

4 Diskussion

Die STN-HFS ist mittlerweile eine etablierte therapeutische Option in der Behandlung eines langjährigen idiopathischen Parkinson-Syndroms mit schweren Wirkungsfluktuationen und Dyskinesien, welches medikamentös nicht mehr ausreichend zu kontrollieren ist (Deuschl et al., 2006; Volkmann, 2004; Krack et al., 2003; Limousin et al., 1998). Diese Therapieform lindert alle motorischen Kardinalsymptome. Der zugrunde liegende Wirkungsmechanismus ist jedoch nur unvollständig verstanden. Die STN-HFS scheint qualitativ und quantitativ der oralen L-Dopa-Applikation vergleichbar zu sein, durch eine Reduktion dieser Medikamente lassen sich auch Dyskinesien minimieren (Russmann et al., 2004; Vingerhoets et al., 2002; Molinuevo et al., 2000; Krack et al., 1998b).

Mit den Daten dieser Arbeit konnte ein direkter Effekt der STN-HFS auf das striatal-dopaminerge System nachgewiesen werden.

Die STN-HFS

- steigert die Dopaminfreisetzung im Striatum,
- steigert unabhängig davon die extrazellulär-striatalen Konzentrationen der Metabolite DOPAC und HVA,
- steigert die Aktivität der TH, des Schrittmacherenzym der Dopaminsynthese, im ipsilateralen Striatum, nicht jedoch in der SNc,
- steigert die striatale TH-Phosphorylierung insgesamt und insbesondere mit erhöhten pTH19-Konzentrationen und
- hat zumindest unter den gewählten Untersuchungsbedingungen keinen Einfluss auf die striatale TH-Proteinkonzentration oder die striatale oder nigrale TH-mRNA-Expression.

Die Ergebnisse der Mikrodialyse konnten hier im Gegensatz zu Daten anderer (Brueet et al., 2001) nur durch eine pharmakologische Behandlung der Versuchstiere mit Substanzen, die die präsynaptische Dopaminwiederaufnahme hemmen (Nomifensin), die vesikulären Katecholaminspeicher irreversibel zerstören (Reserpin) oder den Dopaminabbau hemmen (Pargylin), erhoben werden. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer Vorarbeiten (Meissner et al., 2002; Meissner et al., 2001; Paul et al., 2000) führte die akute STN-HFS in nicht behandelten Tieren zu einer signifikant erhöhten extrazellulär-striatalen Konzentration der Metabolite DOPAC und HVA im Vergleich zu den Basiswerten und nicht stimulierten

Kontrolltieren, nicht jedoch von Dopamin.

4.1 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Inhibition der Monoaminoxidase

Die pharmakologische Vorbehandlung mit Pargylin führte zu einer dreifachen Erhöhung der basalen striatal-extrazellulären Dopaminkonzentration im Vergleich zu nicht behandelten Kontrolltieren. Die Konzentrationen der Metabolite DOPAC und HVA waren erniedrigt. Pargylin bewirkt durch eine irreversible Hemmung der MAO eine konsekutive Akkumulation von Dopamin in der Synapse, sowie eine Erhöhung der physiologischen Dopaminausschüttung unter Ruhebedingungen (Elverfors et al., 1997; Di Chiara et al., 1993; Butcher et al., 1990). STN-HFS führte zu einer weiteren Steigerung der Dopaminkonzentration im Vergleich zu den Basiswerten und zu nicht stimulierten Kontrolltieren. Der fehlende Nachweis einer erhöhten Dopaminfreisetzung ohne Pargylinvorbehandlung in unseren Vorarbeiten (Meissner et al., 2002; Meissner et al., 2001; Paul et al., 2000) könnte in einer Erschöpfung der Transportkapazität des DAT (Meiergerd und Schenk, 1994) durch die durch Pargylin schon basal erhöhten extrazellulär-striatalen DA-Konzentrationen begründet sein. Daraus würde folgen, dass die zusätzliche Erhöhung von Dopamin im synaptischen Spalt während STN-HFS auch nicht durch den DAT wieder internalisiert wird und damit gemessen werden kann. Signifikant erhöhte Konzentrationen fanden sich im Verlauf nach STN-HFS auch für die Metabolite DOPAC und HVA, jedoch nur im Vergleich zu den Basiswerten. Ein kontinuierlicher Anstieg der Metabolitenkonzentration war auch in der Gruppe der nicht stimulierten Kontrolltiere zu verzeichnen, was auf eine kontinuierliche Neusynthese der MAO hindeutet (Panova et al., 2000).

