



AUS DEM INSTITUT FÜR PATHOLOGIE
ABTEILUNG FÜR NEUROPATHOLOGIE
IM KLINIKUM BENJAMIN FRANKLIN
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN
KOMMISSARISCHER LEITER: PROF. DR MED. W. HINKELBEIN

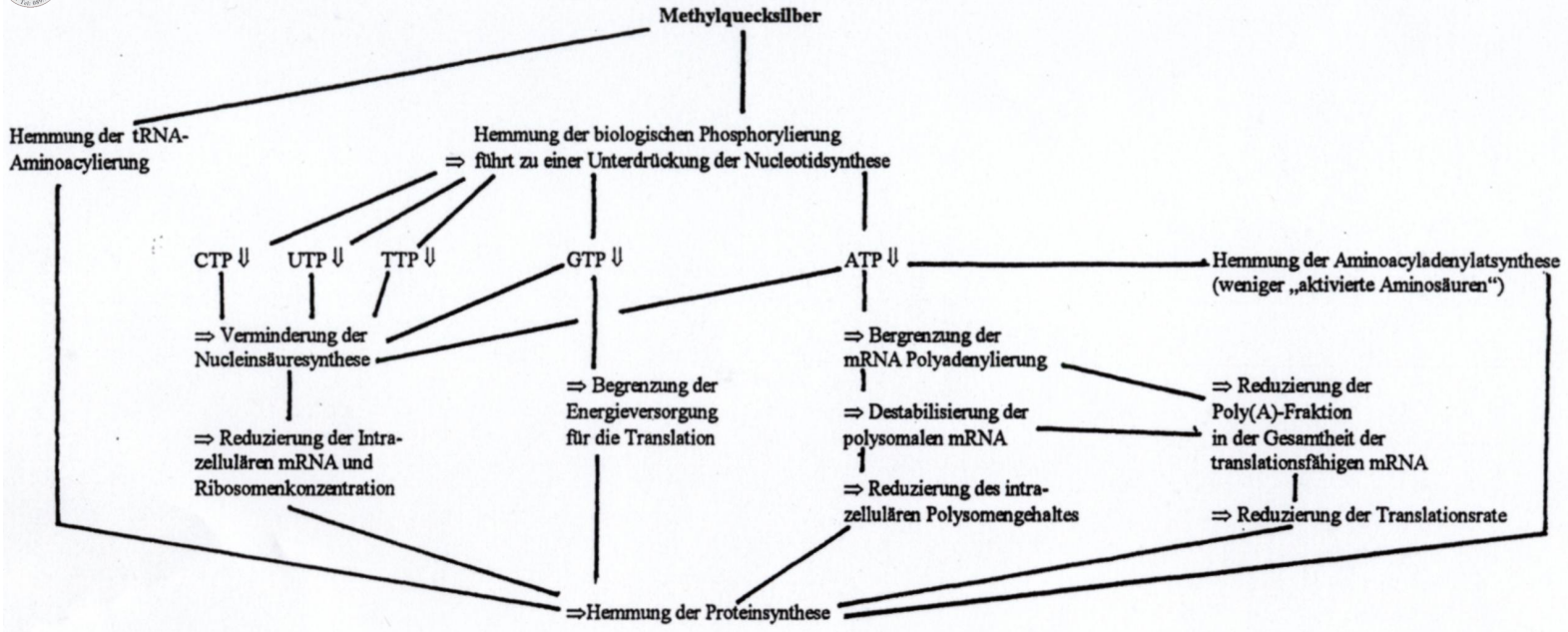
DIE AUSWIRKUNG CHRONISCHER
PRÄ- UND POSTNATALER QUECKSILBERBELASTUNG AUF DIE
STÄRKE DER REAKTIVEN ASTROGLIOSE
IN DER MEDULLA OBLONGATA INNERHALB DER ERSTEN 24
LEBENSMONATE DES MENSCHEN

-EINE UNTERSUCHUNG AN 76 LEICHEN-

INAUGURAL-DISSERTATION ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DES
FACHBEREICHES HUMANMEDIZIN
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

VORGELEGT VON
CHRISTIAN THOMAS KEIM
AUS
KARLSRUHE

Daunderer: Je mehr Amalgam die Mütter hatten, desto höher war Quecksilber im Gehirn.
Über 7 µg/g Hg trat eine relative Astroglieose auf (Astrozytenschädigung),
die bei hohen Werten zum Atemstillstand führt (Schlafapnoe).



Modell Ober eine mögliche molekulare Basis der Wirksamkeit von Quecksilberverbindungen auf die Proteinbiosynthese nach D. Kusznetsov (1990)



Autor	Hirnareal	Mittelwert ng/g Hg	Spannweite ng/g Hg	Fallzahl n
Schiele (1981)	GHR	<5*	<5-17	51
	GHM	<5*	<5-16	51
	KH	6,3*	<5-26	51
Tucek(1981)	HS	8,4	1,7-69,9	82
Rungby (1983)		<10		
Warren	GH	4,2	0,3-14	27
	KH	6,2	1,2-18	27
Schiele (1984)	GHR	9,9	0,5-44	44
Friberg(1986)	GHR	12,4	4,8-28,7	17
	KH	11,2	3,6-33,8	15
Abadi (1987)		22,8	15,1-43,7	20
Allhoff (1987)		13,04	<5-78	53
Eggleston (1987)	GHR	12,7	1,9-121,4	83
Gesamtgruppe	GHR			
Gesamtgruppe	GHR			
Gesamtgruppe	GHM	8,7	1,3-110,1	60
0-1 Amalgamflächen	GHR	6,7	1,9-22,1	16
0-1 Amalgamflächen	GHR			
0-1 Amalgamflächen	GHM	3,8	1,4-7,1	13
5-14,5 Amalgamflächen	GHR	15,2	3-121,4	51
5-14,5 Amalgamflächen	GHR			
5-14,5 Amalgamflächen	GHM	11,2	1,7-110,1	35
Nylander (1987)	GHR	10,9	2,4-28,7	34
	KH	11,2	3,6-33,8	19
Noda (1988)	GHR	41	17-127	42
	GHR			
	GHM	19	3-24	
	KH	54	15-137	42
Schiele (1988)	GHR	5,1	<5-44	
Bauer (1989)	GHR	4,96	0,46-16,12	48
Nylander (1989)	GHR	11	2-29	20
Nylander (1990)	GHR	9,9	2,4-22,8	12
Nylander (1991)	GHR	10,6	2,4-22,9	17
Drasch (1992) Teilgruppe 0-2 Amalgamfüllungen	GHR	15,40	(Angaben nur für Gesamtkollektiv)	39
	GHR			
	GHM	10,97		39
	KH	12,69		39
	HS	12,62		39
Teilgruppe > 10 Amalgamfüllungen	GHR	21,3		19
	GHR			
	GHM	19,8		19
	KH	15,88		19
	HS	15,69		19

Tabelle 1

(* = Angaben für den Median)

Angaben über Normalwerte für Gesamtquecksilber im Gehirn von nicht belasteten Personen



zitierte Arbeiten). Die kritischen Werte gelten in der Regel für chronische, langjährige Belastung.

Aufgenommen wurden die niedrigsten gefundenen Werte, die nach einzelnen Arbeiten zu Symptomen führten, sofern nicht eine große Anzahl von Studien die Ergebnisse widerlegte. Zur kritischen Würdigung siehe im Kapitel Diskussion.

In der Tabelle angegeben sind Orientierungswerte auf Gruppenbasis für Hg für Blut, Urin, Gehirn bzw. Haare. Für Blut und Gehirn entsprechen die Angaben in der Regel dem Gesamtquecksilbergehalt. Die Werte im Haar beziehen sich in der Regel auf den Gesamtquecksilbergehalt - respektive auf den Gehalt an organischem Quecksilber. Die Werte im Urin bezeichnen den Gesamtquecksilbergehalt - respektive den Gehalt an anorganischem Quecksilber.

	Blut (µg/g Hg)	Urin (µg/g Hg)	Gehirn (ng/g Hg)	Haare (µg/g Hg)
<i>Erwachsene</i>				
Normalwerte	<5	<5	<20 (Europa) <50 (Japan)	<10
Früheste Wirkung (laborchemische Veränderungen)	10-20	20-50		
WHO-Grenzwerte 1976	35	150		
Deutsche BAT-Werte	50	200		
Symptome ab: Parästhesien				50-60
Tremor	70	25-150		
Reduzierte Feinbeweglichkeit	10-20"	20-50		
Erethismus		50-100		
Leichte kognitive Defizite				40-60
EEG-Veränderungen		20		
Polyneuropathie		50-100		
<i>Pränatale Belastung</i>				
Früheste Wirkung laut WHO: 5% Risiko von leichten kognitiven Defiziten				10-20
30% neurologische Auffälligkeiten laut WHO 1990				70
Schwere neurologische Auffälligkeiten laut WHO 1990				400

Tabelle 2: Orientierungswerte für Quecksilbereffekte

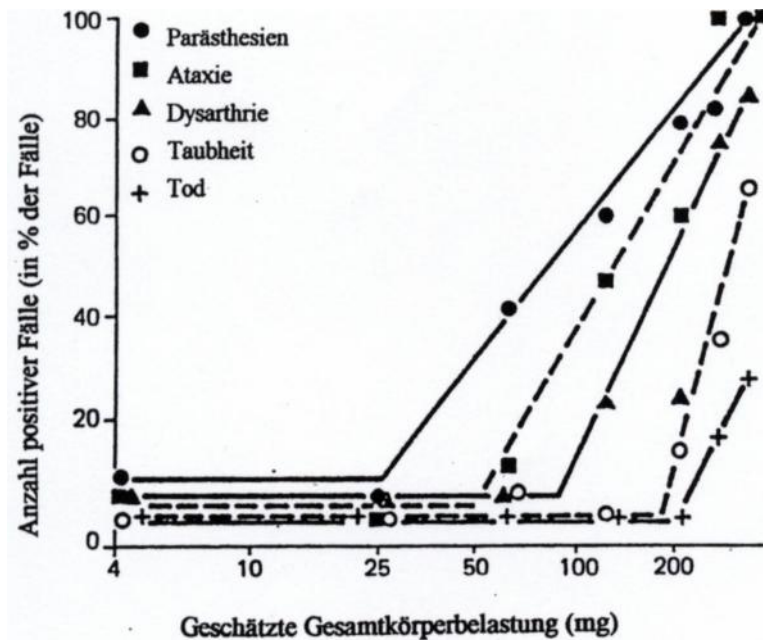


Abb. 2

1.1.11.4.3 Pränatale bzw. postnatale Belastung im Säuglingsalter

Im Folgenden werden die wichtigsten Studien zur pränatalen, perinatalen und postnatal im Kindesalter aufgetretenen Quecksilberbelastung aufgeführt:

