

SITZUNGSBERICHTE
LEIBNIZ-SOZIETÄT DER WISSENSCHAFTEN

Plenartagung
anlässlich des 100. Geburtstages von
Prof. Dr. Friedrich Jung
(21.4.1915–5.8.1997)

Herausgegeben von
Johann Gross, Gisela Jacobasch & Peter Oehme

Mit Beiträgen von Gerhard Banse, Rita Bernhardt,
Charles Coutelle, Hans-Dieter Faulhaber, Steffen Fischer, Johann Gross,
Thomas Groth, Gisela Jacobasch, Friedrich Jung, Horst Klinkmann,
Marlies Knipper, Alexander Köwitsch, Detlev H. Krüger,
Mercedes Lopez, Andreas Meisel, Sabine Müller, Horst Nitze,
Götz Nowak, Peter Oehme, Dieter Peschel, Werner Scheler,
Stefan Tanneberger, Jörg Vienken, Kai Zhang, Ulrike Zimmermann



BAND 123/124
JAHRGANG 2015

Inhalt

| | |
|--|----|
| <i>Plenartagung anlässlich des 100. Geburtstages von Prof. Dr. Friedrich Jung</i> | 7 |
| Gerhard Banse Eröffnung und Begrüßung durch den Präsidenten der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin | 7 |
| Werner Scheler Friedrich Jung's Weg in die Berliner Pharmakologie | 9 |
| Horst Klinkmann Jung's Wirken für die medizinische Wissenschaft und die wissenschaftliche Arzneimitteltherapie | 19 |
| Peter Oehme Das Wirken von Friedrich Jung in der Berliner Pharmakologie | 29 |
| Detlev H. Krüger, Peter Oehme und Werner Scheler Friedrich Jung – seine Beziehung zu Helmut Ruska und zur Virologie | 45 |
| Friedrich Jung (kommentiert von Peter Oehme) Wert der Arznei | 55 |
| Hans-Dieter Faulhaber Friedrich Jung – persönliche Erinnerungen an den akademischen Lehrer und Gesundheitspolitiker | 59 |
| Stephan Tanneberger (Bologna) Was würde Fritz Jung zur „Personalisierten Medizin 2015“ sagen? | 63 |

| | |
|--|-----|
| Gerhard Banse Laudatio zum 80. Geburtstag von Gisela Jacobasch | 69 |
| Gisela Jacobasch Hochspezialisierte Diagnostik, Prävention und Therapie bei Patienten mit hämolytischen Anämien verursacht durch genetische Defekte | 73 |
| Charles Coutelle Individualisierte Medizin bei genetisch bedingten Erkrankungen | 95 |
| Rita Bernhardt Aus der Werkzeugkiste der Natur – <i>Zum Potential von Cytochrom P450 Enzymen in der Biotechnologie</i> | 115 |
| Götz Nowak und Mercedes Lopez Personalisierte Therapie bei Gerinnungsstörungen des Blutes | 125 |
| Thomas Groth, Dieter Peschel, Kai Zhang, Alexander Köwitsch, Steffen Fischer Cellulosesulfate als bioaktive Glykane für biomedizinische Anwendungen | 149 |
| Andreas Meisel Myasthenia gravis: Wenn junge Frauen und alte Männer schwach werden | 167 |
| Marlies Knipper und Ulrike Zimmermann Über Hörstörungen, Stress und Emotionen. Wie unser Ohr Gehirnfunktionen beeinflusst | 189 |
| Johann Gross SNP-Analyse und individuelles Risiko für erworbene Schwerhörigkeit (Alters-, Lärm- und Medikamenten bedingte Schwerhörigkeit) | 215 |

| | |
|--|-----|
| Horst Nitze Altern – Biologie und Pathologie | 237 |
| Sabine Müller Zelluläre Mechanismen des Alterns: DNA-Schäden und Telomerenverkürzung | 245 |
| Jörg Vienken Was hat eine Polymeralterung mit Demographie zu tun? | 253 |

In den vorliegenden Band der Sitzungsberichte wurden neben den Beiträgen zu Prof. Jung und zur Personalisierten Medizin Beiträge aus der Plenartagung im Dezember 2014 zu molekularen Aspekten von Hörstörungen und Altern aufgenommen.

Eröffnung und Begrüßung durch Professor Dr. Gerhard Banse, Präsident der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin

Meine sehr geehrten Damen und Herren, liebe Mitglieder und Freunde der Leibniz-Sozietät,

ich begrüße Sie ganz herzlich zur heutigen gemeinsamen Sitzung der Klassen Naturwissenschaften und Technikwissenschaften sowie Sozial- und Geisteswissenschaften, die in Form eines Kolloquiums mit der Thematik „Personalisierte Medizin“ eine dreifache Zielstellung verfolgt:

Erstens gilt es, *Friedrich Jung* zu ehren, der am 21. April dieses Jahres seinen 100. Geburtstag begehen würde. *Friedrich Jung*, der am 05. August 1997 in Berlin verstarb, gehört zu den Gründungsmitgliedern unserer Sozietät. Er war einer der führenden Pharmakologen in der Deutschen Demokratischen Republik und wirkte unter anderem von 1949 bis 1972 als Professor an der Humboldt-Universität zu Berlin sowie von 1956 bis 1980 als Direktor verschiedener Forschungsinstitute der Akademie der Wissenschaften der DDR, darunter von 1972 bis 1980 des Zentralinstituts für Molekularbiologie in Berlin-Buch. Als Vorsitzender des Zentralen Gutachterausschusses für das Arzneimittelwesen hatte er darüber hinaus großen Einfluss auf die Zulassung von Medikamenten in der DDR. *Friedrich Jung* ist die Vormittagssitzung gewidmet. Dazu begrüße ich auch die Mitglieder der „Jung-Familie“ sowie Herrn *Athineos Philippou* aus Innsbruck.

Zweitens: Am 4. Februar dieses Jahres beging unser Mitglied *Gisela Jacobasch* ihren 80. Geburtstag. Nochmals ganz herzlichen Glückwunsch. Sie gehört seit 1997 der Leibniz-Sozietät an. Ich werde zu Beginn der Nachmittagssitzung *Gisela Jacobaschs* Weg in der Wissenschaft und in der Leibniz-Sozietät ausführlicher würdigen.

Drittens schließlich wird es um Personalisierte Medizin selbst gehen. In „Wikipedia“ kann man dazu lesen: „In der personalisierten

Medizin [...] soll jeder Patient unter weitgehender Einbeziehung individueller Gegebenheiten, über die funktionale Krankheitsdiagnose hinaus, behandelt werden. Das schließt auch das fortlaufende Anpassen der Therapie an den Gesundungsfortschritt ein. Verwendet wird der Begriff vor allem für eine maßgeschneiderte Pharmakotherapie, welche zusätzlich zum speziellen Krankheitsbild die individuelle physiologische Konstitution und geschlechtsspezifische Wirkeigenschaften von Medikamenten berücksichtigt. In komplexen Therapien werden außerdem individuelle molekularbiologische Konstellationen berücksichtigt, die mit modernen Biomarkern ermittelt werden können und unter denen die genetische Ausstattung (Genom) des Patienten eine besondere Rolle spielt.“

Ein interessantes Programm. Bei „Wikipedia“ wird aber auch darauf verwiesen, dass dieses Konzept nicht unumstritten ist. Ich bin gespannt, ob sich das auch in den Beiträgen zur Personalisierten Medizin zeigen wird.

Bevor ich nun dem Sekretar der Klasse Naturwissenschaften und Technikwissenschaften, Herrn *Lutz-Günther Fleischer*, das Wort erteilen werde, der die Aufgabe übernommen hat, das heutige Kolloquium zu moderieren, habe ich noch drei Bemerkungen:

- (1) Es ist mir ein Bedürfnis, unserem Mitglied und langjährigem Präsidiumsmitglied *Dietmar Linke* ganz herzlich zu seinem 75. Geburtstag zu gratulieren, den er gestern beging.
- (2) Leider kann unser Mitglied *Werner Scheler* seinen ausgewiesenen Vortrag nicht selber halten. Er ist erkrankt und liegt im Krankenhaus. Ich wünsche ihm gute Besserung. Seinen Beitrag wird Herr Professor Dr. *Erhard Göres* – ebenfalls ein Schüler von Friedrich Jung – verlesen.
- (3) Ich bedanke mich bei allen Mitgliedern unserer Gelehrtenengesellschaft, die an der inhaltlichen Vorbereitung dieses Kolloquiums beteiligt waren, vor allem bei Frau *Gisela Jacobasch*, Herrn *Johann Gross* und Herrn *Peter Oehme*. Herrn *Oehme* gilt zusätzlich Dank für sein Engagement in einer Angelegenheit, über die er dann selber noch sprechen wird.

Werner Scheler (vorgetragen von Herrn Professor Dr. *Erhard Göres*)

Friedrich Jung's Weg in die Berliner Pharmakologie

Herr Präsident, meine sehr geehrten Damen und Herren,

Als am 5. August 1997 der Mitbegründer der Leibniz-Sozietät, der Pharmakologe Friedrich Jung verstirbt, endet ein bewegtes und reiches Leben, das aufs Engste mit der dramatischen deutschen Geschichte des 20. Jahrhunderts verbunden ist. In gleicher Weise gilt das für sein Wirken auf seinem Fachgebiet der Pharmakologie und ihrer medizinischen und gesellschaftlichen Verankerung. Schicksalhaft zog es ihn dabei immer wieder nach Berlin. Hier fand er, und schuf er in der Nachkriegszeit – gerade in einer kritischen Periode des Kalten Krieges – Wirkungsstätten, die er zum Ausgangspunkt für den Aufbau einer wissenschaftlichen Schule und weiterer akademischer Einrichtungen machte.

Ich hatte das Glück, in dieser Phase zu ihm zu stoßen. Zu verdanken hatte ich das einer Jenenser Studienkollegin. Sie war nach Berlin gewechselt und schrieb mir begeistert von den spannenden, geistreichen Vorlesungen eines jungen Pharmakologie-Professors, einer „*Intelligenzbestie*“, so ihre Worte. Da ich im Herbst 1951 inmitten der letzten Staatsexamensprüfungen stand und nach Abschluss des Exams in einem theoretischen Fach arbeiten wollte, reizten mich ihre Berichte. Kurzerhand bewarb ich mich bei jenem hochgelobten Professor Jung um eine Assistentenstelle.

Er schrieb zurück, ich solle mich vorstellen. Wenige Tage darauf war ich in Berlin. Überall noch Ruinen und die Spuren des Krieges. Nahe des Bahnhofs Friedrichstraße fand ich – in der Dorotheenstraße 28 – das stark zerstörte Gebäude des Pharmakologischen Instituts. Die oberen Stockwerke ausgebrannt. Am Eingang eine schwere Eichentür. Dahinter ein provisorischer Zugang ins Souterrain mit einigen wiederhergestellten Räumen, darunter das Sekretariat, eine Werkstatt und das

Direktorenzimmer. Die Sekretärin, ein Fräulein Elste, führte mich zu ihm.

Jung, im offenen weißen Kittel und Pullover hinter einem Schreibtisch, eine Broschüre in der Hand, vor ihm Papiere und Zeitschriften. Auf einem Nebentisch Bücher und Apparate. Kurze Vorstellung, Begrüßungsworte, Platznehmen, und schon prasselten seine Fragen auf mich ein. Ein beharrliches Bohren und Nachhaken. Nach etwa 20/25 Minuten plötzlich seine Frage: „*Wann können Sie antreten?*“

Das war's. Bis heute sehe und höre ich diesen Friedrich Jung hinter seinem Schreibtisch, den regen Kopf, die krausen Haare, die wachen aufmerksamen Augen hinter seiner Hornbrille, sein unruhiges Hin und Her auf dem Stuhl, sein typisches Schulterzucken, das leichte Schwäbeln seiner Sprache, seine Natürlichkeit, locker, unkonventionell, wissbegierig im Gespräch, Zutrauen ausstrahlend. Ich war heilfroh: Ein lebendiger Wissenschaftler!

Am 15. Oktober 1951 trat ich bei ihm an. Dieses Mal allerdings in Berlin-Buch, am Institut für Medizin und Biologie, wo er über einige Laboratorien verfügte. Ungeduldig, wie er sein konnte, überfiel er mich: „*Schön, dass Sie nun da sind, ich brauche Sie für Hämoglobin-Untersuchungen*“. Eine aktuelle Arbeit des britischen Physiologen F.I.W. Roughton über den Einfluss von Kohlenmonoxid auf die Sauerstoffbindungsfunktion des Hämoglobins habe ihn angeregt, dieser Erscheinung weiter auf den Grund zu gehen.

Wer war dieser Friedrich Jung? Wo kam er her? Wie verlief sein Weg in die Berliner Pharmakologie?

Friedrich Karl Jung wird während des Ersten Weltkrieges am 21. April 1915 in Friedrichshafen am Bodensee geboren. Die Eltern beide Lehrer, gläubige Katholiken. Er ist das erste von sechs Kindern. In der Zeit der Weimarer Republik besucht Fritz, wie er gerufen wird, im schwäbischen Ellwangen die Grundschule, dann in Stuttgart das renommierte Dillmann-Realgymnasium. Außerdem ist er in der katholischen Jugendorganisation „*Neudeutschland*“ aktiv tätig und „*bezieht auch gelegentlich Prügel durch die SA*“ – wie er sich erinnert.

Die Schule schließt er – ein Jahr nach Hitlers Machtergreifung – im Februar 1934 mit dem Abitur ab. Widerwille und Feindschaft gegen die Nazis wirken nach. Auch später wird ihn dieser Zwiespalt zwischen

humanistisch-katholischer Erziehung und der doktrinären Ideologie des neuen Regimes nicht loslassen.

Nach einem pflichtgemäßen Einsatz im „Reichsarbeitsdienst“ beginnt er im November 1934 in Tübingen das Medizinstudium, das er in Berlin, Königsberg und wieder Berlin fortsetzt.

Noch während des Studiums bearbeitet er am Berliner Pharmakologischen Institut unter Wolfgang Heubner ein toxikologisches Dissertationsthema. Es geht um die Ursachen und die Mechanismen der Vergrünung des roten Blutfarbstoffes zu Verdoglobin.

Innerhalb des Institutspersonals herrscht eine verdeckte politische Spaltung zwischen Anhängern des Hitler-Regimes mit dem Dozenten *Hermann Druckrey* an der Spitze und den Widersachern der Nazis, die sich um *Robert Havemann* gruppieren. Diesen steht der Doktorand Fritz Jung nahe. Der Chef, Heubner, weiß um die Differenzen und versucht zu mitigieren, was ihn selbst aber den politischen Sittenwächtern verdächtig macht. Sein hohes Ansehen schützt ihn vor offenen Anfeindungen.

Im Herbst 1939 bricht der Zweite Weltkrieg aus. Inmitten seiner Staatsexamensprüfungen wird Jung zum Militär einberufen. Mit Verweis auf die „besonderen Verhältnisse“ wird ihm – ohne die restlichen Prüfungen ablegen zu müssen – am 2. Oktober 1939 die Bestallung als Arzt erteilt. Das eingeleitete Promotionsverfahren schließt er am 2. Februar 1940 ab.

Während seiner Rekrutenzeit zunächst einer Infanterieeinheit zugeordnet, wird er bald zu einer Ausbildung als Sanitätsoffizier abkommandiert und dann an die Militärärztliche Akademie Berlin versetzt. Er kommt in die von dem Toxikologen Oberfeldarzt *Wolfgang Wirth* geleitete Forschungsabteilung, wird aber ans Heubnersche Institut abgestellt, um die Arbeiten über Blutgifte fortzusetzen.

Jung kommt in seiner wissenschaftlichen Arbeit gut voran. Tüchtig und ehrgeizig wie er ist, strebt er 1942, mit Zustimmung Heubners, die Habilitation an. Doch dagegen interveniert Dozent Druckrey, der in der SA die Funktion eines Standartenführers ausübt. In seinem Einspruch heißt es u.a.: *Jung ... besitzt weder politisch noch charakterlich die nötige Reife. ... Er hat Auffassungen ... die sehr stark die Einflüsse seiner Jesuitenerziehung und marxistisch liberalistische Einflüsterungen*

erkennen lassen“. Der Habil-Antrag wird storniert und Jung zu einer Sanitätskompanie an die Front in Nordfinnland abkommandiert.

Dort findet er – was aber nie und nimmer das Ziel der Intervention Druckreys war – in den langen Winternächten Zeit und Möglichkeit, seine in Berlin durchgeführten experimentellen Arbeiten theoretisch und literarisch zu durchdringen und zu einer Habilitationsschrift zusammen zu stellen. Diese reicht er der Fakultät ein. Bei einem Heimaturlaub hält er am 4. Juli 1944 die obligate Probevorlesung. Am 9. September 1944 wird er zum Dozenten ernannt, wobei ihm die Urkunde verspricht, dass „*er des besonderen Schutzes des Führers sicher sein darf*“.

Es scheint, als ob das Kriegsgeschehen um Jungs akademische Laufbahn einen großen Bogen machen würde. Aber die militärische Lage wird für Deutschland immer bedrohlicher. Zunächst kehrt Jung nach Finnland zurück, wird dann gegen Ende 1944 wieder nach Berlin versetzt. Zum Jahreswechsel 1944/45 erreicht ihn eine Abkommandierung zu einem Lehrgang an die Heeresgasschutzschule in das westpreußische Bromberg, von dem zu befürchten ist, bald in die Abwehrkämpfe gegen die Rote Armee einbezogen zu werden.

In dieser schicksalshaften Situation der völligen Ungewissheit über die Zukunft entscheiden sich Fritz Jung und die ihm langjährig vertraute Medizinisch-technische Assistentin Waltraut Schwarzkopff noch vor seiner Abreise nach Bromberg zu heiraten. Er, katholisch getauft und erzogen. Sie, Tochter eines evangelischen Pastors, des Güstrower Dompredigers Theodor Johannes Schwarzkopff. Weder Konfessionsschranken noch die sich abzeichnende Niederlage der Wehrmacht und der drohende Zusammenbruch Deutschlands hindern beide, am 3. Januar 1945 den Bund der Ehe zu schließen. Ein mutiges, ja trotziges Bekenntnis für eine innige Lebensgemeinschaft in einer existenziell dramatischen Lage. – Wie zu erwarten war, endet Jungs Aufenthalt in Bromberg mit dem Vormarsch der sowjetischen Truppen.

Das Ende des Krieges erlebt er im süddeutschen Allgäu an der Munitionsanstalt Urlaub in der Nähe der Stadt Leutkirch. Auf Veranlassung von Wolfgang Wirth, inzwischen zum Oberstabsarzt avanciert, war Jung wegen einzelner Vergiftungsfälle als beratender Pharmakologe dorthin delegiert worden. In dem Areal lagern riesige Mengen von Chemiewaffen, darunter Granaten mit dem hochtoxischen Nervengas Tabun. Sie sind für einen ultimativen Kriegseinsatz vorgesehen.

Als die Alliierten-Truppen der 1. Französischen Armee anrücken, widersetzt sich der Kommandant der Anstalt, Major Günter Zöllner, dem Befehl zur Sprengung des Objekts. In Abrede mit Jung beschließt er die kampflose Übergabe der Anlage. Jung übernimmt die Verantwortung und das Risiko, als Parlamentär Kontakt zu den Franzosen aufzunehmen. Seine Mission gelingt. Die Übergabe erfolgt am 25. April 1945, wenige Tage nach seinem 30. Geburtstag.

Nach der Kapitulation Deutschlands verbleibt er in Urlaub, die Franzosen beauftragen ihn mit der toxikologischen Überwachung der Munitionsbestände. Im Herbst 1945 wird er aus dem Unterstellungsverhältnis der 1. Französischen Armee entlassen. Ihm wird bescheinigt, dass er kein Kriegsgefangener ist und er an der Universität Tübingen tätig sein darf.

Am 24. September 1945 erhält Jung die Lehrermächtigung für die Universität Tübingen. Er beginnt als Dozent am Pharmakologischen Institut wieder mit ersten wissenschaftlichen Arbeiten und Vorlesungen abzuhalten.

Monate später folgt er einem Angebot, in Würzburg als kommissarischer Ordinarius des Pharmakologischen Instituts zu leiten. Am 1. Mai 1946 tritt er die Stelle an. Das Bayerische Staatsministerium bestätigt am 20. Mai die Berufung und erwartet zu gegebener Zeit von der Fakultät einen Dreivorschlag für die Besetzung des Ordinariats.

Ende 1948 – nach mehr als zweijähriger erfolgreicher Arbeit – schlägt die Fakultät Friedrich Jung *primo loco* für die Berufung als Ordinarius vor. Doch aus dem Hintergrund wird gegen ihn politisch intrigiert. So entscheidet das Bayerische Ministerium im Frühjahr 1949, den Lehrstuhl mit einem *secundo loco* genannten Kandidaten – übrigens einem ehemaligen NSDAP-Mitglied – zu besetzen und ernennt Jung zum Privatdozenten. Die Fakultät ist desavouiert, der parteilose Jung bitter enttäuscht.

Das Jahr 1949 wird nicht nur zu einem Schicksalsjahr für das besetzte und politisch geteilte Deutschland, sondern auch für Jung. Nach den Würzburger Vorgängen strebt er nach Berlin, zumal die Kontakte zu seinem früheren Chef, Wolfgang Heubner, nie abgerissen waren.

Allerdings hatten sich in der Viersektoren-Stadt Berlin nicht nur einschneidende politische Veränderungen vollzogen, sondern es kam auch zu gravierenden Auswirkungen auf die Universität. In besonderer Weise betroffen war davon das im sowjetischen Sektor liegende Pharmakolo-

gische Institut in der Dorotheenstraße 28. Das Gebäude war noch in den letzten Kriegstagen bombardiert worden und fast völlig ausgebrannt.

Hans Herken, vormaliger Dozent am Institut, gelingt es, im Mai 1945 erstmals das zerstörte Institut von außen zu besichtigen. Nach einer späteren, genaueren Inspektion informiert er am 19. Juni 1945 das Dekanat von der Unmöglichkeit, Unterricht und wissenschaftliche Arbeit in der Ruine durchführen zu können. Der Dekan genehmigt den Vorschlag, das Institut vorübergehend in einem Gebäude der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft in der Dahlemer Garystraße 9 im amerikanischen Sektor unterzubringen.

Herken veranlasst daraufhin einige in den Kellerräumen gesicherte, z.T. noch funktionsfähige, Geräte und Apparaturen, sowie Labormaterialien und Bücher aus der Ruine nach Dahlem zu verbringen. Dort wird wieder mit Laborarbeit begonnen. Die Vorlesungen werden dagegen im Osten in Hörsälen der Charité-Kliniken abgehalten. Dies ist zwar keine optimale, doch eine brauchbare Lösung. Da Institutsdirektor Heubner sich zu dieser Zeit in Westdeutschland aufhält, fungiert Herken bis zu dessen Rückkehr nach Berlin am 14. Januar 1946 als amtierender Chef.

Nach Gründung der Freien Universität in Westberlin am 4. Dezember 1948 tritt eine neue Situation ein. Sie kulminiert, als das Pharmakologische Institut der Berliner Universität durch Verfügungen der Amerikanischen Militärregierung vom 25. April 1949 und des westberliner Magistrats vom 6. Mai 1949 der Freien Universität zugeordnet wird. Hinzugekommen war, dass bereits vorher, im November 1948, Wolfgang Heubner um seine Emeritierung ersucht hatte, die dann auch fristgerecht zum 31. März 1949 erfolgte.

Nach diesen Maßnahmen sieht sich die Universität, die ab 8. Februar 1949 den Namen der Gebrüder *Humboldt* trägt, gezwungen, das Pharmakologische Institut neu zu konstituieren und den zugehörigen Lehrstuhl schnellstmöglich zu besetzen. Zugleich entscheidet sie sich für die Beibehaltung des Standortes Dorotheenstraße 28 und somit für den beschleunigten Wiederaufbau des zerstörten Institutsgebäudes.

Ich darf hier kurz einfügen: Bei ihrer Wiedereröffnung nach dem Krieg am 29. Januar 1946 hatte die Berliner Friedrich-Wilhelm-Universität den Namen ihres Patrons abgelegt und bezeichnete sich als „Universität Berlin“. Nach einer wechselhaften Debatte gab sie sich am 8. Februar 1949 in Würdigung der Verdienste der Gebrüder Wil-

helm und Alexander von Humboldt den Namen „Berliner Humboldt-Universität“.

Als Kandidaten für die Besetzung des Lehrstuhls werden *Peter Holtz* aus Rostock sowie *Friedrich Jung* aus Würzburg in Aussicht genommen. Hierbei kommt Jung entgegen, dass er zugleich Anfragen aus der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin erhält, worin es um den Aufbau einer pharmakologischen Abteilung an ihrem Institut für Medizin und Biologie in Berlin-Buch geht.

Die Verhandlungen mit beiden Institutionen und der Deutschen Verwaltung für Volksbildung in der sowjetischen Besatzungszone ziehen sich hin, nicht zuletzt durch das sich überschlagende politische Geschehen im Jahr 1949. Die Auseinandersetzungen zwischen den Siegermächten des Zweiten Weltkrieges um die politische Neuordnung in Europa spitzen sich zu. Im Zentrum stehen dabei die Situation in Deutschland und der Status Berlins. Schließlich wird am 23. Mai mit dem Inkrafttreten des „Grundgesetzes der Bundesrepublik Deutschland“ und der am 7. Oktober erfolgenden Konstituierung der „Deutschen Demokratischen Republik“ die politische und staatliche Teilung des Landes definitiv besiegelt.

Um es kurz zu machen: Im Ergebnis der Verhandlungen und Absprachen wird Jung sowohl als Professor mit Lehrstuhl für Pharmakologie und Direktor des Pharmakologischen Instituts der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität berufen sowie zum Leiter der Abteilung für Pharmakologie und experimentelle Pathologie am Akademie-Institut für Medizin und Biologie ernannt. Beide Dienstverhältnisse tritt er am 1. Dezember 1949 an.

Wie nicht anders zu erwarten war, projizieren sich die politischen Spannungen auch auf das Verhältnis zwischen beiden Berliner pharmakologischen Instituten. Jungs alte Kollegen und Freunde aus dem Heubnerschen Institut hatten ihm abgeraten nach Ostberlin zu gehen. Nachdem er aber nun doch den Lehrstuhl seines früheren Chefs in Ostberlin übernimmt, brechen die Verbindungen zwischen ihnen ab. Der Kalte Krieg scheidet selbst enge Freunde, und es nimmt nicht Wunder, dass es in der Folge auch keinerlei wissenschaftliche Kontakte zwischen beiden Instituten gibt.

Mit seinem Dienstantritt stehen vor Fritz Jung schwierigste Aufgaben: Ohne ein funktionierendes Institut mit einem Mitarbeiterstamm

muss er an der Universität den akademischen Unterricht im Fach Pharmakologie gewährleisten, muss er für den Aufbau des notwendigen Personalbestandes, für die Schaffung der technischen Voraussetzungen für den Lehr- und späteren Forschungsbetrieb im Institut sorgen. Hinzu kommt sein ständiges Drängen und Insistieren, den Wiederaufbau des zerstörten Gebäudes voranzutreiben. So gut es geht, erhält er durch die Regierungsorgane und Universität Unterstützung.

Aber das nicht genug, denn in Berlin-Buch erwarten ihn am Akademieinstitut beim Aufbau einer pharmakologischen Abteilung analoge Probleme. Allerdings sind dort die räumlichen Verhältnisse günstiger. Durch den Weggang von *Helmut Ruska*, einem Spezialisten für elektronenmikroskopische Untersuchungen biologischer mikromorphologischer Objekte, insbesondere Viren, waren dessen Laboratorien frei geworden. So kann Jung neben den Räumen auch dessen Siemens-Elektronenmikroskop und andere Geräte übernehmen und für eigene Untersuchungen – z. B. an Erythrozytenmembranen – nutzen.

Die Entwicklung beider Einrichtungen – speziell des Universitätsinstituts – zieht sich über Jahre hin. 1950 sind dort 9 Mitarbeiter eingestellt, darunter 3 wissenschaftliche Assistenten. Ich selbst finde mich im Institutsbuch im Oktober 1951 als Nr.15 verzeichnet. Während die personelle Aufstockung vorankommt, bleiben die räumlichen Verhältnisse kritisch. Vieles wird improvisiert. So wird für längere Zeit die Hauptvorlesung im Speise- und Versammlungssaal eines Gebäudes der Berliner Verkehrsbetriebe abgehalten, und Laboratorien für die Forschung stehen nur im Bucher Akademieinstitut zur Verfügung. Je weiter der Wiederaufbau des Institutsgebäudes im Stadtzentrum fortschreitet, umso mehr werden hier auch Räume für Seminare und die Forschung genutzt. 1955 kann der neue Hörsaal seiner Bestimmung übergeben werden.

Die Qualifizierung des wissenschaftlichen Nachwuchses geht voran, was sich bald in Publikationen und einer Reihe von Promotionen dokumentiert. 1956 erfolgt die erste Habilitation eines Mitarbeiters. Weitere folgen. Jung und seine Assistenten sind zunehmend in den pharmakologischen Fachorganen und verwandten Zeitschriften präsent, tragen über ihre Arbeiten auf nationalen und internationalen Kongressen vor, und das Institut nimmt am internationalen Wissenschaftlertausch teil.

Bereits ein gutes Jahrzehnt nach dem Neubeginn 1949 erweist sich das pharmakologische Universitätsinstitut dem Ansehen seiner Vorgän-

ger als ebenbürtig und würdig. Friedrich Jung hat zu diesem Zeitpunkt seine Berufung auf diesen traditionsreichen Lehrstuhl schon vollauf gerechtfertigt.

Wie sein weiterer Werdegang zeigen sollte, hatte er damit ein wissenschaftliches Fundament geschaffen, auf dem er weiter aufbauen konnte. Vor allem aber erreichte er in der ärztlichen Ausbildung, im Gesundheitswesen wie in der Gesundheitspolitik für die Pharmakologie eine markante Position als wissenschaftliches Grundlagengebiet der Medizin, speziell der Arzneitherapie, und nicht zuletzt auch für die wissenschaftliche Orientierung der Arzneimittelpolitik der DDR, einschließlich der Profilierung der Arzneimittelindustrie. – Darüber werden Sie in weiteren Vorträgen hören.

Meinen Beitrag darf ich nicht schließen, ohne noch einige Worte zu Jungs damaligem Wirken in Berlin-Buch zu sagen. Aus eigenem Erleben weiß ich: Die „Neugeburt“ des Universitätsinstituts, in einer so relativ kurzen Zeit, war nur dank der Einbindung Friedrich Jungs in das Bucher Akademieinstitut für Medizin und Biologie möglich. Nur dort gab es über Jahre die notwendigen Laboratorien und Ausrüstungen, die ihm selbst sowie uns Assistenten und den technischen Mitarbeitern experimentelles Arbeiten ermöglichten, was im zerstörten Universitätsinstitut ja nicht möglich war. Nur so konnten wir uns wissenschaftlich qualifizieren.

Dort trafen wir auch auf eine lebendige wissenschaftliche Atmosphäre mit einem Kreis ausgezeichneter Wissenschaftler, zu denen u.a. die Biochemiker Karl Lohmann und Erwin Negelein, der medizinische Physiker Walter Friedrich, der Krebsforscher Arnold Graffi, der Chemiker Otto Neunhoffer, der Physiker Friedrich Möglich sowie die Kliniker Hans Gummel und Rudolf Baumann gehörten, ein Kreis, den Fritz Jung fachlich und intellektuell zu bereichern wusste.

Von großem Wert waren die regelmäßig durchgeführten wissenschaftlichen „Bucher Kolloquien“, in denen über die Forschung der einzelnen Abteilungen vorgetragen sowie lebhaft und kritisch diskutiert wurde und in denen wir Adepten der Wissenschaft zu bestehen hatten. Wie profitierten wir dabei von dem Wissen und Erfahrungen unserer „Koryphäen“, vom Blick in die benachbarten Arbeitsgebiete, vom methodischen Wissen und technischen know how der anderen Kollegen! Nicht zuletzt schärfte sich das selbstkritische Urteilsvermögen.

Der systematische Ausbau der pharmakologischen Abteilung führte in der Folge über einige Zwischenstationen, wie dem Zentralinstitut für Molekularbiologie, zur Bildung eines selbstständigen Akademie-Instituts für Wirkstoff-Forschung, das eng mit der Arzneimittellindustrie kooperierte. – Hierüber wird Kollege Oehme vortragen.

Was wären all diese Entwicklungen der beiden Institute ohne den Geist, der in ihnen herrschte, und der von Jung ausging, ohne die schöpferische, ja auch mitunter spielerische Freiheit, die er uns ließ, ohne die wissenschaftliche Strenge und Disziplin, die er zugleich verlangte. Fritz Jung – ein wahrhaftiger *spiritus rector*. In der Forschung tolerierte er durchaus begründete Abwege oder experimentellen Misserfolg, nicht aber thematische Blindheit und konzeptionelle Trägheit. Es zählte die Leistung, der Erfolg. Schnell trennten sich Spreu und Weizen. Gerade dieses fordernde und inspirierende Klima war auch entscheidend dafür, dass es innerhalb des pharmakologischen Nachwuchses zur Herausbildung einer „Jung-Schule“ kam.

Ich schließe ab. In Dankbarkeit denke ich an Fritz Jung, an die Jahre der wissenschaftlichen Arbeit unter und dann mit ihm, an die Jahre, in denen das Lehrer-Schüler-Verhältnis zu vertrauter Kollegialität wurde und schließlich in Freundschaft mündete. Hierzu trug auch seine unvergessene Frau Waltraud bei, die als versierte medizinisch-technische Assistentin längere Zeit in meiner Arbeitsgruppe tätig war. – Fritz Jung bleibt mir immer lebendig.

Literaturhinweise:

Scheler Werner und Oehme Peter: Zwischen Arznei und Gesellschaft. Zum Leben und Wirken des Friedrich Jung. – Berlin: trafo Verlag, 2002. (Abhandlungen der Leibniz-Sozietät; Bd.8)

Herken Hans: Die Berliner Pharmakologie in der Nachkriegszeit. Erinnerungen an ein Stück bewegter Universitätsgeschichte der Jahre 1945–1960. Spriger-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999

Scheler Werner: Privatarchiv

Horst Klinkmann

Jung's Wirken für die medizinische Wissenschaft und die wissenschaftliche Arzneimitteltherapie

Als im Mai 2013 wieder einmal ein gewaltiges Rauschen durch den bunten Blätterwald dieser Republik ging, über die gesetzlichen und moralischen Verfehlungen im ehemals 2. Deutschen Staat, diesmal über „kriminelle“ Arzneimitteltestung in der DDR, tauchten sprunghaft vor meinem Auge die vielen Diskussionen im Rat für medizinische Wissenschaften zur Arzneimittelsicherheit in der DDR auf, die alle geprägt waren von einer Person mit unbestechlicher, moralischer Integrität und Wissenschaftlichkeit – Friedrich Jung, von uns allen nur liebevoll Fritz genannt.

Im Gefolge der sich in den 60iger Jahren neu formierenden Wissenschaftsstrategie wurden damals auch die Anforderungen an die medizinischen Wissenschaften größer und erforderten eine neue Strukturierung der Forschungslandschaft. Im Gegensatz zu anderen Wissenschaftsbereichen war die Medizin in ihrer Struktur weiter gefächert und bunter und hatte damit andere Leitungsebenen.

Neben den Universitäten und ihren medizinischen Fakultäten, die dem Ministerium für Hochschulwesen unterstanden, und den dem Minister für Gesundheitswesen zugeordneten Zentralinstituten (z.B. Zentralinstitut für Diabetes Karlsburg) gab es die dem Akademie-Präsidenten unterstellten Einrichtungen der Akademie der Wissenschaften der DDR, deren klinische Bereiche sich vorwiegend der Herz-Kreislauf-Forschung und der Onkologie widmeten, deren Forschungsschwerpunkt aber vor allem im Bereich der grundlagenorientierten Zentralinstitute lag.

Mit Überführung des Rates für Planung & Koordinierung der Medizinischen Wissenschaft 1969 in den Rat für Medizinische Wissenschaften (RMW) verfolgte man die Absicht, die als strukturelles Defizit angesehene Dreiteilung in einer übergeordneten Institution zusammenzuführen.

Es war für mich als neuberufener Präsident – aus der Provinz stammend – ein unvergessliches Erlebnis und Stütze, als der 20 Jahre Ältere, von einer wissenschaftlichen Aura umgebene, aber auch wegen seiner konsequenten Beharrlichkeit zu diskussionswürdigen Problemen durchaus gefürchtete Professor Jung mir sofort anbot, mir als Vizepräsident für die Grundlagewissenschaften zur Seite zu stehen.

Vielleicht war es seine niemals verheimlichte Abneigung als Schwabe gegen das Preußentum, die es ihm ermöglichte, einem Mecklenburger, der aus einem Land kam, das sich auch in seiner gesamten Geschichte nicht von Preußen hat einfangen lassen, Vertrauen und menschliche Zuwendung zu gewähren.

Die uns im Rat der medizinischen Wissenschaften vorgegebene Zielsetzung, wissenschaftliche Projekte zu bearbeiten, die wirtschaftlich nutzbar waren, stießen durchaus bei der Neuformierung der Hauptforschungsrichtungen und Forschungsprojekte nicht immer auf breite Zustimmung, und die Kluft zwischen erreichten Ergebnissen und ihrer Verwertung durch die relevante Industrie war bis zum Ende 1990 das schmerzhafteste Defizit, nahm es doch mancher originären wissenschaftlichen Leistung ihre Anerkennung, ein Umstand, der dadurch noch gravierender wurde, dass international patentfähige Ergebnisse sich auf Grund des chronischen Devisenmangels nur in letztlich wertlosen internen Wirtschaftspatenten wiederfanden.

Fritz Jung war auch auf diesem Gebiet ein weitsichtiger und „kampf-erprobter“ Pionier, dessen Erfahrungen in dieser so freudlosen Auseinandersetzung zwischen Möglichem und Genutztem in oft endlosen Umsetzungsdiskussionen im Rat manche Hoffnung am Leben erhielt.

Weitsichtig hatte er bereits 1965 ein Beispiel für angewandte Forschung geschaffen durch den Abschluss eines Kooperationsvertrages zwischen seinem Institut und dem VEB Berlin Chemie. Der daraus hervorgegangene Akademie-Industrie-Komplex unter Einschluss des von seinem Schüler Peter Oehme geleiteten Instituts für Wirkstoffforschung und des Instituts für Pharmakologische Forschung der pharmazeutischen Industrie, ebenfalls unter Leitung eines Jung-Schülers, Erhard Göres, war strukturell auch international ein Pionierbeispiel für die Verknüpfung zwischen Wissenschaft und Wirtschaft. (1)

Unvergesslich sind sicherlich nicht nur mir die Debatten im Rat mit den Kombinati-Leitungen über die Nutzung der erbrachten Forschungs-

ergebnisse. Unvergesslich bleiben auch die Plädoyers von Fritz Jung in diesen Debatten, seine unbestechlichen Argumente zu den Werten der Nutzung und seine oft resignierte Erschöpfung ob des unbefriedigenden Ergebnisses.

Sein spezifischer, von wissenschaftlichen Begriffen dominierter und aus der Erregung heraus manchmal sprunghafter Argumentationsstil war intellektuell sehr anspruchsvoll und für die Adressaten oft schwer nachvollziehbar, was dann häufig zu Wendungen in den Debatten führte, die nicht immer zielführend waren. Manche Ratsmitglieder fühlten sich veranlasst, als dolmetschende Mittler aufzutreten, was dann wiederum zu Interpretations-Debatten führte über die Meinungshoheit. Ich bin gewiss, wenn wir Aufzeichnungen dieser Debatten hätten, sie wären heute noch Lehrbeispiele für manche Seminare über Gesprächsführung und -Kultur.

Der schmerzhafteste Verlust, den ein Wissenschaftler empfindet, wenn seine originären Erkenntnisse verschwinden oder zum Verschwinden gebracht werden, wie es leider viel zu häufig in der DDR auf Grund der Insuffizienz der Wirtschaft und des paranoiden Geheimhaltungswahns der Behörden war, hat Fritz Jung zutiefst mitempfunden und wie viele andere im Rat dagegen – leider meist ergebnislos – opponiert, weil klar ersichtlich war, dass intellektuelle Kreativität und Originalität durch ihre Enttäuschung in Resignation umschlug.

Ich zitiere: „Ernsthafte Beschränkung wurde uns stets durch die wirtschaftliche Situation und die Orientierung der Chemie auf Massenproduktion statt auf intelligenzintensive Produktion auferlegt.“ (1)

In der nicht kleinen Liste dieser nicht umgesetzten Wissenschaftsergebnisse auch von Fritz Jung steht ganz am Anfang eine teilweise selbstverschuldete Tatsache, die sicherlich auch später die differenzierte Haltung von Fritz Jung gegenüber diesem Problemkreis mit erklärt. Anfang der 50er Jahre hatte Jung bei einem zur Behandlung der damals verbreiteten Gonorrhoe angewandten und mit tödlichen Komplikationen einhergehenden Sulfonamid-Präparat in Tierversuchen eine starke Senkung des Blutzuckerspiegels festgestellt und kam damit wohl mit als Erster der Brauchbarkeit der Sulfonylharnstoffe in der Diabetestherapie auf die Spur, verfolgte dies aber nicht weiter.

Ein Beispiel für die menschliche Seite großer Wissenschaftler sei mir erlaubt: In den vielen Jahren der Zusammenarbeit im Rat wurde

eine Debatte fast institutionalisiert und legendär: Charakterlich auf den ersten Blick unterschiedlich, intellektuell herausragend, Alpha-Persönlichkeiten unterschiedlicher Expression, waren die Debatten zwischen Fritz Jung und S.M. Rapoport Wortgefechte höchster Qualität, die auch dann geführt wurden, wenn grundsätzlicher Konsens vorhanden war. Man konnte Wetten abschließen, und manche haben es wohl auch getan, wenn einer der beiden ein Problem kommentierte, meldete sich auch der andere. Höhepunkte waren die Diskussionen über und um die Erythrozyten, die mich manchmal aus reinen Zeitgründen zwangen, einzugreifen, womit ich mir dann sofort den geinteten Unmut beider zuzog.

So kompromisslos Fritz Jung in seiner Wissenschaftlichkeit war, in den eigenen Forschungen und auch mit seinen Assistenten, so teilweise für den, der ihn nicht näher kannte, überraschend war seine Toleranz und die Bereitschaft zum Konsens mit der klinischen Medizin. Lassen Sie mich das am Beispiel, seiner Position zur Akupunktur erläutern: Die politisch engeren Kontakte der DDR zur chinesischen Volksrepublik beförderten nicht nur die Kenntnis über die Traditionelle Chinesische Medizin (TCM), sondern fanden auch zunehmend eine interessierte Ärzteschaft und eine fordernde Patientenkielentel in den 80iger Jahren.

Diese breiten Diskussionen und das große Interesse hatten mich veranlasst (auch, das muss ich gestehen, durch die wie immer sanfte, aber dringliche Fürsprache meiner Frau als Orthopädin), einen Tabubruch zu begehen und gegen die verantwortlich von O. Prokop 1980 verfasste Erklärung der Klasse der Medizin der AdW zur Unwirksamkeit der Akupunktur auf dem von mir mit zu verantwortenden zentralen Kongress der Internisten in Leipzig, eine Plattform für die Diskussion alternativer Heilmethoden, u.a. Akupunktur, zur Verfügung zu stellen. Die Aufregung innerhalb der „reinen“ Wissenschaft und auch bei den sogenannten staatlichen Stellen muss ich Ihnen nicht schildern. Es war letztlich Fritz Jung, inzwischen Vorsitzender des Ältestenrates des RMW, der mit dafür sorgte, dass – man würde heute sagen – Sanktionen ausbleiben, sondern Minister Mecklinger den Rat um eine Stellungnahme bat. Es zeugt von der großen Neugier des Forschers Fritz Jung, aber auch von der Bereitschaft, ärztliches Handeln, das Patienten hilft, zu akzeptieren, dass er sich federführend dieser Aufgabe annahm, im Wissen um ihre Widersprüchlichkeit und in Kenntnis als Mitunterzeichner

der ja zur damaligen Zeit dogmatische Wirkung habenden Stellungnahme der Klasse Medizin der Akademie der Wissenschaften.

Wie immer, versucht Jung sich dieser diffizilen Problematik zuerst von der wissenschaftlichen Seite zu nähern, indem er die möglichen physiologischen und biochemischen Mechanismen einer Analyse unterzieht, ohne dabei wirklich verwertbare Ergebnisse zu finden.

Als Pharmakologe war ihm aber nicht nur der unleugbare Effekt des Placebo bekannt, sondern auch die therapeutisch moralische Maxime vieler Ärzte: „Wer heilt, hat Recht!“ Mögliche physiologische oder biochemische Wirkungseffekte des Placebo haben ihn in seinem Drang nach wissenschaftlicher Erkenntnis immer interessiert, ohne dass es zu einer ihn befriedigenden Erkenntnis kam. Das schlägt sich dann nieder in der von ihm 1989 wesentlich mit formulierten und verantworteten Empfehlung zur Problematik „Reflextherapie und Akupunktur“ mit der Kernaussage: Reflextherapeutische Methoden und in ihrem Rahmen auch die Akupunktur können in der Hand eines erfahrenen Arztes eine Ergänzung der konventionellen Therapie, vor allem der Pharmako- und Physiotherapie darstellen. (2)

Ein weiteres, den Humanisten Fritz Jung und seine Toleranzbereitschaft illustrierendes Beispiel war sein Verhältnis zu Manfred von Ardenne. Der unbestreitbar geniale Autodidakt Manfred von Ardenne – über 600 Patente und Erfindungen zeugen davon –, der bekanntlich niemals eine Ausbildung mit einem staatlichen Examen abgeschlossen hat, und dessen große Leistungen in der Technik und Atomwissenschaft niemals international die gebührende Anerkennung gefunden haben, aufgrund seiner politischen Vita hatte sich im höheren Alter nach seiner Rückkehr aus der Sowjetunion der Medizin zugewandt. Er verstand es politisch sehr geschickt, die sich herausbildenden geriatrischen Strukturen und Bedürfnisse der DDR-Führung für sich zu instrumentalisieren. Die von ihm proklamierte und durch einfachste physiologische Kenntnisse zu widerlegende Sauerstoff-Mehrschritt-Therapie, bekannt als „Vitalitätsmittel“ (heute würde man sagen Anti Aging), erreichte fast Kultstatus als wissenschaftliche Spitzenleistung in der Politbürokratie und entwickelte sich zu einem Devisenbringer in den Interhotels. Sicherlich kann man der Umwandlung von DDR-Luft in dringend benötigte Devisen nicht eine gewisse Originalität absprechen, aber für den RMW blieben die medizinischen Wunderleistungen vom

Weißen Hirsch eine ständige Herausforderung und brachten für mich persönlich durch die direkte Konfrontation manch Problem.

Noch schwieriger wurde die Situation, als Manfred von Ardenne sich der Behandlung onkologischer Erkrankungen zuwendete mit der Ganzkörper-Hyperthermie in der Ardenneschen Badewanne. Der Protest führender Onkologen – vor allem aus dem Bereich der Akademie der Wissenschaften – war nicht nur wissenschaftlich begründet, sondern hatte auch eine große ethisch-moralische Komponente im Hinblick auf die Patienten.

Der politische Druck auf das Gesundheitsministerium auf Grund der persönlichen Einflussnahme von Manfred von Ardenne auf die Führung der DDR zwang zu teilweise bizarrer Diplomatie, von der auch der Rat für Medizinische Wissenschaften nicht verschont blieb, und die ungeklärt blieb bis zum Ende der DDR.

Nach der auch damals gültigen Volksweisheit: „... und wenn Du nicht mehr weiter weißt, dann bilde einen Arbeitskreis“, wurde dann auch ein solcher Ausschuss beim Rat gegründet, der lenkend und kontrollierend die therapeutischen Forschungen Ardennes begleiten soll. Die Geschichte dieses Ausschusses von seiner Konstituierung, den Schwierigkeiten, Experten zur Mitarbeit zu gewinnen, frustrierenden Diskussionen zur Sache und zur Finanzierung blieb letztlich nur Resignation. Also musste der Minister sich wieder seiner Geheimwaffe Fritz Jung bedienen und dessen vertrauensvollen Verhältnisses zu Manfred von Ardenne. Hier ist sie wieder, die wissenschaftliche Unbestechlichkeit und die menschliche Konzilianz im Charakter von Fritz Jung!

Was von den meisten Ratsmitgliedern für unmöglich gehalten wurde, gelingt dank der Diplomatie von Fritz Jung. Es kommt zu einer Vorstellung und Diskussion seiner Methoden durch Manfred von Ardenne im Rat und damit zu einer gewissen Versachlichung der Diskussion, ohne dass sich jedoch die gegenteiligen Standpunkte annähern, und so bleibt es bis zum Ende der DDR.

Fritz Jung bleibt auch danach im Kontakt mit Manfred von Ardenne, der bis zu seinem Tode 1997 seine freundschaftliche Haltung und Dankbarkeit zu Fritz Jung bewahrt, und noch 89jährig 1996 an Fritz Jung schreibt: „In den vergangenen DDR Jahrzehnten hatten für mich die Begegnungen mit Ihnen stets nur Stunden der Freude ausgelöst. Das möchte ich Ihnen heute mit großer Herzlichkeit sagen.“

ZGA: (Arzneimitteltestung)

Lassen Sie mich zurückkommen auf die am Anfang erwähnte Diskussion zur Arzneimittelsicherheit.

Für die Wahrnehmung der weitgefächerten Aufgaben des RMW war es von großer Bedeutung, Querverbindungen zu bestimmenden Institutionen im Geflecht der Leitung der Medizinischen und anderen Wissenschaften herzustellen.

Bereits 1950 hatte das Gesundheitsministerium zur Sicherung und Qualitätskontrolle den Zentralen Gutachterausschuss für den Arzneimittelverkehr (ZGA) gebildet. Fritz Jung war von Anfang an Mitglied und dann für 40 Jahre sein Vorsitzender.

Zurückkommend auf den eingangs erwähnten Medienhype 2014 zur Arzneimitteltestung in der DDR wäre es ratsam gewesen für den Skandaljournalismus unserer Tage, sich über die Grundsätze der Arbeit des ZGA und seines Vorsitzenden zu informieren. Dann wäre ihnen bewusst geworden, dass die kompromisslose wissenschaftliche Orientierung des ZGA Garant dafür war, dass nur Arzneimittel registriert wurden, die sicher und wirksam waren. Ein historisch zu nennendes Beispiel ist die Verhinderung der Contergan-Missbildungen.

Erlauben Sie mir hier eine mehr aktuelle Einlassung auch als Hommage an Fritz Jung und seine Tätigkeit über den anfangs erwähnten „DDR Arzneimittelskandal“. Der sicherlich im Hinblick auf DDR Nostalgie höchst unverdächtige österreichische Dekan der Rostocker Universitätsmedizin Professor Emil C. Reisinger und seine Co-Autoren haben in der Zeitschrift „Ärztliche Praxis“, München, Heft 46 Deutsches Ärzteblatt vom November 2014 einen Artikel zur Klinischen Prüfung von Arzneimitteln in der DDR & BRD veröffentlicht, der allen Informationsbedürftigen, vor allem aber Informationswilligen eine ausschließlich faktenbasierte Übersicht über die unterschiedlichen Rechtsrahmen zur Verfügung stellt, ausgehend von der Deklaration von Helsinki 1964 und ihrer in Tokio 1975 verabschiedeten Fassung (3).

Darin wird betont, dass sich die DDR bereits Ende der 70iger Jahre aktiv an den Beratungen des „Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS)“ beteiligte, die entscheidend waren für die von der CIOMS gegebenen anwendungsorientierten Empfehlungen der ethischen Prinzipien der Helsinki Deklaration.

Beeinflusst auch dadurch, wurde zu Beginn der 80iger Jahre im Rat für Medizinische Wissenschaften eine Arbeitsgruppe „Ethik in der Medizinischen Forschung“ gebildet unter dem Vorsitz von Stephan Tanneberger, die heute allgemein medizinisch-historisch als erste zentrale deutsche Ethikkommission anerkannt wird. (3) Ausgehend von den Arbeitsgrundlagen dieser zentralen Ethikkommission, die auf der in Tokio beschlossenen Neufassung der Helsinki Deklaration beruhten, wurde die Einrichtung von landesweiten, dezentralen Ethikkommissionen befördert. Ausführliches dazu findet sich in den Publikationen von Stephan Tanneberger, 1986 & 1988.

Es geht mir – 25 Jahre nach der deutschen Wiedervereinigung – nicht um gegenseitige Aufrechnungen, Delegitimierung oder moralische Schuldzuweisung. Damit sollte endgültig Schluss sein, es geht mir aber um die Wahrung historischer Objektivität durch die wenigen noch lebenden Zeitzeugen, die schulden wir auch dem Lebenswerk von Fritz Jung.

Prognose:

Planung und Prognose waren ein bestimmendes Element der damaligen Gesellschaftsordnung und damit auch im staatlichen Umfeld des wissenschaftlichen Wirkens von Fritz Jung, dazu gehörte auch die Prognose über die Entwicklung der Medizin und des Gesundheitswesens.

Bereits Ende der 60iger Jahre stellt sich Fritz Jung mit einer sehr heterogen zusammengesetzten Gruppe dieser Aufgabe.

Die Erarbeitung einer solchen belastbaren Prognose war ob der Vielschichtigkeit der betroffenen Problemkreise von der Entwicklung der Medizinischen Wissenschaft über die Betreuungsorganisation, den demographischen Wandel bis zur Frage der Aus- und Weiterbildung, das Kur- und Erholungswesen und die Gesundheitserziehung eine wirkliche Mammutaufgabe.

Es gelang, ein auch noch aus heutiger Sicht in einer unterschiedlichen Gesellschaftsordnung hochinteressantes, wissenschaftsbasiertes Papier zusammenzustellen, das bereits Anfang der 70iger Jahre Ursache für eine große Anzahl sozialpolitischer Maßnahmen der Regierung war.

Anfang der 80iger Jahre zieht man eine positive Bilanz dieser Prognose und beschließt eine Fortführung in Form einer erneuten Medizinprognose.

Wieder wird Fritz Jung gebeten, die Prognosegruppe zu leiten und wieder willigt er ein.

Ich erinnere mich vieler Gespräche zu dieser Aufgabe, in der verstärkt die Medizinische Wissenschaft in ihrer strukturellen Neuordnung in Hauptforschungsrichtungen und Forschungsprojekten eine zentrale Rolle spielte, vor allem in dem immer deutlicher werdenden Spagat zwischen Forschungsergebnissen und ihrer fehlenden praktischen Umsetzung und Nutzung.

Deutliche Worte fand er auch für solche Pseudospitzenleistungen, die aus vordergründig politischer Motivation promoviert wurden. Ich zitiere: „Auf dem Gebiet herumzuspielen, dann die Klonierung irgend eines Proteingens im Coli als Spitzenleistung herauszustellen, bringt uns nicht weiter.“ (1)

Seine zusammenfassende Prognose von vor nunmehr fast 35 Jahren hat sich bewahrheitet: Zitat: „Die gegenwärtigen internationalen Entwicklungen lassen meines Erachtens erkennen, dass medizinische Wissenschaft und Gesundheitsschutz im letzten Jahrzehnt unseres Jahrtausends ihre materielle Basis in großem Umfang über die moderne Biotechnologie sichern werden und zudem in ihrem Leistungsvermögen erheblich gefördert werden.“

Auch wenn es den diesem Thema vorgegebenen Rahmen sprengt, möchte ich einige wenige, sicherlich unvollkommene, weil persönliche Worte zu Fritz Jung's Haltung zur Abwicklung der Akademie der Wissenschaften der DDR sagen. Für ihn war die Akademie nicht nur Arbeitsplatz, sondern auch Kreativschmiede und Ort wissenschaftlicher Auseinandersetzung, dies hat er in den Klassen- und Plenarsitzungen genutzt und auch genossen. Immer fühlte er sich mitverantwortlich für die Erhaltung eines hohen wissenschaftlichen Niveaus, oft kollidierend mit seiner humanistisch geprägten Konzilianz. So war es letztlich unausweichlich, dass er sich aktiv einbrachte in die Zeit des Umbruchs 1990–1992 und ihrer Auswirkungen sowohl für die betroffenen Institutionen als auch Personen. Sein Brief an den damaligen Senator für Wissenschaft in Berlin aus Anlass der durch ihn vorgenommenen ungesetzlichen Abberufung der Akademiemitglieder wird immer ein his-

torisches Dokument dieser Zeit und ihrer Willkürakte bleiben. Dass er sich dann sofort einbrachte, als durch ihre Mitglieder und Unterstützer über den politisch nicht gewollten Fortbestand von Deutschlands ältester Gelehrten-gesellschaft nachgedacht wurde, war eine logische Konsequenz.

Am 29.9.92 nahm er im Rahmen einer 4-köpfigen Initiativgruppe, der neben ihm die Akademiemitglieder Alexander, Bernhardt und Eichhorn angehörten, die Arbeit auf, die dann erfolgreich in der Gründung unserer Leibniz-Sozietät mündete. Ich durfte ihm aus meinem damaligen“ Exil „in Japan meine Stimme übertragen, ihm, der sich unvergesslich auch meiner Familie eingebrannt hat. Nur wenige Tage nach dem Tod seiner so geliebten Wegbegleiterin galt seine Sorge und Fürsorge unverändert uns anderen Betroffenen, dokumentiert in einem sehr bewegenden Brief an meine Frau zu seinem Leitartikel zum McCarthyismus in Rostock (4), der damals bundesweit große Aufmerksamkeit erregte. Das war Fritz Jung, der unbestechliche Wissenschaftler und der große Humanist voll menschlicher Wärme und Träume.

Fußnote: Mein besonderer Dank gilt Professor Peter Oehme, MLS, für seine persönlichen Informationen, und zusammen mit Professor Werner Scheler, MLS, für die Quellenbereitstellung aus ihrer Monographie „Zwischen Arznei und Gesellschaft – Zum Leben und Wirken des Friedrich Jung“.

Literatur

- (1) Zwischen Arznei und Gesellschaft – Abhandlungen der Leibniz Sozietät, Bd. 8, 2002, trafo Verlag
- (2) Med. aktuell 16 (1990) Heft 3
- (3) Dtsch. Ärzteblatt, Jg. 111, Heft 46, 2014
- (4) Arztl. Praxis, Nr. 84, S. 5, 1992

Peter Oehme

Das Wirken von Friedrich Jung in der Berliner Pharmakologie

Zuerst ganz herzlichen Dank der Leibniz-Sozietät für das wissenschaftliche Symposium anlässlich des 100. Geburtstages von Friedrich Jung (1915–1997). Spezieller Dank gebührt Frau Prof. Gisela Jacobasch, die dieses Symposium initiiert hat.

Mit diesem Symposium würdigen wir zum einen die Verdienste von Friedrich Jung als Pharmakologen und Wissenschaftler, ebenso wie als Arzneimittel- und Gesundheitspolitiker. Wir verbinden diese Würdigung mit wissenschaftlichen Vorträgen zur „personalisierten Medizin“. Zwar gab es diesen Begriff zu Jung's Zeiten noch nicht. Aber zu Jungs Zielen gehörte die Weiterentwicklung einer wissenschaftlichen Pharmakotherapie zum Nutzen der Patienten. Eine „personalisierte Medizin“ ist eine solche Weiterentwicklung wie sie Jung vorschwebte. Deshalb ist diese Verbindung durchaus berechtigt.

Zum Leben und Wirken von Friedrich Jung und zur Berliner Pharmakologie sind in den zurückliegenden Jahren bereits aussagekräftige Veröffentlichungen erschienen. Dazu verweise ich auf die Beiträge von Rudolf Morgenstern (geb. 1946) zu Jungs Wirken im „*Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt-Universität*“¹ bzw. von Peter Oehme (geb. 1937) und Co-Autoren zum Wirken von Jung im Berlin-Bucher Akademieinstitut für Pharmakologie. Diese beiden Beiträge sind in der mehrbändigen „*Geschichte der Pharmakologie im deutschsprachigen Raum*“² von Athineos Philippu (geb. 1931) in Band I (Erscheinungsjahr 2004) erschienen. Weiterhin ist die Biografie zum „*Leben und Wirken des Friedrich Jung*“³ von Werner Scheler und Peter Oehme zu erwähnen, welche 2002 in den Abhandlungen der Leibniz-Sozietät erschien.

Deshalb kann ich in meinem Beitrag zum Wirken von Friedrich Jung in der Berliner Pharmakologie, ähnlich wie in dem vorangehenden Beitrag von Werner Scheler, von dem persönlichen Erleben von Friedrich Jung ausgehen.

1. Jung's Wirken im sogenannten „Stadtinstitut“

Mein erster beruflicher Kontakt mit Jung war Anfang des Jahres 1961. Also ziemlich genau 10 Jahre später als das Vorstellungsgespräch von Werner Scheler bei Jung. Zwar kannte ich Jung und auch das Institutsgebäude schon aus meiner Studentenzeit, aber so ein erster Arbeitstag ist schon etwas Besonderes. Deshalb war ich durchaus etwas ängstlich als ich vor dem Portal des Pharmakologischen Institutes in der Clara-Zetkin-Straße stand. Zu dieser Zeit war das durch den Krieg völlig zerstörte Gebäude schon wieder aufgebaut worden und hatte sogar eine zusätzliche dritte Etage bekommen. Jung's Dienstzimmer und seine Labore waren in der 1. Etage. Dorthin verwies mich dann auch der Pförtner. Doch das Sekretariat war unbesetzt und im Direktorendienstzimmer war auch niemand zu finden. Nach einigem Suchen fand ich Jung im direkt neben dessen Dienstzimmer liegenden Labor. Jung saß konzentriert vor einer Apparatur. Als ich hereinkam, blickte er kurz auf und sagte sinngemäß: *„Ah, Sie sind Herr Oehme, dann gehen Sie mal in die dritte Etage. Da sitzt schon eine Kollegin, die vor kurzem angefangen hat.“* Damit war das Vorstellungsgespräch beendet.

Gesagt, getan. Ich ging dann in die 3. Etage. In dem großen Labor wurde ich von der von Jung avisierten Kollegin freundlich aufgenommen. Sie wies mir einen Tisch zu und informierte mich kurz über die wichtigsten Ecktermine. Dazu gehörte, dass an jedem Sonnabend vormittags im Konferenzraum eine Arbeitsbesprechung stattfindet und jeden Dienstag nach 17 Uhr ein Literaturkolloquium.

Nun lag es an mir zu überlegen, was zu tun war. So war es sicher richtig sich erst einmal im Institut gründlich umzusehen. Dabei erfuhr ich, dass der Schwerpunkt im Institut die Forschungen zum Hämoglobin und zum Erythrozytenstoffwechsel sind. Für diese Arbeiten nutzte Jung auch ein Elektronenmikroskop. Wie ich erfuhr, war Jung ein Pionier auf diesem Feld. Schon bevor er nach Berlin kam, hatte er sich damit

beschäftigt und dazu engen Kontakt mit Ernst Ruska (1906–1988) und Helmut Ruska (1908–1973) gepflegt. Der Elektroingenieur Ernst Ruska war bekanntlich der Entwickler des Elektronenmikroskops und bekam dafür 1986 den Nobelpreis. Sein Bruder Helmut Ruska gilt heute als Wegbereiter der medizinisch-biowissenschaftlichen Elektronenmikroskopie. Weiterhin erfuhr ich, dass gemeinsam mit dem Rapoport'schen Biochemischen Institut regelmäßig internationale Erythrozytensymposien durchgeführt wurden, die einen ausgezeichneten Ruf hatten. All das war für mich beeindruckend, aber lag für meine Interessen etwas abseits.

Interessanter erschien mir eine von Jung aktuell diskutierte Richtung: die Peptidforschung. Diese war damals international erst in den Anfängen. In den Arbeitsbesprechungen und Literaturkolloquien im Institut wurde dazu intensiv diskutiert. Nur wenige Monate nach meinem Arbeitsbeginn hatten die beiden Berliner pharmakologischen Institute im November 1961 die Arbeitstagung der Industrie- und Hochschulp-harmakologen der DDR auszurichten. Als Schwerpunkt waren Peptide vorgesehen und der Tagungsort sollte Berlin sein. Doch es kam anders.

Im August 1961 wurde in Berlin die Mauer gebaut. Das hatte auch für die Arbeitstagung Konsequenzen. Wegen der umfangreichen internationalen Teilnehmer war Berlin als Tagungsort nicht mehr möglich. Deshalb musste die Veranstaltung kurzfristig nach Wernigerode transferiert werden. Für alle Mitarbeiter bedeutete dies volles Engagement zu zeigen. Die Tagung wurde interessant und ein Erfolg.

Deshalb entschloss sich Jung das Forschungsgebiet der Peptide weiter zu bearbeiten. Die schon laufenden chemischen Arbeiten zu Hydrazinosäuren als Aminosäureanaloge sollten jetzt an einem Modellpeptid erprobt werden. Die Wahl fiel dabei auf das im Jahr 1962 von einer italienischen Forschungsgruppe aus Moschuspolypen isolierte Eledoisin⁴. Dies hatte den Vorteil, dass die Wirksamkeit der Peptidanaloga mit den damals üblichen pharmakologischen Methoden gut zu messen war. Es hatte aber auch den Nachteil, dass für ein solches Kaltblüterpeptid die medizinische Relevanz nicht auf der Hand lag. Deshalb gab es immer wieder Kritiken an der Jung'schen Peptidforschung, bis hin zu der Forderung die Arbeiten einzustellen. Doch Jung verteidigte diese Position. Wie sich später herausstellte – zu Recht. In dieser Richtung fühlte ich mich zu Hause und blieb dann auch dabei.

Doch Jung war nicht nur in der Forschung engagiert, sondern auch in der Lehre. Zwar fanden die Jung'schen Vorlesungen in einem verstaubten Hörsaal statt und Jung wirkte mit seiner Zettelwirtschaft immer leicht konfus; doch seine Art regte zum Mitdenken an. Als Prüfer war er kritisch und gefürchtet. Über seine Vorlesungen hinaus engagierte er sich Mitte der 1960er Jahre für eine Reform im Medizinstudium. Ein Aspekt dieser Studienreform war eine größere Praxisrelevanz in der Ausbildung zu erreichen. In der Relevanz zur Praxis gab es auch in der Pharmakologie Schwachpunkte. So beschränkte sich damals die Vermittlung von Kenntnissen zur praktischen Anwendung von Arzneimitteln auf die Unterrichtung im sogenannten Rezeptierkurs. Deshalb gab es von verschiedenen Seiten die Forderung eine neue selbständige Vorlesung, die „Klinische Pharmakologie«, zu etablieren. Jung stellte sich dieser Diskussion. Ich erhielt dann von ihm den Auftrag diese neue Vorlesung gemeinsam mit Klinikern der Charité aufzubauen.

Doch Jung war kein Forscher und Lehrer im engeren Sinne. Schon in den 1950er Jahren erkannte er die Notwendigkeit einer engen Zusammenarbeit von Wissenschaft und Wirtschaft und praktizierte diese auch in einer Zusammenarbeit mit dem damaligen „VEB Berlin-Chemie“. Die Verantwortung für diese Zusammenarbeit mit der Pharmaindustrie legte er in die Hände seines damaligen Oberassistenten Erhard Göres (geb. 1932).

Doch damit war sein Engagement für gesellschaftspolitische Notwendigkeiten nicht erschöpft. Jung engagierte sich auch umfangreich in Veröffentlichungen und Vorträgen für eine wissenschaftlich begründete Arzneimitteltherapie und polemisierte gegen zweifelhafte Therapieverfahren, wie die Homöopathie. Ein Dreh- und Angelpunkt war dabei sein langjähriges verdienstvolles Engagement im Zentralen Gutachterausschuss. Im vorangehenden Beitrag von Horst Klinkmann haben wir dazu ausführlich gehört.

Das Bild des Jung'schen Stadtinstitutes wäre unvollständig, wenn nicht die zwanglose Atmosphäre des Umgangs miteinander erwähnt würde. Seien es die regelmäßigen Faschingsveranstaltungen, gemeinsamen Maidemonstrationen oder wechselseitige scherzhafte Seitenhiebe. Alles in allem war das Jung'sche Stadtinstitut eine wissenschaftlich lebendige und stimulierende Einrichtung, die nicht nur in die Medizi-

nische Fakultät ausstrahlte, sondern deren Wirkungskreis weit darüber hinausreichte.

Doch meine Zeit an diesem lebendigen Institut sollte nur einige Jahre dauern. 1965 stellte mir Jung die Frage, ob ich nicht an seinem Bucher Institut die Leitung der peptidpharmakologischen Gruppe übernehmen wolle, da der bisherige Leiter als Ordinarius an das pharmakologische Institut in Rostock gegangen war. Dies passte zwar nicht zu meinen bisherigen Vorstellungen zu einer Perspektive in der Klinischen Pharmakologie zusammen, aber am Ende sagte ich zu.

2. Jung's Wirken in Berlin-Buch

Im Beitrag von Werner Scheler ist schon einiges zur Entwicklung der Bucher Pharmakologie gesagt worden. Mein Eintritt erfolgte dort zu einem Zeitpunkt, als aus den früheren Abteilungen des Institutes für Biologie und Medizin schon selbständige Institute geworden waren. Das pharmakologische Institut war im Erdgeschoss und in der ersten Etage des Institutes für Hirnforschung untergebracht, welches 1930 eingeweiht wurde. Jung wohnte seit seinem Amtsantritt mit seiner Ehefrau Waltraud Jung (1921–1992) und seinen Kindern im sogenannten Torhaus; dem heute noch erhaltenen Einfahrtsgebäude des Geländes. Waltraud Jung arbeitete im Bucher Institut als technische Assistentin und gehörte zu den aktiven Posten des Institutes. Sie war eine freundliche und eigenständige Mitarbeiterin und hatte keinerlei Intentionen als Frau des „Chefs“ behandelt zu werden.

Im Gegensatz zu der doch recht unkomplizierten Zeit im Stadtinstitut, kam ich in Berlin-Buch auf ein kompliziertes Terrain. Das betraf nicht die wissenschaftliche Seite, sondern wissenschaftspolitische Entwicklungen. Die 1967/68 begonnene Akademiereform begann massiv in die bisherigen Bucher Akademiestrukturen hineinzuwirken. Zusätzlich gab es teilweise konträre Vorstellungen seitens des damaligen Ministeriums für Wissenschaft und Technik bzw. der Gruppe Biologie des Forschungsrates. Der Rat der Direktoren erwies sich zunehmend als nicht geeignet mit diesen komplizierten Problemen umzugehen.

Um für die Pharmakologie in dieser schwierigen Zeit ein besseres Fundament zu schaffen, wurde von Jung ein strategisch angelegtes Symposium zum Thema „*Arzneimittel und Gesellschaft*“

angeregt, das dann 1969 in Berlin durchgeführt wurde. Das Symposium reichte von der Arzneimittelentwicklung und -produktion, über Forschungsprobleme, der Rationalität bei der Arzneimitteltherapie bis hin zu Fragen der Arzneimittelgesetzgebung. Jung hielt dazu einen anregenden Beitrag zum Thema „*Wert der Arznei*“⁵. Ausgangspunkt dieses Beitrages war die Frage seines Lehrers Wolfgang Heubner (1877–1957) in dessen Antrittsvorlesung 1930 in Heidelberg: „*Was ist der Wert eines Arzneimittels?*“. Jung beantwortete diese Frage mit der Forderung nicht den Wert als Ware, sondern den auf naturwissenschaftlich-logischer Grundlage ermittelten Gebrauchswert eines Arzneimittels als bestimmende Größe zu nehmen. Eine Forderung, die gerade heute stärker denn je besteht. Letztlich führt dies zu einer stärker personalisierten Therapie.

Doch wieder zum Geschehen in Berlin-Buch. Die Turbulenzen gingen dort unvermindert weiter. Erst ab 1971 mit der Berufung des Greifswalder Pharmakologen Werner Scheler zum Leiter des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin Berlin-Buch kam die Entwicklung in ein ruhigeres Fahrwasser. Für diese Beruhigung war es ein wichtiger Schritt, dass aus den Bucher Instituten und Kliniken der AdW zu Beginn des Jahres 1972 drei Zentralinstitute gebildet wurden: Das „*Zentralinstitut für Molekularbiologie (ZIM)*“, das „*Zentralinstitut für Krebsforschung (ZIK)*“ und das „*Zentralinstitut für Herz-Kreislaufforschung (ZiHK)*“.

An Jung wurde die Frage herangetragen die Leitung des Zentralinstitutes für Molekularbiologie zu übernehmen. Jung stellte sich dieser Aufgabe. Damit begann für den jetzt 57-jährigen ein neuer Lebensabschnitt. Zum einen musste er sein „geliebtes Stadtinstitut“ aufgeben. Sicher eine ganz schwere Entscheidung für ihn. Zum anderen trug er jetzt die Verantwortung für mehr als 500 Mitarbeiter, also ein Vielfaches der bisherigen Zahl. Hinzu kam, dass seine zeitlichen Ressourcen für die von ihm über alles geliebte eigene wissenschaftliche Arbeit sehr gering wurden. Er hatte in dem Zentralinstitut zwar eine eigene Arbeitsgruppe mit der er weiter Konformations- und Strukturveränderungen des Hämoglobins untersuchte, aber im Vordergrund standen jetzt Leitungsaufgaben. Seien es die umfangreichen konzeptionellen und organisatorischen Aktivitäten oder die Vorbereitungen zur Grundsteinlegung eines Institutsneubaus, die dann im Jahre 1974 erfolgte.

1980 wurde für Jung in doppelter Hinsicht ein bedeutsames Jahr. Zum einen kann er in diesem Jahr das neue Institutsgebäude in Betrieb nehmen. Zum anderen fällt in dieses Jahr sein 65. Geburtstag und damit seine Emeritierung. Jung wird als Direktor des ZIM verabschiedet und hinterlässt seinen Nachfolgern ein Institut, was sich immer mehr zu einem Zentrum moderner biowissenschaftlicher Forschung mit hoher internationaler Akzeptanz entwickelt hatte.

Mit der 1980 erfolgten Emeritierung ist das wissenschaftliche Wirken von Friedrich Jung jedoch nicht beendet. Mit seiner persönlichen Arbeitsgruppe war er weiter im ZIM wissenschaftlich-experimentell aktiv und verfolgte auch aufmerksam die weitere Entwicklung. In den Jahren 1989 bis 1992 engagierte er sich vielfältig für den Erhalt der Bucher-Akademieinstitute, kämpfte gegen den Personalabbau und die Auflösung der Gelehrtenesellschaft. Folgerichtig gehört er zu den Mitbegründern der Leibniz-Sozietät. All das fordert von ihm hohen Einsatz und viel Kraft. Am 28. Juni 1997 will er an einer Festveranstaltung des auf dem Bucher Campus neugegründeten „*Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)*“ teilnehmen. Jedoch muss er wegen dringender Familienangelegenheiten in seine alte Heimat fahren und sagt seine Teilnahme ab. Wenige Tage nach seiner Rückkehr kam es zu einem Herzversagen, was trotz intensiver Therapie zu seinem Tode am 05. August führte. Seine sterblichen Überreste wurden im Kreise seiner Familie, Freunde und Kollegen auf dem Bucher Waldfriedhof beigesetzt. Sein Schüler Werner Scheler sprach die Abschiedsworte. In mehreren Nachrufen werden sein Leben und sein Wirken für die Wissenschaft und die Gesellschaft gewürdigt.

3. Welches Resümee ist heute hier zu Jungs Wirken zu ziehen?

Lassen wir zuerst Jung selbst sprechen: Jung hat einmal seine Stellung im Stammbaum der deutschen Pharmakologie zu Papier gebracht. Sein bereits erwähnter Lehrer Wolfgang Heubner stammte aus der berühmten Pharmakologenschule des genialen Deutsch-Balten Oswald Schmiedeberg (1838–1921). Dieser lehrte und forschte fast 50 Jahre (bis zum Ende des 1. Weltkrieges) in Straßburg. Heubner arbeitete mit zahlreichen anderen Schülern aus aller Welt fünf Jahre bei ihm und kam dann über verschiedene Stationen 1932 nach Berlin. Von den Heubner-

Schülern bestimmten später eine Reihe von Pharmakologen das Bild der deutschen Pharmakologie. Im Kontext meines Beitrages „*Jung in der Berliner Pharmakologie*“ möchte ich den in Düsseldorf geborenen Hans Herken (1912–2003) nennen, der von 1953 – 1983, also fast zeitgleich mit Jung, als Professor und Direktor des Pharmakologischen Institutes an der Freien Universität in West-Berlin lehrte und forschte. Seine Autobiografie „*Die Berliner Pharmakologie in der Nachkriegszeit*“⁶ zeichnet ein lesenswertes und ergänzendes Bild zur Pharmakologie in Berlin-Ost.

Ähnlich wie sein Lehrer Wolfgang Heubner hatte auch Jung zahlreiche Schüler.

Als Ersten nenne ich Werner Scheler, der 1951 als wissenschaftlicher Assistent bei Jung begann. Jung bezog ihn zielstrebig in sein Hauptarbeitsgebiet der Hämoproteidforschung ein und übertrug ihm dabei immer mehr Verantwortung. Im Jahre 1957 habilitierte Scheler bei Jung und folgte dann 1959 einem Ruf als Direktor des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald. Dort baute er die Hämoproteinuntersuchungen wesentlich aus und verband diese mit rezeptortheoretischen Ansätzen. Mit den daraus folgenden Publikationen und seinem Buch „*Grundlagen der Allgemeinen Pharmakologie*“ hat er einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung des Faches Pharmakologie und Toxikologie geleistet.

Ein Jahr nach Werner Scheler begann Hansjürgen Matthies (1925–2008) als Assistent bei Jung. Drei Jahre nach seiner Habilitation (1954) wurde er 1957 Direktor des Pharmakologischen Institutes der Medizinischen Akademie Magdeburg. Dort gründete er dann 1981 das Institut für Neurobiologie und Hirnforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR. In beiden von ihm geleiteten Instituten baute er eine neurobiologisch-neuropharmakologische Forschung mit dem Schwerpunkt Lernen und Gedächtnis auf. Für das hohe Niveau dieser Forschungen spricht, dass auch nach dem Ausscheiden von Hansjürgen Matthies das Akademieinstitut ab 1992 als Leibniz-Institut für Neurobiologie weitergeführt wurde.