4.2 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Dopaminwiederaufnahmehemmung

Die kontinuierliche Zugabe von Nomifensin in die Dialyseflüssigkeit führte zu 52-fach erhöhten Basalkonzentrationen von Dopamin im Vergleich zu nicht vorbehandelten Tieren. Die Konzentrationen von Dopamin und der Metabolite DOPAC und HVA nahmen in der Kontrollgruppe im Verlauf stetig ab. Dieses Phänomen ist am ehesten durch die dauernde Stimulation präsynaptischer D2-Rezeptoren erklärt, welche über eine negative Rückkopplung die Synthese und Ausschüttung von DA regulieren (Fisher et al., 1994; Galloway et al., 1986). STN-HFS führte zu einer prompten, reversiblen Erhöhung extrazellulär-striatalen Dopamins im Vergleich zu nicht stimulierten Kontrolltieren, von DOPAC und HVA jeweils auch im Vergleich zu den Basalwerten. Es ist wahrscheinlich, dass die vermehrte Dopaminanflutung durch

vermehrte Exozytose des im vesikulären Pool gespeicherten Dopamins bedingt ist, da Nomifensin auch schon in geringeren Konzentrationen den präsynaptisch lokalisierten Dopamintransporter nahezu vollständig blockiert, und damit sowohl die Wiederaufnahme als auch die transportervermittelte Ausschüttung hemmt (Arbuthnott et al., 1990; Zetterström et al., 1988; Butcher et al., 1988). Die Erhöhung der Metabolitenkonzentrationen ist somit auch nicht durch den Abbau von wiederaufgenommenem Dopamin bedingt, sondern möglicherweise auf einen verstärkten extraneuronalen Metabolismus, z.B. in Gliazellen (Elsworth und Roth, 1997), zurückzuführen. Eine andere Erklärung wäre ein erhöhter intraneuronaler Dopaminumsatz, das heißt, dass Dopamin aus dem zytoplasmatischen Kompartiment nicht nur über den exozytotischen Pool in den synaptischen Spalt freigesetzt wird, sondern auch verstärkt direkt dem Metabolismus zugeführt würde. Indirekt bestätigt wird letztere These durch die Tatsache, dass Substanzen, die eine erhöhte Dopaminfreisetzung bewirken, in der Regel erniedrigte Konzentrationen der Metaboliten nach sich ziehen (Gerhardt und Maloney, Jr., 1999; Zetterström et al., 1988; Butcher et al., 1988; Imperato und Di Chiara, 1984; Zetterström et al., 1983). Folglich erscheint ein dualer Effekt der STN-HFS als Erklärung für die erhöhten Konzentrationen von Dopamin und der Metabolite möglich. Die vermehrte Anflutung von Dopamin im extrazellulär-striatalen Raum würde nach dem Kompartimentenmodell (Arbuthnott et al., 1990; Zetterström et al., 1988; Justice, Jr. et al., 1988) aus dem exozytotischen Kompartiment gespeist, die Metabolite würden durch einen direkten Dopaminumsatz aus dem zytoplasmatischen Kompartiment stammen.

