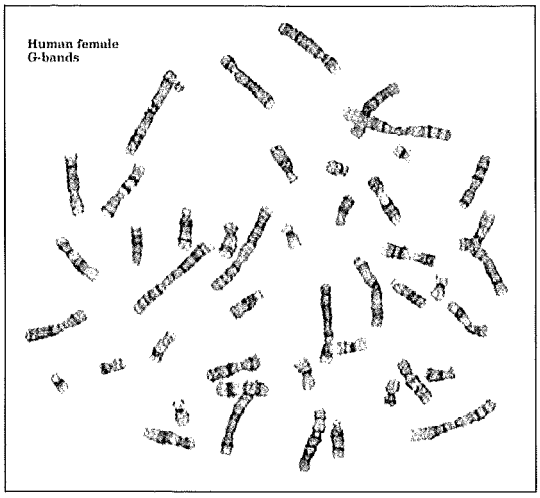


Abbildung 6: G-gebänderte Chromosomen einer Frau (Quelle – http://www.pathology.washington.edu/cytogallery/Images/

das ungeschützte Ende instabil; es wird zugänglich für DNA-abbauende Enzyme (Nukleasen) und hat die Tendenz, mit anderen Chromosomensegmenten zu verkleben. Darüber hinaus spielen die Telomere noch eine wichtige Rolle bei der vollständigen Verdopplung der DNA (Replikation) an den Chromosomenenden. Insgesamt ist das Vorhandensein ausreichend langer Telomere eine essentielle Voraussetzung für die Stabilität aller linearen Chromosomen.

Ein weiteres wichtiges Strukturelement ist das Centromer (Abb. 4). Auch hier befinden sich kurze, genfreie DNA-Abschnitte, die sich durch einen hohen Repetitionsgrad auszeichnen (zur Übersicht: 12). Während der Metaphase ist diesem Chromosomenbereich ein dreischichtiger, plattenartiger Proteinkomplex, der Kinetochor, aufgelagert. An diesem setzen die Mikrotubuli des Spindelapparates an (in Abb. 4 als waagerechte Striche gekennzeichnet). Durch ihre kontinuierliche Verkürzung üben die Mikrotubuli einen Zug auf die Schwesterchromatiden aus, so dass diese schließlich getrennt und zu den gegenüberliegenden Zellpolen gezogen werden. In Abbildung 5 sind die Centromere der Stachelmaus *Acomys dimidiatus* mit einer spezifischen Technik (FISH, s. u.) dargestellt. Ohne funktionsfähige Centromere können die Chromosomen nicht korrekt auf die Tochterzellen verteilt werden und die Konstanz des Genoms ist nicht gewährleistet.

Chromosomenpräparation

Um Chromosomen in ausreichend guter Qualität präparieren zu können, mussten verschiedene Techniken etabliert werden. Zunächst mangelte es an entsprechendem Zellmaterial. Bis in die 50er Jahre benutzte

man Paraffinschnitte oder Quetschpräparate. Da die Zellkulturtechnik noch nicht etabliert war, verwendete man häufig auch Zellmaterial aus Hodenbiopsien. Durch das intensive Zellteilungsgeschehen bei der Spermienentwicklung ist dieses Material besonders gut für die Chromosomenpräparation geeignet. Nach der Etablierung der Zellkulturtechnik stand zwar ausreichend Zellmaterial zur Verfügung, aber die Metaphasechromosomen waren von schlechter Qualität. Meistens lagen sie in den Präparaten wirr durcheinander, über- und untereinander, so dass man nicht einmal die Zahl der menschlichen Chromosomen mit Sicherheit bestimmen konnte. Bis 1920 schwankten die Schätzungen zwischen 8 und 50 Chromosomen im diploiden Satz. Anfang der 50er Jahre reichten die Schätzungen immerhin noch von 46-48 pro Zelle. Es gab auch Autoren, die für das männliche Geschlecht 47 Chromosmen und für das weibliche 48 Chromosomen postulierten (29).

Dieses dunkle Zeitalter der Cytogenetik wurde erst durch den Fehler einer technischen Assistentin im Labor von T.C. Hsu beendet. Ihr unterlief ein Verdünnungsfehler beim Ansetzen einer Lösung. Infolgedessen hatte diese Lösung nicht mehr den physiologischen Salzgehalt, sondern war hypoton; d.h. ihr Salzgehalt war niedriger als in den Zellen. Beim Inkubieren von Zellen in hypotoner Lösung strömt, bedingt durch Osmose, Wasser in die Zellen ein. Wenn diese maximal gequollenen Zellen dann mechanisch beansprucht werden, z. B. durch Auftropfen oder Quetschen, zerreißt die Zellmembran und die Chromosomen werden großflächig auf dem Objektträger verteilt (die Kernmembran ist während der Mitose abgebaut). Basierend auf dieser optimierten Technik, die auch eine Anreicherung der mitotischen Zellen in Lymphozytenkulturen beinhaltet, wurde die Zahl der menschlichen Chromosomen erst 1956 exakt mit 46 (diploider Satz) bestimmt (7, 20, zusammengestellt in 8). Diese Technik ist inzwischen so gut etabliert, dass im Biologiepraktikum, das von unserem Institut veranstaltet wird, alle Studierenden ein eigenes Chromosomenpräparat anfertigen können.

G-Banden Färbung

Um die Chromosomen innerhalb einer Zelle individuell erkennen zu können, werden unterschiedliche Färbetechniken angewendet. Eine der bekanntesten ist die Giemsa bzw. G-Banden-Färbung. Diese Technik erzeugt bei Chromosomen höherer Wirbeltiere ein Muster aus dunklen (positiven) und hellen (negativen) G-Banden. Dabei zeigt jedes Chromosomenpaar ein individuelles Bänderungsmuster, ähnlich einem Strichcode, mit dem Preise kodiert werden (Abb. 6). Die unterschiedliche Anfärbbarkeit einzelner Chromosomenabschnitte zeigt, dass die Qualität der DNA-Sequenz bzw. die daraus resultierende Proteinverpackung entlang einer Chromatide nicht homogen ist. Im Bereich der dunklen G-Banden ist z. B. der prozentuale Anteil der Nukleotide Adenin und Thymidin erhöht, hier befinden sich auch gehäuft solche Gene, die nur in bestimmten Geweben exprimiert werden (6).

Karyogramm-Erstellung

Anhand von Größe, Form und Bandenmuster lassen sich die Chromosomen in einer bestimmten Weise zu einem Karyogramm anordnen. Abbildung 7 zeigt den

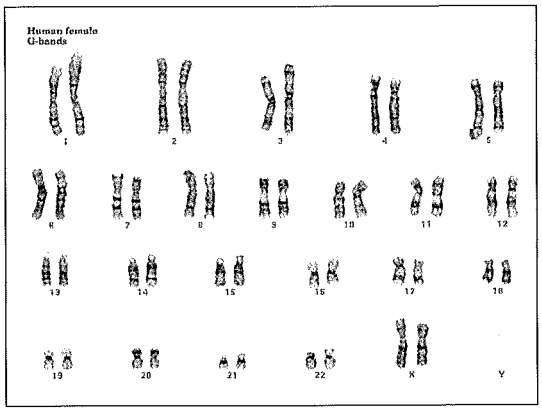


Abbildung 7: G-gebändertes Karyogramm einer Frau (Quelle - http://www.pathology.washington.edu/cytogallery/Images/

G-gebänderten Karyotyp einer Frau, zu erkennen an den beiden X-Chromosomen. Die 22 Nicht-Geschlechtschromosomen (Autosomen) Paare werden gemäß einer internationalen Übereinkunft auf der Chromosomenkonferenz in Denver 1960 in einem solchen Karyogramm nach ihrer Größe angeordnet. Das größte Chromosom erhält die Nummer 1, das kleinste autosomale Chromosom die höchste Nummer. Neben der unterschiedlichen Größe sind auch unterschiedliche Formen zu erkennen (Abb. 7); so liegt z. B. das Centromer, zu erkennen an der Einschnürung, bei einigen Chromosomen mittig (Nr. 1-3, metazentrisch), bei anderen zu einem Ende hin verschoben (Nr. 4 und 5, submetazentrisch) oder nahezu ganz am Ende (Nr. 13-15, akrocentrisch).

Die Erstellung solcher Karyogramme ist wichtig für die Pränataldiagnostik, um schon während der Schwangerschaft Chromosomenanomalien feststellen zu können. Da es verschiedene Chromosomenanomalien gibt, die sich durch das Vorhandensein eines jeweils anderen überzähligen Chromosoms auszeichnen, ist es nicht ausreichend, lediglich die Zahl der Chromosomen zu bestimmen; das überzählige Chromosom muss auch identifiziert werden. Die bekannteste und häufigste numerische Chromosomenmutation ist das Down-Syndrom, die Trisomie 21.

Häufig sind die beiden Chromosomen eines Paares nicht ganz identisch gefärbt (z. B. Chromosom 1 in

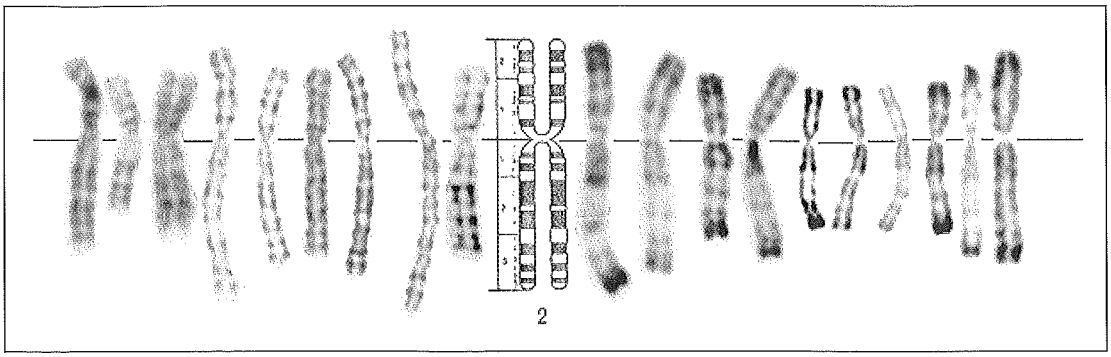


Abbildung 8: Variable Bänderungsmuster des humanen Chromosoms 2. Links: Nach G-Banden Färbung; Mitte: Schematisches G-Banden Muster; rechts: Nach R-Banden Färbung (Quelle - http://www.infobiogen.fr/services/chrom-cancer/index.html)

Abb. 7). Extreme Variabilitäten des menschlichen Chromosoms 2 zeigt Abbildung 8. Innerhalb einer Färbung sind die Muster im Prinzip ähnlich, zeigen jedoch starke individuelle Schwankungen. Diese Variabilität wird u. a. durch den unterschiedlichen Kondensationsgrad der Chromosomen verursacht. Je weiter die Chromosomen in der Mitose fortgeschritten sind, umso kürzer werden sie, was optisch zu einer Verschmelzung der G-Banden führt. Karyogramme mit insgesamt 200-400 G-Banden sind diagnostisch gut auswertbar. Durch diese unvermeidbare Variabilität wird eine computergestützte Karyotyp-Analyse erschwert. Eine vorläufige Chromosomenanalyse, also ein erstes Vorsortieren, kann inzwischen mit dem Computer durchgeführt werden. Für die endgültige Analyse oder zur Entscheidung unklarer Fälle ist das Auge eines erfahrenen Cytogenetikers derzeit aber nicht zu ersetzen.

Beschränkt man sich bei der Analyse allerdings auf die Parameter Größe und Form (was für die humangenetische Diagnostik jedoch nicht ausreichend ist), so ist dies ein etabliertes Feld für die elektronische Mustererkennung. Bei der syntaktischen Mustererkennung wird jedem Formelement des Chromosoms ein bestimmter Buchstabe zugeordnet. Wird dann der Umriss des Chromosoms abgescannt, so ergibt sich eine Buchstabenfolge –eine Grammatik –, die die Form des Chromosoms gut beschreibt.

Bei der Analyse von Karyotypen können nicht nur veränderte Chromosomenzahlen diagnostiziert werden, sondern auch veränderte Chromosomenstrukturen, z. B. Translokationen. Dabei handelt es sich um den Austausch von Chromosomenstücken. In Abbildung 9 sind verschiedene G-Bänderungen einer Translokation t(1;3) gezeigt. Diese Mutation wird verursacht durch einen Bruch im unteren (langen) Arm des Chromosoms 3. Das entstandene Bruchstück ist mit dem oberen (kurzen) Arm des Chromosoms 1 fusioniert. Finden solche Bruchereignisse in Genen statt oder beeinflussen sie den regulatorischen Bereich eines Gens, haben sie meist pathologische Folgen. Die gezeigte Translokation ist z. B. ursächlich an der Ausbildung einer bestimmten Leukämieform beteiligt.

Sp100-rs Gencluster

Die Analyse gebänderter Chromosomen kann aber auch zu interessanten Zufallsbefunden führen. Vor einigen Jahren wurden in unserem Institut Chromosomen 1 der Hausmaus entdeckt, die deutlich länger waren als das entsprechende Standardchromosom. Bei diesen verlängerten Chromosomen ist ein zusätzliches Chromosomensegment im proximalen Bereich der hellen G-Bande D inseriert (Abb. 10). Dieser zusätzliche Bereich erscheint nach G-Banden-Färbung homogen und intermediär gefärbt. Es handelt sich somit um eine „homogeneously staining region", eine HSR. Solche

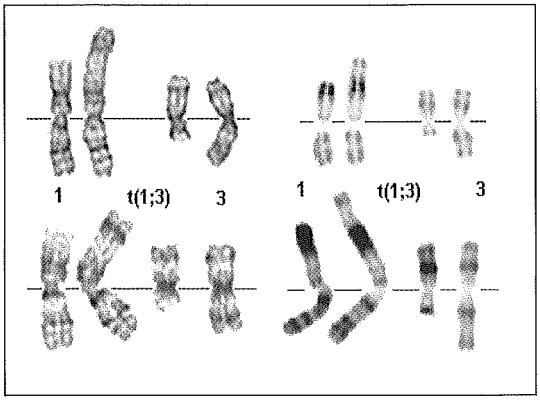


Abbildung 9: Translokation t(1;3) im humanen Genom. Links: Standardchromosom 1; Mitte: die beiden Translokations-Chromosomen; rechts: Standardchromosom 3 (Quelle - http://www.infobiogen.fr/services/chrom-cancer/index.html)

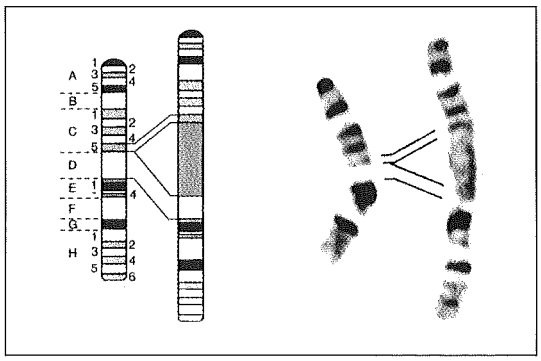


Abbildung 10: G-Bandenmuster eines Standardchromosoms 1 der Hausmaus und eines entsprechenden Chromosoms mit D1Lub1-HSR (21)

HSRs sind bekannt von einigen Tumoren und von Drogen-resistenten Zellen (zur Übersicht: 30). In diesen Fällen entstehen die HSRs in Somazellen (Nicht-Keimbahnzellen) und können somit nicht vererbt werden. Die HSR auf dem Chromosom 1 der Hausmaus wird hingegen weitgehend stabil vererbt. Gemäß ihrer Lokalisation und dem Ort ihrer Erstbeschreibung trägt die Maus-HSR in allen Chromosomenkarten der Maus die Bezeichnung D1Lub1. Alle derzeit beschriebenen HSRs enthalten amplifizierte, geclusterte DNA-Sequenzen, d.h. Bereiche, in denen bestimmte Sequenzen in vielfacher, direkter Wiederholung aufeinander folgen. In den erwähnten Tumor-HSRs sind dies z.B. die Oncogene *cKi-ras* oder *c-myc*.

Die Arbeitsgruppe „Maus" im Institut für Biologie hat sich in den vergangenen Jahren intensiv mit der Gen- und Chromatinorganisation, der Expression, der Entstehung und Evolution der D1Lub1-HSR beschäftigt. Dieses zusätzliche Chromosomen-Segment enthält das amplifizierte Sp100-rs (Sp100 related sequence) Gen. Bei diesem Gen handelt es sich um eine chimäre Sequenz, die vor ca. 2,5 Millionen Jahren durch ein Deletions-/Fusionsereignis aus zwei unabhängigen Genen

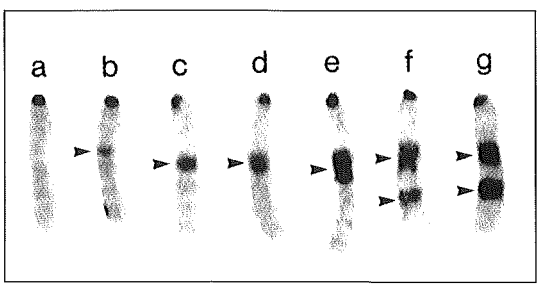


Abbildung 11: C-gebänderte Chromosomen 1 der Hausmaus. Angefärbt sind jeweils die terminalen Centromere sowie D1Lub1-Cluster unterschiedlicher Größe (11)

entstanden ist. Das Fusionsgen findet man nur bei der Hausmaus Mus musculus und ihren nahen Verwandten. Die beiden Ausgangsgene kommen sowohl im Genom der Hausmaus noch vor als auch bei phylogenetisch weiter entfernten Arten (18, 23, 27, 28). Nach seiner Entstehung wurde das Sp100-rs Gen amplifiziert, was zur Entstehung unterschiedlich großer Cluster führte. Abbildung 11 zeigt Chromosomen 1 aus verschiedenen Mauspopulationen nach einer C-Banden Färbung. Diese Färbetechnik markiert sowohl die terminal liegenden Centromere als auch das Sp100-rs Gencluster. Die hier gezeigten C-Banden positiven Cluster enthalten zwischen 150 und 2000 Kopien des amplifizierten Gens. Das cytogenetisch unauffällige Chromosom 1 (ohne Extra C-Bande) enthält immerhin noch etwa 60 Kopien der amplifizierten Sequenz. Die einzelnen Sp100-rs Kopien unterscheiden sich durch Punktmutationen und durch Insertionen /Deletionen (13, 18), so dass wir von einer Genfamilie sprechen. Die Sp100-rs Gene werden in allen daraufhin untersuchten Geweben transkribiert (in RNA umgeschrieben). Die Menge der Transkripte nimmt linear mit der Zahl der Sp100-rs Genkopien zu (14, 26). Cytogenetisch auffällige (C-Banden positive) Sp100-rs Cluster bilden eine besondere Chromatinstruktur aus, die sich keiner der beiden klassischen Chromatintypen (Eu- und Heterochromatin) zuordnen lässt (14).

Da es sich bei der Entstehung des Sp100-rs-Gens, bzw. des entsprechenden Genclusters, um ein relativ rezentes Ereignis handelt, ist es in seiner Auswirkung auf den betroffenen Organismus einem Transgen (künstlich eingeführtes Genkonstrukt) vergleichbar. Bei der Etablierung von transgenen Organismen kommt es oft zur geclusterten Integration des Transgens ins Wirtsgenom. Eine häufig zu beobachtende Folge ist dann eine Inhibierung der Genexpression, ein Vorgang, der in den letzten Jahren unter dem Begriff „repeat induced gene silencing" Eingang in die Literatur gefunden hat (1). Vor diesem Hintergrund sind die Expression und die ambivalente Chromatinorganisation großer Sp100-rs Gencluster von besonderem Interesse. Darüber hinaus handelt es sich beim Sp100-rs Cluster der Hausmaus um ein interessantes Modell zur Entstehung und Funktion einer amplifizierten Sequenz.

In-situ Hybridisierung

Eine elegante Technik zum Nachweis spezifischer DNA-Sequenzen auf dem Chromosom wurde 1969 von M.L.Pardue und J.G. Gall entwickelt (17). Sie verwendeten bei dieser in-situ Hybridisierung (ISH) radioaktiv markierte Nukleinsäuren, um die Lokalisation der entsprechenden Sequenzen im Genom nachweisen zu können. Hierfür ist es nötig, den chromosomal lokalisierten DNA-Doppel-strang chemisch oder thermisch zu öffnen. Nach Einstellung der entsprechenden Ver-

suchsparameter kann eine hinzugefügte spezifische DNA-Sequenz (einzelsträngig) dann an die komplementäre Einzelstrang-DNA im Chromosom binden (hybridisieren). Trägt die hinzugefügte Sonde eine Markierung, kann der Ort der Hybridisierung nachgewiesen werden. Inzwischen verwendet man an Stelle einer radioaktiven Markierung meist nicht-radioaktive Alternativen (Biotin, Digoxigenin, verschiedene Fluo-

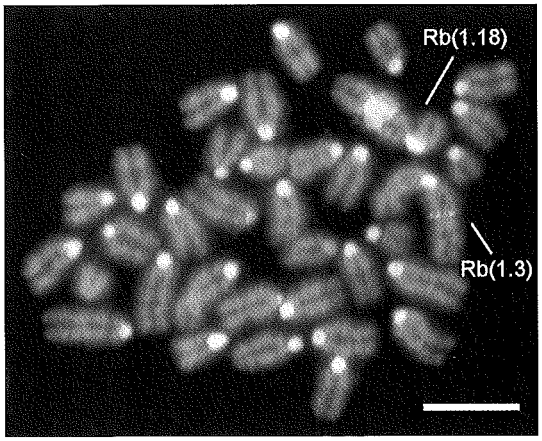


Abbildung 12: Fluoreszenz in-situ Hybridisierung mit einer Sp100-rs spezifischen Sonde an einem Karyotyp der Hausmaus. Das kleine Sp100-rs Cluster liegt auf Translokationschromosom Rb 1.3, das große Sp100-rs Cluster liegt auf Translokationschromosom Rb 1.18. Die Chromosomen wurden gegengefärbt mit DAPI, welches besonders intensiv die centromerische DNA färbt. Maßstab: 10 µm (24)

rochrome). Eine Fluoreszenz-basierte in-situ Hybridisierung (FISH) ist in Abbildung 12 gezeigt. In diesem Fall wurde mittels einer Sp100-rs spezifischen Gensonde ein kleines und ein großes Sp100-rs Cluster im Genom der Maus detektiert (24). Die FISH-Technik wird inzwischen auch in der Pränataldiagnostik eingesetzt und bietet den Vorteil, dass auch Zellen außerhalb der Mitosephase analysiert werden können.

Künstliche Chromosomen

Im Rahmen der verschiedenen Genomprojekte wurden in den vergangenen Jahren riesige DNA-Strecken sequenziert. Um die DNA in klonierbarer bzw. sequenzierbarer Form zu erhalten, werden die Chromosomen in kleinere, handhabbarere Stücke zerlegt. Diese wiederum in noch kleinere Fragmente, die dann ihrerseits Nukleotid für Nukleotid sequenziert werden können. Die erhaltenen Sequenzen können dann wieder mit den überlappenden größeren Klonen korreliert werden. Auf diese Weise kann die komplette DNA-Sequenz für jedes Chromosom ermittelt werden. Kürzlich wurden die ersten vollständigen DNA-Sequenzen für die humanen Chromosomen 21 und 22 veröffentlicht (5, 4). Diese beiden kleinsten Autosomen machen zusammen etwa 2 % des Genoms aus. Extrapoliert man die dort gefundene Zahl von 770 Genen, so wären im Gesamtgenom etwa 40.000 Gene zu erwarten. Dies liegt deutlich unter den bisherigen Schätzungen, die von 70.000 bis 140.000 Genen im menschlichen Genom ausgegangen waren.

Um größere DNA-Fragmente mit einer Länge von mehreren hunderttausend Basenpaaren im Labor handhabbar zu machen, was ihre Vermehrung in Zellen einschließt, wurde vor etwa 10 Jahren die Technik der YAC (yeast artificial chromosome)-Klonierung etabliert (9). Diese künstlichen Hefechromosomen verfügen über Telomer- und Centromersequenzen, so dass sie stabil in Hefezellen propagiert werden können. Zwischen diese essentiellen Strukturelemente können dann größere Strecken an Fremd-DNA kloniert werden. Die Hefe-Wirtszelle vermehrt diese Konstrukte dann während der Replikationsphase und gibt sie bei der Zellteilung an die Tochterzellen weiter. Die YAC-Vektoren werden heute zunehmend von anderen künstlichen Chromosomensystemen ersetzt, nämlich von den „bacterial artificial chromosomes" (BACs, 19) und den „P1 artificial chromosomes" (PACs, 10). Die Bezeichnung P1 weist auf den Phagen P1 hin, dessen Replikon verwendet wird.

In allerjüngster Zeit werden auch künstliche Humanchromosomen entwickelt. Auch hier ist es nötig, dass die Konstrukte Telomer- und Centromer-DNA enthalten, damit sie stabil von Zellgeneration zu Zellgeneration weitergegeben werden können. Solche künstlichen Humanchromosomen könnten bei der Gentherapie Verwendung finden, wenn sie ein intaktes menschliches Gen enthalten, mit dem defekte, zelleigene Genkopien substituiert werden. In diesem Sommer wurden diesbezügliche erste Erfolge an humanen Zellkulturen publiziert (15). Künstliche Humanchromosomen haben für die Gentherapie zwei entscheidende Vorteile: (i) durch ihre Größe von mehreren Millionen Nukleotiden können auch sehr große Gene mit ihren z. T. weit entfernten regulatorischen Sequenzen vollständig kloniert werden, (ii) diese Konstrukte enthalten ausschließlich humane DNA. Dies ist ein Vorteil gegenüber anderen Systemen, bei denen häufig virale Sequenzen verwendet werden.

Die Forschung an Chromosomen findet inzwischen auf verschiedenen Ebenen statt, sie reicht von der reinen Grundlagenforschung über diagnostische Anwendungen bis hin zur Gentherapie. Darüber hinaus hat die Beschäftigung mit gefärbten Chromosomen aber auch noch eine ästhetische Komponente.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. W. Traut danke ich sehr für seine langjährige Unterstützung und stete Diskussionsbereit-

schaft. Den technischen Assistentinnen Petra Nielsen, Stefanie Schwindt und Heide Riechers, mit denen ich im Laufe der Jahre zusammengearbeitet habe, danke ich für ihre engagierte Mitarbeit an den Projekten. Bei der gesamten Arbeitsgruppe „Maus", für die stellvertretend Herr Prof. Dr. H. Winking und Herr PD Dr. Dieter Weichenhan genannt seien, bedanke ich mich für die konstruktive und angenehme Zusammenarbeit.

Literatur

1. Assaad FF, Tucker KL, Signer ER (1993) Epigenetic repeat-induced gene silencing (RIGS) in Arabidopsis. Plant Mol Biol 22: 1067-1085
2. Blackburn EH (1991) Structure and function of telomeres. Nature 350: 569-573
3. Boveri T (1914) Zur Frage der Entwicklung maligner Tumoren. Gustav Fischer-Verlag, Jena
4. Dunham I, Shimizun N, Roe BA, Chissoe S et al. (1999) The DNA sequence of human chromosome 22. Nature 402: 489-495
5. Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H (2000) The DNA sequence of human chromosome 21. Nature 405: 311-319
6. Holmquist G, Motara M (1987) The magic of cytogenetic technology. In Obe G, Basler A (eds.), Cytogenetics. Springer: Berlin Heidelberg, pp 31-47
7. Hsu TC (1952) Mammalian chromosomes in vitro. I. The karyotype of man. J Hered 43: 172
8. Hsu TC (1979) Human and mammalian cytogenetics – an historical perspective. Springer: Berlin Heidelberg
9. Imai T, Olson MV (1990) Second-generation approach to the construction of yeast artificial-chromosome libraries. Genomics 8: 297-303
10. Ioannou PA, Amemiya CT, Garnes J, Kroisel PM, Shizuya H, Chen C, Batzer MA, de Jong PJ (1994) A new bacteriophage P1-derived vector for the propagation of large human DNA fragments. Nat Genet 6: 84-89
11. Kunze B, Weichenhan D, Virks P, Traut W, Winking H (1996) Copy numbers of a clustered long-range repeat determine C-band staining. Cytogenet Cell Genet 73: 86-91
12. Kunze B, Traut W, Garagna S, Weichenhan D, Redi CA, Winking H (1999) Pericentric satellite DNA and molecular phylogeny in Acomys (Rodentia). Chrom Res 7: 131-141
13. Kunze B, Hellwig-Bürgel T, Weichenhan D, Traut W (2000) Transcription and proper splicing of a mammalian gene in yeast. Gene 246: 93-102
14. Kunze B (2001) Das Sp100-rs Gencluster der Hausmaus: Struktur, Transkription und Rekombination eines 5-160 Mb großen, ungewöhnlichen Genomabschnitts. Habilitationsschrift, Technisch-naturwissenschaftliche Fakultät der MUL
15. Mejia JE, Willmott A, Levy E, Earnshaw WC, Larin Z (2001) Functional complementation of a genetic deficiency with human artificial chromosomes. Am J Genet 69: 315-326
16. Pardue ML, DeBaryshe PG (1999) Telomeres and Telomerase. Chromosoma 108: 73-82
17. Pardue ML, Gall JG (1970) Chromosomal localization of mouse satellite DNA. Science 168: 1356-1358
18. Plass C, Weichenhan D, Kunze B, Hellwig T, Schneider C, Bautz FA, Grzeschik K-H, Traut W, Winking H (1995) A member of the mouse LRR transcript family with homology to the human Sp 100 gene. Hereditas 122: 245-256
19. Shizuya H, Birren B, Kim UJ, Mancino V, Slepak T, Tachiiri Y, Simon M (1992) Cloning and stable maintenance of 300-kilobase-pair fragments of human DNA in Escherichia coli using an F-factor-based vector. Proc Natl Acad Sci USA 89: 8794-8797
20. Tjio JH, Levan A (1956) The chromosome number of man. Hereditas 42: 1-6
21. Traut W, Winking H, Adolph S (1984) An extra segment in chromosome 1 of wild Mus musculus: a C-band positive homogeneously staining region. Cytogenet Cell Genet 38: 290-297
22. Traut W (1991) Chromosomen – Klassische und molekulare Cytogenetik. Springer, Berlin Heidelberg
23. Traut W, Winking H, Plass C, Weichenhan D, Kunze B, Hellwig T, Agulnik S (1994) An inherited homogeneously staining region derived from a long-range repeat family in the house mouse. In: Obe G, Natarajan AT (eds.), Chromosomal alterations. Springer: Heidelberg, pp 31-41
24. Traut W, Rahn IM, Winking H, Kunze B, Weichenhan D (2001) Evolution of a 6-200 Mb long-range repeat cluster in the genus Mus. Chromosoma 110: 247-252
25. Waldeyer W (1888) Ueber Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. Arch Mikr Anat 32: 1-122
26. Weichenhan D, Kunze B, Plass C, Hellwig T, Winking H, Traut W (1995) A transcript family from a long-range repeat cluster of the house mouse. Genome 38: 239-245
27. Weichenhan D, Kunze B, Traut W, Winking H (1998) Evolution by fusion and amplification: the murine Sp100-rs gene cluster. Cytogenet Cell Genet 80: 226-231
28. Weichenhan D, Kunze B, Winking H, van Geel M, Oseogawa K, de Jong PJ, Traut W (2001) Source and component genes of a 6-200 Mb gene cluster in the house mouse. Mamm Genome 12: 590-594
29. Winiwarter von H (1912) Etudes sur la spermatogenese humaine. Arch Biologie 27: (93), 147-149
30. Windle BE, Wahl GM (1992) Molecular dissection of mammalian gene amplification: new mechanistic insights revealed by analysis of very early events. Mutant Res 276: 199-224
31. Zacharias H (2001) Key word: Chromosome. Chrom Res 9:345-355

Aus der Klinik für Chirurgie, Bereich Plastische Chirurgie, Handchirurgie, Intensiveinheit für Schwerbrandverletzte des UKL und dem [1]Institut für Anatomie der MUL

Die Blutgefäßversorgung der Haut der Palma manus und ihre klinische Bedeutung bei der Operation des Morbus Dupuytren

T. Elsner, U. Schramm[1] und M. Schrader

Zusammenfassung:

Die Haut im Zentrum der Palma manus soll im Bereich einer dreieckigen zentralen Zone hypovaskularisiert sein. Unsere klinischen Erfahrungen entsprechen jedoch nicht dieser Vorstellung, da intraoperativ zahlreiche durch die Palmaraponeurose in die Haut aufsteigende Bündel dargestellt werden können, die offensichtlich nicht rein bindegewebiger Natur sind. Um diese Beobachtungen zu verifizieren, haben wir 7 Hände von Leichen untersucht.

Wir fanden bei der makroskopischen Präparation im Zentrum der Palma manus durchschnittlich 30 in die Haut aufsteigende Bündel. Histologische Untersuchungen brachten in mindestens der Hälfte der Bündel Arterien und Nerven zur Darstellung, in den übrigen Bündeln entweder ein Blutgefäß oder einen Nerv. Seltener waren Lymphgefäße anzutreffen.

Unsere Untersuchungen widerlegen damit das Vorkommen einer hypovaskularisierten Zone im Zentrum der Palma manus.

Schlüsselwörter: Palma manus – Haut – Gefäße – Nerven – Morbus Dupuytren.

Einleitung

Die A. radialis und die A. ulnaris formen innerhalb der Palma manus zwei arterielle Hohlhandbögen, den Arcus palmaris superficialis und den Arcus palmaris profundus. Beide werden von kleinen Venen begleitet. Die arterielle Versorgung der Haut der Palma manus erfolgt durch aus dem Arcus palmaris superficialis stammende und vertikal in die Haut aufsteigende Gefäße. Vor ihrem Eintritt in die Haut perforieren sie die Palmaraponeurose, wobei sie oftmals von kleinen Venen begleitet werden.

Conway und Stark führten 1954 angiographische Studien zur Gefäßversorgung der Haut der Palma manus durch. Sie beschrieben im Zentrum der Palma manus eine dreieckige Hautzone, die von nur wenigen kaliberschwachen Gefäßen versorgt wurde; sie bezeichneten diese Areale als hypovaskularisierte Zone.

Intraoperative Beobachtungen und klinische Studien von Schrader et al. (1997) lassen an dieser Situation jedoch Zweifel aufkommen, denn diese Autoren finden zahlreiche, durch präformierte Lücken in der Palmaraponeurose in die Haut aufsteigende Bündel, in denen sie Gefäße und/oder Nerven vermuten.

Material und Methoden

Unsere Untersuchungen wurden an 7 gesunden Händen von vier weiblichen und drei männlichen Leichen durchgeführt.

Makroskopische Präparation: Nach Absetzen der Hände wurde das Gefäßbett über die beiden arteriellen Stammgefäße, die A. radialis und die A. ulnaris, mit Cacodylatpuffer synchron durchspült und anschließend mit einer 10%igen Formaldehydlösung perfundiert. In dieser Lösung verblieben die Hände 4 - 6 Wo-

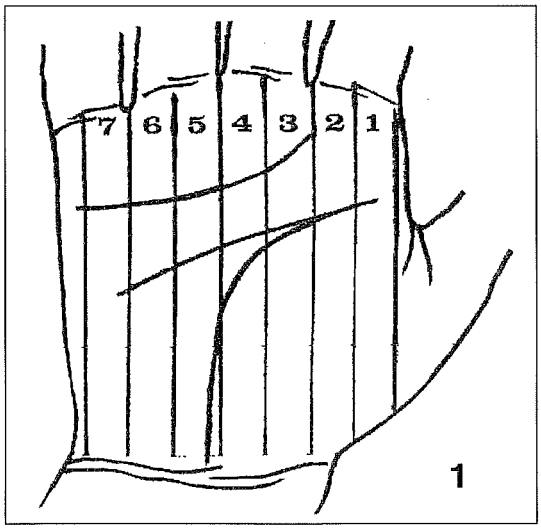


Abb. 1: Schnittführungen durch die tiefgefrorenen Leichenhände.

chen. Danach konnten sie in tiefgefrorenem Zustand (minus 25,5° C) sagittal in etwa 1 cm dicke Scheiben zerlegt werden (Abb. 1). Die Schnitte wurden jeweils interdigital und in der Mitte des Fingerstrahles gelegt und bis zum Abschluss der nachfolgenden Präparation in einem Alkohol-Wassergemisch (1:1), das 0,5 % Formaldehyd enthielt, aufbewahrt. Jede Scheibe wurde von der radialen und ulnaren Seite her so präpariert, dass sub- und epifaszial Fett- und Bindegewebe entfernt wurden, die durch die Palmaraponeurose in die Haut aufsteigenden Bündel jedoch erhalten blieben. Nur an wenigen Stellen verhinderte sehr straffes kollagenes Bindegewebe das Auffinden dieser Bündel. Alle in das Korium der Haut ziehenden Bündel wurden mit dünnen Nadeln auf der Palmarhaut markiert, so dass die Position der präparierten Bündel auf die Oberfläche projiziert werden konnte. Zur graphischen Darstellung unterteilten wir mit Hilfe eines Rasters die Palma manus in drei Zonen (Abb. 2):

Zone 1 entsprach der triangulären Zone von Conway und Stark (1954) im Zentrum der Palma manus,

Zone 2 umfasste ungefähr die Ausdehnung der Palmaraponeurose außerhalb von Zone 1, und

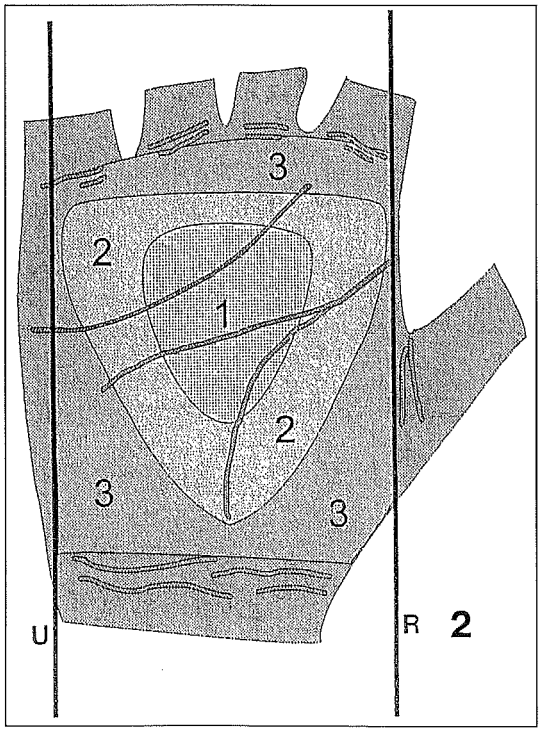


Abb. 2: Gliederung der Palma manus in drei Zonen. Zone 1 entspricht der angeblich hypovaskularisierten Zone von Conway und Stark (1954). U – ulnare Seite von Scheibe 7, R – radiale Seite von Scheibe 1.

