

Genetische Grundlagen der chronischen Pankreatitis

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der Lehrbefähigung

für das Fach

Experimentelle Pädiatrie

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Herrn Dr. med. Heiko Witt

geboren am 07.10.1966 in Berlin

Dekane: Prof. Dr. med. Joachim W. Dudenhausen

Prof. Dr. med. Martin Paul

eingereicht: September 2003

Datum der letzten Prüfung: 18.10.2004

Gutachter: 1. Prof. Dr. Markus M. Lerch
2. Prof. Dr. Roland M. Schmid

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Einleitung | 5 |
| Epidemiologie | 6 |
| Ätiologie und Pathogenese | 7 |
| Eigene Arbeiten | |
| Trypsinogen-Mutationen bei "idiopathischer" chronischer Pankreatitis | 12 |
| SPINK1-Mutationen als Risikofaktoren der chronischen Pankreatitis | 12 |
| SPINK1-Mutationen sind mit alkoholischer Pankreatitis assoziiert | 13 |
| alpha1-Antitrypsin-Mutationen disponieren nicht zur chronischen Pankreatitis | 14 |
| Hohe Prävalenz von SPINK1-Mutationen bei tropischer Pankreatitis | 14 |
| Der natürliche Verlauf der genetisch determinierten chronischen Pankreatitis | 15 |
| Diskussion | .16 |
| Kationisches Trypsinogen (PRSS1) | 16 |
| Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) | 22 |
| Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) | 27 |
| alpha1-Antitrypsin | 30 |
| Genetisches Modell der chronischen Pankreatitis | 31 |
| Alkoholinduzierte chronische Pankreatitis | 34 |
| Indikationen für eine genetische Analytik | 35 |
| Chronische Pankreatitis - Probleme der Definition und Klassifikation | 36 |
| Zusammenfassung | 38 |
| Literaturverzeichnis | 39 |
| Danksagung | 53 |
| Eidesstattliche Erklärung | 54 |

Wovon man nicht sprechen kann, darüber muß man schweigen.

Ludwig Wittgenstein, 1918

Tractatus logico-philosophicus

Einleitung

Die chronische Pankreatitis ist ein rekurrerender oder kontinuierlicher Entzündungsprozeß der Bauchspeicheldrüse, der bei einigen Patienten in eine exokrine und/oder endokrine Pankreasinsuffizienz mündet (1). Der Schweregrad des akuten Schubs variiert von einer leichten interstitiell-ödematösen bis zu einer schweren hämorrhagisch-nekrotisierenden Entzündung. Morphologisch findet sich eine unregelmäßige Sklerosierung des Organs mit fokaler, segmentaler oder diffuser Zerstörung des exokrinen Gewebes. Häufig lassen sich auch Erweiterungen des Pankreasgangsystems sowie intraduktale Konkremente in Form von Proteinausfällungen oder Steinen nachweisen.

Leitsymptom im Kindesalter sind rezidivierende, plötzlich auftretende abdominelle Schmerzen. Die Schmerzen sind meistens im Epigastrium lokalisiert, können aber auch in andere Körperregionen wie Unterbauch oder Rücken projiziert werden. Im Gegensatz zum Erwachsenenalter bestehen selten permanente Schmerzzustände. Weitere Befunde sind Übelkeit, Erbrechen und abdomineller Druckschmerz. Im Verlauf der Erkrankung entwickelt ein Teil der Patienten eine Pankreasinsuffizienz mit massigen, stinkenden Stuhlentleerungen, Steatorrhoe und Gewichtsabnahme sowie einen Insulinmangeldiabetes.

Im Rahmen der entzündlichen Reaktion können sich Pankreaspseudozysten ausbilden. Die Pseudozysten können zu einer Kompression des Ductus choledochus, des Duodenum oder der Milzvene führen, sich infizieren oder in die Bauchhöhle bzw. ins Retroperitoneum rupturieren. Weitere Komplikationen sind Verkalkungen und Nekrosen mit oder ohne Ausbildung eines Pankreasabszesses. In einigen Fällen treten extrapankreatische Komplikationen wie Pleuraerguß, Aszites, portale Hypertension, Ulcus mit gastrointestinaler Blutung oder eine Gallengangsobstruktion auf. Nach neueren Studien besteht bei der erblichen Pankreatitis ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Pankreaskarzinoms (2,3).

Epidemiologie

Zur Inzidenz und Prävalenz der chronischen Pankreatitis im Kindesalter existieren keine epidemiologischen Daten. Die Inzidenz im Erwachsenenalter wird für die USA und Europa mit 3,5 bis 10 Neuerkrankungen auf 100.000 Einwohner und Jahr angegeben (4,5).

Allerdings ist die chronische Pankreatitis bei Erwachsenen im Gegensatz zum Kindesalter zu 70-80% äthyltoxisch bedingt (6,7). Obwohl einige weitere gut charakterisierte Faktoren, wie metabolische Störungen, anatomische Anomalien oder Traumata, bekannt sind, findet sich in 10-30% der Fälle weder eine auslösende Ursache noch eine positive Familienanamnese (8). Diese als idiopathisch bezeichnete chronische Pankreatitis kommt in zwei Formen vor (9,10,11): Die sogenannte „juvenile“ oder „early onset“-Form manifestiert sich bis zum 30. Lebensjahr mit rezidivierenden abdominellen Schmerzen und nur langsamer Ausbildung einer Pankreasinsuffizienz. Die seltenere „senile“ oder „late onset“-Form manifestiert sich zwischen dem 6. und 8. Lebensjahrzehnt mit exokriner Insuffizienz und zeigt in der Mehrzahl der Fälle einen weitgehend schmerzlosen Verlauf. Der unterschiedliche Verlauf läßt vermuten, daß diesen beiden Formen verschiedene pathophysiologische Mechanismen zugrunde liegen. Eine weitere Unterform der chronischen Pankreatitis ist die sogenannte hereditäre Pankreatitis, die zum ersten Mal 1952 von Comfort und Steinberg beschrieben wurde (12). Sie ist durch rezidivierende Pankreatitisschübe seit der Kindheit, eine positive Familienanamnese, eine gleiche Geschlechtsverteilung und durch Fehlen prädisponierender Faktoren charakterisiert (13).

Da Alkoholabusus im Kindesalter pathogenetisch nicht bedeutsam ist, sind die zur Verfügung stehenden epidemiologischen Daten nicht verwertbar. Nach eigenen Schätzungen dürfte in Deutschland der Anteil der sog. idiopathischen Form bei 40-50% und der Anteil der hereditären Form bei 20-25% liegen. Weitere häufige Ursachen im Kindesalter stellen anatomische Anomalien, Traumata, die zystische Fibrose und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen dar.

Ätiologie und Pathogenese

Nach neueren Erkenntnissen ist ein erheblicher Prozentsatz der idiopathischen Pankreatitis im Kindesalter genetisch bedingt. Daher werden im folgenden die idiopathische und hereditäre Form als primäre chronische Pankreatitis klassifiziert in Abgrenzung zu den durch Stoffwechseldefekte, Noxen, anatomische Anomalien oder systemische Grunderkrankungen bedingten sekundären Formen.

Primäre chronische Pankreatitis

Vor über einem Jahrhundert bildete Chiari die Hypothese, daß die Pankreatitis Folge einer Selbstverdauung des Organs ist (14). Die zellulären Mechanismen blieben aber für lange Zeit ungeklärt. Es wurde postuliert, daß eine übermäßige Trypsinaktivität im Pankreasparenchym mit konsekutiver Aktivierung anderer Enzyme für den Entzündungsprozeß verantwortlich ist (15). Genetische Studien unterstützen die Theorie eines intrapancreatischen Ungleichgewichtes zwischen Verdauungsenzymen und ihren Inhibitoren (16,17). Das Verdauungsenzym Trypsin nimmt im pankreatischen Proteasensystem eine Schlüsselrolle ein. Die Serinprotease Trypsin vermag sich selbst als auch alle anderen proteolytischen Proenzyme des Pankreas zu aktivieren. Das Pankreas synthetisiert und sezerniert Trypsin als inaktives Trypsinogen (Zymogen). Erst im Darm erfolgt durch Abspaltung des Aktivierungspeptides mit Hilfe des Enzyms Enteropeptidase (Enterokinase) die Umwandlung des Trypsinogens zu Trypsin. Geringe Mengen an Trypsinogen werden auch im normalen Pankreasgewebe durch Autolyse zu aktivem Trypsin umgewandelt. Zwei Mechanismen schützen das Pankreas vor einer überschießenden Trypsinaktivität und Selbstverdauung (18): Zum einem wird Trypsin durch den Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) komplexiert. SPINK1, auch als pankreatischer sekretorischer Trypsin-Inhibitor (PSTI) bezeichnet, ist ein wichtiger intrapancreatischer Trypsin-Inhibitor, der Trypsin durch Bildung einer kovalenten Bindung zwischen dem katalytischen Serin der Protease und einem Lysin im reaktiven Zentrum von SPINK1

inhibiert. Zum anderen werden Trypsin und weitere Pankreasproteasen durch Trypsin und trypsinähnliche Enzyme wie Mesotrypsin degradiert.

Die klassische Form der hereditären Pankreatitis folgt einem autosomal dominanten Erbgang und wurde zum ersten Mal 1952 von Comfort und Steinberg beschrieben (12). Vor kurzem gelang es, einen Genort für die hereditäre Pankreatitis auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q35) zu lokalisieren (19,20,21). Wenig später wurde eine Mutation im kationischen Trypsinogen (*PRSS1*) als Erkrankungsursache identifiziert (16). Bei fünf untersuchten Familien fand sich ein Arginin-Histidin-Austausch an Position 122 des Proteins (R122H). Inzwischen wurden mehrere weitere Mutationen im *PRSS1*-Gen beschrieben. Studien bei pädiatrischen Patienten zeigten, daß Trypsinogen-Mutationen auch bei Patienten ohne Familienanamnese für eine chronische Pankreatitis nachweisbar sind (22). Es wird angenommen, daß die Trypsinogen-Mutationen zu einer vermehrten Selbstaktivierung im Pankreasgewebe führen (16,22).

Seit kurzem werden auch Mutationen im Serinprotease-Inhibitor, Kazal Typ 1 (*SPINK1*) mit chronischer Pankreatitis in Verbindung gebracht (17). Eine Punktmutation im Exon 3, die zu einem Asparagin-Serin-Austausch an Position 34 des Proteins führt (N34S), ist mit 80-90% aller *SPINK1*-Mutationen die wichtigste Veränderung. Die N34S-Mutation findet sich vornehmlich bei Patienten ohne Familienanamnese: 20-40 % der Patienten mit sog. idiopathischer chronischer Pankreatitis tragen auf einem oder beiden Allelen diese Mutation (17,23). Eine Heterozygotie für N34S dürfte allerdings pathogenetisch nicht ausreichend sein, da etwa 1-2% der Bevölkerung N34S-Träger sind. Wahrscheinlich führt erst die Kombination mit anderen Gendefekten oder Umweltfaktoren zum Ausbruch der Erkrankung. Neben N34S wurden mehrere weitere *SPINK1*-Mutationen identifiziert, deren Bedeutung zur Zeit noch unklar ist. *SPINK1*-Mutationen finden sich außer bei der sog. idiopathischen Pankreatitis auch vermehrt bei alkohol-induzierter chronischer Pankreatitis (24,25) und bei tropischer Pankreatitis (26,27,28,29).

Auch eine Assoziation zwischen genetischen Veränderungen im zystische Fibrose-Gen (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; *CFTR*) und idiopathischer chronischer Pankreatitis ist beschrieben worden (30,31). Mehrere Arbeiten zeigten, daß heterozygote Träger einer *CFTR*-Mutation ein erhöhtes Erkrankungsrisiko besitzen. Das *CFTR*-Gen kodiert für einen Chloridkanal. Möglicherweise begünstigt eine veränderte Viskosität des Pankreassaftes und/oder eine pH-Änderung infolge eines gestörten Ionentransportes bei heterozygoten *CFTR*-Trägern die Autoaktivierung von Trypsinogen und damit die Krankheitsentstehung. Warum allerdings die überwiegende Mehrheit der Merkmalsträger keine Pankreatitis entwickelt, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt unbekannt.

Die bisher durchgeführten genetischen Studien legen nahe, daß die primäre chronische Pankreatitis eine genetisch heterogene Erkrankung ist, die in Abhängigkeit von den defekten Genen bzw. den zugrundeliegenden Mutationen einem autosomal dominanten, einem autosomal rezessiven oder einem komplexen Erbgang folgt. In Zukunft werden voraussichtlich Defekte in weiteren Genen identifiziert werden, da Veränderungen im *PRSS1*-, *SPINK1*- und *CFTR*-Gen nur bei etwa 50% der Patienten mit primärer chronischer Pankreatitis zu finden sind. Die vollständige Aufklärung der genetischen Ursachen wird vermutlich die Unterscheidung zwischen hereditärer und idiopathischer chronischer Pankreatitis obsolet werden lassen.

Sekundäre chronische Pankreatitis

Eine Verbindung zwischen Pankreatitis und Kollagenosen wie systemischer Lupus erythematoses, rheumatoider Arthritis, Polyarteriitis nodosa und Morbus Behçet ist berichtet worden (32). Vermutlich ist die Pankreatitis Folge einer Vaskulitis. Inwieweit immunologische Mechanismen im Sinne einer Autoimmunpankreatitis an der Pathogenese beteiligt sind, ist zur Zeit ungeklärt.

