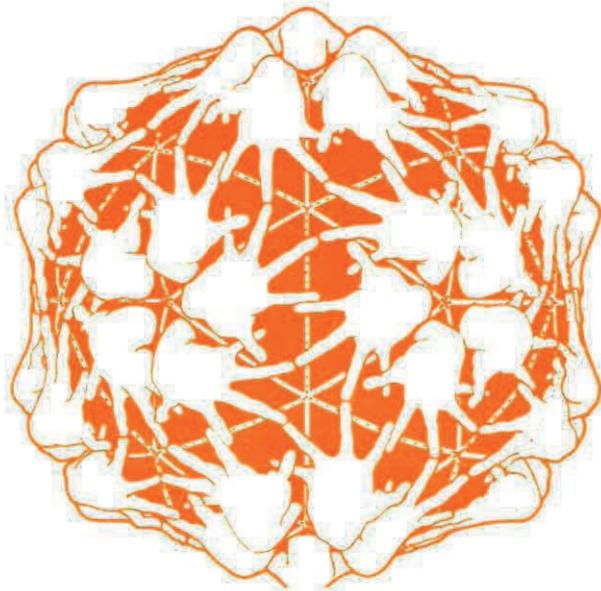


Biomimetik als Chance: Ein neues therapeutisches Prinzip

Forschung und Praxis im Dialog

Herausgegeben von
Harald Porcher und Karl Theurer



Biomimetik als Chance:
Ein neues therapeutisches
Prinzip

Biomimetik als Chance: Ein neues therapeutisches Prinzip

Forschung und Praxis im Dialog

Herausgegeben von

Harald Porcher und Karl Theurer

29 zum Teil farbige Abbildungen

Dr. rer. nat. Harald Porcher
Kernerstr. 26
7000 Stuttgart 1

Professor Dr. med. Karl Theurer
Brunnwiesenstr. 23
7302 Ostfildern 1

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Biomimetik als Chance : e. neues therapeut.
Prinzip ; Forschung u. Praxis im Dialog /
hrsg. von Harald Porcher u. Karl Theurer.
- Stuttgart : Enke, 1980.
ISBN 3-432-91611-6

NE: Porcher, Harald <Hrsg.>

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Photokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

©1980 Ferdinand Enke Verlag, POB 1304, 7000 Stuttgart 1
Printed in Germany

V o r w o r t

Die Organo- und Immunotherapie ist eine biomimetisch-dynamische Therapie, die den jeweiligen physiologischen Erfordernissen des Organismus angepaßt wird. Sie wirkt nach dem Prinzip der molekularen Regeneration und Selbstheilung und nicht nach dem Prinzip der chemischen Blockade.

Biomimetik bedeutet Imitation der im Organismus natürlich vorkommenden Metabolite, Enzyme, Hormone, Regulationsstoffe, Transmitter und Induktoren, die beim chronischen bzw. akuten Krankheitsgeschehen nicht mehr ausreichend synthetisiert werden. Die Organo- und Immunotherapie verwendet in diesem Sinne physiologische, zelluläre Wirkstoffe, isoliert aus Geweben dem Menschen phylogenetisch nahestehender Tierspezies.

Im Grunde genommen ist der Organismus nicht für synthetische, chemische Wirkstoffe gerüstet. Am Anfang war der Rezeptor, erst dann kam das Arzneimittel. Die Pharmaindustrie jedenfalls hat die Rezeptoren nicht erfunden. Das bedeutet: Rezeptoren sind von Natur aus für körpereigene oder körperähnliche Regulationsstoffe und Mediatoren geschaffen und nicht für Chemopharmaka. Die Wirksamkeit von Chemopharmaka beruht lediglich auf der Ähnlichkeit mit gewissen Strukturkomponenten natürlicher Hormone und Gewebefaktoren. Morphin beispielsweise wirkt nur deshalb so beeindruckend analgetisierend, weil dieses Molekül in seinen entscheidenden molekularen Strukturen unserem körpereigenen "Do-it-yourself-Kit" für Schmerzbekämpfung, den endogenen Opioiden (Endorphinen), weitgehend gleicht:

Zieht die moderne Medizin aus diesen neuen Erkenntnissen überhaupt Konsequenzen? Verwendet sie biologische Faktoren, Wirkstoffe, die - ohne zu schädigen - in den komplexen Stoffwechselablauf des Organismus integriert werden können? Die Organo- und Immuno-

therapie verwendet deshalb biomimetisch wirkende zelluläre Wirkstoffe und kommt damit einer kausalen Therapie sehr nahe.

Stuttgart, September 1980



Dr. H. Porcher



Prof. Dr. K. Theurer

Inhalt:

Vorwort	V
1. Grundlagenforschung	
1. <u>Biologie und Evolution</u>	
K.C. HOLMES, Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg "Selbstorganisation biologischer Strukturen"	1
2. <u>Molekulardiagnostik</u>	
E.H. GRAUL, Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Philipps-Universität Marburg/Lahn "Moderne Methoden geringster Konzentrationsbestimmungen: Radio-Immuno-Assay (RIA) und Enzym-Immuno-Assay (EIA) ...	25
V. PAFFENHOLZ, Forschungslaboratorien Karl Theurer für Organo- und Immunotherapie, Ostfildern "Wirkung von zytoplasmatischen Organotherapeutika auf Kulturen menschlicher Zellen"	32
3. <u>Immunologie</u>	
H. v. MAYERSBACH, Medizinische Hochschule Hannover "Zeitsequenzen zellulärer Prozesse: Ursache für Unter- schiede der Therapie- und Immunantwort"	45
E. SORKIN, Schweizerisches Forschungsinstitut Davos "Immunoregulation im immunologisch-neuroendokrinen Netzwerk"	58

D. JACHERTZ, Universität Bern "Wirkungsweisen informatorischer RNS und extra- zellulärer DNS als Beispiele biologischer Regu- lation".....	82
U.P. KETELSEN, Universität und Max-Planck-Institut für Immunbiologie Freiburg "Emperipolesis: Interaktion zwischen Lymphozyten und Organzellen unter physiologischen und patho- physiologischen Bedingungen".....	90
4. <u>Tumorbiologie</u>	
K. LETNANSKY, Institut für Krebsforschung der Universität Wien "Die Regulation der Zellproliferation in normalen und maligne entarteten Zellen".....	103
E. MUNDER, Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg "Induktion einer Immunantwort gegen tumortragende Mäuse mit heterologen foetalen Antigenen".....	113
W.R. PAUKOVITS, Institut für Krebsforschung der Universität Wien und O.D. LAERUM, Institut für Patho- logie der Universität Bergen "Modulation der Proliferationsaktivität durch gewebs- eigene Faktoren - dargestellt am Beispiel des granu- lopoietischen Systems".....	119
5. <u>Gedächtnisforschung</u>	
G.F. DOMAGK, Phys.-Chem. Institut der Universität Göttingen "Tierexperimentelle Untersuchungen zur Biochemie des Lernens".....	127

II. Organo- und Immunotherapie: Therapeutische Konsequenzen

1. Pharmakologie

K. THEURER, Arzt, Ostfildern

"Eingliederung der Therapie mit makromolekularen Organ-
extrakten in die moderne Pharmakologie" 135

2. Adjuvante Tumortherapie

K. THEURER, Arzt, Ostfildern

"Prophylaxe und Therapie von Präkanzerosen und
Malignomen mit makromolekularen Organextrakten" 149

M. LINDENMANN, Facharzt f. Lungenerkrankungen, Wien

"Die Stellung der makromolekularen Organotherapie
in der Onkologie" 164

3. Ophthalmologie

J. FUCHS, Augenarzt, Stuttgart

"Die konservative Behandlung des Altersstars mit
Conjunctisan A-Augentropfen" 178

J. SEIFERT, R. GANSER, A. PFLEIDERER, W. BRENDEL,
Institut für Chirurgische Forschung der Chirurgischen
Klinik und Universität München

"Resorption und Verteilung zytoplasmatischer Organ-
lysate (Conjunctisan A-Augentropfen) nach intra-
konjunktivaler Applikation" 193

4. Myogene und neuromuskuläre Erkrankungen

R. BECKMANN, Universitäts-Kinderklinik Freiburg

"Aktuelle therapeutische Möglichkeiten bei myogenen und
neuromuskulären Erkrankungen - Wege der Erforschung" ... 204

5. Geriatric

K.-S. LACHNIT, A. KLAUSNER, E. PROSZOWSKI,
Pflegeheim der Stadt Wien-Lainz
"Organotherapie in der geriatrischen Cardiology
- Eine Pilot-Studie -".....223

6. Veterinärmedizin

H.K. DREIER, Veterinärmedizinische Universität Wien
"Behandlung von Haarkleidveränderungen mit der Gegen-
sensibilisierung und zytoplasmatischen Präparaten"..... 229

Index 237

Selbstorganisation biologischer Strukturen

K.C. HOLMES

Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung,
Heidelberg

In der Biologie wird man mit einem Überschuß von Formen konfrontiert. Wegen unseres begrenzten Verständnisses sind wir stark auf Ordnungsprinzipien angewiesen. Bei der Auswahl von Kriterien ist es wichtig festzustellen, ob derartige Ordnungsprinzipien in der Biologie immanent sind. Sonst würde lediglich ein subjektiver Ausdruck, nämlich die Gewohnheit, unser Wissen zu klassifizieren, dargestellt. Im allgemeinen ist man der Ansicht, daß die hierarchische Strukturierung und Klassifizierung biologischer Formen immanent sei, wobei sich die Hierarchie aus Prinzipien von Wahrscheinlichkeitstheorie und kinetischer Theorie legitimiere:

1. Bei der Entstehung eines biologischen Systems war das bestehende System das wahrscheinlichste.
2. Die wahrscheinlichsten Systeme sind aus Untereinheiten aufgebaut.

Anders ausgedrückt: Bei der Evolution unter Selektionsdruck im Sinne Darwins wurde erfolgreich das Baukastenprinzip verwendet. Dieses Baukastenprinzip spiegelt sich in der hierarchischen Strukturierung biologischer Vorgänge wider.

Baukastenprinzip

Auf allen Ebenen der Hierarchie werden gut operierende Strukturen, seien diese Proteinmoleküle oder Organe, aus älteren Organismen übernommen und mit zusätzlichen oder ganz neuen Aufgaben betraut. Aus diesem Grund ist Struktur stärker als Funktion konserviert.

Die Konservierung einer Proteinstruktur lässt sich sehr gut am Beispiel des Immunglobulins veranschaulichen. Abb. 1 zeigt eine Darstellung des IgG-Moleküls mit seinen zwei schweren und zwei leichten Ketten. Jede leichte Kette beinhaltet zwei fast gleiche Strukturdomänen (Ig-Domänen). Jede schwere Kette bildet vier solcher Domänen. Höchstwahrscheinlich hat das Histokompatibilitäts-Antigen (HL-A) (Abb. 1b) fast die gleiche Struktur, aber in diesem Falle beinhaltet jede schwere Kette 3 Ig-Domänen und jede leichte Kette nur ein Ig-Domän. Ein weiteres Beispiel für das Vorhandensein des Ig-Domans ist das Enzym Superoxiddismutase (Abb. 1c). Dieses Enzym ist verantwortlich für den schnellen Abbau von Sauerstoffradikalen und hat keine funktionelle Verbindung zum Immunglobulin. Obwohl zwischen Superoxiddismutase und einer IgG-Kette keine Sequenzhomologie existiert, zeigt ein statistischer Vergleich der Struktur trotzdem, daß die beiden Strukturen so ähnlich sind, daß ihnen die gleiche Urstruktur zugrunde liegen muß.

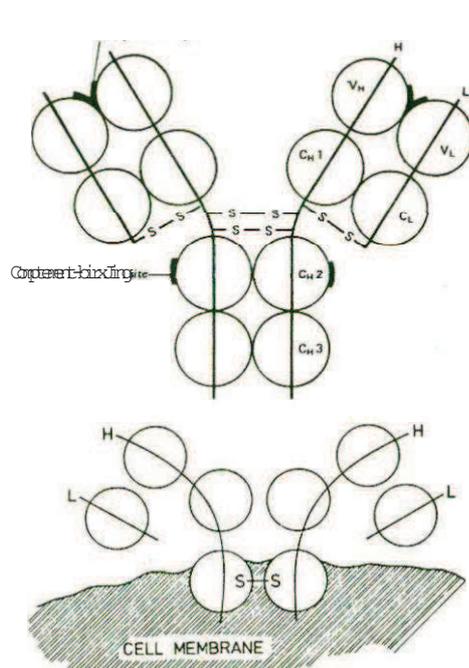


Abb. 1:

Proteine, die die Ig-Domäne beinhalten (SCHULZ und SCHIRMER, 1979)

- a) Immunglobulin IgG
- b) Histokompatibilitäts-Antigen (HL-A-Protein)
- c) Superoxiddismutase (die Faltung der Polypeptidkette ist dargestellt)

Alle mit Kreisen dargestellten Domänen haben die gleiche Struktur, nämlich die Struktur der Superoxiddismutase.