4.3 Einfluss der STN-HFS auf den striatalen Dopaminstoffwechsel nach Entleerung der vesikulären Katecholaminspeicher durch Reserpin

Reserpin bewirkt eine Zerstörung der präsynaptisch-exozytotischen und vesikulären Kompartimente (Guldborg und Broch, Jr., 1971; Dahlstroem et al., 1965) aus welchen die synaptische Freisetzung von Dopamin unter physiologischen Bedingungen erfolgt (Elsworth und Roth, 1997; Arbuthnott et al., 1990; Justice, Jr. et al., 1988). Hier führte dann auch die Vorbehandlung mit Reserpin erwartungsgemäß zu nicht messbarem Dopamin in den Basiswerten, die extrazellulär-striatale Dopaminkonzentration lag also unter dem Detektionslimit von 0,01pmol/20µl Dialysat. Im Vergleich zu nicht behandelten Kontrolltieren war die Konzentration der Metabolite DOPAC und HVA nur wenig niedriger. Der weitaus größte Anteil der unter physiologischen Bedingungen extrazellulär anflutenden Metabolite ist wie oben beschrieben dem direkten intraneuronalen Abbau neu synthetisierten Dopamins zuzuschreiben.

Dieses stammt aus dem zytoplasmatischen Speicher, welcher durch Reserpin nicht beeinflusst wird (Kannari et al., 2000; Wong et al., 1993; Arbuthnott et al., 1990; Callaway et al., 1989) und somit die nahezu unveränderten Metabolitenkonzentrationen im Vergleich zur nicht vorbehandelten Kontrollgruppe erklärt. Nach akuter STN-HFS erhöhten sich die Konzentrationen der Metabolite signifikant im Vergleich zu den Basiswerten, für DOPAC teils auch im Vergleich zu nicht behandelten Kontrollen. Dopamin blieb weiter unter dem Detektionslimit. Dies ist somit ein zweiter Hinweis auf einen durch die akute STN-HFS erhöhten Dopaminmetabolismus, der von der striatalen synaptisch-exozytotischen Dopaminausschüttung unabhängig ist.

In Zusammenschau mit den Daten der Vorbehandlung mit Nomifensin stellt sich die Frage nach der physiologischen Relevanz eines erhöhten intraneuronalen Dopaminumsatzes, ohne dass dieses zur synaptischen Freisetzung gelangt. Erhöhte intrazelluläre Dopaminkonzentrationen haben jedoch auf elektrophysiologischer Ebene Effekte im Sinne einer erniedrigten neuronalen Entladungsrate gezeigt (Krnjevic et al., 1978).

4.4 Einfluss der STN-HFS auf die striatale und nigrale TH-Aktivität und –mRNA-Expression, des striatalen TH-Proteingehaltes und der –Phosphorylierung

Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Dopaminsynthese ist die Hydroxylierung von L-Tyrosin zu L-Dopa, das hierfür verantwortliche Enzym ist die TH (Levitt et al., 1965; Nagatsu et al., 1964).

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die akute STN-HFS zu einer Aktivitätssteigerung der TH im ipsilateralen Striatum, nicht jedoch der SNc führt. Unbeeinflusst blieb die TH-mRNA-Expression.

Akute STN-HFS erhöhte weiterhin im ipsilateralen Striatum die Gesamt-TH-Phosphorylierung in Tieren, die direkt nach Ende der Stimulation getötet wurden, während der Gesamt-TH-Proteingehalt im Vergleich zu nicht stimulierten Kontrolltieren unbeeinflusst blieb. Im Einzelnen zeigte sich die Phosphorylierungsrate in STN-stimulierten Tieren verglichen mit der Kontrollgruppe für pTH19 signifikant erhöht. Dem gegenüber waren geringe und nicht signifikante Erhöhungen der pTH31- und pTH40-Anteile zu verzeichnen.