Als dritten Jung-Schüler nenne ich Horst Ankermann (1921–2005), der im Jahre 1954 bei Jung begann. Ankermann wurde 1963 an die Friedrich-Schiller-Universität Jena berufen und übernahm das Insti-

tut für Pharmakologie und Toxikologie. Dort baute er eine originelle Forschung zum Thema Entwicklungspharmakologie auf und verfasste hierzu eine viel beachtete Monografie. Als weitere Ordinarien aus der Jung-Schule möchte ich Burkhard Wieggershausen (1922–1981) und Peter Lange (1933–1994) nennen, die nacheinander als Ordinarien und Institutsdirektoren am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Rostock wirkten, sowie Horst Banaschak (1929–1979) als Ordinarius für Klinische Pharmakologie in Berlin. Die Reihe ließe sich noch weiter fortsetzen mit solchen Kollegen, die aus den Instituten seiner unmittelbaren Schüler kamen und dann selbst als Professoren, Ordinarien oder Institutsdirektoren wirkten. Alles in allem ist die Geschichte der DDR-Medizin und damit der deutschen Medizin ohne die Jung'sche Pharmakologenschule nicht denkbar.

An dieser Stelle ein persönlicher Einschub: Die bewegten Jahre 1968 bis 1971 auf dem Berlin-Bucher Akademiescampus führten dazu, dass sich die Wege von Jung und mir in der weiteren Entwicklung – zumindest partiell – trennten. Sowohl inhaltlich wie auch räumlich war in Berlin-Buch neben den drei großen Zentralinstituten der Akademie für eine komplex angelegte Wirkstoffforschung kein Raum. Da eine solche jedoch eine notwendige Ergänzung war, entschieden sich die wirkstofforientierten Chemiker und Peptidpharmakologen aus dem Bucher Jung'schen Institut die Chance zu nutzen und aus dem beengten Buch auf das mehr Entwicklungsmöglichkeiten bietende Gelände des bisherigen Akademieinstitutes für vergleichende Pathologie in Berlin-Friedrichsfelde umzuziehen. Nach erfolgtem Umzug 1972 und noch zeitweiliger Zugehörigkeit im Bereich Wirkstoffforschung am Zentralinstitut für Molekularbiologie wurde dann 1976 unter meiner Leitung aus diesem ZIM-Bereich ein eigenständiges „*Akademieinstitut für Wirkstoffforschung (IWF)*“ gegründet. Jung stand diesen Entwicklungen aufgeschlossen gegenüber.

Dieses neugegründete Institut für Wirkstoffforschung knüpfte dann in verschiedener Weise an den Jung'schen Vorlauf an. Das betraf zum einen das von Jung praktizierte interdisziplinäre Herangehen, welches im IWF von der theoretischen Molekularpharmakologie bis hin zur physiologisch orientierten experimentellen Pharmakologie reichte. Das betraf gleichermaßen das von Jung schon in den 1950er Jahren geforderte Zusammenwirken von Wissenschaft und Wirtschaft. Diesem Zu-

sammenwirken von Grundlagenforschung und Industrieforschung wurde auf dem Gelände in Berlin-Friedrichsfelde mit der Bildung eines produktiven Akademie-Industriekomplexes „Arzneimittelforschung“ entsprochen.⁷

Mein Partner im Friedrichsfelder AIK seitens des DDR-Pharmakombinates „Germed“ war der Jung-Schüler Erhard Göres (geb. 1932), der, wie bereits erwähnt, schon im Jung'schen Stadtinstitut Träger der Zusammenarbeit mit dem „VEB Berlin-Chemie“ war. Von ihm wurde auf dem Akademiegelände ein leistungsfähiges Industrieforschungsinstitut aufgebaut; als Bindeglied zu der Grundlagenforschung im Akademieinstitut. Dass dieser Ansatz erfolgreich war, zeigt unter anderem der Sachverhalt, dass dieses Industrieinstitut zu dem Teil der DDR-Industrieforschung gehört, welcher nach der Deutschen Einheit gefragt war und in privatisierter Form weiterführt wurde. Erhard Göres stand diesem Institut dann am Standort Berlin-Marzahn als Geschäftsführer bis zu seinem altersbedingten Ausscheiden 1998 vor.

Zurück zum Institut für Wirkstoffforschung. Wesentlich für die internationale Anerkennung des Institutes war der Ausbau der auf Jung zurückgehenden Peptidforschung. Dafür war es ein glücklicher Umstand, dass die von Jung in den 1960er Jahren verteidigten Arbeiten am Eledoisin, einem anscheinend abwegigen Peptid aus Kaltblütern, sich als ein Volltreffer erwiesen hatten. Einige Jahre später wurde in Säugetieren das in der Struktur dem Eledoisin verwandte Neuropeptid Substanz P entdeckt und dafür eine Funktion in den sog. Schmerzfasern nachgewiesen. Wir waren auf Grund unseres chemischen und pharmakologischen Vorlaufes bei den Kaltblüterpeptiden sehr schnell in der Lage uns in die internationale Substanz P-Forschung einzubringen. Das war eine wichtige Voraussetzung für unsere späteren Entdeckungen (gemeinsam mit der Gruppe von Karl Hecht) zur Rolle dieses Neuropeptides im Stressgeschehen und dessen endogenen Wirkmechanismus.⁴

Nochmals zu den umfangreichen wissenschaftlichen Leistungen von Jung. Zum einen gehören hierzu die bereits genannten Pionierarbeiten zum Einsatz der Elektronenmikroskopie für toxikologische Fragen. Zum anderen die erwähnten gemeinsamen Erythrozytensymposia mit Mitja Rapoport (1912–2004), in die Jung seine Toxikologie-orientierten Arbeiten zum Erythrozytenstoffwechsel einbringen

konnte. Diese reichten von biochemisch-biophysikalischen Untersuchungen bis zur mathematischen Modellierung. Gleichmaßen zu nennen sind seine biophysikalischen Arbeiten zum Hämoglobin und zu Hämoglobinderivaten als Modelle für Wirkstoff-Rezeptor-Konformationsbeziehungen. Später kamen hierzu molekularbiologische Arbeiten zur Wirkstoff-Biotransformation durch das Cytochrom P 450-System.

Friedrich Jung ist jedoch nicht nur als Wissenschaftler zu würdigen, sondern gleichermaßen als Wissenschafts-, Gesundheits- und Arzneimittelpolitiker. Hierzu hat Horst Klinkmann ausführlich vorgetragen. Von mir hier nur das summierende Statement, dass Jung's gesundheitspolitisches Wirken insbesondere als langjähriger Vorsitzender des Zentralen Gutachterausschusses für den Arzneimittelverkehr, sowie seine streitbaren Arbeiten für eine wissenschaftliche und wirtschaftliche Arzneimitteltherapie, wesentlichen Anteil daran hatten, dass die DDR auf diesem Gebiet eine hohe Qualität vorweisen konnte. Sicher eine wichtige Grundlage dafür, dass die Conterganproblematik für die DDR verhindert wurde.

Schauen wir jetzt zu den Berliner Instituten an denen Jung direkt oder indirekt Anteil hatte. Zuerst zu dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt Universität in der jetzigen Dorotheenstraße (früher Clara-Zetkin-Straße). Hierzu vorab wenige historische Anmerkungen. Die Berliner Universitätspharmakologie musste hart um ein eigenes Institutsgebäude kämpfen. Dem bekannten Berliner Pharmakologieordinarius Oskar Liebreich (1839–1908) gelang es einen Institutsneubau durchzusetzen, der nach mehreren Baustufen 1883 bezogen werden konnte.¹ Der im Rundbogenstil der sog. Berliner Schule errichtete Backsteinbau mit eindrucksvoller Terrakottaornamentik gehört auch heute noch zu den schönsten Bauwerken jener Zeit. Liebreich schuf damit ideale Arbeitsvoraussetzungen für seine Nachfolger. Der II. Weltkrieg hinterließ dann eine Ruine. Mit seinem Wechsel nach Berlin im Jahre 1948 stellte sich Jung dann der harten Pflicht des Wiederaufbaus. Durch Unterstützung von Robert Havemann (1919–1982), der das benachbarte und wenig beschädigte Physikochemische Institut der Humboldt-Universität leitete, wurde übergangsmäßig Raum zur Verfügung gestellt. Dann wurde der Schutt beseitigt und es begann ein stufenweiser Wiederaufbau. 1954 waren

der Hörsaal und die Lehreinrichtungen wiederhergestellt und 1956/57 hatte das Institut wieder seine volle Funktionalität erreicht.¹

Besucht man jetzt die Dorotheenstraße, so findet man zwar den unter Liebreich errichteten und von Jung wieder aufgebauten Backsteinbau, aber nicht mehr die Pharmakologie. Die Ursachen hierfür liegen darin, dass 2007 das wissenschaftshistorische Robert-Koch-Forum, zu dem auch das Pharmakologische Institut gehört, durch die Charité zum Verkauf ausgeschrieben wurde. 2009 kam es dann zum Verkauf an die Arcadia Berlin Stiftung, eine Schwesterstiftung des Arcadia Fund mit Sitz in London, hinter dem die Tetra-Pak Erbin Lisbeth Rausing steht.⁸ Erklärtes Ziel war die Bildung einer Privatuniversität. Von einer solchen Privatuniversität konnte ich bei meinem Besuch im letzten Jahr nichts erkennen. Was weiter aus dem Liebreichbau werden soll, konnte ich auch nicht ermitteln. Es steht fest, dass eine Rest- Pharmakologie im „*Center for Cardiovascular Research*“ in der Hessischen Straße in Berlin-Mitte angesiedelt ist. Diese ist kaum zu vergleichen mit der ausstrahlenden Pharmakologie in der „Jung-Zeit“.

Sehen wir nun zur Bucher Wirkungsstätte von Jung. Wenn wir das erwähnte Torhaus passieren, kommen wir auf das Gelände der früheren Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Der von Jung in Betrieb genommene Neubau für das Zentralinstitut für Molekularbiologie gehört jetzt zu dem mit 90% vom Bund und zu 10% vom Land Berlin finanzierten Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC). Gemäß den Empfehlungen des Wissenschaftsrates wurde es unter dem Gründungsdirektor Detlev Ganten, einem Pharmakologen aus Heidelberg, 1992 aus den ehemaligen Bucher Zentralinstituten der Akademie der Wissenschaften gebildet. Der Bildungsprozess war schmerzhaft, insbesondere bedingt durch den Personalabbau. In dem ausführlichen Buch von Heinz Bielka zur „*Geschichte der Biologisch-Medizinischen Institute in Berlin-Buch*“⁹ heißt es dazu unter anderem: „... 1992, stammten noch 87 % der im Centrum für Molekulare Medizin tätigen Wissenschaftler aus ehemaligen Bucher Akademieinstituten. 1994 waren es ... noch 42 %“.

Heute gehört das MDC zu den international führenden biomedizinischen Forschungseinrichtungen. Das von Jung in Betrieb genommene Laborgebäude ist weiterhin ein Kernstück des MDC und dieses sieht sich durchaus in der Tradition der in Berlin-Buch früher ansäs-

sigen biomedizinischen Forschung der Akademie der Wissenschaften der DDR. Im März 2013 wurde das Berliner Institut für Gesundheitsforschung (*BIH – Berlin Institute of Health*) gebildet, in dem MDC und Charité enger zusammenrücken. Die Leitidee dieses Institut ist, wie es sinngemäß heißt, eine translationale Forschung verschränkt mit fächerübergreifenden Ansätzen. Eine solche noch engere Verbindung von außeruniversitärer und universitärer medizinischer Forschung entspricht voll dem von Jung praktizierten Zusammenwirken seines Tandems des Bucher Akademieinstitutes für Pharmakologie mit dem pharmakologischen Stadtinstitut der Charité in Berlin-Mitte.

Neben dem MDC finden wir den im Jahr 2000 bezogenen schönen Neubau das Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMP). Vorläufer ist hierfür das bereits erwähnte Institut für Wirkstoffforschung. Zu diesem heißt es 1992 in den Empfehlungen des Wissenschaftsrates u.a.: „[das Institut] ... stellt ein geglücktes Beispiel für interdisziplinäre Forschung dar ... „¹⁰. Danach folgt die Empfehlung aus dem Kernbestand eine Einrichtung für molekulare Pharmakologie zu gründen. Auch für dieses Institut waren die Nachwendejahre schwierig. Nehmen wir hierzu das Motto „Ende gut – alles gut“.

Nach meinem altersbedingten Ausscheiden aus dem FMP im Jahre 2002 konnte ich von 2010 bis 2013 als senior advisor, zusammen mit dem erfahrenen Industriepharmakologen Matthias Bräutigam (geb. 1948) aus der West-Berliner Pharmakologenschule, nochmals die Entwicklung des FMP unterstützen. Seit 2012 steht es unter Leitung des renommierten Zellbiologen und Biochemikers Volker Haucke (geb. 1968), der es im Sinne der IWF-Tradition auf eine interdisziplinäre Wirkstoffforschung orientiert hat und mit dem Institut vor kurzem ein ausgezeichnetes Evaluierungsergebnis erzielte.

Mit gemeinsamen Projekten zwischen der krankheitsorientierten Forschung des MDC und den wirkstofforientierten Arbeiten des FMP bestehen auf dem Bucher Medizincampus ausgezeichnete Voraussetzungen für die Zukunft. Wenn zu diesem Duo am Standort Berlin-Buch noch ein Forschungsinstitut eines größeren Pharmaunternehmens kommen würde, wären das ideale Bedingungen für den Translationsprozess.

Am Ende bleibt die Gesamtbilanz zum Anlass des 100. Geburtstages von Friedrich Jung.

Lassen wir zuerst den Fachkollegen Detlev Ganten sprechen mit dem Jung nach der Deutschen Einheit auf dem Berlin-Bucher Medizincampus zusammentraf. Ganten schreibt in seiner Rezension zu der Jung-Biografie „*Zwischen Arznei und Gesellschaft*“¹¹ von Werner Scheler und Peter Oehme (2002)³ im Deutschen Ärzteblatt u.a.:

„Es gibt wenige Länder, in denen politische Entwicklungen sich so direkt in Inhalten und Strukturen der Wissenschaft sowie besonders auch in Lebensläufen von Forschern ablesen lassen wie in Deutschland. ... Es ist wichtig, diese Besonderheiten unserer Geschichte festzuhalten und so zur Bewahrung der Traditionen in der deutschen Wissenschaftsgeschichte beizutragen. ... Der Rezensent ist mit Friedrich Jung nach der „Wende“ auf dem traditionsreichen Biomedizinischen Campus Berlin-Buch mehrfach zusammengetroffen und hat ihn als einen stets kritisch hinterfragenden, nicht immer bequemen Zeitgenossen kennen gelernt. Jungs Auffassungen konnte man nicht immer teilen, aber seine umfangreiche Lebenserfahrung war stets eine anregende Quelle.“

Nachfolgend ein persönliches Resümee. Über mehr als drei Jahrzehnte hatte ich Gelegenheit mit Fritz Jung zusammenzutreffen. Zuerst von ihm als sein Student und Schüler zu lernen und in späteren Jahren mit ihm als gleichberechtigter Institutsdirektor zusammenzuarbeiten. In all diesen Jahren habe ich ihn kennen und schätzen gelernt als einen Vollblutwissenschaftler, der in seiner und für seine Wissenschaft gelebt hat. Dabei war für ihn die Lust Neues zu entdecken eine wichtige Triebkraft. Vielleicht manches Mal etwas zu verspielt, aber dieses Privileg hat er auch anderen zugestanden. Mit seinen originellen Ideen war er stets großzügig und Neid war ihm fremd. Jung bleibt uns allen sicher in Erinnerung als ein ideensprühender, stimulierender und toleranter Gesprächspartner. Der Wiederaufbau der Pharmakologie an der Berliner Humboldt-Universität, die Neugründung einer außeruniversitären Pharmakologie auf dem Berlin-Bucher Medizincampus und die Entwicklung beider Institute zu einem Tandem einer national und international geachteten Lehr- und Forschungseinheit sind Leistungen, die in der Wissenschaftsgeschichte Bestand haben werden.

Wir sind deshalb sehr froh, dass anlässlich des 100. Geburtstages von Fritz Jung am Eingangstorhaus zum Bucher Medizincampus, in dem er und seine Familie fast 50 Jahre lebten, eine Gedenktafel angebracht werden wird, welche seine Leistungen würdigt.

Auf dieser Tafel wird es heißen:

Friedrich Karl Jung

*1915 †1997

*Arzt, Pharmakologe, Gesundheits- und Arzneimittelpolitiker,
Mitbegründer der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin,
wohnte hier von 1949 bis 1997 und begründete am Akademieinstitut
für Medizin und Biologie in Berlin-Buch die extrauniversitäre
Pharmakologie und baute die im 2. Weltkrieg zerstörte
Pharmakologie der Humboldt-Universität wieder auf.*

Hier bleibt mir die Aussage, die seine Schüler, Freunde und Kollegen an das Ende der Gratulation zu seinem 80. Geburtstag gestellt hatten:

*„Vergangenes bewahren, Gegenwärtiges ergreifen,
Zukünftiges gestalten – so schließt sich der Kreis“.*

In Dankbarkeit an die Jahre mit ihm, werden wir auch weiter in diesem Sinne handeln!

Literatur- und Quellenverzeichnis

- 1 R. Morgenstern (2004): Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Medizinische Fakultät (Charité) der Humboldt-Universität zu Berlin. In: A. Philippu (Hrsg.): Geschichte und Wirken der pharmakologischen, klinisch-pharmakologischen und toxikologischen Institute im deutschsprachigen Raum. Band I. S. 91–116. Berenkamp-Verlag. Innsbruck.
- 2 P. Oehme, E. Göres, W. Rosenthal, D. Ganten (2004): Pharmakologische Institutionen Berlin-Buch und Berlin-Friedrichsfelde. In: A. Philippu (Hrsg.): Geschichte und Wirken der pharmakologischen, klinisch-pharmakologischen und toxikologischen Institute im deutschsprachigen Raum. Band I. S. 698–711. Berenkamp-Verlag. Innsbruck.
- 3 W. Scheler, P. Oehme (2002): Zwischen Arznei und Gesellschaft. Zum Leben und Wirken des Friedrich Jung. In: Abhandlungen der Leibniz-Sozietät. Band 8. trafo Verlag. Berlin.
- 4 P. Oehme (2006). Fünf Jahrzehnte Forschung und Lehre in der Pharmakologie. Erlebtes und Gelebtes in der Wissenschaft. trafo Verlag. Berlin.

- 5 F. Jung (1971): Wert der Arznei. In: F. Jung, P. Oehme, H. Rein (Hrsg.): Arzneimittel und Gesellschaft. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. S. 3–9. Akademie Verlag, Berlin.
- 6 H. Herken (1999): Die Berliner Pharmakologie in der Nachkriegszeit. Erinnerungen an ein Stück bewegter Universitätsgeschichte der Jahre 1945–1960. Springer Verlag.
- 7 P. Oehme (2001): Erfahrungen aus einem Akademie-Industrie-Komplex. In: W. Hartung, W. Scheler (Hrsg.): Die Berliner Akademie nach 1945. Zeitzeugen berichten. Abhandlungen der Leibniz-Sozietät. Band 6. trafo Verlag, Berlin. S. 143–149.
- 8 R. Morgenstern (2011): Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Medizinische Fakultät (Charité) der Humboldt-Universität zu Berlin (CCM/CBF). Universitätsmedizin Berlin (Charité). In: A. Philippu (Hrsg.): Geschichte und Wirken der pharmakologischen, klinisch-pharmakologischen und toxikologischen Institute im deutschsprachigen Raum. Band III Ergänzung. S 35–337. Berenkamp-Verlag, Innsbruck.
- 9 H. Bielka (2002): Geschichte der Medizinisch-Biologischen Institute in Berlin-Buch. Springer Verlag. S. 129.
- 10 Wissenschaftsrat (1992): Stellungnahmen zu den außeruniversitären Forschungseinrichtungen in der ehemaligen DDR auf dem Gebiet der Biowissenschaften und Medizin. S. 31–36.
- 11 D. Ganten (2002): Rezension zur Jung-Biografie „Zwischen Arznei und Gesellschaft“ von W. Scheler und P. Oehme. In: Deutsches Ärzteblatt 99. S. 45.

Detlev H. Krüger, Peter Oehme und Werner Scheler

Friedrich Jung – seine Beziehung zu Helmut Ruska und zur Virologie

1. Die Gebrüder Ruska und der Vorstoß in die „ultravisible Biologie“

Durch die Entwicklung und Anwendung des Elektronenmikroskops konnten optische Auflösungen erreicht werden, die jene durch das Lichtmikroskop übertreffen. Struktur- und Funktionsuntersuchungen konnten von nun an gewissermaßen im „submikroskopischen“ und zuvor „ultravisiblen“ Bereich erfolgen. Zu diesen technischen Fortschritten haben insbesondere die bahnbrechenden Arbeiten deutscher Gruppen in den dreißiger und vierziger Jahren des vorigen Jahrhunderts ganz entscheidend beigetragen.

Die Entwicklung des Elektronenmikroskops durch die Gruppe um den Berliner Elektrotechniker Ernst Ruska (1906–1988) wurde 1986 mit der Verleihung des Nobelpreises geehrt. Als Ernst Ruska, Bodo von Borries (1905–1956) und Kollegen an der Konstruktion der ersten Elektronenmikroskope (damals „Übermikroskope“ genannt) arbeiteten, herrschte die allgemeine Meinung vor, dass man mit solchen Instrumenten zwar stärkere Vergrößerungen als mit dem Lichtmikroskop erreichen würde, sie jedoch für die Untersuchung biologischer Objekte ungeeignet seien, da das Untersuchungsmaterial im Elektronenstrahl zerstört würde (Krüger et al. 2000).

Es war Helmut Ruska (1908–1973), Bruder von Ernst Ruska und Internist an der Berliner Charité, der das Interesse der Kollegen immer wieder auch auf die Möglichkeiten einer Ultrastrukturuntersuchung an biologischen Objekten richtete. Dies war, wie wir heute wissen, sehr erfolgreich. Helmut Ruska stellte als erster Wissenschaftler der Welt Viren optisch dar und verschaffte der Wissenschaft erstmalig eine Vor-

stellung, wie diese submikroskopisch kleinen Krankheitserreger strukturiert sind (von Borries et al. 1938; Ruska et al. 1939). Auf ihn geht auch der erste Versuch einer Taxonomie der Viren nach morphologischen Gesichtspunkten zurück, die im Wesentlichen bis heute Bestand hat (Ruska 1943). Aber sein Interesse am Lebendigen ging über die Virologie hinaus – so untersuchte er beispielsweise auch die Feinstruktur von Bakterienzellen, die Struktur des Glykogens, die Prozesse der Blutkoagulation, die Feinstruktur von Insektenmuskeln und das pflanzliche Chlorophyll (siehe Krüger et al., 2000; Gelderblom und Krüger 2014).

Durch das Publizieren in deutscher Sprache, vor allem aber durch die politische Isolierung des Nazireiches und den 2. Weltkrieg, waren die Arbeiten in den USA weniger bekannt und die Berliner Gruppe hatte einen deutlichen Entwicklungsvorsprung vor den Amerikanern. Thomas F. Anderson, einer der „Väter“ der Elektronenmikroskopie in den USA, schrieb später: „Im Jahre 1940, als ich das erste Mal vom Elektronenmikroskop hörte, von dem man sagte, daß es in Deutschland entwickelt worden sei, schien es fast wie ein Schabernack, den die Nazis der übrigen Welt spielten.“ (Anderson 1972).

Ernst Ruska und Bodo von Borries führten ihre Geräteentwicklungen in Zusammenarbeit mit der Firma Siemens & Halske durch, die bereits 1937 in Berlin-Siemensstadt eine „Entwicklungsstelle für Elektronenmikroskopie“ (später „Laboratorium für Elektronenoptik“ genannt) gründete. Für die Anwendung der neu entwickelten Geräte wurde in direkter räumlicher Nachbarschaft ein „Laboratorium für Übermikroskopie“ unter Leitung von Helmut Ruska etabliert. Dieses Laboratorium hatte 3 (später 4) Elektronenmikroskope zur Verfügung und hielt auch Gastarbeitsplätze bereit, die von Wissenschaftlern aus Deutschland, und immerhin aus Frankreich, Italien, Schweden und der Schweiz genutzt wurden (Gelderblom und Krüger 2014). Ganz offensichtlich war auch Friedrich Jung (1915–1997) einer der Glücklichen, die hier arbeiten konnten.

2. Wozu braucht ein Pharmakologe die Elektronenmikroskopie?

Die Pharmakologie befasst sich bekanntlich mit der Wirkung von chemischen Substanzen auf den lebenden Organismus. Es liegt nahe, zum Verständnis der dabei ablaufenden Vorgänge neben biochemischen Methoden auch morphologische Methoden einzusetzen. Das betrifft nicht nur die pharmakologische Grundlagenforschung, sondern auch die Toxikologie und moderne anwendungsnahe Gebiete wie die Arzneimittel- bzw. Wirkstoffforschung. Dabei geht es sowohl um die Charakterisierung von Funktionszuständen, die Lokalisation exogener und endogener Stoffe wie auch die topische Zuordnung der verschiedensten Prozesse. Die hieraus gewonnenen Erkenntnisse haben sowohl die Grundlagenforschung bereichert, wie auch praktische Konsequenzen ermöglicht, z. B. für die Entwicklung stärker zielgerichteter Wirkstoffe.

Deshalb hat die Elektronenmikroskopie auch sehr früh, wie wir am Beispiel Jung noch sehen werden, Eingang in das Methodenspektrum der Pharmakologie gefunden. Bei Jung ging es um Veränderungen der Erythrozytenmembran unter der Einwirkung toxischer Stoffe, die unter anderem in der Sprengstoffindustrie eingesetzt wurden. Analog bedeutsam war diese Methode in späteren wirkstofforientierten Arbeiten, z. B. für die Einordnung einer Vermehrung von Peroxisomen in Leberzellen in den Wirkungsmechanismus lipidsenkender Arzneimittel. Insgesamt hat die Elektronenmikroskopie (und ihre methodischen Weiterentwicklungen) bis heute ihren Platz in der Pharmakologie nicht nur behalten, sondern in Verbindung mit modernen biochemischen, immunologischen und molekularbiologischen Methoden weiter ausgebaut.

3. Friedrich Jung und Helmut Ruska in Berlin-Siemensstadt und Berlin-Buch

Aber zurück zu Friedrich Jung und der Nutzung der gerade erst entwickelten Elektronenmikroskopie um 1940. Jung fand in den Brüdern Ruska interessierte Partner, um mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen Strukturen zu studieren, die in Erythrozyten nach Vergiftung beobachtet wurden, und schließlich auch die Zellmembran von roten Blutkörperchen darzustellen. Er schreibt: „Von spezieller Bedeu-

tung wurde ... für mich der Kontakt zu Ernst und Helmut Ruska, deren neues Gerät, das Elektronenmikroskop, die Natur der Innenkörperchen (damals von maßgeblichen Hämatologen noch für erythrozytäre Organellen gehalten) als denaturiertes Eiweiß, als Koagulate im Zellinneren, verständlich machte. Sie lagen bei den meisten Vergiftungen zunächst unter der Grenze des lichtoptischen Nachweisvermögens, wurden dann aber langsam größer, bis die Zellen aus dem Kreislauf eliminiert wurden. ... Als ich im Elmi-Labor in Siemensstadt erstmals vorsprach, empfing mich der Leiter v. Borries mit der Bemerkung ‚Gott sei Dank, dass sich wieder jemand für uns interessiert‘.“ (Scheler und Oehme 2002, S. 35).

Die ersten Ergebnisse hat er 1942 in der Klinischen Wochenschrift publiziert und dabei als Herkunft seiner Arbeit „Pharmakologisches Institut der Universität Berlin und Laboratorium für Übermikroskopie der Siemens & Halske A.G., Berlin-Siemensstadt“ genannt (Jung 1942). Offensichtlich hatte er einen der Gastarbeitsplätze in dem von Helmut Ruska geleiteten Laboratorium nutzen können. Weitere Ergebnisse aus dieser Tätigkeit bei Siemens & Halske, die er als Artikelfolge mit dem Obertitel „Zur Pathologie der roten Blutkörperchen“ gestaltete, konnte er erst nach dem Krieg publizieren (Jung 1947a, 1947b).

Auch nach dem Krieg, als er an den Universitäten Tübingen und dann Würzburg tätig war, bemühte sich Friedrich Jung, den wissenschaftlichen Kontakt zu den Brüdern Ruska aufrecht zu halten. Antwortbriefe sowohl von Ernst als auch Helmut Ruska an Jung aus dem Jahre 1946 sind erhalten und belegen eindrucklich die Probleme und das allgemeine Suchen nach einem Neuanfang in dieser schweren Zeit. Ernst Ruska schreibt: „So langsam melden sich bei uns alle Übermikroskopinteressenten, und wir freuen uns natürlich über jeden, der ... für künftige Arbeiten auf diesem Gebiet zur Verfügung stehen kann“ und Helmut fragt mit zweifelndem Blick in die Zukunft: „Mikroskope wird es ja wieder geben, aber Geld?“ (Scheler und Oehme 2002, S. 61–62).

Jung schickte Helmut Ruska Sonderdrucke seiner Publikationen zu, für die Ruska sich bedankte und die er auch kritisch kommentierte. Weiter heißt es in Ruskas Schreiben an Jung vom 01.09.1947: „Die Arbeit im neuen Institut (gemeint ist das Institut in Berlin-Buch, s. unten, d. Verf.) beginnt langsam. Das erste ÜM kann in den nächsten Tagen eintreffen, aber es ist noch nicht zu übersehen, wie lang die Montage

dauert.“ (Bielka 2002, S. 221). Das als „ÜM“ erwähnte Elektronenmikroskop sollte dann in Friedrich Jungs Lebensweg noch eine besondere Rolle spielen ...

Zunächst aber verfolgte Jung in Würzburg seine Untersuchungen an roten Blutkörperchen mittels Elektronenmikroskopie zielgerichtet weiter. In der Arbeit „Strukturprobleme am roten Blutkörperchen“, die 1950 in den „Naturwissenschaften“ erschien, gibt er als Herkunft der Ergebnisse an: „Elektronenoptische Aufnahmen aus dem Laboratorium für Elektronenoptik der Siemens u. Halske A.G., Berlin und dem Physikalischen Betrieb der Farbwerke Höchst“ (Jung 1950). Jung und Helmut Ruska haben wohl nie gemeinsam publiziert. In seiner großen Übersicht „Die Elektronenmikroskopie in der Virusforschung“, die im „Handbuch der Virusforschung“ erschien (Ruska 1950) zitiert Ruska jedoch die erwähnte (Jung 1950) Arbeit.

Die Gründe für die Übersiedlung von Friedrich Jung von Würzburg nach Berlin – und damit „in den Osten“ – sind vielfältig und an anderer Stelle diskutiert worden (Scheler und Oehme 2002). Ganz sicher spielte aber auch das Elektronenmikroskop eine Rolle, das er in Berlin-Buch vorfand und das ihm dort persönlich zugewiesen wurde.

Beide Ruska-Brüder, die als durch das Naziregime unbelastet galten, waren im Einvernehmen mit der Sowjetischen Militäradministration 1947 auf Abteilungsleiterstellen am Institut für Medizin und Biologie in Berlin-Buch berufen worden, hatten aber Ende 1948 ihre Verträge gekündigt und waren an die Nachfolgeeinrichtung der Kaiser-Wilhelm-Institute nach Berlin-Dahlem gewechselt (Bielka 2002; Gelderblom und Krüger, 2014). Für Helmut Ruska als Leiter der Abteilung Mikromorphologie war aber in Berlin-Buch ein neues Elektronenmikroskop beschafft worden, das nun „herrenlos“ war. Als Friedrich Jung sich mit dem möglichen Wechsel nach Berlin-Buch und der möglichen Gründung einer Abteilung Pharmakologie anstelle der Abteilung für Mikromorphologie dort beschäftigte, schrieb er am 27.09.1949 an den Direktor des Bucher Instituts, Walter Friedrich, er erhoffe „die Gründung einer pharmakologischen Abteilung, wobei mir – auf Grund meiner bisherigen Erfahrung – auch die Betreuung des dort stehenden Elektronenmikroskops ... zugewiesen werde. Ich nehme auch an, dass für diese Abteilung im Wesentlichen die seinerzeit für Helmut Ruska zugeordneten Etatmittel (Mikromorphologie) zur Verfügung stehen werden.

Die Verbindung von Pharmakologie bzw. Toxikologie und Übermikroskopie scheint zwar etwas fern zu liegen, meinen Erfahrungen nach kann sie aber viel versprechen.“ (Scheler und Oehme 2002, S.83).

Der Wechsel nach Ostberlin fand Ende 1949 statt und Jung übernahm die Leitung des (kriegsbedingt völlig zerstörten) Instituts für Pharmakologie der Humboldt-Universität wie auch einer neu geschaffenen Abteilung für Pharmakologie und experimentelle Pathologie in Berlin-Buch. Wie wichtig ihm auch das Elektronenmikroskop dabei war, zeigt ein Schreiben von Ende 1949, in dem es heißt: „In Buch erhielt ich ca. 5 Arbeitsräume, ein Elektronenmikroskop, ein bereits von H. Ruska eingestellter Elektromechaniker war vorhanden – und glücklicherweise auch eine Wohnung für mich und meine Frau mit inzwischen in Würzburg geborenen zwei Kleinkindern.“ (Scheler und Oehme, 2002, S.106).

Aus dem Bucher Institut kamen dann – neben vielfältigen pharmakologisch-biochemischen Beiträgen – auch ultrastrukturelle Arbeiten, die offensichtlich auf Untersuchungen mit dem dortigen „neuen“ Elektronenmikroskop basierten. Eine davon widmete er seinem ehemaligen Berliner Chef, Wolfgang Heubner, zum 75. Geburtstag (Jung 1952), eine andere dem Direktor des Institutes für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Walter Friedrich, zu dessen 70. Geburtstag (Jung 1953).

4. Friedrich Jung an der Wiege der Hochschul-Virologie

In der Mitte des vorigen Jahrhunderts begann sich die Virologie als selbständiges Fachgebiet zu entwickeln und von Mutterfächern wie Hygiene und Mikrobiologie zu emanzipieren. Für den schnellen Fortschritt der virologischen Forschung gab es im Wesentlichen zwei Ursachen: Mittels der neu etablierten Zell- und Gewebekulturtechniken war es jetzt möglich, Viren außerhalb des lebenden Organismus zu züchten und zu studieren. Und zweitens hatte man durch die Ergebnisse der elektronenoptischen Untersuchungen nun erstmals eine fassliche Vorstellung vom Aufbau der Viruspartikel und ihrer (grogen) Interaktionen mit der Wirtszelle.

Während in Deutschland nach dem Krieg insbesondere in den Max-Planck-Instituten für Biochemie und (später) für Virusforschung

in Tübingen – aber auch langsam wieder in der traditionsreichen Forschungsanstalt Insel Riems sowie weiteren Einrichtungen – die Virusforschung entwickelt wurde, gab es weiterhin keinen eigenen Lehrstuhl oder eigenes Institut für Virologie an einer deutschen Hochschule. Hier hatte dann die Berliner Humboldt-Universität eine Vorreiter-Rolle inne, denn bereits 1956 wurde an der Charité ein Laboratorium und 1958 dann offiziell ein Institut für Virologie unter der Leitung von Ewald Edlinger gegründet. Erst mehrere Jahre später folgte die Gründung von Instituten für Virologie an der Veterinärmedizinischen (1964) und der Humanmedizinischen Fakultät (1966) der Universität Giessen als zweiter deutscher Universität (Munk 1995).

Ewald Edlinger hat später über die Zeit der Institutsgründung in Berlin berichtet und dabei die Rolle von Friedrich Jung hervorgehoben. Er erwähnt ausdrücklich Jung als aktiven Unterstützer der Idee der Institutsgründung: „Die Errichtung eines Viruslaboratoriums im Rahmen der Charité dürfte zuerst von Prof. Graffi, Berlin-Buch, angeregt worden sein. Denn obwohl er, wie viele andere, die Hypothese ... über die Virusgenese des Krebses nicht teilte, zeigte er doch großes Interesse dafür. Ein Großteil der Fakultätsmitglieder, besonders der Pharmakologe Jung, der Biochemiker Rapoport, der Gynäkologe Kraatz und der Dermatologe Linser, unterstützen das Projekt eines Viruslaboratoriums. Jedoch der Hygieniker, dessen Lehrbereich neben der Hygiene auch die Vielfalt infektiöser Erreger umfaßte, hielt dieses Projekt für unnötig...“ (Edlinger 1995).

Das Institutsgebäude der Charité-Pharmakologie in der Berliner Dorotheenstraße war im 2. Weltkrieg zerstört worden und der schrittweise und mühselige Wiederaufbau zog sich bis etwa 1956/57 hin (Scheler und Oehme 2002, S. 97–102). Trotz der schwierigen Situation für das eigene Institut stellte Jung in seinem Institutsgebäude großzügig Räume zur Verfügung, damit die Virologie ihre Arbeit aufnehmen konnte. Edlinger schreibt: „So kam es, daß 1956 dieses Laboratorium (für Virologie, d. Verf.) als Abteilung des Pharmakologischen Instituts begann und zwei Kellerräume dort erhielt... Erst die Überlassung eines Stockwerks des Nebengebäudes der Hautklinik erlaubte 1958 die Gründung des Instituts für Virologie...“ (Edlinger 1995).

Jung hat in den fünfziger Jahren sicherlich nicht geahnt, dass durch das Institut für Virologie später auch intensiv die Ursache einer Nieren-

krankheit erforscht werden konnte, die er bereits als kriegsverpflichteter Arzt 1942/43 in Nordfinnland kennengelernt hatte. In seinen Aufzeichnungen aus dieser Zeit heißt es: „Auf dem Hauptverbandsplatz wurde ich dem Internisten zur Seite gestellt, es war dort ähnlich, wie in einem primitiven kleinen Landkrankenhaus mit dem zentralen Problem Feldnephritis und deren unklarer Ätiologie“ (Scheler und Oehme 2002, S. 37). Heute wissen wir, dass von Nagetieren auf den Menschen übertragene Viren, inzwischen Hantaviren genannt, Ursache dieser Erkrankung sind. Und es soll erwähnt werden, dass sich das Institut für Virologie intensiv mit der Diagnostik, molekularen Evolution und Pathogenese von Hantavirus-Infektionen beschäftigt und zum Nationalen Konsiliarlabor für Hantaviren berufen wurde (Krüger et al. 2013).

5. Resumé

Die Beziehung zwischen dem jungen Friedrich Jung und Helmut Ruska, die wohl zwischen 1940 und 1950 am intensivsten war, basierte auf ihrer gemeinsamen Begeisterung für die Einführung unkonventioneller Methoden und Ideen in die biomedizinische Forschung. Die gewaltigen gesellschaftlichen Umbrüche dieses Jahrzehnts reflektierten sich selbstverständlich auch in den persönlichen Lebenswegen beider Wissenschaftler. Und das Instrument, das sie beide zum Studium des Lebendigen nutzten – das Elektronenmikroskop – trug sogar dazu bei, Friedrich Jung zu seinem Weg in den Osten Deutschland zu motivieren. Neben vielen anderen Leistungen hat er hier dazu beigetragen, das Institut für Virologie an der Humboldt-Universität als erster Hochschuleinrichtung dieses Fachgebietes in Deutschland zu gründen.

Literatur

- Anderson TF: Elektronenmikroskopie von Phagen. In: Phagen und die Entwicklung der Molekularbiologie (Hrg.: Cairns J, Stent GS, Watson JD; Hrg. der deutschen Ausgabe: Geissler E). Akademie-Verlag, Berlin, 1972, S. 72–87.
- Bielka H: Geschichte der Medizinisch-Biologischen Institute Berlin-Buch, 2.Aufl., Springer, Berlin, 2002.
- Edlinger E: Erinnerungen an die Institutsgründung. In: Charité-Annalen Neue Folge, Band 13 (Hrg.: Mau H). Akademie Verlag, Berlin, 1995, S. 133–4.

- Gelderblom H, Krüger DH: Helmut Ruska (1908–1973) – his role in the evolution of electron microscopy in the life sciences, and especially virology. *Adv Imag Electr Phys* 2014; 182: 1–94.
- Jung F: Zur Pathologie der roten Blutkörperchen. I. Veränderungen durch einfache physikalische Einwirkungen. *Klin Wochenschr* 1942; 21: 917–22.
- Jung F: Zur Pathologie der roten Blutkörperchen. II. Wirkungen einiger Metallsalze. *Naunyn-Schmiedebergs Arch exp Pathol Pharmakol* 1947a; 204: 139–56.
- Jung F: Zur Pathologie der roten Blutkörperchen. IV. Über die hämolytische Wirkung des Arsenwasserstoffs. *Naunyn-Schmiedebergs Arch exp Pathol Pharmakol* 1947b; 204: 604–14.
- Jung F: Strukturprobleme am roten Blutkörperchen. *Naturwissenschaften* 1950; 37: 229–33.
- Jung F: Über reversible und partielle Hämolyse. *Naunyn-Schmiedebergs Arch exp Pathol Pharmakol* 1952; 215: 568–72.
- Jung F: Innenstrukturen an roten Blutzellen (mit Kunstdruckbeilage). *Dtsch Ges Wesen* 1953; 8: 1558–62.
- Krüger DH, Schneck P, Gelderblom H: Helmut Ruska and the visualisation of viruses. *Lancet* 2000; 355: 1713–7.
- Krüger DH, Ulrich RG, Hofmann J: Hantaviruses as zoonotic pathogens in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110: 461–7.
- Munk K: *Virologie in Deutschland: Die Entwicklung eines Fachgebietes*. Karger, Basel, 1995.
- Ruska H: Versuch zu einer Ordnung der Virusarten. *Ach Ges Virusforsch* 1943; 2: 480–98.
- Ruska H: Die Elektronenmikroskopie in der Virusforschung. In: *Handbuch der Virusforschung, 2. Ergänzungsband* (Hrg.: Doerr R, Hallauer C), Springer-Verlag, Wien, 1950, S. 221–417.
- Ruska H, von Borries B, Ruska E: Die Bedeutung der Übermikroskopie für die Virusforschung. *Arch Ges Virusforsch* 1939; 1: 155–69.
- Scheler W, Oehme P: *Zwischen Arznei und Gesellschaft – Zum Leben und Wirken des Friedrich Jung* (Abhandlungen der Leibniz-Sozietät, Band 8). trafo-Verlag, Berlin, 2002.
- von Borries B, Ruska E, Ruska H: Bakterien und Virus in übermikroskopischer Aufnahme. *Klin Wochenschr* 1938; 17: 921–5.

Friedrich Jung (kommentiert von Peter Oehme)

Wert der Arznei

Vom 20. bis 21. November 1961 fand in Berlin ein nationales Symposium zum Thema „Arzneimittel und Gesellschaft“ statt. Veranstalter waren das Institut für Pharmakologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin und das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Humboldt-Universität zu Berlin. Im Symposium wurden fünf Themenkomplexe behandelt:

1. Arzneimittelentwicklung und -produktion in ihrer gesellschaftlichen Abhängigkeit
2. Arzneimittelverkehr und -standardisierung, Fragen der Gesetzgebung
3. Klinische Erprobung und Einführung von Arzneimitteln
4. Rationalität bei der Arzneimitteltherapie und
5. Nebenwirkungen, Missbrauch und Sucht in ihrer Abhängigkeit von gesellschaftlichen Faktoren.

Die Vorträge einschließlich der Diskussionsbeiträge und Thesen zu dem Symposium wurden von F. Jung, P. Oehme und H. Rein in den Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin im Akademie – Verlag Berlin 1971 veröffentlicht.¹ Den Eröffnungsvortrag hierzu hielt F. Jung zum Thema „*Wert der Arznei*“².

In seinem Vortrag ging Jung auf seinen Lehrer, den Pharmakologen Wolfgang Heubner (1877–1957), zurück. Heubner hatte in seiner Antrittsvorlesung in Heidelberg 1930 dieses Thema gleichfalls behandelt und wie Jung schrieb: „... *zunächst noch um mildes Licht* [Anm. gebeten], *wenn er sich an Fragen der unmittelbaren Nützlichkeit der Wissenschaft wage.*“ Diese Frage von Heubner, ob man überhaupt die Nützlichkeit von Wissenschaft messen solle und wenn ja, wie dann die Nützlichkeit eines Medikamentes zu messen sei, greift dann Jung auf und gibt dazu interessante Antworten. Hierbei geht Jung auf das in der

politischen Ökonomie von Marx und Ricardo bereits intensiv behandelte Verhältnis von 1. Wert und 2. Gebrauchswert eines Produktes ein.

Zuerst setzt sich Jung mit der Wertbemessung eines Arzneimittels auseinander und sagt dazu: „*Jedes Medikament hat seinen Preis in Mark und Pfennig, und ohne Zweifel stellt der Preis ein Wertmaß dar. Wir verwenden dieses Wertmaß – die Arzneimittelkosten – auch im Gesundheitswesen in großem Umfang als Beurteilungskriterium. [...] Aber trägt nicht jenes Wertmaß? Eine intravenöse Einzeldosis Strophantin kostet 20 Pfennig, eine Einzeldosis Embran dagegen mehr als das Dreifache – aber ist nicht jedem von uns klar, daß die Wirksamkeit von Strophantin weit höher ist, als die von Embran.*“ Zu der Bemessung des Wertes eines Arzneimittels sagt Jung weiter: „*Gegenwärtig verwenden wir die Arzneimittelpreise als Richtgrößen für den im Arzneimittel steckenden volkswirtschaftlichen Aufwand [Anm. für Entwicklung, Produktion u.a.]. Das wäre vertretbar, wenn diese Preise durchweg ein echtes ökonomisches Maß für den Herstellungswert darstellen würden.*“ Jung führt aus, dass dem aber nicht so sei. Hinzuzufügen ist, dass diese Aussage heute mehr denn je gilt.

Ausgehend von dieser Einschätzung einer unbefriedigenden Wertbemessung eines Arzneimittels kommt Jung zur Frage der Ermittlung des Gebrauchswertes eines Arzneimittels. Wie könnte man einen solchen Gebrauchswert messen? „*Jedes Mittel hat eine bestimmte physiologische Aktivität. Sie kann Krankheiten verhindern, überwinden oder zumindest günstiger gestalten, sie kann auch lediglich subjektive Qualen beseitigen oder mildern. Jedem Mittel können wir auf dieser Basis einen bestimmten Heilwert zuweisen, der indessen spezifisch für den Charakter der vorliegenden Störung ist. Dieser Heilwert ist im Grunde meßbar, etwa an der Wiederzunahme einer durch die Krankheit verminderten Lebenserwartung, an der Dauer der Arbeitsunfähigkeit, an der Dauer einer Beschwerdefreiheit von quälenden Schmerzen.*“ Er schreibt dann weiter: „*Jedem Heilmittel kommt also eine Summe verschiedener Heilwerte zu, jeweils bezogen auf eine spezifische Indikation. Den Gebrauchswert eines Heilmittels erhalten wir, wenn wir jede dieser Indikationen mit einem Gewicht versehen, das der sozialhygienischen Bedeutung der betreffenden Störung entspricht.*“ Zur damaligen Realität der Ermittlung solcher Heilwerte für Arzneimittel schreibt Jung: „*Wenn ... [Anm. dieser Heilwert] uns im einzelnen unbekannt ist,*

so hängt dieses lediglich mit dem Entwicklungsstand der klinischen Pharmakologie zusammen. Wagen wir uns an das Problem der Therapieoptimierung – also der Lösung der Optimierungsaufgabe innerhalb dieses beschränkten Teilsystems – so benötigen wir jene Heilwerte als Vorgabe ...“ Jung fährt dann fort: „Es wird aber eine Weile dauern, bis wir allgemein zu exakten Aussagen über Heilwerte gelangen.“

Jung fasst dann wie folgt zusammen: „Wollen wir unser System Gesundheitsschutz zu höchster Effektivität bringen, so werden Optimierungsprobleme aktuell. Deren Lösung setzt quantifizierbare Parameter für Aufwandsformen und für die erzielten Leistungen voraus. Solche Parameter stellen für Arzneimittel deren Wert als Ware einerseits, ihren Heilwert bzw. Gebrauchswert andererseits dar. Während der Warenwert relativ einfach zu quantifizieren ist, ergeben sich Schwierigkeiten beim Gebrauchswert, insbesondere, wenn man versucht, ihn auf derselben Wertskala unterzubringen wie den Warenwert.“

Am Ende seines Vortrages kommt Jung auf seinen Lehrer Wolfgang Heubner zurück: „Unser Grundproblem war dasselbe, wir fordern die Festlegung des Wertes der Arznei auf naturwissenschaftlich-logischer Basis. Wir mußten uns trennen, als ich – Marx folgend – dem Arzneimittel einen festen Wert als Ware zuwies. Wir trafen uns wieder bei Bemühungen einen Heil- oder Gebrauchswert zu definieren. Heubner endet in diesem Abschnitt bei den Methoden der Urteilsverfälschung, welche der kapitalistische Produzent dem Arzneimittelkonsumenten gegenüber anwendet und welche eine reale Bewertung schließlich verhindern. Wir können mindestens heute einen klaren Weg angeben, zu diesen Wertbestimmungen zu gelangen, und ich bin überzeugt, wir werden sie in einigen Jahren haben!“ Heubner stellt schließlich in seinem Resumé fest, daß sich von dem düsteren Bild einer gegenwärtigen Therapie leuchtend das ruhige Abwarten, die Behandlung mit „Nichts“ abhebe ... „Dazu ist zu bemerken, dass Heubner seinen Vortrag in der Zeit der Brüningschen Notverordnungen hielt.

Jungs Vortrag mit seinen theoretischen Ansätzen und seinen Forderungen zur Therapieoptimierung fand auf dem nationalen Symposium „Arzneimittel und Gesellschaft“ nicht nur eine gute wissenschaftliche Resonanz, sondern seine Vorschläge flossen auch in die Gesundheits- und Arzneimittelpolitik der DDR ein. Gerade für die jetzige Zeit sind seine Forderungen eine Herausforderung für die Wissenschaft und die

Politik. Aus diesem Grunde ist auch heute nach mehr als 40 Jahren der Vortrag von Jung ebenso wie der ganze Symposiumsband ein empfehlenswerter Fundus.

Literatur

- 1 F. Jung, P. Oehme, H. Rein (Hrsg.) (1971): Arzneimittel und Gesellschaft. Symposiumsbericht. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Akademie Verlag. Berlin.
- 2 F. Jung (1971): Wert der Arznei. In: F. Jung, P. Oehme, H. Rein (Hrsg.): Arzneimittel und Gesellschaft. Symposiumsbericht. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Akademie Verlag. Berlin. S. 3–9.

Hans-Dieter Faulhaber

Friedrich Jung – persönliche Erinnerungen an den akademischen Lehrer und Gesundheitspolitiker

Friedrich Jung lernte ich im Jahr 1956 kennen. Damals war ich Medizinstudent an der Humboldt-Universität und hörte seine Pharmakologie-Vorlesung. Seine Vorlesung fesselte vor allem diejenigen, die nicht unbedingt eine rein systematische Vermittlung des Stoffes liebten, sondern – wie er es selbst formulierte – ‚die Hinführung zum eigenständigen Verarbeiten der Wissensbestände‘ (1) bevorzugten. Damit war sie für ihn auch ein Mittel, uns Studenten über seine wissenschaftlichen Arbeiten zu informieren und Interessierte für eine Mitarbeit zu begeistern. Ein Thema war die elektronenoptische Untersuchung von roten Blutzellen, den Erythrozyten. Die Analyse von biologischen Objekten mittels Elektronenmikroskopie interessierte mich sehr, und bald saß ich mit ihm und einigen anderen Studenten am Elektronenmikroskop, das damals im Keller der Geschwulstklinik der Charité stand. Jung beschäftigte sich seit etwa 1940 mit Veränderungen der Erythrozyten und der Struktur des Hämoglobins durch toxische Substanzen, unter anderen durch Nitroverbindungen, die als Sprengstoffe genutzt werden. Für mich bedeutete das die Bearbeitung eines eigenen Forschungsthemas als Student auf diesem Gebiet und im Weiteren, dass ich damit promovierte und nach dem Studium ab 1960 als Assistent am Pharmakologischen Institut meine erste Anstellung fand.

Bereits als Student, später dann als Mitarbeiter faszinierte mich das breite Wissens- und Arbeitsspektrum von Friedrich Jung. In Verbindung mit seinem eigentlichen Gebiet, der Arzneimittelforschung, wurden molekularbiologische und biophysikalische Themen wie Strukturanalyse von Proteinen, die bereits erwähnten toxikologischen Aufgabenstellungen bearbeitet. Andererseits interessierte ihn genauso das methodische Detail. Sowohl bei der oft notwendigen Reparatur

des störanfälligen Elektronenmikroskops als auch bei der Entwicklung physiologisch-pharmakologischer Apparaturen erlebte ich ihn als begabten Bastler.

Friedrich Jung war aber auch ein fordernder, oft unbequemer Chef. In Erinnerung sind mir die wöchentlichen Arbeitsbesprechungen am Sonnabend, an der regelmäßig die Wissenschaftler aus dem «Stadtinstitut» und der Bucher Arbeitsgruppe teilnahmen – ebenso wie die wöchentlichen Literaturkolloquien. Ohne neue Ergebnisse oder neue Ideen hatte man schlechte Karten. Wissenschaftliche Höhepunkte in diesen Jahren waren die Internationalen Erythrozyten-Symposien, die gemeinsam von Friedrich Jung und Samuel Mitja Rapoport veranstaltet wurden. Daran nahmen die führenden Vertreter des Forschungsgebietes aus der ganzen Welt teil, was Anfang der sechziger Jahre in der DDR nicht die Regel und auf die Reputation der beiden Veranstalter zurückzuführen war. Sie boten uns als junge Wissenschaftler die Möglichkeit, unsere Ergebnisse vor einem internationalen Publikum zu präsentieren und zu verteidigen.

1964 verließ ich das Institut, um im Rahmen der Ausbildung zum Facharzt für Pharmakologie mein klinisches Jahr zu absolvieren. In dieser Zeit wurde mir bewusst, dass ich auch weiter klinisch tätig sein wollte. Ich ging zwar zurück an die Charité, aber nicht ans Pharmakologische Institut, sondern an die II. Medizinische Klinik. Damit verlor ich zunächst den Kontakt zu Friedrich Jung.

Das änderte sich später, etwa ab 1972, als ich von der Charité an das Zentralinstitut für Herz-Kreislauf-Forschung der Akademie der Wissenschaften der DDR in Berlin-Buch wechselte. Klinisch-pharmakologische Arbeiten führten mich in den Zentralen Gutachterausschuss für den Arzneimittelverkehr der DDR (ZGA), dessen Vorsitzender Friedrich Jung seit Anfang der fünfziger Jahre war; zuerst nahm ich teil als Leiter von klinischen Arzneimittelprüfungen, dann als Gutachter zu Herz-Kreislauf-Pharmaka und schließlich als Mitglied des Vorstandes des Ausschusses.

Es war das Verdienst von Friedrich Jung, dass in der DDR eine international anerkannte Arzneimittelgesetzgebung geschaffen wurde, die größtmögliche Sicherheit bei der Arzneimittelanwendung gewährleistete. Dem ZGA oblagen als wichtigste Aufgaben die Gestaltung des Arzneimittelsortiments, damit die Entscheidung über die Registrierung neuer Arzneimittel und die Genehmigung klinischer Prüfungen.

Obwohl der ZGA letztendlich administrativ wirksam wurde, fand ich hier die gleiche streitbare und diskussionsfreudige Atmosphäre vor, die ich schon in früheren Jahren am Institut unter Jung erlebt hatte. Sie war die beste Voraussetzung für das gemeinsame Ergebnis: die ausschließlich vom wissenschaftlichen Erkenntnisstand und nie von ökonomischen Erwägungen geprägten Entscheidungen über die Zulassung von Arzneimitteln oder die Genehmigung klinischer Studien. Sie gewährleisteten ein überschaubares Arzneimittelsortiment, dem nur Wirksubstanzen angehörten, deren Wirksamkeit und Sicherheit nachgewiesen waren.

Mit dem Ende der DDR und der Wiedervereinigung wurde auch der ZGA abgewickelt. Ich kann mich sehr gut an die letzte Sitzung des ZGA im Jahr 1990 erinnern und auch an eine gemeinsame Sitzung mit der Zulassungskommission A der alten Bundesrepublik, die von dem Pharmakologen Ernst Habermann geleitet wurde. Friedrich Jung nahm die letzte Sitzung zum Anlass, Bilanz zu ziehen über eine vierzigjährige erfolgreiche Arbeit des Ausschusses (2). Seine Hoffnung, dass grundsätzliche Ideen des ZGA wie zum Beispiel die Gestaltung des Arzneimittelsortiments oder personelle Erfahrungen und Wissensbestände der Mitglieder des ZGA nach der Wiedervereinigung genutzt werden, erfüllte sich nicht.

Während der Abwicklung des ZGA sahen wir uns häufig. Dann kam 1991 der Spiegelartikel (3), in dem über «Menschenversuche in der DDR im Auftrag westlicher Pharmakonzerne» geschrieben wurde. Die dort aufgestellten Behauptungen zu klinischen Studien waren schlichtweg unrichtig und diffamierten Ärzte der ehemaligen DDR. Wir verfassten eine gemeinsame Stellungnahme, in der wir aus Sicht des ehemaligen ZGA die Dinge richtig stellten – vor allem betonten, dass kommerzielle Fragen nie – in keinem Fall – die Genehmigung klinischer Studien beeinflusst hatten. Im Übrigen kam eine vom Berliner Senat eingesetzte Untersuchungskommission unter Leitung von Frau Ruth Mattheis, der Vorsitzenden der Berliner Ethikkommission, zu dem Ergebnis, dass die gesetzlichen Bestimmungen der DDR nicht hinter den Regelungen des bundesdeutschen Arzneimittelgesetzes zurückblieben, in einzelnen Punkten sogar darüber hinausgingen und die Studien korrekt durchgeführt wurden (4, 5).

In den folgenden Jahren bis zu seinem Tod sahen wir uns regelmäßig. Die Themen unserer Gespräche waren – wie es bei Friedrich

Jung nicht anders sein konnte – breit gefächert und für mich immer bereichernd. Sie betrafen auch intellektuell fördernde Computerspiele, vor allem aber seine wechselvolle Lebensgeschichte, die Medizin und – natürlich – die Zukunft der Arzneimittelforschung.

Literatur

- (1) Scheler W, Oehme P: Zwischen Arznei und Gesellschaft. Zum Leben und Wirken des Friedrich Jung. Abhandlungen der Leibniz-Sozietät, Band 8 (Hrsg. H. Hörz), trafo Verlag Berlin (2002), S. 99
- (2) Ebenda: S. 124–126
- (3) Der Spiegel 1991, Heft 6:S. 80–90
- (4) Klemmt S, Büttner A, Reisinger EC: Klinische Prüfung von Arzneimitteln in DDR und BRD. Unterschiedliche Rechtsrahmen. Dtsch. Ärzteblatt 111(46); 2014: A2008–2012
- (5) Bettin H, Tanneberger S: Wortmeldung zum Thema: Arzneimittelprüfung in der DDR. www.leibniz-sozietat.de/meinungsaussuerung-zum-thema-arzneimittelpruefung-in-der-ddr/

Stephan Tanneberger (Bologna)

Was würde Fritz Jung zur „Personalisierten Medizin 2015“ sagen?

Erlauben Sie mir, den Herausgebern dieses Bandes dafür zu danken, dass auch ein „Kliniker“ an der Ehrung von Fritz Jung mitwirken darf. Grund dafür gibt es wohl genug. Jung war ein Pharmakologe mit ganz außergewöhnlichem Verständnis für die Realitäten der Klinik. Das weiß ich aus vielen persönlichen Gesprächen zu den so komplizierten Problemen bei der Einführung neuer Arzneimittel. Er war einer der verstanden hatte, dass es eben nicht genug ist, immer neuere, feinere Regeln und Bestimmungen der Arzneimittelzulassung zu verfassen, sondern dieses so komplizierte Problem im Sinne der Patienten zu bewältigen. Man kann eben zu einem Schwerkranken gehen und dabei die letzten Guidelines und wortreiche ethische Artikel in der Hand halten, aber man kann, muss vielleicht manchmal auch anders gehen. Weil man da in verzweifelte Augen schaut, die sagen: Mir ist alles egal, nur leben will ich. Für meine Kinder und meine Frau, die draußen auf dem Gang weint.

Aber Verständnis für die Klinik ist nicht alles, was Fritz Jung auszeichnete. Er hat bei all seinen oft komplizierten Aufgaben immer Ehrlichkeit und Wissenschaftlichkeit bewiesen. Seine Verweigerung der Contergan Zulassung in der DDR beweist das. Dabei war er nie ein Dogmatiker. Nicht immer leicht. Es war kalter Krieg und der schloss auch die Pharmaindustrie nicht aus. Aber auch in der Medizinobrigkeit der DDR saßen nicht nur edle Menschenfreunde. Fritz Jung hat es immer verstanden, die Interessen der Patienten in den Mittelpunkt zu stellen.

Das alles hätte jedoch sicher nicht gereicht, in den vielen komplizierten Situationen, die das Leben für Fritz Jung bereit hielt. Er war auch mutig. Sehr mutig! Nicht immer leicht und nach 1990 kei-

neswegs leichter. Da gab es ja genug, die ganz schnell lernten, was man schon seit fünf Jahrhunderten in Deutschland kennt: „Wes' Brot ich ess', des' Lied ich sing“. Und dazu gehörte es offenbar auch, ein neues Lied über die Zeit zwischen 1970–1990 zu singen. Ohne Skrupel wurde von Leuten, die es besser wussten, die weltweit anerkannte Arbeit der fast tausend Mitarbeiter des Zentralinstituts für Krebsforschung (ZIK) ignoriert und abgewertet. Dabei war schon 1980 der Wissenschaftsminister der BRD von diesem Institut sichtlich angetan und kritisierte in dem Zusammenhang das bundesdeutsche Heidelberger Krebsforschungszentrum mit deutlichen Worten (1). Das ZIK war seit 1983 ein weltweit geschätztes WHO Collaborating Center, dem der Präsident der Deutschen Forschungsgemeinschaft nach seinem Besuch 1988 „eindrucksvolle Leistungsfähigkeit“ bescheinigte (2).

Fritz Jung war keiner, der vergaß, wofür er in der DDR gelebt hatte. Vor mir liegt ein langer Brief vom 17. Mai 1997 in dem er mich ermuntert nicht nachzugeben und „den sehr aktiven Versuch der derzeit herrschenden politischen Kräfte, unsere einstigen Leistungen vergessen zu lassen“, nicht hinzunehmen. Besonders bedrückt hat ihn dabei die „Erinnerungsarbeit“ in Zusammenhang mit der „Ortschronik“ von Berlin-Buch!

Getreu seinem Fach und dem Wissen um das hohe Niveau der Krebsforschung in Berlin-Buch hat sich Fritz Jung auch ganz nachdrücklich mit der Betrugsaffäre um Friedhelm Herrmann und Marion Brach auseinander gesetzt. Er nennt es in seinem Brief „bedrückend, daß solcher wissenschaftlicher Betrug unter den Nachfolgern von Gummel, Graffi und Tanneberger im Max-Delbrück-Zentrum (MDC) Raum gegriffen“ hat. Gleichzeitig schlug er mir damals vor, den Verantwortlichen meine Hilfe anzubieten. Habe ich getan. Leider war mein Bemühen in dieser Richtung erfolglos (3).

Alles das kann vielleicht Hilfe sein, dem Titel dieses Artikels verantwortungsbewusst nachzugehen. Sicher bin ich mir dabei, daß Fritz Jung nicht vergessen würde, am Anfang daran zu erinnern, dass an der Idee „personalisierte Medizin“ bereits 1964 in Berlin-Buch gearbeitet wurde. Wir nannten das damals „individualisierte Therapie“. Sehr bald schon wurde der Begriff Onkobiogramm geprägt (4, 5).

Unser Vorbild war dabei irgendwie die Therapie mit Antibiotika. Dort läuft das gut und vernünftig, dachten wir. Fritz Jung war dabei

ein treuer und kluger Partner. Natürlich arbeiteten wir mit den zellbiologischen Methoden der damaligen Zeit. Nach fast zwanzig Jahren Forschung dann die Ergebnisse (6,7). Viel gelernt haben wir. Vor allem über die Biologie bösartiger Geschwülste. Tumoren sind sehr heterogen. Sorgfältiges „sampling“ ist gefragt, wenn man deren Biologie erforscht. Trotzdem bleibt das Problem. 2007 bestätigte Hutchinson unsere Auffassung mit der Einschätzung: „Auch mit den höchstentwickelten Technologien unserer Tage sehen wir nur einen Schnappschuss des dynamischen Prozesses der Kanzerogenese“(8). Noch etwas haben wir begriffen. Krebs ist ein „Fehler der Biologie“. Es gibt keine Biologie ohne Fehler. Und je älter ein biologisches System wird, umso größer ist die Fehlerwahrscheinlichkeit. Schlussfolgerung: Krebs im Alter ist keine Krankheit, sondern ein Teil des Alters (9). Daran sollten wir vielleicht denken, wenn wir heute von personalisierter Medizin reden. Hauptsache bei der Personalisierung ist es, an das

Alter der Patienten zu denken. Neue klinische Ansätze wie „watchfull waiting“ tragen dem Rechnung (10).

So wie mir und anderen Klinikern, wäre Fritz Jung wohl manches unklar bei den aktuellen Ankündigungen, „das Krebsproblem mittels personalisierter Medizin zu lösen“. Medizin, das ist doch viel mehr als „targeted treatment“. Das ist Prävention, Diagnostik, Therapie, palliative Betreuung. Aber da gibt es in der Onkologie keineswegs große Fortschritte, sondern wachsende Mängel. Die können wir jedoch nicht damit lösen, dass wir jedem in den Ausweis sein DNS Muster schreiben und daran seine Krankenversicherung festmachen. Sicher zu Recht sind Genomic Health Oncotype DX und mammaprint bisher kein Bestandteil klinischer Routine. Das Gebiet ist viel komplexer, als so mancher gehofft hat (11). Und wollen wir denn noch weiter zu sehen, wie manche Patienten ständig von „einer Röhre“ in die andere geschoben werden und andere monatelang auf einen Facharzttermin warten müssen (12)? Fritz Jung würde wohl auch nachdenklich die Stirn runzeln, wenn er sieht, was personalisierte Medizin kostet. Gegenwärtig sind bei nahezu identischem 5-Jahre-Überleben die Gesundheitsausgaben in Deutschland fast doppelt so hoch wie in anderen europäischen Ländern wie Österreich, Italien oder England. Nicht einkalkuliert sind dabei die mitunter notwendigen privaten Zahlungen. Diese können sich auf 50 000 Euro und mehr belaufen. Ich kann mich

an Patienten erinnern, deren Familien Hab und Gut verkauften um einen geliebten Menschen „zu retten“. Nicht zuletzt deshalb würde es Fritz Jung begeistert haben, wenn er von der in den USA gestarteten Initiative „choosing wisely“ gehört hätte und es würde ihm gefallen, dass dafür 2015 von der Gesellschaft für Innere Medizin ein Spitzenplatz eingeräumt wurde (13).

Im Mittelpunkt der personalisierten Medizin steht bei Krebs gegenwärtig die sogenannte „targeted-treatment“. Ausgehend von der Suche nach einem jeweils spezifischen Antigen wird eine targeted-Immuntherapie entwickelt und schnellstmöglich auf den Markt gebracht. Gekoppelt ist das mit sehr intensiven publizistischen Aktivitäten. 1997 bis 2007 hat sich die Zahl der Publikationen beim Mammakarzinom verachtfacht und beim Dickdarmkarzinom verdreifacht. Die Ergebnisse dieser Strategie sind bisher keineswegs überzeugend. Das 5-Jahre-ÜL der Patienten stieg 1997–2007 beim Mammakarzinom wie auch beim Dickdarmkarzinom um nicht mehr als 3–4% an. Hutchinson meint deshalb sehr zu recht: „Viel Übertreibung und Optimismus herrscht durch den Einzug der targeted Therapien. Berücksichtigt man die biologische Heterogenität und die kontinuierliche Evolution eines Tumors, ist es nicht überraschend, dass eine Behandlung mit targeted-treatment viele Patienten nicht heilt“ (8).

Fritz Jung war bei allem nie ein Pessimist. Nach neuen Wegen suchen, Ideen haben, darum ging es ihm. Deshalb würde er uns vielleicht auch überzeugt zu neuen Wegen ermutigen. Aktuell steht die Frage an, weshalb die Fortschritte der Tumorummunologie ausschließlich im Sinne von Therapie genutzt werden. Inzwischen werden hunderte neuer Immuntherapeutika für Krebs angeboten. Bedauerlicherweise wird dabei vergessen, dass Immunprävention des Krebses eigentlich viel logischer ist. Die Natur macht uns doch vor, dass biologische Fehler biologisch korrigiert werden. Nachdem unsere Studie über Tumornekrosefaktor den Skeptizismus betreffend Immuntherapie vergrößert hatte, waren wir sehr davon überzeugt, dass die Behandlung von Präneoplasien und Immunprävention erfolgversprechende Denkansätze sind (14). Die ersten Ergebnisse über Anti-Fas Antikörpern bei kolorektalen Adenomen bestätigen das. Fritz Jung hätte uns sicher auf diesem Weg begleitet (15). Gesagt hätte er uns dabei bestimmt, dass die pharmazeutische Industrie natürlich viel mehr an therapeutischen Neuerun-

gen interessiert ist. Den Nutzen von Prävention nachzuweisen kostet viel Geld und dauert lange.

Ist das alles, was man sagen kann? Ist das alles richtig? Sehr sicher bin ich mir bei einem letzten Thema. Für eine erfolgreiche medizinische Forschung bedarf es Frieden in der Welt und eine Medizin, die das ganz alltägliche Wohl der Patienten in den Mittelpunkt stellt. Über modernste Technologien und teure Medikamente hinaus brauchen diese Eubiosie, das bedeutet Würde und Schmerzfreiheit. Darüber haben wir gerade in „The Oncologist“ geschrieben (16, 17) und dabei daran gedacht, dass wir in einer Welt leben, die derzeit jährlich 1747 Milliarden Dollar für Krieg und Rüstung ausgibt (18). 10 Milliarden würden reichen, um allen Krebspatienten ein Leben in Eubiosie zu sichern. Diesen bedrückenden Widerspruch würde Fritz Jung bestimmt auch unerträglich finden.

Literatur

1. Keine Berührungängste. Bild der Wissenschaft 7; 1980
2. Hubert Markl. Eintrag in das Gästebuch des Zentralinstituts für Krebsforschung Berlin-Buch vom 22.12.1988
3. Briefwechsel Tanneberger und Gesundheitsminister Horst Seehofer vom 22.09.1994
4. Tanneberger S, Bacigalupo G. The use of cell cultures for the determination of the sensitivity of human tumours to cytostatic agents. Dtsch.Geswesen 22(1); 1967
5. Tanneberger S, Bacigalupo G. Einige Erfahrungen mit der individuellen zytostatischen Behandlung maligner Tumoren nach prätherapeutischer Zytostatika-Sensibilitätsprüfung in vitro (Onkobiogramm). Arch. Geschwulstforsch. 35(1): 44–53; 1970
6. Tanneberger S, Nissen E, Schällicke W. Prediction of Drug Efficacy Potentialities and Limitations. In: B.W. Fox (Ed) Advances in Medical Oncology, Research and Education Vol 5. Pergamon Press Oxford, New York 1979
7. Tanneberger S, Nissen E. The role of in Vitro Techniques in Assessing Antineoplastic Therapeutic Activities in Cancer Treatment. in: Davis W, Maltoni C, Tanneberger S. (Eds) The control of tumour growth and its biological basis. Martinus Nijhoff Publishers 1983

8. Hutchinson L. Targeted therapies: the answer to individualized treatment? *Nature Clinical Practice Oncology* 4 (6): 323, 2007
9. Tanneberger S, Pannuti F. *Krebs im Endstadium*. W. Zuckschwerdt Verlag München, Wien, New York 2001
10. Hegarty J, Beirne PV, Walsch E et al. Radical prostatectomy versus watchfull waiting for prostate cancer (Review). *Cochrane Library* 2010, Issue 11 c f99
11. Wagstaff A. Reading the signs. The role of genomic signatures in guiding treatment decisions. *Cancer World* March/April 2011: 23
12. SternTV. Der Wartezeitentest bei Deutschlands Fachärzten. 07.01.2015
13. 121. Kongress der Gesellschaft für Innere Medizin 2015, Mannheim; 1. Kongress Newsletter
14. Tanneberger S, Pannuti F. Disillusionments and hopes in the field of biological response modifier. *Anticancer Res.* 13:185–192; 1993
15. Reipert B, Tanneberger S, Pannetta A et al. Increase in autoantibodies gainst Fas (CD95) during cancerogenesis in human colon: a hope for immunoprevention of Cancer. *Cancer Immunol.Immunother.* 54: 1038–1042; 2005
16. Tanneberger S. International collaboration and the importance of Eubiosia. *The Oncologist* 20:86–87; 2015
17. Dizon Don S. Toward Eubiosia: Bridging Eubiosia and Palliative Care. *The Oncologist* 20:1–2; 2015
18. SIPRI Yearbook 2014, Stockholm

Gerhard Banse

Laudatio zum 80. Geburtstag von Gisela Jacobasch

Liebe Gisela Jacobasch,

am 04. Februar dieses Jahres war Dein 80. Geburtstag. Wir gratulieren an dieser Stelle nachträglich offiziell ganz herzlich dazu.

Bei derartigen runden Geburtstagen ist es angebracht, auch noch einmal auf das Leben der Jubilare beschreibend und würdigend zugleich zurückzublicken.

Gisela Jacobasch kam 1935 in der Freien Stadt Danzig zur Welt. Ende März 1945 konnten ihre Mutter und sie aus der brennenden Stadt auf einem kleinen Flusssdampfer über die Ostsee entkommen. Fünf Jahre verbrachte sie danach in Schwerin, bevor sie 1950 nach Berlin kam. Hier schloss sie an einer Oberschule in Prenzlauer Berg ihr Abitur ab und erhielt eine Zulassung zum Studium an der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin.

Nach dem Staatsexamen hatte sie die Möglichkeit, bei Samuel Mitja Rapoport eine Facharztausbildung für Biochemie durchzuführen. In diesem Fach promovierte sie auch an der Medizinischen Fakultät. Ihre Habilitation erfolgte dann an der Biowissenschaftlichen Fakultät der Humboldt-Universität. Danach wurde sie 1974 zum Ordentlichen Professor berufen und war Stellvertretende Direktorin des Institutes für Biochemie an der Charité.

Mehr als 35 Jahre lang bildete sie Tausende von Studenten der Medizin, der Chemie und der Biologie im Fach Biochemie aus, wobei sie sich für die Einführung neuer Formen der Ausbildung engagierte.

Schwerpunkte des Forscherteams von Gisela Jacobasch waren die Aufklärung von Grundprinzipien der Regulation von Stoffwechselwegen in roten Blutzellen. Außerdem baute sie am Institut für Biochemie ein Zentrum zur Diagnostik für spezifische genetisch bedingte Erkran-

kungen auf, die hämolytische Anämien verursachen. Diese Arbeiten wurden in internationaler Zusammenarbeit mit Hämatologen und Kinderärzten durchgeführt und bildeten die Grundlage für therapeutische und präventive Maßnahmen.

Frau Jacobasch engagierte sich intensiv auch um die postgraduelle Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses. Über 120 Absolventen wurden von ihr bei der Durchführung ihrer Diplom-, Promotions- und Habilitationsarbeiten bis zum Abschluss betreut.

Die „Wendezeit“ brachte dann auch für Gisela Jacobasch gravierende Veränderungen. 1992 wurde sie vom Dekan der Medizinischen Fakultät als Stellvertretende Institutsdirektorin des biochemischen Instituts abberufen, arbeitete jedoch dort weiter als Professorin alten Rechts. 1995 nahm sie die ihr angebotene Position als Leiterin der Abteilung für Präventiv-medizinische Lebensmittelforschung am neu gegründeten Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke an. Im Mittelpunkt ihrer Forschungen standen dort die Wechselbeziehungen zwischen dem Stoffwechsel der intestinalen Bakterien und dem Gesamtorganismus. Hierzu gehörten auch Untersuchungen zu Wirkmechanismen von resistenter Stärke und von ausgewählten Flavonoiden bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und von Darmkrebs. Das führte zur Anmeldung mehrere Patente.

Ihre Forschungsergebnisse hat Gisela Jacobasch in rund 400 Vorträgen und knapp 200 Publikationen, darunter mehrere Monografien und Lehrbuchbeiträge, veröffentlicht. Auf das im Jahr 2013 erschienene Buch „Flavonoide – ein Geschenk der Pflanzen“ (vgl. Jacobasch 2013), in dem in origineller Weise die Wirkungsmechanismen dieser interessanten und für die Ernährung wichtigen Polyphenole beschrieben werden, wird heute sicher noch näher eingegangen werden.

Damit kann ich zu einem weiteren Bereich des Engagements von Gisela Jacobasch überleiten: Im Jahr 1997 wurde sie zum Mitglied der damaligen Klasse für Naturwissenschaften, heute Klasse für Naturwissenschaften und Technikwissenschaften, der Leibniz-Sozietät gewählt. In unserer traditionsreichen Gelehrten-gesellschaft, deren Präsident damals ihr hochgeschätzter Lehrer Samuel Mitja Rapoport war, hat sie vielfältige inhaltliche und wissenschaftsstrategische Aktivitäten entfaltet, die ich hier nicht in aller Ausführlichkeit und Umfänglichkeit darstellen kann. Verwiesen sei lediglich auf

- ihre langjährige Tätigkeit im erweiterten Präsidium, in dem sie sich vor allem für Zuwahlen im medizinischen Bereich stark gemacht hat;
- ihr Wirken in Vorbereitung des Akademischen Festaktes anlässlich des 100. Geburtstags von Ingeborg Rapoport und Mitja Rapoport gemeinsam mit der Charité im Jahre 2012 (vgl. Jacobasch/Gross 2013);
- ihre Vorträge in Klasse und Plenum, etwa „Die gesundheitsfördernde Wirkung von Flavonoiden“ (2005; vgl. Jacobasch 2005), „Übergewicht und Fettsucht: gesundheitliche und ökonomische Konsequenzen“ (2007; vgl. Jacobasch 2008) und „Herausforderungen und Perspektiven in der Medizin“ (2010; vgl. Jacobasch 2011); zu nennen ist auch ihr Festvortrag auf dem Leibniz-Tag 2005 „Ernährung, Kolitis und Krebsrisiko im Dickdarm“ (vgl. Jacobasch 2006);
- ihr Engagement im Rahmen der vom Berliner Senat finanzierten Projekte mit dem Teilprojekt „Medizin und Gesellschaft. Flavonoide – Bedeutung und Nutzung für die Prävention chronischer Erkrankungen“ (2010/2011), aus dem das bereits genannte Buch hervorgegangen ist.