Hierarchische Gliederung

Die hierarchische Gliederung lässt sich auch auf molekularem Niveau gut erkennen. Ferner findet man häufig auf molekularem Niveau Symmetrie als Organisationsprinzip. Symmetrie spiegelt ein Streben nach Effizienz wider und kommt zustande, wenn ein Genprodukt mehrmals verwendet wird. Jede Polypeptidkette, die unter Kontrolle von DNS synthetisiert wird, die sogenannte Primärstruktur, nimmt eine Sekundärstruktur (α -Helix, β -Faltblatt) an, ein Vorgang, der ausschließlich von der Sequenz diktiert wird. Gleichzeitig oder später bildet die Kette einen drei-dimensionalen Knoten, die Tertiärstruktur. In vielen Fällen aggregieren Proteinmoleküle spontan und bilden allosterische Enzyme, Multienzymkomplexe, Fasern wie Kollagen oder andere Strukturen. Diese Aggregationsstufen sind als Quartärstrukturen bekannt.

Ein gutes Beispiel für die hierarchische Gliederung ist das hochorganisierte Gewebe des quergestreiften Muskels, wie es in Abb. 2 dargestellt ist. Hier sehen wir die Bildung der Sekundärstruktur und daran anschließend den Aufbau von Myosinfilamenten. Aktinfilamente bilden sich durch Assoziation von Monomeren des globulären Aktins. Die Aktinfilamente werden in der Z-Membran angeheftet, mit den zwischen ihnen liegenden Myosinfilamenten bilden sie das Sarkomer. Die Sarkomere bilden Myofibrillen, die Myofibrillen sind Komponenten der Muskelfasern, und diese wiederum bilden in ihrer Gesamtheit die Muskulatur.

Ein anderes wichtiges Prinzip beim hierarchischen Aufbau von biologischen Strukturen, nämlich die Kontrolle der Montage, lässt sich beim Bakterienvirus T4 kennenlernen. Abb. 3 zeigt - nach einem Schema von WOOD und EDGAR (1967) - den Weg, wie T4 gebildet wird. Der Aufbau vollzieht sich in drei mehr oder weniger gleichzeitig ablaufenden dynamischen Prozessen, nämlich der Montage des Kopfes, der die DNS enthält, des Schwanzes und der Schwanzfasern. Erst wenn eine bestimmte Struktur, Kopf, Schwanz oder Schwanzfaser fertig ist, wird sie sich mit den anderen Baueinheiten zu einem T4-Virus zusammenfinden. Eine ganze Anzahl von Proteinen, die in der Struk-

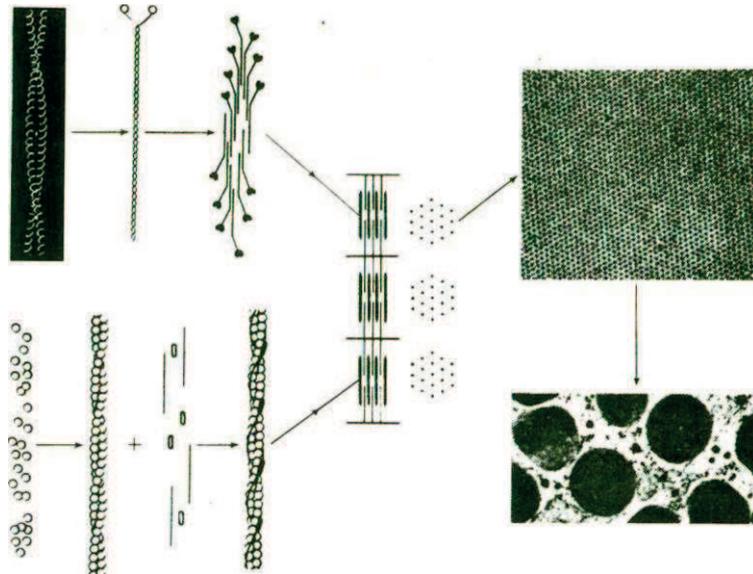


Abb. 2:

Der hierarchische Aufbau des Muskels (HOLMES, 1975)

Oben links: Das Myosinmolekül besteht aus zwei langen Polypeptidketten, die im sogen. Schwanzteil des Moleküls umeinander gewirrt sind. In diesem Bereich besteht jede Kette fast nur aus α -Helices. An einem Ende weichen die beiden Ketten auseinander und bilden große globuläre "Köpfe". Die Myosinmoleküle aggregieren spontan und bilden bipolare "dicke" Filamente, die in hexagonaler Anordnung in Sarkomeren eingelagert werden.

Links unten: Kugelförmige (globuläre) Aktinmoleküle (G-Aktin) vereinigen sich zu langen helikalen Filamenten (F-Aktin). Zwei andere Proteine, Troponin und Tropomyosin, werden an F-Aktin gebunden; auf diese Weise entsteht das "dünne" Filament. Die dünnen Filamente binden sich an die Z-Scheiben. So entstehen bipolare Bereiche, Sarkomeren, in denen dünne und dicke Filamente regelmäßig hexagonale Gitter bilden (oben rechts). Die Sarkomeren werden zu "Myofibrillen" zusammengefaßt, die voneinander räumlich getrennt sind. Die Myofibrillen sind wiederum Teil der Muskelzelle (gleich Muskelfaser).

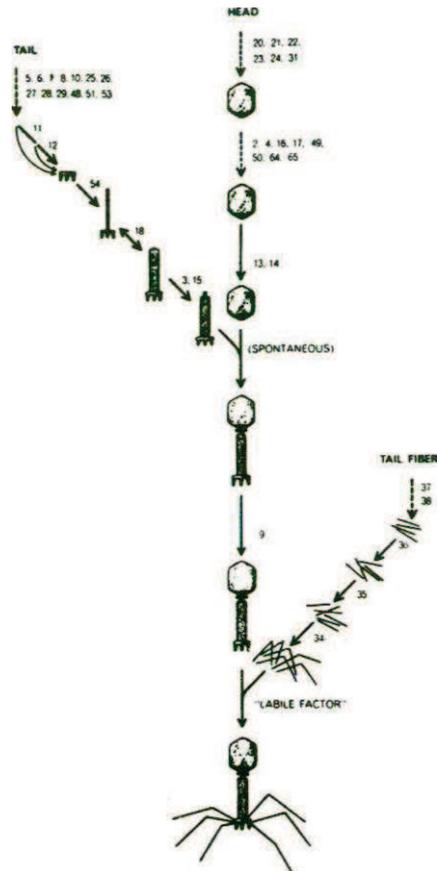


Abb. 3:

Die Montage des Bakteriophagen T4 (WOOD und EDGAR, 1967)

Es gibt drei große "Fließbänder", nämlich für den Kopf, für den Schwanz und für die Schwanzfasern. (Die Schwanzfasern bringen die Anheftung an die Bakterienwand zustande; anschließend kontrahiert sich der Schwanz und injiziert die DNS). In jedem Teilbereich der Montage gilt folgendes Kontrollprinzip: Die Fertigstellung der jeweiligen Struktur ist das Signal für die Anheftung der nächsten Komponente (entweder durch Bereitstellung komplementärer Strukturen oder durch spezifische enzymatische Modifikation).

tur selbst nicht zu entdecken sind, katalysieren den Montageprozess. Wenn wir uns auf den Schwanz konzentrieren, dann sehen wir, daß sich die Basalplatte zuerst bildet. Sobald die Basalplatte aufgebaut ist, wird sie als "fertig" erkannt, und das Innenrohr baut sich auf der Basalplatte auf. Sobald das Innenrohr fertig ist, ordnet sich die kontraktile Scheide um diesen Kern an und zwar in einer helikalen Form, die durch den Aufbau des Innenrohres bestimmt ist. Die so gebildete Struktur ist metastabil: Heftet sich das intakte T4 an ein Bakterium, kommt es durch einen Mechanismus, an dem die Schwanzfasern beteiligt sind, zu einem Bruch der Verbindung zwischen Innenrohr und Scheide. Die Scheide kontrahiert sich und treibt dadurch das Rohr durch die Bakterienwand - der entscheidende Schritt zur Infektion ist getan. Die Details bei der Montage von T4 sind sehr kompliziert und auch noch weitgehend unbekannt; jedes Mal, wenn ein größeres Bauteil fertiggestellt ist, liegt ein neues geometrisches Muster vor, das von einem spezifischen Enzym oder dem nächsten Teil der Struktur erkannt wird.

"Self-Assembly"

Proteinmoleküle können mit anderen Produkten des Zellstoffwechsels assoziieren; mit Phospholipiden beispielsweise bilden sie Membranen, mit Ribonucleinsäuren Ribosome. Proteinmoleküle können auch miteinander assoziieren und bilden unter anderem wichtige Faserstrukturen, z.B. das Kollagen oder das Keratin. Es gibt somit ein mittleres Niveau organisierter Strukturen zwischen dem Niveau der Proteinmoleküle und dem der Zellorganellen. Die Repräsentanten dieses mittleren Niveaus bezeichnet man gelegentlich als "macro-molecular assemblies". Typisch für solche Strukturen ist ihre Fähigkeit, sich spontan durch Gleichgewichtsassoziation zusammenzubauen. Solche "macro-molecular assemblies" haben oft einen hohen Symmetriegrad, der daraus resultiert, daß sie aus wenigen Typen an Untereinheiten aufgebaut werden. Besonders typische Repräsentanten der symmetrischen Gruppe sind die einfachen Viren. Unter den einfachen Viren ist uns das Tabakmosaikvirus, das TMV, am besten bekannt (CASPAR, 1963). Es besteht aus einer helikalen Anordnung von Proteinuntereinheiten, in die ein Einzelstrang des genetischen Mate-

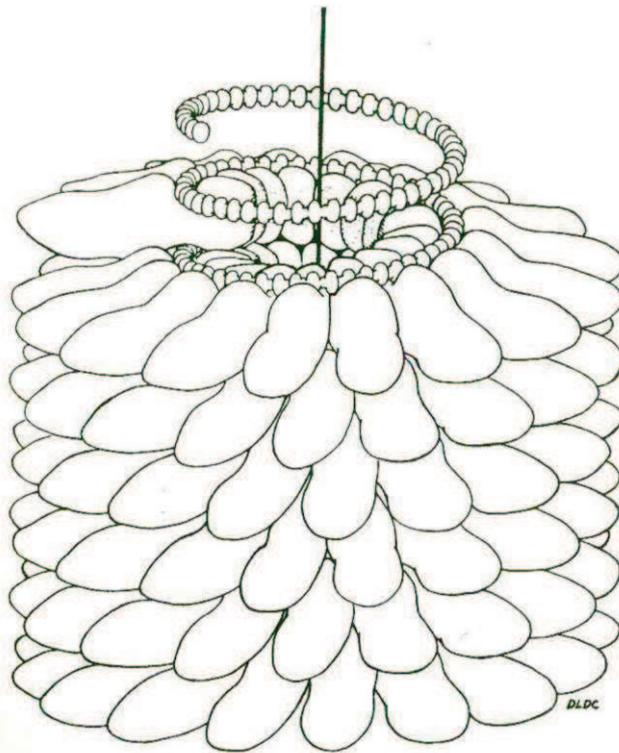


Abb. 4:

Schema des Tabakmosaikvirus (TMV) (CASPAR, 1963).
Hier sehen wir etwa 1/20 der Gesamtlänge des Virus. Jede schuhförmige Untereinheit stellt ein Proteinmolekül mit einem Molekulargewicht von 17000 dar. Die Untereinheiten sind auf einer regelmäßigen Helix angeordnet, mit 49 Untereinheiten pro drei Windungen der Helix. Eine Einzelstrang-RNS windet sich der Helix der Proteinuntereinheiten folgend durch die Struktur. Der Durchmesser der RNS-Helix ist etwa 80 Å.

rials RNS (Abb. 4) eingebettet ist. Jedes der schuhförmigen Gebilde stellt eine Proteinuntereinheit mit einem Molekulargewicht von 17,400 Dalton dar. GERHARD SCHRAMM entdeckte als Erster, daß man das Virus durch Behandlung mit Essigsäure oder Alkali völlig auseinandernehmen kann; inkubiert man isolierte und gereinigte Virus-RNS und Protein bei neutralem pH, entstehen wieder infektiöse Teilchen (FRANKEL und WILLIAMS, 1955). Hier beobachtet man also die gewaltige Potenz zur biologischen Selbstorganisation.