Zone 3 entsprach dem Bereich außerhalb der Palmaraponeurose. Die äußersten radialen und ulnaren Randbereiche wurden jedoch nicht einbezogen, da deren Hautareale auch von dorsal arteriell versorgt werden können.

Lichtmikroskopie: Die große Anzahl präparierter Bündel machte es unmöglich, jedes einzelne auf seinen histologischen Inhalt zu prüfen. Wir untersuchten daher jeweils alle Bündel aus Zone 1 einer Hand und 57 zufällig ausgewählte Bündel aus den drei Zonen aller präparierten Hände. Die mikroskopische Auswertung erfolgte an 0,5 µm dicken Semidünnschnitten. Zur Herstellung der Semidünnschnitte fixierten wir die präparierten Bündel in Glutaraldehyd (2,5 %ig, pH 7.2, 0.1 M), anschließend in Osmiumtetroxid (1 %ig), entwässerten in aufsteigender Alkoholreihe und betteten in Araldit ein. Die nunmehr gehärteten Bündel konnten in 0,5 µm dünne Schnitte zerlegt und diese mit Methylenblau-Azur II nach Richardson et al. (1960) gefärbt werden.

Befunde

In allen Präparaten konnten wir Gefäß-Nervenbündel darstellen, die vertikal über präformierte Lücken in der Palmaraponeurose die Haut erreichen (Abb. 3). Die Gefäße stammen aus den Aa. digitales palmares communes, also Gefäßabgängen aus dem Arcus palmaris superficialis; die Nerven sind Äste der Nn. digitales palmares communes. Die größte Dichte an Gefäß-Nervenbündeln fanden wir im Bereich des M. palmaris brevis, also ulnar und damit außerhalb der Palmaraponeurose (Abb. 4). Diesen Muskel perforieren besonders viele Bündel, um in das darüberliegende Hautareal zu gelangen. Im distalen Bereich der Palma

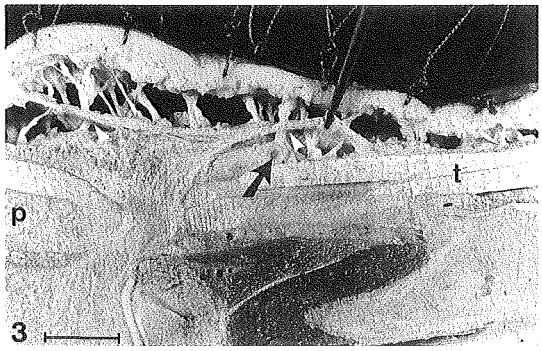


Abb. 3: 5. Scheibe, radiale Seite. Die Aa. digitales palmares communes entspringen dem Arcus palmaris superficialis (quer getroffen –>). Sie ziehen zusammen mit den Nn. digitales palmares communes durch präformierte Lücken in der Palmaraponeurose (>). t – Sehnen des M. flexor digitorum superficialis und profundus. p – proximal. Bar 1 cm

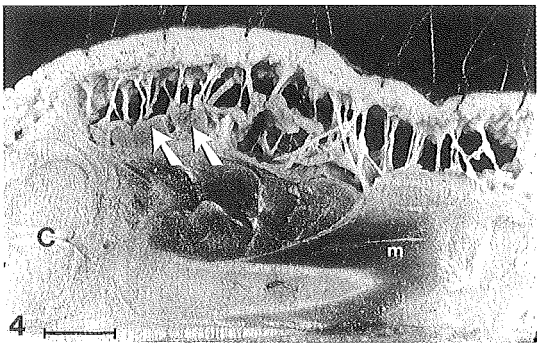


Abb. 4: 6. Scheibe, radiale Seite. Zahlreiche durch den M. palmaris brevis (->) ziehende Bündel. m – M. interosseus palmaris, C – Os hamatum und Os capitatum. Bar 1 cm

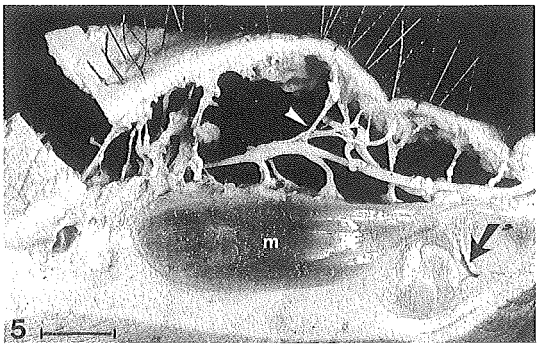


Abb. 5: 7. Scheibe, ulnare Seite. Äste der A. ulnaris digiti minimi (>) ziehen distal der Fasciculi transversi in die Haut. –> – Articulatio metacarpophalangea V, m – M. opponens digiti minimi. Bar 1 cm

manus weisen einige Versorgungsäste einen besonderen Verlauf auf. Sie entspringen – wie die übrigen Hautgefäße – unterhalb der Palmaraponeurose aus ihren Stammarterien, ziehen dann aber ohne die Palmaraponeurose zu perforieren nach distal, um schließlich jenseits der Fasciculi transversi in die Haut der Monticuli aufzusteigen (Abb. 5). Dieser Befund entspricht den intraoperativen Beobachtungen von Schrader et al. (1997).

Die durchschnittliche Anzahl der in den drei Zonen der Hohlhand präparierten und in die Haut aufsteigenden Bündel ist in Tabelle 1 dargestellt. Obgleich über dem in Zone 3 liegenden M. palmaris brevis die größte Dichte festzustellen war, ist Zone 3 insgesamt spärlicher mit Hautversorgungsästen ausgestattet. Die Ergebnisse der histologischen Analyse der Bündel sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Venen und Lymphgefäße waren relativ selten anzutreffen. Größere Arterien oder Nerven konnten dagegen häufig gefunden werden. Enthielt ein Bündel mindestens eine Arterie und einen Nerv, dann bezeichneten wir dieses als Gefäß-Nervenbündel. Zwei Drittel der 30 Bündel aus Zone 1 und 4/5 der 57 zufällig ausgewählten Bündel führten eine derart markante Struktur (Abb. 6). Einige Bündel enthielten bis zu 5 kleine Arterien oder Nerven (Abb. 7). Nur zwei präparierte Bündel bestanden lediglich aus Bindegewebe und enthielten keine relevanten Leitungsstrukturen. Deren homogene Verteilung in Zone 1 einer Hand und in den randomisierten Bündeln aller präparierten Hände ist in Abb. 8 dargestellt.

Zone	Anzahl der Bündel	Durchschnittliche Anzahl der Bündel per 0,5 cm²	Standard-abweichung
1	31,9	0,68	0,1225
2	72,1	0,71	0,1372
3	47,8	0,39	0,1147

Tabelle 1: Durchschnittliche Anzahl der Hautäste in der Hohlhand. Mittelwert aus sieben präparierten Händen.

Histologische Struktur	Zentrale Zone einer Hand, n = 30 Bündel	Randomisierte Bündel aus 7 Händen, n = 57 Bündel
Arterien	16	35
kleine Arterien	27	45
Venen	2	7
Lymphgefäße	2	6
Nerven	20	35
Vater-Pacini-Lamellenkörperchen	2	9

Tabelle 2: Zusammenfassung der in den präparierten Bündeln vorkommenden histologisch fassbaren Strukturen

Diskussion

Die Haut wird von relativ dünnen Stammgefäßen und -nerven versorgt. Bei der Herstellung der Sagittalschnitte war es demzufolge nicht möglich, alle in der Schnittebene liegenden Versorgungsäste zu schonen, so dass die in Tabelle 1 aufgeführte mittlere Dichte als die mindestens zu erwartende Anzahl an Leitungsbahnen aufzufassen ist. Die reale Dichte muss also höher eingestuft werden. Anhand der histologischen Analyse der präparierten Bündel kann angenommen werden, dass die Präparation aller sieben Leichenhände von gleicher Qualität war. Nur zwei der insgesamt 87 histologisch kontrollierten Bündel bestanden aus Bindegewebe. Die Fehlerquote hin-

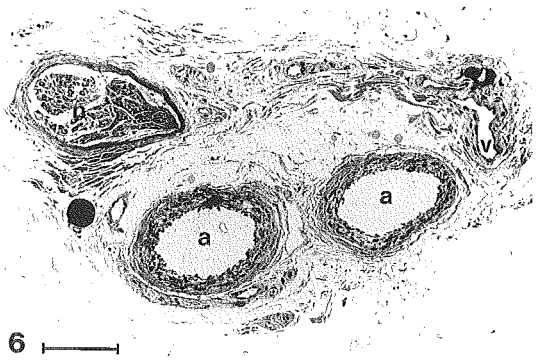


Abb. 6: Semidünnschnitt durch ein Gefäßnervenbündel. a – Arterie, v – Vene, n – Nerv. Färbung: Methylenblau – Azur II (Richardson et al. 1960). Bar 100 µm

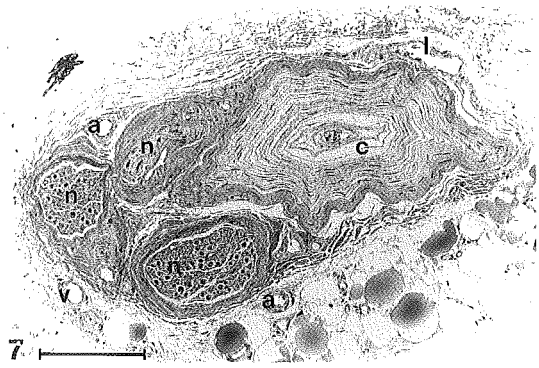


Abb. 7: Semidünnschnitt durch ein Bündel mit zahlreichen Nerven (n). C – Vater Pacini Lamellenkörperchen, a – Arteriole, v – Venole, I - Lymphgefäß. Färbung: Methylenblau – Azur II (Richardson et al. 1960). Bar 100 µm

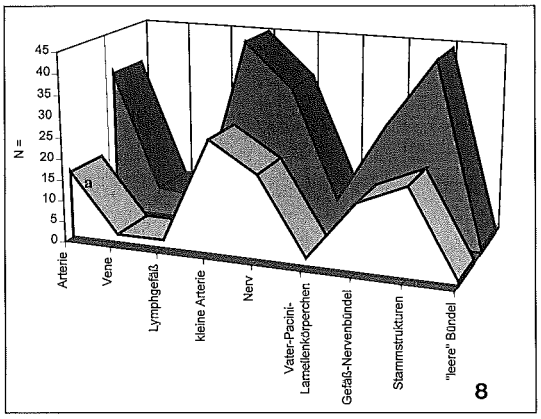


Abb. 8: Quantitative Verteilung der histologischen Strukturen in den präparierten Bündeln. VNB – Bündel, das mindestens eine Arterie oder eine Vene und einen Nerv enthält, Stammstruktur – Arterie oder Vene oder Nerv.

sichtlich „leerer" Bündel bei den nichtkontrollierten Bündeln dürfte also nicht höher liegen. Etwa die Hälfte aller präparierten Bündel enthielt mindestens eine Arterie und einen Nerv, die im Bereich der Palmaraponeurose und Monticuli jeweils ein nahezu gleiches Kaliber hatten. Wir sehen in diesen Gefäß-Nervenbündeln die Hauptversorgungsäste für die Palmarhaut.

Nach Schmidt und Lanz (1992) soll der venöse Abfluss durch dünne Hautvenen oberflächennah auf der Palmaraponeurose erfolgen. Wir konnten in der zentralen Zone tatsächlich nur in zwei Bündeln die Palmaraponeurose perforierende Venen feststellen. Der Hypothese von Skoog (1974), die Lymphdrainage erfolge über die Randbereiche der Palma manus nach dorsal, können wir uns jedoch nicht vorbehaltlos anschließen. Im Gegensatz zu Venen sind Lymphgefäße in derart vorbehandelten Präparaten nur schwer zu identifizieren. Zweifelsfrei konnten wir zwar in nur 8 der 87 histologisch kontrollierten Bündel Lymphgefäße entdecken, wir gehen jedoch davon aus, dass viel mehr Bündel auch Lymphgefäße enthalten und diese eine durchaus suffiziente Lymphdrainage gewährleisten.

In unserer anatomischen Studie fanden wir weitaus mehr in die Haut der Palma manus aufsteigende Leitungsbahnen, als dies frühere Studien vermochten (Salmon 1988; Kinoshita et al. 1991). Eine trianguläre hypovaskularisierte Zone im Zentrum der Hohlhand, wie von Conway und Stark (1954) postuliert, können wir nicht bestätigen. Die Leitungsbahnen der Palmarhaut sind von großer klinischer Relevanz, insbesondere bei der Operation des Morbus Dupuytren. Werden diese während der Operation erhalten, erreicht man in der Palma manus nicht nur eine schnellere postoperative Heilung und Rückkehr der Sensibilität, sondern auch erheblich weniger postoperative Komplikationen.

Literatur

1. Conway H, Stark R (1954) Arterial vascularization of the soft tissues of the hand. J Bone Jt Surg 36A: 1238-1240
2. Kinoshita Y, Kojima T, Hirase Y, Kim H, Endo Y (1991) Subcutaneous pedicle hypothenar island flaps. Ann Plast Surg 27: 519-526
3. Richardson KC, Jarret L, Finke EH (1960) Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. Stain Technol 35: 313-323
4. Salmon M (1988) Arteres de la Peau. In: Taylor GJ, Tempest MN (Eds) Arteries of the skin. Churchill Livingstone, London, Edingburgh, Melbourne, New York, pp 32-34, 133-149
5. Schmidt HM, Lanz U (1992) Hohlhand. Chirurgische Anatomie der Hand. Hippocrates, Stuttgart, pp 123-128
6. Schrader M, Lang K, Schramm U (1997) Arterielle und nervale Versorgung der Haut der Palma manus. Chirurgisch-anatomische Befunde beim Morbus Dupuytren. Ann Anat 179: 349-353
7. Skoog T (1974) Dupuytren contracture. Georg Thieme, Stuttgart, pp 428-499

Aus dem Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. med. H. Kirchner)

Mechanismen der mütterlich/fetalen Toleranz

A. Kruse*, H. Kirchner

Einleitung

Die embryonale Entwicklung der Säugetiere ist abhängig von dem Vorhandensein einer funktionellen Plazenta. Ihre hochspezialisierten Zellen (Trophoblast, Entoderm und extraembryonales Mesoderm) bilden sich früh in der Entwicklung und ermöglichen die Implantation, verankern den Embryo im uterinen Gewebe und bilden fetale Gefäße, die Nahrungsstoffe, Gase und Stoffwechselprodukte transportieren. Zusätzlich beeinflusst die Plazenta endokrine, immunologische und stoffwechselphysiologische Funktionen der Mutter zum Vorteil des Embryos. In den letzten Jahren ist vor allem die Rolle der Plazenta als immunologischer Berührungspunkt zwischen zwei genetisch unterschiedlichen Organismen erkannt worden. Obwohl Fetus und Plazenta Merkmale der Mutter und des Vaters besitzen, kommt es während der Schwangerschaft zu keiner Abstoßungsreaktion. Eine besondere Rolle spielt der fetale Trophoblast, der eine Grenzschicht zwischen Fetus und mütterlichem Immunsystem darstellt. Diese Barrierefunktion erklärt jedoch nicht die Toleranz des mütterlichen Immunsystems gegenüber dem Trophoblasten selbst. Tatsächlich kommt es im Verlauf der Schwangerschaft zu einer verstärkten Einwanderung von spezialisierten Leukozyten-Subpopulationen in den schwangeren Uterus (der mütterlichen Decidua basalis), die Proliferation, Differenzierung und Invasion des Trophoblasten kontrollieren, Angiogenese und Umstrukturierung der mütterlichen uterinen Gefäße ermöglichen als auch die lokalen Immunreaktionen regulieren (1-4).

Eine der ungewöhnlichsten Zellpopulationen des schwangeren Uterus sind bei der Maus als auch beim Menschen große granulierte Leukozyten, die uterinen *natural killer* (NK)-Zellen. Diese einzigartigen Zellen, die beim Menschen auch als *large granular lymphocytes* (LGL) (2) und bei der Maus als *granulated metrial gland* (GMG)-Zellen bezeichnet werden, haben aufgrund ihres fast exklusiven Auftretens im Uterus vor allem während der Schwangerschaft, ihres ungewöhnlichen Phänotyps als auch ihrer noch unzulänglich verstandenen Funktion ein großes Interesse erlangt (Abb. 1) (5, 6). Man nimmt an, dass diese Zellen Cytokine wie *transforming growth factor* (TGF)-β freisetzen und somit gegen den Trophoblasten gerichtete überschießenden Immunreaktionen entgegenwirken. Des Weiteren spielt TGF-β eine maßgebliche Rolle bei der Induktion und Regulation der Angiogenese und scheint

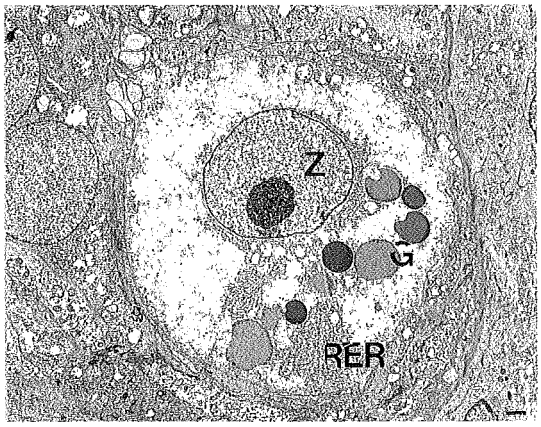


Abb. 1: Transelektronenmikroskopische Aufnahme einer uterinen NK-Zelle in der Decidua basalis der Maus. RER: raues endoplasmatisches Retikulum; G: cytoplasmatische Granula; Z: Zellkern. Balken: 2 µm

zumindest beim Menschen die Reifung des Syncytiotrophoblasten zu induzieren (7, 8). Neuere Untersuchungen ergaben, dass deciduale NK-Zellen die Hauptproduzenten des uterinen Interferon-γ darstellen. Die Gruppe um Anne Croy konnte zeigen, dass uterines Interferon-γ die Expression von Genen in den uterinen Gefäßen und im Stroma modifiziert und dadurch eine Gefäß-Instabilität und Umstrukturierung der decidualen Arterien bewirkt (4).

Neben den uterinen NK-Zellen stellen vor allem Monozyten bzw. Makrophagen aber auch Granulozyten die vorherrschenden Leukozytenpopulationen im schwangeren Uterus dar. Ihre Funktion scheint zum einen in der Phagozytose von Zellresten zu liegen, die durch enzymatischen Abbau in Folge der Invasion des Trophoblasten anfallen (9). Zum anderen scheinen vor allem die Makrophagen durch die Produktion von löslichen Faktoren sowohl die Regulation der stattfindenden Immunreaktionen (1, 10) als auch die Kontraktibi-

* Zum 60. Geburtstag von Prof. Kirchner als Rückblick auf eine über 10-jährige gemeinsame Forschungsarbeit.

lität des Uterus und die Umgestaltung der Cervix während des Geburtsprozesses bei der Maus maßgeblich zu beeinflussen (11).

Potentiell alloreaktive B- und T-Zellen treten zumindest bei der Maus während der frühen Phase von normal verlaufenden Schwangerschaften nur in äußerst geringen Zahlen auf (12, 13). Frühe Studien von Cox und Ford (14), die sich mit der Einwanderung von isolierten, aufgereinigten Lymphozyten in den schwangeren Uterus der Ratte beschäftigten, zeigten, dass nur sehr wenige dieser Zellen an die mütterlich/fetale Grenzschicht gelangen. Eine Ausnahme bilden interessanterweise Schwangerschaften, die mit einer Resorption des Feten einhergehen (15). Dieser Ausschluss von T-Zellen während der frühen Phase der Plazenta-Entwicklung steht im krassen Gegensatz zu chronisch entzündeten Geweben, die durch eine massive T-Zell-Infiltration gekennzeichnet sind. Beim Menschen ist darüber wenig bekannt. Bei spontanen Aborten wurde jedoch an der mütterlich/fetalen Grenzschicht eine massive T_H1-Antwort, verbunden mit gegen den Trophoblasten gerichteten cytotoxischen Reaktionen, beobachtet (16).

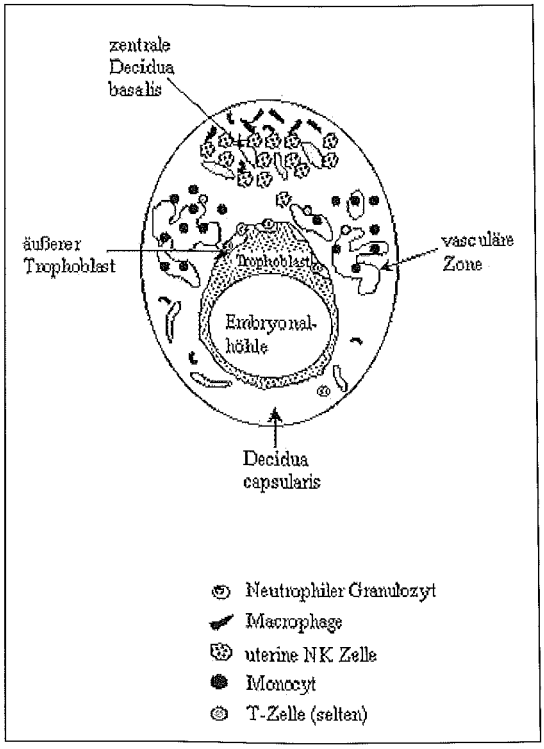


Abb. 2: Organisation des Uterus der Maus zu Beginn der Plazenta-Entwicklung (Tag 9) mit einer schematischen Zusammenfassung der infiltrierenden Leukozyten-Subpopulationen. Granulozyten sind auf mütterliche Blutsinusoide im äußeren Bereich des in die Decidua basalis einwandernden Trophoblasten beschränkt. Monozyten sind die vorherrschenden Zellen in den Blutgefäßen und im Gewebe der vaskulären Zone. Uterine NK-Zellen kommen in der zentralen Decidua basalis vor. Makrophagen befinden sich an der Grenze zwischen zentraler Decidua basalis und dem darüberliegenden Myometrium. T- und B-Zellen kommen nur in äußerst geringen Zahlen vor.

Interessanterweise zeigen Studien unserer Arbeitsgruppe, dass sich bei der Maus die verschiedenen infiltrierenden Leukozyten-Subpopulationen zu Beginn der Plazenta-Entwicklung in unterschiedlichen, streng lokalisierten Bereichen der mütterlichen Decidua basalis befinden (Abb. 2). Der Grad der Aufteilung in sogenannte Mikrodomänen ist außergewöhnlich (13, 17) und vergleichbar mit der organisierten Struktur der lymphatischen Gewebe, wo die Verteilung von verschiedenen Leukozyten-Subpopulationen auf unterschiedliche Bereiche eine maßgebliche Rolle bei der Regulation der Immunantwort spielt. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass spezifische Mechanismen existieren, die den Zutritt immunregulatorischer bzw. immunsuppremierender Leukozyten erlauben, während potentiell alloreaktive T- und B-Zellen an der Einwanderung gehindert werden. Eine Schlüsselrolle spielen dabei die Zelladhäsionsmoleküle (CAMs), die für das spezifische Migrationsverhalten von verschiedenen Leukozyten-Subpopulationen verantwortlich sind.

Molekulare Mechanismen der Extravasation

Die erste Barriere zwischen invasivem Trophoblast und den im Blut zirkulierenden Zellen des mütterlichen Immunsystems bilden die Endothelzellen der uterinen Blutgefäße. Es ist bekannt, dass durch Zelladhäsionsmoleküle vermittelte Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen und die damit zusammenhängende Extravasation bestimmter Leukozyten-Subpopulationen maßgeblich den Verlauf von Immunreaktionen bestimmen (18, 19). Die Zelladhäsionsmoleküle werden in vier große Familien unterteilt: Selektine, Integrine, Cadherine und CAMs, die Mitglieder der Immunglobulin Superfamilie (IgSF) sind (18). Vor allem Selektine, Integrine und CAMs der IgSF sind an der Extravasation von Leukozyten beteiligt. Die Extravasation ist ein „multi-step process", der in vier aufeinanderfolgende Schritte unterteilt werden kann (18, 19):

- Primäre Adhäsion und Rollen (innerhalb von Sekunden reversibel)
- Schnelle Aktivierung
- Aktivierungsabhängige Bindung (relativ stabil, aber immer noch innerhalb von Minuten reversibel)
- Diapedese

Integrin	Vorkommen	Ligand
αLβ2	alle Leukozyten	ICAM-1, -2, -3, -4, -5
(LFA-1)		
αMβ2	myeloische Zellen, einige aktivierte	ICAM-1, iC3b,
(Mac-1)	T-Zellen	Fibrinogen, FaktorX
α4β1	die meisten Leukozyten, außer Neutrophile	VCAM-1, Fibronektin, α4-Integrin
α4β7	Lymphozyten, NK-Zellen, Basophile, Mastzellen, Monozyten	MAdCAM-1 Fibronektin schwach an VCAM-1

(modifiziert nach v.Andrian, 2000).

Tabelle 1: Vorkommen und Liganden von ausgewählten α4- und β2-Integrinen

Die primäre Adhäsion beinhaltet den initialen Kontakt der Leukozyten mit den Endothelzellen und leitet das so genannte Rollen der Zellen über die Gefäßwand ein. Dadurch werden die Leukozyten gestoppt und können sich auf der Gefäßwand sammeln. An diesem Schritt sind maßgeblich die Selektine beteiligt. Die auf der Endothelzelloberfläche angesammelten Zellen sind jetzt der Aktivierung durch verschiedene Faktoren zugänglich. Dazu werden lösliche oder Endothelzell-gebundene Cytokine und vor allem Chemokine, aber auch intrazelluläre Signale, die durch das von den Selektinen eingeleitete Rollen induziert wurden, gezählt (19-21). Durch die Aktivierung erfahren die auf der Oberfläche der Leukozyten exprimierten Integrine eine Konformationsänderung und erlangen eine höhere Affinität und Avidität für ihren auf den Endothelzellen exprimierten Liganden. Es folgt die aktivierungsabhängige stabile Integrin-Liganden Bindung, die aber immer noch reversibel ist, wenn eine weitere Aktivierung unterbleibt. Für diesen Prozess sind die auf den Leukozyten exprimierten α4-Integrine (α4β7, α4β1) und die β2-Integrine (αLβ2 (*leukocyte function associated antigen,* LFA-1) , αmβ2 (Mac-1) u. a.) verantwortlich (Tabelle 1). Ihre Liganden auf den Endothelzellen stellen CAMs der IgSF dar. Dazu gehören je nach Gewebe das *mucosal addressin cell adhesion molecule-1* (MAdCAM-1), das *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) und die *intercellular adhesion molecules* (ICAMs) (18, 19). Es folgt eine feste Adhäsion der Zellen an das Endothel und die Migration der Leukozyten durch das Endothel in das darunterliegende Gewebe (20, 22, 23). An der so genannten Diapedese sind wahrscheinlich sowohl α4- und β2-Integrine, VCAM-1 und bestimmte Cadherine als auch chemotaktische Faktoren beteiligt (19-21). Die einzelnen Schritte der Extravasation sind schematisch in Abbildung 3 zusammengefasst.

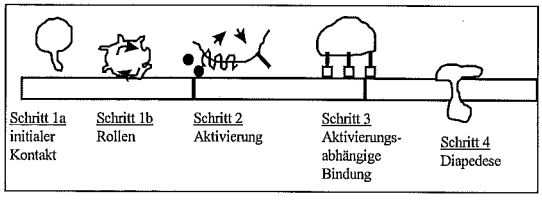


Abb. 3: Schematische Darstellung des „multi-step process" der Extravasation (modifiziert nach Butcher und Picker 1996; Butcher et al. 1999).

Regulationm der Leukozyten-Einwanderung in den Uterus im Verlauf der Schwangerschaft

Untersuchungen, die zur Regulation der Leukozyten-Einwanderung in den schwangeren Uterus der Maus von Beginn der Plazenta-Entwicklung bis zur Geburt in unserem Labor durchgeführt wurden, zeigten, dass im schwangeren Uterus hochspezifische und in Hinsicht auf die wechselnde Antigenität und Architektur der Plazenta extrem anpassungsfähige *Homing*-Mechanismen existieren, die eine selektive Leukozyten-Einwanderung in die Decidua basalis ermöglichen. Vor allem während der kritischen Phase der frühen Plazenta-Entwicklung ist das mütterliche Endothel der uterinen Blutgefäße in der Decidua basalis durch eine stark regulierte Expression hochspezifischer Adhäsionsmoleküle charakterisiert (13).

Hervorzuheben ist hierbei zum einen die Expression einer ungewöhnlichen Kombination von P-Selektin (teilweise assoziiert mit Plättchen) und dem α4β7-Liganden MAdCAM-1 auf den dilatierten mütterlichen Gefäßen in der so genannten vaskulären Zone der Decidua basalis (Abb. 4). Interessanterweise enthalten diese MAdCAM-1$^+$, P-Selektin$^+$ Gefäße eine große Zahl an intravaskulären, adhärenten Monozyten, die sich im Prozess der Extravasation befinden (Abb. 5). Die Mehrzahl dieser Monozyten exprimiert α4β7-Integrin auf ihrer Oberfläche, den Liganden für MAdCAM-1 (Abb. 4) (13). Dies ist äußerst ungewöhnlich, denn der größte Teil der zirkulierenden Monozyten weist normalerweise einen α4β7$^-$ Phänotyp auf (24). Jedoch konnte auch beim Menschen im Rahmen von normal verlaufenden Schwangerschaften ein aktivierter Phänotyp auf zirkulierenden Monozyten nachgewiesen werden (25, 26). Diese ungewöhnliche Kombination von vaskulären Adhäsionsmolekülen könnte eine bedeutende Rolle bei der Selektion von Leukozy-

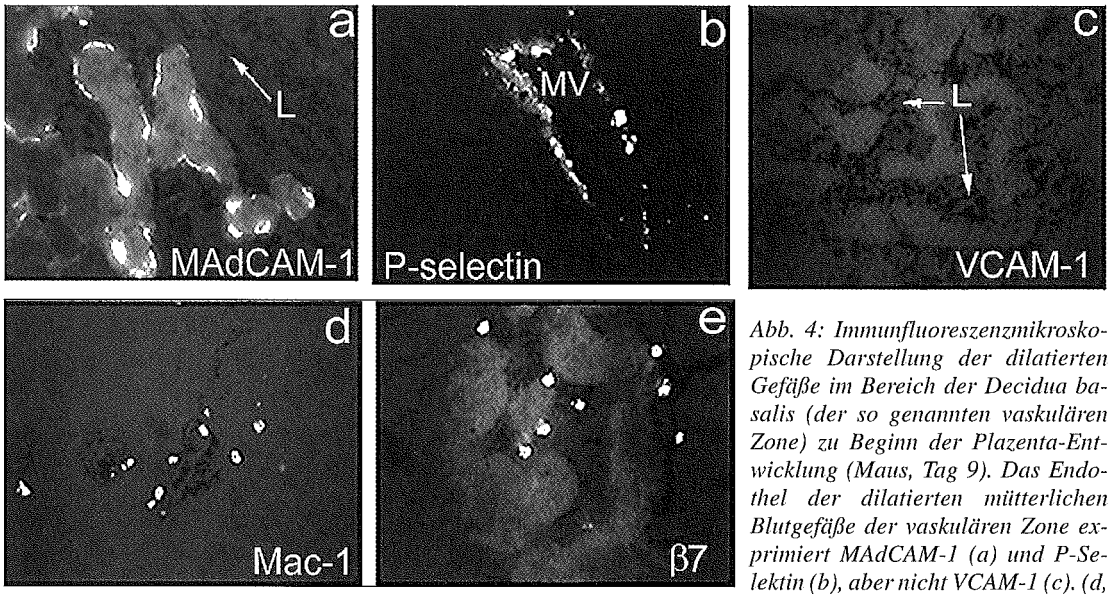


Abb. 4: Immunfluoreszenzmikroskopische Darstellung der dilatierten Gefäße im Bereich der Decidua basalis (der so genannten vaskulären Zone) zu Beginn der Plazenta-Entwicklung (Maus, Tag 9). Das Endothel der dilatierten mütterlichen Blutgefäße der vaskulären Zone exprimiert MAdCAM-1 (a) und P-Selektin (b), aber nicht VCAM-1 (c). (d, e) In den Gefäßen konnten zahlreiche mononukleäre Zellen nachgewiesen werden. Die Mehrzahl der Zellen sind Monozyten, dargestellt durch starke Reaktivität mit anti-Mac-1 mAk (d). Diese Monozyten exprimieren ebenfalls β7-Integrin (e), das in Verbindung mit α4-Integrin (nicht gezeigt) den Leukozyten Rezeptor für MAdCAM-1 repräsentiert. L: Lukonyl blue; MV: mütterlichen Blutgefäß. Vergrößerung: (a-e) x 200.

ten spielen, d. h. nur Subpopulationen, die in der Lage sind, an P-Selektin und MAdCAM-1 zu binden, dürfen die Endothelzellbarriere passieren und ins Gewebe einwandern. Dies könnte zum Beispiel für die $\alpha4\beta7^+$ Monozyten gelten, die in situ in diesen Gefäßen nachgewiesen werden konnten. Gleichzeitig könnte diese ungewöhnliche Kombination von Adhäsionsmolekülen vor allem alloreaktive T- und B-Zellen an der Einwanderung in das Gewebe hindern. Vorläufige funktionelle Daten scheinen dies zu bestätigen.

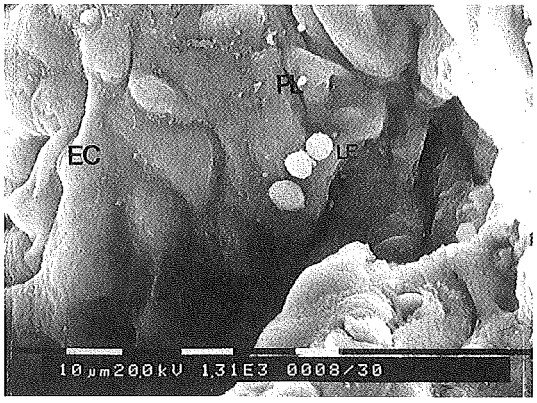


Abb. 5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines dilatierten Gefäßes der vaskulären Zone mit adhärenten Leukozyten und Plättchen. EC: Endothel; LE: Leukozyt; PL: Plättchen.

Die nicht dilatierten Gefäße der zentralen Decidua basalis als auch die großen venösen Kanäle an der Basis des Mesenteriums sind dagegen durch eine Expression von VCAM-1 charakterisiert, tragen aber kein MAdCAM-1 oder P-Selektin auf ihrer Oberfläche. Diese $VCAM\text{-}1^+$ Gefäße sind von uterinen NK-Zellen umgeben, die auf ihrer Oberfläche $\alpha4\beta1$-Integrin exprimieren (Abb. 6) (13). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das von den Gefäßen dieser Zone exprimierte VCAM-1 am Homing der GMG-Zellen beteiligt ist. VCAM-1 stellt einen Liganden für $\alpha4\beta1$-Integrin dar. Auch im menschlichen Uterus konnten während der Schwangerschaft $\alpha4\beta1$ exprimierende *large granular lymphocytes* (LGL) in der Nähe von $VCAM\text{-}1^+$ Gefäßen nachgewiesen werden (27). Andere Studien weisen darauf hin, dass uterine NK-Zellen nicht selbst in den Uterus einwandern, sondern sich aus lymphozytären Vorläuferzellen innerhalb der Decidua unter dem Einfluss von Interleukin-15 (IL-15) entwickeln (6, 28). Es bleibt weiterhin unklar, ob endotheliales VCAM-1, das zu diesem Zeitpunkt selektiv auf Gefäßen der NK-Zell-reichen Zone exprimiert wird, wirklich das *Homing* dieser Zellen in den Uterus vermittelt oder ob sich die GMG-Zellen aus zuvor eingewanderten Vorläuferzellen entwickeln.

