

Zivilschutz- Forschung

Schriftenreihe der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
Herausgegeben vom Bundesamt für Zivilschutz Neue Folge Band 36

M. Weiss, B. Fischer, U. Plappert
und T. M. Fliedner

Biologische Indikatoren für die Beurteilung multifaktorieller Beanspruchung

**Experimentelle, klinische und
systemtechnische Untersuchung**

ISSN 0343-5164

Zivilschutz- Forschung

Schriftenreihe der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern
Herausgegeben vom Bundesamt für Zivilschutz Neue Folge Band 36

M. Weiss, B. Fischer, U. Plappert
und T. M. Fliedner

Biologische Indikatoren für die Beurteilung multifaktorieller Beanspruchung

**Experimentelle, klinische und
systemtechnische Untersuchung**

ISSN 0343-5164

Herausgeber: Bundesamt für Zivilschutz,
Deutscherherrenstr. 93-95, 53177 Bonn

Telefon: (02 28) 9 40-0

Telefax: (02 28) 9 40-14 24

Internet: <http://www.bzs.bund.de>

Redaktion: Birte Schönherr, Anita Boldt

Der Beitrag gibt die Meinung der Autoren wieder. Er stellt keine Äußerung des Herausgebers dar und ist auch nicht als solche auszulegen.

Die Autoren

Fischer, Burkhard

Diplom-Informatiker der Medizin
Deutsches Krankenhausinstitut e. V.
Servicestelle Qualitätssicherung
Tersteegenstr. 3
40474 Düsseldorf

Fliedner, Theodor M.

Professor em. Dr. med. Dr. h.c. mult.
em. Direktor des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin
der Universität Ulm

Plappert, Ulla

Dr. rer. nat.
Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Ulm
89070 Ulm

Weiss, Melanie

Dr. med.
Abteilung Innere Medizin des Bundeswehrkrankenhauses Ulm
Oberer Eselsberg 40
89081 Ulm

Inhalt

Kurzfassung	7
1 Einleitung	9
1.1 Zielsetzung	9
1.2 Motivation und Fragestellung	11
1.3 Problematik für den behandelnden Arzt	13
1.4 Entwicklung neuer biologischer Indikatoren (biologischer Marker) zur Beurteilung der genotoxischen Schädigung von Zellen und Zellsystemen nach chemischer Mehrfach- belastung	15
1.5 Computergestützte Entscheidungshilfen	16
2 Fragestellung und Forschungsansatz	19
2.1 Methoden zur Erfassung klinisch-biologischer Indikatoren und deren Anwendung in Katastrophensituationen	19
2.1.1 Fragestellung und Zielsetzung	19
2.1.2 Vorgehen	20
2.2 Biologische Indikatoren (biologische Marker)	21
2.2.1 Weiterentwicklung des Comet Assay zum „Schnelltest“ auf Genotoxizität	21
2.3 Wissensbasiertes Assistenzsystem	22
2.3.1 Fragestellung	23
2.3.2 Drei Arbeitsthesen	24
3 Durchgeführte Arbeiten	25
3.1 Klinisch-biologische Indikatoren	25
3.2 Biologische Indikatoren	26
3.2.1 Durchführung des Comet Assays	26
3.2.2 Validierung und Standardisierung des Comet Assays	26
3.2.3 Untersuchung des Kontrollkollektivs	30
3.2.4 Untersuchung der DNA-Schädigung im peripheren Blut von Patienten nach Radiojod- und Chemotherapie	30
3.3 Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems	30
3.3.1 Auswahl geeigneter Technologien für die Realisierung eines medizinischen wissensbasierten Systems	30
3.3.2 Erheben des aktuellen Wissensstands im Bereich wissens- basierter Assistenzsysteme in der Medizin und im Anwen-	

	dungsgebiet „komplexe zytotoxische Mehrfach-	
	belastungen"	31
3.3.3	Analyse und Modellierung des Wissens des Anwendungs-	
	gebiets „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen"	31
4	Ergebnisse	33
4.1	Klinisch-biologische Indikatoren	33
4.1.1	Notfallmedizinisches Vorgehen	33
4.1.2	Schadstoffwirkungen	35
4.2	Biologische Indikatoren	50
4.2.1	Erhebung und Bewertung vorhandener biologischer In-	
	dikatoren zur Beurteilung genotoxischer Schädigung.	50
4.2.2	Durchführung des Comet Assays	52
4.2.3	Validierung und Standardisierung des Comet Assays.	52
4.2.4	Untersuchung des Kontrollkollektives.	59
4.2.5	Untersuchung der DNA-Schädigung im peripheren Blut	
	von Patienten nach Radiojod- und Chemotherapie.	60
4.3	Wissensbasiertes Assistenzsystem	64
4.3.1	Auswahl einer geeigneten Entwicklungsumgebung für ein	
	wissensbasiertes Assistenzsystem	64
4.3.2	Stand des Wissens	70
4.3.3	Analyse und Modellierung des Wissens des Anwendungs-	
	gebiets „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen"	72
4.3.4	Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems zur	
	Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen	
	Mehrfachschädigungen.	77
4.3.5	Computergestützte interaktive Klinikleitfäden.	88
4.3.6	Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems zur	
	Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen	
	Mehrfachschädigungen und deren Erprobung.	92
5	Zusammenfassung und Ausblick	97
5.1	Aussagekräftige biologische Indikatorensysteme.	97
5.2	Computergestützte interaktive Klinikleitfäden.	98
	Literaturverzeichnis	101

Kurzfassung

Das Ziel des nachfolgend beschriebenen Forschungsprojektes war die Entwicklung biologischer Indikatoren, medizinischer Strategien und Entscheidungshilfen zur Unterstützung der Behandlung von Patienten mit komplexen zytotoxischen Beeinträchtigungen in Katastrophensituationen. Diese Fragestellung kann nur interdisziplinär unter Einbeziehung des Fachwissens aus der Medizin, der Biologie und der Medizinischen Informatik gelöst werden.

Da es bis heute keine diagnostischen und therapeutischen Schemata zur Behandlung mehrfach Intoxizierter gibt, wurde zunächst die Problematik definiert sowie die sich daraus ergebenden Fragen formuliert, die für die Entwicklung eines Diagnose- und Behandlungsplanes von Bedeutung sind. Von Seiten der Medizin wurden unter Einbeziehung der Pathophysiologie die möglichen Krankheitsbilder und deren Ausprägung sowie die klinisch-biologischen Indikatoren erarbeitet.

Der Beitrag der Biologie bestand darin, die vorhandenen biologischen Indikatoren zur Bestimmung von Genotoxizität zu erfassen und zu bewerten sowie neue biologische Indikatoren zu etablieren. Im Vordergrund stand die Entwicklung des Comet Assay, einem neuen biologischen Indikator für den Nachweis genotoxischer Schädigung. Dieser Test bietet als schneller Indikator test die Möglichkeit, eine Exposition und das Ausmaß der Beanspruchung innerhalb von kurzer Zeit auch an einer großen Zahl von Betroffenen zu erfassen.

Ein wissensbasiertes Assistenzsystem hilft, die anfallenden medizinischen Merkmale, Daten und biologischen Indikatoren zu erfassen und aufzubereiten. Darüber hinaus stellt es ein nachvollziehbares Beziehungsgeflecht zwischen anamnestischen, klinischen und biologischen Indikatoren her und unterbreitet dem behandelnden Arzt daraus resultierende Schlußfolgerungen. Diese können diagnostische, prognostische und therapeutische Hinweise für den individuellen Patienten sein. Mit einem Assistenzsystem kann daher der Behandlungsprozeß patientenorientiert geplant, mit Hinweisen und Erinnerungsfunktionen begleitet und fortgeschrieben oder, falls nötig, modifiziert werden - im Sinne eines interaktiven Klinikleitfadens.

1 Einleitung

1.1 Zielsetzung

Das Ziel des nachfolgend beschriebenen 1992-1995 durchgeführten Forschungsprojektes „*Biologische Indikatoren zur Beurteilung von Qualität und Quantität von Zellsystemstörungen nach zytotoxischen Mehrfachbelastungen: experimentelle, klinische und systemtechnische Untersuchung*“ war die Entwicklung biologischer Indikatoren, medizinischer Strategien und Entscheidungshilfen zur Unterstützung der Behandlung von Patienten mit komplexen zytotoxischen Beeinträchtigungen in Katastrophensituationen.

Eine Katastrophe ist ein Ereignis, das Leben und Gesundheit zahlreicher Menschen gefährdet und zu dessen Bewältigung außergewöhnliche Maßnahmen erforderlich sind.

Als Beispiele für Chemiekatastrophen können Bhopal, Seveso und Tokio aufgeführt werden. In der Zeit von 1967 bis 1991 sind weltweit bei 271 Schadensereignissen 15 787 Menschen ums Leben gekommen (World Disasters Report 1993). Wie die Ereignisse der Vergangenheit gezeigt haben, können trotz zunehmender Sicherheitsstandards Chemiekatastrophen nicht völlig ausgeschlossen werden.

Ärztliche Aufgabe im Katastrophenfall ist, das Bestmögliche für die größte Zahl der Betroffenen zur richtigen Zeit und am richtigen Ort zu tun, um das Überleben möglichst vieler Katastrophenopfer zu sichern. Wo mit wenig Personal, mit zu wenig Mitteln und einer unzureichenden Infrastruktur adäquat behandelt werden soll, tragen vorher erarbeitete Kriterien dazu bei, eine sicherere Entscheidung über das sofortige und das sich anschließende medizinische Vorgehen zu treffen.

Bei monokausaler Schädigung stehen heute für einige Substanzen Behandlungsschemata und zum Teil Antidote sowie entsprechende Entscheidungshilfen (Datenbanken und Giftinformationszentren) zur Verfügung. Aber auch in diesem Fall gibt es oft nicht ausreichende Daten über die Humantoxizität und nur für die wenigsten Vergiftungen spezifische Therapien (s. Tabelle 1, S. 12).

Zudem muß bei Chemiekatastrophen in der Regel von der Freisetzung eines Substanzgemisches ausgegangen werden. Selbst bei Kenntnis der Zusammensetzung des Gemisches wird die Information aus den Datenbanken nicht ausreichen, um das Wirkungsspektrum abzuschätzen, da es derzeit keine fundierten Kriterien für die Beurteilung der toxischen Wirkung von Stoffgemischen auf den menschlichen Organismus gibt (s. Abbildung 1).

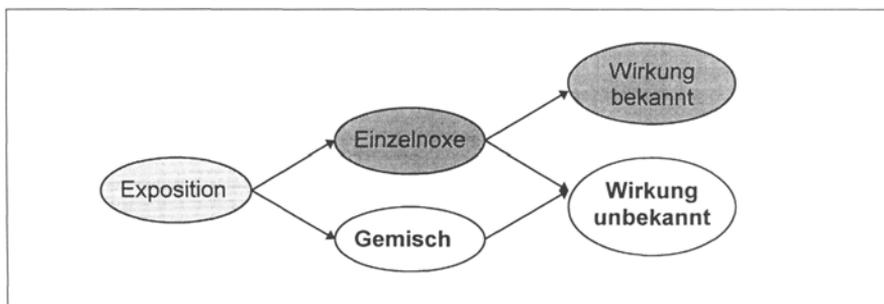


Abb. 1: Bisherige Vorgehensweise und Abgrenzung der Problemstellung.

Daher war unsere Zielsetzung die Entwicklung eines katastrophenmedizinischen Diagnose- und Behandlungsschemas für komplexe zytotoxische Schädigungen. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen dem behandelnden Arzt in Form eines computergestützten Assistenzsystems zur Verfügung gestellt werden. Das Assistenzsystem unterstützt bei der Verarbeitung und Interpretation der anfallenden Daten insbesondere bezüglich möglicher gesundheitlicher Störungen sowie der biologischen Indikatoren und stellt das benötigte Wissen zur Verfügung.

Mit einem flexiblen, standardisierten Behandlungsschema, das mit Hilfe biologischer Indikatoren erlaubt, frühe Reaktionen zu erkennen und strukturelle bzw. funktionelle Beeinträchtigungen kritischer Systeme genauer zu beurteilen, können therapeutische Maßnahmen gezielter ergriffen und eine angemessene Überwachung für den einzelnen Patienten durchgeführt werden.

Die Zielsetzung erfordert eine interdisziplinäre Vorgehensweise unter Einbeziehung des Wissens aus Medizin, Biologie und Informatik.

Schwerpunktmäßig wurden folgende Sachverhalte der Medizin als wesentlich für das Projekt definiert und teilweise bearbeitet:

- Erarbeitung von Funktionsstörungen und Erkrankungen unter Einbeziehung der Schweregrade;
- Definition kritischer Organe und Organsysteme;
- noxen-/organspezifische Reaktionen der einzelnen Organe und Organsysteme;
- Reversibilität/Irreversibilität der Schädigung;
- Entwicklung pathophysiologischer Modelle;
- Evaluation etablierter klinischer Indikatoren;
- Umsetzung der oben genannten Erkenntnisse in ein Diagnose-, Behandlungs- und Überwachungsschema.

Der Beitrag der Biologie bestand darin, durch

- die Erhebung vorhandener biologischer Indikatoren (biologischer Marker) und
- die Entwicklung neuer biologischer Indikatoren (biologischer Effektmarker)

die Voraussetzung zur qualitativen und quantitativen Beschreibung der genotoxischen Schädigung durch Mehrfachbelastung zu schaffen. Im Vordergrund stand die Etablierung des Comet Assays, einem Indikatorstest für genotoxische Beanspruchung des Organismus.

Die Medizinische Informatik unterstützt die Anwendung des Diagnose- und Behandlungsschemas in der Praxis durch dessen Umsetzung in ein wissensbasiertes Assistenzsystem. Bei der Konzeption wissensbasierter Entscheidungshilfen für die Unterstützung von Ärzten bei der Behandlung von komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen sind folgende Anforderungen zu erfüllen:

- gleichzeitiges Führen mehrerer Patienten;
- Bereitstellen des für die Anwendung des Diagnose- und Behandlungsschemas notwendigen medizinischen Wissens;
- Visualisieren des Behandlungsplanes;
- Umsetzen der medizinischen Strategien in Entscheidungsunterstützung;
- Bereitstellen von Handlungsanweisungen;
- Bedienbarkeit durch einen Computer-unerfahrenen Arzt.

1.2 Motivation und Fragestellung

Monatlich werden weltweit annähernd 10 000 neue chemische Substanzen in den Laboratorien synthetisiert, ca. 5 000 dieser Substanzen finden jährlich Eingang in die Produktion. Die weltweite Produktion an organischen chemischen Stoffen betrug 1970: 63×10^9 kg, 1985: 235×10^9 kg, 1986: 300×10^9 kg. 90 % der jährlich weltweit produzierten Gesamtmenge an Chemikalien verteilt sich schätzungsweise auf 3 000 Einzelstoffe.

Die Problematik wird besonders deutlich, wenn wir uns an die Ergebnisse der NAS-Studie von 1984 erinnern, die in Tabelle 1 dargestellt sind. Aus 10^8 Chemikalien, die in der Industrie Verwendung finden, wurden 65 000 Chemikalien auf die Information über ihre toxische, insbesondere auch humantoxische Wirkung, untersucht. Die Information über humantoxikologische Daten war in ca. 90 % der Chemikalien unzureichend.

Tab. 1: Abschätzung des gesundheitlichen Risikos bei bekannter Toxizität (NAS Study 1984; Richardson M. L., 1984).

Category	Size	Percentage	
		complete health hazard assessment	no toxicity information available
Pesticides and inert ingredients of pesticide formulation	3 350	10	38
Cosmetic ingredients	3 420	2	96
Drugs and excipients used in drug formulation	1815	18	25
Food additives	8 627	5	46
Chemicals in commerce (> 500 t/year)	12 860		78
Chemicals in commerce (< 500 t/year)	13 911		76
Chemicals in commerce, production unknown/inaccessible	21752		82

Hieraus geht hervor, daß für die wenigsten der mehreren Millionen Stoffe Wirkung, toxische Reaktionen und Wechselwirkungen bekannt sind. Über die humantoxische Wirkung von Stoffgemischen ist noch viel weniger bekannt.

Aus als völlig ungiftig eingeschätzten Grundsubstanzen zur Herstellung synthetischer Verbrauchsgüter, wie z.B. der Düngemittel oder chemisch-synthetischer Produkte des alltäglichen Lebens, können durch Feuer, Explosion, Hitze und Wasser hochgiftige, entzündbare, explosive und korrodierende Gefahrstoffe entstehen, die von der Substanz her primär unbekannt sind. Gerade Brandgase sind in ihrer Zusammensetzung nicht zu unterschätzen. Je nach Ausgangsstoff und ob es sich um vollständige oder unvollständige Verbrennung handelt, enthalten die Substanzgemische unter anderem: Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, Stickoxide, Schwefeldioxid, Schwefelsäure, Salzsäure, Ammoniak, Chlor- und Wasserstoffgemische, Benzol, Kohlenwasserstoffe (Xylol, Toluol), Phenole, Formaldehyd, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe wie Benzo-(A)-Pyrene, Schwefelwasserstoff, Blausäure, Phosgen, Dibenzodioxine und Dibenzofurane.

Folglich findet sich an einem Schadensherd oft keine Monosubstanz, sondern ein Konglomerat verschiedenster Giftsubstanzen. Diese können sich in ihrem Zusammenwirken nicht nur addieren, sondern auch potenzieren, so daß es zu einem polymorphen Schädigungsmuster der Betroffenen kommen kann.

Daß wir hier durchaus von realen Gefahren ausgehen, geht aus Tabelle 2 hervor:

Tab. 2: Chemische Unfälle von 1967-1991 (World Desasters Report 1993).

	Anzahl
Schadensereignisse	271
Tote	15 787
Verletzte	175 715
Betroffene	1 202 536

1.3 Problematik für den behandelnden Arzt

Wenn wir uns vergegenwärtigen, daß eine Katastrophe ein außergewöhnliches Ereignis ist, das Leben und Gesundheit zahlreicher Menschen gefährdet, zu dessen Bewältigung die Hilfsmittel der Gemeinschaft nicht mehr ausreichen und somit unter anderem durch folgende Merkmale gekennzeichnet ist:

- a) Mangel an Personal;
- b) Mangel an medizinischen Bedarfsartikeln;
- c) Mangel an mobilen und stationären Einrichtungen, Verzögerungen bei Behandlung und Transport, Panik,

dann findet der hinzugekommene Arzt folgende Situation vor:

1. Die oben beschriebene Katastrophensituation mit den sich für die medizinische Behandlung ergebenden Folgen: Disproportion der personellen und materiellen Kapazität gegenüber dem entsprechenden Bedarf, Notwendigkeit einer Triage usw.
2. Mangelnde Erfahrung mit chemischen Katastrophen.
3. Mangelnde/keine Information über den Schadstoff/die Schadstoffe (sofort, in den ersten Stunden und Tagen).
4. Bei Schädigung durch Einzelsubstanzen insbesondere nach einzeitiger Exposition stehen zum Teil Behandlungsschemata, Datenbanken und Giftinformationszentren zur Verfügung, nicht aber für komplexe zytotoxische Schädigungen nach Mehrfachbelastungen und bei Einwirkung über mehrere Stunden und Tage.

5. Das Schädigungsausmaß ist oft nicht sofort bekannt.
6. Bei Stoffen vom Latenztyp tritt die Schädigung erst nach einem symptomfreien Intervall auf, das sehr kurz sein kann, wie bei Laugen, Säuren, Kohlenmonoxid, aber auch Tage dauern kann, wie bei halogenierten Kohlenwasserstoffen.
7. Bei Stoffen vom Persistenztyp kann die schädigende Wirkung noch lange nach dem Ereigniseintritt anhalten.
8. Bei Chemiekatastrophen und Massenvergiftungen sind nicht nur giftspezifische Wirkungen zu erwarten, sondern auch Kombinationsverletzungen:
 - Verätzungen, Erfrierungen;
 - Verbrennungen;
 - Druckverletzungen nach Explosionen;
 - chirurgische Verletzungen durch Explosionen.

Diese Vergiftungen, Verletzungen können zu einer akuten Bedrohung des Betroffenen führen durch:

- eine akute Störung vitaler Funktionen infolge direkter Gifteinwirkung;
 - eine Störung der Vitalfunktionen als Folge von Komplikationen der Vergiftung;
 - Organschäden infolge der Intoxikation.
9. Die medizinische Einschätzung von Giften und Vergifteten wird noch erheblich dadurch beeinträchtigt, daß in der Regel eine Zuordnung von Symptomen zum Gift schwer und oft vage ist und die Vergiftungen von kaum eruierbaren Faktoren, wie der Dosis, der Resorption, einer Kombination mit anderen Noxen, der Expositionsdauer sowie der Konstitution, dem Alter und den Vorerkrankungen abhängig sind. Auch ist die menschliche individuelle Toleranz gegenüber den Noxen sehr groß. Bei Kombination von mehreren toxischen Substanzen wird zusätzlich häufig die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik verändert und das Vergiftungsbild abgewandelt.

Die Giftwirkung hängt unter anderem ab:

- vom Intoxikationsweg (Kontamination, Inhalation und Ingestion);
- von der Konzentration bzw. Menge der Substanz, denn prinzipiell kann jede Substanz zu abnormen Körperreaktionen führen, d. h. als

Gift wirken, wenn ihre wirksame Dosis oberhalb der individuellen Verträglichkeit liegt;
vom chemischen und physikalischen Verhalten, von der Struktur, der Löslichkeit (wasserlöslich, lipidlöslich), der Stabilität, der Affinität, der Molekulargröße und der Teilchengröße;
von der Einwirkungsdauer;
von der Eliminationsfähigkeit des Organismus (die Fähigkeit des Körpers, das Gift auszuschleiden oder auszuatmen);
von den Besonderheiten des Organismus: Alter, Geschlecht, Allgemeinzustand, Vorerkrankungen, etc.;

von der Behandlung (gezielte Behandlung mit Antidoten, symptomatische Behandlung).

1.4 Entwicklung neuer biologischer Indikatoren (biologischer Marker) zur Beurteilung der genotoxischen Schädigung von Zellen und Zellsystemen nach chemischer Mehrfachbelastung

In einer Katastrophensituation werden häufig komplexe Gefahrstoffgemische und künstlich erzeugte Substanzen freigesetzt, die Veränderungen der DNA hervorrufen können. Es gibt zur Zeit eine Reihe von Methoden, diese Noxen nachzuweisen. Die chemischen und physikalischen Messungen von als kanzerogen oder mutagen klassifizierten Noxen erlauben zunächst nur eine Aussage über die äußere oder innere Belastung (Exposition) der Betroffenen. Da individuelle Faktoren, wie genetische Prädisposition, Gesundheitsstatus, Ernährung und Umwelteinflüsse eine entscheidende Rolle bei der Beanspruchung des menschlichen Organismus spielen, ist es von Bedeutung, die direkte Wirkung auf menschliche Zellen nachzuweisen. Darüber hinaus ist für eine große Anzahl von Chemikalien nicht bekannt, ob sie alleine oder erst als Schadstoffgemisch genotoxisch wirken. So können viele Einzelstoffe, die als harmlos bezeichnet werden, im Substanzgemisch kanzerogen wirken (Hemminki et al., 1987). Die klassische zytogenetische Analyse von Chromosomenaberrationen (CA) aus Blutlymphozyten sowie der Mikrokerntest sind Methoden, die eine direkte genotoxische Beanspruchung des menschlichen Organismus nachweisen. Die SCE-(sister chromatid exchange)-Analyse eignet sich als Indikator für DNA-Schädigungen nur in Personengruppen, die chemischen Mutagenen ausgesetzt waren. Sie ist zum Nachweis ionisierender Strahlen ungeeignet (BGA/GUM-Positionspapier 1994). In-situ-Hybridisierung (FISH) mit Fluoreszenz-markierten DNA-Sonden („whole chromosome painting probes“) wurde in den letzten Jahren etabliert und dient vor allem zum Nachweis chronischer oder länger zurückliegender Expositionen (Schmid et al., 1992). Die Nachteile der „zytogenetischen Methoden liegen in der Be-

schränkung auf proliferationsfähige Zellen und dem hohen Zeit- und Arbeitsaufwand. Ergebnisse können erst Tage oder Wochen nach Exposition erwartet werden. Die biochemischen und molekularbiologischen Methoden (z.B. Alkalielution [Doerjter et al., 1988], 32P-Post-labeling [Beach et al., 1992], HPLC, Spektroskopie, Alkalische Gelelektrophorese, PFGE, Alkaline Unwinding, DNA-Fällungsmethoden, Viskoelastische Techniken, DNA-Mutationstests [Whitaker et al., 1991] hingegen lassen keine Aussage über die DNA-Schädigung auf Einzelzellniveau zu. Darüber hinaus benötigen diese Testsysteme eine große Menge an Zellmaterial (Ahnström, 1988). Analysen sind bei allen genannten Methoden aufgrund des großen methodischen Aufwandes nur an kleinen Kollektiven möglich. Aus diesem Grund sollte das vorhandene Methodenarsenal verbessert und mit neuen Methoden ergänzt werden, die eine schnelle und zuverlässige qualitative und quantitative Beurteilung der genotoxischen Schädigung sowie der DNA-Reparatur der Zellen erlauben und damit eine schnelle ärztliche Beurteilung der genotoxischen Beanspruchung des menschlichen Organismus möglich machen.

Von uns wurde eine Methode eingeführt, die wenige Zellen benötigt und rasch zu Ergebnissen führt. Im Rahmen dieses Projektes haben wir den Comet Assay oder Single Cell Gel (SCG) Assay in unserem Labor als „Schnell-Test“ für den Nachweis genotoxischer Schädigung etabliert.

1.5 Computergestützte Entscheidungshilfen

Chemiekatastrophen sind seltene Ereignisse, die - wenn sie auftreten - die medizinische Versorgung einer großen Zahl von Opfern notwendig machen können. Zu vielen Patienten fallen dann innerhalb kurzer Zeit große Datenmengen an. Diese sind sowohl Grundlage für die individuelle Behandlung als auch für Entscheidungen über die Verteilung der knappen Ressourcen wie Transportmittel, Plätze in Spezialkliniken usw. Darüber hinaus ist es erforderlich, Wissen schnell zugänglich zu machen, da es die Verantwortlichen in seiner Gesamtheit nicht parat haben können. Hierzu zählen Verzeichnisse verfügbarer Transport- und Versorgungsdienste, Anleitungen für das Durchführen chemiekatastrophenspezifischer Maßnahmen und Richtlinien für den Umgang mit den in der katastrophenmedizinischen Versorgung stark eingeschränkten diagnostischen Möglichkeiten. Der Informationslogistik, also dem Bereithalten und Verfügbarmachen von Daten und Wissen, kommt eine wichtige Rolle zu. Wenn zur richtigen Zeit die richtige Information, das richtige Wissen und die richtige Kompetenz am richtigen Ort sind, können die verfügbaren, im Katastrophenfall knappen Ressourcen optimal genutzt werden. Entsprechend der Zielsetzung des hier beschriebenen Forschungsvorhabens wurde für den Bereich der wissensbasierten Entscheidungsunterstützung für Ärzte bei der Behandlung von komplexen

zytotoxischen Mehrfachbelastungen eine umfassende System- und Wissensanalyse durchgeführt und Vorschläge erarbeitet, wie Ärzte mit computergestützten Entscheidungshilfen bei der medizinischen Versorgung in Chemiekatastrophen unterstützt werden können.

Fragestellung und Forschungsansatz

2.1 Methoden zur Erfassung klinisch-biologischer Indikatoren und deren Anwendung in Katastrophensituationen

2.1.1 Fragestellung und Zielsetzung

Es ergeben sich folgende Fragen, die für die Entwicklung eines Diagnose- und Behandlungsplanes für komplexe zytotoxische Schädigungen nach Mehrfachbelastung durch Giftsubstanzen in einer Katastrophensituation von Bedeutung sind:

1. Hat eine Exposition stattgefunden?
2. Wie ist das Ausmaß der Belastung und der Beanspruchung des Organismus und welche Behandlungsdringlichkeiten leiten sich daraus ab?
3. Ist eine sofortige Behandlung indiziert?
Kann diese spezifisch oder symptomatisch durchgeführt werden?
4. Gibt es Hinweise auf den Schadstoff (Leitsymptome), auf eine Schadstoffwirkung erst nach einer Latenzzeit, auf Schadstoffe mit Persistenzwirkung?
5. Welche Indikatoren weisen auf Sofort- und Früheffekte hin, auf Schadstoffwirkung erst nach einer Latenzzeit, auf Schadstoffe mit Persistenzwirkung und auf Späteffekte?
6. Welche sind die kritischen Organe/Organsysteme?
7. Mit welchen gesundheitlichen Folgen muß gerechnet werden?
8. Wo kann/soll die Weiterbehandlung stattfinden?
In einer Spezialklinik, in einem Kreiskrankenhaus, bei einem niedergelassenen Arzt?
9. Überwachung?

Die Beantwortung dieser Fragen soll es ermöglichen, der ärztlichen Aufgabe im Katastrophenfall gerecht zu werden:

- das Bestmögliche
- für die größte Zahl der Betroffenen

- zur rechten Zeit
- am richtigen Ort zu tun,

um das Überleben möglichst vieler Katastrophenopfer zu sichern.

Basierend auf diesen Fragen und der Wahrscheinlichkeit, daß der Arzt und das Einsatzteam auch zukünftig in den ersten Stunden und Tagen nicht über ausreichende Informationen bezüglich der Noxe bzw. der Noxen verfügen werden, haben wir nach praktikablen Ansätzen gesucht, um zumindest einen Teil der Fragen beantworten zu können.

Dieses soll trotz der eingeschränkten Möglichkeiten und vielen Unsicherheitsfaktoren in einer Katastrophensituation den meisten betroffenen Personen eine bestmögliche Hilfe ermöglichen.

2.1.2 Vorgehen

Der erste Schritt war, anhand der Literatur den Stand des Wissens sowie die bisherigen Unfälle mit den sich daraus ergebenden Problemen, der organisatorischen und medizinischen Vorgehensweise, den Engpässen sowie den aufgetretenen gesundheitlichen Problemen herauszuarbeiten.

Am Einsatzort müssen die gesundheitlichen Probleme und das Ausmaß der Schädigung schnell abgeschätzt und eingeordnet werden können. Daher haben wir uns mit organ- und zellsystemorientierten pathophysiologischen Modellen unter Einbeziehung des Intoxikationsweges, des Stoffwechsels, der Organ- und Zellsystemstörungen sowie mit den Sofort-, Früh- und Spätwirkungen nach Intoxikation beschäftigt. Auch wenn in einer Katastrophensituation vorrangig die Sofort- und Früheffekte von Bedeutung sind, können diese sich manifestieren und zu Erkrankungen und bleibenden Schäden führen. Da es diese zu verhindern oder zu mildern gilt, müssen wir um sie wissen.