Die groben Umriss des TMV-Assemblies werden jetzt verstanden, und eine Beschreibung dieses Prozesses dient somit als Hinweis dafür, wie komplex selbst einfache erscheinende Prozesse sein können. Das isolierte Hüllprotein ist zur Wiederaggregation fähig und kann sogar eine Anzahl von Isomorphen bilden (Abb. 5).

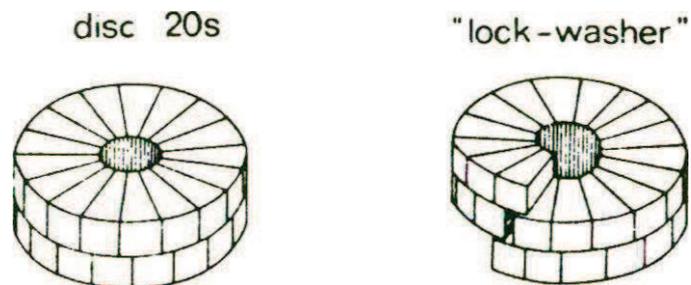


Abb. 5:

Die Scheibe (Disc) besteht aus 2 Ringen von jeweils 17 Untereinheiten und dient der Kernbildung des TMV's. Während der Bindung der RNS verschiebt sich die Scheibe in einen Federring (lock washer) mit $16 \frac{1}{3}$ Untereinheiten pro Umdrehung.

Das wichtigste hierunter ist die "Scheibe". Sie besteht aus 2 Ringen mit jeweils 17 Untereinheiten mit gleicher Orientierung. Kinetische Untersuchungen von BUTLER und KLUG (1971) zeigten die Notwendigkeit der "Scheibe" für die Kernbildung des TMV aus Proteinuntereinheiten und RNS. Beim Binden der RNS verschiebt sich die

Scheibe offensichtlich in eine kurze Helix (Federring). Gleichzeitig ist die RNS zwischen den Windungen eingebaut. Das Wachstum des Virus schreitet weiter voran, wenn weitere Scheiben hinzukommen. Jedoch geht das Viruswachstum nicht vom RNS-Ende aus, sondern eher von einem "Assembly-Ursprung", der ungefähr bei 1/6 der RNS-Strecke vom 3' Ende liegt.

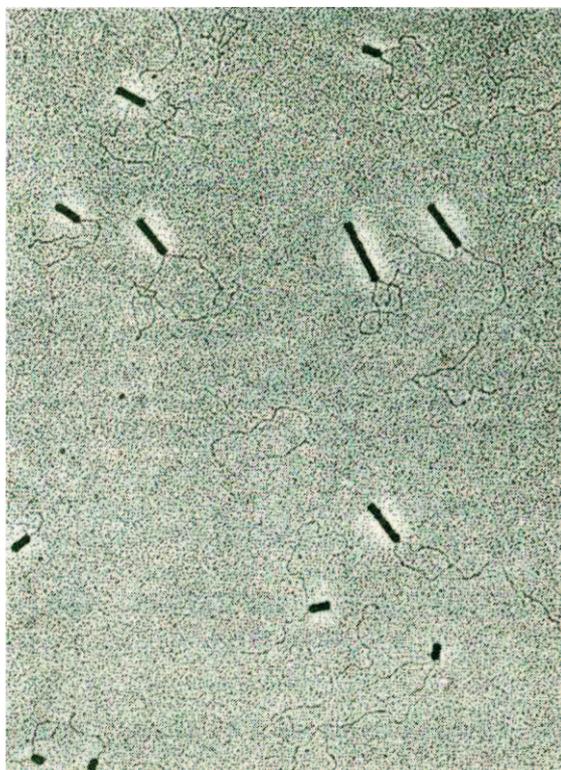


Abb. 6:

In vitro Zusammenbau von TMV-Partikeln (Elektronenmikroskopische Aufnahme von LEBEURIER et al, 1977).

Bemerkenswert sind die zwei RNS-Schwänze, die aus dem gleichen Ende kommen. Beim Zusammenbau windet sich die RNS-Kette durch den Hohlraum in der Mitte des Virus durch.

Die Struktur des inneren Virusteils ist in Abb. 7 dargestellt. Man sieht, daß zwischen der RNS und der zentralen Öffnung im Virus eine Struktur vorhanden ist, möglicherweise eine Alpha-Helix, die den Weg zwischen den beiden RNS-Bindungsstellen und der zentralen Öffnung versperrt. In der Scheibenstruktur ist dieser Teil der Proteinkette (22 Aminosäurereste) jedoch wesentlich aufgelöst und besitzt keine Struktur. Jede Proteinuntereinheit bindet 3 Ribonukleinsäurereste. Der Kern der Bindungsstelle ist mit einer Alpha-Helix versehen (die sog. LR-Helix). Die LR-Helix ist bereits in der Scheibe vorhanden und bindet die RNS vermutlich in der gleichen Weise wie es beim intakten Virus der Fall ist, wobei jede Gruppe von 3 Basen eine "Kralle" um die Alpha-Helix bildet. Während der Bindung der RNS nehmen die 22 gelösten Aminosäurereste eine genaue Anordnung an. Vermutlich verschiebt sich zu diesem Zeitpunkt die Scheibe, und es entsteht der Federring. Gleichzeitig wird die RNS vom Kontakt mit dem Wasser abgeschirmt; daraus erklärt sich die hohe TMV-RNS-Stabilität im Virus. Der Wechsel von Scheibe zu Federring oder Helix bei der Bindung der RNS scheint ein kooperatives Phänomen zu sein. Dies erklärt vielleicht die Fähigkeit der Scheibe, den "Assembly-Ursprung" der RNS zu erkennen und die, jegliche RNS-Sequenz, während der Verlängerung des Virus, unterzubringen.

Wir sehen, daß die einfach erscheinende Aufgabe, nämlich helikale Viren zusammenzubauen, tatsächlich über einen recht komplexen Weg verläuft. Die Komplexität geht vermutlich auf die Entwicklungsgeschichte der Viren zurück und kann nur in einem noch zu erforschenden historischen Kontext begriffen werden.

Symmetrie in einfachen Viren

Auf der Ebene von Molekülen und "macro-molecular assemblies" ist es zweckvoll, in Art eines reduktionistischen Ansatzes den Begriff "Form" als Wechselwirkungen zwischen Untereinheiten zu analysieren. Unter Berücksichtigung solcher "macro-molecular assemblies" dürfen allerdings globale Regeln nicht vergessen werden: "Regulär assemblies" oder Mengen sind durch Symmetrie beschreibbar und müssen

einer der bekannten Symmetriegruppen zugeordnet werden können.

Ein gutes Beispiel für eine erfolgreiche Anwendung der Symmetrie-Idee ist durch die Strukturklassifikation einfacher Kugelviren gegeben. Diese Gruppe der Viren hat eine sphärisch-ähnliche Erscheinung. Die sphärischste Symmetriegruppe ist die Ikosaeder¹ sehe (die sog. 532 Punktgruppe). Man kann 60 gleiche Figuren auf der Oberfläche eines Ikosaeders so anordnen, daß sie alle gleichen Kontakt mit ihrem Nachbarn haben (Abb. 8).

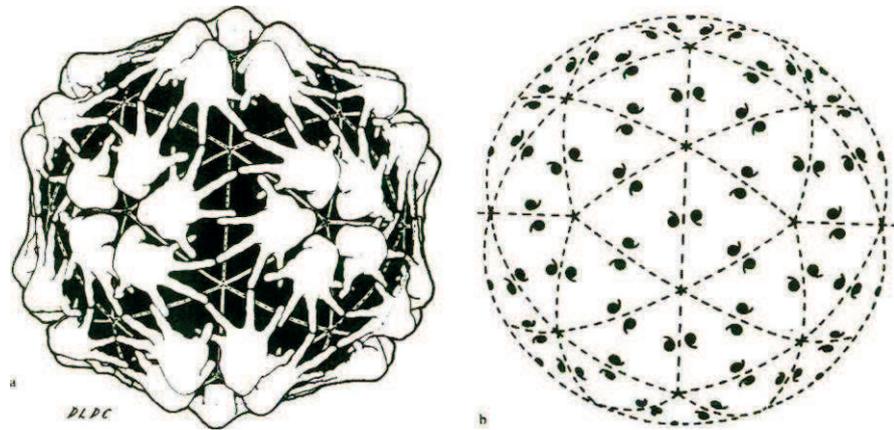


Abb. 8:

a) Man kann 60 identische Gegenstände auf der Oberfläche eines Ikosaeders so anordnen, daß alle identische Kontakte mit ihren Nachbarn haben. Die Zeichnung (CASPAR) zeigt deutlich, wie die Gegenstände durch die zwölf fünfzähligen Achsen miteinander in Beziehung stehen. Die dazwischenliegenden dreizähligen Achsen sind ebenfalls deutlich erkennbar. Man beachte das Gitter sphärischer Dreiecke, das durch Kombination der fünfzähligen und dreizähligen Achsen zustande kommt.

b) Das Gitter aus Dreiecken auf einer Kugeloberfläche ist dasselbe wie in "a". In jeder Hand (a) sieht man Gruppierungen von drei Kompartimenten (b). Jedes Kompartiment hat fast dieselbe Umgebung wie jedes andere Kompartiment, obwohl strenggenommen nur Dreiergruppen miteinander durch Symmetrie in Beziehung stehen. Dieser Modus der Anordnung wird Pseudosymmetrie genannt (CASPAR und KLUG, 1962) und zeigt, wie man fast sphärische Schalen mit einer großen Anzahl identischer Untereinheiten bilden kann. Diese Pseudosymmetrien lassen sich dadurch erzeugen, daß man andere Gitter zwischen den fünfzähligen und dreizähligen Achsen des Ikosaeders einzeichnet. Eine solche Pseudosymmetrie kommt häufig bei den sog. Kugelviren vor.

Tatsächlich hat man aber nun gefunden, daß fast alle bekannten Kugelviren aus mehr als 60 Untereinheiten bestehen. CASPAR und KLUG (1962) haben gezeigt, daß man jede Ikosaederfläche in drei oder mehr ungefähr kongruente Dreiecke aufteilen und somit 180 oder mehr Untereinheiten auf der Ikosaederfläche unterbringen kann, so daß jede Untereinheit in etwa die gleiche Umgebung hat. Man spricht dann von pseudo-äquivalenter Packung der Untereinheiten. Diese Pseudosymmetrie findet man beispielsweise im "turnip yellow mosaic virus", dem Gelbmosaikvirus der Steckrübe. Abb. 9 zeigt die Aggregation der länglichen Proteinuntereinheiten zu einer Ikosaederschale. Die RNS faltet sich spontan zu einem Kern (FINCH und KLUG, 1966) .

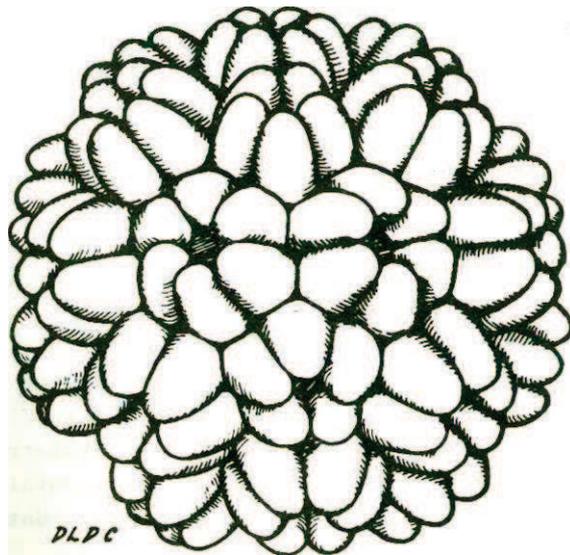


Abb. 9:

Das Gelbmosaikvirus der Steckrübe (CASPAR). 180 identische Proteinmoleküle bilden eine pseudosphärische Schale. Die Anordnung der Proteinmoleküle hat die in Abb. 8 dargestellte Symmetrie. Die Proteinschale enthält die virale RNS. Wie die RNS im Detail verpackt ist, ist unbekannt.

Andere Unterteilungen der Ikosaederoberfläche sind möglich und werden tatsächlich gefunden. Die Theorie der pseudo-symmetrischen Packung setzt der Anzahl der Untereinheiten, die eine pseudo-sphärische Schale bilden können, ganz deutliche Grenzen; z.B. 60, 3 x 60, 4 x 60 und 7 x 60 sind erlaubt, 2 x 60 jedoch ist nicht erlaubt. Alle bekannten Kugelviren finden in diesem Schema Platz.