Liebe Gisela Jacobasch, ich wünsche Dir für die Zukunft eine gute und stabile Gesundheit sowie weiterhin viel Kraft und Freude an und in der Arbeit und uns für die kommenden Jahre, dass Deine persönliche und wissenschaftliche Ausstrahlungskraft noch lange erhalten bleibt.

Literatur

- Jacobasch, G. (2005): Die gesundheitsfördernde Wirkung von Flavonoiden. In: Leibniz Online, Jg. 1, H. 1, S. 1–7. – URL: <http://leibnizsozietat.de/wp-content/uploads/2012/11/06-jacobasch.pdf> [07.03.2015]
- Jacobasch, G. (2006): Ernährung, Kolitis und Krebsrisiko im Dickdarm. In: Sitzungsberichte der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften, Bd. 83, S. 47–72
- Jacobasch, G. (2008): Übergewicht und Fettsucht: gesundheitliche und ökonomische Konsequenzen. In: Sitzungsberichte der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften, Bd. 95, S. 5–21

- Jacobasch, G. (2011): Herausforderungen und Perspektiven in der Medizin.
In: Sitzungsberichte der Leibniz-Sozietät der Wissenschaften, Bd. 109,
S. 143–155
- Jacobasch, G. (2013): Flavonoide – ein Geschenk der Pflanzen. UNI-MED
Verlag AG, Bremen-London-Boston
- Jacobasch, G.; Gross, J. (Hg.) (2013): Akademischer Festakt anlässlich des
100. Geburtstages von Prof. Dr. Ingeborg Rapoport (* 2.9.1912) und Prof.
Dr. Mitja Rapoport (27.11.1912–7.7.2004). Berlin (Sitzungsberichte der
Leibniz-Sozietät der Wissenschaften, Bd. 115)

Gisela Jacobasch

Hochspezialisierte Diagnostik, Prävention und Therapie bei Patienten mit hämolytischen Anämien verursacht durch genetische Defekte

Der Begriff personalisierte Medizin hat in den letzten Jahren sowohl auf Grund wissenschaftlicher Erkenntnisse als auch merkantiler Interessen von Pharmafirmen an Aktualität gewonnen. Dass eine gleiche Grunderkrankung bei Patienten zu unterschiedlich schwerer klinischer Symptomatik führen kann, lässt sich am anschaulichsten bei monogenetisch bedingten Erkrankungen veranschaulichen, die von Mutationen in unterschiedlichen Abschnitten eines Gens hervorgerufen werden. An zwei Beispielen aus der eigenen Arbeit möchte ich aufzeigen, wie wichtig es ist, familienspezifische Charakteristika von genetischen Erkrankungen zu erkennen und die erhaltenen Befunde zielgerichtet bei präventiven und therapeutischen Maßnahmen zu berücksichtigen. In dieser Arbeit möchte ich das Problem am Beispiel von zwei Enzymopathien, der Glukose-6-phosphatdehydrogenase (G6PD) und der Pyruvatkinase (PK) erläutern (**Abb. 1**). Die G6PD katalysiert die Schlüsselreaktion im oxidativen Pentosephosphatweg. Bei der biologischen Oxidation von G6P wird NADP zu NADPH + H⁺ reduziert. NADPH kann mit Hilfe des Glutathionsystems oxidativen Schäden in den Zellen vorbeugen, ist erforderlich für die Synthese von Fettsäuren und Steroiden sowie für Abwehrmechanismen wie z. B. den oxidativen Burst der Granulozyten, bei dem Wasserstoffperoxid gebildet wird. Außerdem entstehen über den nicht oxidativen Teil des Pentosephosphatweges Ribosephosphate, die ebenfalls für Synthesen genutzt werden. Über die Produkte Fruktose-6-phosphat und Glyzerinaldehyd-3-phosphat gewinnt der Pentosephosphatweg wieder Anschluss an die Glykolysesequenz. Die Pyruvatkinase katalysiert dagegen im Glukosestoffwechsel die irreversible Umwandlung von Phosphoenolphosphat (PEP) zu Pyruvat un-

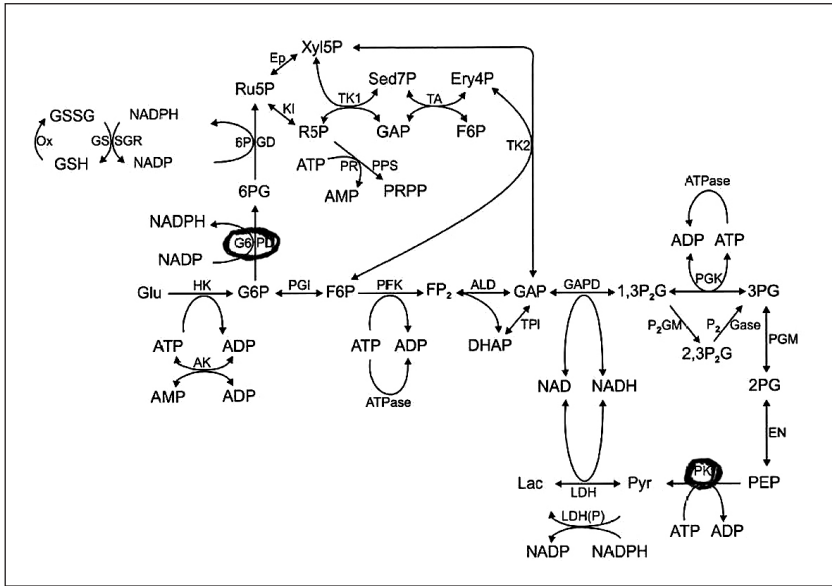


Abb. 1: Stoffwechsel der Erythrozyten

Irreversible Reaktionen sind mit einem Pfeil, reversible mit einem Doppelpfeil gekennzeichnet

ter gleichzeitiger Substratphosphorylierung von ADP zu ATP. Das ist möglich, da das Enolphosphat eine energiereiche Bindung enthält. Außerdem nimmt das Enzym Einfluss auf die Höhe des 2,3-Bisphosphoglyzeratspiegels, wodurch die Sauerstoffabgabe aus Oxy-Hämoglobin an die Gewebe variiert werden kann. Beide Enzyme benötigen aber zur Substratbereitstellung dasselbe Schlüsselenzym am Beginn beider Stoffwechselwege, die Hexokinase, die Glukose zu G6P phosphoryliert. Die Kontrollstärke dieses Enzyms bestimmt unter normalen Bedingungen die Geschwindigkeit der G6P-Bildung. Dadurch können Störungen in einem der Wege sich auch auf den Substratumsatz in der nicht direkt von einem Defekt betroffenen Sequenz auswirken.

G6PD-Enzymopathien

Das G6PD-Gen ist auf dem X-Chromosom im q28 Bereich lokalisiert. Es umfasst 18,5kb und enthält 13 Exons. Isoenzyme existieren für das Enzym nicht. Prinzipiell sind deshalb von einem genetischen Defekt die Zellen aller Gewebe betroffen. Ob dieser jedoch zu Stoffwechselstörungen führt, hängt zum einen davon ab, in wie weit durch eine Neubildung des Enzyms der Defekt kompensiert werden kann und zum anderen davon, wie hoch der NADPH-Bedarf der Zellen ist.

Hemizygoter Merkmalsträger einer G6PD-Enzymopathie sind auf Grund der X-chromosomalen Lokalisation des Enzyms immer männliche Probanden. Weibliche weisen dagegen ein Zellmosaik auf, da nur eines der zwei X-Chromosome in den Zellen aktiv bleibt. Da die Abschaltung des 2. X-Chromosoms in den Zellklonen stochastisch erfolgt, kann der Anteil der defekten Zellen unterschiedlich groß sein. Schwarzafrikaner weisen generell einen Basenaustausch von Adenin zu Guanin im Nukleotid 376 auf, was jedoch keine funktionellen Konsequenzen hat. Diese Form wird als GdA bezeichnet, die der Weißen als GdB (1).

Identifiziert und charakterisiert wurden von uns G6PD-Varianten von Defekträgern aus der DDR, Polen, der CSSR, der UdSSR, dem Libanon, Vietnam und Uganda. Die Reinigung der G6PD-Varianten erfolgte aus roten Blutzellen durch eine Affinitätschromatographie unter Verwendung von 3`5`ADP-Sepharose 4B und spezifischer Elution mit NADP (2). Genomische DNA wurde aus gefrorenem EDTA-Blut mit dem DNA-Extraktions-Kit „Nucleon“ von Scotlab gewonnen. Die komplette kodierende Sequenz und Teile aller Introns des G6PD-Gens wurden in 5 Segmenten mittels PCR amplifiziert. Die Sequenz, Mutationen und Polymorphismen wurden durch die Standard Dioxyssequenzierung der PCR-Fragmente erfasst (3). Die Analyse von Haplotypen erlaubte Aussagen über die gemeinsame Herkunft, die Drift und Selektion von Mutationen. Von den 6 bekannten stillen polymorphen Mutationen der G6PD waren bei den von uns untersuchten G6PD-Defekträgern nur 1311 C-T Austausche nachweisbar. In der **Tab. 1** sind einige hämatologische Daten, kinetische Parameter, die Basenaustausche im G6PD-Gen und die daraus resultierenden Veränderungen in der Aminosäuresequenz der G6PD-Varianten sowie der Schweregrad der hämolytischen Anämie von Patienten aus verschiedenen Ländern

Tab. 1: Hämolytische Befunde bei Trägern unterschiedlicher G6PD-Varianten verschiedener Länder

| Patient | Vmax nkat/ml Zellen | Km G6P μmol/l | Ery 10 ¹² /l | Reti % | MCV fl | Variante | Exon | SG |
|----------------------|---------------------------|---------------------|----------------------------|--------------|-------------------|--------------------------|------|-----|
| DDR | | | | | | | | |
| Berlin | 1 | 249 | 3,0 | 13,0 | 112 | n.b. | | I |
| Ohrdruf | 0,2 | 152 | 3,1 | 32,0 | 119 | 1139T → A, 380Ile → Asn | 10 | I |
| Forst | 0,4 | 40 | 2,9 | 30,0 | 117 | 1006A → T, 936Th3 → Ala | 9 | I |
| Roßlau | 0,4 | 155 | 2,6 | 17,0 | 111 | del CAT102-104, de Ile35 | 2 | I |
| Rostock | 0,8 | 115 | 3,5 | 3,6 | 99 | 1010T → C, 337Phe → Ser | 9 | I |
| Ribnitz | 0,7 | 121 | 3,7 | 7,3 | 108 | 1385 G → C, 462Trp → Ser | 12 | I |
| Brandenburg | 1,0 | 73 | 3,6 | 9,9 | 102 | 1246G → A, 416Glu → Lys | 10 | I |
| Sachsen1 | 0,8 | 64 | 3,8 | 5,9 | 106 | 496C → T, 166Arg → Cys | 5 | I |
| Bad Kösen | 0,7 | 60 | 4,2 | 6,8 | 99 | 1356C → A, 452Phe → Leu | 11 | II |
| Lichtenberg* | 0,8 | 17 | 4,3 | 2,0 | 92 | 1003G → A, 335Ala → Thr | 9 | II |
| CSSR | | | | | | | | |
| Bratislava | <1 | 480 | 2,8 | 18,9 | 118 | 1160G → A, 387Arg → His | 10 | I |
| Proch. | 1 | 56 | 4,3 | 2,5 | 90 | 1343G → C, 448Ser → Thr | 11 | II |
| Pet. | 5 | 85 | 4,1 | 3,2 | 97 | 463C → G, 155His → Arg | 4 | II |
| Zaz.** | <1 | 63 | 3,8 | 2,1 | 97 | 1003G → A, 335Ala → Thr | 11 | II |
| UdSSR | | | | | | | | |
| Georgien1** | <1 | 28 | 4,5 | 2,0 | 91 | 563C → T, 188Ser → Phe | 6 | II |
| Georgien2* | <1 | 43 | 4,7 | 1,9 | 90 | 1003G → A 335Ala → Thr | 11 | II |
| Russ/Kasach | <1 | 15 | 4,1 | 2,7 | 90 | 563C → T, 188Ser → Phe | 2 | II |
| Libanon | | | | | | | | |
| Libanon1** | 2 | 25 | 4,5 | 4,3 | 91 | 563 C → T, 188Ser → Phe | 6 | II |
| Libanon2** | 1 | 15 | 4,6 | 3,8 | 90 | 563 C → T, 188Ser → Phe | 6 | II |
| Vietnam | | | | | | | | |
| Ho*** | 1 | 54 | 4,5 | 2,0 | 90 | 1388 G → A, 463Arg → His | 12 | |
| Ha*** | 1 | 69 | 4,3 | 2,1 | 89 | 1388 G → A, 463Arg → His | 12 | II |
| Hay*** | <1 | 60 | 4,5 | 2,0 | 70 | 1388 G → A, 463Arg → His | 12 | II |
| Schwarzafrika | | | | | | | | |
| Mosambique1 | 2,5 | 46 | 2,2 | 2,0 | 73 | G6PD-defekt + Fe-Mangel | | |
| Uganda22 | 3,6 | 145 | 5,2 | 3,6 | 79 | 968 T → C, 323Leu → Pro | 9 | II |
| Uganda5 | 3,6 | 129 | 4,5 | 3,7 | 91 | 968 T → C, 323Leu → Pro | 9 | III |
| Uganda11 | 4,1 | 99 | 3,9 | 7,0 | 84 | 202 G → A, 68Val → Met | 4 | III |
| Uganda20 | 4,4 | 81 | 4,7 | 2,6 | 88 | 680 G → T, 273Arg → Leu | 9 | III |
| Uganda24 | 5,2 | 87 | 4,9 | 2,2 | 86 | 202 G → A, 68Val → Met | 4 | III |
| Uganda4 | 5,0 | 33 | 4,0 | 2,6 | 88 | Mittelmeer-ähnliche Var. | | |
| Kontrolle | 39,8 ±2,3 | 66,7 ±7,8 | 5,2 | <1 | 87 ±3,1 | | | |

SG-Schweregrad; *Chatham, **entspricht der Variante Mittelmeer, ***Anant

zusammengefasst. Die Halbwertszeiten für die roten Blutzellen belegen dem unterschiedlichen Schweregrad der Anämie bei den Patienten. Parallel dazu verhalten sich der Anteil der Retikulozyten und die Größe der Blutzellen (MCV-Wert). Auch die Bilirubinkonzentration im Blutplasma korreliert erwartungsgemäß mit dem Schweregrad der Erkrankung. Diese Befunde führten zu der Vermutung, dass der Anteil an familienspezifischen Mutationen groß ist, was experimentell bestätigt wurde. Bei der Mehrzahl der deutschen Defektträger wurden bis dahin unbekannte familienspezifische G6PD-Mutationen nachgewiesen.

Nach der WHO-Klassifikation von 1967 wird der entsprechende Schweregrad der Erkrankung in 4 Klassen unterteilt (1). Träger von G6PD-Varianten der Klasse I zeigen die schwerste chronische nicht-sphärozytäre hämolytische Anämie (NSHA), hohe Retikulozytenwerte und häufig auch Funktionseinschränkungen in anderen Geweben. Der Schweregrad I resultiert hauptsächlich aus Punktmutationen, die in den Exons 9, 10, und 11 auftreten. Der Schweregrad I bei der Variante Roßlau ergibt sich dagegen aus der Deletion einer Aminosäure. In der CSSR und UdSSR sowie bei Patienten aus dem Libanon wurden u.a. die bereits in der Literatur beschriebenen G6PD-Varianten Mittelmeer und Chatham nachgewiesen, bei den drei Vietnamesen lag die Anant-Variante vor. GdB-Varianten, die mit einer schweren klinischen Symptomatik einhergehen, sind nicht nur durch eine geringe Restaktivität des Enzyms sondern auch durch Veränderungen in den kinetischen Parametern charakterisiert. So resultieren z. B. aus Mutationen im Exon 10 immer Varianten mit stark verminderter G6P-Affinität und z. T. auch verstärkter Hemmbarkeit durch NADPH. Das erklärt sich daraus, dass bestimmte Domänen im Exon 10 hoch konserviert sind, da sich hier die Bindungsregionen für G6P und NADP befinden.

Für die G6PD-Varianten der Klasse II lässt sich keine bevorzugte Exonlokalisierung von Punktmutationen nachweisen. Zu dieser Gruppe gehört u. a. die bekannte Mittelmeervariante mit einem Basenaustausch im Nukleotid 563 C – T im Exon 6, der zu einem Ersatz von Serin durch Phenylalanin in Position 188 der Polypeptidkette führt. Diese G6PD-Variante dominiert bei Patienten in Italien, Griechenland, Mittel- und Südamerika. Sie wurde von uns auch bei Defektträgern aus Polen, der CSSR und Georgien nachgewiesen. Diese Mutation im G6PD-Gen ist typisch bei Völkern entlang der Seidenstraße und anderen früheren

Handelswegen. Die Dominanz dieser Mutation im Mittelmeergebiet steht im Zusammenhang damit, dass sich in diesen roten Blutzellen keine Malaria-Parasiten entwickeln können, wodurch sich ein Selektionsvorteil ergab. Trotz sehr geringer Restaktivität zeigen diese Defekttäger keine chronische NSHA. Das erklärt sich daraus, dass der K_m G6P stark verringert ist. Die erhöhte G6P-Affinität erlaubt einen relativ hohen G6P-Sättigungsgrad der Variante; oxidative Belastungen können die roten Blutzellen allerdings nicht tolerieren, da sie den G6P-Umsatz über den oxidativen Pentosephosphatweg nicht weiter steigern können. Dadurch treten unter solchen Bedingungen hämolytische Krisen auf. Am bekanntesten sind die nach dem Genuss von Favabohnen, die schon Lukian vor Jahrhunderten beschrieb. Ähnliche Eigenschaften zeigt auch die GdB-Variante Anant, die typisch für den süd- und südostasiatischen Raum ist. Auch bei der Variante Chatham, die bei Chinesen häufig vorkommt, liegt ein ähnlicher Selektionsvorteil vor. Typisch für G6PD-Defekttäger aus Schwarzafrika sind Varianten mit relativ hohen Enzymaktivitäten zwischen 10–60% der Norm. Ihre Krankheitsbilder entsprachen der Klasse 3, d. h. keine chronische hämolytische Anämie, aber hämolytische Krisen bei oxidativen Belastungen z. B. bei Malaria oder Aids. G6PD-Varianten der Klasse III sind häufig auf Mutationen im Exon 4 zurück zu führen. Unbekannte Mutationen wurden bei den Patienten aus Uganda nicht festgestellt.

Hervorzuheben ist weiterhin, dass im G6PD-Gen auch Mehrfachmutationen identifiziert wurden; ein Beispiel dafür ist die G6PD-Variante Vancouver, bei der 3 separate Punktmutationen mit entsprechenden Aminosäureaustauschen vorliegen (1). Träger dieser Variante zeigen neben einer NSHA auch eine neutrophile Dysfunktion.

Bisher wurden insgesamt 70 verschiedene Mutationen im G6PD-Gen des Menschen identifiziert; sie kommen in allen Exons einschließlich der Promotorregion vor (1, 3). Familienspezifische Mutationen wurden jedoch bisher nur so zahlreich in der DDR und Böhmen nachgewiesen.

Stoffwechsel G6PD-defekter Erythrozyten

Um Aussagen über den Umfang qualitativer und quantitativer Stoffwechseleränderungen in Erythrozyten von Trägern unterschiedlicher G6PD-Varianten machen zu können, nutzten wir die mathematische

Modellierung. Berücksichtigt wurden in den Modellen die Reaktionen des Pentosephosphatweges, der Glykolyse und des ATP-Verbrauches. Für Reaktionen, die nahe dem thermodynamischen Gleichgewichtes ablaufen, wurden Massenwirkungsquotienten eingesetzt. Für alle Reaktionen, die weit entfernt vom thermodynamischen Gleichgewicht sich befinden, wurden die an gereinigten Enzympräparaten ermittelten kinetischen Konstanten einschließlich der für positive und negative Effektoren der entsprechenden Enzyme und Enzymvarianten für die Aufstellung der Differentialgleichungen verwendet (4). **Abb. 2** zeigt die Steigerungsmöglichkeit des Glukosefluxes über den oxidativen Pentosephosphatweg in Erythrozyten einer Kontrolle und in roten Blutzellen von drei verschiedenen G6PD-Defekttägern der Klasse 1.

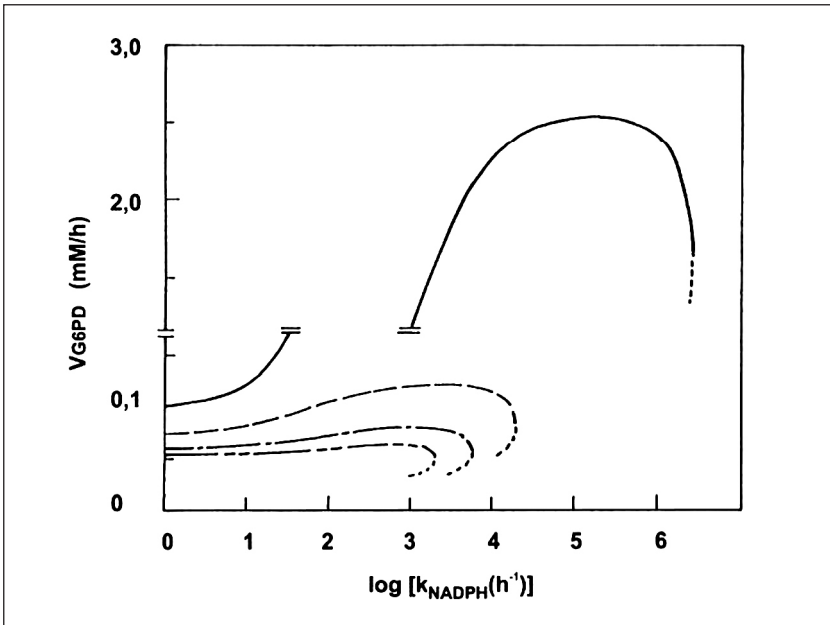


Abb. 2: Mathematische Modellierung des Methylenblau-stimulierten Glukosefluxes durch den oxidativen Pentosephosphatweg

Das Verhalten der Erythrozyten von Kontrollen entspricht der durchgezogenen Linie, das von G6PD defekten Zellen (Schweregrad 1) den durchbrochenen Linien. Die punktierten Linien kennzeichnen instabile Zustände

Es ist deutlich zu erkennen, je weniger die G6P-Oxidation zu steigern ist, desto früher bricht der Stoffwechsel der Zellen zusammen. Das bedeutet, dass diese defekten Zellen schon bei geringer oxidativer Belastung intravasal hämolysieren. Die Struktur der Doppellipidschicht der Erythrozytenmembran wird destabilisiert, da Phosphatidylserinreste von der Innerseite der Membran auf die Außenseite verlagert und dann abgespaltet werden (5). Dieser Prozess kann durch hohe Gaben von Vitamin E etwas verzögert werden. Die Ergebnisse der mathematischen Modellierung sind in guter Übereinstimmung mit experimentellen Befunden, bei denen die $1\text{-}^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung aus roten Blutzellen von Kontrollpersonen und von G6PD-Defekträgern bei Zusatz von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Glukose in Gegenwart und Abwesenheit von Methylenblau bestimmt wurde (**Tab. 2**). Erythrozyten von G6PD-Defekträgern reagieren im Gegensatz zu Zellen von Kontrollpersonen aber auch bei einer energie-

Tab. 2: Oxidativer Burst mit G6PD-Aktivität weißer Blutzellen bei G6PD-Defekträgern.

| G6PD | RLU (%) | Leukozyten (nkat/ml Zellen) | Granulozyten (IE/10^8 Zellen) |
|------------------|----------------|------------------------------------|---|
| Bad Kösen | 1 | 5 | 0,7 |
| Ohrdruf | 2 | 10 | 0,7 |
| Roßlau | 2 | 7 | 0,4 |
| Forst | 10 | 5 | 0,6 |
| Rostock | 16 | 331 | 1,5 |
| Brandenburg | 8 | 105 | 1,0 |
| Uganda | 100 | 68 | 3,5 |
| Kontrolle | 100 | 575 ± 40 | 6,6 ± 0,5 |

Die Chemilumineszenz wurde mit 106 PMN gemessen und durch 120 nM PMA stimuliert.

tischen Belastung mit einem Anstieg der Konzentration des oxidierten Glutathions (GSSG) und hämolysieren rasch (**Abb. 3**). Diese Befunde wurden sowohl bei der Prävention als auch in der Therapie der Patienten berücksichtigt. Das bedeutet u. a., dass für G6PD-Defekträger Pharmaka und Chemikalien mit oxidativer Wirkung kontraindiziert sind und sie auch beruflich nicht mit ihnen in Kontakt kommen dür-

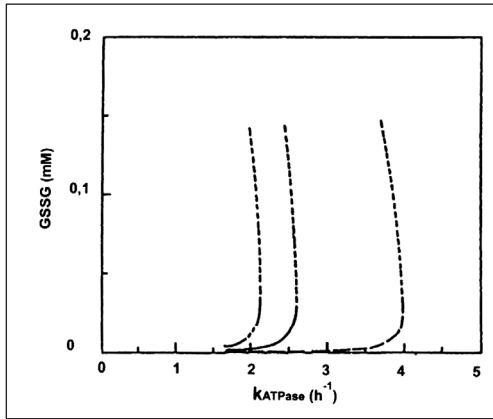


Abb. 3: Verhalten der GSSG-Konzentration von G6PD-defekten Zellen bei energetischer Belastung (k_{ATPase})

Die Kurven entsprechen G6PD-Varianten mit unterschiedlicher G6P-Affinität; von links nach rechts $K_m G6P \uparrow$, $K_m G6P \downarrow$, $K_m G6P$ unverändert

fen (1). Patienten mit dem Schweregrad 1 können auch keinen hohen körperlichen Belastungen ausgesetzt werden und sind deshalb nicht geeignet für einen Schichtdienst. Zu beachten ist weiterhin, dass bei Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik auch die Immunabwehr auf Grund der verminderten G6PD-Aktivität in den weißen Blutzellen geschwächt sein kann (**Tab. 3**). Bei einem Patienten mit einem besonders schwer ausgeprägten Krankheitsbild trat auch eine Kataraktbildung

Tab. 3: $1-^{14}CO_2$ -Bildung roter Blutzellen aus $1-^{14}C$ -glukose mit und ohne Zusatz von Methylenblau bei pH 7,4 und 37°C.

| G6PD-Variante | $\mu\text{Mol } 1-^{14}CO_2/\text{ml Zellen x h}$ | |
|------------------|---|----------------------|
| | Ohne Mb | Mit MB |
| Ohrdruf | 0,08 | 0,10 |
| Roßblau | 0,04 | 0,28 |
| Bad Kösen | 0,11 | 0,28 |
| Brandenburg | 0,10 | 0,10 |
| Forst | 0,08 | 1,10 |
| Kontrolle | 0,150 ± 0,025 | 2,890 ± 0,716 |

auf, die zur Erblindung führte. Im Stoffwechsel der Augenlinse spielt zur Aufrechterhaltung ihrer Transparenz das reduzierte Glutathion eine entscheidende Rolle. Die verkürzte Halbwertszeit der G6PD-defekten Zellen geht außerdem mit einer hohen Freisetzung von Purinbasen einher, die zu Harnsäure abgebaut werden. Im Erwachsenenalter leiden die Patienten der Klasse 1 deshalb häufig an schmerzhaften Gichtanfällen. Die größte Gefahr für die Lebenserwartung der Patienten der Klasse 1 ist im Erwachsenenalter aber die Akkumulation von Eisen in lebenswichtigen Organen, die konsequent behandelt werden muss!

Pyruvatkinaseenzymopathien

Im Gegensatz zur G6PD existieren für die Pyruvatkinase gewebsspezifisch und differenzierungsabhängig 4 Isoenzyme, die von 2 verschiedenen Genen codiert werden (6). Enzymdefekte sind nur für das Gen bekannt, das die DNA-Sequenz für das Leber- und Erythrozytenenzym (PK-L/R) enthält. Dieses Gen befindet sich auf dem langen Arm in Position q21 des Chromosoms 1 (**Abb. 4**). Die PK-L ist außer in Hepatozyten, in den proximalen Tubulizellen der Niere und in den Epithelzellen des Dünndarms vorhanden. Die PK-R tritt nur in den roten Blutzellen auf. Ihr primäres Transkript ist um 34 Aminosäuren länger als das für die PK-L. Auch das PK-M-Gen bildet 2 Isoenzyme. PK-M1 ist typisch für den Skelett- und Herzmuskel und Gehirnzellen. PK-M2, das evolutionär älteste PK-Isoenzym, wird in allen embryonalen Zellen, Tumorgewebe, Leukozyten, Lungen- und Fettgewebe, sowie in den Zellen des distalen Nierenabschnittes und der Plazenta gebildet. Obwohl Leukozyten und Erythrozyten im Knochenmark aus identischen multipotenten hämatopoetischen Stammzellen entstehen, tritt während der Differenzierung im Stadium der Erythroblasten für die roten Blutzellen ein Isoenzymwechsel vom PK-M2 zu PK-R auf. Diese Umschaltung ist in PK-defekten Zellen gestört.

Die PK-L/R ist ein tetrameres Enzym, zusammengesetzt aus 4 identischen Untereinheiten und verfügt über allosterische Eigenschaften. Positive Effektoren, die den aktiven R-Zustand des Enzyms stabilisieren, sind Fru1,6-P₂, Fru2,6-P₂ und Phosphoglukonat. Negative Effektoren, die den inaktiven T-Zustand des Enzyms begünstigen, sind ATP und Alanin.

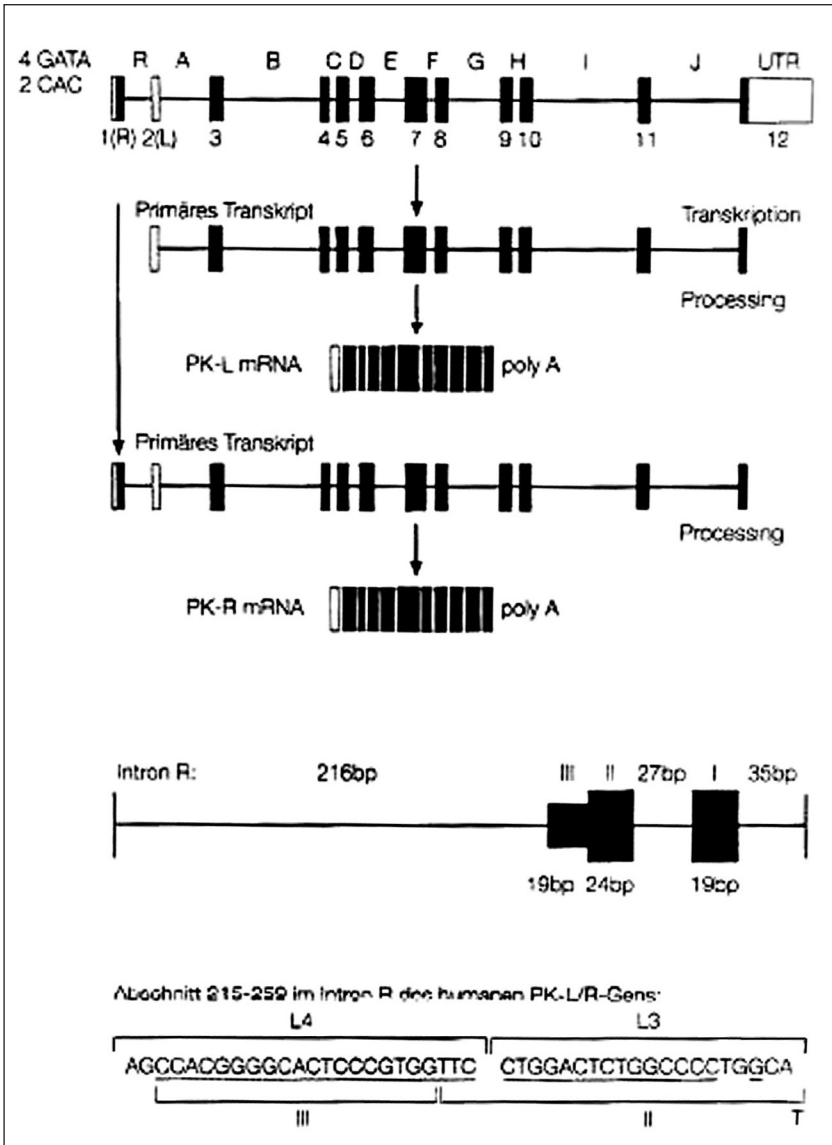


Abb. 4: Schematische Darstellung der Expression des Pyruvatkinase L/R Gens und von Regulationselementen (nach Naguchi et al.; 6)

Defekte im PK-L/R-Gen traten wahrscheinlich sehr viel später als G6PD-Mutationen auf. Die erste PK-Enzymopathie als Ursache einer hämolytischen Anämie wurde 1961 beschrieben (7). Inzwischen sind zahlreiche Fälle aus vielen Ländern in Europa, Amerika, Asien und Afrika bekannt (1, 3). Da keine Mutationen im Exon 1 und 2 identifiziert wurden, betreffen alle Defekte der PK sowohl das Leberenzym als auch das der roten Blutzellen. Der Erbgang ist autosomal rezessiv. Im Gegensatz zum G6PD-Defekt treten PK-Varianten relativ selten auf, nämlich nur dann, wenn die heterozygoten Eltern dieselbe Mutation in einem Allel aufweisen und dieses auf die Nachkommen übertragen. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich bei den Patienten um compound heterozygote Merkmalsträger. In der **Abb. 5** ist die Häufigkeitsverteilung

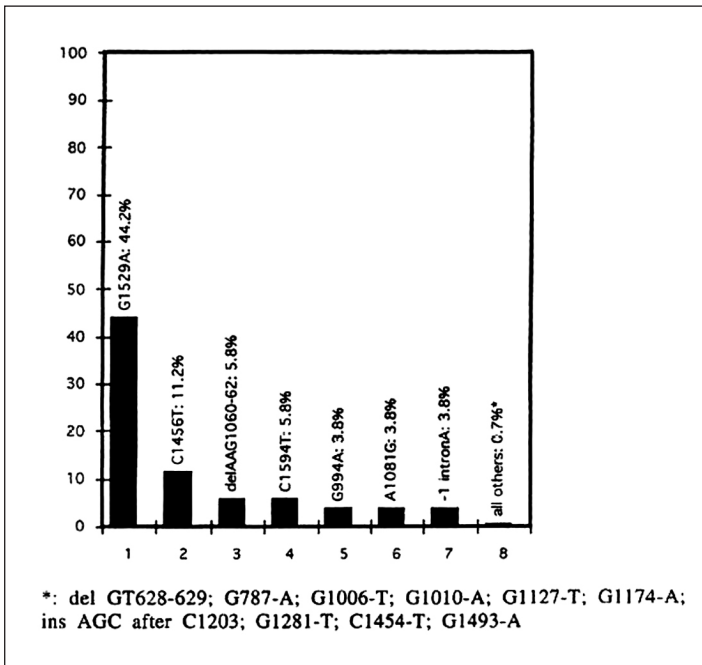


Abb. 5: Häufigkeitsverteilung von PK-L/R-Gen Mutationen bei Defekträgern aus Deutschland, England und Amerikanern europäischer Abstammung

lung von PK-L/R-Mutationen bei den von uns untersuchten Defekträgern aus Deutschland, England und von Amerikaner europäischer Abstammung zusammengefasst. Hervorzuheben ist, dass sich die in Asien vorkommenden PK-Mutationen von denen in Europa unterscheiden (1, 3). Insgesamt kann aber festgestellt werden, dass Mutationen im PK-L/R-Gen fast immer zu einem distinkten Aminosäureaustausch in der Polypeptidkette führen. Selten wurden Deletionen, Insertionen, der Einbau eines Stoppcodons oder Splice Site Mutationen festgestellt. 44 verschiedene Mutationen wurden bisher im PK-L/R-Gen identifiziert, 35 davon durch meine Arbeitsgruppe. Am häufigsten sind 7 verschiedene Mutationen im Exon 11, 5 im Exon 8, 4 im Exon 9 und 3 im Exon 6. In den Exons 10 und 13 sowie im Intron A und F sind jeweils nur eine Mutation bekannt (1, 8, 9). Am häufigsten wurde mit 65% bei Patienten in der DDR und England eine Mutation im Nukleotid 1529 mit einem Basenaustausch von Guanin gegen Adenin gefunden, durch den in Position 510 der Polypeptidkette, einem konservativen Bereich, Arginin durch Glutamin ersetzt wird. Der dadurch bedingte Ladungswechsel führt zu einer Instabilität des Enzyms und zu einem Verlust seiner allosterischen Eigenschaften. Überraschenderweise wurde diese Mutation nur in 18% der Fälle in der CSSR (**Tab. 4**) und auch seltener in Ländern südlich der Alpen nachgewiesen. Überwiegend wurde die 1529 Mutation bei compound heterozygoten Patienten festgestellt. Die Kombination von zwei unterschiedlich mutierten PK-Allelen modifizieren die Enzymeigenschaften meistens stark. Zwei Beispiele möchte ich dafür anführen: 1. Die Kombination der 1529 G-A-Mutation mit einem zweiten PK-Allel, in dem im Nukleotid 1281 G-T (Exon 9) mit ausgetauscht war, woraus ein Aminosäurewechsel von Glutamat zu Aspartat in Position 427 des Proteins resultierte. Das bewirkte überraschenderweise keinen Aktivitätsverlust des Enzyms. Diese Mutante war jedoch durch eine um eine Größenordnung verminderte PEP-Affinität charakterisiert und verstärkte allosterische Eigenschaften. Im zweiten Beispiel handelt es sich um die Kombination der 1529 G-A-Mutation in einem Allel mit der Mutation 1456 C-T (Exon 8) im zweiten Allel, wodurch in Position 486 Alanin durch Valin in der Polypeptidkette ersetzt wurde. Diese Mutante zeigte eine geringe Verminderung der katalytischen Aktivität und eine Abnahme der PEP-Affinität auf $\frac{1}{4}$ der Norm, die ebenfalls mit einer Zunahme der allosterischen Enzymeigenschaften

Tab. 4: Charakterisierung von PK-Mutationen der CSSR

| Patient | V _{max} | S 0,5 PEP µM | Ery 1012/l | Reti % | MCV | Mutation/Allel 1 | Mutation/Allel 2 | AS-Aust./Allel 1 | AS-Aust./Allel 2 |
|------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|--------------|----------------------------|--|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| Kur. | 72 | 387 | 2,3 | 67 | 122 | IntronA3' term g ^{>>} a | 1493G \Rightarrow A | Splice Mut | 498Arg \Rightarrow His |
| Skö. | 73 | 100 | 2,6 | 88 | 119 | 994G \Rightarrow A | 1591C \Rightarrow T | 332 Gly \Rightarrow Ser | 531Arg \Rightarrow Cys |
| Sim. | 37 | 206 | 1,9 | 40 | 115 | 1594C \Rightarrow T | 994G \Rightarrow A | 532 Arg \Rightarrow Trp | 332Gly \Rightarrow Ser |
| Tum. | 30 | 62 | 2,8 | 80 | 111 | del 1060-62AAG | 1594C \Rightarrow T | del 354Lys | 532Arg \Rightarrow Trp |
| Serf. | 45 | 54 | 2,1 | 70 | 113 | del 1060-62AAG | 388A \Rightarrow T | del 354Lys | 130 Thr \Rightarrow Ser |
| Pru. | 76 | 70 | 1,9 | 53 | 112 | del 1060-62AAG | ? | del 354Lys | ? |
| Olz. | 146 | 1270 | 4,0 | 15 | 100 | 1174G \Rightarrow A | ? | 392Ala \Rightarrow Trp | ? |
| Sek. | 76 | 259 | 3,3 | 8 | 98 | 1529G \Rightarrow A | 1529G \Rightarrow A | 510Arg \Rightarrow Glu | 510Arg \Rightarrow Glu |
| Rep. | 60 | 242 | 3,3 | 9 | 99 | Del1060-62AAG | 1472C \Rightarrow A | del354Lys | 491Ala \Rightarrow Glu |
| Sze | 58 | 281 | 4,5 | 4 | 102 | 1081A \Rightarrow G | 1456C \Rightarrow T | 361Asn \Rightarrow Asp | 486Arg \Rightarrow Trp |
| Mes. | 52 | 295 | 4,3 | 6 | 100 | 388A \Rightarrow T | 1167G \Rightarrow C | 130Thr \Rightarrow Ser | 356Arg \Rightarrow Ala |
| Kontrolle | 342 ±31 | 654 ±99 | 4,6-5,2 | <1 | 87,0 ±3,1 | | | | |

AS-Aust.-Aminosäureaustausch

verbunden war. Diese Befunde sind darauf zurückzuführen, dass sowohl der Aminosäureaustausch in Position 427 als auch der in 468 des jeweils zweiten Allels der PEP-Bindungsregion entspricht. Das Krankheitsbild beider Patienten ist durch eine schwere chronische hämolytische Anämie gekennzeichnet mit Halbwertszeiten der roten Blutzellen von 1,6–1,8 Tagen, Retikulozyten von 50–60% und MCV-Werten von 110fl, was für eine extrem junge erythroide Zellpopulation spricht. Ich erwähne diese zwei Fälle, weil sie bei einem normalen Screening, das bei hohen PEP-Konzentrationen durchgeführt wird, auf Grund der dann normalen PK-Aktivität gar nicht als PK-Defekte erkannt würden. In unserem Diagnostikprogramm wurden deshalb die Enzymaktivitäten aller Probanden außer im Substratsättigungsbereich auch bei zwei geringeren PEP-Konzentrationen bestimmt, wodurch solche Mutanten zu identifizieren waren. Diese zwei Beispiele zeigen darüber hinaus, wie schwierig es ist, Enzymeigenschaften von compound heterozygoten Merkmalsträgern vorherzusagen. Sie wurden deshalb für alle Mutanten experimentell ermittelt.

Insgesamt ist einzuschätzen, dass in der Mehrzahl der Fälle die klinische Manifestation von PK-Enzymopathien schwerer als die von G6PD-Defekten ist (1, 9). Auf Grund des hohen 2,3-P₂G-Spiegels, der durch den Anstieg der PEP-Konzentration bei PK-Defekträgern zustande kommt, tolerieren die Patienten jedoch relativ gut sogar Erythrozytenwerte von 2,5–3,0 Millionen Zellen pro Mikroliter Blut, so dass man mit Bluttransfusionen zurückhaltend agieren kann. Zu berücksichtigen ist aber gleichzeitig, dass bei energetischen Belastungen oder Infektionskrankheiten rasch kritische Situationen eintreten können, auf die reagiert werden muss.

Ebenso wie bei G6PD-Enzymopathien wurden die Auswirkungen von PK-Defekten auf den Energiestoffwechsel des Erythrozyten mittels mathematischer Modellierung überprüft (10). Das Verhalten der Glykolyserate von drei Defekträgern bei energetischer Belastung ist im Vergleich zu einer Kontrolle in **Abb. 6** dargestellt. Deutlich ist zu erkennen, dass parallel zum Schweregrad der Erkrankung die Glykolyserate abnimmt und der Energiestoffwechsel der roten Blutzellen oft bereits bei geringen energetischen Belastungen zusammenbricht, da die Kontrollstärke der PK bestimmend wird. Der ATP-Spiegel kann unter diesen Bedingungen nicht mehr stabilisiert werden

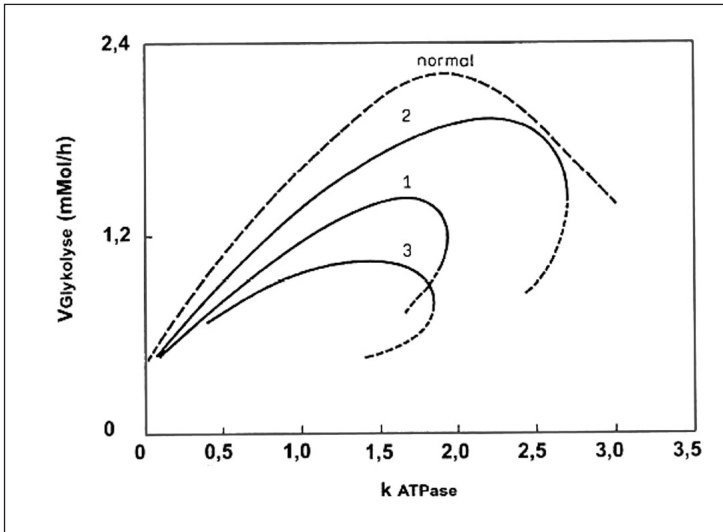


Abb. 6: Einfluss des ATP Verbrauchs (k_{ATPase}) auf die Glykolyserate von Kontrollen und von PK-Defekttägern

Kinetische Parameter für die jeweils verwendete Differenzialgleichung der PK-Reaktion bei der Modellierung

| μM | Kontrolle | PK-Mutationen | | |
|--------------|-----------|----------------------|--------------------|--------------------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| K_{ADP} | 0,474 | 0,474 | 0,474 | 0,474 |
| K_{PEP} | 0,225 | 0,250 | 0,144 | 2,600 |
| $K_{F1,6P2}$ | 0,005 | $6,5 \times 10^{-4}$ | 2×10^{-4} | 7×10^{-4} |
| K_{ATP} | 19 | 1515 | 320 | 1,3 |
| V_{max} | 250 | 70 | 45 | 25 |

(**Abb. 7**), was sich negativ auf alle energieabhängigen Reaktionen auswirkt, vor allem auf die Zellmembran. Die Konzentration von Kalzium steigt intrazellulär an, wodurch die Zellen rigider werden und aus dem Blutkreislauf entfernt werden. Dieser Prozess ist nicht, wie bei einer Kugelzellanämie, durch eine Milzextirpation abzuschwächen.

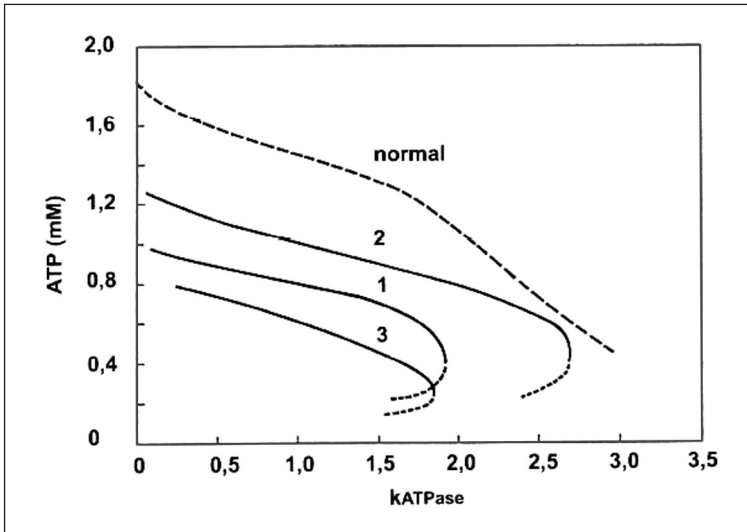


Abb. 7: Einfluss der ATP-verbrauchenden Prozesse (k_{ATPase}) auf den ATP-Spiegel der Erythrozyten von Kontrollen und von PK-Defekttägern

Die kinetischen Parameter der PK und PK-Mutanten entsprechen den Angaben in Abb. 6

Perspektive für eine Genkorrektur des PK-Defektes

Unsere wissenschaftliche Zielstellung schloss auch eine Strategie zur Korrektur von PK-Defekten mit ein. Wenn es gelänge, die Mutation 1529 G-A, die am häufigsten bei homozygoten und compound heterozygoten PK-Defekttägern in Deutschland und England nachgewiesen wurde in einem Allel der Patienten zu beheben, würden einfach heterozygote Merkmalsträger resultieren, die klinisch gesund sind. Die Voraussetzungen sind für ein solches Vorhaben mit den proliferierenden erythroiden Stammzellen, die aus dem Knochenmark gewonnen werden können, günstig; denn die Gentherapie kann *in vitro* vorgenommen werden, und die behandelten Zellen können anschließend über die Blutbahn dem Organismus wieder zugeführt werden. Als Vorversuch dazu sequenzierten wir das gesamte PK-L/R-Gen des Menschen

(11). In Japan versuchte man bei einem Mausmodell eine Genkorrektur der PK vorzunehmen, konnte sie jedoch nicht über eine längere Zeit stabilisieren (12). Die methodischen Schwierigkeiten ließen sich auch für uns in dieser Zeit nicht überwinden. In den letzten Jahrzehnten wurden jedoch nicht nur international enorme Fortschritte auf dem Gebiet der DNA und RNA-Sequenzierung erreicht, sondern auch bei der Entwicklung maßgeschneiderter Designer Nukleasen. So wurden z. B. Zinkfingernukleasen (ZFNs) erfolgreich bei einem Hämophilie-Mausmodell eingesetzt, um das defekte Gen, das den Faktor IX codiert, zu korrigieren (13). Designer Nukleasen sind derzeit weiterhin in der klinischen Erprobung zur genetischen Korrektur des Globin-Locus bei der β -Thalassämie und der Sichelzellanämie (14). Die heutige Wissenschaftlergeneration sollte deshalb auch die Zielsetzung der Korrektur von PK-Defekten im Rahmen der personalisierten Medizin zum Erfolg bringen können.

Sekundäre Hämochromatose als Spätfolge von PK- und G6PD-Enzymopathien

Das hohe Niveau in der Diagnostik und Betreuung von Patienten mit Enzymopathien war nur durch ein gemeinsames, abgestimmtes Engagement von Pädiatern, Hämatologen und Biochemikern und der Mitwirkung der betroffenen Familien zu erreichen. Als vorteilhaft erwies sich dabei die Bildung von entsprechenden Zentren in der DDR, der CSSR, Polen und der UdSSR. In ihnen wurden die Verdachtsdiagnosen von Patienten nach einheitlichen Kriterien erhoben, die dann durch nachfolgende Untersuchungen in meinem Labor verifiziert und ergänzt wurden. Für die Patienten waren diese Zentren stets ihre Kontaktstellen. Vor jeder klinischen Behandlung eines Patienten auf Grund einer anderen Erkrankung erfolgte eine Abstimmung. Ebenso wurden auch die Abschlussberichte gemeinsam ausgewertet. Das Gleiche galt für die Berufsberatung der Jugendlichen, damit die Patienten nach abgeschlossener Ausbildung ihren Beruf auch ausüben konnten. Der kontinuierliche Kontakt zu jedem Patienten erleichterte aber auch die rechtzeitige Einschätzung der Spätfolgen der Erkrankung und die Einleitung der notwendigen Therapie. Das zentrale Problem für die Lebenserwartung der Patienten im Erwachsenenalter ist die Entwicklung einer sekundären Hämochromatose. Leider

wird diese Aufgabe von vielen Ärzten unterschätzt. Die Durchführung einer effektiven Eisenelutionstherapie erfordert aber auch von den Patienten Einsicht in das Krankheitsgeschehen der Eisenakkumulation, Disziplin und Eigeninitiative; denn die Behandlung muss begonnen werden, bevor irreversible Schäden in Herz, Leber und Pankreas auftreten, d. h. zu einem Zeitpunkt, wo noch keine Beschwerden empfunden werden. Liegt dagegen bereits eine Herzdilatation, eine Leberzirrhose oder ein Diabetes auf Grund der Eiseneinlagerungen in den Organen vor, kann durch eine Eisenelutionstherapie keine Verbesserung der Organfunktionen mehr erreicht werden (1, 15). Eisen wird im Organismus immer an Protein gebunden transportiert, um die Initiierung einer ungewollten Radikalbildung zu verhindern. Es muss deshalb erst in eine wasserlösliche komplexe Form überführt werden, damit es über die Niere ausgeschieden werden kann. Der beste Parameter zur Einschätzung einer Eisenüberladung ist der Ferritinspiegel im Blutplasma. Er korreliert mit dem Schweregrad der chronischen hämolytischen Anämie. Angestrebt wurde von uns, durch eine Eisenelution einen Ferritinspiegel von $<100\text{ng/ml}$ zu erreichen (die Normwerte liegen $<50\text{ng/ml}$). Das war in den meisten Fällen nur durch eine tägliche subcutane Zuführung von Desferal oder Exjade zu ermöglichen. Damit die Patienten täglich abends zu Hause selbständig die Therapie durchführen konnten, entwarf einer der Patienten eine entsprechende Pumpe und setzte auch deren Bau in einem Industriebetrieb der DDR in der erforderlichen Stückzahl durch. Dadurch konnten alle von uns betreuten Patienten die Therapie durchführen. So erreichten wir einen internationalen Erfolg auf dem Gebiet der Diagnostik und Therapie bei Patienten, die an enzymopenisch bedingten hämolytischen Anämien litten. Zu einem tiefen Einschnitt kam es allerdings, vor allem im Leben der Patienten der DDR, durch die politische Wende. Die Zentren wurden abgeschafft und die danach niedergelassenen Ärzte vernachlässigten die Behandlung der sekundären Hämochromatose, obwohl sie aufgeklärt waren und über alle Unterlagen zu den von ihnen betreuten Patienten verfügten. Zum Teil begründeten sie ihr Verhalten damit, dass ihr Budget die Ausgaben für die Durchführung der Eisenelutionstherapie nicht zuließe. Hinzu kam, dass die meisten Patienten ihren Arbeitsplatz verloren und Tätigkeiten in Ost und West aufnahmen, denen sie körperlich nicht gewachsen waren. Die Ferritinspiegel erreichten deshalb bei vielen der Patienten mit schwerer klinischer Symptomatik Werte von $>2800\text{ng/ml}$.

Dadurch verstarben sie in den 90er Jahren und im ersten Jahrzehnt dieses Jahrhunderts entweder an Herzversagen und Leberkarzinomen oder verbluteten aus Ösophagusvarizen als Lastkraftwagenfernfahrer auf der Autobahn.

Ausblick

Natürlich gibt es auch außerhalb der monogenetischen Defekte Erkrankungen, bei denen Verfahren der personalisierten Medizin anzustreben sind zumal die DNA-Sequenzen, die den Code für Proteine verschlüsseln, nur 1,5% des humanen Genoms umfassen. Trotzdem haben bereits jetzt rekombinante Proteine als Arzneimittel (Antikörper, Hormone, Enzyme, Cytokine u. a.) in der Medizin eine große Bedeutung erlangt. 2013 entfielen auf sie bereits 25% der neuen Zulassungen mit einem Umsatz von 140 Milliarden Dollar (16). Eine wichtige Aufgabe für die personalisierte Medizin wird aber auch die Erarbeitung neuer Strategien sein, um die Ansprechbarkeit von Patienten, insbesondere auch der von Kindern, auf Medikamente exakter als bisher bestimmen und negative Nebeneffekte ausschließen zu können. Andere aktuelle Herausforderung auf diesem Gebiet sind die regenerative Medizin und die Erweiterung der Kenntnisse über das humane Mikrobiom und über seine Bedeutung für die Gesunderhaltung des Menschen, um sie in der Prävention und Therapie von Volkskrankheiten (Adipositas, Diabetes, Herzkreislauferkrankungen, Karzinome, neurodegenerative Störungen u. a.) nutzen zu können. Viele weit gespannte Ziele werden aber erst zu lösen sein, wenn wir den Bereich der Epigenetik mit seinen Wechselwirkungen besser verstehen, d. h. den Wissenschaftszweig, dessen Schwerpunkt es ist, die Vererbung von Eigenschaften aufzuklären, die nicht an die primäre Sequenz der DNA fixiert sind. Wie immens diese Aufgabe ist, wird vorstellbar, wenn man bedenkt, dass der größte Anteil der DNA-Sequenzen in RNAs umgeschrieben werden kann und insbesondere die zahlreichen kleinen RNAs riesige regulative Netzwerke bilden können, die über die Destabilisierung von mRNAs die Expressionsprofile verändern können. Sie spielen damit für die biologische Funktion von Organismen und ihre Anpassungsfähigkeit an Umweltbedingungen eine ebenso große Rolle wie Histonmodifikationen (Azetylierung, Methylierung, Phosphorylierung). Inzwischen wis-

sen wir weiterhin, dass auch die Methylierung von Cytosinresten, die eine Repression der Genexpression bewirkt, kein irreversibler Prozess ist; denn über eine Hydroxymethylierung kann auch wieder eine Demethylierung und damit eine Aktivierung der Genexpression erreicht werden. Die personalisierte Medizin bietet somit für die Zukunft ein weites wissenschaftliches Feld. Eine wichtige gesellschaftliche Aufgabe besteht darin, dass die zu erwartenden Fortschritte auf diesem Gebiet allen Bedürftigen in der Prävention und Therapie auch zugänglich gemacht werden.

Literatur

- 1 Jacobasch, G.: Hereditäre Membrandefekte und Enzymopathien roter Blutzellen. Handbuch der Molekularen Medizin Bd. 6, S. 393–441, Springer Verlag 2000
- 2 De Flora A., Morelli A, Benatti V. et al.: An improved procedure for rapid isolation of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys. 169, 362–366 (1975)
- 3 Beutler E., Kühn W., Gelbert T. et al.: DNA-sequence abnormalities of human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. J. Biol. Chem. 266, 4145–4150 (1991)
- 4 Schuster R., Jacobasch G., Holzhütter H.G.: Mathematical modelling of metabolic pathways affected by an enzyme deficiency energy and redox metabolism of glucose-6-phosphate-deficient erythrocytes. Eur. J. Biochem. 182, 605–612 (1989)
- 5 Bleiber R., Jacobasch G., Freimann G. et al.: Deviations of the concentration of phospholipids and of phospholipid fatty acids in G6PD deficient red blood cells. Clin. Chim. Acta (Manuskript eingereicht)
- 6 Noguchi T., Yamada K., Inoue H. et al.: The L- and R-type isoenzyme of pyruvate kinase are produced from a single gene by use of different promoters. J Biol. Chem. 26, 14366–14371 (1987)
- 7 Valentine W. N., Tanaka K. R., Miwa S.: A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital nonspherocytic hemolytic anemia. Trans. Assoc. An. Physicians 74, 100–110 (1961)
- 8 Lenzner, C., Nürnberg P., Jacobasch G. et al.: Molecular analysis of pyruvate kinase deficient patients from Central Europe with hereditary hemolytic anemia. Blood 88, 1793–1799 (1997)

- 9 Jacobasch G., Rapoport S.: Hemolytic anemias due to enzyme deficiencies. *Mol. Aspects Med.* 17, 143–170 (1994)
- 10 Holzhütter H.G., Jacobasch G., Bisdorf A.: Mathematical modelling of metabolic pathways affected by an enzyme deficiency. A mathematical model of glycolysis in normal and pyruvate-kinase-deficient red blood cells. *Eur. J. Biochem.* 149,101–111 (1985)
- 11 Lenzner C., Nürnberg P., Jacobasch G. et al.: Complete genomic sequence of the human PK-L/R-gene includes four intragenic polymorphisms defining different haplotype backgrounds of normal and mutant PK-genes. *DNA Seq. J. Mapping* 8, 45–53 (1997)
- 12 Tani K., Yoshikubo T., Ikebuchi K. et al.: Retrovirus-mediated gene transfer of human pyruvate kinase (PK) cDNA into murine hamster hematopoietic cells: implications for gene therapy of human PK deficiency. *Blood* 83, 2305–2310 (1994)
- 13 Li H., Haurigot V., Doyon Y. et al. In vivo genome editing restore haemostasis in a mouse model of haemophilia. *Nature* 475, 217–221 (2011)
- 14 Genovese P., Schirolli G., Escobar G. et al.: Targeted genome editing in human repopulating haematopoietic stem cells. *Nature* 510, 235–240 (2014)
- 15 Jacobasch G., Bauer-Marinovic: Eisen, ein Januskopf-Element. *Ernährungsumschau* 51, 172–176, 231–234, 272–277 (2004)
- 16 Schürle K., Skera A.: Rekombinante therapeutische Proteine – eine Erfolgsgeschichte. *BIOSpektrum* 21. 36–38 (2015)

Charles Coutelle

**Individualisierte Medizin bei genetisch bedingten
Erkrankungen.
Die Anwendung personeneigener Genominformation
zur Diagnose und Therapie der Zystischen Fibrose**

*„Vor der Therapie haben die Götter die Diagnose gesetzt“.
(Franz Vollhard)*

Einleitung

Der Begriff individualisierte (personalisierte) Medizin ist im Grunde genommen eine Tautologie. Eine korrekte Diagnose und daraus abgeleitete Therapie sollte immer „personalisiert“ sein; bestimmt eben für diese Krankheit unter weitest gehender Kenntnis und Berücksichtigung der Person des Kranken. Diese traditionell- personalisierte Sicht geht allerdings leicht verloren in unserem Zeitalter der Technisierung und Spezialisierung. Im Kontext dieses Kolloquiums wurde der Begriff „Personalisierte Medizin“ in der Bedeutung eines Diagnostik- und Therapiekonzepts übernommen, das auf der Kenntnis und Nutzung personeneigener genetischer Variationen beruht. Der Begriff sollte aber auch hinweisen, darauf zu achten, dass das enorme Potential der neuen Technologien der Molekularen Medizin nicht zu neuen „Schubladen“ führt, sondern, dass die Kenntnis der genomischen und epigenomischen „Einzelheiten“ einer Person wieder zur Synthese der biologischen Ganzheit des Patienten führt.

Gegenwärtig sind wir allerdings in den besten Fällen auf die Kenntnis einzelner Mutationen und mehr oder weniger guten Voraussagen über ihren Effekt auf Gesundheit und Krankheit der untersuchten Person angewiesen. Vor allem wissen wir so gut wie nichts darüber wie

sich verschiedene genetische und epigenetische Effekte und Umweltfaktoren gegenseitig beeinflussen. So können bisher unbekannte genetische Faktoren, sogenannte „modifier genes“, bei einer Reihe, bisher eindeutig – bis hin zur Kenntnis der verantwortlichen Mutation(en) – als monogenetisch identifizierte Erkrankungen, die Manifestation, den Schweregrad und die Prognose dieser Krankheiten erheblich beeinflussen [1]. Das sollte uns bei allem perspektivischen Optimismus des folgenden Beitrags stets in Erinnerung bleiben.

Bei vielen Krankheiten können Variationen im Genom einer Person individuelle Krankheitsdispositionen anzeigen, die zur Empfehlung eines bestimmten Lebensstils oder den Einsatz einer spezifischen Therapie indizieren oder kontraindizieren. Krebserkrankungen sind meist durch erworbene genetische Veränderungen – Mutationen – im Genom bestimmter Zellpopulationen hervorgerufen. Bei erblich bedingten Erkrankungen ist die Krankheits-relevante Mutation des Genoms in allen Zellen der betroffenen Person nachweisbar. Dieser Artikel befasst sich ausschließlich mit der Anwendung einer mutationsspezifischen molekularen Medizin auf monogenetisch bedingte erbliche Erkrankungen. Bei diesen Erkrankungen ist eine solche Mutation gewöhnlich indikativ für die Diagnose der Erkrankung und ist in manchen Fällen auch die Grundlage für eine spezifische Therapie. Vielleicht wäre dafür die Bezeichnung mutationsspezifische molekulare Diagnostik und Therapie genauer und angebrachter als „personalisierte Medizin“

Molekulare Diagnostik

Frühe Studien

Die erste molekulare Diagnose erfolgte durch Pauling und Mitarbeiter fast 5 Jahre vor der Entdeckung der DNA-Struktur, mit der Beschreibung der Sichelzell-Anämie als „molecular disease“. Diese Bezeichnung begründete sich auf einem unterschiedlichen elektrophoretischen Verhalten der Hämoglobin β - Kette eines Sichelzell-Patienten im Vergleich mit der einer gesunden Person [2]. 1957 gelang es Ingram durch Aminosäureanalyse eine Mutation von Glutaminsäure zu Valin in Position 6 dieses Polypeptids nachzuweisen [3]. Aber erst die Entwicklung der DNA-Rekombinanten-Technik Ende der 70iger Jahre ermöglichte

eine molekulare Diagnostik auf der DNA-Ebene. Das Prinzip der ersten DNA-Diagnosen, beruhend auf einer molekularen Kopplungsanalyse mit Hilfe von Restriktionsfragment Polymorphismen (RFLP), wurde bereits 1 Jahr vor Publikation der ersten DNA-Sequenzierungsmethoden durch W.Y. Kan beschrieben [4]. Restriktionsfragment Polymorphismen sind variable Schnittmustern, die beim Schneiden (Restriktion) der genomischen DNA mit spezifischen Enzymen entstehen und sich bei verschiedenen Menschen voneinander unterscheiden können. Sie beruhen auf normalen, gewöhnlich harmlosen, Variationen in der Genomsequenz verschiedener Menschen. Bestimmte RFLP-Muster können für eine Familie und sogar für ihre ethnisch definierte Population charakteristisch sein. Kan stellte eine genetische Assoziation (Kopplung) zwischen einem bestimmten, in afrikanischen Populationen vorkommenden Restriktionsfragment Muster und dem defekten β -Globin-Gen der Sichelzellanämie fest und nutzte diese zur Diagnostik. Erst mit der Entwicklung und zunehmenden Effizienz der DNA-Sequenzierungsmethoden wurden zuerst Kopplungsanalysen mit SNPs (Single Nucleotide Polymorphismen) und bald auch direkte Mutationsnachweise in den betroffenen Genen durchführbar.

Das Beispiel der Zystischen Fibrose

Die Zystische Fibrose (CF, Mukoviszidose) ist mit einer Inzidenz von etwa einem betroffenen Kind auf 2000–3000 Neugeborenen – allerdings mit erheblichen Unterschieden in verschiedenen Populationen [5] – eine der häufigsten und schwerwiegendsten autosomal-rezessiv vererbten genetischen Erkrankungen in unserer Bevölkerung. Das betroffene Protein, CFTR, ist ein integrales Eiweiß der Zellmembran mit der Funktion eines cAMP-regulierten Chloridkanals [6]. CFTR-Mutationen führen zu Störungen im Ionen- und Wassertransport der sekretorischen Epithelien des Darms, des Pankreas, der Lunge, der Gallenwege und der Samengänge. Die Störungen im Ionen- und Wassertransport verursachen die Bildung des für CF charakteristischen dehydrierten, zähflüssigen Schleimes [7]. Hierdurch verursachte Obstruktionen der Atemwege sind die Grundlage für die wiederholten Infektionen und die chronische Entzündung der Lunge, für die Fibrosierung des Pankreas, die biliäre Leberzirrhose und Infertilität, insbesondere bei männlichen

Patienten. Verdauungsstörungen und wiederholte Infektionen führen zu Minderwuchs, Ateminsuffizienz und eine verminderte Lebensqualität und Lebenserwartung.

Die Zystische Fibrose gehörte zu den ersten genetischen Erkrankungen deren bis dahin völlig unbekannt molekulare Ursache und Pathogenese 1989 durch Genidentifizierung und Sequenzanalyse aufgeklärt wurde. Ein von Lap-Chee Tsui geleitetes Konsortium beschrieb die chromosomale Lokalisation, die kodierende Sequenz und die genetische Analyse dieses als Cystic Fibrosis Conductance Regulator Gene (CFTR-Gen) benannten Gens [8–10]. Mutationen in diesem Gen wurden als molekulare Ursache der Zystischen Fibrose identifiziert und damit wurde eine der ersten und wohl bis heute noch eine der umfangreichsten Genomanalysen eines menschlichen Gens eingeleitet. Bemerkenswerter Weise wurde bei dieser ersten Analyse festgestellt, dass ca. 70% aller gefundenen CF-Allele der untersuchten CF-Patienten mit überwiegend europäischer Herkunft, eine charakteristische Mutation (DeltaF508) aufwiesen. Diese Mutation, eine Deletion von 3 Nukleotidbasen, führt zum Fehlen der Aminosäure Phenylalanin in Position 508 des CFTR-Proteins. Auf der Grundlage dieses Wissens konnte sehr bald eine Mutations-spezifische DNA-Diagnostik für betroffene Familien angeboten werden [11].

Da CF eine autosomal-rezessive Erkrankung ist, sind Personen bei denen nur eines der beiden in ihrem Genom vorhandenen CFTR-Allele mutiert ist, gewöhnlich phänotypisch gesunde Anlagenträger. Daher resultiert die häufig völlig überraschende Konfrontation zweier gesunder Anlagenträger-Eltern mit dem Auftreten eines erkrankten Kindes, was sich, entsprechend den Mendelschen Regeln, mit einer Wahrscheinlichkeit von einem in vier ihrer Nachkommen ereignen kann. Es stellte sich allerdings bald heraus, dass die DeltaF508-Mutation, zwar die in der nordeuropäischen kaukasischen Bevölkerung häufigste, aber durchaus nicht die einzige Krankheits-bedingende Mutation des CFTR-Gens ist, und dass in anderen Populationen andere Mutationen vorherrschen. Inzwischen sind etwa 2000 bei CF-Patienten gefundene Nukleotidvariationen im CFTR-Gen bekannt, die als Mutationen mit potentiellem Krankheitswert angesehen werden [12]. Von diesen kann allerdings nur relativ wenigen eine eindeutige Krankheitsdisposition zugeschrieben werden [13]. In einer 2004 durchgeführten Studie wurden in einer pa-

nethnischen USA-Populationen mit klinisch eindeutig gesicherter Zystischer Fibrose nur 25 Mutationen mit einer Allel-Frequenz von $>0.1\%$ gefunden. Die Delta F508 Mutation wies dabei eine Allel-Frequenz von 66% auf. Weitere sechs Mutationen – G551D, W1282X, G542X, N1303K 621+1G>T und R553X – lagen bei 1–3%. Bei der Analyse distinkter ethnischer Populationen zeigten sich allerdings auch deutliche Unterschiede sowohl in der Mutationsallel-Art wie in ihrer Frequenz [14]. 2013 wurde eine an fast 40000 CF-Patienten mit verschiedenen Ethnizitäten aus Amerika und Europa durchgeführte Ko-operative Studie veröffentlicht, bei der eine Zuordnung von streng-definierten CF-Phänotypen zu CFTR-DNA-Variationen mit einer Allel-Frequenz von ≥ 0.01 geprüft wurde. Von den gefundenen 159 Varianten konnten dabei 127 (80%) auf Grund von klinischen und funktionellen Kriterien als Krankheitsmutationen eingestuft werden.

Die DNA-Analyse ermöglicht sowohl die Sicherung der Diagnose eines betroffenen Patienten und Einleitung einer frühen symptomatischen oder auch mehr spezifischen Therapie. Prä- oder postkonzeptionelle DNA-Screening Untersuchungen ermöglichen die Identifizierung von Risiko-Elternpaaren und gegebenenfalls auch frühzeitige pränatale Analysen mit der Option des Schwangerschaftsabbruchs bei Feststellung eines betroffenen Feten. Die DDR gehörte zu den ersten Ländern in denen die DNA-Diagnostik für Zystische Fibrose und bald darauf auch für andere genetische Erkrankungen bereits in den 80iger Jahren eingeführt wurde [15].

Bei Mutationshomozygotie korrelieren einzelne Mutationen häufig mit unterschiedlichen Schweregraden der Erkrankung und lassen daher in gewissem Grade Aussagen zu Verlauf und Prognose beim individuellen Patienten zu. Bei der Vielzahl der Mutationen des CFTR-Gens können jedoch die beiden CFTR-Allele im Genom eines CF-Patienten unterschiedliche Mutationen tragen (Compound Heterozygotie). Bei ihnen sind prognostische Aussagen weitgehend eingeschränkt. Wie wir noch sehen werden, kann die Kenntnis der zugrundeliegenden Mutationen bei individuellen Patienten der Auswahl neuartiger mutationsspezifischer Therapien für eine Korrektur der mutationsspezifischen molekularen Fehlfunktion des CFTR-Proteins dienen.

CFTR-Struktur und Mutationsklassen

Die DNA-Sequenzaufklärung führte zur Kenntnis der Aminosäuresequenz des CFTR-Proteins aus der sich die Möglichkeit zur Aufklärung der molekularen Proteinstruktur und seiner wahrscheinlichen Funktion(en) ergab. Diese Analysen zeigten, dass CFTR ein in der Zellmembran gelegenes Multidomainprotein mit der Funktion eines Chlorid-Kanals ist. Es besteht aus zwei Transmembran-Domänen, die die Kanalpore bilden, sowie aus einer Regulator-Domäne und zwei Nukleotidbindungs-Domänen [9]. Es wird angenommen, dass die Phosphorylierung der Regulator-Domäne und die Anlagerung von Adenosintriphosphat (ATP) an die Nukleotidbindungs-Domänen zur Dimerisierung der Transmembran-Domänen und zum Öffnen des Chlorid-Kanals führen. Bei nachfolgender ATP-Hydrolyse wird der Kanal wieder verschlossen [16]. Auf diese Weise wird der physiologische epitheliale Chlorid-Transport reguliert und mit ihm der Natrium- und Wassertransport, der entscheidend für die normale Befeuchtung der Schleimhäute und die normale Schleimsekretion ist. Mutationen in den verschiedenen Domänen führen durch Störungen des normalen Ionen- und Wasser-Transportflusses zu den oben beschriebenen Symptomen.

Auf der molekularen Ebene bewirken Mutationen in diesen Domänen entweder Störungen der Synthese des CFTR-Proteins, seiner zellulären Lokalisation oder der spezifischen zellphysiologischen Funktion. Auf der Grundlage der durch sie erfolgenden Veränderung der Proteinfunktion werden die CFTR-Mutationen in sechs Klassen unterteilt: Klasse-I-Mutationen führen zu Fehlen oder Instabilität und Abbau der CFTR-mRNA oder des CFTR-Proteins. Klasse-II-Mutationen bewirken eine fehlerhafte Aufbereitung (Prozessierung) des Proteins und eine dadurch bedingte Störung des anschließenden intrazellulären Proteintransports zur Zellmembran. Zu dieser Klasse gehört die DeltaF508 Mutation. In der Klasse III sind „gaiting“ Mutationen erfasst, die die Synthese und korrekte intrazelluläre Lokalisation des Proteins nicht behindern, aber die normale Öffnungs- und Schließfunktion des CFTR-Kanals in der Zellmembran, und damit den normalen epithelialen Chlorid-Transport, stören. Klasse IV CFTR-Mutationen führen ohne Störung der Proteinlokalisierung oder der Öffnung und Schließung des Kanals zu Veränderungen in den Flussraten der Chlorid-Ionen. Klasse

V-Mutationen verringern die Synthese des CFTR-Proteins und bei den Klasse VI-Mutationen erfolgt ein beschleunigter Abbau des sonst korrekt lokalisierten und funktionierenden Proteins.

Die verschiedenen mutationsbedingten Störungen der normalen CFTR-Funktion spiegeln sich in unterschiedlichen Schweregraden der Zystischen Fibrose bei einzelnen Patienten wider, ohne dass an Hand des Genotyps eine genaue Voraussage individueller Krankheitsverläufe gemacht werden kann [17]. So zeigen homozygote Patienten, der Klassen I-III –Mutationen wie Stoppcodon-Mutationen (z.B. W1282X und G542X), Processing-Mutationen (z.B. DF508) und „gaiting“-Mutationen (z.B. G551D), häufiger schwerere Krankheitsbilder als solche mit Mutationen der Klassen V und VI. Die bei vielen Patienten gefundenen Allel-Kombinationen verschiedener Mutationen (Compound-Heterozygotie) führt zu weiteren Phänotyp-Variationen und prognostischen Unsicherheiten [17]. Darüber hinaus üben die bereits erwähnten und bisher wenig aufgeklärten, genetischen Modulatoren („modifier genes“), die nicht durch das CFTR-Gen selbst kodiert werden ebenfalls einen wichtigen Einfluss auf den individuellen Phänotyp aus [1].

Mutationsspezifische Molekulare Therapie

Trotz dieser komplexen Situation ist die Zystische Fibrose eine hoffnungsvolle Zielerkrankung, sowohl für die mutationsspezifische Diagnostik wie auch für eine mutationsspezifische Therapie.

Prinzipiell stehen zwei grundsätzlich verschiedene Strategien für eine solche „personalisierte“ Therapie zur Verfügung: Die auf das defekte Gen zielende Gentherapie, und die auf das defekte Protein wirkende mutationsspezifische Korrektur der Proteinfunktion.

Gentherapie

Die Gentherapiestrategie beruht, in ihrer gegenwärtigen Form, überwiegend auf Addition einer funktionellen Gensequenz, die die Aufgabe der mutierten Genallele übernehmen soll. Sie stellt durch Einbringen einer normalen Gensequenz in betroffenen Zellen den Zustand einer funktionellen Heterozygotie in diesen Zellen her. Diese Strategie ist für autosomal-rezessive monogenetische Erkrankungen wie die Zystische

Fibrose prinzipiell geeignet, da wie bereits erwähnt, heterozygote Anlagenträger des Gendefekts phenotypisch gesund sind. Auch bei haploinsuffizient-dominanten Erkrankungen (z.B. Hypercholesterinämie in Folge eines LDL-Rezeptor-Defekts), bei denen das Genprodukt eines normalen Allels nicht ausreicht, um den gesunden Phänotyp zu gewährleisten, ist solche Additions-Gentherapie geeignet. Dagegen kann diese Strategie nicht bei dominanten monogenetischen Erkrankungen bei denen das Defektallel eine pathogene Funktion ausübt, angewendet werden da hier die Therapie auch eine Eliminierung oder Inaktivierung des toxischen Genprodukts erreichen muss.

Für die meisten autosomal-rezessiven monogenetisch bedingten Erkrankungen hat die Genadditions-Gentherapie des normalen funktionellen Genes den Vorteil, dass sie unabhängig vom Typ der einzelnen Mutation wirksam sein sollte. Diese Therapie ist zwar durch die exakte molekulare Diagnostik in Form der Mutationsanalyse personalisiert, sie braucht aber auf die Einzelmutation des Patienten keine Rücksicht zu nehmen.