In einer Katastrophensituation wird das ärztliche Handeln (Sichtung) insbesondere durch das Ausmaß einer Schädigung, d. h. dem Schweregrad der Erkrankung, beeinflusst. Daher haben wir uns mit den akuten Symptomen, Gesundheitsstörungen und Erkrankungen unter Berücksichtigung der Schwere des Krankheitsverlaufes (Schweregrade) beschäftigt. Schon unter Normalbedingungen ist dieses alltäglich und hilfreich, in einer Katastrophensituation ist es essentiell. Denn vorher erarbeitete Kriterien tragen dazu bei, eine sicherere Entscheidung über das sofortige bzw. das sich anschließende medizinische Vorgehen zu treffen.

Des Weiteren hilft die Erfassung und Bewertung vorhandener sowie die Entwicklung neuer biologischer Indikatoren, das Ausmaß der Beanspru-

chung abzuschätzen, eine realistische Prognose des Krankheitsverlaufes abzuleiten und individuelle therapeutische Empfehlungen abzugeben.

Die im folgenden aufgeführten Fragen/Problembereiche konkretisieren die Bedeutung der biologischen Indikatoren:

1. Hat eine Exposition stattgefunden?
2. Qualitative und quantitative Beurteilung des Ausmaßes der Beanspruchung der kritischen Zell-/Organsysteme (auf Organ-, Zell- und Molekularebene).
3. Aussage über Regenerations- bzw. Reparaturfähigkeit.
4. Aussage über Kompensationsfähigkeit.
5. Identifizierung von Betroffenen mit einem hohen Risiko.

Da es sich um eine Katastrophensituation handelt, sollen die Indikatoren auch für Massenscreenings geeignet sein.

Die neu entwickelten bzw. die schon bekannten biologischen Indikatoren sollen es uns ermöglichen, auf Organ-, Zell- und Molekularebene die durch die Beanspruchung hervorgerufenen Veränderungen im Organismus so bald wie möglich aufzuzeigen. Da diese biologischen Indikatoren das Bindeglied zwischen Exposition und Erkrankung sind, führen sie zu einem besseren Verständnis für die Pathogenese und zu einer früheren Entdeckung der entstehenden Erkrankung. Das wiederum erlaubt eine rechtzeitige medizinische (gezielte) Maßnahme. Die Konstellation der Biomarker, eingebettet in ein pathophysiologisches Modell, ergänzt durch Klinik und Verlauf, ermöglicht es, eine Stadieneinteilung vorzunehmen, die wiederum wichtig für die Prognose und der sich daran orientierenden Therapie ist.

2.2 Biologische Indikatoren (biologische Marker)

2.2.1 Weiterentwicklung des Comet Assay zum „Schnelltest“ auf Genotoxizität

Unser Ziel lag darin, den Comet Assay als schnellen biologischen Indikator-Test für DNA-Schädigung/Reparatur zu etablieren. Für den Comet Assay gab es noch keine allgemeingültige Standardisierung, daher war ein direkter Vergleich mit Literaturwerten nicht möglich. Es war deshalb notwendig, zunächst Laboruntersuchungen zur Reproduzierbarkeit, Validierung und Standardisierung des Tests durchzuführen. Darüber hinaus muß-

ten laborinterne Standards erstellt werden. Hierzu wurden zunächst Dosis-Wirkungskurven für γ -Strahlen, Röntgenstrahlen und verschiedene Chemikalien erstellt. Um Vergleichswerte für eine multifaktorielle chemische Belastung zu erhalten, wurden Laserpyrolyse-Produkte als chemisches Substanzgemisch gewählt. Diese enthalten eine Vielzahl von chemischen Nomenen, wie sie auch in Brandgasen enthalten sind.

Der nächste Schwerpunkt war die Auswahl des geeigneten Materials bezüglich Zugänglichkeit und artefaktfreier Isolation. Weiterhin sollte der geeignete Zelltyp gefunden werden, der bezüglich Sensitivität gegenüber genotoxischen Einflüssen ein optimales Ergebnis liefert.

Um die Eignung des Comet Assay für die Analyse genotoxisch belasteter Risikogruppen nachzuweisen, wurden 100 gesunde Probanden untersucht, um damit die Variation in einem unbelasteten Kollektiv zu bestimmen. Das Kontrollkollektiv wurde dann mit zwei belasteten Gruppen, einerseits Patienten während Radiojodtherapie und andererseits Chemotherapie-Patienten, verglichen.

Durch diesen Versuchsansatz ist eine kritische Bewertung der Methode in bezug auf Sensitivität, Durchführbarkeit an großen Patientenzahlen, Zeit- und Kostenaufwand sowie Feldtauglichkeit möglich. Auf dieser Basis wird es dann möglich sein, der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern Vorschläge für den Einsatz des Comet Assays zum Nachweis genotoxischer Schadenswirkung nach multifaktorieller Exposition zu machen.

2.3 Wissensbasiertes Assistenzsystem

Ein flexibles und standardisiertes Behandlungsschema erlaubt, mit Hilfe biologischer Indikatoren und biologischer Effektmarker frühe Reaktionen zu erkennen und strukturelle bzw. funktionelle Beeinträchtigungen kritischer Systeme genauer zu beurteilen, therapeutische Maßnahmen gezielter zu ergreifen und eine angemessene Überwachung für den einzelnen Patienten durchzuführen. Das Behandlungsschema bildet die Grundlage für derartige (computergestützte) Entscheidungshilfen für den Arzt.

Es ergeben sich im wesentlichen zwei Voraussetzungen, die erfüllt sein müssen, um ein solches Behandlungsschema in Katastrophensituationen einsetzen zu können.

1. Zunächst wird ein System von biologischen Indikatoren benötigt, die aussagekräftig, unter Katastrophenbedingungen einsetzbar sind und das pathophysiologische Spektrum der kritischen Organe und Zellsysteme in ausreichendem Maße abdecken.

2. Danach muß das nötige Wissen im Katastrophenfall verfügbar gemacht werden, um entscheiden zu können, in welchen Fällen ein bestimmter biologischer Indikator anzuwenden ist, wie die Untersuchung durchzuführen ist und wie ihre Ergebnisse zu interpretieren sind. Das gleiche gilt für das Wissen über spezielle therapeutische Maßnahmen und über Überwachungsschemata. Dieses Wissen kann in ein Behandlungsprotokoll mit abgestuften Diagnoseschemata und anpaßbaren Therapie- und Überwachungsschemata umgesetzt werden.

Es stehen verschiedene Wege offen, das Wissen verfügbar zu machen. Es sei nur kurz

1. auf die Integration in die Ausbildung von Ärzten,
2. auf Fachbücher oder klinische Leitfäden („Kitteltaschenbücher“) oder
3. Experten hingewiesen, die in einer Katastrophensituation direkt vor Ort oder telekommunikativ erreichbar um Rat gebeten werden können.

Die Ausbildung (1) wäre vermutlich überfordert und die Halbwertzeit des Wissens ist zu kurz. Spezielle Bücher (2) zum Thema sind nicht verfügbar, sie müßten geschrieben und gelesen werden. Experten (3) sind bei einer großen Zahl Betroffener nicht ausreichend verfügbar, um individuelle Hinweise geben zu können. Wir sehen einen Weg darin, Entscheidungshilfen rechnerbasiert als wissensbasierte Assistenzsysteme verfügbar zu machen und zeigen als ein Ergebnis dieses Projekts den Weg zu deren Realisierung auf.

2.3.1 Fragestellung

Anhand von Erfahrungen aus der Konzeption von KAScytox soll dargestellt werden, welche Methoden aus unserer Sicht die (Medizinische) Informatik bietet, die zur Beantwortung der folgenden Fragen beitragen:

1. Wie kann die Entwicklung eines Behandlungsschemas (Diagnose, Therapie und Überwachung) durch informatische Methoden unterstützt werden?
2. Wie kann der behandelnde Arzt bei der Anwendung des so entwickelten Behandlungsschemas durch einen computergestützten interaktiven Klinikleitfaden angeleitet werden?

2.3.2 Drei Arbeitsthesen

These 1

„Die Unterstützung der Entwicklung eines Behandlungsschemas durch informatische, insbesondere wissensbasierte Methoden ergibt ein strukturierteres Ergebnis mit verbesserter Vollständigkeit, Kohärenz und Konsistenz.“

These 2

„Die formale Beschreibung des Behandlungsschemas kann als Grundlage für einen computergestützten interaktiven Klinikleitfaden verwendet werden.“

These 3

„Ein computergestützter interaktiver Klinikleitfaden kann

- die Einführung des Behandlungsschemas in die Praxis beschleunigen,
- die Vermittlung des Behandlungsschemas an den Behandler unterstützen sowie
- auf Abweichungen von diesem Schema hinweisen.“

3 Durchgeführte Arbeiten

3.1 Klinisch-biologische Indikatoren

1. Anhand eines Literaturstudiums wurden die bisherigen Unfälle und der Stand des Wissens aufgearbeitet. Die organisatorische und die medizinische Vorgehensweise mit den sich daraus ergebenden Problemen und Engpässen wurden besonders berücksichtigt. Im nächsten Schritt wurde die Problematik untersucht, vor der sich der behandelnde Arzt sieht, der in einer Katastrophensituation trotz der sehr eingeschränkten Möglichkeiten und vielen Unsicherheitsfaktoren bei den meisten Betroffenen eine bestmögliche Hilfe leisten soll. Basierend auf diesen Fragen und der Wahrscheinlichkeit, daß der Arzt und das Einsatzteam auch zukünftig in den ersten Stunden, vielleicht Tagen, nicht über die benötigte Information über die Noxe/Noxen verfügen werden, haben wir nach praktikablen Möglichkeiten gesucht und die generelle Problematik im nachfolgenden Schritt auf einige wesentliche (und im Rahmen des Projektes beantwortbare) Fragen beschränkt.
2. Notfallmedizinisches Vorgehen.
3. Entwicklung von organ- bzw. zellsystemorientierten pathophysiologischen Modellen unter Einbeziehung des Intoxikationsweges, des Stoffwechsels.
4. Erarbeiten der Gesundheitsstörungen und Erkrankungen unter Berücksichtigung der Sofort-, Früh- und Späteeffekte.
5. Entwicklung von Kriterien für die Einteilung in Stadien und Schweregrade.
6. Klinisch biologische Indikatoren.
7. Kasuistiken: die theoretischen Überlegungen können nur anhand von realen Krankheitsverläufen geprüft und verbessert werden. Es gab erhebliche Schwierigkeiten bei der Realisierung eben dieses Schrittes. Es war uns möglich, Gutachten („Weiß-Gutachten“) über Lost-Vergiftungen in Deutschland (1947-1955) einzusehen und mit Hilfe vorher erarbeiteter Fragestellungen durchzugehen. Nach dem Iran-Irak-Krieg wurden in Wien, Salzburg und Recklinghausen Opfer chemischer Kampfstoffe behandelt. Prof. Fergusian aus Recklinghausen hat uns freundlicherweise den Zugang und die Bearbeitung dieser Patientenakten erlaubt. Trotz großer Bemühungen unsererseits und wiederholter „chemischer Zwischenfälle“ andererseits ist uns der Zugang zu weiteren Patientendaten verwehrt geblieben.

3.2 Biologische Indikatoren

3.2.1 Durchführung des Comet Assays

Objektträger („Fully frosted“, Labcraft, Curtin Matheson Scientific Inc., USA) wurden mit einer dünnen Agaroseschicht (Gibco BRL, FRG) beschichtet. 10 000-20 000 Zellen wurden mit 85 μ l 0,5 % Low Melting Point Agarose (LMP-Agarose Gibco BRL, FRG) bei 37°C gemischt und auf den „bottom layer“ aufgebracht. Die Objektträger (OT) wurden bis zur Erhärtung der Agarose bei + 4°C aufbewahrt und mit einem „top-layer“ (85 μ l 0,5 % LMP-Agarose) überschichtet. Als nächster Schritt erfolgte die Lyse der Zellen 60 Minuten bei + 4°C (Lysis-Puffer: 100 mM Na-EDTA, 10 mM Tris, 2,5 M NaCl, 1 % Na-Sarcosinat, 1 % Triton X-100 und 10 % DMSO, pH 10). Anschließend wurden die OT in einer horizontalen Elektrophoresekammer plziert und mit einem stark alkalischen Elektrophorese-Puffer (1 mM Na-EDTA, 300 mM NaOH, pH 13) überschichtet, um die Denaturierung des Doppelstrangs und die Spaltung der alkalilabilen Stellen zu erreichen. Durch die alkalische Elektrophorese (25 V und 300 mA; 0,8 V/cm) migrieren die DNA-Fragmente in das Gel, wobei die Menge der migrierten DNA proportional zur Schädigung der DNA ist. Nach Beendigung der Elektrophorese wurden die OT dreimal 5 Minuten mit Neutralisierungs-Puffer überschichtet und anschließend mit Ethidiumbromid (20 μ g/ml) gefärbt und eingedeckelt. Die Auswertung erfolgte an einem Zeiss-Fluoreszenzmikroskop (160fache Vergrößerung) mit einem 515-560 nm Erregungsfilter und einem 590 nm Sperrfilter. Das Fluoreszenzmikroskop ist zu diesem Zweck mit einem Bildanalysesystem (Pulnix TM 765 CCD Kamera, HP 486 Computer, Comet Analysis Software 2.0 von Confocal Technologies, GB) ausgerüstet. Die Ergebnisse werden als Tailmoment (TM) [% DNA im Kometenschweif X Schweiflänge] dargestellt (Olive et al, 1990). Für jede Probe wurden zwischen 50 und 100 Zellen ausgewertet. Für die statistische Analyse wurde ein t-Test, unter Berücksichtigung einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 1$ %, oder ein Wilcoxon-Test gewählt.

3.2.2 Validierung und Standardisierung des Comet Assays

3.2.2.1 Variierung der Methode zur Steigerung der Sensitivität

Die Validierung und Standardisierung des „Comet Assay“ wurde in unserem Labor zunächst mit ionisierenden Strahlen durchgeführt.

Unser erstes Ziel lag darin, die Sensitivität dieser Methode so weit zu steigern, daß sie auch im niederen Dosisbereich optimale und signifikante Ergebnisse liefert. Deshalb wurde der „Comet Assay“ für verschiedene Elek-

trophoresezeiten und Denaturierungszeiten standardisiert und validiert. Es wurden Elektrophoresezeiten von 20 Minuten/30 Minuten/40 Minuten eingesetzt. Für jede Elektrophoresezeit wurden Denaturierungszeiten von je 20/30/40 und 60 Minuten gewählt.

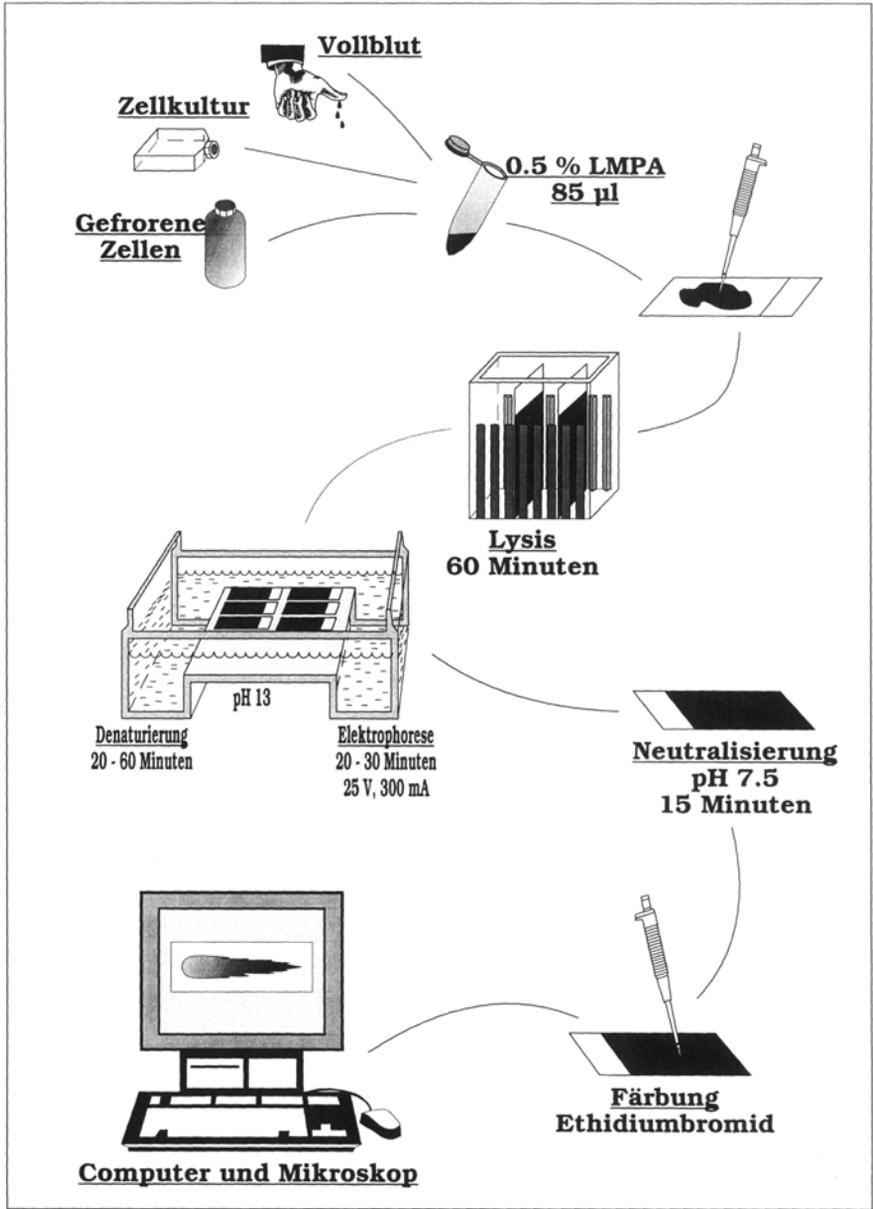


Abb. 2: Schematische Darstellung der Durchführung des Comet Assays.

3.2.2.2 Dosis-Wirkungs-Kurven mit Strahlen und Chemikalien

Blutproben wurden durch Venenpunktion oder als Kapillarblut aus der Fingerbeere entnommen und heparinisiert.

In-vitro-Bestrahlung des peripheren Blutes zur Erstellung einer Dosis-Wirkungskurve

500 μ l Aliquots des peripheren Blutes wurden in einem Philips MG320 Röntgengerät mit 280 kV und 10 mA (1 mm Cu) bei einer Dosisrate von 72 cGy/min bestrahlt. Die Zellen wurden vor und nach der Bestrahlung auf Eis gehalten und nach Bestrahlung sofort dem Comet Assay unterzogen.

In-vitro-Behandlung des peripheren Blutes mit alkylierenden Agenzien zur Erstellung einer Dosis-Wirkungskurve

5 ml Aliquots des peripheren Blutes wurden mit Methyl-Methan-Sulfonat (MMS, 10^{-4} - 10^{-6} M; Sigma), Methyl-Nitroso-Urea (MNU, 10^{-6} - 10^{-4} M; Sigma) sowie N-Methyl-N-Nitroso-Guanidin (MNNG, 10^{-5} - 10^{-7} M; Sigma) behandelt. Die Zellen wurden 2 h bei 37°C inkubiert und sofort dem Comet Assay unterzogen.

In-vitro-Behandlung des peripheren Blutes mit Laserpyrolyse-Produkten

Peripheres Blut wurde 4 h bei 37°C mit Glasfaserfiltern und daran adsorbierten Laserpyrolyse-Produkten inkubiert. Anschließend wurde der Comet Assay durchgeführt.

3.2.2.3 Untersuchung verschiedener Isolationstechniken bezüglich artefaktfreier Isolation

Es wurde untersucht, ob Vollblut, Leukozyten, B- oder T-Lymphozyten oder eventuell sogar Stammzellen ein geeignetes Untersuchungsmaterial darstellen. Hierzu mußte eine artefaktfreie Isolation der Zellen gewährleistet sein.

1. Zur Isolation mononuklearer Zellen aus dem Vollblut stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Es wurde zunächst getestet, welche Methode in Kombination mit dem Comet Assay geeignet ist. Die Zellen wurden aus frischem venösen Blut über Ficoll (1,077 g/ml; Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) oder Percoll-Separationslösung durch Dichtenzentrifugation (400 g, 20 min) getrennt (1,077 g/ml; Biochrome, Berlin,

Germany). Anschließend wurden sie 2mal mit entweder PBS (w/o calcium and magnesium; Gibco BRL, Eggenstein, Germany), RPMI (RPMI 1640 Medium; Biochrome, Berlin, Germany) oder HBSS (w/o calcium and magnesium; Gibco BRL, Eggenstein, Germany) gewaschen. Zur Bestimmung des zeitabhängigen artefiziellen Anstiegs eines DNA-Schadens durch die Isolation wurde der Comet Assay direkt nach Isolation und nach 2 h Inkubation mit dem Waschpuffer durchgeführt. Isolations- und Waschbedingungen:

1. Ficoll/washing and storing with PBS;
 2. Ficoll/washing and storing with RPMI;
 3. Ficoll/washing and storing with HBSS;
 4. Percoll/washing and storing with PBS;
 5. Percoll/washing and storing with RPMI;
 6. Percoll/washing and storing with HBSS.
2. Zellisolation über Magnetobeads: B-Lymphozyten und T-Lymphozyten können mit Hilfe von Magnetobeads (Dynal) selektiv aus Vollblut isoliert werden. Diese „beads“ sind an ihrer Oberfläche mit Antikörpern gekoppelt, die gegen verschiedene Oberflächenmarker von Zellen (CDs) gerichtet sind. Für die Pan-T-Isolation wurden Antikörper gegen CD 2, für Pan-B-Antikörper gegen CD 19 eingesetzt. Das Vollblut wurde mit 50 cGy bestrahlt, sofort auf Eis gestellt und anschließend mit den vorbereiteten „beads“ versetzt. Die Inkubationszeit betrug 45 Minuten bei 4°C. Mit Hilfe des Magneten wurden die an die „beads“ gebundenen Zellen vom restlichen Vollblut abgetrennt und für den Comet Assay eingesetzt.
3. Die CD 34⁺ Zellen wurden analog zu Punkt 2 vorgereinigt und nach der Standardmethode (Thoma et al., 1994) an einem FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter) sortiert.

3.2.2.4 Untersuchung verschiedener Zelltypen bezüglich ihrer Sensitivität, Reparaturkinetik und Zugänglichkeit

Aus Gründen der Zugänglichkeit haben wir uns auf das periphere Blut konzentriert und hier die Frage untersucht, ob Vollblut im Vergleich zu verschiedenen Blutzell-Subpopulationen dieselbe Sensitivität und Reparaturkinetik zeigt. Zur Auftrennung der Blutzell-Subpopulationen wurden die unter 3.2.2.3 beschriebenen Methoden verwendet. Die Zellen wurden mit 1 Gy bestrahlt und der initiale Schaden wie auch die Reparaturkapazität nach 30, 60 und 120 Minuten bestimmt.

3.2.3 Untersuchung des Kontrollkollektivs

Zur Zeit gibt es noch keine allgemeingültige Standardisierung für den Comet Assay. Das heißt, die Ergebnisse können nur im Vergleich mit Kontrollgruppen sinnvoll interpretiert werden. Aus diesem Grund haben wir gesunde Kontrollprobanden aus der Normalbevölkerung als „unbelastete“ Vergleichsgruppe untersucht. Das unbelastete Untersuchungskollektiv bestand aus 45 männlichen und 55 weiblichen Probanden im Alter von 18 bis 65 Jahren (Tabelle 6, s. S. 60).

3.2.4 Untersuchung der DNA-Schädigung im peripheren Blut von Patienten nach Radiojod- und Chemotherapie

Der zweite Teil der *In-vivo-Studie* bezieht sich auf die Kohortenstudien an Radiojod- und Chemotherapie-Patienten. In das Kollektiv der belasteten Probanden wurden 40 Patienten mit einer Radiojodtherapie und 11 Patienten mit einer Chemotherapie aufgenommen.

Radiojodtherapie: 28 Patienten erhielten eine Niedrigdosistherapie (481-975 MBq Jod-131), 12 erhielten eine Hochdosistherapie (3740-7880 MBq Jod-131). Die nach Seidlin et al. (1954) errechneten Blutdosen der Patienten variierten zwischen 4 und 65 cGy (Tabelle 8, s. S. 67).

Chemotherapie: 7 Patienten erhielten zur Behandlung einer Akuten Myeloischen Leukämie (AML) eine DAV-Therapie (Cytarabin Tag 1-7; Daunorubicin Tag 1-3; Etoposid Tag 1-5). 4 Patienten erhielten zur Behandlung einer Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) eine Polychemotherapie mit Vincristine (Tag 1, 8, 15, 22), Daunorubicin (Tag 1, 8, 15, 22), Prednisolon (Tag 1-28) und Asparaginase (Tag 15-28) (Plappert et al., 1995c).

3.3 Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems

3.3.1 Auswahl geeigneter Technologien für die Realisierung eines medizinischen wissensbasierten Systems

Der Auswahl einer geeigneten Entwicklungsplattform für die Realisierung eines wissensbasierten Systems ging zunächst eine Analyse der besonderen Anforderungen des Projekts und des Anwendungsgebiets voran. Für ein medizinisches Assistenzsystem wurde eine Aufstellung dieser Anforderungen erarbeitet, ein Bewertungsverfahren festgelegt, in Frage kommende,

auf dem Markt verfügbare Systeme entsprechend analysiert und bewertet und auf der Basis dieser Bewertung die Entscheidung für eines dieser Systeme gefällt.

3.3.2 Erheben des aktuellen Wissensstands im Bereich wissensbasierter Assistenzsysteme in der Medizin und im Anwendungsgebiet „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen“

Für die Durchführung eines Projekts zur Konzeption wissensbasierter Systeme für die Medizin ist neben der technologischen Plattform auch die Auswahl eines geeigneten Methodenspektrums für Analyse, Modellierung und Entwurf von Bedeutung. Ausgehend von den in der Literatur beschriebenen Erfahrungen aus vergleichbarer anwendungsorientierter oder grundlegender Forschung sowie eigenen Erfahrungen wurde zum einen der aktuelle Wissensstand erhoben und zum anderen darüber hinaus eine Auswahl geeigneter Methoden getroffen.

3.3.3 Analyse und Modellierung des Wissens des Anwendungsgebiets „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen“

Der Modellierung des Anwendungsbereichs „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen“ ging eine Analyse verwandter Wissensbereiche und dort verfügbarer Entscheidungshilfen voraus. Das Wissen für diesen Bereich hat Überschneidungen mit den Bereichen der Vergiftung mit Einzelsubstanzen (TOMESplus, SETH, Medicotox-Consilium), der Intensivmedizin mit ihren Methoden zur Beurteilung des Zustands und zur Stabilisierung bei lebensgefährdenden Erkrankungen (IntensivHelp) sowie der Notfallmedizin, die über ähnliche Instrumente verfügt. Diese Analyse, welche auch die Analyse von Informatiksystemen wie TOMESplus, SETH, Medicotox-Consilium und IntensivHelp beinhaltet, liefert viele Bausteine für das Wissen, welches für eine Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen benötigt wird. Auf dieser inhaltlichen Basis konnte das Konzept für ein wissensbasiertes Assistenzsystem erarbeitet und Teile des Wissens in seine Wissensbasis übernommen werden.

Ergebnisse

4.1 Klinisch-biologische Indikatoren

Bei den Ergebnissen werden wir auf das notfallmedizinische Vorgehen, die möglichen Schadstoffwirkungen (unspezifische und/oder systemische Reaktionen, Störungen der Temperaturregulation, Organtoxizität) und die biologischen Indikatoren eingehen. Die Organe/Organsysteme mit den möglichen Funktionsstörungen und Erkrankungen werden zunächst in einer Übersicht aufgezeigt. Am Beispiel der Atemwege und der Lunge, der Niere, der Hämatopoese und des Immunsystems werden die Schadstoffwirkungen eingehender beschrieben.

4.1.1 Notfallmedizinisches Vorgehen

Vergiftungen können an zentralnervösen, Atem-, Kreislauf- und gastrointestinalen Symptomen oder äußerlich sichtbaren Veränderungen erkennbar sein.

1. Zu den allgemeinen Leitsymptomen zählen:

- klinische Aspekte, wie Haut- und Schleimhautveränderungen, Pupillenerweiterung oder Verengung, spezifischer Geruch;
- Bewußtseinstörung bis zum Koma aus voller Gesundheit heraus;
- Atemstörung mit oder ohne gleichzeitige Kreislaufstörung;
- Neurologische Symptome wie Euphorie, Erregung, Aggressivität, Tobsucht, Delir;
- Krämpfe oder Lähmung.

Auch bei Vergiftungen steht die Sicherung der Vitalfunktionen im Vordergrund. Dadurch wird nicht nur zur Behebung leichterer Schäden am Unfallort beigetragen, sondern auch die Voraussetzung dafür geschaffen, daß Betroffene alsbald zu gezielter spezieller Diagnostik und kausaler Therapie in eine Klinik transportiert werden können.

2. Minderung der Gefahrstoffwirkung für den Betroffenen durch gezielte Maßnahmen:

Giftelimination

- Dekontamination der Augen (Spülung);
- Dekontamination der Haut (Entfernung der kontaminierten Kleidung, Reinigung der Haut);

- Unterbrechung der Giftresorption aus dem Magen-Darm-Trakt durch Medikamente, wie Sab simplex® (Entschäumer) oder Apomorphin (Brechmittel) in Kombination mit physikalischen Methoden (Magenspülung).

Giftneutralisation

Folgende Antidote sind unter anderem in der vorklinischen Phase unerlässlich:

- Atropin (E 605);
- 4-DMAP (Cyan- und H₂S-Vergiftungen);
- Toluidinblau (Methämoglobinbildner);
- Naloxon (Opiate);
- Natriumthiosulfat (Lost);
- Physostigminsalizylat (Anticholienergika).

Antidote können die Giftwirkung verhindern, aufheben oder zumindest einschränken.