Höhere Stufen der Organisation

Eine weitere, abgrenzbare Organisationsstufe finden wir bei den Zellorganellen, wie Mitochondrien oder im Zellkern. Wir wissen noch wenig über den dynamischen Aufbau oder die Reduplikation solcher komplexer Strukturen; es wird aber angenommen, daß sie nach ähnlichen Prinzipien wie die Viren aufgebaut werden. Eine Stufe höher organisieren sich Proteine sowie Metaboliten, subzelluläre Strukturen und Organellen innerhalb einer Plasmamembran zu einer ganzen Zelle. Zellen bilden Gewebe, Gewebe Organe und Organe Organismen.

In welchem Maße wird es uns gelingen, die Form von Zellenassemblies d.h. Organismen zu verstehen? Fragen in diesem Zusammenhang hat die Wissenschaft über Generationen hindurch beschäftigt. Viele metaphysische Theorien beruhen darauf, so auch Goethe's Theorie der Urbilder. Hinter diesem Theoretisieren steht der platonische Grundgedanke, biologische Formen müßten immer geometrische Eigenschaften unseres Universums widerspiegeln, wie z.B. die Symmetriegruppen. Andererseits sollte der Beitrag des historischen Zufalls nicht vernachlässigt werden: Erfolgreiche Formen werden als Untereinheiten des Organismus "eingefroren".

D'ARCY THOMPSON (1917) zeigte mit Erfolg, daß manche Aspekte der Form äußerem physikalischem Zwang unterliegen, wie z.B. der Oberflächenspannung. Daß er auch begann, dem Isomorphismus zwischen Tieren einer Gattung quantitative Formen zu verleihen, und zwar aufgrund seiner Theorie der Formen-Transformation, ist vielleicht noch bedeutender. Diese Idee ist in Abb. 10 verdeutlicht. Anhand eines Beispiels zeigt die Abbildung wie es möglich ist, verschie- j

dene Krabbenschalen übereinander darzustellen, wenn eine bestimmte Transformation des Koordinatensystems der Krabben durchgeführt ist. Diese Beobachtung verringert die Anzahl der noch zu erklärenden Formen erheblich und läßt die Vermutung zu, daß bei bekanntem Mechanismus der Morphogenese für ein bestimmtes Lebewesen sämtliche in dieselbe Gruppe fallenden Organismen strukturmäßig erklärbar werden.

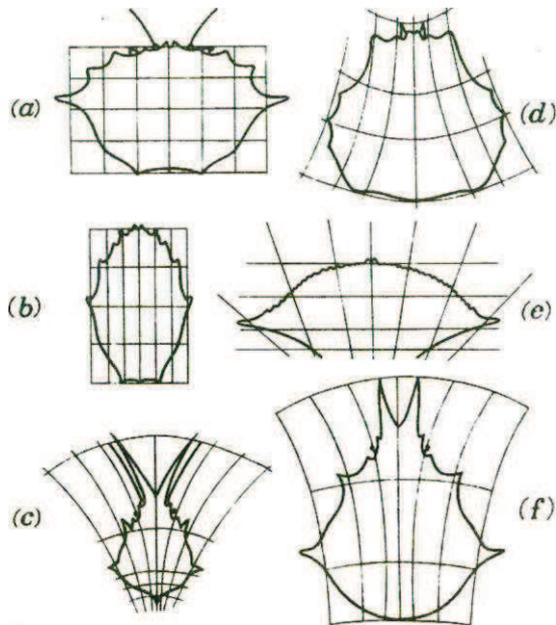


Abb. 10:

Die Theorie der "Form-Transformation" von THOMPSON wendet sämtliche Krabbenschalen an:

- | | |
|----------------|--------------|
| a) Geryon | d) Paralomis |
| b) Corystes | e) Lupa |
| c) Scyramathia | f) Charinus |

Welcher Mechanismus könnte dies sein? Eine Beschreibung embryologischer Prozesse muß auf jeden Fall weniger speziell sein als die Beschreibung "macro-molecular assemblies", weil die geometrischen Details der Zell-Zell-Wechselwirkung im allgemeinen bei der Bestimmung einer biologischen Form von geringerer Bedeutung sind. Das organisierende Prinzip scheint eher das Konzept von embryologischen Feldern zu sein. Diese Idee wurde erstmalig zu Beginn dieses Jahrhunderts in die Embryologie eingeführt und ist jetzt ein aktuelles Forschungsthema geworden. Innerhalb eines Feldes wird die Kontrolle zellulärer Differenzierung durch einen oder mehrere diffusible Faktoren ausgeübt. Im frühen Entwicklungsstadium von z.B. amphibischen Blastula, unterliegt die gesamte Zellgruppe der Kontrolle eines Feldes. Später, bei der Entwicklung der Gliedmaßen usw., treten Sekundärfelder auf. Die Felder haben erkennbare Symmetrien und gut umrissene Außengrenzen. In vielen Fällen scheint die Kontrolle über die Differenzierung innerhalb eines Feldes durch Gradienten in den morphogenetischen Substanzen ausgeübt zu werden, einige Zellen agieren als Quellen und andere als "sinks" für einige kleine hormonähnliche diffusible Moleküle.

Solche Systeme von Quellen und Sinks können spontan ein bestimmtes Muster entwickeln. Abb. 11 zeigt ein Beispiel aus der Biochemie. Ein Schälchen enthält Hefeextrakt, das zur Glykolyse fähig ist. Die der Arbeit von HESS et al. (1980) entnommene Abbildung zeigt die Verteilung des reduzierten Pyridinnukleotids NADH, die nach einigen Minuten entsteht. NADH absorbiert UV-Licht stärker als die oxidierte Form NAD. Solche stabilen Muster eines Reduktionsgrades entstehen spontan und bleiben so lange erhalten, wie "Nahrung" (z.B. Amylose) vorhanden ist. Die Fähigkeit der Wechselwirkung, zwischen Reaktionsmechanismus und Diffusion eine Raumordnung zu schaffen, wird an diesem Beispiel verdeutlicht. TURING (1952) wies als Erster auf die theoretische Möglichkeit dieses Ereignisses hin. Eine für solches Verhalten notwendige Bedingung ist Nicht-Linearität. Für die Glykolyse ist das Schlüsselenzym für nicht-lineares Verhalten das allosterische Enzym Phosphofruktokinase. Dieses Enzym wird durch seine Produkte in einem hohen Aktivitätszustand übergeleitet, d.h. es zeigt positive Rück-

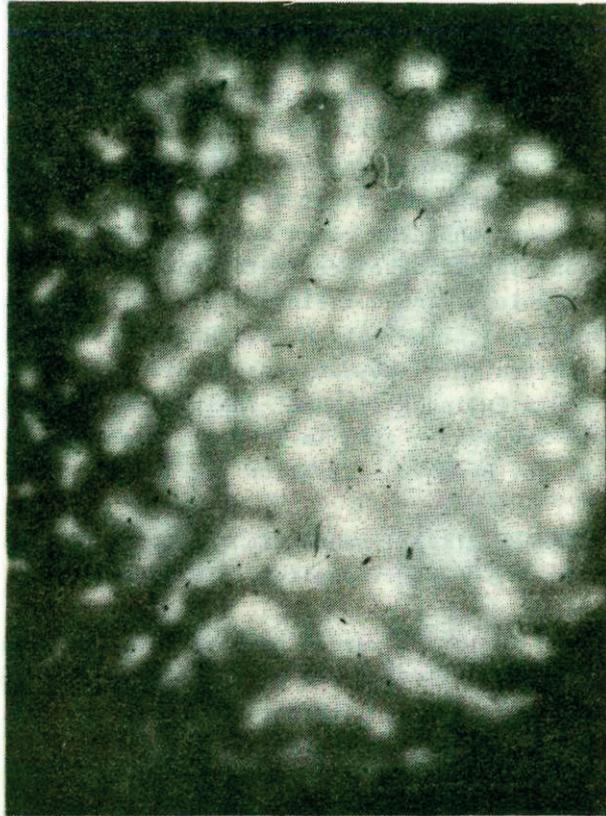


Abb. 11:

Räumliches Muster der Ausbreitung von Pyridinnukleotid der oszillierenden Hefeglykolyse: Die Transmissions-Ultraviolett-Photographie (HESS et al., 1980) zeigt einen glykolysierenden Hefeextrakt im Reaktionsraum von etwa 2 mm Schichtdicke und stellt eine Momentaufnahme des Reduktionsgrads von Pyridinnukleotid dar. Man erkennt, daß der Reduktionsgrad unterschiedlich verteilt ist. Voll reduziertes Pyridinnukleotid ist schwarz, voll oxydiertes Pyridinnukleotid ist weiß. Da der Reduktionsgrad ein Umsatzmaß der Glykolyse ist, zeigt die Momentaufnahme die unterschiedliche glykolytische Aktivität im gesamten Reaktionsraum von 1 cm Durchmesser direkt an. Man erkennt die räumliche Organisation des Vorganges in scharf umgrenzten Territorien als Folge der Kopplung von enzymatischem Umsatz und Stofftransport.

kopplung.

Eines der bekanntesten Beispiele in der Entwicklung, das auf eine ähnliche Weise kontrolliert wird, ist die Induktion der Kopfbildung in der Hydra. Hydra ist ein kleiner Süßwasserpolymp von ungefähr 1 cm Länge, der sich normalerweise asexuell durch Knospung vermehrt. Das Tier besteht aus einer zylindrischen Gastrairegion mit einem Kopf an einem Ende und einem klebrigen Fuß am anderen Ende. Klassische Transplantationsexperimente von SPEMANN und MANGOLD zeigten, daß die Induktion auf einer diffusiblen Substanz von geringem Molekulargewicht beruht. H.C. SCHALLER (1979) und ihre Mitarbeiter isolierten kürzlich Substanzen, die für Kopfinduktion und -inhibition sowie Fußinduktion und -inhibition in Hydra verantwortlich sind. Die Substanzen sind im Tier als Gradienten verteilt und schon bei sehr geringer Konzentration ($\ll 10^{-9}$ M) wirksam.

GIERER und MEINHARDT (1972) haben ein theoretisches Modell für die Morphogenese in der Hydra erarbeitet. Sie postulieren:

1. Aktivator und Inhibitor werden gespeichert. Der Aktivator, einmal freigesetzt, aktiviert die eigene Freisetzung (positive Rückkopplung) und die des Inhibitors, wobei der Inhibitor die Freisetzung des Aktivators hemmt.
2. Es existiert ein Gradient von gespeichertem Aktivator und Inhibitor entlang der Körperachse.
3. Der Inhibitor diffundiert und hat somit eine größere Reichweite als der Aktivator.

Anhand solcher Postulate ist es möglich, Computersimulation der auftretenden morphogenetischen Ereignisse durchzuführen, z.B. während der Knospung. Abb. 12 zeigt ein Computer-Modell einer wachsenden Hydra, in dem Schwankungen in die anfänglich flachen Aktivator- und Inhibitorgradienten durch einen Zufallszahlengenerator eingeführt werden. Das Modell verteilt die neuen Knospen korrekt und schafft hohe Kopfaktivatorkonzentrationen um die neuen Knospen

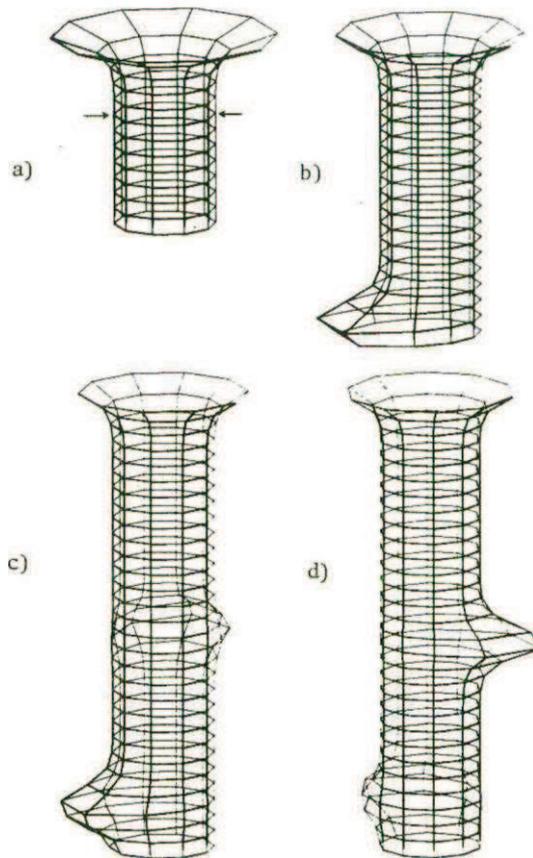


Abb. 12:

Computer-Modell der Knospung in einer wachsenden Hydra (MEINHARDT und GIERER, 1974). a, b und c zeigen vier Stufen wie die zylindrische Gastrairegion wächst, d entspricht c, jedoch aus einer anderen Perspektive.

herum. Das Modell erfordert 2 Substanzen, einen Aktivator und einen Repressor, in zwei Zustandsformen: frei und strukturgebunden.