Irak:

Während es von den Vergiftungskatastrophen in Minamata und Niigata, Japan, wenig Daten über pränatale Belastungen gab, untersuchte zunächst Takeuchi (1977) 23 Kinder aus der Vergiftungskatastrophe im Irak, welche intrauterin mit Methylquecksilber belastet worden waren und später Marsh et al. (1977,1987) 84 Mutter-Kindpaare aus derselben Vergiftungsperiode. Hierbei wurde die immens höhere Empfindlichkeit der Kinder deutlich. Während die Mütter teilweise nur leichte, transiente Symptome aufwiesen, konnten bei ihren Kindern zum Teil Mikroenzephalien, schwere Lähmungen, Anfälle, Einschränkungen von Sehen und Hören sowie eine ausgeprägte zerebrale Retardierung nachgewiesen werden. Marsh et al. versuchten entsprechend den Abschätzungen bei Erwachsenen eine Dosis-Effekt-Relation statistisch auszurechnen. Allerdings gab es auch hier Probleme mit der stat. Sicherheit bei den unteren Belastungsgrenzen wegen der geringen Fallzahl der Kinder in diesem Bereich bei einer nicht exakt bestimmbarer Hintergrundaktivität der beschriebenen Symptome, wie z. B. leichte motorische Retardierung. Als untere Sicherheitsgrenze wurden mütterliche Haarquecksilberwerte von 7,3 µg/g angegeben - allerdings mit einem großen Konfidenzintervall. Schwere Verläufe wurden bei Haarkonzentrationen um 400 µg/g beobachtet.

Seychellen:

In der „Seychelles Child Development Study“ wurden in einer großangelegten prospektiven Studie die Effekte von prä- und postnataler MeHg-Belastung bei 711 Kindern in einer Seefischesserpopulation untersucht. Auswertungszeitpunkte waren die postnatalen Monate 6, 5,19, 29 und 66. Dabei fanden sich in der letzten Untersuchungsphase 66 Monate nach



3.5.3.3 Kameraeinstellung

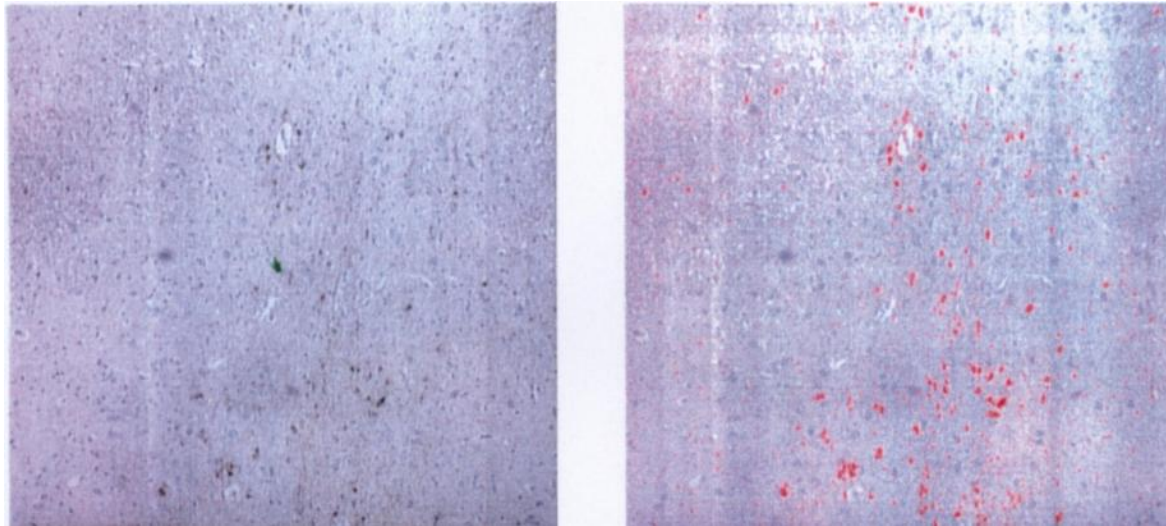
Bei der Kamera wurde vor jedem Bild die automatische Helligkeitsanzeige kontrolliert.

3.5.3.4 Kalibrierung

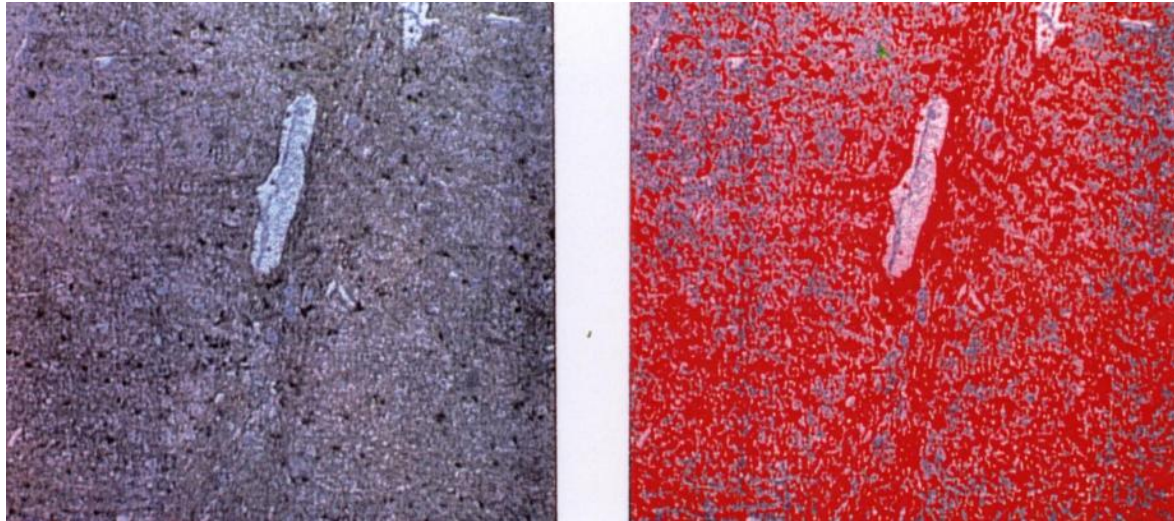
Vor der Meßserie wurde die Pixelgröße mit Hilfe eines Eichlineals auf einem Objektträger auf die Einheit Mikrometer kalibriert.

3.5.3.5 Messung

Vor der gesamten Meßreihe wurde an zwei mit HE und GFAP gefärbten Schnitten die Farbeichung für die Messung vorgenommen. An einem Schnitt mit schwacher GFAP-Reaktion und einem mit starker GFAP-Reaktion wurde per Mauszeiger die braune GFAP-Farbe so markiert, daß die gesamten GFAP-positiven Zellkörper erfaßt werden, daß aber die mit Hämatoxylin gefärbten Anteile nicht mitreagierten.



Abbildungen 3 und 3a: Probeschnitt zur Farbeichung, Färbung mit HE und GFAP. Schwach ausgeprägte reaktive Astrozytose im Bereich der medianen Raphe (3) sowie binäre Markierung desselben Bildes durch das Quantimetsystem (3a).



Abbildungen 4 und 4a: Probeschnitt zur Farbeichung, Färbung mit HE und GFAP. Stark ausgeprägte reaktive Astrozytose im Bereich der medianen Raphe (4) sowie binäre Markierung desselben Bildes durch das Quantimetssystem.

Darauf wurden nun sämtliche Schnitte mit der selben Einstellung nach dem oben beschriebenen Prinzip vermessen.

Das Ergebnis gibt die Fläche der GFAP-positiven Areale sowohl in absoluten Werten (μm^2) als auch relativ im Verhältnis zur vermessenen Gesamtfläche in Prozent an.

3.6 Quecksilberbestimmung mittels Atomabsorptionsspektrometrie

Bei der Quecksilberbestimmung konnte ich als Gast am Institut für Rechtsmedizin der Universität München von den Vorarbeiten der dortigen Doktoranden bei der Methodenentwicklung profitieren. Da ich an den Vorarbeiten nicht beteiligt war und nur die Messungen selbst durchgeführt habe, zitiere ich vor allem zum Thema Methoden und deren Verbesserung weitgehend aus den Arbeiten von B. Schupp (1994) und E. Wanghofer (1997).

3.6.1 Aufschluß

Von den Organproben wurde im angetautem Zustand ein kleiner Würfel abgeschnitten und ca. 1.0 g Gewebe (für die spätere Berechnung auf Milligramm genau gemessen) in ein Reagenzglas mit Schraubverschluß (Nr. 60541, 13 ml aus Polypropylen, Fa. Saratedt, Nümbrecht) gegeben. Der Aufschluß erfolgte dann unter Zusatz von 1 ml konz. (65 %) HNO_3 (Suprapur Nr. 441, Fa. Merck, Darmstadt) im Heizwürfel bei 70 Grad Celsius über Nacht. Die entstandene Lösung wurde mit Aqua ad injectabilia (Fa. B. Braun Melsungen, Melsungen) auf 5 ml im Meßkolben aufgefüllt und mit CVAAS (Cold Vapor atomic absorption spectrometry) gemessen.



4 Ergebnisse

4.1 Quecksilber

4.1.1 Berlin

Bei den neun Berliner SIDS-Fällen sowie den vier Vergleichsfällen wurden jeweils Proben aus Hirnstamm sowie Frontalhirn entnommen und mittels Atomabsorptionsspektrometrie auf den Quecksilbergehalt hin untersucht. Fehlende Werte erklären sich nicht durch Ausschluß von Werten, sondern durch im Einzelfall fehlende Probenentnahme.

