

DISSERTATION

Wertigkeit der Neuronenspezifische Enolase und des Proteins
S-100 zur Einschätzung der neurologischen Prognose nach
kardiopulmonaler Reanimation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katja Eckermann

aus Hoyerswerda

Gutachter: 1. PD Dr.med. Thomas Dschietzig
2. Prof. Dr.med. Karl Werdan
3. Prof. Dr.med. Thomas Meyer

Datum der Promotion: 14.06.2009

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	5
2. Aufgabenstellung – Ziel der Arbeit	9
3. Grundlagen	9
3.1. Grundlagen des Herz-Kreislauf-Stillstandes	9
3.2. Bisher untersuchte Parameter – Prädiktoren	10
3.2.1. Klinische Parameter.....	10
3.2.2. Bildgebende Diagnostik.....	12
3.2.3. Elektrophysiologische Befunde.....	13
3.2.4. Biochemische Parameter.....	13
4. Material und Methoden	18
4.1. Patienten	18
4.1.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien.....	19
4.2. Untersuchungsablauf	19
4.3. Messverfahren und Testprinzip für Protein S-100B und NSE	20
4.4. Erfassung Bewusstseinslage – neurologische Einstufung	21
4.5. Statistische Analyse	22
5. Ergebnisse	23
5.1. Ursache der kardiopulmonalen Reanimation	23
5.2. Begleiterkrankungen	23
5.3. Reanimationsorte – Glasgow-Outcome-Skala	25
5.4. ROC-Analyse – Sensitivität – Spezifität	28

5.5.	Ergebnisse der Bestimmung der Neuronenspezifischen Enolase	34
5.6.	Ergebnisse der Bestimmung des Protein S-100.....	35
6.	Diskussion.....	36
6.1.	anamnestische und klinische Parameter.....	37
6.2.	Neuronenspezifische Enolase und Protein S-100.....	38
7.	Zusammenfassung.....	44
8.	Literaturverzeichnis.....	47
9.	Eidesstattliche Erklärung.....	58
10.	Danksagung.....	59
11.	Lebenslauf.....	60

1. Einleitung

Seit Jahrhunderten versucht man, Menschen, die kein eindeutiges Lebenszeichen mehr zeigen, wieder ins Leben zurückzurufen. Dabei gab es auch damals schon die verschiedensten Möglichkeiten und Methoden, um leblose Patienten zu reanimieren.

Man sprach diese an, berührte sie, gab Atemspende und versuchte sich bereits an der Thoraxkompression.

Von Konfuzius (China, 500 v. Chr.) ist das folgende Zitat zu diesem Thema überliefert: „Der Retter eines Menschen ist größer als der Bezwinger einer Stadt.“

Der Ursprung der Atemspende ist nicht bekannt, man weiß nur, dass die Methode sehr alt ist.

Möglicherweise hatten die Ägypter schon vor etwa 5000 Jahren erste Kenntnisse von Beatmungstechniken. Funde aus dieser Zeit deuten darauf hin (Ocklitz 1996).

Auch im 2. Buch der Könige im Alten Testament (etwa 700 v. Chr.) konnte man erste Hinweise auf mögliche Durchführung von Atemspenden finden. Hier heißt es: „Als Elischa in das Haus kam, lag das Kind tot auf seinem Bett. Er ging in das Gemach, schloss die Tür hinter sich und dem Kind und betete zum Herrn. Dann trat er an das Bett und warf sich über das Kind; er legt seinen Mund auf dessen Mund, seine Augen auf dessen Augen, seine Hände auf dessen Hände. Als er sich so über das Kind hinstreckte, kam Wärme in dessen Leib.“

Im 19. Jahrhundert dann beschrieb man eine Vielzahl von Verfahren für eine direkte oder indirekte Atemspende, wie zum Beispiel die nach Silvester. Hierbei praktiziert man die Beatmung durch aktive Armbewegung (Silvester 1858)

Anfang der sechziger Jahre des 20. Jahrhunderts führten verschiedene Forschungsergebnisse zur Entwicklung der heutigen Reanimationstechnik. Die von Kouwenhoven eingeführte geschlossene Herzdruckmassage war der Durchbruch und ist in den letzten Jahrzehnten das Mittel der Wahl geworden, um Menschen nach einem Herz-Kreislauf-Stillstand zu reanimieren (Greene et al. 1957, Kouwenhoven et al. 1960).

Mit Zunahme der Herz-Kreislauf-Erkrankungen in den zivilisierten Ländern steigt auch die Zahl der Patienten, die einen Herz-Kreislauf-Stillstand erleiden und primär reanimiert werden müssen, ständig an. Die Datenlage ist sehr unvollständig, man geht aber zum Beispiel in einer schottischen Studie von ca. 55-60 außerklinisch Reanimierten pro 100000 Einwohner aus (Nolan 2005).

Durch die ständige Zunahme des Wissens über den Herz-Kreislauf-Stillstand, auch hinsichtlich der Pharmakotherapie, und durch die sich ständig verbessernde Organisation des Rettungsdienstes gelingt es heute, fast jeden zweiten Patienten mit akzeptabler Kreislaufzirkulation in die Klinik zu bringen (Abramson et al. 1992). Dies nennt man primären Reanimationserfolg. Der sekundäre Reanimationserfolg, welcher die vollständige Eingliederung in die Gesellschaft ohne nennenswerte neurologische Defizite bedeutet, wird jedoch deutlich seltener erreicht. Es existieren unterschiedliche Studien mit abweichenden Erfolgsraten zwischen 3% und 27% (Schneider et al. 1993, Mc Grath et al. 1987) bei Patienten, die außerhalb der Klinik reanimiert werden. Innerhalb der Klinik Reanimierte haben eine bessere Prognose. Die Erfolgsrate liegt hier bei 29 – 43% (Beuret et al. 1993, Heller et al. 1995, Timermann et al. 1989). Eine neuere polnische Studie aus den Jahren 2001 und 2002 beschreibt bei präklinischer Reanimation eine Erfolgsrate von durchschnittlich 45 % (Jakubaszko et al. 2002), wobei die Erfolgsrate nach Laienreanimation im weiteren Umkreis von Notarztstützpunkten mit 12 – 15% beschrieben wird (Nowak 2001) und bei Reanimation durch geschultes Personal in Umgebung von Kliniken 45-62% beträgt (Piechocki et al. 2002). Aktuell ist die umstrittene prospektive amerikanische Studie, in der die Überlebenschance und damit der Reanimationserfolg durch Verzicht auf Atemspende während der ersten Reanimationsminuten deutlich gebessert wurde. In den ersten Minuten erfolgt hier nur eine isolierte Thoraxkompression, auf die Beatmung wird bei diesen Patienten initial vollständig verzichtet. Hier konnten nach Einführung dieser Methode 17,6% die Klinik lebend verlassen (Bentley et al. 2008).

Insgesamt aber entwickeln bis zu 30% der Überlebenden schwere neurologische Defizite bis hin zu persistierenden Komazuständen (Cobbe et al. 1996, Longstreth et al. 1983). Diese neurologischen Defizite resultieren aus der hypoxisch ischämischen Hirnschädigung mit Neuronenuntergängen während der Phase des Herz-Kreislauf-Stillstandes.

Zur Minderung des zerebralen Schadens, nach einer erfolgreichen Reanimation, wird für bewusstlose Erwachsene mit einem überlebten Kammerflimmern eine Abkühlung auf 32-34°C für 12-24 Stunden empfohlen. Dadurch soll signifikant die Prognose verbessert werden. Ausgangspunkt dieser Überlegungen war, dass Patienten nach Ertrinkungsunfällen in kaltem Gewässer trotz langer Zeit ohne Kreislaufzirkulation und Sauerstoffzufuhr mit guten neurologischen Ergebnissen überleben konnten. Erste Studien dazu wurden bereits Anfang der sechziger Jahre durch Safar geleitet und in den folgenden Jahrzehnten weitergeführt (Safar et al. 1958, 1996, 2002).

2002 wurden zwei große Studien aus Europa (The Hypothermia After Cardiac Arrest Study Group 2002) und Australien (Bernhard et al. 2002) veröffentlicht, die bei Patienten, die nach

einem Herz-Kreislauf-Stillstand mit einer therapeutischen Hypothermie behandelt wurden, einen deutlichen Überlebensvorteil gegenüber einer normothermen Vergleichsgruppe gezeigt haben (55% vs. 39%).

2. Aufgabenstellung – Ziel der Arbeit

Nach primär erfolgreicher Reanimation (CPR) versterben zahlreiche Patienten im weiteren Verlauf und rund 30 –50 % der Langzeitüberlebenden entwickeln ein nichtreversibles apallisches Syndrom – oft nach kostenintensiver und langwieriger Intensivtherapie (Ragoschke et al.2007). Die frühzeitige Ermittlung der individuellen Prognose von Patienten, die nach einer Reanimation komatös bleiben, ist ein derzeit nur unzureichend geklärtes Problem der Intensivmedizin.

Ziel dieser klinischen Studie war es zu untersuchen, ob durch die Bestimmung der Serumkonzentration des Gliaproteins S-100 und der Neuronenspezifischen Enolase bei Patienten nach kardiopulmonaler Reanimation eine frühzeitige und prognostisch relevante Aussage hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit des sekundären Reanimationserfolges getroffen werden kann, die eine Grundlage für die zerebrale Rehabilitation darstellt.

Da es in der Literatur zunehmend Studien mit deutlichen Diskrepanzen hinsichtlich der Normwerte und pathologische Grenzwerte von NSE und S-100 gibt, wollten wir in unserer Studie zusätzlich eigene Grenzwerte definieren, die im klinischen Alltag einer internistischen Intensivstation Anwendung finden sollen.

3. Grundlagen

3.1. Grundlagen des Herz-Kreislauf-Stillstandes

Als Herz-Kreislauf-Stillstand bezeichnet man den plötzlichen Stillstand spontaner und effektiver Ventilation und systemischer Perfusion, bzw. das plötzliche Sistieren der kardialen Pumpfunktion.

Der Herz-Kreislauf-Stillstand ist potentiell reversibel und lässt sich bei schnellem Eingreifen durch die kardio-pulmonale Reanimation therapieren (Schmailzl et al. 1996). Das Überleben der Patienten hängt im Wesentlichen vom Zeitpunkt des Beginns der Reanimation ab. Die sogenannte Wiederbelebenszeit variiert von Organ zu Organ. Das vulnerabelste Organ, welches das Leben des Patienten limitiert, ist das Gehirn.

In 80% finden wir als Ursache für den plötzlichen Herz-Kreislauf-Stillstand den plötzlichen Herztod, wie er bei Herzinfarkten oder primären Herz-Rhythmusstörungen auftritt. In 4% findet man andere innere Erkrankungen, wie zum Beispiel Lungenerkrankungen, bei weiteren 2% liegen Schlaganfälle vor. Lungenembolien und andere Erkrankungen machen 9% der Ursachen aus, äußere Ursachen, wie zum Beispiel Unfälle 3%, Erstickungen 2%, Vergiftungen und Stromschäden weitere 9% (Pell et al. 1989).

Kommt es zu einem akuten Herz-Kreislauf-Stillstand, entwickelt sich in ca. 6 – 8 sec eine Bewusstlosigkeit. Nach 20 – 30 sec findet man im EEG isoelektrische Linien. Dauert die Ischämie weiter an (länger als 4 min), kommt es zu einem irreversiblen Hirnschaden mit Nervenzelluntergängen (Bassetti et al. 1987). Dieser wird durch den Wassereinstrom in die Zelle hervorgerufen und führt zu deren Beeinträchtigung.

Zusätzlich verschlechtert die Unterbrechung der zerebralen Durchblutung auch den Energiestatus der Hirnzelle innerhalb weniger Minuten und die Homöostase der Ionen wird erheblich gestört. Deshalb kommt es zu o.g. Abfolge.

Ein weiteres Problem stellt der Anstieg des intrazellulären Kalziums dar (erhöhter Einstrom in Hirnzelle, verstärkte Freisetzung aus intrazellulären Speichern), der eine Reihe von Reaktionen zur Folge hat, an dessen Ende die Zellzerstörung steht (Rami et al. 1992, Siesjö et al. 1992).

Durch ischämische Schädigung des Hirngewebes werden neuronale und gliale Proteine in die zerebrospinale Flüssigkeit abgegeben. Zahlreiche dieser Eiweiße (NSE, S-100, Procalcitonin) wurden in wissenschaftlichen Arbeiten untersucht.

Unter normalen Bedingungen ist die Blut-Hirn-Schranke für diese Proteine eine selektive Barriere zwischen Nervengewebe und peripherem Kreislauf. Die Endothelien, welche zu großen Teilen mit tight junctions verbunden sind, selektionieren die Diffusion oder verhindern sie sogar.

Durch Hypoxie kann jedoch diese physiologische Grenze nicht mehr erhalten werden und es kommt zu einem Übertritt der Proteine in das Blut, wodurch sie qualitativ und quantitativ messbar werden.

3.2. Bisher untersuchte Parameter - Prädiktoren

Bei einem Kreislaufstillstand stellt sich unweigerlich die Frage nach dem Sinn von Reanimationsmaßnahmen und deren Abbruch. Diese Entscheidungen werden durch individuelle, international und kulturelle, rechtliche, traditionelle, religiöse, soziale und ökonomische Faktoren beeinflusst (Baskett et al. 2004 / 2005).

Neben dem Beginn von Reanimationsmaßnahmen wird auch die Beendigung kontrovers diskutiert. Deshalb ist es notwendig, eindeutige Prädiktoren, die mit einem möglichen sekundären Reanimationserfolg oder Misserfolg einer Reanimation korrelieren, zu finden.

Insgesamt sind die Ergebnisse der kardiopulmonalen Reanimation schlecht und wenn man sich Studien vergangener Jahre ansieht, haben sich die Ergebnisse im Laufe der Zeit nicht wesentlich geändert. Ein möglicher Grund ist auch die fehlende Selektion der Patienten insbesondere im Fall der cardiopulmonalen Reanimation (CPR) innerhalb des Krankenhauses. Möglicherweise wird die frühzeitige Entscheidung, einen Patienten prinzipiell nicht zu reanimieren, zu selten getroffen (Carlsson et al. 1998).

Im Rahmen der Multivarianzanalyse ihrer Studie zu Kurz- und Langzeitergebnissen nach CPR zeigten Carlsson und seine Arbeitsgruppe, dass das Alter der Patienten, der primäre Herzrhythmus und der initial bestimmte pH-Wert die prädiktiven Kriterien des Reanimationserfolges in der Klinik darstellen (Carlsson et al. 1998), außerhalb der Klinik waren es Hypoxiezeit und primärer Herzrhythmus (Carlsson et al. 1998).

3.2.1. Klinische Parameter

Verschiedene klinische Daten korrelieren mit dem sekundären Reanimationserfolg und nehmen Einfluss auf die neurologische Prognose. Diese sind in Tabelle 1 dargestellt.