Die Schwangerschaft ist ein äußerst komplexer Vorgang, in deren Verlauf sich sowohl die Architektur der Plazenta, die Interaktionen des Trophoblasten mit dem mütterlichen Gewebe als auch die Antigenität des Tro-

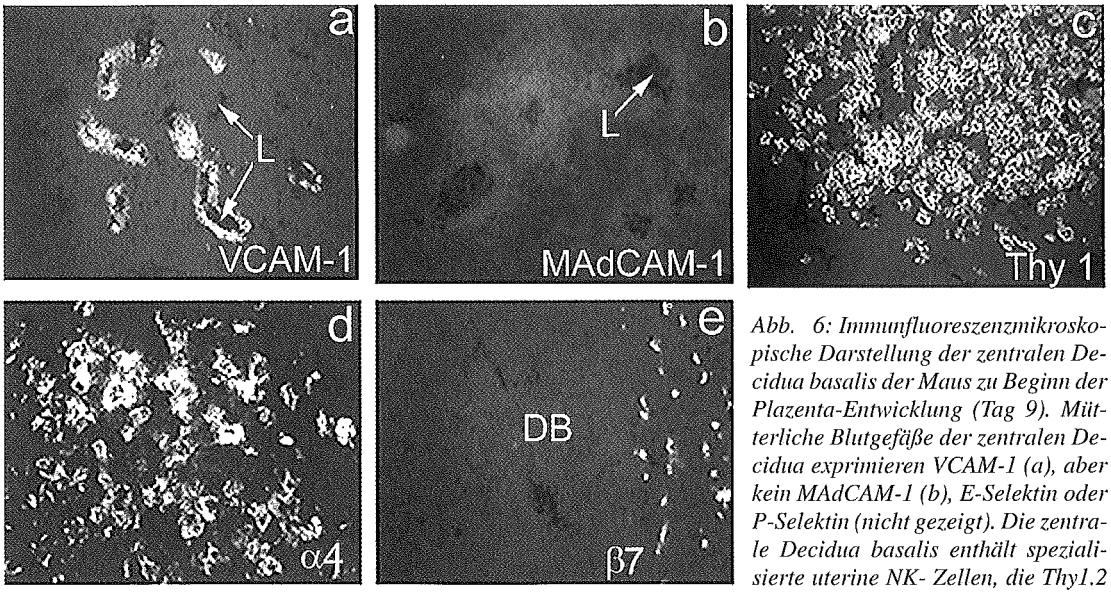


Abb. 6: Immunfluoreszenzmikroskopische Darstellung der zentralen Decidua basalis der Maus zu Beginn der Plazenta-Entwicklung (Tag 9). Mütterliche Blutgefäße der zentralen Decidua exprimieren VCAM-1 (a), aber kein MAdCAM-1 (b), E-Selektin oder P-Selektin (nicht gezeigt). Die zentrale Decidua basalis enthält spezialisierte uterine NK- Zellen, die Thy1.2 (c) und α4-Integrin (d), aber kein β7-Integrin (e) exprimieren. Makrophagen, die intensiv mit anti-β7 mAk reagieren, befinden sich an der Grenze zwischen zentraler Decidua basalis und dem darüberliegenden Myometrium (e). DB: Decidua basalis; L: Lukonyl blue. Vergrößerung: (a, b, d) x 200, (c, e) x 100.

phoblasten (29) verändert. So wurde von Kearns und Lala (12) als auch von Mackler und Mitarbeitern (11) eine vermehrte Rekrutierung von Leukozyten während der zweiten Hälfte der Schwangerschaft bei der Maus beschrieben. Der Anstieg der Leukozytenzahlen ist zudem in allogenen Schwangerschaften wesentlich stärker als in syngenen Schwangerschaften, ein weiterer Hinweis dafür, dass die Interaktion zwischen fetalem Gewebe und mütterlicher Decidua Einfluss auf die Stärke der Immunantwort hat. Zudem ist in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft der Grad der Einteilung in so genannte Mikrodomänen nicht mehr so ausgeprägt wie zu Beginn der Plazenta-Entwicklung und es ändert sich die Stärke der Expression und die Verteilung der vaskulären Adhäsionsmoleküle (30). Dies wirkt sich wiederum auf die Zusammensetzung der infiltrierenden Leukozyten-Subpopulationen aus. So konnte eine drastische Zunahme von uterinen NK-Zellen, Granulozyten aber auch von Lymphozyten, vor allem T-Zellen, nachgewiesen werden. Uterine NK-Zellen enthalten cytotoxische Granula und stehen zudem in engen Kontakt mit dem einwandernden Trophoblasten (Abb. 1, Abb. 7) (5, 9). Die Frage, ob uterine NK-Zellen cytotoxisch auf Trophoblastzellen wirken, wurde lange Zeit kontrovers diskutiert (2, 5). Man nimmt an, dass sie an der Beseitigung veränderter, sich nicht normal entwickelnder Trophoblastzellen beteiligt sind (5). Beim Menschen konnte gezeigt werden, dass Decidua assoziierte NK-Zellen einen oder mehrere inhibitorische Rezeptoren exprimieren, die an HLA-G bzw. HLA-E auf dem Trophhoblasten binden und dadurch in ihrer Cytotoxizität gehemmt werden (31, 32).

Unklar ist, welche Bedeutung die T-Zellen für den weiteren Verlauf der Schwangerschaft haben, zumindest scheinen sie aufgrund der Präsenz von immunsuppremierenden Zellen keine cytotoxischen Reaktionen gegen den semiallogenen Trophoblasten zu induzieren. Wegmann (33) konnte zeigen, dass bei der Maus das fetoplazentare Gewebe spontan Cytokine wie IL-1, IL-5 und IL-10 freisetzt. Er postulierte, dass es im Rahmen der ablaufenden Immunreaktionen zu einer so genannten T_H2-Antwort kommt, die zu einer Differenzierung und Aktivierung von B-Zellen und somit zur Produktion von Antikörpern führen, während cytotoxische Zellen nicht aktiviert werden. Die Dominanz von Monozyten/Makrophagen und NK-Zellen in der mütterlichen Decidua basalis lässt jedoch vermuten, dass vor allem diesen Zellpopulationen eine kritische Roll in der Schwangerschaft zukommt. Die von Sacks (25) vertretende Hypothese, dass die Suppression des spezifischen Arms des mütterlichen Immunsystems durch eine Aktivierung des unspezifischen Immunsystems begleitet, wenn nicht gar kompensiert wird, muss ernsthaft diskutiert werden. Dies würde bedeuten, dass es im schwangeren Uterus zu einer einzigartigen Dysregulation zwischen dem unspezifischen und spezifischen Immunsystem kommt, bei der nicht Lymphozyten, sondern Monozyten und uterine NK-Zellen eine zentrale Rolle im Immunsystem übernehmen. Abbildung 8 zeigt eine schematische Übersicht der im

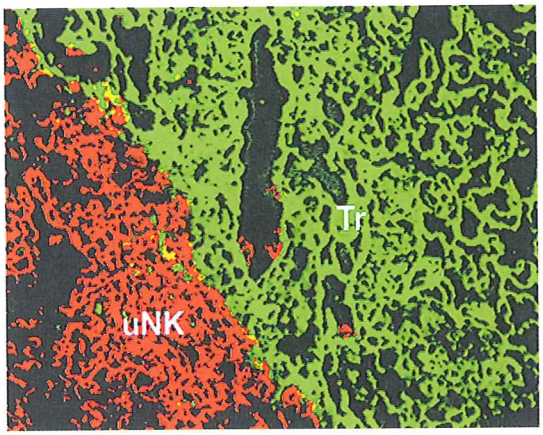


Abb. 7: Zu Beginn der zweiten Hälfte der Schwangerschaft der Maus (Tag 12) infiltrieren uterine NK Zellen (uNK; rot) die gesamte Decidua basalis und stehen in engem Kontakt mit dem einwandernden Trophoblasten (Tr; grün; dargestellt durch einen monoklonalen Antikörper gegen Cytokeratin). Vergrößerung: x 100.

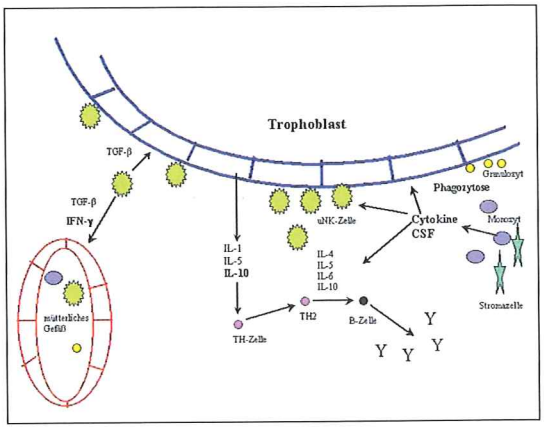


Abb. 8: Schematische Darstellung der im schwangeren Uterus möglicherweise ablaufenden Immunreaktionen. Spezifische Homing-Mechanismen erlauben vor allem zu Beginn der Plazenta-Entwicklung die Einwanderung immunregulatorischer bzw. immunsuppremierender Leukozyten in die mütterliche Decidua basalis. Dazu gehören uterine NK-Zellen, Monozyten bzw. Makrophagen und Granulozyten. Uterine NK-Zellen produzieren vor allem IFN-γ, dass die Expression von Genen in den uterinen Gefäßen und im Stroma modifiziert und dadurch eine Gefäß-Instabilität und Umstrukturierung der decidualen Arterien bewirkt. Das von diesen Zellen wahrscheinlich ebenfalls gebildete TGF-β spielt eine maßgebliche Rolle bei der Induktion und Regulation der Angiogenese und scheint zumindest beim Menschen die Reifung des Syncytiotrophoblasten zu induzieren. Die Funktion der Granulozyten scheint in der Phagozytose von Zellresten zu liegen, die durch enzymatischen Abbau in Folge der Invasion des Trophoblasten anfallen. Makrophagen spielen durch die Produktion von Cytokinen und koloniebildenden Faktoren (CSF) eine wichtige Rolle bei der Regulation der Immunreaktionen und dem Wachtum des Trophoblasten. In der zweiten Hälfte der Schwangerscaft kommt es zu einer Einwanderung von Lymphozyten, vor allem T-Zellen. Vom fetoplazentaren Gewebe produzierte Cytokine scheinen eine T_H^2-Antwort zu induzieren, die zu einer Aktivierung von B-Zellen, aber nicht von cytotoxischen Zellen führt.

schwangeren Uterus möglicherweise ablaufenden Immunreaktionen.

Am Ende der Schwangerschaft ist der verbleibende Teil der Decidua basalis überraschenderweise durch eine drastisch reduzierte Expression von vaskulären Adhäsionsmolekülen gekennzeichnet, die mit einer äußerst minimalen Leukozyten-Infiltration assoziiert ist (30). Über den Verbleib der bereits vorhandenen Zellen ist wenig bekannt. Es gibt jedoch Hinweise , dass zumindest die uterinen NK-Zellen in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft einer progressiven Kernfragmentation unterlaufen (34). Eine verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen und Differenzierungsantigenen auf Endothelzellen und Trophoblasten-Zellen am Ende der Schwangerschaft wurde auch beim Menschen beschrieben (35). Ob das Fehlen von Leukozyten und die verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen am Ende der Schwangerschaft den Prozess der Plazenta-Entwicklung, der Angiogenese und somit auch die Schwangerschaft beendet, wird zur Zeit diskutiert.

Zusammenfassung

Die Schwangerschaft und vor allem die Toleranz des semiallogenen fetalen Gewebes durch das mütterliche Immunsystem ist ein komplexer Vorgang, der äußerst empfindlich auf Störungen reagiert, wie an den hohen spontanen Abortraten während des ersten Trimesters (31% aller Schwangerschaften beim Menschen, davon sind 60-70 % von unbekannter Ursache) (16, 36) oder dem Auftreten der Präeklampsie im Verlauf des 2. oder 3. Trimesters beim Menschen zu sehen ist (37). Obwohl die Ursachen dieser Störungen noch nicht genau verstanden sind, weisen Daten in der Literatur auf immunologische Fehlregulationen im schwangeren Uterus hin, die bei spontanen Aborten des Menschen mit einer T_H1-Antwort und somit cytotoxischen Reaktionen gegen den Trophoblasten einhergehen (16). Dies konnte auch bei fetalen Resorptionen in der ersten Hälfte der Schwangerschaft der Maus gezeigt werden (15). Diese Befunde unterstreichen die Bedeutung der hier dargestellten hochspezifischen Expression von Adhäsionsmolekülen auf Gefäßen der Decidua basalis und die damit verbundene bemerkenswert regulierte Einwanderung von Leukozyten für die Aufrechterhal-

tung der Schwangerschaft. Vor allem der Ausschluss von T-Zellen während der kritischen Phase der frühen Plazenta-Entwicklung könnte eine maßgebliche Rolle bei der mütterlich/fetalen Toleranz spielen. Es ist des Weiteren denkbar, dass T-Zell-Infiltrationen des Uterus bei spontanen Aborten auf einer veränderten oder fehlenden Expression bestimmter uteriner vaskulärer Adhäsionsmoleküle zurückzuführen sind. Die dadurch bedingte „fehlerhafte" Zusammensetzung der uterinen Leukozyten-Subpopulationen könnte zu einer Störung des empfindlichen immunologischen Gleichgewichts zwischen Fetus und Mutter führen.

Literatur

1. Tartakovsky B, Ben-Yair E (1991) Cytokines modulate preimplantation development and pregnancy. Dev Biol; 146: 345-352
2. King A, Loke YW, Chaouat G (1997) NK cells and reproduction. Immunol Today; 18: 64-66
3. Guimond M, Wang B, Croy BA (1999) Immune competence involving the natural killer cell lineage promotes placental growth. Placenta; 20: 441-450
4. Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA (2000) Interferon γ contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. J Exp Med; 192: 259-269
5. Stewart IJ (1994) Granulated metrial gland cells - not part of the natural killer cell lineage? J Reprod Immunol; 26: 1-15
6. Croy BA (1999) Hasn't the time come to replace the term metrial gland? J Reprod Immunol; 42: 127-129
7. Clark DA, Flanders KC, Banwatt D, Millar-Book W, Manuel J, Stedronska-Clark J, Rowley B (1990) Murine pregnancy decidua produces a unique immunosuppressive molecule related to transforming growth factor β-2. J Immunol; 144: 3008-3014
8. Gougos A, St.-Jacques S, Greaves A, O'Connell PJ, dÁpice AJF, Buhring H-J, Bernabeu C, van Mourik JA, Letarte M (1992) Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD containing-glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells and syncytiotrophoblasts. Int Immunol ; 4: 83-92
9. Parr EL, Young LHY, Parr MB, Young JDE (1990) Granulated metrial gland cells of pregnant mouse uterus are natural killer-like cells that contain perforin and serine esterases. J Immunol; 145: 2365-2372
10. Delassus S, Coutinho GC, Saucier C, Darche S, Kourilsky P (1994) Differential cytokine expression in maternal blood and placenta during murine gestation. J Immunol; 152: 2411-2420
11. Mackler AM, Iezza G, Akin MR, McMillan P, Yellon SM (1999) Macrophage trafficking in the uterus and cervix precedes parturition in the mouse. Biol Reprod; 61: 879-883
12. Kearns M, Lala PK (1985) Characterization of hematogenous cellular constituents of the murine decidua: a surface marker study. J Reprod Immunol; 8: 213-234
13. Kruse A, Merchant MJ, Hallmann R, Butcher EC (1999) Evidence of specialized leukocyte-vascular homing interactions at the maternal/fetal interface. Eur J Immunol; 29: 1116-1126
14. Cox J, Ford WL (1984) Lymphocyte traffic in pregnant or oestrogen stimulated rats. J Reprod Immunol; 6: 167-176
15. Tangri S, Wegmann TG, Lin H, Raghupathy R (1994) Maternal anti-placental reactivity in natural immunologically-mediated fetal resorption. J Immunol; 152: 4903-4911
16. Raghupathy R (1997) T_H1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. Immunol Today; 18: 478-482
17. Kruse A, Hallmann R, Butcher EC (1999) Specialized patterns of vascular differentiation antigens in the pregnant mouse uterus and the placenta. Biol Reprod; 61: 1393-1401
18. Butcher EC, Picker LJ (1996) Lymphocyte homing and homeostasis. Science; 272: 60-66
19. Butcher EC, Williams M Youngman K, Rott L, Briskin M. (1999) Lymphocyte trafficking and regional immunity. Adv Immunol; 72: 209-253
20. Warnock RA, Campbell JJ, Dorf ME, Matsuzawa A, McEvoy LM, Butcher EC (2000) The role of chemokines in the microenvironmental control of T versus B cell arrest in Peyer's Patch high endothelial venules. J Exp Med; 191: 77-88
21. von Andrian UH, Mackay CR (2000) T-cell function and migration. N Engl J Med; 343:1020-1034
22. Bianchi E, Bender JR, Blasi F, Pardi R (1997) Through and beyond the wall: late steps in leukocyte transendothelial migration. Immunol Today 18: 586-591
23. DeLisser HM, Newman PJ, Albelda SM (1994) Molecular and functional aspects of PECAM-1/CD31. Immunol Today; 15: 490-495
24. Tiisala S, Paavonen T, Renkonen R (1995) Alpha E beta7 and alpha 4 beta7 integrins associated with intraepithelial and mucosal homing, are expressed on macrophages. Eur J Immunol; 25: 411-417
25. Sacks G, Studena K, Sargent I, Redman C (1998) Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. Am J Obstet Gynecol; 179: 80-86
26. Sacks G, Sargent I, Redman C (1999) An innate view of human pregnancy. Immunol Today; 20: 114-118
27. Burrows TD, King A, Loke YW (1993) Expression of adhesion molecules by human decidual large granular lymphocytes. Cell Immunol; 147: 81-94
28. Liu CC, Perussia B, Young JD (2000) The emerging role of IL-15 in NK-cell development. Immunol Today; 21:113-116
29. Chatterjee-Hasrouni S, Lala PK (1981) MHC antigens on mouse trophoblast cells: paucity of Ia antigens despite the presence of H-2K and D. J Immunol; 127: 2070-2073
30. Kruse A, Martens N, Hallmann R, Butcher EC. Alterations in the expression of homing-associated molecules at the maternal/fetal interface during the course of pregnancy. Biol. Reprod. in press.
31. Mingari MC, Ponte M, Cantono C, Moretta L (1999) Natural killer cells in pregnancy: how do they avoid attacking fetal tissues? The Immunologist; 7: 107-111
32. King A, Hiby SE, Gardner L, Joseph S, Bowen JM, Verma S, Burrows TD, Loke YW (2000) Recognition of trophoblast HLA class I molecules by decidual NK cell receptors – a review. Placenta; 21: 81-85
33. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR (1993) Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a T_H2 phenomenon? Immunol Today; 14: 353-356
34. Delgado SR, McBey BA, Yamashiro S, Fujita J, Kiso Y, Croy BA (1996) Accounting for the peripartum loss of granulated metrial gland cells, a natural killer population, from the pregnant uterus. J Leukoc Biol; 59: 262-269
35. Damsky CH, Librach C, Lim KH, Fitzgerald ML, McMaster MT, Janatpour M, Zhou Y, Logan SK, Fisher SJ (1994) Integrin switching regulates normal trophoblast invasion. Development; 120: 3657-3666
36. Clark DA, Chaouat G (1989) What do we know about spontaneous abortion mechanisms? Am J Reprod Immunol; 19: 28-37
37. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ (1997) Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotyp. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? J Clin Invest; 99: 2152-2164

Aus dem Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin der Medizinischen Universität zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. H. Kirchner)

Bakterielle Superantigene

L. Rink* und H. Kirchner

Zusammenfassung

Bakterielle Superantigene sind Proteine, die als Exotoxine von verschiedenen Bakterien ausgeschüttet werden. Sie haben einen einzigartigen Mechanismus, mit dem sie die Zellen des Immunsystems überaktivieren. Superantigene verknüpfen Moleküle des Haupthistokompatibilitätskomplexes mit T-Zell-Rezeptoren und aktivieren auf diese Weise beide Zelltypen maximal. Die Aktivierung ist dabei viel stärker als durch normale Antigene. Obwohl der Mechanismus der Interaktion von antigenpräsentierender Zelle und T-Zelle durch Superantigene eine Reaktion auf ein Antigen optimal vortäuscht, haben Antigene und Superantigene in ihren Funktionsprinzipien keinerlei Gemeinsamkeiten. Im Gegenteil, der Name Superantigene ist geradezu irreführend und falsch.

Die klinische Bedeutung der Superantigene liegt heute noch hauptsächlich auf den akuten Effekten. So sind das Toxische-Schock-Syndrom und der Scharlachschock auf Superantigene zurückzuführen. Diese Toxinsyndrome können tödlich verlaufen, wenn sie nicht rechtzeitig erkannt werden. Neben den akuten Effekten werden aber seit längerem chronische Veränderungen des Immunsystems durch Superantigene diskutiert, die zu Autoimmunerkrankungen führen.

In den letzten Jahren wurden durch die Genomprojekte für *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* eine Vielzahl neuer Superantigene entdeckt. Gleichzeitig wurde durch die molekulare Strukturaufklärung der Funktionsmechanismus besser verstanden, so dass in Zukunft auch gezielte Therapien gegen Superantigene zu erwarten sind.

Einleitung

Der Begriff Superantigen wurde 1990 von Marrack und Kappler geprägt, indem sie die Staphylokokken Enterotoxine als Prototypen für die Klasse der „staphylococcal enterotoxin-like toxins" definierten. Damit wurden diese bakteriellen Exotoxine zu einer neuen funktionellen Klasse zusammengefasst. Dieser Übersichtsartikel wird seitdem als Entdeckung des Prinzips der Superantigene zitiert. Tatsächlich wurde der Begriff bereits 1989 von diesen Autoren erfunden (White et al. 1989), während das funktionelle Prinzip schon zwei Jahre früher von einer deutschen Arbeitsgruppe (Fleischer und Schrezenmeier 1988) beschrieben wurde. Die Anzahl der Superantigene hat in den letzten Jahren durch die Genomprojekte stark zugenommen (Fraser et al. 2000). Molekular charakterisiert sind Superantigene von *Mycoplasma arthritidis, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes und Yersinia pseudotuberculosis* (Tabelle 1). Neben den bakteriellen gibt es noch virale Superantigene, von denen vor allem die retroviralen Superantigene aus Maus-Mamma-Turmorviren (MMTV) gut charakterisiert sind (Acha-Orbea 1992). Darüber hinaus wurden für viele verschiedene Organismen Superantigene beschrieben, deren eindeutige Prüfung aber noch aussteht oder zum Teil eine Superantigenfunktion sogar unwahrscheinlich ist (Fleischer et al. 1995, Bernal et al. 1999). Im Folgenden wird nur auf die heute eindeutig charakterisierten bakteriellen Superantigene eingegangen.

Generelles Funktionsprinzip der Superantigene

Bakterielle Superantigene sind die T-Zell-Mitogene bzw. -Stimulantien, die den natürlichen Aktivierungsmechanismus von T-Zellen über ein Antigen am besten vortäuschen. Trotzdem unterscheidet sich die T-Zell-Aktivierung der Superantigene grundsätzlich von der durch Antigene, weshalb der Terminus „Antigen" im Wort eigentlich irreführend und falsch ist (Kirchner et al. 1993).

Antigene bzw. Erreger werden von antigenpräsentierenden Zellen aufgenommen und von diesen zu kleinen Peptiden verdaut (Processing). Die processierten Antigene werden in der Antigenbindungsgrube des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC, „major histocompatibility complex") eingelagert und als Einheit mit diesem auf der Zelloberfläche exprimiert. Dieser Komplex aus „fremd" (Antigen) und „selbst" (MHC) wird hochspezifisch vom T-Zell-Rezeptor (TCR) erkannt. Die Spezifität des TCR beruht dabei auf der Kombination von V und J (V = „variable" und J = „joining" Element) der α-Kette und V, D und J (D = „diversity" Element) der β-Kette. Durch die Kombination dieser Elemente und der beiden Ketten sowie zusätzliche Mutationen gibt es insgesamt ca. 18 Milliarden verschiedene TCR-Spezifitäten, für die entsprechende Anzahl verschiedener Antigene (Kirchner et al.

* Zum 60. Geburtstag von Prof. Kirchner als Rückblick auf eine über 10-jährige gemeinsame Forschungsarbeit auf diesem Gebiet.

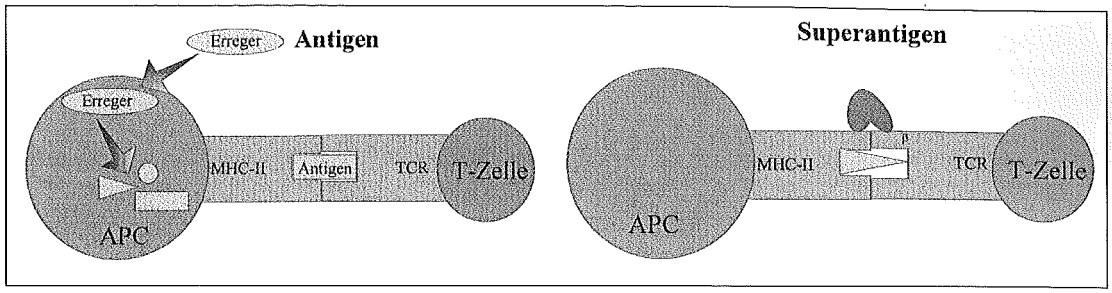


Abbildung 1: Vergleich der Präsentation von Antigen und Superantigen
Antigene bzw. Erreger werden erst phagocytiert und dann zu Peptidbruchstücken processiert. Diese werden in der Antigenbindungsgrube des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) eingelagert und der Komplex dann auf der Zelloberfläche präsentiert. Dieser Komplex wird von den T-Zellen mit ihrer Antigenerkennungsstelle hochspezifisch erkannt. Des Weiteren reagieren bei der Präsentation über MHC-II nur CD4+ T-Helferzellen auf das Antigen. Superantigene binden außerhalb der Antigenbindungsgrube des MHC-II und außerhalb der Antigenerkennungsstelle des T-Zell-Rezeptors (TCR), werden also nicht processiert. Somit ist die Bindung des Antigens unabhängig vom Antigen und der Antigenspezifität des TCR. Superantigene können an die α- oder β-Kette des MHC-II binden. Am TCR binden Superantigene an konstante Regionen des variablen Elements der β-Kette (Vβ), also nicht antigen-, sondern Vβ-spezifisch. Durch die hohe Affinität und die antigenunabhängige Bindung aktivieren Superantigene CD4+ und CD8+ T-Zellen über MHC-II, unterliegen also keiner Restriktion.

Erreger	Superantigen	Molekular gewicht	Vβ-Spezifität im Menschen*	MHC-II Bindung	Assoziierte Erkrankung
Staphylococcus aureus	**SE** (Staphylococcus Enterotoxin) A	27,1 kDa	**1, 5, 6, 8, 9, 16, 22**	α + β	
S. aureus	SEB	28,4 kDa	**3, 12, 14, 19**	α	
S. aureus	SEC1	27,5 kDa	3, 6, 12, 15	α	T-Zell-Schock
S. aureus	SEC2	27,6 kDa	12, 13, 14, 15, 19, 20	α	Lebensmittelvergiftung
S. aureus	SEC3	27,6 kDa	5, 12, 13	α	
S. aureus	SED	26,9 kDa	1, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 21	α + β	
S. aureus	SEE	26,8 kDa	**5, 8, 21**	α + β	
S. aureus	SEG	27,0 kDa	?	?	?
S. aureus	SEH	25,6 kDa	?	?	?
S. aureus	SEI	24,9 kDa	?	?	?
S. aureus	TSST-1 (**Toxic Shock Syndrome Toxin**)	21,9 kDa	**2**	α	Toxischer Schock Syndrom
Streptococcus pyogenes	SPE (**Streptococcus pyrogenes exotoxin**) A	26,0 kDa	**9, 12, 14**	α	Scharlachfieber Toxischer Schock-artiges Syndrom
S. pyogenes	SPEC	24,4 kDa	**2**	β	Toxischer Schock-artiges Syndrom
S. pyogenes	SPEG	24,6 kDa	2, 4, 6, 9, 12	β	?
S. pyogenes	SPEH	23,6 kDa	2, 7, 9, 23	β	?
S. pyogenes	SPEI	25,9 kDa	5, 6, 9, 18, 22	α + β	?
S. pyogenes	SPEJ	24,5 kDa	2, 8	β	?
S. pyogenes	SSA (**Streptococcus Superantigen**)	26,9 kDa	1, 3, 15, 17, 19	?	Toxischer Schock-artiges Syndrom
S. pyogenes	SME (**Spreptococcus mitogenes exotoxin**) Z	24,3 kDa	2, 4, 7, 8	β	Kawasaki Syndrom ?
S. pyogenes	SMEZ-2	24,1 kDa	4, 8	β	Kawasaki Syndrom ?
Mycoplasma arthritidis	MAS / MAM (**Mycoplasma arthritidis Superantigen/Mitogen**)	25,2 kDa	**8, 19**	α + β	Arthritis ?
Yersinia pseudotuberculosis	YPM (**Yersinia pseudotuberculosis Mitogen**)	21,0 kDa	3, 9, 13	?	?

*Spezifitäten in fett wurden unabhängig von verschiedenen Autoren in eindeutigen Systemen bestimmt

Tabelle 1: Molekular charakterisierte bakterielle Superantigene

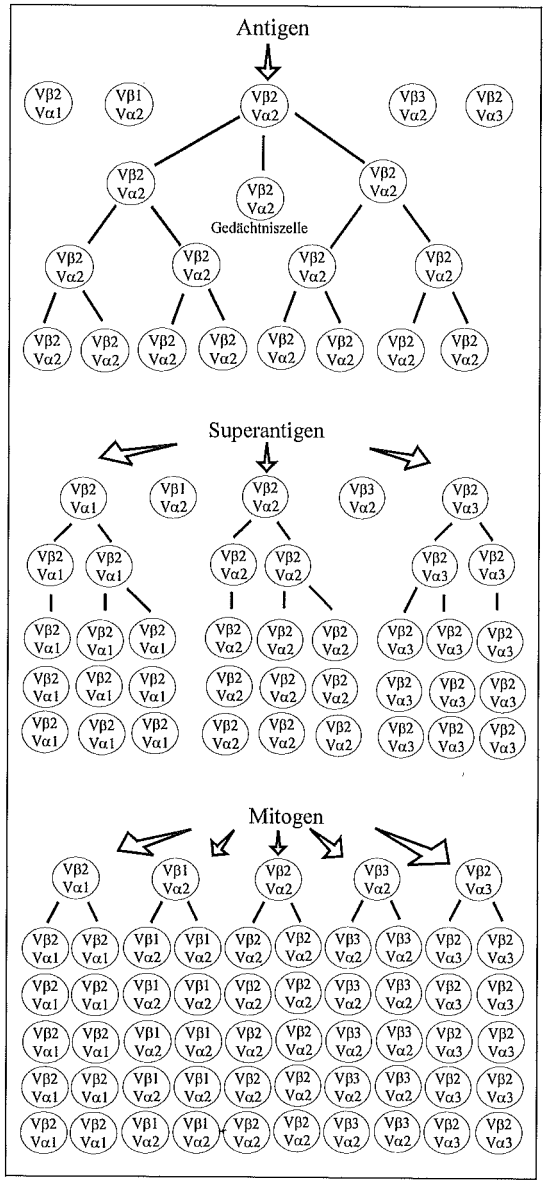


Abbildung 2: Gegenüberstellung der T-Zell-Aktivierung durch Antigen, Superantigene und Mitogene
Die Antigenerkennungsstelle des T-Zell-Rezeptors (TCR) ist komplementär zum Antigen. Für die Vielzahl von Antigenen ist das Immunsystem in der Lage ca. 18 Milliarden verschiedene TCR-Spezifitäten zu erzeugen, die durch die Kombination verschiedener genetischer Elemente des TCR entstehen. Ein Antigen aktiviert deshalb theoretisch nur eine T-Zelle, die dann eine charakteristische Kombination von Vα Jα und Vβ Dβ Jβ hat, wodurch eine antigenspezifische monoklonale Aktivierung hervorgerufen wird. Es kommt somit auch zur Vermehrung eines bestimmten Vβ-Elementes, aber nur in Kombination mit definierten Vα Jα und Dβ Jβ-Elementen, die mit diesem gemeinsam die Antigenspezifität ausmachen.
Superantigene binden nur an das Vβ-Element, wodurch die übrigen Kombinationsanteile keine Rolle spielen. Es werden alle T-Zellen aktiviert, die ein bestimmtes Vβ-Element tragen, die Aktivierung ist damit oligoklonal und Vβ-spezifisch. Im Gegensatz zum Antigen haben alle aktivierten T-Zellen nur das Vβ-Element gemeinsam, während die Vα Jα- und Dβ Jβ–Elemente statistisch verteilt bleiben.
Mitogene haben keinerlei Spezifität für den TCR, wodurch alle T-Zellen unspezifisch polyklonal aktiviert werden und damit eine vollkommen statistische Verteilung der TCR-Typen erhalten bleibt.

1993; Reinherz et al. 1999). Während der Reifung der T-Zellen im Thymus werden die T-Zellen in zwei Weisen in ihrer Reaktivität beschränkt (restringiert). Zum einen erkennen $CD4^+$ T-Zellen (T-Helfer-Zellen) Antigene nur im Komplex mit MHC-II (HLA-DR, -DQ, -DP) und $CD8^+$ T-Zellen (cytotoxische T-Zellen) nur im Komplex mit MHC-I (HLA-A, -B, -C). Zum anderen können T-Zellen ein spezifisches Antigen nur im Komplex mit dem autologen MHC erkennen, also dem MHC-Typ, auf den sie während der Reifung im Thymus restringiert wurden (Selbstrestriktion). Dieser Mechanismus führt dazu, dass Antigene T-Zellen hochspezifisch, also monoklonal, aktivieren. Die normale Frequenz von antigenspezifischen T-Zellen ist ca. 1 auf 100.000 Zellen (Kirchner et al. 1993).

Superantigene umgehen alle diese Vorgänge und Restriktionen einer normalen Antigenpräsentation, weshalb der Name eigentlich falsch ist. Trotzdem verknüpfen sie den TCR mit dem MHC-II, in einer Art, wie es sonst nur Antigene machen (Fraser et al. 2000; Papageorgiou und Acharya 2000). Die Unterschiede von Antigenen und Superantigenen sind in Tabelle 1 und den Abbildungen 1 und 2 gegenübergestellt. Superantigene binden außerhalb der Antigenbindungsgrube am MHC-II und verknüpfen diesen mit dem TCR (Dellabona et al. 1990). Die Bindung ist also vollkommen unabhängig von dem in der Antigenbindungsgrube eingelagertem Antigen. Dies gilt jedoch nur eingeschränkt für das Toxische-Schock-Syndrom-Toxin-1 (TSST-1), welches bei der Bindung die Antigenbindungsgrube überlappt, und so von einigen Antigenen in seiner Bindung beeinflusst werden kann (Kim et al. 1994; von Bonin et al. 1995; Lavoie et al. 1997). Es sei erwähnt, dass es eine Veröffentlichung gibt, in der auch eine Bindung von Superantigen an MHC-I beschrieben ist, dies wurde jedoch mehrfach wiederlegt (Häffner et al. 1996).

Die Bindung des Superantigens am TCR ist ebenfalls außerhalb der Antigenerkennungsstelle und somit unabhängig von der TCR-Spezifität. Trotzdem ist die Bindung des Superantigens nicht unspezifisch, wie die

	MHC-I Antigen	MHC-II Antigen	Superantigen
Größe	9 (8-10) Aminosäuren	13 (8-20) Aminosäuren	Proteine über 200 Aminosäuren
Processing durch	Proteasom	Phagolysosom	Nein
MHC-Beladung	Im endoplasmatischen Retikulum	Im „Phagolysosomen" (MHC-II-Compartiment)	Außerhalb der Zelle
Bindungsstelle am MHC	In der Antigenbindungsgrube	In der Antigenbindungsgrube	Außerhalb der Antigenbindungsgrube (hydrophobe Tasche an der α-Kette bzw. zinkabhängig an H81 der β-Kette)
T-Zell-Rezeptor (TCR)-Spezifität	Kombination von VαJα + VβDβJβ	Kombination von VαJα + VβDβJβ	Nur Vβ-Element
Aktivierungsart	Antigenspezifisch (monoklonal)	Antigenspezifisch (monoklonal)	Vβ-spezifisch (oligoklonal)
Anzahl reaktiver TCR **Theoretisch** **Praktisch**	 1 auf 1-18 Mrd. T-Zellen 1 auf 10-100.000 T-Zellen	 1 auf 1-18 Mrd. T-Zellen 1 auf 10-100.000 T-Zellen	 Ca. 4% der T-Zellen je reaktivem Vβ-Element 5-30 % aller T-Zellen
Präsentation durch	MHC-I	MHC-II	MHC-II
T-Zell-Spezifität	CD 8	CD 4	CD 4 und CD 8
Limitierung der T-Zell-Aktivierung	Nur spezifisches Antigen im Komplex mit autologem MHC wird erkannt	Nur spezifisches Antigen im Komplex mit autologem MHC wird erkannt	Aktivierung der T-Zellen mit einem reaktiven Vβ-Element bei Präsentation durch autologes, allogenes oder xenogenes MHC-II; in der Regel (Ausnahme TSST-1) antigenunabhängig

Tabelle 2: Eigenschaften von Antigenen und Superantigenen

eines Mitogens (Abb. 2), da das Superantigen spezifisch an den konstanten Rahmenregionen der V-Elemente der β-Kette (Vβ) des TCR bindet (Malchiodi et al. 1995; Fields et al. 1996,; Li et al. 1998; Reinherz et al. 1999). Somit aktiviert ein Superantigen nicht monoklonal wie ein Antigen, aber auch nicht polyklonal wie ein Mitogen. Aus dieser Vβ-spezifischen Bindung resultiert eine oligoklonale Aktivierung, bei der alle aktivierten T-Zellen einen TCR mit einem bzw. mehreren für dieses Superantigen spezifische Vβ-Elemente tragen, während die D- und J-Elemente der β-Kette und die gesamte α-Kette des TCR keinen Einfluss auf die Superantigenbindung haben. Einzelne Gruppen haben beschrieben, dass die J-Elemente der β-Kette bzw. die α-Kette einen Einfluss auf die Superantigenstimulation von T-Zellen haben, diese Daten sind aber nach wie vor fraglich (Quiros-Roldan et al. 1994; Fleischer 1994; Hodtsev et al. 1998).

Da es beim Menschen genetisch 24 Vβ-Familien des TCR gibt, die bei Gesunden gleichmäßig verteilt sind, aktiviert ein Superantigen je nach seiner Vβ-Spezifität zwischen 4 % und 30 % aller T-Zellen (Tabellen 1 und 2) (Fleischer et al. 1996). Somit ist die T-Zell-Aktivierung von Superantigenen viel stärker als die durch normale Antigene, wodurch der Name entstanden ist. Da die Bindung von Superantigenen an MHC-II und den TCR stärker ist als die Interaktion des TCR mit dem MHC-Antigen-Komplex, kann das Superantigen die Restriktionen der T-Zell-Aktivierung überspielen, d. h. Superantigene aktivieren, obwohl sie über MHC-II präsentiert werden, auch CD8+ T-Zellen, unterliegen also nicht der CD4/CD8-Restriktion für MHC-I und -II (Matthes et al. 1988;, Herrmann et al. 1990; Leder et al. 1998; Proft und Fraser 1998). Des Weiteren können Superantigene auch über allogene, ja sogar über xenogene MHC-II-Typen an T-Zellen präsentiert werden, umgehen also die Selbstrestriktion auf den autologen MHC (Herman et al. 1990, Fleischer et al. 1996; Alvarez-Ossorio et al. 1997). Die stärkere Bindung zum MHC-II und TCR ist der Grund für die extreme Potenz dieser Toxine, d. h. eine Superantigenwirkung ist noch bei Konzentrationen von weniger als 10^{-9} M, das entspricht ca. 1fg/ml (10^{-12} mg/ml) nachweisbar (Leder et al. 1998; Proft und Fraser 1998; Bernal et al. 1999).