Die TH-Enzymaktivität unterliegt einer komplexen Regulation unter anderem durch die Phosphorylierung verschiedener Serin-Enden der TH. Physiologisch bedeutsam erscheint

insbesondere die hierarchische Phosphorylierung von TH19 und TH40 in Bezug auf die Steigerung der TH-Enzymaktivität. Eine TH19-Phosphorylierung erleichtert durch eine Konformitätsänderung des Enzyms die TH40-Phosphorylierung, welche eine Steigerung der TH-Aktivität durch Verminderung der physiologischen negativen Rückkopplung durch Dopamin bewirkt (Bevilaqua et al., 2001; Daubner et al., 1992; Funakoshi et al., 1991). Verschiedene Proteinkinasen sind an der TH40-Phosphorylierung beteiligt, eine Aktivitätssteigerung ist jedoch nur unter Wirkung der cAMP-abhängigen Proteinkinase A (PKA) beobachtet worden (Funakoshi et al., 1991). Die Kalzium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II (CaM-K II) phosphoryliert TH19 (Griffith und Schulman, 1988), eine Erhöhung der Enzymaktivität durch alleinige TH19-Phosphorylierung geschieht jedoch erst in Anwesenheit von Protein 14-3-3 (Itagaki et al., 1999; Ichimura et al., 1987). 14-3-3 ist ein Chaperon-Protein welches Komponenten verschiedener Signaltransduktionswege durch Phosphorylierung der Bindungspartner und des Proteins selbst moduliert (Aitken, 1996). Die Ergebnisse dieser Arbeit mit signifikant erhöhtem striatalem pTH19 durch STN-HFS führen zu der Annahme, dass die STN-HFS eventuell auch modulierend auf die Aktivität der CaM-K II wirken könnte. Die gezeigte striatale TH-Aktivitätssteigerung unter STN-HFS könnte auf diese erhöhte striatale Phosphorylierungsrate der TH zurückzuführen sein.

4.5 Kritische Betrachtung der Ergebnisse im Hinblick auf physiologische Bedingungen und Limitierung der Ergebnisinterpretation

Das Ergebnis einer quantitativen Erhöhung extrazellulär-striatalen Dopamins als ein Effekt akuter STN-HFS wurde unter der Beeinflussung durch hochpotente Pharmaka erzielt. Nur hiermit liess sich die durch STN-HFS gesteigerte Dopaminausschüttung nachweisen. Es stellt sich also die Frage nach der physiologischen Relevanz dieser Ergebnisse. Aufgrund der niedrigen zeitlichen Auflösung der Mikrodialyse können eventuell kurzfristige, kleinste Änderungen der Transmitterkonzentrationen nicht erfasst werden und erst durch die pharmakologische Beeinflussung offensichtlich. Eine fehlende Steigerung der extrazellulär-striatalen Dopaminkonzentration nach akuter STN-HFS muss deshalb nicht zwangsläufig einen nicht vorhandenen Effekt widerspiegeln. In mehreren Studien wurden Veränderungen der motorischen Aktivität der Versuchstiere bei gleichzeitiger Veränderung der Metabolite des Dopaminstoffwechsels beschrieben, ohne dass Konzentrationsänderungen des Dopamin selbst aufgezeichnet werden konnten (Paul et al., 2000; Cenci et al., 1992; Nakahara et al., 1992; Sabol et al., 1990; Diana et al., 1989). Die elektrische Aktivität dopaminerger Neurone führt

physiologischerweise zu tonischer und phasischer Dopaminausschüttung mit resultierenden komplexen zeitlichen und örtlichen Konzentrationsänderungen und einer Nettowirkung, die unter Umständen räumlich entfernt vom Ort der ursprünglichen neuronalen Aktivität stattfindet (Venton et al., 2003). Aus diesem Grunde könnten kleinste, nicht messbare Änderungen der synaptischen Dopaminkonzentration also ausreichend sein, um Bewegung und Verhalten zu beeinflussen.

Die pharmakologische Behandlung an sich ist unphysiologisch und Synthese, Ausschüttung und Metabolismus von Dopamin könnten dadurch ebenfalls unphysiologische Stoffwechselwege beschreiben. Durch die jeweiligen Kontrollgruppen ist das Übersehen eines solchen Effektes jedoch minimiert.