Die Verbindung zwischen chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und chronischer Pankreatitis war lange Zeit Gegenstand von Kontroversen. Ein lokales Entzündungsgeschehen im Duodenum, eine begleitende primär sklerosierende Cholangitis oder die medikamentöse Therapie wurden als Ursache diskutiert. Neuere Studien legen jedoch nahe, daß die Pankreatitis unabhängig von diesen genannten Faktoren entsteht und den klinischen Zeichen einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung um Jahre vorausgehen kann (33,34).

Eine Assoziation mit der primär sklerosierenden Cholangitis (mit oder ohne chronisch-entzündliche Darmerkrankung) besteht ebenfalls (35,36). Inwieweit die Pankreatitis durch Obstruktion des gemeinsamen pankreatikobiliären Ganges oder durch andere Mechanismen bedingt ist, ist zur Zeit ungeklärt.

Die Mehrheit der Patienten mit einem hämolytisch-urämischem Syndrom zeigen transiente Pankreasenzym erhöhungen im Rahmen einer akuten Begleitpankreatitis (37,38). In seltenen Fällen kann es zur Ausbildung einer chronischen Pankreatitis kommen.

Primäre und sekundäre Hyperlipoproteinämien, die mit hohen Plasma-Triglyceriden einhergehen (Lipoproteinlipase-Mangel, Apolipoprotein CII-Mangel) können zu rezidivierenden Pankreatitiden führen (39). Der Mechanismus ist bislang ungeklärt.

Eine Hypercalciämie (z.B. bei primärem Hyperparathyreoidismus, Vitamin D-Intoxikation oder exzessiver iatrogener Calciumzufuhr) vermag eine akute Pankreatitis auszulösen, die bei weiterbestehender Ursache rezidivieren kann (40).

Obwohl die Pankreasinsuffizienz bei zystischer Fibrose Folge einer entzündlichen Zerstörung der Drüse ist, wurde die zystische Fibrose nicht in die Marseiller Pankreatitis-Klassifikation aufgenommen. 1-2% der Patienten mit zystischer Fibrose zeigen klinisch das Bild einer rezidivierenden Pankreatitis. Diese Verlaufsform wird meistens bei pankreassuffizienten Patienten gefunden (41,42,43).

Einige Medikamente (z.B. Thiazid-Diuretika, Furosemid, Valproat oder Immunsuppressiva wie Tacrolimus) provozieren eine akute Pankreatitis und können bei längerer Einnahme rezidivierende Schübe verursachen.

Einzelne Fallberichte beschrieben eine chronische Pankreatitis bei chronischer Niereninsuffizienz bzw. nach Nierentransplantation. Es ist unklar, ob die Pankreatitis bei Nierentransplantierten Folge der durch die Niereninsuffizienz bedingten metabolischen Veränderungen oder Folge immunsuppressiver Medikamente (FK 506 etc.) ist.

In nicht industrialisierten Ländern wird die Malnutrition als wichtiger Auslöser einer chronischen Pankreatitis angesehen. Die Ursache ist weitgehend ungeklärt. Eine Proteinmangelernährung, ein Mangel an Spurenelementen wie Zink oder Selen oder ein Vitaminmangel werden als ursächlich diskutiert. Neuere Daten legen jedoch eine genetische Grundlage nahe (26,27,28,29).

Die Assoziation eines Pankreas divisum mit einer chronischen Pankreatitis wird bis heute kontrovers diskutiert (44,45,46). Das Pankreas divisum ist Folge einer fehlenden Fusion der ventralen und dorsalen Pankreasgänge während der Embryonalentwicklung und findet sich bei bis zu 10% der Normalbevölkerung. Eine Assoziation mit anderen anatomischen Anomalien wie Choledochuszysten, Pankreas annulare und Pankreasgangduplikationen ist ebenfalls beschrieben worden.

Abdominelle Traumata verursachen eine selbstlimitierende akute Pankreatitis, die in seltenen Fällen, insbesondere bei Pseudozystenbildung oder Ruptur des Pankreasganges, in eine chronische Pankreatitis übergeht.

Eigene Arbeiten

Assoziation der A16V-Mutation im kationischen Trypsinogen-Gen mit "idiopathischer" chronischer Pankreatitis

Witt H, Luck W, Becker M. A signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene is strongly associated with chronic pancreatitis. Gastroenterology 1999;117:7-10.*

In dieser Arbeit untersuchten wir 44 nicht verwandte Kinder und Jugendliche mit idiopathischer oder hereditärer chronischer Pankreatitis mittels direkter DNA-Fluoreszenzsequenzierung auf genetische Defekte im kationischen Trypsinogen (*PRSS1*). Bei 5 Patienten fand sich eine *PRSS1*-Mutation. Vier Patienten wiesen eine Variation im Aktivierungspeptid an der Signalpeptid-Schnittstelle auf (A16V). Die A16V-Mutation wurde vor allem bei Patienten ohne Familienanamnese für eine chronische Pankreatitis gefunden.

Mutationen des Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (*SPINK1*) sind mit Pankreatitis assoziiert

Witt H, Luck W, Hennies HC, Claßen, Kage A, Laß U, Landt O, Becker M. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. Nature Genet 2000;25:213-216.*

Da nach unseren Untersuchungen die Mehrheit der pädiatrischen Patienten keine *PRSS1*-Mutation aufwies, analysierten wir das Gen für den Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (*SPINK1*). *SPINK1* ist ein wichtiger intrapankreatischer Trypsin-Inhibitor. Nach Charakterisierung der genomischen Sequenz mittels intron-übergreifender "long-range" PCR wurden bei 96 Patienten die kodierenden Bereiche mittels DNA-Sequenzierung untersucht. Bei 23% fand sich eine Mutation im *SPINK1*-Gen: 18 Patienten wiesen einen Aminosäureaustausch im Kodon 34 (N34S) auf; 6 Patienten waren homozygot für diese Veränderung. Zusätzlich wurden vier weitere Mutationen identifiziert. Von 279 gesunden

Kontrollpersonen, die mittels Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) Analyse untersucht wurden, war nur eine heterozygot und keine homozygot für die N34S-Mutation. Zum Ausschluß einer "compound heterozygosity" wurden bei den 12 heterozygoten N34S-Patienten die komplette Intronsequenz analysiert.

Die beiden oben genannten Arbeiten konnten erstmalig zeigen, daß auch bei Patienten mit "idiopathischer" Pankreatitis genetische Defekte im pankreatischen Proteasesystem an der Ausbildung der Erkrankung beteiligt sind. Durch die Entdeckung von Mutationen im *SPINK1*-Gen gelang es, ein neues Gen zu identifizieren, das an der Pathogenese der Pankreatitis einen wesentlichen Anteil hat. Die Ergebnisse erweitern das pathogenetische Konzept der chronischen Pankreatitis insofern, daß nicht allein eine vermehrte Trypsinaktivität, sondern ein gestörtes Gleichgewicht zwischen Proteasen und ihren Inhibitoren im Pankreas maßgeblich für die Krankheitsentstehung ist. Im weiteren stellen die Ergebnisse das Konzept der idiopathischen chronischen Pankreatitis als eine nicht-genetische Erkrankung und die Differenzierung zwischen hereditärer und idiopathischer Pankreatitis in Frage.

***SPINK1*-Mutationen sind mit alkoholischer chronischer Pankreatitis assoziiert**

Witt H, Luck W, Becker M, Böhmig M, Kage A, Truninger K, Ammann RW, O'Reilly D, Kingsnorth A, Schulz HU, Halangk W, Kielstein V, Knoefel WT, Teich N, Keim V. Mutation in the SPINK 1 trypsin inhibitor gene, alcohol use, and chronic pancreatitis. JAMA 2001;285:2716-2717.*

Im Gegensatz zum Kindesalter ist eine chronische Pankreatitis bei Erwachsenen zu etwa 70% äthyltoxisch bedingt. Da nur 5-10% der Alkoholiker eine chronische Pankreatitis entwickeln, wurde schon lange eine genetische Disposition vermutet. In einer internationalen Multicenter-Studie untersuchten wir am LightCycler mittels FRET-Proben und Schmelzkurvenanalyse 274 Patienten mit alkoholischer Pankreatitis aus Großbritannien, der Schweiz und Deutschland auf die N34S-Variante im *SPINK1*-Gen. N34S fand sich bei 16 Patienten mit äthyltoxischer chronischer Pankreatitis (5,8%), aber bei nur 1 von 98 Patienten mit Alkoholabusus ohne Pankreatitis (1,0%) und bei nur 4 von 540 Gesunden (0,8%).

alpha1-Antitrypsin-Mutationen disponieren nicht zur chronischen Pankreatitis

Witt H, Kage A, Luck W, Becker M. α_1 -antitrypsin genotypes in patients with chronic pancreatitis. Scand J Gastroenterol 2002;37:356-359.*

Der autosomal rezessiv vererbte α_1 -Antitrypsinmangel ist mit einer chronischen Hepatopathie und einem Lungenemphysem assoziiert. Zur Bedeutung eines α_1 -Antitrypsinmangels bei chronischer Pankreatitis existieren widersprüchliche Daten. Bei der Genotypisierung von 96 pädiatrischen Patienten mit idiopathischer oder hereditärer chronischer Pankreatitis mittels RFLP-Analyse auf die Mangelallele *PiS* (E264V) und *PiZ* (E342K) fanden wir keine Assoziation mit chronischer Pankreatitis.

Hohe Prävalenz von *SPINK1*-Mutationen bei tropischer Pankreatitis

Bhatia E, Choudhuri G, Sikora SS, Landt O, Kage A, Becker M, Witt H. Tropical calcific pancreatitis: strong association with *SPINK1* trypsin inhibitor mutations. Gastroenterology 2002; 123: 1020-1025.*

Die tropische Pankreatitis wird als eine Sonderform der juvenilen idiopathischen Pankreatitis angesehen, die spezifisch in tropischen Regionen vorkommt. Pathogenetisch wurden lange Zeit Malnutrition, Antioxidantien-Defizienz und eine toxische Schädigung des Pankreas durch Cassava-Konsum diskutiert. In Kooperation mit einer indischen Arbeitsgruppe untersuchten wir 66 nicht verwandte Patienten mit tropischer Pankreatitis, 25 Angehörige und 92 gesunde indische Kontrollen auf *PRSS1*- und *SPINK1*-Mutationen. 29/66 (44%) Patienten wiesen eine *SPINK1* N34S-Mutation auf, wobei 9 (14%) der Patienten homozygot für N34S waren. Nur 2/92 (2,2%) Kontrollpersonen waren N34S heterozygot. Keiner der Patienten oder der Kontrollpersonen wies eine *PRSS1*-Mutation auf. Diese Daten zeigen, daß genetische Dispositionsfaktoren auch bei der Pathogenese der tropischen Pankreatitis einen wesentlichen Stellenwert besitzen und stellen das Konzept der tropischen Pankreatitis als eigene, tropenspezifische Krankheitsentität in Frage.

Der natürliche Verlauf der genetisch determinierten chronischen Pankreatitis

Keim V, Witt H, Bauer N, Bödeker H, Rosendahl J, Teich N, Mössner J. The course of genetically determined chronic pancreatitis. JOP 2003;4:146-154.*

In dieser Arbeit untersuchten wir in Kooperation mit der Medizinischen Klinik in Leipzig in Fall-Kontroll-Studien den natürlichen Verlauf der genetisch determinierten chronischen Pankreatitis. 80 Patienten mit Trypsinogen-Mutationen (21x N29I, 59x R122H) und 59 Patienten mit der *SPINK1* N34S-Mutation wurden in die Studie eingeschlossen. Die Analysen zeigten, daß die Krankheitsprogression bei Patienten mit *SPINK1*-Mutationen stärker war als bei Patienten mit *PRSS1*-Mutationen, aber weitaus langsamer als bei Patienten mit alkoholischer chronischer Pankreatitis.

Diskussion

Vor über 50 Jahren beschrieben Comfort und Steinberg ein familiär gehäuftes Auftreten der chronischen Pankreatitis und postulierten bei diesen Patienten eine genetische Ursache (12). Der zugrundeliegende Defekt blieb aber für mehr als 4 Jahrzehnte unbekannt. Die Autoren dieser ersten Falldarstellung merkten an, daß „die hereditäre chronisch rezidivierende Pankreatitis keine besonderen Kennzeichen aufweist, die sie von der nicht hereditären chronisch rezidivierenden Pankreatitis unterscheidet“ (12). Die erbliche Pankreatitis galt bislang als seltene Erkrankung. Die überwiegende Mehrheit der Patienten mit chronischer Pankreatitis weist keine Familienanamnese auf. In 10-30% der Fälle ist keine auslösende Ursache erkennbar. Diese als idiopathisch bezeichnete Form der Pankreatitis ist neueren Erkenntnissen zufolge vermutlich auch genetisch determiniert.

Vor über einem Jahrhundert bildete Hans Chiari die Hypothese, daß die Pankreatitis Folge einer Selbstverdauung des Organs ist (14). Die zellulären Mechanismen blieben aber für lange Zeit ungeklärt. Es wurde postuliert, daß eine übermäßige Trypsinaktivität im Pankreasparenchym mit konsekutiver Aktivierung anderer Enzyme für den Entzündungsprozeß verantwortlich ist (15). Die Identifizierung von Mutationen im kationischen Trypsinogen-Gen bestätigte die bedeutende Rolle des pankreatischen Proteasesystems bei der Pathogenese der chronischen Pankreatitis (16).