Solche Substanzen wurden jetzt in der Hydra gefunden, sowohl für den Kopf, als auch für den Fuß. Außerdem zeigte H.C. SCHALLER, daß der Kopfaktivator auch bei Säugetieren auftritt, und zwar vorwiegend im Darm und im Gehirn. Weiterhin ist bekannt, daß diese Substanz in der Hydra in sekretorischen Granula gespeichert wird. Alle 4 Substanzen werden in der Hydra von Nervenzellen produziert. Dies läßt vermuten, daß alle 4 in der Hydra gefundenen morphogenetischen Faktoren den bei höheren Tieren vorgefundenen Verbindungen, den Peptidhormonen und synaptischen Transmittoren, ähneln. Ferner ist es möglich, daß das Nervensystem eine gesonderte Form eines Mechanismus darstellt, der zuerst entstand, um die Differenzierung zu kontrollieren. Die möglichen Verzweigungen eines solchen Systems sind fast unbeschränkt.

Literatur:

- BUTLER, P.J.G., KLUG, A.: Nature New Biol. 229, 47 (1971)
BUTLER, P.J.G., FINCH, J.T., ZIMMERN, D.: Nature (London) 265,
217 (1977)
CASPAR, D.L.D., KLUG, A.: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 27,
1 (1962)
CASPAR, D.L.D.: Advances Protein Chem. J8, 37-121 (1963)
FINCH, J.T., KLUG, A.: J. Mol. Biol. J5, 344 (1966)
FRAENKEL-CONRAT, H., WILLIAMS, R.C.: Proc. Nat. Acad. Sei. U.S.A. 51,
690 (1955)
GIERER, A., MEINHARDT, H.: Kybernetik 12, 30-39 (1972)
HESS, B., BOITEAUX, A., CHANCE, E.T.: Lipmann Symp., Paris (1980),
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, Ed. François Chapeville
HOLMES, K.C.: Klin. Wochenschr. 53, 997-1005 (1975)
LEBEURIER, G., NICOLAIEFF, A., RICHARDS, K.E.: Proc. Natl. Acad.
Sei. USA 74, 149 (1977)
MEINHARDT, H., GIERER, A.: J. Cell. Sei. J5, 321-346 (1974)
SCHALLER, H.C.: Trends in Neurosciences 2, 120-122 (1979)

- SCHULZ, G.E., SCHIRMER, R.II.: Principles of Protein Structure, Springer-Verlag New York (1979)
- STUBBS, G.J., WARREN, S.G., HOLMES, K.C.: Nature (London) 26[^], 216 (1977)
- THOMPSON, D.W.: "On Growth and Form", Cambridge University Press (1917), letzte Ausgabe (1971)
- TURING, A.M.: Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B. 237, 37-72 (1952)
- WOOD, W.B., EDGAR, R.S.: Scientific American 2J_7, (1), 60 (1967)

Diskussion:

WRBA:

Wenn ich Sie richtig verstanden habe, ist das Prinzip der räumlichen Ordnung von Makromolekülen, diese gesetzmäßigen Zusammenhänge von Makromolekülen oder einer Suspension von Biomolekülen in einer Flüssigkeit mit Zufall, Entropie und sonstigen Naturgesetzen verbunden. Bei allen höheren Strukturen, von denen Sie eine ganze Reihe gezeigt haben, müssen diese Mechanismen darüber hinaus doch noch genetisch codiert sein.

Diese Codierung muß sich im wesentlichen in der Proteinsynthese niederschlagen, die derartige Strukturen dann zu höherer Selbstorganisation befähigt. Ich habe Sie so verstanden, daß Sie durch die ganze Existenz der Organismen ein Ordnungsprinzip der gleichen Art vermuten.

HOLMES:

Ich glaube, so generell, kann man das nicht interpretieren. Bestimmt laufen bei kleinen "Assemblies" derartige Gesetzmäßigkeiten ab. Selbst dort birgt jede Schematisierung jedoch die Gefahr der Vereinfachung in sich.

Es gibt den Begriff "morphopoetische Faktoren". Das bedeutet, nicht alles, was für den kontrollierten Ablauf der Struktursynthese, beispielsweise irgend eines Virus, erforderlich ist, ist an-

schließlich auch integraler Bestandteil der Fertigstruktur. Von kinetischen Untersuchungen ist bekannt, daß sich daran viele Faktoren, beispielsweise Enzyme, beteiligen. Dieser Gesamt Ablauf scheint kinetisch codiert zu sein. Darin stimme ich mit Ihnen überein.

WRBA:

Das beste Beispiel ist doch die Phylogenese von der Entstehung der Aminosäuren bis zum Protein. Zunächst spielt der Zufall eine Rolle, dann kommt ein Organisationsprinzip hinzu und schließlich wird dieses Organisationsprinzip, beispielsweise im Nukleinsäure-Code, zur Gesetzmäßigkeit. In der molekularen Umwelt gibt es also sehr verschiedene Strukturierungen.

HOLMES:

Trotzdem ist jede einzelne Stufe wichtig. Diesen Stufen - genetisch determiniert oder nicht - liegt eine gewisse biologische Selbstorganisation i.S. eines Baukastenprinzips zugrunde.

PORCHER:

Die Zytoplasmatische Therapie verwendet zelluläre Faktoren tierischen Ursprungs. In der Humanmedizin werden diese makromolekularen Organextrakte u.a. bei Enzymopathien und verschiedenen Stoffwechseldefekten eingesetzt. Wäre es nicht möglich, folgendes Schlüsselexperiment durchzuführen: Verwendung eines Enzyms humanen Ursprungs mit genau definierter Wirksamkeit, Dissoziation in die einzelnen Untereinheiten, "Konfrontation" mit einem dissoziierten Enzym ähnlicher enzymatischer Wirksamkeit, aber tierischen Ursprungs. Abschließend Prüfung, ob hier eine Art "Self-Assembly" zustande kommt und wenn ja, wie sich diese auf die enzymatische Aktivität auswirkt. Wurden solche Versuche schon einmal gemacht? Wenn nicht, könnten Sie derartige Experimente an Ihrem Institut durchführen?

HOLMES:

Ich glaube, Experimente in dieser Richtung sind schon gemacht worden. Beispielsweise läßt sich Hämoglobin dissoziieren. Sie wissen: Es gibt sehr viele Hämoglobin-Krankheiten. Es ist nun möglich, ein "defektes" Hämoglobin-Molekül mit einem "intakten" Hämoglobin-Mole-

kül zu hybridisieren. Diese Versuche wurden meines Wissens in Cambridge durchgeführt. Heraus kam folgendes Ergebnis: In Art einer Komplementierung wurden die defekten Strukturen teilweise durch "gesunde" Proteinstruktur korrigiert. In diesem experimentellen System wurden also artgleiche Enzyme verwendet. Experimente über die Artgrenzen hinweg sind sicher interessant; sobald ein experimentelles Konzept vorliegt, könnten wir derartige Versuche durchführen.

THEURER:

Im Rahmen der Zytoplasmatischen Therapie interessiert natürlich, wie die Wirksamkeit von Untereinheiten, die wir durch unser Lyse-Verfahren gewinnen, zu erklären ist. Möglicherweise gelingt es, in defekten Molekülen Untereinheiten gegen funktionell vollwertige auszutauschen. Gerade durch Untereinheiten oder Bestandteile von Molekülen mit "Informationscharakter" müßte auf molekularer Ebene, bei Eiweißen oder Proteinen, auch eine Art Repair-Vorgang möglich sein.

HOLMES:

Ich könnte mir derartige Abläufe durchaus vorstellen. Beispielsweise besteht das Enzym Phosphokinase aus zahlreichen Untereinheiten. Dieses Enzym läßt sich dissoziieren. Ein Austausch von Untereinheiten scheint mir damit durchaus realisierbar. Das Problem liegt m.E. wohl mehr auf einer anderen Ebene. Wie gelangt eine extern zugeführte Substanz an die richtige Stelle?

THEURER:

Hier spielen die auf molekularer Ebene vorhandenen Erkennungsmechanismen eine Rolle. Daran schließt sich gleich meine Frage an: Liegen den Erkennungsmechanismen elektromagnetische oder stereospezifische Prozesse zugrunde?

HOLMES:

Eine Stereospezifität ist meistens elektrostatischer Natur. Zurück auf meine Frage, scheint mir das Problem doch darin zu liegen, wie die Faktoren in vivo durch die Hüllmembran geschleust werden.

THEURER:

Die Fragen um die Penetration bzw. Persorption von zellulären Faktoren haben Prof. v. MAYERSBACH, Hannover, und Prof. SEIFERT, München, experimentell bearbeitet. Die Ergebnisse waren positiv.

Spielen nun bei den Reaggregationsvorgängen von Viren energetisch Faktoren eine Rolle? Muß also Energie zugeführt werden, ehe diese Ablauf überhaupt zustande kommt?

HOLMES:

In vielen Fällen finden sich "Spontanstarts". Bei einzelnen Bauabschnitten allerdings wird Energie in Form des ATP benötigt, so beispielsweise beim Einbau von DNS in den Kopf des Bakteriophagen T4.

Moderne Methoden geringster Konzentrationsbestimmungen:
Radio-Immuno-Assay (RIA) und Enzym-Immuno-Assay (EIA)

E. H. GRAUL

Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

Für die Bestimmung von körpereigenen Substanzen wie z.B. Hormone und Proteine oder von Medikamenten, die im Serum nur in ng- oder pg-Konzentrationen vorliegen, sind in den vergangenen Jahren verschiedene immunchemische Methoden entwickelt worden. Die hierbei verwendeten Immunreagentien - Antigene und Antikörper - vereinigen sich zu einem Antigen-Antikörper-Komplex unter der Prämisse einer hohen Spezifität, d.h. Paßgenauigkeit nach dem Schlüssel-Schloß-Prinzip analog der Enzym-Substrat-Spezifität.

Die auf dem Immunprinzip basierenden quantitativen Bestimmungsmethoden erhielten eine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung, als es gelang, einen der Reaktionspartner - meistens das Antigen - mit einem Marker zu versehen. Als Marker dienten vorwiegend Radionuklide (z.B. Tritium, Radiojod) oder Fluoreszenzfarbstoffe. Eine besondere Entwicklung fand in den letzten Jahren der Radio-Immuno-Assay (RIA).

I. Radio-Immuno-Assay

Der Radio-Immuno-Assay ist ein hochempfindliches, spezifisches Analyseverfahren. Billionstel Gramm oder Pikogramm z.B. eines Peptidhormons pro ml Serum lassen sich oft noch bequem nachweisen. Den biologischen Tests ist der Radio-Immuno-Assay in Empfindlichkeit und Zeitaufwand überlegen. Verschiedene Arbeitsgänge lassen sich automatisieren. Mit dem Radio-Immuno-Assay können in vergleichsweise kurzer Zeit, bei geringen Kosten, viele Proben untersucht werden. In seiner Präzision steht der Radio-Immuno-Assay den che-

misch-analytischen Verfahren näher als den biologischen Tests.

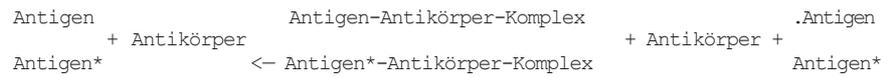


Abb. 1:

Reaktionsschema des Radio-Immuno-Assay. Das Symbol¹ kennzeichnet die radioaktive Markierung.