Molekulare Grundlage der Bindung von Superantigenen an MHC-II

Für viele Superantigene ist bereits die Kristallstruktur aufgeklärt und aufgrund von Sequenzhomologien kann man sagen, dass zumindest alle Superantigene aus Staphylococcus aureus und Streptococcus pyogenes eine einheitliche Struktur aus 2 globulären β-Faltblatt Domänen und einer zentralen α-Helix haben (Fraser et al. 2000; Papageorgiou und Acharya 2000). Diese Grobstruktur spiegelt sich in einem β-Faltblatt Anteil von ca. 40 % und einem α-Helix Anteil von ca. 10 % wider. C-terminal liegt das charakteristische β-grasp Motiv und N-terminal eine pseudo β-barrel Domäne. In den β-Faltblattstrukturen liegen die Bindungsstellen für den TCR und MHC-II. Da diese Struktur immer vorliegt, obwohl einige Superantigene untereinander nur eine minimale Sequenzhomologie haben und auch die Faltung manchmal von einer internen Disulfidbrücke abhängt und in anderen Fällen ohne diese zu Stande kommt, wurde diese Struktur als essentiell für die Superantigenfunktion definiert (Fraser et al. 2000; Papageorgiou und Acharya 2000). Allerdings zeigt die Grobstruktur des *Mycoplasma arthritidis* Superanti-

gens (MAS) nur einen β-Faltblatt Anteil von ca. 10 %, wodurch diese generelle Superantigenstruktur nicht eingenommen werden kann (Grötzinger et al, eingereicht) und MAS eine neue strukturelle Superantigenklasse bildet. Für das *Yersinia pseudotuberculosis* Mitogen (YPM) gibt es noch keine Strukturdaten.

Von einigen Superantigenen sind bereits Co-Kristalle mit HLA-DR vorhanden, so dass die Bindungsstelle genau definiert ist (Jardetzky et al. 1994; Kim et al. 1994). Staphylokokken Enterotoxin (SE) B bindet an eine hydrophobe Tasche an der invarianten α1-Domäne von HLA-DR. Eine der entscheidenden Aminosäuren ist dabei der Lysinrest in Position 39 (Karp et al. 1990; Dowd et al. 1996). Dies ist die klassische und konservierte Bindungsstelle für Superantigene and der α-Kette von HLA-DR. Das Toxische-Schock-Syndrom-Toxin (TSST)-1 bindet an dieselbe Region, jedoch nicht identisch mit SEB (Jardetzky et al. 1994; Kim et al. 1994). Das TSST-1 überlappt einen großen Teil der Antigenbindungsgrube und interagiert dabei direkt mit dem Antigen in der Antigenbindungsgrube und ist somit im Gegensatz zu den übrigen Superantigenen vom Antigen abhängig (von Bonin et al. 1995; Lavoie et al. 1997).

Neben der konservierten α-Ketten-Bindungsstelle gibt es noch eine konservierte β-Ketten-Bindungsstelle, die von vielen Superantigenen genutzt wird. SEA, SED, SEE und das Spreptokokken pyrogene Exotoxin (SPE) C sowie andere nutzen das Histidin in Position 81 der HLA-DR β-Kette als vierte Koordinationsstelle für ein Zinkion (Karp und Long 1992; Fraser et al. 1993; Sundström et al. 1996; Li et al. 1997). Das Zink wird dabei von 3 Aminosäureresten des Superantigens und dem Histidin 81 des HLA-Molekül koordiniert. Diese Bindungsstelle hat eine ca. 100fach höhere Affinität als die α-Ketten-Bindungsstelle (Fraser et al. 2000). Die Superantigene SEA, SED und SEE besitzen sowohl die α- als auch die β-Ketten-Bindungsstelle, während SPEC nur die β-Ketten-Bindungsstelle besitzt. SPEA (Fagin et al, eingereicht) und SPEC (Li et al. 1997) wiederum bilden Dimere und haben so auch zwei Bindungsstellen, jedoch nicht wie SEA eine α- und eine β-Bindungsstelle, sondern zweimal α- bzw. zweimal β-Bindungsstelle. MAS besitzt auch eine α- und eine β-Ketten-Bindungsstelle, wovon die β-Bindungsstelle auch über Histidin 81 und Zink koordiniert wird, während die α-Ketten-Bindungsstelle noch nicht definiert ist (Driessen et al. 1995; Bernatchez et al. 1997; Grötzinger et al, eingereicht). Für viele Superantigene ist die Bindungsstelle noch nicht definiert, es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass alle Staphylokokken und Streptokokken Superantigene die beiden konservierten Bindungsstellen benutzen. Für das YPM gibt es noch keine Daten zur MHC-II Bindung.

Interessanterweise gibt es mittlerweile Spezies-spezifische Superantigene, die nur mit MHC-II einer bestimmten Spezies reagieren bzw. für die klar ist, wie beim SPEC, dass sie von einigen Spezies (im Fall von SPEC die Maus) nicht präsentiert werden können (Li et al. 1997). Aber bereits innerhalb einer Spezies kann der Polymorphismus des MHC-Systems die Aktivität eines Superantigens beeinflussen (siehe Absatz über Krankheitsassoziationen) (Herman et al. 1990; Alvarez-Ossorio et al. 1997).

Somit gibt es zurzeit drei Varianten der MHC-II Bindung von Superantigenen:

- 1 Bindungsstelle an der α- oder β-Kette des MHC-II
- 2 unterschiedliche Bindungsstellen, davon eine an der α- und eine an der β-Kette des MHC-II
- Superantigendimere, die durch die Dimerisierung 2 identische Bindungsstellen haben, entweder α- oder β-Ketten-Bindungsstelle

Molekulare Grundlage der Bindung von Superantigenen am TCR

Über die Bindung der Superantigene am TCR ist weniger bekannt als über die Bindung am MHC-II, da es weniger Kristallstrukturen von Superantigenen mit einer TCR β-Kette gibt (Malchiodi et al. 1995; Fields et al. 1996; Li et al. 1998). Des Weiteren ist die TCR-Bindung aufgrund der schlechteren Affinität (im Vergleich zur MHC-II Bindung) nur sehr schwer direkt zu untersuchen. Die Extrapolation der übrigen Superantigene auf diese Co-Kristalle zeigt, dass in der Regel ein Kontakt zur „complementary determining region" CDR2 sowie zum hypervariablen Loop 4 (HV4) besteht. Dazu kann es einen Kontakt zur Rahmenregion 3 (FR3) geben. Einzelne Veröffentlichungen sprechen auch von einer Beteiligung der CDR3 bei MAS (Hodtsev et al. 1998), was den Vermutungen ähnelt, dass das J-Element auch eine Rolle bei der Bindung spielt (Quiros-Roldan et al. 1994; Fleischer 1994). Über die Aktivierung von γδ-T-Zellen ist nur wenig bekannt, es wurde aber für SEA eine Aktivierung von Vγ 9 tragenden T-Zellen beschrieben (Rust und Koning 1993).

Klar ist hingegen, dass die Superantigene T-Zellen Vβ-spezifisch aktivieren und dass die Superantigene verschieden Vβ-Repertoire induzieren (Tabelle 1).

Zellaktivierung über Superantigene

Superantigene aktivieren bei ihrer Verknüpfung von MHC-II und TCR die T-Zelle und die antigenpräsentierende Zelle (APC). Beide Zellen werden bei der Verknüpfung maximal stimuliert und produzieren fast sämtliche Cytokine, zu deren Synthese sie in der Lage sind. Die Monocyten/Makrophagen schütten proinflammatorische Cytokine wie Interleukin (IL)-1, IL-6 und Tumornekrosefaktor (TNF)-α aus, während die T-

Zellen in erster Linie IL-2, TNF-β und IFN-γ produzieren (Rink et al. 1992, 1994, 1996, 1997). Allerdings induzieren Superantigene sowohl T-Helfer 1 (TH1) als auch TH2 Cytokine, so dass nach einer Superantigenstimulation auch IL-4 nachweisbar ist (Kirchner et al. 1984; Rink et al. 1992, 1996). Die T-Zellen produzieren nicht nur Cytokine, sondern proliferieren auch sehr stark. Häufig kommt es durch die Superantigenstimulation zum aktivierungs- vermittelten Zelltod („activation induced cell death" AICD), d. h. die T-Zellen teilen sich zunächst einige Male, bevor sie in die Apoptose eintreten (Oberg et al. 1997). Deshalb kann man nach der Stimulation verschiedene Phasen beobachten. Zunächst sieht man eine Cytokinfreisetzung und kurz danach einen Refraktärzustand, da der TCR nach der Bindung und Aktivierung durch das Superantigen internalisiert wird (Mietke et al. 1995; Makika et al. 1996). Danach treten die Zellen in die Proliferationphase ein, die dann in der Apoptose endet. Somit führen Superantigene zunächst zu einer T-Zell Anergie, gefolgt von einer Vβ-spezifischen T-Zell-Depletion, wodurch die Reaktivität des T-Zell-Systems funktionell eingeschränkt wird. Superantigene führen somit zu einer Verschiebung im Vβ-Repertoire, indem T-Zell-Populationen vermehrt oder depletiert werden (Mietke et al. 1995).

Neben den oben beschriebenen Effekten, die für CD4+ und CD8+ T-Zellen gelten, können CD8+ cytotoxische T-Zellen auch Superantigen-vermittelt Zellen töten (SDCC „staphylococcal enterotoxin-dependent cell cytotoxicity") (Kalland et al. 1991). Dies führt dazu, dass nicht nur die reaktiven T-Zellen, sondern auch ein Teil der APC depletiert wird, wodurch die Immunfunktion weiter eingeschränkt wird. Dieser Vorgang wird durch MHC-I teilweise inhibiert (Phillips et al. 1995). Noch nicht geklärt ist, worauf die Superantigen-vermittelte MHC-II-unabhängige Abtötung von Tumorzellen beruht (Lando et al. 1995).

Eine Sonderfunktion der Aktivierung wird nur über Superantigene mit zwei MHC-Bindungsstellen vermittelt. Diese können T-Zell-unabhängig MHC-II positive Zellen aktivieren, was erstmals von uns an murinen Knochenmarkmakrophagen gezeigt werden konnte (Homfeld et al. 1990; Rink et al. 1994). Bei dieser speziellen Wirkung wurden leider versehentlich von einer amerikanischen Arbeitsgruppe viele, wie sich nachträglich herausstellte, falsche Daten veröffentlicht, da die natürlichen gereinigten Superantigene noch mit anderen Substanzen kontaminiert waren (Kum et al. 1993; Fagin et al. 1997). Vom heutigen Kenntnisstand her weiß man, dass Publikationen die eine MHC-II-Signaltransduktion von TSST-1 oder anderen Superantigenen mit nur einer MHC-II-Bindungsstelle beschreiben, auf Kontaminationen zurückzuführen sind. Damit haben bivalente Superantigene ein erweitertes Zielzellspektrum und sind nicht auf die Verknüpfung von MHC-II und TCR angewiesen. Wie die Aktivierung und Signaltransduktion genau bei dieser T-Zell-unabhängigen Aktivierung verläuft, ist noch nicht geklärt. Sicher ist jedoch, dass für diese MHC-II-Signaltransduktion zwei MHC-II Bindungsstellen vorhanden sein müssen, damit MHC-II Moleküle verknüpft werden können (Al-Daccak et al. 1994; Mehindate et al. 1994, 1995). Kürzlich konnte von uns gezeigt werden, dass MHC-II positive neutrophile Granulocyten auch T-Zell-unabhängig über bivalente Superantigene aktiviert werden können (Lei et al. 2001). Damit sind jetzt alle Zellen des Immunsystems Zielzellen der Superantigene. In diesem Modell gibt es auch erste Hinweise für die Beteiligung von Adhäsionsmolekülen an der MHC-II-Signaltransduktion (eigene unveröffentlichte Daten).

Interessanterweise werden bei der MHC-II-Signaltransduktion durch Superantigene nur proinflammatorische Cytokine in den Zielzellen induziert (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α), während antiinflammatorische Cytokine wie der IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA) durch Superantigene nicht induziert werden, womit diese eine große Potenz zur Induktion von chronischen Entzündungen bzw. Autoimmunität haben (Mehindate et al. 1994; Rink et al. 1996). Im Gegensatz dazu induzieren andere bakterielle Stimulantien, wie z. B. Lipopolysaccharid (LPS), in denselben Zielzellen sowohl IL-1 als auch IL-1RA (Mehindate et al. 1994; Rink et al. 1996). Folglich induzieren die Superantigene einen proinflammatorischen Überschuss. Interessanterweise verstärken Superantigene auch die Wirkung von LPS, während dies umgekehrt nicht der Fall ist (Luhm et al. 1997). Superantigene sind also die wohl potentesten bakteriellen Toxine mit immunmodulatorischer Wirkung.

Superantigen-assoziierte Krankheiten

Entdeckt wurden die Staphylokokken Enterotoxine durch ihre brechreizerregende Wirkung bei Lebensmittelvergiftungen, von der noch strittig ist, ob diese mit der Superantigenfunktion zusammenhängt oder nicht (Harris et al. 1993; Fleischer et al. 1995). Eindeutig den Superantigenen zuzuordnen sind die akuten Schocksyndrome bei einer Infektion mit Superantigen-produzierenden Bakterien (Fleischer 1994; Bernal et al. 1999). Das Toxische-Schock-Syndrom (TSS) ist klinisch klar definiert (Tabelle 3), es ist allerdings so, dass die Toxische-Schock-artigen Syndrome oder der T-Zell-Schock der Staphylokokken Enterotoxine immunologisch identisch sind (Stevens 1997). Die Letalität beim TSS ist auch heute noch sehr hoch. Generell korreliert die Letalität bzw. die Stärke des Syndroms mit dem Titer an neutralisierenden Antikörpern gegen die Superantigene (Notermans et al. 1983). Auffällig

Symptom
Fieber über 38,9°C
Diffuses scarlatiformes Exanthem, nach 1 bis 2 Wochen Hautschuppung (insbesondere Hand- und Fußflächen)
Hypotonie (< 100mm Hg systolisch)
Konjunktivitis (auch vaginale oder oropharyngeale Hyperämie)
Erbrechen, Übelkeit oder Diarrhoe
Myalgien
Erhöhung des Serumkreatinins bzw. der Phosphokinase
Harnstofferhöhung
Pyurie ohne Harnwegsinfekt
Erhöhung von Transaminasen, Bilirubin oder alkalische Phosphatase
Bewusstseinsstörung oder Desorientiertheit

Tabelle 3: Symptome eines Toxischen-Schock-Syndroms

war vor allem eine Häufung von TSS Fällen bei menstruierenden Frauen Anfang der 80er Jahre, wodurch auch heute noch das TSS als ein vorwiegendes Problem menstruierender Frauen gesehen wird (Helgerson 1981). Tatsächlich ist die ungewöhnliche Häufung der Fälle im Jahre 1980 darauf zurückzuführen, dass damals neue Tampons auf den Markt kamen, die Komplexbildner für zweiwertige Ionen enthielten (vor allem für Magnesium), wodurch eine geringere Verkeimung gewährleistet werden sollte. Die Keimzahl reduzierte sich tatsächlich, jedoch konnte genetisch erst 15 Jahre später geklärt werden, dass durch die Reduktion an zweiwertigen Ionen die Toxinproduktion verstärkt wird (Helgerson 1981; Balaban und Novick 1995). Deshalb reduzierten sich die TSS Fälle bei menstruierenden Frauen auch sehr schnell, nachdem diese Tampons vom Markt genommen wurden.

1-2 Wochen nach dem akuten TSS kommt es zu einer extremen Hautschuppung, insbesondere an den Hand- und Fußflächen, wodurch eine klare Abgrenzung von anderen Infektionen gelingt. Diese Abschuppung, wie auch andere Symptome, sind direkt oder indirekt auf die Superantigene zurückzuführen (Tabelle 4). So weiß man, dass Superantigene auch von Keratinocyten präsentiert werden können, was einige Hauterscheinungen erklärt (Ezepchuk et al. 1996).

Ähnlich dem TSS für die Staphylokokken Superantigene, kann der Scharlachschock und das Streptokokken TSS (STSS) eindeutig den Streptokokken Superantigenen zugeordnet werden. Bei den Streptokokkeninfektionen wurden schon früh autoimmunologische Spätfolgen beobachtet. Diese Spätfolgen sind abzugrenzen von den kurzfristigen Effekten, die wie die akuten Effekte des TSS auf die direkte Reaktion des Superantigens zurückzuführen sind (Tabelle 4) (Schlievert 1993; Bernal et al. 1999).

Im Gegensatz dazu sind die Spätfolgen nicht mehr von der Anwesenheit des Superantigens abhängig, vielmehr setzen diese durch ihre spezifische Interaktion einen autoimmunen Prozess in Gang, der dann ohne das Superantigen weiterläuft. Aufgrund der Tatsache, dass bei verschiedenen Autoimmunkrankheiten starke Verschiebungen im Vβ-Repertoire bestehen und des oben erläuterten Zusammenhangs zwischen Streptokokkeninfektionen und Autoimmunkrankheiten, wurden Superantigene schon früh als Auslöser für Autoimmunität diskutiert (Schlievert 1993; Capra und Natvig 1993; Posnett 1993). Ein gutes Beispiel ist dabei das Mycoplasma arthritidis Superantigen (MAS), wo der Erreger Mycoplasma arthritidis eine akute entzündliche Arthritis bei Mäusen und Ratten induziert, die teilweise chronisch verlaufen kann und dann der rheumatoiden Arthritis beim Menschen ähnelt (Rink und Kirchner 1992). Deshalb wird MAS auch wie die Staphylokokken und Streptokokken Superantigene als ein möglicher Auslöser der rheumatoiden Arthritis diskutiert (Capra und Natvig 1993; Posnett 1993).

Die Superantigene der gram-positiven Kokken werden des Weiteren als Auslöser für Psoriasis, atopische Dermatitis, Kawasaki Syndrom und andere Vaskulitiden diskutiert (Schlievert 1993; Leung et al. 1993; Bernal et al. 1999). Für diese Krankheiten wurden jeweils Verschiebungen im Vβ-Repertoire beschrieben, die jedoch nicht immer einem Superantigen eindeutig zugeordnet werden können. Im Fall des Kawasaki Syndroms kommt es zu einer Präferenz von Vβ2 T-Zellen, was für eine Beteiligung von TSST-1 oder Streptokokken Superantigenen spricht (Fraser et al. 2000). Bei den meisten anderen Erkrankungen wurden verschiedene Vβ-Repertoire beschrieben, wodurch keine klare Zuordnung zu einem Superantigen möglich ist (Capra und Natvig 1993). Allerdings hat der HLA-Polymorphismus zum Teil einen Einfluss auf die T-Zell-Aktivierung (siehe oben). Somit könnten die verschiedenen Vβ-Repertoire ihren Grund in den unterschiedlichen HLA-Typen haben und gleichzeitig für die genetische Prädisposition bei diesen Krankheiten sprechen (Alvarez-Ossorio et al. 1998).

Ausblick

Es ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren noch weitere Superantigene entdeckt werden. Die Tatsache, dass Mycoplasma arthritidis und Yersinia pseudotuberculosis Superantigene produzieren, lässt vermuten, dass dies auch in anderen Bakterien der Fall sein wird. Um diese zu finden, muss man wohl auf klassische

Generelles Phänomen	Mechanismus
Akute Effekte **(Stunden)** *Toxischer Schock Syndrom*	
Fieber	Induktion pyrogener Cytokine (IL-1, IL-6, TNF-α)
Exanthem	Vasodilatation durch Cytokine
Cytokinfreisetzung (vor allem IL-1, IL-6, TNF-α, IFN-γ)	Aktivierung von T-Zellen und APC durch Superantigenbrücke
Freisetzung von Leukotrienen und Histamin	
Kurzfristige Effekte **(Stunden bis Tage)** *Immunparalyse*	
Vβ-spezifische T-Zell-Proliferation	Aktivierung von T-Zellen und APC durch Superantigenbrücke
Vβ-spezifische T-Zell-Depletion	Aktivierungsabhängiger Zelltod (ADCD, activation driven cell death)
Vβ-spezifische T-Zell-Anergie	T-Zell-Rezeptor Internalisierung
Langfristige Effekte **(Tage bis Jahre)** *Autoimmunkrankheiten*	
Aktivierung autoreaktiver T-Zellen	Aktivierung anerger T-Zellen durch höhere Affinität und geringere Abhängigkeit von akzessorischen Molekülen
Aktivierung autoreaktiver B-Zellen	Aktivierung anerger B-Zellen durch T-Zell-Hilfe über die Superantigenbrücke

Tabelle 4: Systemische Wirkungen von Superantigenen

Methoden der funktionellen Testung zurückgreifen, da bereits MAS und YPM keine Sequenzhomologien zu den anderen Superantigenen zeigen. Für die Testung müssen allerdings auch neue Methoden etabliert werden, da z. B. SPEC bei einer alleinigen Testung im Mausmodell nie entdeckt worden wäre.

Die strukturelle Aufklärung der Interaktion zwischen MHC-II und Superantigen bzw. TCR und Superantigen hat schon wesentliche Fortschritte gebracht. Ein weiterer Durchbruch wäre von einem trimolekularen Komplex aller drei Komponenten zu erwarten. Man wird auch in der Mikrobiologie die klassische Einteilung in Toxinbildner und nicht-Toxinbildner revidieren müssen, da von den neuen Streptokokken Superantigenen bekannt ist, dass diese teilweise auf dem Genom liegen und nicht wie die klassischen Streptokokken Superantigene auf einem Bakteriophagen.

Die Krankheitsassoziationen werden sicherlich erst richtig verstanden, wenn alle Funktionen der Superantigene, wie z. B. die MHC-II Signaltransduktion, genau verstanden sind. Die Entdeckung der neuen Superantigene hat dies sicherlich nicht erleichtert, die dadurch entstandene genauere Kenntnis über generelle Strukturmerkmale hat wiederum neue vielversprechende Ansätze für Superantigen-Impfstoffe initiiert, die Antikörper gegen fast alle Superantigene induzieren könnten.

Literatur

1. Acha-Orbea H (1992) Retroviral superantigens. Chem Immunol 55:65
2. Al-Daccak R, Mehindate K, Hebert J, Rink L, Mecheri S, Mourad W (1994) Mycoplasma arthritidis-derived superantigen induces proinflammatory monokine gene expression in THP-1 human monocytic cell line. Infect Immun 62:2409
3. Alvarez-Ossorio L, Johannsen M, Alvarez-Ossorio R, Nicklas W, Kirchner H, Rink L (1998) Cytokine induction by Mycoplasma arthritidis-derived superantigen (MAS), but not by TSST-1 or SEC-3, is correlated to certain HLA-DR types. Scand J Immunol 47:43
4. Alvarez-Ossorio L, Johannsen M, Russlies M, Kirchner H, Rink L (1997) HLA-dependent heterogeneous T cell response to Mycoplasma arthritidis-derived superantigen (MAS). Med Microbiol Immunol 185:245
5. Balaban N, Novick R P (1995) Autocrine regulation of toxin synthesis by Staphylococcus aureus. Proc Natl Acad Sci USA 92:1619

6. Bernal A, Proft T, Fraser JD, Posnett DN (1999) Superantigens in human disease. J Clin Immunol 19:149

7. Bernatchez C, Al-Daccak R, Mayer PE, Mehindate K, Rink L, Mecherie S, Mourad W (1997) Functional analysis of Mycoplasma arthritidis-derived mitogen interactions with class II molecules. Infect Immun 65:2000

8. von Bonin A, Ehrlich S, Malcherek G, Fleischer B (1995) Major histocompatibility complex class II-associated peptides determine the binding of the superantigen toxic shock syndrome toxin-1. Eur J Immunol 25:2894

9. Capra JD and Natvig JB (1993) Is there V region restriction in autoimmune disease? Immunologist 1:16

10. Dellabona P, Peccoud J, Kappler J, Marrack P, Benoist C, Mathis D (1990) Superantigens interact with MHC class II molecules outside of the antigen groove. Cell 62:1115

11. Dowd JE, Karr RW, Karp DR (1996) Functional activity of staphylococcal enterotoxin A requires interactions with both the alpha and beta chains of HLA-DR. Mol Immunol 33: 1267

12. Driessen C, Hirv K, Kirchner H, Rink L (1995) Divergent effects of zinc on different bacterial pathogenic agents. J Infect Dis 171:486

13. Ezepchuk YV, Leung DY, Middleton MH, Bina P, Reiser R, Norris DA (1996) Staphylococcal toxins and protein A differentially induce cytotoxicity and release of tumor necrosis factor-alpha from human keratinocytes. J Invest Dermatol 107:603

14. Fagin U, Hahn U, Grötzinger U, Fleischer B, Gerlach D, Buck F, Wollmer A, Kirchner H, Rink L (1997) Exclusion of bioactive contaminations in Streptococcus pyogenes erythrogenic toxin A preparations by recombinant expression in Escherichia coli. Infect Immun 65:4725

15. Fagin U, Grötzinger J, Fleischer B, Gerlach D, Federwisch M, Wollmer A, Rink L. The superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin A forms covalently-linked homodimers; eingereicht

16. Fields BA, Malchiodi EL, Li H, Ysern X, Stauffacher CV, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA (1996) Crystal structure of a T cell receptor beta chain complexed with a superantigen. Nature 384:188

17. Fleischer B (1994) Superantigens. APMIS 102:3

18. Fleischer B, Schrezenmeier H (1988) T cell stimulation by staphylococcal enterotoxins clonally variable response and requirement for major histocompatibility complex class II molecules on accessory or target cells. J Exp Med 167:1697

19. Fleischer B, Gerlach D, Fuhrmann A, Schmidt K-H (1995) Superantigens and pseudosuperantigens of gram-positive cocci. Med Microbiol Immunol 184:1

20. Fleischer B, Necker A, Leget C, Malissen B, Romagné F (1996) Reactivity of mouse T-cell hybridomas expressing human Vβ gene segments with staphylococcal and streptococcal superantigens. Infect Immun. 64:987

21. Fraser JD, Lowe S, Irwin MJ, Gascoigne NRJ, Hudson KR (1993) Structural model of staphylococcal enterotoxin A interaction with MHC class II antigens. Curr Commun Cell Mol Biol 7:7

22. Fraser J, Arcus V, Kong P, Baker T, Proft T (2000) Superantigens – powerful modifiers of the immune system. Mol Med Today 6:125

23. Grötzinger J, Galuschka A, Fagin U, Kirchner H, Höschler B, Karp DR, Fleischer B, Reichardt W, Wollmer A, Rink L. Superantigenic activity of the Mycoplasma arthritidis-derived superantigen (MAS) is mediated by a novel structure: eingereicht

24. Häffner AC, Zepter K, Elmets CA (1996) Major histocompatibility complex of class I molecule serves as a ligand for presentation of the superantigen staphylococcal enterotoxin B to T cells. Proc Natl Acad Sci 93:3037

25. Harris TO, Grossman D, Kappler JW, Marrack P, Rich RR (1993) Lack of complete correlation between emetic and T-cell-stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins. Infect Immun 61:3175

26. Helgerson SD (1981) Toxic shock syndrome: tampons, toxins, and time: the evolution of understanding an illness. Women Health 6:93

27. Herman A, Croteau G, Sekaly R-P, Kappler J, Marrack P (1990) HLA-DR alleles differ in their ability to present staphylococcal enterotoxins to T cell. J Exp Med 172:709

28. Herrmann T, Maryanski JL, Romero P, Fleischer B, MacDonald HR (1990) Activation of MHC class I-restricted CD8+ CTL by microbial T cell mitogens. Dependence upon MHC class II expression of the target cells and V beta usage of the responder T cells. J Immunol 144:1181

29. Hodtsev AS, Choi Y, Spanopoulou E, Posnett DN (1998) Mycoplasma superantigen is a CDR3-dependent ligand for the T cell antigen receptor. J Exp Med 187:319

30. Homfeld J, Homfeld A, Nicklas W, Rink L, Weyland A, Kirchner H (1990) Induction of IL-6 in murine bone-marrow derived macrophages stimulated by the Mycoplasma arhtritidis mitogen MAS. Autoimmunity 7:317

31. Jardetzky TS, Brown JH, Gorga JC, Stern LJ, Urban RG, Chi Y, Stauffacher C, Strominger JL, Wiley DC (1994) Three-dimensional structure of a human class II histocompatibility molecule complexed with superantigen. Nature 368:711

32. Kalland T, Hedlund G, Dohlsten M, Lando PA (1991) Staphylococcal enterotoxin-dependent cell-mediated cytotoxicity. Curr Top Microbiol Immunol 174:81

33. Karp DR and Long EO (1992) Identification of HLA-DR 1 beta chain residues critical for binding staphylococcal enterotoxins A and E. J Exp Med 175:415

34. Karp DR, Teletski CL, Scholl P, Geha R and Long EO (1990) The alpha 1 domain of HLA-DR molecules is essential for high-affinity binding of the toxic shock syndrome toxin-1. Nature 376:474

35. Kim J, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC (1994) Toxic shock syndrome toxin-1 complexed with a class II major histocompatibility molecule HLA-DR1. Science 266:1870

36. Kirchner H, Nicklas W, Giebler D, Keyssner K, Berger R, Storch E (1984) Induction of interferon gamma in mouse spleen cells by culture supernatant of Mycoplasma arthritidis. J Interferon Res 4:389

37. Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L (1993) Cytokine und Interferone – Botenstoffe des Immunsystems. Spektrum Akademischer Verlag

38. Kum WWS, Laupland KB, See RH, Chow AW (1993) Improved purification and biological activities of staphylococcal toxic shock syndrome toxin 1. J Clin Microbiol 31:2654

39. Lando PA, Dohlsten M, Ohlsson L, Kalland T (1995) Tumor-reactive superantigens suppress tumor growth in humanized SCID mice. Int J Cancer 62:466

40. Lavoie PM, Thibodeau J, Cloutier I, Busch R, Sekaly RP (1997) Selective binding of bacterial toxins to major histocompatibility complex class II-expressing cells is controlled by invariant chain and HLA-DM. Proc Natl Acad Sci 94:6892

41. Leder L, Llera A, Lavoie PM, Lebedeva MI, Li H, Sekaly RP, Bohach GA, Gahr PJ, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA (1998) A mutational analysis of the binding of staphylococcal enterotoxin B and C3 to the T cell receptor beta chain and major histocompatibility complex class II. J Exp Med 187:823

42. Lei L, Alstaedt J, von der Ohe M, Proft T, Rink L (2001) Induction of IL-8 on human neutrophils following MHC class II cross-linking with superantigens. J Leukoc Biol 70: im Druck

43. Leung DY, Walsh P, Giorno R, Norris DA (1993) A potential role of superantigens in the pathogenesis of psoriasis. J Invest Dermatol 100:225

44. Li H, Llera A, Tsuchiya D, Leder L, Ysern X, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA (1998) Three-dimensional structure of the complex between a T cell receptor β chain and the superantigen staphylococcal enterotoxin B. Immunity 9:807

45. Li PL, Tiedemann RE, Moffat SL, Fraser JD (1997) The superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin C (SPE-C) exhibits a novel mode of action. J Exp Med 186:375

46. Luhm J, Kirchner H, Rink L (1997) One-way synergetic effect of low superantigen concentrations on lipopolysaccharide-induced cytokine production. J Interferon Cytokine Res 17:229

47. Makida R, Hofer MF, Takase K, Cambier JC, Leung DY (1996) Bacterial superantigens induce Vbeta-specific T cell receptor internalization. Mol Immunol 33:891

48. Malchiodi EL, Eisenstein E, Fields BA, Ohlendorf DH, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA (1995) Superantigen binding to a T cell receptor beta chain of known three-dimensional structure. J Exp Med 182:1833

49. Marrack P, Kappler J (1990) The staphylococcal enterotoxins and their relatives. Science 248:705

50. Matthes M, Schrezenmeier H, Homfeld J, Fleischer S, Malissen B, Kirchner H, Fleischer B (1988) Clonal analysis of human T-cell activation by the Mycoplasma arthritidis mitogen (MAS) Eur J Immunol 18:1733

51. Mehindate K, Al-Daccak R, Rink L, Hebert J, Mourad W (1994) Regulation of MAM-induced proinflammatory monokine gene expression by dexamethasone and IL-4. Infect Immun 62:4716

52. Mehindate K, Thibodeau J, Dohlsten M, Kalland T, Sékaly RP, Mourad W (1995) Cross-linking of major histocompati-bility complex class II molecules by staphylococcal enterotoxin A superantigen is a requirement of inflammatory cytokine gene expression. J Exp Med 182:1573

53. Mietke T, Wahl C, Heeg K, Wagner H (1995) Superantigens: The paradox of T-cell activation versus inactivation. Int Arch Allergy Immunol 106:3

54. Notermans S, van Leeuwen WJ, Dufrenne J, Tips PD (1983) Serum antibodies to enterotoxins produced by Staphylococcus aureus with special reference to enterotoxin F and toxic shock syndrome. J Clin Microbiol 18:1055

55. Oberg HH, Lengl-Janssen B, Kabelitz D, Janssen O (1997) Activation-induced T cell death: resistance or susceptibility correlate with cell surface fas ligand expression and T helper phenotype. Cell Immunol 181:93

56. Papageorgiou AC, Acharya KR (2000) Microbial superantigens: from structure to function. Trends Microbiol 8:369

57. Phillips JH, Gumperz JE, Parham P, Lanier LL (1995) Super-antigen-dependent, cell-mediated cytotoxicity inhibited by MHC class I receptors on T lymphocytes. Science 268:403

58. Posnett DN (1993) Do superantigens play a role in autoimmunity? Semin Immunol 5:65

59. Proft T, Fraser JD (1998) Superantigens: just like peptides only different. J Exp Med 187:819

60. Quiros-Roldan E, Sottini A, Imberti L, Mattioli S, Albertini A, Primi D (1994) Superantigen-reactive human T cells express a biased repertoire of T-cell receptor V beta joining regions. Res Immunol 145:517

61. Reinherz EL, Tan K, Tang L, Kern P, Liu J, Xiong Y, Hussey RE, Smolyar A, Hare B, Zhang R, Joachimiak A, Chang HC, Wagner G, Wang J (1999) The crystal structure of a T cell receptor in complex with peptide and MHC class II. Science 286:1913

62. Rink L, Kirchner H (1992) Mycoplasma arthritidis-derived superantigen. Chem Immunol 55:137

63. Rink L, Kruse A, Nicklas W, Hoyer J, Kirchner H (1992) Induction of cytokines in human peripheral blood and spleen cells by the Mycoplasma arthritidis-derived superantigen. Lymphokine Cytokine Res 11:105

64. Rink L, Luhm J, Koester M, Kirchner H (1996) Induction of a cytokine network by superantigens with parallel TH1 and TH2 stimulation, J Interferon Cytokine Res 16:41

65. Rink L, Nicklas W, Alvarez-Ossorio L, Fagin U, Kirchner H (1997) Microbial superantigens stimulate T cells by the superantigen-bridge and independently by a cytokine pathway. J Interferon Cytokine Res 17:489

66. Rink L, Nicklas W, Alvarez-Ossorio L, Koester M, Kirchner H (1994) Differential induction of tumor necrosis factor alpha in murine and human leukocytes by Mycoplasma arthritidis-derived superantigen. Infect Immun 6:462

67. Rink L, Nicklas W, Luhm J, Kruse R, Kirchner H (1996) Induction of a proinflammatory cytokine network by Mycoplasma arthritidis -derived superantigen (MAS) J Interferon Cytokine Res 16:861

68. Rust CJJ, Koning F (1993) γδ T cell reactivity towards bacterial superantigens. Immunology 5:41

69. Schlievert PM (1993) Role of superantigens in human disease. J Infect Dis 167:997

70. Stevens DL, (1997) Superantigens: Their role in infectious diseases. Immunol Inv 26:275

71. Sundström M, Abrahmsén L, Antonsson P, Mehindate K, Mourad W, Dohlsten M (1996) The crystal structure of staphylococcal enterotoxin type D reveals Zn^{2+}-mediated homodimerization. EMBO J, 15:6832

72. White J, Herman A, Pullen AM, Kubo R, Kappler JW, Marrack P (1989) The Vβ-specific superantigen staphylococcal enterotoxin B: Stimulation of mature T cells and clonal deletion in neonatal mice. Cell 57:27

Aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie (Direktor: Prof. Dr. Dr. K. K. H. Gundlach) der Universität Rostock und dem Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin (Direktor: Prof. Dr. H. Kirchner) der Medizinischen Universität zu Lübeck

Konzentration von Immunglobulinen im Vergleich zu Antikörpern gegen Streptococcus mutans im Speichel von Kindern

Von R. Göcke und M. Seyfarth*

Einleitung

Speichel ist der bestimmende Faktor für das Mundhöhlenmilieu. Neben anderem erfüllt er die Funktion einer unspezifischen und spezifischen Abwehr gegen Bakterien, Pilze und Viren, die auf diesem Wege in den menschlichen Organismus eindringen. Für die unspezifische Abwehr stehen nach heutigem Kenntnisstand Lysozym, Lactoferrin, das Peroxidasesystem aus Speichelperoxidase bzw. Myeloperoxidase, Wasserstoffperoxid und Thiozyanat sowie Agglutinine, Cystatine und Histatine zur Verfügung (Tenovuo 1989; Dowd 1999). Die spezifische Abwehr erfolgt über die Immunglobuline (Ig). Das wichtigste Immunglobulin des Speichels ist dabei das sekretorische Immunglobulin A (S-IgA) (Brandtzaeg 1989). In kleinen Mengen ist auch sekretorisches Immunglobulin M vorhanden. Über das Sulkusfluid und direkt aus den Schleimhäuten tritt aber auch Immunglobulin G aus dem Serum in die Mundhöhle und damit in den Speichel über (Brandtzaeg 1989).

Da Karies als bakteriell bedingte Erkrankung der Zähne definiert wird, hat eine Reihe von Autoren versucht, den Spiegel der Immunglobuline im Speichel auch mit Karies in Beziehung zu setzen. Die Ergebnisse blieben jedoch widersprüchlich (Dowd 1999): neben positiven Korrelationen mit verschiedenen Kariesindizes wurden auch negative Korrelationen beschrieben bzw. ein Zusammenhang verneint. In neuerer Zeit konzentriert sich das Interesse daher auf die Antikörper gegen Streptococcus (S.) mutans im Speichel, da dieser Keim als kausales Agens der Karies gilt (Smith et al. 1998; McGhee und Michalek 1981). Ergebnisse hierzu sind bisher aber noch nicht ausreichend publiziert. Auch der Zusammenhang zwischen der Gesamtkonzentration der Immunglobuline im Speichel und der Aktivität der Antikörper gegen S.mutans wurde bisher noch nicht ausreichend beleuchtet. Er ist von Bedeutung, wenn man im Lichte der neueren Untersuchungen die Befunde über Antikörper gegen S.mutans im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen über Immunglobuline im Speichel bei Karies einordnen will.