Die Gentherapie hat sich allerdings insgesamt als wesentlich schwieriger erwiesen als ursprünglich angenommen und auch bei der Zystischen Fibrose ist es, trotz sehr umfangreicher Anstrengungen unter Verwendung verschiedener viraler und nicht-viraler Gentransfer-Vektoren, leider bisher nicht gelungen eine klinische Anwendung zu erreichen. Das liegt vor allen an Problemen bei der Entwicklung von Vektoren, die einen sicheren, effektiven und anhaltenden Gentransfer in die spezifischen Zielzellen gewährleisten, sowie an den immunologischen Abwehrmechanismen der Patienten gegen den Vektor oder das therapeutische Eiweiß. Die prinzipielle klinische Wirksamkeit der Genadditionsstrategie ist allerdings, wenn auch nicht für die Zystische Fibrose, so doch für andere schwerwiegende genetisch bedingte Erkrankungen, gezeigt worden. Am überzeugendsten wurde das für verschiedene kindliche Immun-Defizienzen, wie der X-SCID (X-Chromosomal Severe Combined Immunodeficiency) und dem Adenosin Desaminase Mangel (ADA-Deficiency) mit einer *ex vivo*-Strategie demonstriert [18]. Bei diesen Erkrankungen machte man sich die Möglichkeit zu Nutze, dass der Gentransfer in die hämatopoietischen Zielzellen in Zellkultur an Knochenmarkzellen des Patienten, durchgeführt werden kann. Die genetisch modifizierten Zellen werden danach in den Patienten transfun-

diert (*ex vivo* Gentherapie). Darüber hinaus gibt die genetische Korrektur den genmanipulierten hämatopoietischen Knochenmarkszellen einen selektiven Proliferationsvorteil gegenüber den defekten Zellen, so dass sie nach Infusion in der Lage sind die unveränderten Zellen im Knochenmark der Immundefizienz-Patienten zu „überwachsen“. Bei CF dagegen, muss das Genkonstrukt *in vivo*, also direkt in den Körper des Patienten eingebracht werden und die verschiedenen epithelialen Zielzellen der Lunge, des Darm, des Pankreas und der Leber des Patienten erreichen. Darüber hinaus gewinnen die relativ wenigen Zellen, die auf diese Weise korrigiert werden können, keinen Wachstumsvorteil gegenüber den CFTR-defekten unkorrigierten Zellen des Patienten.

Neuere, noch in Entwicklung befindliche Gentherapiestrategien zielen auf eine wirkliche Korrektur/Austausch oder auf die Inaktivierung der mutierten Gensequenz [19]. Vor allem die Korrekturstrategie ist im Kontext der personalisierten Medizin von Interesse, da hierdurch die Möglichkeit geschaffen wird, Gensequenzen einer Person gezielt zu verändern. Methodisch basiert diese Strategie auf der Entwicklung sequenzspezifischer Nukleasen. Diese erzeugen einen gezielten DNA-Doppelstrangbruch und ermöglichen damit einen nachfolgenden Sequenzaustausch an der Matrize einer sequenzspezifisch korrekten Donor-Nukleinsäure durch das zelluläre DNA-Rekombinationssystem. Zu diesen Enzymen gehören die Zink-Finger Nukleasen [20, 21] oder alternative DNA-Korrektursysteme wie Meganukleasen [22], TALENs [23] und CRISPR/Cas9 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats) [24]. Besonders das in den letzten 3 Jahren entwickelte CRISPR/Cas 9 System hat auf Grund seiner Versatilität, Effektivität und technischen Einfachheit die Korrekturstrategie erheblich beschleunigt [25]. So wurde mit diesem System die CFTR DeltaF-Mutation in adulten menschlichen intestinalen Stammzellen und den daraus differenzierten Organoiden *in vitro* korrigiert [26]; im vergangenen Jahr gelang die fehlerfreie Genommanipulation befruchteter Rhesusaffen-Oozyten durch das CRISPR/Cas9 System. Die so veränderten Embryonen entwickelten sich zu genetisch manipulierten Jungtieren, wodurch der Weg zur Erzeugung von Modellen menschlicher Erkrankungen an nicht-human-Primaten eröffnet worden ist [27].

Die therapeutische Anwendung einer Genkorrektur wurde erstmalig in einem *ex-vivo* Gentherapie-Experiment im Mausmodell der mensch-

lichen Krankheit Sichelzell-Anämie demonstriert. Hierbei wurden aus der Haut einer Sichelzell-Maus gewonnene Fibroblasten durch Gentransfer in Induzierte Pluripotente Stammzellen (IPS) umgewandelt und dann in Zellkultur einer *in vitro* Genkorrektur durch homologe Rekombination unterworfen. Nach Rücktransplantation in das Donor-Tier konnten diese Zellen als erythroide Stammzellen die Bildung normaler Blutzellen bewirken [28]. In einem Mausmodell für Hämophilie B (Bluterkrankheit) konnte durch eine Zn-Finger-Nuklease vermittelte partielle Genkorrektur von Leberzellen *in vivo* eine schwere Form dieser Erkrankung in eine leichte Form umgewandelt werden [29]. Zn-Finger-Nuklease vermittelte Genkorrektur ist auch zur Eliminierung einer unerwünschten Gensequenz verwendet worden. So wurde das Gen, das den HIV-Ko-Rezeptor (CCR5) kodiert, auf diese Weise gezielt aus dem Genom der menschlichen Zielzellen des AIDS-Virus entfernt und diese Strategie ist nun Gegenstand einer laufenden klinischen Studie [30]. Eine solche Eliminations-Strategie könnte prinzipiell vor allem auch für eine personenspezifische gezielte Genomkorrektur dominanter genetischer Erkrankungen (s.o.) Anwendung finden.

Bei allen diesen ersten klinisch relevanten Erfolgen darf nicht verschwiegen bleiben, dass noch viel Arbeit erforderlich ist, um eine größere Zielspezifität zu erreichen und insbesondere fehlerhafte Korrekturen der Zielsequenz oder „Korrekturen“ im falschen Genom-Ort zu vermeiden [31, 22, 25].

Trotz dieser „technischen“ Einschränkung erscheint die beschriebene gezielte Genomkorrektur auf den ersten Blick als „heiliger Gral“ der individuellen Gentherapie oder gar der personalisierten Medizin überhaupt. Das mag auch prinzipiell für bestimmte Erkrankungen richtig sein, so z.B. für hämatologische Erkrankungen bei denen die Kombination von Gentherapie und Zelltherapie in Form von *ex vivo* Stammzell-Genkorrektur, wie am Tiermodell demonstriert, sehr hoffnungsvoll erscheint. Ebenso scheint diese Strategie für einige dominante genetische Erkrankungen, bei denen es gelingen könnte das mutierte Gen in einer ausreichenden Menge zu korrigieren oder gezielt auszuschalten, um die toxische Wirkung seines Genprodukts zu verringern oder zu eliminieren, als sehr attraktiv [19]. Die jüngsten Fortschritte bei der Entwicklung von iPS-abgeleiteten, pluri- und totipotenten Human-Stammzellen [32, 33] haben diese Kombinationsstrategie für eine Vielzahl mensch-

licher Zellen und Gewebe in greifbare Nähe gerückt. In den meisten Fällen aber ist die Notwendigkeit genügend Zellen mit großer Spezifität, Korrekturgenauigkeit und -effizienz zu erreichen auch für diese Genthapiestrategie das größte Hindernis. Das Problem des effektiven Gentransfers ist, insbesondere für die Zystische Fibrose, infolge der bereits erwähnten Multiorganmanifestation und sehr komplexen Gewebestruktur und Zugänglichkeit der betroffenen Organe (Lunge, Pankreas, Gallengänge) bei den kindlichen und erwachsenen Patienten, ein bisher ungelöstes Problem. Bei einigen frühmanifestierenden schwereren genetischen Erkrankungen könnten eventuell diese Barrieren und auch die der Immunabwehr durch Einsatz der Genthapie in utero überwunden werden [34–35].

Mutationsspezifische pharmakologische Therapie

Glücklicherweise standen die aus der genetisch-molekularbiologischen Analyse gewonnenen Erkenntnisse zur Struktur, zur Funktion und zu den Mutationen des CFTR Gens, die von Genetikern mit Erfolg zur individualisierten Diagnose und für die Entwicklung der Genthapie dieser Erkrankung eingesetzt wurden, auch Zellbiologen, Pharmakologen und Chemikern zur Verfügung. Diese haben, unbeirrt von den Versprechungen der Genthapie, einen anderen Weg verfolgt, nämlich die Suche nach niedermolekularen, systemisch applizierbaren, Organ-, Gewebe- und Zell-zugänglichen Verbindungen, die die verschiedenen Funktionen des multifunktionellen CFTR-Proteins beeinflussen und vor allem die mutationsbedingten Funktionsstörungen beheben könnten.

Die hierbei angewandte Strategie benutzt umfangreiche hierarchische Screening-Programme von der Zellkultur über Tiermodelle bis zur klinischen Testung, um häufig bereits bekannte und zum Teil auch klinisch schon eingesetzte Verbindungen auf neue pharmakologische Eigenschaften zu untersuchen.

Durchlesekorrektur bei Klasse-I-Mutationen: Die ersten Versuche in dieser Richtung zielten auf die Behebung des Effekts von Nonsense-Mutationen (Klasse I-Mutationen), die als unphysiologische Stoppcodons wirken und dadurch einen Abbruch der Polypeptidkettensynthese bewirken. 2003 berichteten Wilschanski et al. dass das Aminoglycid-Antibiotikum Gentamicin den durch Nonsense-Mutationen bewirkten

Kettenabbruch im CFTR-Protein aufheben und dadurch einige der elektrophysiologischen Funktionen dieses Proteins in Zellen der Nasenschleimhaut von Patienten mit Zystischer Fibrose wiederherstellen konnte [36]. Die Wirkung des Antibiotikums beruht auf seiner Interferenz mit der Korrekturfunktion des Ribosoms bei der Proteinsynthese, wodurch der Einbau einer inkorrekten Aminosäure am mutationsbedingten Stoppsignal das Durchlesen der vollen CFTR-Polypeptidkette erlaubt [37]. Obwohl eine Wirksamkeit auch für Patienten mit anderen auf einem Proteinsyntheseabbruch beruhenden genetischen Erkrankungen gezeigt wurde (z.B. Duchennesche Muskeldystrophie, DMD), ist eine klinische Behandlung mit Gentamicin, die ja lebenslang durchgeführt werden muss, vor allem auf Grund seiner Toxizität nicht akzeptabel. Daher wird nach anderen Pharmaka, die einen „Durchlese“-Mechanismus erzielen können gesucht. Eine dieser Verbindungen ist Ataluren, das eine stärkere Durchleseaktivität als Gentamicin aufweist und in der bisherigen klinischen Testung keine Nebenwirkungen zeigte [38]. Basierend auf diesen Untersuchungen wurden klinische Studien zur Behandlung von Nonsense-Mutationen bei Zystischer Fibrose (<http://www.cff.org/research/ClinicalResearch/FAQs/Ataluren/>) und der Duchenneschen Muskeldystrophie (DMD) durchgeführt. Oral verabreichtes Ataluren zeigte in beiden Studien einen hoffnungsvollen therapeutischen Effekt; in der DMD-Studie, jedoch nur bei niedriger Dosierung (http://www.parentprojectmd.org/site/DocServer/2012-07_ataluren_update.pdf?docID=13103). Zur Überprüfung dieser Resultate und Sammlung weiterer Sicherheitsdaten sind gegenwärtig neue Nonsense-Mutations-Studien mit niedriger Dosierungen sowohl für Zystische Fibrose (<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02139306?term=Ataluren&rank=15>) wie für DMD in Vorbereitung (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02090959?cond=%22Muscular+Dystrophy%2C+Duchenne%22&lup_s=05%2F11%2F2012&lup_d=1000).

Wie schwierig sich aber diese scheinbar einfache Strategie erweist, zeigt eine kürzlich erschienene unabhängige Untersuchung nach der die Stoppcodon-Repression durch Alaturen in anderen als den von Wilschanski et al. publizierten Zellkultur-Testsystemen nicht reproduzierbar war und die daher Zweifel an der Wirkung in den klinischen Untersuchungen aufkommen lassen [39].

Faltung- und Modifikationskorrektur bei Klasse-II Mutationen: Ein weiteres pharmakologisches Ziel ist die Überwindung der, durch die DeltaF508-Mutation hervorgerufene, Behinderung der post-translationalen Proteinmodifikation und Faltung. Diese Proteinmodifikation (processing) ist für den korrekten intrazellulären Transport und den Einbau in die Zellmembran erforderlich. Ein *in vitro* hoch-Durchsatz Screening Test an 164000 chemischen Verbindungen und der nachfolgenden chemischen Modifikation einer der gefundenen aktiven Substanzen führte zur Synthese einer VX809 benannten Substanz, mit potentieller therapeutischer Wirkung. Hierzu gehört die Fähigkeit die post-translationalen Faltung und Glycosylierung des DeltaF508 Proteins zu bewirken und dadurch den Transport, die Membranintegration und die Erfüllung physiologischer CFTR-Funktionen zu etwa 14% des Wertes in Normalzellen zu erreichen. In Patienten sollte das genügen, um ein schweres CF-Krankheitsbild in ein leichteres zu verwandeln. In Kombination mit einem weiteren niedermolekularen Pharmakon (VX770), das eine Potenzierung der elektrophysiologischen Eigenschaften von CFTR bewirkt, wurde sogar eine Korrektur des bei CF-Zellen defekten Chlorid-Transports zu 25% des Wertes bei normalen Zellen erreicht [40]. Weiterhin wurde in Versuchen an Ratten gezeigt, dass bei oraler Applikation Plasmawerte oberhalb der in Zellkultur beobachteten effektiven Dosis erreicht wurden [40]. Eine auf dieser Grundlage durchgeführte klinische Studie zur Untersuchung von Wirksamkeit und Sicherheit von oral dosiertem VX809 zeigte keine medikament-spezifischen Nebenwirkungen. Ein therapeutischer Effekt konnte allerdings nur in Form einer Reduktion der Chlorid-Sekretion der Schweißzellen der Patienten beobachtet werden. Im Nasenepithel zeigte sich keine Korrektur der pathologischen elektrophysiologischen Veränderungen und in einer Biopsie des Darmepithels konnte ebenfalls kein Hinweis auf eine Normalisierung der post-translationalen Proteinfaltung gefunden werden. Die Lungenfunktionsteste der Patienten zeigten ebenfalls keine klinische Besserung der Patienten, was allerdings bei der Kürze der Studie (28 Tage) nicht so verwunderlich ist [41]. Eine jüngere Untersuchung des molekularen Mechanismus der Korrektur des Delta F508-Faltungdefekts durch VX09 weist darauf hin, dass diese Korrektur nur partiell ist, und dass die Kombination mit anderen niedermolekularen Faltungskorrektoren, die an anderen Domänen die-

ses Proteins angreifen, eine bessere Faltung und Erhöhung der therapeutischen Wirksamkeit erreichen könnte. Es ist also denkbar, dass bei Patienten mit anderen Klasse II-Mutationen entsprechende mutations-spezifische Korrektoren eingesetzt und gegebenenfalls auch miteinander kombiniert werden könnten [42].

Korrektur von Kanalöffnungsdefekten bei Klasse-III Mutationen: Der wohl bisher eindrucksvollste klinische Erfolg in der Entwicklung niedermolekularer Verbindungen zur pharmakologischen Korrektur von CFTR-Mutationen ist wohl mit Invacator (VX770) gelungen. Diese Verbindung potenziert die Ionenkanalfunktion des CFTR und kann so den Effekt von Klasse-III Mutationen (gating-mutations) wie G551D korrigieren. Invacor bewirkt eine Erhöhung des cAMP abhängigen Chlorid-Ionenflusses durch den CFTR-Chloridkanal. In Zellkulturexperimenten führte Invacor zu einem >10fachen Anstieg des Chloridtransports von einem Ausgangswert von etwa 10% des Basiswertes der Zellen ohne CFTR-Mutation. Interessanterweise hat Invacor einen korrigierenden Effekt auf alle bekannten „gating“-Mutationen [43]. Die Mutationsspezifität von Invacator betrifft nicht so sehr die spezifische Einzelmutation als den funktionellen Mutationstyp. In einer auf der Grundlage dieser Ergebnisse durchgeführten Phase II klinische Sicherheitsstudie haben Patienten mit klinisch eindeutiger Zystischer Fibrose, die mindestens ein G551D-Mutations Allel hatten, dass Invacator gut vertragen. Darüber hinaus wurde gefunden, dass sich, im Gegensatz zu Patienten, die Placebo erhalten hatten, die Chlorid-Konzentration im Schweiß normalisierte, und dass eine signifikante Verbesserung der Lungenfunktionstests feststellbar war [44]. In nachfolgenden Phase III (therapeutischen) klinischen Studien wurden G551D-Patienten in Altersgruppen unter [45, 46] und über 12 Jahre [47] für 48 Wochen mit oral verabreichtem Ivacaftor behandelt. In beiden Patientengruppen wurden beträchtliche und andauernde Verbesserungen der Lungenfunktionsteste, der Chlorid-Konzentration im Schweiß, sowie eine verringerte Häufigkeit akuter klinischer Zustandsverschlechterungen und eine deutliche Gewichtszunahme beobachtet. Inzwischen wird Invacator in weiteren Phase III klinischen Studien an Kindern von 2–5 Jahren und als Kombinationstherapie mit Lumicoftor, einem Faltungskorrektor, an DF508-homozygoten CF-Patienten erprobt. Invacator ist bereits in den USA und EU als Medikament für die Behandlung von

CF-Patienten mit der G551D-Mutation ab 6 Jahren zugelassen (http://www.google.co.uk/search?q=Ivacafto+phase+III+clinical+trial&hl=en-GB&gbv=2&oq=&gs_l=).

Es ist damit das erste zugelassene Medikament zur Behandlung der Zystischen Fibrose, das an der kausalen, also krankheitsverursachenden Proteinmutation des individuellen Patienten angreift. Allerdings wird die Zukunft erst zeigen, ob es in der Lage ist, bereits bestehende Krankheitssymptome nachhaltig zu verbessern und vor allem auch, ob es die klinische Manifestation und/oder Progredienz bei jungen Kindern verhindern kann. Trotz dieser Einschränkungen besteht jetzt berechtigte Hoffnung, dass neue Pharmaka das Spektrum der personalisierten funktionellen Mutationskorrektur erweitern und auf andere monogenetische Erkrankungen ausweiten werden.

Ausblick

Das Zeitalter der auf Genomanalysen beruhenden Molekularen Medizin hat gerade erst begonnen. Es ist zu erwarten, dass neben den personenspezifischen pharmakologischen Therapien monogenetischer Erkrankungen auch Gen-, (Stamm)zell-, Immuntherapien und andere neue therapeutische Verfahren einzeln und in Kombination miteinander zum personalisierten Therapiekonzept beitragen werden und, dass in den kommenden Jahren dieses Herangehen auch im Sinne der „evidence based medicine“, mehr und mehr zur guten medizinischen Praxis wird.

Graduell wird es wahrscheinlich auch möglich werden „modifier“ Gene zu identifizieren und in diese Konzepte einzubeziehen und vielleicht ist das auch ein Schritt auf dem Weg zu der ungleich komplizierteren Anwendung der personalisierten Medizin bei polygenetisch bedingten Krankheiten.

Literaturzitate

1. Cutting, G.R., *Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis*. Ann N Y Acad Sci, 2010. **1214**: p. 57–69.
2. Pauling, L., Itano, H. A., Singer, S. J. and Wells, I. C., *Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease*. Science, 1949. **110**(25): p. 543–548.

3. Ingram, V.M., *Gene Mutation in human haemoglobin: The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin*. Nature, 1957 **4581**: p. 326–328.
4. Kan, Y.W. and A.M. Dozy, *Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta-globin structural gene: relationship to sickle mutation*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1978. **75**(11): p. 5631–5.
5. Bobadilla, J.L., et al., *Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening*. Hum Mutat, 2002. **19**(6): p. 575–606.
6. Bear, C.E., et al., *Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)*. Cell, 1992. **68**: p. 809–818.
7. Boucher, R.C., et al., *Na transport in cystic fibrosis respiratory epithelia*. J.Clin.Invest., 1986. **78**: p. 1245–1252.
8. Rommens, J.M., et al., *Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping*. Science, 1989. **245**: p. 1059–1065.
9. Riordan, J.R., et al., *Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA*. Science, 1989. **245**: p. 1066–1073.
10. Kerem, B., Rommens, J.M., Buchanan, J.A., Markiewicz, D., Cox, T.K., Chairavarti, A., and M. Buchwald, Tsui, L-C, *Identification of the Cystic Fibrosis Gene: Genetic Analysis*. Science, 1989 **245**(4922): p. 1075–108.
11. Ballabio, A., Gibbs, R.A., Caskey, C.T., *PCR Test for cystic fibrosis*. Nature, 1990. **343**: p. 220.
12. Cystic-Fibrosis-Centre, *Cystic Fibrosis Mutation Database: Statistics at the Hospital for Sick Children in Toronto*. <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>, 2011.
13. Foundation, C.F., *CFTR2 – Clinical and Functional Translation of CFTR*. <http://www.cftr2.org/howtouse1.php>, 2015.
14. Watson, M.S., et al., *Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel*. Genetics in Medicine, 2004. **6**(5): p. 387–391.
15. Coutelle, C. and A. Speer, *Genomics in the German Democratic Republic*. Genomics, 1990. **8**(1): p. 182–6.
16. Kirk, K. and W. Wang, *A unified view of CFTR gating: combining the allosterism of a ligand-gated channel with the enzymatic activity of an ABC transporter*. The Journal of Biological Chemistry, 2011. **268**: p. 12813–12819

17. Castellani, C., et al., *Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice*. J Cyst Fibros, 2008. **7**(3): p. 179–96.
18. Zhang, L., A.J. Thrasher, and H.B. Gaspar, *Current progress on gene therapy for primary immunodeficiencies*. Gene Ther, 2013. **20**(10): p. 963–9.
19. Cox, D.B., R.J. Platt, and F. Zhang, *Therapeutic genome editing: prospects and challenges*. Nat Med, 2015. **21**(2): p. 121–131.
20. Urnov, F.D., et al., *Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases*. Nature, 2005. **435**(7042): p. 646–51.
21. Rahman, S.H., et al., *Zinc-finger nucleases for somatic gene therapy: the next frontier*. Human Gene Therapy, 2011. **22**(8): p. 925–33.
22. Galetto, R., P. Duchateau, and F. Paques, *Targeted approaches for gene therapy and the emergence of engineered meganucleases*. Expert Opin Biol Ther, 2009. **9**(10): p. 1289–303.
23. Li, T., Huang S, Jiang WZ, Wright D, Spalding MH, Weeks DP, Yang B., *TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain*. Nucleic Acids Res, 2011 **39**(1): p. 359–72
24. Cong, L., Ran FA, Cox D, Lin S, Barretto R, Habib N, Hsu PD, Wu X, Jiang W, Marraffini LA, Zhang F., *Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems*. Science, 2013 **339**(6121): p. 819–23.
25. Baker, M., *Gene editing at CRISPR speed*. Nat Biotechnol. , 2014 **32**(4): p. 309–12.
26. Schwank, G., et al., *Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients*. Cell Stem Cell, 2013. **13**(6): p. 653–8.
27. Niu, Y., et al., *Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos*. Cell, 2014. **156**(4): p. 836–43.
28. Hanna, J., et al., *Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin*. Science, 2007. **318**(5858): p. 1920–3.
29. Li, H., et al., *In vivo genome editing restores haemostasis in a mouse model of haemophilia*. Nature, 2011. **475**: p. 217–221.
30. Maier, D.A., et al., *Efficient clinical scale gene modification via zinc finger nuclease-targeted disruption of the HIV co-receptor CCR5*. Human gene therapy, 2013. **24**(3): p. 245–58.
31. Cathomen, T. and J.K. Joung, *Zinc-finger nucleases: the next generation emerges*. Mol Ther, 2008. **16**(7): p. 1200–7.

32. Gafni, O., et al., *Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells*. *Nature*, 2013. **504**(7479): p. 282–6.
33. Irie, N., et al., *SOX17 is a critical specifier of human primordial germ cell fate*. *Cell*, 2015. **160**(1–2): p. 253–68.
34. Coutelle, *Hoffnungen und Risiken einer präventiven pänatalen Gentherapie* Leibniz Online 08/2010, 2010. http://www.leibniz-sozietat.de/journal/archive/08_10/coutelle.pdf: p. 2–28.
35. Coutelle, C., *Prospects for Prenatal Gene Therapy*. 2014 Online publication LS 2014, John Wiley & Sons Ltd: Chichester. <http://www.els.net/> [DOI: 10.1002/9780470015902.a0025275]
36. Wilschanski, M., et al., *Gentamicin-induced correction of CFTR function in patients with cystic fibrosis and CFTR stop mutations*. *N Engl J Med*, 2003. **349**(15): p. 1433–41.
37. Palmer, E., J.M. Wilhelm, and F. Sherman, *Phenotypic suppression of nonsense mutants in yeast by aminoglycoside antibiotics*. *Nature*, 1979. **277**(5692): p. 148–50.
38. Wilschanski, M., et al., *Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis*. *Eur Respir J*, 2011. **38**(1): p. 59–69.
39. McElroy, S.P., et al., *A lack of premature termination codon read-through efficacy of PTC124 (Ataluren) in a diverse array of reporter assays*. *PLoS Biol*, 2013. **11**(6) e1001593: p. 1–8.
40. Van Goor, F., et al., *Rescue of DeltaF508-CFTR trafficking and gating in human cystic fibrosis airway primary cultures by small molecules*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006. **290**(6): p. L1117–30.
41. Clancy, J.P., et al., *Evidence that systemic gentamicin suppresses premature stop mutations in patients with cystic fibrosis*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001. **163**(7): p. 1683–92.
42. Ren, H.Y., et al., *VX-809 corrects folding defects in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein through action on membrane-spanning domain I*. *Mol Biol Cell*, 2013. **24**(19): p. 3016–24.
43. Yu, H., et al., *Ivacaftor potentiation of multiple CFTR channels with gating mutations*. *J Cyst Fibros*, 2012. **11**(3): p. 237–45.
44. Accurso, F., Rowe SM, Clancy JP, Boyle MP, Dunitz JM, Durie PR, Sagel SD, Hornick DB, Konstan MW, Donaldson SH, Moss RB, Pilewski JM, Rubenstein RC, Uluer AZ, Aitken ML, Freedman SD, Rose LM, Mayer-Hamblett N, Dong Q, Zha J, Stone AJ, Olson ER, Ordoñez CL, Campbell PW, Ashlock MA, Ramsey BW., *Effect of VX-770 in persons with cystic*

- fibrosis and the G551D-CFTR mutation*. N Engl J Med. , 2010. **363**(21): p. 1991–2003.
45. Davies, J.C., et al., *WS6.5 Ivacaftor in subjects 6 to 11 years of age with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation*. Journal of Cystic Fibrosis, 2012. **11**: p. S13.
46. Davies, J.C., et al., *Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with a G551D mutation*. Am J Respir Crit Care Med, 2013. **187**(11): p. 1219–25.
47. Ramsey, B., Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, Griese M, McKone EF, Wainwright CE, Konstan MW, Moss R, Ratjen F, Sermet-Gaudelus I, Rowe SM, Dong Q, Rodriguez S, Yen K, Ordoñez C, Elborn JS; VX08-770-102 Study Group, *A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation*. N Engl J Med., 2011. **365** (18): p. 1663–72.

Rita Bernhardt

Aus der Werkzeugkiste der Natur – Zum Potential von Cytochrom P450 Enzymen in der Biotechnologie

Erlauben sie zu Beginn einige persönliche Worte zu Prof. Friedrich Jung.

Als ich Anfang 1977, nach meiner Aspirantur an der Moskauer Staatlichen Lomonossow-Universität, in Berlin eine Stelle suchte, war es Friedrich Jung, der mir die Chance gab, am Zentralinstitut für Molekularbiologie als Wissenschaftliche Mitarbeiterin bei seinem Schüler Klaus Ruckpaul tätig zu werden. Damit begann auch meine Beschäftigung mit Cytochrom P450 Systemen, die eine unglaublich vielfältige Bedeutung haben (**Abb. 1**) und von deren Untersuchung ich mich im Wesentlichen bis jetzt nicht losreißen konnte. Die wissenschaftliche Aufgeschlossenheit und Neugier von Friedrich Jung und seine unvoreingenommene Herangehensweise an wissenschaftliche Fragestellungen haben mich nachhaltig mitgeprägt. Ich wählte ihn als Vorsitzenden für meine Habilitationskommission aus, obwohl mir bewusst war, dass seine mitunter auch unstete und provokante Art einen in dieser Situation ganz schön ins Schwitzen bringen konnte. Insbesondere die Förderung, die junge Leute in seinem Institut erhielten, hat dazu beigetragen, dass wir uns frühzeitig auch international gut vernetzen konnten.

Leider laboriere ich an einem gebrochenen Finger der rechten Hand, so dass es mir nicht möglich war, den beim Festkolloquium gehaltenen Beitrag zu Papier zu bringen. Ich möchte daher einen Beitrag, der wenigstens einen Teilaspekt meines Vortrages enthält und den ich für den Science Blog meiner österreichischen Kollegin Prof. Dr. Inge Schuster (<http://scienceblog.at/cytochrom-p450#>), mit der ich jahrelang kooperieren konnte, geschrieben habe, zur Kenntnis bringen.

Was sind Cytochrome P450?

Cytochrom P450 (abgekürzt CYP) ist der Sammelname einer Superfamilie von Tausenden Enzymen, die in praktisch allen Lebensformen unserer Biosphäre vorkommen. CYPs können auf unterschiedlichen Reaktionswegen verschiedenste Moleküle oxydieren. Die Biochemikerin Rita Bernhardt (Lehrstuhl für Biochemie, Universität Saarbrücken) ist Expertin auf dem Gebiet biotechnologischer Anwendungen von CYPs. Sie gibt Beispiele, wie diese überaus effizienten Biokatalysatoren industriell genutzt werden.

Seit Jahrtausenden machen wir von Prozessen der Mikroorganismen Gebrauch beispielsweise um Nahrungs- und Genussmittel – vor allem Brot, Käse, Bier und Wein – herzustellen. Wir wenden dabei Verfahren an, die heute unter die Definition Biotechnologie, besser gesagt „Weiße Biotechnologie“ fallen. „Weiße Biotechnologie“ bedeutet: die industrielle Nutzung von in der Natur vorkommenden und zumeist noch zweckentsprechend optimierten Enzyme (Enzyme sind Biokatalysatoren) und lebenden Zellen, vor allem von Mikroorganismen. Die Liste der Anwendungen ist lang. Optimierte Enzyme

- können bereits bei niedrigen Temperaturen Stärke, Eiweiß und Fette abbauen und sind aus modernen Waschmitteln nicht mehr wegzudenken,
- spielen hinsichtlich Geschmack und Konservierung eine essentielle Rolle in der Nahrungsmittelproduktion,
- werden vor allem aber zur Synthese komplizierter Substanzen – beispielsweise von Arzneistoffen – aus relativ einfachen und billigen Ausgangsstoffen eingesetzt.

Ein außergewöhnlich hohes Potential für biotechnologische Anwendungen aller Art haben dabei Enzyme aus der Superfamilie der Cytochrome P450 (Bernhardt 2004, 2006; Bernhardt and Urlacher 2014).

Diese, kurz als CYP bezeichneten, Mitglieder einer Superfamilie von Enzymen sind in praktisch allen Lebensformen zu finden. Ihr Ursprung datiert in eine frühe Phase unseres Planeten zurück, vermutlich noch bevor Sauerstoff zu einem wesentlichen Bestandteil unserer Atmosphäre wurde. Darauf weisen zumindest die Stammbäume hin, die aus Sequenzvergleichen der CYP-Gene erstellt wurden und, dass CYPs auch heute noch in vielen Typen prokaryotischer Zellen – Bakterien

und Archaea – vorkommen. Aus der Urform haben sich im Lauf der Evolution dann verschiedenste Formen entwickelt, wie wir sie heute im Pilz-, Pflanzen- und Tierreich vorfinden – mehr als 21 000 derartige Formen waren bereits 2014 beschrieben; Tendenz steigend.

Allen diesen Formen gemeinsam ist, dass sie eine sehr ähnliche dreidimensionale Architektur besitzen und nach demselben Funktionsprinzip operieren:

CYPs sind Hämoproteine, das bedeutet: sie enthalten den roten Blutfarbstoff Häm. Mit Hilfe dieser Hämgruppe binden CYPs Sauerstoff und führen diesen in eine hochreaktive Form über. Mit solcherart aktiviertem Sauerstoff können CYPs dann unterschiedliche Reaktionstypen eingehen und damit eine ungeheure Vielzahl und Vielfalt an Verbindungen – Substraten – oxidieren. Es sind dies niedermolekulare, zumeist fettlösliche Verbindungen, für welche die Enzyme mehr oder weniger passgenaue (spezifische) Bindungstaschen bereithalten. Als Substrate fungieren dabei sowohl zell-/körpereigene (endogene) Stoffe als auch eine immense Zahl zell-/körperfremder (exogener) Substanzen:

Endogene Substrate sind im Menschen beispielsweise Fettsäuren, Steroide und Prostaglandine: sowohl in deren Synthese als auch in deren Abbau sind unterschiedliche CYPs entscheidend involviert. In anderen Worten: CYPs produzieren damit nicht nur lebenswichtige, pharmakologisch aktive Substanzen, sie regulieren auch – via Abbau – deren Konzentrationen.

Exogene Substrate sind nahezu alle niedermolekularen Stoffe in unserer Umwelt, u.a. Inhaltsstoffe unserer Nahrung, Arzneimittel, organische Lösemittel, Kohlenwasserstoffe, Pestizide, Karzinogene, etc. Hier steht in erster Linie der Schutz unserer Körperzellen vor Fremdstoffen im Vordergrund: durch (zum Teil mehrfache) Oxidation werden möglicherweise toxische Eigenschaften von Verbindungen – zumindest meistens – beseitigt („Entgiftung“), gleichzeitig nimmt deren Löslichkeit zu und dementsprechend ihre Anreicherung im zellulären Milieu ab. Die oxidierten Fremdstoffe können dann aus den Zellen und den ganzen Organismen ausgeschieden werden.

Natürlich kann die Vielzahl an Substraten in einem Organismus nicht durch wenige Formen von Cytochrom P450-Enzymen bewältigt werden. So weist der Mensch 57 verschiedene Formen auf (deren Funktionen wir zum Teil noch nicht im Detail kennen), die meisten davon katalysieren in hochspezifischer Weise die Synthese und den Abbau körpereigener Verbindungen, beispielsweise von Steroidhormonen, Vitamin D oder Gallensäuren. Rund 15 CYP-Formen mit wesentlich geringeren Spezifitäten sind vorwiegend in den Abbau von Fremdstoffen involviert.

Pflanzen können mehrere hundert CYP-Formen enthalten (beispielsweise sind es 273 CYPs in der Ackerschmalwand – *Arabidopsis thaliana*). Auch hier haben die CYPs essentielle Funktionen in der Synthese von i) Signalmolekülen und Hormonen, die für das Wachstum benötigt werden, ii) von schützenden Substanzen gegen UV-Strahlung und parasitäre Angriffe (Flavonoide, Phytoalexine, Terpene), iii) von Pigmenten (Anthocyanine, Karotinoide) und auch iv) von Strukturpolymeren (Ligninen).

CYPs in Forschung und Anwendung

Keine andere Gruppe von Enzymen zeigt eine ähnliche Breite akzeptierter Substrate, keine eine solche Fülle von Reaktionstypen wie die CYPs. Dies zieht das Interesse von Forschern unterschiedlichster Fachrichtungen an sich – seit der Entdeckung des ersten CYP vor rund 50 Jahren sind in der Literaturdatenbank PubMed unter dem Stichwort „Cytochrome P450“ mehr als 80 300 Veröffentlichungen zu finden. Zentrale Aspekte der CYP-Forschung -Grundlagenforschung und mögliche Anwendungen – sind in **Abb. 1** gegeben.

Von besonderem Interesse erscheint der Einsatz von CYPs, wenn es um die effiziente Synthese komplizierter organischer Moleküle geht: dabei kann es sich um Feinchemikalien handeln, um pharmakologisch wirksame Substanzen und in besonderem Maße um neue Arzneimittel.

Gegenüber chemischen Syntheseverfahren versprechen derartige biotechnologische Ansätze enorme Vorteile. Vor allem,

- weil hier hochspezifische Reaktionen ablaufen, die vorzugsweise das gewünschte Produkt erzeugen und zwar in der richtigen räumlichen Struktur und weitgehend ohne möglicherweise schädliche Nebenprodukte und

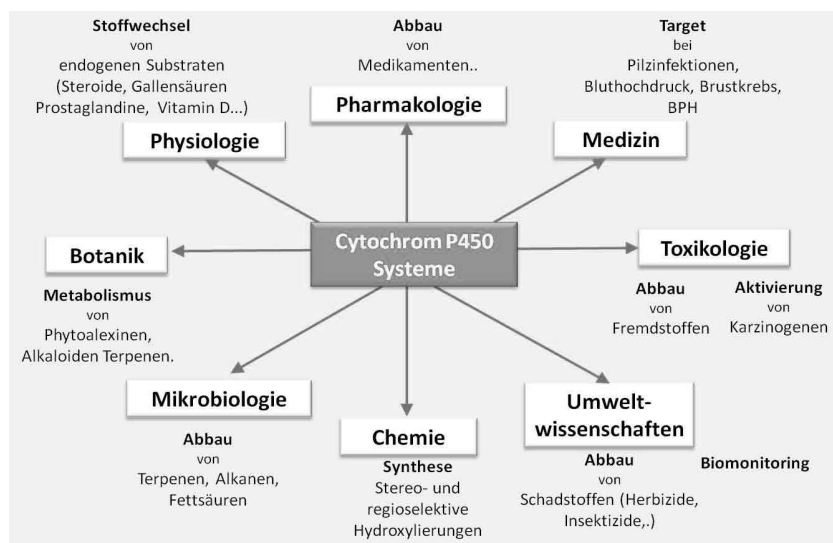


Abb. 1: Funktion und Anwendungen von Cytochrom P450 Enzymen

- weil dies unter wesentlich umweltverträglicheren Bedingungen geschieht, d.h. unter Vermeidung von Abgasen und bei stark reduziertem Einsatz von organischen Reagenzien und Lösungsmitteln.

Kann man hier isolierte CYPs einsetzen?

Die einfachste Möglichkeit wäre es, CYPs mit den gewünschten katalytischen Eigenschaften aus dem riesigen Reservoir der Natur auszuwählen und in isolierter, möglicherweise zusätzlich optimierter Form direkt zur industriellen Produktion von Substanzen einzusetzen. Dies stößt (noch) auf eine Reihe von Schwierigkeiten:

- i) CYPs sind im isolierten Zustand meistens nur wenig stabil, ii) sie benötigen für ihre Umsetzungen spezifische Reaktionspartner – ein oder mehrere andere Proteine – mit ebenfalls limitierter Stabilität – und iii) Kofaktoren, die teuer sind und während der Reaktion verbraucht werden. iv) Darüber hinaus arbeiten die meisten natürlichen CYPs ziemlich langsam.

Zellen als lebende Biofabriken

Mit der Verwendung von CYPs in ganzen intakten Zellen werden die genannten Schwierigkeiten umgangen. Vorzugsweise kommen Mikroorganismen wie beispielsweise Hefen (z.B. *Saccharomyces cerevisiae* oder *Schizosaccharomyces pombe*) oder Bakterien (z.B. *Escherichia coli*) zum Einsatz. Diese sind häufig genmanipuliert, d.h. sie enthalten ein oder mehrere stabil exprimierte CYPs, welche die gewünschten Umsetzungen ausführen können. Ebenso liegen deren Reaktionspartner vor und Systeme, welche auch die notwendigen Cofaktoren erzeugen und recyceln. Wenn eine Umsetzung noch zu langsam erfolgt und zu wenig Produkt entsteht, wird das betreffende CYP – aber auch sein(e) Reaktionspartner – einem Optimierungsprozess unterzogen:

- Mit gezielten Mutationen, wenn die räumliche Struktur des Enzyms (z.B. aus der Röntgen-Kristallanalyse) bekannt ist. Damit lässt sich erreichen, dass beispielsweise das Substrat besser in die Bindungstasche des Enzyms passt und/oder dass dessen Wechselwirkung mit dem Reaktionspartner verbessert wird.
- Mit zufallsbasierter Mutagenese („gerichteter Evolution“, auch: „Evolution im Reagenzglas“ genannt. Damit erhält man vorerst einen großen Pool an Mutanten, aus denen man im nachfolgenden Screening (= Testen auf die gewünschten Eigenschaften) die geeignetsten auswählt. Diese werden dann in eine weitere Runde von „gerichteter Evolution“ und Screening eingesetzt, die potentesten davon wieder in eine neue Runde und dieser Prozess wird solange wiederholt, bis man schließlich zufriedenstellende Eigenschaften, d.h. hohe Produktivität erreicht hat.

Mit diesen Verfahren konnten Umsatzraten auf mehr als das 100-fache, in einem speziellen Fall sogar auf das 9000-fache erhöht werden. Dies ist zweifellos ausreichend, wenn man die Produktion pharmazeutischer Wirkstoffe ins Auge fasst, die ansonsten nur durch langwierige, vielstufige chemische Synthese hergestellt werden können. Die minimalen Anforderungen im biotechnologischen Prozess liegen (nach Julsing et al., 2008) bei Umsatzraten von 1 mg/l Fermentationsbrühe und Stunde und einer Endausbeute von 100 mg pro Liter.

Der industrielle Einsatz von CYPs

Das Beispiel Hydrocortison

Bereits in der Mitte des vorigen Jahrhunderts erkannte man, dass dieses in unserem Körper natürlich vorkommende Steroidhormon auch starke entzündungshemmende Eigenschaften besitzt – seitdem ist Hydrocortison aus der Therapie nicht mehr wegzudenken. Das Einsatzgebiet reicht von der Behandlung rheumatoider Erkrankungen über die von Ekzemen bis hin zur Unterdrückung der Immunantwort. Dementsprechend besteht weltweit enormer Bedarf für dieses Steroid oder seine (noch wirkungsvolleren) Analoga und es wird nach effizienten billigen Syntheseverfahren gesucht.

Die ersten rein chemischen Synthesen gingen von Gallensäuren des Rindes aus und benötigten 31 Schritte bis zum Endprodukt – die Herstellungskosten für 1 Gramm Hydrocortison lagen damals (1949) bei 200 \$. 1951 entwickelte Djerassiein Verfahren, das mit dem pflanzlichen Steroid Diosgenin startete; der Syntheseweg wurde kürzer, blieb aber noch immer extrem aufwändig. Die Entdeckung, dass ein Pilz – *Rhizopus arrhizus* – einen wesentlichen Hydroxylierungsschritt im Syntheseweg ausführen kann, brachte den Durchbruch: zur nunmehr semi-synthetischen Herstellung benötigte man insgesamt nur 15 Stufen, die Kosten sanken auf rund 1 \$ pro Gramm Hydrocortison (1979).

Wie man später erkannte, war ein mikrobielles CYP für diese Hydroxylierung verantwortlich. In der Folge wurden derartige CYPs zu unentbehrlichen Werkzeugen der Biotechnologie und ermöglichten die großtechnische Produktion unterschiedlichster, höchst wirksamer Steroide.

Paradebeispiel für das Potential der synthetischen Biologie ist der jüngste Erfolg: die „de novo“ Biosynthese von Hydrocortison. Diese findet in gentechnisch veränderter Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) statt, die Ausgangsstoffe sind einfachste organische Verbindungen – Glukose oder Ethanol – aus denen das Endprodukt Hydrocortison ohne wesentliche Nebenprodukte entsteht (**Abb. 2**).

Diese Hefe enthält u.a. die vier wesentlichen CYPs (CYP11A1, CYP17A1, CYP21, CYP11B1), die in Säugerzellen die Umwandlung von Cholesterin zu Hydrocortison katalysieren. Da Hefezellen selbst über kein Cholesterin verfügen und dieses auch nicht aus dem Nährme-

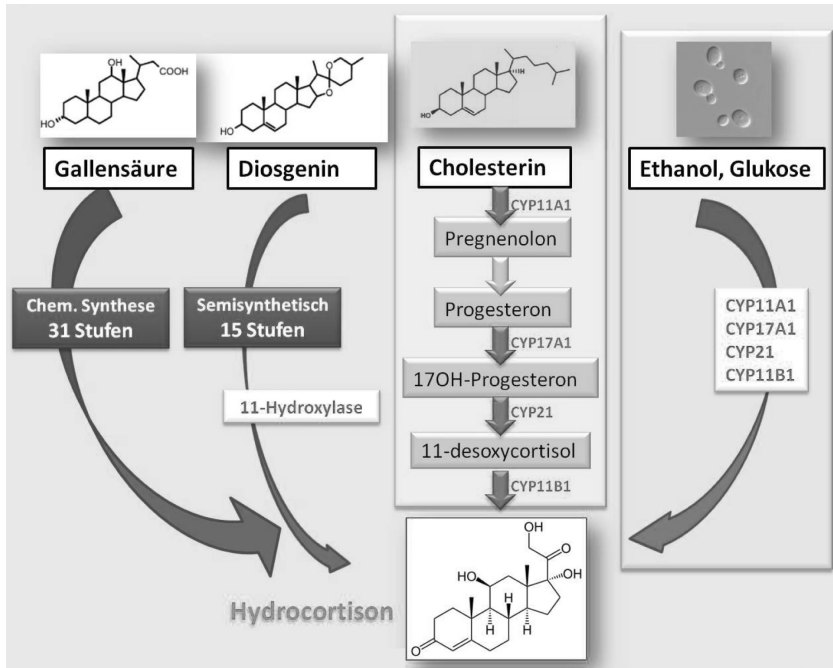


Abb. 2: Synthese von Hydrocortison (vereinfachte Darstellung). Links: rein chemische Synthese aus Rindergallensäure. Halblinks: semisynthetische Herstellung unter Verwendung eines CYPs in *Rhizopus*. Mitte: in vivo Synthese aus Cholesterin in Säugerkörperzellen. Rechts: de novo Synthese in gentechnisch manipulierter Hefe (*S. Cerevisiae*); außer den 4 wesentlichen CYPs (rot) wurden weitere Gene eingeschleust und einige Hefe Gene umfunktionalisiert/stillgelegt.

dium aufnehmen können, mussten mehrere Stoffwechselprozesse der Hefe umfunktionalisiert oder stillgelegt werden, um deren strukturell ähnliches Ergosterol für die Umsetzungen nutzen zu können.

Das Beispiel Artemisinin

An Malaria erkranken jährlich über 200 Millionen Menschen, über 660 000 sterben daran. Schon seit nahezu 2000 Jahren war in der chinesischen Medizin die Wirkung eines Extrakts aus dem Beifußgewächs *Artemisia annua* gegen diese Infektionskrankheit bekannt. Der darin

enthaltene Wirkstoff Artemisinin ist heute essentieller Bestandteil der weltweit angewandten, erfolgreichen Malaria-Kombinationstherapie. Um unabhängig von den schwankenden Wirkstoffgehalten der Pflanze, Ernteerträgen und Lieferengpässen zu werden, wurden nun – ermöglicht durch ein Projekt der Gates-Foundation und one-World Health – semi-synthetische Verfahren zur Produktion von Artemisinin entwickelt. Diese verwenden nun wieder genmanipulierte Bäckerhefe mit dem pflanzlichen CYP71 in optimierter Form, welches in einem 3-Stufenprozess die Artemisinin-Vorstufe erzeugt. Der Sanofi Konzern kann von diesem Rohstoff jährlich bis zu 100 Tonnen erzeugen, der eigentliche Wirkstoff entsteht daraus durch eine photochemische Reaktion.

Das Beispiel Pflanzen mit geänderten Blütenfarben

Als vor ca. 20 Jahren bei einer Tagung ein australischer Wissenschaftler auftrat und verkündete, blaue Rosen herstellen zu wollen, indem er CYPs aus blauen Pflanzen, die dort die blaue Blütenfärbung verursachen, in den Blüten von Rosen zur Expression bringen wollte, war ich skeptisch und fragte mich, wer denn derartige Pflanzen benötigen und kaufen würde. Heute gibt es zwar immer noch keine Kornblumen-blauen Rosen, aber lila-bläuliche, da sich die Farbgebung als komplex und nicht nur CYP-abhängig erwies. Dafür gibt es beispielsweise lila (in allen Abstufungen) Nelken und andere Pflanzen mit geänderten Blütenfarben (hergestellt in einer Kooperation der japanischen Firma Suntory und der australischen Firma Florigen). Als ich die lila Nelken im Original sah, besonders in einem Ikebani-Gesteck, war ich fasziniert. Das geht offenbar nicht nur mir so, denn der Umsatz weltweit beträgt inzwischen > 1 Milliarde Euro jährlich.

Wie geht es weiter?

Die Matrize aus Tausenden von CYP Formen mit unterschiedlichen Substratselektivitäten und von verschiedenen CYP Reaktionen an unterschiedlichen Substraten ergibt eine immense Vielfalt von Möglichkeiten für die Anwendung von CYPs in der Biotechnologie, u.a. bei der umweltfreundlicheren Herstellung neuer Wirkstoffe. Die „de novo Synthese von Hydrocortison“ und die „semi-synthetische Produktion von

Artemisinin“ sind dafür Paradebeispiele. Weitere Forschungen müssen und werden sicherlich die bisherigen Engpässe bei der Anwendung in den kommenden Jahren überwinden.

Referenzen

- R. Bernhardt, V.B. Urlacher: *Cytochromes P450 as promising catalysts for biotechnological application: chances and limitations*. ApplMicrobiolBiotechnol (2014) 98:6185–6203.
- R. Bernhardt: *Cytochromes P450 as versatile biocatalysts*. J Biotech 124 (2006) 128–145
- R. Bernhardt: *Cytochrome P450: versatile Enzymsysteme mit Anwendungen in der Biotechnologie und Medizin*. http://www.uni-saarland.de/fileadmin/user_upload/Campus/Forschung/forschungsmagazin/2004/1/Bernhardt.pdf
- Julsing MK, Cornelissen S, Buhler B, Schmid A (2008) *Heme-iron oxygenases: powerful industrial biocatalysts?* CurrOpinChemBiol 12: 177–186

Weiterführende Links

Cytochrome P450. Enzymfamilie mit zentraler Bedeutung.

<http://www.pharmazeutische-zeitung.de/?id=40909>

Synthetische Biologie: http://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/reden_stellungnahmen/2009/stellungnahme_synthetische_biologie.pdf

Wenn der Mensch Gott Konkurrenz macht:

http://www.cas.uni-muenchen.de/pressespiegel/syn_bio_2_muenchner_merkur.pdf

Malaria-Wirkstoff aus Bäckerhefe:

http://www.deutschlandfunk.de/malaria-wirkstoff-aus-baeckerhefe.676.de.html?dram:article_id=244601

Sanofi launches malaria drug production:

<http://www.rsc.org/chemistryworld/2013/04/sanofi-launches-malaria-drug-production>

Beiträge im Science Blog

(<http://www.scienceblog.at/>) zu verwandten Themen: Cytochrom P450-Enzyme: Tausendsassas in allen Bereichen unserer Biosphäre

Die Sage vom bösen Cholesterin: Zu Wirkung und Nebenwirkungen von Medikamenten Vitamin D – Allheilmittel oder Hype?

Götz Nowak (MLS, Erfurt) und Mercedes Lopez (IVIC, Caracas)

Personalisierte Therapie bei Gerinnungsstörungen des Blutes

Einleitung

Zu den vielfältigen vitalen Funktionen des Blutes gehören auch Mechanismen zum sicheren Verschluss vaskulärer Defekte, die als primäre und sekundäre Hämostase („Blutstillung“) bezeichnet werden. Das Ziel des Hämostasesystems ist die Minimierung von Blutverlusten und damit gehört die Blutgerinnung zu den lebensnotwendigen Abwehrsystemen unseres Körpers.

Akute und/oder chronische Störungen des Gerinnungssystems führen zu einer Vielzahl von Gerinnungskrankheiten (kardiovaskulär, mikrovaskulär, embolisch, lokal oder systemisch, akut oder chronisch), die weiterhin die Todesursachenstatistiken dominieren. Trotz aller neuen pharmakologischen und apparativen Therapiewege zur Beseitigung der primären oder sekundären Gerinnungsstörungen sind bisher deutliche Verbesserungen der Sterblichkeits-Statistiken ausgeblieben. Ein wesentlicher Ansatz zur Lösung dieser kostenintensiven unbefriedigenden Situation ist in einer personalisierten Therapie von Gerinnungsstörungen des Blutes gegeben.

Das plasmatische Gerinnungssystem

Die drei wesentlichen Teile des Gerinnungssystems sind bereits von Virchow erkannt und dargestellt worden: das Blutplasma, die Blutplättchen (Blutzellen) und die Blutgefäße (Virchow-Trias). Zum weiteren Verständnis der im Blut vorhandenen „Mitspieler“ der Blutgerinnung ist es unabdingbar, zunächst das plasmatische Gerinnungssystem näher kennen zu lernen: Im Blut sind gerinnungsaktive Proteine in inak-

tiver Form vorhanden. Bei einer Gerinnungs-Initiierung (Gefäßdefekte oder Fremdoberflächen) wird mittels abgestufter limitierter Proteolyse der Gerinnungsfaktoren F VII, F IX und F X in komplexer Form das Schlüsselenzym der Blutgerinnung, die Serinprotease Thrombin (F II) frei gesetzt. Thrombin kann an seinem Substrat, dem Fibrinogen, dann im Blut wiederum durch limitierte Proteolyse einen Komplexierungsmechanismus auslösen, der endgültig in einem unlöslichen Fibringerinnsel endet. Es gibt verschiedene Aktivierungsmöglichkeiten der Gerinnung. Der am häufigsten vorkommende Weg wird durch den sogenannten Gewebefaktor (TF, tissue factor) gestartet, der aus Wundgebieten und aktivierten Zellen freigelegt wird und im Komplex mit negativ geladenen Phospholipidoberflächen (auf Blutplättchen und Monozyten) den Faktor VII aktiviert. Der Komplex TF/Faktor VIIa kann den Faktor X und auch den Faktor IX ebenfalls mittels limitierter Proteolyse aktivieren. In einem weiteren Aktivierungskomplex wird der Faktor X (mit Hilfe des Kofaktors Va) zu der Serinprotease Xa durch den IXa-Komplex aktiviert. Diese Komplex-gebundene Serinprotease FXa (Prothrombinase) generiert aus Prothrombin die Gerinnungsprotease Thrombin. Thrombin verläßt seinen Aktivierungskomplex und ist im Blut frei verfügbar, wo er nicht nur Fibrinogen spaltet, sondern auch seine eigene Generierung durch die Aktivierung wichtiger Kofaktoren (Faktor V, Faktor VIII und Faktor XI) verstärkt.

An Fremdoberflächen/Kontaktflächen kann ebenfalls die Initiierung der Gerinnung stattfinden und wird durch den Faktor XII mit seinem Kofaktor HMWK (hochmolekular-gewichtiges Kininogen) vermittelt. Auch hier ist ein ebensolcher Serinprotease-Komplex (F XI) an negativen Phospholipidoberflächen der Starter für die Aktivierung des Faktors IX. Zusammen mit seinem Kofaktor, dem F VIIIa, bildet die Serinprotease IXa den als Tenase bezeichneten „Brücken“komplex, der den Faktor X aktivieren kann. Der aktivierte Faktor X (FXa) und Thrombin waren/sind für die Gerinnungspharmaka-Entwicklung von hohem Interesse, auf die später noch detailliert eingegangen wird. Nach der Abspaltung zweier kurzer Peptide (Fibrinopeptid A und B) am Fibrinogenmolekül durch das dort gebundene Thrombin bilden sich spontan hochmolekulare Fibrin-Monomere, die durch den Faktor XIII, einer ebenfalls durch Thrombin aktivierten Transaminase quervernetzt wird und dadurch als stabiles Fibrin „ausfällt“.

Die Blutplättchen

Blutplättchen, auch als Thrombozyten bezeichnet, sind klein, kurzlebig und kernlos, sie werden von speziellen „Mutter“-zellen des Knochenmarks, den Megakaryozyten, permanent in die Blutzirkulation entlassen und können hier bis zu 10 Tage aktiv werden, bevor sie vor allem in der Milz nach Vitalitätskontrolle sequestriert werden. Blutplättchen kommen nicht häufig im Blut vor. Auf 100 Erythrozyten finden sich nur 5 Blutplättchen (2,5 k/ μ l Blut). Ihr diskoider Scheibendurchmesser im ruhenden Zustand beträgt etwa 6 μ m. Im Zellplasma befinden sich eine große Zahl von Speichergranula (80 % Alpha-Granula, je 10 % elektronendichte „dense-Bodies“ und lysosomale Granula). Diese Speichergranula beinhalten eine große Anzahl von bioaktiven Stoffen (ADP, ATP, Serotonin), Gerinnungsfaktoren, Enzyme und Ca-Ionen. Eine weitere Besonderheit ist das kanikuläre System, nach innen gestülpte Zellmembrananteile, die bei Aktivierung und Ausbreitung der Blutplättchen die Membranoberfläche enorm vergrößern können. Durch Kontakte dieser Kanäle mit den Speichergranula werden deren Inhaltsstoffe bei der Blutplättchenaktivierung freigesetzt und können vielfältige Plättchen-spezifische Wirkungen entfalten. Daneben sind auf der äußeren Membran der Plättchen eine große Anzahl von Rezeptoren platziert, die mit Blutbestandteilen reagieren können und spezifische Antworten der Plättchen auslösen. Die Zellmembran besteht überwiegend aus negativ geladenen Phospholipiden, die mittels Ca-Brückenbildung die 4–6 N-terminalen γ -carboxylierten Glutamatreste der plasmatischen Gerinnungsfaktoren (FVII, IX, X, XI) auf die Plättchenoberfläche binden. Dabei entsteht eine dichte Proteinmatrix aus den durch die Gamma-Carboxy-Strukturen selektierten plasmatischen Gerinnungsfaktoren im molaren Verhältnis ihrer Blutplasmakonzentration. Somit ist die plasmatische Gerinnungsaktivierung ein mehrstufiger komplexer Mechanismus mit permanenter Plättchenbeteiligung. Die Blutplättchen sind die essentiellen Initiatoren der intravasalen Gerinnungsvorgänge, ohne ihr prothrombotisches Profil ist eine Verletzung der Blutgefäße nicht zu schließen bzw. ein Sistieren von Blutungen nicht zu erreichen. Weitere aus den Granula der Blutplättchen freigesetzte Wirkstoffe, wie z.B. das Serotonin, lösen am Ort des Gerinnungsgeschehens eine Kontraktion der glatten

Gefäßmuskelzellen aus. Der Gefäßverschluß durch den Thrombus wird dadurch stationär.

Von den vielen Membranrezeptoren der Blutplättchen sind einige von besonderer Bedeutung: Mit Abstand der häufigste Glykoproteinrezeptor ist der sog. Fibrinogenrezeptor (GPIIb/IIIa mit 50000– 80000 Kopien pro Plättchen). Diese Rezeptoren können durch die Bindung von Fibrinogen als adhäsives Protein ein Netzwerk von aktivierten Plättchen erzeugen, da das Fibrinogenmolekül „zweiarmig“ ist und damit Plättchen verbinden kann. Damit sind Plättchen sehr schnell aktivierbare Blutbestandteile, die sog. micro-white clots (MWC) bilden und in diesen intravasalen Plättchenaggregaten in der Mikrozirkulation der Gefäßperipherie pathophysiologische Veränderungen induzieren. Das in den aktivierten Gerinnungsfaktorkomplexen auf der Plättchenoberfläche generierte Thrombin erreicht auch Thrombinrezeptoren (PAR 1) von Plättchen selbst, damit wird die intravasale Gerinnung/Clotbildung verstärkt und lokalisiert. Plättchen haben somit wegen ihrer vielseitigen Physiologie und Pathophysiologie eine Schlüsselfunktion im Organismus inne, die aber in der Diagnostik nicht ausreichend beachtet oder abgebildet wird.

Die in haemostaseologischen Diagnostik eingesetzten Plättchenfunktionstests werden nahezu ausschließlich im sogenannten Plättchen-reichen Plasma (PRP) durchgeführt. Durch den dabei notwendigen Zentrifugationsschritt werden die Plättchen konzentriert und dann mittels Trübungsmeßverfahren in ihrem Verhalten auf Plättchensensitive Substanzen wie Thrombin, ADP, Kollagen untersucht. Diese Methoden eignen sich nicht für eine realistische Analyse der aktuellen Plättchenfunktion. Erst mit neuen Diagnostik-Sets, die natives Blut einsetzen, kann der aktuelle Funktionszustand der Plättchen erfaßt werden. Der Platelet Adhaesion Assay (PADA) imitiert die in vivo auftretenden Scherstress-Einflüsse auf die Plättchen ohne zusätzliche Aggregationsagonisten-Zugabe (Nowak et al., 2005). Mit diesem Akut-Test (bis max. 1 Stunde nach Blutabnahme) kann sowohl der aktuelle Funktionszustand der Plättchen als auch die Wirksamkeit von Plättchen-Therapeutika analysiert werden. Mit dem PADA-RASS (RASS: Reaction to Aspirin=ASS) ist es erstmals möglich, die Aspirin-Plättchen-Interaktion ex vivo direkt zu analysieren. Die seit langem nebulös diskutierte „Aspirin-Resistenz“ ist bei Aspirin-behandelten Patienten mit dieser

Methodik exakt zu erfassen („ASS-Non-Responder“). Völlig überraschend gelang bei ausgedehnten Feldstudien mit Gerinnungs-kompromittierten Patientengruppen die Identifizierung einer Subgruppe, die sogar paradox auf Aspirin reagierte (PRASA= paradoxe reaction to ASS). Bei diesen Patienten sind Aspirin als auch sog. COX2- Inhibitoren (Antirheumatika) kontraindiziert, da hier prothombotische Nebenwirkungen auftreten können. Ein besserer Weg wäre eine laborseitige Vortestung von Patienten auf eine eventuelle PRASA. Im positiven Fall sind diese Antirheumatika wegen der gefährlichen Nebenwirkungen kontraindiziert.

Plättchenfunktionsinhibitoren

Die pharmakologische Kontrolle der Plättchenfunktion in vivo ist kompliziert und durch die hämosteologischen Aufgaben der Plättchen gekennzeichnet. Auf der einen Seite müssen sie in der Lage sein, schnell und sicher Verletzungen sowie innere wie äußere Blutungsquellen zu verschliessen und auf der anderen Seite kann bei einer gestörten hämostaseologischen Plättchenfunktion eine äußerst gefährliche Blutungstendenz entstehen, die extrem schwer therapeutisch zu beherrschen ist.

Durch diese beiden Extreme bedingt, können Plättchenfunktionsinhibitoren nur dann sicher in der antithrombotischen Therapie eingesetzt werden, wenn präzise quantitative Monitoring-Meßverfahren vorhanden sind, die die aktuelle Plättchenfunktion abbilden (wie z.B der PADA, siehe oben). Nur so können Patienten mit Idiosynkrasien identifiziert werden, die nicht oder nur vermindert auf diese Arzneimittel reagieren. Folgende Substanzen/Substanzgruppen sind im klinischen Gebrauch:

GP IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten

Die auch als Fibrinogen-Rezeptorantagonisten (Eptifibatid, Tirofiban, Abciximab) bezeichneten Substanzen besetzen auf der Plättchenoberfläche zweiteilige Glykoprotein-Rezeptoren (GPIIb/IIIa). In ruhenden Plättchen können an diesen Rezeptoren keine sog. adhäsiven Proteine (Fibrinogen, Fibronectin u.a.) gebunden werden. Erst nach intrazellulärem Signalling infolge der Plättchenaktivierung verschiedenster Gene-

se werden die GP IIb/IIIa-Rezeptoren „aktiv“ und können mit anderen aktivierten Plättchen mittels Fibrinogen-Brücken verbunden werden. Dieser Mechanismus findet in der Regel im fließenden Blut intravasal statt und hat eine hohe pathophysiologische Relevanz. Gerade im linken Herzen werden durch die großen hydraulischen Kräfte („Scherstress“), die auf das Blut einwirken und durch Turbulenzen im „Aortenwindkessel“ voraktivierte Plättchen via Fibrinogen zusammengeballt. Diese „micro white clots“ aus bis zu 200 Plättchen und häufig zusammen mit einem oder zwei Monozyten werden in der arteriellen Zirkulation im gesamten Organismus verteilt und können so zu Mikrozirkulationsstörungen führen. Besonders betroffen sind die „herznahen“ Organ-Mikrozirkulationsstrecken (Herz, Nieren, etc) mit hohem Herz-Minuten-Volumenanteil. In Folge der Verlegung von präkapillären arteriellen Gefäßen wird durch die reaktive Fibrinolyse (endothelialer Sauerstoffmangel!) das Fibrinogen abgebaut und nach kurzer Zeit die Zirkulation wieder hergestellt. Es können aber in Sauerstoff-empfindlichen Zellgebieten, wie z.B. im Gehirn, Mikroläsionen induziert werden, die dann nach längerer Karenzzeit zu Organdysfunktionen führen. Insgesamt kann durch diese permanente intravasale Plättchenaktivierung ein sog. chronischer thrombophiler Status vorliegen, der letztendlich in akuten schweren Gerinnungskrankheiten (arterielle Thrombose, Herzinfarkt, Hirnschlag u.a.) mündet.

Die diagnostische Erfassung einer Plättchen-vermittelten Thrombophilie ist bisher nur bedingt möglich, da wir nicht im arteriellen Teil der Blutzirkulation Blutproben entnehmen können. Eine Blutprobe aus einem großen venösen Gefäß zur Plättchenfunktionsdiagnostik kann intravasale Plättchenaktivierungen in der arteriellen Blutbahn nicht erfassen. So können häufig nur Funktionseinschränkungen in den betroffenen Organen Hinweise geben, daß eine Überreaktion der Plättchen vorliegt.

Die GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten, die ausschließlich parenteral angewendet werden, haben nur eine sehr geringe therapeutische Breite (das ist der Abstand zwischen der therapeutischen und toxischen Dosis), weil mindestens 80 % der Rezeptoren besetzt sein müssen, um eine effektive Hemmung der Plättchen-Plättchen-Interaktionen zu erreichen. Ein engmaschiges Drug Monitoring ist daher unabdingbare Voraussetzung. Deshalb sind im wesentlichen nur kardiologische Indikationen (Bypass-Operationen und Katheter-gestützte Herzeingriffe) bekannt.

ADP-Rezeptor-Antagonisten

ADP-Rezeptoren werden von dem ADP (Adenosindiphosphat), welches bei jeder Plättchenaktivierung aus den internen Granula der Plättchen selbst freigesetzt wird, sowie aus dem ADP, das nach Gewebedefekten im Blut zu finden ist, aktiviert. Der aktivierte ADP-Rezeptor setzt eine intensive biochemische Kettenreaktion im Zytoplasma der Plättchen in Gang, der zu einer komplexen Aktivierung von GPIIb/IIIa-Rezeptoren führt. Damit haben die ADP-Rezeptoren eine hohe pathogenetische Bedeutung. Im klinischen Gebrauch sind augenblicklich drei ADP-Rezeptorantagonisten. Die zwei sogenannten Thienopyridinderivate, Clopidogrel und Prasugrel, werden durch Cytochromoxidasen in der Leber nach oraler Gabe in aktive Metabolite umgewandelt, die die ADP-Rezeptoren irreversibel blockieren. Der dritte Vertreter ist Cangrelor, ein reversibler ADP-Rezeptorantagonist, der besser zu dosieren und in seiner Wirkung zu steuern ist. Cangrelor sollte nur kurzzeitig therapeutisch genutzt werden, weil bei Compliance-Problemen die Blockade unterbrochen wird und damit eventuell thrombophile Situationen entstehen können.

Plättchenfunktionsinhibitoren sind wertvolle therapeutische Handwerkszeuge zur Langzeitprophylaxe, aber auch zur Therapie von akuten und chronischen Gerinnungskrankheiten. Bei hohem thrombophilen Risiko sollte immer eine duale Therapie mit Plättchenfunktionsinhibitoren plus Antikoagulanzen, individuell dosiert und engmaschig monitiert, erfolgen.

Pharmakologie der Antikoagulanzen

Die Prophylaxe und Therapie akuter oder chronischer Gerinnungskrankheiten sind die bevorzugte Indikation von Antikoagulanzen.

Zur Prophylaxe einer Gerinnungskrankheit sollen Antikoagulanzen das thrombophile Risiko minimieren und die pathologisch „verstellten“ Gerinnungsmechanismen antagonisieren.

Eine Übergerinnbarkeit des Blutes (Thrombophilie) kann sowohl angeboren sein als auch im Laufe des Lebens erworben werden. Obwohl bei einer Thrombophilie häufig auch eine verstärkte Aktivität der Plättchen zu beobachten ist, beruht sie in erster Linie auf einer irrever-

siblen Aktivierung der plasmatischen Gerinnung mit einer in mehreren Schritten ablaufenden limitierten Proteolyse.

Erst in jüngster Zeit gelang es, mit speziellen Messmethoden (endogenes Thrombinpotenzial [ETP], Thrombin Generation Assay [THROGA]) einen erhöhten Aktivierungszustand des Gerinnungssystems zu erfassen und damit auch die Effektivität einer Antikoagulantientherapie zu quantifizieren (Hemker et al., 2004; Nowak et al., 2007).

Die Thrombophilie ist gekennzeichnet durch eine zu hohe Konzentration von: aktivierten oder aktivierbaren Gerinnungsfaktoren (angeboren: Prothrombin-20210-Mutation, erworben: Rebound-Phänomen nach oralen Antikoagulantien AOK),

Thrombin: bei Defekten des Thrombin-Metabolismus (angeboren: z.B. Faktor-V-Leiden-Mutation, Protein-C- und Protein-S-Mangel; erworben: Antithrombin III-Mangel),

Fibrinogen: während Akute-Phase-Reaktionen (z.B. Infektionen, chronischem Albuminverlust infolge nephrologischer Erkrankungen, Diabetes).

Während einer Tumorkrankheit, bei der durch Einschweben von Gewebefaktor eine anhaltende Aktivierung des Gerinnungssystems auftreten kann, wird ebenfalls eine Thrombophilie häufig beobachtet. Die Thrombophilie ist ein multifaktorielles Geschehen und kann bei Patienten mit einer Disposition zu thromboembolischen Komplikationen unterschiedlich stark ausgeprägt sein. Durch weitere thrombophile Faktoren seitens der Gefäßwand (Atherosklerose), des Plasmas (Mikropartikel) oder der Blutplättchen (pathologische Aktivität) wird dann ein prothrombotischer Prozess manifest, der zu einer arteriellen, venösen oder mikrozirkulatorischen Thrombose führt und nicht selten in einer akuten, lebensbedrohenden Gerinnungskrankheit (z.B. Herzinfarkt, Schlaganfall) endet.

Antikoagulantien kann man in 2 Substanzgruppen, die direkten und die indirekten Antikoagulantien, einteilen. Zu den indirekten Antikoagulantien zählen die oralen Antikoagulantien (OAK) und die Heparine, bei denen unfraktionierte und niedermolekulare Heparine (UFH und NMH) unterschieden werden. Die direkten Inhibitoren wiederum werden entsprechend ihrem Zielsubstrat in Faktor Xa- und Thrombininhibitoren unterteilt.

Heparine

Heparine sind sulfatierte Glukosaminoglykane, die in nahezu allen Säugetiergeweben vorkommen. Mastzellen enthalten in besonders hoher Konzentration Heparin, das zusammen mit Histamin freigesetzt wird. Heparine haben nur einen sehr schwachen direkten Antithrombineffekt, aktivieren aber, an Antithrombin III gebunden, dieses Serpin zu einem hoch affinen Serinproteaseinhibitor. Die antikoagulatorische Wirkung des Heparins kommt durch eine intramolekulare Strukturänderung des Antithrombins zustande. Heparine sind somit Biokatalysatoren der natürlichen Serinproteaseinhibitoren des Blutes. Antithrombin III ist ein einkettiges Glykoprotein mit einer molekularen Masse von 58 kDa und einer Plasmakonzentration von $\sim 0,25$ g/l. Es reagiert mit den Serinproteasen Thrombin, Faktor Xa, IXa und VIIa. In Abwesenheit von Heparin kommt es zu einer sehr langsamen proteolytischen Interaktion der reaktiven Seite des Antithrombins (Arg393-Ser394) mit Serinproteasen (progressive suicidal inhibition).

Der Heparin-Antithrombin-Komplex wirkt nun überwiegend als Proteaseinhibitor, kann aber Serinproteasen nur in freier Form binden (keine Hemmung des Faktor Xa im Tenase- oder Prothrombinasekomplex).

Heparin verstärkt ebenfalls die Hemmung von Thrombin durch PAI-1 (Plasminogenaktivator-Inhibitor-1), Protein-C-Inhibitor und Nexin (ein intrazellulärer Thrombininhibitor) sowie die Hemmung des Faktor Xa durch den tissue factor pathway inhibitor (TFPI). Diese natürlichen Inhibitoren liegen aber nur in sehr geringen Konzentrationen im Blut vor. Heparin kann jedoch den TFPI aus seiner Bindung am Endothel freisetzen, so dass nach längerer Heparinbehandlung ein höherer TFPI-Spiegel nachzuweisen ist.

Die aktive Seite des Heparins ist ein Pentasaccharid, das hochspezifisch mit dem Antithrombin III interagiert. Nur etwa 30% der Heparinmoleküle haben dieses Pentasaccharid (high affinity heparin). Die restlichen Heparinmoleküle interagieren mit Proteinen des Blutes und der Endotheloberfläche, nicht aber mit AT III. Die Heparine können auch Heparinrezeptoren (GP IIIa) der Plättchen besetzen, diese aktivieren und an der Plättchenoberfläche auch eine Freisetzungsreaktion/Aggregation auszulösen (HIT I). Dabei werden größere Mengen von

Plättchenfaktor-4 (PF-4) aus den Plättchen sezerniert, der spezifisch Heparin neutralisiert. Diese Heparin-PF-4-Komplexe lösen als Neoantigene eine Immunantwort aus und zu einer Autoimmunerkrankung führen, der Heparin-induzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II). Paradoxe Weise sind diese Multikomponentenkomplexe prothrombotisch aktiv. Die UFH können neben der Interaktion des Pentasaccharids mit basischen Lysin-Arginin-Resten des Antithrombins noch ionische Wechselwirkungen mit der anion binding exosite 2 (ABE-2) des Thrombins eingehen. Der Faktor Xa hat keine ABE-2, sodass damit die geringere Affinität des Faktors Xa zum Heparin-Antithrombin-Komplex erklärt werden kann.

Die NMH haben eine stärkere Anti-Faktor-Xa- als Antithrombinwirkung. Mittlerweile ist es gelungen, das Pentasaccharid im großtechnischen Maßstab synthetisch herzustellen (Fondaparinux, Arixtra®). Es bindet hochspezifisch und ausschließlich an Antithrombin III, das dann eine fast ausschließliche FXa-Bindungsaffinität aufweist.

Heparine können nur parenteral verabreicht werden. Empfohlen ist die intravenöse Gabe. Die Bioverfügbarkeit nach extravasaler Applikation von UFH beträgt 30–40%, oral wird Heparin nicht resorbiert. Die Substanz wird mit einer mittleren Eliminationshalbwertszeit von etwa 35 Minuten aus dem Blut entfernt. Heparine haben eine dosisabhängige Pharmakokinetik, d.h. die Eliminationshalbwertszeit verlängert sich mit steigender Dosierung. Heparin wird in der Leber und in Leukozyten durch Heparinasen gespalten und die Derivate anschließend überwiegend renal eliminiert.

NMH haben nach subkutaner Applikation eine nahezu 100%ige Bioverfügbarkeit. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 4–6 Stunden. Eine Anti-Xa-Plasmaaktivität für NMH ist bis zu 10 Stunden nach subkutaner Gabe nachweisbar. Nur bei einigen speziellen Indikationen sollten NMH auch intravenös verabreicht werden, wie z.B. zur Antikoagulation bei extrakorporalen Organersatzverfahren. NMH werden in überwiegendem Maße unverändert renal ausgeschieden.

Die Standardisierung der Heparinpräparate erfolgt über biopharmazeutische Kalibrierung in der Einheit I.E./mg. UFH hat eine biologische Aktivität von 139–159 I.E./mg. Die Wertbestimmung der NMH ist dagegen schwieriger, da meistens auf eine Anti-Xa-Aktivität kalibriert wird, für die keine Standards existieren.

UFH wird zur Prophylaxe von tiefen Beinvenenthrombosen oder von thrombotischen Ereignissen in einer Dosierung von 5 000 I.E. 2–3 x täglich intravenös appliziert. Zur Therapie werden 5000–10000 I.E. als Bolus mit anschließender Infusion von 1 000 I.E./h verwendet. Die NMH, von denen eine größere Anzahl mit unterschiedlichen mittleren Molekulargewichten und variierenden Eliminationshalbwertszeiten zugelassen sind, werden 1 x täglich subkutan appliziert. Die Aktivität der einzelnen Heparinderivate ist nicht vergleichbar, deshalb existieren für jedes fraktionierte Heparin spezifische Dosisempfehlungen. Wird z.B. Enoxaparin therapeutisch angewendet, werden 1 x täglich 40 mg appliziert. Bei der Behandlung einer tiefen Beinvenenthrombose mit Enoxaparin sollte 2 x täglich 1 mg/kg appliziert werden.

In der Hämodialyse wird überwiegend unfraktioniertes Heparin eingesetzt. Bei Patienten mit einem niedrigen Blutungsrisiko wird ein Bolus von 85 I.E./kg direkt in den arteriellen Schenkel des Dialysesystems appliziert und anschließend während der gesamten Dialyseanwendung 10–15 I.E./kg/h als Infusion gegeben. Bei Verwendung von Tinzaparin werden 4 500 Anti-Xa-Einheiten als Bolus vor Beginn der Dialyse empfohlen.

Aus den hier beispielhaft angeführten Dosierungsempfehlungen für die Heparine ist erkennbar, dass eine strikte Beziehung auf das Körpergewicht des Patienten nicht bei allen Präparaten vorhanden ist. Trotzdem wird empfohlen, eine individuelle Dosierung gewichtsbezogen vorzunehmen, da starke Gewichtsabweichungen des Patienten zu Über- und Underdosierungen führen können.

Die Therapie mit Heparinen lässt sich mit chromogenen Substratmethoden oder Globaltests, wie z.B. mit der aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit), überprüfen. Dabei hat sich gezeigt, dass die Verlängerung der aPTT auf das 1,5-fache zur Prävention von thromboembolischen Erkrankungen ausreichend ist. Bei Einsatz des Heparins zur Therapie der Lungenembolie und anderen Akutindikationen sollte die aPTT auf das 2- bis 2,5-fache verlängert werden.

Das Monitoring muss während der Infusion von Heparin engmaschig erfolgen, da der individuelle Heparinbedarf größeren Schwankungen unterliegt. Eine weitere Voraussetzung ist das therapiebegleitende Monitoring der Plättchenzahl und die Bestimmung des AT III-Spiegels. Bei Verbrauchsreaktionen bzw. Lebersynthesestörungen kann ein ver-

minderter AT III-Spiegel zu Wirksamkeitsverlusten führen. Bei AT III-Spiegeln unter 50 % ist eine Lege-artis-Anwendung von Heparin nicht mehr möglich. Die Nebenwirkungen, vor allem die HIT II auslösenden Mechanismen, sind dabei verstärkt und können zu schwersten Komplikationen führen.