Prädiktor	Interpretation	Quelle
* Alter des Patienten	Alter > 70 Jahre ist schlechter als Alter < 70 Jahre	(Cooper et al. 1997)
* Grunderkrankung	mehrere und schwerwiegende Grunderkrankungen verschlechtern die neurologische Prognose	(Hallstrom et al. 1996)
* initialer EKG-Rhythmus	pulslose elektrische Aktivität schlechtere Prognose als Kammerflimmern und ventrikuläre Tachykardie	(Martens et al. 1992)
* Ätiologie	eine kardiale Genese ist prognostisch günstiger als eine traumatische	(Kulisma et al. 1997)
* Zeitintervall zwischen Kollaps und Eintreffen des Notarztes	der wichtigste Prädiktor ist das Zeitintervall zwischen Kollaps und Defibrillation	(Becker et al. 1997) (Martens et al 1993)
* Zeitintervall zwischen Kollaps und Wiedererlangen des spontanen Kreislaufs	positive Prädiktoren sind: der Beginn der Reanimation <6min nach Kollaps und die Dauer der Reanimation <15min	(Bialecki et al. 1995) (Abramson et al 1985)
* kumulative Adrenalindosis	zunehmende kumulative Dosen sind ungünstige prädiktive Parameter	(Behringer et al. 1998) (Stiell et al. 1992)

Tab.1: verschiedene Prädiktoren für neurologisches Outcome nach Reanimation

3.2.2. Bildgebende Diagnostik

Neben klinischen und biochemischen Kriterien stellen bildgebende Verfahren eine weitere Untersuchungsmethode dar, die auf eine prognostische Wertigkeit nach einer CPR und der akuten Minderperfusion des Zentralnervensystems nach dieser Reanimation untersucht werden. Zahlreiche wissenschaftliche Studien (Arbelaez et al. 1999, Fujioka et al. 1999, Schmitz et al. 1998) beschäftigten sich mit der prognostischen Wertigkeit von bildgebenden Verfahren wie Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) und der Protonen-Magnet-Resonanzspektroskopie (MRS).

Die **Computertomographie (CT)** spielt dabei eine eher untergeordnete Rolle, da auch eine unauffällige cerebrale Computertomographie eine ungünstige Prognose nicht signifikant ausschließt. Man kann allenfalls jedoch sagen, dass Patienten mit einem diffusen Hirnödem 3 Tage nach Reanimation eine deutlich schlechtere Prognose haben (Morimoto et al. 1993).

In der **Magnetresonanztomographie (MRT)** lassen sich durch eine globale cerebrale Hypoxie entstandene pathologische Veränderungen im Bereich der Basalganglien, des Zerebellums und des Cortex mit der diffusionsgewichteten MR-Bildgebung gut darstellen. In der T2-gewichteten Bildgebung ist das MRT dem CT insbesondere in der Detektion von Basalganglienläsionen deutlich überlegen (Wallays et al. 1995). Mittels einzelner Untersuchungen ist aber keine Aussage über die zu erwartende Prognose möglich. Serielle MRT-Befunde können aber zur prognostischen Bewertung beitragen (Berek et al. 1997).

Die **Positronen-Emissionstomographie (PET)** ermöglicht die Identifizierung einer irreversiblen kortikalen Schädigung nach zerebraler Hypoxie (Rudolf et al. 2000). Darüber hinaus gibt es eine Korrelation zwischen der Abnahme des zerebralen Blutflusses und des zerebralen Sauerstoffverbrauches mit der neurologischen Langzeitprognose (Oder et al. 1999).

3.2.3. Elektrophysiologische Befunde

Ein **Elektroenzephalogramm (EEG)** kann frühestens 48 h nach Reanimation bzw. nach Ende einer kontinuierlichen Analgosedierung eingesetzt werden. Unterschiedliche EEG-Muster, wie zum Beispiel das Alpha-Koma, das Burst-Suppression Muster und das isoelektrische EEG sind mit einer hohen Spezifität hinweisend auf eine schlechte Prognose (Zandenbergen et al. 2000). Ein hoher technischer Aufwand, Störanfälligkeit und Sedierungsmaßnahmen begrenzen aber die Aussagekraft hinsichtlich des prognostischen Wertes (Prior et al 1985; Rothstein et al. 1981; Neundörfer und Witzel 2002).

Eine Messung **somatosensorisch evozierter Potentiale (SSEP)** ist auch bei kontinuierlicher Sedierung aussagekräftig und detektiert 48 Stunden bis 7 Tage nach Reanimation mit bis zu 100% Spezifität eine schlechte neurologische Prognose (Madl et al. 2000; Sherman et al. 2000).

3.2.4. Biochemische Parameter

In vergangenen Jahren wurden zahlreiche Studien durchgeführt in denen gezeigt wurde, dass auch biochemische Parameter unabhängige Prädiktoren für die neurologische Prognose nach CPR darstellen können. Dies ist von großem Vorteil, denn gegenüber den o.g. Verfahren ist das eine relativ kostengünstige, von Analgosedierung nicht beeinflusste Untersuchungsmethode.

Die Höhe des **Blutzuckers** unmittelbar nach Reanimation bzw. bei Aufnahme in der Klinik korreliert invers mit der neurologischen Erholung der Patienten (Longstreth et al. 1993). Auch Müllner et al. bewiesen 1997, dass hohe Blutzuckerwerte in den ersten 24 Stunden mit einer schlechten neurologischen Prognose assoziiert sind.

Die Messung der **Laktat-Konzentration** als Marker für das Ausmaß einer Gewebshypoxie brachte nur in sehr hohen Konzentrationen eine hohe Spezifität für ein schlechtes neurologisches Outcome (Müllner et al. 1997) und ist deshalb für den Routinegebrauch nicht interessant.

Das **Procalcitonin** ist ein Protein, das im Serum von gesunden Menschen nicht nachweisbar ist. Es verhält sich wie ein „Akute-Phase-Protein“ und die Hauptindikation zur Bestimmung ist das

Erkennen schwerer bakterieller Infektionen (Russwurm S et al. 1999). Zunehmend gibt es Studien, die darüber berichten, dass das Procalcitonin auch bei Gewebeschädigungen erhöht ist und als Marker (Surrogatmarker) die generelle Sauerstoffschuld des Organismus anzeigt und dadurch die zerebrale Hypoxie reflektiert (Kunz et al. 1998; Meisner et al. 1998).

In den letzten Jahren rückten vermehrt hirngewebspezifische Proteine in den Mittelpunkt des Interesses. Zahlreiche Studien werden zu diesen Proteinen, die auch in unserer Studie untersucht werden sollten, durchgeführt. Deshalb sollen diese nachfolgend ausführlicher dargestellt werden.

Die **Neuronenspezifische Enolase** ist eines von elf Enzymen des Glukosestoffwechsels und katalysiert die Umwandlung von 2-Phospho-D-Glycerat in Phosphoenolpyruvat (Barone et al. 1993, Gerbitz 1989, Horn et al. 1995, Kaiser et al. 1989, Marangos et al. 1987).

Es ist ein Dimer mit einem Molekulargewicht von etwa 78 kDa und einer Plasmahalbwertszeit von 24-36 h (Pahlman et al. 1984) und es liegt als Homo- bzw. Heterodimer in verschiedenen Isoenzymvarianten vor. Die $\alpha\gamma$ - und $\gamma\gamma$ -Isoenzymvarianten werden als NSE bezeichnet (Gerbitz 1989, Marangos et al. 1978).

Die neuronenspezifische Enolase wird in den Neuronen des zentralen und peripheren Nervensystems, sowie in den neuroendokrinen Zellen, insbesondere APUD-Zellen, gebildet und wird hauptsächlich als Tumormarker bei Neuroblastomen und kleinzelligen Bronchialkarzinomen eingesetzt. Die Konzentration kann auch bei anderen Lungen- und Hirnerkrankungen erhöht sein (Pujol et al. 2000, Fujiwara et al. 2002). NSE dient weiterhin als Marker zur

Beurteilung des Schweregrades einer hirneingewanderten organischen Schädigung (Scheler-Hofmann et al. 2005).

Dies konnten bereits Royds et al. in einer 1982 durchgeführten zytochemischen Studie beweisen.

Auch in weiteren durchgeführten Studien konnte nachgewiesen werden, dass NSE als Markerprotein für pathologische

Hirnprozesse gewertet werden kann

(Franis et al. 1983, Steinberg et al. 1983, 1984).

Problematisch ist, dass NSE ein unspezifisches Enzym ist. In einer Studie belegten u.a. Weigand et al. im Jahr 2000, dass es bei septischen Erkrankungen zu einer massiven Erhöhung von NSE

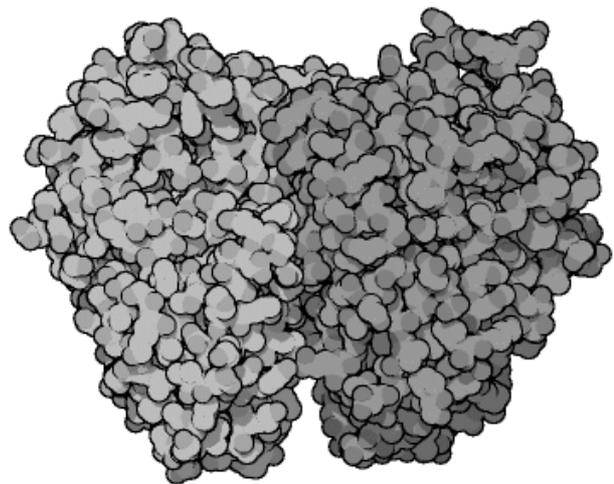


Abb.3: Struktur der Enolase

kommen kann. Auch wir fanden bei Septikern, die später gesund das Krankenhaus verließen, zum Teil deutlich erhöhte NSE-Werte (unveröffentlichte Daten).

Im Serum gesunder Probanden wurden mit verschiedenen NSE-Tests obere Referenzwerte von 6-17 $\mu\text{g/l}$ ermittelt (Gerbitz et al. 1986, Burghuber et al. 1990, Fossa et al. 1992). Die Referenzwerte für den Liquor werden mit 0-6,8 $\mu\text{g/l}$ (Rodriguez-Nunez et al. 1999) bzw. $10,8 \pm 4,5 \mu\text{g/l}$ angegeben (Jacobi et al. 1988).

Zu beachten ist des Weiteren, dass NSE auch in Thrombozyten ($\alpha\gamma$ -Isoform) und Erythrozyten vorhanden ist, so dass eine hämolysfreie Abnahme für relevante Werte die Voraussetzung ist.

Das Protein **S-100** wurde erstmals 1965 von Moore et al. aus Hirngewebe von Rindern isoliert, dass dann in einer 100%igen Lösung von Ammoniumsulfat bei pH 7 löslich war.

Aus diesem Grund erhielt es den Namen S-100 Protein (engl.: soluble = löslich).

Es handelt sich um ein saures, kalziumbindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 10–12 kDa, einer HWZ von ca. 2h und einer Vielzahl von Fraktionen. Zum S-100 Protein gehören 19 Fraktionen, die in unterschiedlichen Zelltypen exprimiert werden. Sie bestehen vorrangig aus 2 Polypeptiden, S-100A1 und S-100B, die unterein-

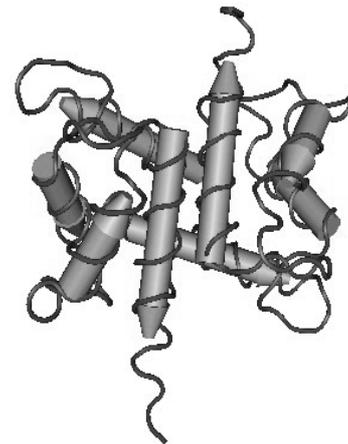


Abb.4: Struktur des S-100-Protein

ander Homo- und Heterodimere ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$) bilden können. Das Heterodimer S-100A ($\alpha\beta$ -Form) findet man besonders in Kardiomyozyten, Speicheldrüsen, Niere, Muskelzellen und Nervenzellen des Hippocampus. Das Homodimer S-100B ($\alpha\alpha$ -Form) wird in hoher Konzentration in Gliazellen und Schwann-Zellen, sowie auch in Chondro- und Melanozyten exprimiert (Brochez et al. 2000, Jäckel et al. 1999, Missler et al. 1997, Rothermundt et al. 2003, Schäfer et al. 1996).

Gesunde Probanden weisen in 95% der Fälle S-100-Konzentrationen $<0,1 \mu\text{g/l}$ im Serum auf. Der Median liegt bei $0,04 \mu\text{g/l}$. Es sind keine geschlechts- oder altersspezifischen Unterschiede bekannt (Wiesmann et al. 1998).

Trotz einer Vielzahl von Studien gibt es noch wenige Erkenntnisse über die genaue Funktion des Protein S-100 im menschlichen Körper. Es scheint jedoch hauptsächlich als „second messenger“

in Verbindung mit Kalzium zu agieren. Intrazellulär ist es an der Modulation von Enzymaktivitäten und der Endo- und Exozytose von bestimmten Zellbestandteilen beteiligt. Die intrazelluläre Wirkung wird ähnlich der der Cytokine beschrieben (Schäfer et al. 1996).

Da die unterschiedlichen Dimere nur in bestimmten Zelltypen vorkommen, eignen sie sich zur medizinischen Diagnostik.

Durch Konzentrationsveränderungen können Rückschlüsse auf Erkrankungen in den jeweiligen Zellen und Geweben gezogen werden. Zum Beispiel werden S-100-Antikörper in der Immunhistochemie eingesetzt, um bestimmte Tumorzellen, die typischerweise S-100 positiv sind (Beispiele: chondroide Tumore, Gliome, Nervenscheidentumore, Melanome) von S-100 negativen abzugrenzen (Stieber et al. 2003). Die Serumwerte von S-100 korrelieren bei malignen Melanomen mit der Eindringtiefe des Primärtumors und sind ein guter Verlaufsmarker, um eine suffiziente Chemotherapie durchzuführen (Henze et al. 1997, Molina et al. 2002, Stieber et al.: 2003). In der neurologischen Diagnostik dient die Bestimmung der S-100-Proteinkonzentration als Marker für die Hirnschädigung. So prognostiziert S-100 bereits bei der Aufnahme nach schwerem Schädel-Hirn-Trauma eine schlechte neurologische Prognose hinreichend genau (Wohrthgen et al. 1997). Man konnte in weiteren Studien auch ähnliche Ergebnisse bei ischämisch bedingten Schlaganfällen beschreiben (Büttner et al. 1997, Fassbender et al. 1997, Lynch et al. 2004, Rothermundt et al. 2003).

Eine überaus wichtige Eigenschaft des S-100, ist die Funktion als neutrotropes Protein. Es unterstützt die Entwicklung des Nervensystems, fördert das Überleben von Neuriten und ist neutroprotektiver Vermittler bei Nervenschädigungen.

Bei Nervenverletzungen jeglicher Art kommt es zu einer verstärkten Expression und Sekretion des Proteins durch akute Gliaktivierung (Hu et al. 1996), wobei bei niedrigeren Konzentrationen aufbauende und bei höheren Konzentrationen destruirernde Prozesse ablaufen. Diese können zum Zelluntergang führen (Fano et al. 1993).

In zahlreichen Studien konnten Fano et al. und Donato et al. Hinweise aufzeigen, dass S-100 nicht nur durch Zellzerstörung freigesetzt, sondern auch aktiv von Zellen des zentralen Nervensystems (ZNS) abgegeben wird und als Vermittler bei der Gliazellumwandlung funktioniert (Fano et al. 1995, Donato et al. 1991).

Zusammenfassend kann man sagen, dass beide Proteine, NSE und S-100, nicht oder in minimaler Konzentration im Extrazellularraum vorhanden sind und man deshalb bei Erhöhung der Konzentration von NSE und S-100 auf Verletzungen bzw. wie oben erwähnt auf Erkrankungen des

ZNS schließen kann (Ingebrigtsen et al. 1995, Johnsson et al. 1995, Lynch et al. 2004, Missler et al. 1997, Persson et al. 1987, Rothermundt et al. 2003, Usui et al. 1994).

4. Material und Methoden

4.1. Patienten

Insgesamt konnten wir im unten genannten Zeitraum Daten von 29 Patienten, davon 10 (34%) Frauen und 19 (66%) Männer, sammeln und auswerten. Unsere Patienten hatten ein Durchschnittsalter von 63 Jahren mit einem Altersgipfel zwischen 60 und 79 Jahren.