3. Symptomatische Behandlung der Giftwirkungen: Beschleunigung der Ausscheidung über die Lunge (z. B. durch kontrollierte Hyperventilation mit reinem Sauerstoff als Atemgas) oder über die Nieren durch forcierte Diurese (z. B. bei Thalliumvergiftungen).
4. Medizinische Hilfe in organisierte Bahnen lenken, toxikologische Unterstützung sichern, zusätzlich personelle, materielle und Transporthilfe anfordern und das Zusammenwirken mit Feuerwehr und Polizei, soweit es den eigenen Aufgabenbereich betrifft, regeln.
5. Wenn möglich frühzeitige Stoffidentifikation.
6. Mehrphasige und etappenweise medizinische Versorgung.
7. Triagieren von Gefahrstoffgeschädigten (Sichtung) zählt gewiß zum Schwierigsten bei der medizinischen Versorgung. Der Triageentscheid stützt sich einmal auf die eindeutig feststellbaren Befunde, wie Allgemeinzustand, Beurteilung der Vitalfunktionen (Bewußtsein, Atmung und Kreislauf, Lokalbefund, Schmerzsituation und Zeitpunkt der Schädigung). Zum anderen wird die Beurteilung der Gefahrstoffexposition entscheidend sein, um jene Schädigungen des Patienten im Triageentscheid zu berücksichtigen, die sich erst nach einem symptomfreien Intervall als Spätreaktionen manifestieren.

Man denke hier nur an die Exposition mit protrahiert wirkenden lungen-toxischen Stoffen oder an die Belastung des Körpers durch ionisie-

rende Strahlen. Beim Massenanfall thermisch Geschädigter muß der Entscheid mittels der Vergabe von Verbrennungsindexpunkten gefunden werden.

8. Bei einer Kombination von inhalativer Schädigung und Bewußtseinsstörung steht die Verbesserung der Atmung für Bewußtlose und schwer Benommene durch Intubation und anschließende Beatmung im Vordergrund.
9. Gleichzeitig neben der Vergiftung bestehende Gesundheitsschäden, z. B. Vorerkrankungen wie Asthma bronchiale, chronische Bronchitis, Herzinsuffizienz, Niereninsuffizienz, Leberstoffwechselstörungen müssen im Hinblick auf weitere Behandlung und Transportverfahren mitgewertet werden.
10. Spezielle Verfahren, wie das der extrakorporalen Giftelimination, Häm- und/oder Peritonealdialyse, Hämoperfusion, bleiben auch im Katastrophenfall klinischer und intensivmedizinischer Behandlung vorbehalten.
11. Soweit es die Lage und der Gesundheitszustand des Betroffenen zulassen, Entnahme von 20 ml EDTA-Blut und 10 ml Nativblut zur Diagnosesicherung.
12. Medizinische Dokumentation und Informationsweitergabe.

4.1.2 *Schadstoffwirkungen*

Wie bereits ausgeführt, fehlen uns für eine gezielte Behandlung zumeist neben der Erfahrung auch die nötigen Informationen über die Giftsubstanz/ Giftsubstanzen (physikalisch-chemischen Eigenschaften, humantoxischen Eigenschaften, Zielorgane, Früh- und Späteffekte, Therapie, Antidote). Die Information ist nicht verfügbar, weil sie entweder durch die Verursacher nicht preisgegeben wird oder weil es sie gar nicht gibt. Daher kann, was ohnehin selten möglich ist, nicht sofort stoffspezifisch behandelt werden; letzteres gilt insbesondere für Schadstoffgemische.

Aufgrund des bereits Ausgeführten ist ein spezifisches und gezieltes medizinisches Vorgehen nicht möglich, es sei denn, daß ein charakteristisches klinisches Zeichen erste diagnostische Hinweise bietet.

Ohne Zweifel führen die verschiedenen Giftsubstanzen zu unterschiedlichen klinischen Erscheinungsformen und Krankheitszuständen aufgrund von verschiedenen organischen Funktionsstörungen. Auch kann es im Ver-

lauf einer jeden Vergiftung sehr rasch zur Beeinträchtigung oder Aufhebung der wichtigen Elementarfunktionen kommen (Kreislauf, Atmung, Temperaturregulation, Stoffwechsel).

Bei chemischen Unfällen kann es u. a. zu folgenden Schadstoffwirkungen an Organen/Organsystemen kommen:

1. unspezifische Reaktionen Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel, Müdigkeit, Bewußtlosigkeit, Krämpfe, Atemlähmung, Herzrhythmusstörungen;
2. systemische Reaktion Kreislaufversagen (Schocksymptomatik);
3. Störung der Temperaturregelung Hypothermie, Hyperthermie;
4. allergische Reaktionen allergische Dermatitis, Asthma, Bronchospasmus;
5. Organtoxizität organspezifische Reaktionsformen, noxenspezifische Reaktionsformen, Sofort-, Früh- und Späteffekte.

Im folgenden werden wir auf die Organtoxizität eingehen und hier insbesondere auf toxische Effekte der Haut, in den Atemwegen und der Lunge, der Niere sowie auf die Immuntoxizität.

4.1.2.1 Organtoxizität

Im folgenden sind Organe/Organsysteme mit den zugehörigen häufigen Funktionsstörungen und Erkrankungen nach Gifteinwirkung aufgeführt.

- Haut und Schleimhäute:
- Kontakturtikaria
 - Allergische Kontaktdermatitis
 - Irritative Kontaktdermatitis (Erythem, Ödem, Blasenbildung, Ulzeration, Nekrose)
 - Phototoxische und photoallergische Reaktionen
 - Hyper- und Hypopigmentierung
 - Akne
 - Sklerodermieartige Syndrome
 - Kanzerogenese

Augen:	<ul style="list-style-type: none"> Irritation Konjunktivitis Korrosion Keratitis Hornhauttrübung
Lunge:	<ul style="list-style-type: none"> Irritation Sensibilisierung Chronische Bronchitis Peribronchitis Bronchopneumonie Toxisches Lungenödem Pneumokoniose Fibrose Adenom Karzinom
Herz-Kreislauf-System:	<ul style="list-style-type: none"> Herzrhythmusstörungen Herzinsuffizienz Hypertonie Hypotonie Kreislaufstillstand
Nervensystem:	<ul style="list-style-type: none"> Verhaltensänderungen Enzephalopathie Zentralnervöse Wirkung <ul style="list-style-type: none"> Lähmung (Areflexie, Koma) Erregung (Übererregbarkeit, Muskelkrämpfe) Periphere Neuropathie
Leber:	<ul style="list-style-type: none"> Toxische Leberzellnekrose Fettleber Cholestase Zirrhose Vaskuläre Leberschäden Leberversagen Lebertumor Adenom Karzinom Hämangiosarkom
Niere:	<ul style="list-style-type: none"> Akute Tubulusnekrose mit oder ohne akutes Nierenversagen chronische Niereninsuffizienz mit oder ohne

	Anämie Glomerulusnephritis Nephrotisches Syndrom Akute Angiitis Akute interstitielle Nephritis
Hämatopoese:	Knochenmarksdepression/-suppression Panzytopenie Aplastische Anämie Hämolytische Anämie Methämoglobinämie Leukämie
Immunsystem:	Depression Suppression Immunstimulation Hypersensibilität Autoimmunität
psychische Belastung:	Verhaltensauffälligkeiten Psychogenes Zittern Psychogene Übelkeit Apathie Furcht Panik

4.1.2.1.1 Atemwege und die Lungen

Die Lunge ist das Organ, das den Sauerstoffaustausch zwischen der Atmosphäre und dem Blutkreislauf des Körpers sicherstellt. Aus diesem Grund hat die Lunge eine sehr große Gasaustauschfläche, die ihr ermöglicht, dieser Aufgabe gerecht zu werden. Einen wesentlichen Aufnahmeweg toxischer Substanzen stellt deshalb die Inhalation dar. Je nach Körpergröße und Aktivität atmet der Mensch täglich ca. 15 000 Liter Luft ein.

Andere Aufgaben beinhalten das Entfernen von vasoaktiven Substanzen aus dem Blut durch Endothelzellen, der Schutz gegen fremde Substanzen, die Produktion und Freisetzung von Hormonen und Mediatoren und die Biotransformation von Xenobiotica.

Viele Substanzen verletzen den Atmungstrakt durch direkte Interaktion der reaktiven Moleküle mit den Zielzellen. Die Beispiele hierfür beinhalten reizende und oxidierende Gase, beispielsweise Ozon, Oxygen, Phosgen, Salzsäure und andere Gase. Durch ihre primäre Interaktion können die Gase

direkt einen zytolytischen Wechsel verursachen oder die Akkumulation von reaktiven Oxygenarten löst die Verletzung der Zelle aus. Der Verletzungsmechanismus durch reaktive Oxygenarten scheint ein wichtiger Mechanismus für toxischen Lungenschaden bei Kontakt des Atmungstraktes mit z. B. Oxygen, Ozon, Bleomycin und ionisierender Strahlung zu sein. Zusätzlich werden Entzündungszellen, Makrophagen und polymorphkernige Leukozyten ins Lungenparenchym angelockt. Hypoxie unterstützt die Bildung von toxischen Oxygenarten. Hydrogenperoxide und Epoxide scheinen neben den aus Oxygen entstandenen freien Radikalen wie Superoxidanion und Hydroxylradikalen eine Schlüsselrolle in der Toxizität zu spielen. Außerdem werden die Auswirkungen der direkten Toxizität von Oxygen durch Neutrophile, die in die Lunge angelockt werden, unterstützt. Als Zielzellen für die Oxygentoxizität sind dabei die Typ-1-epitheliale und kapillären Endothelzellen anzusehen.

Bestimmte toxische Substanzen verursachen als erste toxische Antwort ein Lungenödem. Die Ursache liegt in epithelialen und endothelialen Zellverletzungen. Bei der Inhalation von Gasen wie Phosgen, Salzsäure und Rauch wird eine Latenzperiode bis zum Auftreten des Lungenödems beobachtet.

Die Veränderungen an Lunge und Atemwegen durch toxische Stoffe sind vorgegeben

- durch die Wasserlöslichkeit der Stoffe und
- durch die pathophysiologischen Reaktionsmöglichkeiten der einzelnen Abschnitte des Atemtraktes.

Entsprechend der Wasserlöslichkeit (und der dadurch bestimmten Krankheitsbilder) lassen sich die Stoffe in drei Gruppen unterteilen:

Gruppe 1:

Stoffe mit *hoher Wasserlöslichkeit* gelangen nicht über die Trachea hinaus. Sie irritieren die Konjunktiven und die Schleimhäute des Rachens und der Trachea, verätzen evtl. die oberen Epithelschichten, verursachen langwierige Entzündungen und können auch ein Glottisödem auslösen. Hierzu gehören u. a. Ammoniak (NH_3), Formaldehyd (HCHO), Fluor (F_2), Säuredämpfe (z. B. HCl).

Gruppe 2:

Stoffe mit *mittlerer Wasserlöslichkeit* schlagen sich in den Bronchien und in den Bronchiolen nieder. Die Folgen sind vermehrte Schleimabsonderung, Hustenreiz, Bronchokonstriktion und Bronchospasmen, gefolgt von Bronchitis, Peribronchitis und Bronchopneumonie. Vertreter dieser Gruppe sind

u. a. Brom (Br_2), Chlor (Cl_2), Diisocyanate ($\text{O}=\text{C}=\text{N}-\text{R}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$), Schwefeldioxid (SO_2).

Gruppe 3:

Stoffe mit *geringer Wasser-, aber hoher Lipidlöslichkeit* gelangen bis in die Bronchioli respiratorii und die Alveolen, wo sie eine exsudative Entzündung verursachen können. Durch die Permeabilitätssteigerung der Kapillarwand tritt dann Plasma in den Interstitialraum und behindert die Diffusion von Sauerstoff und Kohlendioxid. Im Verlauf mehrerer Stunden kann sich ein toxisches Lungenödem entwickeln. Zu dieser Gruppe gehören u. a. Cadmiumoxid (CdO), Ozon (O_3), Phosgen (COCl_2), Stickstoffoxide (Nitrose-gase: NO , NO_2 , N_2O_4).

Die bei Lungenerkrankungen mögliche Einteilung nach klinischer Symptomatik und nach Stadien wird im folgenden vorgenommen (unabhängig von der speziellen Symptomatik der auslösenden Ursache/Grunderkrankung):

- Stadium I: Hyperventilation
respiratorische Alkalose
Thoraxröntgen: meist unauffällig (nur bei primärer Lungenerkrankung entsprechende Veränderungen)
- Stadium II: persistierende Hyperventilation
Zunahme der venoarteriellen Beimischung (Shunt)
Blutgasanalyse: Hypoxie (pO_2)
Thoraxröntgen: beginnende milchglasartige Eintrübung möglich
- Stadium III: Tachypnoe ($> 20/\text{min}$), Zyanose
Blutgasanalyse: zunehmende Hypoxie trotz erhöhter O_2 -Zufuhr (Shuntzunahme)
Thoraxröntgen: interstitielles Lungenödem
homogene Eintrübung beider Lungen mit positiver Bronchographie
Leukozyten- und Thrombozytensturz
Gerinnungsstörungen
- Stadium IV: hochgradige Hypoxie bei Erhöhung der FIO_2 bis 1,0 (100 % inspiratorische O_2 -Konzentration)
Zunahme der Totraumbeatmung
hoher Beatmungsdruck
respiratorische und metabolische Azidose
Bewußtseinsstörungen bis zum Koma

Kreislaufversagen

Thoraxröntgen: konfluierende Verschattung beider Lungen mit unregelmäßigen Aufhellungszonen

Um die Auswirkungen von inhalierten toxischen Substanzen zu bewerten, sind Lungenfunktionstests wertvolle Hilfsmittel. Sie geben Hinweise auf Lungenschädigungen, da Änderungen der Lungenfunktion meist an strukturelle Änderungen der Lunge gekoppelt sind. Sie stellen eine Ergänzung zu den histopathologischen Untersuchungen dar. Hauptsächlich werden Tests angewandt, die die Messungen von Lungendehnbarkeit, der Lungenvolumina, des Atemwegswiderstandes und der Effizienz des Gasaustausches dienen. Bedeutende Meßgrößen sind das Atemvolumen, die Vitalkapazität, die Atemfrequenz, das Residualvolumen und der Atemstoßtest.

Durch Obstruktion der Atemwege (Verringerung des Luftwegsdurchmessers) kann der Gasaustausch in der Lunge beeinträchtigt sein. Eine andere Ursache für einen verminderten Gasaustausch zwischen dem Blut und dem Lumen der Atemwege kann ein Lungenödem sein. Obstruktive Lungenerkrankungen zeichnen sich durch eine Erhöhung des Atemwegswiderstandes aus, verursacht beispielsweise durch eine Reduzierung des Luftwegsdurchmessers über eine irreversible Erhöhung des Tonus der Atemwegsmuskulatur oder einer Verdickung der Schleimschicht. Eine Verminderung der Dehnungsfähigkeit der Lunge, beispielsweise durch Lungenfibrose, kennzeichnet die restriktive Ventilationsstörung. Der gesamte Atmungstrakt ist sehr zahlreich innerviert und inhalierte Substanzen können so über sensorische Irritationen und davon induzierte Reflexe zu einer Änderung des Respirationsmusters führen. Dies hat eine Verringerung der Exposition des Atmungstraktes zur Folge. Für die Inhalationstoxikologie liegt die Bedeutung dieser Reaktionen darin, daß diese sensorische Irritation auch als Meßgröße für toxische Auswirkungen verwendet werden kann. Außerdem führt eine Änderung des Atmungsmusters zu einer Veränderung der Exposition und dadurch zu einer Veränderung der Dosis.

Hinzu kommt die Bestimmung des α 1-Antitrypsins, des Angiotensin-Converting-Enzyms und der Surfactantbestandteile. Diese zuletzt aufgeführten biologischen Indikatoren scheinen für den Krankheitsverlauf und die Prognose entscheidend zu sein, müssen jedoch noch eingehend anhand reeller Verläufe untersucht werden.

4.1.2.1.2 Immuntoxizität

Tab. 3: Immuntoxizität.

Immuntoxizität	Symptome, Erkrankungen	Biomarker
1. direkte Immuntoxizität: – Immunsuppression – Immundepression – Immunstimulation	Infektion, Lymphome Allergien	humorale Immunität: – Serum Immunglobuline – Proliferation der B-Zellen – spez. Antikörperantwort zelluläre Immunität: – Proliferation der T-Zellen – Subpopulationen der T-Lymphozyten – NK-Zellen – Phagozytose und Chemotaxis der Neutrophilen – Multitest Mérieux
2. Hypersensibilität	– allergieähnliche Symptome – anaphylaktischer Schock	spezifische Antikörper (IgE)
3. Autoimmunität		

Interpretation der Ergebnisse

1. Direkte Immuntoxizität

Die Interpretation der Ergebnisse ist eingeschränkt, da die Assays noch nicht völlig standardisiert und validiert sind. Auch ist ungeklärt, welches Ausmaß der Veränderungen relevant und indikativ für Immuntoxizität ist, denn eine Erniedrigung der T-Zellen um 10-20 % kann u.a. durch das Alter, Geschlecht und die Ernährung beeinflusst werden.

2. Hypersensibilität

Assays zum Nachweis spezifischer Antikörper (IgE) sind selten verfügbar. ELISA zum Nachweis von Zytokinen ist nicht sensitiv genug.

3. Autoimmunität

Die Pathophysiologie der Autoimmunität ist noch nicht ganz geklärt. Daher ist auch die Relevanz der laufend vorgeschlagenen Biomarker unbekannt. Auch in Gesunden können Antikörper nachgewiesen werden, die Bedeutung ist ungeklärt.

4.1.2.1.3 Hämatopoese

Das Blut und das Knochenmark bilden eine funktionelle Einheit, eine heterogene Population von Zellen beinhaltend, die unterschiedliche Funk-

tionen ausüben. Die Hämatopoese ist von einer kontinuierlichen Selbsterneuerung und Differenzierung der Stammzellen abhängig. Täglich werden etwa 200×10^9 Erythrozyten, 120×10^9 Granulozyten, 20×10^9 Lymphozyten und 150×10^9 Thrombozyten neu gebildet und somit die Balance zwischen Zellverlust und Zellneubildung aufrechterhalten.

Die Blut- und Knochenmark-Toxizität kann sich als das Ergebnis einer Destruktion von ausdifferenzierten Zellen, ihrer Vorläuferzellen, einer gestörten Proliferation oder Differenzierung manifestieren.

Zu den toxischen Auswirkungen auf die Hämatopoese zählt:

1. Reduzierung an Anzahl und Differenzierung von pluripotenten Stammzellen (PSC). Dieses führt zu einer gestörten Produktion von Erythrozyten, Granulozyten und Thrombozyten, falls Kompensationsmechanismen versagen.

Hierbei entwickeln sich die Zytopenien entsprechend der Lebensdauer der einzelnen Zellarten zu unterschiedlichen Zeitpunkten:

Granulozytopenie:	wenige Tage
Thrombozytopenie:	2-4 Wochen
Erythrozytopenie (Anämie):	bei komplettem Stillstand Abnahmen um 0,83 % pro Tag.

2. Manche Toxine könnten auch als Mutagene wirken, die bestimmte Gene zerstören oder beeinträchtigen. Eine Folge davon könnte der vollständige oder teilweise Verlust der PSCs sein, in eine oder mehrere Zelllinien zu differenzieren, was in unterschiedlichem Grad zu Anämie, Thrombopenie oder Granulopenie führen könnte.
3. Die PSCs könnten genetisch auch so verändert werden, daß ihre Nachkommenschaft reife Zellen produziert mit defekten oder fehlenden Enzymen, beeinträchtigten Membranen oder gestörter Mobilität.
4. Die Entstehung von Erkrankungen des hämatopoetischen Systems aufgrund maligner Transformation von pluripotenten Stammzellen.

Es konnte durch Versuche (mit Glukose-6-Phosphat als Marker) eindeutig nachgewiesen werden, daß mehrere hämatologische Erkrankungen klonalen Ursprungs sind und von der Stufe der PSC ausgehen. So konnte dieses für die CML und die AML bewiesen werden. Bei der AML wurde festgestellt, daß die Krankheit sowohl von multipotenten Vorläuferzellen als auch von Vorläuferzellen, die nur zur Granulozytenreihe gehören, ausgehen kann. Dies läßt schließen, daß die Aktivie-

rung des ‚Onkogens‘ auf jeder Stufe von der hochkapazitären selbsterneuernden Stammzelle bis durch alle folgenden Stufen hindurch geschehen kann, also die pluripotenten, tripotenten, bipotenten und monopotenten Stammzellen.

5. Toxine können die Hämatopoese beeinflussen durch schädigende Wirkung auf Organe, die bei der Hämatopoese beteiligt sind. Beispielsweise kann es durch chronisches Nierenversagen aufgrund von Toxinen zu einem Abfall von Erythropoetin und im Anschluß zur Ausbildung einer Anämie kommen.
6. Manche Toxine können vor allem die ‚Transit population‘ (Vorläuferreihe) mit der möglichen Blockade der Differenzierung (am Beispiel der Erythropoese) von der Stufe der BFU-E bis zur letzten teilungsfähigen roten Vorläuferzelle schädigen. Dies könnte z.B. geschehen durch die Alkylierung von Proteinen, mRNA oder DNA der Vorläuferzellen. Wenn jedoch der Pool der PSCs ausreichend groß ist oder effektive Reparaturmechanismen hat, wird der Schaden der Transit-Population verschwinden, wenn die defekten Transit-Zellen aussterben und vom PSC-Pool ersetzt werden. Deswegen kann ein Schaden einer Transit-Population unbemerkt bleiben.

Nach der Anwendung von Phenylbutazon kommt es gelegentlich zu einer Blockade der Reifung und Speicherung der Granulozyten vom Myelozyten aus. Folglich zeigt das Knochenmark einen nahezu kompletten Ausfall von Metamyelozyten, Stab- und Segmentkernigen, die Werte für Granulozyten im peripheren Blut gehen gegen Null.

7. Manche Gifte können auch in erster Linie auf die reifen Zellen wirken und deren Lebenszeit verkürzen (bei roten Blutkörperchen Verursachung einer schweren hämolytischen Anämie). Als Kompensationsmechanismus kann der Mensch bei chronisch hämolytischer Anämie die Produktion von roten Blutkörperchen um den Faktor 6 steigern. Grundsätzlich können bei allen Zellreihen analoge Schemata für Kompensationsmechanismen beschrieben werden.
8. Ein Toxin könnte auch die Gene für die Produktion von koloniestimulierenden Faktoren (CSF) negativ beeinflussen, was zu einer Abnahme der Produktion der reifen Zellen führen würde. Dieses konnte jedoch noch nicht schlüssig bewiesen werden.

Fallbeispiel zu Störung der Hämatopoese nach S-Lost-Intoxikation

In den Jahren 1984-1990 wurden mehrere Opfer von Giftgasangriffen mit S-Lost während des Iran-Irak-Krieges im Elisabeth-Krankenhaus in Reck-

linghausen behandelt. Hier erfolgt die Vorstellung eines Falles, bei dem nach der Exposition mit S-Lost eine Affektion des Knochenmarks beobachtet wurde:

Der Patient A.M.-A. wurde am 01.03.1984 Opfer eines Giftgasanriffes mit S-Lost (Senfgas). Zunächst erfolgte die Behandlung in einem Teheraner Krankenhaus. Dann Weiterbehandlung in Recklinghausen vom 15.03.-25.05.1984.

Symptome bei Aufnahme:

Sensorium: Somnolenter Zustand. Aufgrund schlechten Zustandes und Verständigungsproblemen keine eingehende neurologische Untersuchung möglich.

Hautveränderungen: Ausgedehnte Epidermolysen an den Extremitäten sowie großflächige Nekrosen der Haut an Achselfalten, Leistenfalten und Unterarmen. Generalisierte Hyperpigmentierung der Haut.

Schleimhäute: Ulzerationen der Mukosa der Mundhöhle und des Pharynx. Ausgeprägte Konjunktivitis beidseits.

Respirationstrakt: Aphonie aufgrund einer Laryngitis. Unproduktiver Reizhusten. Gelegentlich Expiration von reinem Blut. Auskultatorisch Giemen, Brummen und Pfeifen feststellbar.

Diagnostik:

Röntgen-Thorax: Am 21.03. vermehrt fleckig-streifige Zeichnung der Lunge feststellbar sowie ausgeprägte fleckige Verdichtungen in dem Oberfeld im Sinne lobulärer pneumonischer Infiltrate. Im weiteren Verlauf Ausbildung eines linksseitigen Pneumothorax (nach Anlage eines zentralen Venenkatheters?), der sich am 26.03. wieder vollständig zurückgebildet hatte.

Sonographie: Bei Sonographie des Abdomens keine Auffälligkeiten.

Lungenfunktion: Nicht durchgeführt.

Komplikationen:

Zwischen 19.03. und 23.03. Manifestierung einer Knochenmarksinsuffizienz mit nachfolgender hämorrhagischer Diathese. Erholung des Knochenmarks nach einer Woche.

Laborparameter:

Leber: Erhöhte Werte für GOT und GPT bis 29. 03., danach im Referenzbereich. Erniedrigte Werte für Cholinesterase während der gesamten Behandlungsdauer als Indikator für erfolgte S-Lost-Exposition. Ansonsten keine pathologischen Abweichungen.

Niere: Werte für Harnstoff, Kreatinin und Harnsäure während der gesamten Behandlungsdauer im Referenzbereich.

Elektrolyte: Im Referenzbereich.

Hämatologie: Zwischen 19. 03. und 23. 03. deutlicher Abfall der Werte für Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, Hämoglobin und Hämatokrit. Im Differentialblutbild Linksverschiebung der Leukozytenreihe. Siehe hierzu Abbildung 3.

Elektrophorese: Am 19. 03. deutlich erniedrigter Wert für die β - und γ -Globulin-Fraktion, Erhöhung der $\alpha 1$ -Globulin-Fraktion. Danach Werte im Referenzbereich.

Alle anderen Werte im Referenzbereich.

Behandlung:

Antibiose mit Gentamicin, Ampicillin und Doxycyclin.

Parenterale Zufuhr von Aminosäuren, Albumin und Kohlehydraten.

Schmerzbehandlung mit Metamizol.

Therapie der Hautschäden mit Dexpanthenol, Framycetinsulfat und lokal-anästhetischer Salbe.

Beclomethason-Spray zur Behandlung der respiratorischen Störungen.

Behandlung der Konjunktivitis mit Kamillespülungen und KanaMycin-Salbe.

Krankheitsverlauf:

Abheilen der Hautschädigungen nach ca. 6 Wochen. Im Laufe eines Jahres Entwicklung einer restriktiven Ventilationsstörung (Patient kam 1985 zur Nachbehandlung).

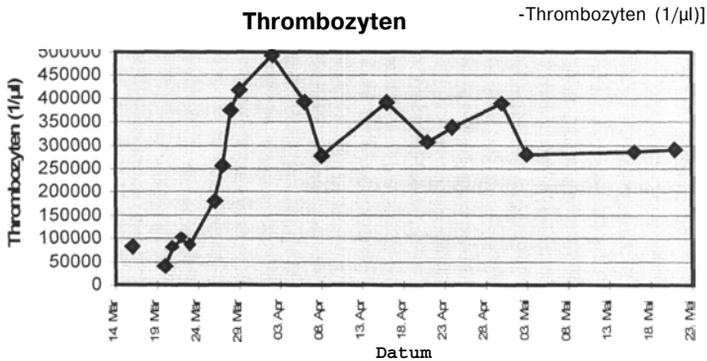
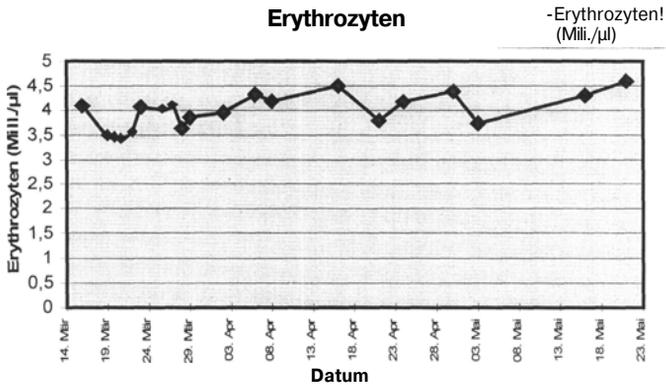
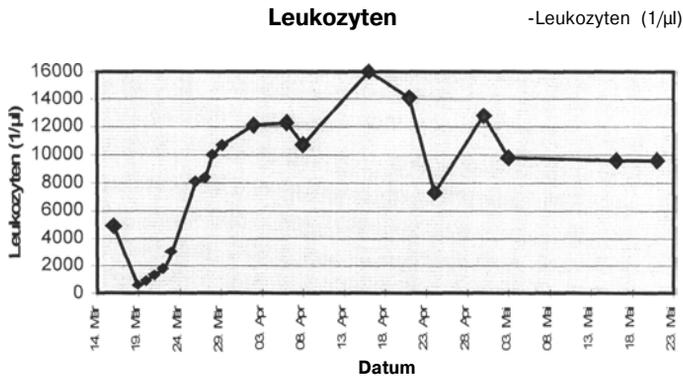


Abb. 3: Leukozyten-, Erythrozyten- und Thrombozytenverlauf beim Patienten A.M.-A.

4.1.2.1.4 Nephrotisches Syndrom

Definition: Starke Proteinurie (> 3 g/d), Hypoproteinämie, Ödeme, Hyperlipoproteinämie mit Erhöhung von Cholesterin und Triglyzeriden

Ätiologie:

- Glomerulonephritis (80 % d. F.)
- Diabetes mellitus
- Plasmozytom
- Amyloidose
- Kollagenosen
- Nierenvenenstauung
- toxisch (Penicillamin, Schwermetalle, Goldpräparate, Antiepileptika)

Pathogenese (Abbildung 4):

Es kommt zum renalen Verlust vorwiegend kleinmolekularer Proteine (Albumin, Immunglobuline, Antithrombin III).

Auch die Syntheserate für Serumalbumin spielt eine Rolle, so daß eigentlich das Gleichgewicht zwischen Albuminurie und Albuminsynthese das Ausmaß der Hypalbuminämie bestimmt.

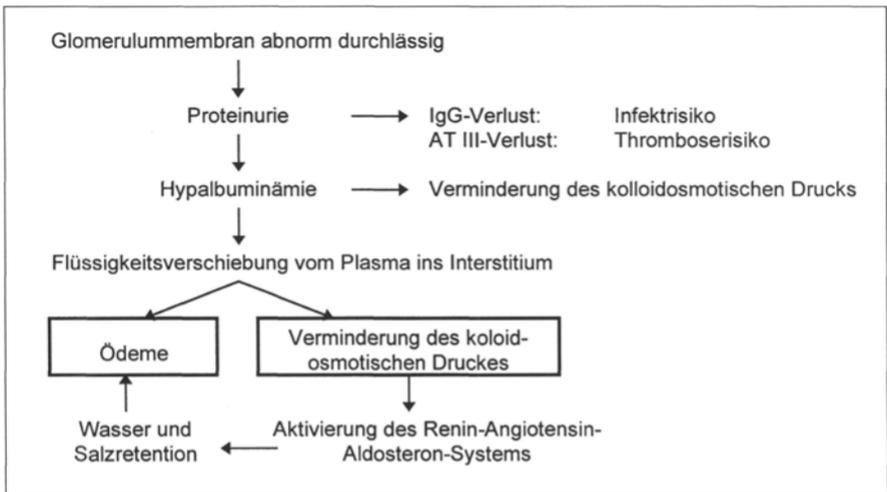


Abb. 4: Pathogenese des nephrotischen Syndroms.