Alle Experimente dieser Arbeit sind an gesunden Tieren durchgeführt worden. Die therapeutische STN-HFS wird jedoch vor allem an Parkinson-Patienten durchgeführt und nicht an gesunden Probanden. Eine Übertragung der Ergebnisse vom Versuchstier auf den Menschen ist immer schwierig und insbesondere dann, wenn unterschiedliche pathophysiologische Ausgangszustände miteinander verglichen werden sollen. Das Hauptargument, in dieser Studie nur gesunde Tiere zu untersuchen, ergab sich aus Beobachtungen in Vorarbeiten, dass der relative Anteil, der mittels Mikrodialyse bestimmten extrazellulär-striatalen Dopaminmetabolite zwischen gesunden und 6-OHDA lädierten Ratten gleich ist (Meissner et al., 2002; Meissner et al., 2001; Paul et al., 2000; Abbildung 21). Die striatale Dopamindepletion scheint also zumindest in der Ratte keinen Einfluss auf die gemessenen Effekte zu haben.

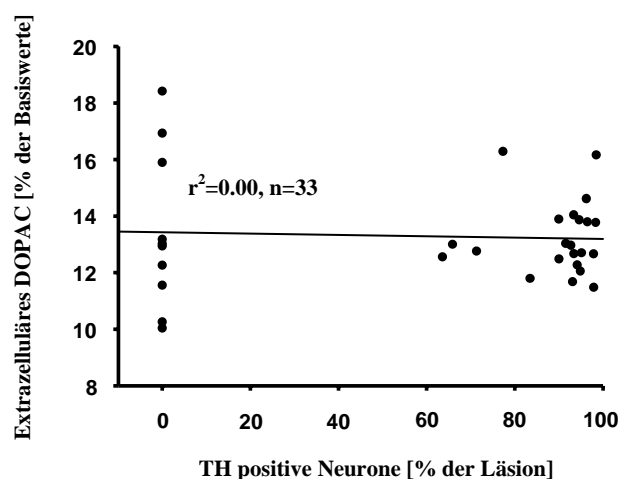


Abbildung 21: Extrazellulär striatale DOPAC-Konzentrationen in der Ratte angegeben als % des Basiswertes und aufgetragen gegen die jeweiligen TH-positiven Neurone der SNc als Ausdruck der Läsionsstärke (lineare Regression; $r^2=0,00$; $n=33$). Die Daten entstammen den Vorarbeiten dieser Studie.

4.6 Einbeziehen der Ergebnisse in die aktuellen Modelle zur Wirkung intrazerebraler Hochfrequenzstimulation und die Suche nach einem anatomischen Korrelat

Die vorliegende Arbeit bestätigt die Modulation striatal-dopaminerges Transmission durch STN-HFS (Lee et al., 2006; Meissner et al., 2002; Bruet et al., 2001; Meissner et al., 2001; Paul et al., 2000) und konnte auch eine erhöhte striatale Dopaminausschüttung und einen hiervon unabhängigen intraneuronalen Dopaminumsatz als direkten Effekt der STN-HFS nachweisen. Die Ergebnisse lassen annehmen, dass das durch die STN-HFS vermehrte extrazellulär-striatale Dopamin aus dem exozytotischen Kompartiment stammt. Das gleichzeitig davon unabhängig anflutende DOPAC könnte durch eine vermehrte zytoplasmatische Dopaminsynthese mit nachfolgendem Metabolismus und passiver Diffusion nach extrazellulär zustande kommen. Darüber hinaus konnten striatal eine gesteigerte TH-Enzymaktivität sowie eine erhöhte TH-Phosphorylierungsrate nachgewiesen werden.