Durchschnittsalter aller Patienten	n = 29	100%	66 Jahre ($\pm 9,4$)
Durchschnittsalter der Frauen	n = 10	34,5 %	68,7 Jahre ($\pm 8,7$)
Durchschnittsalter der Männer	n = 19	65,5 %	64,8 Jahre ($\pm 9,7$)

Tab.2: Durchschnittsalter der Patienten unserer Studie

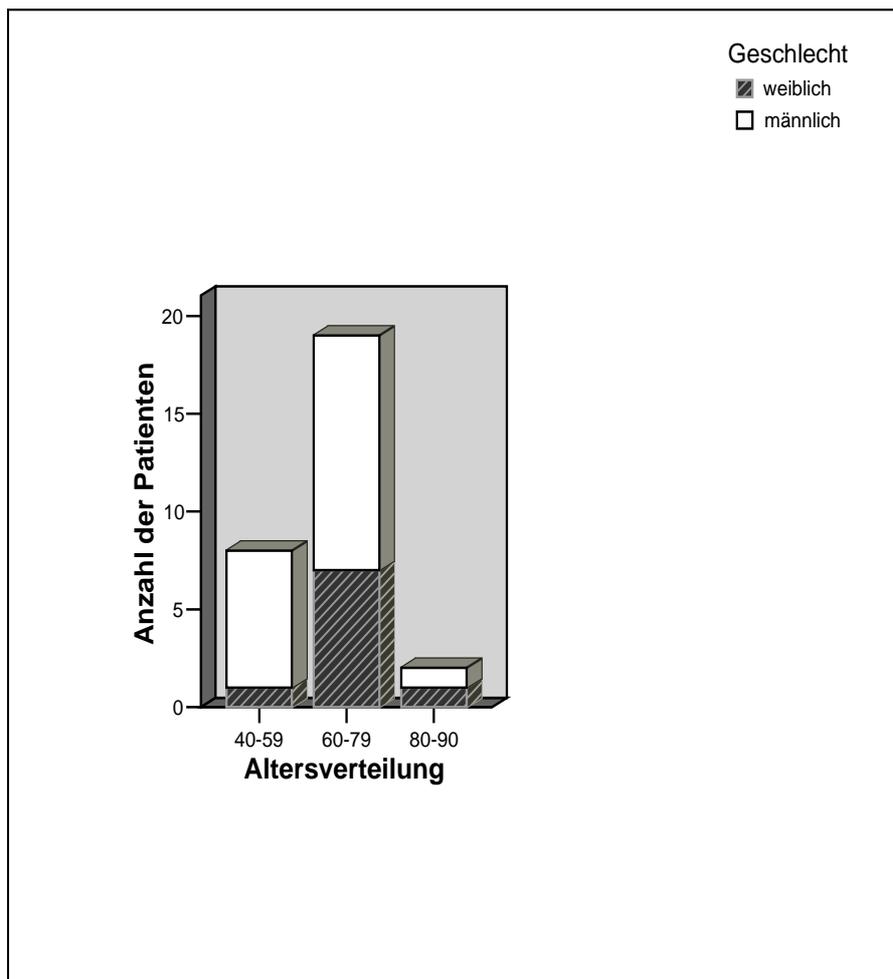


Abb.5: Anzahl der reanimierten Patienten in den verschiedenen Altersgruppen

4.1.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien

In diese klinische Studie wurden Patienten eingeschlossen, die von November 2005 bis Mai 2007 wegen eines akuten Herz-Kreislaufstillstandes primär erfolgreich kardiopulmonal reanimiert wurden und danach auf die internistische Intensivstation der Klinik für Kardiologie und Angiologie der Charité – Universitätsklinikum Berlin, Campus Mitte aufgenommen und dort weiterbehandelt wurden. Der Herz-Kreislauf-Stillstand wurde dabei definiert als Pulslosigkeit und das Fehlen einer Spontanatmung.

Die Aufnahme in diese Studie erfolgte unabhängig davon, ob die Reanimation außerhalb des Krankenhauses, in anderen medizinischen Einrichtungen oder auf der Intensivstation der eigenen Klinik erfolgte.

Aus unserer Studie ausgeschlossen wurden Patienten im Koma durch Hypoglykämie oder mit bekannter Krankheit im präterminalen Stadium und Patienten die initial hirntot waren. Auch das Vorliegen einer primär traumatischen Hirnschädigung, ein akuter Hirninfarkt sowie eine frische intrazerebrale Blutung waren Ausschlusskriterien. Da bei Patienten mit Tumoren der Lunge und Bronchien, mit Gliomen und Melanomen, aber auch bei anderen schwerwiegenden Lungen- und Hirnerkrankungen NSE und S-100 erhöht sein können, wurden auch diese Patienten nicht in die Studie aufgenommen.

4.2. Untersuchungsablauf

Im Rahmen des stationären Aufenthaltes wurde dem Patienten bei Aufnahme sowie an den weiteren 6 aufeinanderfolgenden Tagen Blut entnommen und unter anderem auf die Konzentration von NSE und S-100 untersucht und in entsprechenden Kurven ausgewertet. Zusätzlich wurde täglich eine Einstufung der Bewusstseinslage des Patienten mittels des Glasgow Coma Score vorgenommen. Am Ende des stationären Aufenthaltes erfolgte eine Einstufung hinsichtlich der weiteren neurologischen Entwicklung und Rehabilitation.

Die klinische Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité genehmigt.

4.3. Messverfahren und Testprinzip für Protein S-100B und NSE

Die Bestimmung von NSE und S-100 erfolgte aus dem Patientenserum, welches den Patienten bei der stationären Aufnahme und an 6 aufeinanderfolgenden Tagen entnommen wurde. Hämolytische, lipämische und ikterische Serumproben wurden in unserer Studie nicht beurteilt.

Die **Konzentrationsbestimmung von Protein S-100B** im Serum des Patienten wurde mit einem kommerziell erhältlichen immunoradiometrischen Assay nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Zur Anwendung kam in unserem Labor der Test der Firma AB Sangtec Medical: LIAISON® Sangtec® 100. Es handelt sich hier um einen in-vitro Test zur quantitativen luminometrischen Bestimmung des Proteins S-100B im Humanserum und –liquor.

Alle Messungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt.

Das Kit für die Analyse des Proteins S-100 misst dabei mittels dreier monoklonaler Antikörper nur die B-Isoform. Diese ist hochspezifisch für das Nervengewebe.

Der Messbereich liegt zwischen 0,02 und 30 µg/l.

Die Normalkonzentrationen von S-100B im Serum gesunder Frauen und Männer liegen nach Angaben des Herstellers unter 0,15 µg/l.

Zur **Bestimmung der NSE-Serumkonzentration** wurde auch hier ein kommerziell angebotenes Testverfahren –NSE-Testkit- verwendet, ein immunometrischer Assay, der nach dem Prinzip eines Sandwich-ELISA arbeitet.

Die Nachweisempfindlichkeit des Tests liegt bei 0,5 µg/l.

Der angegebene Referenzbereich liegt nach Angaben des Herstellers bei gesunden Erwachsenen ohne Abhängigkeit von Geschlecht und Alter oder Rauchgewohnheiten bei 10 – 20 µg/l, wobei die gemessenen NSE- Konzentrationen mit einer diagnostischen Spezifität von 98% unter einem Grenzwert von 12,5 µg/l liegen (Hiesche 1987).

4.4. Erfassung Bewusstseinslage – neurologische Einstufung

Während des stationären Aufenthaltes wurde die Bewusstseinslage des Patienten täglich mittels des Glasgow-Coma-Score eingeschätzt. Dieser Score erfasst den Schweregrad einer Bewusstseinsstörung und das Reaktionsvermögen des Patienten. Dabei werden Reaktionen auf Ansprache und Schmerz sowie die Motorik und Sprache des Patienten beurteilt. Die maximale Punktzahl liegt bei 15 (Patient bei vollem Bewusstsein), die minimale beträgt 3 Punkte (Tod oder tiefes Koma). Bei 8 oder weniger Punkten ist von einer schweren Funktionsstörung des Gehirns auszugehen.

	Reaktion des Patienten	Bewertung
Augen öffnen	Spontan	4
	auf Aufforderung	3
	auf Schmerzreiz	2
	Keine Reaktion	1
Motorik	nach Aufforderung	6
	gezielte Abwehrbewegungen	5
	ungezielte Schmerzabwehr	4
	Beugesynergien auf Schmerz	3
	Strecksynergien auf Schmerz	2
	keine Reaktion auf Schmerz	1
Sprache	orientiert und klar	5
	Desorientiert	4
	unzusammenhängende Worte	3
	unverständliche Laute	2
	keine verbale Reaktion	1

Tab.3: Bewertungskriterien Glasgow Coma Skala

Entscheidend war am Ende des stationären Aufenthaltes eine Einstufung hinsichtlich der derzeitigen weiteren neurologischen Entwicklung und Rehabilitation der Patienten. Diese wurden nach der Entlassung von der Intensivstation bzw. Tod in 2 Gruppen hinsichtlich ihrer neurologischen

Prognose eingeteilt. Patienten, die ein schlechtes neurologisches Outcome aufwiesen (GOS 1 und 2) wurden der Gruppe I zugeordnet, Patienten mit einem guten neurologischen Outcome (GOS 3-5) der Gruppe II. Die Glasgow Outcome Score wurde erstmals von Jennet und Bond 1975 präsentiert. Es erfolgte eine Einteilung in 5 Gruppen. Eine weitere Einteilung in Gruppe I und II wurde später vorgenommen. Hintergrund war, dass die Patienten der Gruppe I (GOS 1-2) nahezu keine Bedeutung für die Rehabilitation haben.

- GOS -1:** Patient ist verstorben
- GOS -2:** persistierender vegetativer Zustand, apallisch
- GOS -3:** schwere Behinderung (auf ständige Unterstützung angewiesen)
- GOS -4:** mäßige Behinderung (unabhängig bei täglicher Lebensführung)
- GOS -5:** gute Erholung (geringe Defizite möglich)

4.5.Statistische Analyse

Die Werte sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben.

Für jeden Patienten wurden über 6 - 7 Tage die S-100- und NSE- Werte ermittelt. Wenn mehrere Werte pro Tag vorlagen, mittelten wir sie. Diese dienten uns dann zu weiteren statistischen Berechnungen, welche wir mit SPSS 12.0 für Windows durchführten.

Mittelwertvergleiche zwischen den Gruppen I und II (anamnestische und epidemiologische Angaben) wurden nach Prüfung auf Normalverteilung mittels t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Mittelwertvergleiche zwischen den Gruppen I und II über die Zeit (Verläufe von NSE und S-100) wurden nach Prüfung auf Normalverteilung mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Wenn die globale Testung signifikante Unterschiede aufwies, erfolgte der Paarvergleich mittels t-Test für unabhängige Stichproben (auf Unterschiede zwischen den Gruppen I und II) bzw. mittels t-Test für verbundene Stichproben (auf Unterschied im Zeitverlauf einer Gruppe).

Die Spezifität und Sensitivität wurden mit Hilfe von ROC-Analysen (Receiver Operating Characteristics) ermittelt.

Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

5. Ergebnisse

5.1. Ursache der kardiopulmonalen Reanimation

Die Ursachen für den Herz-Kreislauf-Stillstand waren unterschiedlich. Bei 16 Patienten waren kardiale Ursachen, einschließlich Myokardinfarkt, der Auslöser für einen Herz-Kreislauf-Stillstand. 2 Patienten erlitten auf Grund einer Hypoxie im Rahmen einer respiratorischen Grunderkrankung einen zirkulatorischen Stillstand und bei 5 Patienten blieb die Genese unklar.

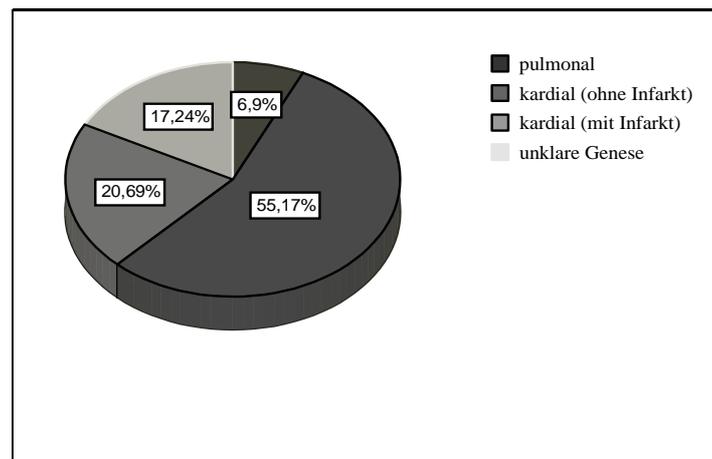


Abb.7: Ursache des Herz-Kreislauf-Stillstandes – prozentualer Anteil

5.2. Begleiterkrankungen

Bei 89,6% lagen zusätzlich zu der den Herz-Kreislauf-Stillstand verursachten Grunderkrankung weitere Begleiterkrankungen vor.

Kardiale Begleiterkrankungen, wie Herzklappenerkrankungen, Herzinsuffizienz, ventrikuläre Extrasystolen sowie Kammerflimmern, fanden sich in 48,3% der Fälle. Ein Hypertonus war bei 44,8% der Patienten nachweisbar. In absteigender Häufigkeit waren Stoffwechselerkrankungen, wie Hyperlipoproteinämie, Hyperurikämie und Hypercholesterinämie exkl. Diabetes mellitus (34,5%), Diabetes mellitus Typ 2 (24,1%), nicht NSE- oder S100 beeinflussende Karzinome (10,3%), psychiatrisch-neurologische Erkrankungen (10,3%) und chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (6,9%), anamnestisch zu eruieren.

Durchschnittlich fanden sich 2,6 Begleiterkrankungen pro Patient.

Wie in Abbildung 8 zu entnehmen ist, zeigten in der Gruppe I prozentual mehr Patienten mehr als 3 Begleiterkrankungen (42,9%), wogegen in der Gruppe II weniger Patienten mehr als 3 Be-

gleiterkrankungen aufwiesen (33,3%). Ein signifikanter Unterschied ergibt sich jedoch nicht ($p=0,597$).

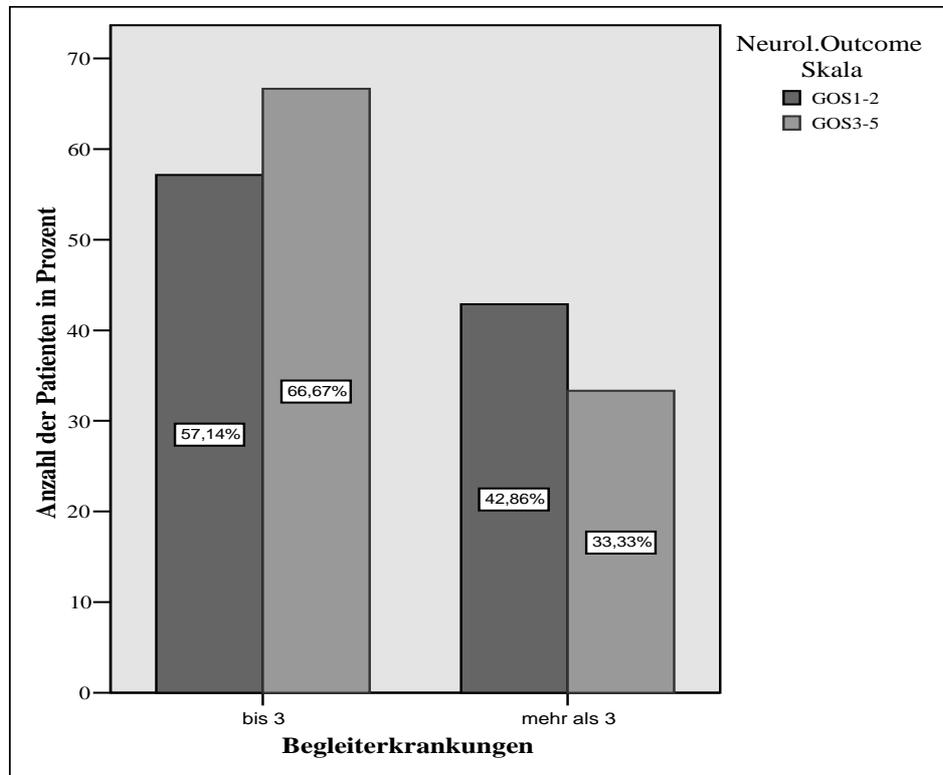


Abb.8: Begleiterkrankungen in den Gruppen I und II - prozentualer Anteil

Die Patienten wurden, wie bereits oben beschrieben nach der Entlassung von der Intensivstation in 2 Gruppen hinsichtlich ihres neurologischen Verlaufes eingeteilt. Eine schlechte neurologische Prognose wiesen 14 Patienten (Gruppe I – GOS 1 und 2) auf, während 15 Patienten eine gute neurologische Prognose erzielten (Gruppe II – GOS 3-5).