Kationisches Trypsinogen (PRSS1)

Biologische Funktion

Das kationische Trypsinogen (OMIM #276000) (47), auch als Serinprotease 1 (PRSS1) bezeichnet, gehört zu den meistsynthetisierten sekretorischen Proteinen des Pankreas (48). Drei verschiedene Trypsinogene wurden aus dem Pankreassekret isoliert, die entsprechend

ihres Wanderungsverhaltens in der isoelektrischen Fokussierung als anionisches, kationisches und Mesotrypsinogen bezeichnet werden (49). Der Anteil der kationischen Form am Gesamtrypsinogen beträgt 40% und der Anteil der anionischen Form 60%, während das Mesotrypsinogen nur in geringer Menge nachweisbar ist (49). Kationisches und anionisches Trypsinogen besitzen die gleiche enzymatische Aktivität; das kationische Isoenzym zeigt aber eine stärkere Neigung zur Selbstaktivierung und eine geringere Inaktivierungstendenz (50,51).

Das *PRSS1*-Gen ist auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q35) lokalisiert, erstreckt sich über 3,6 kb und besteht aus 5 Exonen (22). Das Präproprotein besitzt 247 Aminosäuren, von denen die ersten 15 Aminosäuren die Signalsequenz und die Aminosäuren 16-23 das Aktivierungspeptid bilden. *PRSS1* ist mit sieben anderen Trypsinogen-Genen tandemartig im β -T-Zellrezeptorlokus angeordnet. Drei nicht funktionelle Pseudogene befinden sich im 5'-Bereich des β -T-Zellrezeptorlokus, während fünf weitere Gene einschließlich des kationischen und anionischen Trypsinogens am 3'-Ende lokalisiert sind (52). Das Mesotrypsinogen-Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 9 (9p13) lokalisiert. Die Trypsinogen-Gene weisen eine hohe Homologie von mehr als 90% auf (52).

Trypsin nimmt bei der Aktivierung der pankreatischen Verdauungsenzyme eine Schlüsselrolle ein: Die Serinprotease vermag sich selbst als auch alle anderen proteolytischen Proenzyme des Pankreas zu aktivieren. Das Pankreas synthetisiert und sezerniert Trypsin als inaktives Trypsinogen (Zymogen). Erst im Darm erfolgt durch Abspaltung des Aktivierungspeptides mit Hilfe des Enzyms Enteropeptidase (Enterokinase) die Umwandlung des Trypsinogens zu Trypsin. Mehrere Mechanismen schützen das Pankreas vor einer Aktivierung der pankreatischen Enzymkaskade und Selbstverdauung (18): Die Synthese der Verdauungsenzyme in Form von inaktiven Proenzymen (Zymogenen), die Lokalisierung des aktivierenden Enzyms Enteropeptidase außerhalb des Pankreas und eine niedrige intrapancreatische Calciumkonzentration. Jedoch werden auch im normalen Pankreasgewebe geringe Mengen an Trypsinogen durch Autolyse zu aktivem Trypsin umgewandelt. Diese Trypsinaktivität wird aber durch zwei Mechanismen

eingedämmt. Zum einen wird Trypsin durch Bindung an den Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) komplexiert, zum anderen können Trypsin und weitere Pankreasproteasen durch Trypsin und trypsinähnliche Enzyme wie Mesotrypsin degradiert werden (18).

Identifizierung von *PRSS1* als Pankreatitis-Gen

1996 gelang es mehreren Arbeitsgruppen unabhängig voneinander mittels Kopplungsanalysen einen Genort für die hereditäre Pankreatitis auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q35) zu lokalisieren (19,20,21). Im gleichen Jahr identifizierten David Whitcomb und Mitarbeiter eine Mutation im kationischen Trypsinogen-Gen als Ursache für die Erkrankung. Bei fünf untersuchten Familien fand sich ein Austausch eines Arginins durch ein Histidin an Position 122 des Proteins (R122H) (16). Inzwischen wurden mehrere weitere Mutationen im *PRSS1*-Gen beschrieben wie z.B. A16V, D22G, K23R, N29I, N29T und R122C (22,53,54,55,56,57,58,59,60,61). Die Untersuchung pädiatrischer Patienten zeigte zudem, daß Trypsinogen-Mutationen auch bei Fällen ohne Familienanamnese, also bei der idiopathischen Form, nachweisbar sind (22). Es wird angenommen, daß diese Mutationen zu einer vermehrten Trypsinaktivität im Pankreasgewebe und damit zur Selbstverdauung und Entzündung des Organs führen.

R122H

Die R122H-Mutation ist die wahrscheinlich weltweit die häufigste *PRSS1*-Mutation (16,22,55,58). Auch wenn die starke Assoziation dieser Mutation mit der chronischen Pankreatitis inzwischen unbezweifelt ist, ist der zugrundeliegende pathogenetische Mechanismus wenig verstanden. Anhand von Simulationen am dreidimensionalen Strukturmodell des Trypsinogenmoleküls („molecular modelling“) wurde vermutet, daß die R122H-Mutation aktiviertes Trypsin unempfindlich gegenüber hydrolytischer Inaktivierung werden läßt (16). Die verminderte proteolytische Inaktivierung durch Mutation einer Serinproteasen-Schnittstelle ist auch bei anderen Erkrankungen ein wesentlicher pathogenetischer Mechanismus. So wird die Resistenz gegenüber aktiviertem Protein C (APC-Resistenz) bei erblicher Thrombophilie durch die Mutation eines Arginins im

Gerinnungsfaktor V hervorgerufen, die zu einer stark verminderten Inaktivierung des Faktor V führt (62). In-vitro-Experimente zeigten, daß das Arginin an Position 122 eine wichtige Schnittstelle für die proteolytische Spaltung und damit Inaktivierung des Trypsinogens darstellt (63,64,65). Die proteolytische Inaktivierung ist ein postulierter Schutzmechanismus gegen eine überschießende Trypsinaktivität im Pankreas. Das mutierte Trypsin würde der Hydrolyse entgehen und dadurch die Verdauungsenzymkaskade aktivieren. Funktionelle Untersuchungen an rekombinantem Trypsinogen der Ratte unterstützten diese Hypothese: Das mutierte Trypsinogen behielt seine katalytischen Eigenschaften, wies aber eine erhöhte Resistenz gegenüber proteolytischem Abbau auf (66,67). Neuere Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, daß eine vermehrte Trypsinogenaktivierung der wesentliche Pathomechanismus ist (68). Die gezielte Mutagenese von rekombinantem humanen Trypsinogen ergab, daß beide der untersuchten Mutationen (R122H und N29I) in vitro zu einer verstärkten Autoaktivierung führten, während R122H zusätzlich den proteolytischen Abbau des Enzyms verminderte (68).

N29I

Zwei unabhängige Arbeitsgruppen beschrieben eine A zu T Transversion im Exon 2, die einen Austausch von Asparagin durch Isoleucin im Kodon 29 bedingt (N29I) (53,54). Mehrere Studien bestätigten diese Mutation (17,55,58,59). Es wurde vermutet, daß N29I zu einer vermehrten Autoaktivierung (53,54) oder zu einer verminderten Proteolyse führt (54). Die zweite Hypothese wurde anfänglich durch In-vitro-Experimente am Trypsinogen der Ratte unterstützt (69), jedoch zeigten funktionelle Studien an rekombinantem menschlichen Trypsinogen eine vermehrte Autoaktivierung und keine verminderte Degradierung (68).

A16V

Bei der Analyse pädiatrischer Patienten fand sich bei 4 von 44 nicht verwandten Erkrankten eine C zu T Transition im Exon 2, die zu einem Austausch von Alanin gegen Valin an Position 16 führt (A16V) (22). Drei der vier betroffenen Patienten wiesen keine Familienanamnese auf, obwohl die Mutation in allen Fällen durch ein Elternteil vererbt

wurde. Von 7 Angehörigen mit der A16V-Mutation war nur einer ebenfalls klinisch betroffen. Im Gegensatz zu den beiden vorher erwähnten Mutationen (R122H, N29I) besitzt A16V nur eine geringe Penetranz. Zwei Gruppen bestätigten inzwischen diese Mutation (70,71). Die A16V-Mutation verändert die erste Aminosäure des Trypsinogen-Aktivierungspeptides (Abbildung 1). Zwei weitere Mutationen, D22G und K23R, sind in dem nur 8 Aminosäuren langen Aktivierungspeptid beschrieben worden (55,56), was darauf hindeutet, daß Mutationen in dieser kurzen Sequenz von entscheidender funktioneller Bedeutung sind. Bislang gibt es keine funktionellen Untersuchungen zu A16V. Es ist denkbar, daß eine Konformationsänderung des Aktivierungspeptides zu einer vermehrten Autoaktivierung infolge erleichterter Proteolyse führt (22).

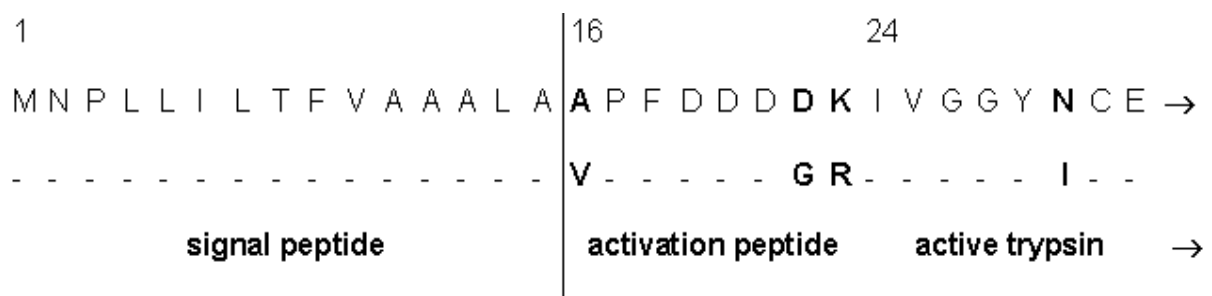


Abbildung 1: N-terminale Aminosäuresequenz des kationischen Trypsinogens

Andere PRSS1-Mutationen

Mehrere weitere Mutationen im kationischen Trypsinogen sind beschrieben worden, deren pathogenetische Relevanz allerdings nicht gesichert ist. Bei der Mutationsanalyse von 14 Familien mit hereditärer Pankreatitis fand sich bei zwei Mitgliedern einer Familie eine A zu G Transition im Exon 2, die zu einem Austausch von Arginin gegen Lysin an Position 23 führt (K23R) (55). Diese Mutationen ist bislang nur einmal beschrieben worden.

Eine andere Studie beschrieb eine A zu G Transition im Exon 2, die einen Austausch von Asparaginsäure gegen Glycin an Position 22 bedingt (D22G) (56). Die Mutation war nachweisbar beim Indexpatient, bei der gesunden Schwester und bei der betroffenen Mutter. Der Onkel und die Großmutter litten ebenfalls unter rezidivierenden Abdominalschmerzen. Allerdings stand von beiden keine Probe für die genetische Analyse zur Verfügung. In-vitro-Experimente mit synthetischen Dodeka-Peptiden des aminoterminalen Endes zeigten, daß das D22G- und das K23R-Peptid im Vergleich zum Wildtyp-Peptid eine verstärkte Hydrolyserate aufwies (56). Es wurde gefolgert, daß beide Mutationen durch erleichtertes Abspalten des Aktivierungspeptides eine vermehrte Autoaktivierung des Trypsinogens bedingen.

Vererbungsmodell

Die hereditäre Pankreatitis ist definiert als eine autosomal dominante Erkrankung mit einer variablen Penetranz von 40-80% (72). Die Charakteristika der Familien mit der R122H- oder der N29I-Mutation sind mit diesem Konzept gut vereinbar. Im Gegensatz dazu weist die A16V-Mutation nur eine geringe Penetranz auf und wird typischer Weise bei Patienten mit idiopathischer Pankreatitis gefunden (22). Dieser Befund läßt darauf schließen, daß *PRSS1*-Mutationen nicht nur einem autosomal dominanten Erbgang folgen. Trypsinogen-Mutationen weisen somit eine beträchtliche Variabilität in der Penetranz auf. Die in der jüngsten Literatur zitierte Penetranz von 80% spiegelt wahrscheinlich mehr die Penetranz bestimmter Mutationen wie R122H als die allgemeine Penetranz wider. Die Identifizierung von *SPINK1*-Mutationen bei Patienten mit chronischer Pankreatitis untermauert die genetische Heterogenität der Erkrankung.

Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1)

Biologische Funktion

Der Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) (OMIM #167790) (47), auch als pankreatischer sekretorischer (PSTI) oder als tumorassoziiertes Trypsin-Inhibitor (TATI) bezeichnet, ist ein spezifischer intrapankreatischer Trypsin-Inhibitor. SPINK1 wurde erstmalig 1948 von Kazal und Mitarbeitern aus dem Rinderpankreas isoliert (73) und lässt sich im Pankreassekret aller untersuchten Spezies nachweisen. Außer dem Pankreas exprimieren auch der Gastrointestinaltrakt sowie zahlreiche andere Gewebe wie Leber, Lunge, Nieren, Ovarien und Brustdrüse SPINK1 (74,75). SPINK1 fungiert nicht nur als intrapankreatischer Proteaseninhibitor, sondern auch als akute-Phase-Protein und ist wahrscheinlich bedeutsam beim Schutz der gastrointestinalen Epithelschicht vor exzessiver Verdauung und bei der Wundheilung (76).

Das humane *SPINK1*-Gen ist lokalisiert auf dem Chromosom 5, erstreckt sich über 7,5 kb und setzt sich aus 4 Exonen zusammen (77). SPINK1 besteht aus 79 Aminosäuren, von denen die ersten 23 Aminosäuren die Signalsequenz bilden. Das sezernierte Protein besitzt 56 Aminosäuren und ist ausgesprochen stabil bei saurem pH. Das reaktive Zentrum von SPINK1 bildet ein Lysin an Position 41 und ein Isoleucin an Position 42 (K41-I42) (78). Die Inkubation äquimolarer Mengen von Trypsin und dem Inhibitor führt zu einer kovalenten Bindung zwischen dem katalytischen Serin der Protease und dem Lysin im reaktiven Zentrum von SPINK1. Nach längerer Inkubation wurde allerdings ein kontinuierlicher Wiederanstieg der Trypsinaktivität beobachtet (79). Dieses Phänomen der „temporären Inhibition“ wird durch die Tatsache erklärt, daß der Trypsin-Inhibitor-Komplex selber als Substrat für Trypsin dient. Die dadurch bedingte Degradierung des Inhibitormoleküls resultiert in einer Wiederherstellung der ursprünglichen Trypsinaktivität.