Direkte axonale Verbindungen bestehen zwischen dem STN und der SNc (Groenewegen und Berendse, 1990; Ricardo, 1980; Hammond et al., 1978). Darüber hinaus kollateralisieren Axone des nigro-striatalen Traktes zum STN (Prensa et al., 2000) und verlaufen wahrscheinlich auch direkt dorsal des Kerngebietes (Lee et al., 2006). Im dorsolateralen Anteil des STN teils unter Einbeziehung der caudalen Zona incerta liegt das bevorzugte Gebiet der Elektrodenplatzierung zur STN-HFS bei Parkinson-Patienten (Plaha et al., 2006; Saint-Cyr et al., 2002; Voges et al., 2002). Interessanterweise konnte kürzlich in einer amperometrischen Arbeit gezeigt werden, dass eine HFS an der dorsalen Grenze des STN eine 11fach höhere striatale DA-Ausschüttung bewirkt als eine Stimulation innerhalb des Kerngebietes (Lee et al., 2006). Eine Steigerung der Aktivität nigraler Zellen der pars compacta wurde im Anschluss an die STN-HFS nachgewiesen (Benazzouz et al., 2000a). Eine in vitro-Arbeit beschreibt diesbezüglich, dass durch STN-HFS dessen intrinsische Aktivität supprimiert wird, es jedoch gleichzeitig zu einer Generierung von Spikeaktivitäten der STN-Axone kommt, die größtenteils der Stimulationsfrequenz folgen (Garcia et al., 2003).

Somit könnte ein Wirkmechanismus der STN-HFS entweder in der axonalen elektrischen Reizweiterleitung und der Generierung von Aktionspotenzialen an direkten Faserverbindungen zwischen STN und SNc begründet sein, oder/und in der Aktivierung STN-naher nigro-striataler Faserstränge. Aktionspotenziale führen präsynaptisch zu einem Kalziumeinstrom und zur Ausschüttung der dort vesikulär gespeicherten Neurotransmitter wie Dopamin in den

synaptischen Spalt (Katz und Miledi, 1970; Katz und Miledi, 1967). Intrazelluläres Kalzium bindet unter anderem an Calmodulin und aktiviert die CaM-K II. Diese aktivierte CaM-K II wiederum führt zur Phosphorylierung von TH19 und an pTH19 bindet dann das Protein 14-3-3, was in der Konsequenz zu einer Aktivitätssteigerung der TH führt (Itagaki et al., 1999; Abbildung 22).

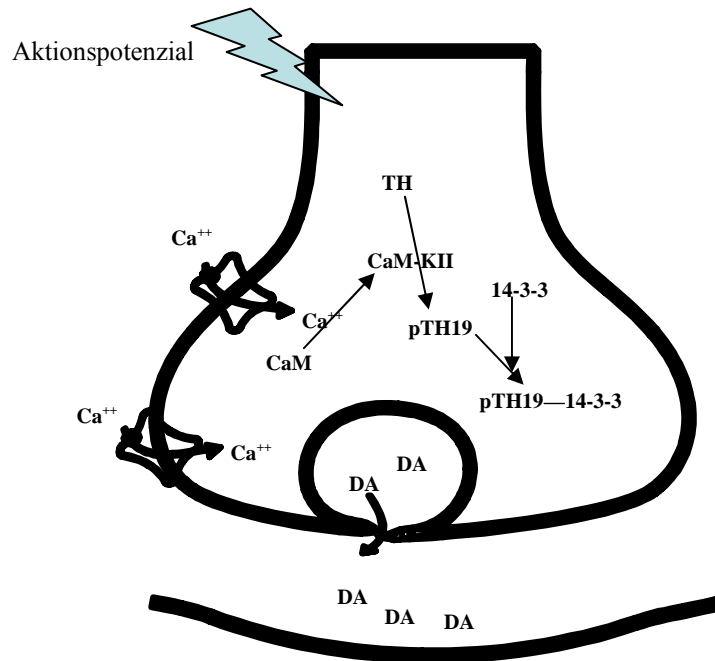


Abbildung 22: Möglicher Mechanismus der striatalen depolarisationsinduzierten TH-Aktivierung durch STN-HFS (nach Itagaki et al., 1999).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit einer erhöhten Phosphorylierungsrate striataler TH19 unter STN-HFS könnten also die ebenso beobachtete Aktivitätssteigerung striataler TH erklären und, wie auch die erhöhte striatale Dopaminausschüttung selbst, aktionspotenzialvermittelt zustande kommen.