Klinik:

Leitsymptome des nephrotischen Syndroms (s. o.)

- Klinik der ursächlichen Erkrankung

- evtl. erworbener IgG-Mangel mit Infektanfälligkeit bei starkem Eiweißverlust
- im fortgeschrittenen Stadium Symptome einer Niereninsuffizienz
- gehäufte thromboembolische Komplikationen durch AT III-Verlust

Diagnose:

- Klinik + Labor: Serumelektrophorese, Harnstoff, Kreatinin, Kreatinin-Clearance; evtl. IgG und AT III; Cholesterin und Triglyzeride; Urinuntersuchung: hoher Eiweißgehalt, Unterscheidung „selektive“ und „nicht-selektive“ Proteinurie.
- Sonographie der Nieren
- Nierenbiopsie mit Histologie erforderlich

Therapie:

A) Therapie der Grunderkrankung bzw. Beseitigung toxischer Ursachen

B) Symptomatische Therapie:

Allgemein:

- Körperliche Schonung
- Diät, eiweißarme und kochsalzarme Kost ($< 5 \text{ g NaCl/d}$)
- Diuretische Therapie. Thiaziddiuretika, bei Niereninsuffizienz Schleifendiuretika unter Kontrolle des Elektrolythaushaltes (besonders Kalium) und Flüssigkeitsbilanzierung
- Thromboseprophylaxe
- bei bakteriellen Infekten Antibiotika und Gammaglobulinsubstitution, Impfung gegen Pneumokokken und Influenzavirus
- Therapie einer Hypercholesterinämie
- Therapie einer evtl. Hypertonie: Bevorzugt mit ACE-Hemmern, die eine protektive Wirkung auf die Glomerula haben sollen; bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz (Kreatinin-Clearance $< 30 \text{ ml/min}$) sind ACE-Hemmer kontraindiziert

Speziell:

bei ausgeprägtem nephrotischen Syndrom und/oder eingeschränkter Nierenfunktion werden die verschiedenen GN-Formen wie folgt therapiert:

- membranöse GN
- prognostisch schwer abschätzbar: 30 % Spontanremissionen, 30 % Progression zur Niereninsuffizienz
- Weglassen evtl. kausaler Noxen
- evtl. Kortikosteroidpulstherapie und Chlorambucil

4.2 Biologische Indikatoren

4.2.1 Erhebung und Bewertung vorhandener biologischer Indikatoren zur Beurteilung genotoxischer Schädigung

Welche Indikatoren in einem Katastrophenfall zum Einsatz kommen, hängt vom Ausmaß (Anzahl der betroffenen Personen) und vom Schweregrad der Schädigung der Verunfallten ab.

Stets sollte ein *Indikator*test (Comet Assay, SCE, ³²P-Postlabeling) durchgeführt werden. Indikatortests erfassen nicht die Mutationen selbst, sondern solche genetischen Endpunkte, die mit der Mutationsentstehung in einem mehr oder weniger engen Zusammenhang stehen, wie z.B. DNA-Schäden oder Folgen von DNA-Schäden (DNA-Fragmentierung, Einzelstrang-Brüche oder Doppelstrang-Brüche, reziproke Austausche von Schwesterchromatiden oder DNA-Addukte). Diese Testsysteme erlauben eine Aussage über die tatsächliche genotoxische Beanspruchung eines Probanden. Somit ist es möglich, exponierte von nicht-exponierten Probanden zu unterscheiden und darüber hinaus eine Aussage über das Ausmaß der Schädigung (in einem gewissen Rahmen) zu machen. Des Weiteren können hypersensitive Individuen (biomarker of susceptibility) identifiziert werden. Die gesundheitlichen Folgen der in Indikatortests gemessenen genotoxischen Effekte können heute noch nicht in ihrem gesamten Ausmaß abgeschätzt werden. Sehr wahrscheinlich wirken genotoxische Stoffe kanzerogen. Auch besteht ein möglicher Zusammenhang mit Arteriosklerose und Alterungsvorgängen (Bridges et al., 1990, Mullaart et al., 1988).

Als erster Test sollte der *Comet Assay* an peripherem Vollblut durchgeführt werden. Denn dieser erlaubt eine sehr schnelle, einfache und mit wenig Zeit- und Kostenaufwand verbundene Analyse der genotoxischen Beanspruchung der Verunfallten (biomarker of effect and susceptibility). Der Comet Assay kann an einer großen Zahl Betroffener durchgeführt werden und gibt innerhalb weniger Stunden Auskunft über die DNA-Schädigung. Durch Folgeuntersuchungen kann zudem die Regenerationsfähigkeit bzw. Reparaturkapazität des blutbildenden Systems überprüft werden.

Der *SCE-Test* (*Sister Chromatid Exchange*) setzt die Proliferation der Zellen voraus, d. h. eine Kultivierung über mehrere Tage ist notwendig (zeit- und arbeitsintensiv). Die Vorteile des SCE-Tests liegen vor allem in seiner eindeutigen Auswertbarkeit und in der Kombinationsmöglichkeit mit anderen Tests. So erhält man neben den SCE-Werten Informationen über Zellproliferation, Polyploidisierung sowie Chromosomenaberrationen. D. h. wird aufgrund der Sachlage eine Chromosomenanalyse durchgeführt, sollte diese mit dem SCE-Test kombiniert werden.

Das ³²P-Postlabeling-Verfahren, mit dem DNA-Addukte erfaßt werden können, hat eine hohe Empfindlichkeit (1 Addukt auf 10⁹ Nukleotide) (Randerrath et al., 1988). Die Durchführung ist arbeits- und zeitintensiv und somit an großen Populationen kaum durchführbar.

Zu den klassischen *Mutationstests* gehören Gen-, Chromosomen- und Genommutationen. Eine wesentliche Eigenschaft von Mutationen ist die klonale Weitergabe einer eingetretenen genetischen Veränderung von Zelle zu Zelle, d. h. in mitotisch aktiven Somazellen führen entstandene Mutationen zu Klonen mutierter Zellen. Somit sind somatische Mutationen an verschiedenen Krankheitsbildern beteiligt, im Vordergrund steht ihre Beteiligung bei der Karzinogenese.

Mutationen lassen sich in Blutzellen z. B. als Chromosomenaberrationen (CA), Mikrokerne oder Genmutationen (z. B. am HPRT-Gen oder Glycophorin A-Gen) nachweisen. Die Mutationstests sind sehr zeit- und arbeitsintensiv und lassen sich deshalb an großen Populationen nicht oder nur mit großem Zeit- und Kostenaufwand durchführen.

Für eine Risikobeurteilung der exponierten Population können Indikator-tests nicht verwendet werden. Mutationstests bieten hier eine bessere Aussage.

Von den Mutationstest-Verfahren sollte die *Mikrokern-Technik* die erste Präferenz erhalten, da sie im Vergleich zum Nachweis von CA schneller und leichter durchzuführen ist. Darüber hinaus ist die Methode automatisierbar und dadurch an großen Populationen durchführbar.

Chromosomenmutationen sind heute der am besten untersuchte genetische Endpunkt, so daß eine große Reihe an Vergleichs- und Kontrollwerten zur Verfügung steht. Da hier noch keine befriedigende Automatisierung zur Verfügung steht, ist diese Methode extrem zeitintensiv. Ergebnisse können erst Wochen nach dem Unfall erwartet werden. Damit ist die Methode vor allem zur Dosis- oder Risikoabschätzung, nicht aber zur akuten Bestimmung der Beanspruchung der Probanden geeignet (Bauchinger et al., 1995). Eine Kombination des SCE-Tests mit der Zytogenetischen Analyse wäre daher sinnvoll.

Der Nachweis von stabilen CAs unter dem Einsatz der *In-situ*-Hybridisierung ist geeignet, auch eine länger (Monate oder Jahre) zurückliegende Exposition zu erfassen. Die Methode ist jedoch zeit-, arbeits- und kostenintensiv (Schmid et al., 1992) und im Augenblick noch in der Erprobungsphase.

Der *HPRT-Mutations-Assay* an humanen Lymphozyten ist ein neuer vielversprechender Test zum Nachweis von Mutationen an einem Modellgen

(reporter gen) (Albertini R. J., 1994). Es konnten erhöhte Mutationsfrequenzen in Populationen mit sehr geringer Umweltbelastung nachgewiesen werden (Ward et al., 1994 und Bridges et al., 1991). Der Assay hat den Vorteil, daß die Mutationen auch lange Zeit nach Exposition nachgewiesen werden können. Ein weiterer Vorteil liegt im geringen Hintergrund und der geringen individuellen Variabilität. Eine weitere Standardisierung und Validierung sowie Vergleiche mit anderen Mutationstests werden in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt.

Der *GPA-Assay* ist relativ schnell und leicht durchzuführen, kann aber nur an 50 % der Bevölkerung eingesetzt werden und eignet sich deshalb nur für eine Populationsstudie mit einer großen Zahl an Probanden.

Abschließend läßt sich sagen, daß die beste Aussage über die Beanspruchung eines Betroffenen gemacht werden kann, wenn sowohl ein Indikatorstest als auch ein Mutationstest durchgeführt wird. Somit läßt sich die akute genotoxische Schädigung wie auch eine etablierte Mutation erfassen. Wenn darüber hinaus eine weitere Untersuchung zu einem späteren Zeitpunkt stattfindet, kann überprüft werden, ob der Schaden reversibel oder irreversibel ist.

Wenn irreversible Schäden oder stabile Mutationen auf ein höheres Risiko der Probanden schließen lassen, können „follow-up“-Untersuchungen mit Antikörpern z. B. gegen p53- oder p21-Genprodukte sowie AMA (anti-malignin antibody) im Serum durchgeführt werden (Abrams et al., 1994).

4.2.2 Durchführung des Comet Assays

Siehe Abschnitt 3.2 und Abbildung 2: Schematische Darstellung der Durchführung des Comet Assays (S. 26 ff.).

4.2.3 Validierung und Standardisierung des Comet Assays

4.2.3.1 Variierung der Methode zur Steigerung der Sensitivität

Wir konnten zeigen, daß die Sensitivität des Assays durch die Variation der Denaturierungszeit („Unwinding“-Zeit) und der Elektrophoresezeit verändert werden kann. Abbildung 5 zeigt eine Erhöhung der Sensitivität mit zunehmender Denaturierungszeit, aber auch mit zunehmender Elektrophoresezeit. Bei einer Elektrophoresezeit von 30 Minuten und einer Unwinding-Zeit von 60 Minuten liegen die Werte für alle Dosen signifikant über der Kontrolle. Für den in einem Katastrophenfall zu erwartenden

Dosisbereich sollte eine Denaturierungszeit von 60 Minuten und eine Elektrophoresezeit von 30 Minuten gewählt werden, um optimale Ergebnisse zu erhalten.

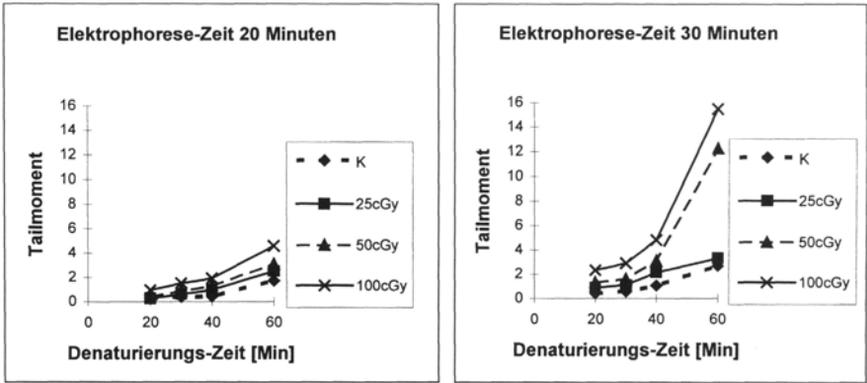


Abb. 5: Vergleich der Unwinding-Zeiten bei einer Elektrophoresezeit von 20 und 30 Minuten. Die Leukozyten wurden mit Röntgenstrahlen (0,25-1 Gy) bestrahlt und sofort einem Comet Assay unterzogen.

4.2.3.2 Dosis-Wirkungs-Kurven mit Strahlen und Chemikalien

Abbildung 6 und Abbildung 7 zeigen eine direkte Korrelation zwischen DNA-Schädigung und der Expositions-dosis. Dies ist für ionisierende Strahlung (Abbildung 6) und Chemikalien (Abbildung 7) in gleicher Weise zu beobachten. Der untere Schwellenwert für Röntgen- und γ -Strahlen im peripheren Blut liegt bei 2-5 cGy (Unwindingzeit 60 Minuten/Elektrophoresezeit 30 Minuten). Der untere Schwellenwert für Chemikalien liegt bei 10^{-5} für MMS und MNU, bei 5×10^{-6} für MNNG. Abbildung 6 und Abbildung 7 zeigen auch, daß individuelle Unterschiede zu beobachten sind, die untere Nachweisgrenze bleibt allerdings gleich.

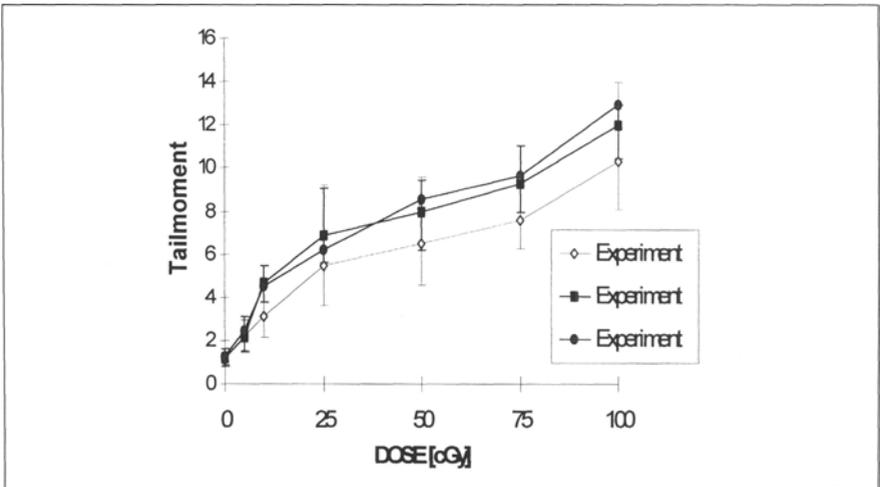


Abb. 6: Dosis-Wirkungs-Beziehung für Röntgenstrahlen. Dargestellt sind 3 unabhängige Versuche mit 3 verschiedenen Probanden (Experiment 1-3). Das periphere Blut wurde mit 5-100 cGy exponiert.

Abbildung 8 zeigt die Schädigung der DNA durch ein Gemisch aus chemischen Agenzien. Aus dieser Abbildung wird klar, daß bei der Verbrennung von organischem Material Produkte entstehen, die eine gewaltige DNA-Schädigung verursachen können.

In Abbildung 8 sind die genotoxischen Eigenschaften der alkylierenden Verbindung Methyl-Methan-Sulfonat (MMS) zusammen mit jenen reinen Glasfaserfiltern und äquivalenter Mengen daran adsorbierter Laser-Pyrolyseprodukte unterschiedlicher Schweinegewebe dargestellt. Eine Toxizität der Glasfasern per se scheint vernachlässigbar zu sein und könnte im einfachsten Fall als Folge mechanischer Zellschädigung auftreten. Entscheidender ist, daß alle vier Typen der untersuchten Aerosole eine Erhöhung der „Tailmomente“ verursachen. Die Fähigkeit, DNA-Strangbrüche und alkalilabile Stellen zu induzieren, zeigt dabei eine starke Abhängigkeit von dem spezifischen Gewebetyp, der mit dem Laser bestrahlt worden ist. Vergleicht man die genotoxische Potenz, so läßt sich diese je nach Herkunft der jeweiligen Aerosole zu nachstehender Rangfolge anordnen: Fettgewebe < Haut <quergestreifter Muskel <<Leber.

Abschließend bleibt festzuhalten, daß der Comet Assay eine geeignete Methode darstellt, um multifaktorielle chemische Expositionen zu erfassen, wie sie beispielsweise aus der (photo-)thermischen Zersetzung organischen Materials resultieren.

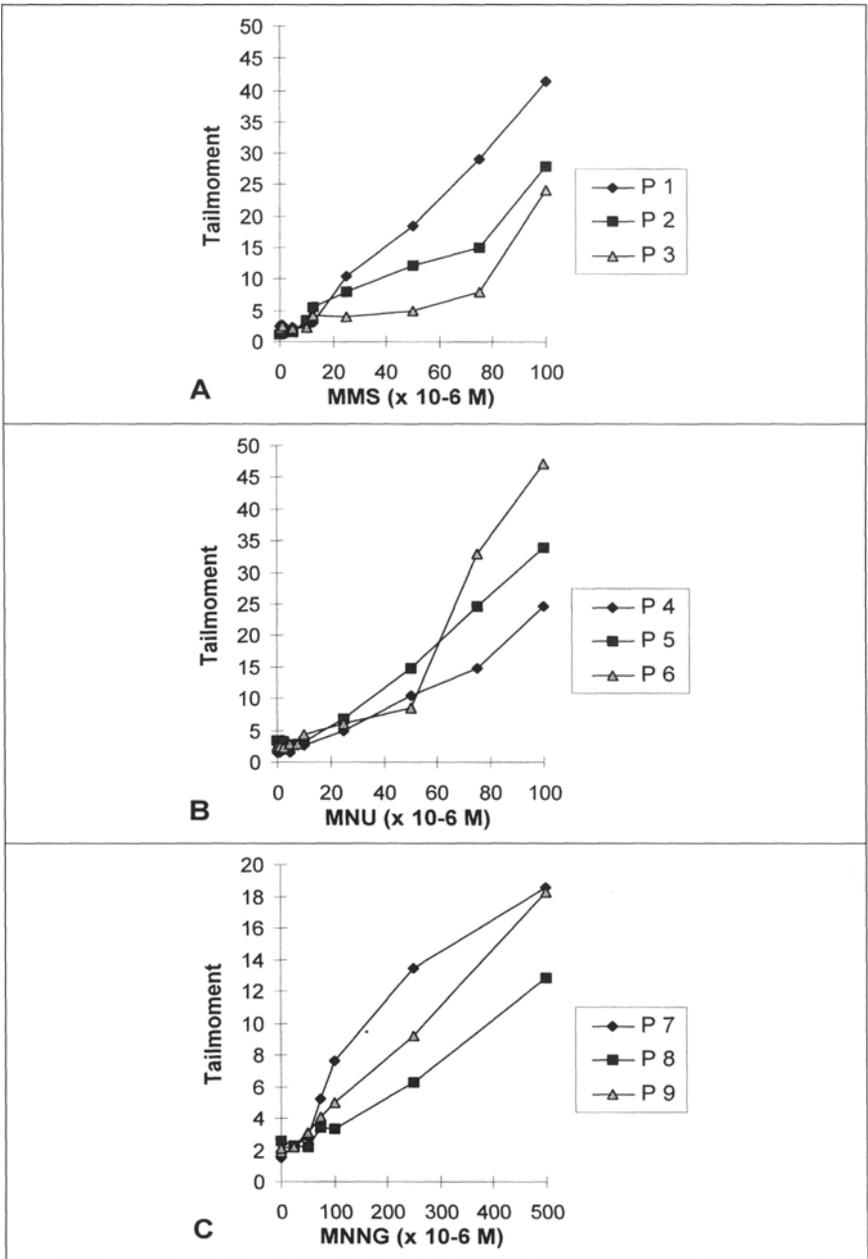


Abb. 7: Dosis-Wirkungs-Beziehung für Chemikalien. Dargestellt sind 3 unabhängige Versuche mit 9 verschiedenen Probanden. Das periphere Blut wurde mit Methyl-Methan-Sulfonat (A), Methyl-Nitroso-Urea (B) sowie N-Methyl-N-Nitroso-Guanidin (C) behandelt. Dargestellt sind die Mediane aus jeweils 56 Zellen je Dosis.

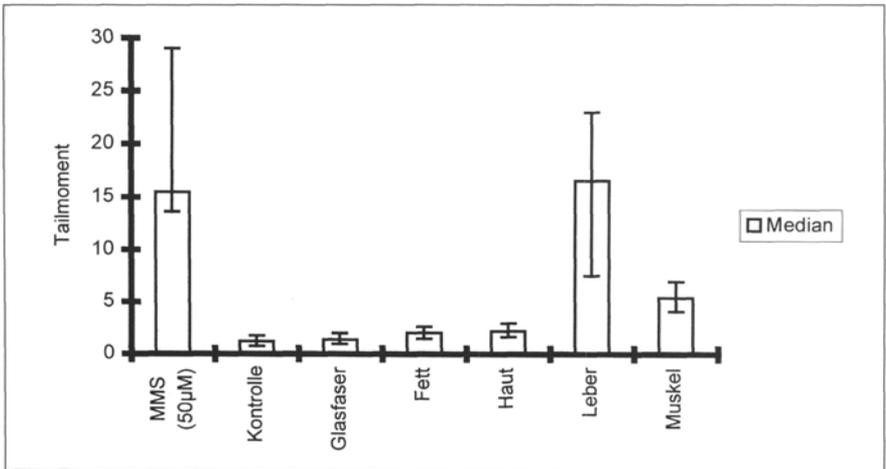


Abb. 8: Genotoxizität von Pyrolyseprodukten, die bei der Belagerung verschiedener Schweinegewebe als Aerosole freigesetzt werden. Unbehandeltes Blut wird mit „Kontrolle“ bezeichnet. Die Tailmomente sind als Mediane angegeben und zur Indikation der Streuung dienen obere bzw. untere Quartile. Je Probe wurden insgesamt 66 Einzelzellen in 3 Ansätzen gemessen.

4.2.3.3 Untersuchung verschiedener Isolationstechniken bezüglich artefaktfreier Isolation

1. Das Vollblut erscheint in der Untersuchung in bezug auf das Tailmoment als homogene, ungeschädigte Zellpopulation. Die durch eine Dichtegradientenzentrifugation abgetrennten Zellen zeigen eine Schädigung, die als Isolierungsartefakt interpretiert wird. Tabelle 4 zeigt für alle Bedingungen einen Anstieg des durchschnittlichen TM sowie der Menge der geschädigten Zellen. D. h. die Isolation mononuklearer Zellen über einen Dichtegradienten führt zu einer nicht unerheblichen Menge geschädigter Zellen, die im Comet Assay erfaßt werden. Die Menge der Zellen mit DNA-Schäden nimmt im Laufe der Zeit für alle getesteten Isolationsbedingungen zu. Die Ausnahme bildet hier Ficoll/RPMI: mit dieser Kombination kommt es zu keinem Anstieg der Schädigung.
2. Wie aus Abbildung 9 ersichtlich, führt eine Isolation von Zellen über Magnetobeads zu keiner Schädigung der DNA.
3. Die Isolation über den FACS-Sorter führt ebenfalls zu keiner Schädigung der DNA (Abbildung 9, s. S. 58).

Tab. 4: Anstieg des DNA-Schadens durch eine Dichtegradienten-Isolation. Dargestellt ist der Anstieg des Tailmomentes (TM) in % und die Menge der geschädigten Zellen. Spalte 3 und 4 zeigen die Ergebnisse nach einer zweistündigen Inkubation bei 37 °C. Alle Daten sind Durchschnittswerte aus mind. 3 unabhängigen Versuchen. (* nur ein Experiment).

	Increase in TM [%]	% damaged cells	Increase in TM [%]after 2h	% damaged cells after 2h
Ficoll/PBS	69	16	193	26
Ficoll/RPMI	91	19	38	12
Ficoll/HBSS	39*	17	180	22
Percoll/PBS	71	18	182	30
Percoll/RPMI	102	22	125	22
Percoll/HBSS	90	18	175	28

4.2.3.4 Untersuchung verschiedener Zelltypen bezüglich ihrer Sensitivität, Reparaturkinetik und Zugänglichkeit

1. Isolierte Mononukleare Zellen und peripheres Vollblut zeigen keine Unterschiede in der Sensitivität gegenüber ionisierenden Strahlen. Es konnten auch keine Unterschiede in der Reparaturkinetik entdeckt werden (Abbildung 9). Nach 30 Minuten sind noch weniger als 50 % der DNA-Schäden vorhanden. Nach 120 Minuten sind nahezu alle Strangbrüche repariert.
2. Bestrahltes Vollblut, B- und T-Lymphozyten zeigen unterschiedliche Schädigungsmuster und besitzen somit unterschiedliche Sensitivität gegenüber ionisierender Strahlung (Abbildung 9). Dabei erwiesen sich T-Zellen als sensitiver als B-Zellen. Der DNA-Schaden nach 50 cGy Bestrahlung ist allerdings für T-Lymphozyten und Vollblut gleich. Die unterschiedliche Sensitivität von B- und T-Lymphozyten ist jedoch nicht in dem Maße ausgeprägt, daß es bei einem „humanen Massen-Screening“ von Vorteil wäre, spezifisch die T-Lymphozyten zu untersuchen, zumal derselbe Effekt im peripheren Vollblut gemessen werden kann.
3. Die FACS sortierten CD 34⁺ Zellen zeigen (in einem Dosisbereich bis 100 cGy) im Vergleich zum Vollblut keine höhere Sensitivität gegenüber Strahlen. Die Reparaturkapazität ist größer, hier sind nach 30 Minuten nahezu alle Strangbrüche repariert (Abbildung 9).

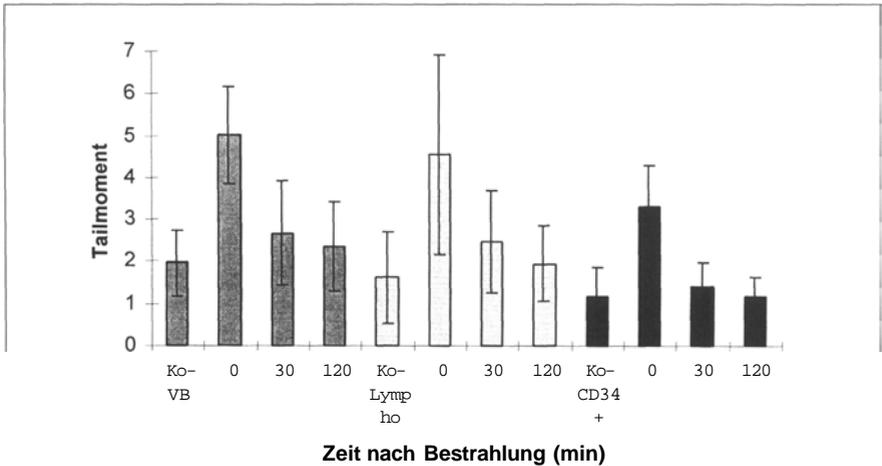


Abb. 9: Initiale Schädigung und Reparaturkinetik von Vollblut (VB), isolierten Mononuklearen Zellen (Lympho) und CD 34⁺ Blutstammzellen (CD 34⁺). Als Kontrollwert (Ko) ist der Ausgangswert vor Bestrahlung dargestellt, gefolgt von dem Wert nach 1 Gy γ -Strahlung. Zur Bestimmung der Reparaturkinetik wurden 30 und 120 Minuten gewählt. Dargestellt ist der Median (\pm Standardabweichung).

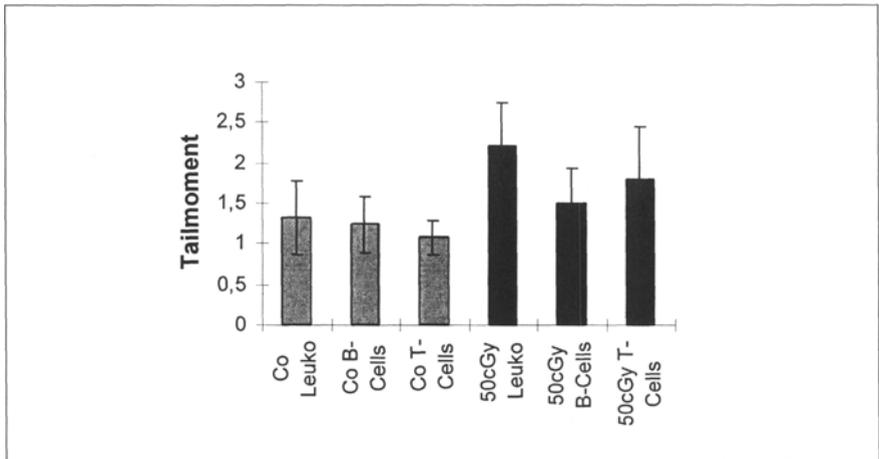


Abb. 10: DNA-Schädigung dargestellt als mittleres Tailmoment aus 7 Versuchen (\pm Standardabweichung). Die Leukozyten des Vollblutes (Co Leuko) sowie die isolierten B- und T-Lymphozyten (Co B-Cells bzw. Co T-Cells) wurden mit 50 cGy bestrahlt.

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, daß für ein „Massen-Screening“ im Sinne des „Humanen Biomonitoring“ eine Isolation verschiedener Zellpopulationen nicht sinnvoll ist, da keine zusätzliche Sensitivität erreicht wird.

Darüber hinaus sind die Isolationsmethoden zeitaufwendig und teuer. Wir haben uns daher entschieden, für die Feldstudien und Kohortenstudien an Patienten das leicht zugängliche Vollblut zu verwenden.

4.2.4 Untersuchung des Kontrollkollektives

Bei den 100 unbelasteten Probanden des Kontrollkollektives liegt das durchschnittliche Tailmoment bei 1,84 ($\pm 0,59$). Der Vergleich in Tabelle 5 zeigt, daß sowohl das Geschlecht wie auch das Alter keinen Einfluß auf das Tailmoment hat. Darüber hinaus fanden wir keine Korrelation zwischen einer erhöhten DNA-Schädigung (erhöhtes Tailmoment) und Lebensgewohnheiten, wie Rauchen oder Alkohol. Das Tailmoment der Raucher liegt nicht signifikant über dem der Nichtraucher. Eine endgültige Aussage kann hier aber noch nicht gemacht werden, da im Augenblick erst 24 Raucher in die Statistik eingehen und unter diesen 24 Rauchern einige einen Konsum von nur 1-5 Zigaretten angegeben haben. Um hier eine zuverlässige Aussage machen zu können, muß die Studie erweitert werden.