Im Rahmen der Rostocker Longitudinalstudie „Speichel und Karies bei Kindern" sollte daher auch die Beziehung zwischen den Konzentrationen von S-IgA bzw. IgG und den Aktivitäten der Antikörper gegen S.mutans im unstimulierten und im stimulierten Nüchterngesamtspeichel von Kindern untersucht werden. Diese Daten entspringen einer langjährigen Zusammenarbeit des Instituts für Immunologie und Transfusionsmedizin der Medizinischen Universität zu Lübeck mit dem Funktionsbereich Experimentelle Forschung der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Universität Rostock.

Probanden und Methoden

An der Studie beteiligten sich 37 Mädchen und 47 Jungen der Klassenstufe 3 an einer Grundschule. Altersbedingt befanden sie sich in der frühen Wechselgebissperiode mit dem Übergang vom Milchgebiss zum bleibenden Gebiss. Tab. 1 fasst einige Daten zur Charakterisierung der Kinder in der Untersuchungsgruppe zusammen. Dabei bedeutet der dfs-Index die gesamte Karieserfahrung und der ds-Index die aktuellen Kariesläsionen im Milchgebiss, während der DMFS-Index die gesamte Karieserfahrung und der DS-Index die aktuellen Kariesläsionen im bleibenden Gebiss bezeichnet. Alle Zahlen sind auf Zahnflächen bezogen. Die Daten belegen, dass die beteiligten Kinder eine unterschiedliche Karieserfahrung und Kariesaktivität hatten.

Als Untersuchungsmaterial diente Nüchterngesamtspeichel. Die Kinder wurden instruiert, nach dem Frühstück keine weitere Nahrung oder Erfrischungen zu sich zu nehmen. Eine Kontrolle der strikten Einhaltung dieser Vorgaben war allerdings nicht möglich. Nach mindestens zwei Stunden Wartezeit sammelten sie zunächst fünfzehn Minuten lang Ruhespeichel durch einfache Drainage aus dem leicht geöffneten Mund. Direkt anschließend erfolgte fünf Minuten lang eine Stimulation des Speichelflusses durch Kauen auf Paraffinwachs und intermittierendes Abgeben des im

* Herrn Prof. Dr. H. Kirchner zum 60. Geburtstag

Mund angesammelten Speichels. Die Proben wurden mit Hilfe eines Trichters in eisgekühlten Zentrifugengläsern aufgefangen. Sie wurden sofort danach ins Labor transportiert und nach Bestimmung des Volumens 15 min bei 3000*g und 2-4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde bei -20°C gelagert. Alle Analysen erfolgten aus diesem Überstand. Diese Speichelsammlungen erfolgten an 3 verschiedenen Zeitpunkten über einen Zeitraum von 18 Monaten mit einem sechsmonatigen Intervall.

Die Bestimmung von S-IgA erfolgte nach der Methode von Seyfarth u. a. (1987) mit Hilfe eines Enzymimmunoassays, der in der Festphase einen monoklonalen Antikörper gegen die humane sekretorische Komponente und in der flüssigen Phase einen polyklonalen, mit Peroxidase markierten Antikörper gegen humanes IgA verwendet. Damit war ein selektiver Nachweis von S-IgA gewährleistet. Die Empfindlichkeit lag bei 0,5 µg/l. IgG wurde durch radiale Immunodiffusion mit einem NANORID™-Testkit (The Binding Site, Heidelberg/BRD) ermittelt. Die Nachweisgrenze liegt hier bei 0,12 mg/l.

Anschließend erfolgte der Nachweis von Antikörpern gegen S. mutans mit einem Enzymimmunoassay „Streptococcus mutans Antikörper-Nachweis" (AID, Straßberg/BRD). Diese Testplatten waren mit Zellmaterial von S. mutans NCTC 10449 als Antigen beschichtet, an das Antikörper gegen S. mutans gebunden wurden. An diese Antikörper wurde dann wahlweise ein konjugierter Antikörper gegen humanes IgA bzw. IgG bzw. IgM angelagert. Die Quantifizierung erfolgt in bekannter Weise über die Peroxidasereaktion. Da es für diesen Nachweis noch keinen absoluten Standard gibt, musste hier eine Normierung erfolgen. Dazu wurde ein Standard aus gepooltem stimuliertem Gesamtspeichel von mehreren erwachsenen Spendern (n=8) gebildet. Dessen Gehalt von IgA-Antikörpern gegen S. mutans wurde auf 100 % festgelegt. Eine Verdünnungsreihe dieses Speichels ergab dann relative Gehalte an IgA-Antikörpern in Prozent bezogen auf den Standardspeichel. Auf diese Weise wurden alle Antikörperaktivitäten in Prozent des Gehalts an IgA-Antikörpern dieses Standards berechnet. Der Gehalt des stimulierten Speichels an Keimen von S.mutans wurde mit dem semiquantitativen Test „Dentocult-SM" (Orion-Diagnostica, Espoo/Finnland) erfasst. Die damit ermittelten Stufen wurden für eine Erleichterung der statistischen Bearbeitung in Logarithmen der koloniebildenden Einheiten (KBE) pro Milliliter Speichel umkodiert.

Die statistische Bearbeitung erfolgte über den t-Test für abhängige Stichproben sowie über die Analyse der Rangkorrelation nach Spearman. Hierzu wurden die Daten der drei Messreihen gepoolt. Weiterhin wurden auch die Summen aller Immunglobuline bzw. aller Antikörper gegen S.mutans im unstimulierten bzw. stimulierten Gesamtspeichel berechnet und ihre Beziehungen ausgewertet. Wegen der bestehenden Abhängigkeit der Konzentration der Immunglobuline im Speichel von der Fließrate (Brandtzaeg 1989) wurden neben den Konzentrationen bzw. relativen Antikörperaktivitäten auch die pro Minute abgegebenen Mengen als Sekretionsraten in die Betrachtungen einbezogen.

Alle Berechnungen wurden mit der Standardsoftware SPSS für PC, Version 8a ausgeführt.

Ergebnisse

An unseren Untersuchungen waren Kinder mit sehr unterschiedlicher Karieserfahrung und unterschiedlichem aktuellem Kariesbefall beteiligt (Tab. 1). Die Speichelfließraten der Kinder umfassten mit 0,16-1,26 ml/min für den unstimulierten Speichel und mit 0,39-3,19 ml/min für den stimulierten Speichel einen relativ weiten Bereich. Die Mittelwerte sind in Tab. 1 mit aufgeführt. Der Wert für die KBE von S.mutans pro Milliliter Speichel war relativ hoch und asymmetrisch verteilt: In 14,8 % der Speichelproben konnte kein S.mutans nachgewiesen werden, aber 57,0 % der Proben enthielten den Keim in sehr hoher Anzahl mit 5^x10^5 bis $>10^6$ KBE/ml. Diese Angaben belegen, dass die teilnehmenden Kinder zwar mehrheitlich stark, aber dennoch ausreichend unterschiedlich mit dem Keim S.mutans belastet waren.

		x	±	s	Min	Max
Alter zu Beginn [Jahre]		9,4	±	0,5	8,6	10,7
Zahnstatus [Index]	dfs	4,3	±	4,2	0	19
	ds	1,7	±	2,9	0	15
	DMFS	4,3	±	2,4	0	13
	DS	0,3	±	0,8	0	4
Fließrate, unstimuliert [ml/min]		0,49	±	0,22	0,16	1,26
Fließrate, stimuliert [ml/min]		1,57	±	0,50	0,39	3,19
S. mutans [log(KBE/ml)]		4,4	±	2,2	0	6,0

dfs/DMFS = gesamte Karieserfahrung im Milchgebiss/bleibenden Gebiss, ds/DS = aktuelle Kariesläsionen im Milchgebiss/bleibenden Gebiss

Tab. 1: Charakterisierung der Untersuchungsgruppe hinsichtlich Alter, Kariesbefall, Fließraten des Speichels und Gehalt an S.mutans-Keimen

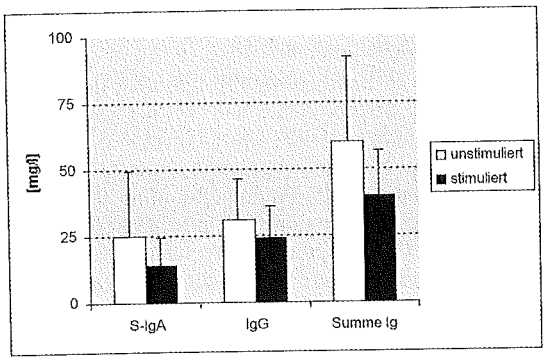


Abb.1: Konzentrationen von S-IgA und IgG (mg/l) im unstimulierten und stimulierten Speichel und deren Gesamtsumme

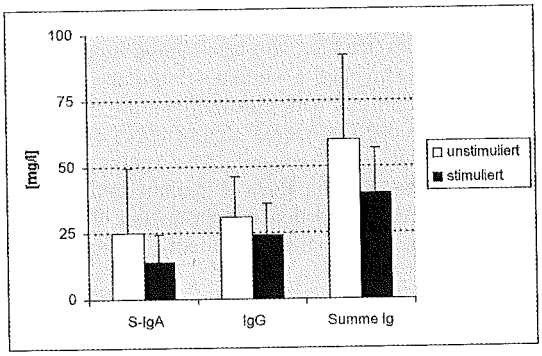


Abb.2: Konzentrationen von IgA-, IgG- und IgM-Antikörpern gegen S.mutans (rel. %) im unstimulierten und stimulierten Speichel und deren Gesamtsumme

Abbildung 1 zeigt neben den Konzentrationen von S-IgA und IgG auch die daraus berechnete Summe der Immunglobuline im Speichel. In allen Speichelproben waren sowohl IgG als auch S-IgA klar nachweisbar. Abbildung 2 zeigt die relativen Aktivitäten der IgA-, IgG- und IgM-Antikörper gegen S.mutans und die Summe aller relativen Gesamtaktivitäten. Mit sehr wenigen Ausnahmen – einmal bei IgA, viermal bei IgG und einmal bei IgM – konnten Antikörper gegen S.mutans für alle drei Immunglobulinklassen in den Speichelproben nachgewiesen werden. Die Aktivitäten der IgM-Antikörper waren allerdings deutlich geringer als bei den Klassen A und G; ihr Nachweis gelang nur bei einer wesentlich geringeren Verdünnung der Speichelproben. Die bekannten höheren Konzentrationen im unstimulierten Speichel gegenüber dem stimulierten Speichel waren sowohl für die Immunglobuline als auch für die Antikörper gegen S.mutans klar zu erkennen. Wie Tab. 2 zeigt, waren die Unterschiede in jedem Fall höchst signifikant. Gleichzeitig wurde eine höchst signifikante Korrelation zwischen den jeweiligen Werten für den unstimulierten und den stimulierten Speichel ausgewiesen. Zwischen den Konzentrationen von S-IgA und IgG im unstimulierten Speichel bestand kein signifikanter Unterschied (Tab. 3), während im stimulierten Speichel die Konzentration von IgG größer war als für S-IgA. Das Gleiche gilt für die Sekretionsraten. Gleichzeitig konnte zwischen den Konzentrationen wie auch den Sekretionsraten von S-IgA und IgG weder im unstimulierten noch im stimulierten Speichel eine Korrelation gefunden werden, während das Signifikanzniveau der Korrelationen zwischen den Antikörpern gegen S.mutans eine Abstufung zeigte: die höchste Korrelation bestand zwischen den IgA- und IgG-Antikörpern im unstimulierten Gesamtspeichel, die niedrigste, aber dennoch signifikante Korrelation bestand zwischen den IgG- und IgM-Antikörpern im stimulierten Speichel. Bei den Sekretionsraten war im Wesentlichen die gleiche Abstufung zu erkennen. Wie aus Tab. 2 anhand der negativen Werte für die Testgröße t bei den Sekretionsraten weiterhin zu ersehen ist, wurde im stimulierten Speichel trotz der geringeren Konzentration eine größere Menge an Immunglobulinen bzw. Antikörpern gegen S. mutans in den Speichel abgegeben. Dieser Unterschied fiel in jedem Fall höchst signifikant aus.

Die Beziehung zwischen dem Gesamtgehalt an Immunglobulinen und den Antikörpern gegen S.mutans konnte nur für die IgA und IgG untersucht werden. Wegen der sehr niedrigen Konzentrationen konnte IgM im Speichel mit der angewandten Methodik nicht bestimmt werden. Die Resultate für die Konzentrationen bzw. relativen Aktivitäten und für die Sekretionsraten sind in Tab. 4 zusammengestellt. Aus ihr geht hervor, dass zwischen den Immunglobulinen und den Antikörpern gegen S. mutans signifikante Korrelationen bestanden. Die Berechnungen für die Konzentrationen bzw. relativen Aktivitäten wurden durch die Resultate für die Sekretionsraten voll bestätigt, z. T. war das Signifikanzniveau hier sogar erkennbar höher.

Diskussion

Die Abwehrmechanismen in der Mundhöhle stellen ein komplexes Geschehen dar. Zwischen dem 6.-12. Lebensjahr werden diese Vorgänge durch den physiologischen Zahnwechsel und die Möglichkeit der Entstehung von Karies wesentlich beeinflusst. Dabei ist heute als sicher anzunehmen, dass bei der Entstehung der Karies der Keim S.mutans und dessen Stoffwechselprodukte eine entscheidende Rolle spielen (van Houte 1980; Loesche 1986; Burne 1998; Balakrishnan et al. 2000). Insofern war zu erwarten, dass Antikörper gegen S.mutans im Speichel das gleiche Verhalten zeigen würden, wie es von den Immunglobulinen des Speichels seit langem bekannt ist.

			Ig			Antikörper gegen S. mutans			
			S-IgA	IgG	Summe Ig	IgA	IgG	IgM	Summe Ak
		n	141	91	90	93	92	92	92
gepaarter	K	t	6,523	7,969	8,345	9,418	5,569	4,988	9,570
t- Test		p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Rangkorre-		r	0,771	0,730	0,712	0,780	0,729	0,822	0,808
lation		p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
gepaarter	SR	t	-9,061	-12,487	-13,038	-4,188	-6,682	-10,382	-6,121
t-Test		p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Rangkorre-		r	0,752	0,623	0,585	0,762	0,698	0,798	0,752
lation		p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

K = Konzentration bzw. relative Aktivität, SR = Sekretionsrate, Ak = Antikörper

Tab. 2: Statistischer Vergleich der Konzentrationen der Immunglobuline und Antikörper gegen S.mutans im unstimulierten und stimulierten Speichel

Speichel			unstimuliert				stimuliert			
			S-IgA : IgG	Antikörper gegen S. mutans			S-IgA : IgG	Antikörper gegen S. mutans		
				A : G	A : M	G : M		A : G	A : M	G : M
n			103	105	105	105	105	101	101	101
gepaarter	K	t	-0,707	10,051	10,779	5,119	-5,266	7,710	9,519	3,818
t-Test		p	0,481	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Rangkorre-		r	0,096	0,660	0,409	0,274	0,089	0,515	0,412	0,246
lation		p	0,168	<0,001	<0,001	0,002	0,184	<0,001	<0,001	0,007
gepaarter	SR	t	-1,223	8,024	8,277	4,428	-5,445	6,788	7,822	3,918
t-Test		p	0,224	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Rangkorre-		r	0,096	0,634	0,568	0,352	0,148	0,509	0,581	0,300
lation		p	0,167	<0,001	<0,001	<0,001	0,066	<0,001	<0,001	0,001

K = Konzentration bzw. relative Aktivität, SR = Sekretionsrate

Tab. 3: Statistischer Vergleich der Konzentrationen ausgewählter Immunglobuline und Antikörper gegen S.mutans im unstimulierten und stimulierten Speichel

Speichel			unstimuliert				stimuliert	
			S-IgA : Ak-A	IgG : Ak-G	Summe Ig : Summe Ak	S-IgA : Ak-A	IgG : Ak-G	Summe Ig : Summe Ak
n			104	82	81	101	80	79
Rangkorre-	K	r	0,210	0,351	0,309	0,185	0,241	0,241
lation		p	0,016	0,001	0,002	0,032	0,016	0,016
	SR	r	0,235	0,324	0,413	0,367	0,177	0,436
		p	0,008	0,002	<0,001	<0,001	0,059	<0,001

Ak = Antikörper, Ig = Immunglobuline, K = Konzentration bzw. relative Aktivität, SR = Sekretionsrate

Tab. 4: Korrelationen der Konzentrationen von S-IgA und IgG mit IgA- und IgG-Antikörpern gegen S.mutans im unstimulierten und stimulierten Speichel.

Übereinstimmend mit der Literatur liegen auch bei unseren Erhebungen die Konzentrationen aller humoralen Abwehrfaktoren im unstimulierten Speichel höher als im stimulierten Speichel (Brandtzaeg 1989). Überraschend sind dagegen die höheren Werte für IgG gegenüber S-IgA im stimulierten Speichel, da eigentlich S-IgA als das Hauptimmunglobulin des Speichels gilt. Weitere Analysen werden zeigen müssen, inwieweit sich dieses überraschende Resultat bei wiederholten Untersuchungen bestätigen lässt. Ein Einfluss der unterschiedlichen Bestimmungsmethoden – der empfindliche Nachweis für S-IgA gegenüber dem weniger sensitiven Nachweis für IgG - kann nicht ausgeschlossen werden. Andererseits ist zu beachten, dass das Vorhandensein von freier sekretorischer Komponente im Speichel der Kinder als sicher angesehen werden kann (Kutukculer et al. 1998; Brokstad et al. 1995; Niimi et al. 1991; Seidel et al. 2001). Entsprechend dem Aufbau unseres Nachweises für S-IgA mit Bindung der sekretorischen Komponente im ersten Schritt muss eine größere Menge von freier sekretorischer Komponente durch Blockade von Bindungsstellen zu erniedrigten Werten für S-IgA führen. Möglicherweise zeigt sich hierin aber auch ein Einfluss des Wechsels von den Milchzähnen zu den bleibenden Zähnen mit den dabei temporär auftretenden offenen Zahnalveolen, denn die untersuchten Kinder befanden sich in der frühen Wechselgebissperiode. Ein verstärkter Übertritt von Immunglobulinen des Serums in den Speichel wäre somit vor allem beim Kauvorgang vorstellbar. Hierfür spricht auch, dass zwischen S-IgA und IgG im unstimulierten wie auch im stimulierten Speichel gemäß Tab. 3 keine Korrelation besteht, d. h. die beiden Abwehrkörper könnten ihr derzeitiges Niveau durch sehr verschiedene Aktivierungen der Immunabwehr erreicht haben.

Demgegenüber tritt bei den Antikörpern gegen S.mutans die höhere Aktivität der IgA-Antikörper deutlich hervor, und auch IgG-Antikörper haben noch eine deutlich höhere Aktivität als die IgM-Antikörper. Wie Tab. 3 ausweist, ist die Abstufung zwischen den IgA-, IgG- und IgM-Antikörpern in jedem Fall höchst signifikant. Es gilt die Reihe IgA-Antikörper > IgG-Antikörper > IgM-Antikörper. Die Immunisierung durch S.mutans führt somit vorzugsweise zu IgA-Antikörpern. Die Korrelationen zwischen den erwähnten Aktivitäten der Antikörper sind mit zwei Ausnahmen höchst signifikant, es ist aber auch eine Abstufung zwischen ihnen zu erkennen: die höchste Korrelation zeigen IgA- und IgG-Antikörper, bei IgG- und IgM-Antikörpern ist sie dagegen am geringsten. Auch dieser Befund unterstreicht, dass die Immunisierung gegen S.mutans zwar vor allem über das sekretorische Immunsytem, in nicht zu vernachlässigendem Maße aber auch über IgG erfolgt (Kirstila et al. 1994; Cox und Taubman 1982; Butler et al. 1990).

Die Verhältnisse zwischen unstimuliertem und stimuliertem Speichel verkehren sich erwartungsgemäß ins Gegenteil, wenn man die Sekretionsraten von Immunglobulinen und spezifischen Antikörpern betrachtet. In jedem Fall werden über den stimulierten Speichel pro Zeiteinheit mehr Immunglobuline bzw. Antikörper gegen S.mutans ausgeschieden als über den unstimulierten Speichel. In Bezug auf die Prozesse in der Mundhöhle, die mehr einem Fließgleichgewicht entsprechen, ist aber zu bedenken, dass Phasen der Stimulation deutlich kürzer sind als Phasen mit unstimuliertem Speichelfluss. Andererseits sind die Korrelationen zwischen unstimuliertem und stimuliertem Speichel wiederum sehr hoch, auch bei S-IgA. Stimulierter Speichel und unstimulierter Speichel widerspiegeln also in vergleichbarem Maße den jeweiligen Immunisierungszustand. Demgegenüber sind zwischen S-IgA und IgG keine Korrelationen zu finden, dies könnte für die voneinander autonome Entwicklung der systemischen und lokalen humoralen Immunabwehr sprechen. Die Abstufung zwischen den IgA-, IgG- und IgM-Antikörpern gegen S.mutans bleibt hier erhalten, S-IgA liefert die meisten Antikörper gegen S.mutans (Butler et al. 1990; Percival et al. 1997).

Für die Einordnung der einzelnen Befunde ist es nun wichtig, in welchem Umfang die Gesamtheit aller Immunglobuline des Speichels mit den Aktivitäten der Antikörper gegen S.mutans korreliert. Tabelle 4 weist für die Korrelationen der Konzentrationen der Immunglobuline mit den Aktivitäten der Antikörper gegen S.mutans bzw. für ihre Sekretionsraten Signifikanz aus. Eine genauere Betrachtung zeigt aber, dass das Signifikanzniveau bei weitem nicht so hoch ist, wie es für die Korrelationen zwischen unstimuliertem und stimuliertem Speichel sowie für die Korrelationen innerhalb der Antikörper gegen S.mutans gefunden wurde. Die Konzentrationen von gesamtem S-IgA und IgG im Speichel widerspiegeln somit nur unscharf die Immunantwort des menschlichen Organismus auf den oralen Keim S.mutans. Dieser Befund könnte eine Erklärung für die widersprüchlichen Aussagen in der Literatur über den Zusammenhang zwischen verschiedenen Indikatoren der Kariesaktivität einerseits und den Immunglobulinen im Speichel auf der anderen Seite sein (Lenander-Lumikari et al. 1992; Challacombe 1980; Hocini et al. 1993). Einer Analyse der Antikörper gegen S. mutans bzw. dessen Bestandteile sollte demnach in weiteren Untersuchungen der Vorzug gegeben werden. Die Entwicklung der modernen Analysentechniken sollte ihre Ermittlung möglich machen. Gleichzeitig sollte aber nicht auf die Bestimmung der Immunglobuline verzichtet werden, um die Vergleichbarkeit der neuen Untersuchungen mit älteren Literaturdaten zu gewährleisten.

Zusammenfassung

Karies als ein multifaktorielles Ereignis ist auch heute noch eine gesundheitspolitische Herausforderung, die größter Beachtung bedarf. Dabei kommt den Abwehrfaktoren in der Mundhöhle eine entscheidende Bedeutung zu. Wir untersuchten deshalb unstimulierte und stimulierte Speichelproben von 84 Kindern (Durchschnittsalter: 9,4 Jahre) auf den Gehalt an S-IgA, IgG und Antikörper gegen S.mutans zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten innerhalb von 18 Monaten. Es zeigte sich, dass alle Kinder eine immunkompetente Situation in der Mundhöhle aufwiesen. Überraschenderweise war die Konzentration von IgG z. T. sogar höher als von S-IgA. Dies könnte mit dem Alter der Probanden zusammenhängen. Gegenüber S.mutans fanden wir eine Abstufung der Antikörperaktivitäten von IgA > IgG > IgM. Im unstimulierten Speichel fanden wir eine höhere Aktivität als im stimulierten Speichel ($p \leq 0{,}001$). Die Konzentrationen bzw. berechneten Sekretionsraten ergaben ebenfalls Signifikanz ($p \leq 0{,}001$) zwischen S-IgA und den Antikörpern gegen S.mutans. Unsere Untersuchungen unterstreichen die Bedeutung von S.mutans bei der Karies.

Literatur

1. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR (2000) Dental caries is a preventable infectious disease. Aust Dent J 45: 235 - 245
2. Brandtzaeg P (1989) Salivary immunoglobulins. In: Tenovuo J (ed) Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology, Vol. II. CRC Press Inc., Boca Raton/FL: pp 1-54
3. Brokstad KA, Cox RJ, Oxford JS, Haaheim LR (1995) IgA, IgA subclasses, and secretory component levels in oral fluid collected from subjects after parenteral influenza vaccination. J Infect Dis 1712: 1072-1074
4. Burne RA (1998) Oral streptococci ... products of their environment. J Dent Res 77: 445-452
5. Butler JE, Spradling JE, Peterman JH, Joshi KS, Satam M, Challacombe SJ (1990) Humoral immunity in root caries in an elderly population. J Oral Microbiol Immunol 5: 98-107
6. Challacombe SJ (1980) Serum and salivary antibodies to Streptococcus mutans in relation to the development and treatment of human dental caries. Arch Oral Biol 25: 495-502
7. Cox DS, Taubman MA (1982) Salivary antibody response and priming stimulated by soluble or particulate antigens injected at a remote secretory site. Mol Immunol 19: 171-178
8. Dowd FJ (1999) Saliva and dental caries. Dent Clin North Am 43: 579-597
9. Hocini H, Iscaki S, Bouvet JP, Pillot J (1993) Unexpectedly high levels of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. Infect Immun 61: 3597-3604
10. Kirstila V, Tenovuo J, Ruuskanen O, Nikoskelainen J, Irjala K, Vilja P (1994) Salivary defense factors and oral health in patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol 14: 229-236
11. Kutukculer N, Aydogdu S, Caglayan S, Yagci RV (1998) Salivary and gastric fluid secretory immunoglobulin A and free secretory component concentrations in children with Helicobacter pylori-positive gastritis. J Trop Pediatr 44: 178 - 180
12. Lenander-Lumikari M, Tenovuo J, Puhakka HJ, Malvaranta T, Ruuskanen O, Meurman O, Meurman P, Vilja P (1992) Salivary antimicrobial proteins and mutans streptococci in tonsillectomized children. Pediatr Dent 14: 86-91
13. Loesche WJ (1986) Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev 50: 353-380
14. McGhee JR, Michalek SM (1981) Immunobiology of dental caries: microbial aspects and local immunity. Ann Rev Microbiol 35: 595-638
15. Niimi A, Sumi Y, Sawaki Y, Okasaki Y, Ueda M, Kaneda T (1991) Quantification of free secretory component in saliva by enzyme immunoassay. Clin Chem 37: 1287-1288
16. Percival RS, Marsh PD, Challacombe SJ (1997) Age-related changes in salivary antibodies to commensal oral and gut biota. Oral Microbiol Immunol 12: 57-63
17. Seidel BM, Schubert S, Schulze B, Borte M (2001) Secretory IgA, free secretory component and IgD in saliva of newborn infants. Early Hum Dev 62: 159-164
18. Seyfarth M, Brock J, Fiebig H, Edelmann J (1987) Zur Bedeutung von sekretorischem IgA in menschlichen Körperflüssigkeiten. I. Aufbau eines Enzymimmunoassays für S-IgA. Allerg Immunol 33: 147-152
19. Smith DJ, King WF, Akita H, Taubman MA (1998) Association of salivary immunoglobulin A anibody and initial mutans streptococcal infection. Oral Microbiol Immunol 13: 278-285
20. Tenovuo J (1989) Nonimmunoglobulin defense factors in human saliva. In: Tenovuo J (ed) Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology, Vol. II; CRC Press Inc., Boca Raton/FL: pp 55-91
21. Van Houte J (1980) Bacterial specifity in the etiology of dental caries. Int Dent J 30: 305-326

Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde (Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Weerda) und dem *Institut für Medizinische Biometrie und Statistik (komm. Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Raspe) der Medizinischen Universität zu Lübeck

Einfluss der Tumorlokalisation, der T-Kategorie und des Differenzierungsgrades von Kopf-Halstumoren auf die lokoregionäre Metastasierung

S. Remmert, M. Rottman, M. Reichenbach, K. Sommer, H.-J. Friedrich*

Zusammenfassung

Eines der wichtigsten Malignitätskriterien von Kopf-Halstumoren ist die lymphogene Metastasierung. Um das Metastasierungsverhalten und den Therapieerfolg näher zu untersuchen, erfolgte eine retrospektive Studie an 405 Patienten aus den Jahren 1991-1995 mit Karzinomen im Bereich der Mundhöhle (n=48), des Oropharynx (n=117), des Hypopharynx (n=47) und des Larynx (n=193).

Hypopharynxkarzinome waren zum Zeitpunkt der Operation in 80 % der Fälle am häufigsten von Metastasen begleitet, gefolgt von Oropharynx- (70 %), Mundhöhlen- (52 %) und Larynxkarzinomen (26 %). Das Metastasenaufkommen wie auch das Ausmaß der Metastasierung korrelierten mit der T-Kategorie und dem Differenzierungsgrad. Nach operativer Therapie trat eine lokoregionäre Rezidivrate von 5,2 % auf. Das Überleben wurde bei positiver Metastasierung nach fünf Jahren um annähernd 50 % reduziert. Die verschiedenen Tumorlokalisationen zeigten bei der Metastasierung bevorzugte Drainagerichtungen, jedoch ohne vollständige Aussparung bestimmter Level. Bei der Entscheidungsfindung für die Indikation und das Ausmaß einer Neck dissection muss die präoperative Diagnostik (Halssonographie, CT, MRT), die Tumorlokalisation, die T-Kategorie, der Differenzierungsgrad und die Kenntnis bevorzugter Metastasierungswege Berücksichtigung finden.

Schlüsselwörter: Lymphknotenmetastasen, Kopf-Halskarzinome, Neck dissection, Überlebensrate

Summary

Cervical lymph node metastases of head and neck cancer

One of the most important criteria of malignancy of head and neck cancer is the cervical lymph node status. To evaluate the pattern of formations of metastases and the success of therapy a retrospective study on 405 patients with carcinoma of the oral cavity (n=47), the oropharynx (n=117), the hypopharynx (n=47) and the larynx (n=193) was performed.

At the time of operation carcinomas of the hypopharynx were most frequently accompanied by cervical metastases (80 %), followed by carcinomas of the oropharynx (70 %), the oral cavity (52 %) and the larynx (26 %). Occurence and extension of regional lymph node metastases correlated well with T-stages and degree of differentiation. After operative therapy locoregional reccurence was 5.2 %. Five-year-survival rate was reduced by 50 % on patients with positive lymph nodes. The different tumor sites showed preferred patterns of metastatic spread, without complete avoidance of certain levels. For the decision on indication and extension of neck dissection the preoperative diagnostic (ultrasound, CT-scan, MRI), localisation of tumour, T-status, degree of differentiation and the knowledge of typical metastatic spread must be considered.

Key words: lymph node metastases, head and neck cancer, neck dissection, survival rate

Einleitung

Eines der wichtigsten Malignitätskriterien von Kopf-Halstumoren ist die lymphogene Metastasierung. Unter Berücksichtigung dieser Erkenntnis wurden bereits 1906 durch Crile [1] die Grundlagen der operativen Tumortherapie, die Resektion des Primärtumors im gesunden Gewebe und die radikale Ausräumung der Lymphabflusswege erarbeitet. Er bezeichnete den Halseingriff als **radikale Neck dissection** und verstand darunter die Entfernung aller tumorseitigen Halslymphknoten mit gleichzeitiger Entfernung des M. sternocleidomastoideus, der V. jugularis interna und des N. accessorius.

Nach dem Prinzip „Radikalität an den Metastasen, aber nicht am nichtlymphatischen Gewebe" stellte 1962 Suarez [2] die Operationstechnik der **modifiziert radikalen Neck dissection** vor. Auch bei dieser Operation wurden alle ipsilateralen Lymphknoten ausgeräumt, Muskulatur, Nerven und die V. jugularis interna blieben aber bei fehlendem Nachweis von Infiltrationen von der Resektion verschont.

Ebenfalls unter funktionellen Aspekten wurde auf der von Lindberg [3] 1972 beschriebenen lokalisationsbe-

zogenen Metastasierungsausrichtung von Kopf- Halskarzinomen aufbauend das Konzept der **selektiven Neck dissection** entwickelt, bei dem nur von Metastasen bevorzugte LK-Stationen entfernt werden.

Die beschriebenen zahlreichen verschiedenen Formen der Neck dissection ließen einen Vergleich funktioneller und onkologischer Ergebnisse der Chirurgie von zervikalen Lymphknotenmetastasen nur begrenzt zu. Deshalb wurden unter Berücksichtigung anatomischer und operationstechnischer Grundlagen Klassifikationen für die Neck dissection erarbeitet.

Die ca. 300 Lymphknoten des Halses [4] lassen sich auf Grund bevorzugter Metastasierungsregionen nach Robbins [5] in sechs Level mit festgelegten Resektionsgrenzen einteilen und bilden die anatomische Grundlage für eine Neck dissection-Klassifikation (Abb. 1).

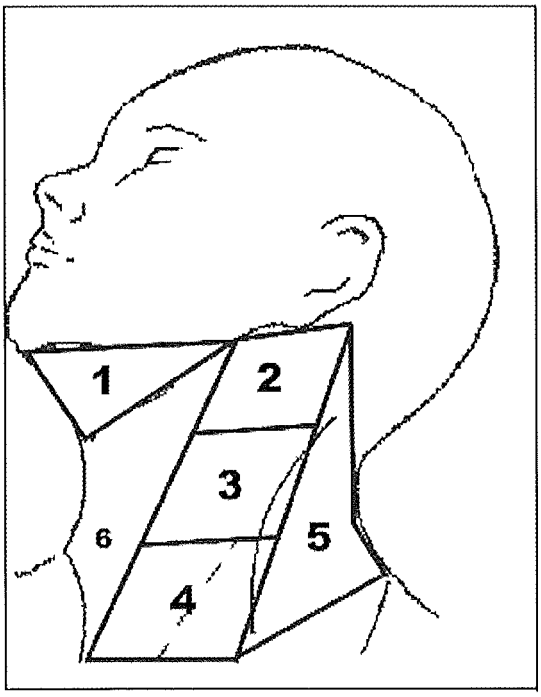


Abb. 1 Lymphknotenlevel nach ROBBINS [5]

Bei dieser Klassifikation bestimmt das Ausmaß der entfernten Lymphknotenstationen, mit oder ohne Resektion von nichtlymphatischen Strukturen, die Einteilung.

Die Basisoperation ist die radikale Neck dissection, bei der die Lymphknotenlevel 1-5 und als nichtlymphatische Strukturen die V. jugularis interna, der N. accessorius und der M. sternocleidomastoideus entfernt werden. Bleiben eine oder mehrere dieser nichtlymphatischen Strukturen erhalten und reseziert man die Level 1-5, wird der Eingriff als modifiziert radikale Neck dissection bezeichnet. Bei Schonung aller nichtlymphatischen Strukturen und eines oder mehrerer Lymphknotenlevel handelt es sich um eine selektive Neck dissection. Eine weitere Einteilung ergibt sich in Abhängigkeit der resezierten Level in supraomohyoidale (Level 1,2,3), posterolaterale (Level 2,3,4,5), laterale (Level 2,3,4) oder anteriore (Level 6) selektive Neck dissection. Die Resektion weiterer Lymphknotengruppen oder nichtlymphatischer Strukturen über das Ausmaß der radikalen Neck dissection hinaus führt zu der Bezeichnung erweiterte radikale Neck dissection.

In der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der MUL werden seit 1992 die Halslymphknotenlevel fraktioniert reseziert und die Neck dissection nach Robbins [5] klassifiziert. Vor 1992 durchgeführte Eingriffe wurden nachklassifiziert. Um das Metastasierungsverhalten näher zu untersuchen, erfolgte eine retrospektive Studie an Krankenakten von 405 Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen aus den Jahren 1991-1995.

Material und Methode

In die Studie einbezogen wurden 405 Patienten mit einem postoperativ histologisch gesicherten Plattenepithelkarzinom im Bereich der Mundhöhle (n= 48), des Oropharynx (n=117), Hypopharynx (n= 47) und des Larynx (n= 193). Die Karzinome des Kehlkopfes wurden zusammengefasst, eine Unterteilung in supraglottische, glottische und subglottische Tumoren erfolgte auf Grund der resultierenden geringen Fallzahlen nicht. Bei den Mundhöhlenkarzinomen handelte es sich ausschließlich um Tumoren der Zunge. Insgesamt gingen 335 männliche (82,7 %) und 70 weibliche Patienten (17,3 %) mit einem Durchschnittsalter von 57 Jahren in die Studie ein. Der Beobachtungszeitraum nach der Operation betrug durchschnittlich 33 Monate (1-180 Monate). Die lokalisationsunabhängige Verteilung der T-Kategorie war annähernd gleich.

Therapiekonzeption

Primärtumor

Bei allen Patienten erfolgte die operative Entfernung des Primärtumors mit histologischer Sicherung gesunder Resektionsränder im Schnellschnitt.

Halslymphknoten

Eine ipsilaterale Neck dissection wurde durchgeführt bei:

- klinischem Verdacht (Sonographie, CT, MRT) oder bei histologisch gesicherter Metastase (FNP)
- T3- und T4-Tumoren auch ohne klinisch oder histologisch nachgewiesener Metastase

Eine kontralaterale Neck dissection wurde durchgeführt bei:

- klinischem Verdacht (Sonographie, CT, MRT) oder bei histologisch gesicherter Metastase (FNP)
- Mittellinienüberschreitung des Primärtumors auch ohne klinisch oder histologisch nachgewiesener Metastase als diagnostische selektive Neck dissection (Level 2 und 3).

Bei 268 der insgesamt zur Auswertung herangezogenen 405 Patienten erfolgte eine Halslymphknotenausräumung. In 148 Fällen fand der Eingriff beiderseits statt (Tab. 1).

Art der Neck dissection	n
radikale Neck dissection	78
modifiziert radikale Neck dissection	250
selektive Neck dissection	86
erweiterte radikale Neck dissection	**2**
gesamt	**416**

Tab. 1 Häufigkeit und Art der Neck dissection

Die Neck dissection-Präparate wurden 267-mal im Block und 149 in den Levelgrenzen fraktioniert entnommen. Dabei wurden die verschiedenen Level in festgelegten Resektionsgrenzen entfernt [6].