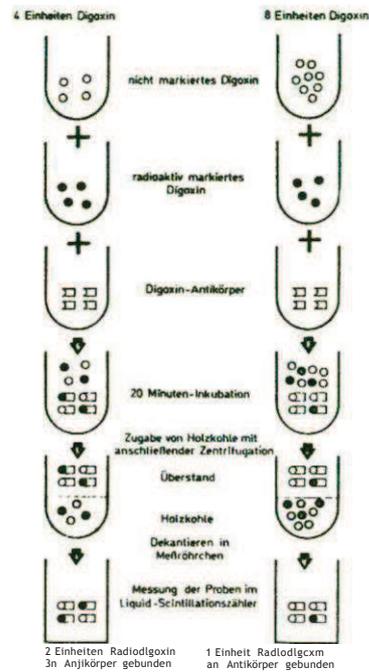


Abb. 2:

Prinzip des Radio-Immuno-Assay am Beispiel eines Digoxin-Radio-Immuno-Assays (³H-RIA A-t). Das Schema demonstriert die einzelnen aufeinanderfolgenden Arbeitsgänge und Reaktionsschritte. Die rechte vertikale Reihe zeigt im Vergleich zur linken die Bestimmung der doppelten Menge an Digoxin; dabei wird am Ende der Reaktion weniger radioaktives Digoxin in der Probe gemessen.

(E.H. GRAUL u. H. MÜLLER, Proceedings 32nd Medical panel Specialist Meeting (AGARD) Ankara, Oktober 1975)

Der Radio-Immuno-Assay basiert auf dem Phänomen, daß radioaktiv markiertes und nicht markiertes Antigen, die sich immunologisch nicht voneinander unterscheiden, um die Bindung mit einem bestimmten spezifischen Antikörper konkurrieren. Diese Reaktion ist reversibel und gehorcht dem Massenwirkungsgesetz (Abb. 1). Nach Mischen der Lösungen stellt sich ein, für die jeweiligen Reaktionspartner charakteristischer, Gleichgewichtszustand ein, zwischen freiem Antigen und freiem Antikörper einerseits, sowie dem Antigen-Antikörper-Komplex andererseits. Da beim Radio-Immuno-Assay immer mit einer begrenzten Menge von Antikörpern gearbeitet wird, liegt neben dem Komplex stets noch freies Antigen vor. Verwendet man bei einer solchen Reaktion eine bestimmte Menge eines radioaktiv markierten Antigens, eines sogenannten Tracers, so wird wegen der Konkurrenz um den beschränkt vorhandenen Antikörper umso weniger Tracer gebunden, je mehr nichtmarkiertes Antigen vorhanden ist und umgekehrt. Die Menge an freiem, also ungebundenem Tracer ist daher ein Maß für die Konzentration des gesuchten, nicht-markierten Antigens. Mittels Eichkurven läßt sich dann für jedes Testsystem die Menge des in einer Probe enthaltenen Antigens ermitteln.

Um die Menge des nicht gebundenen Tracers zu messen, muß der Antigen-Antikörper-Komplex durch Zentrifugation, Ionenaustausch, Fällung, Gel-Filtration, Adsorption oder durch Agglutination entfernt werden.

Der Radio-Immuno-Assay wurde ursprünglich für die Analyse von Peptidhormonen entwickelt. 1960 gelang erstmals die Bestimmung von Insulin. Inzwischen konnte das Verfahren auch auf andere Stoffgruppen wie Enzyme, Globuline oder Steroide ausgedehnt werden. Der Radio-Immuno-Assay hat im vergangenen Jahrzehnt wesentlich zum Fortschritt der Physiologie, insbesondere der Endokrinologie, beigetragen. In größerem Umfang angewandt, dürfte er, von der Grundlagenforschung abgesehen, auch im klinischen Bereich erhebliche Fortschritte bringen.

Während Proteine und Peptide, nach entsprechender Reinigung, direkt für die Gewinnung von Antikörpern verwendet werden können, müssen

niedermolekulare Substanzen, wie Peptide oder Steroide, als Haptene an Proteine gekoppelt werden.

Der Tracer wird bei Proteinen gewöhnlich durch Jodierung der Thyro-
125
sinreste mit ^{125}J hergestellt. Jodisotope haben den Vorteil, daß ihre Gammastrahlung relativ einfach zu messen ist. Schwieriger ist die Situation bei Peptiden, die, wie z.B. das Bradykinin, kein Thyrosin enthalten, oder bei Steroiden und anderen Haptenen, die normalerweise nur mit Tritium oder ^{14}C zu markieren sind. Für diese schwachen Strahler sind Flüssigkeits-Szintillationszähler erforderlich; die dafür notwendige Probenaufbereitung ist jedoch zusätzlich arbeitsaufwendig. Zur Erleichterung des Arbeitsablaufes werden von verschiedenen Firmen Bestecke für den Radio-Immuno-Assay angeboten, die alle erforderlichen Reagenzien enthalten. Mit diesen Bestecken kann auch vergleichsweise unerfahrenes Personal einwandfreie Ergebnisse erzielen. Es wird erwartet, daß speziell die Bestimmung von tumorspezifischen Antigenen eine Bedeutung für ein sinnvolles Screening i.S. der Krebsfrüherkennung erlangen wird.

Die Verwendung der genannten Marker weist jedoch gewisse Nachteile auf, so bei den Radio-Immuno-Assays, die, wenn auch geringe Strahlenexposition für das Laborpersonal, die begrenzte Haltbarkeit der Kits wegen des radioaktiven Zerfalls und der daraus folgenden Instabilität der Reagenzien, sowie die erforderliche, besondere instrumentelle Ausrüstung (Radioaktivitätsmeßgerät in Form eines automatischen Probenwechslers).

Gegenwärtig vollzieht sich die Entwicklung eines neuen immunologischen Testprinzips, das sich eines Enzyms zur Markierung, anstatt eines Radionuklids wie beim Radio-Immuno-Assay, bedient und deshalb als Enzym-Immuno-Assay (EIA) bezeichnet wird.

11. Enzym-Immuno-Assay

Als Enzyme finden Peroxydase, alkalische Phosphatase und Glukose-6-Phosphatdehydrogenase Verwendung. Der Kunstgriff besteht darin, daß das Enzym an das Antigen, für dessen Nachweis der Test konzipiert ist, chemisch so gebunden wird, daß die Immunreaktivität von Antigen und Antikörper nicht beeinträchtigt wird.

Soll z.B. ein bestimmtes Hormon mit dem EIA bestimmt werden, so muß zunächst dieses Hormon mit einem geeigneten Enzym markiert werden. Der Test wird dann analog dem RIA ausgeführt, indem die Patientenprobe, die das gesuchte Hormon enthält, mit einer konstanten Menge des enzymmarkierten Hormons gemischt und anschließend mit einer ebenfalls konstanten Antikörpermenge zur Reaktion gebracht wird. Enzymmarkierte und Patientenhormon-Moleküle konkurrieren nur um die freien Bindungsplätze des Antikörpers. Nach Erreichen eines Gleichgewichtes innerhalb einer definierten Inkubationszeit wird ein bestimmter Teil des enzymmarkierten Hormons an den Antikörper gebunden sein. Die Enzym-Aktivität erlischt, sobald sich das enzymmarkierte Hormon zu einem Hormon-Antikörper-Komplex vereinigt hat. Je höher die Konzentration an Patientenhormon in der Probe ist, desto weniger enzymmarkiertes Hormon wird gemäß dem Massenwirkungsgesetz gebunden und umgekehrt. Der Antikörper unterscheidet nicht zwischen dem markierten und nicht-markierten Hormon. Den Proben müssen noch das spaltbare Substrat fz.B. Glukose-6-Phosphat¹ und ein Coenzym, z. B. NAP, vor dem Reaktionsbeginn zugesetzt werden. Die bisherige Entwicklung der EIA hat zwei verschiedene Konzepte verfolgt, den EMIT-EIA und den ELISA-EIA. Der EMIT-Assay ist ein Liquid-phase-Assay, der ELISA-Assay ein Solid-phase-Assay nach der Sandwich-Technik (EMIT = enzyme multiple immuno-assay technology, ELISA = enzyme linked immunosorbent assay).

Für folgende Substanzbestimmungen werden EMIT-EIA in Aussicht gestellt: Thyroxin, Trijodthyronin, Digoxin, Diphenylhydantoin, Phenobarbital, Opium, Cocain, Amphetamin, Benzodiazepin.

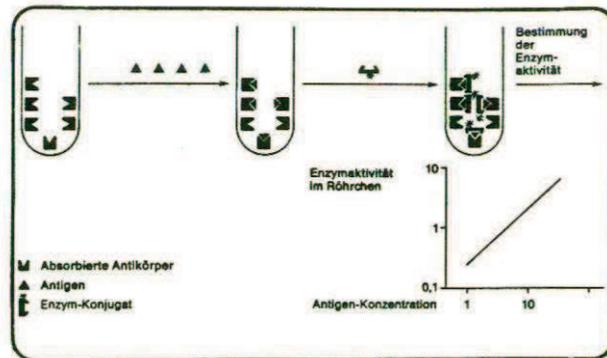


Abb. 3: Prinzip des "Sandwich" Enzym-Immuno-Assays

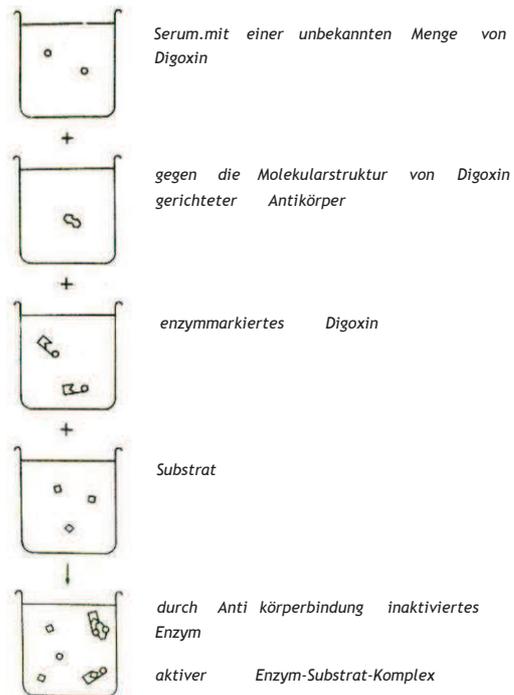


Abb. 4:

Prinzip des Enzym-Immuno-Assays am Beispiel des EMIT-Digoxin-Assays. Das Schema demonstriert die einzelnen aufeinander folgenden Reaktionsschritte.

Literatur:

GRAUL, E.H. und RIETBROCK, N.: "Bemerkungen zur Problematik der Digitalistherapie" aus Berichtsband VII. Medicinale 23./24. Sept. 1978

KIRKHAM, K.E., HUNTER, W.M.: "Radioimmunoassay Methods", Edinburgh and London 1971

YELOW, R.S., BERSON, S.A.: J. Clin. Invest. 39, 1157 (1960)

Wirkung von zytoplasmatischen Organotherapeutika (Revitorgai
auf Kulturen menschlicher Zellen

V. PAFFENHOLZ

Forschungslaboratorien Karl Theurer
für Organo- und Immunotherapie, Ostfildern

Arzneimittelpräparate aus fetalem und juvenilem Organmaterial wurden an Kulturen menschlicher Zellen auf ihre Wirkung hin untersucht. Sowohl Pharmaka als auch darin enthaltene Organsubstanzen beeinflussen selektiv metabolische Vorgänge in den Zellen: Während Synthese und Wachstum somatischer Zellen stimuliert werden, bewirken zytoplasmatische Präparate eine unterschiedlich ausgeprägte Inhibition von Krebszellen. Diese Reaktionen wurden experimentell als Veränderungen der Teilungsrate oder durch Einbau von Isotopenmarkierten Nucleosiden in die zelluläre DNS und RNS gemessen.

Neben den bisher bekannten Hormonen und Cofaktoren wurden in den letzten Jahren verschiedene Substanzen aus Organgewebe isoliert, die Wachstums- und Differenzierungsvorgänge in somatischen Zellen und Krebszellen beeinflussen. Hierbei handelt es sich einerseits um Polypeptide oder zusammengesetzte Proteine, die artunspezifisch Stoffwechsel und Proliferation in diploiden Zellen stimulieren, andererseits um niedermolekulare, endogen wirksame Oligopeptide, die streng gewebsspezifisch eine Mitosehemmung von Normal- und Krebszellen hervorrufen. Stimulierende Faktoren sind von mehreren Organarten bekannt. Überwiegend finden sie sich in Extrakten fetaler und juveniler Herkunft. Vermutlich verfügt jedes Gewebe über spezifische Mitoseinhibitoren. Diese selektiv wirkenden Faktoren liegen als zelluläre Komponenten auch den Revitorgan-Präparaten zugrunde, die in Form von lyophilisierten Trockensubstanzen, wässrigen Dilutionen, Lingual-Präparaten und Augentropfen nach den Behandlungsvorschriften der Zytoplasmatischen Therapie bei vielseitigen Indikationen gute Ergebnisse erzielten.