Tab. 5: Durchschnittliches Tailmoment (\pm Standardabweichung). Die mit dem Comet Assay untersuchten 100 Probanden wurden aufgeschlüsselt nach Geschlecht, Alter und Rauchgewohnheiten.

	Summe der Probanden	Tailmoment
	100	1,84 \pm 0,59
Männlich	45	1,86 \pm 0,52
Weiblich	55	1,82 \pm 0,65
Nichtraucher	76	1,81 \pm 0,62
Raucher	24	1,92 \pm 0,48
Alter < 25 Jahre	18	1,64 \pm 0,42
25-50 Jahre	72	1,87 \pm 0,63
Alter > 50 Jahre	10	1,81 \pm 0,39

Mit einem weiteren Versuch wurde die Variabilität des Tailmoments einer Person bestimmt. Hierzu wurde das periphere Blut von Probanden des Kontrollkollektivs in zufälligen zeitlichen Abständen mehrmals untersucht (Tabelle 6). Dabei zeigt sich eine hohe Konstanz des Tailmoments innerhalb des gleichen Probanden. Die Variationsbreite des Tailmoments zwischen verschiedenen Probanden liegt etwas höher (vergl. Tabelle 5 und Tabelle 6).

Tab. 6: Variationsbreite des Tailmoments im peripheren Blut einer Person. Das Blut der Probanden P1-P3 wurde in zufälligen zeitlichen Abständen (Probe 1-Probe 5) dem Comet Assay unterzogen. Die angegebenen Mittelwerte der Proben 1-5 basieren auf je 50 ausgewerteten Zellen.

Probanden	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	MWSD
P1	1,62	1,90	1,81	1,95	1,84	1,83 ± 0,11
P2	1,68	1,78	1,80	1,83	1,68	1,75 ± 0,06
P3	2,05	1,86	2,00	2,27	2,08	2,05 ± 0,13

4.2.5 Untersuchung der DNA-Schädigung im peripheren Blut von Patienten nach Radiojod- und Chemotherapie

Damit ein sinnvoller Schwellenwert definiert werden kann, wird der „Normalwert“ des Tailmoments von 1,84 mit den Werten von Chemotherapie-Patienten und Radiojod-Patienten verglichen (Abbildung 11, s. S. 62).

Die mit Radiojod therapierten Patienten lassen sich je nach verabreichter Menge an Radiojod in 2 Gruppen teilen; Hochdosistherapie ab 1 GBq Jod-131 und Niedrigdosistherapie < 1 GBq. Wie aus Abbildung 11 ersichtlich wird, unterscheiden sich die durchschnittlichen Tailmoments der Patienten mit einer Hochdosistherapie nicht signifikant von denen mit einer Niedrigdosistherapie. Dies steht scheinbar im Gegensatz zu unseren *In-vitro*-Versuchen, bei denen eine Dosis-Wirkungs-Beziehung hergestellt werden konnte (s. Abbildung 6). Die Erklärung dafür ist, daß die errechnete Blutdosis keinen direkten Zusammenhang mit der applizierten Gesamtaktivität zeigt (Tabelle 7). Faktoren wie Menge an Speichergewebe oder Stoffwechselaktivität des Patienten spielen hier die entscheidende Rolle (Pfanenstiel 1969, Seidlin 1954), Die nach Seidlin errechneten Gesamt-Blutdosen liegen zwischen 4 und 65 cGy. Das durchschnittliche Tailmoment der Niedrigdosis-Gruppe liegt bei 4,81 (± 1,44), das der Hochdosis-Gruppe bei 4,10 (± 0,47).

Tab. 7: Dargestellt sind 40 Patienten, die eine Therapie mit Radiojod erhalten haben. Die Tabelle zeigt die applizierte Aktivität, errechnete Blutdosis am Tag des maximalen Schadens, die errechnete kumulative Blutdosis, den Anstieg des Tailmoments sowie den Tag des maximalen Schadens.

Patients	appl. activity (MBq)	daily blood dose (cGy)	cum. blood dose (cGy)	increase of TM (%)	max. damage (days)
Low-dose patients (< 1 000 MBq)					
P 1	296			52	2
P 2	370	0.3	7	43	3
P 3	370	1.9	2	159	1
P 4	370	2.8	4.4	176	1
P 5	370			27	1
P 6	444			58	3
P 7	444			75	2
P 8	481	1.3	8.2	147	3
P 9	499	3.9	4.1	66	2
P 10	518			0	-
P 11	555	0.85	4.1	87	3
P 12	555			43	7
P 13	592	3.5	4.8	187	7
P 14	592			256	2
P 15	666	3.8	8.5	85	3
P 16	703			185	2
P 17	730	3.2	37	86	7
P 18	740	1.3	16.2	362	3
P 19	740	2.2	3.3	102	3
P 20	740	14	65	126	6
P 21	740			247	3
P 22	740			94	3
P 23	814	6.7	11	98	7
P 24	814			113	2
P 25	888	4	18	201	4
P 26	925	0.4	41	405	1
P 27	925			160	7
P 28	684 + 600	0.84	5	130	1
High-dose patients (> 1 000 MBq)					
P 29	3 740			0	-
P 30	3 740			0	-
P 31	3 740	14	30	50	1
P 32	5 550	14	18	100	3

Patients	appl. activity (MBq)	daily blood dose (cGy)	cum. blood dose (cGy)	increase of TM (%)	max. damage (days)
P 33	5 550	15	32	42	1
P 34	5 550	26	34	169	1
P 35	5 550	41	63	313	2
P 36	5 550			212	3
P 37	5 550			83	3
P 38	5 550			53	2
P 39	7 400			145	1
P 40	7 880	5.2	5.4	83	3

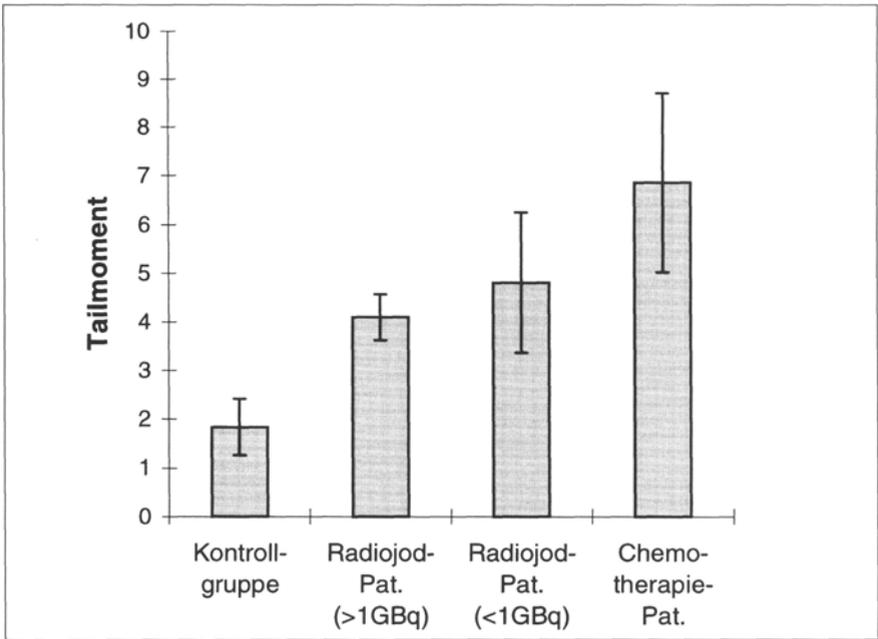


Abb. 11: Vergleich der Mittelwerte (\pm Standardabweichung) der drei untersuchten Kollektive. Das Kontrollkollektiv besteht aus 100 gesunden Probanden. Als geringer belastete Gruppe wurden Patienten während Radiojodtherapie gewählt. Diese wurden nach applizierter Dosis in zwei Gruppen geteilt; Patienten mit Hochdosistherapie ab 1 GBq und Patienten mit Niedrigdosistherapie < 1 GBq ^{131}Jod . Als ein Modellkollektiv für chemische Expositionen dienten Patienten während einer Chemotherapie.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit war der Nachweis einer multifaktoriellen genotoxischen Schädigung *in vivo*. Es wurden Patienten untersucht, die sich aufgrund einer Leukämie einer Polychemotherapie unterziehen mußten. Das durchschnittliche Tailmoment der Patienten mit einer Polychemotherapie liegt bei 6,87 ($\pm 1,85$) und damit deutlich über der Gruppe

der mit Radiojod therapierten Patienten (Abbildung 11). Um Resultate nach verschiedenen Expositionen zu erhalten, wurden zwei Gruppen mit unterschiedlichem Therapieschemata ausgewählt. In beiden Gruppen kann bereits nach dem ersten Therapietag ein deutlicher genotoxischer Effekt mit dem Comet Assay gemessen werden (Abbildung 12).

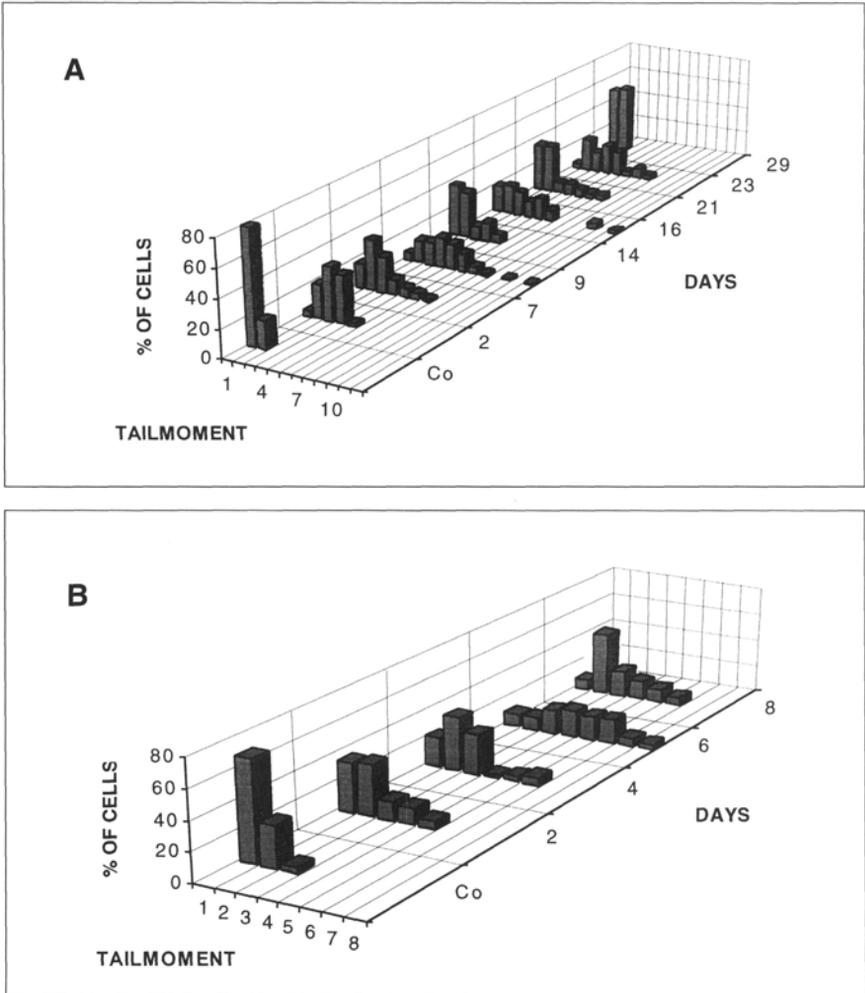


Abb. 12: Verteilungsmuster von DNA-Schädigung und Reparatur im peripheren Blut von zwei Gruppen Patienten während einer Polychemotherapie. Patienten A erhielten zur Behandlung einer ALL eine Therapie mit Vincristine (Tag 1, 8, 15, 22), Daunorubicin (Tag 1, 8, 15, 22), Prednisolon (Tag 1-28) und Asparaginase (Tag 15-28). Patienten B erhielten zur Behandlung einer AML eine DAV-Therapie: Cytarabin (Tag 1-7), Daunorubicin (Tag 1-3), Etoposid (Tag 1-5).

4.3 Wissensbasiertes Assistenzsystem

4.3.1 Auswahl einer geeigneten Entwicklungsumgebung für ein wissensbasiertes Assistenzsystem

4.3.1.1 Technologien für die Realisierung wissensbasierter Systeme

Der Auswahl eines Entwicklungssystems für wissensbasierte Systeme ging eine Analyse der besonderen Anforderungen durch das Projekt und das Anwendungsgebiet voran. Für ein medizinisches Assistenzsystem wird im folgenden eine Aufstellung dieser Anforderungen gegeben und das angewandte Bewertungsverfahren für in Frage kommende Systeme skizziert.

4.3.1.2 Kriterien für die Auswahl einer geeigneten Entwicklungsumgebung für ein wissensbasiertes Assistenzsystem – Auswahlverfahren

Eine Entwicklungsumgebung unterstützt den Entwicklungsprozeß eines rechnergestützten Systems (hier eines wissensbasierten Assistenzsystems), indem es entsprechende Werkzeuge und Problemlösungsansätze in integrierter Weise zur Verfügung stellt.

Für die Entwicklung eines wissensbasierten Assistenzsystems zur Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen mußte eine geeignete Entwicklungsumgebung ausgewählt werden. Zu berücksichtigen waren geeignete Repräsentationsmechanismen für das zu modellierende Wissen, die Möglichkeit, eine leicht zu bedienende Benutzerschnittstelle für den computerunerfahrenen Arzt zu erstellen, und eine möglichst gute Integration der Verfahren und Werkzeuge.

Anforderungen an die Entwicklungsumgebung

1. Wissensrepräsentation

Die auszuwählende Entwicklungsumgebung sollte eine adäquate Repräsentation des Wissens über den Problemlösungsprozeß und über den Anwendungsbereich ermöglichen. Die Komplexität der Zusammenhänge im Wissen, in unserem Fall bei zytotoxischen Mehrfachbelastungen des menschlichen Organismus, für deren Diagnose, Prognose und Behandlung, legt eine *objektorientierte Modellierungsmethode* nahe. Durch sie werden Konzepte und Begriffe als Objekte definiert und Beziehungen zwischen ihnen explizit dargestellt. Auch die Gliederung des Problemlösungsprozesses in (generische) Teilaufgaben (Stefanelli et al., 1992) kann objektorientiert modelliert werden (*Task Model*).

Darüber hinaus ist medizinisches Wissen häufig in Form von *Regeln* beschrieben. Das gilt insbesondere für die Differentialdiagnostik und die

Therapieplanung. Bei der Repräsentation dieses Wissens werden die Regeln formal festgehalten und in kleinen *Regelmengen* zusammengefaßt, die zu geeigneten Zeitpunkten angestoßen werden können, um auf diese Weise den Diagnose- oder Therapieplanungsprozeß zu unterstützen.

Für eine objektive Diagnose- und Therapieentscheidung sind Indikatoren und Indizes von Bedeutung. Indizes werden in der Regel als Linearkombination mehrerer elementarer Untersuchungswerte berechnet. Die zugrundeliegenden *Formeln* sollten, wie auch die Parameter, explizit repräsentiert werden können.

2. Inferenz

Um aus dem repräsentierten Wissen die möglichen Schlüsse abzuleiten, muß die Entwicklungsumgebung Komponenten enthalten, die *Regelmengen automatisch abarbeiten* können, indem sie die Regeleingänge mit passenden Objekten instanzieren und bei Erfüllen des Bedingungssteiles die zugeordnete Aktion auslösen.

Die Modularisierung der Regeln in Regelmengen erlaubt eine gezielte Steuerung der Inferenz. Das spielt eine Rolle bei der Orientierung der Regelabarbeitungsreihenfolge und -aktivierungszeitpunkten an der gewohnten ärztlichen Vorgehensweise, kann aber auch zur Performanzverbesserung herangezogen werden. Die *Blackboard-Control*-Architektur (Hayes-Roth, 1985) ist eine geeignete Grundlage. Dazu werden abhängig vom Fortschreiten des Problemlösungsprozesses, der explizit durch das *Task Model* repräsentiert ist, Aufgaben auf einem *Control Blackboard* protokolliert. Regelmengen und andere Wissensquellen werden in Abhängigkeit vom Zustand des *Control Blackboard* aktiviert.

Analog zu den Regeln sollen Indikatoren und Indizes, die anhand von Formeln definiert werden, bei Bedarf automatisch berechnet werden (*Dämonen*).

3. Erklärungskomponente

Die Verantwortung für Diagnose-, Prognose- und Therapieentscheidungen kann, nicht zuletzt aus juristischen Gründen (§ 216 StGB), allein der Arzt tragen (Johannsen 1993). Deshalb muß ein wissensbasiertes Assistenzsystem seine Vorschläge erklären können.

Dazu muß der Schlußfolgerungsprozeß protokolliert werden, um Vorschläge zurückverfolgen zu können. Diesem Zweck dient ein Begründungsverwaltungssystem (*Justification-Based Truth Maintenance System*) (Doyle, 1979). Wichtig sind sowohl die Fakten, die einem Schluß zugrunde liegen, als auch das Wissen, das dabei zur Interpretation der Fakten herangezogen wird.

Beides, Fakten und Wissen, muß in einer Form aufbereitet werden, die vom anwendenden Arzt nachvollziehbar ist. Dazu eignen sich insbesondere Formulare für die Darstellung der Fakten sowie Spreadsheets, Entscheidungstabellen und Hypertext für das angewandte Wissen.

4. Grafische Benutzeroberfläche

Für ein wissensbasiertes medizinisches Assistenzsystem wird eine grafische Benutzerschnittstelle benötigt, so daß ein computerunerfahrener Arzt Objekte *direkt, interaktiv am Bildschirm manipulieren* kann. Diese Objekte sollten so gestaltet sein, daß sie Hilfsmitteln und Werkzeugen aus seiner gewohnten Arbeitsumgebung entsprechen (Metaphern). Die Entwicklungsumgebung muß die Konstruktion solcher Benutzerschnittstellen unterstützen.

Arzt und Assistenzsystem sollten ein „gemeinsames Verständnis“ über den Zustand des Patienten und den Stand und das geplante Fortschreiten des Behandlungsprozesses erreichen können.

Große Datenmengen, wie sie typischerweise bei der Intensivüberwachung oder bei langfristiger Behandlung anfallen, sollen in anschaulicher und kompakter Form visualisiert (Diagramme) werden können, um den Arzt bei seinen Entscheidungen maximal zu unterstützen. Für die Darstellung des Wissens sollten Werkzeuge für Hypertext und Tabellen zur Verfügung stehen.

5. Datenhaltung

Die teilweise in großen Mengen anfallenden Daten und evtl. auch das medizinische Wissen sollen in einer Datenbank abgelegt werden können. Vorteil der Benutzung eines *Datenbankverwaltungssystems (DBMS)* ist die Möglichkeit, Objekte *Programmiersprachen- und entwicklungs-umgebungsunabhängig* abzulegen und mehreren Benutzern gleichzeitig zur Verfügung zu stellen (Fischer, 1992). Datenbankverwaltungssysteme verfügen außerdem über umfassende *Datensicherungsmechanismen*, die die abgelegten Objekte vor Zerstörung und unberechtigtem Zugriff schützen. Relationale Datenbankverwaltungssysteme (RDBMS) bieten in diesem Bereich die größte und ausgereifteste Funktionalität, und es gibt eine standardisierte Sprache für Datendefinition, -manipulation und Abfragen (SQL).

Die Möglichkeit, auf eine Datenbank unmittelbar zugreifen zu können, wird insbesondere dann von Interesse sein, wenn man das Assistenzsystem um fallbasierte Entscheidungshilfen ergänzen will.

6. Portabilität

Um eine herstellerunabhängige und ausreichend weite Verbreitung und Einsetzbarkeit des Systems zu ermöglichen, wird auf einen *Betriebssystemstandard* wie Unix zurückgegriffen. Unix bringt z. B. den Vorteil der Skalierbarkeit, d.h. die Hardware kann flexibel den Leistungsanforderungen durch die Software angepaßt werden. Auch bei der grafischen Benutzerschnittstelle werden Standards wie X/Windows und OSF/Motif verwendet.

7. Integration der Komponenten

Die einzelnen benötigten Komponenten müssen möglichst gut integriert sein. Das gilt insbesondere für die Schnittstellen von den Regeln und Formeln zu JTMS und Objektwelt und von der Objektwelt zur Datenhaltungskomponente. Das heißt zum einen, daß Formeln und Regeln auf die Ausprägungen der Merkmale von Objekten direkt zugreifen können und zum anderen, daß Objekte zur Ablage in der Datenbank automatisch zu Tupeln umgeformt werden und man auf Objekte in der Datenbank zugreift, als wären sie im Objektspeicher abgelegt. Die Entwicklungsumgebung soll einen modularen Aufbau der mit ihr entwickelten Softwareprodukte unterstützen, um zum einen die Komplexität in einem überschaubarem Rahmen zu halten und zum anderen die *Control-Blackboard*-Architektur leicht umzusetzen.

8. Überblick

Zusammenfassend zeigt Tabelle 8 einen Überblick über die Aspekte, die man bei der Auswahl der Entwicklungsumgebung für ein wissensbasiertes Assistenzsystem berücksichtigen sollte. Für die Bewertung wurde ein an den Bedürfnissen des individuellen Projekts und den Erfahrungen in der Projektgruppe ausgerichtetes detailliertes Bewertungsschema aufgestellt.

Tab. 8: Bewertungsaspekte bei der Auswahl einer Entwicklungsumgebung für ein WBS.

Aspekt	Anforderungen
Wissensrepräsentation	Objekte, Regeln, Formeln
Inferenz	Forward/Backward-Chaining, Dämonen
Erklärungskomponente	Truth-Maintenance-System
grafische Benutzerschnittstelle	X-Windows, OSF/Motif, Diagramme, Hypertext
Datenbankverwaltungssystem	SQL (RDBMS)
Portabilität	Unix
Integration	Regeln-JTMS, Regeln-Objekte, Objekte-DB
Preis (Preis/Leistungsverhältnis)	Limit!

Bewertungsverfahren

Für das Teilprojekt „Wissensbasiertes Assistenzsystem zur Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen“ wurden die für die oben beschriebenen Anforderungen an die Entwicklungsumgebung relevanten Kriterien zu einem Bewertungsschema (Daenzer, 1985; Holz, 1990) zusammengetragen und ihrer Wichtigkeit nach in den Stufen „zu beachtendes Kriterium“⁴, „wichtiges Kriterium“ und „Ausschlußkriterium“ klassifiziert. Ausschlußkriterien müssen erfüllt sein, wichtige Kriterien sollten erfüllt sein und zu beachtende Kriterien können eine Entscheidung zwischen sonst gleichbewerteten Systemen beeinflussen. Wo nötig, werden die Kriterien ergänzt um eine Liste der für die Entscheidung wichtigen spezifischen Aspekte.

Eine weitere Operationalisierung der Kriterien ist schwierig und kaum objektivierbar, so daß sie unterlassen wurde. Die Kriterienmenge stellt die Bewertung einzelner Systeme auf eine objektive Basis. Die Entscheidung kann durch den Vergleich der Bewertung der einzelnen Systeme gefällt werden.

Bewertete Entwicklungsumgebungen

Das Bewertungsverfahren wurde auf eine Reihe auf dem Markt verfügbarer Systeme angewandt (Fischer, 1993). Dabei wurden zunächst Babylon (Christaller, Di Primo und Voß, 1989), KEE (Wolf und Setzer, 1991), ProKappa (Joseph, 1991) und VisualWorks zusammen mit HyDi (Traphöner und Maurer, 1992) untersucht. Während die Anforderungen im Wissensrepräsentationsbereich mehr oder weniger von allen Produkten erfüllt wurden, sind ProKappa und VisualWorks mit integrierten Werkzeugen für die Datenbankanbindung und die Benutzerschnittstellenkonstruktion ausgestattet.

Zusammenfassung

Die Anforderungen, die an eine Entwicklungsumgebung für wissensbasierte Systeme zu stellen sind, richten sich nach den Schwerpunkten, die bei der Entwicklung gesetzt werden sollen. Bei Assistenzsystemen sind das die Bedienbarkeit durch den computerunerfahrenen Arzt und die Integration in den Behandlungsprozeß. Anders ist es, wenn der Schwerpunkt auf der Modellierung von Entscheidungsprozessen liegt, die auch Experten Probleme bereiten, und die Motivation in der Lösung eines sehr spezifischen Entscheidungsproblems liegt.

4.3.1.3 Auswahl einer geeigneten Entwicklungsumgebung für ein wissensbasiertes Assistenzsystem – Auswahlentscheidung

Das Auswahlverfahren wurde in Fischer (1993) dokumentiert. Die Entscheidung fiel trotz der nicht auszuräumenden Mängel letzten Endes auf ProKappa. Mängel sind insbesondere das fehlende Truth-Maintenance-System (Begründungsverwaltung) und die Tatsache, daß ProKappa zum Zeitpunkt der Auswahlentscheidung nicht auf der vorgesehenen Hardware (SUN-Sparc-10-kompatibler Rechner) läuft. ProKappa kam den gestellten Anforderungen für eine Entwicklungsumgebung für einen Demonstrator eines wissensbasierten medizinischen Assistenzsystems jedoch am nächsten.

Der notwendige Aufwand, VisualWorks um eine regelverarbeitende Komponente einschließlich eines Begründungsverwaltungssystems zu ergänzen, läßt sich kaum abschätzen. Damit wäre das Erreichen des Projektziels gefährdet gewesen.

Die Implementierung einer Begründungsverwaltung für ProKappa ist deutlich weniger aufwendig. Leider hat der Anbieter (Intellicorp) noch keine Erfahrungen mit der Erweiterung von ProKappa um eine Begründungsverwaltung.

4.3.1.4 Einsatz der Entwicklungsumgebung

ProKappa wurde während der Projektlaufzeit durch Kappa ersetzt. Diese Tatsache erforderte eine Anpassung und z. T. Neuprogrammierung der bis dahin realisierten Software. Eine verbesserte Gestaltungsmöglichkeit beim Bau grafischer Benutzerschnittstellen bewog uns, diesen Schritt dennoch zu tun. Auf die Erfahrungen mit beiden Plattformen wird in der Diskussion kurz eingegangen.

4.3.1.5 Erfahrungen mit der ausgewählten Entwicklungsumgebung

Die Zielsetzung der Entwicklungsumgebung Kappa hat sich gegenüber ProKappa verändert. Während ProKappa noch schwerpunktmäßig auf die Entwicklung intelligenter frame-basierter und regelbasierter Anwendungen ausgerichtet war, zielt Kappa auf einen breiten Markt industrieller Softwareentwicklung mit Unterstützung eines objektorientierten Entwicklungsprozesses. Für ein verhältnismäßig kleines dediziertes wissensbasiertes System hat sich die Umgebung als zu umfangreich und auch nicht ausreichend stabil erwiesen. Während zu Projektbeginn eine KI (künstliche Intelligenz)-Workstation mit einer entsprechenden KI-Entwicklungsumgebung die einzige ausreichende leistungsfähige Plattform darstellte, kann man vor dem Hintergrund des heutigen Entwicklungsstandes sowohl im

Bereich der Hardware als auch im Bereich der Entwicklungsumgebungen davon ausgehen, daß ein System auf PC-Basis und z. B. einer Prolog-Entwicklungsumgebung eine leistungsfähige und preiswertere Alternative zu Kappa darstellt.

4.3.2 *Stand des Wissens*

4.3.2.1 *Wissensbasierte Assistenzsysteme in der Medizin*

Im folgenden soll ein Überblick über wichtige Ergebnisse gegeben werden, die sich aus der Forschung im Bereich medizinischer wissensbasierter Systeme in den vergangenen Jahren haben ableiten lassen. Der Überblick erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, dennoch wird versucht, die wichtigsten Entwicklungen zu berücksichtigen. Daran anschließend werden neuere Methoden der AIM (Artificial Intelligence in Medicine) skizziert, die unseres Erachtens für die Entwicklung eines wissensbasierten Assistenzsystems für zytotoxische Mehrfachbelastungen geeignet sind.

Klassische Beispiele für wissensbasierte Systeme in der Medizin sind *Mycin*, *Internist* und *HELP*. Die Entwicklung dieser drei Systeme wurde durch ausführende Forschung über grundlegende wissensbasierte Techniken begleitet und über lange Zeit fortgeführt. Während *Mycin* (Erregeridentifikation – Mikrobiologie) und *Internist* (Internistische Differentialdiagnosestellung) eigenständige Systeme darstellen, ist *HELP* ein Krankenhausinformationssystem (KIS), in das medizinisches Wissen in Form von Erinnerungsfunktionen eingebaut wurde und wird. Alle Eingaben in das KIS werden daraufhin überprüft, ob zu ihnen Wissen abgelegt und dieses im Einzelfall anzuwenden ist (Berücksichtigung des Patientenkontexts). Auf diese Weise wird der behandelnde Arzt z.B. auf Wechselwirkungen zwischen gleichzeitig verschriebenen Arzneimitteln oder auf die Abweichung von geltenden Behandlungsrichtlinien hingewiesen. Alle zuvor genannten Projekte erstreckten sich über einen langen Zeitraum und wurden unter massivem Einsatz personeller Ressourcen betrieben. Dennoch haben die Projekte *Mycin* und *Internist* nicht ihren Weg in die Routine gefunden. Die Dauer einer Sitzung war ein Grund hierfür und auch die mangelnde Integration in die in Kliniken und Praxen bereits vorhandenen Informatiksysteme. Die im Vergleich wesentlich einfacher aufgebauten Wissensseinheiten (knowledge sources) in *HELP* (Pryor, 1983) hingegen waren von Anfang an in das Klinikinformationssystem integriert. Daten, die in der zentralen Patientendatenbank abgelegt werden, werden zuvor auf Auffälligkeiten geprüft, und bei positivem Befund erhält der Benutzer (Arzt, Krankenschwester etc.) entsprechende Hinweise. Es handelt sich hier also vielmehr um einen Mehrwertdienst zur klinischen Dokumentation. Die unterschiedliche Integration von *Mycin* und *Internist* auf der einen Seite und *HELP* auf der anderen Seite machen einen Vergleich der mit diesen An-

Sätzen erreichten Benutzerakzeptanz schwierig. Sie zeigt aber dennoch deutlich, daß die Akzeptanz durch die Benutzer mit der Integration von klinischer Dokumentation und wissensbasierter Unterstützung in einem starken Zusammenhang steht.

Die Arden-Syntax ist ein Versuch, eine standardisierte Notation für modulares Wissen, wie es in *HELP* verwendet wird, zu finden. Die Medical Logic Modules (MLM) enthalten einfache medizinische Regeln. Die standardisierte Syntax erlaubt den Austausch dieser Module zwischen verschiedenen Kliniken. Damit kann man ein weiteres Problem wissensbasierter Systeme in den Griff bekommen: die Wartung der Wissensbanken. Leider macht die Modularität den Aufbau umfassender und komplexer Wissensbanken recht schwierig. Auch fehlen im Moment noch allgemein zugängliche Autorenwerkzeuge für das Verfassen von MLMs. Mittelfristig wird die Arden-Syntax ihren festen Platz bei der Beschreibung von modularem medizinischen Wissen finden.