GZ-Nr	Alter in Wochen	Diagnose	Hg Frontalhirn	Hg MO
B93/604	12	SIDS	1,99	1,80
B93/623	20	SIDS	2,89	7,39
B94/036	16	SIDS	1,53	0,00
B94/051	10	SIDS	2,03	3,75
B94/077	9	Otitis media	0,00	0,00
B94/157	13	SIDS	0,67	0,58
B94/217	49	Endokarditis	2,68	1,46
B94/262	50	SIDS	0,87	0,00
B94/502	37	Ertrinken	k.W.	0,90
B94/547	30	Waterhouse-F.- Syndrom	1,03	0,00
B94/655	16	SIDS	k.W.	0,72
B94/658	14	SIDS	0,53	k.W.
B94/695	15	SIDS	0,00	0,00

Tabelle 3: Quecksilberwerte der Berliner Fälle.

GZ-Nr = Sektionsnummer, MO = Medulla oblongata

Bei den Berliner SIDS-Fällen fanden sich Quecksilberwerte von „nicht nachgewiesen“, kurz „n.n.“ bis maximal 7,39 ng/g im Bereich des Hirnstammes sowie von n.n. bis 2,89 ng/g im Frontalhirn. Bei den vier Vergleichsfällen zeigten sich Hg-Werte von n.n. bis 1,46 ng/g Hg im Hirnstamm und n.n. bis 2,68 ng/g Hg frontal. Trotz einzelner Ausreißer zeigten sich die Werte damit in Hirnstamm und Frontalhirn in einem ähnlichen Konzentrationsbereich, ohne daß eine statistisch signifikante Tendenz zu höheren Werten in einer der beiden Regionen zu finden war.

Korrelation Hg Frontalhirn/Hg Hirnstamm

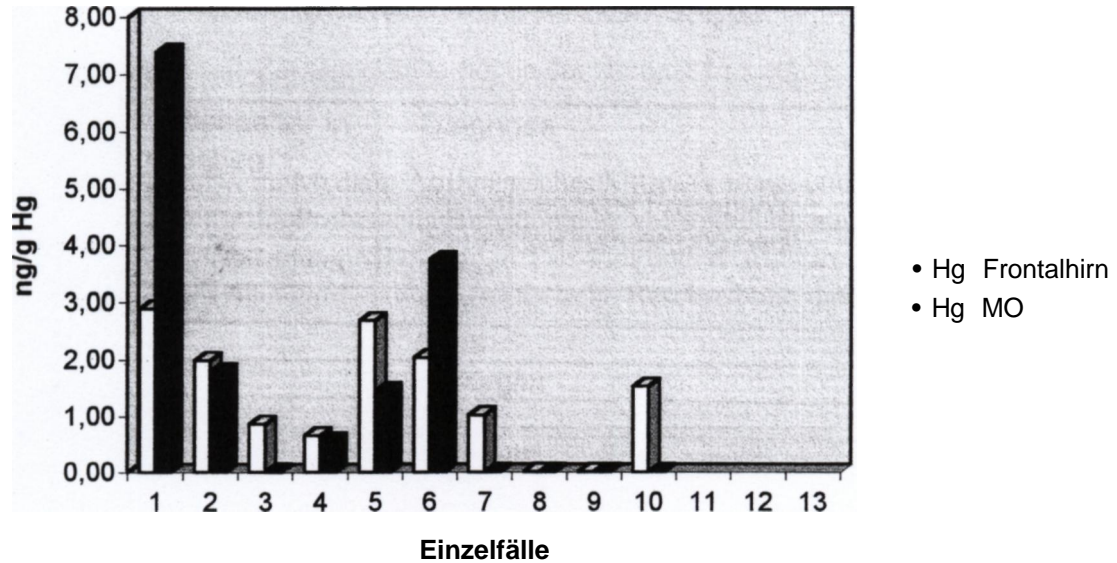


Abbildung 5: Korrelation der Quecksilberhöhen der Berliner Einzelfälle in Medulla oblongata bzw. Frontalhirn

Die statistischen Kennwerte Median, Arithmetisches Mittel, Varianz und Standardabweichung für die Proben aus Hirnstamm bzw. Frontalhirn aller Berliner Fälle sowie gesondert nur der Berliner SIDS sind in Tab 4 zu finden. Aufgrund der geringen Fallzahl der Vergleichsfälle wurde auf eine statistische Beschreibung dieser Untergruppe verzichtet.

	Median	Arithmetischer Mittelwert	Varianz	Standardabweichung
Berlin Alle Hg frontal (ng/g)	1,03	1,285	0,921	0,96
Berlin Alle Hg Medulla obi. (ng/g)	0,65	1,38	4,44	2,11
Berlin SIDS Hg Frontal (ng/g)	1,2	1,3	0,48	0,91
Berlin SIDS Hg Medulla obi. (ng/g)	0,65	1,78	3,37	1,84

Tabelle 4



4.1.2 München

Bei den Münchner Fällen waren bei der Sektion durch die Kollegen der Münchner Rechtsmedizin nur Proben aus dem Frontalhirn für die Quecksilberbestimmung entnommen worden. Werte für den Hirnstamm fehlen somit bei dieser Gruppe.

GZ-Nr	Lebensalter in Wochen	Diagnose	Hg Großhirn
89/1244	65	Hämorrhagische Pneumonie	4,70
89/1270	52	Schädelzertrümmerung nach Unfall	6,10
89/1472	26	SIDS	6,10
89/1500	43	SIDS	6,80
89/1523	65	Erwürgen	11,00
89/1938	43	SIDS	24,60
89/2131	0	Ersticken	4,40
89/2200	13	SIDS	6,60
90/0040	5	SIDS	7,30
90/0255	17	SIDS	2,20
90/0415	35	SIDS	8,60
90/0435	52	Kreislaufversagen bei V.a. Sepsis	8,20
90/0450	78	Ertrinken	25,80
90/0481	10	SIDS	21,30
90/0531	1	Herzbeutelamponade bei TGA	0,60
90/0558	13	SIDS	16,60
90/0637	104	Ersticken	3,70
91/1357	43	SIDS	1,70
91/1702	30	Unfall, Schädelzertrümmerung	1,70
91/1730	30	SIDS	1,40
91/1909	35	Kreislaufversagen bei M. Down	1,00
91/1933	9	SIDS	2,30
91/2062	52	Schädelbasisbruch	2,70
91/2359	26	SIDS	1,80
91/2361	9	SIDS	2,10
91/2422	22	SIDS	1,90
91/2437	78	Kreislaufversagen bei Virusinfekt	2,30
91/2536	9	SIDS	3,60
92/0010	22	SIDS	3,20
92/0044	7	SIDS	1,50
92/0111	9	SIDS	2,00
92/0115	17	SIDS	3,80
92/0247	9	SIDS	2,80
92/0314	17	SIDS	2,80
92/0320	9	SIDS	3,70
92/0385	16	SIDS	3,60
92/0405	78	Ersticken bei Laryngitis	2,50



GZ-Nummer	Lebensalter in Wochen	Diagnose	Hg Großhirn
92/0416	9	SIDS	2,00
92/0436	78	Hirndruckerhöhung bei Allg.-Infektion	3,20
92/0482	30	SIDS	7,90
92/0489	61	Ersticken	1,60
92/0493	91	Ertrinken	10,90
92/0560	13	SIDS	15,00
92/0565	26	SIDS	2,80
92/0607	9	SIDS	5,50
92/0623	9	SIDS	3,70
92/0657	13	SIDS	2,20
92/0743	48	SIDS	8,90
92/0795	9	SIDS	5,50
92/1049	4	Herzversagen bei kong. Herzfehler	16,50
92/1151	1	Kongenitale Herz- und Lebererkrank.	4,20
92/1184	13	SIDS	2,40
92/1243	22	SIDS	2,00
92/1424	65	Schädelhirntrauma	5,10
92/1442	65	Unfall/ Überrollen	4,10
92/1509	7	SIDS	4,30
93/1820	8	SIDS	3,20
93/1878	14	SIDS	3,80
93/1964	0	Ersticken, vorher gesund	4,60
93/1988	3	SIDS	5,20
93/2027	3	SIDS	7,00
93/2219	13	SIDS	2,50
93/2242		SIDS	2,30
94/0018	8	SIDS	3,20
94/0107	12	SIDS	3,50
94/0147	22	SIDS	3,20

Tabelle 5: Quecksilberwerte der Münchner Fälle

Bei den Münchner SIDS fanden sich im Frontalhirn eine Spannweite der Hg-Werte von 1,5 bis 24,6 ng/g Hg. Die Vergleichsfälle, darunter auch einige Fälle mit letztlich nicht gesicherter Diagnose, erbrachten Hg-Werte von 0,6 bis 25,8 ng/g Hg. In beiden Untergruppen zeigte sich eine linkssteile, nicht normalverteilte Anordnung der Quecksilberwerte mit einem Überwiegen von Werten zwischen nicht nachweisbar und 10 ng/g Hg.