In der vorliegenden Arbeit sollte ein System für den experimentellen Wirkungsnachweis der Arzneimittel erstellt werden und die biologischen Eigenschaften der Organsubstanzen an Kulturen somatischer Zellen und heteroploider Krebszellen menschlicher Herkunft näher charakterisiert werden. Für die Beurteilung der Wirkungskriterien besitzt die Veränderung der zellulären Proliferation den höchsten Aussagewert. Das Ausmaß, in dem die Kulturen auf die Zugabe der Testsubstanzen mit einer Steigerung oder Reduktion der Teilungsrate reagieren, bestimmten wir durch den Einbau von Isotopen-markierten Nucleosiden in die zelluläre DNS. Die hier zur Untersuchung gelangten menschlichen Zellen entstammten Feten sowie Hautbiopsien von gesunden und muskeldystrophen Spendern; als Krebszellen verwendeten wir die heteroploide Wish und eine Melanom-Linie.

E r g e b n i s s e :

Ober die proliferationsstimulierende Wirkung von Hirn- und Hypophysenextrakten wurde schon berichtet (3). Auch bei etablierten Zellen aus der Hautbiopsie eines muskeldystrophen Kindes erhalten wir eine ähnlich gute Reaktion, doch zeigt der Vergleich verschiedenen hergestellter Hirnpräparationen deutliche Unterschiede in den zellulären Reaktionen (Abb. 1) • So kann ein vorwiegend aus hirnspezifischen Aminosäuren mit Zusatz von enzymatisch aufgeschlossenen Hirnproteinen bestehendes Präparat (CL), bei gleicher Konzentration, nicht die Wirkung des Extraktes fetaler Herkunft (R.H.) erreichen. Im gleichen Testansatz wurden die wachstumsfördernden Eigenschaften einiger Kontrollsubstanzen geprüft: fetales Rinderserum (FBS) als Nahrungsträger, somatotropes Hormon (STH) und Rinderserumalbumin (BSA). Eine Aktivierung der Zellen erfolgt jedoch nur bei den Substanzen, die über natürliche, den Stoffwechsel stimulierende Komponenten verfügen, während unspezifische Proteinlösungen im vorliegenden System keine Effekte erzielen.

Präparate aus Thymusgewebe beeinflussen im Organismus speziell die Immunitätslage und Antikörperbildung. Auch weitere Wirkungen der Thymusextrakte werden im Organismus diskutiert. Da dem Gewebe, je

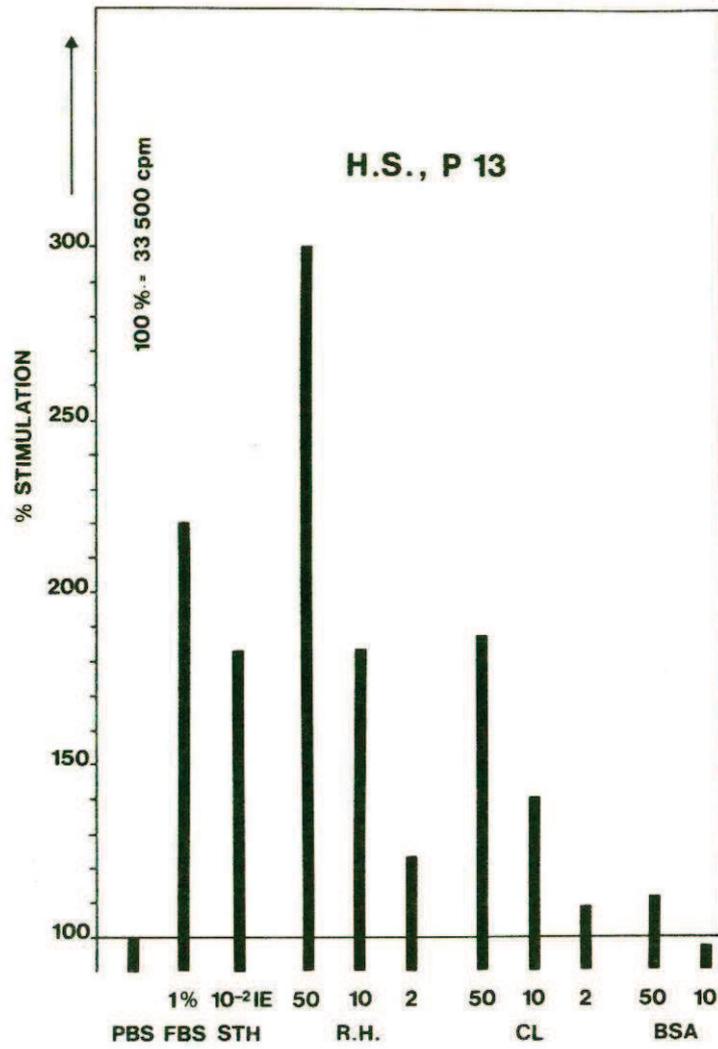


Abb. 1:

Stimulierung der DNS-Synthese bei Hautzellen eines muskeldystrophen Kleinkindes (H.S., Passage 13) während der Inkubation mit Serum (FBS) Somatotropin (STH), Extrakt aus fetalem Hirn (R.H.), eines Vergleichspräparates (CL) und Rinderserumalbumin (BSA). Zahlenangaben = Endkonzentrationen in pg/ml.

nach Herkunft, unterschiedliche Reaktionen im Organismus zugesprochen werden (5), prüften wir die Wirkung von Extrakten aus fetalem und juvenilem Thymus an verschiedenen Kulturen. Die Ergebnisse bestätigen die aktivierenden Eigenschaften des fetalen und des juvenilen Thymus, wobei in der Zellkultur nur geringfügige Unterschiede erkennbar sind. Das Mischpräparat aus fetalem und juvenilem Thymus ruft jedoch eine allgemein bessere Stimulierung hervor (Abb. 2).

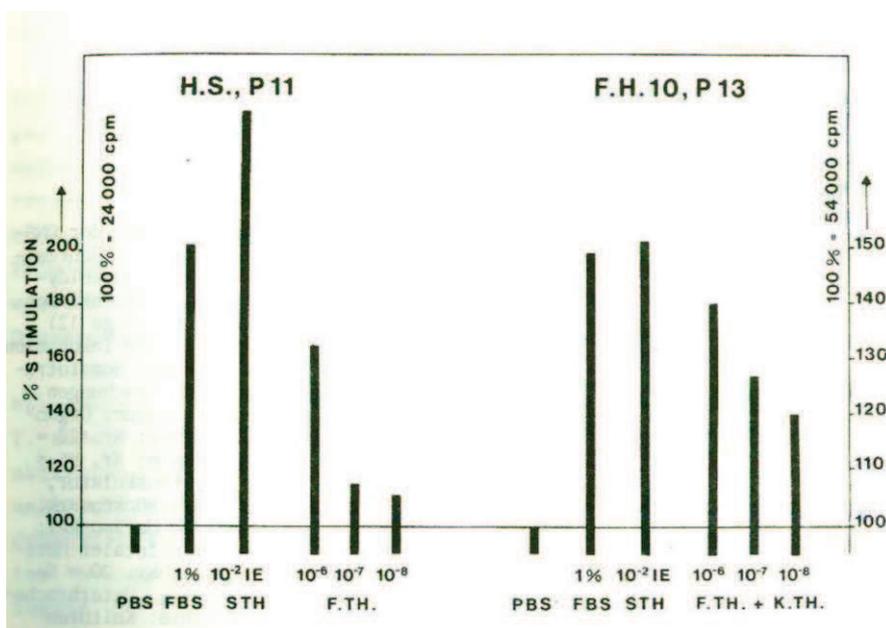


Abb.2:

Stimulierung der DNS-Synthese bei Hautzellen eines muskeldystrophen Kleinkindes (H.S., Passage 11) und bei embryonalen Zellen (F.H.10, Passage 13) während der Inkubation mit Serum, Somatotropin und Extrakten aus fetalem Kalbthymus (F.Th.) sowie einer Mischung aus fetalem und juvenilem Kalbthymus (K.Th.). Zahlenangaben = Endkonzentrationen in g/ml.

Mischungen verschiedener Organsubstanzen wurden speziell bei H.S.*-Kulturen eingesetzt, die der Hautbiopsie eines muskeldystrophen

*) Haut Sörgel

Kleinkindes entstammen; diese sollten in ihrer Reaktion mit den Zellen von gesunden Spendern verglichen werden. Die Zugabe von Hypophyse (Revitorgan Nr. 22) sowie einer Mischung, bestehend aus Skelettmuskulatur, Thymus, Rückenmark, fet. Herzmuskel (Revitorgan Nr. 96 = "NeyTroph"), führte zu einem signifikanten Anstieg der Zellproliferation (Abb. 3).

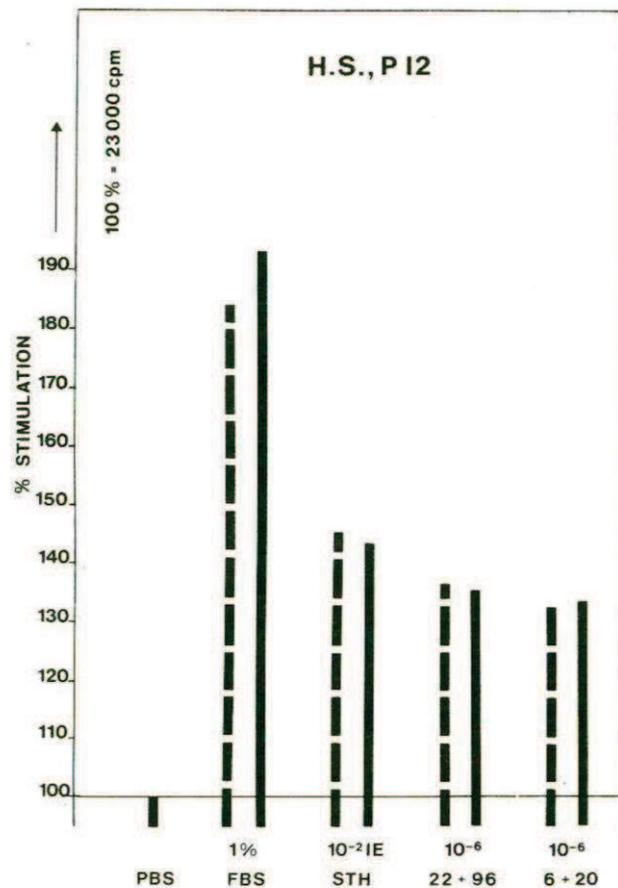


Abb. 3:

Stimulierung der DNS-Synthese bei Hautzellen eines muskeldystrophischen Kleinkindes (H.S., Passage 12ⁿ) während der Inkubation mit Serum, Somatotropin und Mischungen verschiedener Organpräparate: Nr. 22 = Hypophyse; Nr. 96 = Skelettmuskulatur, Thymus, Rückenmark, fetaler Herzmuskel; Nr. 6 = fetaler Herzmuskel; Nr. 20 = Nebenniere. Unterbrochene Linie; Kulturen wurden mit den angegebenen Präparaten 48 Stunden vorbehandelt und erhielten vor Markierungsbeginn, gemeinsam mit den Vergleichskulturen (durchgezogene Linie), erneut Präparat (Endkonzentration = 10⁻⁶ g/ml).

Diese Ergebnisse verdeutlichen die Möglichkeiten einer wiederholbaren Stimulierung: ein Teil der Kulturen wurde 48 Stunden vor Versuchsbeginn mit den angegebenen Präparaten vorbehandelt (unterbrochene Linie), erhielten aber vor Markierungsbeginn, gemeinsam mit den Vergleichskulturen (durchgezogene Linie), erneut Präparat. Diese Reaktionen mit den für Myopathien indizierten Organsubstanzen konnten in ähnlicher Form auch mit Mischungen aus fetalem Herzmuskel (Revitorgan Nr. 6) und Nebenniere (Revitorgan Nr. 20) erzielt werden.

Von den Kombinationspräparaten, bestehend aus Organsubstanzmischungen und Zusätzen von Hormonen und Vitaminen, wurde eine gute Stimulierung des Zellwachstums mit den Conjunctisan A- und B-Augentropfen (Revitorgan) erhalten. Die konzentrationsabhängige Reaktion zeigt die besten Effekte bei hohen Anteilen der Conjunetisan-Tropfen im Kulturmedium (Abb. 4). Hierin können wir u.a. einen Beweis dafür sehen, daß eine zufällige Überdosierung der löslichen Organpräparate keine negativen Reaktionen auslöst.