Level 1 (submentale und submandibuläre Lymphknoten)

oben: Mandibula, unten: vorderer und hinterer Biventerbauch

Level 2 (obere tiefe juguläre Lymphknoten)

oben: Schädelbasis, unten: Zungenbein, vorn: hinterer Biventerbauch, hinten: Hinterrand des M. sternocleidomastoideus

Level 3 (mittlere tiefe juguläre Lymphknoten)

oben: Zungenbein, unten: M. omohyoideus, vorn: Seitenrand des M. sternohyoideus, hinten: Hinterrand des M. sternocleidomastoideus

Level 4 (untere tiefe juguläre Lymphknoten)

oben: M. omohyoideus, unten: Klavikula, vorn: Seitenrand des M. sternohyoideus, hinten: Hinterrand des M. sternocleidomastoideus

Level 5 (hintere Lymphknoten)

oben: Schädelbasis, unten: Klavikula, vorn: Seitenrand des M. sternohyoideus, hinten: Vorderrand des M. trapezius

Nachbehandlung

Eine postoperative Radiatio kam generell bei histologisch nachgewiesener Metastasierung (unabhängig von der pT-Kategorie und bei fortgeschrittenen Primärtumoren der Kategorie pT3, pT4 (unabhängig von der pN-Kategorie) zur Anwendung. Diese wurde bei gleichzeitiger Präsenz eines ausgedehnten Primärtumors (pT3, pT4) und fortgeschrittener Metastasierung mit einer Chemotherapie kombiniert.

Datenauswertung

Zur Auswertung der Daten wurden aus der Patientenakte der Operationsbericht, das Tumorprotokoll, der histologische Befundbericht und der Krankheitsverlauf herangezogen.

Es erfolgte die Registrierung von Alter und Geschlecht, TNM-Kategorie, Differenzierungsgrad, Art der Neck dissection, Metastasenlokalisation (Level), Rezidivlokalisation und Überlebenszeit.

Statistische Methoden

Bei einfachen Zusammenhängen erfolgte die statistische Auswertung mit dem Programm Excel für Windows 95 Version 7. Komplexe Zusammenhänge wurden vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation ausgewertet. Zur statistischen Prüfung der Abhängigkeit diskreter Zufallsvariablen wurden der Chi^2-Test und der korrigierte Chi^2-Test verwendet. Überlebenskurven wurden nach der Methode von Kaplan und Meier berechnet und mittels Logrank-Test statistisch miteinander verglichen.

Zielstellung

Es sollten folgende onkologischen Zusammenhänge auf ihre Relevanz geprüft werden:

T-Kategorie und Tumorlokalisation

Metastasenaufkommen und Tumorlokalisation

Metastasenaufkommen und T-Kategorie

Metastasenaufkommen und Differenzierungsgrad

Lokoregionäre und lokale Rezidivrate und T-Kategorie

Lokoregionäre Rezidivrate und N-Kategorie

N-Kategorie und Überlebenswahrscheinlichkeit

Befallsmuster der Lymphknotenlevel und Tumorlokalisation

Ergebnisse

T-Kategorie und Tumorlokalisation

Lokalisationsunabhängig waren die einzelnen T-Kategorien annähernd gleich verteilt. Bei Betrachtung der lokalisationsbezogenen Verteilung fällt ein signifikantes Überwiegen der T1-Kategorie bei Larynxkarzinomen, der T2-Kategorie bei Mundhöhlen- und Oropharynxkarzinomen und der T4-Kategorie bei Hypopharynxkarzinomen auf (Abb. 2 und Tab. 2).

Metastasenaufkommen und Tumorlokalisation

In annähernd 50 % der Fälle waren die Karzinome zum Zeitpunkt der Operation bereits in die lokoregionären Lymphknoten metastasiert.

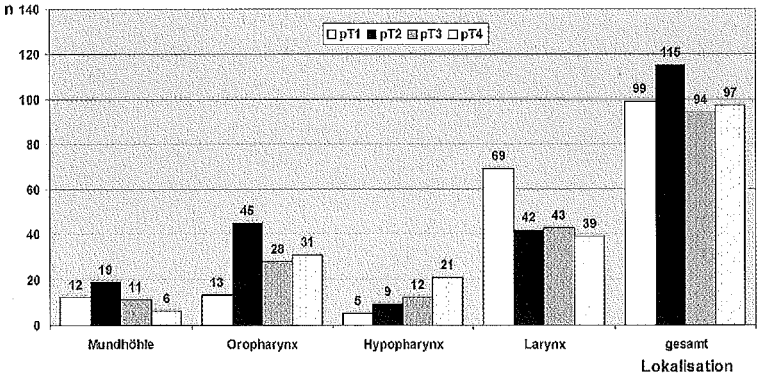


Abb. 2 Tumorlokalisation und pT-Kategorie

Tumor-lokalisation	pT1 %	pT2 %	pT3 %	pT4 %	gesamt %
Mundhöhle	25	**39,6**	22,9	12,5	100
Oropharynx	11,1	**38,5**	23,9	26,5	100
Hypopharynx	10,6	19,1	25,5	**44,7**	100
Larynx	**35,8**	21,8	20,2	20,2	100
gesamt %	24,5	28,4	23,2	24	100

Tab. 2 Tumorlokalisation und pT-Kategorie (%)

Lokalisationsbezogen spiegelte sich dieses Verhältnis auch bei den Mundhöhlenkarzinomen wider. Larynxkarzinome wiesen mit ca. 26 % der Fälle signifikant am wenigsten Metastasen zum Zeitpunkt der Operation auf. Oropharynx- und Hypopharynxkarzinome hingegen lagen mit ca. 70 bzw. 80 % Metastasenaufkommen zum Zeitpunkt der Operation deutlich über dem Durchschnitt.

Bei weiterer Betrachtung des Metastasierungsausmaßes zeigte sich, dass ein „begrenzter Lymphknotenbefall" (pN1-pN2b) mit 32 % doppelt so häufig wie ein „fortgeschrittener Lymphknotenbefall" (pN2c-pN3) mit 16 % zum Zeitpunkt der Operation vorlag. Das Vorkommen fortgeschrittener N-Kategorien korrelierte auch mit dem lokalisationsabhängigen Metastasenaufkommen. So waren Hypo- bzw. Oropharynxkarzinome mit 36,2 bzw. 20,5 % wesentlich häufiger ausgedehnt (pN2c-pN3) metastasiert als Larynx- oder Mundhöhlenkarzinome mit 10,4 bzw. 14,3 % (Abb. 3 und Tab. 3).

Metastasenaufkommen und T-Kategorie

Mit zunehmender Tumorgröße nahm das Metastasenaufkommen signifikant zu. So reduzierte sich die Metastasenfreiheit zum Zeitpunkt der Operation von 80,8 % bei pT1-Karzinomen auf 24,7 % bei pT4 Karzinomen. Einen vergleichsweise negativen Einfluss hatte die T-Kategorie auch auf das Ausmaß der Metastasierung im Bereich der Halslymphknoten. Bei Karzinomen im Frühstadium (pT1/2) war ein „begrenzter Lymphknotenbefall" (pN1-pN2b) deutlich häufiger nachzuweisen als ein „fortgeschrittener Lymphknotenbefall" (pN2c-N3). Bei Karzinomspätstadien (pT3/4) glich sich dieses Verhältnis an (Abb. 4, Tab. 4).

Metastasenaufkommen und Differenzierungsgrad

Mit abnehmendem Differenzierungsgrad der Plattenepithelkarzinome stieg der Metastasierungsgrad zum Zeitpunkt der Operation signifikant von 16,7 % bei G1, 36,5 % bei G2 auf 58,91 % bei G3. Eine Beziehung zwischen Differenzierungsgrad und Ausmaß der Metastasierung ließ sich nicht nachweisen. Auffällig war jedoch, dass gut differenzierte Karzinome nie von fort-

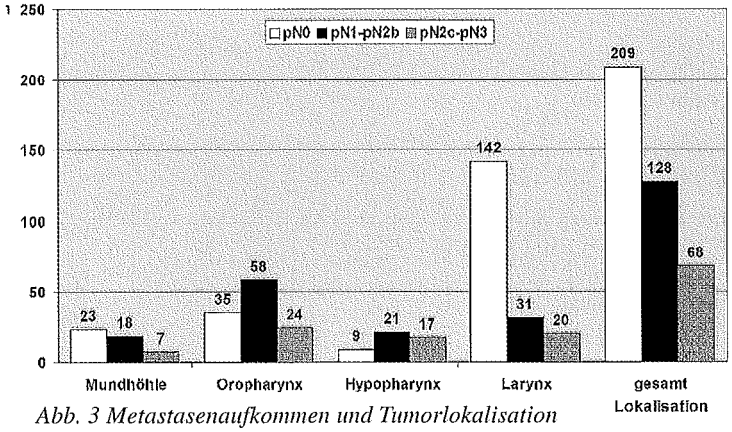


Abb. 3 Metastasenaufkommen und Tumorlokalisation

Tumor-lokalisation	pN0 %	PN1-pN2b %	pN2c-pN3 %	gesamt %
Mundhöhle	47,9	37,5	14,6	100
Oropharynx	29,9	49,6	**20,5**	100
Hypopharynx	19,1	44,7	**36,2**	100
Larynx	**73,6**	16,1	10,3	100
gesamt %	**51,6**	**31,6**	**16,8**	**100**

Tab. 3 Metastasenaufkommen und Tumorlokalisation (%)

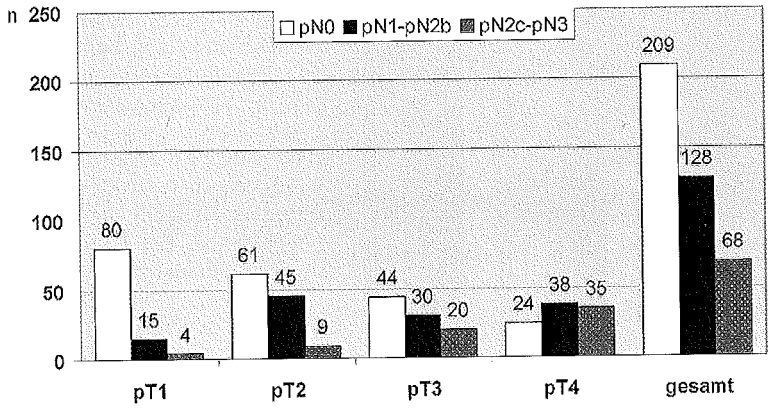


Abb. 4 Metastasenaufkommen und T-Kategorie

N-Kategorie	pT1 %	pT2 %	pT3 %	pT4 %	gesamt pN%
pN0	**80,8**	53	46,8	**24,7**	51,6
pN1-pN2b	15,1	39,2	31,9	39,2	31,6
pN2c-pN3	4,1	7,8	21,3	36,1	16,8
gesamt pT%	100	100	100	100	100

Tab. 4 Metastasenaufkommen und T-Kategorie (%)

geschrittenen Metastasen (pN2c-pN3) begleitet waren (Abb. 5, Tab. 5).

Lokoregionäre und lokale Rezidivrate und T-Kategorie

Insgesamt traten in 23,2 % (n=94) der 405 Fälle Rezidive auf. Rezidivfrei waren zum Kontrollzeitpunkt 76,8 % (n=311) der Patienten. Mit 18 % war die Rezidivquote am Ort des Primärtumors am höchsten. Im Vergleich dazu lag sie mit 2,2 % im Bereich der lokoregionären Lymphknoten deutlich niedriger. Ein kombiniertes Rezidiv (im Bereich des Primärtumors und der Halslymphknoten) trat in 3 % auf. Eine statistisch signifikante Beziehung zwischen der Größe des Primärtumors (T-Kategorie) und der Rezidivquote konnte nicht beobachtet werden. Bei pT4-Karzinomen zeigte sich lediglich ein Trend zu einer erhöhten lokoregionären Rezidivrate (Abb. 6, Tab. 6).

Rezidivrate und N-Kategorie

Nach erfolgter Operation trat bei den histologisch (Neck dissection-Präparat, Zytologie) bzw. präoperativ klinisch (Halssonographie, MRT,CT) als N0 gesicherten Karzinomen in keinem Fall ein Rezidiv im Bereich der Halslymphknoten auf. Dagegen kam es bei primär metastasierten Karzinomen in insgesamt 5,2 % zu Rezidivmetastasen. Bei 3 % dieser Patienten bestand neben dem lokoregionären Rezidiv auch ein Rezidiv im Bereich der ehemaligen Primärtumorlokalisation (Tab. 7).

N-Kategorie / T-Kategorie und Überlebensrate

Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Operation wirkten sich statistisch signifikant auf die Überlebensrate der Patienten aus. Drei Jahre nach der Operation lebten 86 % der Patienten (nach Kaplan und Meier berechnet) mit primärem pN0-Befund gegenüber nur 47 % mit primärem pN+-Befund. Nach fünf Jahren fand sich ein Verhältnis von 78 % (pN0) zu 43 % (pN+).

Auch die T-Kategorie hatte einen signifikanten Einfluss auf das Überleben. Mit zunehmender Tumorgröße sank die Überlebensrate. Besonders deutlich war der

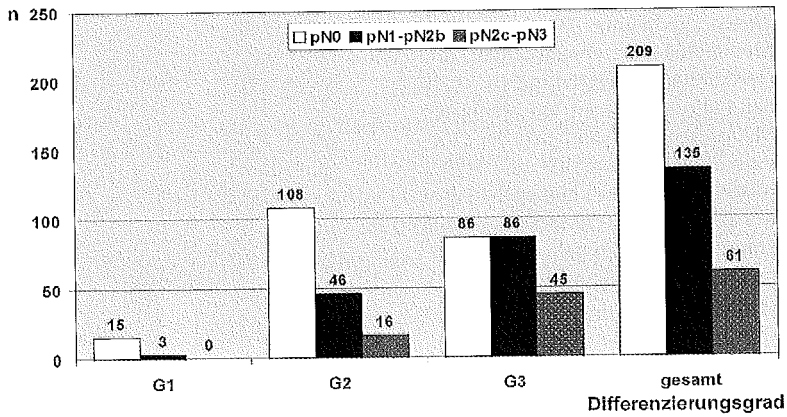


Abb. 5 Metastasenaufkommen und Differenzierungsgrad

N-Kategorie	G1 %	G2 %	G3 %
pN0	**83,3**	**63,5**	**39,6**
pN1-pN2b	16,7	27,1	39,6
pN2c-pN3	**0**	9,4	20,8
gesamt %	100	100	100

Tab. 5 Metastasenaufkommen und Differenzierungsgrad (%)

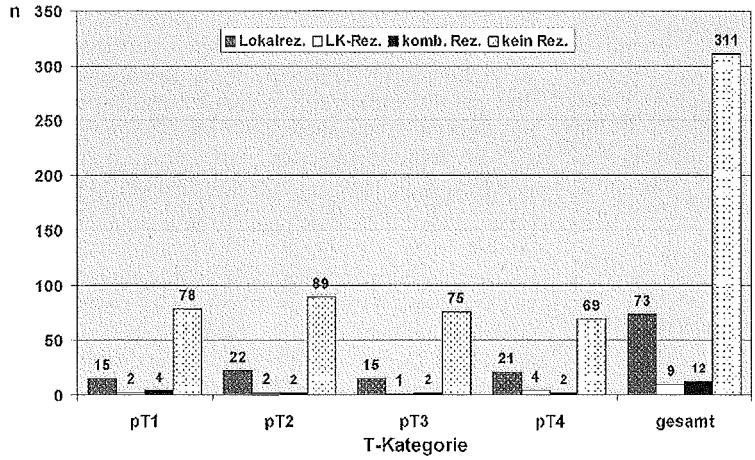


Abb. 6 Lokoregionäre und lokale Rezidivrate und T-Kategorie

pT-Kategorie	Lokal rez. %	LK-Rez. Rez. %	komb. %	kein Rez. %
pT1	15,2	2	4	78,8
pT2	19,1	1,7	1,7	77,4
pT3	16	1,1	3,2	79,8
pT4	21,6	**4,1**	3,1	71,1
gesamt %	**18**	**2,2**	**3**	**76,8**

Tab. 6 Lokoregionäre und lokale Rezidivrate und T-Kategorie (%)

Einfluss der Tumorgröße auf die Prognose zwischen pT1- und pT2- bzw. pT3- und pT4- Tumoren (Abb. 7).

Metastasenbefallsmuster und Tumorlokalisation

Die prozentualen Angaben zeigen den Lymphknotenbefall bezogen auf die Anzahl der ausgeräumten Level. In allen fünf Level wurden unabhängig von der Tumorlokalisation in unterschiedlicher Häufigkeit Lymphknotenmetastasen gefunden. Dabei waren die Level 2 und 3 bei allen Tumorlokalisationen mit Abstand am häufigsten von Metastasen frequentiert. Selten wurden im Level 1 (Larynx- und Oropharynxkarzinome) und im Level 5 (Hypopharynx- und Mundhöhlenkarzinome) Lymphknotenmetastasen gefunden (Abb. 8a-d).

Die Anzahl der resezierten Level bezogen auf die Tumorlokalisation geht aus Tab. 8 hervor.

Diskussion

In der vorliegenden Studie waren die unterschiedlichen T-Kategorien unter Vernachlässigung des Tumorsitzes in ihrer Häufigkeit annähernd gleich verteilt. Unter Berücksichtigung der Lokalisation zeigt sich eine deutliche Abhängigkeit der T-Kategorie vom Sitz des Primärtumors. Larynx- und Mundhöhlenkarzinome kommen am häufigsten in Frühstadien (T1/T2), Hypopharynxkarzinome dagegen in Spätstadien (T3/T4) zur Therapie. Bei Oropharynxkarzinomen besteht ein fast ausgeglichenes Verhältnis zwischen Früh- und Spätstadien. Diese Ergebnisse zeigen in Übereinstimmung mit anderen Autoren [7,8,9,10,11,12,13,14], dass die Tumorlokalisation einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose dieser Patienten hat.

Zu fast 50 % sind die Karzinome der genannten Lokalisationen zum Zeitpunkt der Operation bereits von Metastasen begleitet. Auch hier findet sich eine eindeutige Beziehung zum Sitz des Primärtumors. Das niedrigste Metastasenaufkommen zeigen Larynxkarzinome, das höchste Oro- und Hypopharynxkarzinome. Ähnlich hohe Metastasierungsraten beschreiben Ambrosch und Mitarbeiter [15] und Stell [16].

Unter Vernachlässigung der Lokalisation hat die Größe des Primärtumors einen noch bedeutsa-

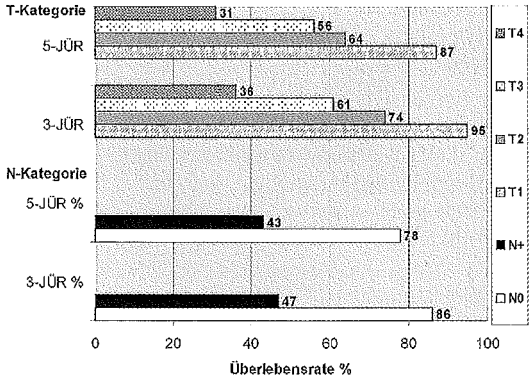


Abb.7 Überlebensraten nach Kaplan und Meier in Abhängigkeit der T- und N-Kategorie

pN-Kategorie	Lokal-Rez. n	LK-Rez. n	komb. Rez. n	kein Rez. n	gesamt n
pN0	38	**0**	**0**	171	209
pN+	35	9	12	140	196
gesamt n	73	9	12	311	405
gesamt %	18	**2,2**	**3**	76,8	100

Tab. 7 Rezidivrate und N-Kategorie (%)

Lokalisation	Level 1 n	Level 2 n	Level 3 n	Level 4 n	Level 5 n
Larynx	13	49	51	44	36
Oropharynx	72	90	82	72	70
Hypopharynx	11	28	26	23	23
Mundhöhle	33	39	35	30	28
gesamt	129	206	194	169	157

Tab. 8 Anzahl der resezierten Level

meren Einfluss auf die Metastasierungsrate. Lediglich ein Viertel der organüberschreitenden Tumoren ist zum Zeitpunkt der Operation metastasenfrei. Bei T2- und T3- Tumoren muss man bei jedem zweiten Patienten mit Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Operation rechnen. Nur bei Tumoren der T1-Kategorie besteht ein relativ geringes Risiko lokoregionärer Absiedelungen.

Unter Berücksichtigung der Tumorlokalisation findet sich bei Larynxkarzinomen der Einfluss der T-Kategorie auf die N-Kategorie signifikant bestätigt. Bei Oro- und Hypopharynxkarzinomen war diese Beziehung statistisch nicht nachweisbar, aber in Übereinstimmung mit anderen Autoren [10,16] als Trend zu erkennen.

Nur bei Karzinomen der Mundhöhle war im vorliegenden Krankengut eine Korrelation zwischen T- und N-Kategorie nicht erkennbar. Diese Befunde stehen im Widerspruch zu anderen Autoren [13,17,18], decken sich aber mit den Ergebnissen von Beyers [7] und McGuirt [18]. Wie auch von van den Brekel [19] beschrieben, treten bei Mundhöhlenkarzinomen schon im Frühstadium vermehrt Metastasen auf.

Der Differenzierungsgrad beeinflusst signifikant die Metastasierungsrate. Die Ergebnisse bestätigen die Beobachtungen von Beyers [7] und Snow und Mitarbeitern [13], dass mit Abnahme der Differenzierung der Plattenepithelkarzinome die Inzidenz von Metastasen steigt. Interessant für therapeutische Konsequenzen ist, dass gut differenzierte Karzinome scheinbar nie kontralaterale oder über 6 cm große Metastasen setzen.

Nach den vorliegenden Untersuchungen werden bei allen Tumorlokalisationen generell die Level 2 und 3 (obere und mittlere tiefe juguläre Gruppe) am häufigsten von Metastasen befallen. Die Metastasenfrequenz im Bereich der tiefen jugulären Lymphknoten nimmt von kranial nach kaudal ab (Level 2,3,4). Dagegen zeigen sich im Level 1 und 5 lokalisationsbezogene Unterschiede. Larynx- und Oropharynxkarzinome metastasieren selten in den Level 1, Hypoharynx- und Mundhöhlenkarzinome selten in den Level 5.

Der seltene Befall des Level 1 bei Larynxkarzinomen deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren [3,7,20], dagegen war der Nachweis von Metastasen in Level 5 häufiger als in anderen Studien [3,7,9,12,21,22,23].

Bei Oropharynxkarzinomen war eine Beteiligung des Level 1 nur bei den Zungengrund infiltrierenden Tumoren nachweisbar [3,24]. Eine Metastasierung in den Level 5 wurde häufiger als in anderen Studien beobachtet [9,22,23].

Bei Hypopharynxkarzinomen wurde der Level 1, wie auch von Beyers [7] beschrieben, nur bei Ausbruch des Tumors in den Oropharynx von Metastasen betroffen. In Level 5 wurden wie bei Candela und Mitarbeiter [9] und Shah [22] nur selten Metastasen beobachtet, und zwar nur dann, wenn auch die Level 2,3 und 4 betroffen waren.

Ein ähnliches Verhalten im Bereich des Level 5 zeigten auch die Mundhöhlenkarzinome. Auch bei dieser Tumorlokalisation traten Metastasen in der Accessoriusloge selten auf und immer nur im Zusammenhang mit Absiedelungen in den Level 1,2 und 3. Bei T1-Tumoren wurden nie Metastasen im Level 4 und 5 gefunden.

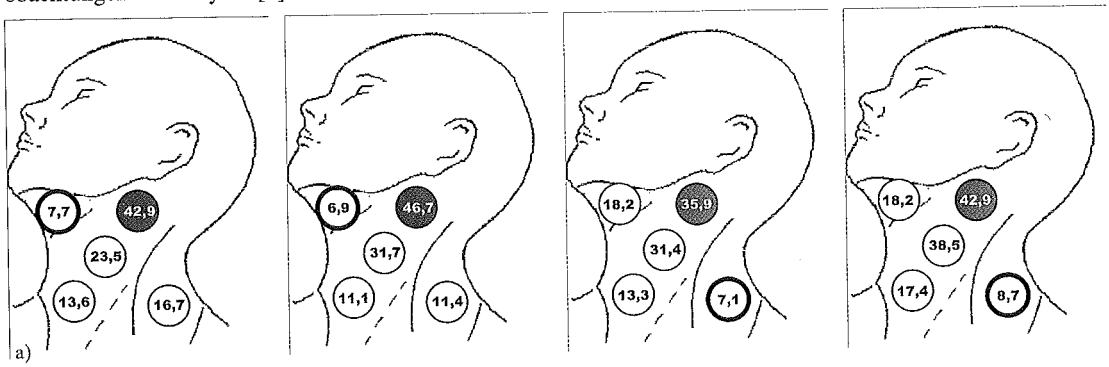


Abb.8a-d Metastasenaufkommen je Lymphknotenlevel in Prozent
a Larynxkarzinome, b Oropharynxkarzinome, c Hypopharynxkarzinome, d Mundhöhlenkarzinome

Betrachtet man abschließend die lokoregionäre Rezidivrate als Maß der Therapiequalität, muss bei einer Rezidivrate von 5,2 % die eingangs beschriebene Neck dissection-Indikation als effektiv bezeichnet werden. Dafür spricht auch die Tatsache, dass nach postoperativ histologisch gesicherter Metastasenfreiheit („NO-Hals") im Kontrollzeitraum in keinem Fall ein Lymphknotenrezidiv auftrat. Bei der nachweislich hohen Inzidenz von Metastasen bei T3/T4-Tumoren kann man also annehmen, dass durch eine Neck dissection eines „N0-Halses" bei diesen fortgeschrittenen Tumorstadien mögliche Mikrometastasen entfernt und lokoregionäre Rezidive verhindert wurden.

Nach den vorliegenden Ergebnissen müssen für die Entscheidungsfindung zur operativen Therapie der Lymphabflusswege von Kopf-Halskarzinomen die präoperative Diagnostik (Halssonographie, CT, MRT, Zytologie), die Tumorlokalisation, das Tumorstadium, der Differenzierungsgrad und die Kenntnis bevorzugter Metastasierungswege sowie Metastasierungshäufigkeiten herangezogen werden.

Dabei stellen sich die Fragen, ob und in welchem Ausmaß eine Neck dissection durchgeführt werden sollte. Wir können bei dem derzeitigen Erkenntnisstand folgendes Vorgehen empfehlen:

1. Klinisch und histologisch gesicherter N+-Hals, T1-T4

Modifiziert radikale Neck dissection

– bei Hypopharynx- und Mundhöhlenkarzinomen

– bei Oropharynx- und Larynxkarzinomen mit Zungengrundbeteiligung

– bei gesicherter Metastase in Level 1 unabhängig von der Tumorlokalisation

Selektive Neck dissection (Level 2-5)

– Larynxkarzinome

– Oropharynxkarzinome (weicher Gaumen, laterale Oropharynxwand, Tonsille)

2. Klinischer Verdacht auf N+-Hals, T1-T2

Selektive Neck dissection

– betroffener Level mit Schnellschnitt bei Oropharynx- und Larynxkarzinomen bei positiver Histologie Neck dissection erweitern wie unter 1. beschrieben

– betroffener Level + Level 2-3 bei Hypopharynx- und Mundhöhlenkarzinomen bei positiver Histologie Neck dissection erweitern wie unter 1. beschrieben

3. Klinischer Verdacht auf N+-Hals, T3-T4

– Neck dissection wie unter 1. beschrieben

4. Klinisch N0-Hals, T3-T4

– Neck dissection wie unter 1. beschrieben

Die Frage, ob man das Ausmaß der Neck dissection für bestimmte Tumorlokalisationen auf einzelne Level reduzieren kann, hängt vor allem von der Treffsicherheit der präoperativen Diagnostik ab. Dieses gilt generell für die Dedektion von pathologischen Lymphknoten, aber auch für den speziellen Nachweis von levelüberspringenden Metastasen (skip metastases) oder von atypisch lokalisierten Metastasen (Level mit seltenem Befall). Zur Aufklärung der zuletzt genannten Problematik erfolgte in unserer Klinik eine Untersuchung des Metastasierungsverhaltens bei Zungenkarzinomen. Die Ergebnisse werden an anderer Stelle dargestellt.

Literaturverzeichnis

1. Crile GW (1906) Excision of cancer of the head and neck with a special reference to the plan of dissection based upon one hundred thirty-two operations. JAMA 47: 1780-1786
2. Suarez O (1962) Le probleme chirugical du cancer du larynx. Ann Oto Laryngol 79: 22-34
3. Lindberg R (1972) Distribution of cervical lymph node metastasis from squamous cell carcinoma of the upper respiratory tracts. Cancer 1972; 29:1446-1449
4. Werner JA (1995) Untersuchungen zum Lymphgefäßsystem der oberen Luft- und Speisewege. Aachen: Shaker
5. Robbins KT, Medina JE, Wolfe GT, Levine PA, Sessions RB, Pruet CW (1991) Standardizing neck dissection terminology. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 117: 601- 605
6. Remmert S (1997) Moderne Rekonstruktionsverfahren zur Wiederherstellung der Stimm- und Schluckfunktion nach ausgedehnten Tumorresektionen im oberen Aerodigestivtrakt. Eine experimentelle und klinische Studie. Lübeck: Habilitationsschrift Med. Fakultät
7. Beyers R.M (1985) Modified neck dissection: a study of 967 cases from 1970 to 1980. Am J Surg 150: 414-421
8. Beyers RM, Wolf PF, Ballantyne AJ (1988) Rationale for elective modified neck dissection. Head Neck Surg 10: 160-167
9. Candela, FC, Kothari K, Shah JP (1990) Patterns of cervical node metastases from squamous carcinoma of the oropharynx and hypopharynx. Head & Neck 12 :197-203
10. Ganzer U, Meyer- Breiting E, Ebbers J, Vosteen K-H (1982) Der Einfluß von Tumorgröße, Lymphknotenbefall und Behandlungsart auf die Prognose des Hypopharynxkarzinoms. Laryngol Rhinol Otol 61: 622-628
11. Kowalski L, Magrin J, Waksman G, Lopes GEF, de Paula RP, Pereira RN, Torloni HL (1993) Supraomohyoid neck dissection in the treatment of head and neck tumors. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 119: 958-963
12. McGavran MH, Bauer WC, Ogura JH (1961) The incidence of cervical lymph node metastases from epidermoid carcinoma of the larynx and their relationship to certain characteristics of the primary tumor. Cancer 14: 55-66
13. Snow GB, Annyas AA, van Slooten EA (1982) Prognostic factors of neck node metastases. Clin Otolaryngol 7: 185-192
14. Spiro JD, Spiro RH, Shah JP, Sessions RB, Srong EW (1988) Critical essessment of supraomohyoid Neck dissection. Am J Surg 156: 286-289

15. Ambrosch P, Freudenbert L, Kron M, Steiner W (1996) Selective neck dissection in the management of sqamous cell carcinoma of the upper digestive tract. Eur Arch Otorhinolaryngol 253: 329-335

16. Stell PM (1990) Prognosis in laryngeal carcinoma: tumor factors. Clin Otolaryngol 15: 69-81

17. Cachin Y, Eschwege EF (1975) Combination of radiotherapy and surgery in the treatment of head and neck cancers. Cancer Treat Rev 2: 177-191

18. McGuirt WF, Johnson JT, Myers EN, Rothfield R, Wagner R (1995) Floor of mouth carcinoma. The management of the clinically negative Neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 121: 278-282

19. Brekel van den MWM, van der Waal I, Meijer CJLM, Freeman JL, Castelijns JA, Snow GB (1996) The incidence of micrometastases in the neck dissection specimens obtained from elective neck dissections. Laryngoscope 106: 987-991

20. Candela FC, Shaw J, Jaques DP, Shaw JP (1990) Patterns of cervical node metastases from squamous carcinoma of the larynx. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 116: 432-435

21. Kowalski LP, Franco EL, de Andrade Sobrinho J (1995) Factors influencing regional lymph node metastases from laryngeal carcinoma. Ann Otol Rhinol Laryngol 104: 442-447

22. Shah JP (1990) Patterns of cervical lymph node metastasis from squamous carcinomas of the upper aerodigestive tract. Am J Surg 160: 405-409

23. Skolnik EM, Yee KF, Friedmann M,Golden TA (1976) The posterioe triangel in radical neck surgery. Arch Otolaryngol 102: 1-4

24. Preundner L, Pahnke J, Wameling S (1996) Analyse der zervikalen Lymphknotenmetastasierung von Oropharynxkarzinomen in Abhängigkeit von der Ausdehnung des Primärtumors. Laryngol Rhinol Otol 75: 223-230

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, Th. Martinetz, H.H. Wolff

Wissenschaftlicher Beirat: T. Aach, H. Arnold, R. Birngruber, S. Bulfone-Paus, K. Diedrich, H. v. Domarus, P. Dominiak, W. Dosch, D. v. Engelhardt, H. L. Fehm, A. Ch. Feller, W. Gross, H. Halsband, E. Hartmann, 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, J. Löhr, E. Maehle, P. Müller, D. O. Nutzinger, M. Oehmichen, Th. Peters, S. Pöppl, J. Prestin, H.-H. Raspe, K. R. Reischuk, E. Richter, E.-Th. Rietschel, G. Schäfer, F. Schmielau, P. Schmucker, E. Schwinger, G. Sczakiel, H. H. Sievers, W. Solbach, A.X.Trautwein, H. Weerda, H. D. Weiss, J. Westermann, H. H. Wolff, P. Zabel (alle Medizinische Universität zu Lübeck)

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

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

Auflage: 5.000 Exemplare

Verlag: Hansisches Verlagskontor Heinz Scheffler, Mengstraße 16, D-23552 Lübeck, Telefon (04 51) 70 31-01

Anzeigen: Hansisches Verlagskontor 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,–/€ 9,20, Jahresabonnement DM 70,–/€ 35,79 zuzügl. Versandkosten. In den Mitgliedsbeiträgen der Gesellschaft der Freunde und Förderer der Medizinischen Universität zu Lübeck enthalten

ISSN 0940–9998

Aus der Poliklinik für Rheumatologie der Universitätskliniken zu Lübeck / Rheumaklinik Bad Bramstedt GmbH, Innere Medizin-Rheumatologie-Immunologie (Direktor/Chefarzt: Prof. Dr. W. L. Gross)

Erste Ergebnisse des Vaskulitis-Registers in Nord-und Süddeutschland*

E. Reinhold-Keller, R. Wagner-Bastmeyer, K. Herlyn, W. L. Gross

Hintergrund:

In der Vergangenheit gibt es über die Epidemiologie von Vaskulitiden, ausgenommen die Arteriitis temporalis, nur sehr limitierte Daten, da diese in der Annahme ihrer extremen Seltenheit kaum untersucht wurde. In den letzten 10 Jahren werden Vaskulitiden dank wesentlich verbesserter Diagnostik, insbesondere seit Entdeckung hochspezifischer Autoantikörper – antineutrophile cytoplasmatische Antikörper (ANCA) – nicht nur häufiger, sondern auch früher gänzlich unbekannte Früh-und Abortivformen diagnostiziert (1, 2, 3). Bisherige epidemiologische Daten berücksichtigen zudem meist nicht die heute allgemein akzeptierten Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology von 1990 (4) und Definitionen für Vaskulitiden der Chapel Hill Consensus Conference 1992 (5). Schließlich entstammen die meisten Untersuchungen spezialisierten Zentren mit den damit verbundenen „referral/selection bias" oder aus nur sehr kleinen Regionen. Flächendeckende bevölkerungsbezogene Daten zur Epidemiologie von Vaskulitiden fehlen nahezu gänzlich (6, 7, 8, 9, 10, 11).

Eigene Vorarbeiten:

Seit 1995 führt die Poliklinik für Rheumatologie/Medizinische Krankenhausabteilung der Rheumaklinik Bad Bramstedt epidemiologische Untersuchungen zu Prävalenz und Inzidenz von Vaskulitiden als Teil eines BMBF-geförderten Verbundprojektes „Vaskulitis – Ätiologie, Epidemiologie und Therapie" (VM9309) durch. In der ersten Förderphase wurde erstmals eine bevölkerungsbezogene Untersuchung zur Prävalenz von primär-systemischen Vaskulitiden (PSV) in jeweils einer Stadt und einem ländlichen Kreis in Nord- und Süddeutschland durchgeführt (Gesamt-Population: ca. 1 Mio.), in Kooperation mit der Abtl. Rheumatologie und Klinische Immunologie der Universitätsklinik Freiburg (Direktor: Prof. Dr. H. H. Peter) sowie dem Institut für Sozialmedizin der Universitätskliniken zu Lübeck (Direktor: Prof. Dr. Dr. H. H. Raspe). Die Periodenprävalenz für PSV wurde zwischen dem 1.1.1994 und dem 31.12.1994 in Lübeck vs. Freiburg bzw. Landkreis Segeberg vs. Landkreis Hochschwarzwald-Breisgau untersucht (12). Während zwischen Nord-und Süddeutschland keine relevanten Unterschiede in der Gesamtprävalenz – 216 Fälle/1 Mio vs. 195 – und für die einzelnen Entitäten feststellbar waren, zeigten sich sowohl in Nord- als auch Süddeutschland signifikante Unterschiede zwischen Stadt und Land. PSV, insbesondere die Arteriitis temporalis, waren 3-mal häufiger in den Städten im Vergleich zu den korrespondierenden Landkreisen. Ob dies echte Unterschiede im Auftreten von PSV sind, dabei vielleicht exogene Faktoren in dichter besiedelten Regionen eine Rolle spielen (13, 14, 15, 16, 17), oder aber nur die Diagnosehäufigkeit in Städten mit größerer Arzt-und Krankenhausdichte bzw. höherem Anteil an Fachärzten höher war, konnte diese Studie nicht klären. Darauf aufbauend und zur Klärung dieser Frage gelang es, für den Aufbau eines flächendeckenden Vaskulitis-Register ab 1.1.1998 eine weitere BMBF-Förderung zu bekommen.