Anzahl Fälle pro Quecksilbergruppe der Vergleichsfälle München, Frontalhirn

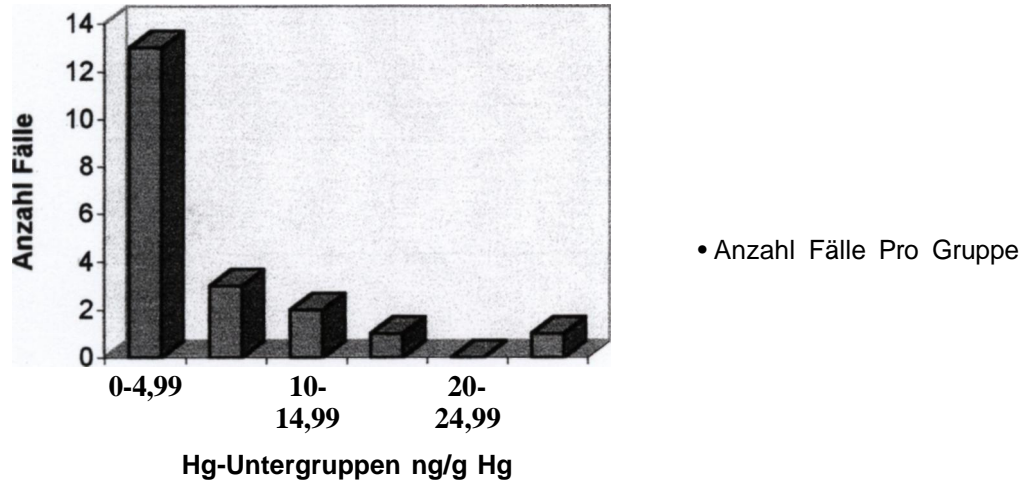


Abbildung 6

Anzahl Fälle pro Quecksilbergruppe SIDS München, Frontalhirn

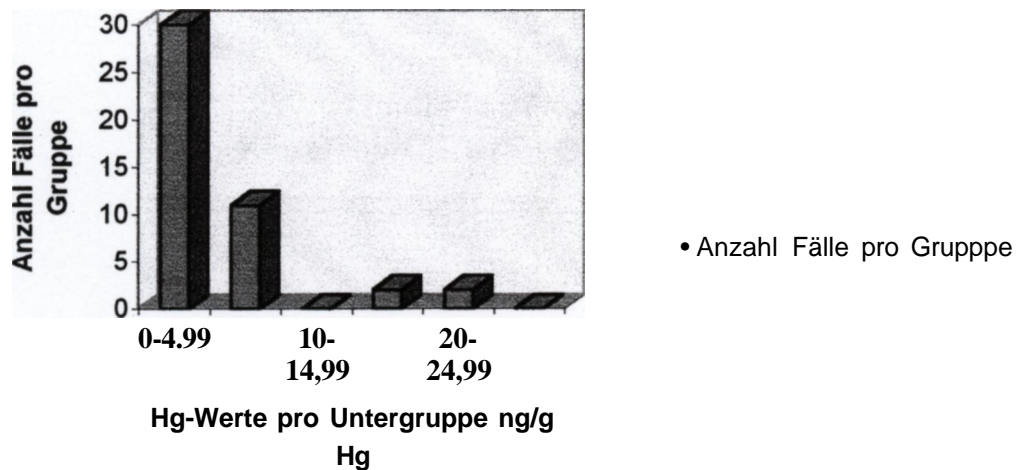


Abbildung 7

In Tab 6 finden sich die statistischen Kennwerte Median, Arithmetisches Mittel, Varianz und Standardabweichung für die gesamten Münchner Fälle sowie gesondert für die Untergruppen SIDS und Vergleichsfälle

	Median	Arithmetisches Mittel	Varianz	Standardabweichung
München Alle Hg frontal (ng/g)	3,7	5,44	28,23	5,31
München SIDS Hg frontal (ng/g)	3,5	5,21	24,66	4,97
München Vergleichsfälle Hg frontal	4,2	5,95	33,79	5,81

Tabelle 6

Insgesamt lassen sich bei der großen Spannweite und hohen Varianz bzw. Standardabweichung der Werte keine signifikanten Unterschiede zwischen den SIDS und den Vergleichsfällen in Bezug auf Höhe der Quecksilberkonzentrationen nachweisen. Im Vergleich der Berliner und Münchner Fälle zeigt sich im Mann-Whitney-U-Test jedoch eine hochsignifikante Differenz ($p < 0,01$) mit deutlich höheren Quecksilberwerten in den Münchner Proben.

4.1.3 Korrelation der Quecksilberwerte mit dem Alter:

Eine Korrelation der Quecksilberwerte mit dem Alter ließ sich in keiner der Untergruppen nachweisen.

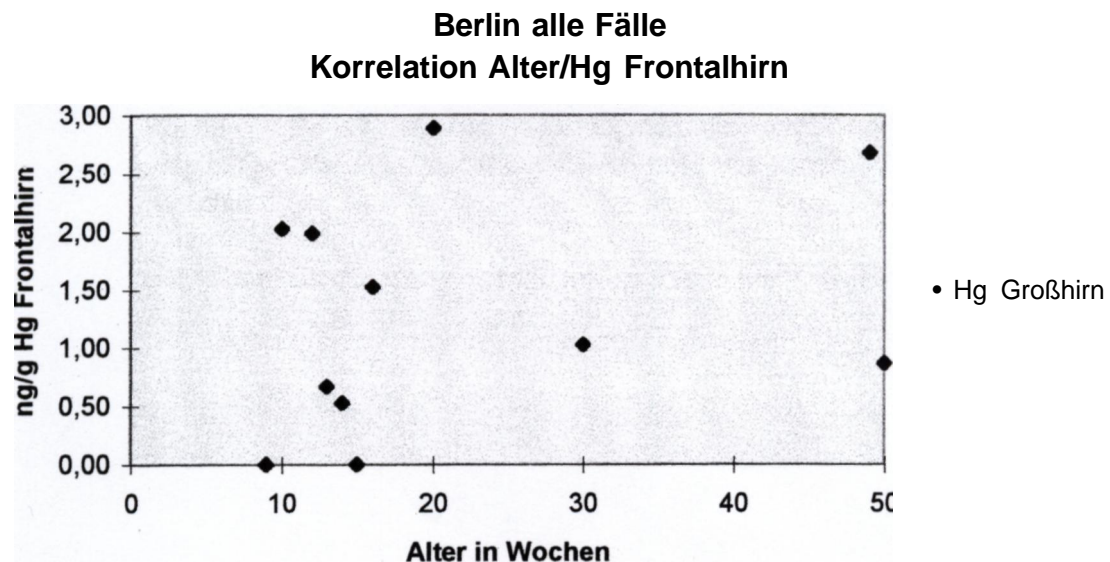


Abbildung 8

München alle Fälle Korrelation Alter/Hg Frontalhirn

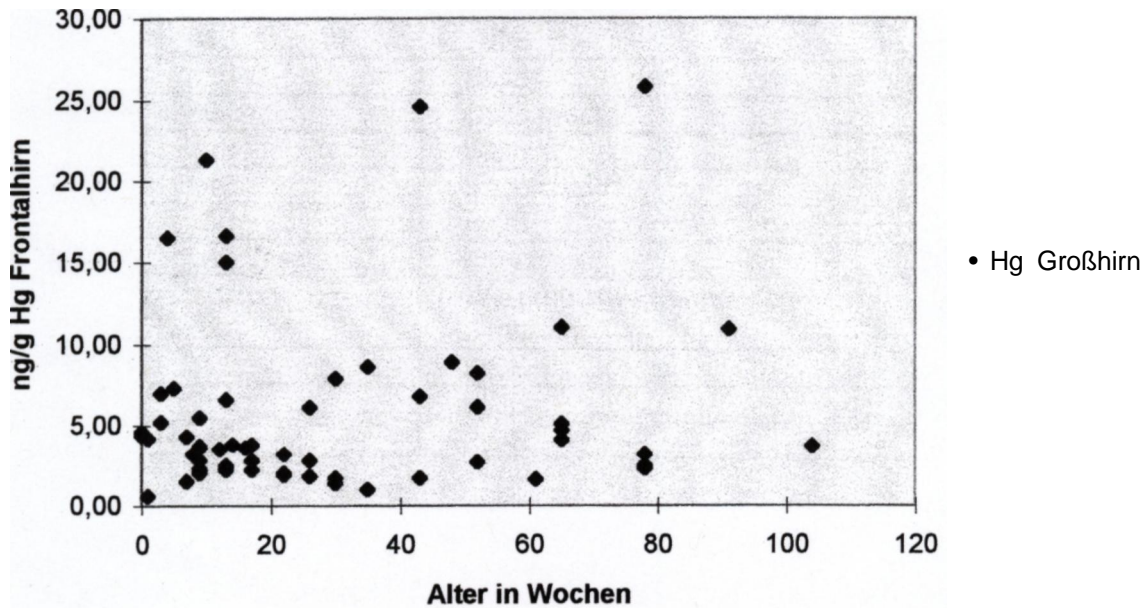


Abbildung 9

4.2 Reaktive Astrogliose

Bei allen Fällen wurden histologische Präparate von Schnitten der Medulla oblongata auf Höhe des Nucleus dorsalis nervus Vagus und zusätzlich, da bei einigen Präparaten auf der Schnittebene der Nucleus N. IX. nicht getroffen war, von Schnitten im Bereich der Kerne der medianen Raphe von Pons bzw. Medulla oblongata untersucht. Angegeben wird jeweils die Gesamtsumme in Quadratmikrometer der GFAP-positiven Strukturen von jeweils vier Blickfeldern pro Schnitt.

Die Absolutwerte in μm^2 für die Berliner Fälle finden sich in der Tabelle 7 (S. 67).



GZ-Nummer	Lebensalter in Wochen	Diagnose	Glia Median
B93/604	12	SIDS	84232
B93/623	20	SIDS	312412
B94/036	16	SIDS	197600
B94/051	10	SIDS	100400
B94/077	9	Otitis media	fehlt
B94/157	13	SIDS	18792
B94/217	49	Endokarditis	fehlt
B94/262	50	SIDS	fehlt
B94/502	37	Ertrinken	fehlt
B94/547	30	Waterhouse-Friedrichsen-Syndrom	fehlt
B94/655	16	SIDS	fehlt
B94/658	14	SIDS	fehlt
B94/695	15	SIDS	fehlt

Tabelle 7

Die Absolutwerte in μm^2 für die Münchner Fälle finden sich in Tabelle 8.