Ein weiterer Weg, wissensbasierte Systeme einem weiten Anwendungsgebiet zu öffnen, ist *QMR* (*Quick Medical Reference*). *QMR* stellt die Wissensbasis von *Internist* auf PCs zur Verfügung. Es kann zum Suchen von Symptomen, Erkrankungen und das Weiterverfolgen von Verbindungen zwischen diesen benutzt werden. Es stellt gewissermaßen einen Browser für die Wissensbasis zur Verfügung. Alle zuletzt beschriebenen Ansätze verlassen die Orakel-von-Delphi-Metapher in Richtung intelligenter kognitiver Hilfsmittel bzw. Entscheidungsunterstützungswerkzeuge.

Der Wissensstand im Bereich der wissensbasierten Techniken hat sich in der Bearbeitungszeit des Projekts weiterentwickelt. Dieses gilt insbesondere für neue Ergebnisse aus dem Advanced Informatics in Medicine (AIM)-Programm im vierten Rahmenprogramm der Europäischen Kommission, die sich auch in unseren Überlegungen niedergeschlagen haben (Gordon 1993, Beckers 1993, Ramoni 1994). Häufig hat sich leider gezeigt, daß die aus einer methoden- und technologiegetriebenen Forschung stammenden Ergebnisse sich nicht ohne weiteres auf ein konkretes Anwendungsgebiet übertragen lassen. Neben den AIM-Ergebnissen veröffentlichten Monov et al. (1992) und Darmoni et al. (1995), wie oben beschrieben, Ansätze für substanzspezifische Entscheidungshilfen bei Vergiftungen.

4.3.2.2 Anwendungsgebiet „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen“

Im klassischen Fall, bei dem die Noxe bekannt ist, stehen Entscheidungshilfen in Form noxenspezifischer Informationen bis hin zu Behandlungsschemata zur Verfügung. Beispiele sind als „papierbasierte“ Entscheidungshilfen die Gefahrstoffblätter, Klinik-/Notfall-Leitfäden (z. B. Handbücher

für die Erste Hilfe bei chemischen Unfällen; BAGUV 1992) und Handbücher der Notfalltoxikologie (Lefèvre, Conibear, 1989). Als „computergestützte“ Entscheidungshilfen stehen Datenbanken wie TOMESplus (Hall, Rumack, 1995), PoisIndex oder CHEMES zur Verfügung. Wenige wissensbasierte Systeme werden für den Bereich des medizinischen Managements bei physikalischen oder chemischen Noxen beschrieben (Tabelle 9).

Tab. 9: Wissensbasierte Systeme für physikalische oder chemische Noxen.

Name	Art der Noxe(n)	Entwicklungsstand	Referenz
RADES	ionisierende Strahlung	Demonstrator	Kindler, Densow, Fliedner 1991
SETH	Medikamentenvergiftungen	lokale Installation im Routinebetrieb	Darmoni, Massari et al., 1995
MEDICOTOX CONSILILUM	Vergiftungen allgemeiner Art	erprobter (?) Prototyp	Monov, Iordanova et al., 1992

Bei Fällen, in denen die Noxe unbekannt ist, bieten diese Entscheidungshilfen keine oder nur sehr grobe, unspezifische Hinweise zur Diagnose und Behandlung. Sie sind speziell für Fälle konstruiert, in denen entweder die Noxe bekannt ist oder diese identifiziert werden kann, um dann noxenspezifische Hinweise zu geben. Dieser Ansatz ist aber bei Stoffgemischen nicht anwendbar, da die Identifizierung der Substanzen allein noch keine Aussage über das gesundheitliche Risiko durch dieses Stoffgemisch zuläßt.

Die beschriebene Situation macht deutlich, daß es bei Chemiekatastrophen zum einen den Bedarf für flexible Entscheidungshilfen für den behandelnden Arzt vor Ort gibt, zum anderen aber bisher kein System zur Verfügung steht, das eine solche Entscheidungsunterstützung bei der Behandlung insbesondere von zytotoxischen Mehrfachbelastungen zur Verfügung stellt. Unser Ziel war deshalb aufzuzeigen, nach welchen Prinzipien ein wissensbasiertes Assistenzsystem für die katastrophenmedizinische Behandlung solcher Fälle aufgebaut werden kann.

4.3.3 Analyse und Modellierung des Wissens des Anwendungsgebiets „komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen“

4.3.3.1 Besondere Problemstellung des Anwendungsgebiets

Ein wissensbasiertes System, das für Katastrophensituationen Entscheidungshilfen zur ärztlichen Handhabung von komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen zur Verfügung stellt, baut auf den notfallmedizinischen Maßnahmen auf. Der anwendende Arzt ist darauf hinzuweisen,

daß die angebotenen Entscheidungshilfen sich ausschließlich auf komplexe Belastungssituationen beziehen und daß bei bekannter Noxe z.B. Datenbanken, Vergiftungszentralen und Fachbücher die spezifischere Hilfeleistung bieten.

Nach der Sicherstellung der Vitalfunktionen Atmung und Herz/Kreislauf sind die Funktionskreise ZNS, Wasser-/Elektrolythaushalt, Wärmehaushalt, Stoffwechsel und Säure-/Basehaushalt zu sichern. Für die erwarteten zytotoxischen Schäden ist zunächst die Funktion der schnell proliferierenden Zellerneuerungssysteme von Lunge, Haut, Schleimhäuten und Blut (Knochenmark) zu überprüfen. Entsprechend der Beurteilung sind Maßnahmen zur Stabilisierung zu empfehlen. In einem weiteren Schritt kann die Untersuchung auf Systeme mit niedrigerer Zellumsatzrate wie die Leber oder das Gefäßsystem ausgedehnt werden.

Wichtig erscheint, nicht den Versuch zu unternehmen, die gesamte Innere Medizin modellieren zu wollen, sondern orientiert an der Wichtigkeit nur solche Aufgaben durch detaillierte Anleitung und spezielle Entscheidungshilfen zu unterstützen, die nicht in das Standardrepertoire eines Arztes fallen. Für alle übrigen Aufgaben reichen Erinnerungsfunktionen zur Unterstützung aus.

Bereiche, die es zu unterstützen gilt, sind z.B. Auswahl und Interpretation spezieller biologischer Indikatoren zum Einsatz in der diagnostischen Funktionsbeurteilung der einzelnen Zellerneuerungssysteme. Die Beurteilung richtet sich auf das Erkennen

- funktioneller und struktureller Veränderungen;
- früher Zeichen, die auf die Möglichkeit späterer struktureller und funktioneller Beeinträchtigungen hinweisen;
- organ-/systemspezifischer Krankheiten oder Syndrome und der besonderen Prädisposition bzw. Suszeptibilität jedes Betroffenen.

Dabei wird versucht, möglichst früh Veränderungen und Empfindlichkeiten zu erkennen, um einem Fortschreiten und möglichen systemischen Auswirkungen vorbeugen zu können.

Der Einsatz eines wissensbasierten Systems als Entscheidungshilfe bei zytotoxischer Mehrfachbelastung beginnt sinnvollerweise nach den notfallmedizinischen Sofortmaßnahmen mit dem Einsetzen der eigentlichen klinischen Behandlung. Ein wissensbasiertes System kann dabei die Funktion eines „Leitsystems“ (im Sinne von Anleiten) übernehmen, indem es Vorschläge für durchzuführende Untersuchungen gibt und bei der Interpretation der Ergebnisse hilft. Auch kann die Planung des weiteren medizinischen Prozederes, insbesondere für Therapie und Überwachung, unterstützt werden.

Die Analyse des medizinischen Wissens für die Beurteilung von Schädigungen nach komplexen Mehrfachbelastungen beinhaltet auch das übliche Vorgehen bei Einzelnoxen. Dabei werden Leitsymptome erfaßt und Screening-Untersuchungen durchgeführt, die dazu dienen, die toxikologische Klasse oder besser die Noxe zu identifizieren, die der Vergiftung zugrunde liegt. Diese beiden Informationsquellen kann man zusammengefaßt als Leitindikatoren für die Identifizierung – hier für die Identifizierung von Noxen – bezeichnen. Für die identifizierte Noxe gibt es in der Regel eine genaue Charakterisierung der toxikologischen Eigenschaften, Hinweise für die genauere Untersuchung und Beurteilung der Schwere der Schädigung und ein noxenspezifisches Behandlungsschema. Die toxikologische und klinische Charakterisierung der Noxe erlaubt eine Überwachung des Exponierten anhand von noxenspezifischen Indikatoren, die das Ausmaß und das Fortschreiten der Erkrankung anzeigen.

Eine Problemlösungsstrategie für komplexe Mehrfachbelastungen kann auf dieses Vorgehensschema nicht zurückgreifen, da eine schnelle und umfassende Identifizierung der beteiligten Noxen selten möglich ist. Wenn doch, dann ist eine Vorhersage des Schädigungsmusters und des Verlaufs der resultierenden Erkrankung wegen der vielen möglichen Wechselwirkungen oft schwierig und unzureichend. Die Problemlösungsstrategie unseres Ansatzes orientiert sich an dem aus der Notfallmedizin stammenden Prinzip der Erhaltung und Stabilisierung lebenswichtiger Funktionen. Dazu ist eine Beurteilung des Schädigungsausmaßes der für die lebenswichtigen Funktionen zuständigen Organ- und Zellsysteme unerlässlich.

Für die einzelnen Organsysteme ist ein pathophysiologisches Modell aufzuzeigen, das die möglichen Funktionsstörungen beinhaltet. Zu dieser Klassifikation und Charakterisierung von Funktionsstörungen ist ein System von Leitindikatoren bereitzustellen. „Leitindikatoren“ bedeutet auch hier wieder die Zusammenfassung von Leitsymptomen, die sich aus der klinischen Untersuchung ergeben, und sensitiven biologischen Indikatoren. Mit einem solchen System von Leitindikatoren ist es möglich, das für den individuellen Patienten zutreffende Schädigungsmuster zu identifizieren. Auch hier kann es eine Abstufung von allgemeinen zu spezifischen und genau charakterisierten Funktionsstörungen geben. Während beim monokausalen Ansatz nur eine Zuordnung, nämlich zur richtigen Noxe, nötig ist, muß es bei der Identifizierung des individuellen Schädigungsmusters möglich sein, daß es sich aus mehreren Funktionsstörungen zusammensetzt. Auch einzelne Substanzen (z.B. Vinylchlorid) können polymorphe Schädigungsmuster hervorrufen, die dann auch intraindividuell sehr unterschiedlich ausgeprägt werden können.

Es ist im einzelnen zu untersuchen, ob die Zuordnung eines pathophysiologischen Musters (Klasse) zu einer Menge von Ausprägungen der

Leitindikatoren in voneinander unabhängige Teilklassifikationen zerlegt werden kann. Ist das möglich, so reduziert sich die Komplexität des Problems deutlich.

Die mögliche Präzision eines solchen Hilfsmittels zur Klassifikation hängt von dem vorgesehenen Umfang der zu berücksichtigenden pathophysiologischen Muster ab. Dabei gibt es zwei Richtungen, in die sich der Umfang ausdehnen kann: zum einen in die Breite, d. h. die Anzahl der bei der Beurteilung berücksichtigten Systeme, und zum anderen die Tiefe, d. h. die berücksichtigten Ebenen biologischer Organisation (Molekularebene, Zellebene, Zellsystemebene, Organebene, Organismusebene).

4.3.3.2 Voraussetzungen für das Umsetzen der medizinischen Strategie in ein wissensbasiertes Assistenzsystem

In der Beschreibung der medizinischen Strategie ist bereits der Bezug zum monokausalen Ansatz aufgezeigt worden. Allerdings fehlen noch Hinweise, welche Art von dort vorhandenem Wissen wie in den neuen Ansatz übernommen werden kann, um die neue „Sicht“ auf das Wissen zu ermöglichen. Im folgenden sollen die Fragen behandelt werden:

1. Was kann aus dem monokausalen Ansatz übernommen werden?
2. Wie ist das übernommene Wissen im neuen Ansatz einzufügen?
3. Wo sind andere Wissensquellen zu nutzen?
4. Wo bestehen noch Lücken, die noch zu füllen sind?

Das in der Literatur und auch in Datenbanken dargestellte Wissen für die Behandlung von Gefahrstoff exponierten ist zu flach organisiert, um es in der gegebenen Form in den Ansatz zur Behandlung von komplexen Noxen unbekannter Zusammensetzung übernehmen zu können (Abbildung 13). So werden zum Beispiel das klinische Bild und der physiologische Wirkungsmechanismus unabhängig voneinander beschrieben, ohne die Zusammenhänge zwischen beiden aufzuzeigen. Allenfalls werden Verweise durch Begriffe hergestellt, deren Bedeutung nicht festgelegt ist. Für den gleichen Begriff werden verschiedene Wörter verwendet oder das gleiche Wort hat unterschiedliche Bedeutungen. Für eine automatische Unterstützung solcher Zuordnungen wie zwischen klinischem Bild und möglichen zugrunde liegenden Wirkmechanismen ist ein kontrolliertes Vokabular notwendig.

Das Vorgehen orientiert sich am Aufgabenmodell. Die Ziele für das Vorgehen ergeben sich aus der Problemlösungsstrategie. Die Reihenfolge der

Aufgaben ergibt sich aus der Zielorientierung und aus den Abhängigkeiten zwischen den Aufgaben. Vor diesem Hintergrund wird ein generelles Vorgehensmodell erstellt. Es hat Parallelen zu den Algorithmen, wie sie in der Notfall- und Intensivmedizin eingesetzt werden, und zugleich hängt es mit Entscheidungsbaumern zusammen, welche sukzessive abzarbeiten sind.

Es ist also nicht so, daß das medizinische Wissen zum Füllen dieses Ansatzes neu erfunden werden müßte, es muß nur eine neue „Sicht“ auf das vorhandene medizinische Wissen erarbeitet werden und hier und da neue Verweise eingefügt werden, die die für den Ansatz nötigen Zusammenhänge aufzeigen.

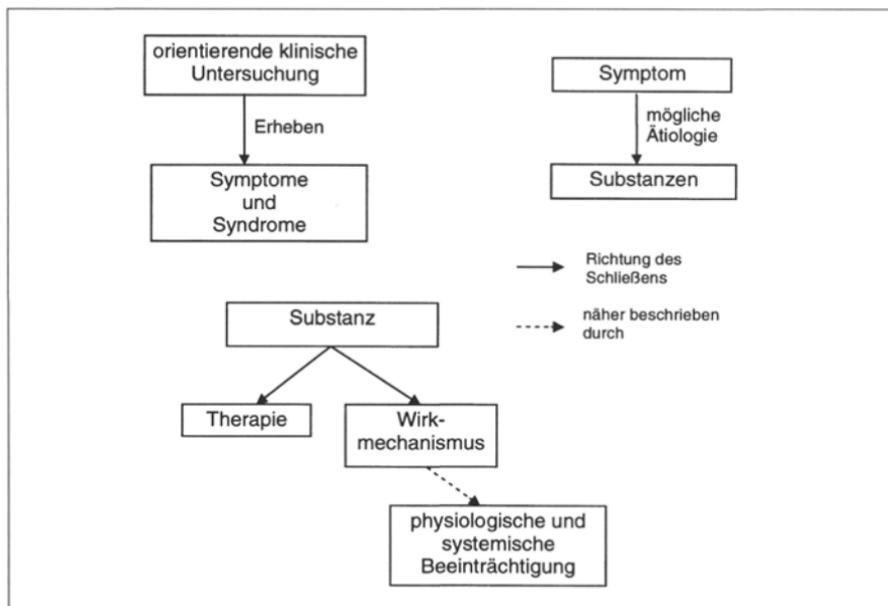


Abb. 13: Isolierte Wissensarten.

4.3.3.3 Strukturierung des medizinischen Wissens für ein wissensbasiertes Assistenzsystem

Die Strukturierung des medizinischen Wissens für ein wissensbasiertes Assistenzsystem (Beurteilung von Zellsystemstörungen nach zytotoxischer Mehrfachbelastung) basiert neben den an Klinikleitfäden orientierten Hypertexten zur Darstellung des Wissens über die relevante organspezifische Pathophysiologie, wie zum Beispiel des Akuten Respiratorischen Syndroms des Erwachsenen, auf einem Integrationschema, mit dem sich aus isolierten Wissensarten Zusammenhänge rekonstruieren lassen, die bei komplexen

Mehrfachbelastungen von Bedeutung sind. Die Beispiele in Abbildung 13 und Abbildung 14 zeigen isolierte Wissenseinheiten, wie sie typischerweise in toxikologischen Handbüchern oder Vergiftungsdatenbanken zu finden sind. Die einzelnen Wissensarten stehen für sich (klinische Untersuchung für Vergiftungssituationen, Zuordnung von [Leit-]Symptomen zu Substanzen, die sie verursachen können, Charakterisierung von Substanzen durch das klinische Bild der Vergiftung, Behandlungsanweisungen usw.). Insbesondere die Darstellung im letzten Beispiel unterschlägt die Zusammenhänge, wie sie zwischen klinischen Effekten und dem Wirkmechanismus oder den vorgeschlagenen diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen bestehen. Genau diese Zusammenhänge würden aber helfen, wenn es darum geht, geeignete diagnostische und therapeutische Maßnahmen für bestimmte pathophysiologische Muster zu finden.

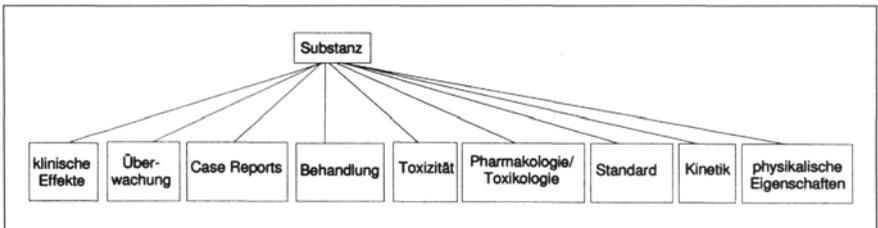


Abb. 14: Flache, schwach vernetzte Organisation des Wissens in Vergiftungsdatenbanken.

Eine Integration der Wissensarten (in Abbildung 15 skizziert), wie sie in der Buchform nur schwer zu realisieren ist, kann mit Hilfe des Computers durchgeführt werden. Verbindungen werden nachverfolgbar. Damit erhält man ein Hilfsmittel für den Aufbau einer Wissensbank für neue Sichtweisen auf medizinische Probleme, wie sie für die Beurteilung von komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen notwendig sind.

4.3.4 Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems zur Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachschädigungen

In den vergangenen zwanzig Jahren wurden viele Forschungsarbeiten auf den Gebieten der Expertensysteme, der künstlichen Intelligenz und der wissensbasierten Systeme für die Medizin durchgeführt. Nur wenige Systeme werden aber heute in der Routine eingesetzt. Das lag – und liegt – in vielen Fällen daran, daß die Voraussetzungen nicht berücksichtigt sind, die ein solches System mit sich bringen muß, um sinnvoll in die klinische Arbeit integriert werden zu können. Dieses Problem stellt sich vor allem bei einem geplanten Einsatz in Katastrophensituationen.

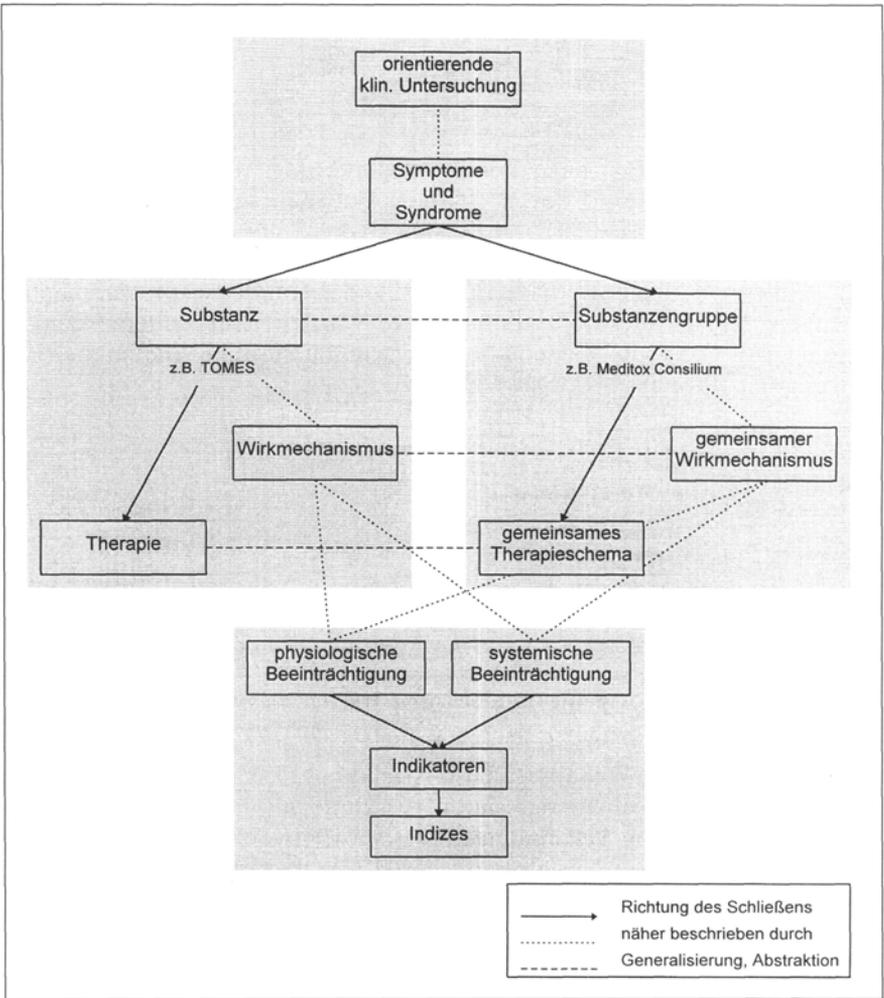


Abb. 15: Vernetzung von Wissensarten zur Darstellung inhaltlicher Zusammenhänge.

Ein Ansatz, der den Anspruch hat, solchen Problemen durch eine umfassende Analyse und eine methodische Aufarbeitung des Analyseergebnisses entgegenzutreten, wird von Wielinga, Schreiber und Breuker (1992) beschrieben. Sie unterscheiden in KADS (Knowledge Acquisition, Structuring, and Documentation) sieben Modelle, die bei der Entwicklung von wissensbasierten Systemen zu berücksichtigen sind (Abbildung 16).

Die KADS-Modelle sollen im folgenden als Leitschnur dienen, unsere konzeptionellen Arbeitsschritte für ein wissensbasiertes Assistenzsystem

zur Entscheidungsunterstützung bei zytotoxischen Mehrfachbelastungen aufzuzeigen.

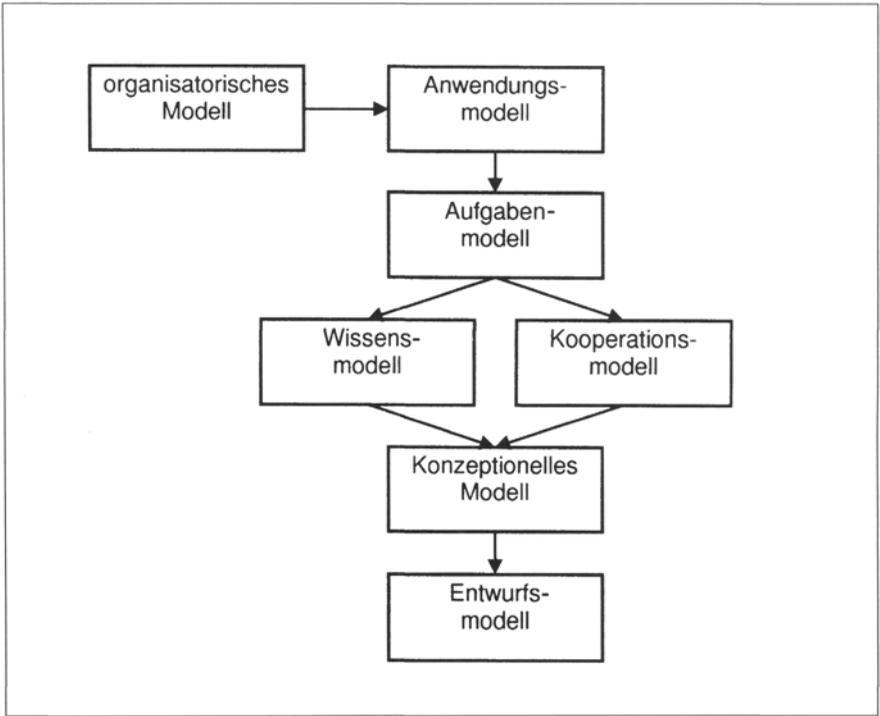


Abb. 16: KADS-Modelle.

Organisatorisches Modell

Für das organisatorische Umfeld müssen die besonderen Umstände beim Einsatz in Katastrophensituationen berücksichtigt werden. Die medizinische Versorgung muß sich im wesentlichen auf einfache, ausreichend vorhandene Instrumente beschränken. Geräte müssen leicht zu transportieren und schnell aufzubauen sein. Ein Assistenzsystem muß also auch auf tragbaren Computern ablauffähig sein. Außerdem sind zum Beispiel die Schnittstellen in der Rettungskette zu berücksichtigen, wobei hier insbesondere die möglichst vollständige Weitergabe der klinischen Information an die jeweils weiterbehandelnde Instanz wichtig ist.

Anwendungsmodell

Das wissensbasierte Assistenzsystem wird für die Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen eingesetzt. Die

Anwendung ist die Diagnose und Therapie von Zellsystemstörungen. Kritisch sind zunächst die Zeilerneuerungssysteme mit hohem Zellumsatz wie Haut, Schleimhäute, Lunge und Blutbildung. Später sollten auch langsamer proliferierende Zellsysteme berücksichtigt werden.

Aufgabenmodell

Es geht hier darum, alle Aufgaben zu identifizieren, die für die Anwendung von Bedeutung sind. Große Aufgaben werden in Teilaufgaben gegliedert (Abbildung 17). An diesem Aufgabenmodell läßt sich am besten entscheiden, für welche Aufgaben der Anwendung der potentielle Anwender Unterstützung benötigt und in welcher Form (Übersicht, Anleitung, Beratung etc.).

Maßnahmen des klinischen Managements

Sofortmaßnahmen

- Sicherung der Vitalfunktionen
- Expositionsanamnese
- Verringerung der Resorption
- (...)

Beurteilung

- Anamnese erheben
- klinische Untersuchung
- Spezialuntersuchungen
- (...)

Prognosestellung

- Indikatoren erheben
- Indizes berechnen
- Prognose stellen

Therapieplanung

- Therapiebedarf feststellen
- therapeutische Möglichkeiten
- Therapieauswahl und -planung
- Therapie durchführen
- Therapiekontrolle

Überwachung

- Überwachungsparameter festlegen
- Überwachungsplan erstellen
- Überwachungsparameter erheben
- Überwachungsparameter auswerten

Abb. 17: Aufgabenmodell.

Wissensmodell

Für die Durchführung der einzelnen Aufgaben wird vom Durchführenden aufgabenspezifisches Wissen benötigt. Ist der Durchführende ein Arzt, so kann man das Wissen für die Durchführung ärztlicher Routinetätigkeiten voraussetzen. Unterstützungsbedarf kann aber dort bestehen, wo Aufgaben, wie spezielle Maßnahmen zur Beurteilung und Behandlung von Zellsystemstörungen, nicht zur Routine gehören. Darüber hinaus ist es in einer Notfallsituation hilfreich, sich noch einmal schnell einen Überblick über die Zusammenhänge zu verschaffen und sich anhand von Checklisten davon zu überzeugen, daß man an alle wichtigen Punkte gedacht hat. Für die Behandlung von zytotoxischen Mehrfachbelastungen arbeiten wir mit einem Überblick über die Pathophysiologie von Vergiftungen (pathophysiologisches Modell, Abbildung 18). Wissen über biologische Indikatoren, Therapie- und Überwachungsschemata wird ebenfalls benötigt.

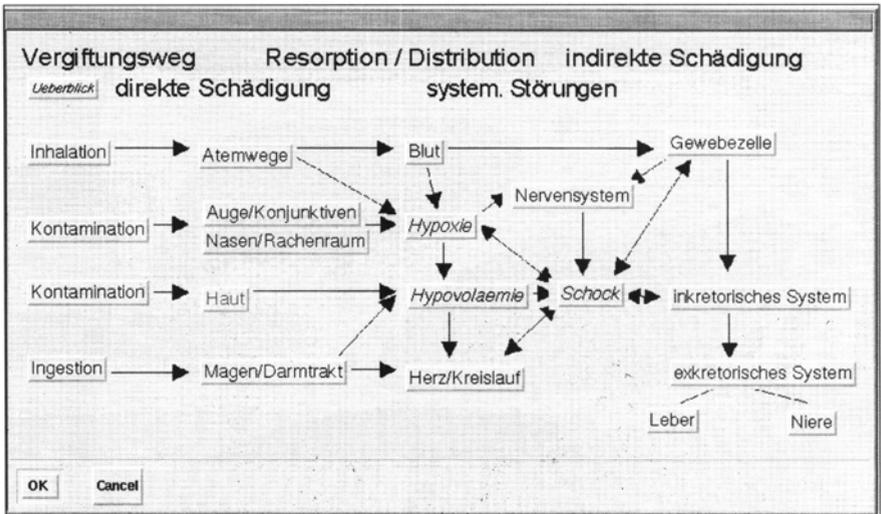


Abb. 18: Übersichtswissen – pathophysiologisches Modell.

Kooperationsmodell

Neben dem Wissen aus dem Anwendungsbereich sind Abhängigkeiten von Aufgaben untereinander, Prioritäten von Aufgaben gegenüber anderen oder die Reihenfolge beim Abarbeiten der Aufgaben (standardisiertes Vorgehen) von Bedeutung. Die Information „Diagnose“ wird benötigt, um eine Therapie auswählen zu können. Der Diagnoseprozeß wird daher im wesentlichen (aber nicht ausschließlich) vor der Therapiewahl stehen. Für eine Entscheidungsunterstützung ist ein Modell, das die Abhängigkeiten und Prioritäten abbildet, entscheidend. Die Aufgaben werden den jeweils

Verantwortlichen für die Durchführung zugewiesen. Erst eine „gemeinsame Vorstellung“ von dem zu lösenden Problem und eine gemeinsame Zielsetzung mit einem untereinander abgestimmten Problemlösungsplan ermöglicht ein kooperatives Problemlösen (Fischer, 1990) zwischen dem Benutzer und dem wissensbasierten System. Dazu werden Schemata (z.B. Formulare) für die Problemspezifikation (Befunde, Diagnosen etc.) und für prototypische Problemlösungspläne (Diagnoseschemata, Therapieschemata etc.) benötigt. Ein einfaches Beispiel ist Abbildung 19. Zunächst sind die notfallmedizinischen Sofortmaßnahmen durchzuführen, meist kann aber bereits parallel dazu entschieden werden, in welche der drei Kategorien (bekannt, unbekannt/lokal, unbekannt/systemisch) der Betroffene fällt. Die entsprechenden speziellen Maßnahmen schließen sich an.