Aufgrund der polyanionischen Struktur der Heparine ist mithilfe von polykationischen Substanzen wie dem Protamin eine chemische Antagonisierung des Heparins möglich.

Kontraindikationen der Heparine sind alle Zustände mit erhöhter Blutungsbereitschaft: hämorrhagische Diathesen, Verbrauchsreaktionen und Thrombozytopenien, floride Magen-Darm-Ulzera und ausgeprägte hypertone Reaktionen. Weitere unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind abdominelle Beschwerden, Asthma bronchiale, Gliederschmerzen, Osteoporose und Haarausfall.

Nahezu jeder zweite Hämodialysepatient, der mit Heparin langfristig antikoaguliert wird, entwickelt HIT-II-Antikörper, die aber nur in sehr geringer Konzentration nachzuweisen sind. Als Ursache hierfür wurde gefunden, dass die HIT-II-Antikörper-Plättchen-Komplexe während der Nierenersatztherapie an den proteinisierten Kunststoffoberflächen der Dialysatoren angelagert und am Ende der Hämodialyse durch die Entsorgung der Dialysatoren entfernt werden. Bei vielen Dialysepatienten sind deshalb nur vor Beginn der Hämodialysesitzung HIT-II-Antikörper nachweisbar. 5–10% dieser Patienten haben Shuntprobleme und andere thrombophile Nebenwirkungen, die durch die Anwendung von Hirudin oder Argatroban als Dialyseantikoagulanz nicht mehr auftreten.

Es ist zwingend notwendig, vor Behandlungsbeginn und in der weiteren Zeit bei stationären Patienten möglichst täglich die Plättchenzahl zu bestimmen. Schwankungen der Plättchenzahl um 50 000/ μ l müssen die Suche nach HIT-II-Antikörpern veranlassen. Patienten mit HIT-II-Antikörpern sollten keine Heparinpräparate mehr erhalten, um lebensbedrohliche Komplikationen zu vermeiden.

Bedingt durch den schnellen Wirkungseintritt sind alle akuten thrombotischen Erkrankungen eine bevorzugte Indikation für Heparine.

UFH wird zur Prophylaxe thromboembolischer Erkrankungen nach operativen Eingriffen und bei schweren inneren Erkrankungen verwendet, weiterhin zur Frühbehandlung von Herzinfarkten und instabiler

Angina pectoris sowie zur Antikoagulation von extrakorporalen Kreisläufen (Hämodialyse, Herz-Lungen-Maschine).

NMH werden zur Primärprophylaxe der tiefen Beinvenenthrombose bei niedrigem und mittlerem Thromboserisiko eingesetzt wie auch zur postoperativen Prophylaxe von thromboembolischen Erkrankungen der tiefen Bein- und Beckenvenen. Prophylaktische Dosen der fraktionierten Heparine sind weiterhin als perioperative Primärprophylaxe zugelassen (Hirsh et al., 2001; Samama et al., 2000).

Eine Langzeitbehandlung mit Heparinen ist in vielen Fällen aufgrund der vielfältigen Nebenwirkungen nicht möglich, sodass nach einer Therapieeinleitung mit Heparin nach 10–14 Tagen die Umstellung auf OAK erfolgen sollte.

Orale Antikoagulanzen (OAK)

Die OAK sind indirekt wirkende Antikoagulanzen. Sie werden auch als Syntheseblocker, Cumarinderivate oder Vitamin-K-Antagonisten bezeichnet.

OAK konkurrieren in der Leber mit dem Vitamin K1 um die Vitamin-K1-Epoxidreduktase und die Vitamin-K-Reduktase. Dabei entstehen inkomplette Gerinnungsfaktoren (PIVKA; proteins induced by vitamine K absence), die im Gerinnungssystem nicht mehr zu aktiven Serinproteasen verwertet werden können.

Die in der Therapie benutzten OAK sind Derivate des 4-Hydroxycumarins. Am häufigsten wird Phenprocoumon (z.B. Falithrom®, Marcumar®) verwendet. Ein weiteres 4-Hydroxycumarinderivat ist das Warfarin (z.B. Coumadin®), das aber in Deutschland deutlich seltener eingesetzt wird (Stenzinger & van de Loo, 1999).

OAK haben eine ähnliche Struktur wie Vitamin K1. Dies erklärt den kompetitiven Inhibitionsmechanismus. Die OAK greifen in die postribosomale Vitamin-K-abhängige Biosynthese der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X sowie der Proteine C, S und Z in der Leber ein. Diesen Gerinnungsproteinen ist gemeinsam, dass sie an der N-terminalen Proteinstruktur γ -carboxylierte Glutamatreste haben. Durch diese Vitamin K1-assistierte γ -Carboxylierung wird die für die Gerinnung notwendige Bindung von Calcium und Phospholipiden ermöglicht. Fehlen diese γ -Carboxygruppen, können die Gerinnungsfaktoren nicht

mehr in aktivierenden Komplexen fixiert werden mit der Folge, dass die Thrombingenerierung vermindert ist oder ausbleibt. Die decarboxylierten Proteine C, S und Z stehen nicht mehr für den wichtigen negativen Feedback-Mechanismus zur Verfügung.

OAK verursachen durch die Hemmung der Vitamin-K1-Epoxidreduktase eine Verminderung des Gehalts an Vitamin-K-Hydrochinonen in der Leber, die als Kofaktoren für die postribosomale γ -Carboxylierung der Glutamatreste verantwortlich sind. OAK wirken stark verzögert, da zunächst noch ein genügend großer aktiver Faktorenpool vorhanden ist. Erst durch Neosynthese von unwirksamen PIVKA erfolgt eine Abnahme der Koagulabilität. Der optimale gerinnungshemmende Effekt von Phenprocoumon wird erst nach 2–3 Tagen erreicht, bedingt durch die biologischen Halbwertszeiten der betroffenen Gerinnungsfaktoren.

Phenprocoumon und Warfarin werden zu nahezu 100% oral resorbiert, können aber auch transdermal aufgenommen werden. Durch die hepatische Metabolisierung entsteht eine größere Anzahl von hydroxylierten Metaboliten, die bis zu 70% über die Nieren ausgeschieden werden. Die Eliminationshalbwertszeit für Phenprocoumon beträgt 150 Stunden, für Warfarin 35–45 Stunden. Ursächlich für die langen Halbwertszeiten ist die extrem hohe Plasmaproteinbindung der OAK (99%), vor allem an Albumin. Nur der freie, nicht albumingebundene Anteil des Phenprocoumons ist pharmakologisch aktiv (de Vries et al., 1999).

Durch das engmaschige Monitoring (1–2 x pro Monat) müssen Compliance und Dosierung kontrolliert werden. Je nach Risikokonstellation (niedriges, mittleres und hohes Risiko) werden bestimmte INR-Bereiche angestrebt. Eine routinemäßige Leberfunktionsdiagnostik ist während der Phenprocoumontherapie ebenfalls anzuraten (Cumarinhepatitis).

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass der Vitamin-K1-Epoxidreduktase-Komplex genetische Varianten aufweist, die zu einer Warfarinresistenz bei einigen Patienten führen können (Rost et al., 2004).

Durch den kompetitiven Wirkungsmechanismus bedingt, lässt sich ein chemischer Antagonismus ableiten: Zur Unterbrechung der OAK-Wirkung wird Vitamin K1 appliziert, sodass die OAK von der Epoxidreduktase verdrängt werden und wieder eine normale, aktive Synthese von Gerinnungsproteinen möglich ist.

OAK können nicht angewendet werden bei erhöhter Blutungsbereitschaft, Niereninsuffizienz und bekannter Thrombozytopenie. Frauen im gebärfähigen Alter sollten während der OAK-Anwendung eine Schwangerschaft vermeiden bzw. erst drei Monate nach Absetzen des Medikaments schwanger werden.

OAK-Patienten müssen über die Nebenwirkungen intensiv aufgeklärt werden. Die häufigste unerwünschte Wirkung der OAK sind Blutungen. Bei einem Blutungsverdacht sollte die Therapie sofort unterbrochen, der INR-Wert kontrolliert und durch engmaschige Messung des Hämoglobin-Wertes die Schwere der Blutung verifiziert werden. Bei schweren OAK-bedingten Hämorrhagien ist eine sofortige Faktorensubstitution mit Faktorenkonzentrat oder Frisch gefrostenes Plasma nötig.

Weitere Nebenwirkungen betreffen die Haut. Vor allem Urtikaria, Exantheme, Pruritus, Dermatitis, aber auch Netzhautblutungen sind beobachtet worden. Eine seltene, aber schwere Nebenwirkung ist die so genannte Cumarinnekrose, die häufig bei Protein-C- bzw. Protein-S-Mangel auftritt.

Die OAK werden zur Langzeitprophylaxe arterieller und venöser Thromboembolien sowie des Postinfarktsyndroms und thromboembolischer Komplikationen bei Herzrhythmusstörungen verwendet.

Hirudin

Hirudin (Refludan®) ist ein direkt wirkender spezifischer Inhibitor der Serinprotease Thrombin. Es ist ein einkettiges Polypeptid aus 65 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 7 kDa und gegen extreme pH-Werte und hohe Temperaturen sehr stabil (Nowak, 1999).

Hirudin und α -Thrombin bilden einen hoch affinen stöchiometrischen Komplex im Verhältnis 1:1. Dadurch kann Thrombin nicht mehr seine natürlichen Substrate spalten. Ebenso kann es nicht mehr an zelluläre Rezeptoren (PARs) binden.

Hirudin ist ein bifunktioneller Inhibitor, d.h. er interagiert nicht nur mit dem aktiven Zentrum des Thrombins, sondern auch mit einer spezifischen zweiten Bindungsregion des Thrombins, der ABE-1. Die ABE-1 erkennt und richtet Fibrinogen am Thrombin aus. Auch das C-terminale „saure“ Ende des Hirudins interagiert primär mit der ABE-1.

Die durch drei Disulfidbrücken stabilisierte N-terminale Knotenregion des Hirudins hat eine hohe Affinität zu Bindungsstellen im Bereich des aktiven Zentrums. Zusätzlich befindet sich in der Nähe des aktiven Zentrums eine apolare Bindungsregion, mit der das hydrophobe N-terminale Ende des Hirudins interagiert. Die Reaktion zwischen Hirudin und Thrombin ist als eine slow, tight-binding Kinetik charakterisiert, d.h. sie ist zwar reversibel, aber sehr fest und besitzt eine äußerst geringe Dissoziationskonstante von 27 fM.

Hirudinplasmaspiegel zwischen 0,05 und 0,5 µg/ml reichen aus, um experimentelle arterielle und venöse Thrombosen zu verhindern. Daneben hemmt Hirudin alle bisher bekannten Interaktionen von Thrombin mit zellständigen Thrombinrezeptoren von Plättchen, Fibroblasten, Lymphozyten und Makrophagen. Hirudin verhindert thrombinbedingte Kontraktionen, rezeptorvermittelte Reaktionen von Endothelzellen und – wie in experimentellen Tumormodellen nachgewiesen wurde – das Wachstum von humanen Tumorzelllinien.

Bedingt durch die Proteinstruktur und das relativ große Molekulargewicht, ist Hirudin nicht oral, sondern nur parenteral wirksam und wird nach intravenöser Applikation rasch im Extrazellularraum gleichmäßig verteilt.

Die Eliminationshalbwertszeit für Hirudin beträgt 60–80 Minuten. Hirudin wird in der Niere durch glomeruläre Filtration vollständig aus dem Blut entfernt.

Nach subkutaner oder intramuskulärer Applikation ist eine maximale Plasmakonzentration nach etwa 100 Minuten erreicht. Die Halbwertszeit nach subkutaner Applikation beträgt 2–5 Stunden. Die Bioverfügbarkeit nach extravasaler Gabe beträgt nahezu 100% (Nowak, 2001).

Durch die Molekulargewichtserweiterung des Hirudins mit Polyethylenglykol (PEG) wird die Pharmakokinetik stark verändert. PEG-Hirudine haben Eliminationshalbwertszeiten von 10–16 Stunden. Sie haben keine antigene Wirkung und sind für einige spezielle Indikationen, wie z.B. die Langzeitantikoagulation und die Tumorthherapie, von besonderem Interesse.

Bei der klinischen Anwendung konnte gezeigt werden, dass Hirudin ein optimales therapeutisches Blutspiegelfenster im Bereich von 0,1–0,8 µg/ml hat.

Durch seine direkte Thrombin inhibierende Wirkung ist eine sehr schnelle Antikoagulation in der Akutmedizin möglich.

Nur ausnahmsweise sollte Hirudin (0,2–0,4 mg/kg) als Bolus appliziert werden. In der klinischen Routine ist die Infusion von Hirudin in einer Dosierung von 0,15–0,2 mg/kg/h vorzuziehen. Nach wiederholter subkutaner Applikation (2 bzw. 3 x täglich) von 0,2 mg/kg kann zur Thromboseprophylaxe ein relativ konstanter Plasmaspiegel von 0,1–0,3 µg/ml erreicht werden.

Mit abnehmender Nierenfunktion vermindert sich die Clearance von Hirudin proportional und erfordert eine Dosisanpassung. Die üblichen Globaltests wie Thrombinzeit und aPTT bzw. ACT (activated clotting time) eignen sich nicht zum Monitoring. Mithilfe der Ecarin Clotting Time (ECT) und des Ecarin Chromogenic Assays (ECA) ist auf einfache Art eine präzise Aussage zum therapeutischen Plasmaspiegelbereich und zu Über- bzw. Underdosierungen möglich (Nowak & Bucha, 1993; Lange et al., 2003).

Ein chemisches Antidot ist kommerziell nicht verfügbar. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass humanes Meizothrombin, stabilisiert mit PEG, ein perfektes Antidot für Hirudin darstellt. Bei akutem Nierenversagen während einer Hirudintherapie, kann durch Hämodialyse mit High-flux-Membranen Hirudin effizient aus dem Organismus entfernt werden. Beim Menschen ist ab einem Blutspiegel von 2 µg/ml mit Nebenwirkungen zu rechnen, die sich vor allem in Form von Haut- und Schleimhautblutungen zeigen können.

Als Kontraindikation gelten eine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Hirudinpräparaten, aktive Blutungen, eine subakute bakterielle Endokarditis und eine hämorrhagische Diathese. Eine gemeinsame Anwendung von Hirudin und OAK ist aufgrund des stark erhöhten Blutungsrisikos kontraindiziert.

Obwohl Hirudin ein sehr schwaches Antigen ist, wurden bei längerer Anwendung bei bis zu 60 % der Patienten transiente Antikörper nachgewiesen, die aber keinen Krankheitswert haben.

1997 wurde Hirudin für die Behandlung der Heparin-induzierten Thrombozytopenie weltweit zugelassen. In der Herzchirurgie wird bei Vorliegen von HIT-II-Antikörpern Hirudin als Antikoagulation beim kardiopulmonalen Bypass erfolgreich eingesetzt. Die hierbei notwendigen Hirudinplasmaspiegel liegen im Bereich von 2–3 µg/ml. Als Antiko-

agulanz bei der Hämodialyse zeigt Hirudin gegenüber Heparin viele Vorteile. So sind die benötigten Hirudindosen sehr niedrig (3–8 mg) und somit kostenneutral.

Argatroban

Argatroban (Argatra®) war der erste in die Therapie eingeführte synthetisch hergestellte, reversible und monovalente Thrombininhibitor (1986, Japan). Es ist ein Argininderivat mit einem Molekulargewicht von 527 Da (Chen, 2001).

Argatroban wird nicht oral resorbiert und muss aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in einem großen Infusionsvolumen intravenös appliziert werden. Die Substanz wird in der Leber zu 3 Metaboliten mit schwächerer Antithrombinaktivität metabolisiert, die z.T. über die Nieren ausgeschieden werden. Die Eliminationshalbwertszeit für Argatroban beträgt 60–70 Minuten. Argatroban wird zu etwa 50–60% an Plasmaproteine gebunden, zur Hälfte jeweils an Albumin und an ein α 1-saures Glykoprotein. Argatroban verteilt sich im Extrazellularraum. Aufgrund der Plasmaproteinbindung beträgt das scheinbare Verteilungsvolumen etwa 400 ml/kg.

Die Dosierung von Argatroban sollte indikationsgerecht erfolgen. Bei der akuten Behandlung von thrombotischen Komplikationen während einer HIT II werden 2–5 μ g/kg/min infundiert, bei akuten kardialen Indikationen (PCA-Antikoagulation) werden 90 μ g/kg/min infundiert, nach der Bolusapplikation von 300 μ g/kg.

Aufgrund der ausschließlichen Metabolisierung der Substanz in der Leber ist eine Dosisanpassung bei Leberfunktionsstörungen angezeigt. Mit zunehmend eingeschränkter Leberfunktion bzw. mit progressiver Verminderung der metabolischen Funktion der Leber steigt die Eliminationshalbwertszeit von Argatroban an. Bei normaler Leberfunktion ist nach Beendigung der Infusion innerhalb von 1–2 Stunden kein Argatroban mehr im Blut nachweisbar. Längere Eliminationszeiten wurden auch bei Patienten mit instabiler Angina pectoris gesehen.

Zum Drugmonitoring wird die aPTT oder die ACT empfohlen, zur präzisen Blutspiegelbestimmung steht der ECA zur Verfügung. Ein spezifisches Antidot ist nicht vorhanden. In Fällen einer akuten Leberinsuffizienz wird geraten, Frischplasma zu applizieren, um eine Bindung des

Argatroban an Albumin zu erreichen. Durch eine begleitende Hämodialyse kann Argatroban teilweise eliminiert werden.

Als Kontraindikationen sind alle akuten Blutungen und eine akute Leberinsuffizienz angezeigt.

Als unerwünschte Wirkungen können neben Blutungen auch Übelkeit und kutane allergische Reaktionen auftreten, die sich besonders als urtikarieller Ausschlag, verstärktes Schwitzen, bullöse Dermatitis und Alopecia zeigen können. Selten sind vaskuläre Überreaktionen, Schmerzen oder ein peripheres Ödem beobachtet worden.

Argatroban wird zur Akutbehandlung von HIT-II-Komplikationen und als Antikoagulanz zur Vermeidung einer Thrombophilie in der invasiven Kardiologie eingesetzt.

Dabigatran

Dabigatran ist einer der ersten Vertreter einer neuen Arzneimittelklasse, der oralen, direkten Thrombininhibitoren (ODTI). Es ist kompliziert, oral resorbierbare Strukturen zu entwickeln, da die Interaktion mit Trypsin, das im Magen-Darm-Kanal je nach Nahrungsaufnahme in variabler Menge vorliegt, eine konstante Resorptionsrate verhindert. Dabigatran hat eine ausreichende Spezifität für Thrombin und durch die Derivatisierung zu einer Trypsin-resistenten Verbindung steht es als oral resorbierbares Pro-Drug (Dabigatran-Etexilat) zur Verfügung.

Ende der 1990er Jahre wurde Dabigatran für erste präklinische Untersuchungen bereitgestellt.

Dabigatran wird im Magen-Darm-Kanal in einem relativ geringen Ausmaß resorbiert. Dabigatran hat unabhängig von der Nahrungsaufnahme und dem Körpergewicht eine orale Resorptionsquote von 5–6%. Dabigatran wird im Extrazellularraum verteilt und ausschließlich renal eliminiert.

Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 6–7 Stunden. Die Plasmaproteinbindung der Substanz ist mit 35% sehr gering und für das Wirkungsprofil unbedeutend. Dabigatran hat einen maximalen Resorptionspeak nach etwa 1,5–2 Stunden und ist bis zu 10 Stunden im Blut nachweisbar. Dabigatran wird zweimal täglich 110 mg dosiert.

Da Dabigatran über die Nieren ausgeschieden wird, hat die Nierenfunktion einen Einfluss auf den Blutspiegel der Substanz. Bei höheren

Stadien der Nierenfunktionseinschränkung muss neben einer Dosisanpassung auch ein Monitoring durch ECT erfolgen, um eine Kumulation im Organismus zu verhindern. Nebenwirkungen sind relativ selten bei individueller, Körpergewichts-adaptierter Dosierung.

Nach umfangreichen klinisch-pharmakologischen Studien wurde Dabigatran 2009 in Europa zur Prophylaxe thromboembolischer Komplikationen nach Knie- und Hüftgelenksersatz zugelassen.

Bivalirudin

Bivalirudin (Angiox[®]) ist ein bifunktionaler synthetischer Thrombininhibitor, der wie Hirudin mit den beiden spezifischen Bindungsstellen des Thrombins, der ABE-1 und dem aktiven Zentrum, interagiert. Bivalirudin besetzt im aktiven Zentrum des Thrombins die so genannte Spaltungstriade mit der N-terminalen Aminosäuresequenz Phe-Pro-Arg-Pro und weiterhin mit einem Dodekapeptid, das die 12 letzten C-terminalen Aminosäuren des Hirudins kopiert, die ABE-1 des Thrombins. Zwischen diesen beiden Wirkgruppen des Bivalirudins befindet sich ein Verbindungspeptid aus 4 Glycinen. Bei der Interaktion mit der Spaltungstriade des Thrombins kommt es zu einer langsamen Abspaltung der Phe-Pro-Arg-Endgruppe, sodass das aktive Zentrum des Thrombins wieder freigelegt wird.

Aufgrund dieser besonderen strukturell bedingten Wirkungsweise des Bivalirudins hat diese Substanz nur eine relativ kurze Halbwertszeit von etwa 25 Minuten. Bedingt durch den „Abbau“ des N-terminalen Endes wird nach kurzzeitiger Inhibition das aktive Zentrum des Thrombins zwar wieder frei, aber durch die Blockade der ABE-1 wird über längere Zeit verhindert, dass dieses noch teilweise blockierte Thrombin am Fibrinogen oder an anderen natürlichen Substraten andocken kann. Hierzu zählen auch die Protease-aktivierten Rezeptoren (PAR-1) von Plättchen und anderen blutkontaktierten Zellen. Bivalirudin ist in der Lage, auch das in Gerinnseln gebundene Thrombin zu inhibieren (Reed & Bell, 2002).

Bei der bevorzugten Anwendung mittels Dauerinfusion ist gewährleistet, dass eine permanente Inhibitorkonzentration vorhanden ist. Nach Beendigung der Infusion ist innerhalb kurzer Zeit die Inhibitionswirkung des Bivalirudins nicht mehr vorhanden, sodass die Subs-

tanz vor allem für akute, kurzfristige Anwendungen bei einem erhöhten Thromboembolierisiko geeignet ist.

Bei normaler Nierenfunktion wird Bivalirudin zu etwa 20% renal eliminiert und zu 80% durch proteolytischen Abbau aus dem Plasma entfernt. Bivalirudin wird nicht an Plasmaproteine gebunden. Das einzige Targetprotein ist aktives Thrombin, mit dem Bivalirudin die dargestellte Interaktion eingeht.

Die Dosierung beträgt 0,75 mg/kg als intravenöser Bolus, gefolgt von einer Infusion mit 1,75 mg/kg/h. Der therapeutische Blutspiegel sollte zwischen 5 und 10 µg/ml liegen. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit ist ein Antidot nicht notwendig.

Bivalirudin kann nicht bei akuten Blutungen (blutende Ulzera) appliziert werden. Es ist außerdem nicht bei Patienten mit akutem Nierenversagen oder schweren chronischen Nierenerkrankungen zu verwenden.

Bivalirudin hat in den bisherigen klinischen Anwendungsstudien nur eine geringe Blutungstendenz gezeigt, obwohl Bivalirudin auch die Thrombin-induzierte Plättchenaggregation beeinflussen kann. Für diese Wirkungen sind jedoch hohe Bivalirudinspiegel notwendig, die normalerweise in der o.g. Dosierung nicht erreicht werden.

Bivalirudin wird zur Kurzzeitantikoagulation (2–4 h) bei perkutaner koronarer Angioplastie und anderen invasiven Eingriffen in der Kardiologie verwendet.

Direkte Faktor Xa-Inhibitoren

Neben der direkten und indirekten Hemmung der finalen Serinprotease Thrombin wurde in dem letzten Jahrzehnt verstärkt nach Inhibitoren des Faktor Xa gesucht. Bisher sind drei F Xa Inhibitoren in klinischem Gebrauch.

Rivaroxaban

Rivaroxaban ist ein kompetitiver, oraler Inhibitor des F Xa, der diese Serinprotease sowohl im Tenasakomplex als auch im Prothrombinasekomplex (F Xa) hemmt. Durch diese zweigleisige Hemmung vermindert sich die Thrombingenerierung effektiv. Rivaroxaban hat eine hohe Bio-

verfügbarkeit nach oraler Gabe, die einmal tägliche Dosis von 10 mg ist ableitbar aus der Eliminationshalbwertszeit von 8–11 Stunden. Ein größerer Teil der Substanz wird unverändert renal ausgeschieden. Deshalb muß die Nierenfunktion während längerzeitiger Anwendung kontrolliert werden, um gegebenenfalls eine Dosisreduktion vorzunehmen. Da auch eine hepatische Metabolisierung via Cytochromoxidasen stattfindet, ist die Interaktion mit anderen Arzneimitteln zu beachten. Gefährlich sind Blutungen bei Überdosierung, da ein spezifisches Antidot nicht bekannt ist. Eine sofortige Hämodialyse kann hier lebensrettend sein.

Apixaban

Ein weiterer oral anwendbarer F Xa-Inhibitor ist das Apixaban. In klinischen Studien (totaler Ersatz des Kniegelenks) wurden durch täglich 2 mal 2,5 mg Apixaban bessere Ergebnisse als mit der Vergleichssubstanz NMH bei gleicher Blutungsrate gesehen.

Edoxaban

Edoxaban, ebenfalls ein kompetitiver oral verfügbarer F Xa-Inhibitor wird in einer einmaligen täglichen Dosis von 30 mg angewendet. Klinische Studien zeigten eine deutliche Überlegenheit gegenüber Enoxaparin (NMH) bei gleicher Blutungskomplikationsrate.

Diese neuen oral verfügbaren oralen Antikoagulantien werden ohne Beachtung der persönlichen Variablen (Körpergewicht, Alter, Nierenfunktion u.a.) der Patienten in der täglichen Praxis eingesetzt. Erst wenn geeignete Monitoring-Verfahren in der klinischen Routine zur Verfügung stehen, kann auch hier ein hoher Standard der Arzneimittelsicherheit erreicht werden, um die Patienten nicht mit oft lebensgefährlichen Unter- oder Überdosierungen zu belasten.

Literatur

- Chen JL. Argatroban a direct thrombin inhibitor for heparin-induced thrombocytopenia and other clinical applications. *Heart Dis* 2001; 3: 189–98.
- de Vries JX, Schmitz-Kummer E, Weber E: Pharmakologie der oralen Antikoagulantien vom Cumarintyp. In: Müller-Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg.).

- Hämostaseologie. Molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 1999; 662–5.
- Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: Mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001;119: 64S–94S.
- Hemker HC, Al Dieri R, Béguin S. Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. *Curr Opin Hematol* 2004; 11: 170–175.
- Lange U, Nowak G, Bucha E. Ecarin chromogenic assay--a new method for quantitative determination of direct thrombin inhibitors like hirudin. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003; 33: 184–91.
- Nowak G. Hirudin: Pharmakologie und Therapie. In: Müller-Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg.). Hämostaseologie. Molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 1999; 698–704.
- Nowak G. Pharmakologie der Hirudine und Hirudinderivate. In: Greinacher A (Hrsg.). Hirudin in der vaskulären Medizin. Bremen: Uni-Med Verlag AG 2001; 20–36.
- Nowak G, Bucha E: A new method for the therapeutical monitoring of hirudin. *Thromb Haemost* 1993; 69: 1306.
- Nowak G, Lange U, Wiesenburg A, Bucha E. Measurement of maximum thrombin generation capacity in blood and plasma using the thrombin generation assay (THROGA). *Semin Thromb Hemost* 2007; 33:508–514.
- Nowak G, Wiesenburg A, Schumann A, Bucha E. Platelet adhesion assay – a new quantitative whole blood test to measure platelet function. *Semin Thromb Hemost*. 2005; 31: 470–5
- Reed M, Bell D. Clinical pharmacology of bivalirudin. *Pharmacotherapy* 2002; 22: 105S–11S.
- Rost S, Fregin A, Ivaskевичius V, Conzelmann E, Hortnagel K, Pelz HJ, Lappegard K, Seifried E, Scharrer I, Tuddenham EG, Muller CR, Strom TM, Oldenburg J. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 2004; 427: 537–41.
- Samama MM, Desnoyers P, Geroziapas GT. Low molecular weight heparins. A comparative review of pharmacodynamic, clinical pharmacology. In G. Lugassy (ed). *Thrombosis and antithrombotic therapy*. London: Martin Dunitz Ltd. 2000; 71–96.

Stenzinger W, van de Loo J. Therapie mit oralen Antikoagulanzen. In: Müller-Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg.). Hämostaseologie. Molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 1999; 667–8.

Thomas Groth¹, Dieter Peschel¹, Kai Zhang²,
Alexander Köwitsch¹, Steffen Fischer²

Cellulosesulfate als bioaktive Glykane für biomedizinische Anwendungen

1. Einleitung

Glykane besitzen vielfältige Funktionen im Organismus, die nicht nur für die Aufrechterhaltung der normalen Funktion von Zellen und Geweben sondern auch bei Wundheilungsvorgängen oder pathologischen Prozessen, wie bakteriellen oder viralen Infektionen und dem Wachstum und der Metastasierung von Tumoren eine große Rolle spielen¹. Eine wichtige Gruppe von Glykanen sind Glykosaminoglykane (GAG), die als Glykopolymere aus spezifischen dimeren Wiederholungseinheiten aufgebaut sind, welche in der Regel eine Uronsäure mit einem N-Acetyl-Glukosamin oder N-Acetyl-Galaktosamin verbinden. Wichtige Vertreter der Glykosaminoglykane sind Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Heparansulfat und Heparin, wobei der Sulfatierungsgrad bei Heparin am höchsten ist, während die Hyaluronsäure keine Sulfatgruppen besitzt^{1,2}. Heparansulfat und Heparin sind sich dabei strukturell sehr ähnlich und unterscheiden sich vor allem im Sulfatierungsgrad, dem Molekulargewicht und ihrem Vorkommen im Organismus³. Heparin ist aufgrund seiner großen Anzahl an Sulfat- und Carboxylgruppen das Glykosaminoglykan mit der höchsten negativen Ladungsdichte (Abbildung 1).

Es besteht aus Disaccharid-Untereinheiten, bei denen entweder D-Glukuronsäure (zu 10%) β -(1→4)-glykosidisch, oder L-Iduronsäure (zu 90%) α -(1→4)-glykosidisch mit einem N-Acetyl-D-Glukosamin verknüpft ist. Die typische Grundstruktur ist dabei das trisulfatierte Disaccharid. Dabei können die Sulfatgruppen an der 2-O-Position der Iduron- bzw. Glukuronsäure, sowie an 3-O- und 6-O-Position des Glu-

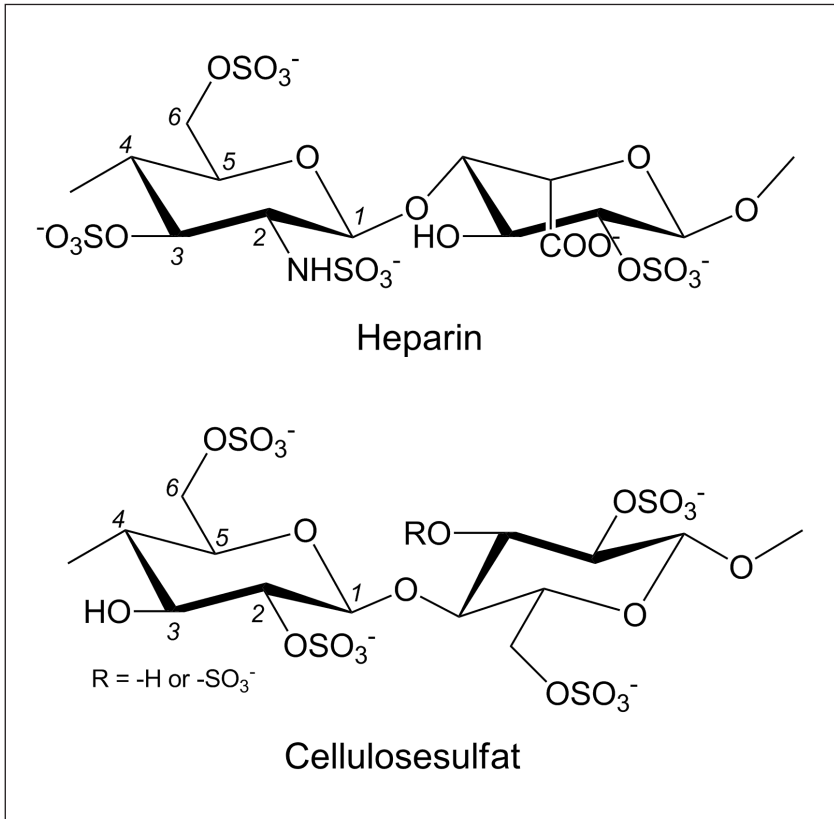


Abb. 1: Grundstruktur von Cellulosesulfat.

kosamins positioniert sein. Die Aminogruppe des Glukosaminrestes kann dagegen durch eine Acetyl- oder Sulfatgruppe substituiert oder frei sein. Die durchschnittliche Molmasse eines Heparin-Moleküls beträgt ca. 15 kDa⁴. Im Gegensatz dazu hat Heparansulfat eine durchschnittlich größere Molmasse (ca. 30 kDa) und trägt darüber hinaus weniger Sulfatgruppen. Heparansulfat-Ketten enthalten dabei häufig Domänen mit ausgedehnten Sequenzen entweder niedriger oder aber hoher Sulfatierung. Dabei ist in weiten Bereichen nur eine Sulfatgruppe pro Disaccharid zu finden. Aber auch Heparin weist Inhomogenitäten

im Sulfatierungsgrad auf, welche aber wesentlich geringer als bei Heparansulfat sind⁵.

Die Synthese von Heparin findet hauptsächlich in Mastzellen und basophilen Granulozyten statt. Heparin übernimmt eine Vielzahl von Funktionen, wie beispielsweise die Bindung von Histamin in den sekretorischen Vesikeln der Zelle und die Kontrolle der Aktivität von Proteasen⁶. Exozytierte Heparin-Proteoglykane inhibieren auch die Wechselwirkung von Thrombozyten mit Kollagen und die Bindung des Von-Willebrand-Faktors an Thrombozyten⁷. Des Weiteren können Heparine auch „low density lipoprotein“ (LDL) binden. Zusammen mit diesen werden die Heparine anschließend in Makrophagen aufgenommen und dort abgebaut⁸. Die wohl bekannteste Eigenschaft von Heparin ist allerdings die Bindung an Anti-Thrombin III (AT III) und die Verstärkung von dessen Affinität zu Thrombin und anderen Faktoren der Gerinnungskaskade, weshalb es zur Hemmung der Blutgerinnung genutzt wird⁶. Heparansulfat-Proteoglykane (HSPG) sind dagegen auf der Oberfläche vieler Zellen und in der extrazellulären Matrix lokalisiert. Die bekanntesten Vertreter Zellmembran-lokalisierter HSPG sind Syndecan, Glypican und weitere Vertreter wie CD44³. So tragen Syndecan-1 und -3 Chondroitinsulfate proximal zur Membran, aber auch Heparansulfat am distalen Teil. Syndecan-2 und -4 dagegen tragen ausschließlich Heparansulfate. Aufgrund der cytoplasmatischen Domäne können Syndecane Signale von der extrazellulären Umgebung in das Innere der Zelle übertragen. So führt die Bindung eines Liganden an die HS-Ketten zur Oligomerisierung der Syndecane, welche die Aktivierung von Faktoren wie z.B. Kinasen im Cytoplasma bedingen¹. Vielfältige Funktionen der HSPG sind auch mit der Regulierung der Aktivität von Chemokinen und Wachstumsfaktoren verbunden. Als Co-Rezeptoren für Wachstumsfaktoren präsentieren sie diese den Rezeptor-Tyrosin-Kinasen auf der gleichen oder einer benachbarten Zelle, und können auch zur Zell-Zell-Adhäsion beitragen⁹. Dabei können die HS-Ketten direkt in die Formierung des Rezeptor-Ligand-Komplexes eingebunden sein, wie für den Fibroblasten-Wachstumsfaktor FGF-2 beschrieben und damit die mitogene Wirkung von Cytokinen beeinflussen¹⁰. HSPG können Wachstumsfaktoren darüber hinaus außerhalb der Zelle speichern und als „Reservoir“ dienen. Die Freisetzung der gebundenen Wachstumsfaktoren erfolgt dann entweder durch eine Ver-

änderung des Sulfatierungsgrades durch lokal exprimierte Sulfatasen¹¹, durch Proteolyse des Proteins-Rückgrats oder durch Heparanase-Spaltung der HS-Ketten. Die Bindung von Heparin oder Heparan-Sulfat an regulatorische Proteine erfolgt durch Heparin-Bindungsstellen, welche im Allgemeinen an der Außenseite der Proteine liegen. Dies sind meist spaltartige Domänen mit einem hohen Anteil positiv geladener Aminosäuren wie Lysin oder Arginin⁴.

Die Hemmung der Blutgerinnung durch Heparin wird schon lange für den Einsatz in der Klinik ausgenutzt⁴. Zudem wird Heparin auch verwendet, um die Oberflächen von Biomaterialien wie Katheter, Schlauchsysteme und Dialysatoren blutverträglicher zu machen¹², was den systemischen Einsatz von Heparin im Blut verringert kann, da dieser auch Nebenwirkungen wie z.B. die Aggregation von Thrombozyten oder die Blutungsneigung fördert und andererseits zu verzögerter Knochenheilung und einem gesteigertem Risiko von Osteoporose führt^{13, 14}. Neben diesen aus der Klinik bekannten Risiken der Anwendung bestehen weitere Nachteile der Nutzung natürlicher GAGs, wie Heparin in deren aufwendigen Extraktion aus tierischen Organen mit einem gewissen Risiko von Infektionen und immunologischen Reaktionen bei der Anwendung. Zudem ist die Bioaktivität von Heparin auch stark abhängig von seiner biologischen Herkunft (Spezies, Organ), wodurch es unterschiedliche Sulfatierungsgrade und Substitutionsmuster aufweisen kann⁴. Schließlich bietet die Nutzung von natürlichen GAGs für den klinischen Einsatz auch die Möglichkeit in krimineller Weise verschiedene GAGs wie z.B. übersulfatierte Chondroitinsulfate mit Heparin zu mischen, um dieses als Heparin zu vermarkten, was für einige Patienten in den USA tödliche Folgen hatte¹⁵.

Deshalb wird seit langem nach Möglichkeiten gesucht, biokompatible Polymere zu synthetisieren, die Heparin ersetzen können und dabei weniger variabel in der biologischen Wirkung sind. Beispielsweise gehört Cellulose zu den am häufigsten in der Natur vorkommenden Polysacchariden. Als Hauptbestandteil der Zellwand von Pflanzen besitzt sie ein sehr hohes Molekulargewicht, ist unlöslich in Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln. Sie zeichnet sich zudem gegenüber anderen natürlichen Polysacchariden wie z.B. Hemicellulose und Pektin darin aus, dass sie nicht verzweigt ist¹⁶. Cellulose ist aus β -(1 \rightarrow 4) glykosidisch verbundenen D-Glukose-Einheiten aufgebaut, wobei die Hydroxylgrup-

pen der Cellulose an C2, C3 und C6 der Anhydroglukoseeinheit (AGU) chemisch umgesetzt werden können, wodurch weitverbreitete Polymere wie z.B. Carboxymethylcellulosen für die Papierindustrie, Lebensmitteltechnologie und zum Teil für medizinischen Anwendungen entstehen können¹⁷. Die Sulfatierung von Cellulosen besitzt ebenfalls eine lange Tradition und führt zu wasserlöslichen Produkten mit vielfältigen industriellen Anwendungsmöglichkeiten¹⁸. Die Grundstruktur von Cellulosesulfat ist ebenfalls in Abbildung 1 dargestellt. Allerdings werden die Möglichkeiten medizinischer Anwendungen von Cellulosesulfaten erst seit einiger Zeit erforscht. Der hier vorliegende Artikel zeigt an zwei Beispielen, wie eine regioselektive Sulfatierung von Cellulose zu Polymeren mit Heparin-analoger Wirkung führt, was sich in Gerinnungsuntersuchungen mit humanem Blut bzw. Blutplasma und Arbeiten zum Einfluss auf die mitogene Aktivität des Fibroblasten-Wachstumsfaktors-2 (FGF-2) mit Fibroblasten nachweisen lässt.

2. Die Hemmung der Blutgerinnung durch C2/C3-sulfatierte Cellulosen

Die Sulfatierung verschiedener partiell substituierter Celluloseacetate wurde bereits im Detail beschrieben¹⁹ und soll an dieser Stelle nur kurz erläutert werden. Die Sulfatierung der Celluloseacetate wurde in Dimethylformamid durch Amidosulfonsäure vorgenommen. Die dadurch entstandenen gemischten Celluloseester, die sowohl Acetat- als Sulfat-Gruppen enthielten, wurden nachfolgend in einer konzentrierten Lösung von Natriumacetat in Ethanol präzipitiert und anschließend in 90% Ethanol mit 4 Gew.% NaOH deacetyliert. Der Gesamtgehalt an Schwefel wurde mit Elementaranalyse bestimmt, während die Verteilung der Substituenten quantitativ mit ¹³C-NMR-Spektroskopie ermittelt wurde. Dabei wurden folgende Derivate synthetisiert, die in Tabelle 1 hinsichtlich des gesamten Sulfatierungs- oder Substitutionsgrad (DS, degree of substitution) und der Verteilung der Substituenten charakterisiert wurden. Abbildung 1 B zeigt hier die typische Grundstruktur sulfatierter Cellulosen.

Die Untersuchung des Effektes der Cellulosesulfate auf die Blutgerinnung wurde mit Citratplasma untersucht, das von 10 verschiedenen Spendern gesammelt und gemischt wurde. Die Hemmung der Blut-

Tab. 1: Gesamt-Sulfatierungsgrad (DS) und Verteilung der Sulfatgruppen von Cellulosesulfaten in Untersuchungen zur Gerinnungshemmung.

| Cellulosesulfat (CS) | DS _{Gesamt} Ele- mentaranalyse | DS _{Gesamt} ¹³ C-NMR | Substitutionsmuster der Sulfate ^a | | |
|-------------------------|--|---|--|------|------|
| | | | C2 | C3 | C6 |
| CS 0.26 | 0.35 | 0.25 | 0.17 | 0.08 | 0 |
| CS 0.95 | 0.80 | 0.95 | 0.55 | 0.20 | 0.20 |
| CS 1.14 | 1.10 | 1.14 | 0.74 | 0.09 | 0.31 |
| CS 1.33 | 1.40 | 1.33 | 0.76 | 0.10 | 0.47 |
| CS 1.35 | 1.07 | 1.35 | 0.67 | 0.33 | 0.35 |

^a DS-Werte der Sulfat Gruppen an C2-, C3-, und C6-Position wurden aus ¹³C-NMR Spektren berechnet.

gerinnung nach Zugabe von Cellulosesulfaten wurde mit kommerziellen Testkits für die Thrombinzeit (TT) und für die partielle-Thromboplastinzeit (PTT) bestimmt. Dabei wurde Cellulosesulfate in 50 µl TRIS-Puffer bei pH 7.4 gelöst und 100 µl Plasma zugesetzt, bevor die Gerinnungsmessung mit einem Koagulometer durchgeführt und die Gerinnungszeiten im Vergleich zu unbehandeltem Citraplasma als Kontrolle verglichen wurden. Die Thrombinzeit wurde durch Zugabe von 100 µl Thrombinlösung (0.3 IE/mL), die partielle Thromboplastinzeit wurde nach Zugabe von 100 µl Kaolin-Kephalin-Lösung und Zugabe von 100 µl 25 mM CaCl₂-Lösung bestimmt. Nach Zugabe der Gerinnungsaktivatoren wurden die Gerinnungszeiten mit dem Koagulometer gemessen. Proben die nicht innerhalb von 10 min geronnen, wurden als nicht gerinnbar eingestuft und die Messung deshalb gestoppt. Alle Gerinnungszeiten, die gleich 10 min sind, bedeuten deshalb, dass diese Cellulosesulfate die Gerinnung von Plasma komplett inhibierten.

Abbildung 2A und B zeigen die Ergebnisse der Messungen der TT und PTT Gerinnungszeiten. Insgesamt wurde aus diesen Untersuchungen ersichtlich, dass eine Zunahme des Sulfatgehaltes insgesamt zu einer Verlängerung der Gerinnungszeiten führte. Außerdem weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die mit der Zunahme des DS verbundene Gerinnungshemmung sowohl von TT als auch von PTT, bei einer stärkeren Derivatisierung der C2-Position der AGU nachweisbar war,

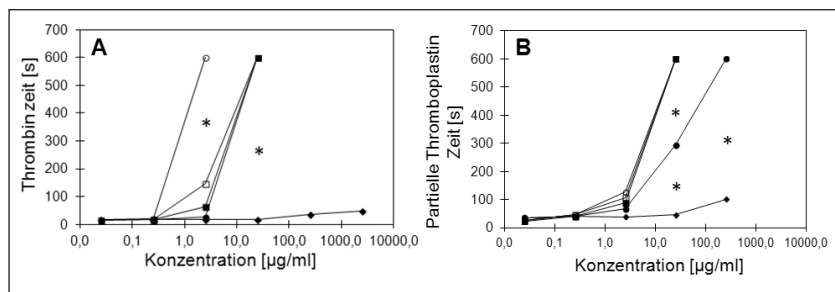


Abb. 2: Thrombinzeit (A), und partielle Thromboplastin-Zeit (B) von Citratplasma in Anwesenheit von Cellulosesulfaten (Konzentrationsbereich von 0.025 µg/ml bis 2.5 mg/ml). (t) – CS 0.26; (l) – CS 0.95; (o) – CS 1.14; (m) – CS 1.33; (n) – CS 1.35. Sterne in den Abbildungen zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$).

wie der Vergleich von CS 1.33 und CS 1.35 klar zeigt (siehe auch Tabelle 1). Das war insbesondere bei der Bestimmung der Thrombinzeit auffällig, da eine Zunahme des DS auf C6-Position und Abnahme auf C2-Position mit einer kürzeren Gerinnungszeit bei vergleichbarem Gesamtsulfatgehalt verbunden war. Bei einer Konzentration der Cellulosesulfate von 25 µg/ml Cellulosesulfate mit einem $DS \geq 0.95$ wurde die Blutgerinnung während der TT-Messungen und bei einem $DS \geq 1.15$ während der PTT-Messungen komplett inhibiert.

Während bei der Inaktivierung von Faktor Xa kürzere Heparinsequenzen mit bestimmten Sulfatierungsmustern von Bedeutung sind und sich ein binärer Komplex zwischen AT III- und Heparin ausbildet, der Faktor Xa inhibiert, bilden längere Heparinmoleküle bei der Inhibierung von Faktor II a d.h. von Thrombin einen ternären Komplex bei dem Heparin quasi eine katalytische Oberfläche für die Interaktion von AT III und F IIa bildet^{3,4}. Um abzuklären, in welcher Weise die regioselective Derivatisierung der Cellulosesulfate die Blutgerinnung hemmt, ergaben sich bereits erste Hinweise, dass eine stärkere Inhibierung von Thrombin im TT-Test nachweisbar war, im Vergleich zu PTT Gerinnungsmessungen. Aus diesem Grunde wurden Tests mit Faktor IIa und Faktor Xa in Anwesenheit von AT III und ausgewählten Cellulosesulfaten mit hohem und niedrigem DS durchgeführt.

Dazu wurden Einzelfaktortest mit chromogen Substraten für die spezifischen Serinproteasen F IIa (Thrombin) und F Xa entwickelt¹⁹.

Die Cellulosederivate wurden wie zuvor in TRIS-Puffer gelöst und mit 50 μl AT III (Aktivität 0.265 pkat/ml) und 200 μl Thrombin (Aktivität 0.53 nkat/ml) gemischt. Nach 5 min Inkubation bei 37 $^\circ\text{C}$ wurden 200 μl des chromogenen Substrates S-2238 (0.22 mM) für 2 min inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zusatz von Essigsäure gestoppt und die Extinktion gemessen. Der Faktor Xa Assay wurde analog mit 200 μl Faktor Xa Lösung (Aktivität 1.06 nkat/ml), 50 μl AT III Lösung (Aktivität 0.265 pkat/ml), 50 μl Lösung Cellulosesulfate and 200 μl des chromogenen Substrates S- 2222 (0.22 mM) durchgeführt.

Abbildung 3A zeigt, dass Cellulosesulfate mit einem DS 0.26 keine hemmende Wirkung gegen Thrombin besitzen, da die Restaktivität von Thrombin auch bei 2.5 mg der Substanz noch ca. 100% beträgt. Auf der anderen Seite zeigt die vorrangig in C2- und C3-sulfatierte Cellulose mit einem DS = 1.33 ca. 40% Inhibierung der Thrombinaktivit at bereits bei einer Konzentration von nur 2.5 $\mu\text{g/mL}$. Im Vergleich dazu verursacht das Cellulosederivat mit einem DS=1.35 in diesem Konzentrationsbereich nur eine sehr geringe Hemmung von ca. 10%. Dieses überraschende Ergebnis lässt sich zum Teil aus Unterschieden im Substitutionsmuster erklären. Wie aus **Tabelle 1** ersichtlich ist, besitzt das Derivat DS1.35 eine etwas höhere Substitution auf C3-Position, was zu einer Verringerung der Sulfatierung auf C2- und C6-Position führt. Obwohl gerade bei Heparin eine C3-Sulfatierung als kritisch

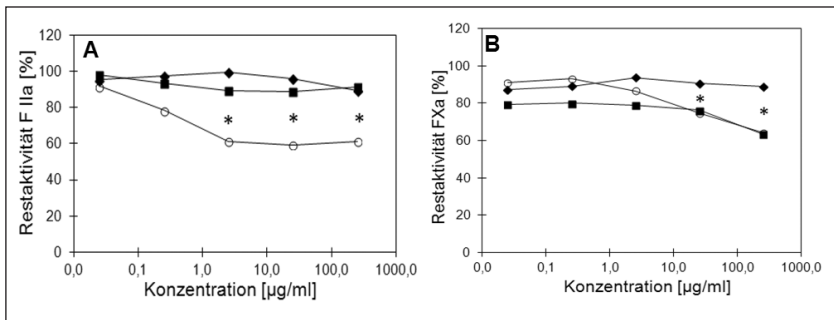


Abb. 3 A und B: Restaktivität von Thrombin (F IIa, A) und Faktor Xa (F Xa, B) nach Zugabe von ausgewählten Cellulosesulfaten mit unterschiedlichem Derivatisierungsgrad. (t) – CS 0.26; (m) – CS 1.33; (n) – CS 1.35. Die Sterne in der Grafik zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$).

für eine anti-thrombogene Wirkung angesehen wird^{20, 21}, scheint bei Cellulosesulfaten aufgrund der unterschiedlichen Struktur und vorliegenden β -(1 \rightarrow 4)-glykosidischen Bindung eine stärkere Sulfatierung auf C2- und C6-Position hinsichtlich einer Inhibierung von Thrombin nützlich zu sein. Allerdings ist das Vorhandensein von Sulfatgruppen auf der C2-Position der Iduronsäure des Heparins wichtig für die Konformation der Kette und resultiert in einer hohen Affinität für Anti-Thrombin III^{20, 21}, was sich möglicherweise auch fördernd auf die gerinnungshemmende Aktivität der Cellulose-2-6-sulfate hinsichtlich Thrombin auswirkt. Die Ergebnisse des Faktor Xa-Assays sehen dabei aber anders aus (siehe Abbildung 3 B). Hier zeigen beide Derivate mit hohem Sulfatgehalt eine signifikante Hemmung des Faktors Xa in höheren Konzentrationsbereichen ab 50 $\mu\text{g/ml}$ im Vergleich zum gering sulfatierten DS = 0.26. Insgesamt zeigen diese Untersuchungen jedoch, dass Cellulosesulfate mit hohem Sulfatierungsgrad auf C2- und C6-Position eine Heparin-analoge Wirksamkeit hinsichtlich der Hemmung der Blutgerinnung besitzen, was sich insbesondere auf die Inhibierung von Thrombin bezieht.

3. Einfluss des Derivatisierungsgrades und der Regioselektivität von Cellulosesulfaten auf die Bindung und Aktivität des Fibroblasten-Wachstumsfaktors FGF-2

Cellulosesulfate wurden durch Acetosulfatierung oder direkter Sulfatierung hergestellt, wodurch ein weiter Bereich von Derivatisierungsgraden erreicht wurde. Tabelle 2 gibt eine Übersicht zu den synthetisierten Cellulosesulfaten. Die Besonderheit des Sulfatierungsverfahrens in diesen Untersuchungen bestand darin, dass keine nennenswerte Derivatisierung in C3-Position der AGU stattfand. Details zur Durchführung der Sulfatierung finden sich bei Peschel et al.²².

3.1 Bindung des Fibroblasten-Wachstumsfaktors FGF-2 an Cellulosesulfate

Wachstumsfaktoren wie FGF-2 werden von Proteoglykanen wie Syndecan, das Heparansulfat-Seitenketten besitzt, den Rezeptoren auf der Zelloberfläche präsentiert, was zur Aktivierung zellulärer Kinasen führt, die beispielsweise die Zellteilung induzieren^{4, 5, 9}. Deshalb wur-

Tab. 2: Gesamt-Sulfatierungsgrad (DS) und Verteilung der Sulfatgruppen von Cellulosesulfaten in Untersuchungen zur Aktivität des Wachstumsfaktor FGF-2.

| Cellulosesulfat (CS) | DS _S (¹³ C-NMR) ^a | | | |
|-------------------------|---|------|------|----------------------|
| | C6 | C2 | C3 | DS _{Gesamt} |
| CS 0.39 | 0.36 | 0.03 | 0 | 0.39 |
| CS 0.58 | 0.52 | 0.06 | 0 | 0.58 |
| CS 0.66 | 0.60 | 0.06 | 0 | 0.66 |
| CS 0.92 | 0.77 | 0.15 | 0 | 0.92 |
| CS 1.57 | 1.0 | 0.57 | 0 | 1.57 |
| CS 1.69 | 1.0 | 0.69 | 0 | 1.69 |
| CS 1.80 | 1.0 | 0.80 | n.d. | 1.80 |
| CS 1.94 | 1.0 | 0.94 | n.d. | 1.94 |

^a DS-Werte der Sulfat Gruppen an C2-, C3-, und C6-Position wurden aus ¹³C-NMR Spektren berechnet. n.d. – nicht bestimmt.

de zunächst die Bindungsaffinität von FGF-2 zu Cellulosesulfaten in einem kompetitiven Versuchsansatz ermittelt. Dazu wurden 25 ng des Wachstumsfaktors FGF-2 mit 50 µl Heparin-Agarose-Mikropartikeln inkubiert, um eine Bindung von FGF-2 an die Partikeloberfläche zu ermöglichen. Nach Abtrennen des Überstandes und Waschen mit Salzlösung wurden diese Partikel entweder mit Heparin als Kontrolle oder 10 mg/ml Cellulosesulfaten inkubiert, um eine Ablösung von FGF-2 von der Oberflächen der Heparin-Agarosepartikel durch kompetitive Mechanismen zu ermöglichen. Die Überstände wurden dann mit Immunoblotting analysiert und densitometrisch ausgewertet.

Abbildung 4 zeigt den Sulfatierungsgrad der Derivate, wobei die hellgrauen und dunkelgrauen Balken die Derivatisierung in C2- und C6-Position illustrieren und die beobachtete prozentuale Bindung von FGF-2 im Vergleich zu Heparin als Kontrolle (100%). Die Abbildung zeigt dabei, dass im Vergleich zu Heparin die Cellulosesulfate mit einem $DS \leq 0,92$ keine signifikante Bindung von FGF-2 erlauben. Erst

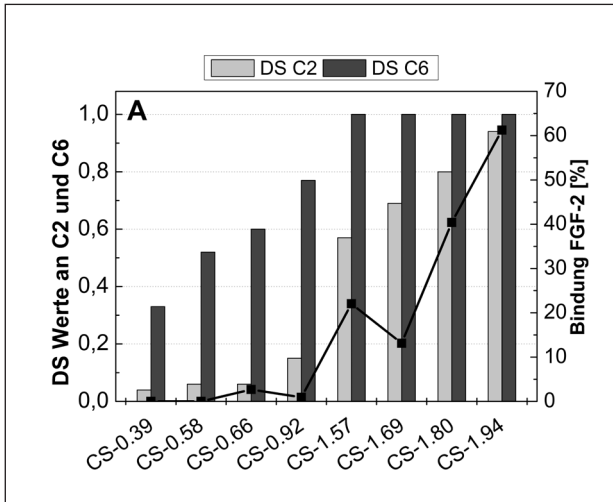


Abb. 4: Bindung von FGF-2 an sulfatierten Cellulosen in Abhängigkeit vom Sulfatierungsgrad in C2-Position (hellgraue Säulen) und C6-Position (dunkelgraue Säulen) im Vergleich zur Bindung an Heparin (100%). Die Bindung von FGF-2 wurde als Messkurve gegen den Sulfatierungsgrad aufgetragen. Die Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardabweichung ($n = 4$).

für Cellulosesulfate mit einem $DS \geq 1,57$ konnte eine mit dem Derivatisierungsgrad ansteigende Bindung von FGF-2 bis zu 60% verglichen mit Heparin nachgewiesen werden. So wurde im Vergleich von CS 1.94 gegenüber CS 1.57 ein signifikanter Anstieg der Bindungsaffinität von ca. 40 % ($p < 0.05$) beobachtet.

Die Bindungsaffinität ist ein wichtiger Indikator für die biologische Wirksamkeit der Cellulosesulfate, da die Bindung von Wachstumsfaktoren durch Glykosaminoglykane häufig mit der in vitro gemessenen biologischen Aktivität korreliert²³. Hier konnte eine signifikante Bindung der Cellulosesulfate an den Wachstumsfaktor FGF-2 erst ab einem $DS = 1.00$ in C6-Position der AGU nachgewiesen werden, die offensichtlich mit dem ansteigenden Sulfatierungsgrad in 2-O-Position korreliert. Untersuchungen anderer Autoren zeigten auch, dass bei der Bindung von Heparin an FGF-2 keine der Wasserstoffbrückenbindungen über 6-O-Sulfatgruppen realisiert werden, während eine Sulfatie-

zung der 2-*O*- bzw. 2-*N*-Position für die Bindung von Bedeutung ist²⁴, was bei Cellulosesulfaten bei einem Sulfatierungsgrad $DS > 1.5$ der Fall war.

3.2 Bestimmung des Effekts von Cellulosesulfaten auf die FGF-2-induzierte Proliferation von Maus-Fibroblasten

Zur Untersuchung der Beeinflussung einer FGF-2-induzierten Proliferation durch die synthetisierten Cellulosesulfate, wurde analog zu Arbeiten anderer Autoren eine Zellkultur aus embryonalen Mausfibroblasten (Zelllinie 3T3-L1) genutzt²⁵. Dazu wurden die Fibroblasten im Kulturmedium ohne Serum mit Zugabe von 10 ng/ml FGF-2 und den Cellulosederivaten oder Heparin als Kontrolle für 48 h inkubiert und das Wachstum mit einem DNA-Quantifizierungs-Assay bestimmt.

3.2.1 Mitogene Aktivität der Cellulosesulfate bei einer Konzentration von 1 mg/ml

Die Ergebnisse in Abbildung 5 zeigen, dass alle niedrig sulfatierten Cellulosen mit einem $DS \leq 0.58$ die Proliferation der Zellen inhibierten. Ab einem $DS \geq 0.66$ war eine Stimulierung der FGF-2-induzierten Proliferation zu verzeichnen. Mit steigendem Gesamt-Sulfatierungsgrad erhöhte sich demnach auch die mitogene Wirkung der Cellulosesulfate. Für das am höchsten sulfatierte Derivat CS 1.94 wurde eine Proliferation von 160%, verglichen mit 10 ng/ml FGF-2 als Kontrolle, gemessen.

Bei den Cellulosesulfaten korrelierte die Proliferation prinzipiell mit der Bindungsaffinität des Wachstumsfaktors, das heißt eine ansteigende Sulfatierung resultierte auch in stärkerer FGF-2-induzierter mitogener Aktivität. Hier führten auch Derivate mit einem $DS \leq 1.57$, die keine Bindung von FGF-2 zeigten, zu einer Erhöhung der Proliferation. Die Ursache hierfür könnte in der hohen Affinität von FGF-2 für Heparin liegen, so dass diese Derivate im kompetitiven Bindungsassay (siehe Abbildung 5) keinen Wachstumsfaktor binden konnten, im zellulären Assay in Abwesenheit von Heparin aber eine Bindung zu FGF-2 möglich ist, was sich in der Erhöhung der Aktivität von FGF-2 zeigte. Ähnlich zu diesen Ergebnissen konnte auch Kunou et al. eine Steigerung der FGF-1 induzierten Proliferation durch ein Dextransulfat mit einem gesamten DS von ca. 1.0 nachweisen²⁶.

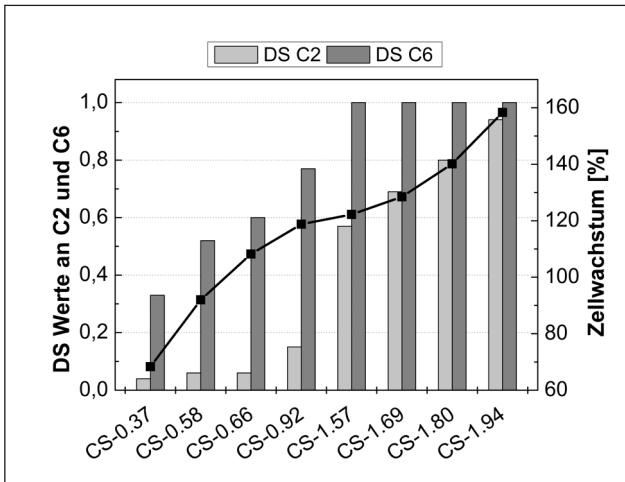


Abb. 5: Vergleich des Wachstums von Fibroblasten bei Zugabe von FGF-2 (10 ng/ml) und 1 mg/ml unterschiedlicher Cellulosesulfate (CS) in Abhängigkeit von deren Sulfatierungsgrad (CS 0.37 bis CS 1.94). Die Proliferation wurde anhand des DNA-Gehaltes bestimmt (Mittelwert \pm Standardabweichung, $n = 5$).

3.2.2. Konzentrationsabhängigkeit der mitogenen Aktivität von Cellulosesulfaten im Vergleich zu Heparin

Nicht nur Sulfatierungsgrad und Position der Sulfatgruppen an der AGU, sondern auch die Konzentration Heparin-analoger Makromoleküle beeinflusst die Aktivität von Wachstumsfaktoren, wobei schon Konzentrationen von weniger als 1 $\mu\text{g/ml}$ Heparin-analoger Substanzen in Studien anderer Autoren die Aktivität von FGF-2 steigerten. Deshalb wurden hier Untersuchungen zur mitogenen Aktivität von Cellulosesulfaten in einem Konzentrationsbereich von 1 $\mu\text{g/ml}$ bis 1 mg/ml durchgeführt, wobei die mitogene Aktivität auf das Wachstums der Fibroblasten in Anwesenheit von 10 ng/ml FGF-2 als Kontrolle (100%) bezogen wurde. In diesen Experimenten wurden Cellulosesulfate mit einem $\text{DS} \geq 0.92$ und Heparin eingesetzt. In Abbildung 6 A und B ist eine starke Abhängigkeit der Proliferation der Fibroblasten von der Konzentration der untersuchten Cellulosesulfate und Heparin zu erkennen. Bei einer Konzentration von 1 mg/ml zeigten bis auf CS-0.92 alle

Cellulosesulfate eine mit Heparin vergleichbare Proliferation der Zellen. Im Konzentrationsbereich von 1 – 500 $\mu\text{g/ml}$ war eine stufenweise konzentrationsabhängige Steigerung der Proliferation von niedrig zu höher sulfatierten Derivaten zu beobachten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass mit steigendem Sulfatierungsgrad immer geringere Mengen der Cellulosesulfate zur Verstärkung des FGF-2-induzierten Zellwachstums ausreichen. Bemerkenswerterweise bewirkten dabei die hoch-sulfatierten Cellulosen in wesentlich geringeren Konzentrationen als Heparin eine Steigerung der Proliferation. Da diese eine zunehmende Sulfatierung der C2-Position aufweisen, korreliert dies auch mit der beobachteten verstärkten Affinität von FGF-2 zu diesen Cellulosesulfaten. Heparin-bindende Wachstumsfaktoren wie FGF-2 verfügen dabei über spezielle, häufig spaltartige Domänen, die vor allem reich an basischen und aber auch zum Teil hydrophoben Aminosäuren sind, in die sich die geladenen Ketten von helikal geordnetem Heparin als gestreckte Kette anlagern²⁷. So könnte als eine Ursache für eine vergleichbare oder höhere Aktivität der Cellulosesulfate im Vergleich zu Heparin deren hoher Sulfatierungsgrad gesehen werden. Das hier verwendete Heparin hatte einen DS = 1.3, der unter dem der Cellulosesulfate liegt²². Gleichwohl spielt für

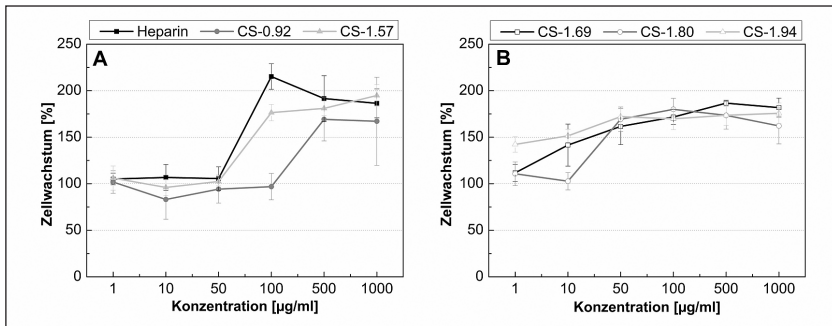


Abb. 6: Vergleich der Proliferation in Abhängigkeit von der Konzentration und dem Sulfatierungsgrad von Cellulosesulfaten (CS) und Heparin. 3T3-L1 Fibroblasten wurden für 48h mit 1 $\mu\text{g/ml}$ bis 1 mg/ml der Derivate und jeweils 10 ng/ml FGF-2 inkubiert. Die Proliferation wurde anhand des DNS-Gehaltes mit Pico Green bestimmt. (A) Heparin und mittel-sulfatierte CS, (B) hoch-sulfatierte CS. (Mittelwert \pm Standardabweichung, $n = 5$).

die Wechselwirkung von Heparin mit FGF-2 und der Wechselwirkung mit dem FGF-2-Rezeptor der Zelle, die Karboxylgruppe an C6-Position der Iduronsäure eine wichtige Rolle²⁰. Allerdings sollte die β -(1 \rightarrow 4)-glykosidische Bindung der AGU in Cellulose bei relativ hoher Sulfatierung in C2- und C6-Position der AGU zu einer relativen homogenen Ladungsdichte auf beiden Seiten der Kette führen, was die Bindung von FGF-2 an Cellulosesulfate über Coulomb-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen erleichtern könnte. Die Erhöhung der mitogenen Aktivität von FGF-2 in Kombination mit Cellulosesulfaten kann dabei auf zwei Ursachen zurückzuführen sein. Wachstumsfaktoren wie FGF-2 haben auch *in vitro* eine relativ kurze Halbwertszeit, die durch die rasche proteolytische Spaltung des Proteins bedingt ist. Hier zeigen *in vitro* Untersuchungen, dass die Stabilität des Wachstumsfaktors FGF-2 in Gegenwart von Heparin oder hoch-sulfatierten Cellulosen gegen Proteasen erheblich verbessert wird, was durch die Interaktion von Polysaccharid und Wachstumsfaktor bedingt ist²⁸. Auf der anderen Seite könnte der hohe Sulfatierungsgrad der Cellulosesulfate auch analog zu Heparin auch zur Formierung eines FGF-2 – Polysaccharid – FGF-Rezeptor-Komplexes befähigen, der zu einer Aktivierung der Mitogen-aktivierten Protein-Kinasen (MAPK/ERK) führt. Untersuchungen anderer Autoren zeigen, dass dafür vor allem eine starke Sulfatierung des Heparins an C6-Position des Glukosamin-Monomers eine wichtige Rolle spielt²⁹. Auch in dieser Hinsicht könnte sich auf Grund der β -(1 \rightarrow 4)-glykosidische Bindung eine stärker Sulfatierung auf C6- und C2-Position der AGU der Cellulose als vorteilhaft erweisen, was schlussendlich auch zum verstärkten Wachstum der Zellen bei Anwesenheit von FGF-2 und höher-sulfatierten Cellulosen führen könnte.

Zusammenfassung

Cellulosesulfate zeigten in den hier beschriebenen Untersuchungen eine Bioaktivität, die der von Heparin gleicht oder diese sogar übertrifft. Dabei war offensichtlich eine vollständige Sulfatierung in C6-Position und eine möglichst hohe in C2-Position wichtig für die biologische Aktivität. Die Hemmung der Blutgerinnung war dabei insbesondere in Hinsicht auf die Inaktivierung von Thrombin nachweisbar, wobei diese durch eine spezifische Interaktion mit Anti-Thrombin III zustande

gekommen ist. Obwohl die Aktivität der höher sulfatierten Cellulosen eine medizinische Anwendung nahelegt, ist ein direkter systemischer Einsatz zur Hemmung der Blutgerinnung wie bei Heparin aus Gründen der Produktsicherheit nicht zu empfehlen. Andererseits könnte eine Kopplung von Cellulosesulfaten an die Oberflächen blutkontaktierender medizinischer Geräte und Vorrichtungen wie z.B. Katheter und Schlauchsysteme eine interessante Alternative als Ersatz von Heparin für die Verbesserung der Blutverträglichkeit von Biomaterialien darstellen³⁰.

Neben der hier beschriebenen Hemmung der Blutgerinnung besitzen Cellulosesulfate auch die Fähigkeit verschiedene Wachstumsfaktoren zu binden und deren Aktivität zu beeinflussen. Die hier vorgestellte fördernde Wirkung auf den Wachstumsfaktor FGF-2, der mitogene und angiogene Effekte auf Zellen und Gewebe besitzt, legt Anwendungen im Bereich der Beschichtung von Implantaten für den Ersatz von Binde- und Stützgewebe oder für Herstellung von Hydrogelen im Bereich des Tissue Engineering verschiedener Gewebetypen wie z.B. dem Knochen nahe. Tatsächlich besitzen Cellulosesulfate über die Wirkung auf FGF-2 hinaus einen modulierenden Effekt auf andere Wachstumsfaktoren wie z.B. dem bone morphogenic protein (BMP-2) und lassen sich zudem auf verschiedene Weise als bioaktive Beschichtungen auf Oberflächen einsetzen^{31, 32}.

Danksagung

Herrn Wolfgang Wagenknecht als ehemaligen Kollegen und Mitarbeiter des Fraunhofer-Instituts für Polymerforschung in Potsdam-Golm sei an dieser Stelle für die ausgezeichnete und angenehme Zusammenarbeit bei der regioselektiven Synthese von Cellulosederivaten und der Bestimmung der Blutverträglichkeit herzlich gedankt.

Literaturangaben

1. Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR, Hart GW, Etzler ME: *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York, 2009

2. Kresse H, Schönherr E. *J. Cell Phys.* 2001; 189: 266–274
3. Garg HG, Linhardt RG, Hales CA. *Chemistry and Biology of Heparin and Heparan Sulfate*. Elsevier: San Diego, 2005
4. Capila I, Linhardt R J. *Angewandte Chemie* 2002; 114: 426–450
5. Bishop JR, Schuksz M, Esko JD. *Nature* 2007; 446: 1030–1037
6. Zehnder JL, Galli SJ. *Nature* 1999; 400: 714–715
7. Lassila R, Lindstedt K, Kovanen P. *Thromb. Haemostasis* 1993; 69:707–707
8. Lindstedt KA, Kokkonen JO, Kovanen PT. *J. Lipid Res.* 1992;33(1):65–75
9. Sakaguchi K, Yanagishita M, Takeuchi Y, Aurbach GD. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 7270–7278
10. Schlessinger J, Plotnikov AN, Ibrahim OA, Eliseenkova AV, Yeh BK, Yasyon A, et al. *Molec.Cell* 2000; 6: 743–750
11. Xingbin A, Do AT, Lozynska O, Gullberg MK, Lindahl U, Emerson Jr CP. *J. Cell Biol.* 2003; 162: 341–351.
12. Huang XJ, Guduru D, Xu ZK, Vienken J, Groth T. *Macromol. Biosci.* 2011; 11: 131–140
13. Street JT, McGrath M, O’Regan K, Wakai A, McGuinness A, Redmond HP. *Clin. Orthop.Relat. Res.* 2000; 381: 278–89.
14. Nelson-Piercy C. *Scand. J.Rheumatol.Suppl.* 1998; 107: 68–71.
15. Guerrini M, Beccati D, Shriver Z et al. *Nature Biotechnology* 2008; 26: 669–675
16. Klemm D, Philipp B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W. *Comprehensive cellulose chemistry*. 1st ed., Vol. 2. Weinheim: Wiley; 1998
17. Heinze T, Koschella A. *Macromol.Symp.* 2005; 223: 13–29.
18. Philipp B, Wagenknecht W. 1983; 17: 443–459
19. Groth B, Wagenknecht W. *Biomaterials* 2001; 22: 2719–2729
20. Casu B. *Carbohydrates in Europe* 1994; 11: 18–21
21. Razi N, Lindahl U. *J Biol.Chem.* 1995; 270: 11267–11275
22. Peschel D, Zhang K, Aggarwal N, Brendler E, Fischer S, Groth T. *Acta Biomaterialia* 2010; 6: 2116–2125
23. Leali D, Belleri M, Urbinati C, Coltrini D, Oreste P, Zopetti G, et al. *J.Biol. Chem.* 2001; 276: 37900–37908
24. Faham S, Hileman RE, Fromm JR, Linhardt RJ, Rees DC. *Science* 1996; 271: 1116–1120
25. Hatanaka K, Ohtsuki T, Kunou M. *Chem. Lett.* 1994; 1407–1410
26. Kunou M; Hatanaka K. *Carbohydr. Polym.* 1995; 28: 107–112

27. Nimni ME. *Biomaterials* 1997; 18: 1201–1225
27. Weltrowski A, da Silva Almeida ML, Peschel D, Zhang K, Fischer S, Groth T, *Macromol. Biosci.* 2012; 12: 740–750
28. Rusnati M, Coltrini D, Caccia P, Dellera P, Zoppetti G, Oreste P et al. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1994; 203: 450–458
29. Gericke M, Doliska A, Stana J, Liebert T, Heinze T, Stana-Kleinschek K. *Macromol. Biosci.* 2011; 11: 549–556
30. Peschel D, Zhang K, Fischer S, Groth T. *Acta Biomaterialia* 2012; 8: 183–193
31. Aggarwal N, Altgärde N, Svedhem S, Zhang K, Fischer S, Groth T. *Langmuir* 2013; 29

Thomas Groth¹, Dieter Peschel¹, Kai Zhang², Alexander Köwitsch¹, Steffen Fischer²

- ¹ AG Biomedizinische Materialien, Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Heinrich-Damerow-Strasse 4, 06120 Halle (Saale)
- ² Institut für Holz- und Pflanzenchemie, Technische Universität Dresden, Piener Strasse 19, 01737 Tharandt (Sachsen)

Andreas Meisel

Myasthenia gravis: Wenn junge Frauen und alte Männer schwach werden

Die *personalisierte Medizin* formuliert den Anspruch, dass jeder Patient über die Krankheit hinaus unter Einbeziehung der individuellen Gegebenheiten behandelt wird. In erster Linie wird unter der personalisierten Medizin vor allem eine Biomarker-geleitete Pharmakotherapie verstanden, die möglichst passgenau auf die (patho-)physiologische Situation des Patienten zugeschnitten ist. Ich werde im Folgenden, am Beispiel der Myasthenia gravis, Herausforderungen für die personalisierte Medizin bei seltenen Erkrankungen herleiten, wobei insbesondere auch geschlechts- und altersspezifische Aspekte eine wichtige Rolle spielen.