GZ-Nr	Alter in Wochen	Diagnose	Glia mediane Raphe	Glia MO
89/1270	52	Schädelzertrümmerung nach Unfall	111700	53913
89/1472	26	SIDS	89713	56273
89/1500	43	SIDS	52499	
89/1523	65	Erwürgen	94926	22989
89/1938	43	SIDS	48122	
89/2131	0	Ersticken	18255	
89/2200	13	SIDS	149500	44786
90/0040	8	SIDS	4666	
90/0255	17	SIDS	9335	
90/0415	35	SIDS	206300	34508
90/0450	78	Ertrinken	633100	
90/0481	10	SIDS	309800	
90/0558	13	SIDS	131500	85025
90/0637	104	Ersticken	182700	
91/1357	43	SIDS	451400	
91/1702	30	Schädelzertrümmerung nach Unfall	456400	
91/1730	30	SIDS	45141	25117
91/1933	9	SIDS	7987	4830
91/2062	52	Schädelbasisbruch	42270	
91/2359	26	SIDS	63403	82586
91/2361	8	SIDS	14608	



GZ-Nummer	Alter in Wochen	Diagnose	Glia mediane Raphe	Glia MO
91/2422	22	SIDS	5411	
91/2536	0	SIDS	61847	
92/0010	22	SIDS	36691	873
92/0044	7	SIDS	44794	9205
92/0111	9	SIDS	110300	
92/0115	17	SIDS	53714	1217
92/0247	8	SIDS	91810	27193
92/0314	17	SIDS	164900	
92/0320	3	SIDS	67756	
92/0385	16	SIDS	39990	96570
92/0405	78	Ersticken bei Laryngitis	269200	122100
92/0416	8	SIDS	138400	
92/0482	30	SIDS	9268	
92/0489	61	Ersticken	467700	
92/0493	91	Ertrinken	428800	
92/0560	13	SIDS	251400	115400
92/0565	26	SIDS	176800	
92/0607	9	SIDS	33656	
92/0623	3	SIDS	141000	135000
92/0657	13	SIDS	53739	
92/0743	48	SIDS	274200	310300
92/0795	3	SIDS	42816	
92/1184	8	SIDS	622100	65760
92/1243	22	SIDS	296300	
92/1424	65	Schädelhirntrauma	84447	
92/1442	65	Unfall mit Überrollen	279200	
92/1509	7	SIDS	271500	
93/1820	8	SIDS	43310	16715
93/1878	14	SIDS	98635	
93/1964	0	Ersticken, vorher gesund	17842	11211
93/1988	3	SIDS	28354	36606
93/2027	3	SIDS	26406	
93/2219	13	SIDS	25086	
93/2242		SIDS	25952	79342
94/0018	8	SIDS	11818	
94/0107	12	SIDS	325900	
94/0147	22	SIDS	39001	

Tabelle 8

4.2.1 Vergleich der Stärke der reaktiven Astrogliose in der medianen Raphe zur Höhe der Quecksilberwerte im Frontalhirn:

4.2.1.1 *Berlin*

Da wegen der oben angesprochenen Probleme mit den unterschiedlichen Sekanten nur von fünf Berliner Fällen die Proben für die Histologie auf der richtigen Höhe entnommen worden waren, unterbleibt wegen der geringen Fallzahl der Versuch einer Korrelation von Gliareaktion und Quecksilberhöhe bei dieser Untergruppe.

4.2.1.2 *München Gesamtgruppe*

Untersucht man die Gesamtgruppe der Münchner Fälle auf eine für alle Werte gültige Korrelation zwischen Quecksilberhöhe und Fläche der reaktiven Astrozyten, so findet sich keine Korrelation.

Dies entspricht dem erwarteten Ergebnis. In dieser Altersgruppe ist mit einer Hintergrundprävalenz der reaktiven Astrogliose um 50 % zu rechnen (Kinney et al. 1992). Daher war nicht zu erwarten, daß eine möglicherweise beginnende Korrelation zwischen Quecksilberhöhe und Ausprägung der reaktiven Astrozytose bei Betrachtung der Gesamtzahl der Fälle von der starken Streuung der Hintergrundprävalenz abzutrennen wäre. Zudem ist nach den bisherigen Erfahrungen in einem etwas höheren, aber in der Größenordnung unseren Werten nahe kommenden Quecksilberdosisbereich trotz positiver Gliareaktion keine sichere Korrelation zwischen Quecksilberhöhe und Stärke der reaktiven Gliose gefunden worden (Lapham et al. 1995).

München (alle) 0-12 Monate Sterbealter Korrelation Hg-Werte Frontalhirn/Gliareaktion Mediane Raphe

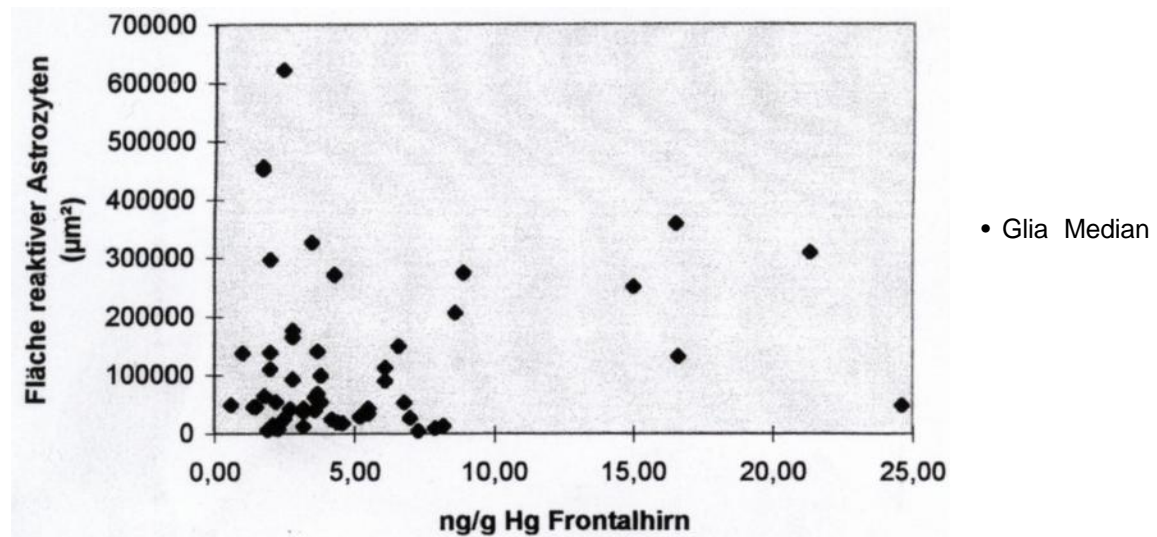


Abbildung 10

Weniger eindeutig sind die Ergebnisse bei der Frage nach einer Grenzzone. Oberhalb einer solchen Grenzzone sind eine höhere relative Anzahl positiver Astrogliareaktionen zu fordern. Im Idealfall sollten überhaupt keine negativen Astrogliareaktionen mehr nachzuweisen sein.

Da es keine Vorarbeiten bezüglich eines Grenzwert zu einem beginnenden Effekt der Quecksilberwirkung auf das menschliche Gehirn im Sinne einer reaktiven Astrozytose gab, den wir in unserer Arbeit überprüfen konnten, mußten wir bei der Auswertung zweistufig vorgehen.

Zunächst mußte im explorativen Sinne eine Verdachtshypothese eines Grenzwertes in der untersuchten Population entwickelt werden. Danach mußte dieser fragliche Grenzwert statistisch überprüft werden.

Zur Hypothesengenerierung zogen wir die optische Auswertung der graphischen Darstellung des Verhältnisses von Quecksilberhöhe und Fläche der reaktiven Astrozyten heran sowie die mathematische Berechnung der relativen Anzahl positiver Astrogliareaktionen mit steigenden Quecksilberwerten.

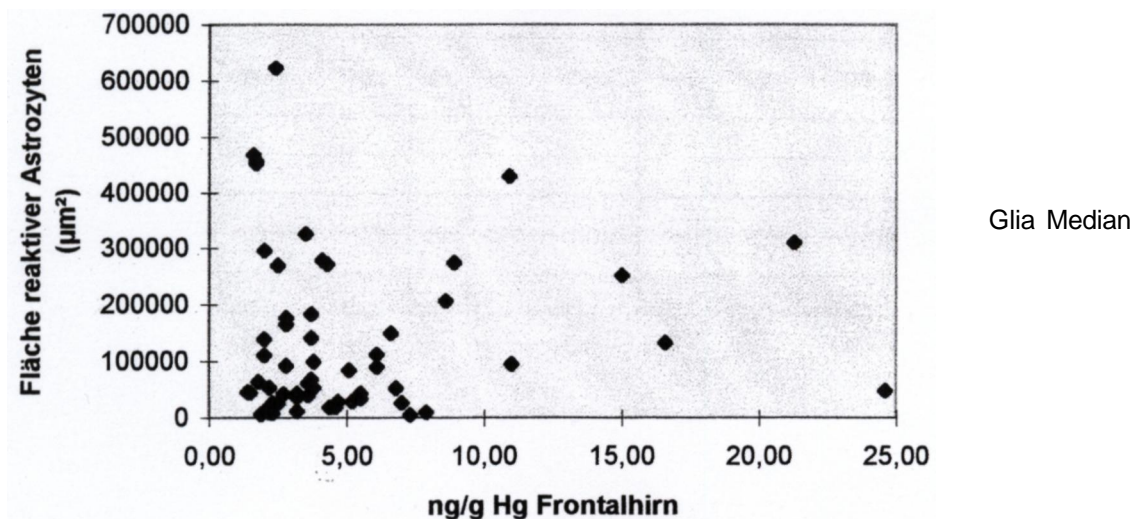
Hier wurde nach Anhaltspunkten für die gegensätzlichen Hypothesen gesucht, ob es sich im untersuchten Kollektiv um eine reine Zufallsverteilung der Fläche der reaktiven Astrozyten im Sinne einer unspezifischen Hintergrundprävalenz handelt, oder ob ab einem bestimmten Quecksilberwert die Tendenz zu weniger negativen Gliareaktionen zu vermuten ist.

Es wurde also nach Hinweisen für folgende Nullhypothese gesucht: Es gibt keinen Quecksilberwert, oberhalb dessen nur noch positive Gliareaktionen zu finden sind.