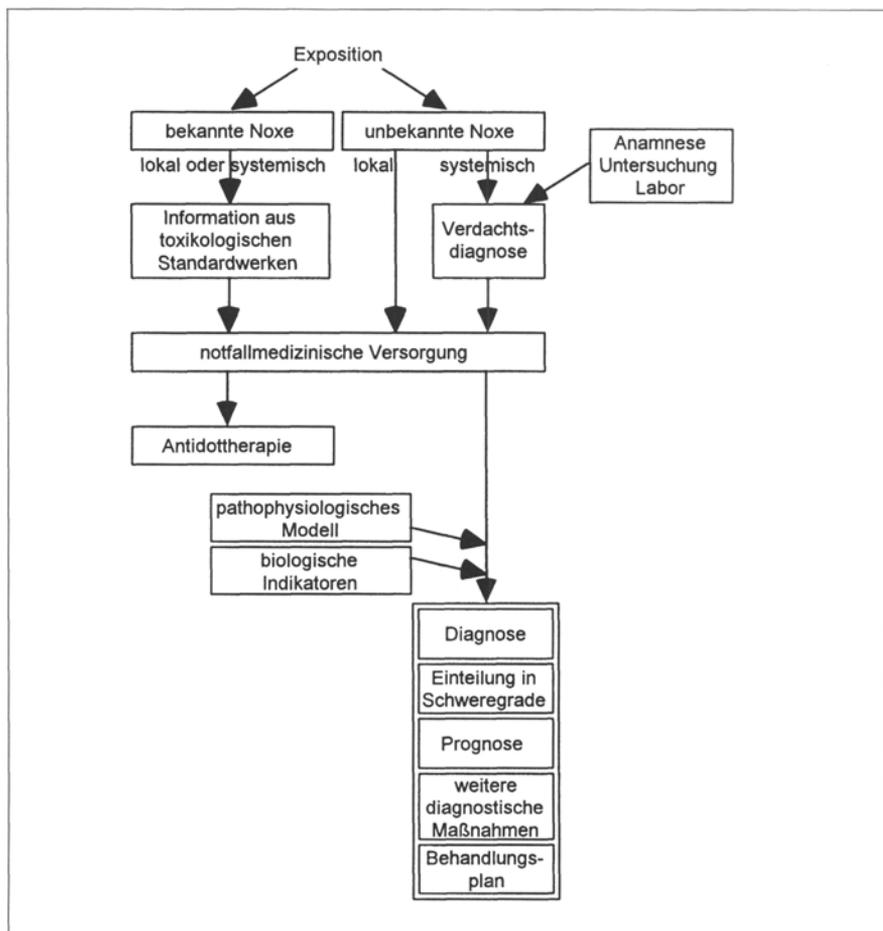


Abb. 19: Behandlung bekannter, lokaler und unbekannter systemischer Noxen.

Konzeptionelles Modell

Es bleibt zu beantworten, wie die für die gegebene Anwendung (Behandlung von zytotoxischen Mehrfachbelastungen) identifizierten Aufgaben, das zu deren Durchführung notwendige Wissen und die Kooperation zwischen den einzelnen Aufgaben so integriert werden kann, daß ein geschlossenes Konzept für die Behandlung und deren Unterstützung durch Entscheidungshilfen entsteht. Das konzeptionelle Modell definiert eine Bibliothek von Konzepten, vergleichbar mit Katalogen oder Lexika, deren Einträge formale Definitionen von Elementen der drei vorigen Modelle oder von Verbindungen zwischen Elementen unterschiedlicher Modelle sind. Das konzeptionelle Modell ist eine weitgehend formale, kohärente, in sich konsistente und vollständige Darstellung der Anwendung.

Entwurfsmodell

Das resultierende konzeptionelle Modell wird in einen Softwareentwurf überführt, wobei eine für die Art der Entscheidungsunterstützung geeignete Architektur auszuwählen ist. Dazu gehört:

- der Entwurf eines Patientendatenmodells, das die erhobenen Merkmalsausprägungen wie Anamnese, Befunde, Laborergebnisse etc. aufnehmen kann;
- der Entwurf von Schemata, die das Wissen über bestimmte pathophysiologische Prozesse in einer Form aufnehmen können, die einen möglichst flexiblen aber einfachen Zugriff erlauben;
- die Formalisierung von Regelwissen für die automatische Generierung von Hinweisen;
- der Entwurf einer geeigneten Benutzerschnittstelle, die es ermöglicht, die verschiedenen Entscheidungshilfen mit der Patientendatenbasis und dem aktuellen Behandlungsplan zu verbinden.

4.3.4.1 Beispiele für Entscheidungshilfen

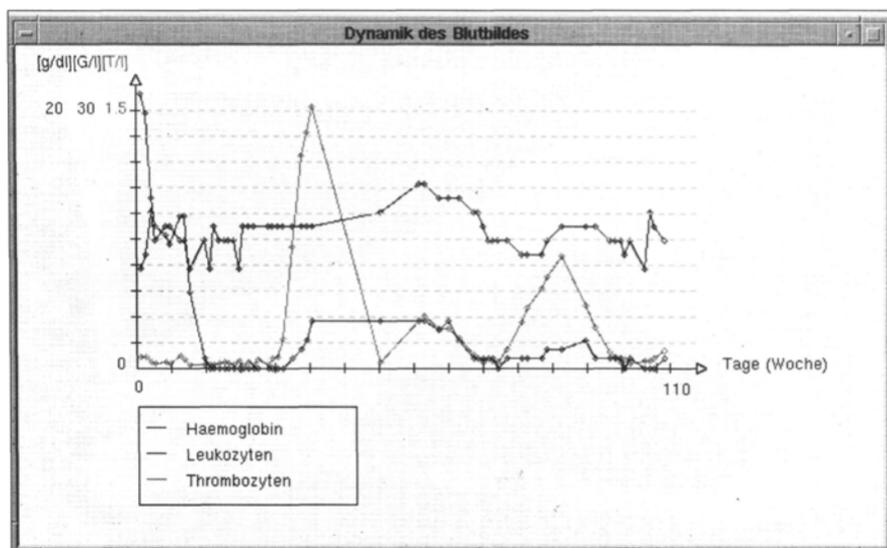


Abb. 20: Grafische Präsentation klinischer Parameter im Verlauf.

Eine mögliche Klassifikation von Entscheidungshilfen orientiert sich daran, wie stark das „Werkzeug“ Kenntnisse über das Problem für die Unterstützung heranzieht. Man kann dazu unterscheiden:

- Werkzeuge zum Informationsmanagement,
- Werkzeuge zur Fokussierung der Aufmerksamkeit,
- Werkzeuge zur patientenspezifischen Beratung.

Beispiele für Informationsmanagementwerkzeuge aus unserem Projekt sind Formulare zum Erfassen von Befunden oder Hilfsmittel zur tabellarischen oder grafischen Darstellung von klinischen Parametern im Zeitverlauf (Abbildung 20).

In die Klasse „Fokussierung der Aufmerksamkeit“ können die Checklisten für die Sofortmaßnahmen aufgenommen werden (Abbildung 21) oder die Übersichten zur Pathophysiologie (Abbildung 18 s. S. 81) hinter der sich ein Hypertext (Rada, 1991) mit jeweils system- bzw. problemspezifischen Übersichten verbirgt (am Beispiel des Akuten Atemnot-Syndroms beim Erwachsenen ARDS realisiert).

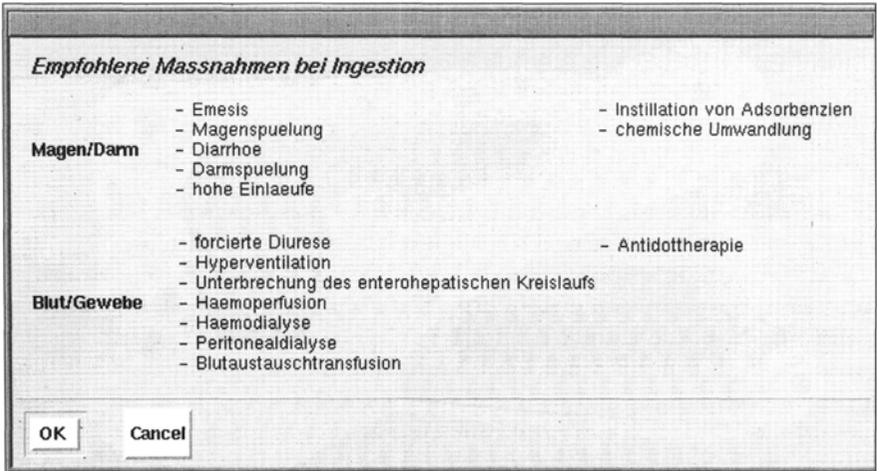


Abb. 21: Hypertextelement (Schaltfläche „Ingestion“ aus Abbildung 18).

Patientenspezifische Beratung erlauben Regelbasen, wie wir sie am Beispiel von Schweregradeinteilungen prototypisch realisiert haben.

4.3.4.2 Grundlegende Konzepte

Patientendatenmodell

Ein wissensbasiertes Assistenzsystem, das diagnostische und therapeutische Hinweise für den individuellen Patienten gibt, muß über eine Patientendatenbank verfügen, die zumindest jene Merkmale des Patienten enthält, die benötigt werden, um Hinweise ableiten zu können. Die einfachste Form zeigt Abbildung 22.

WENN Patient.Merkmal = Merkmalsausprägung DANN Hinweis

Abb. 22: Ableiten individueller Diagnose- und Therapiehinweise.

Inhalt

Das Patientendatenmodell definiert die Merkmale, die zu einem Patienten erhoben und in der Patientendatenbank gespeichert werden können, welche wiederum zur Dokumentation von Planung, Durchführung und Kontrolle diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen am und für den einzelnen Patienten (individuelle Behandlungsschemata) dient. Es entspricht damit dem Inhalt eines (leeren) Krankenblattes, definiert darüber hinaus aber auch Kataloge dokumentierbarer klinischer Parameter, Prozeduren und

Diagnosen. Das Patientendatenmodell ist Grundlage für Formulare zur Erfassung der Patientendaten, wie z. B. aus der körperlichen Untersuchung.

Erarbeitung eines Dokumentationsschemas für Fälle mit komplexer zytotoxischer Schädigung

Zur retrolektiven Erfassung von Fällen mit komplexen zytotoxischen Schädigungen wurde ein Dokumentationsschema in Papierform erarbeitet, das u. a. für die Aufarbeitung der „Weiß-Gutachten“ (Weiß A. und Weiß B.; Hamburg), also den Gutachten zur Beurteilung der gesundheitlichen Beeinträchtigungen von Lost-Arbeitern (während des zweiten Weltkriegs in der Herstellung und danach in der Vernichtung Tätige) diene. Wir hatten geplant, dieses Instrument über die Weiß-Gutachten hinaus zu verwenden, z. B. für die Dokumentation von Fällen bei der Freisetzung eines Gemisches mit o-Nitroanisol bei Hoechst Anfang 1993. Leider war die Informationspolitik der Industrie und anderer Stellen (Berufsgenossenschaften, Bundeswehr) so zurückhaltend, daß wir dieses Vorhaben aufgeben mußten. Über ähnliche Schwierigkeiten berichtet auch das BGA (jetzt BgVV) (Hahn 1994, persönliche Mitteilungen), das aber aufgrund der gesetzlichen Meldepflicht (Chemikaliengesetz) die notwendige Information erlangen konnte. Für die Erfassung der in Recklinghausen durch Professor Ferusian behandelten Iran-Irak-Giftgasopfer wurde ein vergleichbarer, wenn auch wesentlich umfassenderer Fragebogen verwendet (Weiss M. et al., 1995). Hierüber wird an anderer Stelle dieses Textes berichtet.

Leitlinien und wissensbasierte Systeme

Für schwierige klinische Probleme werden zunehmend Behandlungsstandards entwickelt und eingesetzt, die auch weniger erfahrenen Ärzten eine angemessene Verwendung der Ressourcen (keine vollständige Diagnostik) mit einer maximalen Sicherheit für den Patienten ermöglichen. Studien haben gezeigt, daß die Qualität der Versorgung und das Ergebnis der Behandlung bei der Verwendung von Behandlungsstandards regelmäßig besser ausfällt.

Die Konstruktion eines umfassenden wissensbasierten Assistenzsystems steht und fällt mit dem dafür verfügbaren Wissen. Katastrophenmedizinische Behandlungsrichtlinien, die die bei Schädigung von kritischen Organen und Zellsystemen zu berücksichtigenden Krankheitsbilder und standardisierte Behandlungsprotokolle für deren Diagnose, Überwachung und Therapie enthalten, wären eine ideale Wissensquelle für diesen Zweck. Sie würden aber auch schon bei einer Umsetzung in Buchform und entsprechender Verbreitung eine Hilfe für die Behandlung darstellen. Ein Beispiel hierfür ist der durch das Bundesamt für Zivilschutz herausgegebene

Leitfaden „Katastrophenmedizin – Leitfaden für die ärztliche Versorgung im Katastrophenfall“. Da solche noch nicht verfügbar sind, wird für Zellsystemstörungen im Rahmen dieses Projektes ein Behandlungsschema erstellt, das für den Demonstrator des wissensbasierten Assistenzsystems umgesetzt wird.

Prinzipiell sind Behandlungsschemata in der Praxis zu prüfen. Für die Überprüfung und Verbesserung katastrophenmedizinischer Behandlungsrichtlinien müssen mangels prospektiven Materials klinische Datenbanken mit Fallbeispielen verwendet werden.

Ebenso wichtig ist aber auch die Verfügbarkeit des Hintergrundwissens, das an den Entscheidungspunkten eines Behandlungsprotokolls fundierte Entscheidungen erlaubt. Das einem Behandlungsprotokoll zugrundeliegende Wissen sollte in einer Wissensbank verfügbar sein und von den Entscheidungspunkten aus referenziert werden. Fehlen für ein Diagnoseschema einfache, überall zu erhebende Indikatoren, so hilft ein Behandlungsprotokoll überdies, solche Lücken zu erkennen und begründet den Bedarf, einen entsprechenden Indikator zu etablieren.

Weitergedacht könnten Computer und Methoden der Wissensverarbeitung dazu eingesetzt werden, das Wissen für die Anwendung zu strukturieren und verfügbar zu machen, Behandlungsprotokolle konsistent und unter Verwendung der Wissensbank zu entwerfen (Gordon et al., 1993), beides durch Entscheidungshilfen intelligent zu ergänzen und zusammen für die Anwendung verfügbar zu machen.

Hypertext und Expertext

Ein Ziel des Assistenzsystems ist es, Behandlungspläne zu entwickeln und konkrete Handlungsanweisungen für individuelle Patienten ableiten zu können. Diese sind in einer Mischung aus Texten, Grafiken und Tabellen darzustellen. Erläuterungen zu den einzelnen Punkten müssen hinterlegt werden können. Solche hybriden und verzweigten Dokumente lassen sich in Form von Hypertexten sehr effektiv umsetzen. Eine Ergänzung eines solchen Hypertextes mit wissensbasierten Komponenten (von Rada [1994] als „Expertext“ bezeichnet) ermöglicht, den Hypertext individuell an die Situation der einzelnen Patienten angepaßt zu präsentieren und dem Fortschritt des Behandlungsprozesses anzupassen. Solche dynamischen Hypertexte stellen ein recht neues Forschungsfeld dar, was sich leider darin auswirkt, daß man auf nur wenige Erfahrungen in diesem Bereich zurückgreifen kann.

Handlungsorientierte Entscheidungshilfen – Bedeutung eines Aufgaben- und Vorgehensmodells für ein interaktives Assistenzsystem

Es ist eine inhärente Charakteristik von Assistenzsystemen, daß sie den Benutzer in der Bearbeitung bestimmter Aufgaben unterstützen. Dabei sind oft aneinandergereihte Arbeitsschritte notwendig, um das Aufgabenziel zu erreichen. Eine Unterstützung durch ein Assistenzsystem erfordert deshalb auch eine schrittweise Unterstützung in Abhängigkeit vom Fortschreiten des Arbeitsprozesses. Umgekehrt sind unterstützende Hinweise oft nur im Kontext bestimmter Teilaufgaben sinnvoll. Ein wissensbasiertes Assistenzsystem muß die Unterstützung also handlungsbegleitend anbieten.

Voraussetzung dafür ist wiederum die Kenntnis des jeweils aktuellen Prozeßfortschritts. Ein wesentlicher Nachteil bisheriger wissensbasierter Systeme ist neben einer nicht ausreichenden Datenintegration mit anderen rechnergestützten Informationssystemen ihre mangelnde Integration in den routinemäßigen Arbeitsfluß. Um dem wissensbasierten System die Möglichkeit zu geben, abhängig von der aktuellen Aufgabe Unterstützung zu bieten, ist ein Aufgaben- und Vorgehensmodell der Anwendung nötig. Zu jeder (Teil-)Aufgabe können dann die anwendbaren Unterstützungsfunktionen aktiviert und abhängig vom Vorgehensmodell Vorschläge für das weitere Vorgehen gegeben werden.

Es wird deutlich, daß für handlungsbegleitende Entscheidungsunterstützung ein wissensbasiertes Assistenzsystem auf einem expliziten Aufgaben- und Vorgehensmodell basieren sollte. Ein solches Modell bietet die Grundlage für ein interaktives System, was sich insbesondere auch in der Benutzerführung durch eine grafisch-interaktive Benutzeroberfläche auswirkt.

4.3.5 Computergestützte interaktive Klinikleitfäden

4.3.5.1 Klinikleitfäden

Klinikleitfäden, meist in Taschenbuchformat („Kitteltaschenbuch“), erfreuen sich zunehmender Beliebtheit, insbesondere bei klinisch weniger erfahrenen Ärzten. Sie verschaffen im klinischen Alltag schnell einen Überblick über das richtige Vorgehen, helfen, sich noch einmal zu vergewissern, ob an alles gedacht wurde, und weisen auf wichtige Zusammenhänge hin. Klinikleitfäden zeichnen sich durch ihre besondere, benutzerfreundliche Struktur aus, die leichtes Auffinden gesuchter Themen über mehrere Indexe erlaubt. Sie beinhalten Checklisten mit Notfallmaßnahmen und Schemata zu Diagnose, Therapie und Überwachung der häufigsten Erkrankungen sowie Hinweise auf mögliche Komplikationen. Für seltene Erkrankungen scheint ein solches „Werkzeug“ auch für erfahrenere Ärzte hilfreich zu sein,

um alle indizierten diagnostischen Verfahren zu berücksichtigen, relevante pathophysiologische Zusammenhänge aufzuzeigen, eine Beurteilung zu erleichtern, ein spezifisches Therapieschema anzuwenden und dessen Erfolg zu überwachen.

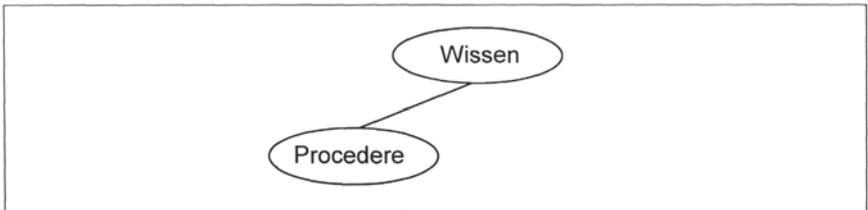


Abb. 23: Klinikleitfaden als Kombination von Handlungsanleitung und Wissensbasis.

4.3.5.2 Computergestützte interaktive Klinikleitfäden

Ein Klinikleitfaden ist ein papierbasiertes Entscheidungsunterstützungssystem bzw. eine papierbasierte Wissensbasis. Stellt man ein solches System computergestützt zur Verfügung (im folgenden „computergestützter interaktiver Klinikleitfaden“), kann man zusätzliche Flexibilisierung erreichen und so z. B. die Wissensbasis mit Hilfe entsprechender Inferenzverfahren auf die zu einem Patienten erhobenen Informationen anwenden. Es können für den einzelnen Patienten relevante Hinweise für Diagnostik und Therapie herausgefiltert werden. Durch Hypertextfunktionalität lassen sich Verweise schneller verfolgen oder die Verweisstrukturen werden dazu verwendet, einen zusammenhängenden Text zu generieren, was die Übersichtlichkeit steigert. Durch letzteres läßt sich die Eigenschaft der Klinikleitfäden verstärken, alle im Kontext wichtigen Informationen übersichtartig gemeinsam darzustellen. Aufgrund der wechselnden Initiative beim Dialog zwischen Arzt und System sprechen wir von „interaktiven“ Klinikleitfäden.

Voraussetzung für den praktischen Einsatz ist natürlich, daß ein solches computergestütztes Werkzeug auch dort eingesetzt werden kann, wo es die klinischen Abläufe erfordern. Die technische Entwicklung im Bereich der persönlichen digitalen Assistenten (PDA), aber auch die zunehmende Verfügbarkeit klinikweit vernetzter Arzt-PCs (Klinische Arbeitsplatzsysteme) lassen erwarten, daß bald die notwendigen infrastrukturellen Voraussetzungen gegeben sind.

Im Vergleich zur Papierform stellen computergestützte interaktive Klinikleitfäden jedoch weitergehende Anforderungen an die Wissensbasen. Es wird in der Regel eine stärkere Strukturierung und je nach Verarbeitungs-

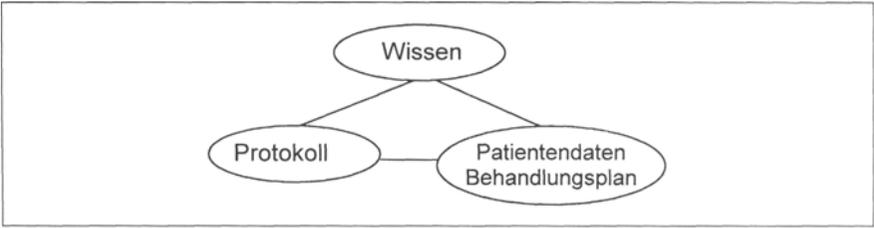


Abb. 24: Ein computergestützter interaktiver Klinikleitfaden stellt einen Klinikleitfaden rechnergestützt zur Verfügung und verbindet diesen dabei mit Patientendaten und individuellem Behandlungsplan.

méthode eine stärkere Formalisierung notwendig. Daraus ergibt sich die Idee, die Erstellung der Wissensbasis ebenfalls computergestützt durchzuführen. Insbesondere für neue medizinische Ansätze, wie in unserem Beispiel, erscheint es uns vielversprechend, von vornherein den Entwurf des Behandlungsschemas mit der Konstruktion einer Wissensbank und eines Assistenzsystems zu verbinden.

4.3.5.3 Fragestellung

Anhand von Erfahrungen aus der Konzeption von KAScytox soll dargestellt werden, welche Methoden aus unserer Sicht die (Medizinische) Informatik bietet, die zur Beantwortung der folgenden Fragen beitragen:

1. Wie kann die Entwicklung eines Behandlungsschemas (Diagnose, Therapie und Überwachung) durch informatische Methoden unterstützt werden?
2. Wie kann der behandelnde Arzt bei der Anwendung des so entwickelten Behandlungsschemas durch einen computergestützten interaktiven Klinikleitfaden angeleitet werden?

4.3.5.4 Modellierung des Behandlungsschemas

Für komplexe zytotoxische Mehrfachbelastungen gab es bisher kein spezielles Behandlungsschema. Es wurde neu entwickelt und basiert zum einen auf einem abgestuften Set biologischer Indikatoren zur Beurteilung der Schädigung und zum anderen auf Therapieplänen für verschiedene Schädigungsmuster. Der Arzt soll durch organ- bzw. systemspezifische Indizes für die Gesamtbeurteilung und durch Wissen über die Pathophysiologie typischer zytotoxischer Schädigungen unterstützt werden. Unter einem Behandlungsschema verstehen wir im folgenden alle Maßnahmen zur Behandlung eines Krankheitsstyps einschließlich Diagnose, Prognose und The-

rapie sowie deren zeitliche Abfolge. Andere Autoren sprechen von Protokollen, „Practice Guidelines“ oder Behandlungsrichtlinien.

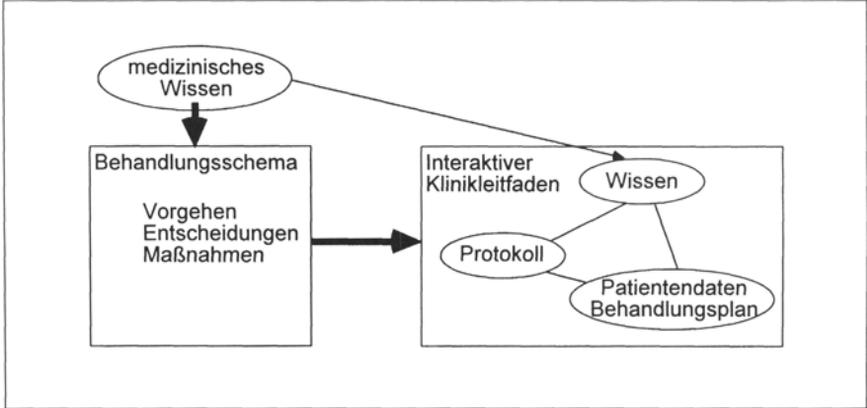


Abb. 25: Integrierte Entwicklung eines Behandlungsschemas (links) und eines computergestützten interaktiven Klinikleitfadens.

Als Basismethode für die Wissensakquisition haben wir KADS (Wielinga et al., 1992) verwendet. Eine Übersicht über das Ergebnis der Wissensanalyse geben wir in Fischer et al. (1997). Da KADS auf ein sehr breites Anwendungsgebiet zielt, greifen wir dort, wo es sinnvoll erscheint, auf speziellere z. T. für den medizinischen Bereich zugeschnittene Methoden zurück (Tabelle 10).

Tab. 10: Informatische/methodische Unterstützung bei der Entwicklung von Behandlungsschemata.

Entwicklung	informatische Unterstützung
- relevantes Wissen zusammentragen – Wissen strukturieren	Wissensakquisitionstechniken - KADS (Knowledge Acquisition, Documentation, and Structuring)
- Behandlungsschema definieren – Ziele, Aufgaben, Vorgehen – zu treffende Entscheidungen	- DILEMMA (Care Protocol Model) – GAMES (S)
=> Dokument	

Bei der Modellierung von Behandlungsschemata muß man unterscheiden zwischen der Modellierung des Protokolls (Aufgaben und Reihenfolge ihrer

Bearbeitung) und dem Wissen, das im Kontext jeder Aufgabe benötigt wird, um sie angemessen durchführen zu können. Im DILEMMA-Projekt wurde ein umfassendes Care Protocol Model (Gordon et al., 1993) sowohl für die Beschreibung von Protokollen als auch für deren Ausführung definiert. Unsere Erfahrungen haben gezeigt, daß die Wissensakquisition aufwendig und sowohl ein Autorenwerkzeug als auch eine Ausführungsumgebung schwierig zu implementieren ist. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung des Papiers, auf das wir uns beziehen (Gordon et al., 1993), hatten die Autoren ihr Modell selbst noch nicht implementiert. Deshalb fehlen Erfahrungen zur Handhabbarkeit des Modells weitgehend. Protokollwissen haben wir aus den genannten Gründen bisher ad hoc implementiert. Nachteil des Modells ist sicher auch, daß es eine fest definierte Protokollstruktur vorsieht. Für flexible Planung von Diagnostik, Therapie und Überwachung muß der Ansatz deshalb mit anderen Ansätzen kombiniert werden. Wir haben uns zunächst darauf beschränkt, die einzelnen Aufgaben zu modellieren und überlassen Initiative und Reihenfolge der Verarbeitung im wesentlichen dem Benutzer. Dieses überfordert ihn aber unter Umständen, da er nicht weiß, was sich hinter den einzelnen Aufgaben verbirgt. Langfristig halten wir daher ein flexibles Protokoll, das auch die Bearbeitungsreihenfolge steuert, für wichtig.

Wie einleitend beschrieben, wird neben dem eigentlichen Behandlungsschema für die Ausführung der einzelnen Aufgaben weiteres Wissen benötigt. Tabelle 11 zeigt dazu eine zusammenfassende Übersicht. Die Wissensbasis enthält neben automatisch verarbeitbaren Repräsentationen z. B. auch Übersichten über relevantes pathophysiologisches Wissen in Form von Texten, Tabellen und Graphiken.

Tab. 11: KADS-Ebenen und Wissen in KAScytox.

Strategie	Identifizieren der Behandlungsziele, Prioritäten
Aufgaben	Aufgabenhierarchie: Aufgaben und Teilaufgaben; modifiziertes Care Protocol Model nach [3]
Inferenz	Generieren von Listen, Bewertungen und Erklärungen
Domäne	Patientendatenmodell, biologische Indikatoren, pathophysiologisches Wissen, Therapiemaßnahmen

4.3.6 Konzeption eines wissensbasierten Assistenzsystems zur Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachschädigungen und deren Erprobung

KAScytox ist als interaktiver Klinikleitfaden konzipiert, der den behandelnden Arzt bei der Planung und Durchführung des diagnostischen und therapeutischen Vorgehens bei komplexen zytotoxischen Mehrfach-

belastungen unterstützt. Wir haben dabei versucht, ein Behandlungsschema mit Techniken aus den Bereichen Hypertext und wissensbasierte Systeme in ein computergestütztes handlungsorientiertes Entscheidungsunterstützungssystem umzusetzen. Das Konzept konnten wir an einer einfacheren Domäne bereits erfolgreich erproben (Fischer, 1994).

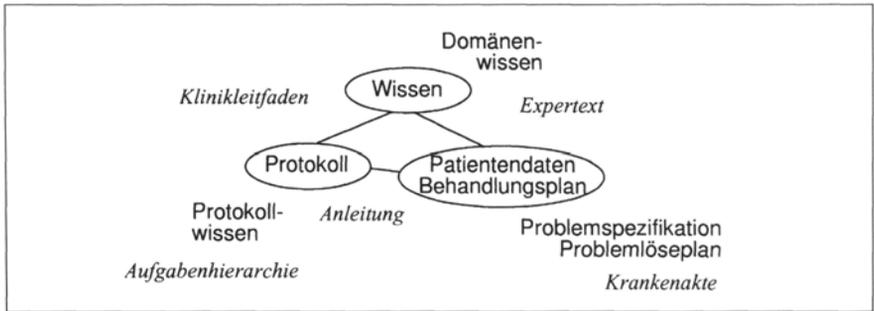


Abb. 26: Metaphern und Methoden für die Realisierung eines computergestützten interaktiven Klinikleitfadens.