Eine historische Einleitung

Vor fast genau 120 Jahren, gab Friedrich Jolly, Direktor der Nervenklินิก an der Charité, bei einem Vortrag vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft am 5. Dezember 1894, der Krankheit, um die es im Folgenden geht, den Namen *Myasthenia gravis pseudoparalytica*.¹ Die klinische Besonderheit dieser Erkrankung besteht in einer belastungsabhängigen Muskelschwäche. Diese kann alle der Willkürinnervation unterworfenen Muskeln des Körpers erfassen. Trotz schwerster Lähmungen, die nicht nur die Extremitätenmuskulatur sondern u.a. auch die Kau-, Schluck-, Sprech- und Atemmuskulatur erfassen konnte, waren keine histopathologischen Veränderungen im Nervensystem bei Verstorbenen erkennbar. Zudem fluktuierte der Verlauf der Erkrankung. Vor allem durch Ruhe verbesserten sich die Beschwerden häufig deutlich. Dies unterscheidet Myasthenie-Erkrankte von Patienten, die durch eine Schädigung des Nervensystems selber dauerhafte Lähmungen haben. Diese Besonderheit führte zu dem oben genannten Namen der

Erkrankung, abgeleitet von griechisch *mýs* „Muskel“, *asthenia* „Schwäche“ sowie lateinisch *gravis* „schwer“, *pseudo* „falsch“ und *paralysis* „Lähmung“. Bereits vor Jolly wurden Fallberichte veröffentlicht, die diese Krankheit beschrieben. So beschrieb Thomas Willis 1672 in „*De Anima Brutorum*“ Fälle, die einer Myasthenia gravis entsprechen. Ab den 70er Jahren des 19. Jahrhunderts wurden dann durch Samuel Wilks, Wilhelm Erb, Hermann Oppenheim und Samuel Goldflam weitere Fälle berichtet.² Es ist das Verdienst von Jolly, dass er der Erkrankung nicht nur den bis heute gültigen Namen gab, sondern auch als Erster das Wesen der Krankheit – die belastungsabhängige Muskelschwäche – richtig verstanden hat. Jolly, der Sohn eines Physikers war, führte die elektrophysiologische Untersuchungen in die Neurologie ein und machte damit eine weitere sehr wichtige Beobachtung. Eine tetanische Muskelstimulation mit Strom an betroffenen Muskeln führt zu einer gleichmäßigen Abnahme der Muskelkontraktion.¹ Damit war die Krankheit erstmalig objektivierbar und eine Abgrenzung zur „Hysterie“ möglich. Die Hysterie war damals eine gebräuchliche Diagnose für „unverständene“ Erkrankungen, so wie dies heute teilweise für psychosomatische oder funktionelle Erkrankungen gilt. Die tetanische Serienstimulation wird heute noch in abgewandelter Form als sogenannter Dekrement-Test für die Diagnostik der Myasthenia gravis eingesetzt. Dieser Test untersucht, ob infolge einer repetitiven Serienstimulation eines Nervens, die Kontraktion des innervierten Muskels gleichmäßig abnimmt. Jolly war es auch, der aus seinem pathophysiologischen Verständnis heraus eine spezifische Therapie empfahl. So war damals bereits bekannt, dass Alkaloide wie Physostigmin myotonische Reaktionen, also eine „tonische“ bzw. verlängerte Muskelkontraktion, hervorrufen konnten.¹ Diese sollten der myasthenischen Reaktion entgegen wirken. Da Jolly die Nebenwirkungen fürchtete,¹ setzte er diese Substanzen wohl nie ein. Erst 1934 führte Mary Broadfoot Walker mit Physostigmin erstmalig erfolgreiche Behandlungen bei Myasthenie-Patienten durch.³

Für die erfolgreiche Behandlung der Erkrankung war zunächst jedoch eine andere Entwicklung von Bedeutung. Die Entwicklung der Intensivmedizin mit den Möglichkeiten der maschinellen Beatmung ab den 20er Jahren des letzten Jahrhunderts führten zu einer deutlichen Verbesserung der Überlebenschancen von Myasthenie-Patienten, vor allem durch die „Eiserne Lunge“, die für Polio-erkrankte Menschen

entwickelte wurde. Ab den 1930er Jahren war es dann neben Physostigmin und Neostigmin vor allem die Entwicklung von Antibiotika.⁴ Diese hatten auch für Myasthenie-Patienten eine wichtige Bedeutung, da bakterielle Lungenentzündungen (Pneumonien) infolge von Schluckstörungen bei Myasthenie-Patienten häufig und unbehandelt lebensgefährlich sind. Pneumonien wiederum verschlechtern die Myasthenia gravis, ein *circulus vitiosus* für die betroffenen Patienten. Antibiotika erlaubten erstmalig eine effektive Behandlung der Pneumonien.

Die Umstellung der Beatmungstechnik von «Unterdruckbeatmung» durch die «Eiserne Lunge» auf die moderne Überdruckbeatmung in den 1960er Jahren und nachfolgend deren immer weitere Optimierung führte zu einer weiteren signifikanten Reduktion der Letalität bei Myasthenia gravis. Anfang der 1960er Jahre erkannte John Simpson, dass die Myasthenia gravis eine Autoimmunerkrankung ist.⁵ Nachfolgend setzte die Therapie mit Immunsuppressiva ein, zunächst indirekt durch Induktion von Steroiden, wenig später direkt durch Steroidgaben. Ab Mitte der 1970er Jahre wurde dann klar, dass die Erkrankung über Autoantikörper vermittelt ist.^{6, 7} Diese führen zu einer Übertragungsstörung an der sogenannten neuromuskulären Endplatte, d.h. an der Schnittstelle zwischen Nerv und Muskel. Die ersten bei dieser Erkrankung erkannten und nachweisbaren Antikörper richteten sich gegen die Acetylcholin-Rezeptoren an der neuromuskulären Endplatte. Mit dieser Erkenntnis verbunden war der Einsatz von Therapieverfahren wie der Plasmapherese, die über das „Auswaschen“ der krankheitsvermittelnden Antikörper sehr wirksam ist. Dieses Verfahren hatte zwar auch eine Bedeutung für die weitere Reduktion der Letalität, vor allem aber wurde die moderne immunmodulierende Therapie eingeleitet. Zum Stellenwert dieser Therapien komme ich etwas später.

Durch das immer bessere Verständnis der Erkrankung gelang es, die Letalität immer weiter zu reduzieren. Um 1900 ging man von einer Letalität von fast 100 % aus. Heute liegt die Letalität unter 5 %. Gleichzeitig hat die Prävalenz der Erkrankung von ca. 5 auf ca. 100–200 pro 1 Million Menschen zugenommen.⁴ Allerdings war auch vor hundert Jahren die Letalität, gemessen an den heute bekannten Verlaufsformen der Erkrankung, sehr wahrscheinlich geringer. Spätestens seit Simpsons Arbeiten aus den 1960er Jahren sind auch milde Verlaufsformen bekannt, die ohne die gefürchteten myasthenen Krisen verlaufen.⁸ Man

muss also davon ausgehen, dass zunächst nur die schweren Verläufe der Erkrankung erfasst wurden. Mit dem zunehmend besseren Verständnis der Erkrankung und der Weiterentwicklung diagnostischer Methoden wurde nicht nur die Heterogenität der Erkrankung erkannt, sondern auch mehr Menschen mit der Erkrankung diagnostiziert. So nahm nicht nur die Prävalenz über die Senkung der Letalität zu, sondern auch durch die bessere Diagnostizierbarkeit der Myasthenia gravis. Parallel dazu hat die Inzidenz immer weiter zugenommen. Seit den 1970er Jahren zeigt sich über jedes Patientenalter eine Zunahme der Inzidenz, insbesondere bei Frauen zwischen 20 und 40 Jahren und bei Männern, ab 60 Jahren.⁹ Die Inzidenz liegt heute bei ca. 5 / 1 Million Menschen pro Jahr.¹⁰ In den frühen Beschreibungen werden vor allem die Verläufe der Erkrankung von jungen Frauen berichtet.² Auch heute noch trifft die Erkrankung mindestens dreimal mehr junge Frauen als Männer. Ab dem 40. Lebensjahr ist die Inzidenz für beide Geschlechter gleich. Ab dem 60. Lebensjahr erkranken doppelt so viele Männer wie Frauen an einer Myasthenia gravis.⁹ Die Erkrankung kann in jedem Alter auftreten, auch schon im Kleinkindalter, wenn auch sehr selten.

Wie verläuft die Myasthenia gravis?

Häufig (50%) beginnt die Erkrankung *okulär* mit Symptomen wie hängendes Augenlid und Doppelbildern durch Lähmungen der Lidheber- und Augenmuskeln. Dabei sind häufig beide Seiten jedoch zumeist asymmetrisch betroffen. Bei ca. 30% beginnt die Erkrankung generalisiert und kann dann in „bunten Mustern“, vor allem die proximalen Muskeln der Arme und Beine, des Rumpfes, des Nacken sowie der Gesichts-, Kau-, Schluck-, Sprech- und Atem(hilfs-)muskulatur erfassen. Der Verlauf ist in der Regel über Wochen und Monate, selten über Jahre fortschreitend. Teilweise geht der Erkrankung schon Monate und Jahre vor Diagnosestellung ein allgemeines Schwächegefühl (Fatigue) voraus. Von den initial okulären Verläufen generalisieren ca. 50–70%, wobei die Generalisierung in ca. 90% der Fälle innerhalb von 3 Jahren nach Krankheitsbeginn auftritt. Ungefähr 40% aller Verläufe der Myasthenie verlaufen schwer. Myasthene Krisen, also lebensbedrohliche Verläufe, die eine intensivmedizinische Versorgung erfordern, kommen in bis zu 20% aller Verläufe vor.¹⁰

Bekannte Auslöser der Myasthenia gravis sind schwere bakterielle Infektionen, Operationen und Schwangerschaften. Eine Besonderheit der Erkrankung ist, dass eine Vielzahl von heute eingesetzten Medikamenten, die Myasthenia gravis auslösen oder verstärken können. Für die meisten Patienten gilt, dass die Erkrankung innerhalb der ersten 2 bis 3 Jahre am stärksten ausgeprägt ist, dann sich in den nächsten 5 bis 10 Jahren „beruhigt“ und nach und nach in eine inaktive Phase übertritt.^{5,10} Allerdings handelt es sich um eine chronische Erkrankung, die immer wieder aktiviert werden kann. Zudem leiden bis zu 80% aller Myasthenie-Patienten auch im Langzeitverlauf unter schwer therapierbaren Fatigue-Beschwerden.

Welche Ursachen liegen der Myasthenia gravis zu Grunde?

Wie bereits berichtet, handelt es sich um eine Autoimmunerkrankung bei der die Signalübertragung an der neuromuskulären Endplatte gestört ist. Infolge von Autoantikörpern kommt es durch Blockade bzw. Zerstörung der Rezeptorstrukturen an der Nervenfaser zur vermindernden Übertragung des Nervenimpulses. Dies kann mit Hilfe der sogenannten Einzelfaser-Elektromyographie durch Nachweis eines verlängerten „Jitters“ auch diagnostisch genutzt werden. Die häufigsten Antikörper sind die sogenannten Acetylcholin-Rezeptor-Antikörper (AChR-Ak), die bei ca. 80% der Myasthenie-Patienten positiv sind.¹⁰ Von den verbleibenden Patienten haben ca. 3% Antikörper gegen die Muskel-spezifische Kinase (MuSK-Ak).¹¹ Ergebnisse der letzten Jahre zeigen, dass vermutlich weiter 3–5 % der Myasthenie-Patienten Antikörper gegen das sogenannte Lipoprotein-related Protein 4 (LRP4) sowie Agrin haben.^{12,13} Von besonderer Bedeutung sind wahrscheinlich Antikörper gegen den sogenannten Rapsin-Acetylcholin-Rezeptor-Cluster (*clustered* AChR-Ak). Diese Antikörper lassen sich vor allem bei den rein okulären Verlaufsformen nachweisen, insbesondere auch bei den Fällen (50%), die für den klassischen AChR-Ak negativ sind.¹⁴ Allen Antikörpern gemeinsam ist, dass sie gegen postsynaptische Strukturen der neuromuskulären Endplatte gerichtet sind und damit die Erregungsübertragung beeinträchtigen können.¹⁵ Die modernen Klassifikationen der Myasthenia gravis gehen zunehmend dazu über, anhand der Antikörper-Konstellation die Erkrankung einzuteilen. Wahrschein-

lich sind die Verläufe und das Ansprechen auf die Therapien je nach Antikörper-Konstellation unterschiedlich.¹⁵

Welche Rolle spielt der Thymus bei der Myasthenia gravis?

Der Thymus spielt eine zentrale Rolle in der Reifung der T-Lymphozyten. Eine der Hauptaufgaben ist das Aussortieren von T-Zellen, die gegen körpereigene Strukturen gerichtet sind. Damit wird die *Selbsttoleranz* sichergestellt und Autoimmunität verhindert. Diese Funktion ist bei Autoimmunerkrankungen und insbesondere bei der Myasthenia gravis gestört. In der Pathophysiologie der Myasthenia gravis spielt der Thymus eine besondere Rolle, wobei histologisch zwei pathologische Veränderungen beobachtet werden. Bei der Verlaufsform, die vor allem im jüngere Lebensalter beginnt (early onset; < 40 Lebensjahre), zeigt sich in ca. 70% der Fälle eine sogenannte lymphofollikuläre Hyperplasie, auch Thymitis genannt.¹⁶ Diese Veränderung wird als Ausdruck der autoimmunen Fehlfunktion des Thymus bei Myasthenia gravis verstanden. Der gestörten Balance schützender regulatorischer T-Zellen und potenziell autoreaktiver Th17 Zellen wird dabei eine große Bedeutung beigemessen.^{17, 18} Die Ursache der Fehlregulation des Immunsystems ist aber noch weitgehend unverstanden. Genetische Faktoren spielen dabei eine wichtige Rolle, wie Zwillingsstudien belegen. So sind eineiige Zwillinge für das Merkmal Myasthenia gravis zu 40% konkordant, aber nur 5% der Zweieiigen.¹⁹ Darüber hinaus konnten Polymorphismus-Marker einiger Gene, die immunregulatorische Aufgaben haben, mit dem Auftreten der Myasthenia gravis assoziiert werden. Am besten belegt ist CTLA4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4*), ein immunregulatorisches Oberflächenprotein von T-Lymphozyten.²⁰

Neben der Thymushyperplasie treten auch Tumore des Thymus gehäuft bei der Myasthenia gravis auf. Ungefähr 15% aller Myasthenie-Patienten haben sogenannte Thymome. Diese sind überwiegend gutartig, d.h. es treten keine Metastasen auf. Selten handelt es sich um maligne Thymome oder gar Thymuskarzinome. Thymome betreffen überwiegend ältere Myasthenie-Patienten (late onset; >40 Jahre).¹⁶ Jeder Myasthenie-Patient muss mittels Computertomographie (mit Kontrastmittel) oder Magnetresonanztomographie auf das Vorhandensein eines Thymoms untersucht werden. Thymome bedürfen in jedem Fall

einer operativen Entfernung, da selbst gutartige Tumore durch Größenwachstum Schäden im Bereich des Herzens und der großen Gefäße anrichten können.²¹ Zudem hängt eine effektive Therapie bei der Thymom-assoziierten (paraneoplastischen) Verlaufsform der Myasthenia gravis von der Entfernung der Thymusdrüse ab. In der Regel wird heute für Thymome nach wie vor der offene chirurgische Zugang über die Eröffnung des Brustbeins empfohlen. Die transsternale Thymektomie kann jedoch für kleine Thymome zunehmend durch die minimal-invasive Roboter-assistierte Thymektomie ersetzt werden. Die Entscheidung, welcher Zugang eingesetzt wird, muss sich immer dem Ziel unterordnen, das Thymom komplett zu entfernen.²¹ Thymome werden histologisch (WHO-Klassifikation) danach unterschieden, ob deren Zellen den normalen medullären (Typ A) oder den normalen kortikalen (Typ B) epithelialen Zellen ähneln. Je nach lokaler Ausbreitung der Thymome werden zudem die Stadien I-IV nach Masaoka-Koga unterschieden.¹⁶ Beide Klassifikationen dienen als Grundlage für die Entscheidung, ob nachfolgend eine lokale Bestrahlung der Thymusloge und Chemotherapie notwendig ist. Insbesondere auch die zusätzliche Chemotherapie ist bei Myasthenie-Patienten mit Thymomen nur sehr selten notwendig. Wie bei vielen paraneoplastischen Erkrankungen ist auch die Myasthenia gravis eine Signalerkrankung, die früh auf einen Tumor hinweist und damit eine im Ansatz kurative operative Therapie ermöglicht.

Müssen Patienten mit Myasthenia gravis, die keinen Hinweis für ein Thymom haben, thymektomiert werden? Eine abschließende und eindeutige Antwort darauf ist für den Einzelfall nicht möglich. Zunächst gilt, dass es im Gegensatz zur Thymom-Konstellation hier keine zwingende Indikation zur Thymektomie gibt. Man geht heute aber davon aus, dass bei vielen Myasthenie-Patienten eine Thymektomie auch dann sinnvoll ist, wenn kein Thymom-Verdacht besteht. Die Thymektomie bei Myasthenia gravis geht auf Ferdinand Sauerbruch zurück, der bereits 1911 bei einer Patientin mit Morbus Basedow die Thymusdrüse entfernte.²¹ Die Patientin litt zufällig an einer Myasthenia gravis, die sich nach diesem Eingriff deutlich verbesserte. Diese Konstellation ist nicht ungewöhnlich, ca. ein Drittel der vor allem weiblichen Patienten mit einer *early onset* Verlaufsform der Myasthenia gravis leiden unter einer weiteren Autoimmunerkrankung. Hierbei können alle bekannten Autoimmunerkrankungen kombiniert vorliegen. Autoim-

munerkrankungen der Schilddrüse (Thyreoiditis) sind am häufigsten mit der Myasthenia gravis kombiniert.²² Zurück zur Thymektomie, da Operationen in diesem Bereich häufig zu tödlichen Infektionen führten (Mediastinitis) wurde erst ab Mitte der 1930er Jahre unter verbesserter Hygiene und vor allem Antibiotika-Therapie dieses Verfahren von Blalock sowie später Keynes wieder aufgenommen.²¹ In der Folge hat sich die Thymektomie fest in der Therapie der Myasthenia gravis etabliert, obwohl bis heute keine kontrollierten randomisierten Studien die Wirksamkeit dieser Therapie bei nicht-Thymom-assoziierten Verläufen der Myasthenia gravis unterstützen.²³ Die oben berichtete Beobachtung eines verbesserten Verlaufs der Erkrankung nach Thymektomie konnte aber durch Meta-Analysen großer Kohorten von Myastheniepatienten bestätigt werden. Trotz aller methodischen Limitationen kann man davon ausgehen, dass vereinfacht formuliert, Patienten die frühzeitig nach Beginn der Erkrankung thymektomiert werden, eine doppelt so gute Chance auf einen „milden“ Verlauf der Erkrankung haben wie Patienten ohne Thymektomie. Dabei „profitieren“ vor allem Patienten, die eine Thymushyperplasie haben.²⁴ Die Thymektomie stellt damit in der Behandlung der Myasthenia gravis eine Art *chirurgische Immunmodulation* dar. In den letzten 10 Jahren hat sich immer mehr die schonende minimal-invasive Roboter-assistierte Thymektomie für diese Indikation durchgesetzt.²⁵ Bei keiner anderen Autoimmunerkrankung gibt es Hinweise für die Wirksamkeit der Thymektomie. Ebenso ist die pathophysiologische Bedeutung des Thymus auch nur für die Myasthenia gravis überzeugend belegt. Dies gilt wahrscheinlich jedoch nicht für die MuSK-Ak positive Verlaufsform. Thymushyperplasie und Thymome treten bei den MuSK-Ak positiven Patienten nicht auf und die Thymektomie hat nach den vorliegenden Daten keinen Einfluss auf den Langzeitverlauf dieser Patienten.¹⁷

Wie wird die Myasthenia gravis diagnostiziert?

Die Diagnostik der Erkrankung beruht vor allem auf dem typischen klinischen Erscheinungsbild der Erkrankung mit belastungsabhängiger Muskelschwäche, die sich nach Ruhe zumindest teilweise zurückbilden kann. Damit einher geht häufig die Tageszeitabhängigkeit mit stärkeren Beschwerden am Abend als am Morgen. Durch den Nach-

weis der o.g. spezifischen Antikörper und die elektrophysiologischen Untersuchungen (Dekrement-Test, Einzelfaser-EMG) kann die Erkrankung gesichert werden.²⁶ Der klassische pharmakologische Test ist der Edrophonium-Test, der durch rasche aber kurzandauernde Hemmung der Acetylcholin-Esterase die Konzentration im synaptischen Spalt erhöht, damit die neuromuskuläre Übertragung verbessert und so die Beschwerdesymptomatik vermindern kann. Im Rahmen der Erstdiagnostik einer Myasthenia gravis muss immer eine Thymusdiagnostik zur Abklärung eines Thymoms durchgeführt werden.¹⁰

Welche therapeutischen Optionen stehen in der Behandlung der Myasthenia gravis zur Verfügung?

Die Myasthenia gravis wird zum einen symptomatisch und zum anderen kausal therapiert.¹⁰ Die symptomatische Therapie wird seit den 30er Jahren über die Hemmung der Acetylcholin-Esterase durchgeführt. Über die Erhöhung von Acetylcholin wird die Stimulation der nikotinergen AChR der neuromuskulären Endplatte verstärkt und damit der Hemmung durch die AChR-Ak entgegengewirkt. Für diese Basistherapie der Myasthenia gravis wird heute vor allem Pyridostigmin eingesetzt, seltener Neostigmin.¹⁰ Letzteres wurde schon 1935 durch Mary Walker eingeführt, nachdem sie 1934 mit Physostigmin erfolgreich war.²⁷ Pyridostigmin und Neostigmin haben keine zentralnervösen Nebenwirkungen, da sie im Gegensatz zu Physostigmin die Bluthirnschranke nicht überwinden können. Allerdings sind andere cholinerge Nebenwirkungen in der Praxis häufig und letztlich für die Therapie Dosis-limitierend. Diese Nebenwirkungen sind bedingt dadurch, dass Acetylcholin ein universeller Botenstoff ist, der im Organismus vielfältig Wirkungen über seine nikotinerge und muskarinerge Rezeptoren entfalten kann. Gefürchtet ist vor allem eine massiv verstärkte Sekretbildung in den Atemwegen und starke Verlangsamung der Herzfrequenz, die zur Ateminsuffizienz und Herzfunktionsstörungen führen kann. Sowohl hinsichtlich der Wirkung und der Nebenwirkungen unterscheiden sich die Dosierungen von Pyridostigmin intraindividuell erheblich. Für einige Patienten sind schon Tagesdosen von 20–30 mg wirksam und höhere Dosen führen zu Unverträglichkeit. Andere Patienten vertragen ohne Nebenwirkungen Tagesdosen bis 1200 mg, wobei die obere Dosisgrenze

ze bei ca. 600mg liegen sollte. Kritisch wird es vor allem dann, wenn die myasthenen Beschwerden fortschreiten und durch immer weitere Dosissteigerungen von Pyridostigmin versucht wird, diesen entgegenzuwirken. In diesen Situationen kann es dann zu dem gefürchteten Bild einer myasthenen und cholinergen Mischkrise kommen, die dann letztlich regelhaft eine intensivmedizinische Versorgung mit maschineller Beatmung erfordert.²⁸ In diesen Situationen ist eine weitgehende Reduktion von Pyridostigmin einerseits und eine „ursächliche“ Behandlung der Erkrankung durch Reduktion der pathogenen Antikörper andererseits notwendig. Dadurch gelingt es, den Patienten schnell aus der krisenhaften Situation herauszuführen. Die Antikörper werden am effektivsten durch eine Plasmapherese oder etwas mehr spezifisch und nebenwirkungsärmer durch Immunadsorption herausgewaschen.¹⁰ Die Wirkung setzt in der Regel nach wenigen Tagen ein. Eine weitere Alternative ist die Gabe von Intravenösen Immunglobulinen (IVIG), deren Wirkung etwas verzögert nach ca. 2 Wochen einsetzt.¹⁰ Diese von tausenden Spendern gepoolten Immunglobuline der IgG-Subklasse depletieren und reduzieren damit auch Antikörper in der Blutzirkulation der Patienten. Darüber hinaus haben IVIG eine Vielzahl anderer immunmodulatorischer Effekte auf das angeborene und erworbene Immunsystem.²⁹ Bei der Antikörper-reduzierenden Therapie durch eine „Blutwäsche“ oder IVIG handelt es sich um eine kausale Therapie, die vornehmlich bei myasthener Krise oder schwerer Exazerbation der Erkrankung eingesetzt wird.¹⁰

Die symptomatisch orientierte Basis-Therapie der Myasthenia gravis mittels Acteylcholinesterase-Inhibitoren ist nicht nur während der myasthenen Krise sondern für die meisten Patienten auch schon am Anfang der Erkrankung nicht ausreichend wirksam. Viele Patienten benötigen eine immunsupprimierende Therapie, die im Sinne der Ursache der Myasthenia gravis als Autoimmunerkrankung damit kausal ausgerichtet ist. Seit Einführung in den 1960er Jahren und bis heute werden dafür zunächst Steroide eingesetzt. Steroide haben viele für die Behandlung der Myasthenia gravis positive Eigenschaften. Unter anderem zerstören sie B-Lymphozyten und reduzieren die Antikörperproduzierenden Plasmazellen und proinflammatorische Th17-Lymphozyten, sie erhöhen schützende regulatorische T-Lymphozyten und sie führen zur Regeneration der neuromuskulären Endplatte.³⁰ Während

die Acetylcholinesterase-Blocker innerhalb von Stunden wirken, setzt der positive Steroid-Effekt nach ca. 2–3 Wochen ein. Allerdings kommt es bei ca. einem Drittel der Patienten ca. 3 Tage nach Beginn der Therapie zunächst zur einer Verschlechterung der myasthenen Beschwerden, die auch zu einer myasthenen Krise führen kann.³² Werden zu Beginn der Steroidtherapie (z.B. Prednisolon, Prednison, Methylprednisolon) in der Regel Dosierungen von 1 mg/kg Körpergewicht eingesetzt, versucht man über die nächsten Monate die Steroiddosis schrittweise zu reduzieren. Ziel ist es, die Steroiddosis so weit zu reduzieren, dass die typischen Nebenwirkungen (z.B. Osteoporose, Diabetes mellitus, grauer und grüner Star) einer Langzeitsteroidtherapie nicht auftreten. Dazu muss die sogenannte Cushing-Schwelle, die für Prednison bei ca. 7,5 mg/kg liegt, unterschritten werden.³⁰ Da viele Patienten unter Reduktion der Steroid-Dosis wieder myasthene Beschwerden bekommen, ist für eine ausreichend lange Immunsuppression ein entsprechendes Langzeitimmunsuppressivum notwendig. In der Therapie der Myasthenia gravis hat sich dafür Azathioprin als Medikament der 1. Wahl durchgesetzt. Hauptziel ist es die Steroid-Dosis unter Azathioprin möglichst schnell unterhalb der Cushing-Schwelle zu senken.¹⁰ Azathioprin wirkt über seinen Metaboliten 6-Mercaptopurin auf die DNA-Synthese und hemmt damit die Vermehrung der T- und B-Lymphozyten. Allerdings tritt der Wirkeffekt von Azathioprin bei Myasthenie-Patienten erst nach 12 bis 18 Monaten ein.³¹ Alternativ für Azathioprin werden andere, ebenfalls über den DNA oder RNA-Metabolismus von Lymphozyten wirkende Langzeitimmunsuppressiva, wie Mycophenolat Mofetil, Methotrexat und Ciclosporin A, eingesetzt.¹⁰ Auch für Medikamente der 2. Wahl gilt, dass die Wirkung erst nach 6 bis 18 Monaten einsetzt.^{32–34} Darüber hinaus haben alle diese Medikamente ein, wenn auch teilweise unterschiedliches, in der Praxis relevantes Nebenwirkungsprofil. Von vielen Patienten am meisten gefürchtet ist eine, wenn auch geringe aber signifikant messbare Erhöhung von Tumorerkrankungen, die in absoluten Prozentzahlen bei ca. 1–3% pro 6–10 Jahren Therapiedauer liegt. In relativen Prozentzahlen nimmt die Tumorrage um ca. 30 bis 60% zu.³⁵ Diese Daten stammen allerdings aus den großen Nierentransplantations-Registern mit Daten von mehr als 50.000 Patienten. Für die selten auftretende Myasthenia gravis lagen bis vor kurzem keine aussagekräftigen Daten vor. Populationsbasierte Register aus Dänemark

relativieren diese Befunde für Myasthenie-Patienten zumindest teilweise.³⁶ Insgesamt ist das Tumorrisiko bei Myasthenie-Patienten unter Azathioprin-Therapie wahrscheinlich nicht signifikant erhöht. Allerdings treten Hauttumore vom Nicht-Melanom-Typ signifikant häufiger auf.³⁷ Da dieses Risiko bei Azathioprin allgemein bekannt ist, wird ein konsequenter Schutz durch Sonnenschutzcreme oder die Vermeidung von intensiver Sonneneinstrahlung empfohlen.

In jedem Fall benötigen Patienten unter Langzeitimmunsuppression ein regelmäßiges Monitoring der Immunfunktion, um eine erhöhte Infektionssuszeptibilität zu verhindern. Ein einfaches Immunmonitoring besteht im Messen der Lymphozytenzahlen, die knapp unterhalb des unteren Normalwertes eingestellt werden. Dieses Monitoring ist beispielsweise bei der Azathioprin-Therapie sehr wichtig, da u.a. Menschen mit einem bestimmten genetischen Polymorphismus im Thiopurin-Methyltransferase (TPMT)-Gen einen TPMT-Mangel haben, der bei normal dosierter Azathioprin-Therapie rasch zu einer Myelosuppression führt. Diese toxische Zerstörung des Knochenmarks führt zu einer schwersten Immundefizienz. Im Rahmen dieser Immundefizienz treten häufig sogenannte opportunistische Infektionen (z.B. Lungenentzündungen mit Aspergillus-Pilzen), die häufig tödlich verlaufen. Der Polymorphismus lässt sich auch vor Beginn der Azathioprin-Therapie genetisch untersuchen. Allerdings kann eine Myelosuppression auch ohne TPMT-Mangel auftreten, so dass ein regelmäßiges Monitoring der Lymphozyten in jedem Fall notwendig ist.³⁸ Zudem können Medikamente wie das in der Gicht-Behandlung eingesetzte Allopurinol TPMT inhibieren und dadurch eine Myelosuppression unter gleichzeitiger Azathioprin-Therapie auslösen.³⁹

Neben dem erheblich verzögerten Therapieeintritt und den relevanten Nebenwirkungen haben die heute in der Behandlung der Myasthenia gravis eingesetzten Standardimmuntherapeutika bei ca. 20–30% der Patienten keine hinreichende Wirkung.^{10, 30} Die Unsicherheit, ob die Langzeitimmuntherapeutika überhaupt wirken, fällt zudem häufig in die ersten 1 bis 3 Jahren des Krankheitsverlaufs. In dieser Zeit ist die Krankheit häufig am stärksten ausgeprägt, teilweise müssen krisenhafte Situationen überstanden werden. Auf der anderen Seite belegen Placebo-kontrollierte randomisierte Studien mit Mycophenolat Mofetil die klinische Erfahrung, dass ein Teil der Myasthenie-Patienten keine

Langzeitimmunsuppression braucht.³⁴ Bei diesen Patienten können Steroide ausgeschlichen werden ohne das die Beschwerden der Myasthenia gravis wieder auftreten. Allerdings fehlen prädiktive Parameter für die Notwendigkeit bzw. Wirksamkeit der Langzeitimmunsuppressiva. Solche Parameter fehlen auch um den Verlauf der Myasthenia gravis generell vorherzusagen. Für die klinische Praxis hat dies Implikationen. Wie geht man vor, wenn Azathioprin nicht ausreichend wirkt? Die Leitlinien der Fachgesellschaften empfehlen Mittel der 2. Wahl einzusetzen.⁴⁰ Daten, die hinreichend sicher belegen können, dass diese Medikamente in dieser Situation helfen, fehlen allerdings. Konsequenterweise müsste man für jedes Medikament ungefähr 1 Jahr warten, um die Wirkung im Einzelfall einzuschätzen. Damit würden für diese Patienten mehrere Jahre vergehen, ohne das eine Einstellung auf eine wirksame Langzeittherapie gelingen wäre.

Welche Konsequenz ergibt sich daraus? Spezialisierte Behandlungszentren setzen heute zunehmend früher im Verlauf der Erkrankung innovative Immuntherapeutika ein. Insbesondere bei schweren Verläufen wird bereits nachdem ein Standard-Therapeutikum der Langzeitimmunsuppression gescheitert ist, Rituximab eingesetzt. Für diesen monoklonalen Antikörper, der gegen das CD20-Oberflächenmolekül der B-Lymphozyten gerichtet ist, liegt seit 1998 eine Zulassung für die Behandlung maligner Lymphome vor. Rituximab war auch der erste monoklonale Antikörper der für die Therapie einer Autoimmunerkrankung zugelassen wurde – 2006 für die Behandlung der rheumatoiden Arthritis. Für die Myasthenia gravis liegen bis heute keine kontrollierten Studien zur Effektivität von Rituximab vor. Neben pathophysiologischen Erwägungen zeigen Fallserien einen positiven Effekt bei therapierefraktären Verläufen der Myasthenia gravis. Insbesondere die MuSK-Ak-positive Verlaufsform der Myasthenia gravis spricht wahrscheinlich gut auf diese Therapie an.⁴¹ Belimumab ist ein weiterer gegen B-Lymphozyten gerichteter monoklonaler Antikörper, der aktuell in einer Studie bei Myasthenie-Patienten getestet wird. Belimumab bindet und inaktiviert den löslichen B-Zell aktivierenden Faktor (BAFF). Dieses von Monozyten und neutrophilen Leukozyten produzierte Zytokin kann damit seine normale B-Lymphozyten-stimulierende Funktion nicht mehr verrichten.⁴² B-Lymphozyten sind bei Antikörper-vermittelten Autoimmunerkrankungen deshalb ein bevorzugtes Therapie-Target,

da sie die Vorläuferzellen der Antikörper-produzierenden Plasmazellen sind. Noch spezifischer sind Therapien, die sich gegen die Plasmazellen selber richten.⁴³ So testen wir in der TAVAB-Studie Bortezomib, das insbesondere Plasmazellen zum Absterben bringen kann. Bortezomib ist ein Proteasom-Inhibitor und blockiert damit den Proteinabbau.⁴⁴ Das Medikament ist seit 2004 ebenfalls zur Behandlung eines malignen Lymphoms (multiples Myelom oder Plasmozytom) zugelassen. Eine weitere innovative Therapie setzt am Komplementsystem an. Die AChR-AK-vermittelte Verlaufsform der Myasthenia gravis schädigt die neuromuskuläre Endplatte über die Aktivierung des Komplementsystems. Der monoklonale Antikörper Eculizumab, der das Protein C5 des Komplementsystems bindet und damit inaktiviert, war in einer kleinen Studie zur Myasthenia gravis wirksam. Eculizumab ist zur Therapie der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie zugelassen.⁴⁵ Mit Jahrestherapiekosten von ca. 400.000 Euro gilt es eines der derzeit teuersten zugelassenen Medikamente.

An diesem Beispiel zeigt sich auch das besondere Problem der Entwicklung neuer innovativer Medikamente bei Erkrankungen wie der Myasthenia gravis, die zu den sogenannten *orphan diseases*, also seltenen Erkrankungen gehört. Dazu zählen in Europa alle Erkrankungen mit einer Prävalenz von weniger als 5 Fällen pro 10.000 Einwohner. Pharmazeutische Unternehmen, die für die Behandlung dieser Krankheiten neue Medikamente entwickeln, erhalten Erleichterungen für deren Zulassung und Vermarktung, um die Medikamenten-Entwicklung in diesen Indikationen rentabler zu machen.

Herausforderungen in der Behandlung der Myasthenia gravis

Personalisierte Medizin beschreibt die maßgeschneiderte (medikamentöse) Therapie von Patienten, die zusätzlich zum speziellen Krankheitsbild die individuelle physiologische Konstitution sowie geschlechts- und altersspezifische Wirkeigenschaften von Medikamenten berücksichtigt. Biomarker, die krankheitsspezifische Mechanismen auf den Ebenen des Genoms, Transkriptoms, Proteoms und Metaboloms beschreiben, sollen zur Stratifizierung und zeitlichen Abfolge der Therapie eingesetzt werden, um ein optimales Behandlungsergebnis zu erzielen.⁴⁶

Die Behandlung von Menschen mit sehr seltenen Erkrankungen bedarf schon im Ansatz der individuellen Therapie. In ihren extremen Formen sind *orphan diseases* singuläre Erkrankungen, die in der Regel genetisch bedingt sind. In diesen Fällen stellt die pathophysiologisch orientierte Behandlung mit entsprechender Diagnostik und, sofern möglich, Therapie personalisierte Medizin dar. Mehr als 7000 seltene Erkrankungen sind heute bekannt. Diese betreffen alleine in den USA schätzungsweise 25–30 Millionen Menschen,⁴⁷ also in der Summe knapp 10% der Einwohner. Auf der anderen Seite stehen die sehr häufigen Erkrankungen, neben einigen Infektionserkrankungen vor allem die sogenannten Volkskrankheiten in der industrialisierten Welt. Die wichtigsten, gemessen an ihrer Häufigkeit, sind die Herz-Kreislaufkrankungen und Krebserkrankungen. So treten beispielweise allein in Deutschland jährlich mehr als 200.000 Schlaganfälle auf.

In den vorangestellten Abschnitten habe ich die Diagnostik und Therapie der Myasthenia gravis hergeleitet. In Deutschland leiden schätzungsweise 16.000 Menschen unter dieser Erkrankung. Die Myasthenia gravis zählt damit zwar zu den seltenen Erkrankungen, ist aber unter diesen vergleichsweise häufig. Damit steht sie zwischen den singulären Erkrankungen auf der einen und den sehr häufigen Volkskrankheiten auf der anderen Seite. Wie auch bei den häufigen Erkrankungen, ist die Behandlung der Myasthenia gravis in Leitlinien festgeschrieben, die auf Basis des vorliegenden Wissens (*evidence based medicine*) im Konsensverfahren erstellt werden. Während die Grundzüge der Behandlung in den Leitlinien vorgegeben sind, muss die Behandlung immer individualisiert erfolgen. Im Folgenden fasse ich einige Beispiele dafür zusammen, die ich bereits beschrieben habe. 1) In der Basistherapie mit AChE-Hemmern wird die Dosis bei jedem Patienten individuell anhand der Wirkung und Nebenwirkungen eingestellt. 2) Die immunsuppressive Therapie wird mit genetischen Markern (z.B. TPMT-Polymorphismus) und mit einfachen Immunmarkern (z.B. Lymphozytengesamtzahl bzw. B-Lymphozyten im Blutbild) überwacht und eingestellt. 3) Berücksichtigt werden müssen auch Ängste von Patienten, wie z.B. die Angst vor Nebenwirkungen einer immunsuppressiven Therapie (Krebserkrankungen bei Langzeitimmunsuppressiva) und Steroide (Gewichtszunahme im Sinne einer Stammfettsucht, Diabetes mellitus). 4) Die Entscheidung zur Thyrektomie und die Wahl des

Operationsverfahrens orientieren sich an bildgebenden Hinweisen für pathologische Thymusbefunde wie dem individuellen Verlauf der Erkrankung. 5) Therapieeskalationen werden vom individuellen Verlauf der Erkrankung abhängig gemacht. Dazu gehört die frühzeitige und gezielte Entscheidung zu einem schnell wirksamen Therapieverfahren, wie die Gabe intravenöser Immunglobuline oder Verfahren der «Blutwäsche», wenn im Rahmen einer Exazerbation der Erkrankung eine myasthene Krise droht. 6) Schwere Verläufe werden immer früher mit modernen spezifischeren Immunsuppressiva behandelt. 7) Therapieentscheidungen werden zunehmend vom nachgewiesenen Antikörper (AChR-Ak vs. MuSK-Ak) abhängig gemacht.

Leitlinien orientieren sich im Wesentlichen an Ergebnissen möglichst großer klinischer Studien, die randomisiert-kontrolliert durchgeführt wurden. Mit Hilfe großer Fallzahlen können robuste (statistische) Effekte erzielt werden. Allerdings rekrutieren die Studien in der Regel stark vorausgewählte Patienten, die häufig nicht repräsentativ für die klinische Praxis sind. Neben ethischen Gesichtspunkten, z.B. der Einwilligungsfähigkeit bei Kindern oder Demenz-kranken Patienten bzw. schwangeren Patientinnen, sollen «Störeinflüsse» durch andere Erkrankungen minimiert werden. So werden beispielsweise Patienten mit relevanten Begleiterkrankungen (Komorbidität) häufig ganz oder teilweise ausgeklammert.⁴⁸ Dieses Vorgehen ist aus wissenschaftlichen Gründen nachvollziehbar, beispielsweise um die Fallzahl möglichst gering zu halten. Diese Vereinfachung der behandlungskonkreten Situation birgt für die Übertragung der Ergebnisse in die klinische Praxis große Probleme. So haben vor allem ältere Menschen heute häufig eine zunehmende Anzahl von Begleiterkrankungen. Auf der anderen Seite nehmen die Möglichkeiten zu, jede dieser Begleiterkrankungen zu behandeln. So behandeln häufig mehrere Ärzte verschiedene Erkrankungen am selben Patienten. Patienten die mehr als 10 verschiedene Medikamente täglich einnehmen, sind keine Seltenheit. Medikamenteninteraktionen sind in der Medizin zwar gut bekannt, werden aber bei zunehmender Komplexität der therapeutischen Möglichkeiten zu einem immer größer werdenden Problem.

Viele Leitlinien basieren auf klinischen Studien, die Komorbiditäten nicht berücksichtigen. Diese Leitlinien sind für die klinische Praxis nur eingeschränkt zu gebrauchen. Wenn beispielsweise junge Menschen

erkranken, ergeben sich für die Behandlung häufig andere Fragen und Probleme als wenn alte Menschen an der Myasthenie gravis erkranken. Dies meint nicht den Anspruch auf Heilung. Dieser ist mittlerweile bei alten Menschen häufig ähnlich stark ausgeprägt wie bei jungen Menschen. Eine Heilung ist bei der Myasthenia gravis nicht möglich, allerdings sollte für die meisten Patienten eine weitgehende Remission der Erkrankung im Langzeitverlauf ein realistisches Ziel sein.

Wenn also junge Frauen und alte Männer schwach werden, und eine Myasthenia gravis als Ursache diagnostiziert wird, stellen sich alters- und geschlechtsabhängig häufig folgende Fragen. Welchen Einfluss hat die Myasthenie auf die Schwangerschaft? Welchen Einfluss hat die Schwangerschaft auf Myasthenie? Welchen Einfluss haben die Medikamente, vor allem die Immunsuppressiva auf das ungeborene Kind? Bewältigt die Myasthenie-krankte Mutter das Leben mit einem Kind?⁴⁹ Die Besonderheit ist hier, dass eine chronische Erkrankung die Familienplanung beeinflusst. Ein individualisierter Therapieansatz, der interdisziplinär vorgeht und psychologische Gesichtspunkte berücksichtigt, wird es ermöglichen können, dass Myasthenie-Frauen ihren Kinderwunsch umsetzen können.⁵⁰ Ein weiteres häufiges Problem ist die Komorbidität. Vor allem junge Frauen leiden vergleichsweise häufig an einer oder mehreren weiteren Autoimmunerkrankungen. Hier ist ebenfalls eine interdisziplinär mit Internisten, Rheumatologen und Dermatologen abgestimmte Therapie notwendig. Bei älteren Myasthenie-Patienten, hier vor allem Männern, liegen andere Komorbiditäten vor. Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems (z.B. koronare Herzerkrankungen), Stoffwechselerkrankungen (Gicht, Diabetes mellitus, Osteoporose), Lungenerkrankungen (Chronisch obstruktive Lungenerkrankung), psychische Erkrankungen (Depression), um nur einige häufige zu nennen, erschweren die Therapie enorm. Diese Erkrankungen liegen zudem häufig in variablen Konstellationen vor. Medikamente, die für die Behandlung der Myasthenie notwendig sind, haben häufig einen negativen Einfluss auf die o.g. Komorbiditäten, dies gilt auch *vice versa*. Diese Komplexität ist in klinischen Studien nicht abgebildet und lässt sich auch auf Grund der für große Studien zu geringen Fallzahlen dieser Erkrankung im Gegensatz zu den häufigen Tumorerkrankungen⁵¹ nur unzureichend abbilden. Ein sinnvoller Ansatz wäre hier, Patientendaten aus der Praxis umfassend zu erheben und auszuwerten. Hier

entwickelt sich in Analogie zum systematischen Screening (-omics) in Genom-, Transkriptom-, Proteom- und Metabolom-Daten der sogenannte *Patientomics*-Ansatz.⁵² Neben Datenschutz-rechtlichen Problemen ergeben sich weitere Schwierigkeiten. So ist das systematische Sammeln bzw. Verbinden von Routinedaten aus der Langzeitversorgung von Patienten logistisch sehr aufwendig und die Datenauswertung methodisch extrem komplex.

Ein wesentliches Problem in der Behandlung der Myasthenia gravis ist, dass der Verlauf der Erkrankung zumindest in den ersten Jahren schwer vorhersehbar ist. Spontane Remissionen, milde Verläufe kommen mit ca. 20% genauso häufig vor wie myasthene Krisen.^{4,5} Für eine möglichst effektive und nebenwirkungsarme Therapie wären prädiktive Biomarker hilfreich. Insbesondere folgende Fragen stellen sich häufig in der Behandlung des einzelnen Myasthenie-Patienten: 1) Kommt es zu einer Generalisierung bei einer okulären Verlaufsformen der Erkrankung? 2) Drohen im weiteren Verlauf myasthene Krisen? 3) Bei fehlendem Anhalt für ein Thymom, verbessert eine Thymektomie den weiteren Verlauf der Myasthenia gravis? 4) Ist eine Langzeitimmunsuppression für die dauerhafte Induktion der Remission notwendig? 5) Welches Langzeitimmunsuppressivum bietet die besten Chancen für den Patienten, eine dauerhafte Remission zu induzieren? Zwar können Myasthenie-spezifische Autoantikörper zumindest teilweise prädiktive Aussagen geben, diese sind jedoch sehr ungenau. Vor allem genetische Marker und microRNA Expressionsmuster im Blut, die die Immun(dys)funktion des Patienten besser charakterisieren können, werden wahrscheinlich in Zukunft helfen, die Therapie besser zu stratifizieren.

Literatur

1. Jolly F (1895). Ueber Myasthenia gravis pseudoparalytica. Berliner Klinische Wochenschrift 32: 1–6.
2. Keesey J (1998). Myasthenia Gravis. Arch Neurol. 55: 745–746.
3. Walker MB (1934). Treatment of myasthenia gravis with physostigmine. Lancet 1: 1200–1.
4. Grob D1, Brunner N, Namba T, Pagala M. Lifetime course of myasthenia gravis. Muscle Nerve. 2008 Feb; 37(2): 141–9.

5. Simpson JA (1964). Immunological disturbances in myasthenia gravis with report of Hashimoto's disease developing after thymectomy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 27: 485–92.
6. Aarli JA, Mattsson C, Heilbronn E (1975). Antibodies against nicotinic acetylcholine receptor and skeletal muscle in human and experimental myasthenia gravis. *Scand J Immunol.* 4: 849–52.
7. Toyka KV, Brachman DB, Pestronk A, Kao I (1975). Myasthenia gravis: passive transfer from man to mouse. *Science* 190: 397–9.
8. Simpson JF, Westerberg MR, Magee KR (1966). Myasthenia gravis. An analysis of 295 cases. *Acta Neurol Scand.* 42: Suppl 23: 1–27.
9. McGrogan AI, Sneddon S, de Vries CS (2010). The incidence of myasthenia gravis: a systematic literature review. *Neuroepidemiology* 34: 171–83.
10. Meriggioli MN, Sanders DB (2009). Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity. *Lancet Neurol.* 8: 475–90.
11. Hoch W, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, Vincent A (2001). Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med.* 7: 365–8.
12. Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, Yamanashi Y (2011). Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 69: 418–22.
13. Gasperi C, Melms A, Schoser B, Zhang Y, Meltoranta J, Risson V, Schaeffer L, Schalke B, Kröger S (2014). Anti-agrin autoantibodies in myasthenia gravis. *Neurology* 82: 1976–83.
14. Jacob S, Viegas S, Leite MI, Webster R, Cossins J, Kennett R, Hilton-Jones D, Morgan BP, Vincent A (2012). Presence and pathogenic relevance of antibodies to clustered acetylcholine receptor in ocular and generalized myasthenia gravis. *Arch Neurol* 69: 994–1001.
15. Berrih-Aknin S, Frenkian-Cuvelier M, Eymard B (2014). Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gravis. *J Autoimmun.* 48–49: 143–8.
16. Marx A, Pfister F, Schalke B, Saruhan-Direskeneli G, Melms A, Ströbel P (2013). The different roles of the thymus in the pathogenesis of the various myasthenia gravis subtypes. *Autoimmun Rev.* 12: 875–84.
17. Berrih-Aknin S, Le Panse R (2014). Myasthenia gravis: a comprehensive review of immune dysregulation and etiological mechanisms. *J Autoimmun.* 52: 90–100.

18. Schaffert H, Pelz A, Saxena A, Losen M, Meisel A, Thiel A, Kohler S (2015). IL-17-producing CD4⁺ T cells contribute to the loss of B-cell tolerance in experimental autoimmune myasthenia gravis. *Eur J Immunol*. doi: 10.1002/eji.201445064.
19. Avidan N, Le Panse R, Berrih-Aknin S, Miller A (2014). Genetic basis of myasthenia gravis – a comprehensive review. *J Autoimmun*. 52: 146–53.
20. Renton AE, Pliner HA, Provenzano C, Evoli A, Ricciardi R, Nalls MA, Marangi G, Abramzon Y, Arepalli S, Chong S, Hernandez DG, Johnson JO, Bartoccioni E, Scuderi F, Maestri M, Gibbs JR, Errichiello E, Chiò A, Restagno G, Sabatelli M, Macek M, Scholz SW, Corse A, Chaudhry V, Benatar M, Barohn RJ, McVey A, Pasnoor M, Dimachkie MM, Rowin J, Kissel J, Freimer M, Kaminski HJ, Sanders DB, Lipscomb B, Massey JM, Chopra M, Howard JF Jr, Koopman WJ, Nicolle MW, Pascuzzi RM, Pestronk A, Wulf C, Florence J, Blackmore D, Soloway A, Siddiqi Z, Muppidi S, Wolfe G, Richman D, Mezei MM, Jiwa T, Oger J, Drachman DB, Traynor BJ (2015). A Genome-wide Association Study of Myasthenia Gravis. *JAMA Neurol*. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.4103.
21. Rückert JC, Ismail M, Badakhshi H, Meisel A, Swierzy M (2014). Thymectomy in myasthenia and/or thymoma. *Zentralbl Chir*. 139: 121–32.
22. Oosterhuis HJGH (1997). *Myasthenia Gravis*. Swets & Zeitliner.
23. Cea G, Benatar M, Verdugo RJ, Salinas RA (2013). Thymectomy for non-thymomatous myasthenia gravis. *Cochrane Database Syst Rev*. 10: CD008111.
24. Gronseth GS1, Barohn RJ (2000). Practice parameter: thymectomy for autoimmune myasthenia gravis (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 55: 7–15.
25. Rueckert J, Swierzy M, Badakhshi H, Meisel A, Ismail M (2015). Robotic-Assisted Thymectomy: Surgical Procedure and Results. *Thorac Cardiovasc Surg*. [Epub ahead of print]
26. Benatar M (2006). A systematic review of diagnostic studies in myasthenia gravis. *Neuromuscul Disord*. 16: 459–67.
27. Walker MB (1935). The action of physostigmine and ‘Prostigmin’ in the treatment of myasthenia gravis. *Proc Roy Soc Med* 28: 759–60.
28. Chaudhuri A, Behan PO (2009). Myasthenic crisis. *QJM* 102: 97–107.
29. Schwab I, Nimmerjahn F (2013). Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nat Rev Immunol*. 13: 176–89.

30. Hoffmann S, Kohler S, Ziegler A, Meisel A (2014). Glucocorticoids in myasthenia gravis – if, when, how, and how much? *Acta Neurol Scand.* 130: 211–21.
31. Palace J, Newsom-Davis J, Lecky B (1998). A randomized double-blind trial of prednisolone alone or with azathioprine in myasthenia gravis. Myasthenia Gravis Study Group. *Neurology.* 50: 1778–83.
32. Hehir MK1, Burns TM, Alpers J, Conaway MR, Sawa M, Sanders DB (2010). Mycophenolate mofetil in AChR-antibody-positive myasthenia gravis: outcomes in 102 patients. *Muscle Nerve.* 41: 593–8.
33. Heckmann JM, Rawoot A, Bateman K, Renison R, Badri M (2011). A single-blinded trial of methotrexate versus azathioprine as steroid-sparing agents in generalized myasthenia gravis. *BMC Neurol.* 11: 97.
34. Sanders DB1, Hart IK, Mantegazza R, Shukla SS, Siddiqi ZA, De Baets MH, Melms A, Nicolle MW, Solomons N, Richman DP (2008). An international, phase III, randomized trial of mycophenolate mofetil in myasthenia gravis. *Neurology.* 71: 400–6.
35. Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, Cheng Y, Hanto DW (2006). Post-transplant de novo malignancies in renal transplant recipients: the past and present. *Transpl Int.* 19: 607–20.
36. Pedersen EG, Pottegård A, Hallas J, Friis S, Hansen K, Jensen PE, Gaist D (2013). Use of azathioprine for non-thymoma myasthenia and risk of cancer: a nationwide case-control study in Denmark. *Eur J Neurol.* 20: 942–8.
37. Pedersen EG1, Pottegård A, Hallas J, Friis S, Hansen K, Jensen PE, Gaist D (2014). Risk of non-melanoma skin cancer in myasthenia patients treated with azathioprine. *Eur J Neurol.* 21: 454–8.
38. Wee JS1, Marinaki A, Smith CH (2011). Life threatening myelotoxicity secondary to azathioprine in a patient with atopic eczema and normal thio-purine methyltransferase activity. *BMJ.* 342: d1417.
39. Blaker PA, Arenas-Hernandez M, Smith MA, Shobowale-Bakre EA, Fairbanks L, Irving PM, Sanderson JD, Marinaki AM (2013). Mechanism of allopurinol induced TPMT inhibition. *Biochem Pharmacol.* 86: 539–47.
40. <http://www.dgn.org/leitlinien/11-leitlinien-der-dgn/3005-11-68-11-diagnostik-und-therapie-der-myasthenia-gravis-und-des-lambert-eaton-syndroms>
41. Díaz-Manera J, Martínez-Hernández E, Querol L, Klooster R, Rojas-García R, Suárez-Calvet X, Muñoz-Blanco JL, Mazia C, Straasheijm KR, Gallardo E, Juárez C, Verschuuren JJ, Illa I (2012). Long-lasting treatment effect of rituximab in MuSK myasthenia. *Neurology* 78:189–93.

42. Díaz-Manera J, Rojas García R, Illa I (2012). Treatment strategies for myasthenia gravis: an update. *Expert Opin Pharmacother.* 13: 1873–83.
43. Kohler S, Keil TO, Swierzy M, Hoffmann S, Schaffert H, Ismail M, Rückert JC, Alexander T, Hiepe F, Gross C, Thiel A, Meisel A (2013). Disturbed B cell subpopulations and increased plasma cells in myasthenia gravis patients. *J Neuroimmunol.* 264: 114–9.
44. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02102594>
45. Howard JF Jr, Barohn RJ, Cutter GR, Freimer M, Juel VC, Mozaffar T, Mellion ML, Benatar MG, Farrugia ME, Wang JJ, Malhotra SS, Kissel JT; MG Study Group (2013). A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study of eculizumab in patients with refractory generalized myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 48: 76–84.
46. Schleidgen S, Klingler C, Bertram T, Rogowski WH, Marckmann G (2013). What is personalized medicine: sharpening a vague term based on a systematic literature review. *BMC Med Ethics.* 14: 55.
47. Murphy SM1, Puwanant A, Griggs RC (2012). Unintended effects of orphan product designation for rare neurological diseases. *Ann Neurol.* 72: 481–90.
48. Crome P, Lally F, Cherubini A, Oristrell J, Beswick AD, Clarfield AM, Hertogh C, Lesauskaite V, Prada GI, Szczerbińska K, Topinkova E, Sinclair-Cohen J, Edbrooke D, Mills G (2011). Exclusion of older people from clinical trials: professional views from nine European countries participating in the PREDICT study. *Drugs Aging.* 28: 667–77.
49. Ohlraun S, Hoffmann S, Klehmet J, Kohler S, Grittner U, Schneider A, Heuschmann PU, Meisel A (2014). Impact of Myasthenia Gravis on family planning: How do women with Myasthenia Gravis decide and why? *Muscle Nerve.* doi: 10.1002/mus.24556.
50. Klehmet J, Dudenhausen J, Meisel A (2010). Course and treatment of myasthenia gravis during pregnancy. *Nervenarzt.* 81: 956–62.
51. Tourneau CL, Kamal M, Alt M, Verlingue L, Servois V, Sablin MP, Servant N, Paoletti X (2014). The spectrum of clinical trials aiming at personalizing medicine. *Chin Clin Oncol.* 3: 13.
52. <http://eutranslationalmedicine.org/systems-patientomics/>

Marlies Knipper und Ulrike Zimmermann

Über Hörstörungen, Stress und Emotionen. Wie unser Ohr Gehirnfunktionen beeinflusst

Einleitung

Unser Hörorgan ist das einzige universale sensorische Organ der Säugetiere. Während die Unfähigkeit zu sehen oder zu riechen im Tierreich auf natürliche Weise vorkommt, gibt es keine Spezies mit natürlich vorkommender Taubheit (Horowitz 2013). Dies zeigt bereits, dass unser Hörorgan möglicherweise eine besondere Stellung unter den sensorischen Systemen einnimmt. Es hat sich als Detektor für Vibrationen sehr früh aus bewegungssensitiven Härchen entwickelt. In der einfachsten Form führen vibrationsinduzierte Auslenkungen der Stereozilien zu einem Einstrom von positiver Ladung in einer primären Sinneszelle, die dann über Botenstoffe (Transmitter, wie z. B. Glutamat) zu einer Reizweiterlenkung ins zentrale Nervensystem führt. Die besondere Fähigkeit unseres Hörorgans liegt in der enormen dynamischen Breite der Lautheitswahrnehmung von 1 : 6.000.000 (0 dB bis 130 dB). D. h. das Hören des Fallens einer Stecknadel und des Lärm eines Düsenjets bedarf der Kodierung eines breiten Lautheitsspektrums. Unser Hörorgan kann eine Informationsübertragungsleistung von bis zu 30 Millionen Bits/Sekunde erreichen (Wang et al. 2006), was dem circa 30-fachen der möglichen Leistung des visuellen Systems entspricht. Darüber hinaus werden im auditorischen System Informationen mit einer Auflösung von 0.1 Millisekunden (ms) übertragen, was immerhin noch fast hundertfach schneller ist als die Auflösung eines Navigationsgerätes (Wang et al. 2006). Insbesondere die zeitliche Auflösung ist essentiell für unser Sprachverständnis, denn 90% eines jeden Wortes werden offenbar in den ersten 73 ms verstanden (Wang et al. 2006). Diese außergewöhnliche

Leistungsfähigkeit der Informationsübertragung unseres Hörsystems ist darauf zurückzuführen, dass verschiedene sensorische Zellen in unserem Hörorgan synergistisch an der Schallkodierung beteiligt sind und sich auf die dynamische Breite und schnelle Informationsübertragung spezialisiert haben.

Lärmschäden verursachen den Verlust von äußeren Haarzellen

Die drei Reihen äußerer Haarzellen (ÄHZ) (**Abb. 1a**) verstärken durch ihre aktiven Schwingungen am Ort der maximalen Auslenkung der Basilarmembran leise Töne und dämpfen laute Töne (**Abb. 1b**). Durch Lärmexposition können äußere Haarzellen sterben (**Abb. 1b**, pathologisch; **Abb. 1c**). Dadurch kommt es zum Verlust der messbaren Hörschwelle, die mit den sog. auditorisch-evozierten Hirnstammpotenzialen (**Abb. 2**) in der Klinik oder beim HNO Arzt diagnostiziert werden kann. Durch den Verlust der ÄHZ kann es u. a. auch zu einem Verlust der Dämpfung von lauten Schallintensitäten kommen. Dieses Phänomen, das als „Rekrutment“ bezeichnet wird, hat zur Folge, dass leise Geräusche schlechter und laute Geräusche lauter gehört werden. Rekrutment tritt oft im Alter auf und wird als Cocktailparty-Effekt bezeichnet (McLachlan and Wilson 2010). Da für die Reorganisation kortikaler Projektionen in allen beobachteten Fällen eine Verminderung der Hörschwelle Voraussetzung ist (siehe zur Übersicht: Knipper et al. 2013), kann man davon ausgehen, dass Plastizitätsphänomene im auditorischen Kortex, die mit der Veränderung der tonotopen Frequenzordnung einhergehen, mit Schädigungen der ÄHZ korrelieren.

Schlussfolgerung: Äußere Haarzellen definieren die diagnostizierbare Hörschwelle im Klinikalltag. Ihr Verlust führt zu klinisch messbarem Hörverlust.

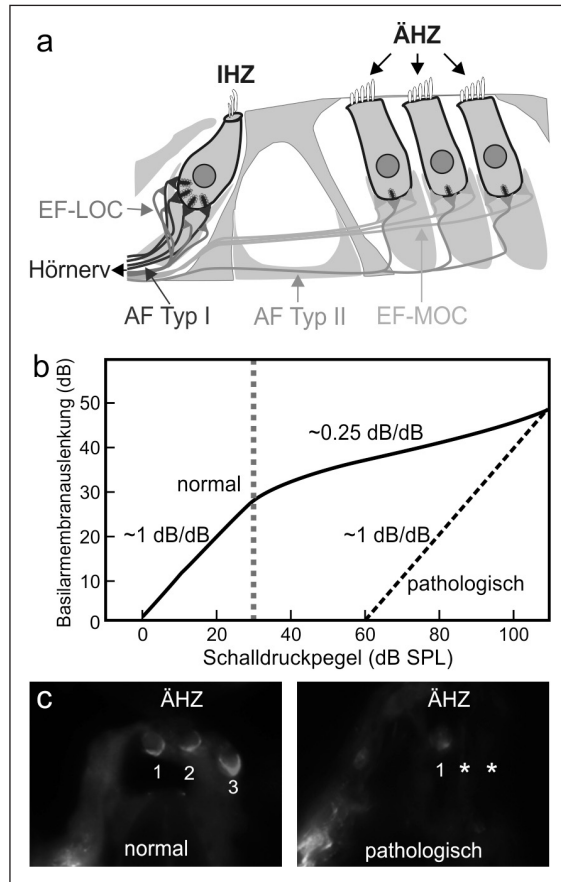


Abb. 1: Entstehung von Schwerhörigkeit und Rekrutment durch Verlust der äußeren Haarzellen (ÄHZ).

(a) Schematische Darstellung des Innervationsmusters des Cortischen Organs. Afferente (d. h. Signalleitung vom Gehör zum Gehirn) Hörnervenfaser Typ I (AF Typ I) innervieren die innere Haarzelle (IHZ), afferente Typ II Hörnervenfaser (AF Typ II) die äußere Haarzelle (ÄHZ). Efferente Hörnervenfaser (d.h. Signalleitung vom Gehirn zum Gehör), die auf die IHZ projizieren, enden nicht direkt an der Sinneszelle, sondern in der Nähe der IHZ an den afferenten Nervenfasern (EF-LOC). Der Ausgangspunkt für EF-LOC Efferenzen ist die laterale obere Olive im Hirnstamm. EF-MOC Efferenzen aus der medialen oberen Olive projizieren auf die ÄHZ und enden direkt an der Sinneszelle.

(b) ÄHZ sind in der Lage ein Schallsignal aktiv zu verstärken oder zu dämpfen. Deshalb kann der normal Hörende leise Töne noch wahrnehmen und sehr laute Töne ertragen. Sind die ÄHZ geschädigt, werden geringe Lautstärken nicht oder sehr schlecht wahrgenommen, starke Lautstärken werden schnell als zu laut, schmerzhaft, verzerrt und unbehaglich empfunden (pathologisch). Diese eingeschränkte Hördynamik wird als Rekrutment bezeichnet.

(c) Die Integrität der ÄHZ kann durch Färbung mit einem Markerprotein (rot) dargestellt wurden. Links, intakte ÄHZ (Reihe 1–3); rechts durch Lärmexposition geschädigte und abgestorben ÄHZ (*).

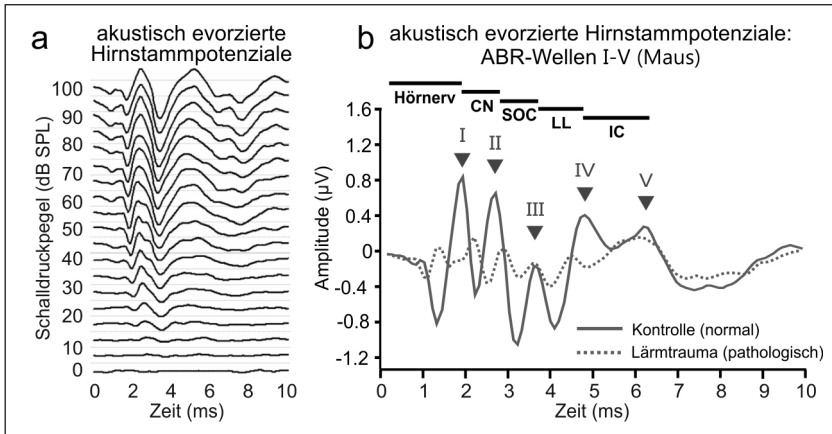


Abb. 2: Die Hirnstammaudiometrie als HNO-ärztliche Untersuchungsmethode zur Aufdeckung von Hörstörungen. **(a)** Akustisch evozierte Hirnstammpotenziale (auditory brainstem response, ABR) eines normal Hörenden. **(b)** Akustisch evozierte ABR-Wellen (I-V) einer Maus vor (graue Linie) und nach (rote Linie) einem Lärmtrauma. Nach einem Lärmtrauma sind die ABR Wellen stark reduziert. Die Wellen lassen sich topographisch verschiedenen Stationen der Hörbahn zuordnen. Die Welle I wird dem Hörnerv und die Welle II dem Nucleus cochlearis (CN) zugeschrieben; die Welle III wird im oberen Olivenkomplex (SOC) und die Welle IV im Lemniscus lateralis (LL) generiert; die Welle V wird dem Colliculus inferior (IC) im Mittelhirnbereich zugeordnet.

Lärmschäden verursachen den Verlust von Hörnervenfaseren

Während der Verlust der ÄHZ seit langer Zeit bekannt ist und über die Reduktion der Auslenkung der Basilarmembran wesentlich zum Verlust der Hörschwelle beiträgt, ist erst kürzlich bekannt geworden, dass unabhängig vom Haarzellverlust auch Hörnervenfaseren degenerieren können (**Abb. 1a**). So konnte gezeigt werden, dass Hörnervenfaseren sogar bei moderaten Lärmexpositionen, die nicht zu einem Verlust der ÄHZ führen und dadurch nicht diagnostizierbar sind, degenerieren können (Furman et al. 2013; Kujawa and Liberman 2009; Lin et al. 2011). Die Degeneration der Hörnervenfaseren findet ausschließlich an der Synapse der inneren Haarzelle (IHZ) (**Abb. 1a**), nicht der ÄHZ, statt. Die IHZ ist anders als die meisten Synapsen des Gehirns, mit mehreren Hörnervenfaseren verbunden: im Menschen mit circa 8 und im Nager mit 20–30 (Glowatzki et al. 2008).

Es gibt mindestens zwei Typen von Hörnervenzellfasern, die sich in ihrer Empfindlichkeit für Lautstärke und in ihrer Entladungsrate (englisch: **S**pontaneous [**F**iring] **R**ate, SR) unterscheiden. Die Hörnervenzellfasern einer IHZ stehen jeweils 1:1 einer präsynaptisch lokalisierten sog. Bändersynapse (Ribbon) gegenüber. An jedem Ribbon einer IHZ werden über 100 synaptische Vesikel zur unmittelbaren Membranfusion und Transmitterfreisetzung bereitgestellt (**Fig. 3a**). Die Ribbonstrukturen, die gegenüber von empfindlichen bzw. weniger empfindlichen Hörnervenzellfasern lokalisiert sind, unterscheiden sich in der Wahrscheinlichkeit mit der sie entweder mehrere Vesikel gleichzeitig, d. h. synchronisiert (**Fig. 3b**) oder einzelne Vesikel nacheinander, also sequenziell (**Fig. 3c**) zur Fusion mit der IHZ Membran bringen, siehe zur Übersicht (Glowatzki et al. 2008). Im ersten Fall einer „monophasischen“ (synchronisierten) Vesikelfusion sind die Amplituden von akustisch-evozierten exzitatorischen (erregenden) postsynaptischen Potenzialen (EPSP) des Hörnervs steil und groß, im zweiten Fall der „multiphasischen“ (sequenziellen) Vesikelfusion sind die Amplituden von akustisch-evozierten EPSP eher kleiner (Glowatzki and Fuchs 2002; Grant et al. 2010).

Man geht zur Zeit davon aus, dass die Hörnervenzellfasern mit einer hohen und schnellen Entladungsrate und hohen EPSP Amplituden (das sind ungefähr 60% der Hörnervenzellfasern) schon bei niedrigsten Lautstärken (z. B. das Hören des Fallens einer Stecknadel) feuern und die graduelle Erhöhung der Entladungsrate mit zunehmender Lautstärke bereits 20–30 dB SPL über der Hörschwelle eine Sättigung erreicht (**Fig. 3d**, hohe SR). Die Hörnervenzellfasern mit niedriger Entladungsrate (das sind ungefähr 40% der Hörnervenzellfasern) beginnen dagegen erst bei einer moderaten Lautstärke zu feuern und können ihre Entladungsrate bis zu höchsten hörbaren Lautheitsintensitäten (z. B. Hören von Flugzeuglärm) steigern (**Fig. 3d**, niedrige SR) (Yates 1991).

Schlussfolgerung: Wir brauchen also für das Hören des gesamten Lautheitsbereiches das gesamte Spektrum an Hörnervenzellfasern.

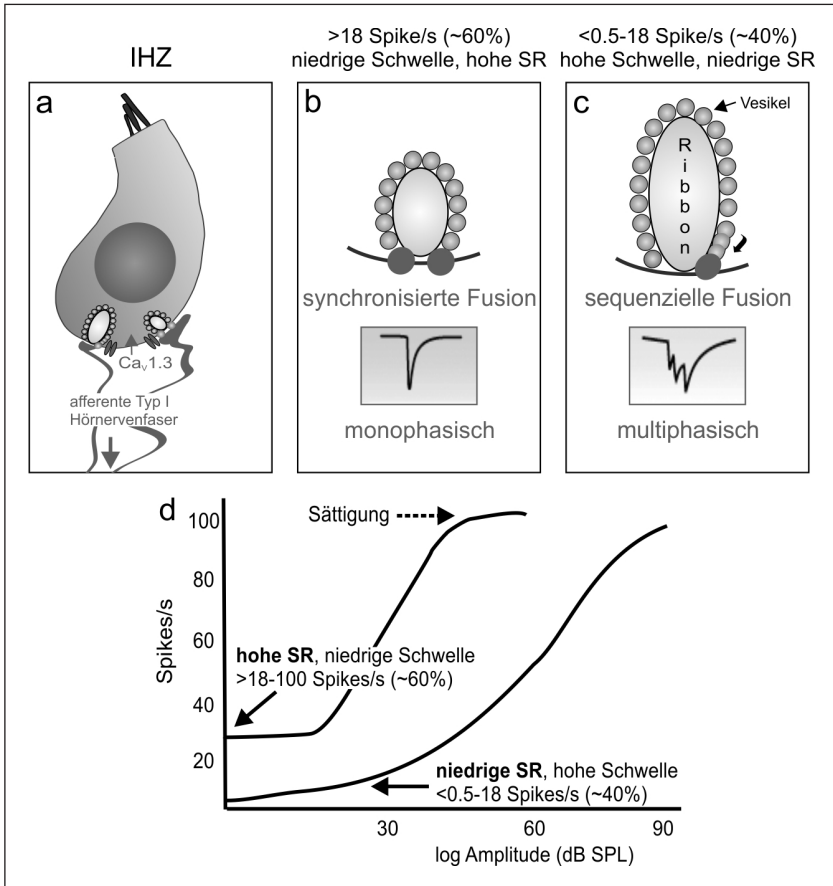


Abb. 3: Die Struktur der inneren Haarsinneszelle (IHZ). (a) IHZ verfügen über 8 (Mensch) bzw. 20–30 (Nager) Hörnervenfaser, die gegenüber zwei verschiedenen Typen von Bändersynapsen (Ribbons) lokalisiert sind (b, c). Diese präsynaptischen Spezialisierungen definieren mit entsprechenden postsynaptischen Spezialisierungen die Empfindlichkeit (Hörschwelle) und Entladungsrates von mindestens zwei verschiedenen Hörnervenfaserarten. (d) Afferente Typ I Hörnervenfaser lassen sich nach ihrer Entladungsrates klassifizieren. Ungefähr 60% aller Hörnervenfaser feuern mit einer hohen und schnellen Entladungsrates (hohe SR) und reagieren bereits auf sehr niedrige Lautstärken (z. B. Hören des Fallens einer Stecknadel). Hörnervenfaser mit niedriger Entladungsrates (niedrige SR) beginnen dagegen erst bei moderaten Lautstärken zu feuern und können ihre Entladungsrates bis zu höchsten hörbaren Lautheitsintensitäten steigern (z. B. Hören von Flugzeuglärm).

Verlust von unempfindlichen Hörnervenfaseren mit niedriger Entladungsrate: Hyperakusis oder Verlust von Sprachverständlichkeit im Alter?

Wie oben beschrieben, weisen jüngste Studien darauf hin, dass wir unsere Hörnervenfaseren verlieren können und zwar ohne dass ein Hörschaden diagnostizierbar ist. Der Verlust an Hörnervenfaseren geht, aus noch nicht endgültig geklärten Ursachen, mit dem Verlust der gegenüberliegenden Bändersynapsen der IHZ einher (**Abb. 4**; Jaumann et al. 2012; Lin et al. 2011; Moser et al. 2013). Die Bändersynapsen definieren die Präzision der Entladungsrate der gegenüberliegenden Hörnervenfaseren (Buran et al. 2010). Da die Präzision der Entladungsrate und die Synchronizität der Entladungsrate der Hörnervenfaseren letztlich die Größe der Amplitude von akustisch-evozierten auditorischen Stammhirnpotenzialen definieren (englisch: *Auditory Brainstem Response*, ABR; Melcher and Kiang 1996), sollte sich ein Verlust von Bändersynapsen in einer proportional veränderten Maximalamplitude der Hörnervaktivität zeigen. Die sich zentral ausbreitende Hörnervaktivität generiert im Stammhirn und im Colliculus inferior mit definierten Zeitverzögerungen Potenzialänderungen (**Abb. 5**; Melcher and Kiang 1996).

Die Konsequenzen eines Verlustes von Bändersynapsen oder Hörnervenfaseren sind trotz intakter äußerer Haarzellen und einem nicht messbaren Hörverlust für die zentralen auditorischen Verarbeitungsprozesse gravierend. So geht man aufgrund jüngster Studien davon aus, dass der Verlust von hochschwelligen Hörnervenfaseren mit niedriger Entladungsrate auf Grund der hohen Sensibilität dieses Fasertyps für exzitationsvermittelte Toxizität (z. B. nach Lärm) die häufigste neuropathische Veränderung des Hörorgan ist. So verlieren wir diesen Hörnervenfaserentyp offenbar schon nach geringer Lärmexposition (Furman et al. 2013; Kujawa and Liberman 2009) aber auch mit zunehmendem Alter (Sergeyenko et al. 2013), wie in Tiermodellen dokumentiert wurde. Die Schwelle der über das Promontorium messbaren Gesamtaktivität aller Hörnerven (englisch: *Compound Action Potential*, CAP) ändert sich durch den Verlust dieses Fasertyps nicht (Bourien et al. 2014). Auch mit der in der Klinik eingesetzten Hirnstammaudiometrie (englisch: *Brainstem Evoked Response Audiometry*, BERA; **Abb. 5a**) würde sich mit bisherigen Messverfahren keine Verän-

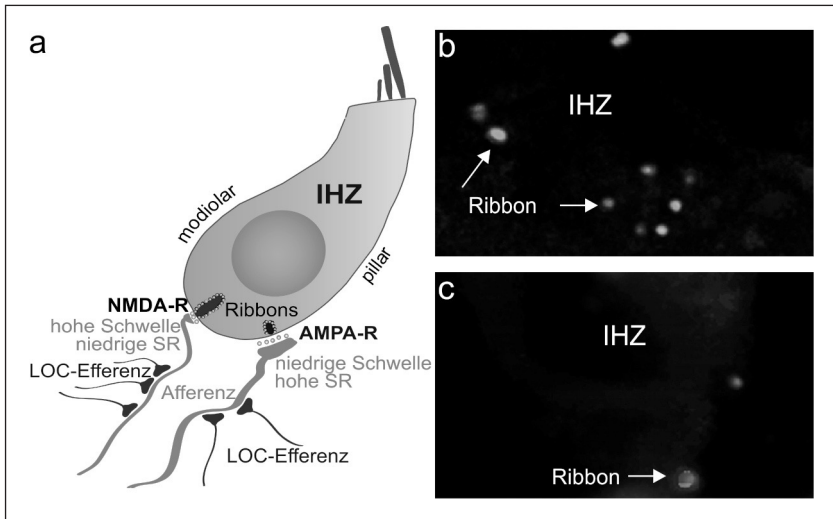


Abb. 4: Lokalisation und Verlust von Bändersynapsen in inneren Haarzellen (IHZ). **(a)** Schematische Darstellung einer inneren Haarzelle (IHZ) und Anordnung der unterschiedlichen Hörnervenfaseren. Hörnervenfaseren mit einer hohen Entladungsrate (hohe SR) und einer niedrigen Schwelle befinden sich präferentiell an „Pillar“ Seite der IHZ. Hier liegen verhältnismäßig kleine Bändersynapsen einem großen postsynaptischen Bereich mit AMPA-Rezeptoren gegenüber. Hörnervenfaseren mit einer niedrigen Entladungsrate (niedrige SR) und einer hohen Schwelle befinden sich präferentiell an „modiolaren“ Seite der IHZ. Hier liegen verhältnismäßig große Bändersynapsen einem kleinen postsynaptischen Bereich mit NMDA-Rezeptoren gegenüber. **(b)** Basaler Teil einer IHZ mit Bändersynapsen (Ribbons). **(c)** Verlust Bändersynapsen nach einem Lärmtrauma.

derung diagnostizieren lassen, wenn wir diese höherschwelligeren Hörnervenfaseren mit geringer Entladungsrate verlieren. Ein solcher Hörnervenfaserverlust lässt sich zurzeit nur tierexperimentell über Peaks überschwelliger ABR-Amplituden nachweisen, ein Verfahren, das für die klinische Diagnostik im Menschen noch nicht weiterentwickelt wurde. So zeigt sich in Tierexperimenten bei einem Verlust dieses Hörnervenfaserentyps eine reduzierte überschwellige Amplitude des Hörnervens (ABR Welle I) auch noch 14 Tage nach einem moderaten akustischen Trauma (10 kHz-Beschallung mit 100 dB SPL von 1 Stunde; **Abb. 5b**, ABR Welle I, graue Linie). Interessanterweise kann

diese peripher reduzierte Aktivität jedoch über eine adaptive Erhöhung der Entladungsrate auditorischer Projektionen zentral kompensiert und sogar überkompensiert werden (**Abb. 5c**, ABR Welle IV, graue Linie).

Ein solches Phänomen von plastischer Anpassung zentraler neuronaler Aktivität an periphere Deprivation könnte über homöostatische Plastizitätsänderungen erklärbar sein (Nelson and Turrigiano 2008; Turrigiano and Nelson 2004). Der molekulare Mechanismus ist über eine Herunterregulation von inhibitorisch wirkenden GABA-Rezeptoren und/oder über eine Hochregulation exzitatorisch wirkender Glutamat-Rezeptoren erklärbar (Jakawich et al. 2010). Im auditorischen System ist zentrale Kompensation nach peripherer Deprivation z. B. über eine Erhöhung der Entladungsrate von Neuronen in vielen Studien beobachtet worden (siehe zur Übersicht Noreña and Farley 2013; Roberts et al. 2010; Salvi et al. 2000). Diese Hyperaktivität wird über eine Desinhibition der Neurone erklärt (Cai et al. 2009; Mulders and Robertson 2009).