Die Alternativhypothese ist: Es gibt einen Quecksilberwert, oberhalb dessen nur noch positive Gliareaktionen zu finden sind.

Als Kriterium für eine positive Reaktion wählten wir eine Gliareaktion mit mehr als 100000 μm^2 .

München (alle) 0-24 Monate Sterbealter Korrelation Hg-Werte Frontalhirn/Gliareaktion Mediane Raphe





Wie aus dem Diagramm zu entnehmen ist, verteilen sich die Flächen an reaktiven Astrozyten im unteren Quecksilberdosisbereich zufällig und ohne Zeichen eines Zusammenhanges zwischen Quecksilberhöhe und Stärke der Gliareaktion.

Ab eines Quecksilberwertes von ca 8-9 ng/g wird der optische Eindruck erweckt, daß die Anzahl negativer Gliareaktionen abnimmt.

Diese Zone erfüllt am besten die Kriterien für einen möglichen Grenzbezirk innerhalb des untersuchten Kollektives bezüglich einer beginnenden Quecksilberwirkung auf die Astrozyten im Sinne der reaktiven Astrogliose.

Somit läßt sich aus der Graphik die Hypothese ableiten, daß sich ab einem Quecksilberwert von ca. 8-8,5 ng/g eine quecksilberbedingte Zunahme positiver Gliareaktionen abzeichnet.

Die oben erläuterte Hypothese besagt, daß ab einem Quecksilbergrenzwertbereich successive die relative Anzahl der positiven Reaktionen zunehmen müßte.

Zur mathematischen Unterstützung der optischen Auswertung führten wir daher eine Berechnung des Verhältnisses von positiven Gliareaktionen (G+) zu der Gesamtzahl (n) an positiven und negativen Reaktionen mit steigenden Quecksilberwerten durch. Dabei wurde für jeden untersuchten hypothetischen Quecksilbergrenzwert zunächst die Anzahl positiver Gliareaktionen oberhalb dieses Quecksilberwertes bestimmt und dann durch die Gesamtzahl der Gliareaktionen oberhalb des jeweiligen Quecksilberwertes geteilt.

NgHg Frontalhirn	Negative Gliareaktionen (G-)	Positive Gliareaktionen n(G+)	Gesamtzahl positiver und negativer Gliareaktionen (n)	Verhältnis der positiven Reaktionen zur Gesamtzahl (G+/n)
1	35	23	58	0,4
2	30	20	50	0,4
3	23	13	36	0,36
4	13	10	23	0,43
5	11	8	19	0,42
6	7	8	15	0,53
7	5	6	11	0,55
8	2	6	8	0,75
9	2	4	6	0,67
10	2	4	6	0,67
11	2	3	5	0,6
13	1	2	3	0,67

Tabelle 9

Verhältnis positiver Astrogliareaktionen zur Gesamtzahl der Fälle mit steigenden Quecksilberwerten

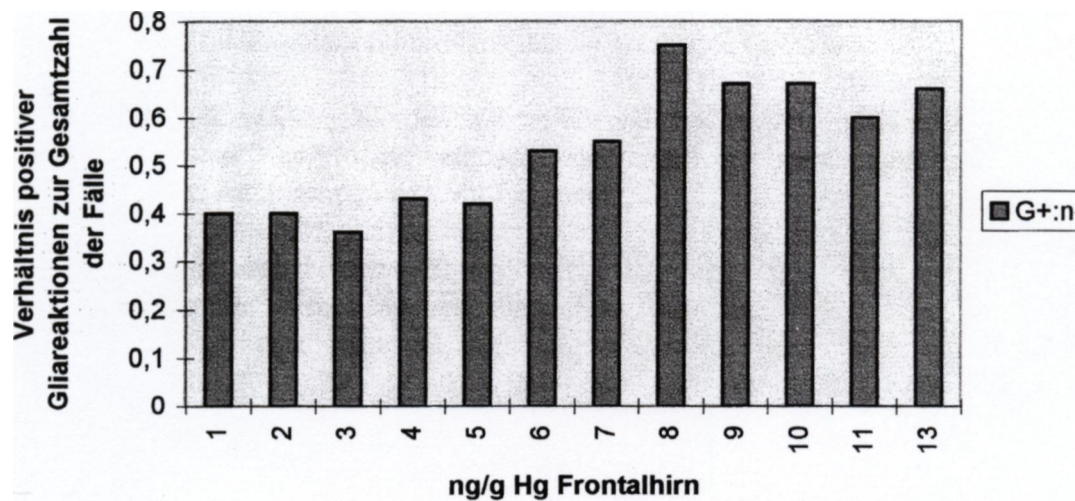


Abbildung 12

Auch in dieser Berechnung findet man einen relativen Anstieg der positiven Gliawerte im Quecksilberbereich um 7-9 ng/g Hg, so daß man einen Grenzwert etwa bei 8 ng/g Hg vermuten könnte.

Allerdings zeigt sich, wie zu erwarten, kein plötzlicher Sprung von einer zufallsverteilten relativen Anzahl an positiven Gliareaktionen zu 100 % positiven Reaktionen. Entsprechend der interindividuell unterschiedlichen Sensibilität auf Quecksilber ist eher von einem Grenzwertbereich mit successive sich verändernden relativen Häufigkeiten der positiven und negativen Reaktionen zu rechnen. Somit stellt sich jetzt die Frage, ob die zu beobachtende Tendenz statistisch signifikant wird, ob tatsächlich ein signifikanter Unterschied zwischen den Teilgruppen oberhalb und unterhalb des hypothetischen Grenzwertes besteht.

Diese Hypothese wurde mittels des Fischer-Yates-Test überprüft.

Wir entschieden uns für dieses statistische Instrument, da wegen der geringen Fallzahl im Bereich der höheren Quecksilberwerte sowie der großen Streuung der Werte eine Berechnung der Korrelation als nicht sinnvoll erschien. Es wäre hier zu erwarten gewesen, daß der beginnende Effekt einer Korrelation von Quecksilber und Gliareaktion durch die Effekte anderer Ursachen einer Gliose überlagert würde. Dagegen kann eine Ja/Nein-Unterscheidung in dem Sinne getroffen werden, daß entweder eine relevante Astrogliose pro Einzelfall nachgewiesen werden kann oder aber nicht. Die Anzahl komplett negativer Reaktionen müßte im Grenzbereich abnehmen und dann mit steigender Quecksilberkonzentration sich asymptotisch Null annähern, bzw. die Anzahl positiver Reaktionen successive zunehmen.



Die Nullhypothese ist hierbei: Die Populationen oberhalb und unterhalb des überprüften Quecksilberwertes entsprechen sich in der relativen Anzahl der positiven zu den negativen Gliareaktionen.

Die Alternativhypothese ist: Die Population oberhalb des zu untersuchenden Quecksilberwertes zeigt eine signifikant niedrigere relative Anzahl an negativen Gliareaktionen als die Population unterhalb des zu prüfenden Grenzwertes.

In die statistische Auswertung wurden in einer ersten Berechnung alle Münchener Fälle mit einem Sterbealter von 0-24 Monate aufgenommen, danach erfolgte eine getrennte Berechnung für die Altersgruppe von 0-12 Monate.

Auswertungstabelle für den Fischer-Yates-Test

Tatsächlich gefundene Werte, München, alle Fälle 0-24 Monate

	Fläche reaktiver Astrozyten < 100.000 μm^2	Fläche reaktiver Astrozyten > 100.000 μm^2	Zeilensumme
Quecksilber Frontalhirn <8 ng/g	33	16	49
Quecksilber Frontalhirn >8 ng/g	2	7	9
Spaltensumme	35	23	58 Gesamtsumme

Tabelle 10

Aus der Berechnung der tatsächlichen Verteilung der Werte sowie aller im Sinne der Alternativhypothese extremeren möglichen Verteilungen folgt eine Wahrscheinlichkeit von $p=0,015$, daß die Nullhypothese zutrifft. Somit findet sich eine statistisch signifikant niedrigere relative Anzahl von negativen Gliareaktionen in der Gruppe oberhalb des Quecksilberwertes von 8 ng/g.

Auch für die Untergruppe mit Sterbealter 0-12 Monate ergibt sich ein signifikantes Ergebnis im Sinne der Alternativhypothese mit $p=0,0085$.

4.2.1.2.1 SIDS

Auch bei Betrachtung nur der Untergruppe der SIDS findet sich bei gleichem Vorgehen im Fischer-Yates-Test mit einer Wahrscheinlichkeit von $p=0,0149$ eine signifikant niedrigere Anzahl negativer Gliareaktionen in der Gruppe mit Quecksilberwerten über 8 ng/g.

Zur Veranschaulichung siehe Abb. 16

München (SIDS) Korrelation Hg Frontalhirn/Gliareaktion Mediane Raphe

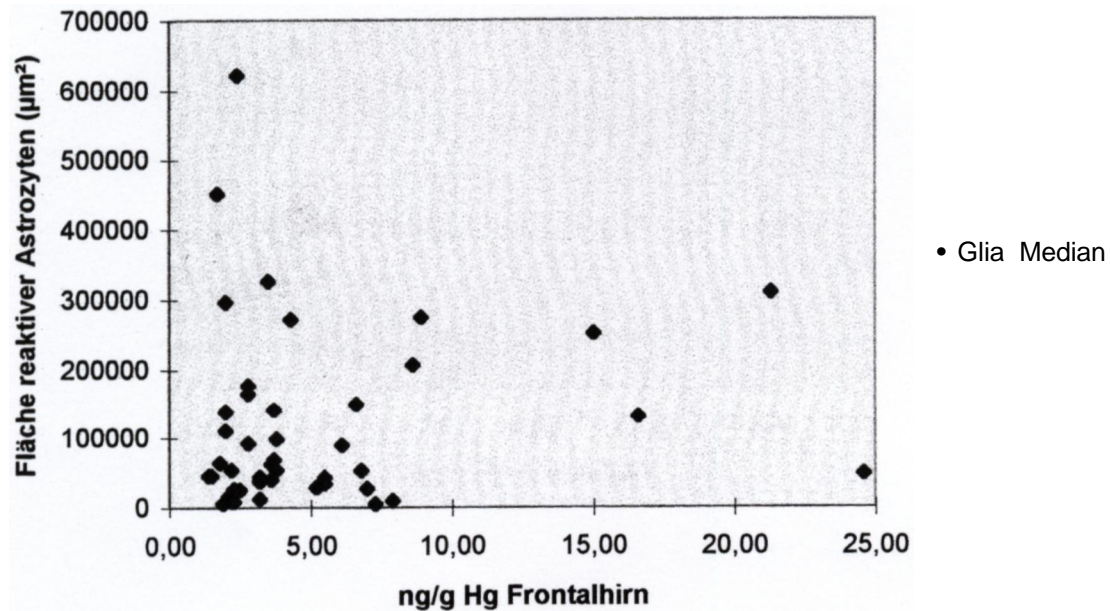


Abbildung 13

4.2.1.2.2 Vergleichsgruppe

Auch in der Vergleichsgruppe entsteht der Eindruck, daß in den höheren Dosisbereichen weniger negative Gliareaktionen zu finden sind als im unteren Bereich. Wegen der geringen Fallzahl in dieser Gruppe ist diese Aussage jedoch kaum zu erhärten, und das Ergebnis ist auch rechnerisch nicht statistisch signifikant.