Die Anwendung ist wie folgt charakterisiert: Bei Exposition gegenüber einem unbekanntem Chemikaliengemisch (z. B. durch einen Unfall bei Produktion, Lagerung oder Transport) kann der behandelnde Arzt nicht auf spezielles Wissen über das zu erwartende Krankheitsbild, dessen Diagnose und Therapie zurückgreifen. Falls das Gemisch zytotoxisch wirkt, insbesondere bei Beeinträchtigung der Zeilerneuerungssysteme von Blut, Lunge, Haut und Schleimhäuten, ist eine mittelfristige Verschlechterung des Gesundheitszustands der Betroffenen zu erwarten. Mit KAScytox soll der behandelnde Arzt auf diese besondere Gefährdung hingewiesen und bei der Beurteilung der Beanspruchung der kritischen Systeme unterstützt werden; Hinweise zur Behandlung sollen abgerufen werden können.

Dem Benutzer des Systems, dem behandelnden Arzt, ist bekannt, wie die einzelnen vorgeschlagenen Maßnahmen durchzuführen sind (Know-how). Jedoch fehlt aufgrund der unbekanntem Situation und der großen Zahl der möglichen Reaktionsformen auf ein unbekanntem Chemikaliengemisch das Wissen, welche Maßnahmen im einzelnen anzuwenden sind (Know-what). Darüber hinaus ist Unterstützung bei Nicht-Routine-Aufgaben notwendig, wie bei der Interpretation des Ergebnisses eines bisher selten verwendeten biologischen Indikators.

Für die Gestaltung der grafischen Benutzerschnittstelle eines Problemlösungssystems, wie es ein interaktiver Klinikleitfaden ist, ergeben sich besondere Anforderungen (Fischer, 1990; Post et al., 1993). Um den Umgang mit dem System möglichst einfach zu gestalten, basiert die Anleitungs-

komponente auf einer Klinikleitfadenmetapher. Allein reicht dies jedoch nicht aus, da die Verarbeitung individueller Falldaten nicht vorgesehen ist. Hierzu verwenden wir eine Krankenblattmetapher (Abbildung 26).

Die Architektur des Systems läßt sich wie folgt skizzieren: Hypertext dient als integrierendes Prinzip (Rada 1991), insbesondere für die Gestaltung der Benutzerschnittstelle. Gegen das Lost-in-Hyperspace-Syndrom treffen wir zwei Maßnahmen: (1) Navigation auf vorgezeichneten Pfaden und (2) Herausfiltern relevanter Verbindungen und Knoten. In einer Patientendatenbank werden die Falldaten verwaltet und Formulare dienen der Dateneingabe und -Präsentation, ergänzt um Diagramme zur Visualisierung von Parameterverläufen. Die Realisierung der internen Ablaufsteuerung ist an die *Blackboard Control Architecture* (Hayes-Roth, 1985) angelehnt. Es handelt sich um jene Funktionalität, bei der die Initiative beim System liegt, wie beim Generieren von Handlungshinweisen. Auf diese Weise werden die Wissensquellen integriert und aktiviert und der Zugriff auf die Patientendatenbank (*Domain Blackboard*) und den Behandlungsplan (*Control Blackboard*) gesteuert. Für die Strukturierung der Inferenz hat sich das Select and Test Model (Ramoni et al., 1993) als geeignet erwiesen.

Unsere Ausgangshypothese für den beschriebenen Ansatz war, daß die Unterstützung der Entwicklung eines Behandlungsschemas durch informatische, insbesondere wissensbasierte, Methoden ein strukturierteres Ergebnis mit verbesserter Vollständigkeit, Kohärenz und Konsistenz ergibt und die formale Beschreibung Grundlage für einen computergestützten Klinikleitfaden bilden kann, der die Einführung des Behandlungsschemas in die Praxis beschleunigt, die Vermittlung des Schemas an den Behandler unterstützt sowie auf Abweichungen von diesem Schema hinweist. In Tabelle 12 geben wir einen Überblick über die angewendeten Methoden.

Tab. 12: KADS-Modelle und die verwendeten Beschreibungs-/Realisierungsmethoden.

Modell	Methoden
Organisation	Beschreibung in Textform
Anwendung	Beschreibung in Textform
Aufgaben	Aufgabenhierarchie, modifiziertes Care Protocol Mode
Expertise, Wissen	objektorientiertes Patientendatenmodell, Regelbasen, Hypertext, ST-Modell
Kooperation	kooperatives medizinisches Problemlösen
Konzeption/ Konzept	Modell des interaktiven Klinikleitfadens, Expertext
Entwurf/ Design	Blackboard-Control-Architektur, Hypertext

Unsere Erfahrungen haben gezeigt, daß die Verwendung verschiedener Methoden der AIM (*Artificial Intelligence in Medicine*) zwar vielversprechend und – im Sinne einer Standardisierung von Entwicklungsprozeß, -Werkzeugen und der Wiederverwendung von generischen Komponenten und Wissensbasen – auch wünschenswert ist. Jedoch sind die meisten der hier diskutierten Methoden noch nicht so ausgereift, daß sie bei der Anwendungsentwicklung problemlos eingesetzt werden können. Man verliert aufgrund der Komplexität der Methoden und Tools zu leicht den Blick für das zu lösende medizinische Problem. Dazu wurde im Verlauf des Projekts von ärztlicher Seite oft berechtigterweise der Vorwurf gemacht, die tatsächlichen Sachverhalte würden zu stark vereinfacht bzw. in einer verzerrten Weise dargestellt.

Wünschenswert ist eine stärkere Unterstützung der einzelnen Methoden durch Werkzeuge (*CAKE-Computer Assisted Knowledge Engineering*). Zu einigen der Methoden (KADS, GAMES u.a.) werden Werkzeuge (Prototypen) beschrieben, die jedoch nicht allgemein verfügbar sind und in diesem Projekt nicht eingesetzt werden konnten. Mit dem Werkzeugeinsatz sind allerdings die Bruchstellen zwischen den Methoden noch nicht überbrückt. Das Problem wird eher noch verstärkt.

Als besondere Schwierigkeit hat sich herausgestellt, die verschiedenen Methoden miteinander zu verbinden. Das ist zum einen darauf zurückzuführen, daß die Methoden eigenständig entwickelt wurden und deshalb Schnittstellen nicht vorgesehen sind, zum anderen gibt es Überschneidungen in der Zielsetzung, z. B. von KADS und GAMES. Da jedoch keine der Methoden die ganze benötigte Breite der Wissensmodellierung und der Anwendungssystementwicklung abdecken kann, sehen wir keine Alternative zu einem „Mehr-Methoden-Ansatz“.

Alle zuletzt angesprochenen Punkte betreffen zunächst den Entwurf und die Konstruktion des computergestützten interaktiven Klinikleitfadens. Die gleichzeitige bzw. integrierte Entwicklung eines Behandlungsschemas und eines zugehörigen interaktiven Klinikleitfadens wird dadurch in Frage gestellt. Ein möglicher Ausweg ist, sich anfangs allein auf die Modellierung des Behandlungsschemas und des zugehörigen Wissens zu konzentrieren – wie es KADS vorsieht – und erst anschließend den Systementwurf durchzuführen. Damit fallen unseres Erachtens aber die oben in der Ausgangshypothese formulierten Vorteile weg. Insbesondere werden spätere Änderungen der Wissensmodellierung nur aufwendig in Änderungen des Entwurfs und schließlich der Implementierung zu überführen sein. Auf der anderen Seite hat sich bei einem „vollständig“ durchstrukturierten, allerdings auch einfacheren, Anwendungsgebiet (Fischer, 1994) gezeigt, daß dann Entwurf und Implementierung recht einfach durchzuführen sind.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die Zielsetzung unseres Projektes ist die Entwicklung eines katastrophenmedizinischen Diagnose- und Behandlungsplanes für komplexe zytotoxische Schädigungen und dessen Umsetzung in ein wissensbasiertes Assistenzsystem. Da es bis heute keine diagnostischen und therapeutischen Schemata zur Behandlung Mehrfachintoxikierter gibt, haben wir zunächst die Problematik definiert und die sich daraus für das behandelnde Team ergebenden Fragen formuliert. Es zeigte sich, daß diese Fragen nur interdisziplinär angegangen und beantwortet werden können.

In einer Katastrophensituation muß ärztlicherseits oftmals eine große Anzahl von Patienten schnell und schon zu Beginn möglichst optimal behandelt werden. Allerdings ist auch in Zukunft nicht zu erwarten, daß den katastrophenmedizinisch oft nur unzureichend ausgebildeten Ärzten in angemessener Zeit adäquate Informationen bezüglich der Noxen und ihrer toxischen Wirkung zur Verfügung stehen werden. Von seiten der Medizin haben wir deshalb versucht, die verfügbaren Informationen über mögliche Sofort-, Früh- und Spätfolgen nach Mehrfachintoxikation und deren Ausprägung unter Einbeziehung klinisch-biologischer Indikatoren zu erarbeiten.

5.1 Aussagekräftige biologische Indikatorsysteme

Ein aussagekräftiges Indikatorsystem sollte einerseits Informationen über reversible und/oder irreversible Schädigung von Zellen und Zellsystemen geben. Andererseits ist für ein Indikatorsystem, das in der Katastrophenmedizin zum Einsatz kommt, hohe Sensitivität und leichte Reproduzierbarkeit bei geringem Zeit-, Arbeits- und Kostenaufwand zu fordern. Darüber hinaus ist der Einsatz von geringen Mengen an leicht zugänglichem Untersuchungsmaterial (z. B. peripherem Blut) wünschenswert. Die dargestellten Daten (siehe auch Plappert et al., 1994a-b; 1995a-c) zeigen die gute Reproduzierbarkeit und die hohe Sensitivität des Assay *in vitro*, aber auch *in vivo* an den untersuchten Kohorten. Wir konnten zeigen, daß peripheres Vollblut für das humane Biomonitoring großer Kohorten das optimale Ergebnis liefert. Damit ist der Assay auch geeignet für Untersuchungen an sehr großen Populationen (z. B. 500 Betroffene).

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, daß der Comet Assay alle geforderten Aufgaben erfüllt und unserer Meinung nach ein geeigneter Indikator für multifaktorielle Expositionen im Katastrophenfall darstellt. Prinzipiell sollten für eine verlässliche Aussage über eine genotoxische Wirkung von Substanzen mehrere Testsysteme verwendet werden. Die Testsysteme sollten wenn möglich gezielt auf die Art der Exposition abgestimmt werden. *Dieses*

muß natürlich unter Einbeziehung der Fallzahl geschehen. Die Informationen, die dazu benötigt werden (Art des Tests, benötigtes Material, Labor, das für eine Analyse zur Verfügung steht, usw.) können in dem Assistenzsystem abgerufen werden.

5.2 Computergestützte interaktive Klinikleitfäden

Die Ergebnisse und die bisher gewonnenen Erkenntnisse wurden für die Entwicklung eines Assistenzsystems zur Verfügung gestellt. Dieses soll die anfallenden medizinischen Merkmale, Daten und biologischen Indikatoren erfassen und aufarbeiten. Darüber hinaus zeigt es ein nachvollziehbares Beziehungsgeflecht zwischen anamnестischen, klinischen und biologischen Indikatoren auf, mit dem Zusammenhänge einfacher erkannt werden können.

Für schwierige klinische Probleme werden zunehmend Behandlungsstandards entwickelt und eingesetzt, die auch weniger erfahrenen Ärzten eine angemessene Verwendung der Ressourcen (keine *totale* Diagnostik) mit einer maximalen Sicherheit für den Patienten bieten. Studien haben gezeigt, daß sich die Qualität der Versorgung und das Ergebnis der Behandlung bei der Verwendung von Behandlungsstandards regelmäßig verbessert.

Die Konstruktion eines umfassenden wissensbasierten Assistenzsystems steht und fällt mit dem dafür verfügbaren Wissen. Katastrophenmedizinische Behandlungsrichtlinien, die die bei Schädigung von kritischen Organen und Zellsystemen zu berücksichtigenden Krankheitsbilder und standardisierte Behandlungsprotokolle für deren Diagnose, Überwachung und Therapie enthalten, wären eine ideale Wissensquelle für diesen Zweck. Sie würden aber auch bei einer Umsetzung in Buchform und entsprechender Verbreitung eine Hilfe für die Behandlung darstellen. Da solche noch nicht verfügbar sind, wurde für Zellsystemstörungen im Rahmen dieses Projektes ein Behandlungsschema erstellt, das für den Demonstrator für das wissensbasierte Assistenzsystem umgesetzt wurde.

Prinzipiell sind Behandlungsschemata in der Praxis zu prüfen. Für die Überprüfung und Verbesserung katastrophenmedizinischer Behandlungsrichtlinien müssen mangels prospektiven Materials klinische Datenbanken mit Fallbeispielen verwendet werden. Ebenso wichtig ist aber auch die Verfügbarkeit des Hintergrundwissens, das an den Entscheidungspunkten eines Behandlungsprotokolls fundierte Entscheidungen erlaubt. Das einem Behandlungsprotokoll zugrundeliegende Wissen sollte in einer Wissensbank verfügbar sein und von den Entscheidungspunkten aus referenziert werden. Fehlen für ein Diagnoseschema einfache, überall zu erhebende Indikatoren,

so hilft ein Behandlungsprotokoll, solche Lücken zu erkennen und es begründet den Bedarf, einen entsprechenden Indikator zu etablieren.

Weitergedacht können Computer dazu eingesetzt werden, das Wissen für die Anwendung zu strukturieren und verfügbar zu machen, Behandlungsprotokolle konsistent und unter Verwendung der Wissensbank zu entwerfen (Gordon et al., 1993), beides durch Entscheidungshilfen intelligent zu ergänzen und zusammen für die Unterstützung in Katastrophensituationen verfügbar zu machen.

Literaturverzeichnis

- ABRAMS AB, BEDNAREK KT, BOGOCH S et al: Early detection and monitoring of cancer with the anti-malignin antibody test. *Cancer detection and Prevention* 18 (1): 65-78 [1994]
- AHNSTRÖM G: Techniques to measure DNA single-strand breaks in cells: A review. *Int. J. Radial Biol.* 54 (5): 695-707 [1988]
- ALBERTINI RJ: Why use somatic mutations for human biomonitoring? *Environ. Molec. Mutagen.* 23:18-22 [1994]
- AUST P et al.: Katastrophenmedizin. *Neckarsulm, München: Jungjohann Verlag* [1987]
- BAUCHINGER M: Cytogenetic research after accidental radiation exposure. *Stern cells* 13 (suppl 1): 182-190 [1995]
- BEACH AC, GUPTA RC: Human biomonitoring and the ^{32}P -postlabeling assay. *Carcinogenesis* 13: 1053-1074 [1992]
- BECKERS WPA, DE VRIES ROBBÉ PF, ZANSTRA PE, ZWAARD AM: Generic GP-guidelines and reasoning. In: Andreassen et al. (eds.), *Artificial Intelligence in Medicine. Amsterdam: IOS Press* [1993]
- BGA (Bundesgesundheitsamt) und GUM (Gesellschaft für Umwelt-Mutationsforschung): Positionspapier: Zytogenetische Analysen an menschlichen Populationen (Human Population Monitoring: HPM). Bundesgesundheitsamt: *Bundesgesundheitsblatt* 37 (3): 118-119 [1994]
- BRIDGES BA et al.: Possible association between mutant frequency in peripheral lymphocytes and domestic radon concentration. *Lancet* 337: 1187-1189 [1991]
- BRIDGES BA, PENN A, HANSEN ES, WAKABAYASHI K: Report of ICPEMC Subcommittee 7/11: The possible involvement of somatic mutations in the development of atherosclerotic plaques. *Mut. Res.* 239: 143-148 [1990]
- BAGUV-Bundesverband der Unfallversicherungsträger der öffentlichen Hand: Merkblatt für die Erste Hilfe bei Einwirken gefährlicher chemischer Stoffe (GUV 20.10). *München: BAGUV* [1992]
- BUNDESAMT FÜR ZIVILSCHUTZ (Hrsg.): Katastrophenmedizin – Leitfaden für die ärztliche Versorgung im Katastrophenfall. 4. Aufl. *Bonn* [1997]
- CHRISTALLERT, DI PRIMOF, VOSS A (Hrsg.): Die KI-Werkbank BABYLON: eine offene und portable Entwicklungsumgebung für Expertensysteme. *Bonn: Addison Wesley* [1989]
- DAENZER WF: Systems Engineering-Leitfaden zur methodischen Durchführung umfangreicher Planungsvorhaben. *Zürich: Verlag Industrielle Organisation* [1985]
- DARMONI SJ, MASSARI P, DROY JM, BLANC T, LEROY J: Functional evaluation of SETH: an expert System in clinical toxicology. Proceedings of the 5th AIME 95 Pavia. *Berlin: Springer* [1995]
- DOERJER G, BUCHHOLZ U, KREUZER K, OESCH F: Biomonitoring of DNA damage by alkaline filter elution. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 60:169-174 [1988]
- DOYLE J: A truth maintenance System. *Artificial Intelligence* 12, 231-272 [1979]
- ECKERT WD: Mass deaths by gas or chemical poisoning. *Am. J. of Forensic Medicine and Pathology* 12 (2): 119-125 [1991]
- EUROPEAN CONFERENCE OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY (ed.): Biomarkers of chemical exposure. In: Proceedings of the Arnold D. Beckman/IFCC *Clinical Chemistry, Vol. 40, Nr. 7* [1994]

- FISCHER B, KINDLER H, FLIEDNER TM: Kriterien für die Auswahl einer geeigneten Entwicklungsumgebung für ein wissensbasiertes Assistenzsystem. Workshop „Problemadäquanz und Systemtechnik“. *Universität Bielefeld, Technische Fakultät, AG Wissensbasierte Systeme* [1993]
- FISCHER B, WEISS M, FLIEDNER TM: Wissensbasierte Entscheidungsunterstützung zur Behandlung komplexer zytotoxischer Mehrfachbelastungen. 43. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern (1994). In: Bundesamt für Zivilschutz (Hrsg.): *Zivilschutz-Forschung, NF Bd. 26. Bonn: BZS, 139-148, ISSN 03435164* [1997]
- FISCHER B, WEISS M, PLAPPERT U, FLIEDNER TM: Wissensmodellierung als Basis für Entscheidungsunterstützung bei zytotoxischen Mehrfachbelastungen. 44. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern (1995). In: Bundesamt für Zivilschutz (Hrsg.): *Zivilschutz-Forschung, NF Bd. 26. Bonn: BZS, 285-299, ISSN 03435164* [1997]
- FISCHER B: Auswahl einer Entwicklungsumgebung für das wissensbasierte Assistenzsystem zur Entscheidungsunterstützung bei komplexen zytotoxischen Mehrfachbelastungen. Technischer Bericht. *Labor für Systemforschung, Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Ulm* [1993]
- FISCHER B: Expertentext für die Erstversorgung bei Chemieunfällen. 6. GI-Workshop Hypertext und Künstliche Intelligenz (1.-2. 12. 1994), *Bayerisches Forschungszentrum für Wissensbasierte Systeme, Erlangen* [1994]
- FISCHER B: Modellierung gemeinsam genutzter Wissensbanken am Beispiel des Galenischen Entwicklungs-Systems Heidelberg (GSH): Modularisierung, Zugriffskonsistenz und semantische Integrität. Diplomarbeit, Studiengang Medizinische Informatik. *Universität Heidelberg/Fachhochschule Heilbronn* [1992]
- FISCHER G: Communication requirements for cooperative problem-solving Systems. *Information Systems 15, 21-36* [1990]
- GORDON C, HERBERT SI, JACKSON-SMALE A, RENAUD-SALIS RL: Care protocols and healthcare informatics. In: Andreassen et al. (eds.): *Artificial Intelligence in Medicine. Amsterdam: WS Press* [1993]
- HAHN A, MICHALAK H, WOLSKI M, HEINEMEYER G: Bewertung der Gesundheitsstörungen nach dem Störfall bei der Hoechst AG auf der Basis der ärztlichen Mitteilungen bei Vergiftungen nach dem Chemikaliengesetz. *Hess. Ärzteblatt 55 (3), 87-88* [1994]
- HALL AH, RUMACK BH (EDS): TOMES(R) Information System Vol. 25. *Englewood, Colorado: Micromedex, Inc.* (Edition expires July, 31 1995) [1995]
- HAYES-ROTH B: A blackboard architecture for control. *Artificial Intelligence 26, 251-321* [1985]
- HEMMINKI K, VAINIO H: Human exposure to potentially carcinogenic Compounds. In: A. Berlin, M. Draper, K. Hemminki, H. Vainio (eds.): *IARC Scientific Publications No. 59 IARC Monographs, Lyon* [1987]
- HOLZ D: Vergleich von KI-Werkzeugen anhand der Beispiele BABYLON, KEE und SMALLTALK-80/HUMBLE. Technischer Bericht FAW-TR-90029. *Forschungsinstitut für anwendungsorientierte Wissensverarbeitung an der Universität Ulm* [1990]
- JOHANNSEN G: *Mensch-Maschine-Systeme. Berlin: Springer* [1993]
- JOSEPH AT: Evaluation of ProKappa. *Expert Systems 8: 119-122* [1991]
- KINDLER H, DENSOW D, FLIEDNER TM: RADES-medical assistance System for the management of irradiated persons. Proceedings of the 2nd DEXA 91. *Berlin, Wien: Springer* [1991]

- LEFEVRE MJ, CONIBEAR SA: First aid manual for chemical accidents, 2. Aufl. *New York: VNR* [1989]
- MARQUARDT H, SCHÄFER SG: Lehrbuch der Toxikologie. *Mannheim: BI-Wiss.-Verl.* [1992]
- MAYER B: Management bei der Bewältigung von Gefahrstoffunfällen. *Anaesth. Intens. Notfallmed. 41:* 123-129 [1992]
- MOESCHLIN S: Klinik und Therapie der Vergiftungen, 7. Aufl. *Stuttgart, New York: G. Thieme Verlag* [1986]
- MONOVA, IORDANOVA I, ZAGORCHEV P, VASSILEV V, KOJUHAROV R, TCENEV R, DAMIANOV V: MEDICOTOX CONSILIUM – An expert system in clinical toxicology. In: Lun K. C. et al. (ed.): *MEDINFO 1992. North Holland: Elsevier Science Publishers* [1992]
- MULLAART E, BOERRIGTER ME, BROUWER A et al.: Agedependant accumulation of DNA alkali-labile sites in DNA of postmitotic but not in that of mitotic rat liver cells. *Mech. Ageing Develop. 45:* 41-49 [1988]
- MULLAART E et al.: Age-related induction and disappearance of carcinogen-DNA adducts in livers of rats exposed to low levels of 2-acetylaminofluorene. *Chem.- Biol. Interact. 69:* 373-384 [1989]
- MUNZINGER M: Medizinische Behandlungsmöglichkeiten bei Chemie-Großschadensereignissen. *NV + ZV 4:* 32-38 [1992]
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (ed.): Biological markers in immunotoxicity. *Washington, D.C: National Academy Press* [1992]
- OLIVE PL, BANÄTH JP, DURAND RE: Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells using the „comet“ assay. *Radiation Res. 122:* 86-94 [1990]
- OSTLING O, JOHANSON KJ: Mikroelectrophoretic study of irradiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun. 123:*291 -298 [1984]
- PARCPLACE: VisualWorks Release 1: Portable, reusable GUI development and database Connectivity for corporate developers. *Sunnyvale: ParcPlace Systems* [1992]
- PFANNENSTIEL P: Verhalten des peripheren Blutbildes und der Plasmafraktion nach therapeutischer Radionuklid-Inkorporation. *Strahlenschutz Forsch. Prax. 9:*49-66 [1969]
- PLAPPERT U, RADDATZ K, MOLT S, RIETH W, WEISS M, FISCHER B, FLIEDNER TM: Ist der Comet Assay als Schnelltest auf genotoxische Beanspruchung des Organismus geeignet? 43. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern (1994). In: Bundesamt für Zivilschutz (Hrsg.): *Zivilschutz-Forschung NF Bd. 26. Bonn: BZS, 79-82, ISSN 03435164* [1997]
- PLAPPERT U, BARTHEL E, SEIDEL HJ: Reduction of benzene toxicity by toluene. *Environ. Molec. Mutagen. 24:* 283-292 [1994a]
- PLAPPERT U, BARTHEL E, RADDATZ K, SEIDEL HJ: Early effects of benzene exposure in mice. Hematological versus genotoxic effects. *Arch. Toxicol. 68:* 284-290 [1994b]
- PLAPPERT U, RADDATZ K, MOLT S, RIETH W, FLIEDNER TM: Der Comet Assay-ein neuer Indikatorstest zum Nachweis genotoxischer Beanspruchung. *Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed 30:* 60-65 [1995a]
- PLAPPERT U, RADDATZ K, ROTH S, FLIEDNER TM: DNA-damage detection in man after radiation exposure – the comet assay – its possible application for human biomonitoring. *Stern cells: 13 (suppl 1):* 215-222 [1995b]

- PLAPPERT U, RADDATZ K, RIETH W, FLIEDNER TM: The comet assay – a biomarker for detection of genotoxicity induced by chemicals and radiation. *Clinical chemistry*: in press [1995c]
- PRYOR TA, GARDER RM, CLAYTON PD, WARNER HR: The HELP System. *Journal of Medical Systems*, Vol. 7, No. 2: 87-102 [1983]
- RADA R: Hypertext: from text to expertext. *London: McGraw Hill* [1991]
- RAMONIM, STEFANELIM, BAROSI G, MAGNANI I: An epistemological framework for medical knowledgebased Systems. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics* 22: 1362-1375 [1992]
- RANDERATH K et al.: A comparison between different types of covalent DNA modifications (I-compounds, persistent carcinogen adducts and 5-methyl-cytosine) in regenerating rat liver. *Carcinogenesis* 9: 1843-1848 [1988]
- RANDERRATH K, LU LJW, LI D: A comparison between different types of covalent DNA modifications in regenerating rat liver. *Carcinogenesis* 9: 1843-1848 [1988]
- REBENTISCH E: Handbuch der medizinischen Katastrophenhilfe, 2. Aufl. *München-Gräffling: Werkverlag Dr. Edmund Banaschewski GmbH* [1991]
- RICHARDSON ML: Risk Assessment of Chemicals in the Environment. *Royal Society of Chemistry* [1988]
- SCHMID E, ZITZELSBERGER H, BRASSELMANN H, GRAY WJ, BAUCHINGER M: Radiation-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence *in situ* hybridization with a triple combination of composite whole chromosome-specific DNA probes. *Int. J. Radiat. Biol.* 62: 673-678 [1992]
- SCHNEIDER R, ECKERT P: Vergiftungsnotfälle: Welche Leitlinien gelten für die Erstversorgung? *Notfallmedizin* 9: 1027-1033 [1983]
- SEIDLIN SM, YALOW AA, SIEGEL E: Blood radiation dose during radioiodine therapy of metastatic thyroid Carcinoma. *Radiology* 63: 797-818 [1954]
- SHORTLIFFE EH: Clinical Decision-Support Systems. In: Shortliffe, Perrault: Medical Informatics – Computer Applications in Health Care. *Reading, Massachusetts: Addison-Wesley*, 466-502 [1990]
- SHUGART LR: Biomarkers of environmental contamination: Biological monitoring. Testing for genotoxicity. In: McCarthy JF, Shugart LR. (ed.): *Boca Raton, Florida: Lewis Publishers*: 205-216 [1990]
- SINGH NP, MCCOY TM, TICE RR, SCHNEIDER EL: A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exptl. Cell Res.* 175:184-191 [1988]
- STEFANELLI M, RAMONI M: Modeling Medical Knowledge Based Systems. *Biometrie und Informatik in Medizin und Biologie* 23:215-227 [1992]
- TATES AD, GRUMMT T, TORNVIST M et al.: Biological and chemical monitoring of occupational exposure to ethylene oxide. *Mut. Res.* 250: 483-497 [1991]
- THOMA SJ, LAMPING CP, ZIEGLER BL: Phenotype analysis of hematopoietic CD34⁺ cell populations derived from human umbilical cord blood using flow cytometry and cDNA-polymerase chain reaktion. *Blood* 83: 2103-2114 [1994]
- TRAPHÖNER R, MAURER F: HyDi: Integration of Hypermedia and Expert System Technology for Technical Diagnosis. Produktbeschreibung. *Kaiserslautern: technno-Gesellschaft für innovative Software-Systeme und Anwendungen mbH* [1992]
- WARD JB: HPRT mutant lymphocytes frequencies in workers at a 1,3-butadiene production plant. *Environmental Health Perspect* [1995]

- WEGER N: Akute Vergiftungen und ihre Behandlungsmöglichkeiten bei chemischen Katastrophen und im Verteidigungsfall. *Intensivbehandlung*, 5(4): 166-175 [1980]
- WEISS A, WEISS B: Karzinogenese durch Lost-Exposition beim Menschen, ein wichtiger Hinweis für die Alkylantien-Therapie. *DMW 100*: 919-923 [1975]
- WEISS M, FISCHER B, FLIEDNER TM, NADEJINA NM, GALSTIAN IA, BELYI DA, BEBESHKO VG: Questionnaire for the Clinical, Laboratory and Functional Follow-Up for Accidentally Radiation Over-Exposed Persons. Ulm: *Universitätsverlag Ulm*, ISBN 3-89559-243-9 [1997]
- WEISS M, FISCHER B, PLAPPERT U, FLIEDNER TM: Entwicklung eines katastrophenmedizinischen Diagnose- und Behandlungsplanes für komplexe zytotoxische Schädigungen. Jahrestagung der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern (1995). In: Bundesamt für Zivilschutz (Hrsg.): Zivilschutz-Forschung NF, Bd. 26. *Bonn: BZS*, 269-284, ISSN 03435164 [1997]
- WHITAKER SJ, POWELL SN, MCMILLAN TJ: Molecular assays of radiation-induced DNA damage. *Eur. J. Cancer* 27: 922-928 [1991]
- WIELINGA BJ, SCHREIBER AT, BREUKER JA: A modelling approach to knowledge engineering. *Knowledge Acquisition* 4: 5-53 [1992]
- WOLF S, SETZER R: Wissensverarbeitung mit KEE – Einführung in die Erstellung von Expertensystemen. *München: Oldenbourg* [1991]