Aufbau eines Vaskulitis-Registers in Deutschland

Ab 1.1.1998 fortlaufend werden für eine Region von 5 Mio. Einwohnern – das gesamte Bundesland Schleswig-Holstein (2.8 Mio Einwohner) und eine strukturell vergleichbare Region im Südwesten von Baden-Württemberg (2.2 Mio Einwohner) – alle neu erkrankten Patienten mit PSV, definiert nach der Chapel Hill Consensus Conference erfasst (5). Nach ausführlicher Vorinformation, postalisch, in den regionalen Ärzteblättern und den universitären Medien, konnten alle relevanten Fachabteilungen zur aktiven Teilnahme am Vaskulitis-Register gewonnen werden. Insgesamt nehmen in Schleswig-Holstein 122 Krankenhausabteilun-

* Ausgezeichnet mit dem Paul Boerner Preis 2000 zum 125. Jubiläum der DMW.

gen teil (in Süddeutschland 92). In dreimonatigen Rhythmen werden alle Krankenhausabteilungen um zunächst anonymisierte Meldung (Initialen des Vor- und Nachnamens, Geburtsdatum, PLZ und Diagnose) von neu erkrankten PSV gebeten (nach den Richtlinien des Landesdatenschutzes und positivem Votum der Ethikkommissionen der Universitäten Lübeck und Freiburg). Bei schriftlichem Einverständnis des Patienten wurden weitere medizinische Daten erfasst, z. B. beteiligte Organsysteme, Histologie, immunologische Befunde und durchgeführte Therapie. Die Übermittlung dieser zusätzlichen Daten wird mit einer Aufwandsentschädigung von DM 30,— vergütet.

Erfasst werden folgende PSV:

- Arteriitis temporalis, Takayasu Arteriitis
- (klassische) Polyarteriitis nodosa, Morbus Kawasaki
- Wegenersche Granulomatose, mikroskopische Polyangiitis, Churg Strauss Syndrom
- (isolierte) kutane leukozytoklastische Angiitis, Purpura Schönlein-Henoch
- Essentiell kryoglobulinämische Vaskulitis

Wenn keine Zuordnung zu den genannten PSV möglich war und sekundäre Vaskulitis-Formen sicher ausgeschlossen waren, erfolgte die Erfassung als unklassifizierbare PSV. Jeder gemeldete Fall wurde von den Koordinationsärzten re-evaluiert.

Alle neu erkrankten PSV-Patienten erhalten ein Info-Paket mit den wichtigsten Informationen zu Krankheitsbild, Therapie und Komplikationen, regionalen Ansprechpartnern der 1994 gegründeten Selbsthilfegruppe für Vaskulitis-Patienten (Bundesweite *Infotagung für Vaskulitis-Patienten*, Angehörige und Ärzte: *3.11.01 in Bad Bramstedt*), Vaskulitis-Patientenschulungen, die fortlaufend am Vaskulitis-Zentrum Lübeck/ Bad Bramstedt angeboten werden und schließlich Hinweise auf weiterführende Literatur („Vaskulitis-Ratgeber für Patienten und Angehörige", erschienen im Steinkopff-Verlag Darmstadt) und Internetquellen. Den behandelnden Ärzten wird auf Wunsch Beratung in Diagnostik und Therapie von Vaskulitis-Patienten angeboten. Mit den regelmäßigen Anschreiben aller Abteilungen werden Informationen zum aktuellen Stand des Vaskulitis-Registers bzw. aktuelle Literatur zum Thema verschickt. Mindestens 2 mal pro Jahr findet der Qualitätszirkel „Vaskulitis-Club" mit klinischen Visiten im Vaskulitis-Zentrum und praxisnaher Fortbildung zum Thema „Vaskulitis" für die teilnehmenden Abteilungen statt *(Klinische Visite „Vaskulitis-Club": 2.11.01)*.

Patienten mit Wegenerscher Granulomatose (WG) werden außerdem in eine Fall-Kontroll-Studie eingeschlossen, die die Bedeutung verschiedener exogener Faktoren und vorausgegangener Erkankungen untersucht. In Zusammenarbeit mit Arbeitsmedizinern wurde ein entsprechender Fragebogen ausgearbeitet, dessen zentraler Bestandteil die Frage nach Silikat-Exposition und vorangegangenen Infekten der oberen Luftwege ist. Den gleichen Fragebogen beantworten 3 gesunde geschlechts-und altersgematchte Wohnort-Kontrollen und eine zufällig ausgewählte Krankenhaus-Kontrolle.

Erste Ergebnisse des Vaskulitis-Registers 1998 bis 2000

Die Akzeptanz des Vaskulitis-Registers ist sowohl in Nord- als auch Süddeutschland sehr hoch mit regelmäßigen Responderquoten von über 90 %. Aufgrund der bisherigen Ergebnisse und der großen Bedeutung für die bessere Versorgung von Vaskulitis-Patienten ist es gelungen, eine limitierte finanzielle Unterstützung für die Fortsetzung des Vaskulitis-Registers Schleswig-Holstein und die Fall-Kontroll-Studie über die BMBF-Förderung bis zum 31.5.2000 zu sichern.

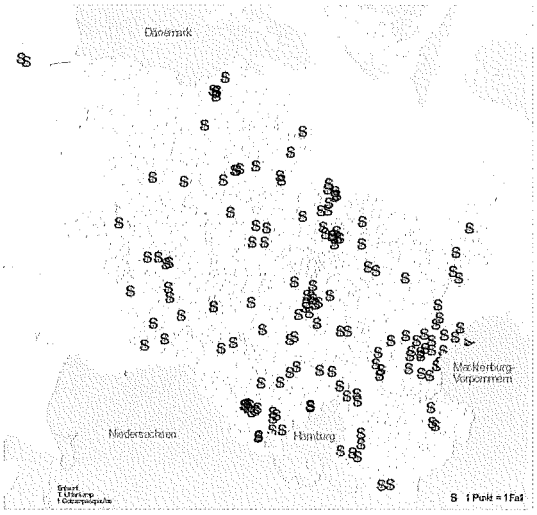
Im Norden wurden 151 (1998), 133 (1999) bzw. 121 (2000) Fälle neu erkrankter PSV-Patienten gemeldet, im Süden 103 (1998) bzw. 86 (1999) Fälle. Dies bedeutet eine PSV-Inzidenz zwischen 41 und 54 Neuerkrankungen pro Jahr und 1 Mio. ohne signifikante Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland (s. Tabelle 1, Abbildung 1, 2). PSV kommen in der Bevölkerung der 50-jährigen und älter 2-5fach häufiger vor als in der jüngeren Bevölkerung. Für die Gesamtheit der PSV wurden keine Geschlechtsunterschiede gefunden. Aktuelle Informationen und Ergebnisse sind unter www.rheuma.mu-luebeck.de/vask-reg.html einsehbar.

Im Vergleich zu anderen Autoimmunerkrankungen ist die Inzidenz von PSV mit der des SLE vergleichbar. Sie ist doppelt so hoch wie die der systemischen Sklerose, der multiplen Sklerose und Glomerulonephritis (s. Tabelle 2). Die häufigste PSV ist die AT (9-17 Neuerkrankungen/1 Mio.), gefolgt von den ANCA-assoziierten PSV mit 7-12 Fällen pro Jahr/1 Mio.. Innerhalb der ANCA-assoziierten PSV macht die WG den weitaus größten Anteil aus mit 6-8 Neuerkrankungen (s. Tabelle 1) und kommt somit 2-3fach häufiger als die MPA und 5-8fach häufiger als das CSS vor. Im Vergleich zu anderen Europäischen Ländern ist die Inzidenzrate für die WG in Deutschland höher als in Spanien: 4.9, gleich häufig wie in Norwegen: 8.0, jedoch etwas niedriger als in Großbritannien: 10.6. Mit Ausnahme der Norwegischen Studie (18), die ebenfalls eine bevölkerungsbezogene Untersuchung war, kommen die Daten der anderen beiden Studien von sog. „referral centers" (10, 11). Somit bleibt offen, ob es sich tatsächlich um regionale Unterschiede handelt, wie sie als Nord-Südgefälle für die AT beschrieben wurden, oder ob dem lediglich methodische Unterschiede zu Grunde liegen. Für Letzteres sprechen die nahezu identischen

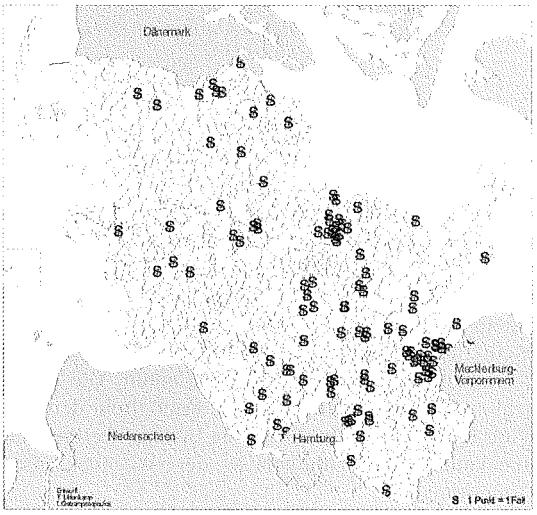
	1998		1999		2000	
	Nord	Süd	Nord	Süd	Nord	
PSV gesamt	**54**	**48**	**48**	**41**	**44**	
AT	17	10	9	10	9	
≥ 50 J.	46	31	25	31	23	
ANCA-assoziierte PSV	**11**	**9**	**9.5**	**7**	**12**	
WG	**8**	**6**	**6**	**5**	**8**	
MPA	**3**	**2**	**2.5**	**1**	**3**	
CSS	**0**	**1**	**1**	**1**	**1**	
PAN	1	2	2	0	1	
PSH	7	12	10	7	6	
KLA	9	10	8	8	9	
Kawasaki	0	1	1	1	1	
TA	1	1	1	0.5	0.4	
Unklassif.	9	4	8	6	6	

AT-Arteriitis temporalis; WG-Wegener's Granulomatosis; MPA-Mikroskopische Polyangiitis; CSS-Churg-Strauss Syndrom; PAN-(klassische) Polyarteriitis nodosa; PSH-Purpura Schönlein Henoch; KLA-(isolierte) kutane leukozytoklastische Angiitis; TA-Takayasu Arteriitis; UV-Unklassifizierbare Vaskulitis.

Tabelle 1: Inzidenzraten von PSV: Erste Ergebnisse des Vaskulitis-Registers in Nord-und Süddeutschland (Fälle/ pro 1 Mio. / pro Jahr)



Gemeldete Vaskulits-Fälle bei Frauen in den Gemeinden Schleswig-Holsteins



Gemeldete Vaskulits-Fälle bei Männern in den Gemeinden Schleswig-Holsteins

WG-Inzidenzen mit 8 Neuerkrankungen/Jahr/1 Mio. in den beiden bevölkerungsbezogenen Studien aus dem Vaskulitis-Register und Norwegen.

Erste Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie zur Untersuchung exogener Faktoren bei der Auslösung der Wegenerschen Granulomatose an 45 WG-Patienten verglichen mit 118 Kontrollen ergab eine über 2fach höhere Exposition gegenüber Metallen bzw. metallverarbeitender Berufe bei den WG-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die bisher in der Literatur beschriebene gehäufte Exposition gegenüber Silikaten konnten wir bislang nicht reproduzieren, ebenso fanden wir keine Häufung vorausgegangener Infekte bei WG-Patienten. Inzwischen sind 60 WG-Patienten und 188 Kontrollen in die WG-Fallkontrollstudie aufgenommen, die Ergebnisse werden in Kürze vorliegen.

Krankheit	Inzidenz	Land	Studien-Periode
PSV	41-55	D	1998-1999
SLE	38	UK	1991
SLE	48	Schweden	1981-1991
SLE	15	USA	1950-1979
SLE	56	USA	1980-1992
SLE	73	USA	1960-1993
Systemische Sklerose	19	USA	k. A.
Systemische Sklerose	14	USA	1963-1982
Morphea	20	USA	1960-1993
Glam.nophritis (GN)	39	Dänemark	1985-1997
IgA GN	24	USA	1985-1997
Pauci-immune GN	4	UK	1986-1995
Spondyl. ankylosans	69	Finnland	1980-1990
Spondyl. ankylosans	60	Finnland	1995
Psoriasis-Arthritis	70	Finnland	1995
Rheumat. Arthritis	340	Finnland	1995
Rheumat. Arthritis	237	USA	k. A.
Multiple Sklerose	32	USA	1960-1993
Thyroiditis	218	USA	1960-1993

Tabelle 2: Inzidenz von anderen Autoimmunerkrankungen im Vergleich zu PSV (Neuerkrankungen pro Jahr/pro 1. Mio.)

Das Vaskulitis-Register ermöglicht erstmals flächendeckend für eine große Bevölkerung zuverlässige Daten über die Inzidenz, regionale Verteilung und mögliche Cluster von PSV, die weltweit bisher kaum in der Größenordnung vorliegen. Es dient außerdem der frühzeitigen Aufklärung von neu erkrankten PSV-Patienten sowie der ärztlichen Fortbildung in einem bislang unterrepräsentierten Teilgebiet der Medizin und damit der besseren Versorgung und verbessertem Outcome von PSV-Patienten. Die angeschlossene Fall-Kontroll-Studie ermöglicht den Gewinn neuer Erkenntnisse in die bislang weitgehend unbekannte Ätiopathogenese der Wegener'schen Granulomatose.

Nur das langfristige Funktionieren bzw. dauerhafte Etablieren eines Registers für seltene Erkrankungen (sog. orphan diseases) kann schlüssige Daten liefern. An dieser Stelle möchten wir uns bei allen Schleswig-Holsteiner Kliniken für die aktive Unterstützung des Vaskulitis-Registers bedanken. Über das ebenfalls BMBF-geförderte und gerade angelaufene bundesweite „Kompetenznetz-Rheuma", an dem die Abteilung der Autoren maßgeblich beteiligt ist, bestehen auch realistische Chancen im Laufe der nächsten Jahre, ein bundesweites Vaskulitis-Register aufzubauen.

Wir bitten auch weiterhin um Meldung aller neudiagnostizierten PSV-Patienten mit Wohnort in Schleswig-Holstein an das Vaskulititis-Register S.-H. anonym über die regelmässig verschickten Meldekarten (bei Übermittlung weiterer medizinischer Daten (bei Übermittlung weiterer medizinischer Daten Aufwandsentschädigung von DM 30,—), telefonisch 04192/902191 (Frau Möck). per Fax 04192/902381. Siehe auch: www.rheuma.mu-luebeck.de/vask-reg.html

Literatur

1. Nölle B, Specks U, Lüdemann J, Rohrbach MS, DeRemee RA, Gross WL. Anticytoplasmic antoantibodies: their immunodiagnostic value in Wegener's granulomatosis. Ann Intern Med; 111: 28-40
2. Andrews M, Edmunds M, Campbell A, Walls J, Feehally J. (1990) Systemic vasculitis in the 1980s-Is there an increasing incidence of Wegener's granulomatosis and microscopic polyarteritis? J Royal Coll Physians; 24: 284-288
3. Carruthers DM, Watts RA, Symmons DPM, Scott DGI. (1996) Wegener's granulomatosis-Increased incidence or increased recognition? Br J Rheum; 35: 142-145

4. Fries JF, Hunder GG, Bloch DA, Michel BA, Arend WP, Calabrese LH, Fauci AS, Leavitt RY, Lie JT, Lightfoot RW Jr, Masi AT, McShane DJ, Mills JA, Stevens MB, Wallace SL, Zvaifler NJ. (1990) The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Arthritis Rheum; 33: 1135-1136

5. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CGM, McCluskey RT, Sinico RA, Rees AJ, van Es LA, Waldherr R, Wiik A. (1994) Nomenclature of systemic vasculitides: proposal of an International Consensus Conference. Arthritis Rheum; 37: 187-192

6. Petterson EE, Sundelin B, Heigl Z. (1995) Incidence and outcome of pauci-immune necrotizing and crescentic glomerulonephritis in adults. Clin Nephrol 1995; 43: 141-149

7. Tidman M, Olander R, Svalander C, Danielsson D. (1998) Patients hospitalized because of small vessel vasculitides with renal involvement in the period 1975-1995. Organ involvement, ANCA patterns, seasonal attack rates and fluctuation of annual frequencies. J Intern Med; 244: 133-141

8. Haugenberg G, Bie R, Bendvold A, Strom Larsen A, Johnsen V. (1998) Primary vasculitis in a Norwegian Community Hospital: A retrospective study. Clin Rheumatol; 17: 364-368

9. Cotch MF, Hoffman GS, Yerg DE, Kaufman GI, Targonski P, Kaslow RA. (1996) The epidemiology of Wegener's granulomatosis. Arthritis Rheum; 39: 87-92

10. Gonzalez-Gay MA and Garcia-Porrua C. (1990) Systemic vasculitis in adults in Nordwestern Spain, 1988-1997. Medicine; 78: 292-308

11. Watts RA, Lane SE, Bentham G, Scott DG. (2000) Epidemiology of systemic vasculitis: a ten-year study in the United Kingdom. Arthritis Rheum; 43: 414-419

12. Reinhold-Keller E, Zeidler A, Gutfleisch J, Peter HH, Raspe HH, Gross WL. (2000) Giant cell arteritis is more prevalent in urban than in rural populations: Results of an epidemiological study of primary systemic vasculitides in Germany. Rheumatology; 39: 1396-1402

13. Elling P, Olsson At, Elling H. (1996) Synchronous variations of the incidence of temporal arteritis and polymyalgia rheumatica in different regions of Denmark; Association with epidemics of Mycoplasma pneumoniae infections. J Rheumatol; 23: 112-119

14. Watts RA, Scott DGI. Churg Strauss syndrome – possible role of environmental factors. 8th International ANCA Workshop. Clin Exp Immunol 1998; 30

15. Russo MG, Waxman J, Abdoh AA, Serebro LH. (1995) Correlation between infection and the onset of the giant cell (temporal) arteritis syndrome. Arthritis Rheum; 38: 374-380.

16. Duna GF, Cotch MF, Galperin C, Hoffman DB, Hoffman GS. (1998) Wegener's granulomatosis: Role of environmental exposures. Clin Exp Rheumatol; 16: 669-674

17. Yashiro M, Muso E, Itoh T, Oyama A, Ono T, Sasayama S. (1995) Significantly high incidence and high morbidity of acute renal failure with respiratory tract involvement of p-ANCA related angiitis revealed in Kobe city and the environs after the Kobe earthquake in 1995. Clin Nephrol; 51: 190-191

18. Koldingsnes W, Nossent H. Epidemiology of Wegener's granulomatosis in Northern Norway. Arthritis Rheum 2000; 43: 2481-2487

Forschung an den Grundlagen des Lebens –Bioethik und Verantwortung[1]

K. L. Kohlwage

Meine Damen und Herren, Ihnen, die Sie heute mit erfolgreicher Promotion und erfolgreichem Examen den Anlass zu unserer Feier geben, gratuliere ich herzlich und wünsche Ihnen, dass Sie die nachgewiesene Qualifikation beruflich gut einsetzen und weiter entwickeln können.

Sie erhalten Ihre Urkunden im „Jahr der Lebenswissenschaften, der Biowissenschaften", eine neue Wortschöpfung im Plural, der wohl die Tatsache zugrunde liegt, dass für das Leben nicht nur die Biologie, wie ihr Name sagt, wissenschaftlich zuständig ist. Seitdem sich die Möglichkeiten so rasant vermehrt haben, Leben zu retten, zu heilen, zu verlängern, zu verändern, zu klonen, in vitro zu schaffen und zu beenden oder ihm im Kühlschrank eine Art technischer Unendlichkeit zu geben, sind die Grenzen zwischen den klassischen Disziplinen Medizin, Biologie, Chemie und auch Informatik noch durchlässiger geworden.

Das schöne Wort „Lebenswissenschaften" entstand, es gibt der Vorstellung Ausdruck, dass das Leben, die Erforschung seiner elementaren Grundstrukturen und die Konsequenzen, die sich daraus ergeben, gemeinsamer und abgestimmter Anstrengungen verschiedener Wissenschaftsfelder bedürfen. Dabei sind juristische Aspekte zu berücksichtigen, die Ökonomie erhebt ihre Ansprüche, die Wirtschaft formuliert Erwartungen, ethische Probleme werden in besonderen Kommissionen erörtert.

In diesem Chor meldet sich auch die Theologie zu Wort, muss sich zu Wort melden, weil sie sich in einem sehr fundamentalen Sinn als Lebenswissenschaft versteht. So danke ich Ihnen für die Einladung zu dieser Feier.

Die neuen Wortschöpfungen erweisen sich übrigens als sehr produktiv, sie strahlen aus, und so wird von „Biomedizin" geredet, von „Bioethik", „Biotechnologie" und „Biopolitik". Ab und an gibt es Definitionsprobleme, man weiß nicht immer genau, worum es geht, auf alle Fälle sind es sprachliche Indikatoren, die Neues ankündigen: Wir stehen vor neuen, grundlegend neuen Herausforderungen, neuen Möglichkeiten, neuen Erwartungen und – neuen Ängsten.

Die neuen Herausforderungen, die durchlässiger gewordenen Grenzen verlangen nach Dialog. „Wissenschaft im Dialog" ist deshalb eine Devise, die mit dem „Jahr der Lebenswissenschaften" verbunden ist. Aber mit dem Dialog gibt es Schwierigkeiten. Wir erleben gegenwärtig weniger das vertrauensbildende Gespräch, mehr die handfeste Kontroverse, vor allem bei den biomedizinischen Brennpunkten und den gentechnischen Zentralprojekten Präimplantationsdiagnostik (PID) und Forschung an embryonalen Stammzellen. Wie hältst du es mit PID und embryonalen Stammzellen? – das ist die biomedizinische Gretchenfrage heute.

Die Öffentlichkeit ist sensibilisiert. Was darf man hoffen? In welche Richtung darf man arbeiten, in welche nicht? – so wird gefragt. Wo sind Grenzen? Wo ist der Rubikon? Und: Gibt es überhaupt einen?

Es gibt Vorwürfe: Unbelegte Fortschrittseuphorie wird den einen vorgehalten, unbewegliche Fortschrittsblockade den anderen.

Es gibt Verdächtigungen, die Medien mischen mit. Die Universität Lübeck hat davon eine Kostprobe erfahren.

Die Gen-Debatte also ist voll entbrannt. Die Argumente und Positionen prallen mit ziemlicher Wucht aufeinander. Erstaunliche Energien werden frei gesetzt und sind ein Indiz des Gewichtes der Problematik. Und es ist wohl richtig, was der Berliner Tagesspiegel aus Anlass der Auseinandersetzung um Ernst-Ludwig Winnacker, den Präsidenten der Deutschen Forschungsgemeinschaft, kürzlich schrieb: „Der Biochemiker (oder: der Lebenswissenschaftler; Anm. K. L. K.) arbeitet inzwischen nicht mehr unter Laborbedingungen, sondern in der Öffentlichkeit. Und da laufen die Prozesse ganz anders ab. Schwerer zu kontrollieren. Und: Er ist nicht mehr der Wissenschaftler, der anordnet, beobachtet, auswertet. Er steckt, wenn man so sagen darf, bis über beide Ohren selbst in der Petrischale, ein Teil des Experiments, und um ihn gärt es überall."

Nicht mehr Laborbedingungen, sondern Öffentlichkeit, Verantwortung nicht mehr allein vor einem Fachforum, sondern coram publico – das sind die Bedin-

[1] Vortrag, gehalten von Altbischof Karl Ludwig Kohlwage, Lübeck, auf der Promotions- und Examensfeier der Medizinischen Universität zu Lübeck am 13. Juli 2001.

gungen, und wir sollten sie begrüßen. Zukunftsweisende Entwicklungen laufen nicht mehr ohne sie. Das Fachexpertentum ist ausschlaggebend, Ethikkommissionen sind wichtig, aber nicht weniger wichtig ist die Frage, wie in unserer Gesellschaft Konsens in fundamentalen Dingen zu erreichen ist. In der Zuwanderungskommission, in der ich mitgearbeitet habe, ging es genau darum: Es muss einleuchten, was wir vorschlagen, wir müssen die Leute gewinnen. Und unsere Empfehlungen müssen möglichst so beschaffen sein, dass sie parteipolitisch und im Wahlkampf nicht verwertbar sind.

Was diesen Punkt betrifft, scheint die Gendebatte relativ unbelastet zu sein, denn die Fronten laufen quer durch die Parteien, jedenfalls die großen. Argumente pro et contra, Hoffnungen und Ängste formulieren sich (noch) unabhängig vom jeweiligen Lager. Das gibt der Diskussion bei uns besondere Qualität.

Eins fällt auf: Von Anfang an ging es um mehr als Medizin, Biologie und Chemie, es ging um mehr als Ethik im Sinne eines Kanons akzeptabler Regeln, es war immer Religion im Spiel als letzter fundamentaler Wert, Religion nach Paul Tillich als das, was uns unbedingt angeht, was über Sein und Nichtsein entscheidet. Das macht Leidenschaft und Ernst der Debatte aus.

Sie hat ihren Ursprung in den Fortschritten der Genforschung. Zweifellos ist die Entschlüsselung des menschlichen Genoms ein Meilenstein in der Wissenschaftsgeschichte und ein Grundstein der Lebenswissenschaften.

Vor einem Jahr sagte Präsident Clinton auf einer Pressekonferenz: „Heute lernen wir die Sprache, in der Gott das Leben geschaffen hat." Ein einprägsamer Satz, obwohl ja erst Buchstaben der Wörter entdeckt sein sollen, mit denen die Sprache des Lebens arbeitet. Aber der Hoffnung hat es enormen Auftrieb gegeben: Wir haben endlich entdeckt, was das Leben im Innersten zusammenhält. Es eröffnen sich ungeahnte Chancen, lasst sie uns ergreifen, um Krankheiten, an denen bisher alle ärztliche Kunst zuschanden wurde, erfolgreich zu bekämpfen. Aber von Anfang an sind auch die Stimmen da, die warnen, die Missbrauch fürchten und unkontrollierbare Weiterungen, die die bisher gültigen Grundlagen des Lebensschutzes in Frage gestellt sehen. Nicht wenige dieser warnenden Stimmen berufen sich auf das erste Gebot: „Ich bin der Herr, dein Gott", und leiten daraus ab: Wir können nicht Herren der Gene sein. Wir dürfen nicht alles tun, was wir können. Denn: Was wissen wir von Risiken und Nebenwirkungen, für die es keine Beipackzettel gibt und keinen Arzt oder Apotheker, den man fragen könnte? Es gibt Grenzen. Wie Recht diese Stimmen haben, beweisen die neuesten Nachrichten aus den USA von der gewerbsmäßigen Herstellung von Embryonen ausschließlich zu Forschungszwecken (Anmerkung: inzwischen vom US-Kongress verboten).

James D. Watson, Molekularbiologe und Nobelpreisträger, der 1953 zusammen mit Francis Crick die Doppelhelix-Struktur der DNS entdeckt und damit den atemberaubenden Weg der Genforschung eröffnet hat, ist mit großer Härte religiösen Kritikern in die Parade gefahren: „Ich sehe (...) nur unnötiges Leid durch Gesetze entstehen, die auf der Grundlage der Macht willkürlicher religiöser Eingebungen die Geburt erblich behinderter Kinder erzwingen, obwohl es die Eltern vorziehen würden, solche Schwangerschaften abzubrechen, weil sie hoffen, dass ihr nächstes Kind gesund sein wird" (so in einem FAZ-Artikel am 26.9.2000). Das ist nicht ganz fair in der Argumentation, aber der emanzipative Drang soll klar werden, sich vermeintlicher oder echter Fesseln zu entledigen. Watson erwartet wachsenden Konsens darüber, „dass Menschen das Recht haben, dem Leben erbgeschädigter Föten ein Ende zu setzen". Es entzieht sich meiner Kenntnis, ob er bedenkt, dass aus einem solchen Recht schnell eine Pflicht werden könnte mit einer Konsequenz, die unser Zusammenleben an einer entscheidenden Stelle verändert. Watsons großes Ziel ist: „Wenn das Humangenomprojekt abgeschlossen sein wird, wird es in unserer Macht stehen, die grundlegenden genetischen Eigenschaften zu erkennen, die uns zu Menschen machen."

Die alte Sehnsucht scheint ihrer Erfüllung greifbar nahe: Gott nicht nur in die Karten zu schauen, sondern die Karten des Lebens selbst in der Hand zu haben und neu zu mischen, nach eigener Vorstellung.

Erkennen wir, was uns zu Menschen macht, dann könnte der nächste Schritt sein, zu erkennen, was uns zu intelligenten, handwerklich geschickten, ärztlich begabten usw. usw. Menschen macht. Werden wir es bei dem Erkennen belassen oder nicht vielmehr eigene Ziele setzen als Human- und Biodesigner?

Watson selbst formuliert diese Furcht und hält Vorsicht und Demut für angezeigt: „Wir könnten schnell in jene Rolle hineinwachsen, die wir in der Vergangenheit den Göttern zugedacht haben", schreibt er am Ende seines FAZ-Artikels. Er weiß wahrscheinlich auch, dass uns diese Rolle nicht bekommt, die Erfahrungen mit ihr sind zu schlecht, aber das hindert den hoffnungsvollen, fast visionären Grundton nicht, der sich theologische und andere Intervention kategorisch verbittet.

Eine radikale Gegenposition zu Watson vertritt Linus S. Geisler, Arzt, Publizist und Mitglied der Enquête-Kommission des Bundestages „Recht und Ethik der modernen Medizin", am 10.5.2001 in der Frankfurter Rundschau. Die Überschrift „Kinder auf Bestellung" zeigt die Richtung seines Artikels, der PID und embryonale Stammzellenforschung konsequent ablehnt und damit einen nicht unerheblichen Sektor in der öffentli-

chen Diskussion repräsentiert: „PID löst keine Probleme. PID kann bestenfalls einem Kind, das eine dezidierte genetische Abweichung nicht aufweist, zum Leben verhelfen. Die Konfliktsituation des belasteten Paares bleibt grundsätzlich unverändert. (...) Es ist irreführend, wenn der PID eine quasi therapeutische Intention zugeschrieben wird. Wie der Name besagt, handelt es sich um einen diagnostischen Vorgang, der in keine Behandlung ausmündet."

Es handelt sich, das ist Geislers Feststellung, um biologische Selektion: „Darin besteht die grundsätzliche Bedeutung von Verbot oder Zulassung der PID. Zulassung bedeutet ohne jeden Abstrich die Legitimierung der Schutzlosigkeit menschlicher Embryonen, wenn auch zunächst nur in einer bestimmten, vorsätzlich geschaffenen Situation, deren Begrenzung niemand garantieren kann. Zulassung von PID bedeutet nicht die Gefahr des Dammbruchs, sie ist der Dammbruch. Dammbruch heißt, dass der Etablierung einer Logik Embryonen verbrauchender Handlungen zu unterschiedlichsten Zwecken nichts mehr im Wege steht. Wenn diese Tür einmal geöffnet ist, ist Forschung an Embryonen nicht mehr aufzuhalten. Ebenso wird PID als ‚Qualitätssicherung' und Optimierungsmethode unweigerlich Eingang in die In-vitro-Fertilisation finden. (...) In diesen Zeiten wird Gezeugtwerden und Sterben mehr und mehr zum Risikoereignis. Der Druck zur Vernichtung und Vernutzung des Menschen in seinen frühesten Anfängen in Deutschland und die Freigabe der aktiven Tötung von Sterbenden, derer vermeintlicher oder auch nur mutmaßlicher Wille dies ist, in den Niederlanden, sind nur scheinbar unabhängige Phänomene. In beiden Fällen werden Mitleid und angeblich anders nicht zu behebendes Leid zu erdrückenden Argumenten erhoben, die scheinbar nach raschen ‚Lösungen' rufen. Wissenschaftliche, vor allem aber gesellschaftliche Anstrengungen zur Entwicklung wirksamer Alternativen geraten dabei mehr und mehr unter die Räder. Dabei ist gerade das, was Menschen an den Grenzen des Lebens vermittels ihrer Medizin geschieht oder zugefügt wird, der untrügliche Prüfstein, an dem sie zu messen ist."

Auch wenn wir den Vergleich, den Linus S. Geisler anstellt, nicht akzeptieren – sein Schlusssatz muss ein unverbrüchliches Kriterium verantwortlicher Medizin bleiben: Was Menschen an den Grenzen des Lebens geschieht, ist der untrügliche Prüfstein, an dem Medizin und medizinische Forschung zu messen sind. Und die Prüfung ist nicht bestanden, wenn menschliches Leben zu Forschungsmaterial oder zu einer zu entsorgenden Last deklassiert wird. Linus S. Geisler ruft deswegen sein entschiedenes „Halt!".

Am 31. Mai 2001 hat der Deutschen Bundestag eine erste Debatte zu Recht und Ethik der modernen Medizin und Biotechnologie geführt. Im Herbst werden von ihm Entscheidungen erwartet, welchen Handlungsraum das Embryonenschutzgesetz für PID und Forschung an embryonalen Stammzellen erlaubt. Das Protokoll dieser Bundestagssitzung dokumentiert eine bewegende, aufschlussreiche, Maßstäbe setzende Debatte, in der der Wille zu einem gemeinsamen Weg im Rahmen der spezifischen parlamentarischen Aufgabenstellung, bezogen auf das Strafrecht, vorherrschend war.

Wir können eine behutsame, abwägende Diskussion verfolgen. Es agieren keine Parlamentarier auf Parteilinie, sondern Menschen werden in ihrer persönlichen Haltung zu Grundfragen des Lebens erkennbar. Es ist eine Diskussion ohne eifernde Machbarkeitsphantasien, aber auch ohne apokalyptische Schreckensbilder. Ich zitiere aus einigen wenigen ausgewählten Beiträgen, von denen ich meine, dass sie die Komplexität der Thematik und Argumentation beleuchten.

Frau von Renesse, Vorsitzende der Enquête-Kommission, setzt mit ihrem Eingangsvotum wichtige Eckpunkte: „Lassen Sie mich einmal kurz rekapitulieren, was wir als Parlamentarier auf dem Gebiet der Gesetzgebung eigentlich zu entscheiden haben. Wir haben Konsens – darüber wird nicht gestritten –, dass die Möglichkeiten der nachgeburtlichen Genomanalyse insgesamt vom Gesetzgeber neu erörtert und neu eingegrenzt werden müssen. Persönlichkeitsschutz, Datenschutz, das Recht auf Wissen und das Recht vor allem auch auf Nichtwissen, das Recht der Versicherungen, das Recht beim Eingehen eines Arbeitsverhältnisses – dies alles ist unstreitig und hätte eigentlich schon vorgestern erledigt sein können. Ich hoffe, dass das in dieser Legislaturperiode noch klappt, und zwar mit Zustimmung des ganzen Hauses. Sehr viel schwieriger wird es bei der Frage (...), inwieweit ein Embryo, der in vitro erzeugt worden ist, als Forschungsobjekt zur Verfügung steht. Ich halte die Entscheidung des Gesetzgebers von vor elf Jahren – ich nehme an, dass ich da auch weitgehende Zustimmung bei Ihnen finde –, die In-vitro-Fertilisation der natürlichen Zeugung und Empfängnis nachzubilden, nach wie vor für richtig. Ein Embryo, auch im Glas erzeugt, ist das zukünftige Kind zukünftiger Eltern und sonst nichts. – Er steht für andere Zwecke nicht zur Verfügung. Weder ist er ein Medikament zur Behandlung irgendeiner Fruchtbarkeitsstörung noch ist der Embryo ein Werkstück, das man unter Mangeleinreden betrachten kann, noch ist er ein Rohstoff für andere Zwecke. Diese Grundentscheidung, die der Gesetzgeber getroffen hat, sichert die Menschenwürde sowohl des Paares als auch des Embryos. (...) Dann gibt es das große Problem der PID, der Präimplantationsdiagnostik. Meine Damen und Herren, ich stehe nicht an zu sagen, Präimplantationsdiagnostik ist nichts Gutes, genauso wenig wie der Schwangerschaftsabbruch. Wir wünschen uns Eltern,

ORGANISATION

- Anmietung geeigneter Räumlichkeiten
- Hotelbuchungen
- Tagungsbüro
- Industrieausstellung
- Teilnehmerverwaltung
- Referentenbetreuung

Ihr leistungsstarker Partner mit über 30jähriger Erfahrung.

■

Kompetent bei der Durchführung von

KONGRESSEN
TAGUNGEN
SEMINAREN
SYMPOSIEN
(auch via Satellit)

im gesamten Bundesgebiet und dem benachbarten Ausland.

■

Lassen Sie sich von uns beraten!

- Bereitstellen modernster Technik und Kommunikationssysteme
- Drucksachen, Herstellung und Versand
- Rahmenprogramm
- Finanzplanung/ Abrechnung
- PR unterstützende Aktivitäten

HVK

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

wir wünschen uns Paare, die Kinder annehmen, so wie sie sind, und nicht erst prüfen, ob sie für ihre Zwecke taugen. Aber ebenso wie beim Schwangerschaftsabbruch reden wir hier nicht darüber, ob Präimplantationsdiagnostik oder Schwangerschaftsabbruch etwas Gutes ist. Wir reden über die Grenzen des Strafrechts. Das Strafrecht ist dazu da, das ethische Minimum zu sichern; es ist die schärfste Waffe des Staates. Hinter jedem Gesetz, hinter jedem Urteil steht das Wort: Ich an deiner Stelle hätte anders gehandelt. Wer mag das in jedem dieser Fälle sagen? Wir müssen im Hinblick auf die schwer belasteten Paare und die Hochrisikopaare – sie sind ihrerseits Geschlagene – darüber nachdenken, ob wir sie mit dem Knüppel des Strafrechts noch treffen können, ob wir mit dem Strafrecht noch das erreichen können und sollten, was elterliche Hingabe im Grunde genommen so wichtig macht."

„Ein Embryo, auch im Glase gezeugt, ist das zukünftige Kind zukünftiger Eltern und sonst nichts" – eine klassische Formulierung, die nichts an Deutlichkeit zu wünschen übrig lässt, in der ich biblischen Schöpfungsglauben erkenne – und die scharfe Grenzziehung gegenüber den Versuchen, Embryonen als medizinisches Forschungsmaterial heranzuzüchten.

Es bleibt die Frage: Was darf geschehen mit den Embryonen, im Glas gezeugt, denen diese Bestimmung: „zukünftiges Kind zukünftiger Eltern", auf Dauer verwehrt bleibt? Der Bundeskanzler hat in der Debatte diese Frage gestellt.