N34S

Da viele Patienten mit hereditärer Pankreatitis keine Mutation im *PRSS1*-Gen aufweisen, wurde postuliert, daß genetische Defekte in anderen Genen existieren, die ebenfalls zu einer Pankreatitis führen. Dieses wurde durch die Identifizierung von *SPINK1* als weiteres Pankreatitis-Gen bestätigt (17): Bei 22 von 96 (23%) pädiatrischen Patienten mit chronischer Pankreatitis wurde eine Mutation in diesem Gen nachgewiesen.

18 Patienten besaßen eine A zu G Transition im Exon 3, die zu einem Austausch von Asparagin gegen Serin an Position 34 führt (N34S) (17). Mit 80-90% aller Mutationen ist N34S die wichtigste genetische *SPINK1*-Veränderung. Sechs der Patienten waren homozygot für diese Mutation. Phänotypische Unterschiede zwischen heterozygoten und homozygoten N34S-Trägern bestanden nicht. Eine andere Arbeitsgruppe bestätigte die hohe Frequenz von N34S bei chronischer Pankreatitis: Von 57 Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis waren 7 homozygot und 16 heterozygot für N34S (23). Im Gegensatz dazu fand eine französische Arbeitsgruppe, die 14 familiäre und 30 idiopathische Patienten untersuchte, keine Assoziation zwischen der Erkrankung mit *SPINK1* (80).

N34S ist ausnahmslos mit vier weiteren intronischen Polymorphismen gekoppelt: IVS1-37 T>C, IVS2+268 A>G, IVS3-604 G>A und IVS3-66_-69 insTTTT (Abbildung 2) (17).

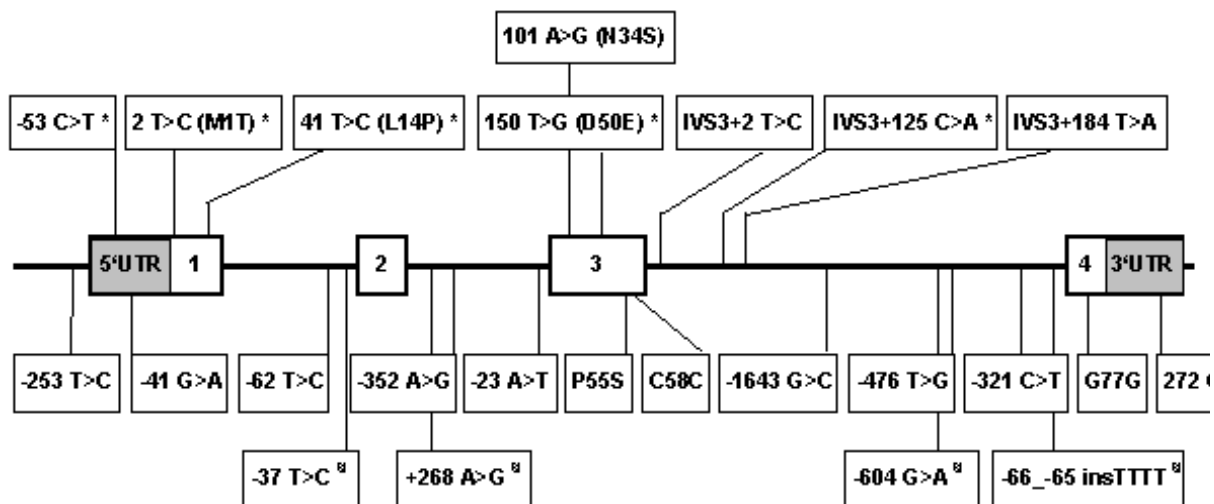


Abbildung 2: Mutationen und Polymorphismen im *SPINK1*-Gen

Die vollständige Kopplung dieser 5 genetischen Veränderungen weist darauf hin, daß diese Mutationen vor sehr langer Zeit entstanden sind. Da die N34S-Mutation nahe an dem reaktiven Zentrum (K41-I42) gelegen ist, führt sie möglicherweise zu einer verminderten Inhibitor-Kapazität. Allerdings ist das Asparagin an Position 34 zwischen verschiedenen Spezies nicht konserviert (76). Bislang existiert nur eine publizierte Studie zur funktionellen Auswirkung der N34S-Mutation, die keinen Effekt auf die Trypsininhibition zeigen konnte (81). Nach nicht publizierten Daten einer anderen Arbeitsgruppe geht N34S allerdings mit einer verminderten Inhibitor-Kapazität einher (Miklós Sahin-Tóth, persönliche Mitteilung).

Denkbar wäre auch eine vermehrte Degradierung im endoplasmatischen Retikulum durch fehlerhafte Proteinprozessierung wie es für Erkrankungen wie z.B. die zystische Fibrose oder den α 1-Antitrypsinmangel beschrieben ist (82,83). Jedoch ist es nicht auszuschließen, daß nicht N34S, sondern eine der vier gekoppelten Intronvarianten die pathogenetisch relevante Mutation darstellt. Intronische Mutationen sind bei einigen Erkrankungen wie der zystischen Fibrose oder der β -Thalassämie von hoher Bedeutung (84,85).

Die N34S-Mutation findet sich vornehmlich bei Patienten ohne Familienanamnese: 25-40% der Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis tragen auf einem oder beiden Allelen diese Mutation (17,23). Allerdings dürfte eine Heterozygotie für N34S pathogenetisch nicht ausreichend sein, da ungefähr 1% der Bevölkerung heterozygote N34S-Träger sind. Warum die Mehrheit der N34S-Heterozygoten keine Pankreatitis entwickelt, ist derzeit wenig verstanden. Wahrscheinlich führt erst die Kombination mit anderen Gendefekten (86,87) oder Umweltfaktoren zum Ausbruch der Erkrankung.

Andere SPINK1-Mutationen

Neben N34S wurden mehrere weitere *SPINK1*-Mutationen identifiziert, deren Bedeutung zur Zeit noch unklar ist (Abbildung 2). In einer Familie fand sich eine heterozygote Mutation im Startkodon (2T>C) (17). Die 2T>C-Mutation konnte beim Indexpatienten, dem gesunden Vater, und dem erkrankten Großvater nachgewiesen werden. Der verstorbene Urgroßvater litt ebenfalls an der Erkrankung. Da die Mutation nicht bei dessen Frau nachweisbar war,

dürfte der Urgroßvater ebenfalls Mutationsträger gewesen, vorausgesetzt daß es sich bei seinem Sohn nicht um eine *de novo* Mutation handelt. Dieser Stammbaum läßt einen autosomal dominanten Erbgang mit hoher Penetranz vermuten.

Bei mehreren Patienten wurde eine Mutation der Spleißstelle im Intron 3 nachgewiesen (IVS3+2 T>C). Das T an Position 2 der Spleißdonorstelle ist bei Eukaryonten hoch konserviert. Die Mutation fand sich in einer Studie bei einem Patienten mit Familienanamnese (17) und in einer anderen Studie bei 3 von 122 Patienten, aber nicht bei 190 Kontrollpersonen (23).

Zwei weitere Mutationen wurden jeweils nur bei einem Patienten gefunden: Eine T zu C Transition im Exon 1, die zu einem Austausch von Leucin gegen Prolin an Position 14 führt (L14P) und eine C zu T Transition in der 5'-UTR an Position -53, die möglicherweise ein neues Startkodon (ACG zu ATG) mit vorzeitigem Kettenabbruch durch ein zwei Kodons stromabwärts gelegenes TAA zur Folge hat (17).

Pfützer et al. beschrieben einen gemischt Heterozygoten für die N34S-Mutation und eine T zu G Transversion im Exon 3, die einen Austausch von Asparaginsäure gegen Glutaminsäure im Kodon (D50E) verursacht (23). In derselben Studie wurden zwei weitere Variationen im Intron 3 (IVS3+125 C>A und IVS3+184 T>A) bei einem bzw. 5 Patienten, aber nicht bei 190 gesunden Kontrollen gefunden (23).

Vererbungsmodell

Die Bedeutung der *SPINK1*-Mutationen bei der Pathogenese der chronischen Pankreatitis und das Vererbungsmuster dieser Mutationen wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Eine Gruppe zog den Schluß, daß *SPINK1*-Mutationen weder über einen autosomal rezessiven noch über einen autosomal dominanten Erbgang eine Pankreatitis auslösen (23). Nach unserer Ansicht kann die durch *SPINK1*-Mutationen bedingte Pankreatitis ein autosomal rezessives, ein multigenetisches und ein autosomal dominantes Vererbungsmuster aufweisen (17,88).

Die hohe Frequenz an N34S-Homozygoten suggeriert einen autosomal rezessiven Erbgang. In zwei großen Studien waren ungefähr 10% der Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis homozygot für N34S (17,23). Bei einer Heterozygotenfrequenz von etwa 1% in der allgemeinen Bevölkerung beträgt die erwartete Homozygotenfrequenz 1:40.000. Bei einer angenommenen Prävalenz der idiopathischen chronischen Pankreatitis von 1:16.000 (89), ergibt sich eine geschätzte Penetranz von mindestens 25%. Eine unvollständige Penetranz findet sich bei vielen rezessiven Erkrankungen: Nur 2-3% der Patienten mit homozygotem α 1-Antitrypsinmangel entwickeln eine klinisch relevante Lebererkrankung (90). Ähnliches findet sich bei der hereditären Hämochromatose, die durch einen Cystein-Tyrosin-Austausch an Position 282 (C282Y) des HFE-Proteins verursacht wird. Etliche C282Y-Homozygote entwickeln keine manifeste Hepatopathie (91). Im weiteren findet sich bei der Hämochromatose ein erheblicher Prozentsatz, der nur heterozygot für C282Y ist oder gar keine *HFE*-Mutation besitzt (92,93). Bei Patienten mit chronischer Pankreatitis lassen sich sowohl heterozygote wie auch homozygote Mutationen im zystischen Fibrose-Gen (*CFTR*) nachweisen (30,31). Die hohe N34S-Heterozygotenfrequenz bei idiopathischer chronischer Pankreatitis legt nahe, daß ein Teil dieser Patienten an einer multigenetisch bedingten Erkrankung leidet.

Die oben erwähnte Familie mit der Startkodonmutation (2T>C) im *SPINK1*-Gen suggeriert einen autosomal dominanten Erbgang. Die Tatsache, daß verschiedene Mutationen in demselben Gen den gleichen Phänotyp bei unterschiedlichen Vererbungsmustern hervorrufen können, ist seit langem bekannt. So wird z.B. die β -Thalassämie je nach zugrundeliegender Mutation im Globin-Gen autosomal rezessiv oder autosomal dominant vererbt (94).

Möglicherweise beeinflußt das Ausmaß der intrapankreatischen *SPINK1*-Erniedrigung den Erbgang (88). Die 2T>C-Mutation zerstört das einzige Startkodon des *SPINK1*-Gens und führt wahrscheinlich zu einer 50%igen Reduktion des Inhibitors und somit zu einem dominanten Effekt. Die N34S-Mutation reduziert vermutlich die intrapankreatische *SPINK1*-Kapazität weniger, was einen rezessiven oder komplexen Erbgang zur Folge haben mag.

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)

Biologische Funktion

Die zystische Fibrose (OMIM #219700) (47) ist eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung mit einer geschätzten Inzidenz von 1:2500. Die zystische Fibrose ist durch eine Pankreasinsuffizienz und durch eine chronische Lungenerkrankung charakterisiert. Die Pankreasbeteiligung variiert von einem kompletten Verlust der exokrinen und endokrinen Funktion bis zu einer nahezu normalen Pankreasfunktion. Eine rezidivierende Pankreatitis wird in 1-2% der pankreassuffizienten und selten auch bei pankreasinsuffizienten Patienten beobachtet (41,42,43). 1989 wurde das *CFTR* als Krankheitsgen identifiziert (95,96).

CFTR (OMIM #602421) (47) ist auf dem langen Arm von Chromosom 7 (7q31) lokalisiert, erstreckt sich über 250 kb und besteht aus 27 Exonen (96,97). *CFTR* kodiert für ein Transmembranprotein, ist auf der Oberfläche der meisten Epithelzellen nachweisbar und fungiert als cAMP-abhängiger Chloridkanal (98). Das Pankreas exprimiert *CFTR* in der apikalen Membran der duktulären Zellen aber nicht in den Azinuszellen (99,100,101). *CFTR* besitzt eine bedeutende Rolle in der duktulären Sekretion von Bicarbonat in den Pankreassaft.

Bislang sind über 1000 verschiedene *CFTR*-Mutationen beschrieben worden. Die häufigste *CFTR*-Mutation ist eine Deletion von 3 Basenpaaren im Exon 10, die den Verlust eines Phenylalanins an Position 508 (F508del) zur Folge hat. Diese Mutation findet sich weltweit bei 66% aller CF-Chromosomen (102). *CFTR*-Mutationen lassen sich in 5 Klassen einteilen (103,104): Mutationen, die eine fehlerhafte Transkription der mRNA (Klasse I), eine defekte Proteinprozessierung (Klasse II) oder eine fehlerhafte Aktivierung (Klasse III) bewirken, führen zu einem gering oder nicht funktionellem Protein und sind gewöhnlich mit einem schweren Phänotyp assoziiert. Mutationen, die die Aktivität (Klasse IV) oder Menge (Klasse V) des Proteins reduzieren, führen zu einer erniedrigten aber nicht vollständig aufgehobenen *CFTR*-Funktion und sind oft mit einem milden Phänotyp assoziiert.