München (Vergleichsgruppe) Korrelation Hg Frontalhirn/Glia Median

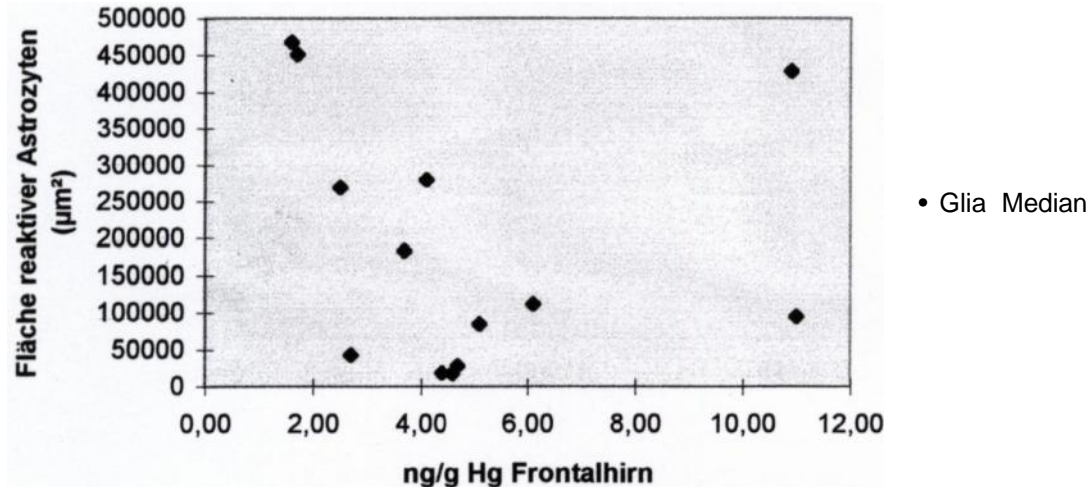


Abbildung 14

4.2.2 Korrelation der Stärke der Astrogliareaktion im Nucleus dorsalis nervus vagus mit der Quecksilberhöhe im Frontalhirn

Bei insgesamt um den Faktor 1,5-2 niedrigeren Werten der Flächen reaktiver Astrozyten findet man bei der Analyse der Gliareaktion im Bereich des Nucleus dorsalis nervus vagi ein ähnliches Phänomen wie bei der Gliareaktion der medianen Raphe. Sowohl in der Gesamtgruppe wie auch in den Untergruppen SIDS und Vergleichsgruppe finden sich ab einem bestimmten Quecksilberwert - hier allerdings 5 ng/g - eine Tendenz zu weniger negativen Gliareaktionen.

Aufgrund der relativ kleinen Fallzahl verzichteten wir hier jedoch auf das oben beschriebene statistische Vorgehen.

Siehe Abb. 15

München (alle)
Korrelation Hg-Werte Frontalhirn/Gliareaktion Nucleus motorius nervus X.

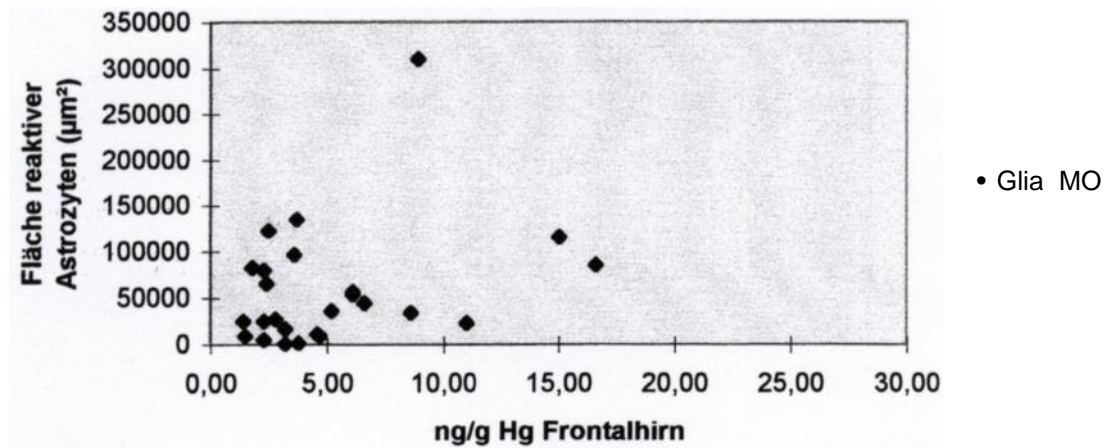


Abbildung 15

München (SIDS)
Korrelation Hg-Werte Frontalhirn/Gliareaktion Nucleus motorius nervus X.

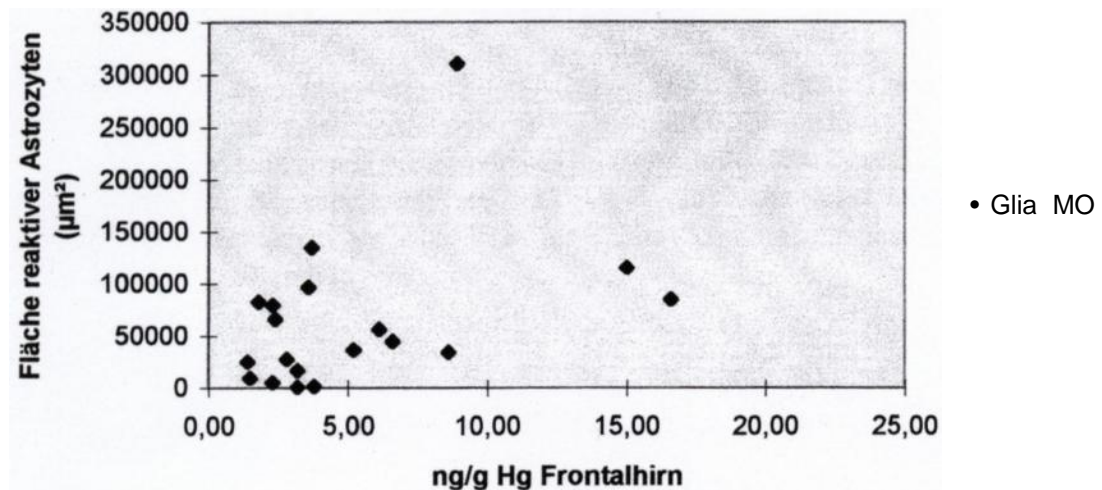


Abbildung 16

4.2.3 Korrelation zwischen dem Alter der Fälle und der der Stärke der Astrogliareaktion

Eine Korrelation der Gliareaktion mit steigendem Alter innerhalb des ersten Lebensjahres konnte in keiner der Gruppen nachgewiesen werden.

München (alle) Korrelation Alter/Gliareaktion Mediane Raphe

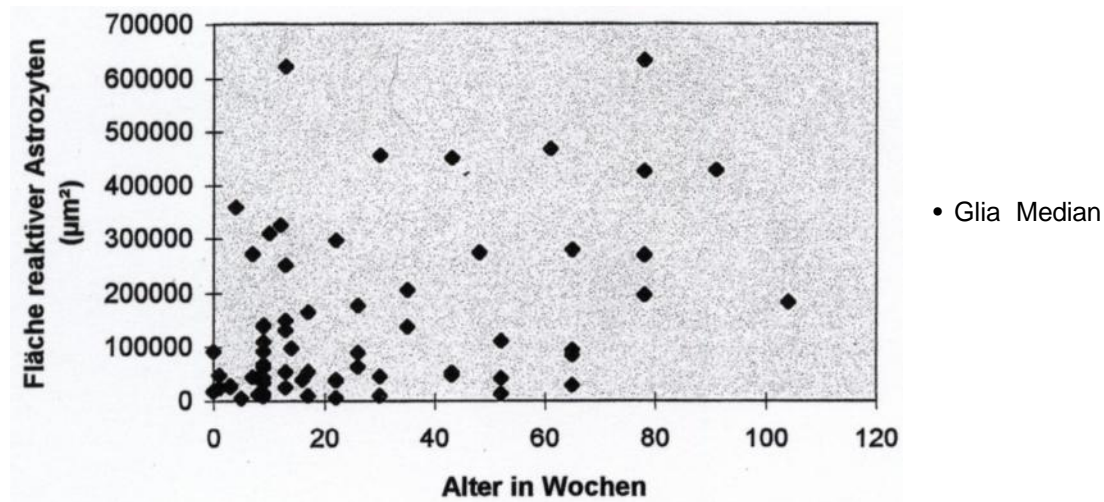


Abbildung 17

Allerdings zeigt sich eine Tendenz, daß ab einem Alter von etwa 70 Wochen keine negativen Gliareaktionen mehr zu finden sind.