Ob eine kompensatorische „Hyperaktivität“ mit dem pathologischen Phänomen der Hyperakusis (Geräuschüberempfindlichkeit), einer häufig vorkommenden Lautheitsstörung (Pienkowski et al. 2014), korreliert ist, gilt es in Zukunft zu klären. Man macht diesen häufig vorkommenden Verlust der höherschweligen Hörnervenfasern mit niedriger Entladungsrate auch für den im Alter vorkommenden Verlust der Sprachverständlichkeit im Hintergrundgeräusch verantwortlich, siehe hierzu als Übersichtsartikel Bharadwaj et al. 2014. So zeigt dieser Hörfasertyp bei niedrigen „Grundgeräuschpegeln“ noch kein Antwortverhalten, kann aber bei typischen Geräuschpegeln in denen z. B. Kommunikation stattfindet, den für die Sprache typischen Frequenzmodulationen auf hochsensibler Weise mit Veränderungen der Entladungsrate folgen (Bharadwaj et al. 2014). Damit ist dieser Hörfasertyp für das Sprachverständnis im Hintergrundgeräusch essentiell. Es bleibt zu klären, ob es wirklich der Verlust dieses Hörnervenfasertyps per se ist, der den Verlust des Sprachverständnisses im Alter verursacht (Bharadwaj et al. 2014). Es könnte auch sein, dass die zentrale Kompensationsfähigkeit mit dem Alter abnimmt, eine Frage, die es in Zukunft dringend zu klären gilt.

Mit der überschweligen ABR-Wellenmessung ließe sich ein Verlust von hochschweligen Hörnervenfasern mit niedriger Entladungsrate auch im Menschen in Zukunft diagnostizieren. Die adäquate Diagnostik ist die Voraussetzung zur Entwicklung erfolgreicher therapeutischer

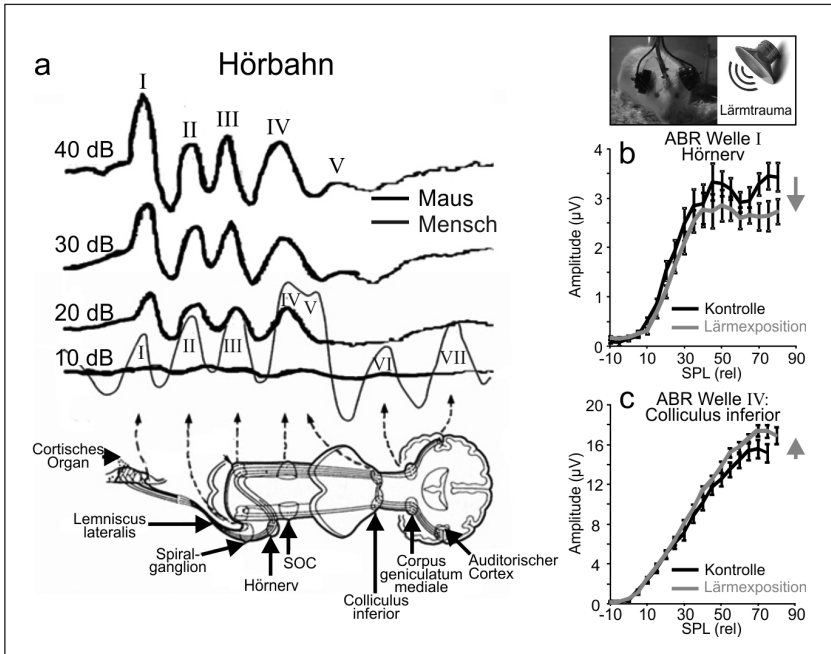


Abb. 5: Zuordnung akustisch evozierter auditorischer Stammhirnantworten und überschwellige Veränderungen nach Verlust hochschwelliger Hörnervfasern. **(a)** Topographische Zuordnung von ABR-Wellen im Menschen (dünne Linie) und in der Maus (dicke Linie) entlang der Hörbahn. **(b, c)** ABR-Welle I **(b)** und IV **(c)** in der Maus vor und nach einer Lärmexposition. Beachte die Kompensation verringerter Hörnervaktivität im zentralen Antwortverhalten.

Maßnahmen zur Behandlung von Sprachverständlichkeitsstörungen bzw. Lautheitsempfindungsstörungen im Alter.

Schlussfolgerung: Durch besondere Empfindlichkeit für exzitationsbedingte Toxizität kommt es nach Lärmexposition oder mit dem Alter zum primären Verlust der hochschwelligen Hörnervenfaser mit niedriger Entladungsrate. Der Verlust dieser Hörnervenfaser kann über zentrale Aktivitätssteigerung kompensiert werden. Ob dies auch im Alter geschieht, bleibt zu klären.

Verlust von empfindlichen Hörnervenfasern mit hoher Entladungsrate: Tinnitus? Emotionale Störungen?

Es sind die niedragschwelligen Hörnervenfasern mit hoher Entladungsrate, die für die Detektionsschwelle leisester Geräusche verantwortlich sind und damit möglicherweise die Schwelle für unser Empfinden von *Stille* determinieren könnten; ein Sachverhalt, den es zu untermauern gilt. Dieser Fasertyp ist bereits in ruhigster Umgebung maximal aktiv (Bharadwaj et al. 2014). Dieser niedragschwellige Hörfasertyp ist viel unempfindlicher gegenüber erregungsbedingter Toxizität als der höherschwellige Hörfasertyp. Dies ist über einen besseren Abtransport von überschüssigem Transmitter (Glutamat) nach Lärmexposition erklärbar. Der bessere Abtransport von überschüssigem Glutamat wird über eine höhere Dichte an *Glutamat-Aspartat-Transporter* (GLAST) in unmittelbarer Nachbarschaft dieses Fasertyps realisiert (Furness and Lawton 2003). Auch wird in diesen Fasern über eine höhere Anzahl an Mitochondrien einem verletzungsbedingtem „Energieversorgungsengpass“ begegnet (Bharadwaj et al. 2014). Diese besseren Protektionsmechanismen dieses Fasertyps machen Sinn, bedenkt man, dass die Hörschwelle im Frequenzbereich des besten Hörens, dem Best-Frequenzbereich (el Barbary 1991; Ohlemiller and Echteler 1990; Taberner and Liberman 2005), in jeder Spezies über diesen Fasertyp definiert wird. Damit bestimmt dieser Fasertyp innerhalb der individuellen Spezies das über die Kommunikation festgelegte Verhalten.

Jüngste humane und tierexperimentelle Studien zeigten, dass Tinnitus kausal wohl mehr mit einer Deafferenzierung von Hörnerven als mit einem Verlust von ÄHZ, wie zuvor angenommen, korreliert ist (Knipper et al. 2012; Knipper et al. 2013; Knipper et al. 2010; Roberts et al. 2010; Weisz et al. 2006). Bisher wurde die Deafferenzierung insbesondere der unempfindlichen Hörnervenfasern mit niedriger Entladungsrate mit Tinnitus in Zusammenhang gebracht (Noreña 2011; Roberts et al. 2010; Schaette and Kempster 2012). Über eine pathologische Kompensation dieses Faserverlustes in den nachgeschalteten Synapsen im Stammhirn (Nucleus cochlearis) wurde eine pathologische kompensatorische zentrale Hyperaktivität erklärt (Noreña and Farley 2013; Schaette and Kempster 2012). Eine solche zentrale pathologische kompensatorische Hyperaktivität könnte sich entlang der Hörbahn bis zum auditorischen

Kortex ausbreiten und dort zur Perzeption des Phantomgeräusches führen (Noreña and Farley 2013; Schaette and Kempter 2012). Eine kompensatorische Hyperaktivität im Nucleus cochlearis, so zeigten die Berechnungen in einem computergeneriertem Modell (Schaette and Kempter 2009), konnten nämlich nur dann erreicht werden, wenn eine kritische Menge an Hörnervenzfasern mit hoher Spontanaktivität erhalten bleibt (Schaette and Kempter 2009). Diese These ließ sich tierexperimentell überprüfen. Eine kompensatorische potenzierende zentrale Hyperaktivität nach einer sensorischen Deprivation kann z. B. über eine Mobilisierung von aktivitätsabhängigen Genen, wie z. B. Arc/Arg3.1, nachgewiesen werden. Diese Mobilisierung von Arc/Arg3.1 geht mit einer langanhaltenden Potenzierung stimulusinduzierter neuronaler Aktivität (englisch: *Long-Term Potentiation*, LTP) einher (Beique et al. 2011; Bramham et al. 2010; Korb and Finkbeiner 2011; Tzingounis and Nicoll 2006). Tatsächlich konnte im auditorischen System nach einem Lärmtrauma und den dadurch bedingten Verlust von Hörnervenzfasern (**Abb. 6a, b**) eine anhaltende erhöhte Expression des aktivitätsabhängigen Gens Arc/Arg3.1 im auditorischen Kortex (**Abb. 6e**), aber auch im limbischen Aufmerksamkeitssystem (Noreña 2011; Noreña and Farley 2013) wie dem Hippocampus und der Amygdala nachgewiesen werden (**Abb. 6f**, Hippocampus). Anders als in vielen Studien bisher angenommen (Roberts et al. 2010; Schaette and Kempter 2012), zeigten jedoch genau die Tiere mit erfolgreicher zentraler Kompensation, demonstriert durch erfolgreiche Anpassung der ABR-Wellen (**Abb. 6c**, kein Tinnitus) und zunehmend höherer Arc/Arg3.1 Expression, keinen Tinnitus (**Abb. 6e, f**, kein Tinnitus). Überschritt der Verlust an stabilen synaptischen Verbindungen von Hörnervenzfasern und IHZ-Synapsen jedoch ein kritisches Ausmaß (**Abb. 6a, b**), scheiterte die zentrale Anpassung. Weder die Amplitude der ABR-Wellen (**Abb. 6c**) konnte sich erholen, noch konnte Arc/Arg3.1 in der aufsteigenden Hörbahn (auditorischer Kortex; **Abb. 6e**) oder auch im Hippocampus mobilisiert werden (**Abb. 6f**). Dieses *Ausbleiben* potenzierender kompensierender Aktivität war im Tier-Verhaltensmodell mit Tinnitus korreliert (**Abb. 6d**). Dieser Befund widersprach bisherigen Beobachtungen und musste daher detaillierter untersucht werden.

Wir erinnerten uns, dass beim Menschen bekannt ist, dass es bei vergleichbarem Hörschaden maximal in 30% der Fälle zum Auftreten

von Tinnitus kommt (Lockwood et al. 1998). Um dieses Phänomen zu simulieren, wurden daher Tiere mit „moderatem“ Lärm exponiert und anschließend jene Tiere, die einen Tinnitus entwickelt hatten mit Hilfe eines Tierverhaltensmodells (Rüttiger et al. 2003) selektiert. Interessanterweise zeigte sich in identisch exponierten Tiergruppen unabhängig von der Lärmexpositionsintensität und der Post-Lärmdauer, dass Tiere, wie beim Menschen beschrieben (Lockwood et al. 1998), nur in circa 30% der Fälle an Tinnitus erkrankten (Rüttiger et al. 2013). Die Tinnitusgruppe (**Abb. 7a, b**, Dreieck) unterscheidet sich in der messbaren Hörschwelle nicht von der Nicht-Tinnitusgruppe (**Abb. 7a, b**, Kreis). Beide Tiergruppen (Tinnitus und Nicht-Tinnitus) unterscheiden sich kaum in der überschwelligeren ABR-Amplitude des Hörnervens (**Abb. 7a**, ABR Welle I). Jedoch bleibt in der Tinnitusgruppe die ABR-Amplitude, die im Mittelhirn (Colliculus inferior) durch akustischen Schall generiert werden kann, verglichen zur Nicht-Tinnitusgruppe, signifikant reduziert (**Abb. 7b**, ABR Welle IV). Auch bleibt in der Tinnitusgruppe eine Mobilisierung von Arc/Arg3.1 im Hippocampus (**Abb. 7c**) und im auditorischen Kortex (**Abb. 7d**) im peripher geschädigten Frequenzbereich nahezu aus (Singer et al. 2013). D. h., Tiere mit Tinnitus unterscheiden sich von Tieren, die keinen Tinnitus generieren, dadurch dass bei ihnen die zentrale Kompensation der peripheren Deprivation verschlechtert ist. Es zeigte sich darüber hinaus, dass ein kritisches Ausmaß der Schädigung von IZH Synapsen (Verlust an Bändersynapsen über 50%; Rüttiger et al. 2013; Singer et al. 2013) das Ausbleiben zentraler Kompensationsfähigkeit und das Auftreten von Tinnitus begünstigt. Damit könnte sich der Verlust der niedrigschwelligeren Hörnervenfasern (circa 60% aller Hörnervenfasern) als charakteristisches Merkmal für das Entstehen von Tinnitus erweisen (Knipper et al. 2013). Über eine Deafferenzierung von Hörnervenfasern mit größerem Durchmesser, ein typisches Kennzeichen dieser niedrigschwelligeren Hörnervenfasern, in Tieren mit Tinnitus (Bauer et al. 2007) fand eine solche Hypothese schon früher Bestätigung. Dieser frühere Befund wurde jedoch in der Fachgesellschaft kaum beachtet.

Schlussfolgerung und Ausblick:

Es lässt sich festhalten, dass das zentrale Nervensystem (ZNS) offenbar über zwei unterschiedliche Mechanismen verfügt auf eine periphere

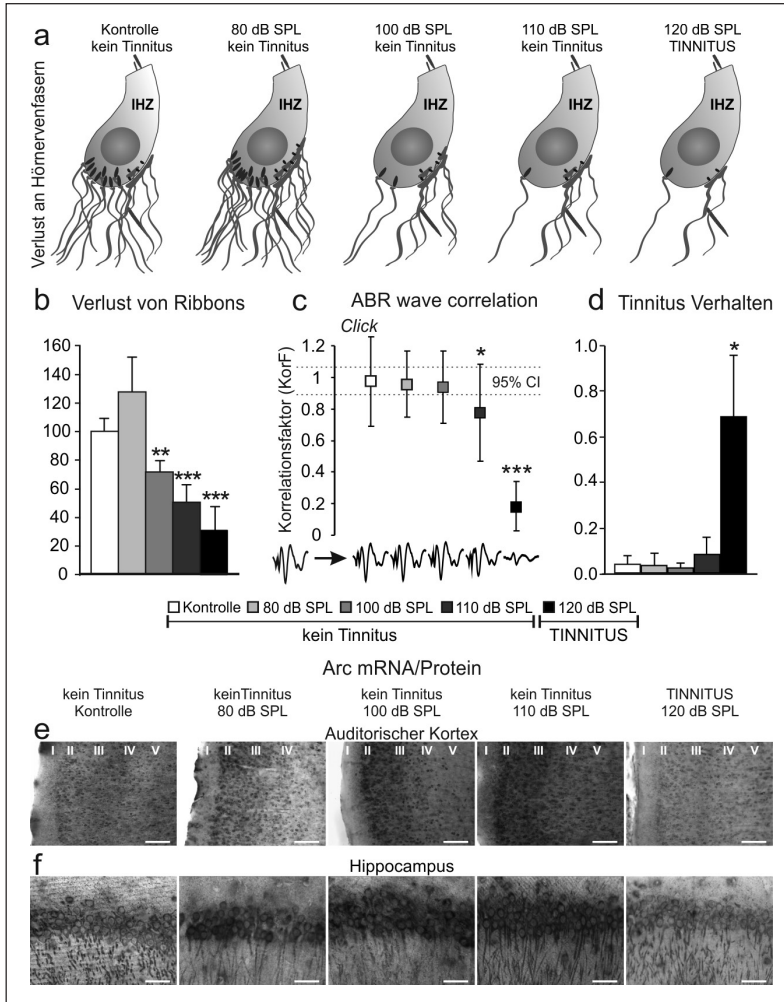


Abb. 6: Adaptives und nicht-adaptives zentrales Antwortverhalten auf zunehmende Deafferenzierung von inneren Haarzellen (IHZ). **(a, b)** Zunehmender Verlust an Bändersynapsen (Ribbons) und Hörnervenfaser nach zunehmendem Lärmtrauma kann bis zu einer kritischen Grenze ohne Entstehung von Tinnitus über höhere zentrale Aktivität, sichtbar in angepassten ABR-Wellen **(c)** und zunehmender Arc/Arg3.1 Expression im auditorischen Kortex **(e)** und Hippocampus **(f)** kompensiert werden (80, 100, 110 dB SPL). Ein kritisches Ausmaß der Deafferenzierung (120 dB SPL) führt zum Ausbleiben der Kompensation und zu Tinnitus **(d)**.

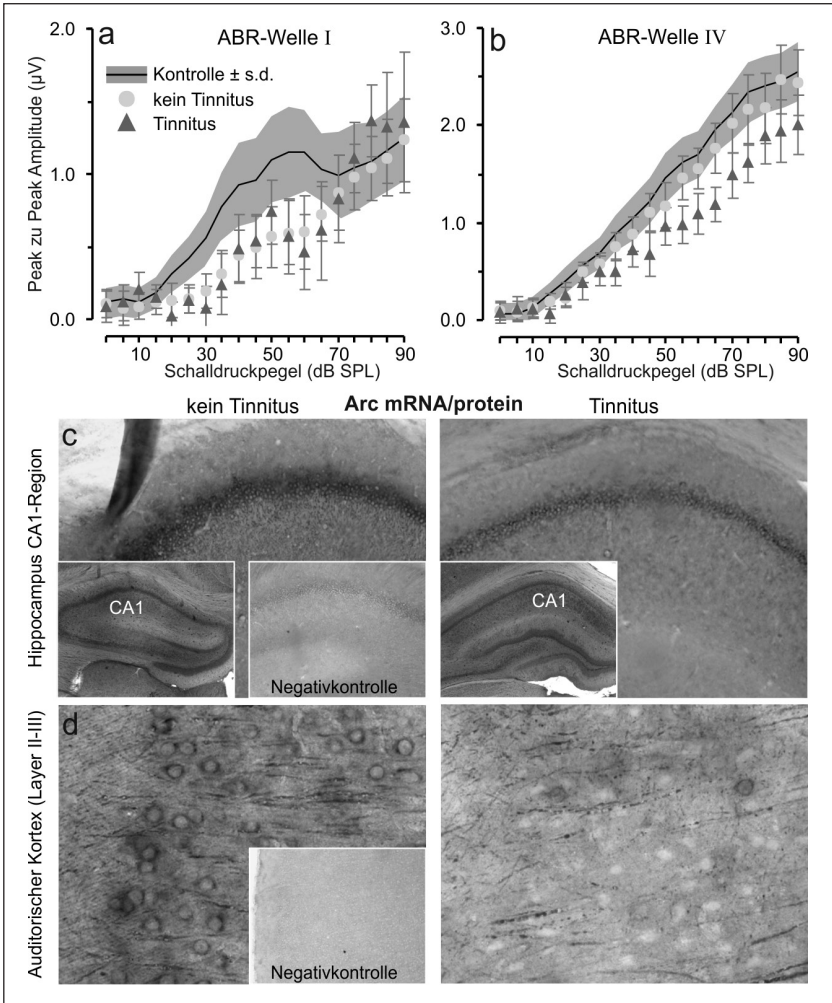


Abb. 7 Identische Lärmexposition kann zu adaptiven (kein Tinnitus) und nicht-adaptiven (Tinnitus) zentralen Antwortverhalten führen. Wachstumsfunktion der akustisch evozierten auditorischen überschwelligeren Amplituden von Stammhirnantworten des Hörnerven (a) und Colliculus inferior (b) zeigen signifikant höhere Amplituden in Tieren ohne Tinnitus als in Tieren mit Tinnitus, korreliert mit höheren (kein Tinnitus) und niedrigen (Tinnitus) Arc/Arg3.1-Spiegeln im Hippocampus (c) und im auditorischen Kortex (d).

Deprivation zu reagieren. Es kann die reduzierte Eingangsaktivität in der aufsteigenden Hörbahn über eine plastische Anpassung kompensieren, oder es kann die reduzierte Eingangsaktivität in der aufsteigenden Hörbahn *nicht* kompensieren. Es ist der Verlust der zentralen Kompensationsfähigkeit, der tierexperimentell zum Verhalten von Tinnitus führt. Nicht die zentrale potenzierende kompensatorische Hyperaktivität ist Tinnitus (wie bisher angenommen), sondern das Ausbleiben eines solchen kompensatorischen Mechanismus (Knipper et al. 2013). Es bleibt auch hier an dieser Stelle die Dringlichkeit der zeitnahen Etablierung diagnostischer Verfahren zur Erkennung des Hörnervenfaserverlustes im Klinikalltag zu unterstreichen. Über die Peak-Analyse von ABR-Wellen ließe sich eventuell nicht nur Hyperakusis sondern auch Tinnitus frequenzabhängig diagnostizieren und damit differenziell therapieren.

Zwei wesentliche Fragen verbleiben: Wie kann es trotz identischer Lärmexposition in einem Fall zu Hörschäden mit Tinnitus, im anderen Fall zu Hörschäden ohne Tinnitus kommen? Wie entsteht der Tinnituston, wenn, wie oben beschrieben, in der zentralen Hörbahn keine kompensatorische Hyperaktivität entsteht? Wir wollen im Folgenden versuchen mögliche Antworten zu beleuchten.

Warum entsteht trotz identischer Lärmexposition nur in wenigen Fällen Tinnitus?

Seit Jahren wird aus klinischen Beobachtungen Stress als Modulator für Tinnitus diskutiert (Jastreboff 2007; Leaver et al. 2011; Meltser et al. 2009; Møller 2003; Puel and Guitton 2007; Zenner et al. 2006). Auch gilt emotionale Erschöpfung ebenso wie Langzeitstress als Risikofaktor für Tinnitus (Canlon et al. 2013; Hasson et al. 2013; Hasson et al. 2011; Hebert et al. 2012; Jastreboff et al. 1996; Simoens and Hébert 2012; Wagenaar et al. 2010; Wallén et al. 2012). Wie Stress die Entstehung von Tinnitus beeinflusst, ist jedoch nach wie vor unklar. Kürzlich konnten tierexperimentelle Beobachtungen einen möglichen ersten direkten Hinweis darauf geben, dass Stress u. a. über die positive oder negative Beeinflussung der Empfindlichkeit der inneren Haarzellsynapse auf die Entstehung von Tinnitus Einfluss nehmen kann (Knipper et al. 2013; Singer et al. 2013). So zeigte sich im Tiermodell, dass bei einem ho-

hen Stressspiegel (hohe Kortikosteron Konzentration im Urin) während des Lärmtraumas ein signifikant höherer Verlust an Hörnervenfasern zu verzeichnen ist als bei einem moderaten Stressspiegel (Singer et al. 2013); unpublizierte eigene Beobachtungen).

Dieser Befund hat zwei wesentliche und weitreichende Konsequenzen für den klinischen Alltag. (1) Der Wirkungsort und das Wirkungsprofil von Glukokortikoiden, die als entzündungshemmende Medikation bei verschiedenen Indikationen im HNO-Bereich eingesetzt werden (z. B. bei idiopathischem Hörsturz oder Cochlear-Implantation), sollten im Zusammenhang mit möglichen Nebenwirkungen (Synaptopathien) neu betrachtet werden. (2) Der Wirkungsmechanismus von Glukokortikoid-Analoga sollte dabei mögliche differentielle Wirkungen von Glucocorticoid-Rezeptor-Isotypen im Innenohr berücksichtigen, die einen möglichen unterschiedlichen Erhalt von Hörnervenfasern bedingen könnten.

Wie entsteht der Tinnituston? (Verlust von Stille)

Zur Perzeption eines Tinnitustons (auditorische Empfindung ohne akustischen Stimulus) muss man von einer kortikalen Aktivitätserhöhung im primären auditorischen Kortex ausgehen. Wie diese „stimulusunabhängige“ Phantomperzeption entsteht ist unklar.

In Computermodellen werden zurzeit zwei gegensätzliche Meinungen diskutiert. Abnormale spontane Aktivität ohne äußeren Ton entsteht im auditorischen Kortex als Folge pathologischer Erhöhung kompensatorischer Aktivität z. B. nach sensorischer Deprivation durch Lärm (Schaette and Kempster 2012). Wie in **Abb. 6** und **Abb. 7** dargestellt und wie oben ausgeführt, wird diese Theorie tierexperimentell eher nicht unterstützt (Knipper et al. 2013). Ein alternatives computergeneriertes Tinnitusmodell zeigt, dass zentrale Kompensation nach Lärmexposition eher mit Hyperakusis korreliert ist, während Tinnitus auf eine Erhöhung des zentralen Rauschens beruht (Zeng 2013). In diesem Modell bleibt die molekulare Quelle für das zentrale Rauschen jedoch unklar (Zeng 2013). Das Ausbleiben einer Mobilisierung von aktivitätsabhängigen Genen wie Arc/Arg3.1 in der aufsteigenden Hörbahn von Tieren mit Tinnitus wie es kürzlich beobachtet wurde (Knipper et al. 2013; Rüttiger et al. 2013; Singer et al. 2013; **Abb. 6, 7**), könnte hier einen möglichen Erklärungsansatz bieten. So

weisen Studien darauf hin, dass als Folge einer Reduktion von Arc/Arg3.1 eine erhöhte basale Entladungsrate von Neuronen entstehen kann (Gao et al. 2010), die mit einer spontanen synchronen (epileptischen) kortikalen Netzwerkaktivität einhergeht (Peebles et al. 2010; Shepherd et al. 2006). Hohe spontane (epileptische) neuronale Aktivität ist ein beobachtetes neuronales Korrelat von Tinnitus im Tiermodell (Eggermont and Roberts 2004; Noreña et al. 2003). Eine Reduktion von Arc/Arg3.1 in deprivierten frequenzspezifischen Regionen des auditorischen Kortex könnte erklären, warum in Tinnituspatienten der Ton gerade in dem deprivierten Frequenzbereich gehört wird (Noreña et al. 2003; Schecklmann et al. 2012). In diesem Frequenzbereich könnte das Grundrauschen erhöht und „gehört“ werden. Neuere Studien weisen darauf hin, dass der niedrigschwellige Hörnerventyp, dessen Verlust mit Tinnitus in Verbindung gebracht wird (Knipper et al. 2013; Rüttiger et al. 2013; Singer et al. 2013), während der Entwicklung, nach Hörfunktionsbeginn die Hörschwelle verbessern könnte (Zucconi et al. 2012). Ein Verlust dieser Hörnervenfaseraktivität nach Lärmtrauma oder unter hohem Stress kann möglicherweise über den Verlust tonischer Inhibition das „Grundrauschen“ (spontane Entladungsrate) im geschädigten Frequenzbereich verursachen. Es kommt zur Verringerung des Signal-Rauschverhältnisses (Knipper et al. 2015). Störungen von Rückkopplungsschleifen, explizit auf diesen niedrigschwelligen Hörnerventyp, sollten bei der Suche nach den Ursachen für Tinnitus mehr Berücksichtigung finden.

Schlussfolgerung und offene Fragen:

Tinnitus und Hyperakusis könnten sich auf Grund neuerer Studien als Krankheitsbilder des auditorischen Systems erweisen, die durch einen differenziellen Verlust von Hörnerventypen mit unterschiedlichen adaptiven bzw. nicht-adaptiven zentralen Antwortverhalten entstehen. Wie es letztlich in der aufsteigenden Hörbahn unter Beteiligung des emotionalen Systems zu adaptiven und nicht-adaptiven neuronalen Antworten kommt, muss weiterhin untersucht werden. Insbesondere gilt es hierbei zu klären, welche Rolle die bei Tinnitus offenbar präferenziell betroffenen hochsensiblen Hörnervenfaser mit hoher Entladungsrate spielen.

Ausblick

Wie oben dargestellt, gibt es in tierexperimentellen Studien konkrete Hinweise für einen direkten Zusammenhang zwischen der selektiven Vulnerabilität von Hörnervenzellfasern mit niedriger Entladungsrate und der Entstehung von Altersschwerhörigkeit. Die Exzitotoxizität der Synapse der inneren Haarzelle und die erhöhte Vulnerabilität von Hörnervenzellfasern mit niedriger Entladungsrate wird durch die niedrigere Dichte an GLAST Protein in unmittelbarer Nachbarschaft dieses Fasertyps und durch die niedrigere Anzahl an Mitochondrien in diesem Fasertyp erklärt (siehe Kapitel „*Verlust von empfindlichen Hörnervenzellfasern mit hoher Entladungsrate: Tinnitus? Emotionale Störungen?*“). Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die hypothetische Beteiligung von Hörnervenzellfasern mit hoher Entladungsrate an der Entstehung von Tinnitus. Die Vulnerabilität dieses Hörnervenzellfasertyps scheint durch die höhere Dichte an GLAST Protein und die höhere Anzahl an Mitochondrien reduziert zu sein und wird möglicherweise auch wie oben ausgeführt durch Stress beeinflusst. Hereditäre Veranlagungen für mitochondriale Funktionsstörungen sowie für Mutationen von Proteinen wie GLAST oder Glukokortikoidrezeptoren, um nur einige Beispiele zu nennen, könnten damit in Zukunft als putative Risikofaktoren von Betroffenen mit Lärmschwerhörigkeit, Altersschwerhörigkeit oder Erkrankungen wie Hyperakusis und Tinnitus in Frage kommen. Schließlich gibt die Beobachtung, dass Stress auf die Vulnerabilität der Synapse der inneren Haarzelle oder auf die Integrität von Hörnervenzellfasern Einfluss nimmt (siehe Kapitel „*Warum entsteht trotz identischer Lärmexposition nur in wenigen Fällen Tinnitus?*“) auch Anlass Hinweise frühkindlicher epigenetischer Beeinflussung der Stressachse (Hoeijmakers et al. 2014; Staneva et al. 2015; Vaiserman 2015) in Zusammenhang mit einer Risikoerhöhung für verschiedene Hördefizite neu zu bewerten.

Wie im Übersichtsartikel von Konings und Kollegen (Konings et al. 2009) und im nachfolgenden Beitrag von Prof. Johann Gross ausgeführt, gibt es mittlerweile eine zunehmende Anzahl an Kandidatengenen, die als Risikofaktoren für Lärm und altersbedingte Hörschäden in Frage kommen (Leibniz-Sozietät der Wissenschaften zu Berlin e.V., Sitzungsberichte 2015). Wie von Prof. Gross ausgeführt, könnte sich in Zukunft ein Schwerhörigkeitstest in Kombination mit der Be-

stimmung von Einzelnukleotid-Polymorphismen (englisch: **S**ingle **N**ucleotide **P**olymorphism, SNP) bei Personen mit Risikofaktoren und entsprechender Familienanamnese als durchaus sinnvoll erweisen. Auch sollte in Zukunft ein besonderes Augenmerk auf die Erweiterung von Präventionsmaßnahmen zur Vermeidung von Risiken für Lärm- und Altersschwerhörigkeit gelegt werden, insbesondere wenn entsprechende genetische Prädispositionen durch die Familienanamnese vorliegen.

Zusammenfassung

Wechselseitige Verbindungen zwischen dem schallverarbeitenden System, dem stressaktivierenden System und dem emotionalen Aufmerksamkeitssystem beeinflussen unsere tägliche Wahrnehmung von Sprache und Musik. Wir nehmen diese komplexen Verbindungen des emotionalen Aufmerksamkeits- und Hörsystems oft erst wahr, wenn sie gestört sind. Wir fassen hier derzeitiges Wissen um die Grundlagen der Wechselwirkungen von Hören, Emotionen und Stimmungen zusammen und beleuchten die Folgen von frühkindlichen oder neonatalen Störungen für die normale Hörentwicklung. Die zukünftige Perspektive einer Aufklärung dieses faszinierenden neuronalen Schaltkreises für ein besseres Verständnis von gesunder und kranker Hirnfunktion wird beleuchtet.

Literatur

- Bauer CA, Brozoski TJ, Myers K (2007) Primary afferent dendrite degeneration as a cause of tinnitus. *J Neurosci Res* 85: 1489–1498
- Beique JC, Na Y, Kuhl D, Worley PF, Huganir RL (2011) Arc-dependent synapse-specific homeostatic plasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 816–821
- Bharadwaj HM, Verhulst S, Shaheen L, Liberman MC, Shinn-Cunningham BG (2014) Cochlear neuropathy and the coding of supra-threshold sound. *Front Syst Neurosci* 8: 26
- Bourien J, Tang Y, Batrel C, Huet A, Lenoir M, Ladrech S, Desmadryl G, Nouvian R, Puel JL, Wang J (2014) Contribution of auditory nerve fibers to compound action potential of the auditory nerve. *J Neurophysiol* 112: 1025–1039

- Bramham CR, Alme MN, Bittins M, Kuipers SD, Nair RR, Pai B, Panja D, Schubert M, Soule J, Tiron A, Wibrand K (2010) The Arc of synaptic memory. *Exp Brain Res* 200: 125–140
- Buran BN, Strenzke N, Neef A, Gundelfinger ED, Moser T, Liberman MC (2010) Onset coding is degraded in auditory nerve fibers from mutant mice lacking synaptic ribbons. *J Neurosci* 30: 7587–7597
- Cai S, Ma WL, Young ED (2009) Encoding intensity in ventral cochlear nucleus following acoustic trauma: implications for loudness recruitment. *J Assoc Res Otolaryngol* 10: 5–22
- Canlon B, Theorell T, Hasson D (2013) Associations between stress and hearing problems in humans. *Hear Res* 295: 9–15
- Eggermont JJ, Roberts LE (2004) The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci* 27: 676–682
- el Barbary A (1991) Auditory nerve of the normal and jaundiced rat. I. Spontaneous discharge rate and cochlear nerve histology. *Hear Res* 54: 75–90
- Furman AC, Kujawa SG, Liberman MC (2013) Noise-induced cochlear neuropathy is selective for fibers with low spontaneous rates. *J Neurophysiol* 110: 577–586
- Furness DN, Lawton DM (2003) Comparative distribution of glutamate transporters and receptors in relation to afferent innervation density in the mammalian cochlea. *J Neurosci* 23: 11296–11304
- Gao M, Sossa K, Song L, Errington L, Cummings L, Hwang H, Kuhl D, Worley P, Lee HK (2010) A specific requirement of Arc/Arg3.1 for visual experience-induced homeostatic synaptic plasticity in mouse primary visual cortex. *J Neurosci* 30: 7168–7178
- Glowatzki E, Fuchs PA (2002) Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nat Neurosci* 5: 147–154
- Glowatzki E, Grant L, Fuchs P (2008) Hair cell afferent synapses. *Curr Opin Neurobiol* 18: 389–395
- Grant L, Yi E, Glowatzki E (2010) Two modes of release shape the postsynaptic response at the inner hair cell ribbon synapse. *J Neurosci* 30:4210–4220
- Hasson D, Theorell T, Bergquist J, Canlon B (2013) Acute stress induces hyperacusis in women with high levels of emotional exhaustion. *PLoS One* 8: e52945
- Hasson D, Theorell T, Wallen MB, Leineweber C, Canlon B (2011) Stress and prevalence of hearing problems in the Swedish working population. *BMC Public Health* 11: 130

- Hebert S, Canlon B, Hasson D (2012) Emotional exhaustion as a predictor of tinnitus. *Psychother Psychosom* 81: 324–326
- Hoeijmakers L, Lucassen PJ, Korosi A (2014) The interplay of early-life stress, nutrition, and immune activation programs adult hippocampal structure and function. *Front Mol Neurosci* 7: 103
- Horowitz SS (2013) *The Universal Sense. How hearing shapes the mind.* Bloomsbury, New York
- Jakawich SK, Nasser HB, Strong MJ, McCartney AJ, Perez AS, Rakesh N, Carruthers CJ, Sutton MA (2010) Local presynaptic activity gates homeostatic changes in presynaptic function driven by dendritic BDNF synthesis. *Neuron* 68: 1143–1158
- Jastreboff PJ (2007) Tinnitus retraining therapy. *Prog Brain Res* 166:415–423
- Jastreboff PJ, Gray WC, Gold SL (1996) Neurophysiological approach to tinnitus patients. *Am J Otol* 17: 236–240
- Jaumann M, Dettling J, Gubelt M, Zimmermann U, Gerling A, Paquet-Durand F, Feil S, Wolpert S, Franz C, Varakina K, Xiong H, Brandt N, Kuhn S, Geisler HS, Rohbock K, Ruth P, Schlossmann J, Hutter J, Sandner P, Feil R, Engel J, Knipper M, Rüttiger L (2012) cGMP-Prkg1 signaling and Pde5 inhibition shelter cochlear hair cells and hearing function. *Nat Med* 18: 252–259
- Knipper M, Müller M, Zimmermann U (2012) Molecular Mechanism of Tinnitus. In: Fay RR, Popper AN, Eggermont JJ (eds) *Springer Handbook of Auditory Research: Neural Correlates of Tinnitus.* Springer, New York, pp 59–82
- Knipper M, Panford-Walsh R, Singer W, Rüttiger L, Zimmermann U (2015) Specific synaptopathies diversify brain responses and hearing disorders. You lose the gain from early life. *Cell Tissue Res* (In Press)
- Knipper M, Van Dijk P, Nunes I, Rüttiger L, Zimmermann U (2013) Advances in the neurobiology of hearing disorders: recent developments regarding the basis of tinnitus and hyperacusis. *Prog Neurobiol* 111: 17–33
- Knipper M, Zimmermann U, Müller M (2010) Molecular aspects of tinnitus. *Hear Res* 266: 60–69
- Konings A, Van Laer L, Van Camp G (2009) Genetic studies on noise-induced hearing loss: a review. *Ear Hear* 30: 151–159
- Korb E, Finkbeiner S (2011) Arc in synaptic plasticity: from gene to behavior. *Trends Neurosci* 34: 591–598

- Kujawa SG, Liberman MC (2009) Adding insult to injury: cochlear nerve degeneration after „temporary“ noise-induced hearing loss. *J Neurosci* 29: 14077–14085
- Leaver AM, Renier L, Chevillet MA, Morgan S, Kim HJ, Rauschecker JP (2011) Dysregulation of limbic and auditory networks in tinnitus. *Neuron* 69: 33–43
- Lin HW, Furman AC, Kujawa SG, Liberman MC (2011) Primary neural degeneration in the Guinea pig cochlea after reversible noise-induced threshold shift. *J Assoc Res Otolaryngol* 12: 605–616
- Lockwood AH, Salvi RJ, Coad ML, Towsley ML, Wack DS, Murphy BW (1998) The functional neuroanatomy of tinnitus: evidence for limbic system links and neural plasticity. *Neurology* 50: 114–120
- McLachlan N, Wilson S (2010) The central role of recognition in auditory perception: a neurobiological model. *Psychol Rev* 117: 175–196
- Melcher JR, Kiang NY (1996) Generators of the brainstem auditory evoked potential in cat. III: Identified cell populations. *Hear Res* 93: 52–71
- Meltser I, Tahera Y, Canlon B (2009) Glucocorticoid receptor and mitogen-activated protein kinases activity after restraint stress and acoustic trauma. *J Neurotrauma* 26: 1835–1845
- Møller AR (2003) Pathophysiology of tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am* 36: 249–266, v–vi
- Moser T, Predoehl F, Starr A (2013) Review of hair cell synapse defects in sensorineural hearing impairment. *Otol Neurotol* 34: 995–1004
- Mulders WH, Robertson D (2009) Hyperactivity in the auditory midbrain after acoustic trauma: dependence on cochlear activity. *Neuroscience* 164: 733–746
- Nelson SB, Turrigiano GG (2008) Strength through diversity. *Neuron* 60: 477–482
- Noreña AJ (2011) An integrative model of tinnitus based on a central gain controlling neural sensitivity. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 1089–1109
- Noreña AJ, Farley BJ (2013) Tinnitus-related neural activity: theories of generation, propagation, and centralization. *Hear Res* 295: 161–171
- Noreña AJ, Tomita M, Eggermont JJ (2003) Neural changes in cat auditory cortex after a transient pure-tone trauma. *J Neurophysiol* 90: 2387–2401
- Ohlemiller KK, Echteler SM (1990) Functional correlates of characteristic frequency in single cochlear nerve fibers of the Mongolian gerbil. *J Comp Physiol A* 167: 329–338

- Peebles CL, Yoo J, Thwin MT, Palop JJ, Noebels JL, Finkbeiner S (2010) Arc regulates spine morphology and maintains network stability in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 18173–18178
- Pienkowski M, Tyler RS, Roncancio ER, Jun HJ, Brozoski T, Dauman N, Coelho CB, Andersson G, Keiner AJ, Cacace AT, Martin N, Moore BC (2014) A review of hyperacusis and future directions: part II. Measurement, mechanisms, and treatment. *Am J Audiol* 23: 420–436
- Puel JL, Guitton MJ (2007) Salicylate-induced tinnitus: molecular mechanisms and modulation by anxiety. *Prog Brain Res* 166: 141–146
- Roberts LE, Eggermont JJ, Caspary DM, Shore SE, Melcher JR, Kaltenbach JA (2010) Ringing ears: the neuroscience of tinnitus. *J Neurosci* 30: 14972–14979
- Rüttiger L, Ciuffani J, Zenner HP, Knipper M (2003) A behavioral paradigm to judge acute sodium salicylate-induced sound experience in rats: a new approach for an animal model on tinnitus. *Hear Res* 180: 39–50
- Rüttiger L, Singer W, Panford-Walsh R, Matsumoto M, Lee SC, Zuccotti A, Zimmermann U, Jaumann M, Rohbock K, Xiong H, Knipper M (2013) The reduced cochlear output and the failure to adapt the central auditory response causes tinnitus in noise exposed rats. *PLoS One* 8: e57247
- Salvi RJ, Wang J, Ding D (2000) Auditory plasticity and hyperactivity following cochlear damage. *Hear Res* 147: 261–274
- Schaette R, Kempter R (2009) Predicting tinnitus pitch from patients' audiograms with a computational model for the development of neuronal hyperactivity. *J Neurophysiol* 101: 3042–3052
- Schaette R, Kempter R (2012) Computational models of neurophysiological correlates of tinnitus. *Front Syst Neurosci* 6: 34
- Schecklmann M, Vielsmeier V, Steffens T, Landgrebe M, Langguth B, Kleinjung T (2012) Relationship between Audiometric slope and tinnitus pitch in tinnitus patients: insights into the mechanisms of tinnitus generation. *PLoS One* 7: e34878
- Sergeyenko Y, Lall K, Liberman MC, Kujawa SG (2013) Age-related cochlear synaptopathy: an early-onset contributor to auditory functional decline. *J Neurosci* 33: 13686–13694
- Shepherd JD, Rumbaugh G, Wu J, Chowdhury S, Plath N, Kuhl D, Huganir RL, Worley PF (2006) Arc/Arg3.1 mediates homeostatic synaptic scaling of AMPA receptors. *Neuron* 52: 475–484

- Simoens VL, Hébert S (2012) Cortisol suppression and hearing thresholds in tinnitus after low-dose dexamethasone challenge. *BMC Ear Nose Throat Disord* 12: 4
- Singer W, Zuccotti A, Jaumann M, Lee SC, Panford-Walsh R, Xiong H, Zimmermann U, Franz C, Geisler HS, Köpschall I, Rohbock K, Varakina K, Verpoorten S, Reinbothe T, Schimmang T, Rüttiger L, Knipper M (2013) Noise-induced inner hair cell ribbon loss disturbs central arc mobilization: a novel molecular paradigm for understanding tinnitus. *Mol Neurobiol* 47: 261–279
- Staneva A, Bogossian F, Pritchard M, Wittkowski A (2015) The effects of maternal depression, anxiety, and perceived stress during pregnancy on pre-term birth: A systematic review. *Women Birth* [Epub ahead of print]
- Taberner AM, Liberman MC (2005) Response properties of single auditory nerve fibers in the mouse. *J Neurophysiol* 93: 557–569
- Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5: 97–107
- Tzingounis AV, Nicoll RA (2006) Arc/Arg3.1: linking gene expression to synaptic plasticity and memory. *Neuron* 52: 403–407
- Vaiserman AM (2015) Epigenetic programming by early-life stress: Evidence from human populations. *Dev Dyn* 244: 254–265
- Wagenaar O, Wieringa M, Verschuure H (2010) A cognitive model of tinnitus and hyperacusis; a clinical tool for patient information, appeasement and assessment. *Int Tinnitus J* 16: 66–72
- Wallén MB, Hasson D, Theorell T, Canlon B (2012) The correlation between the hyperacusis questionnaire and uncomfortable loudness levels is dependent on emotional exhaustion. *Int J Audiol* 51: 722–729
- Wang H, Holmberg M, Hemmert W (2006) Auditory Information Coding by Cochlear Nucleus Onset Neurons. *IEEE ICASSP – International Conference on Acoustics and Signal Processing*, vol 5, pp 129–132
- Weisz N, Hartmann T, Dohrmann K, Schlee W, Noreña A (2006) High-frequency tinnitus without hearing loss does not mean absence of deafferentation. *Hear Res* 222: 108–114
- Yates GK (1991) Auditory-nerve spontaneous rates vary predictably with threshold. *Hear Res* 57: 57–62
- Zeng FG (2013) An active loudness model suggesting tinnitus as increased central noise and hyperacusis as increased nonlinear gain. *Hear Res* 295: 172–179

- Zenner HP, Pfister M, Birbaumer N (2006) Tinnitus sensitization: Sensory and psychophysiological aspects of a new pathway of acquired centralization of chronic tinnitus. *Otol Neurotol* 27: 1054–1063
- Zuccotti A, Kuhn S, Johnson SL, Franz C, Singer W, Hecker D, Geisler HS, Köpschall I, Rohbock K, Gutsche K, Dlugaiczyk J, Schick B, Marcotti W, Rüttiger L, Schimmang T, Knipper M (2012) Lack of brain-derived neurotrophic factor hampers inner hair cell synapse physiology, but protects against noise-induced hearing loss. *J Neurosci* 32: 8545–8553

Der Artikel ist eine leicht veränderte Fassung eines Vortrages auf der Leopoldina-Jahresversammlung zum Thema „Wahrnehmen und Steuern. Sensorsysteme in Biologie und Technik“ vom 19. bis 21. September 2014 in Rostock, der als Original-Manuskript in den *Nova Acta Leopoldina* Bd. 122, Nr. 410 (2015) erscheint. Mit freundlicher Genehmigung der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften.

Johann Gross

SNP-Analyse und individuelles Risiko für erworbene Schwerhörigkeit (Alters-, Lärm- und Medikamenten bedingte Schwerhörigkeit)

1. Einleitung

Das menschliche Genom weist eine erhebliche Variabilität auf; diese Variabilität ist Grundlage für die molekulare und biochemische Einzigartigkeit von Individuen. Die Variabilität von Individuum zu Individuum existiert auf allen Ebenen der biologischen Organisation wie DNS, RNS, Proteine, Regulation von Proteinaktivitäten und Zell-Zell-Interaktionen. Gegenstand der „personalisierten Medizin“ von heute ist die Frage, inwieweit die molekulare und biochemische Individualität in Verbindung steht mit der Disposition für Erkrankungen und die Ansprechbarkeit auf Medikamente. Die Identifikation von individuellen Genvarianten kann sowohl für die Diagnose als auch die Therapie und die Prävention von Erkrankungen genutzt werden. Von aktueller Bedeutung ist die Frage, ob die Bestimmung genetischer Varianten aus der Gruppe der häufigen Einzel Nukleotid Polymorphismen (SNP, single nucleotide polymorphism) geeignet ist, das individuelle Risiko für komplexe Erkrankungen, z. B. eine erworbene Schwerhörigkeit (ESH), zu ermitteln. Da eine Schwerhörigkeit (SH) eine signifikante Einschränkung der Lebensqualität in der sozialen, familiären und beruflichen Umgebung darstellt^[17], gewinnt die Prävention an Bedeutung. Durch Beeinflussung der Umweltfaktoren und die Änderung des Lebensstils kann der Entstehung einer SH vorgebeugt werden. Wenn eine SH eingetreten ist, ist diese in der Regel irreversibel.

Ziel dieses Beitrages ist es, die Herangehensweise, die bisherigen Fortschritte und die Möglichkeiten der individualisierten Medizin für die Prävention von ESH vorzustellen. Drei Formen der ESH werden be-

handelt: Alters-bedingte (ASH; engl. age related hearing loss, ARHL), Lärm-induzierte (LISH; engl. noise-induced hearing loss, NIHL) und Medikamenten-induzierte SH.

2. Assoziationsstudien

Die Analyse des potentiellen Risikos von Gen-Varianten für die Entwicklung einer ESH in größeren Bevölkerungsgruppen erfolgt über „Assoziations-Studien“. Bei Assoziations-Studien wird nach einer Korrelation zwischen dem Polymorphismus im Genotypus und dem Polymorphismus im Phänotypus gesucht. Man unterscheidet zwei Arten von Assoziations-Studien: a) Studien, die Genvarianten im gesamten Genom untersuchen (GWAS; Genom-weite Assoziations-Studien); b.) Studien, die Genvarianten nur in bestimmten „Kandidatengenen“ untersuchen. Im Gegensatz zu Familienanalysen, die in der Regel eindeutige Erkenntnisse über monogenetisch bedingte Erkrankungen liefern, sind die Ergebnisse von Assoziations-Studien stärker abhängig von der untersuchten Population. Eine Beziehung zwischen einer SNP-Variante und einer ESH gilt daher erst dann als gesichert, wenn diese Beziehung in anderen Populationen bestätigt wurde. Bisher sind nur wenige GWAS durchgeführt worden, da der Aufwand sehr groß ist. Eine Alternative für Human-Studien zum Einfluss von Gen-Polymorphismen auf ESH sind GWAS-Studien an Mäusen^[29].

Die Auswahl von Kandidatengenen für Assoziations-Studien ist kompliziert, da bei der komplexen Struktur des Hörorgans und der Vielzahl von Faktoren, die die Entwicklung einer ESH fördern, viele Gene in Betracht kommen. Die Auswahl geeigneter Kandidaten-Gene für klinische Untersuchungen erfolgt bisher a) auf der Grundlage von Kenntnissen über erbliche SH oder b.) über die Funktion einzelner Proteine oder Enzyme für die Pathobiochemie der jeweiligen Form der ESH. Es sind etwa 140 vererbare Formen der SH bekannt, bei denen die Variation in einem einzigen Gen notwendig und ausreichend für die Entstehung einer SH ist. Diese Formen der SH werden nach den Mendelschen Gesetzen vererbt und werden als Mutationen bezeichnet. Diese sind im Internet (<http://hereditaryhearingloss.org>) auffindbar. Da die molekularen und biochemischen Mechanismen der Entstehung von ESH z. T. unbekannt sind, ist die Auswahl von

relevanten Kandidatengen aus der Gruppe der Mechanismus-Gene komplizierter.

2.1 Altersbedingte Schwerhörigkeit (ASH)

Vorkommen

ASH oder Presbycusis zeigt eine Erblichkeit von etwa 25–75%, d.h. genetische Faktoren sind an der Entwicklung der Krankheit beteiligt^[14, 24, 26, 40]. Zugleich ist die ASH von zahlreichen Umweltfaktoren abhängig wie Lärm, ototoxische Substanzen, Chemikalien, Rauchen und Alkohol-Abusus. Dazu kommen noch Einflüsse durch Erkrankungen wie Diabetes, Herz-, Kreislauf- und Nieren- Erkrankungen. Männer neigen stärker zu ASH als Frauen. Das scheint mit Umweltfaktoren, aber auch hormonellen Faktoren zusammen zu hängen; Östrogene scheinen schützend auf das Hörorgan zu wirken. Im Kontext mit der zunehmenden Lebenserwartung der Menschen, gewinnt die Vorbeugung von ASH eine große Bedeutung da SH besonders im Alter zu sozialer Isolierung, Depression und reduzierter physischer und kognitiver Aktivität führt^[13].

Kandidatengene

ASH ist eine bilaterale SH, bei 10–30% der Personen über 60 Jahre erreicht sie Krankheitswert. Es werden vier verschiedene Formen unterschieden: sensorische (d. h. Haarzellen sterben und werden nicht ersetzt), metabolische (Beeinträchtigung der Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nahrungsstoffen über die Stria vascularis), neurale (Degeneration von Neuronen der Spiralganglien) und mechanische (Basalmembran und Stereozilien). **Abb. 1** zeigt die Schwellenverschiebung bei verschiedenen Formen der ASH. Die sensorische Form ist gekennzeichnet durch eine starke Schwellenverschiebung jenseits der Frequenz von drei kHz, d. h. Haarzellen, die für die Reizaufnahme von hohen Frequenzen verantwortlich sind, fehlen. Dieses Muster stimmt z.T. mit dem von LISH überein. Im vorliegenden Fall sind besonders Haarzellen betroffen, die auf Frequenzen von etwa 4 kHz reagieren. Bei der metabolischen und der neuralen Form der ASH sind sowohl hochfrequente als auch niederfrequente Regionen der Cochlea betroffen.

Die bloße Existenz der verschiedenen Formen der ASH weist darauf hin, dass mit einer Vielzahl von Kandidatengen zu rechnen ist^[5, 31, 39].

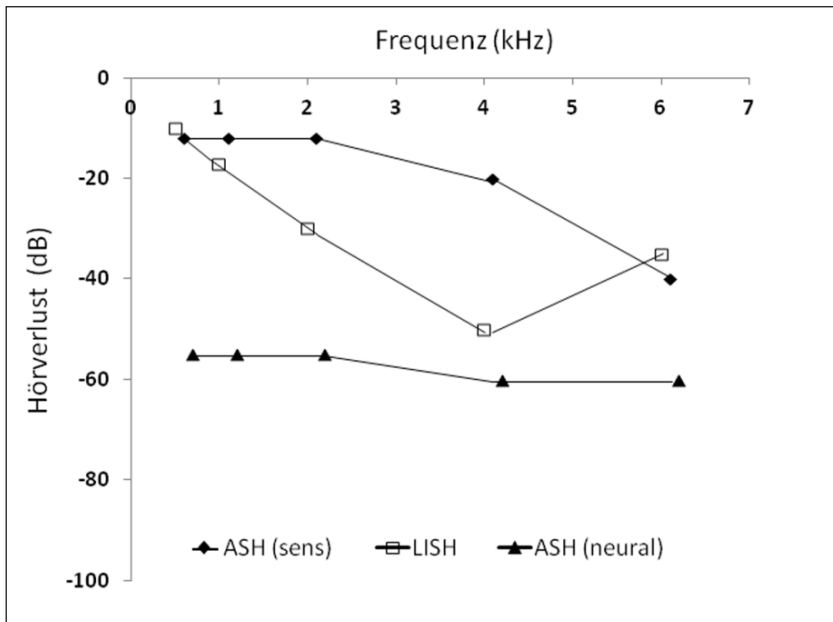


Abb. 1: Typische Verschiebung der Hörschwelle bei verschiedenen Frequenzen bei Patienten mit einer Altersschwerhörigkeit (ASH) und einer Lärm induzierten Schwerhörigkeit (LISH). Zahlen geschätzt aus Konings et al. (2009)^[17].

Studien weisen drauf hin, dass die Produktion reaktiver Sauerstoffspecies und eine eingeschränkte antioxidative Funktion das Altern der Cochlea und damit ihren Funktionsverlust fördern. Bei Labormäusen kann eine kalorische Begrenzung oder die Substitution mit Antioxidantien die ASH vermindern^[8]. Da Glutamat ein wichtiger Neurotransmitter im Innenohr ist und dieser an der Schädigung von Haarzellen und Spiralneuronen beteiligt ist, sind Kandidaten-Gene dieses Systems von Interesse^[7, 38]. Mausmodelle deuten auf mehr als 20 Gene hin, die zu ASH führen können, darunter Cadherin 23 (Cdh23), einem Bestandteil der Stereozilien, Glutathion Peroxydase (Gpx1), Superoxyd Dismutase (Sod1) und Plasma Membran Calcium ATPase 2 (PMCA)^[5]. Es ist sehr schwierig, reine genetische Einflüsse von Umwelt-Effekten zu trennen. Eine kürzlich veröffentlichte Zwillingsstudie weist drauf hin, dass für

die Entwicklung einer ASH Umweltfaktoren eine größere Bedeutung haben als genetische Faktoren^[3].

Ausgewählte SNP-Varianten

Auf der Grundlage von GWAS Studien wurde eine Liste von 683 SNPs erarbeitet, die eine signifikante Beziehung zum physiologischen Prozess des Hörens haben, hiervon wurden bisher für klinische Assoziations-Studien 12 SNPs ausgewählt^[9, 10]; hiervon zeigt **Tab. 1** drei SNP-Varianten, die eine Assoziation zu ASH aufweisen.

Tab. 1: SNP-Varianten mit signifikanten Beziehungen zur Entwicklung einer ASH.

| Gen/SNP | Untersuchte Population | Risiko für Entwicklung einer ASH | Literatur |
|---|--|---|--|
| <i>GRM7</i> ; rs11928865 TTCAA A T TGCCC NM_000844.3:c.520-32437T>A | 3434 Personen aus 6 europäischen Zentren | Erhöhtes Risiko | Friedmann et al. (2009) ^[7] |
| | Han-Chinesen; 982 Männer mit ASH und 324 Probanden ohne Hörverlust | Erhöhtes Risiko; OR = 1.599 (1.229 - 2.081) | Luo et al. (2013) ^[24] |
| <i>GRHL2</i> ; rs10955255 AGCAT A G AAGTG NM_024915.3:c.21-19064A>G | 2418 Probanden aus 9 europ. Zentren | Erhöhtes Risiko für Männer; OR = 1.56 (1.10 - 2.21) | Van Laer et al. (2008) ^[40] |
| <i>SOD2</i> ; rs5746092 CTCCC C G GCGCT NM_000636.2:c.-112C>G | 679 Patienten mit ASH und 488 gesunde Probanden (beide Varianten sind in der Promoterregion lokalisiert) | Erhöhtes Risiko; OR = 1.35 (1.05 - 1.73) | Nolan et al., (2013) ^[27] |

OR – Odds Ratio. In Klammern 95% CI (Confidence-Interval). Vergleiche auch Legende von Tab. 2.

GRM7: Die SNP-Variante rs11928865 des GRM7 (metabotropic glutamate receptor type 7) Gens erwies sich in einer GWAS als eine Variante mit signifikanter Assoziation für die Entwicklung einer ASH^[7]. Es handelt sich bei GRM7 um ein Protein-kodierendes Gen, das funktionell in Beziehung zur Aktivität von spannungsabhängigen Calcium-Kanälen an Synapsen steht. Damit ist das Gen ein Beispiel für ein Kandidatengen aus der Gruppe der pathobiochemisch mit ASH assoziierten Gene. Histochemische Untersuchungen zeigten, dass das GRM7 Gen in Haarzellen und Spiralganglien exprimiert wird. Ursache für die Assoziation könnte eine erhöhte Glutamat-Freisetzung und Excitotoxizität sein.

Am Beispiel dieser Variante soll die Nomenklatur von SNP-Varianten und ihre Beschreibung in der SNP- und OMIM- Datenbank illustriert werden (**Tab.2**). *GRM7* SNP *rs11928865* befindet sich auf Chromosom 3, es handelt sich um eine Basenveränderung im Intron2, d. h. die Aminosäure –Sequenz von *GRM7* ist nicht verändert. Die globale MAF (Minor Allele Frequency) beträgt 0.26. In der SNP-Datenbank wird unter *Validated* ein Hinweis auf die Qualitätskontrolle gegeben. Unter *HGVS* (*Human Genome Variation Society*) werden Links zu Datenbanken angeboten (z. B. „NC...g.. T>A“, komplettes Gen mit dem Hinweis, dass A durch ein T ersetzt ist; „NM.. c...T>A“ enthält die Sequenz der mRNA mit dem Hinweis, dass A durch ein T ersetzt ist). Bei Genvarianten im Exon findet man noch Angaben zur Auswirkung auf das entsprechende Protein, z. B. „NP...p...Val16Ala“, d. h. Alanin ist durch Valin ersetzt, s. **Tab. 4**). Weiter werden Links zu den Datenbanken *PubMed*, *Varview* (Varianten auf dem Chromosom) und *OMIM* angeboten mit umfangreichen Informationen über das Gen, z. B. *Gene summaries*, *Genetic tests* (mit Hinweisen zur Diagnostik, einschließlich der Laboratorien, die die Diagnostik durchführen) und *Medical literature*.

Tab. 2: Charakterisierung von *GRM7* SNP *rs11928865* in der SNP und OMIM Datenbank

| |
|---|
| <p>(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/) TGAACAGATATTTATCTGATTCAA[A/T]TGCCTAAATACAGCTACTATGCAT Chromosome:3:7114015 Gene:GRM7 (GeneView) Functional Consequence: intron variant Validated:by 1000G,by 2hit 2allele,by cluster,by frequency,by hapmap Global MAF: A=0.2564/1284 ¹HGVS:NC_000003.11:g.7155702T>A, NC_000003.12:g.7114015T>A, NG_029781.1:g.257901T>A, NM_000844.3:c.520-32437T>A, NM_181874.2:c.520-32437T>A, XM_005265095.1:c.520-32437T>A, XM_005265095.2:c.520-32437T>A PubMed, OMIM</p> |
| <p>(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/) ²OMIM 612976; AGE-RELATED HEARING IMPAIRMENT 2; ARH12; Cytogenetic location:3p26.1-p25.1; Genomic coordinates (GRCh37):3:4,000,000-16,400,000 Gene summaries; Genetic tests, Medical literature</p> |

Kennzeichnung der Varianten entsprechend der Nomenklatur der Human Genome Variation Society (HGVS)[28]:

¹ *Genbank Nummer mit folgenden Informationen: c oder g - codierende oder genomische DNS; das Zeichen > bedeutet Veränderung, hier Nucleotid A anstelle von T.*

² *OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) ist eine Datenbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>), die umfangreiche Informationen über humane Gene, deren Varianten und die Auswirkungen auf den Phänotyp enthält.*

Die Assoziation zwischen GRM7-Varianten und ASH wurde in mehreren Studien untersucht^[7, 24, 26] (**Tab. 1**). In einer Studie zeigte sich, dass Männer und Frauen eine unterschiedliche Empfindlichkeit auf ASH in Abhängigkeit vom GRM7 Genotyp aufweisen^[26]. Es wird über eine Interaktion von Sexualhormonen und synaptischer Aktivität der Glutamat Signal-Übertragung spekuliert. In einer anderen repetitiven Studie wurde die Assoziation zwischen dieser Variante (SNP *rs11928865* Allel, **Tab. 1**) auf die ASH in einer chinesischen Population untersucht^[24]. Bei einem globalen Vergleich wurde in dieser Studie kein Unterschied in der ASH- und einer normalhörenden Population gefunden. Eine genauere Untersuchung (statistische Elimination aller nicht-genetischen Faktoren) zeigte, dass *GRM7* SNP *rs11928865* (A>T) verbunden ist mit einem Hörverlust, $p = 0.000472$, OR = 1.599. Verschiedene Audiogramm-Subtypen korrelierten signifikant mit dem Vorkommen des TT-Genotyps von SNP *rs11928865*.

GRHL2: GRHL2 (Grainy head like 2; auch TFCEP2L3; transcription factor cellular promoter 2-like 3) ist ein Beispiel für ein Kandidatengen aus der Gruppe der Gene, die zu einem monogenetisch bedingten, nicht-syndromalen Hörverlust führen. Ursache für diese autosomal dominante SH sind zwei Mutationen des GRHL2 Gens^[41] [DFNA28; OMIM: 608641]. GRHL2 ist ein Transkriptionsfaktor, der in verschiedenen Epithelzellen exprimiert wird und eine Rolle in der embryonalen Entwicklung spielt. Der Transkriptionsfaktor steuert die Morphogenese des Innenohres und spielt eine Rolle in der embryonalen Entwicklung^[36]. Im Erwachsenenalter ist GRHL2 in Reparaturprozesse der epithelialen Barriere involviert^[30].

Van Laer et al. (2008)^[40] untersuchten in einer Assoziations-Studie 2418 ASH Proben aus neun verschiedenen europäischen Zentren. Insgesamt wurden 70 Kandidaten-Gene und 768 SNPs untersucht, darunter GRHL2. Als signifikant erwies sich die GRHL2-SNP Variante *rs10955255*; Träger dieser SNP-Variante zeigten ein höheres Risiko für eine ASH als Probanden ohne diese SNP (OR von 1.02- 1.76). Chinesische Autoren^[22] prüften den Einfluss dieser SNP-Variante in einer Han Population von 310 Probanden mit einer ASH und 308 Kontrollen und konnten keinen Einfluss dieses Polymorphismus nachweisen. Im Gegenteil, das A-Allel des GRHL2 *rs10955255* zeigte eher eine Tendenz zur Protektion.

SOD2: Dem in Mitochondrien produzierten Superoxyd-Radikal, das durch die mitochondriale Superoxid Dismutase SOD2 eliminiert wird, kommt offensichtlich eine besondere Bedeutung für die Schädigung äußerer Haarzellen zu^[20]. Daher gingen Nolan et al. (2013)^[27] davon aus, dass eine veränderte Regulation des Promoters von SOD2 durch Transkriptionsfaktoren (TF) einen Einfluss auf die ASH haben könnte. Zunächst untersuchten sie in einem Zellmodell (OC-2, Zellen des Innenohres) die Bindung von verschiedenen TF an die entsprechende Varianten des Promoters. Danach wurde in einer Kohorte einer Londoner Population (2177 Probanden) nach jenen Varianten gesucht, die einen Einfluss auf die Bindungsfähigkeit von TF hatten. Die SNP-Varianten von *rs5746092* und *rs2758343* veränderten die Affinität des SOD2 Promoters zu den TF *AP-2a* und *SPI*. In der Londoner Kohorte zeigte sich eine signifikante Beziehung zwischen *rs5746092* und ASH. Der Effekt war besonders bei Männern ausgeprägt und war unabhängig von einer LISH.

Sehr ernüchternd waren die Ergebnisse einer kürzlich durchgeführten GWAS; sie erbrachte keine signifikanten Beziehungen zwischen SNPs und ASH^[6]. Varianten, die in früheren Studien als signifikant identifiziert wurden, konnten nicht bestätigt werden. Die Autoren schlussfolgern, dass die ASH ausgesprochen polygen determiniert ist, ohne dass spezifische Gene involviert sind. Der Phänotyp ist das Resultat einer Vielzahl von SNPs, bei der einzelnen Person ist ein Effekt nicht nachweisbar.

2.2 Lärm induzierte Schwerhörigkeit (LISH)

Vorkommen

Konings et al.^[17] haben in einer Übersichtsarbeit die epidemiologische Bedeutung, die grundlegenden Mechanismen der Entstehung von LISH und potentielle Möglichkeiten einer Prävention zusammengefasst. LISH ist eine komplexe Erkrankung, die unter dem Einfluss von Umwelt- und genetischen Faktoren entsteht. Hinsichtlich der Häufigkeit nimmt sie den zweiten Platz nach der ASH ein. Neben Lärm sind wichtige zusätzliche Umweltfaktoren für die Entstehung von LISH verantwortlich, z. B. Chemikalien (organische Lösungsmittel, ototoxische Substanzen), Hitzeeinwirkung, Rauchen, aber auch medizinische Faktoren wie Bluthochdruck und der Lipidstatus.

LISH ist häufig eine berufsbedingte Erkrankung; sie ist Folge der Industrialisierung. Etwa 20% der Arbeiter Europas sind während ihrer Berufstätigkeit starkem Lärm ausgesetzt. Neben Industrielärm stellt der Freizeitlärm (laute Musik, vor allem von jungen Leuten, aber auch Straßenverkehr und Flugverkehr) eine Hauptursache für LISH dar. Auch die Gruppe der Berufsmusiker ist gefährdet. Wichtiges Kennzeichen der LISH ist der Hörverlust bei hohen Frequenzen^[17] (**Abb. 1**).

Die Vermeidung von Lärm ist die beste und wichtigste Methode zur Vorbeugung von LISH. Hierzu existieren im Rahmen des Arbeitsschutzes zahlreiche Vorschriften zur Lärmvermeidung. Wenn Lärm aber nicht vermieden werden kann, sollten Betroffene unbedingt Maßnahmen zum persönlichen Lärmschutz ergreifen (z.B. Gehörschutzstöpsel, Kapselgehörschützer). Die Kenntnis des individuellen (d.h. genetischen) Risikos für die Entwicklung einer LISH könnte eine zusätzliche Motivation für die konsequente Lärmvermeidung bzw. für die Nutzung eines spezifischen Lärmschutzes sein.

Kandidatengene

Bei Lärm werden Haarzellen kontinuierlich aktiviert, diese Daueraktivierung ist eine hohe metabolische und mechanische Belastung der Haarzellen und ist verbunden mit einer intermittierenden Hypoxie, der Aktivierung der Atmungskette in den Mitochondrien, einer Imbalanz zwischen HIF-1 und HIF-2 alpha Aktivierung und einer verstärkten ROS-Bildung^[32]. Weitere Mechanismen, die zum Haarzell-Tod führen können, sind die Aktivierung von mechano-elektrischen Transduktionskanälen, der erhöhte Einstrom von Ca^{++} Ionen in die Haarzellen, die mechanische Schädigung der Stereocilien, die veränderte Bildung von Stressproteinen bis hin zur Aktivierung von Apoptose-Genen und damit Zelltod (vor allem der äußeren Haarzellen^[11, 12]). Bisher konnten nur wenige Varianten identifiziert werden, die eine signifikante Assoziation von Lärmbelastung und Entwicklung einer LISH zeigen^[15, 16, 37]. Von 27 Genen, die den Mechanismen Oxydativer Stress, Aktivität von Ionenkanälen und Stressproteine zuzuordnen sind, zeigten 9 SNPs (Varianten der Gene Superoxid Dismutase 2/SOD2, Katalase/CAT, Glutathion-S-Transferase/GSTM1, Paraoxonase-2/PON2, Potassium channel, voltage-gated /KCNQ1, KCNQ4, KCNE1, Heat shock 70 kD protein/HSP70, Protocadherin/PCDH15 und Myosin, heavy chain 14/MYH14) eine signifikante Assoziation zu LISH.

Ausgewählte SNP Varianten

SOD2: Da bei Lärm vor allem äußere Haarzellen absterben und hierfür Superoxyd Radikale von besonderer Bedeutung sind, ist die mitochondriale Superoxid Dismutase (SOD2) ein wichtiges Kandidatengen (**Tab. 3**)^[20]. Liu et al. (2010)^[23] wählten aus 2400 Fabrikarbeitern, die Lärm ausgesetzt waren, die 10 % der resistentesten Probanden (normales Hörvermögen) und 10 % der Probanden mit der stärksten Schwerhörigkeit aus. Der Lärm wurde entsprechend des internationalen Standard ISO1999 in drei Kategorien eingeteilt: <85 dB (A), 86–91 dB (A), >92 dB (A) (8 h, 5 Tage pro Woche). Kriterium für das Hörvermögen war der Verlust der Hörschwelle im linken Ohr bei einer Frequenz von 3 kHz. Von fünf genauer untersuchten SNPs zeigte nur SOD2-SNP *rs4880* eine signifikante Assoziation zu LISH mit einer ODDS-Ratio von 2.2; die Wahrscheinlichkeit, unter diesen Bedingungen eine SH zu entwickeln beträgt etwa 70%. In **Tab. 3** sind vier weitere SNP-Varianten genannt, die mit einem erhöhten Risiko von LISH assoziiert sind. LISH bei Katalase-Varianten (CAT) könnten mit einer Störung im Redox-System zusammenhängen, ähnlich wie SOD2. Das CDH (Cadherin) Gen kodiert ein Zell-Zell-Adhäsions-Glykoprotein in den Haarzellen und ist wichtig für die Bildung von Stereocilien und tip-Links. Mutationen führen bei der Maus zur SH^[18]. Das erhöhte Risiko für LISH vor allem bei Impulslärm lässt sich aus der Funktion des Proteins für das Hören gut erklären. Hitze Schock Proteine (HSP) werden ubiquitär exprimiert^[15]. Sie haben eine Chaperon-Funktion, d. h. sie wirken mit bei der Synthese, der Faltung, der Anordnung und dem intrazellulären Transport von Proteinen. Bei Stress, Ischämie und ototoxischen Substanzen wird eine erhöhte Expression gefunden.

Neben den in **Tab. 3** genannten SNPs können weitere Gene und Varianten mit der Entwicklung einer LISH verbunden sein. Rabinowitz et al. (2002)^[34] berichten, dass der Polymorphismus von Glutathion-S-transferase (GSTM1 und GSST1) ein Risiko für die Entwicklung einer LISH darstellt; Wang et al. (2014)^[42] berichten, dass bestimmte Allele und Genotypen von insgesamt 8 SNPs, die den Genen CDH23, GSTP1 (Glutathione S-transferase P), GJB2 (Gap junction beta-2 protein), PMCA2 und CAT zuzuordnen sind, ein signifikant höheres Risiko aufweisen, nach Lärm-Exposition eine LISH zu entwickeln.

Tab. 3: SNP Varianten mit signifikanten Beziehungen zwischen Lärmexposition und Entwicklung einer LISH

| Gen/SNP | Lärmexposition (LE) /untersuchte Population | Risiko für Entwicklung einer LISH | Literatur |
|---|--|--|--|
| <i>SOD2</i> ; rs4880 TCCGG[C/T]TTTGG NM_001024466.1:c.47T>C | Arbeitslärm (ISO1999); 2400 bzw. 611 chinesische Probanden; Vergleich von L-resistenten und L-sensitiven Probanden | Höheres Risiko; OR 2.18 (1.34–3.54), $P = 0.002$ für Probanden mit dem Genotyp CT | Liu et al.(2010) ^[23] |
| <i>CAT</i> ; rs494024 AAACC[A/G]TAAAG NM_001752.3:c.66+4122T>C <i>CAT</i> ; rs475043 AAGTT[A/G]GGGCA NM_001752.3:c.*821C>T | 1261 schwedische und 4500 polnische Arbeiter mit LE; Vergleich von L-resistenten und L-sensitiven Probanden | Höheres Risiko (aber nur, wenn Grad der LE berücksichtigt wird) | Konings et al. (2007) ^[16] |
| <i>CDH23</i> ; rs3752752 TTGTC[A/G]TTGATG NM_001171930.1:c.2316T>C | 3860 Arbeiter mit LE; Vergleich von L-resistenten und L-sensitiven Probanden | Höheres Risiko (höheres Risiko besonders bei Impulslärm) | Kowalski et al. (2014) ^[18] |
| <i>HSPAL1</i> ; rs2227956 AGCCA[C/T]GGACA NM_005527.3:c.1478C>T | 206 schwedische und 238 polnische Arbeiter mit LE | Höheres Risiko in beiden Gruppen; 2 weitere SNPs zeigten höheres Risiko nur in der schwedischen Gruppe | Konings et al. (2009) ^[15] |

OR – Odds ratio. In Klammern 95% CI (Confidence-Interval). L-Lärm.

2.3. Medikamenten induzierte Schwerhörigkeit

Vorkommen

Zwei Klassen von Arzneimitteln spielen eine besondere Rolle bei der Entstehung von toxisch induzierter SH durch Arzneimittel: Aminoglykosid-Antibiotika (AG) und anti-neoplastisch wirkende Mittel aus der Gruppe der Platin-Präparate^[1, 44]. AG wurden in den 1940-er Jahren für die Behandlung von Tuberkulose eingeführt. Sie werden heute noch für die Behandlung Gram-negativer bakterieller Infektionen, vor allem in Entwicklungsländern eingesetzt. In Industrieländern werden sie vielfach durch Breitband Antibiotika ersetzt. Sie sind aber immer noch unentbehrlich bei der zystischen Fibrose, bei Multi-Drug resistant bakteriellen Infektionen, besonders bei Harnwegs-Infektionen und Tuberkulose.

Platinpräparate, vor allem Cisplatin, ist ein häufig benutztes Antitumor-Medikament; es dient u.a. der Behandlung von Tumoren im Kindesalter, z.B. Neuroblastome oder Osteosarcome. Das Risiko für die Cisplatin induzierte SH (CISH) liegt bei 23–54%^[35]. Für behandeln-

de Ärzte stellt sich die wichtige Frage, welche Möglichkeiten es gibt, Risikopatienten im Vorfeld zu identifizieren um die iatrogen verursachte SH zu vermeiden.

Kandidatengene

Die Ototoxizität von AG ist eine Nebenwirkung, die wahrscheinlich auf einer erhöhten Aufnahme der Medikamente in die Haarzellen und einer Interaktion mit der mitochondrialen Proteinsynthese basiert. Der molekulare Mechanismus der Aufnahme des Medikaments in die Haarzellen ist unklar, möglicherweise spielen das Glycoprotein Megalin oder mechano-elektrische Ionen-Kanäle hierbei eine Rolle^[43]. AG wirken bei Patienten mit einer Disposition zu SH vor allem auf Mitochondrien schädigend^[2]. Es kommt zur Verminderung der ATP-Synthese, der verstärkten Bildung von Sauerstoff-Radikalen, der verminderten mitochondrialen Protein-Synthese und zur Induktion von Apoptose von HZ^[44]. In diese Prozesse ist mitochondriale ribosomale RNS involviert.

Der genaue Mechanismus der CISH ist ebenfalls nicht bekannt, auch hier scheint die Ototoxizität von einer erhöhten Aufnahme des Medikaments in die Haarzellen abzuhängen. Die Antitumorwirkung besteht darin, dass Cisplatin sich an DNA und Proteine bindet und Apoptose induziert. Die Konzentration der Platin-DNA Anlagerungen korreliert mit der Antitumor-Aktivität von Cisplatin.

Ausgewählte SNP-Varianten

Mitochondriale ribosomale RNS: In einer Familie mit Aminoglycosid induzierter SH konnte gezeigt werden, dass das mitochondriale rRNA-Gen eine Mutation aufwies (Nucleotid 1555 *A>G* im 12S rRNA, MT-RNR1)^[33]. Diese mitochondriale DNA Mutation manifestiert sich bei Applikation von AG als SH. Inzwischen wurde eine weitere Mutation des 12S rRNA Gens mit ähnlichen Wirkungen (*m.1494C>T*) nachgewiesen^[44].

Megalin (low density lipoprotein receptor-related protein 2, LRP2, auch Glycoprotein 330): Für die erhöhte Aufnahme von Platin-Medikamenten soll ein Multiligand – endocytotischer Rezeptor (= Megalin) verantwortlich sein. Daraus wurde die Hypothese abgeleitet, dass Varianten dieses Rezeptors für die individuelle Disposition für eine SH verantwortlich sein könnten. Für Megalin sind zahlreiche SNPs bekannt.