CFTR und chronische Pankreatitis

Zwei Arbeiten beschrieben eine starke Assoziation zwischen *CFTR*-Mutationen und chronischer Pankreatitis (30,31). Nachfolgende Studien ergaben jedoch zum Teil widersprüchliche Ergebnisse (86,87,105,106,107,108). Anlaß für die beiden ersten Studien gaben mehrere Beobachtungen: Sowohl bei zystischer Fibrose wie auch bei chronischer Pankreatitis können pathologische Chloridkonzentration im Schweiß nachgewiesen werden (109). Bei beiden Erkrankungen findet sich pathomorphologisch eine dukuläre Obstruktion durch eingedickte Sekretionen (110,111). Im weiteren leiden 1-2% der Patienten mit zystischer Fibrose an einer rekurrenden Pankreatitis (41,42,43). Auch eine Koinzidenz beider Erkrankungen in derselben Familie wurde beobachtet (30). Ein zusätzlicher Hinweis war eine Fallbericht von Ravnik-Glavac und Mitarbeiter, die *CFTR*-Mutationen in zwei Familien mit hereditärer Pankreatitis beschrieben (112).

Sharer und Mitarbeiter untersuchten 134 Patienten mit chronischer Pankreatitis, davon 60 mit idiopathischer und 71 mit alkoholinduzierter Pankreatitis, auf 22 *CFTR*-Mutationen und auf das 5T-Allel im Intron 8 (30). 18 Patienten (13,4%) mit chronischer Pankreatitis bzw. 12 Patienten (20%) mit idiopathischer Pankreatitis waren heterozygot für eine *CFTR*-Mutation. 14 Patienten (10,4%) besaßen ein 5T-Allel im Intron 8. Vier der Patienten waren gemischt heterozygot für eine *CFTR*-Mutation und das 5T-Allel. *CFTR*-Mutationen fanden sich bei alkoholischer Pankreatitis zweimal so häufig und bei idiopathischer viermal so häufig als erwartet, während die Frequenz des 5T-Allels nicht erhöht war (Allelfrequenz 0,05 [113]).

Cohn et al. untersuchten 27 Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis auf 17 *CFTR*-Mutationen und das 5T-Allel (31). Sieben Patienten (25,9%) besaßen mindestens eine *CFTR*-Mutation und 5 Patienten (18,5%) das 5T-Allel. Ein Patient war gemischt heterozygot für F508del und R117H und 2 Patienten für F508del und das 5T-Allel. Eine *CFTR*-Mutation wurde bei den Patienten somit sechsmal häufiger als erwartet gefunden, während die Frequenz des 5T-Allels verdoppelt war.

Vererbungsmodell

Warum heterozygote *CFTR*-Träger ein erhöhtes Risiko für eine chronische Pankreatitis besitzen, ist wenig verstanden. Es wurde die Hypothese gebildet, daß die Kombination zweier milder bzw. einer schweren und einer milden *CFTR*-Mutation den Phänotyp einer Pankreatitis verursacht, während die Kombination zweier schwerer *CFTR*-Mutationen zu dem Phänotyp einer zystischen Fibrose führt. Allerdings waren 16 der 18 von Sharer et al. und 6 der 8 von Cohn et al. gefundenen Mutationen sog. schwere Mutationen (Klasse I-III) und nur ein Patient war gemischt heterozygot (*5T*-Allelfrequenz hierbei nicht berücksichtigt). Da in beiden Studien nur eine kleine Anzahl von Mutationen getestet wurde (17 bzw. 22 von über 1000 bekannten), die bei zystischer Fibrose häufig sind, ist es vorstellbar, daß etliche Patienten eine eher selten auftretende Mutation auf dem zweiten Allel tragen. Dies konnte für einen Teil der Patienten in konsekutiven Arbeiten gezeigt werden (86,87). F508del stellt mit einer Frequenz von 66% die häufigste *CFTR*-Mutation weltweit dar (102). Der prozentuale Anteil der F508del-Mutation belief sich auf 62,5% in der Studie von Cohn et al. und auf 75% in der Studie von Sharer et al. (30,31). Nach unserer Erfahrung finden sich bei mehr als 30% der Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis *CFTR*-Mutationen, wobei F508del weniger als ein Drittel aller Mutationen stellt (unpublizierte Daten).

Warum die überwiegende Mehrheit der heterozygoten *CFTR*-Träger keine Pankreatitis entwickelt und warum in einigen Familien *CFTR*-Mutationen einen dominanten Erbgang nachahmen (112), ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt wenig verstanden. Neuere Publikationen deuten darauf hin, daß die Kombination einer heterozygoten *CFTR*-Mutation mit einem genetischen Defekt in einem anderen Gen wie z.B. *SPINK1* zur chronischen Pankreatitis disponiert (86,87). Dieser Hypothese folgend, würde *CFTR* über einen komplexen Erbgang zu dem Phänotyp einer chronischen Pankreatitis führen.

alpha1-Antitrypsin

Biologische Funktion

α 1-Antitrypsin (OMIM #107400) (47) ist ein bedeutender Inhibitor proteolytischer Enzyme wie der neutrophilen Elastase, des Cathepsin G oder der Proteinase 3 (114). Der autosomal rezessiv vererbte α 1-Antitrypsinmangel ist assoziiert mit einer chronischen Hepatopathie (115) und einem Lungenemphysem (116). Über 100 verschiedene allelische Varianten sind bisher beschrieben; die meisten wirken sich aber nicht auf die Serumkonzentration oder die Funktion aus. Die beiden häufigsten Gendefekte, die einen α 1-Antitrypsinmangel verursachen, sind ein Glutamin-Valin-Austausch im Kodon 264 (E264V) und ein Glutamin-Lysin-Austausch an Position 342 (E342K) (117,118). Nach dem Wanderungsverhalten in der isoelektrischen Fokussierung, die zur Phänotypisierung eingesetzt wird, wird die E264V-Variante als PiS und die E342K-Variante als PiZ bezeichnet.

alpha1-Antitrypsin und chronische Pankreatitis

Einzelne Fallberichte wie auch zwei kleinere Studien beschrieben eine Assoziation zwischen einem α 1-Antitrypsinmangel und chronischer Pankreatitis (119,120,121,122), die aber in anderen Studien wie auch in eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden konnte (123,124,125,126,127). Bei 7 von 96 pädiatrischen Patienten mit chronischer Pankreatitis fand sich eine α 1-Antitrypsinvariante: vier (4,2%) waren heterozygot für PiS und drei (3,1%) für PiZ (126). Keiner der Patienten war homozygot oder gemischt heterozygot für eine der beiden Mutationen. Von 185 Kontrollen waren 12 heterozygot für PiS (6,5%) und 8 für PiZ (4,3%). In einer zeitgleich erschienenen Studie mit 124 Patienten mit nicht-alkoholischer chronischer Pankreatitis konnte ebenfalls keine Assoziation mit den beiden Mangelallelen PiS und PiZ gefunden werden (127). Diese Daten legen nahe, daß dem α 1-Antitrypsinmangel keine Bedeutung bei der Pathogenese der chronischen Pankreatitis zukommt. Dies ist im Einklang mit den Ergebnissen einer großen Follow-up-Studie, die bei 246 PiZ-Homozygoten keinen einzigen Fall einer Pankreatitis beschrieb (128).

Genetisches Modell der chronischen Pankreatitis

Vor über einem Jahrhundert wurde von Chiari die Hypothese gebildet, daß die Pankreatitis Folge einer Selbstverdauung des Organs ist (14). Die zellulären Mechanismen blieben aber für lange Zeit ungeklärt. Es wird angenommen, daß eine vermehrte Trypsinaktivität im Pankreas mit konsekutiver Aktivierung anderer Enzyme zur Organentzündung führt. Mehrere Mechanismen schützen das Pankreas vor einer Selbstverdauung (18): Zum einem wird Trypsin durch Bindung an SPINK1 gehemmt (129,130), zum anderen können Trypsin und weitere Proteasen durch Trypsin und trypsinähnliche Enzyme wie Mesotrypsin degradiert werden (18) (Abbildung 3). Die Identifizierung genetischer Defekte im *PRSS1*- und *SPINK1*-Gen führte zur Hypothese, daß die Pankreatitis das Ergebnis eines Ungleichgewichtes von Proteasen und ihren Inhibitoren innerhalb des Pankreas ist (Abbildung 3).

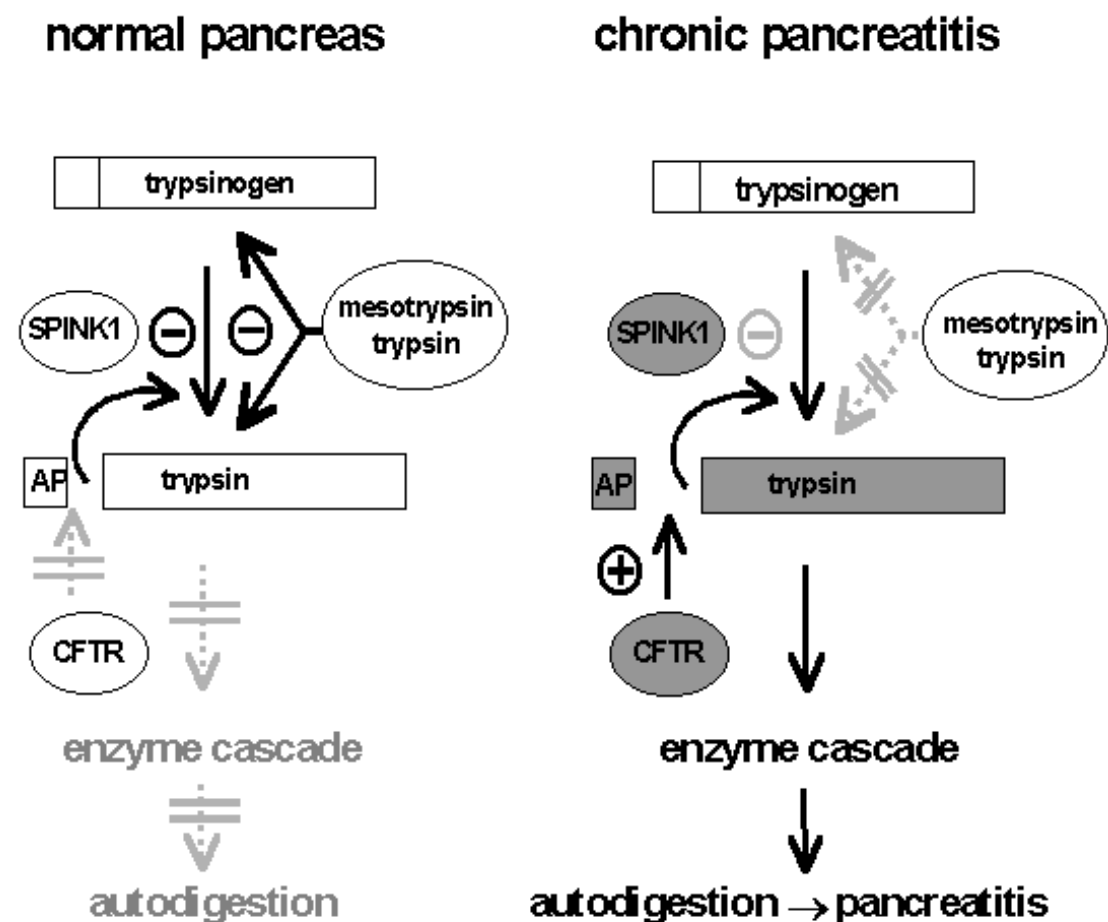


Abbildung 3: Modell der erblichen Pankreatitis

Whitcomb und Mitarbeiter zeigten als erste, daß die Mutation einer Pankreasprotease mit chronischer Pankreatitis assoziiert ist (16). Eine vermehrte Trypsinogenaktivierung mag dabei der entscheidende gemeinsame Initialprozeß sein (56,68). Die Identifizierung von *SPINK1*-Mutationen durch unsere Arbeitsgruppe unterstreicht die Bedeutung des Proteaseinhibitorsystems in der Pathogenese der chronischen Pankreatitis (17). Sowohl Mutationen im kationischen Trypsinogen, die durch eine vermehrte Autoaktivierung eine Funktionsvermehrung („gain of function“) bedingen wie auch Mutationen im *SPINK1*, die infolge einer verminderten Inhibitor Kapazität zu einem Funktionsverlust („loss of function“) führen, können in gleicher Weise das empfindliche intrapankreatische Gleichgewicht der Proteasen und ihrer Inhibitoren stören.