4.2.4 Allgemeine Verteilung:

Im Überblick findet man, entsprechend den Angaben in der Literatur (Levis und Cowan 1985), immer eine relativ deutlich vermehrte Fläche mit GFAP-positiven Astrozyten an der Grenze zum Liquorraum sowie subependymar im Bereich der Glia limitans. Die Weiße Substanz zeigt in der Regel eine stärkere Reaktion als die Graue Substanz. Die Mittellinie weist sowohl vom Ependym her als auch in der Raphe eine deutliche positive Farbreaktion aus (siehe Abb. 18, 19 und 20).

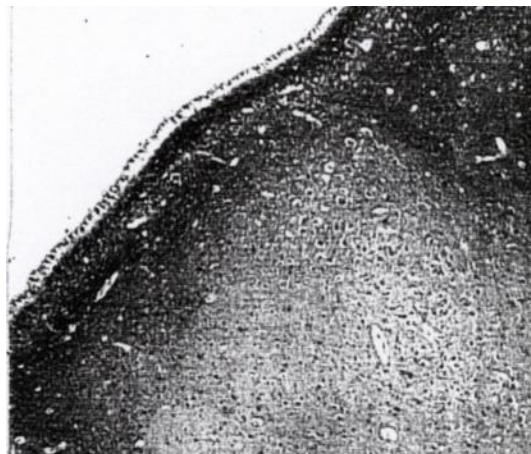
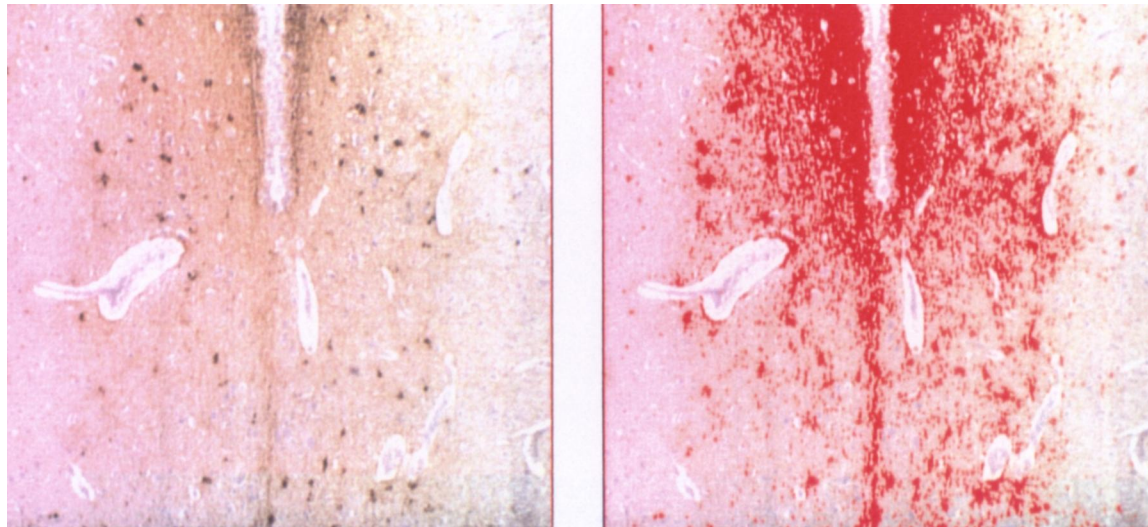


Abb. 18 (S 77): Übersichtsbild (1:100) in Höhe des Nucleus dorsalis nervus vagus mit Darstellung der ausgeprägten Astroglie der Glia limitans und Betonung im Bereich der weißen Substanz



Abbildungen 19,20: Ausgeprägte Gliareaktion im Bereich der Glia limitans und der medianen Raphe

4.2.5 Verhältnis Stärke der Astroglisereaktion Mediane Raphe/Nucleus motorius n. X

In der Medulla oblongata findet man überwiegend eine ausgeprägtere Gliareaktion in der medianen Raphe als im Nucleus dorsalis n. X

Das Verhältnis der in unserer Arbeit gefundenen Relationen der Fläche der reaktiven Astrozyten von Medianer Raphe und Nucleus dorsalis n. X wird in Abb 21 gezeigt. Dargestellt wird das Verhältnis für alle Einzelfälle, bei denen sowohl histologische Schnitte von der medianen Raphe als auch vom Nucleus dorsalis n. X vorhanden waren

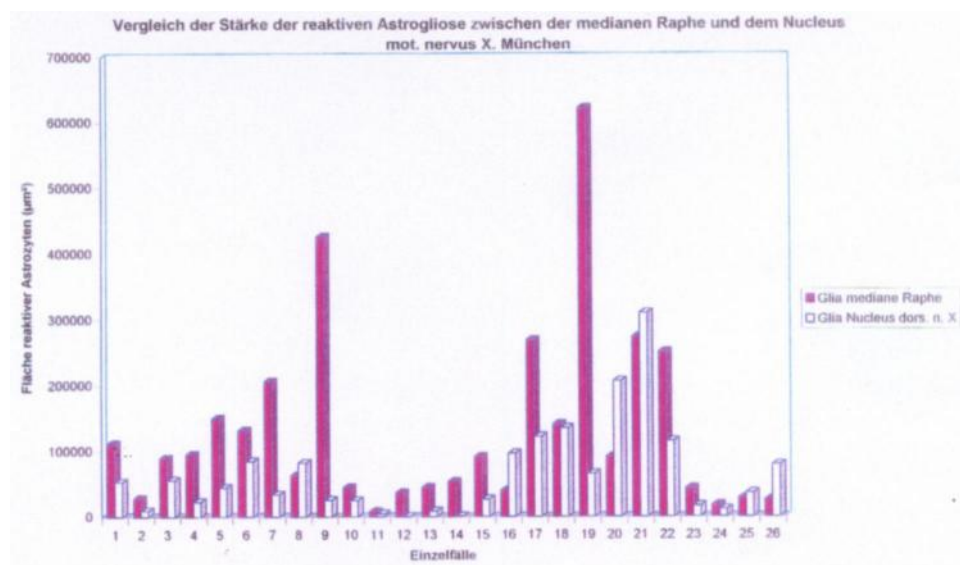


Abbildung 21

5.1.3 Einordnung der eigenen Ergebnisse in den aktuellen Stand der Forschung

5.1.3.1 Methyl-Quecksilber

Die bisher gültigen Korrelationen zwischen Methyl-Quecksilberbelastung und Effekten bei intrauterin belasteten Feten stammen letztlich alle aus den statistischen Auswertungen der Vergiftungsperiode im Irak (Marsh et al. 1981, 1987, WHO 1990, Gilbert und Grant-Webster 1995), siehe auch Kapitel 1.1.7.1 und 1.1.8. Während allerdings die Effekte der höheren Belastungsgruppen mit deutlichen neurologischen Auffälligkeiten der Kinder und Methylquecksilberwerten von über 165 µg/g Haarquecksilber der Mütter gut gesichert sind, bleiben wegen der damals geringen Fallzahlen im Niedrigdosisbereich Unsicherheiten, welcher Quecksilberdosisbereich noch als sicher anzusehen ist oder von welchem Bereich an erste Quecksilbereffekte auftreten.

In der Auswertung der Daten von Erwachsenen Opfern der Vergiftungsperioden aus Minamata und aus dem Irak folgte die WHO (1976) zunächst einem parametrischen statistischen Modell von Bakir et al. (1973), mit welchem für jedes einzelne Symptom der Quecksilberintoxikation eine Dosis-Antwort-Kurve sowie ein „praktischer Grenzwert“ berechnet wurde. Es handelt sich dabei um das sogenannte „Hockeyschlägermodell“, bei dem die waagerechte, der x-Achse parallele Linie die Hintergrundprävalenz eines unspezifischen Symptomes angibt, und die aufsteigende Linie die logarithmische Korrelation der Auftretenswahrscheinlichkeit des Symptomes in Bezug auf die Quecksilberkonzentration angibt. Der Eckpunkt bzw. Treffpunkt zwischen waagerechter und aufsteigender Linie wird dann als „praktischer Grenzwert“ - im Sinne von praktisch detektabel - definiert.

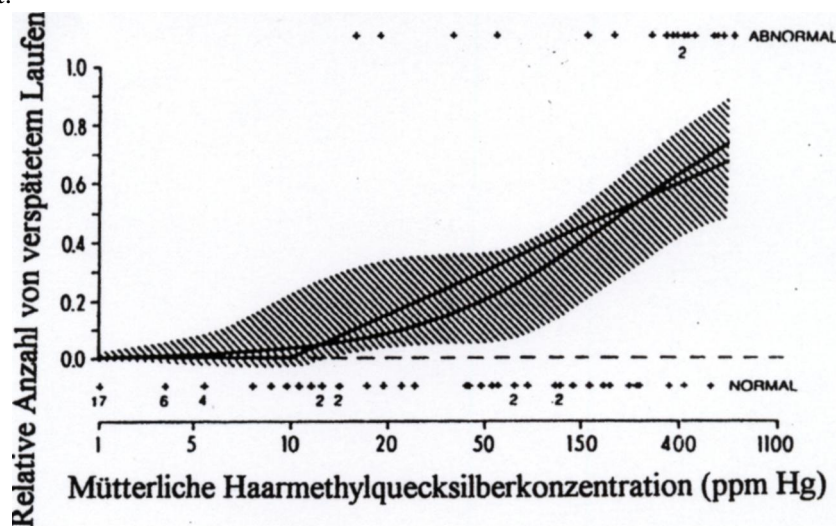


Abbildung 24:

Darstellung des Logit- und des „Hockeyschläger“-Modells über das Dosis-Antwort-verhältnis zwischen verspätetem Laufen und der maximalen mütterlichen Methylquecksilberkonzentration im Haar während der Schwangerschaft. Die beiden Dosis-Antwortkurven sind mit soliden Linien dargestellt, die gestrichelte Fläche repräsentiert die 95%-Konfidenzintervalle.

Dies Modell beinhaltet, daß bei steigender Hintergrundprävalenz, also bei einer graphisch bei einem höheren Wert die y-Achse schneidenden waagerechten Geraden.