Dem gegenüber wird in einer aktuellen Arbeit eine Herunterregulation der CaM-K II- und eine Heraufregulation der TH-Gen-Expression durch STN-HFS in der Ratte beschrieben (Henning et al., 2007). Allerdings wurden in dieser Studie Gewebeproben untersucht, die sowohl Teile des basalganglionären Netzwerks als auch des Kortex beinhalteten, so dass die Ergebnisse der CaM-K II-Expression die Modifikation innerhalb des gesamten untersuchten Gewebes widerspiegeln und eher wenig zur Frage expliziter Veränderungen innerhalb des nigro-striatalen Systems beitragen können.

Die Wirkung der STN-HFS auf die striatale dopaminerge Transmission ist in Primaten oder gar

an Parkinson-Patienten mittels intrastriataler Mikrodialyse bisher nicht untersucht worden. Es ist jedoch durch nicht invasive Methoden der Positronenemissionstomographie (PET) versucht worden, an Parkinson-Patienten die hier beschriebenen tierexperimentellen Daten zu überprüfen (Abosch et al., 2003; Strafella et al., 2003; Hilker et al., 2003). Keine dieser Arbeiten beschreibt eine Zunahme striatalen Dopamins unter STN-HFS. Jedoch muss bemerkt werden, dass die mittels Mikrodialyse gewonnenen tierexperimentellen Daten der vorliegenden Arbeit einen maximalen Effekt der STN-HFS auf die dopaminerge Transmission von nicht einmal 200% aufweisen. Dagegen entspricht eine Verminderung von 1% des in den PET-Studien gebräuchlichen [¹¹C]Racloprid Bindungspotenzials einer Erhöhung der Dopaminfreisetzung um etwa 44% (Breier et al., 1997). Da in den PET-Studien eine Signifikanzschwelle von etwa 15% Unterschied zur kontralateralen Seite angegeben ist (Strafella et al., 2003), erfasst die PET-Technik nur Unterschiede, die größer als 600% sind. Somit erscheint die Methode der PET nicht sensitiv genug, die vorliegenden tierexperimentellen Daten nachzuvollziehen.

In einer kleinen Fallstudie von drei Patienten wurde eine Reduktion der Anflutung von L-Dopa im Striatum nach oraler Applikation als Effekt der STN-HFS beschrieben (Nimura et al., 2005). Die Autoren schlussfolgern hieraus einen stabilisierenden Effekt der STN-HFS auf die synaptischen striatalen Dopaminkonzentrationen und einen eventuellen Zusammenhang mit der Reduktion von L-Dopa-induzierten Dyskinesien. Demgegenüber steht eine aktuelle tierexperimentelle Arbeit, die striatale Zellen als Wirkort sowohl der L-Dopa-Therapie, als auch der STN-HFS sieht und eine additive Wirkung beider Therapien annimmt (Oueslati et al., 2007). Dies spräche eher gegen eine direkte antidyskinetische Wirkung der STN-HFS und deckt sich auch mit der klinischen Erfahrung (Rusmann et al., 2004; Vingerhoets et al., 2002; Krack et al., 1998b).

Durch die Daten der vorliegenden Arbeit kann angenommen werden, dass die Wirkung der STN-HFS zumindest teilweise durch eine direkte extrazellulär-striatale Dopaminfreisetzung zustande kommt und damit eventuell auch die bei Parkinson-Patienten unter der STN-HFS mögliche Reduktion dopaminergere Medikamente erklären könnte. Die Steigerung der striatalen TH-Aktivität unter STN-HFS, welche möglicherweise durch die beobachtete Erhöhung der striatalen TH-Phosphorylierung zustande kommt, könnte, wie auch die erhöhte Dopaminausschüttung selbst, Ausdruck einer aktionspotenzialvermittelten Übertragung sein. Ein morphologisches Korrelat könnte eine elektrische Reizübertragung auf anatomische Faserverbindungen zwischen STN und SNc oder dem STN direkt benachbarte nigro-striatale Verbindungen darstellen.