Und dann: Kann man mit dem Strafrecht den geschlagenen Eltern gerecht werden, die aus nachvollziehbaren Gründen nach einer PID verlangen? Wer vermag in jedem Fall zu sagen: Ihr tut unrecht? Frau von Renesse zeigt Verständnis für diese Situation von Eltern und hält offensichtlich eine Zulassung von PID in engen Grenzen, bezogen auf diese Situation, für nicht unmöglich.

Andere lehnen das ab, so Frau Fischer: „Bei der Präimplantationsdiagnostik stehen wir vor der Frage, ob wir zulassen wollen, dass menschliche Embryonen sich nur dann zu Menschen entwickeln sollen, wenn sie nicht Träger einer bestimmten genetischen Krankheit sind. Wir, auch ich ganz persönlich, verstehen gut die Angst der Eltern vor der Belastung für sie und das Kind, die von dieser Erkrankung ausgeht. Trotzdem wollen wir dieses Verfahren nicht zulassen, weil wir nicht damit beginnen wollen, Kinder nach ihren gesundheitlichen Eigenschaften auszuwählen. Diejenigen, die für dieses Verfahren sprechen, verweisen darauf, dass es heute vielfach zu Schwangerschaftsabbrüchen kommt, wenn die künftigen Eltern im Verlauf der Schwangerschaft die Information über die Behinderung ihres Kindes erhalten; dann sei es schonender, diesen Schwangerschaftskonflikt von vornherein zu vermeiden. Ich möchte gegenfragen: Kann es sein, dass aus der immer mehr um sich greifenden Praxis, ein Kind wegen seiner künftigen Behinderung nicht anzunehmen, zwangsläufig folgt, diese Praxis auch noch zu vereinfachen? Oder müssen wir nicht vielmehr andersherum fragen, warum Eltern nicht den Mut fassen können, ein Kind mit einer Behinderung anzunehmen? Wir alle stehen doch in der Pflicht. Wir können etwas dafür tun, dass das Leben mit einem kranken oder behinderten Kind nicht so schwer ist, wie es den Eltern heute häufig gemacht wird."

Dagegen wird im Verlauf der Diskussion mehrfach das Argument gehalten: Solange die Spätabtreibung über den Weg der medizinischen Indikation möglich ist, weil ein behindertes Kind geboren würde, ist das Verbot der PID für betroffene Frauen ein tiefer Widerspruch.

Der Bundeskanzler befürwortet mit anderen die embryonale Stammzellenforschung, weil sie zu neuen Medikamenten und neuen Behandlungsmethoden führen kann, mit denen schwerste, bisher nicht heilbare Krankheiten unter Umständen geheilt oder gelindert werden können.

Er fragt: „Aber wie wollen wir es mit den überzähligen befruchteten Eizellen halten, die bei der künstlichen Befruchtung in Deutschland anfallen? Nach Schätzungen lagern mehr als 100 Embryonen in Deutschland. Unser Gesetz erlaubt eine künstliche Befruchtung nur, um eine Schwangerschaft herbeizuführen. Genau dafür aber werden diese befruchteten Eizellen nicht mehr benötigt. Die Frage ist: Was wird mit ihnen passieren? Ist es angesichts der Alternative, sie wegzuwerfen, nicht doch vertretbar, begrenzte Forschung an ihnen zu ermöglichen? Diese Frage wird uns nicht loslassen."

Rezzo Schlauch beschreibt den Zustand in unserer Gesellschaft: „Die Mehrzahl der Menschen in unserer Gesellschaft – das wissen wir, das geht ja auch bei uns so, das müssen wir eingestehen – ist doch hin- und hergerissen zwischen verschiedenen moralischen Aspekten, die mit der Gentechnik verbunden sind. An einem Tag lesen sie von den Heilungschancen, die sich eröffnen, und sehen die Chancen dieser Technologie. Am nächsten Tag lesen sie vom Klonen von Menschen und Embryonenverbrauch und sind zutiefst skeptisch und ablehnend. Seien wir ehrlich: Ein Stück weit tragen wir diese Ambivalenz doch auch alle in uns selbst; denn hier konkurrieren nicht etwas Moralisches und etwas Unmoralisches, sondern hier konkurrieren zwei moralische Impulse. Das macht die Sache etwas schwierig. Ich bin überzeugt davon, dass nur derjenigen Position Glaubwürdigkeit zugebilligt wird, der es gelingt, beiden Impulsen gerecht zu werden und sie in einem Konzept von Menschenwürde und Schutz des menschlichen Lebens zu integrieren."

Diese Auszüge aus der Bundestagsdebatte sind ein Versuch, mit wenigen Strichen das Feld zu umreißen, auf dem wir uns bewegen. Was ist mit unserer Gesellschaft? Wie ist Einigung erreichbar? Noch sind wir auf dem Weg.

Verfolgen wir die Diskussion, begegnen wir sehr dezidierten, sehr kontroversen und in sich jeweils sehr begründeten Positionen. Manches lehnen wir natürlich ab, wie zum Beispiel die wiederholt aufgegriffene Erklärung, die auch in der Bundestagsdebatte zu hören war, wir müssten den Mut zum Risiko und zum Tabubruch haben. Medizin sei immer dadurch gesellschaftlich wirksam gewesen, dass sie Tabus gebrochen habe. Das mag zum Teil richtig sein, aber wir leben in einem Land, wo wir unsere besonderen Erfahrungen mit Tabubrechern haben. Deswegen müssen wir an dieser Stelle sehr, sehr vorsichtig sein.

Alles in allem scheint sich ein Konsens herauszuschälen mit einer Reihe von Fixpunkten, die Grenzen beschreiben, die nicht überschritten werden dürfen:

- keine Eingriffe in die Keimbahn, kein genetischer Neuentwurf des Menschen;
- kein geklonter Mensch;
- keine Erzeugung von Embryonen zu Forschungszwecken;
- keine abgestufte Schutzgewährung für Embryonen je nach Entwicklungsstand, sondern Schutz von Anfang an;
- wenn PID, dann Einschränkung auf Fälle schwerster genetischer Vorbelastung und verbunden mit umfassender Beratung – ähnlich wie beim Schwangerschaftskonflikt;
- die Alternative der Forschung an adulten Stammzellen ist intensiv zu verfolgen;
- keine Diskriminierung von Behinderten im Sinne von: „Dich dürfte es eigentlich nicht geben";
- keine Ausnutzung von genetischen Informationen zum Vorteil Dritter (Abwägung von Versicherungsrisiken, Abschlüsse von Arbeitsverträgen).

Meine Damen und Herren, ich hoffe, dass in dieser komplexen Debatte das Wunder der göttlichen Schöpfung nicht untergeht, sondern sich neu erschließt. Darin erfahren wir die eigentliche Schutzmauer um das Leben, das Gott zum Freund hat. Im großartigen Psalm 139 wird dieses Wunder gepriesen, damit schließe ich:

Herr, du erforschest mich
und kennest mich.
Ich sitze oder stehe auf, so weißt du es;
du verstehst meine Gedanken von ferne.
Ich gehe oder liege, so bist du um mich
und siehst alle meine Wege. (...)
Denn du hast meine Nieren bereitet
Und hast mich gebildet im Mutterleibe.
Ich danke dir dafür,
dass ich wunderbar gemacht bin;
wunderbar sind deine Werke;
das erkennt meine Seele.
Es war dir mein Gebein nicht verborgen,
als ich im Verborgenen gemacht wurde,
als ich gebildet wurde unten in der Erde.
Deine Augen sahen mich,
als ich noch nicht bereitet war,
und alle Tage waren in dein Buch geschrieben,
die noch werden sollten und von denen keiner da war.
(...)
Erforsche mich, Gott, und erkenne mein Herz;
prüfe mich und erkenne, wie ich's meine.
Und sieh, ob ich auf bösem Wege bin,
und leite mich auf ewigem Wege.

Personalia

Ehrungen

Prof. em. Dr. med. Dr. h.c. Wolfgang K ü h n e l , Universitätsinstitut für Anatomie Lübeck, ist auf Vorschlag des Senats der Medizinischen und Pharmazeutischen Universität „Victor Babes" Timisoara, Rumänien, zu deren Ehrenmitglied ernannt worden.

Fachgesellschaften

Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hilko W e e r d a , Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde Lübeck, wurde zum Präsidenten der Norddeutschen Gesellschaft für Otorhinolaryngologie und zervikofaziale Chirurgie gewählt. Die Gesellschaft ist aus der Nordostdeutschen Gesellschaft für Otorhinolaryngologie und zervikofaziale Chirurgie und der Nordwestdeutschen Vereinigung entstanden. Der 2. Kongress der Norddeutschen Gesellschaft für Otorhinolaryngologie und zervikofaziale Chirurgie wird unter Leitung von Prof. Weerda vom 12. bis 14. April 2002 in Lübeck stattfinden. Als Themen sind vorgesehen: Plastische und rekonstruktive HNO-Chirurgie, Speicheldrüsenerkrankungen, Otoneurologie, Allergologie, Dysphagie und Schlafmedizin sowie freie praxisorientierte Vorträge.

Forschungsförderung

Prof. Dr. Verena G a u s s - M ü l l e r , Universitätsinstitut für Medizinische Molekularbiologie Lübeck, und Prof. Dr. rer. nat. Thomas P e t e r s , Universitätsinstitut für Chemie Lübeck, erhalten für ein Kooperationsprojekt „NMR-Untersuchungen zur molekularen Regulation picornaviraler Proteinase 3C" eine Sachbeihilfe der DFG im Umfang von ca. 750.000 Mark.

Dr. Dr. med. Corinna E. Z i m m e r m a n n , Universitätsklinik für Kiefer- und Gesichtschirurgie Lübeck, erhielt ein Forschungsstipendium an der Harvard Medical School, Boston, MA, USA. Sie wird sich mit neuen Faktoren der Osteogenese bei Knochenheilungsprozessen befassen.

Preise

Dr. phil. Hans-Jürgen R u m p f , Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Lübeck, erhält vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) eine Zuwendung bis zu 800.352 Mark für das Projekt „Ein Behandlungsstufen-Ansatz für Patienten mit alkoholbezogenen Störungen in Allgemeinarztpraxen – Projekt SIP" (Stepped Interventions for Problem drinkers) im Rahmen des Forschungsverbundes „Early Substance Abuse Intervention (EARLINT)".

Dr. rer. nat. Eva-Maria W o l b e r , Universitätsinstitut für Physiologie Lübeck, erhielt für ihre Dissertation „Steuerung der menschlichen Thrombopoietin-Genexpression" den Doktoranden-Förderpreis der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) 2001. Der Preis wird jährlich verliehen und ist mit einer Preissumme von 5.000 Mark ausgestattet. Frau Wolber hat die der Dissertation zugrundeliegenden Untersuchungen unter Anleitung von Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann, Direktor des Instituts für Physiologie, durchgeführt. Der Preis wurde am 30. September 2001 während der Jahrestagung der DGHO in Mannheim verliehen.

Dr. med. Sebastian W o l f r u m erhielt den Fakultätspreis der Medizinischen Fakultät der Medizinischen Universität zu Lübeck 2001. Der mit 1000 Mark dotierte Preis wurde ihm im Rahmen der Promotionsfeier der MUL am 13. Juli 2001 für seine Dissertation „Identifizierung myokardialer Kininasen und Einfluss von Enzyminhibitoren auf die bradykininduzierte koronare Vasodilatation am Rattenherzen" verliehen. Die mit „summa cum laude" bewertete Arbeit befasst sich mit den enzymatischen Wirkungsmechanismen von ACE-Hemmern, die in der Therapie von Bluthochdruck und Herzinsuffizienz eingesetzt werden. Dr. Wolfrum führte die Untersuchungen zu seiner Dissertation am Universitätsinstitut für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie Lübeck (Direktor Prof. Dr. med. Peter Dominiak) durch.

Gastwissenschaftler

Dr. med. Tamás B u b á n , Department I of Medicine, University Medical School Debrecen/Hungary, war vom 1. November 2000 bis 31. Juli 2001 als Stipendiat des Deutschen Akademischen Austauschdienstes (DAAD) im Forschungslabor der Universitätsklinik für Chirurgie Lübeck tätig. Unter der Anleitung von Dr. rer. nat. Michael Duchrow und Prof. Dr. med. Rainer Broll beschäftigte er sich mit dem Thema „Untersuchungen zu Mutationen und Polymorphismen des Zellzyklus-assoziierten Ki-67 Antigens in verschiedenen Tumorzellkulturen und Gewebeproben kolorektaler Karzinome".

Dr. med. Ivo K o l t s vom Institut für Anatomie der Partneruniversität in Tartu, Estland, war vom 30. Mai bis 20. Juni 2001 Gast im Universitätsinstitut für Anatomie Lübeck. Dr. Kolts befasste sich in dieser Zeit mit den klinisch relevanten Aspekten der so genannten Rotatorenmanschette des Schultergelenks.

Medizinische Gesellschaft zu Lübeck, Ärzteverein zu Lübeck

Wissenschaftliche Sitzung am 17. Mai 2001:

BSE – Bovine Spongiforme Encephalopathie

Einführung und Moderation: D. Kömpf, Universitätsklinik für Neurologie Lübeck

BSE/nvCJD – eine neue Geißel der Menschheit?

Fatal verlaufende transmissible spongiforme Encephalopathien (TSE) werden durch Transformation und Akkumulation eines physiologischerweise neuronalen sog. Prion-Proteins (PRPc) hervorgerufen. Histopathologisch ist das Bild durch vakuolige (spongiforme) Veränderungen, Nervenzellverluste und reaktive Gliavermehrungen in Kortex und subkortikaler grauer Substanz von Mensch und Tier gekennzeichnet, immunhistochemisch lässt sich das pathologische PRPsc nachweisen.

Die offenbar nicht auf den Menschen übertragbare Traberkrankheit (Scrapie) des Schafes ist seit 1725 bekannt. Beim Menschen beschrieben der Hamburger Neuropathologe Jacob und der Breslauer Neurologe Creutzfeld um 1920 erste humane Fälle. Die spontanen Erkrankungen der CJD treten weltweit mit einer Inzidenz von ca. 1/Jahr/Million Einwohner auf (in Deutschland ca. 100-120 Fälle/Jahr). Die hohe Infektiosität des pathologischen Prion-Proteins (proteinaceous infectious particle) zeigte sich in den 50er Jahren an der durch kannibale Riten hervorgerufene Epidemie der Kuru-Einwohner Neu-Guineas. Iatrogen wurden Infektionen durch Gabe von hypophysärem Wachstumshormon und durch neurochirurgische Prozeduren ausgelöst. Daneben sind familiär-genetische Erkrankungen mit Punktmutationen (und Änderung der Aminosäurefrequenz des PRP) wie z. B. Gerstmann-Sträußler-Scheinker (GGS) oder die fatale familiäre Insomnie (FFI) bekannt.

Lange Zeit ein Exot unter den humanen Erkrankungen, wurde 1996 eine neue Variante der humanen Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung (nvCJD) schlagartig als furchterregende Komplikation der britischen pandemieähnlichen, bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) in das Licht der Öffentlichkeit gerückt. Nach mittlerweile mehr als 90 Todesfällen überwiegend junger Patienten ist auch in seriösen Schätzungen bisher nicht sicher zu sagen, ob Hunderte oder gar Hunderttausend in Großbritannien der nvCJD erliegen werden.

Auch in Deutschland ist, nach Auftreten erster (spät-) objektivierter BSE-Fälle, in den nächsten Jahren mit Todesfällen durch die nvCJD zu rechnen.

E. Reusche, Universitätsinstitut für Pathologie Lübeck

Das Prionenparadox: Infektiöse Proteine als Ursache neurodegenerativer Erkrankungen

Human Prionenerkrankungen sind seltene neurodegenerative Krankheiten, die mit dem Auftreten der BSE-Epidemie in Europa ins Zentrum des Interesses gerückt sind. Sie weisen absurde und nach gängiger Lehrmeinung an sich unmögliche Eigenschaften auf. Prionenerkrankungen können spontan und unvorhersehbar als Erbkrankheit oder Infektionskrankheit auftreten und verlaufen immer tödlich. In ihrer Infektiosität sind sie nicht auf genetische Information in Form von Nukleinsäuren angewiesen und sie können nicht mit herkömmlicher Methodik durch Sterilisation vernichtet werden.

Die von S. Prusiner entwickelte und 1997 mit dem Nobelpreis geehrte Prionentherorie erklärt diese Eigenschaften durch das Prionenpreotein PrP^{Sc}, das die Information über seine abnorme Konformation an gesundes Prionenprotein PRP^{C} weitergibt. Das Grundkonzept der Prionentherorie, die dem zentralen Dogma der Molekularbiologie widerspricht, und die Übertragbarkeit der Prionenerkrankungen vom Tier auf den Menschen sind Gegenstand des Vortrages.

M. Maaß, Universitätsinstitut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene Lübeck

Klinik und Diagnose der Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung

Die Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung (CJK) ist eine seltene letal verlaufende neurodegenerative Erkrankung mit einer Inzidenz von 1 Fall/1 Million Einwohner/Jahr. In der Pathognese spielt die Konformationsänderung eines Eiweißmoleküls, des sogenannten Prionproteins, eine wichtige Rolle. Es können eine sporadische (ungefähr 90 % der Erkrankungsfälle), eine heriditäre (ungefähr 10 % der Erkrankungsfälle) und eine iatrogene Form der CJK unterschieden werden. Im Jahr 1996 wurde erstmals eine neue Variante der CJK (nv-CJK) beschrieben, die mit der bovinen spongiformen Encephalopathie (BSE) in Zusammenhang gebracht wird.

Die Patienten mit Verdacht auf eine CJK können klinisch in wahrscheinliche, mögliche und andere Fälle unterteilt werden. Eine abschließende Sicherung der Diagnose ist nur neuropathologisch mögliche. In dem Vortrag soll zunächst die sporadische Form der CJK dargestellt werden. Insbesondere wird auf das klinische Erscheinungsbild während des Verlaufs und die Diagnose stützende technische Untersuchungsbefunde eingegangen werden. Dieses sind der Liquorbefund, das EEG und die Kernspintomographie. Im zweiten

Teil des Vortrages soll die neue Variante der CJK und die Unterscheidungen (klinisches Erscheinungsbild und technische Untersuchungsbefunde) zur sporadischen CJK beschrieben werden.

C. Jacobi, Neurologische Universitätsklinik Göttingen

Wissenschaftliche Sitzung am 28. Juni 2001:

Kolorektale Tumoren

Einführung und Moderation: Prof. Dr. med. H.-P. Bruch, Universitätsklinik für Chirurgie Lübeck

Molekulare Marker kolorektaler Tumoren: Möglichkeiten und Grenzen

Prognosefaktoren gewinnen in der klinischen Medizin zunehmend an Bedeutung zur Vorhersage des individuellen Krankheitsverlaufes eines Patienten, für die Therapiewahl (an das individuelle Risiko adaptierte „Therapie nach Maß"), für die Analyse der Behandlungsergebnisse und für das Qualitätsmanagement. Ziel ist es dabei, für jeden Patienten einen individuellen prognostischen Indes zu berechnen, der mit Hilfe eine mathematischen Modells (prognostisches System) aus den bisher bekannten und weiteren, noch zu evaluierenden Faktoren berechnet werden soll. Die weiteste Verbreitung und Akzeptanz als Prognosefaktor hat bisher die anatomische Tumorausdehnung in Form der TNM-Klassifikation gefunden, die es erlaubt, jeden Patienten einem bestimmten Tumorstadium mit einer bekannten Prognose zuzuordnen. Seit der rasanten Entwicklung immunchemischer und molekularbiologischer Techniken wird versucht, damit Tumor-bezogene, d. h. die Tumorbiologie berücksichtigende Marker zu evaluieren. Untersucht wurden insbesondere Proliferationsmarker, Onkogene, Tumorsuppressorgene, Invasions- und Metastasierungsmarker, Hormon- und Wachstumsfaktoren und ihre Rezeptoren, als auch die Tumorzellploidie, Mikrosatelliteninstabilität, disseminierte Tumorzellen usw.

Auch im eigenen chirurgischen Forschungslabor wurden und werden neue Marker im Hinblick auf ihre prognostische Relevanz getestet. Im Vordergrund stehen dabei Untersuchungen an Tumorsuppressorgenen, Zelluyklus-abhängigen Markern, angiogenen Faktoren und disseminierten Tumorzellen. Trotz der gewaltigen Flut der Daten über mögliche Prognosefaktoren ist es aber bisher nicht gelungen, wesentliche und allgemein akzeptierte neue Marker in der Klinik zu etablieren. Ursächlich liegt dem eine fehlende Standardisierung der entsprechenden Techniken und zu wenige klinische Outcomestudien mit multivarianten Analysen, die für die Evaluation onkologischer Marker unabdingbar sind, zugrunde. Aufgabe der klinischen Forschung ist es deshalb, ausgewählte erfolgversprechende neue Marker in großen Studien auf ihre prognostische Relevanz zu testen.

R. Broll, M. Duchrow, U. Windhövel, O. Schwandner, Universitätsklinik für Chirurgie Lübeck

Moderne radiologische Diagnostik des Dickdarmkrebs

Während die radiologische Diagnostik des Dickdarmkarzinoms früher auf dem Bariumeinlauf (BE) fußte, beruht sie heute auf der Computertomographie (CT) und der sog. Virtuellen Colonoskopie.

Die „konventionelle" CT-Untersuchung des Kolon hat in Hypotonie (Buscopan) ihren festen Platz als Staging-Untersuchung kolorektaler Karzinome:

1. präoperativ in der Bestimmung der extraluminalen Tumorkomponente, lokoregionärer Lymphknotenstatus, Fernmetastasen (Leber),
2. in der Erkennung von Komplikationen des primären Tumors (Perforation, Fisteln),
3. postoperativ im Management von OP-Komplikationen, wie Abzesslokalisation und Drainage,
4. in der Tumornachsorge zur Lokalisierung eines Rezidivs bei steigenden CEA-Werten,
5. CT-gesteuerte Punktion Rezidiv-suspekter Areale.

Neuerdings gewinnt die Mulislice-CT in Verbindung mit der virtuellen Colonoskopie zunehmende Bedeutung in der Detektion und sogar im Screening nach Kolonpolypen und Frühkarzinomen ab ungefähr einem Zentimeter Größe. Hierdurch kann die früher unbefriedigend niedrige Sensitivität der CT in der Detektion von Polypen oder Karzinomen von 75 % deutlich auf Werte über 90 % gesteigert werden. Hiermit wird die Sensitivität des Bariumeinlaufes von > 95 % und der endoskopischen Koloskopie auf non-invasivem Wege erreicht.

Insgesamt können heute mittels virtueller Kolonoskopie Vorstadien des Dickdarmkrebses in einem hohen Prozentsatz computertomographisch auf non-invasivem Wege erfasst werden. Hierin liegt eine echte Chance für eine effektive Krebsvorsorge. Staging und Nachsorge bei Patienten mit Dickdarmkrebs ist die Domäne der „konventionellen" CT.

H.-B. Gehl, Universitätsinstitut für Radiologie Lübeck

Anatomische Grundlagen als logische Begründung der totalen mesorektalen Exzision (TME)

Das Rektum liegt innerhalb des rektalen Fettkörpers und wird von der *Fascia propria recti* umhüllt. Im rektalen Fettkörper verlaufen die das Rektum versorgenden Arterien, Venen und Lymphbahnen. Die Dicke des rektalen Fettkörpers ist individuell unterschiedlich, dorsal aber immer am stärksten ausgeprägt In Höhe des

distalen Viertels des Rektums endet der rektale Fettkörper und das Rektum ist dann zum Beckenboden hin nur von einer dünnen Schicht faserreichen Bindegewebes umgeben. Die *Fascia propriarecti* ist ein Teil der visceralen *Fascia pelvis* und von der parietalen *Fascia pelvis* durch eine pelvirektale fibröse gefäßarme Schicht getrennt. Beidseits lateral wird die fibröse Schicht von Nerven und Gefäßen, die zur Rektumvorderwand und zu den Urogenitalorganen ziehen, unterbrochen. Daraus resultiert ein prärektaler und ein retrorektaler Bindegewebsraum.

Anatomisch getrennt durch die Faszien gibt es neben dem rektalen Fettkörper noch den urogenitalen Fettkörper. Funktionell sind sie durch ihre unterschiedliche Blutversorgung und ihren Lymphabfluss getrennt. Durch die funktionelle und anatomische Trennung der Organe kommt es zu einer Kompartmentbildung von Organsystemen, welche lange Zeit auch einem wachsenden Tumor Einhalt gebietet.

Die totale mesorektale Exzision (TME) ist definiert als Entfernung des Rektums mit dem umgebenden Fett- und lymphatischen Gewebe innerhalb der *Fascia propria recti*. Auf die besonderen anatomischen Grundlagen und die daraus resultierende operative Technik haben uns W. Kühnel, H. Fritsch und F. Stelzner immer wieder hingewiesen. Die Anatomie des Rektums hat mehr als die Anatomie bei anderen Organen zur Ausbildung eines besonderen operativen Verfahrens mit deutlich gebesserten Ergebnissen geführt.

P. Sterk, U. Markert, H.-P. Bruch, Universitätsklinik für Chirurgie Lübeck

Aktueller Stellenwert der laparoskopischen Chirurgie beim kolorektalen Karzinom

Laparoskopische kolorektale Resektionen führen im postoperativen Verlauf zu Vorteilen hinsichtlich der Schmerzsymptomatik, der Beeinträchtigung der pulmonalen und gastrointestinalen Funktion und der Rekonvaleszenz. Diese Vorteile der minimalinvasiven Technik sind bei gutartigen Erkrankungen des Kolon und Rektum anerkannt und belegt. Derzeit werden laparoskopische Resektionen beim kolorektalen Karzinom bezüglich der Radikalität, der potentiellen Tumorzellverschleppung und der ungeklärten Inzidenz von Trokarkanalmetastasen kontrovers diskutiert. Die onkologischen Standards der konventionellen Chirurgie können beim kolorektalen Karzinom durch die laparoskopische Chirurgie uneingeschränkt eingehalten werden. Die vorläufigen Ergebnisse prospektiver und retrospektiver Vergleichsstudien zeigen eindrücklich, dass die laparoskopische Resektion im Vergleich zur konventionellen Chirurgie weder mit einer erhöhten Rezidivrate noch mit einer erniedrigten Überlebensrate einhergeht. Trotz zahlreicher wissenschaftlicher Erkenntnisse sind derzeit weder die Inzidenz noch die Gründe der Trokarkanalmetastasen definitiv geklärt. Jedoch belegen die aktuellen Studien zunehmend, dass Trokarkanalmetastasen eher nicht ein spezifisches Problem der Laparoskopie sind, sondern vorrangig am Anfang der Lernkurve der laparoskopischen Chirurgie beim kolorektalen Karzinom auftraten. Ob die laparoskopische Chirurgie des kolorektalen Karzinoms letztendlich zu identischen Langzeitergebnissen führt wie die konventionellen Verfahren, ist derzeit nicht definitiv zu beantworten, da die Resultate prospektiv-randomisierter Vergleichsstudien noch ausstehen. Deshalb sollten laparoskopische kurative Resektionen beim kolorektalen Karzinom nur innerhalb prospektiv-randomisierter Studien durchgeführt werden.

T. Schiedeck, Universitätsklinik für Chirurgie Lübeck

Wissenschaftliche Sitzung am 19. Juli 2001

Rekonstruktive Chirurgie im Gesichts- und Halsbereich

Einführung und Moderation: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Hilko Weerda, Universitätsklinik für Hals-, Nasen-, und Ohrenheilkunde Lübeck

Die Rekonstruktion von Defekten im Gesicht und am Ohr

Selbstwert und Selbstidentifikation haben sehr viel mit einem intakten Gesicht zu tun. Durch Deformation bei Missbildungen, nach schweren Traumen und nach Tumor-Resektionen kann es zu funktionellen und ästhetischen Störungen im Gesichtsbereich kommen.

In meinem Vortrag möchte ich deswegen zunächst kurz auf die Versorgung frischer Wunden und die Behandlung störender Narben im Gesicht eingehen. Wichtig ist hier die Beachtung der Spannungslinien der Haut im Gesicht (relaxed skin atension lines).

Tumoren der Haut finden wir zu 90 % im Gesichtsbereich. Nach ihrer Entfernung ist es bei der Rekonstruktion wichtig, bei kleineren und größeren Defekten die ästhetischen Einheiten des Gesichts zu beachten. Die Versorgung von Defekten im Bereich der Stirn, der Wange, der Nase und der Lippen wird kurz besprochen. Gleichzeitig wird auf die verschiedenen Lappen-Techniken zum Verschluss solcher Defekte eingegangen. Wesentlich ist es, um möglichst unauffällige Defektverschlüsse zu erreichen, dass Haut der gleichen Farbe, Textur und Dicke verwendet wird. Diese ist in der Regel nur aus der direkten Defektumgebung zu erhalten.

Zum Abschluss möchte ich kurz die Möglichkeiten der Missbildungschirurgie bei Teil- und Total-Rekonstruktionen der Ohrmuschel aufzeigen.

Die kurze Abhandlung über die rekonstruktiven Maßnahmen im Fachgebiet Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde soll zeigen, dass die sogenannte „regional plastisch-rekonstruktive Chirurgie" ein wichtiger Bestandteil der chirurgischen Ausbildung in unserer Klinik sein muss.

H. Weerda

Rekonstruktive Chirurgie mit mikrovaskulär anastomosierten Gewebetransplantaten

Gewebedefekte im Kopf-Halsbereich entstehen vorrangig nach Tumorresektionen, seltener in Folge von Verletzungen oder Entzündungen. Dabei resultieren durch den Verlust oder durch die Zerstörung der Haut, Schleimhaut, Muskulatur, Knochen und Nerven zum Teil erhebliche kosmetische und funktionelle Defizite. Die Wiederherstellung von Form und Funktion muss deshalb vordringlichstes Ziel des Therapiekonzeptes sein. Hierbei hat in den letzten 25 Jahren die Entwicklung neuer Operationsverfahren, speziell durch den routinemäßigen Einsatz mikrochirurgischer Techniken, zu einer deutlichen Verbesserung der postoperativen Ergebnisse geführt. Durch die Mikrogefäß- und Mikronervennahttechnik ist es heute möglich, die Kontinuität feinster anatomischer Strukturen wie Speichelgänge oder Nerven nach traumatischer Durchtrennung wiederherzustellen. In der Tumorchirurgie lassen sich mit diesen Techniken selbst nach ausgedehnten Weichteildefekten mit Verlust verschiedener Gewebekomponenten bis hin zum kompletten Organverlust gute ästhetische und funktionelle Ergebnisse erzielen.

Verschiedene Operationstechniken und der Einsatz unterschiedlicher Gewebetransplantate nach traumatischen und tumorresektionsbedingten Gewebedefekten sowie die postoperativen Ergebnisse sollen an Hand exemplarischer Fälle demonstriert werden.

S. Remmert

Sind myokutane Insellappen und großen Transpositionslappen in der rekonstruktiven Kopf- und Halschirurgie noch zeitgemäß?

Bis vor ungefähr einem Jahrzehnt wurden Defekte im Bereich der Mundhöhle, des Pharynx und der Kopf- und Halsweichteile im Rahmen der rekonstruktiven Chirurgie des oberen Aerodigestivtraktes mit myokutanen Insellappen oder Transpositionslappen wiederhergestellt. Wegen der besseren Modellierbarkeit und der damit verbundenen überlegenen ästhetischen und funktionellen Ergebnisse werden sie zunehmend durch die fasziokutanen Transplantate des Unterarmes oder der Schulter-Region abgelöst.

Trotz des Einsatzes von mikrovaskulär anastomosierten Transplantaten zeigt die klinische Erfahrung, dass die myokutanen Insellappen, wie der M. pectoralis major- oder der M.latissimus dorsi-Insellappen und die großen Transplantationslappen, wie der deltopektorale Lappen oder der bilobed flap aus der Halsregion noch relativ häufig eingesetzt werden müssen. Besonders im Rahmen von Rezidivoperationen und Komplikationen, wie z. B. bei ausgeprägten Wundheilungsstörungen nach Bestrahlung oder Entzündung, bei pharyngokutanen Fisteln und Transplantatnekrosen stellen sie auch heute noch eine unverzichtbare Alternative zu den modernen Rekonstruktionsverfahren dar.

Sind auch heute mikrovaskulär anastomosierte Gewebetransplantate für die Rekonstruktion im Kopf- und Halsbereich die Methode der ersten Wahl, so treten in Folge der onkologischen Chirurgie des oberen Aerodigestivtraktes noch relativ viele Indikationen auf, bei denen myokutane Insellappen und Transpositionslappen eingesetzt werden müssen.

Die unterschiedlichen Indikationen werden an klinischen Beispielen aufgezeigt.

K. Sommer

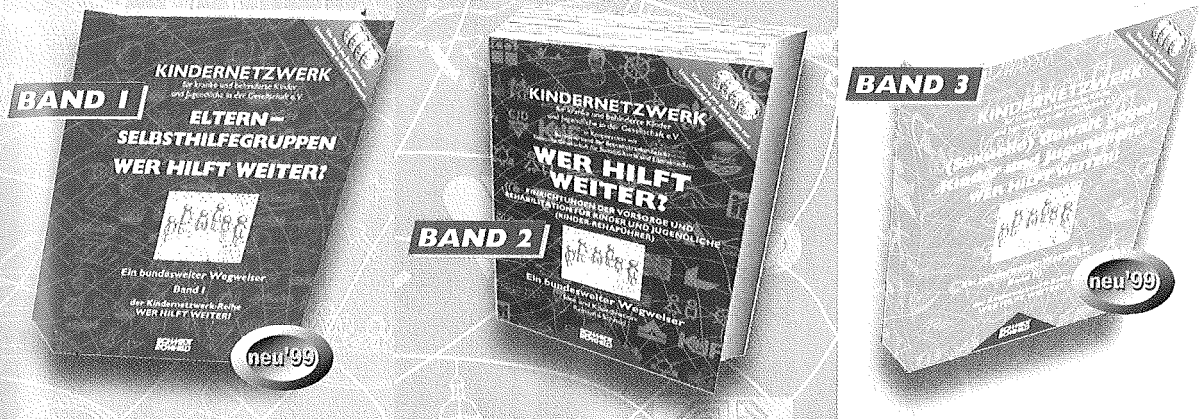
WER HILFT WEITER?

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 Patienteneltern helfen kann.

BESTELLEN SIE JETZT!

SCHMIDT RÖMHILD **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

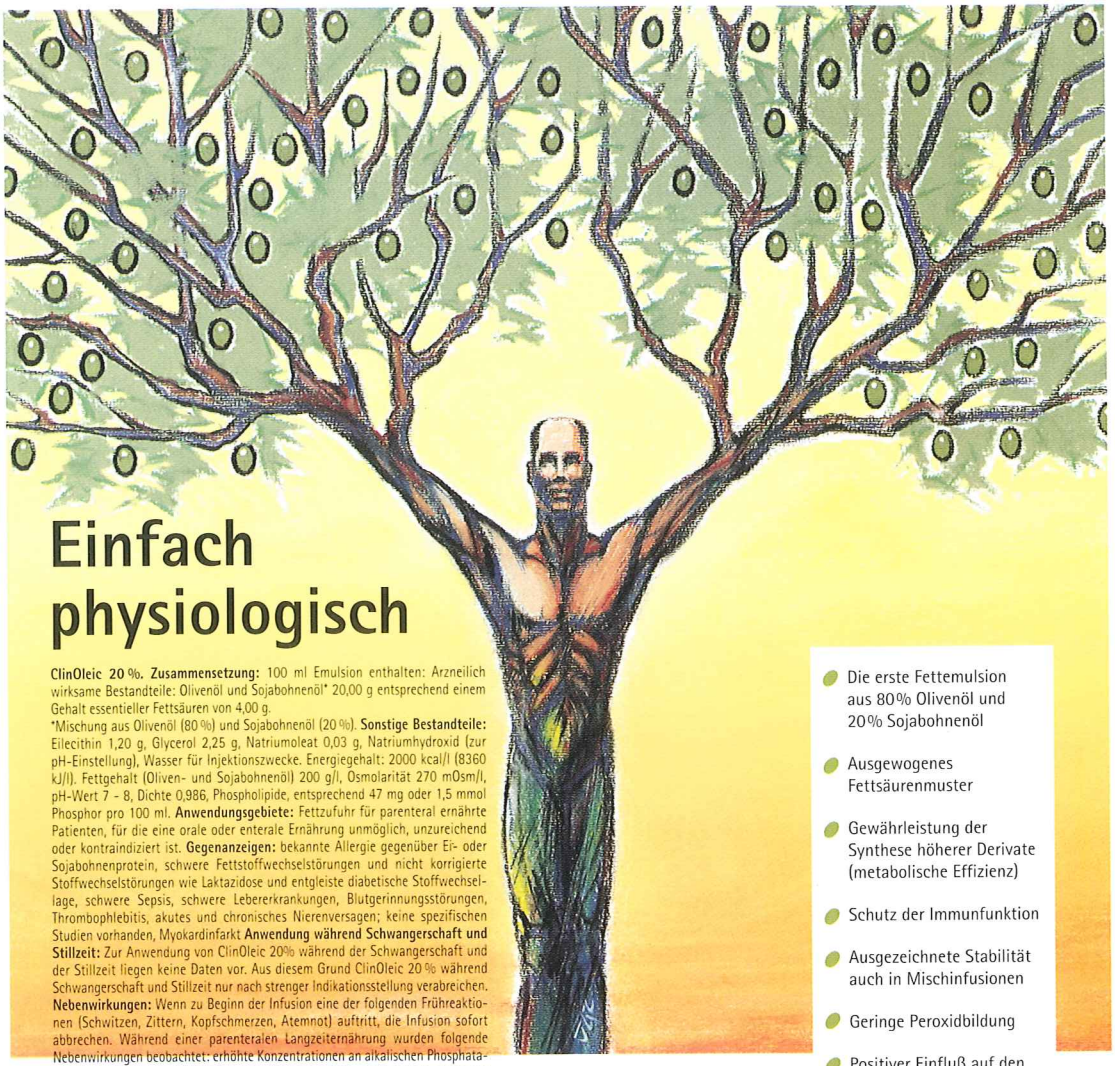
_____ Expl. Wer hilft weiter? Bd. 2:
Einrichtungen der Vorsorge und Rehabilitation für Kinder und Jugendliche (Kinder-Rehaführer). Ein bundesweiter Wegweiser.
306 Seiten, ISBN 3-7950-1907-9,
36,– DM/263,– öS/33,– sFr

_____ 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