	Gruppe I (GOS 1-2)	Gruppe II (GOS 3-5)
Anzahl, n (%)	14 (48,27)	15 (51,73)
Alter, Mittelwert – Standardabweichung	65,9 (\pm 6,848)	66,1 (\pm 11,6)
Männlich, n (%)	8 (27,6)	12 (41,4)
Weiblich, n (%)	6 (20,7)	3 (10,3)

Tab.4: Vergleich der Patienten mit gutem und schlechtem sekundären Reanimationserfolg

5.3. Reanimationsorte – Glasgow-Outcome-Skala

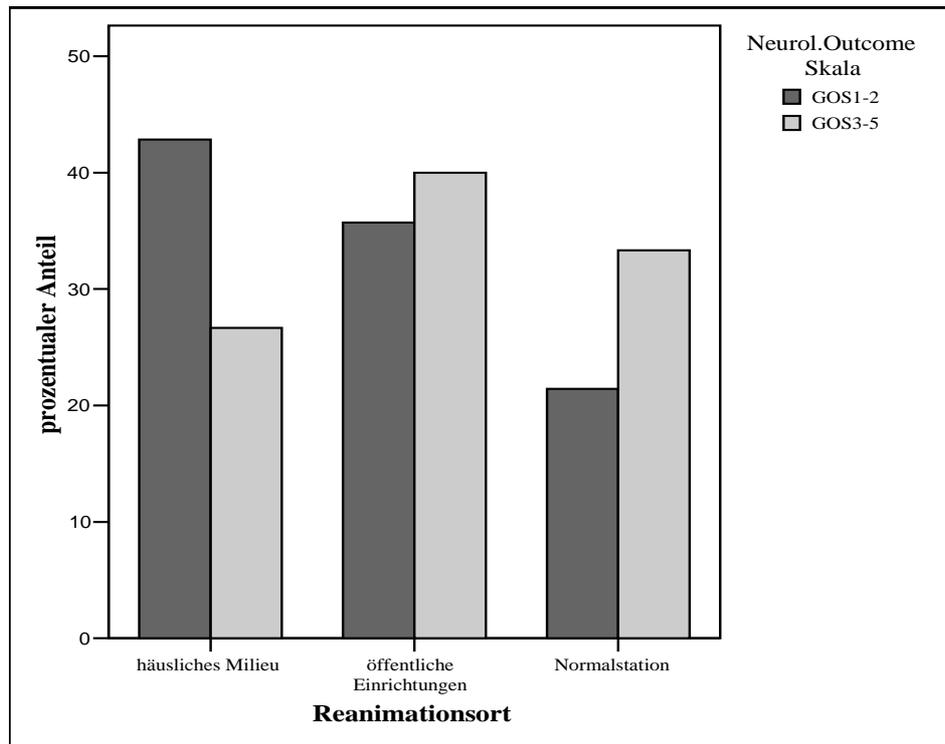


Abb.10: Reanimationsorte

Wie die Abbildung 10 zeigt, erfolgte die kardiopulmonale Reanimation in 34,5% der Fälle in der häuslichen Umgebung des Patienten, in 37,9% in öffentlichen Einrichtungen, wie U- und S-Bahn, Theater sowie Einkaufszentren und in nur 27,6% im Krankenhaus.

Das heißt, es wurden insgesamt 72,4% außerhalb der Klinik und nur 27,6% innerhalb der Klinik reanimiert. Hinsichtlich der Glasgow Outcome Scale unterteilt sich das wie folgt.

		Neurol.Outcome Skala		Gesamt
		GOS I (1-2)	GOS II (3-5)	
Reanimationsort	häusliches Milieu	6	4	10
	öffentliche Einrichtungen	5	6	11
	Gesamt außerhalb der Klinik	11	10	21
innerhalb der Klinik		3	5	8
Gesamt		14	15	29

Tab.5: Reanimationsorte in Abhängigkeit zur neurologischen Prognose

In der Gruppe I lag der Anteil der außerhalb der Klinik reanimierten bei 52,4% gegenüber 47,6% in Gruppe II. 8 Patienten wurden innerhalb der Klinik reanimiert. Dabei konnten davon 62,5% der Gruppe II und 37,5% der Gruppe I zugeordnet werden, was sicherlich auf eine schnellere intensivmedizinische Versorgung zurückzuführen ist. Auf Grund der geringen Zahl von Patienten ist eine Verallgemeinerung jedoch nicht möglich.

Insgesamt verstarben im Untersuchungszeitraum 10 Patienten (34%), 4 Patienten (14%) entwickelten ein Coma vigile, 8 Patienten (28%) haben mit einem stärkeren, 6 (21%) mit einem leichten. 1 Patient (3%) überlebte ohne neurologisches Defizit.

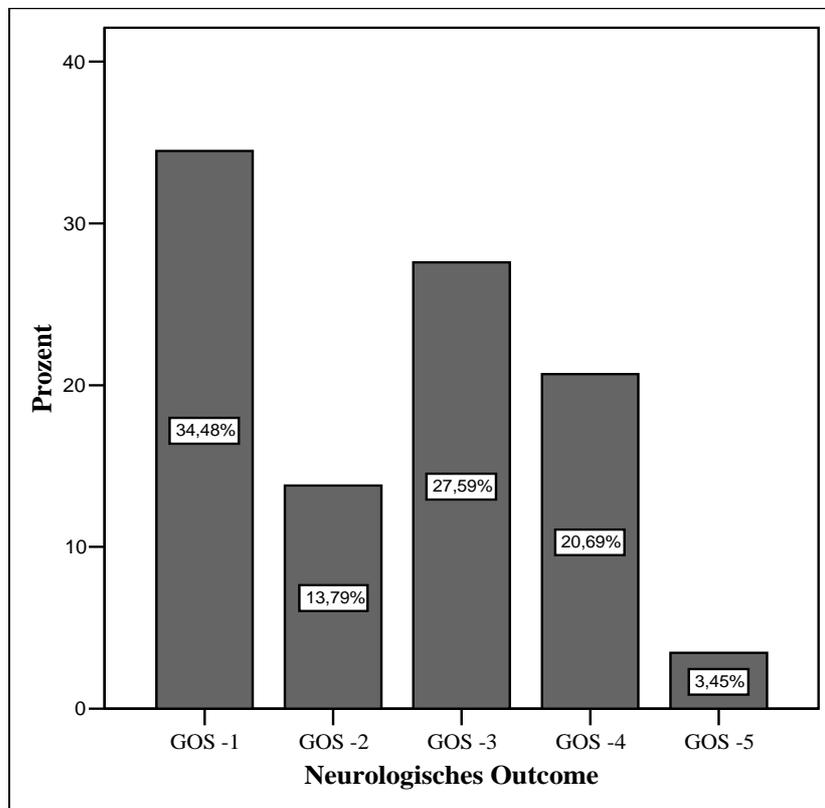


Abb.11: Prozentualer Anteil der einzelnen Gruppen der Glasgow Outcome Scale

Die Todesursachen der 10 verstorbenen Patienten waren unterschiedlich und werden in Abbildung 12 dargestellt.

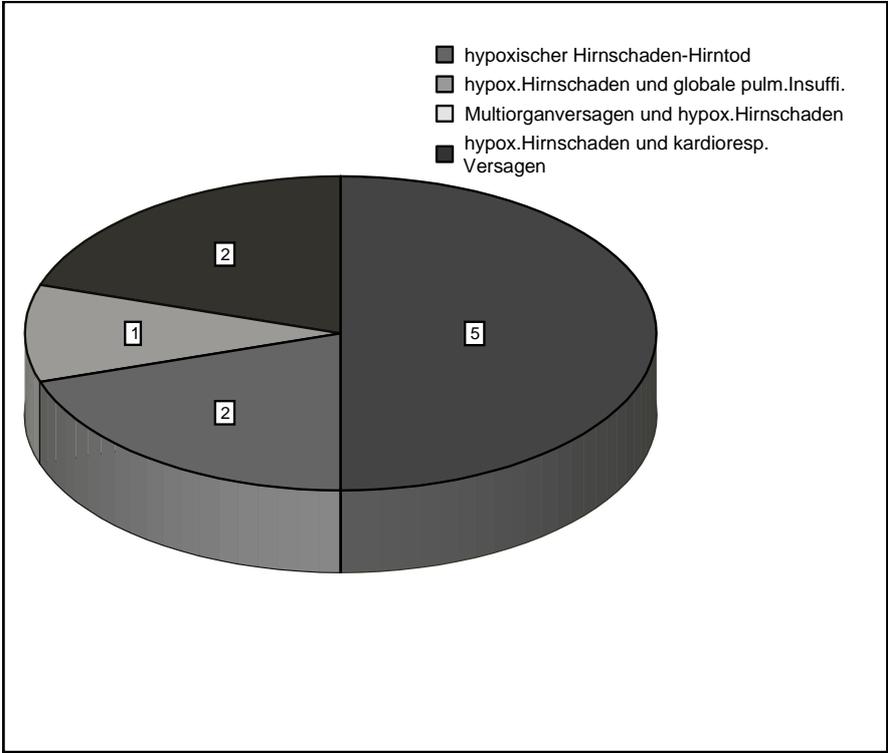


Abb.12: Todesursachenstatistik der 10 verstorbenen Patienten

5.4. ROC-Analyse: Sensitivität und Spezifität

Im Vorfeld unserer Untersuchungen entschieden wir uns bei der ROC-Analyse eine 100%ige Spezifität anzustreben. Grund war die klinische und ethische Entscheidung, dass falsch positive Werte ausgeschlossen werden müssen.

Bei Analyse des Maximalwertes der NSE können also die Patienten bei Erreichen oder Überschreitung des Wertes von 98 µg/l mit einer Sensitivität von 66,7% bei einer Spezifität von 100% der Gruppe I (schlechte neurologische Erholung) zugeordnet werden.

Die Ergebnisse werden in den folgenden Abbildungen dargestellt.

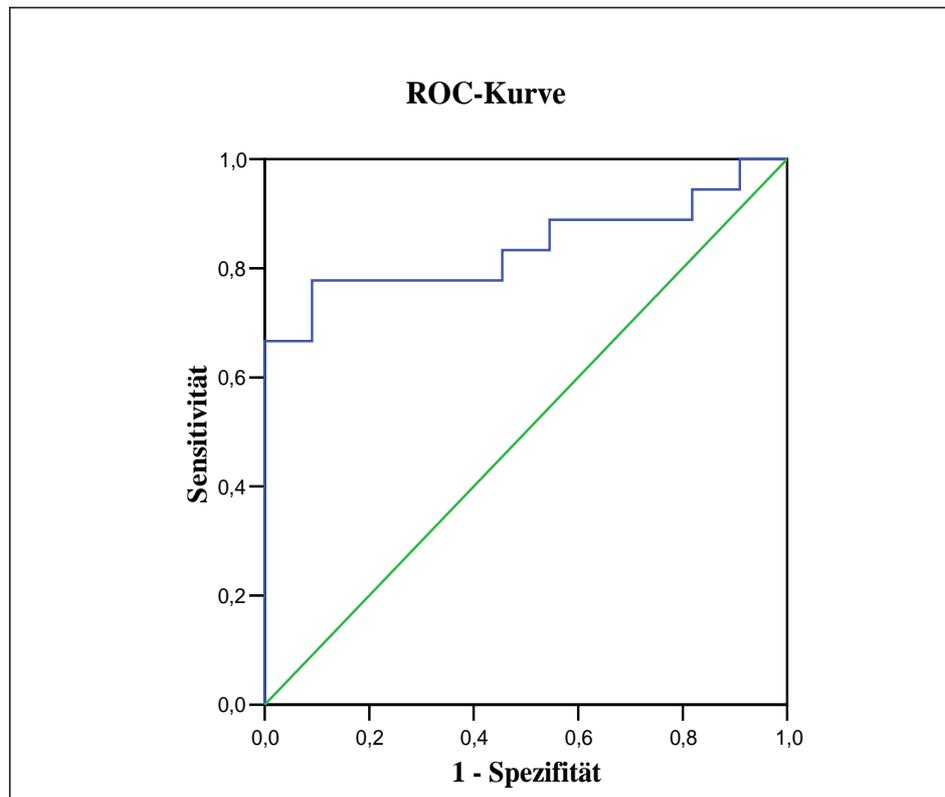


Abb.13: ROC-Kurve – NSE-Peak

Fläche	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,838	0,076	0,003	0,690	0,987

Tab.6: ROC-Analyse NSE-Peak: Fläche unter der ROC-Kurve

Mit der ROC-Kurve wird die Sensitivität gegen den Komplementärwert der Spezifität zu 1 aufgetragen. Ein diagnostischer Wert ohne jede Vorhersagekraft ergäbe hier eine 45-Grad-Linie, d.h. eine Diagonale. Je „bauchiger“ die ROC-Kurve ist, desto größer ist die Vorhersagekraft des Tests. Ein Maß dafür ist die Fläche unterhalb der ROC-Kurve, die bei einem Test ohne jede Vorhersagekraft bei 0,5 und im Maximalfall bei 1 liegt.

Die klinische Beobachtung, dass sich die NSE-Serumspiegel von Patienten zum Teil nicht normalisierten, veranlasste uns, eine ROC-Analyse durchzuführen, in der der Maximalwert der NSE (NSE-Peak) und der NSE-Verlauf kombiniert wurden. Ausgehend von unserem ermittelten Cut-off-Wert bildeten wir Gruppen, die sowohl eine Normalisierung des NSE-Wertes, als auch eine anhaltende Erhöhung dieses Wertes bei initial über oder unterhalb unseres Cut-off-Werts liegenden Befunden einschlossen. Diese von uns definierten Gruppen sind in Abb.15 dargestellt.

Wir erreichten dadurch bei einer Spezifität von 100% einen Sensitivitätsgewinn von 11,1% auf 77,8% gegenüber der isolierten Betrachtung des NSE-Maximalwertes.