Die Penetranz der einzelnen Mutation mag dabei abhängig von subtilen Unterschieden im Grad der Funktionsbeeinträchtigung sein. In Analogie zu *CFTR*-Mutationen (103,104) ließen sich *PRSS1*- und *SPINK1*-Mutationen in harte und weiche Mutationen einteilen (88). Nach dieser Klassifikation wären *PRSS1*-Mutationen, die zu einer stark vermehrten Autoaktivierung führen oder zusätzliche Effekte zeigen wie eine Resistenz gegen Degradierung (R122H), harte Mutationen mit daraus bedingter hoher Penetranz. Andere *PRSS1*-Mutationen wie A16V würden weiche Mutationen darstellen, die erst in Kombination mit anderen genetischen oder Umweltfaktoren einen krankheitsauslösenden Effekt zeitigen. Auch bei *SPINK1*-Mutationen mag der Effekt abhängig von dem Ausmaß der Erniedrigung der Inhibitor Kapazität sein. Mutationen mit hoher Penetranz wie 2T>C wären harte Mutationen, die zu einer stärkeren *SPINK1*-Reduktion führen als die N34S-Mutation. Ungefähr 1% der Normalbevölkerung sind heterozygot für N34S (24), von denen die Mehrheit nie eine Pankreatitis entwickelt. Zum anderen ist sowohl die Heterozygoten- wie auch die Homozygotenfrequenz für N34S bei chronischer idiopathischer Pankreatitis signifikant erhöht. N34S führt als milde Mutation nur zu einer unterschwelligen Erniedrigung der Inhibitor Kapazität, verursacht aber in Kombination mit einer anderen unterschwelligen *SPINK1*-Erniedrigung (wie z.B. bei Homozygotie für N34S) oder in Kombination mit anderen

Faktoren, die das Protease-Proteaseninhibitor-Gleichgewicht stören, eine Pankreatitis. Wahrscheinlich stellt *CFTR* einen dieser zusätzlichen Störfriede dar.

Es wird vermutet, daß die pankreatische Dysfunktion bei zystischer Fibrose das Ergebnis einer pH-Erniedrigung im dukulären und azinären System ist (131). Folge dieser pH-Erniedrigung könnte eine verminderte Solubilisierung von Proteinen, ein defektes Ausschleusen von Zymogengranula oder eine vermehrte Autoaktivierung des Trypsinogens sein. Sowohl die Autoaktivierung als auch die Degradierung des Trypsinogens ist in hohem Maße pH-abhängig (132). Unter alkalischen Bedingungen läßt sich nur eine geringe Autoaktivierung beobachten, während die Hydrolyse ein Maximum besitzt. Mit sinkendem pH sinkt die Proteolyse kontinuierlich, während die Neigung zur Autoaktivierung steigt und zwischen pH 5 und pH 6 ein Maximum aufweist. Es wäre vorstellbar, daß die Disposition zur Pankreatitis bei heterozygoten *CFTR*-Trägern Folge einer unterschwellig reduzierten *CFTR*-Funktion ist, die in eine erleichterte Trypsinogenaktivierung resultiert.

Die erbliche Pankreatitis ist durch rekurrende Entzündungsschübe gekennzeichnet. Dieser Verlauf wirft die Frage auf, warum diese Erkrankung durch eine wiederkehrende und nicht durch eine kontinuierliche Entzündung gekennzeichnet ist, da der zugrundeliegende genetische Defekt von Geburt an vorhanden ist. Wir postulieren, daß endogene wie auch exogene Faktoren den jeweiligen Entzündungsschub provozieren können. Patienten mit erblicher Pankreatitis berichten gelegentlich, daß eine virale Infektion der akuten Attacke vorausging. Dies legt nahe, daß Viren oder Medikamente wie Salizylate, die in diesem Zusammenhang eingenommen werden, das akute Ereignis initiieren. Von anderen Patienten wird häufig auch Streß (Klassenarbeit, Prüfung) als auslösender Faktor angegeben.

Alkoholinduzierte chronische Pankreatitis

Die Assoziation zwischen Alkoholabusus und chronischer Pankreatitis ist seit langem bekannt. Die Anfälligkeit für eine Pankreatitis weist eine hohe interindividuelle Variabilität auf. Nur 5-10% der Alkoholiker entwickeln eine chronische Pankreatitis (133,134). Die Rolle prädisponierender genetischer Faktoren ist wenig verstanden. Studien zu HLA-Antigenen, Blutgruppen und α 1-Antitrypsin ergaben negative oder widersprüchliche Ergebnisse (134).

Die Assoziation von Mutationen im *CFTR*-, *PRSS1*- und *SPINK1*-Gen mit idiopathischer und hereditärer Pankreatitis warf die Frage auf, ob diese Gene ebenfalls eine Relevanz bei der Pathogenese der alkoholischen chronischen Pankreatitis besitzen. Sharer et al. untersuchten 134 Patienten mit chronischer Pankreatitis auf *CFTR*-Mutationen und detektierten bei 20% der Patienten mit idiopathischer aber nur bei 8,5% der Patienten mit alkoholinduzierter Erkrankung eine heterozygote Mutation (30). Auch Norton et al. fanden keine Assoziation zwischen *CFTR* und alkoholischer Pankreatitis (135). Teich et al. untersuchten 23 Patienten mit alkoholinduzierter chronischer Pankreatitis auf zwei häufige *PRSS1*-Mutationen (N29I und R122H) und wiesen bei keinem der Patienten eine der beiden Mutationen nach (136).

In einer internationalen Multicenter-Studie untersuchten wir 274 Patienten mit alkoholischer chronischer Pankreatitis und 638 Kontrollen (98 Alkoholiker ohne Pankreatitis und 540 Gesunde) auf die N34S-Mutation im *SPINK1*-Gen (24) und fanden eine signifikante Assoziation: 16 der 274 Patienten (5,8%), aber 5 der 638 Kontrollen (0,8%) (alkoholische Kontrollen: 1/98 [1,0%]; nicht alkoholischen Kontrollen: 4/540 [0,7%]) waren heterozygot für N34S. Zwei folgende Studien beobachteten ebenfalls eine N34S-Frequenz bei alkoholischer Pankreatitis von 6,0% und 5,6% (25,137).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß das pankreatische Proteaseinhibitorsystem bei alkoholischer Pankreatitis pathogenetisch bedeutsam ist. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß Rinderknecht et al. im Pankreassekret von Alkoholikern im Vergleich zu nicht alkoholischen Kontrollen einen signifikanten Anstieg des Trypsinogen-SPINK1-Quotienten nachwiesen (138).

Indikationen für eine genetische Analytik

Nach derzeitigen Erkenntnissen findet sind nicht nur bei Patienten mit positiver Familienanamnese (hereditäre Form) sondern auch bei Patienten ohne Familienanamnese (idiopathische Form) eine genetische Ursache für die Erkrankung. Aus diesem Grunde sollte nach Ausschluß sekundärer Ursachen eine Genanalyse auf Mutationen im kationischen Trypsinogen-Gen (*PRSS1*) und im Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1-Gen (*SPINK1*) veranlaßt werden. Auf *PRSS1*- und *SPINK1*-Mutationen sollten alle Patienten mit einer akuten oder chronischen Pankreatitis und einer Familienanamnese für eine Pankreatitis bzw. ein Pankreaskarzinom sowie Patienten mit chronischer Pankreatitis ohne Familienanamnese nach Ausschluß anderer Ursachen (zystische Fibrose, chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, Hyperlipidämie etc.) untersucht werden. Bei mehr als 50% der Patienten mit idiopathischer bzw. hereditärer Pankreatitis läßt sich jedoch keine Mutation in einem der beiden Gene nachweisen. Da genetische Untersuchungen kostenintensiv und zeitaufwendig sind, sollte bei Patienten mit einer akuten Pankreatitis und negativer Familienanamnese keine genetische Analytik erfolgen. Die genetische Untersuchung nicht symptomatischer Familienangehöriger sollte aufgrund der fehlenden therapeutischen Konsequenzen nur nach ausführlicher Aufklärung erfolgen. Insbesondere die Untersuchung nicht betroffener Kinder ist ethisch problematisch.

Da auch eine zystische Fibrose klinisch als chronische Pankreatitis imponieren kann ohne daß das Vollbild einer Mukoviszidose vorliegt, sollten alle Patienten - auch bei unauffälligem Schweißtest - auf *CFTR*-Mutationen getestet werden.

Von einigen Zentren wird auch eine Pränataldiagnostik angeboten. Nach persönlicher Auffassung des Verfassers ist die chronische Pankreatitis keine Indikation für eine pränatale Diagnostik.

Chronische Pankreatitis - Probleme der Definition und Klassifikation

Die genetischen Studien der letzten Jahre haben das Verständnis der erblichen Pankreatitis entscheidend verändert. Lange Zeit galt die erbliche Pankreatitis als seltene Erkrankung. Der Nachweis von *PRRS1*-, *SPINK1*- und *CFTR*-Mutationen bei Patienten mit sog. idiopathischer Pankreatitis zeigt jedoch, daß erbliche Fälle der chronischen Pankreatitis weitaus häufiger sind als bislang vermutet. Diese Befunde stellen zugleich die Unterscheidung zwischen "erblicher" und "idiopathischer" Pankreatitis in Frage. Verschiedene Mutationen in unterschiedlichen Genen können zu einem unterschiedlichen Phänotyp und Vererbungsmuster führen und selbst dieselbe Mutation in einem Gen kann in Abhängigkeit des individuellen genetischen Hintergrundes und Umweltfaktoren verschiedene Konsequenzen haben. Die Assoziation von *SPINK1*-Mutationen mit tropischer kalzifizierender Pankreatitis und alkoholischer Pankreatitis verwischt weiter die Grenzen zwischen den einzelnen Pankreatitis-Unterformen. In den nächsten Jahren wird sich wahrscheinlich zeigen, daß sehr komplexe Interaktionen zwischen Umwelteinflüssen und zahlreichen genetischen Faktoren bestehen mit fließenden Übergängen zwischen den einzelnen Subtypen (Abbildung 4). Diese Hypothese wird durch die Beobachtung von *SPINK1*-Mutationen bei Patienten mit metabolischen Erkrankungen oder anatomischen Anomalien untermauert (25).

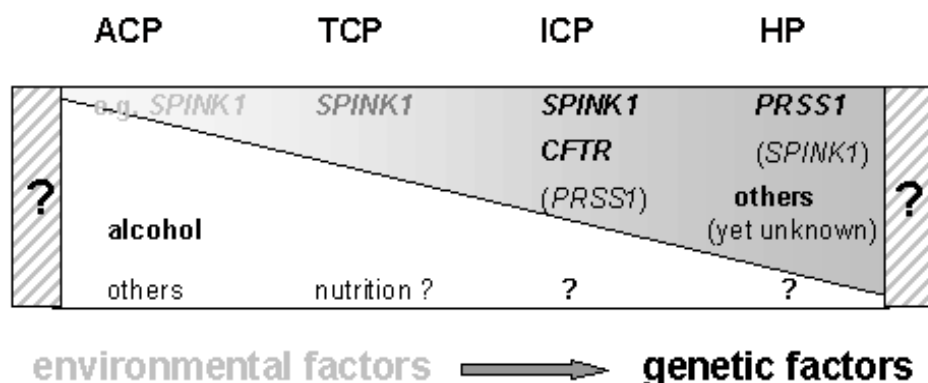


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Einflusses verschiedener genetischer und Umweltfaktoren auf die Pathogenese der Pankreatitis.

In mehreren Symposia, die in Marseille, Cambridge und Rom gehalten wurden, wurde versucht, eine Definition und Klassifikation der Pankreatitis zu etablieren. Nach der Marseille-Rom-Klassifikation ist die chronische Pankreatitis gegenwärtig definiert als *kontinuierliche* entzündliche Erkrankung, die durch eine Zerstörung des Pankreasparenchyms charakterisiert ist und zu einer fortschreitenden oder permanenten exokrinen und/oder endokrinen Funktionseinschränkung führt (1,139,140). Ätiologische Faktoren wurden bei dieser Klassifikationen nicht berücksichtigt. In der Marseille-Rom-Klassifikation wurde die akute Pankreatitis definiert "*not as disease but as spectrum of inflammatory lesions*" (140). Auch stimmten die meisten Teilnehmer dieser Konferenz darin überein, daß die chronische Pankreatitis eine Ursache der akuten Pankreatitis, aber nicht deren Folge ist und daß die akute Pankreatitis nur selten in eine chronische Entzündung mündet (140,141). Nach diesem Konzept stellen akute und chronische Pankreatitis zwei separate Krankheitsentitäten dar, die nur selten zusammenfließen.

Die derzeitige Definition der chronischen Pankreatitis ist jedoch mit der klinischen Präsentation der erblichen Pankreatitis unvereinbar. Die hereditäre Pankreatitis ist durch in der Kindheit beginnende, wiederkehrende Pankreatitisschübe gekennzeichnet. Zeichen einer funktionellen oder morphologischen Pankreasschädigung sind initial nicht vorhanden. Mit den Jahren entwickeln jedoch viele Patienten mit akuter rekurrender Pankreatitis eine exokrine oder endokrine Funktionseinschränkung sowie Gangveränderungen und Kalzifizierungen. Demzufolge sind akute und chronische Pankreatitis als unterschiedliche Stadien *eines* dynamischen Krankheitsprozesses zu begreifen. Die verschiedenen Konzepte der chronischen Pankreatitis in der pädiatrischen und internistischen Literatur spiegeln die Tatsache wieder, daß der Pädiater mit dem frühen Erkrankungsstadium und der internistische Gastroenterologie häufig mit dem Endstadium konfrontiert wird.

Die Existenz der gleichen genetischen Defekte bei verschiedenen Formen der akuten und chronischen Pankreatitis unterstützt jedoch das alte Konzept, daß alle Zwischenstadien zwischen akuter und chronisch-kalzifizierender Pankreatitis bestehen, wie es ursprünglich von Comfort und Mitarbeitern postuliert wurde (142).

Zusammenfassung

Die in den letzten Jahren erhobenen genetischen Befunden untermauern das Konzept, daß ein Ungleichgewicht von Proteasen und ihren Inhibitoren wesentlich an der Pathogenese der chronischen Pankreatitis beteiligt ist. Die Identifizierung von Mutationen im kationischen Trypsinogen bei Patienten mit hereditärer Pankreatitis hat das Verständnis der Erkrankung entscheidend beeinflusst. Der Nachweis von *SPINK1*-, *CFTR*- und *PRSS1*-Mutationen bei Patienten ohne Familienanamnese für eine Pankreatitis deutet darauf hin, daß auch die idiopathische Pankreatitis genetisch determiniert ist. Die bisher durchgeführten Studien legen nahe, daß die erblich bedingte chronische Pankreatitis eine genetisch heterogene Erkrankung ist, die in Abhängigkeit von den defekten Genen bzw. den zugrundeliegenden Mutationen einem autosomal dominanten, einem autosomal rezessiven oder einem komplexen Erbgang folgt.