Riedemann et al. (2008)^[35] untersuchten den Effekt von *rs2075252* weil diese Variante nicht-synonym ist (d.h. sie führt zu einem AS-Austausch) und weil die Frequenz dieser SNP der Häufigkeit von CISH entspricht. SNP *rs2075252* ist charakterisiert durch einen G-A Austausch, dies entspricht dem Austausch der Aminosäure Glutamat gegen Lysin. Eine Blast-Analyse ergibt, dass der Aminosäure-Austausch die Protein-Struktur beeinflusst, speziell die A-Kette der extrazellulären Domäne von Megalin. Das A-Allel von *rs2075252* erhöht die Empfindlichkeit gegenüber Cisplatin und führt zu einer Hörminderung (Odds-ratio = 3.45, CI 1.11–11.2, $p < 0.02$).

3. Zum diagnostischen Wert von SNP-Analysen

Den potentiellen Nutzen der genetischen Analyse von SNPs für die Diagnostik bzw. die Vorhersage des Auftretens einer SH kann man abschätzen, wenn man die diagnostischen Kenngrößen des „positiven und negativen Testes“ berechnet^[21]. Als Beispiel soll die Abschätzung des Risikos für die Entwicklung einer LISH bei Vorhandensein oder Abwesenheit der SOD2 Variante *rs4880* dienen (**Tab. 4**). Liu et al. (2010)^[23] untersuchten die Häufigkeit von Lärm (L)-resistenten und L-sensitiven Arbeitern bei zwei Allelen und drei Genotypen von *rs4880* (= Test). Das c-Allel mit der Konsequenz eines Aminosäure-Austausches tritt bei der L-sensitiven Gruppe häufiger auf als das t-Allel.

Die dazu gehörenden diagnostischen Kenngrößen sind in **Tab. 5** zusammengefasst. Sensitivität (Se) und Spezifität (Spe) sind Kenngrößen, die den Wert eines Testes in Bezug auf die Erkennung bzw. Erfassung der „Kranken“ bzw. „Gesunden“ beschreiben; sie sind unabhängig von der Prävalenz (= Häufigkeit einer Erkrankung in der Population). Im vorliegenden Fall sind 18% der LISH-sensitiven Probanden Träger des c-Allels (= „positiver Test“); sie entwickeln eine SH (= Sensitivität). Die niedrige Sensitivität ist Ausdruck der Tatsache, dass SH durch viele Faktoren beeinflusst wird und nicht nur durch diese Genvariante. Mit der Bestimmung des cc-Genotyps werden nur 4% der Probanden erfasst, die eine erhöhte Empfindlichkeit für die Entwicklung einer LISH haben. 80–90% der Probanden, die Träger des t-Allels (= negativer Test) sind, werden keine SH entwickeln (= Spezifität).

Tab. 4: Verteilung der SOD2 Allel- und Genotypen bei Probanden mit verschiedenem Risiko für LISH[23].

| Allel/Genotyp | LISH sens. Prob. (n= 201; "krank") | LISH resist. Prob. (n = 202; "gesund") |
|--|---|---|
| 5'-gct ccg gct ttg ggg-3'...(c-Allel) A ¹ P A L G... | 17.7 % (² 36; a = ³ rp) | 10.9 % (22; b = fp) |
| 5'-gct ccg gtt ttg ggg-3't...(t-Allel) A P V L G | 82.3 % (165; c = fn) | 89.1% (180; d = rn) |
| ...cc.....(cc-Genotyp) | 4.0 % (8) | 1.5 % (3) |
| ...ct.....(ct-Genotyp) | 27.3 % (55) | 18.8 % (38) |
| ...tt.....(tt-Genotyp) | 68.7 % (138) | 79.7 % (161) |

LISH sens., resist.-sensitiv oder resistent hinsichtlich der Entwicklung einer SH bei Lärmeinwirkung.

¹ Aminosäuren: A-Alanin, P-Prolin, L-Leucin, G-Glycin, V-Valin.

² Absolutzahlen in Klammern;

³ Abkürzungen: rp-richtig positiv, fp-falsch positiv; fn-falsch negativ, rn-richtig negativ.

Eine weitere Größe für die Einschätzung der Bedeutung der Variante zur Beurteilung der Disposition für die Entwicklung einer SH bei Lärm ist das Wahrscheinlichkeits-Verhältnis (LR⁺ oder LR⁻, likelihood ratio des positiven oder negativen Testes). Diese Kenngröße berücksichtigt sowohl Sensitivität als auch Spezifität. Das LR kennzeichnet den Aussagewert des Testes (Effizienz des Testes) für die Entwicklung einer SH. Aus positiver und negativer LR kann man das Odds-Ratio (Chance) berechnen, ein in der Medizin übliches Maß für das relative Risiko. Die Träger der c-Allel-Variante (OR = 1.78) haben gegenüber jenen mit dem t-Allel ein um 78% höheres Risiko bei einer Lärmeinwirkung eine SH zu entwickeln.

Bei der Prävention geht es um die Frage nach der Veränderung der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer SH bei Lärmeinwirkung nach Durchführung der Analyse und Kenntnis des Ergebnisses des ausgewählten Testes. Dazu dienen der prädiktive Wert (Vorhersagewert, PW, predictive value des positiven und negativen Testes). Der PW macht eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit, eine SH zu entwickeln bei Vorliegen (= positiver Test) oder Fehlen (= negativer Test) der Variante. Nach dem Bayes Theorem geht in die Berechnung auch die Prävalenz ein. Je besser der Test, umso höher der PW des positiven Testes. Im vorliegenden Beispiel beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass der Proband bei positivem Test (c-Allel) eine SH entwickelt, 62%. Die

Tab. 5: Diagnostischer Wert der Allel- und Genotyp-Bestimmung der SOD2-Genvariante rs4880 für die Vorhersage einer SH (s. Tabelle 4)

| | c-Allel | ct-Genotyp | cc-Genotyp |
|--|---------|------------|------------|
| Gesamt (n) | 403 | 403 | 403 |
| Prävalenz (Präv) | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Sensitivität (Se) | 0.18 | 0.27 | 0.04 |
| Spezifität (Spe) | 0.89 | 0.81 | 0.99 |
| Pos. Likelihood ratio (LR ⁺) | 1.64 | 1.45 | 2.68 |
| Neg. Likelihood ratio (LR ⁻) | 0.92 | 0.89 | 0.97 |
| Odds-Ratio (OR) | 1.78 | 1.63 | 2.76 |
| Prädiktiver Wert, positiver Test (PPW) | 0.62 | 0.59 | 0.73 |
| Prädiktiver Wert, negativer Test (NPW) | 0.52 | 0.59 | 0.54 |

Berechnung auf der Grundlage der Vierfeldertafel von Tab. 4.

$Se = a / (a+c)$; $Spe = d / (b+d)$; $LR+ = [a / (a+c)] / [b / (b+d)]$;

$LR- = [c / (a+c)] / [d / (b+d)]$; $OR = LR+ / LR-$;

$PPW = [Se \times Präv] / [(Se \times Präv) + [(1-Spe) \times (1-Präv)]]$; $NPW = [(Spe \times (1-Präv)) / (Spe \times (1-Präv) + (1-Se) \times Präv)]$.

Prävalenz in dem untersuchten Kollektiv beträgt 50%, d. h. das Vor-test-Risiko für die Entwicklung einer SH beträgt 50% (**Tab. 5**). Wird bei einer Person rs4880 nachgewiesen (c-Allel), dann erhöht sich die Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer SH von 50% auf 62%, d. h. der Zuwachs an Information beträgt 12%. Wird der cc-Genotyp nachgewiesen, dann erhöht sich diese Wahrscheinlichkeit von 50% auf 73%. Das Odds Ratio von 2.8 entspricht im vorliegenden Fall einem Anstieg der SH-Wahrscheinlichkeit um etwa 25%.

Die Zahlen verdeutlichen, dass die Erfassung von Risikopatienten mit Hilfe der rs4880 Gendiagnostik sehr begrenzt ist. Mit der Allel-Diagnostik werden nur 20% der Risiko-Patienten erfasst, mit der Genotyp-Analyse fällt dieser Anteil sogar auf nur 5%. Die Spezifität steigt auf 98%, d. h. der Proband mit dem tt-Genotyp wird mit hoher Wahrscheinlichkeit keine SH entwickeln. Da aber eine Reihe anderer Varianten oder Faktoren die Entwicklung der SH verursachen können, ist diese hohe Spezifität kaum von Bedeutung. Die Zahlen verdeutlichen ebenfalls, dass genetische Screening-Untersuchungen für die behandelte Fragestellung wertlos sind, weil die Prävalenz bei solchen Untersuchungen sehr gering ist.

Schlussfolgerungen

1. Die derzeitigen Kenntnisse über genetische Varianten und ihre Assoziationen zu erworbener Schwerhörigkeit sind z.Z. gering. Darüber hinaus sind die Aussagen einer Reihe von Studien mit einer großen Unsicherheit behaftet, da sie entweder an einer zu kleinen Population erhoben wurden, oder in Studien mit anderen Probandengruppen nicht bestätigt werden konnten. Konkrete Schlussfolgerungen für die Anwendung in der klinischen Praxis können noch nicht gegeben werden^[21].
2. Der diagnostische Wert der bisher bekannten SNP-Varianten für die Vorhersage der Entstehung einer SH ist zu gering für die Risikoeinschätzung einer gegebenen Person. Die konsequente Einhaltung der verfügbaren Mittel zum Schutz des Gehörs ist z.Z. wichtiger als jede individuelle genetische Diagnostik. Die erworbene Schwerhörigkeit gehört zu den sogenannten multifaktoriellen, komplexen Erkrankungen, da sie sowohl durch genetische und Umweltfaktoren bestimmt werden.
3. Die Weiterentwicklung der genetischen Diagnostik, insbesondere die Aufdeckung neuer Kandidatengene und die Möglichkeiten der Hochdurchsatz-Sequenzierung („next generation sequencing“; NGS) könnten diese Lücke in absehbarer Zeit zu schließen. Eine SH-Test-Kombination bei Bestimmung mehrerer SNPs und Einbeziehung von Risikofaktoren und der Familienanamnese könnte den diagnostischen Wert verbessern. Die Einbeziehung mehrerer SNP-Varianten in die Diagnostik muss nicht notwendigerweise zu einer Verbesserung der Vorhersage des Krankheitsrisiko führen^[19, 25].
4. Ausnahmen für den Einsatz der bisher bekannten SNP-Varianten könnten Personen mit Lärmexposition und positiver Familienanamnese sein. Für einzelne Personen, z.B. Berufsmusiker ist es sicherlich sinnvoll, eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Lärm zu kennen. Das bietet die Chance, konsequenten Lärmschutz von Jugend an zu pflegen. Möglicherweise stehen in absehbarer Zukunft auch Medikamente zur Verfügung, die protektiv auf Haarzellen wirken^[43].
5. Am vordringlichsten scheinen mir Forschungen zur Verhinderung einer iatrogenen SH, sei es durch die Verabreichung von Cisplatin oder Antibiotika. Es besteht eine hohe Verantwortung der Ärzte, um

diese Form der SH zu verhindern. Alle Möglichkeiten der Abschätzung eines Risikos im Vorfeld (Familienanamnese, ev. genetische Diagnostik) sollten genutzt werden, um eine Chemotherapie bei einem Kind nicht mit einer lebenslangen SH zu bezahlen^[4].

Literatur

- [1] I. Audo and M. E. Warchol (2012) Retinal and cochlear toxicity of drugs: new insights into mechanisms and detection. *Curr.Opin.Neurol.*, 25, 76–85.
- [2] A. E. Barnhill, M. T. Brewer and S. A. Carlson (2012) Adverse effects of antimicrobials via predictable or idiosyncratic inhibition of host mitochondrial components. *Antimicrob.Agents Chemother.*, 56, 4046–4051.
- [3] R. Bogo, A. Farah, A. C. Johnson, K. K. Karlsson, N. L. Pedersen, M. Svarthengren and A. Skjonsberg (2015) The Role of Genetic Factors for Hearing Deterioration Across 20 Years: A Twin Study. *J Gerontol.A Biol.Sci.Med. Sci.*, 70, 647–53.
- [4] C. Bokemeyer, C. C. Berger, J. T. Hartmann, C. Kollmannsberger, H. J. Schmoll, M. A. Kuczyk and L. Kanz (1998) Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br.J Cancer*, 77, 1355–1362.
- [5] M. R. Bowl and S. J. Dawson (2015) The Mouse as a Model for Age-Related Hearing Loss – A Mini-Review. *Gerontology*, 61, 149–57.
- [6] E. Fransen, S. Bonneux, J. J. Corneveaux, I. Schrauwen, B. F. Di, C. H. White, J. D. Ohmen, P. Van de Heyning, U. Ambrosetti, M. J. Huettelman, C. G. Van and R. A. Friedman (2015) Genome-wide association analysis demonstrates the highly polygenic character of age-related hearing impairment. *Eur J Hum.Genet.*, 23, 110–115.
- [7] R. A. Friedman, L. L. Van, M. J. Huettelman, S. S. Sheth, E. E. Van, J. J. Corneveaux, W. D. Tembe, R. F. Halperin, A. Q. Thorburn, S. Thys, S. Bonneux, E. Fransen, J. Huyghe, I. Pyykko, C. W. Cremers, H. Kremer, I. Dhooge, D. Stephens, E. Orzan, M. Pfister, M. Bille, A. Parving, M. Sorri, P. H. Van de Heyning, L. Makmura, J. D. Ohmen, F. H. Linthicum, Jr., J. N. Fayad, J. V. Pearson, D. W. Craig, D. A. Stephan and C. G. Van (2009) GRM7 variants confer susceptibility to age-related hearing impairment. *Hum.Mol.Genet.*, 18, 785–796.

- [8] C. Fujimoto and T. Yamasoba (2014) Oxidative stresses and mitochondrial dysfunction in age-related hearing loss. *Oxid.Med.Cell Longev.*, 2014, 582849.
- [9] G. Girotto, N. Pirastu, R. Sorice, G. Biino, H. Campbell, A. P. d'Adamo, N. D. Hastie, T. Nutile, O. Polasek, L. Portas, I. Rudan, S. Ulivi, T. Zemunik, A. F. Wright, M. Ciullo, C. Hayward, M. Pirastu and P. Gasparini (2011) Hearing function and thresholds: a genome-wide association study in European isolated populations identifies new loci and pathways. *J.Med.Genet.*, 48, 369–374.
- [10] G. Girotto, D. Vuckovic, A. Buniello, B. Lorente-Canovas, M. Lewis, P. Gasparini and K. P. Steel (2014) Expression and replication studies to identify new candidate genes involved in normal hearing function. *PLoS. ONE.*, 9, e85352.
- [11] J. Gross (2012) Lärm induzierte Erkrankungen des Menschen. *Sitzungsberichte Leibniz-Sozietät der Wissenschaften*, 114, 175–191.
- [12] D. Henderson, E. C. Bielefeld, K. C. Harris and B. H. Hu (2006) The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear.*, 27, 1–19.
- [13] Q. Huang and J. Tang (2010) Age-related hearing loss or presbycusis. *Eur. Arch.Otorhinolaryngol.*, 267, 1179–1191.
- [14] J. R. Huyghe, L. L. Van, J. J. Hendrickx, E. Fransen, K. Demeester, V. Topsakal, S. Kunst, M. Manninen, M. Jensen, A. Bonaconsa, M. Mazzoli, M. Baur, S. Hannula, E. Maki-Torkko, A. Espeso, E. E. Van, A. Flaquer, C. Becker, D. Stephens, M. Sorri, E. Orzan, M. Bille, A. Parving, I. Pyykko, C. W. Cremers, H. Kremer, P. H. Van de Heyning, T. F. Wienker, P. Nurnberg, M. Pfister and C. G. Van (2008) Genome-wide SNP-based linkage scan identifies a locus on 8q24 for an age-related hearing impairment trait. *Am J Hum.Genet.*, 83, 401–407.
- [15] A. Konings, L. Van Laer, S. Michel, M. Pawelczyk, P. I. Carlsson, M. L. Bondeson, E. Rajkowska, A. Dudarewicz, A. Vandeveld, E. Fransen, J. Huyghe, E. Borg, M. Sliwinska-Kowalska and C. G. Van (2009) Variations in HSP70 genes associated with noise-induced hearing loss in two independent populations. *Eur.J.Hum.Genet.*, 17, 329–335.
- [16] A. Konings, L. Van Laer, M. Pawelczyk, P. I. Carlsson, M. L. Bondeson, E. Rajkowska, A. Dudarewicz, A. Vandeveld, E. Fransen, J. Huyghe, E. Borg, M. Sliwinska-Kowalska and C. G. Van (2007) Association between variations in CAT and noise-induced hearing loss in two independent noise-exposed populations. *Hum.Mol Genet.*, 16, 1872–1883.

- [17] A. Konings, L. Van Laer and C. G. Van (2009) Genetic studies on noise-induced hearing loss: a review. *Ear Hear.*, 30, 151–159.
- [18] T. J. Kowalski, M. Pawelczyk, E. Rajkowska, A. Dudarewicz and M. Sliwinska-Kowalska (2014) Genetic variants of CDH23 associated with noise-induced hearing loss. *Otol.Neurotol.*, 35, 358–365.
- [19] H. Lango, C. N. Palmer, A. D. Morris, E. Zeggini, A. T. Hattersley, M. I. McCarthy, T. M. Frayling and M. N. Weedon (2008) Assessing the combined impact of 18 common genetic variants of modest effect sizes on type 2 diabetes risk. *Diabetes*, 57, 3129–3135.
- [20] C. G. Le Prell, D. F. Dolan, J. Schacht, J. M. Miller, M. I. Lomax and R. A. Altschuler (2003) Pathways for protection from noise induced hearing loss. *Noise.Health*, 5, 1–17.
- [21] Leopoldina (2010) Prädiktive genetische Diagnostik als Instrument der Krankheitsprävention . Stellungnahme der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina e.V.
- [22] Y. H. Lin, C. C. Wu, C. J. Hsu, J. H. Hwang and T. C. Liu (2011) The grainyhead-like 2 gene (GRHL2) single nucleotide polymorphism is not associated with age-related hearing impairment in Han Chinese. *Laryngoscope*, 121, 1303–1307.
- [23] Y. M. Liu, X. D. Li, X. Guo, B. Liu, A. H. Lin, Y. L. Ding and S. Q. Rao (2010) SOD2 V16A SNP in the mitochondrial targeting sequence is associated with noise induced hearing loss in Chinese workers. *Dis.Markers*, 28, 137–147.
- [24] H. Luo, T. Yang, X. Jin, X. Pang, J. Li, Y. Chai, L. Li, Y. Zhang, L. Zhang, Z. Zhang, W. Wu, Q. Zhang, X. Hu, J. Sun, X. Jiang, Z. Fan, Z. Huang and H. Wu (2013) Association of GRM7 variants with different phenotype patterns of age-related hearing impairment in an elderly male Han Chinese population. *PLoS.ONE.*, 8, e77153.
- [25] K. Miyaki, Y. Takahashi, Y. Song, L. Zhang, M. Muramatsu and T. Nakayama (2008) Increasing the number of SNP loci does not necessarily improve prediction power at least in the comparison of MTHFR SNP and haplotypes. *J Epidemiol.*, 18, 243–250.
- [26] D. L. Newman, L. M. Fisher, J. Ohmen, R. Parody, C. T. Fong, S. T. Frisina, F. Mapes, D. A. Eddins, F. D. Robert, R. D. Frisina and R. A. Friedman (2012) GRM7 variants associated with age-related hearing loss based on auditory perception. *Hear.Res.*, 294, 125–132.

- [27] L. S. Nolan, B. A. Cadge, M. Gomez-Dorado and S. J. Dawson (2013) A functional and genetic analysis of SOD2 promoter variants and their contribution to age-related hearing loss. *Mech.Ageing Dev.*, 134, 298–306.
- [28] S. Ogino, M. L. Gulley, J. T. den Dunnen and R. B. Wilson (2007) Standard mutation nomenclature in molecular diagnostics: practical and educational challenges. *J Mol Diagn.*, 9, 1–6.
- [29] J. Ohmen, E. Y. Kang, X. Li, J. W. Joo, F. Hormozdiari, Q. Y. Zheng, R. C. Davis, A. J. Lusis, E. Eskin and R. A. Friedman (2014) Genome-wide association study for age-related hearing loss (AHL) in the mouse: a meta-analysis. *J Assoc.Res.Otolaryngol.*, 15, 335–352.
- [30] A. Pare, M. Kim, M. T. Juarez, S. Brody and W. McGinnis (2012) The functions of grainy head-like proteins in animals and fungi and the evolution of apical extracellular barriers. *PLoS.ONE.*, 7, e36254.
- [31] P. Perez and J. Bao (2011) Why do hair cells and spiral ganglion neurons in the cochlea die during aging? *Aging Dis.*, 2, 231–241.
- [32] N. R. Prabhakar and G. L. Semenza (2012) Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. *Physiol Rev.*, 92, 967–1003.
- [33] T. R. Prezant, J. V. Agopian, M. C. Bohlman, X. Bu, S. Oztas, W. Q. Qiu, K. S. Arnos, G. A. Cortopassi, L. Jaber, J. I. Rotter and . (1993) Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat.Genet.*, 4, 289–294.
- [34] P. M. Rabinowitz, W. J. Pierce, Sr., M. B. Hur, P. G. Antonucci, C. Powell and M. Slade (2002) Antioxidant status and hearing function in noise-exposed workers. *Hear.Res.*, 173, 164–171.
- [35] L. Riedemann, C. Lanvers, D. Deuster, U. Peters, J. Boos, H. Jurgens and A. am Zehnhoff-Dinnesen (2008) Megalin genetic polymorphisms and individual sensitivity to the ototoxic effect of cisplatin. *Pharmacogenomics.J.*, 8, 23–28.
- [36] K. Senga, K. E. Mostov, T. Mitaka, A. Miyajima and N. Tanimizu (2012) Grainyhead-like 2 regulates epithelial morphogenesis by establishing functional tight junctions through the organization of a molecular network among claudin3, claudin4, and Rab25. *Mol Biol.Cell*, 23, 2845–2855.
- [37] M. Sliwinska-Kowalska and M. Pawelczyk (2013) Contribution of genetic factors to noise-induced hearing loss: a human studies review. *Mutat. Res.*, 752, 61–65.
- [38] K. Tabuchi, B. Nishimura, S. Tanaka, K. Hayashi, Y. Hirose and A. Hara (2010) Ischemia-reperfusion injury of the cochlea: pharmacological strat-

- egies for cochlear protection and implications of glutamate and reactive oxygen species. *Curr.Neuropharmacol.*, 8, 128–134.
- [39] Van Eyken E., Van Camp G. and Van Laer L. (2007) The complexity of age-related hearing impairment: contributing environmental and genetic factors. *Audiol.Neurootol.*, 12, 345–358.
- [40] L. Van Laer., E. E. Van, E. Franssen, J. R. Huyghe, V. Topsakal, J. J. Hendrickx, S. Hannula, E. Maki-Torkko, M. Jensen, K. Demeester, M. Baur, A. Bonaconsa, M. Mazzoli, A. Espeso, K. Verbruggen, J. Huyghe, P. Huygen, S. Kunst, M. Manninen, A. Konings, A. N. Diaz-Lacava, M. Steffens, T. F. Wienker, I. Pyykko, C. W. Cremers, H. Kremer, I. Dhooge, D. Stephens, E. Orzan, M. Pfister, M. Bille, A. Parving, M. Sorri, P. H. Van de Heyning and C. G. Van (2008) The grainyhead like 2 gene (GRHL2), alias TFCP2L3, is associated with age-related hearing impairment. *Hum.Mol Genet.*, 17, 159–169.
- [41] B. Vona, I. Nanda, C. Neuner, T. Muller and T. Haaf (2013) Confirmation of GRHL2 as the gene for the DFNA28 locus. *Am J Med.Genet.A*, 161A, 2060–2065.
- [42] S. L. Wang, L. G. Yu, R. P. Liu, W. Z. Zhu, W. M. Gao, L. P. Xue, X. Jiang, Y. H. Zhang, D. Yi, D. Chen and Y. H. Zhang (2014) Gene-Gene Interaction of GJB2, SOD2, and CAT on Occupational Noise-induced Hearing Loss in Chinese Han Population. *Biomed.Enviro.n.Sci.*, 27, 965–968.
- [43] J. Xie, A. E. Talaska and J. Schacht (2011) New developments in aminoglycoside therapy and ototoxicity. *Hear.Res.*, 281, 28–37.
- [44] J. Yu, J. Zheng, X. Zhao, J. Liu, Z. Mao, Y. Ling, D. Chen, C. Chen, L. Hui, L. Cui, Y. Chen, P. Jiang and M. X. Guan (2014) Aminoglycoside stress together with the 12S rRNA 1494C>T mutation leads to mitophagy. *PLoS.ONE.*, 9, e114650.

Horst Nizze

Altern – Biologie und Pathologie

Einleitung

Altern ist die fortschreitende Abnahme der Funktionsreserven und Funktionen von Zellen, Geweben und Organen im Laufe des Lebens höherer Organismen. Altern ist heterogen und variiert merklich in verschiedenen Individuen sowie auch in den verschiedenen Organen jedes einzelnen Individuums. Die weltweiten Anstrengungen der Altersforschung sind heute unüberschaubar. Als vorzügliche Einführung ist das Kapitel *The Biology of Aging* in der 18. Auflage des Lehrbuches *Harrison's Principles of Internal Medicine* (Martin 2011) geeignet, dessen Autor George M. Martin (geb. 1927) zu renommiertesten US-amerikanischen Biogerontologen zählt. Frühere eigene morphologische Untersuchungen betrafen den Alternswandel des Brustdrüsengewebes (Nizze 1967, 1972), später kamen Studien zur Seneszenz pankreatischer Sternzellen bei chronischer Pankreatitis der Ratte (Fitzner et al. 2012) sowie zur Altersabhängigkeit akuter Pankreatitiden der Maus (Müller et al. 2014) hinzu. Die Studien haben für den akademischen Unterricht ein Interesse an den Phänomenen des Alterns bewahrt, die Gegenstand dieses Übersichtsvortrages sind.

Biologie des Alterns

Biologisches Altern ist schicksalhaft und keine Krankheit. Im höheren Alter nehmen jedoch die physiologischen Fähigkeiten und die Anpassung an Stressoren ab, so dass Krankheitsrisiko und -empfindlichkeit mit dem Alter ansteigen. Gleichfalls nimmt die Sterberate exponentiell mit dem Alter zu (Martin 2011). Die Betrachtung des Alterns kann auf der Ebene von Populationen und Individuen, von Organen, Geweben

und Zellen sowie auf der Ebene der Zellorganellen, Gene und Moleküle eines Organismus erfolgen.

Zelluläres Schlüsselphänomen des Alterns ist der programmierte Zelltod (*Apoptose*), der im Ablauf des Zellzyklus eine replikative Seneszenz bewirkt. Hinzu kommen können Zelluntergänge durch Pyroptose mit sogenanntem *Inflammaging* (Fink und Cookson 2005). Folge davon sind Organverkleinerungen mit zunehmender Funktionseinschränkung bei kataboler Adaptation, die unter dem Begriff der physiologischen *Atrophie* (Altersatrophie) geläufig sind und in allen Organen parenchymspezifisch ablaufen (Böcker et al. 2011). Beispiele sind die senile Hirnatrophie, die sogenannte braune Atrophie der Leber und des Herzmuskels, seniles Lungenemphysem und senile Osteoporose sowie die Haut- (Zouboulis et al. 2008) und Muskelatrophie (*Sarkopenie*) (White und Le Brasseur 2014) des alten Menschen.

Altern und Krankheit

Krankheit ist der Zustand der subjektiven oder/und klinischen oder/und sozialen *Hilfsbedürftigkeit* eines Menschen infolge des Verlustes des abgestimmten Zusammenwirkens der physischen, psychischen oder psychophysischen Funktionsglieder des Organismus (Rothschuh 1972). Insofern könnte als Grenze zwischen biologischem Altern und Alterskrankheiten (auch) das Einsetzen von Hilfsbedürftigkeit angesehen werden.

Modellcharakter für eine genetisch bedingte Störung des normalen Alterns besitzt die *Progeria infantum*, bei der es bereits im Kindesalter zu einer starken Vergreisung mit Zwergwuchs und frühem Haarausfall mit Glatze sowie mit starker Kopfvenenzeichnung und frühen Arteriosklerose kommt. Dabei handelt es sich um ein autosomal-dominantes Leiden mit Schädigung des Chromosom 1 (1q21.3) und dadurch gestörter Bildung des Protein Lamin, so dass Typ III-Prokollagen in Fibroblasten zwar produziert, jedoch nicht sezerniert wird (Eriksson et al. 2003).

Geläufige Alterskrankheiten, d. h. Krankheiten, die mit zunehmendem Alter häufiger oder überhaupt erst auftreten, sind die *Arteriosklerose* und ihre Komplikationen sowie Krebserkrankungen unterschiedlicher Organe. Die *Response-to-injury-Theorie* der Arterioskleroseentstehung

(Ross 1999) kennt neben den Risikofaktoren Rauchen, Bluthochdruck und Hypercholesterinämie auch das zelluläre Altern als Begünstigung für initiale Endothelschäden und subintimale Lipidablagerungen mit den nachfolgenden Atheroskleroseläsionen nach Art einer chronischen reparativen Entzündungsreaktion („*response-to-injury*“). Für die Nierengefäßläsionen im Alter (*Arteriiosklerose*) sowie für die renale Zell- und Gewebsalterung spielen die auch in anderen Organen und Geweben ablaufenden Alternsprozesse (Inflammaging, zelluläre Seneszenz, Telomerenverkürzung, DNA-Instabilität, Klotho/FGF-23 und Autophagozytose/mTOR) eine Rolle (Banas et al. 2014).

Dass viele *Krebserkrankungen* erst im Alter auftreten bzw. mit höherem Alter zunehmen, ist lange bekannt. Die Ursachen für den Altersanstieg der Krebstodesfälle sind die zunehmende Lebenserwartung, dadurch ein längeres Einwirken der Kanzerogene sowie mit dem Alter einsetzende (und dem biologischen Altern analoge) genetische und molekulare Gewebs- und Zellschäden (Falandry et al. 2014, Bordonaro und Lazarova 2015). Eine teilweise Prävention der genannten Krankheiten im Alter ist durch Gewichtsreduktion bei Fettleibigkeit, Blutdrucksenkung und Abstellen des Zigarettenrauchens möglich. Jedoch spielt nach einer norwegischen Studie für ein entsprechendes positives Gesundheitsverhalten der Bildungsgrad eine Rolle: *Intelligente Personen rauchen nicht!* (Strand et al. 2010).

Alternstheorien

Erklärungen für das Altern sind zahlreich (Weinert und Timiras 2003). Je nach Forschungsrichtung existieren genetische, somatische, metabolische, immunologische und soziale Theorien. Altern ist sowohl genetisch als auch somatisch und psychisch bedingt. So führen genetische Schäden und epigenetische Umweltfaktoren im Alter zu Stoffwechseländerungen mit kataboler Adaptation, altersbedingten Krankheiten und Tod (Moskalev et al. 2014). Am verständlichsten sind genetische (*Telomer-Hypothese*) (Xi et al. 2013) und somatische Erklärungen wie die „*Disposable soma theory*“ (Lorenzini et al. 2011), die metaphorisch auch als „*Sanduhr-Hypothese*“ aufgefasst wird (Rensing et al. 2001). Mit jeder Mitose werden die aus repetitiver Desoxyribonukleinsäure und assoziierten Eiweißen bestehenden Telomere der Chromoso-

men kürzer, wodurch genetische Substanz mit entsprechenden Folgen verloren geht (*replikative Seneszenz*) (Zhang et al. 2014). Katabole Adaptation bewirkt zelluläre Seneszenz mit Zellverkleinerung (einfache Atrophie) und Zellzahlverminderung (numerische Atrophie). Diese kennzeichnen die qualitativ und quantitativ unterschiedliche *physiologische Altersatrophie* der Gewebe und Organe (Böcker et al. 2012), die mit entsprechenden, individuell wechselnden Funktionsminderungen einhergeht.

Langlebigkeit

Der berühmte persische Arzt *Avicenna* (980–1037) hielt Langlebigkeit für eine zweischneidige Angelegenheit und meinte, er habe *lieber ein kurzes Leben in Fülle als ein dürftiges langes Leben*. Mythologisch sind es die drei Schicksalsgöttinnen (*Moiren*), von denen *Klotho* den Lebensfaden spinnt, *Lachesis* das Lebenslos zuteilt und *Atropos* den Lebensfaden abschneidet. *Klotho* ist zum metaphorischen Namen (Drüeke und Prie 2007) für das sogenannte *Klotho-Gen* geworden. Dabei handelt es sich um ein Altern-Suppressorgen, das das Proteohormon Klotho (Transmembranprotein) kodiert. Dieses ist ein Co-Rezeptor für den *Fibroblastenwachstumsfaktor FGF-23*, der bei Mäusen die Lebenszeit bis zu 30 % verlängert, weil er Zellen und Gewebe vor oxidativem Stress schützt (Wikipedia-Stichwort: Klotho). Das Klotho-Protein reguliert mehrere intrazelluläre Signalwege, die für Altern und Langlebigkeit von zentraler Bedeutung sind (Sopjani et al. 2015).

Langlebigkeit betrifft wie das Altern biochemische, somatische und psychosoziale Aspekte (Moskalev et al. 2014). Biochemisch sollen weniger Kalorien und weniger Zucker Krankheiten vorbeugen und das Leben verlängern. Jedoch gilt das offenbar nur in jungen und mittleren Jahren und kehrt sich im Alter um: Bei alten Mäusen verbessert eine größere orale *Glukosezufuhr* die Gesundheit und verlängert die Lebenserwartung der Tiere (Missios et al. 2014). Eine *Riechfunktionsstörung* soll ein Frühwarnindikator für verminderte zelluläre Regeneration sein, weil erworbene Riechstörungen in Beziehung zu grundlegenden Mechanismen des Alterns stehen. Sie seien deshalb einer der besten Prognoseindikatoren für die 5-Jahresmortalität und evtl. ein Marker für kumulative toxische Umweltbelastungen (Pinto et al. 2014). Der *Mus-*

kelmasseindex ist einer der besten Prädiktoren für Langlebigkeit älterer Personen (Skrikanthan und Karlamangla 2014). *Physische Fitness* wird somit angeraten, um Sarkopenie zu verhindern (White und LeBrasseur 2014). Eine überraschende demographisch-gerontologische Studie ergab, dass die gegenwärtige Lebenserwartung in den neuen Bundesländern für Frauen 4.0 Jahre und für Männer 5.7 Jahre geringer wäre, wenn es 1990 nicht zur deutschen *Wiedervereinigung* gekommen wäre (Vogt 2013).

Fazit

Erfolgreiches gesundes Altern ist nur durch *multidimensionale Anstrengungen* erreichbar (Rowe und Kahn 1996): Krankheit und Behinderung sind zu vermeiden. Fortdauernde soziale und produktive Aktivitäten werden angeraten. Die Erhaltung hoher kognitiver und physischer Funktionalität ist anzustreben. *Mens sana in corpore sano* (Juvenal 58–138 AD) gilt somit bis heute auch für ein gesundes Altern.

Literatur

- Avicenna (980–1037): Abū Alī al-Husain ibn Abdullāh ibn Sīnā – *Wikipedia*: <http://de.wikipedia.org/wiki/Avicenna>
- Banas, M., Amann, K., Schaeffner, E. (2014) Nierenveränderungen im Alter. *Der Nephrologe* 9: 11–19
- Böcker, W., Denk, H., Heitz, P. U., Moch, H., Höfler, G., Kreipe, H. (2012) Pathologie, 5. Auflage. *Urban & Fischer Verlag, München*
- Bordonaro, M., Lazarova, D. L. (2015) Hypothesis: cell signalling influences age-related risk of colorectal cancer. *J. Cell. Mol. Med.* 19: 74–81
- Drüeke, T. B., Prie, D. (2007) Klotho spins the thread of life – what does Klotho do to the receptors of fibroblast growth factor-23 (FGF23)? *Nephrol. Dial. Transplant.* 22: 1524–1526
- Eriksson, M., Brown, W. T., Gordon, L. B., Glynn, M. W., Singer, J., Scott, L., Erdos, M. R., Robbins, C. M., Moses, T. Y., Berglund, P., Dutra, A., Pak, E., Durkin, S., Csoka, A. B., Boehnke, M., Glover, T. W., Collins, F. S. (2003) Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 423: 293–8

- Falandry, C., Bonnefoy, M., Freyer, G., Gilson, E. (2014) Biology of cancer and aging: a complex association with cellular senescence. *J. Clin. Oncol.* 32: 2604–2610
- Fink, S. L. and T. Cookson, B. T. (2005) Apoptosis, Pyroptosis, Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells. *Infect. Immun.* (2005)
- Fitzner, B., Müller, S., Walther, M., Fischer, M., Engelmann, R., Müller-Hilke, B., Pützer, B. M., Kreutzer, M., Nizze, H., Jaster, R. (2012) Senescence determines the fate of activated rat pancreatic stellate cells. *J. Cell. Mol. Med.* 16: 2620–2630
- Juvenal (58–138 AD) Orandum est, ut sit mens sana in corpore sano. *Satiren* 10, 356 – *Wikipedia*: http://de.wikipedia.org/wiki/Mens_sana_in_corpore_sano
- Klotho(Protein)–*Wikipedia*: http://de.wikipedia.org/wiki/Klotho_%28Protein%29
- Lorenzini, A., Stamato, T., Sell, C. (2011) The disposable soma theory revisited: time as a resource in the theories of aging. *Cell Cycle* 10: 3853–3856
- Martin, G. M. (2011) The Biology of Aging. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th edition, Volume 1, part 5, chapter 71, McGraw-Hill Publication Companies, New York
- Missios, P. Yuan Zhou, Y., Guachalla, L. M., Figura, G. von, Wegner, A., Chakkarappan, S. R., Binz, T., Gompf, A., Hartleben, G., Burkhalter, M. D., Wulff, V., Günes, C., Sattler, R. W., Song, Z., Illig, T., Klaus, S., Böhm, B. O., Wenz, T., Hiller, K., Rudolph, K. L. (2014) Glucose substitution prolongs maintenance of energy homeostasis and lifespan of telomere dysfunctional mice. *Nat. Commun.* 5: 4924
- Moskalev, A. A., Aliper, A. M., Smit-McBride, Z., Buzdin, A., Zhavoronkov, A. (2014) Genetics and epigenetics of aging and longevity. Review. *Cell Cycle* 13: 1063–1077
- Müller, S., Kaiser, H., Krüger, B., Fitzner, B., Lange, F., Bock, C. N., Nizze, H., Ibrahim, S. M., Fuellen, G., Wolkenhauer, O., Jaster, R. (2014) Age-dependent effects of UCP2 deficiency on experimental acute pancreatitis in mice. *PLoS One* 9: e94494
- Nizze, H. (1967) Zur biorheutischen Morphologie der weiblichen Brustdrüse (Untersuchungen am Sektionsgut). *Med. Inauguraldissertation*, Rostock
- Nizze, H. (1972) Zur Biomorphose des Mantelbindegewebes der weiblichen Brustdrüse. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* 356: 249–258

- Pinto, J. M., Wroblewski, K. E., Kern, D. W., Schumm, L. P., McClintock, M. K. (2014) Olfactory Dysfunction Predicts 5-Year Mortality in Older Adults. *PLoS One* 9: e107541
- Rensing, L., Meyer-Grahle, U., Ruoff P. (2001) Biological timing and the clock metaphor: oscillatory and hourglass mechanisms *Chronobiol. Int.* 18: 329–369
- Ross, R. (1999) Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 340: 115–126
- Rothschuh, K. E. (1972) Der Krankheitsbegriff (was ist Krankheit?) *Hippokratēs* 43, 3–17
- Rowe, J. W., Kahn, R. L. (1998) Successful aging. *Aging (Milano)* 10: 142–144
- Skrikanthan, P., and Karlamangla, A. S. (2014) Muscle mass index as a predictor of longevity in older adults. *Am. J. Med.* 127: 547–553
- Sopjani, M., Rinnerthaler, M., Kruja, J., Dermaku-Sopjani M. (2015) Intracellular signaling of the aging suppressor protein klotho. *Curr. Mol. Med.* 15: 27–37
- Strand, B. H., Grøholt, E. K., Steingrimsdóttir, O. A., Blakely, T., Graff-Iversen, S., Naess, Ø. (2010) Educational inequalities in mortality over four decades in Norway: prospective study of middle aged men and women followed for cause specific mortality, 1960–2000. *BMJ* 340: c654
- Vogt, T. C. (2013) How many years of life did the fall of Berlin wall add? A projection of East German life expectancy. *Gerontology* 59: 276–282
- Weinert, B. T., Timiras, P. S. (2003) Invited review: Theories of aging. *J. Appl. Physiol.* 95: 1706–1716
- White, T. A., LeBrasseur, N. K. (2014) Myostatin and Sarcopenia: Opportunities and Challenges – A Mini-Review. *Gerontology* 60: 289–293
- Xi, H., Li, C., Ren, F., Zhang, H., Zhang, L. (2013) Telomere, aging and age-related diseases. *Aging Clin. Exp. Res.* 25: 139–46
- Zhang, Q. H., Tian, X. J., Liu, F., Wang W. (2014) A switch-like dynamic mechanism for the initiation of replicative senescence. *FEBS Lett.* 588: 4369–4374
- Zouboulis, C. C., Adjaye, J., Akamatsu, H., Moe-Behrens, G., Niemann, C. (2008) Human skin stem cells and the ageing process. *Experimental Gerontology* 43: 986–997

Sabine Müller

Zelluläre Mechanismen des Alterns: DNA-Schäden und Telomerenverkürzung

Warum altern Pflanzen, Tiere und der Mensch, und wie geschieht das? Der Mechanismus des Alterns hat schon viele Wissenschaftler beschäftigt, und seit Beginn des letzten Jahrhunderts sind verschiedene Alterstheorien aufgestellt und diskutiert worden. Eine frühe Sichtweise der 20er Jahre geht davon aus, dass die Stoffwechselrate den Alterungsprozess wesentlich beeinflusst (*Rate of living-Theorie*). Für die Fruchtfliege *Drosophila* wurde beispielsweise gefunden, dass die Lebensdauer invers proportional zu Temperaturveränderungen ist. Als logische Schlussfolgerung hat man postuliert, dass sich bei höheren Temperaturen und einer damit einhergehenden erhöhten Stoffwechselrate die Lebensdauer deutlich verringert. Einige Jahre später entwickelte sich die *Radikaltheorie des Alterns*.^{2,3} Diese beruht auf der Beobachtung, dass eine erhöhte Stoffwechselrate mit der erhöhten Produktion von zellschädigenden Radikalen (*reactive oxygen species*: ROS) einhergeht. Das führt zur Schädigung der zellulären Strukturen, was wiederum die Seneszenz der Zelle oder deren programmierten Zelltod (Apoptose) bewirken kann. Basierend auf dieser Theorie könnte man Altern molekular betrachtet als einen Prozess beschreiben, der mit dem Verschleiß biomolekularer Funktionselemente einhergeht und sich dabei insbesondere auf DNA-Ebene abspielt.

Neben genetischer Prägung und der Akkumulation von DNA-Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) spielt auch die allmähliche Verkürzung der informationslosen Chromosomenenden (Telomere) in proliferierenden Zellen eine wichtige Rolle. Die Telomerenverkürzung wurde Ende des letzten Jahrhunderts als ein weiterer Faktor des Alterungsprozesses beschrieben. Bei jeder Replikationsrunde werden die Enden der DNA-Stränge aus mechanistischen Gründen nicht komplett

verdoppelt, was die sukzessive Verkürzung der Telomere über die Zeit bedingt. Mit zunehmendem Alter sind die Telomere soweit verkürzt, dass weitere Replikationsrunden auch eine Verkürzung der informationstragenden Abschnitte des DNA-Stranges bewirken, was zu Schäden und Funktionsverlust, und schließlich zum Zelltod führen kann. Telomerenverkürzung und die Akkumulation von Schäden werden häufig als eine Art Sanduhren der Zelle beschrieben, die deren Lebensdauer bestimmen.⁴

Als weitere Faktoren, die den Alterungsprozess beeinflussen, werden Art und Menge der Nahrung angeführt sowie insbesondere in den letzten Jahren genetische Faktoren, die beispielsweise die Stressresistenz der Zelle, die Reparatur von DNA-Schäden und antioxidative Wirkmechanismen bestimmen. Darauf basierend wird heute die allgemein akzeptierte These vertreten, dass Altern ein programmierter art- und zellspezifischer Prozess ist, der auf dem Zusammenspiel mehrerer Mechanismen beruht.

Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS)

Wie erwähnt, wird als eine Ursache des zellulären Alterns insbesondere die Akkumulation von DNA-Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gesehen. Diese werden durch externe Faktoren wie Metalle, Strahlung oder verschiedene Chemikalien induziert, können aber auch endogen, also in der Zelle, produziert werden. Neben bestimmten Enzymen oder Entzündungsprozessen spielt dabei vor allem die Zellatmung eine entscheidende Rolle. Die Zellatmung findet in der inneren Membran der Mitochondrien statt und dient der Bereitstellung von Energie in Form von Adenosintriphosphat. Die Mitochondrien gelten als die stärkste Quelle für endogene ROS, da dort für die ATP-Synthese (oxidative Phosphorylierung) Elektronen von reduziertem Nicotinsäureadeninucleotid (NADH) über mehrere Stufen auf molekularen Sauerstoff übertragen werden. Wenn zwischen der Geschwindigkeit, mit der Elektronen in die Atmungskette gelangen, und der Geschwindigkeit, mit der sie durch die Atmungskette befördert werden, ein Ungleichgewicht besteht, dann steigt die Produktion von ROS. Ein lokaler Elektronenüberschuss führt zunächst zur Bildung von Superoxidanionenradikalen (O_2^-), die im weiteren Verlauf zu Wasserstoff-

peroxid (H_2O_2) und O_2 umgewandelt werden. H_2O_2 wird zu H_2O und O_2 abgebaut. In Gegenwart von Fe^{2+} , welches bei hoher Konzentration von Superoxidanionenradikalen aus Eisen-Schwefel-Proteinen freigesetzt wird, können jedoch auch Hydroxylradikale ($\cdot\text{OH}$) entstehen. Die gebildeten Superoxid- und Hydroxylradikale sind Ursache von DNA-Schäden. Da sie in der inneren Mitochondrienmembran gebildet werden, sind insbesondere Schädigungen der mitochondrialen DNA zu beobachten. Im mitochondrialen Genom des Menschen wurde beispielsweise eine altersabhängige Akkumulation der Deletion von 4977 Basenpaaren des ringförmigen Chromosoms beobachtet, die besonders ausgeprägt in Herzmuskel- und Hirnzellen ist.^{5,6} Schädigungen können auch Gene betreffen, die für Proteine der Atmungskette kodieren, was zu einer positiven Rückkopplungsschleife führt, da die defekten Proteine zu einem verstärkten Ungleichgewicht beim Elektronentransport in der Atmungskette sorgen. Das wiederum führt zur vermehrten ROS-Bildung und schließlich zu einer exponentiellen Erhöhung von ROS-Schäden mit der Zeit.⁵

Akkumulation von DNA-Schäden

Die Entstehung der Sauerstoffradikale durch die Zellatmung wird auch als oxidativer Stress bezeichnet. Die Akkumulation von DNA-Schäden vor allem durch oxidativen Stress wird als eine entscheidende Ursache für zelluläres Altern gesehen.⁷ Einzel- und Doppelstrangbrüche, die Bildung von DNA-DNA-, DNA-Protein- und DNA-Lipid-Addukten sowie Basenmodifikationen gehören zum Spektrum der induzierten Schädigungen. Mehr als 100 verschiedene oxidative Basenmodifikationen sind beschrieben worden, wobei die Zahl der durch ROS verursachten oxidativen Schäden auf 10^4 bis 10^5 pro Zelle und Tag geschätzt wird.⁸ Dabei wurden starke Hinweise auf eine altersabhängige Akkumulation von oxidativen DNA-Schäden in verschiedenen Geweben von Nagern gefunden. Interessanterweise verläuft die altersabhängige Akkumulation weitgehend linear, während in hohem Alter eine exponentielle Zunahme gemessen wurde.⁹ Die Radikaltheorie des Alterns wird durch eine Reihe weiterer experimenteller Befunden unterstützt. Beispielsweise wurde eine negative Korrelation gefunden zwischen der H_2O_2 -Produktion in der Leber pro Minute und mg Protein einerseits

und der Lebensdauer der zugehörigen Tiere andererseits.¹⁰ Umgekehrt ergab sich eine positive Korrelation zwischen ROS-Resistenz und Lebensdauer. Die Erhöhung der Expression von mitochondrialen Radikalabbauenden Enzymen wie der manganabhängigen Superoxiddismutase führte zur Erhöhung der Lebensdauer beim Fadenwurm *C. elegans* und bei der Tauffliege *D. melanogaster*.¹¹

Neben oxidativem Stress können auch spontane Veränderungen der DNA-Basen (z.B. Desaminierung bis zu 100-mal pro Tag und Zelle) und Fehlpaarungen während der Replikation zu DNA-Schäden führen. Daneben induzieren auch exogene Faktoren wie UV-, Röntgen- und radioaktive Strahlung oder Tabakrauch Schäden an der DNA. Intensives Sonnenbaden kann bis zu 100 000 Schäden pro Zelle und damit einen Sonnenbrand verursachen.¹² Als häufigster UV-Licht induzierter Schaden treten Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere auf. Zwei auf einem DNA-Strang benachbarte Thymidine werden dabei kovalent über einen Cyclobutan-Ring verbunden. Das führt zur Änderung der räumlichen Struktur der DNA, so dass wechselwirkende Proteine oder andere Interaktionspartner die DNA an diesen Stellen nicht mehr erkennen. Replikation und Transkription kommen zum Erliegen. Zigarettenrauch führt zu 103 bis 104 DNA-Adukten pro Zelle,¹³ und auch radioaktive Strahlung kann eine Reihe von DNA-Schäden, angefangen von DNA-Doppelstrangbrüchen, über Einzelstrangbrüche, Schäden an den Nucleobasen und am Zucker-Phosphat-Rückgrat, bis hin zu DNA-DNA- und DNA-Protein-Quervernetzungen (sog. „Crosslinks“) induzieren.¹⁴

Zahlreiche antioxidative Abwehrmechanismen und andere DNA-Reparaturstrategien wirken der DNA-Schädigung entgegen. Wenn jedoch die Schäden aufgrund ihrer Vielzahl nicht mehr komplett repariert werden können, sind Genveränderungen (Mutationen), die sich in Krankheiten wie Krebs, Hautschädigungen, Gewebetoxizität und Neurodegeneration widerspiegeln, die Folge und tragen maßgeblich zum zellulären Altern bei.

Telomerenverkürzung

Wie bereits erwähnt, gilt die allmähliche Verkürzung der Chromosomenenden (Telomere) in proliferierenden Zellen als ein weiterer Faktor des Alterungsprozesses. Mit dem Begriff Telomer wird das fadenförmige

ge nicht codierende Ende der Chromosomen bezeichnet, das aus einer langen Reihe von Wiederholungen immer der gleichen Bausteinabfolge besteht. Beim Menschen handelt es sich um Wiederholungen der Sequenz (TTAGGG)_n, die Tausende von Basenpaaren umfassen kann.

Telomere haben zwei wichtige Funktionen. Zum einen stabilisieren sie die Chromosomenenden, zum anderen spielen Telomere eine wichtige Rolle bei der DNA-Replikation. Bedingt durch den semi-konservativen Mechanismus der Replikation benötigt die DNA-Polymerase RNA-Primer, die die stückweise Synthese eines der beiden Tochterstränge in 5'→3'-Richtung einleiten. Die RNA-Primer werden anschließend abgebaut und durch DNA ersetzt. Am äußersten 3'-Ende kann der RNA-Primer aus mechanistischen Gründen nicht ersetzt werden, so dass der neu synthetisierte Strang um 25–200 Basen verkürzt ist. Somit würden bei jeder Zellteilung genetische Informationen verloren gehen. Dieser Verlust ist unkritisch, solange das restliche Telomer eine bestimmte Länge nicht unterschreitet, da Telomere keine entscheidende genetische Information tragen. Die Telomere werden mit der Zahl der Replikationszyklen immer kürzer, bis schließlich auch die informationstragenden Teile der Chromosomen beschädigt werden bzw. die Chromosomenstabilität beeinträchtigt wird. Das kann zur Instabilität des Genoms und zur proliferativen Seneszenz der Zelle bzw. zum programmierten Zelltod führen. Das geschieht hauptsächlich bei proliferierenden Zellen, während Keimbahn-, Stamm- und Krebszellen ein Enzym (Telomerase) produzieren, das die Telomere nach jeder Replikationsrunde wieder verlängert. Die Länge der Telomere scheint die Anzahl der möglichen Teilungen der Zelle zu bestimmen, was auch als „mitotic“ oder „molecular clock“ bezeichnet wird.¹⁵

Die Telomerase ist ein Enzym, welches aus einem Protein- und einem RNA-Anteil besteht. Es ist eine reverse Transkriptase und nutzt den RNA-Anteil als Matrize zur Neusynthese von DNA. Die Aktivität der Telomerase ist mitentscheidend für die „Fitness“ der Zelle und ihre Fähigkeit sich zu teilen. In den meisten somatischen Zellen ist die Aktivität der Telomerase nicht nachweisbar. Aktiv ist die Telomerase nur in sich kontinuierlich teilenden Zellen. Keimbahnzellen beispielsweise besitzen von Beginn an Telomeraseaktivität und können somit ihre Telomerlängen über ihre gesamte Lebenszeit erhalten. Stammzellen, wie z.B. epitheliale Basalzellen oder T- und B-Zellen zeigen eine

geringe Telomeraseaktivität, die jedoch ausreichend ist für eine relative Erhaltung der Telomerlängen über die gesamte Lebensdauer des Organismus. Krebszellen besitzen eine hohe Telomeraseaktivität, was ihnen dazu verhilft, sich unendlich oft zu teilen und im Körper zu wuchern.

Es ist also nicht die Telomerlänge allein, die darüber bestimmt, wie oft sich Zellen noch teilen können, sondern ein Zusammenspiel aus beidem: der Telomerlänge und der Menge an Telomerase.

Es ist wissenschaftlich nicht eindeutig bewiesen, inwieweit sich die Telomerenlänge durch innere und äußere Faktoren beeinflussen lässt. Eine beschleunigte Telomerenverkürzung wurde in Lymphozyten beobachtet, als Folge verschiedener Erkrankungen wie HIV, Down-Syndrom oder Arteriosklerose, weiterhin bei psychischem Stress und Entzündungen.¹⁶ Umgekehrt scheint sich eine höhere Aufnahme von Vitamin D positiv auf die Telomerenlänge von menschlichen Leukozyten auszuwirken. In einer Studie mit einer großen Gruppe von Zwillingen fand sich eine positive Korrelation der Konzentration von Vitamin D mit der Telomerenlänge. Der Unterschied zwischen der höchsten und niedrigsten Vitamin D-Konzentration entsprach einem Unterschied in der Telomerenlänge von 107 Basenpaaren, und umgerechnet in „Telomerenalter“ einem Unterschied von etwa fünf Jahren.¹⁷ Entsprechend ließen sich deutlich längere Telomere in Leukozyten von physisch aktiven Menschen beobachten, während Rauchen, ein hoher Body-Mass-Index und ein niedriger sozio-ökonomischer Status die Länge verkürzten.¹⁸

Altern und Lebensdauer werden also durch verschiedene endogene und exogene Faktoren bestimmt. Auf DNA-Ebene sind das zum einen oxidative Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies und deren Akkumulation in postmitotischem Gewebe, zum anderen die Verkürzung der Chromosomenenden bei der Zellteilung. Weiterhin werden Polymorphismen und Defekte in Genen, die im Zusammenhang mit der Reparatur von DNA-Schäden oder der Resistenz gegen schädigende Radikale stehen, als Alterungsfaktor gesehen. Neben den Prozessen, die sich auf der Ebene der DNA abspielen, beeinflussen auch andere Faktoren die zellulären Mechanismen des Alterns. Beispielsweise wurde in Modellorganismen eine Verlängerung der Lebensdauer durch verringerte Nahrungszufuhr beobachtet. Beim Menschen gelten die Befunde allerdings noch als unklar.

Abschließend bleibt festzustellen, dass die eigene zelluläre Abwehr gegen freie Radikale (ROS) ein wichtiger Faktor gegen den Alterungsprozess ist. Neben der eigenen genetischen Prägung sind mit der Nahrung aufgenommene Antioxidantien (Vitamine A, C und E) dafür von entscheidender Bedeutung, ebenso wie eine insgesamt gesunde Ernährung und Bewegung in Freien (Vitamin D-Produktion). Dann können auch die Gene/Chromosomen gesund alt werden.

Quellen

- 1 Pearl, R. The rate of living. Knopf, New York, 1928
- 2 Harmann, D. (1956) *J. Gerontol.* 11, 298–300
- 3 Harmann, D. (1972) *J. Am. Geriatr. Soc.* 20, 145–147
- 4 Rensing, L., Meyer-Grahe, U., Ruoff, P. (2001) *Biol. Unserer Zeit* 31, 305–311.
- 5 Rensing, L., Koch, M., Rippe, V. Mensch im Stress. Psyche, Körper, Moleküle. Spektrum/Elsevier, Heidelberg, 2006
- 6 Rensing, L. et al. (2004) *Blickpunkt der Mann* 2, 7–12.
- 7 Marnett, L.J. (2002) *Toxicology* 181/182, 219–222.
- 8 Rensing, L. & Rippe, V. *Altern*. Springer, Berlin-Heidelberg, 2014.
- 9 Moller, P. et al. (2010) *Free Radic. Biol. Med.*, 48, 1275–1285.
- 10 Barja G. (2004) *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 79, 235–251.
- 11 Orr, W.C. & Sohal, R. S. (1994) *Science* 263, 1128–1130.
- 12 Bykov, V.J. et al., (1998) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7, 199–202.
- 13 *Biomarkers Prev.* 7(3): 199–202, 1998
- 14 Hecht, S.S. (1999) *J. Natl. Cancer Inst.*, 91, 1194–1210.
- 15 Powell, S. & McMillan, T. J. (1990) *Radiother Oncol.* 19, 95–108.
- 16 Allsopp, R. C. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 10114–10118.
- 17 Choi J. et al. (2008) *Brain Behav. Immun.* 22, 600–625.
- 18 Richards, J.B. et al. (2007) *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 1420–1425.
- 19 Cherkas, L.F. et al. (2008) *Arch Intern. Med.* 168, 154–158.

Jörg Vienken

Was hat eine Polymeralterung mit Demographie zu tun?

Einleitung

Die bekannten Veränderungen in der Zusammensetzung der Altersstruktur in der Bevölkerung der westlichen Industrienationen hat nicht nur Konsequenzen für die Sozial- und Versicherungssysteme. Auch die veränderte physiologische Situation älterer Menschen, die oft mit Begleiterkrankungen verbunden ist, beeinflusst die Medikation von Pharmaka und den Einsatz von Medizinprodukten. Sie erfordert damit ein besonderes Augenmerk auf deren Anwendung.

Die meisten älteren Patienten leiden außerdem an chronischen Krankheiten. Dazu gehören Diabetes, Rheuma, Arterienverkalkung oder Nieren- und Herzversagen. Sie sind dabei dauerhaft auf besondere Therapieverfahren oder die Hilfe von Medizinprodukten angewiesen, die zu Beginn ihres 'Entwicklungszyklus' jedoch nicht gezielt für die Behandlung älterer Menschen entwickelt worden sind. Es ist daher geübte Praxis, dass diese in klinischen Untersuchungen erneut charakterisiert und an diese besondere Situation angepasst werden.

Die Themen „Langzeitexposition und Biostabilität“ haben daher bei Kunststoffen für die Medizintechnik zunehmend Aufmerksamkeit erlangt. Im Rahmen einer Umfrage unter Herstellern und Wissenschaftlern wurde die Frage „Können Extrakte aus Pharmaka und Medizinprodukten ein Problem sein?“ positiv von 67% der Befragten im Jahr 2010 und im Jahr 2015 sogar von 75% der Befragten bewertet [1].

Denn auch Kunststoffe unterliegen Alterungsprozessen, die besonders unter den harschen Bedingungen des menschlichen Körpers und den damit möglichen Korrosionsprozessen zu Abbaureaktionen führen können.

Beispielhaft soll hierauf Untersuchungen der mechanischen Stabilität des Isolationsmaterials von implantierten Herzschrittmachern hingewiesen werden. Bedingt durch die typische Langzeitexposition können in der physiologischen Umgebung des Körpers Strukturveränderungen im Grundgerüst des Kunststoffes auftreten, die die Stabilität dieses Medizinprodukts nachteilig beeinflussen [2]. Die Internationale Standardorganisation „ISO“ ist sich dieses Problems seit langem bewusst und hat in den von ihr veröffentlichten Serie von „ISO 10993“-Normen vorgegeben, dass bei der Herstellung und Testung von Kunststoffen für die Medizintechnik dem Problem der Biostabilität besondere Aufmerksamkeit gelten muss [3]. Es stellt sich daher die Frage: „Was ist Biostabilität und was hat das mit Medizinprodukten zu tun?“

Biostabilität und Blut als Kontaktmedium

Im März 1993 trafen sich die Meinungsführer zum Thema Blutverträglichkeit zur „Consensus Conference on Biocompatibility“ in Königswinter bei Bonn. Ein wesentliches Ziel der Konferenz war es, Begriffe und Definitionen zu formulieren, mit denen das Verhalten von Biomaterialien im Kontakt mit Körperflüssigkeiten charakterisiert werden kann [4]. Den Begriff „Biostabilität“ definierte man wie folgt: „Biostabilität ist die Eigenschaft einer Substanz, in einer gegebenen biologischen Umgebung unverändert zu bleiben.“ Es ist davon auszugehen, dass dieses Ziel, z.B. für Implantate oder Materialien, die im Kontakt mit Körperflüssigkeiten stehen, unter den folgenden beiden Rahmenbedingungen nur schwerlich erreicht werden kann: bei älteren Menschen müssen wir mit einer Langzeitanwendung rechnen, die unter den besonderen pathologischen Bedingungen des älteren Menschen zu chemischen Veränderungen des Biomaterials, sowie zur Beeinflussung von physiologischen Parametern des Anwenders führen können. Welche Rolle spielt das Medium „Blut“ in diesem Zusammenhang? Fünf bis sechs Liter Blut zirkulieren in den Adern des Menschen. Es setzt sich etwa je zur Hälfte aus dem flüssigen Plasma und den darin befindlichen Blutzellen zusammen. Wir gehen aber heute von etwa 1300 verschiedenen Inhaltsstoffen des Blutes aus, dessen Zusammensetzung **Tabelle 1** zeigt.

Tab 1: Inhaltsstoffe des Humanblutes.

| Plasma(>1300 verschiedene Inhaltsstoffe) | | Zellen | |
|--|---|--|---------------------------------------|
| 1. | Proteine <i>Albumin: 55%</i> <i>Immunglobuline (Antikörper): 35%</i> <i>Fibrinogen: 5%</i> <i>Andere 5%</i> | 1. | Erythrozyten: $4-5 \cdot 10^{12}$ L |
| 2. | Wasser | 2. | Blutplättchen: $200-300 \cdot 10^9$ L |
| 3. | Anorganische Salze | 3. | Leukozyten: $6-8 \cdot 10^9$ L |
| 4. | Hormone | Leukozyten mit >20 verschiedenen Untergruppen, z.B.: T-Zellen, B-Zellen, Monozyten, Makrophagen, Killerzellen, Granulozyten, usw | |
| 5. | Fette | | |
| 6. | Enzyme | | |

Humanblut ist mit seinen mehr als 1300 Inhaltsstoffen nicht nur ein wertvoller Rohstoff für die pharmazeutische Industrie und die Transfusionsmedizin. Seine Zusammensetzung erlaubt die Benetzung jeder Biomaterialoberfläche, unabhängig von der jeweiligen Oberflächeneigenschaft.

Diese Übersicht zeigt, dass Mephisto in Goethes *Faust II* mit seiner Feststellung „Blut ist ein ganz besonderer Saft!“ recht hatte. Humanblut ist mit seinen mehr als 1300 Inhaltsstoffen nicht nur ein wertvoller Rohstoff für die pharmazeutische Industrie und die Transfusionsmedizin. Seine Zusammensetzung erlaubt die Benetzung jeglicher Biomaterialoberfläche, unabhängig von der jeweiligen Oberflächeneigenschaft. Für den Einsatz von Polymeren im menschlichen Körper bedeutet dies, dass keine Rolle spielt, ob die Oberfläche eines Biomaterials eine hydrophile-, hydrophobe- oder lipophile-, oder eine Domänenstruktur aufweist. Blut ist in der Lage alle diese Oberfläche zu benetzen und damit besser als jedes chemische Lösungsmittel in der Lage ist, nicht kovalent gebundene Strukturen oder chemisch labile Komponenten aus einem Biopolymer herauszulösen. Entsprechend extrahierte Moleküle oder Substanzen können so über Arterien und Venen im Körper verteilt und unkontrolliert abgelagert werden. Solche Polymerextrakte sind dann in der Lage, Blutzellen, besonders Leukozyten, zu aktivieren. Als Folge werden Botenstoffe (z.B. Zytokine) freigesetzt und entzündliche Reaktionen provoziert.

Für die Charakterisierung von Kunststoffen, die später im menschlichen Körper zum Einsatz kommen sollen, gelten daher besondere Vorgaben, die bereits bei deren Produktion eingehalten werden müssen. Sie sollen laut ISO 10993-12 mit solchen Lösungsmitteln auf extrahierbare Substanzen getestet werden, die blut-ähnliche Eigenschaften haben [3]. Auf diese Weise ist die mögliche Extraktion von möglicherweise schädlichen Substanzen durch Blut bereits im Vorfeld der späteren Anwendung zu simulieren. Leider ist bis heute noch kein chemisches Lösungsmittel verfügbar, mit dem alle Extraktionseigenschaften von Humanblut simuliert werden können. Polymerhersteller und Produzenten von Medizinprodukten folgen daher den in ISO 10993-12 vorgegebenen Rahmenbedingungen für die Testung von Biomaterialien: es werden regelmäßig drei verschiedene Medien eingesetzt, die zusammen genommen Bluteigenschaften simulieren sollen: polare Lösungen (z.B., Wasser, oder entsprechende wässrige Lösungen), unpolare Medien (z.B., Sesam-Öl, usw.) sowie Ethanol/Wasser-Gemische, Serum oder Poly-ethylen-glykol (PEG). Spätere klinische Nebenwirkungen auf der Basis von Polymerextrakten können trotzdem nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Beispiele für klinische Nebenwirkungen nach Veränderungen bei Biomaterialien und Freisetzung von Extrakten

1. Alterung von Polymeren als Ursache für die Freisetzung von Extrakten

Wenn Polymere aus labilen chemischen Verbindungen bestehen, sind Alterungsprozesse nicht auszuschließen. Labile chemische Verbindungen können z.B. Ester sein, die je nach vorliegendem pH-Wert einer Verseifung unterliegen. Bei einer solchen chemischen Reaktion zerfallen Ester in ihre entsprechenden Ausgangsstoffe Alkohol und Säure.

Als Beispiel soll hier aus einer Arbeit zitiert werden, die im amerikanischen Medizinjournal JAMA im Jahr 2000 publiziert wurde [5]. Über schwere klinische Nebenwirkungen berichtete damals das „Centre of Disease Control (CDC)“ der USA, denn sieben Dialysepatienten klagten dort über schwere Beschwerden von Konjunktivitis, Kopfschmerzen und anderen neurologischen Symptomen, nachdem sie sich kurz vorher

einer Blutwäsche mit Hilfe der Hämodialyse unterzogen hatten. Fünf dieser sieben Patienten verstarben später innerhalb von 13 Monaten. Alle betroffenen Patienten, aber keine der nicht betroffenen Patienten waren mit Dialysatoren als Filter für die Blutwäsche behandelt worden, die älter als 11 Jahre waren und dessen Membran aus dem Ester Cellulose-azetat bestanden. In darauf einsetzenden Untersuchungen der CDC fand man heraus, dass beim Altern von Membranen aus Cellulose-azetat offenbar Abbauprodukte entstehen, wahrscheinlich Essigsäurederivate, die für diese schweren Reaktionen bei den Patienten verantwortlich gemacht werden konnten. Chemische Analysen ähnlich alter Dialysatoren ließen den Schluss zu, dass Abbauprodukte des Polymers entstehen, die, wenn sie direkt in Kaninchenaugen injiziert wurden, zum gleichen Ergebnis wie bei den betroffenen Patienten führten [5]. Medizinprodukte tragen daher auf ihrer Verpackung ein Verfallsdatum, bis zu dem das Produkt zu verwenden ist. Es setzt eine ordnungsgemäße Lagerung voraus, die die Produktbeschaffenheit im Hinblick auf Qualität und Wirkung nicht verändert.

2. Freisetzung von Polymer-Komponenten aus Medizinprodukten

Jeder kennt heute das Hormon Erythropoietin (EPO), das es als Dopingmittel für viele Sportler zu einer traurigen Berühmtheit gebracht hat. Die wenigsten wissen aber, dass dieses Hormon in den 1980er Jahren ursprünglich als rekombinantes Protein zur Therapie der Anämie von Dialysepatienten unter gentechnischen Bedingungen entwickelt wurde. EPO hat nicht nur hormonähnliche Eigenschaften, sondern dient auch als Wachstumsfaktor im menschlichen Körper für die Bildung von roten Blutkörperchen. Es wird bevorzugt in der Niere gebildet. Dialysepatienten leiden an Blutarmut, da wegen des Versagens ihrer Nieren ein Mangel an EPO besteht, wodurch die Bildung von roten Blutkörperchen eingeschränkt ist. Durch Gabe von rekombinantem EPO an Dialysepatienten ist es heute möglich, deren Blutarmut erfolgreich zu therapieren und damit diesen Patienten eine höhere Lebensqualität zu bescheren. Wie groß war aber die Überraschung als in wissenschaftlichen Arbeiten von Antikörpern gegen dieses Hormon die Rede war. Deren Gegenwart führte im menschlichen Organismus zum Auftreten einer normalerweise seltenen „Pure red cell aplasia (PRCA)“ [6]. Dieses Krankheitsbild

manifestiert sich durch eine profunde Anämie, verbunden mit einer Reduktion in der Zahl von Retikulozyten im peripheren Blut und dem Fehlen von erythroiden Vorläuferzellen im Knochenmark. Diesen Patienten konnte nur mit zusätzlichen Bluttransfusionen geholfen werden.

Man rätselte lange über den zugrunde liegenden Mechanismus und dessen ursächlichen Zusammenhang mit der Gabe des rekombinanten Produkts. Schlussendlich haben genaue Untersuchungen mit einer „Reverse Phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)“ zu einem fast trivialen Ergebnis geführt: Verunreinigungen im Gummistempel der Spritze, in der die Lösung des Hormons aufbewahrt und verabreicht wurde, wurden von dieser Lösung im Verlauf der Lagerung (Alterung) extrahiert. Mit der Gabe von EPO gelangten diese Extrakte in den Patienten. Nach einer Oberflächenversiegelung des Spritzenstempels, mit der die Freisetzung dieses extrahierbaren Materials verhindert werden konnte, verschwanden diese schweren klinischen Nebenwirkungen vollständig [7, 8].

3. Der Fall der endokrinen Disruptoren

Im Jahr 2005 hat die europäische Union den permanenten Bann von Chemikalien beschlossen, die als Weichmacher im Kinderspielzeug eingesetzt werden, nachdem Gesundheitsgefahren bekannt geworden sind. Darunter fallen besonders einige Phthalat-Derivate, wie DEHP und BBP. Was war der Grund dafür? Chemische Verbindungen, die unter dem Namen „endokrine Disruptoren“ bekannt sind, wie Di-ethylhexylphthalat (DEHP), Di-butyl-phthalat (BBP) oder auch Bisphenol-A (BPA) und Bisphenol-S (BPS) zeichnen sich durch ihre Konformationsähnlichkeit mit Sexualhormonen, wie Estrogen und Testosteron aus.

Wegen ihrer geometrischen Ähnlichkeit können diese Moleküle ebenso wie die Sexualhormone Östrogen oder Testosteron an den für diese Hormone zuständigen Rezeptoren, z.B. an die Estrogenrezeptoren „ER α “ und „ER β “ binden, der sich an der Zelloberfläche oder auf der Zellkernmembran befindet. Obwohl sie chemisch gesehen keine Hormone sind, lösen sie nach Bindung hormonähnliche Signale in der biologischen Zelle aus und werden deshalb „exogene Hormone“ oder „Xenoestrogene“ genannt. Man hat herausgefunden, dass diese Verbindungen nicht nur die Sexualentwicklung, sondern auch die

Gehirnentwicklung bei Mäusen und Vögeln stören können. Männliche Hirschmäuse zeigen nach Behandlung mit Bisphenol-A weibliche Verhaltensweisen und werden von weiblichen Artgenossen gemieden [9]. Neue Untersuchungen haben gezeigt, dass auch die Gehirnentwicklung im Frühstadium der Entwicklung nach Exposition mit Bis-Phenole gestört wird [10].

Viele dieser Beobachtungen stammen aus Versuchen mit Nagern, Ratten und Mäusen. Sie sind nicht direkt auf den Menschen übertragbar, da die Abbaureaktionen von endokrinen Disruptoren nach anderen physiologischen Kaskaden ablaufen, finden wir zunehmend auch Publikationen, die den Einfluss dieser Substanzen auf biologische Reaktionen beim Menschen beschreiben [11–14].

Auch Medizinprodukte können endokrine Disruptoren enthalten, die im Verlauf einer medizinischen Anwendung extrahiert werden können. Die medizintechnische Industrie widmet sich intensiv diesem Thema besonders im Hinblick auf Neugeborene und Heranwachsende und stellt Schlauchsysteme für Infusionen mit Weichmachern her, die keine Wechselwirkung mit dem „ER α » und „ER β « zeigen.

Schlussfolgerungen

Kunststoffe altern und verändern sich auch bei korrekter Lagerung. Solche Alterungsprozesse können zum Verlust der Biostabilität führen und besonders in der Langzeitexposition bei älteren Patienten teils schwere Nebenwirkungen hervorrufen. Im Sinne der Patientensicherheit sind diese Nebenwirkungen durch eine vorausschauende toxikologische Betrachtungsweise zu reduzieren. Dies ist durch intensive Analysen und experimentelle Simulationen, die zugegebenermaßen schwierig durchzuführen sind, möglich.

Literatur

1. Bioprocess online:Newsletter vom 5. März 2015
2. Dolezil B et al. In vivo degradation of polymers. II. Change of mechanical properties and crosslink density in silicone rubber pacemaker lead insulations during long-term implantation in the human body. *Biomaterials*, 10: 387–392(1989)

3. International Standard Organisation (ISO): Normen ISO 10993-1, 10993-7, 10993-9, 10993-12, 10993-13, 10993-14, 10993-15 (2010)
4. Consensus Conference on Biocompatibility: Nephrol Dial Transplant, 9 (Suppl 2): 1–186 (1994)
5. Hutter J et al. Acute onset of decreased vision and hearing traced to hemodialysis treatment with aged dialyzers. *J Am Med Assoc*, 283: 2128–2134 (2000)
6. Casadevall N et al: Pure red cell aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *New Engl J Med*, 346: 469–475 (2002)
7. Boven K et al., The increased incidence of pure red cell aplasia with an EPREX formulation in uncoated rubber stopper syringes. *Kidney Int*, 67: 2346–2353 (2005)
8. McDougall I et al. Incidence of erythropoietin antibody related pure red cell aplasia: the prospective immunogenicity surveillance registry (PRIMS). *Nephrol Dial Transplant*, 30: 460–466 (2015)
9. Rosenfeld C et al. Maternal exposure to Bisphenol A and genistein has minimal effect on Avy/a offspring coat color, but favours birth of agouti over nonagouti mice. *PNAS* 110: 537–542 (2013)
10. Kinch C et al. Low-dose exposure to bisphenol A and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish. *PNAS*, 112: 1475–1480 (2015)
11. European Food Safety Authority (EFSA): Scientific opinion on the risk to public health related to the presence of Bis-Phenol A in foodstuffs. *EFSA J*, 13: 3–398 (2015)
12. Buteau-Lozano H et al. Xenoestrogens modulate vascular endothelial growth factor secretion in breast cancer cells through an estrogen-receptor dependent mechanism. *J Endocrin*, 196: 399–412 (2008)
13. Lan I et al. Association of urinary Bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *J Am Med Ass*, 300: 1303–1310 (2008)
14. Vandenberg L et al. BisphenolA and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine Rev*, 30: 75–95 (2009)

Anschriften der Autorinnen und Autoren

Prof. Dr. Gerhard Banse
Theodorstraße 13
12623 Berlin

Prof. Dr. Andreas Meisel
Zäckericker Loose 26
16259 Oderaue

Prof. Dr. Rita Bernhardt
Goldammerweg 7
66129 Saarbrücken

Prof. Dr. Sabine Müller
Wolgaster Straße 130b
17487 Greifswald

Prof. Dr. Charles Coutelle
Imperial College London
Faculty of Medicine
South Kensington Campus
London SW7 2AZ

Prof. Dr. med. Horst Nizze
Emeritus des Instituts für Pathologie
Universitätsmedizin Rostock
Postfach 10 08 88
18055 Rostock

Prof. Dr. Hans-Dieter Faulhaber
Elsterstraße 17
12526 Berlin

Prof. Dr. Götz Nowak
Kirchhoffweg 7
99097 Erfurt

Prof. Dr. Johann Gross
Dolgenseestraße 14
10319 Berlin

Prof. Dr. Peter Oehme
Hubertusstraße 45
16567 Mühlenbeck

Prof. Dr. Thomas Michael Groth
Scherenbergstr. 24
10439 Berlin

Prof. Dr. Werner Scheler
Lienhardweg 47
12557 Berlin

Prof. Dr. Gisela Jacobasch
Ahornallee 4
16348 Wandlitz

Prof. Dr. Stephan Tanneberger
Hauptstraße 11
17406 Rankwitz

Prof. Dr. Horst Klinkmann
Schliemannstraße 7
18059 Rostock

Prof. Dr. Jörg Vienen
Mozartstraße 14
61250 Usingen

Prof. Dr. Marlies Knipper
Univ. Hals-Nasen-Ohrenklinik
Tübingen Hearing Research Center (THRC)
Molecular Physiology of Hearing
Elfriede-Aulhorn-Str. 5
72076 Tübingen

Prof. Dr. Detlev H. Krüger
Institut für Medizinische Virologie,
Helmut-Ruska-Haus
Charité-Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1
10117 Berlin