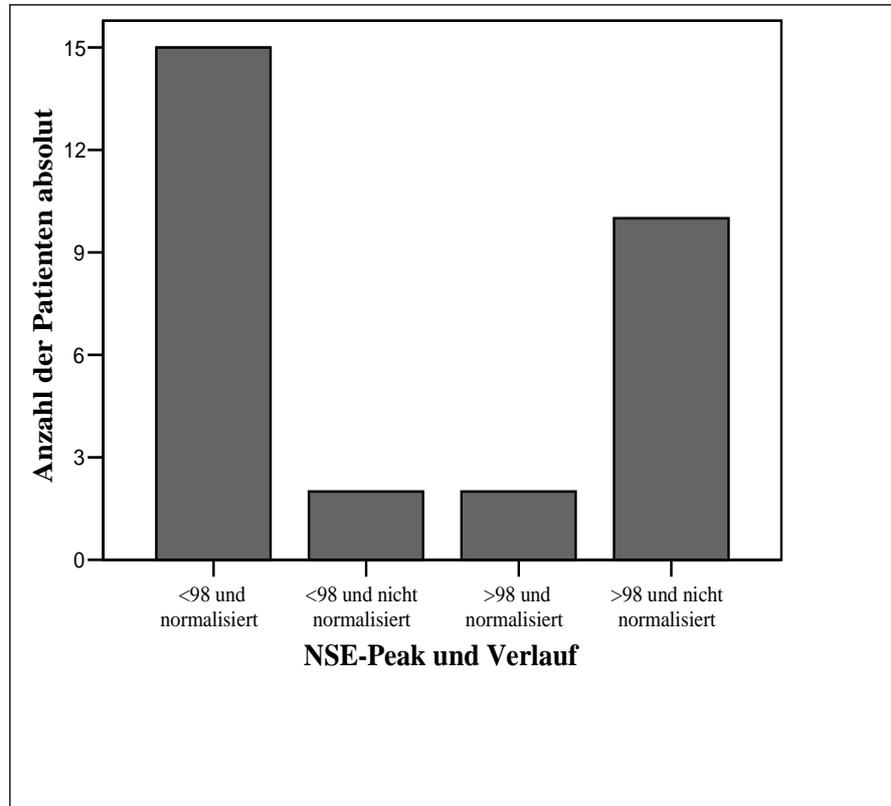


Abb.15: Kombination von NSE-Peak und –verlauf

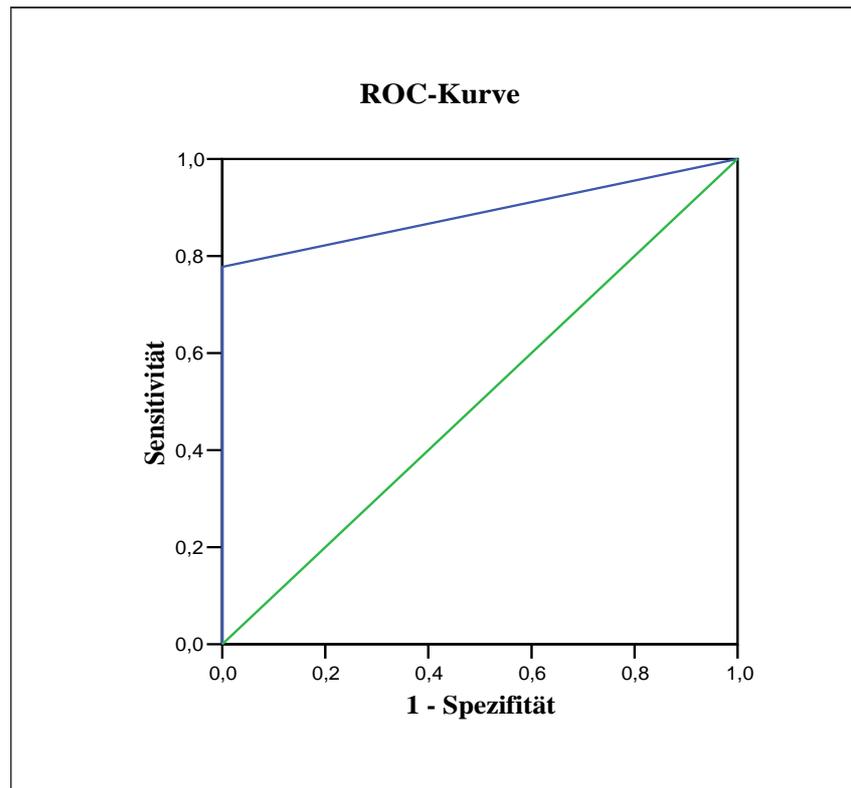


Abb.16: ROC-Kurve – Kombination NSE-Peak und NSE-Verlauf

Fläche	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,889	0,063	0,001	0,765	1,012

Tab.8: ROC-Analyse NSE-Peak und Verlauf: Fläche unter der ROC-Kurve

Bei der Auswertung der S-100B-Maximalwerte (S-100-Peak) mittels der ROC-Analyse fand sich bei einer Spezifität von 100% eine deutlich niedrigere Sensitivität von 44,4 % bei einem Cut-off von 2,05 µg/l.

Eine Kombination des S-100B-Maximalwertes und des klinische Verlaufes (Normalisierung/ Nichtnormalisierung), wie wir es beim NSE mit deutlichem Sensitivitätsgewinn durchgeführt haben, ergab bei 100%iger Spezifität einen deutlichen Abfall der Sensitivität auf 22% (Daten nicht dargestellt).

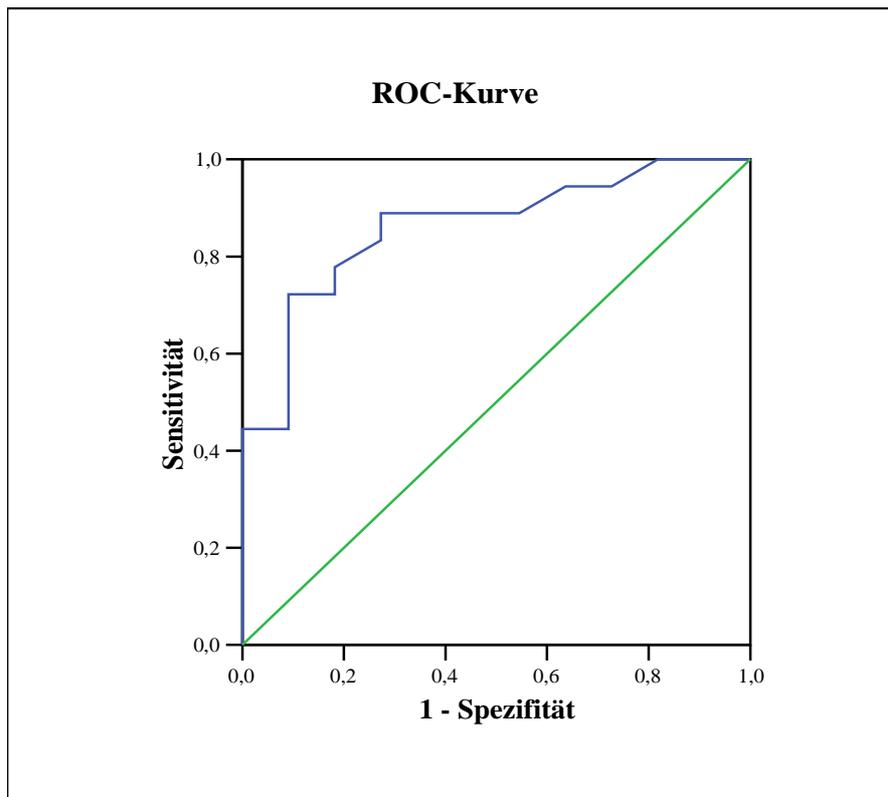


Abb.14: ROC-Kurve von S-100B-Peak

Fläche	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,861	0,070	0,001	0,724	0,998

Tab.7: ROC-Analyse S-100B-Peak: Fläche unter der ROC-Kurve

Eine Kombination von NSE in Prozent addiert zu S-100 in Prozent erbrachte keinen Gewinn für die Sensitivität, im Gegenteil, die Sensitivität sank auf 57,1%.

Nach folgenden Gleichungen wurden die S100B und die NSE-Prozentwerte bestimmt. Diese wurden nach der Normierung addiert.

$$S-100\% = \frac{\text{Einzelwert}}{\text{Normalwert}} \times 100\%$$

$$NSE\% = \frac{\text{Einzelwert}}{\text{Normalwert}} \times 100\%$$

Ergebnis = Summe aus S-100% und NSE%

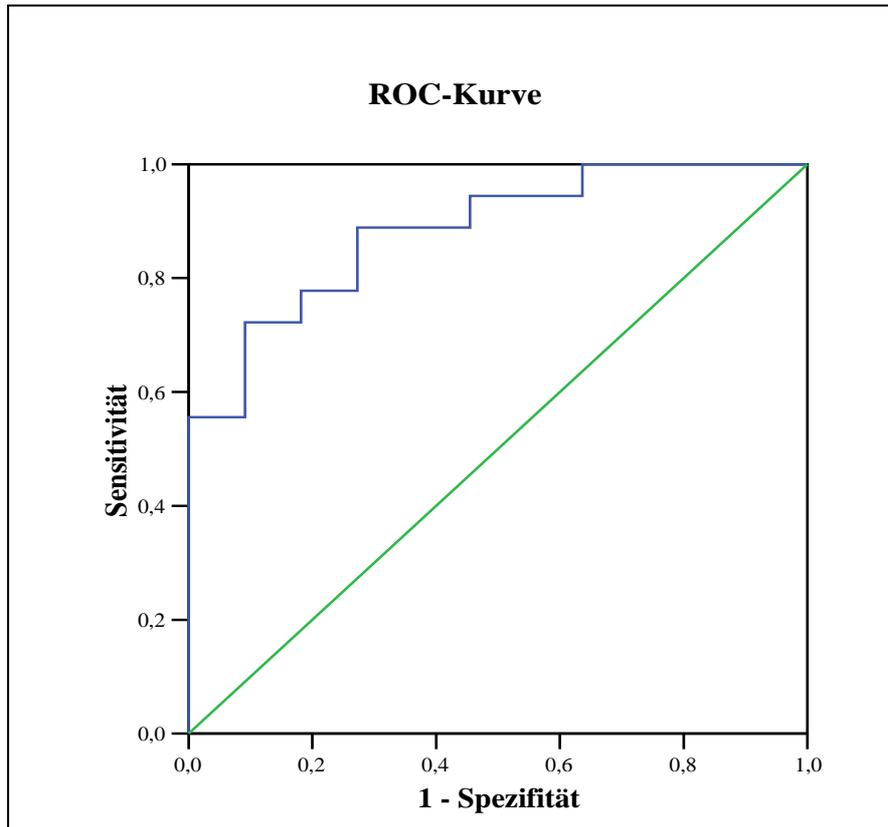


Abb.17: ROC-Kurve – Kombination NSE% + S-100B%

Fläche	Standardfehler	Asymptotische Signifikanz	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,884	0,061	0,001	0,764	1,004

Tab.9: ROC-Analyse NSE% + S-100B%: Fläche unter der ROC-Kurve

Im weiteren Verlauf untersuchten wir mittels ROC- Analyse zusätzlich Spezifität und Sensitivität von NSE und S-100B an den einzelnen Tagen nach Reanimation

Die Ergebnisse haben wir in den Tabellen 9 und 10 dargestellt. Für beide Parameter ergibt sich eine besonders hohe Sensitivität am Tag 3 nach Reanimation.

	Cut-off-Wert in $\mu\text{g/l}$	Sensitivität %	Spezifität %
Tag 1	2,05	23,1	100
Tag 2	1,55	31,3	100
Tag 3	0,58	56,3	100
Tag 4	0,81	43,8	100
Tag 5	1,20	28,6	100
Tag 6	0,75	31,3	100
Tag 7	0,65	30,8	100

Tab.9: Serumwerte S-100B mit 100%-Spezifität für Prognose schlechtes neurologisches Outcome

	Cut-off-Wert in $\mu\text{g/l}$	Sensitivität %	Spezifität %
Tag 1	89,6	13,3	100
Tag 2	53,5	47,1	100
Tag 3	47,4	70,6	100
Tag 4	40,3	64,3	100
Tag 5	40,0	57,1	100
Tag 6	23,4	60,0	100
Tag 7	23,8	46,2	100

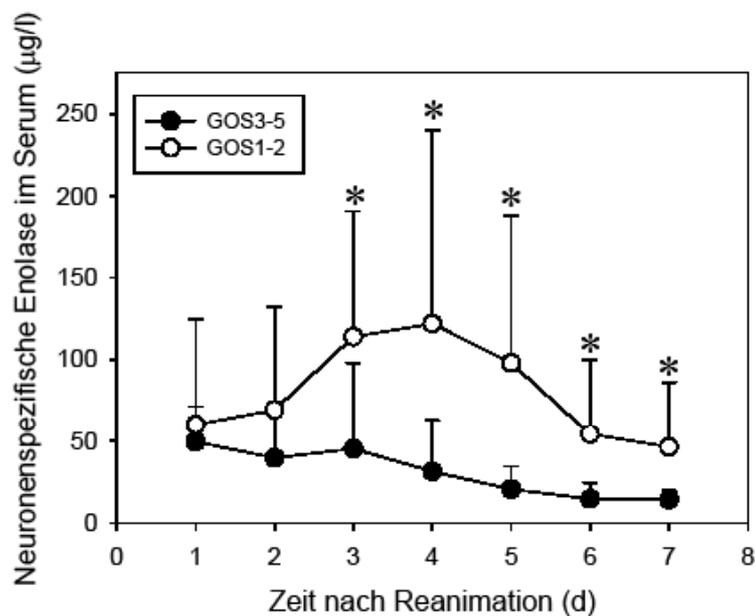
Tab.10: Serumwerte NSE mit 100%-Spezifität für Prognose schlechtes neurologisches Outcome

5.5. Ergebnisse der Bestimmung der Neuronenspezifischen Enolase in Abhängigkeit der Gruppeneinteilung

Dem Untersuchungsprotokoll entsprechend wurden auch hier bei jedem Patienten in den ersten 7 Tagen ein bis mehrmals die Serumwerte der Neuronenspezifischen Enolase bestimmt. Wenn mehrere Werte an einem Tag erhoben wurden, mittelten wir diese.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Mittelwerte mit Standardabweichung von NSE beider Gruppen I und II in zeitlichem Verlauf von 7 Tagen nach Herzkreislaufstillstand und primär erfolgreicher Reanimation zusammengefasst.

Dabei konnten wir ab dem 3.Tag signifikant höhere Spiegel in Gruppe I erkennen.



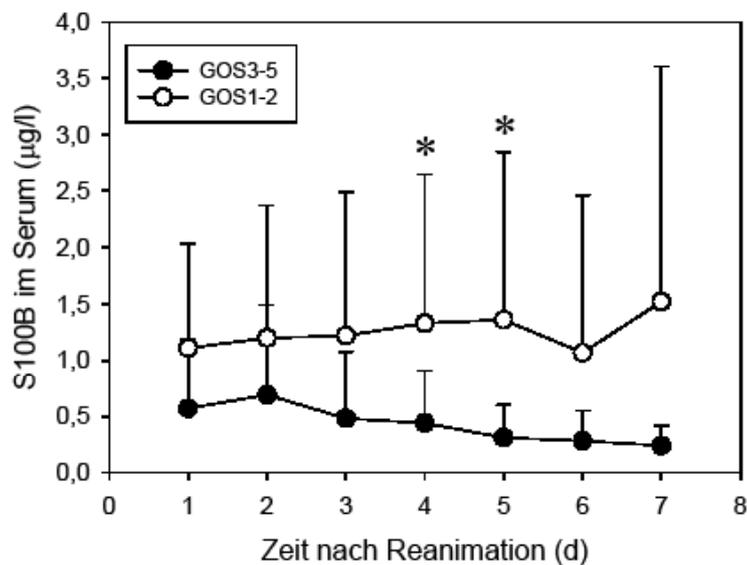
Tab.12: NSE- Serumkonzentration in µg/l der Gruppe I (GOS1-2) und II (GOS3-5) im Verlauf über 7 Tage nach Herz-Kreislauf-Stillstand und Reanimation

5.6. Ergebnisse der Bestimmung des Proteins S-100B in Abhängigkeit der Gruppeneinteilung

Dem Untersuchungsprotokoll entsprechend wurden bei jedem Patienten in den ersten 7 Tagen ein bis mehrmals die Serumwerte des Gliaproteins S-100B bestimmt. Wenn mehrere Werte an einem Tag erhoben wurden, mittelten wir diese.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Mittelwerte mit Standardabweichung des Gliaproteins S-100B beider Gruppen I und II im zeitlichen Verlauf von 7 Tagen nach Herzkreislaufstillstand und primär erfolgreicher Reanimation zusammengefasst.