Das gehäufte Auftreten von *SPINK1*-Mutationen bei alkoholischer chronischer Pankreatitis ist ein Hinweis darauf, daß genetische Faktoren auch zur Suszeptibilität von primär nicht erblichen Formen der chronischen Pankreatitis beitragen.

Im weiteren konnten wir zeigen, daß genetische Dispositionsfaktoren auch bei der Pathogenese der tropischen Pankreatitis einen wesentlichen Stellenwert besitzen. Diese Daten stellen das Konzept der tropischen Pankreatitis als eigene, tropenspezifische Krankheitsentität in Frage.

Die vollständige Aufklärung der genetischen Ursachen wird vermutlich die Unterscheidung zwischen hereditärer und idiopathischer bzw. tropischer chronischer Pankreatitis obsolet werden lassen. Nach Ausschluß sekundärer Ursachen sollte auch bei Patienten ohne Familienanamnese eine Genanalyse auf Mutationen in den obengenannten Genen veranlaßt werden.

Literaturverzeichnis

- 1 Singer MV, Gyr K, Sarles H. Report of the Second International Symposium on the Classification of Pancreatitis in Marseille, France, March 28-30, 1984. *Gastroenterology* 1985; 89; 683-5.
- 2 Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993; 328; 1433-1437.
- 3 Lowenfels AB, Maisonneuve P. Risk factors for cancer in hereditary pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000; 84; 5565-5573.
- 4 Secknus R, Mössner J. denz- und Prävalenzveränderungen der akuten und chronischen Pankreatitis in Deutschland. *Chirurg* 2000; 71; 249-252.
- 5 Andersen BN, Pedersen NT, Scheel J, Worning H. Incidence of alcoholic chronic pancreatitis in Copenhagen. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17; 247-252.
- 6 Ammann RW, Bühler H, Münch R, Freiburghaus AW, Siegenthaler W. Differences of the natural history of idiopathic (nonalcoholic) and alcoholic chronic pancreatitis. A comparative long-term study of 287 patients. *Pancreas* 1987; 2; 368-377..
- 7 Durbec JP, Sarles H. Multicenter survey on the etiology of pancreatic diseases. Relationship between the relative risk of developing chronic pancreatitis and alcohol, protein, and lipid consumption. *Digestion* 1978; 18; 337-350.
- 8 DiMagno EP, Layer P, Clain JE. Chronic pancreatitis. Hrsg.: Go VLW et al.: *The Pancreas: Biology, Pathobiology, and Disease* New York, Raven, 1993 665-706.
- 9 Ammann RW. Idiopathic "juvenile" chronic pancreatitis. *Dtsch Med Wochenschr* 1976; 101; 1789-1794.

- 10 Ammann RW. Chronic pancreatitis in the elderly. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19; 905-914.
- 11 Layer P, Yamamoto H, Kalthoff L, et al. The different courses of early- and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1994; 107; 1481-1487.
- 12 Comfort MW, Steinberg AG. Pedigree of a family with hereditary chronic relapsing pancreatitis. *Gastroenterology* 1952; 21; 54-63.
- 13 Perrault J. Hereditary pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1994; 23; 743-752.
- 14 Chiari H Über Selbstverdauung des menschlichen Pankreas. *Zeitschrift für Heilkunde* 1896; 17; 69-96.
- 15 Steer ML, Meldolesi J. The cell biology of experimental pancreatitis. *N Engl J Med* 1987; 316; 144-150.
- 16 Whitcomb DC, Gorry MC, Preston RA, et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nature Genet* 1996; 14; 141-145.
- 17 Witt H, Luck W, Hennies HC, et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nature Genet* 2000; 25; 213-216.
- 18 Rinderknecht H. Activation of pancreatic zymogens. Normal activation, premature intrapancreatic activation, protective mechanisms against inappropriate activation. *Dig Dis Sci* 1986; 31; 314-321.
- 19 Whitcomb DC, Preston RA, Aston CE, et al. A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. *Gastroenterology* 1996; 110; 1975-1980.
- 20 Le Bodic L, Bignon JD, Raguénès O, et al. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7. *Hum Mol Genet* 1996; 5; 549-554.
- 21 Pandya A, Blanton SH, Landa B, et al. Linkage studies in a large kindred with hereditary pancreatitis confirms mapping of the gene to a 16-cM region on 7q. *Genomics* 1996;

- 38; 227-230.
- 22 Witt H, Luck W, Becker M. A signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene is strongly associated with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1999; 117; 7-10.
- 23 Pfützner RH, Barmada NM, Brunskill APJ, et al. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000; 119; 615-623.
- 24 Witt H, Luck W, Becker M, et al. Mutation in the SPINK1 trypsin inhibitor gene, alcohol use, and chronic pancreatitis. *JAMA* 2001; 285; 2716-2717.
- 25 Drenth JPH, te Morsche R, Jansen JBMJ. Mutations in serine protease inhibitor Kazal type 1 are strongly associated with chronic pancreatitis. *Gut* 2002; 50; 687-692.
- 26 Chandak GR, Idris MM, Reddy DN, Bhaskar S, Sriram PV, Singh L. Mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene (PST1/SPINK1) rather than the cationic trypsinogen gene (PRSS1) are significantly associated with tropical calcific pancreatitis. *J Med Genet* 2002; 39; 347-351.
- 27 Hassan Z, Mohan V, Ali L, et al. SPINK1 is a susceptibility gene for fibrocalculous pancreatic diabetes in subjects from the Indian subcontinent. *Am J Hum Genet* 2002; 71; 964-968.
- 28 Bhatia E, Choudhuri G, Sikora SS, Landt O, Kage A, Becker M, Witt H. Tropical calcific pancreatitis: strong association with SPINK1 trypsin inhibitor mutations. *Gastroenterology* 2002; 123; 1020-1025.
- 29 Schneider A, Suman A, Rossi L, et al. SPINK1/PST1 mutations are associated with tropical pancreatitis and type II diabetes mellitus in Bangladesh. *Gastroenterology* 2002; 123; 1026-1030.
- 30 Sharer N, Schwarz M, Malone G, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients

- with chronic pancreatitis. *New Engl J Med* 1998: 339; 645-52.
- 31 Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *New Engl J Med* 1998: 339; 653-658.
- 32 Ramanan AV, Thimmarayappa AD, Baildam EM. Acute lethal pancreatitis in childhood systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2002: 41; 467-9.
- 33 Kugathasan S, Halabi I, Telega G, Werlin SL. Pancreatitis as a presenting manifestation of pediatric Crohn's disease: a report of three cases. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002: 35; 96-8.
- 34 Triantafillidis JK, Cheracakis P, Merikas EG, Peros G. Acute pancreatitis may precede the clinical manifestations of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2003: 98; 1210-1.
- 35 Ichimura T, Kondo S, Ambo Y, et al. Primary sclerosing cholangitis associated with autoimmune pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2002: 49; 1221-4.
- 36 Kulling D, Tresch S, Renner E. Triad of sclerosing cholangitis, chronic pancreatitis, and Sjogren's syndrome: Case report and review. *Gastrointest Endosc* 2003: 57; 118-20.
- 37 Boudailliez B, Andre JL, Broyer M, Davin JC, Landthaler G, Palcoux JB. Acute pancreatitis in six non-transplanted uraemic children. A co-operative study from the French Society of Paediatric Nephrology. *Pediatr Nephrol*. 1988: 2; 431-5.
- 38 Grodinsky S, Telmesani A, Robson WL, Fick G, Scott RB. Gastrointestinal manifestations of hemolytic uremic syndrome: recognition of pancreatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990: 11; 518-24.
- 39 Cox DW, Breckenridge WC, Little JA. Inheritance of apolipoprotein C-II deficiency with hypertriglyceridemia and pancreatitis. *N Engl J Med* 1978: 299; 1421-4.
- 40 Flink EB, Desper PC, Jones JE. Primary hyperparathyroidism causing hypercalcemic crisis and acute pancreatitis. *Minn Med* 1966: 49; 734-44.

- 41 Shwachman H, Lebenthal E, Khaw W. Recurrent acute pancreatitis in patients with cystic fibrosis with normal pancreatic enzymes. *Pediatrics* 1975; 55; 86-94.
- 42 Atlas AB, Orenstein SR, Orenstein DM. Pancreatitis in young children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1992; 120; 756-759.
- 43 del Rosario JF, Putnam PE, Orenstein DM. Chronic pancreatitis in a patient with cystic fibrosis and clinical pancreatic insufficiency. *J Pediatr* 1995; 126; 951-952.
- 44 Delhaye M, Engelholm L, Cremer M. Pancreas divisum: congenital anatomic variant or anomaly? Contribution of endoscopic retrograde dorsal pancreatography. *Gastroenterology* 1985; 89; 951-8.
- 45 Richter JM, Schapiro RH, Mulley AG, Warshaw AL. Association of pancreas divisum and pancreatitis, and its treatment by sphincteroplasty of the accessory ampulla. *Gastroenterology* 1981; 81; 1104-10.
- 46 Delhaye M, Engelholm L, Cremer M. Pancreas divisum: controversial clinical significance. *Dig Dis* 1988; 6; 30-9.
- 47 Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 48 Guy O, Lombardo D, Bartelt DC, Amic J, Figarella C. Two human trypsinogens: purification, molecular properties and N-terminal sequences. *Biochemistry* 1978; 17; 1669-1675.
- 49 Scheele GA, Bartelt D, Bieger W. Characterization of human exocrine pancreatic proteins by two-dimensional isoelectric focusing/SDS gel electrophoresis. *Gastroenterology* 1981; 80; 461-473.
- 50 Colomb E, Figarella C. Comparative studies on the mechanism of activation of the two human trypsinogens. *Biochem Biophys Acta* 1979; 571; 343-351.
- 51 Colomb E, Guy O, Deprez P, Michel R, Figarella C. The two human trypsinogens: Catalytic properties of the corresponding trypsin. *Biochem Biophys Acta* 1978; 525;

186-193.

- 52 Rowen L, Koop BF, Hood L. The complete 685-kilobase DNA sequence of the human beta T cell receptor locus. *Science* 1996: 272; 1755-1762.
- 53 Gorry MC, Ghabaizedeh D, Furey W, et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene are associated with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997: 113; 1063-1068.
- 54 Teich N, Mössner J, Keim V. Mutations of the cationic trypsinogen in hereditary pancreatitis. *Hum Mut* 1998: 12; 39-43.
- 55 Férec C, Raguénès O, Salomon R, et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene and evidence for genetic heterogeneity in hereditary pancreatitis. *J Med Genet* 1999: 36; 228-232.
- 56 Teich N, Ockenga J, Hoffmeister A, Manns M, Mössner J, Keim V. Chronic pancreatitis associated with an activation peptide mutation that facilitates trypsin activation. *Gastroenterology* 2000: 119; 461-465.
- 57 Weber P, Keim V, Zimmer KP. Hereditary pancreatitis and mutation of the cationic trypsinogen gene. *Arch Dis Child* 1999: 80; 473-474.
- 58 Creighton J; Lyall R, Wilson DI, Curtis A, Charnley R. Mutations of the cationic trypsinogen gene in patients with chronic pancreatitis. *Lancet* 1999: 354; 42-43.
- 59 Nishimori I, Kamakura M, Fujikawa-Adachi K, et al. Mutations in exons 2 and 3 of the cationic trypsinogen gene in Japanese families with hereditary pancreatitis. *Gut* 1999: 44; 259-263.
- 60 Simon P, Weiss FU, Sahin-Toth M, et al. Hereditary pancreatitis caused by a novel PRSS1 mutation (Arg-122 --> Cys) that alters autoactivation and autodegradation of cationic trypsinogen. *J Biol Chem* 2002: 277; 5404-10.
- 61 Pfützer R, Myers E, Applebaum-Shapiro S, et al. Novel cationic trypsinogen (PRSS1)

- N29T and R122C mutations cause autosomal dominant hereditary pancreatitis. *Gut* 2002; 50; 271-2.
- 62 Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369; 64-67.
- 63 Higaki JN, Light A. The identification of neotrypsinogens in samples of bovine trypsinogen. *Anal Biochem* 1985; 148; 111-120.
- 64 Röver M. Limited proteolysis in pancreatic chymotrypsinogens and trypsinogens. *Biochimie* 1988; 70; 1131-1135.
- 65 Gaborioud C, Serre L, Guy-Crotte O, Forest E, Fontecilla-Camps JC. Crystal structure of human trypsin 1: unexpected phosphorylation of Tyr151. *J Mol Biol* 1996; 259; 995-1010.
- 66 Várallyay É, Pál G, Patthy A, Szilágyi L, Gráf L. Two mutations in the rat trypsin confer resistance against autolysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 243; 56-60.
- 67 Sahin-Tóth M, Gráf L, Tóth M. Trypsinogen stabilization by mutation arg117-to-his: a unifying pathomechanism for hereditary pancreatitis? *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264; 505-508.
- 68 Sahin-Tóth M, Tóth M. Gain-of-function mutations associated with hereditary pancreatitis enhance autoactivation of human cationic trypsinogen. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278; 286-289.
- 69 Sahin-Tóth M. Hereditary pancreatitis-associated mutation Asn21 →Ile stabilizes rat trypsinogen in vitro. *J Biol Chem* 1999; 274; 29699-29704.
- 70 Pfützer RH, Whitcomb DC. Trypsinogen mutations in chronic pancreatitis (letter). *Gastroenterology* 1999; 117; 1507-1508.
- 71 Chen JM, Raguénès O, Férec C, Deprez PH, Verellen-Dumoulin C, Andriulli A. The A16V

- signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene and chronic pancreatitis (letter). *Gastroenterology* 1999; 117; 1508-1509.
- 72 Matthew P, Wyllie R, Caulfield M, Steffen R, Kay M. Chronic pancreatitis in late childhood and adolescence. *Clin Pediatr* 1994; 33; 88-94.
- 73 Kazal LA, Spicer DS, Brahinsky RA. Isolation of a crystalline trypsin inhibitor-anticoagulant protein from the pancreas. 1948; 70; 304-340.
- 74 Shibata T, Ogawa M, Matsuda K, Miyauchi K, Yamamoto T, Mori T. Purification and characterisation of pancreatic secretory trypsin inhibitor in human gastric mucosa. *Clin Chim Acta* 1986; 159; 27-36.
- 75 Shibata T, Ogawa M, Takata N. Distribution of pancreatic secretory trypsin inhibitor in various human tissues and its inactivation in the gastric mucosa. *Res Commun Pathol Pharmacol* 1987; 55; 243-248.
- 76 Marchbank T, Freeman TC, Playford RJ. Human pancreatic secretory trypsin inhibitor. *Digestion* 1998; 59; 167-174.
- 77 Horii A, Kobayashi T, Tomita N, et al. Primary structure of human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149; 635-641.
- 78 Bartelt DC, Shapanka R, Greene LJ. The primary structure of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor. Amino acid sequence of the reduced S-aminoethylated protein. *Arch Biochem Biophys* 1977; 179; 189-199.
- 79 Laskowski M, Wu FC. Temporary inhibition of trypsin. *J Biol Chem* 1953; 204; 797-805.
- 80 Chen JM, Mercier B, Audrézet MP, Férec C. Mutational analysis of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in hereditary and sporadic chronic pancreatitis. *J Med Genet* 2000; 37; 67-69.
- 81 Kuwata K, Hirota M, Shimizu H, et al. Functional analysis of recombinant pancreatic secretory trypsin inhibitor protein with amino-acid substitution. *J Gastroenterol* 2002;

- 37; 928-34.
- 82 Cheng SH, Gregory RJ, Marshall J, et al. Defective intracellular transport and processing of CFTR is the molecular basis of most cystic fibrosis. *Cell* 1990; 63; 827-834.
- 83 Marcus N, Teckman JH, Perlmutter DH. α 1-antitrypsin deficiency: from genotype to childhood disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27; 65-74.
- 84 Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *New Engl J Med* 1994; 331; 974-980.
- 85 Busslinger M, Moschonas N, Flavell RA. β + thalassemia: aberrant splicing results from a single point mutation in an intron. *Cell* 1981; 27; 289-298.
- 86 Noone PG, Zhou Z, Silverman LM, et al. Cystic fibrosis gene mutations and pancreatitis risk: relation to epithelial ion transport and trypsin inhibitor gene mutations. *Gastroenterology* 2001; 121; 1310-9.
- 87 Audrézet MP, Chen JM, Le Maréchal C, et al. Determination of the relative contribution of three genes-the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene, the cationic trypsinogen gene, and the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene-to the etiology of idiopathic chronic pancreatitis. *Eur J Hum Genet* 2002; 10; 100-6.
- 88 Witt H, Hennies HC, Becker M. SPINK1 mutations in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* [letter]. 2001; 120; 1060-1.
- 89 Owyang C, Levitt M. Chronic pancreatitis. Hrsg.: Yamada T: *Textbook of Gastroenterology* 2nd Philadelphia, Lippincott, 1991 1874-1893.
- 90 Sveger T, Eriksson S. The liver in adolescents with alpha 1-antitrypsin deficiency. *Hepatology* 1995; 22; 514-517.
- 91 Crawford DHG, Jazwinska EC, Cullen LM, Powell LW. Expression of HLA-linked hemochromatosis in subjects homozygous or heterozygous for the C282Y mutation.

- Gastroenterology 1998: 114; 1003-1008.
- 92 Borot N, Roth M, Malfroy L, et al. Mutations in the MHC class I-like candidate gene for hemochromatosis in French patients. *Immunogenetics* 1997: 5; 371-375.
- 93 Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, et al. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998: 114; 996-1002.
- 94 Stamatoyannopoulos G, Woodson R, Papayannopoulou T, et al. Inclusion-body β -thalassemia trait: a form of β thalassemia producing clinical manifestations in simple heterozygotes. *New Engl J Med* 1974: 290; 939-943.
- 95 Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989: 245; 1066-1073.
- 96 Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989: 245; 1073-1080.
- 97 Zielenski J, Roznahel R, Bozon D, et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics* 1991: 10; 214-228.
- 98 Riordan JR. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Annu Rev Physiol* 1993: 55; 609-630.
- 99 Crawford I, Maloney PC, Zeitlin PL, et al. Immunocytochemical localization of the cystic fibrosis gene product CFTR. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991: 88; 9262-9266.
- 100 Harris A, Chalkley G, Goodman S, Coleman L. Expression of the cystic fibrosis gene in human development. *Development* 1991: 113; 305-310.
- 101 Marino CR, Matovcik LM, Gorelick FS, Cohn JA. Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in pancreas. *J Clin Invest* 1991: 88; 712-716.
- 102 The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population variation of common cystic fibrosis mutations. *Hum Mutat* 1994: 4; 167-177.

- 103 Welsh M, Smith A. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993; 73; 1251-1254.
- 104 Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, et al. Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations . *J Pediatr* 1995; 127; 705-710.
- 105 Arduino C, Gallo M, Brusco A, et al. Polyvariant mutant CFTR genes in patients with chronic pancreatitis. *Clin Genet* 1999; 56; 400-404.
- 106 Ockenga J, Stuhmann M, Ballmann M, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene, but not cationic trypsinogen gene, are associated with recurrent or chronic idiopathic pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2000; 95; 2061-2067.
- 107 Kimura S, Okabayashi Y, Inushima K, Yutsudo Y, Kasuga M. Polymorphism of cystic fibrosis gene in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 2000; 45; 2007-2012.
- 108 Malats N, Casals T, Porta M, Guarner L, Estivill X, Real FX. Cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) DeltaF508 mutation and 5T allele in patients with chronic pancreatitis and exocrine pancreatic cancer. *Gut* 2001; 48; 70-74.
- 109 Bank S, Marks IN, Novis B. Sweat electrolytes in chronic pancreatitis. *Am J Dig Dis* 1978; 23; 178-181..
- 110 Nakamura K, Sarles H, Payan H. Three-dimensional reconstruction of the pancreatic ducts in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1972; 62; 942-949.
- 111 de Angelis C, Valente G, Spaccapietra M, et al. Histological study of alcoholic, nonalcoholic, and obstructive chronic pancreatitis. *Pancreas* 1992; 7; 193-196.
- 112 Ravnik-Glavac M, Glavac D, di Sant'Agnesse P, Chernick M, Dean M. Cystic fibrosis gene mutations detected in hereditary pancreatitis. *Pflügers Arch* 1996; 431(Suppl); R191-R192.

- 113 Kiewewetter S, Macek M Jr, Davis C, et al. A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nature Genet* 1993; 5; 274-278.
- 114 Perlmutter DH. Alpha-1-antitrypsin deficiency. *Semin Liver Dis* 1998; 18; 217-225.
- 115 Sharp HL, Bridges RA, Krivit W. Cirrhosis associated with alpha-1-antitrypsin deficiency: a previously unrecognized inherited disorder. *J Lab Clin Med* 1969; 73; 934-939.
- 116 Eriksson S. Pulmonary emphysema and α 1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand* 1964; 175; 197-205.
- 117 Brantley M, Nukiwa T, Crystal RG. Molecular basis of alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Med* 1988; 84(suppl 6A); 13-31.
- 118 Hutchison DCS. α 1-antitrypsin deficiency in Europe: geographical distribution of Pi types S and Z. *Respir Med* 1998; 92; 367-377.
- 119 Novis BH, Young GO, Bank S, Marks IN. Chronic pancreatitis and alpha-1-antitrypsin. *Lancet* 1975; ii; 748-749..
- 120 Mihas AA, Hirschowitz BI. Alpha1-antitrypsin and chronic pancreatitis. *Lancet* 1976; ii; 1032-1033.
- 121 Edmunds SEJ, Wilkinson ML. Alpha 1-antitrypsin deficiency and pancreatitis in a juvenile. *Aust N Z J Med* 1991; 21; 345-347.
- 122 Rabassa AA, Schwartz MR, Ertan A. α 1-antitrypsin deficiency and chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40; 1997-2001.
- 123 Braxel C, Versieck J, Lemey G, Vanballenberghe L, Barbier F. Alpha1-antitrypsin in pancreatitis. *Digestion* 1982; 23; 93-96.
- 124 Lankisch PG, Koop H, Winckler K, Kaboth U. α 1-antitrypsin in pancreatic diseases. *Digestion* 1978; 18; 138-140.
- 125 Haber PS, Wilson JS, McGarity BH, Hall W, Thomas MC, Pirola RC. α 1 antitrypsin

- phenotypes and alcoholic pancreatitis. *Gut* 1991; 32; 945-948.
- 126 Witt H, Kage A, Luck W, Becker M. α 1-antitrypsin genotypes in patients with chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37; 356-9.
- 127 Teich N, Walther K, Bödeker H, et al. Relevance of variants in serum antiproteinases for the course of chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37; 360-5.
- 128 Larsson C. Natural history and life expectancy in severe alpha-1-antitrypsin deficiency, *Pi Z. Acta Med Scand* 1978; 204; 345-351.
- 129 Rinderknecht H. Pancreatic secretory enzymes. Hrsg.: eds Go VLW et al: *In The Pancreas: Biology, Pathobiology, and Disease* 1993: New York, Raven, 219-251.
- 130 Laskowski M Jr, Kato I. Protein inhibitors of proteinases. *Annu Rev Biochem* 1980; 49; 593-626.
- 131 Freedman SD, Blanco P, Shea JC, Alvarez JG. Mechanisms to explain pancreatic dysfunction in cystic fibrosis. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 84; 657-664.
- 132 Lerch MM, Gorelick FS. Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 84; 549-563.
- 133 Ammann RW. A clinically based classification system for alcoholic chronic pancreatitis: summary of an international workshop on chronic pancreatitis. *Pancreas* 1997; 14; 215-221.
- 134 Haber P, Wilson J, Apte M, et al. Individual susceptibility to alcoholic pancreatitis: still an enigma. *J Lab Clin Med* 1995; 125; 305-312.
- 135 Norton ID, Apte MV, Dixon H, et al. Cystic fibrosis genotypes and alcoholic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13; 496-99.
- 136 Teich N, Mössner J, Keim V, et al. Screening for mutations of the cationic trypsinogen gene: are they of relevance in chronic alcoholic pancreatitis? *Gut* 1999; 44; 413-416.

- 137 Threadgold J, Greenhalf W, Ellis I, et al. The N34S mutation of SPINK1 (PSTI) is associated with a familial pattern of idiopathic chronic pancreatitis but does not cause the disease. *Gut* 2002; 50; 675-81.
- 138 Rinderknecht H, Stace NH, Renner IG. Effects of alcohol abuse on exocrine pancreatic secretion in man. *Dig Dis Sci* 1985; 50; 65-71.
- 139 Sarner M, Cotton PB. Classification of pancreatitis. *Gut* 1984; 25; 756-9.
- 140 Sarles H, Adler G, Dani R, et al. The pancreatitis classification of Marseilles-Rome 1988. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24; 641-2.
- 141 Sarles H, Adler G, Dani R, et al. Classifications of pancreatitis and definition of pancreatic diseases. *Digestion* 1989; 234-6.
- 142 Comfort MW, Gambill EE, Baggenstoss AH. Chronic relapsing pancreatitis: a study of 29 cases without associated disease of the biliary or gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 1946; 239-85.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Michael Becker danke ich von ganzem Herzen für die mir gewährte selbstlose Unterstützung. Seine kritische Denkart, wissenschaftliche Redlichkeit und klinische Expertise wird mir immer Vorbild bleiben.

Herrn Prof. Dr. Ulrich Wahn danke ich für die Möglichkeit, meine Arbeiten in seiner Abteilung fortführen zu können und freue mich, mit seiner Hilfe künftig weitere Projekte zu entwickeln.

Mein besonderer Dank gilt auch Olfert Landt und Andreas Kage, die mich über viele Jahre unterstützten und ohne deren Beistand diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Prof. Dr. Volker Keim sei Dank für die vielen wertvollen, kritischen und kurzweiligen Diskussionen am Telefon und bei so manchem Sternchen.

Herrn Prof. Dr. Eckart Köttgen und insbesondere Herrn Dr. Reinhard Geßner möchte ich danken für die Führung bei meinen ersten Schritten und die Wegbahnung in die Pädiatrie.

Für die gute wissenschaftliche Zusammenarbeit bzw. Unterstützung möchte ich mich bedanken bei Prof. Dr. Rudolf Ammann, Prof. Dr. Eesh Bhatia, Claudia Güldner, Prof. Dr. Walter Halangk, PD Dr. Hans Christian Hennies, Dr. Werner Luck, Dr. Renate Nickel, Jonas Rosendahl, Prof. Dr. Pranav Sinha, Dr. Niels Teich und Dr. Kaspar Truninger.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Maus für ihr Verständnis und ihre Unterstützung.

Zuletzt - und doch am meisten - möchte ich meinen Eltern danken...

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, daß

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist,

Berlin, den 18. September 2003