Ein signifikanter Unterschied mit erhöhten Werten in Gruppe I konnte an den Tagen 4 und 5 gefunden werden.



Tab.12: S-100B- Serumkonzentration in µg/l der Gruppe I (GOS1-2) und II (GOS3-5) im Verlauf über 7 Tage nach Herz-Kreislauf-Stillstand und Reanimation

6. Diskussion

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob durch die Bestimmung der Serumkonzentration des Gliaproteins S-100 und der Neuronenspezifischen Enolase bei Patienten nach kardiopulmonaler Reanimation eine frühzeitige und prognostisch relevante Aussage hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit des sekundären Reanimationserfolges getroffen werden kann, die eine Grundlage für die zerebrale Rehabilitation darstellt.

Da es in der Literatur zunehmend Studien mit deutlichen Diskrepanzen hinsichtlich der Normwerte und pathologischen Grenzwerte von NSE und S-100 gibt, wollten wir in unserer Studie zusätzlich eigene Grenzwerte definieren, die im klinischen Alltag einer internistischen Intensivstation Anwendung finden sollen.

Auf Grundlage der hier erhobenen Daten an 29 Patienten können folgende Aussagen getroffen werden:

1. Der Cut-off-Wert für die Unterscheidung zwischen einer günstigen (Gruppe II, GOS 3-5) und einer ungünstigen neurologischen Prognose (Gruppe I, GOS 1-2) bei unserem Patientengut beträgt für die Maximalwerte der Neuronenspezifische Enolase 98 µg/l und des Protein S-100B 2,05 µg/l. Es handelt sich hierbei um Daten von internistischen Intensivpatienten, die v. a. aus kardialer Ursache (Infarkt oder primäre Herzrhythmusstörung) sowohl außerhalb als auch innerhalb der Klinik reanimiert wurden. Bei den genannten Cut-off-Werten liegt (bei einer Spezifität von 100%) die Sensitivität für die NSE bei 66,7% und für S-100 bei 44,4%.
2. Die Kombination aus dem NSE-Maximalwert und dem Verlauf der Neuronenspezifischen Enolase (Normalisierung / Nichtnormalisierung) verbesserte die Sensitivität bei 100%-iger Spezifität im Vergleich zu dem NSE-Maximalwert alleine um 11,1 % auf 77,8%. Bei dem Protein S-100B trägt die Kombination dieser Werte nicht zu einer diagnostischen Verbesserung bei.
3. Bei der Beobachtung des zeitlichen Verlaufes der NSE und des S-100B hat die Bestimmung am Tag 3 die höchste diagnostische Aussagekraft, was in der täglichen Routineanwendung nach Reanimation ein hilfreicher Hinweis ist, um Kosten zu sparen.
4. Eine Kombination der normierten Werte von NSE und S-100 erbrachte keinen diagnostischen Zugewinn, sondern verschlechterte die Sensitivität.

5. Das Protein S-100B bringt gegenüber der Neuronenspezifischen Enolase keinen diagnostischen Zugewinn für die klinische Routine. Wir halten die zusätzliche Bestimmung deshalb nicht für sinnvoll.

6.1 anamnestische und klinische Parameter

Nach primär erfolgreicher Reanimation können neben kompletter Wiederherstellung der neurologischen Funktionen persistierende leichte bis schwere neurologische Defizite bis hin zum apallischen Syndrom auftreten.

In mehreren Studien ist versucht worden, die Schwere der hypoxisch-ischämischen Hirnschädigung und damit die zu erwartende Prognose für den Patienten einzuschätzen.

Bisher untersuchte klinische, elektrophysiologische und bildgebende Diagnostikverfahren sowie biochemische Parameter, die aus dem Liquor cerebrospinalis und dem Serum bestimmt wurden, konnten die individuelle Prognose nicht mit ausreichender Sicherheit vorhersagen (Arbelaez et al. 1999, Fujioka et al. 1999, Morimoto et al. 1993, Schmitz et al. 1998).

Die Suche nach Parametern, die mit hinreichender Sicherheit eine Aussage über die zu erwartende Prognose nach primär erfolgreicher Reanimation ermöglichen, ist deshalb Gegenstand vieler klinischer Studien.

Nach Aufnahme auf die Intensivstation steht für jeden Patienten die Frage, inwieweit mit einer Restitution der zerebralen Funktionen zu rechnen ist. Deshalb gilt es, eine frühe Differenzierung von Patienten mit schlechter und solchen mit guter Prognose anzustreben.

In einem Teil der von uns durchgeführten Studie teilten wir deshalb die Patienten nach Entlassung von der Intensivstation oder mit dem Zeitpunkt des Todes in zwei Gruppen ein. Gruppe I umfasste alle Patienten die verstarben oder im Coma vigile blieben (Glasgow Outcome Score 1 und 2). Gruppe II umfasste alle Patienten mit guter Prognose, die mit neurologischen Defiziten unterschiedlichster Ausprägung überlebten und mindestens der Gruppe 3 des Glasgow Outcome Score zugeordnet werden konnten (Glasgow Outcome Score 3 – 5). Unsere Daten beziehen sich auf den oben genannten Zeitraum. Interessant wäre eine Weiterführung unserer Studie, in der eine Langzeitbetrachtung der neurologischen Entwicklung der Patienten gemacht werden sollte. Anzunehmen ist, dass sich nach einem größeren Zeitfenster von ca. 6 Monaten noch eine gewis-

se Verschiebung der Patientenzahlen in den einzelnen Gruppen ergibt. In den bereits oben zitierten Studien, unter anderem von Fogel et al.1997, Martens et al.1998 und Pfeifer et al.2005, wurden die Daten, wie bei uns, innerhalb des ersten Monats erhoben. Die Studie, welche durch Meynaar et al. 2003 durchgeführt wurde, umfasst Daten hinsichtlich der Einstufung der Patienten in die GOS, unmittelbar nach Reanimation und 6 Monate später. Dabei zeigt sich, dass im weiteren Verlauf eine deutliche Verschiebung innerhalb der Gruppen zu Gunsten der Gruppe I (schlechter neurologischer Verlauf) stattfand.

Die Gesamtüberlebensrate in unserem Patientengut betrug nach 14 Tagen 66% (n= 19) und die Rate der Patienten, die mit akzeptablen bis guten neurologischen Ergebnissen überlebten 48% (n=15).

In zahlreichen Studien wurden die Gesamtüberlebensrate und der akzeptable neurologische Verlauf (GOS 3-5) untersucht. Dabei weichen die Ergebnisse etwas von den unseren ab. Die Gesamtüberlebensrate liegt derzeit in den unterschiedlichen Studien bei 20 – 40% (Beuret et al.1993, Cobbe et al. 1996, Peatfield et al. 1997).

Eine Abweichung unserer Überlebensrate von der in diesen Studien ist sicherlich darauf zurückzuführen, dass 27,6% unserer Patienten innerhalb der Klinik ihren Herz-Kreislauf-Stillstand erlebten und eine schnelle kardiopulmonale Reanimation möglich war.

Gleichzeitig muss betont werden, dass die Einbeziehung aller möglichen Reanimationsorte in unserer Studie prinzipiell keinen Einfluss auf die Beziehung zwischen NSE bzw. S-100 und der Prognose haben sollte.

Der Vergleich epidemiologischer Daten erbrachte keinen signifikanten Unterschied, was angesichts der kleinen Fallzahl auch nicht zu erwarten war.

6.2. Neuronenspezifische Enolase und Protein S100B

Auf der Suche nach zuverlässigen Prädiktoren zerebraler Schädigung sind NSE und S-100B, als zwei vor allem im zentralen Nervensystem vorkommende Proteine, in verschiedenen Studien als Indikatoren für ablaufende Gewebeerstörung evaluiert worden.

Hirngewebsschädigung führt unter anderem zur Freigabe dieser Enzyme in den Extrazellulärraum. Steigende Konzentrationen lassen sich im Liquor cerebrospinalis und bei Passage der Blut-Hirn-Schranke auch im Serum nachweisen. In mehreren Studien konnte man Korrelationen

zwischen Liquor- und Plasmaspiegel und dem neurologischen Outcome nachweisen. Einige Studien (Kärkelä et al. 1993, Martens et al. 1996 und 1998) bewiesen eine deutlich höhere Konzentration der beiden Proteine im Liquor gegenüber der Plasmakonzentration. Jedoch ist eine Gewinnung von Liquor in der Akutphase nicht nur risikoreich, es verbietet sich bei Patienten mit Hirnödem und gesteigertem Hirndruck regelrecht. Auch in der Verlaufskontrolle schließen sich serielle Lumbalpunktionen zur routinemäßigen Liquorgewinnung ethisch aus.

Im Gegensatz zu anderen biochemischen Parametern zeigt sich bei NSE und S-100 nach zerebraler Schädigung durch globale Ischämie auch im Serum ein deutlicher Konzentrationsanstieg (Johnsson et al. 1995, Martens et al. 1998 und Prange et al. 1995).

In mehreren Studien wurde bewiesen, dass die NSE-Werte in den ersten 6 Stunden einer ischämischen Hirnverletzungen einen geringen Vorhersagewert haben. Böttiger et al. (2001) bestätigten einen prognostischen Nutzen nach 24 Stunden und Rosén et al. (2001) sogar erst nach 48 Stunden.

In unserer Studie beobachteten wir bei allen 29 Patienten nach der Reanimation erhöhte Serumkonzentrationen beider Proteine, wobei die gemessene Höhe in beiden Gruppen unterschiedlich war. Bei der Bestimmung des Protein S-100 waren an allen 7 Tagen die Werte der Patienten der Gruppe GOS I tendenziell deutlich höher als bei den Patienten der Gruppe GOS II zu gleichem Zeitpunkt. Einen signifikanten Unterschied, wie er in den oben genannten Studien (Böttiger et al. 2001, Rosén et al. 2001) nachweisbar ist, fanden wir jedoch nur an Tag 4 und 5.

Bei der Datenanalyse der NSE-Werte war ein signifikanter Unterschied ab Tag 3 bis zum Tag 7 nachweisbar.

Cut-Off-Werte

Ein Problem stellt das Finden einheitlicher Cut-off-Werte dar.

In zahlreichen Studien wurden die Serumkonzentrationsanstiege von NSE und S-100 gemessen, jedoch konnten bis heute keine einheitlichen Cut-off-Werte ermittelt werden. So hat zum Beispiel die Arbeitsgruppe um Meynaar 2003 eigene Cut-off-Werte für NSE definiert. Kein Patient mit NSE-Werten $> 25,0 \mu\text{g/l}$ erlangte in ihrer Studie jemals wieder sein Bewusstsein. Bei der Arbeitsgruppe um Zingler im Klinikum Mannheim wurde 2003 ein Cut-off-Wert von $43 \mu\text{g/l}$ definiert. Dem entgegensetzen ist eine neuere Studie aus dem Jahre 2005 von Pfeifer und seiner Arbeitsgruppe. Hierbei nähern sich die erhobenen Cut-off-Werte unseren Ergebnissen. Diese Gruppe definiert Cut-off-Werte von 65ng/ml für NSE und $1,5\mu\text{g/l}$ für S-100.

Grubb et al. fanden ganz aktuell im Jahre 2007 ebenfalls deutlich höhere Schwellenwerte bei einer 100%igen Spezifität für ein schlechtes neurologisches Outcome (GOS I). Diese Werte lagen bei 71,0 µg/l für NSE und 1,2 µg/l für S-100, wobei die Sensitivität von NSE bei 44,8%, die von S-100 bei nur 14% lag.

Der derzeit höchste cut-off-Wert in einer Studie für NSE wurde durch Prange und seine Arbeitsgruppe im Jahr 1995 beschrieben. Um die Patienten mit schlechter Prognose zu identifizieren, ging Prange von einem Schwellenwert von 120 µg/l aus.

Auch bei S-100 besteht das Problem der variierenden Grenzwerte, wobei sich deutlich weniger Arbeitsgruppen mit diesem Protein befassen.

Die große Differenz der Schwellenwerte von NSE und S-100 innerhalb der verschiedenen Studien eröffnet viele Fragen.

Woran könnten diese Unterschiede liegen? Sind sie rein statistisch bedingt (kleine Fallzahlen); sind es unterschiedlich lange Beobachtungszeiten, wobei mit zunehmender Zeitdauer immer mehr Patienten in die prognostisch ungünstige Gruppe übergehen (Meynaar et al. 2003)? Oder liegt die Ursache im unterschiedlichen Krankengut mit unterschiedlichen Vorerkrankungen, in unterschiedlichen Bestimmungsmethoden und Testsystemen, die die Vergleichbarkeit der Ergebnisse untereinander unmöglich machen?

Zur weiteren Evaluierung eines allgemein gültigen Cut-off-Wertes bedarf es der Durchführung einer überdurchschnittlich großen, multizentrisch angelegten Studie mit gleichen Kriterien. Aber auch diese Ergebnisse sollten in den einzelnen Kliniken am eigenen Patientengut und mit eigenem Labor nochmals kontrolliert werden.

Um die Wichtigkeit dieser Kontrolle der Cut-off-Werte mit eigenen Laboren zu unterstreichen, möchten wir unsere Patienten mit dem Cut-off-Wert der Studie von Meynaar et al. vergleichen.

Bei ihnen wurde ein gutes neurologisches Outcome, d.h. das Wiedererlangen des Bewusstseins, ab einem Schwellenwert von >25 µg/l ausgeschlossen. In der von uns durchgeführten Studie waren bei 94,4% der Patienten, die ein gutes neurologisches Outcome, d.h. eine adäquate Aufwachreaktion aufwiesen, initial Werte über 25 µg/l nachweisbar. Nur bei 5,6% unserer Patienten mit gutem neurologischen Outcome waren tatsächlich NSE-Werte unter 25 µg/l messbar. Ein Ergebnis, was an der Allgemeingültigkeit eines Cut-off-Wertes ohne Kontrolle zweifeln lässt.

Wie bereits schon durch andere Autoren beschrieben (Fogel et al. 1997, Rosen et al. 1997) fanden wir auch bei unseren Patienten mit schlechtem neurologischem Verlauf Fälle, in denen es zu keinem Anstieg von NSE oder S-100 über den cut-off-Wert kam.

Eine mögliche Ursache für diese niedrigen Serumwerte bei Patienten mit schlechtem neurologischem Verlauf, also für das Abweichen der Sensitivität von 100%, wäre das Intaktbleiben der Blut-Hirn-Schranke bei schwerem ischämischen Hirnschaden (Sage et al. 1994) oder eine geringe Alteration unklarer Genese.

Andererseits könnte die zerebrale Störung nicht in direktem Zusammenhang mit der Menge der destruierten Neuronen, sondern mit dem Verlust der Unversehrtheit der neuronalen Bahnen stehen, was zu einem geringen Anstieg der Parameter trotz schwerer neuronaler Funktionseinschränkung führt (Fogel et al. 1997).

Zeitlicher Verlauf der Neuronenspezifischen Enolase und des Proteins S-100B

Bei allen unseren Patienten kam es zu einem initialen Anstieg der Serumproteine am Tag der Reanimation. Auch in bereits publizierten Studien von Böttiger, Rosen und Meynaar kam es zu diesem Anstieg, auch bei Patienten mit guter neurologischer Prognose, und schon 1996 beschrieb Westaby die Vermutung, dass es zu einer vorübergehenden diffusen Schädigung mit erhöhter Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke ohne irreversible zerebrale Schädigung kommen könnte. Rosen ergänzte 2001 diese Aussage. Er beschrieb diesen initialen Peak als ein reversibles frühes Hirnödem mit Störung der Integrität der Membran der Astrogliazellen und der Barrierefunktion der Blut-Hirn-Schranke.

Auf Grund der Halbwertszeiten von 24-48 Stunden bei NSE und 2 Stunden bei S-100, scheint der weitere Anstieg der Parameter innerhalb der ersten 3-4 Tage ein Hinweis auf ein Fortschreiten der zerebralen Zellschädigung und das Fortbestehen der Permeabilität der Blut-Liquor-Schranke zu sein und ein schlechtes neurologisches Outcome vorauszusagen (Schaarschmidt et al. 1994).

Bei unseren Patienten der Gruppe mit gutem neurologischen Outcome wurde bei 18,75% der Patienten für NSE und bei 6,25% für S-100 ein solcher pathologischer Anstieg der Serumkonzentration bis zum Tag 3 bei NSE und Tag 2 bei S-100 gemessen. Bei allen anderen Patienten der Gruppe nahmen die initial erhöhten Serumkonzentrationen beider Proteine im Beobachtungsverlauf ab. Bei 5 Patienten, bei denen wir trotz guter neurologischer Entwicklung in Folge einen Konzentrationsanstieg während der ersten Tage nachwiesen, waren aber verzögerte Aufwachreaktionen vorhanden.

Durch oben genannte Aussagen erscheint es notwendig, serielle Bestimmungen von NSE und S-100 zu machen, da einzelne Konzentrations-Maxima hinweisend, aber nicht beweisend sind. Auf

die Wichtigkeit des zeitlichen Verlaufes der Konzentrationen, besonders von NSE, wiesen auch Woertgen et al. (1997) in ihren Arbeiten hin.

Kombination aus Maximalwert und Verlauf der Neuronenspezifischen Enolase: Die klinische Beobachtung, dass es Patienten gab, deren NSE sich im Beobachtungszeitraum nicht normalisierte und damit auf einen Fortgang der Hirnschädigung hinwies, veranlasste uns, eine ROC-Analyse durchzuführen, in der NSE-Peak und Verlauf kombiniert wurden. Wir erhielten dadurch bei einer Spezifität von 100% einen Sensitivitätsgewinn von 11,1% gegenüber der alleinigen Betrachtung des NSE-Maximalwertes. Da diese Methode der Auswertung in noch keiner aktuellen Studie verzeichnet wurde, sollte man diese Herangehensweise für die künftige klinische Anwendung diskutieren.

Kombination NSE% und S-100%

Im Verlauf der Auswertung unserer Studie versuchten wir durch Kombinationen der einzelnen normierten Proteinwerte eine Verbesserung der Sensitivität zu erlangen. Auch hier gibt es in der Literatur bisher noch keine Daten. Bei Analyse der Daten ergab sich jedoch ein Sensitivitätsverlust auf 57,1%, was sicher in der per se schlechteren Sensitivität der S-100B-Werte begründet liegt. Insgesamt erscheint auf der Grundlage der hier vorgestellten Daten die zusätzliche Bestimmung von S-100B keinen diagnostischen Zugewinn zu versprechen.

Unsere Ergebnisse und die Festlegung eigener Cut-off-Werte zeigen, dass mit Hilfe der beiden Proteine Patienten mit irreversibler Hirnschädigung und schlechter neurologischer Prognose bereits in der Frühphase nach Reanimation mit maximaler Spezifität und, zumindest im Fall der NSE und der daraus abgeleiteten Parameter, mit relativ hoher Empfindlichkeit erkannt werden können.

Die Entscheidung über eine Fortführung der Intensivtherapie ist durch die Unsicherheit über die individuelle Prognose von Patienten nach kardiopulmonaler Reanimation sehr erschwert. Aus ethischen Gründen können weder den Betroffenen noch den Angehörigen und dem Pflegepersonal die unbefristete Weiterführung intensivtherapeutischer Maßnahmen zugemutet werden, wenn keinerlei Erholung der zerebralen Funktionen und ein Wiedererlangen des Bewusstseins besteht. Diese und auch die weiter zunehmende ökonomischen Belastung, besonders auf den Intensivsta-

tionen, stellen einen in der Intensivmedizin bisher ungelösten Konflikt dar. Daher ist die Suche nach zuverlässigen Prognosekriterien schon in der Akutphase ein dringendes Anliegen.

Unsere Untersuchungsergebnisse über den prognostischen Aussagewert von S-100 und besonders NSE bei reanimierten Überlebenden können dem Kliniker in der Zusammenschau mit den Befunden der kranialen Bildgebung und der SEP bei der Planung des weiteren Therapiemanagements nach Aufnahme auf die Intensivstation dienen und eine Grundlage für Beratung und Gespräche mit Angehörigen über die weitere Prognose der Betroffenen darstellen.

Hinsichtlich der Limitationen dieser Studie ist anzumerken, dass unsere untersuchte Patientengruppe mit einer Anzahl von 29 Patienten, deren Daten über 1,5 Jahre zusammengetragen wurden, zu klein für die Festlegung allgemeingültiger Cut-off-Werte ist. Deshalb ist, wie schon oben erwähnt, die Durchführung einer großen, multizentrisch angelegten Studie mit nachfolgender Kontrolle in den einzelnen Kliniken und Laboren notwendig.

7. Zusammenfassung

Jährlich erleiden etwa 375000 Menschen in Europa einen Herz-Kreislauf-Stillstand. Trotz ständiger Zunahme des Wissens hinsichtlich der Pharmakotherapie und Pathophysiologie gelingt es heute nur selten, diese Patienten zufriedenstellend rehabilitiert ins Leben einzugliedern.

Die Entscheidung über eine Fortführung der Intensivtherapie ist durch die Unsicherheit über die individuelle Prognose von Patienten nach kardiopulmonaler Reanimation sehr erschwert. Aus ethischen Gründen können weder den Betroffenen noch den Angehörigen und dem Pflegepersonal die unbefristete Weiterführung intensivtherapeutischer Maßnahmen zugemutet werden, wenn keinerlei Erholung der zerebralen Funktionen und ein Wiedererlangen des Bewusstseins zu erwarten ist.

Aus diesem Grund erscheint es sinnvoll, Prädiktoren zu finden, die schnell und sicher eine Aussage über die Prognose einer neurologischen Entwicklung voraussagen.

In den letzten Jahren wurden dazu zahlreiche Untersuchungen durchgeführt. Man fand heraus, dass die Proteine S-100 und die Neuronenspezifische Enolase mit dem Ausmaß einer Hirnschädigung korrelieren.

Bei unserem internistischen Patientengut wollten wir den Vorhersagewert der beiden Proteine überprüfen und auf Grund sehr unterschiedlicher Normwerte für NSE und S-100 in der Literatur eigene Cut-off-Werte zur Vorhersage einer schlechten neurologischen Prognose ermitteln.

In unsere Studie schlossen wir Patienten nach initial überlebten Herz-Kreislauf-Stillstand innerhalb und außerhalb der Klinik ein. An den Tagen 1 – 7 wurden den Patienten Proben für die Bestimmung von S-100 und NSE abgenommen. Wir teilten nach der Entlassung von der Intensivstation oder dem Tod die Patienten mittels der Glasgow Outcome Scale in eine Gruppe mit schlechtem neurologischen Verlauf (Gruppe I – GOS 1-2) und eine Gruppe mit gutem neurologischen Verlauf (Gruppe II – GOS 3-5).

Sensitivität und Spezifität der ermittelten Cut-off-Werte für die Vorhersage eines schlechten neurologischen Verlaufes wurden mit Hilfe der ROC-Analyse berechnet. Wir führten diese Analyse sowohl für die ermittelten Maximal-Werte als auch für den Verlauf der S-100- und NSE-Werte durch.

Auf Grundlage der erhobenen Daten an 29 Patienten können folgende Aussagen getroffen werden:

1. Der Cut-off-Wert für die Unterscheidung zwischen einer günstigen (Gruppe II, GOS 3-5) und einer ungünstigen neurologischen Prognose (Gruppe I, GOS 1-2) bei unserem Patientengut beträgt für die Maximalwerte der Neuronenspezifische Enolase 98 µg/l und des Proteins S-100B 2,05 µg/l. Es handelt sich hierbei um Daten von internistischen Intensivpatienten, die v. a. aus kardialer Ursache (Infarkt oder primäre Herzrhythmusstörung) sowohl außerhalb als auch innerhalb der Klinik reanimiert wurden. Bei den genannten Cut-off-Werten liegt (bei einer Spezifität von 100%) die Sensitivität für die NSE bei 66,7% und für S-100 bei 44,4%.
2. Die Kombination aus dem NSE-Maximalwert und dem Verlauf der Neuronenspezifischen Enolase (Normalisierung / Nichtnormalisierung) verbesserte die Sensitivität bei 100%-iger Spezifität im Vergleich zu dem NSE-Maximalwert alleine um 11,1 % auf 77,8%. Bei dem Protein S-100B trägt die Kombination dieser Werte nicht zu einer diagnostischen Verbesserung bei.
3. Bei der Beobachtung des zeitlichen Verlaufes der NSE und des S-100B hat die Bestimmung am Tag 3 die höchste diagnostische Aussagekraft, was in der täglichen Routineanwendung nach Reanimation ein hilfreicher Hinweis ist, um Kosten zu sparen.
4. Eine Kombination der normierten Werte von NSE und S-100 erbrachte keinen diagnostischen Zugewinn, sondern verschlechterte die Sensitivität.
5. Das Protein S-100B bringt gegenüber der Neuronenspezifischen Enolase keinen diagnostischen Zugewinn für die klinische Routine. Wir halten die zusätzliche Bestimmung deshalb nicht für sinnvoll.

Auch wenn kritisch anzumerken ist, dass unsere Studiengruppe für die Festlegung von allgemeingültigen Cut-off-Werten zu klein ist, kann man jedoch sagen, dass unsere Untersuchungsergebnisse über den prognostischen Aussagewert von S-100 und besonders NSE bei reanimierten Überlebenden bei der Planung des weiteren Therapiemanagements nach Aufnahme auf die Intensivstation dienen können und eine Grundlage für Beratung und Gespräche mit Angehörigen über die weitere Prognose der Betroffenen darstellen.

Eine große multizentrische Studie zur einheitlichen Festlegung eines Cut-off-Wertes sollte jedoch unbedingt durchgeführt werden.

Auf der kardiologischen Intensivstation der Charité wird seit Durchführung unserer Studie bei Patienten nach kardiopulmonaler Reanimation die Neuronenspezifische Enolase zur Beurteilung der Prognose und der Festlegung des weiteren Procederes zusätzlich zu bisherigen Untersuchungen, wie CT und SSEP, hinzugezogen.

8. Literaturverzeichnis

Abramson NS et al: Neurologic recovery after cardiac arrest: effect of duration of ischemia. Brain Resuscitation Clinical Trial I Study Group. Crit Care Med 1985; 13: 930-931

Abramson NS: Brain resuscitation. In: Rosen P, Barkin RM: Emergency Medicine Masby Year Book, St. Louis-Baltimore 1992; 173-183

Arbelaez A, Castillo M, Mukherji S: Diffusion-Weighted MR Imaging of Global Cerebral Anoxia. Am J Neuroradiol 1999; 20: 999-1007

Barone FC, Clark RK et al.: Neuron-specific enolase increase in cerebral and systemic circulation following focal ischemia. Brain Res 1993; 623: 77-82

Baskett PJ, Lim A: The varying ethical attitudes towards resuscitation in Europe. Resuscitation 2004; 62: 267-73.

Baskett PJ, Steen PA, Bossaert L: European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. Section 8. The ethics of resuscitation and end-of-life decisions. Resuscitation 2005; 67 Suppl 1: 171-80.

Bassetti C, Scollo Lavizzari G: Prognostic value of EEG in post anoxic coma after cardiac arrest. Eur Neurol 1987; 26: 161-170

Becker LB, Berg RA, Pepe PE: A reappraisal of mouth-to-mouth ventilation during bystander-initiated cardiopulmonary resuscitation. Circulation 1997; 96: 2102-2112

Behringer W, Kittler H, Sterz F et al.: The cumulative dose of epinephrine during cardiopulmonary resuscitation and neurologic outcome in patients after cardiac arrest. Ann Intern Med 1998; 129: 450-56

Bentley J et al.: Minimally Interrupted Cardiac Resuscitation by Emergency Medical Services for Out-of-Hospital Cardiac Arrest. JAMA 2008; 299(10): 1158-1165

Berek K et al.: The Prognostication of Cerebral Hypoxia after Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Adults. *Eur Neurol* 1997; 37: 135-145

Bernard SA et al.: Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *NEJM* 2002; 346: 557-563

Bialecki L, Woodward RS: Predikting death after CPR. Experience at a not-teaching community hospital with a fulltime critical care staff. *Chest* 1995; 108: 1009-1017

Böttiger BW, Mobes S, Glatzer R et al.: Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans. *Circulation* 2001; 103(22): 2694-2698.

Brochez L, Naeyaert JM: Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol* 2000; 143: 256-268

Büttner T, Weyers S et al.: S-100 protein: Serum Marker of Focal Brain Damage after Ischemic Territorial MCA Infarction. *Stroke* 1997; 28(10): 1961-1965

Bundesärztekammer (Hrsg.): Reanimations-Empfehlungen für die Wiederbelebung. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag 2004.

Burghuber OC, Worofka B, Scherthaner G et al.: Serum neuron-specific enolase as a useful tumor marker for small cell lung cancer 1990; 65: 1386-1390

Cobbe SM, Dalziel K, Ford I, Marsden AK: Survival of 1476 patients initially resuscitated from out of hospital cardiac arrest. *British Med J* 1996; 312: 1633-1637

Cooper S, Cade J: Predicting survival, in-hospital cardiac arrests: resuscitation survival variables and training of Effectiveness. *Resuscitation* 1997; 35: 17-22

Donato R: Perspectives in S-100 protein biology. *Cell Calcium* 1991; 12: 713-726

Fano G, Biocca et al.: The S-100: a protein family in search of a function. *Progr Neurobiol* 1995; 46: 71-82

Fano G, Marrigio MA et al.: The S-100 protein causes an increase of intracellular calcium and death of PC12 cells. *Neuroscience* 1993; 53(4): 919-925

Fassbender K, Schmidt R, Schreiner a et al.: Leakage of brain originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *J Neurolo Sciences* 1997; 148: 101-105

Fogel W, Krieger D, Veith M et al.: Serum neuron-specific enolase as early predictor of outcome after cardiac arrest. *Crit Care Med* 1997; 25(7): 1133-1138

Fossa SD, Klepp O, Paus E: Neuro-specific enolase – a serum tumour marker in seminoma. *Br J Cancer* 1992; 65: 297-299

Franis A, Rivett AJ, Roth JA: Activity of neuron-specific enolase in normal and lesioned rat brain. *Brain Res* 1983; 263: 89-95

Fujioka M, Taoka T et al.: Delayed Ischemic Hyperintensity on T1-Weighted MRI in the Caudoputamen and Cerebral Cortex of Humans After Spectacular Shrinking Deficit. *Stroke* 1999; 30: 1038-1042

Fujiwara H, Arima N, Ohtsubo H et al.: Clinical significance of serum neuron-specific enolase in patients with adult T-cell leukemia. *Am J Haematol* 2002; 71: 80-84

Gerbitz KD, Wertigkeit der Enolase-Isoenzyme als Tumormarker. Eine Übersicht. *Tumor Diagnostik & Therapie* 1989; 10: 45-53

Gerbitz KD, Summer J, Schumacher I et al.: Enolase isoenzymes as tumour markers. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 1009-1016

Greene DG, Bauer RO, Janney CD, Elam JO: Expired air resuscitation in paralysed human subjects, *J Appl Physiol* 1957; 11: 313-318

Grubb NR, Simpson C, Sherwood RA et al.: Prediction of cognitive dysfunction after resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest using serum neuron-specific enolase and protein S-100. *Heart* 2007; 93(10): 1268-1273

Hallstrom AP, Cobb LA, Yu BH: Influence of comorbidity on the outcome of patients treated for out-of-hospital ventricular fibrillation. *Circulation* 1996; 93: 2019-2022

Heller RF, Streele PL, Fisher JD et al.: Success of cardiopulmonary resuscitation after heart attack in hospital and outside hospital. *British Med J* 1995; 311: 1332-1336

Henze G, Dummer R et al.: Serum S-100 – A marker for disease monitoring in metastatic melanoma. *Dermatology* 1997; 194: 208-212

Hiesche K: Informations-Broschüre Pharmacia (1987)

Horn M, Seger F, Schlote W: Neuron-specific enolase in gerbil brain and serum after transient cerebral ischemia. *Stroke* 1995; 26: 290-297

Hu J, Van Eldik LJ: S100 β induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via a nitric oxide-dependent pathway. *Biochi Et Biophys Acta* 1996; 1313: 239-245

Ingebrigtsen T, Romner B: Serial S-100 protein serum measurements related to early magnet resonance imaging after minor head injury. *J Neurusurg* 1996; 85: 945-948

Ingebrigtsen T, Romner B, et al.: Increased serum concentrations of protein S-100 after minor head injury: a biochemical serum marker with prognostic value. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995; 59: 103-104

Jäckel A, Deichmann M, Waldmann V et al.: S-100 β -Protein im Serum als Tumormarker beim malignen Melanom. *Hautarzt* 1999; 50: 250-256

Jakubaszko J, Rys A.: *Ratownictwo medyczne w Polisce*. Krakow: ZiZ 2002

Johnsson P, Lundquist C, Lindgren A et al.: Cerebral Complications after cardiac surgery assessed by S-100 and NSE levels in blood. *J Cardiothor Vasc Anaest* 1995; 9(6): 694-699

Juchems R, Wahlig G, Frese W: Influence of age on the survival rate of out-of-hospital and in-hospital resuscitation. *Resuscitation* 1993; 26: 23-29

Kärkelä J, Bock E, Kaukinen S et al.: CSF and serum brain-specific creatine kinase isoenzyme (CK-BB), neuron specific enolase (NSE) and neural cell adhesion molecule (NCAM) as prognostic markers for hypoxic brain injury after cardiac arrest in man. *L Neurol Sciences* 1993; 116: 100-109

Kaiser E, Kusmits R, Pregant P, Burghuber O: Clinical biochemistry of neuron-specific enolase. *Clin Chim Acta* 1989; 183: 13-32

Klöss Th, Roewer N, Wischhausen F: Prognose der präklinischen kardiopulmonalen Reanimation. *Anästh. Intensivther. Notfallmed.* 1985; 20: 237-243

Kouwenhoven WB, Jude JR, Knickerbocker GG: Closed chest cardiac massage. *JAMA* 1960; 173: 1064-1067

Kulisma M, Alaspaa A: Out-of-hospital of non-cardiac original Epidemiology and outcome. *Eur Heart J* 1997; 18: 1122-1128

Kunz D et al.: Diagnostic relevance of procalcitonin, IL-6 and cellular immune status in the early phase after liver transplantation. *Transplantation Proceedings* 1998; 30: 2398-2399

Lonstreth WT et al.: Intravenous glucose after out-of-hospital cardiopulmonary arrest: a community-based randomised trial. *Neurology* 1993; 43: 2534-2541

Lynch JR, Blessing R, White WD et al.: Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke* 2004; 35: 57-63

Madl C et al.: Improved outcome prediction in unconscious cardiac arrest survivors with sensory evoked potentials compared with clinical assessment. *Crit Care Med* 2000; 28: 721-726

Marangos PJ, Zis AP, Clark RL, Goddwin FK: Neuronal, non-neuronal and hybrid forms of enolase in brain: structural, immunological and functional comparisons: *Brain Res* 1978; 150: 117-133

Marangos PJ, Schmechel DE: Neuron-specific enolase, a clinically useful marker for neurons and neuroendocrine cells. *Ann Rev Neurosci* 1987; 10: 269-295

Martens PR: Serum Neuron-specific Enolase as a Prognostic Marker for Irreversible Brain Damage in Comatose Cardiac Arrest Survivors. *Acad Emerg Med* 1996; 3: 126-131

Martens PR, Mullie A, Buylaert W et al.: Early prediction of non-survival for patients suffering cardiac arrest-a world of caution. The Belgian Cerebral Resuscitation Study Group. *Intensive Care Med* 1992; 18: 11-14

Martens PR, Raabe A, Johnsson P: Serum S100 and Neuron Specific Enolase for Prediction of Regaining Consciousness after Global Cerebral Ischaemia. *Stroke* 1998; 29(11): 2363-2366

Martens PR et al.: Influence on outcome after cardiac arrest of time elapsed between call for help and start of bystander basic CPR. Belgian Cerebral Resuscitation Study Group. *Resuscitation* 1993; 25: 227-234

Mc Grath RB: In-house cardiopulmonary resuscitation after a quarter of a century. *Ann Emerg Med* 1987; 16: 1365-1368

Meisner M et al.: Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24: 680-684

Meynaar IA, Oudemans-van Straaten HM, van der Wetering J et al.: Serum neuron-specific enolase predicts outcome in post-anoxic coma: a prospective cohort study. *Intensive Care Med*. 2003; 29 (2): 189-195

Missler U, Wiesmann M et al.: S-100 Protein and Neuron-Spezific Enolase Concentrations in Blood as Indicators of Infaction Volume and Prognosis in Acute Ischemic Stroke. Stroke 1997; 28: 1956-1960

Molina R, Navarro J et al.: S-100 protein serum levels in patients with benign and malignant diseases: false-positive results related to liver and renal function. Tumour Biol 2002; 23: 39-44

Morimoto Y et al. Acute brain swelling after out-of-hospital cardiac arrest: pathogenesis and outcome. Crit Care Med 1993; 21: 104-110

Müllner M et al.: Blood glucose concentration after cardiopulmonary resuscitation influences functional neurological recovery in human cardiac arrest survivors. J Cerebr Blood Flow Metabol 1997; 17: 430-436

Neundörfer B, Witzel K: EEG – Fibel: Das EEG in der ärztlichen Praxis, 5.Auflage 2002: 7

Nolan J: European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. section 1. Introduction. Resuscitation 2005; 67 Suppl 1: 3-6

Nolan JP, Deakin CD, Soar J et al.: European Resuscitation Council guidelines for resuscitation 2005. Section 4, Adult advanced life support. Resuscitation 2005; 67 Suppl 1: 39-86.

Nowak K.: Ocena skuteczności zabiegu resuscytacji w okresie przedszpitalnym w aglomeracji miejskiej; Diplomarbeit Krakow 2001

Ocklitz A: Künstliche Beatmung mit technischen Hilfsmitteln schon vor 5000 Jahren? Anaesthetist. 1996 Jan; 45(1): 19-21.

Oder W et al.: Cerebral function following catastrophic brain injury: relevance of single photon emission computed tomography and positron emission tomography. In: Levin HS, Benton AL, Muizelaar JP, Eisenberg HM: Catastrophic brain injury, 4th edn. Oxford University Press, Oxford 1999: 51-76

Peatfield RC, Tayler D, Sillet RW: Survival after cardiac arrest in hospital: Lancet 1997; June 11: 1223-1225

Pell JP, Sirel JM, Marsden AK et al.: Presentation, management and outcome of out of hospital cardiopulmonary arrest: comparison by underlying aetiology. Heart 2003; 89: 839-842

Persson I, Hardemark HG et al.: S-100 protein and neuron-specific-enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous tissue. Stroke 1987; 18: 911-918

Pfeifer R, Börner A, Krack A et al.: Outcome after cardiac arrest: predictive values and limitations of the neuroproteins neuron-specific enolase and protein S-100 and the Glasgow Coma Scale. Resuscitation 2005; 65(1): 49-55

Piechocki J, Jakubaszko J.: Ocena skuteczności zespołów ratownictwa medycznego w zagrożeniach sercowo-naczyniowych na obszarze wybranych dzielnic Wrocławia w okresie od 1.lipca do 31. grudnia 1999. Medycyna Intensywna i Ratunkowa 1998; 1

Prange HW, Aue G, Frauendorf H, Reiber H: Die neuronenspezifische Enolase als Prognosemarker bei zerebraler Hypoxie. Intensivmed 1995; 32: 17-22

Prior PF et al.: EEG Monitoring and evoked potentials in brain ischemia. Br J Anaesth 1985; 57: 63-81

Pujol JL, Bohner JM, Grenier J et al.: Neuron specific enolase and prognosis of non-small cell lung cancer – prospective study in 621 patients. Lung Cancer 2001; 31: 221-231

Ragoschke A, Pfeifer R et al.: Neurologische Prognose und Therapie nach kardiopulmonaler Reanimation. Nervenarzt 2007; 78: 937-943

Rami A, Krieglstein J: Inhibition of proteolysis prevents neuronal damage caused by cytotoxic hypoxia or ischemia Aus J.Krieglstein H, Oberpichler Schwenk (Hrsg.): Pharmacology of Cerebral Ischemia 1992; 301-307

Rosen H, Sunnerhagen KS, Herlitz J, Blomstrand C, Rosengren L: Serum levels of the brain-derived proteins S-100 and NSE predict long-term outcome after cardiac arrest. *Resuscitation* 2001; 49(2): 183-191.

Rosen H et al.: Increased Serum Levels of the S-100 Protein are associated with hypoxic brain damage after cardiac arrest. *Stroke* 1998; 29: 473-477

Rothstein RF et al.: Prediction outcome in hypoxic-ischemic coma. A prospective clinical and electrophysiologic study. *Elektroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 79: 101-107

Rosswurm S et al.: Molecular Aspects and Natural Source of Procalcitonin. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 1999; 37: 789-797

Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V: S-100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech* 2003; 60: 614-632

2.Buch der Könige, 4, 32-35

Safar P, Escarraga LA, Elam JO: A comparison of the mouth-to-mouth and mouth-to-airway methods of artificial respiration with the chest-pressure arm-lift methods. *N Engl J Med* 1958; 258: 671-677

Safar P, Klain M, Tisherman S: Selective brain cooling after cardiac arrest. *Crit Care Med* 1996; 24: 911-914

Safar PJ, Kochanek PM. Therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *N Engl J Med* 2002; 346: 612-613

Sage M, Wilson A. The blood-brain-barrier: An important concept in neuroimaging. *AJNR* 1994; 15: 601-622

Schäfer BW, Heizmann CW: The S-100 family of EF-hand-calcium-binding proteins: functions and pathology. *Reviews* 1996; 21: 134-140

Schaarschmidt H, Prange HW, Reiber H: Neuron-Specific Enolase Concentrations in Blood As a Prognostic Parameter in Cerebrovascular Diseases. *Stroke* 1994; 25: 558-565

Schmailzl Kurt JG: Harrison- Innere Medizin, 13.Auflage, 1996, S375

Schmitz B, Hoehn-Berlage M et al.: Recovery of the Rodent Brain After Cardiac Arrest: A Funktional MRI Study: *Magnetic Resonance In Medicin* 1998; 39: 783-788

Schneider AP, Nelson DJ, Brown DD: In-hospital cardiopulmonary resuscitation: a 30-year review. *J Am Board Fam Pract* 1993; 6: 91-101

Sherman AL et al.: Somatosensory potentials, CSF creatine kinase BB activity, and awakening after cardiac arrest. *Neurology* 2000; 54: 889-894

Siesjö BK, Katsura K et al.: The multiple causes of ischemic brain damage: a speculative synthesis aus J.Kriegelstein H, Oberpichler Schwenk *Pharmakologie of Cerebral Ischemia* 1992; 511-524

Silvester: A new method of resuscitating still-born children and of restoring persons apparently drowned or dead. *BMJ* 1858; 2: 576-9

Steinberg R, Gueniau C et al.: Experimental brain ischemia: Neuron specific enolase level in cerebrospinal fluid as an index for neuronal damage. *J Neurochem* 1984; 43: 19-24

Steinberg R, Scarna H et al.: Release on Neuron specific enolase (NSE) in cerebrospinal fluid following experimental lesions of the rat brain. *Neurochem Int* 1983; 5: 145-151

Steinberg R, Scarna H, Pujol JF: Neuron specific enolase (NSE) in cerebrospinal fluid: A possible indicator of neuronal damage in kainic acid lesions. *Neurosci Letter* 1984; 45: 147-150

Stieber P, Hatz R, Liedl B et al.: Patern of S100 release in benign and malignant diseases besides malignant melanoma. *Anticancer Res* 2003; 23: 4511

Stiell IG et al. High-dose epinephrine in adult cardiac arrest. *N Engl J Med* 1992; 327: 1045-1050

Swor RA, Jackson RE, Cynar M: Bystander CPR, ventricular fibrillation and survival in witnessed, unmonitored out-of-hospital cardiac arrest. *Ann Emerg Med* 1995; 25: 780-784

The Hypothermia After Cardiac Study Group: Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest. *NEJM* 2002; 346: 549-556

Timermann A, Piegas LS et al.: Results of cardiopulmonary resuscitation in a cardiology hospital. *Resuscitation* 1989; 18: 75-84

Usui A, Kato K et al.: Neuronal tissue-related proteins in serum and cerebrospinal fluid after cardiac arrest. *J Neurological Science* 1994; 132: 134-139

Wallays C et al.: Hypoxic cerebral lesions. X-ray computed tomography and MRI aspects. Apropos of 20 cases. Selective vulnerability of the striatopallidum. *J Neuroradiol* 1995; 22: 77-85

Weigand MA et al.: Neuron-specific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis or septicshock. *Anaesthesiol* 2000; 92: 905-907

Wiesmann M, Missler U, Gottmann D, Gehring S: Plasma S-100 β protein concentration in healthy adults is age- and sex-independent. *Clin Chem* 1998; 44: 1056-1058

Woertgen CH, Rothoerl RD et al.: Comparison of serial S-100 and NSE serum measurement after severe head injury. *ACTA Neurochirurgica* 1997; 1-6

Zandenbergen EGJ et al.: Prediction of poor outcome in anoxic-ischemic coma. *J Clin Neurophysiol* 2000; 17: 498-501

Zingler VC, Krumm B, Bertsch T et al.: Early prediction of neurological outcome after cardiopulmonary resuscitation: a multimodal approach combining neurobiochemical and electrophysiological investigations may provide high prognostic certainty in patients after cardiac arrest. *Eur Neurol.* 2003; 43: 79-84

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass die Dissertation von mir selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde, das sie auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Berlin, den 01.11.2008

Katja Eckermann

10. Danksagung

Erst durch die Hilfe und das Verständnis vieler vertrauter Personen war die Durchführung dieser Arbeit mir neben Beruf und Familie möglich.

Ganz besonders möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. Thomas Dschietzig als meinem Betreuer für die Bereitstellung des Themas und die Schaffung der Voraussetzungen für eine solche Studie und seine Hilfe in allen Phasen der Arbeit danken. Durch seine wertvollen Ratschläge, seine Motivation und seine kontinuierliche Ansprechbarkeit habe ich trotz mancher Rückschläge nie ans Aufgeben denken müssen.

Meiner Familie, die während der gesamten Zeit zu mir hielt und Ihre Ansprüche zurücksteckte, gilt ein ganz herzliches und liebevolles Dankeschön!

11. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.