Während die Organextrakte bei diploiden somatischen Zellen eine z. T. außerordentliche Stimulierung des Stoffwechsels und der Mitoseaktivität hervorrufen, findet bei menschlichen Krebszellen eine unterschiedlich ausgeprägte Hemmung dieser Prozesse statt (4). Dies demonstriert ein Versuch über den Einfluß des Kombinationspräparates "NeyTumorin" auf Melanomzellen (Abb. 5); schon nach einmaliger Zugabe und anschließender Inkubation über 48 Stunden verfügen die Melanomzellen im Vergleich zur Kontrolle nur noch über 50-80 % ihrer Proliferationsrate. Gleichzeitig steigert die Anwesenheit stimulierender Substanzen, wie Serum oder STH, das Zellwachstum um 40-120 %. Ähnliche Ergebnisse erhielten wir auch bei Wish-Zellen unter gleichen experimentellen Bedingungen (Abb. 6); so beträgt die Hemmung der DNS-Synthese nach einmaliger Anwendung von "Ney-Tumorin" schon zwischen 15-45 % (durchgezogene Linie). Eine weitere Präparat-Zugabe im Abstand von 48 Stunden vermag die Inhibition des Zellstoffwechsels noch zu verstärken; hier wird im Vergleich zur Kontrolle eine Reduktion der Teilungsrate von 20-65 % gemessen (unterbrochene Linie).

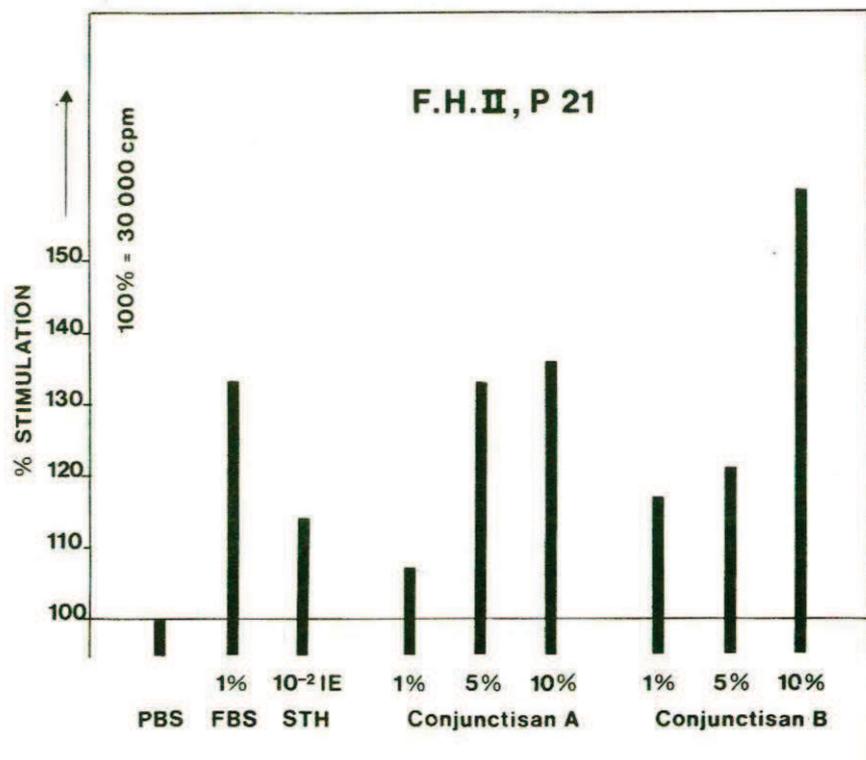


Abb. 4:

Stimulierung der DNS-Synthese bei embryonalen Zellen (F.H. II, Passage 21) während der Inkubation mit Serum, Somatotropin und Conjunctisan A-Augentropfen (Revitorgan).

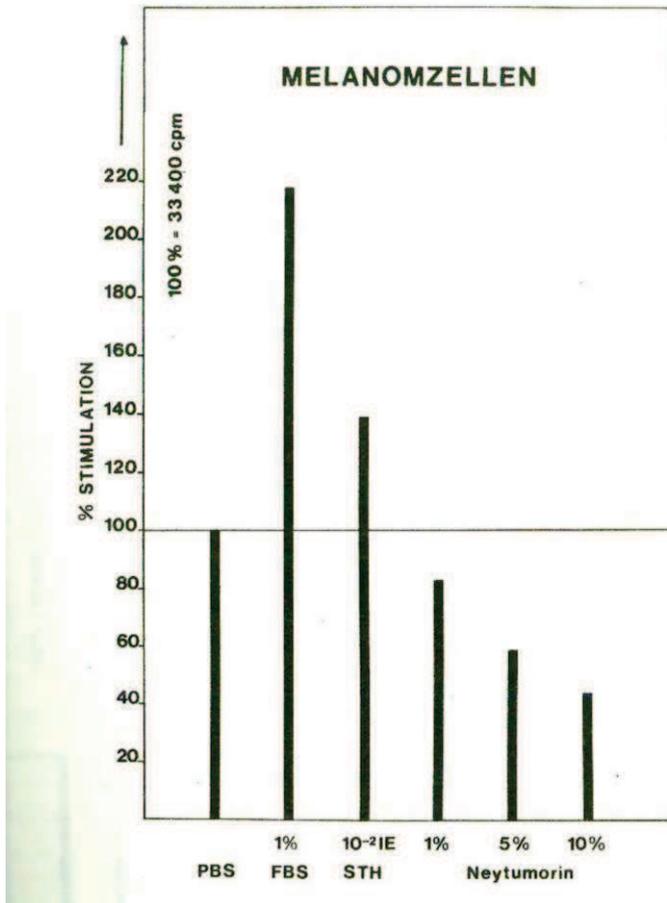


Abb. 5:

DNS-Synthese bei Melanomzellen 48 Stunden nach Zugabe von Serum, Somatotropin und "NeyTumorin"

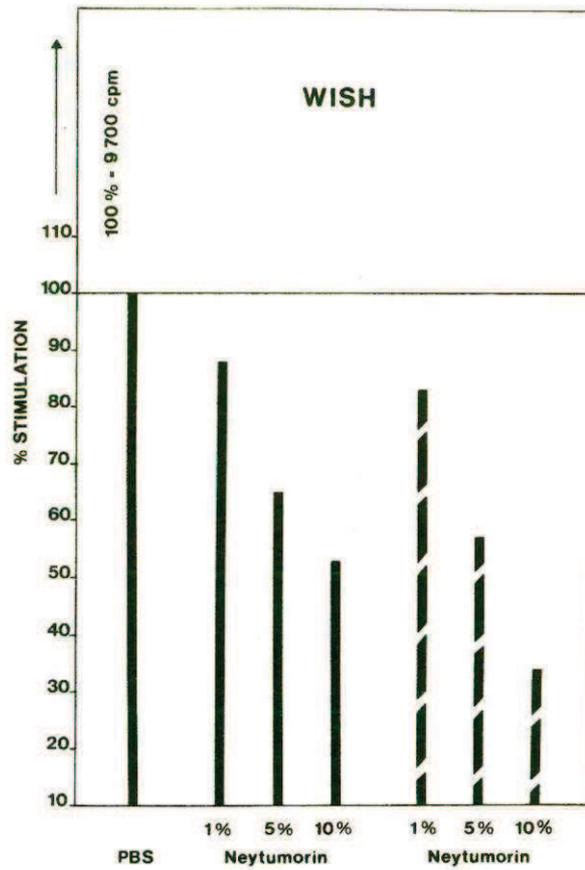
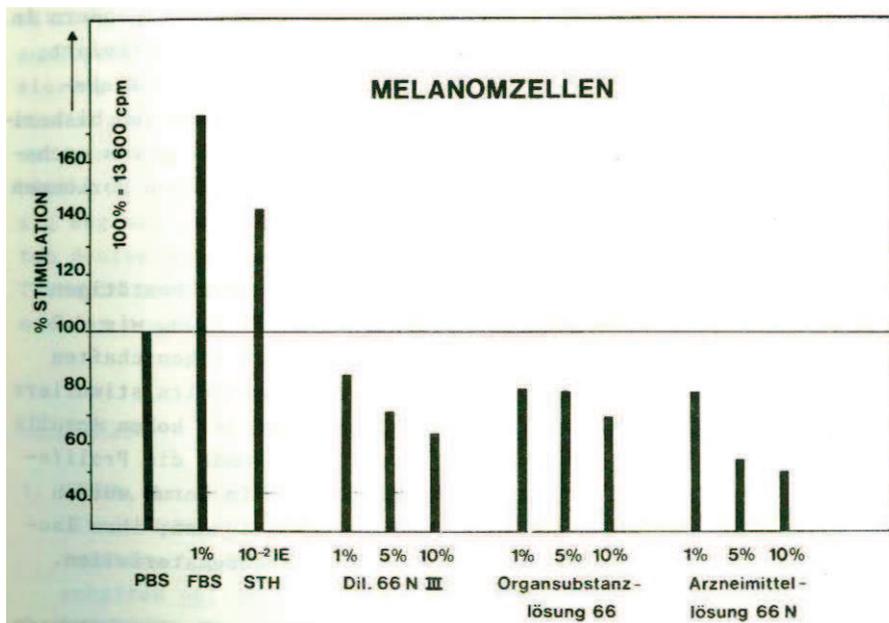


Abb. 6:

Inhibition der DNS-Synthese bei Wish-Zellen, 48 Stunden nach Zugabe von "NeyTumorin"; die unterbrochenen Linien entsprechen der DNS-Synthese von Kulturen, die 4 Stunden vor Meßbeginn erneut Präparat erhielten.

Bis auf geringfügige Unterschiede entspricht das Revitorgan Lingual "NeyTumorin" der Revitorgan Dilution Nr. 66 "N" in der Stärke II: in beiden Präparaten liegt die Organsubstanzmischung in einer Konzentration von 10⁻⁹ g/ml vor und beide verfügen über die gleichen Arzneimittelzusätze. Bei der Dilution Nr. 66 "N" ergibt sich aber die Möglichkeit, das Präparat in einer konzentrierteren Form, in der Stärke III, gegen die Tumorzellen einzusetzen.

In der Stärke III liegen die Organsubstanzmischungen und die Arzneimittelzusätze in einer 10¹-fach höheren Konzentration vor. Aus diesem Grund sollten die Einzelkomponenten des Präparates auch getrennt auf ihre antitumoralen Eigenschaften untersucht werden. Die Wirkung des Fertigpräparates (Revitorgan Dilution Nr. 66 "N", Stärke III) sowie die der beiden Hauptkomponenten, der Organsubstanzmischung und Arzneimittellösung, auf Melanomzellen, ist in Abb. 7



DNS-Synthese bei Melanomzellen während der Inkubation mit Serum, Somatotropin, Revitorgan Dilution 66 "N" (Stärke III), Organsubstanzmischung Nr. 66 (entsprechend Stärke III) und der Arzneimittellösung der Dilution Nr. 66 "N" (entsprechend Stärke III).

dargestellt. Im Gegensatz zu den aktivierenden Substanzen Serum und STH finden wir eine signifikante Beeinflussung des Zellwachstums. Die Hemmung erfolgt konzentrationsabhängig, wobei ähnlich gute Reaktionen mit der Arzneimittellösung sowie der Organextraktmischung alleine erhalten werden. Insgesamt gesehen erfolgt durch das Fertigpräparat eine dosierbare und ausgewogene Inhibition, die in ihrer Wirkung den Effekt der beiden Grundsubstanzen auf das Wachstum der Tumorzellen kombiniert.

Zusammenfassung:

Die hier geschilderten experimentellen Ergebnisse ermöglichen grundlegende Informationen über das Wirkungsprinzip von zytoplasmatischen Organotherapeutika an menschlichen Zellen. So werden somatische Zellen von gesunden wie von genetisch kranken Spendern in ihren Synthesevorgängen und in der Proliferationsrate aktiviert; im Gegensatz dazu hemmen Organpräparate die verwendeten Krebszellen Wisk und Melanom in unterschiedlichem Maß. Nach den bisherigen Erkenntnissen beruht diese Wirkung auf der Existenz von wachstumsstimulierenden Faktoren und Mitoseinhibitoren, deren Vorkommen in verschiedenen Geweben bekannt ist.

Die vorliegenden Ergebnisse können diese Vermutungen bestätigen: unspezifische, biologisch nicht aktive Proteinlösungen, wie z.B. Rinderserumalbumin, besitzen keine vergleichbaren Eigenschaften und bleiben in der Zellkultur wirkungslos. Andererseits stimuliert der Nahrungsträger fetales Rinderserum, aufgrund des hohen Anteils wachstumsstimulierender Komponenten, erwartungsgemäß die Proliferation der somatischen wie die der Krebszellen. Im Serum wurden aber noch keine endogen wirksamen Inhibitoren gefunden; ihre Isolierung erfolgt ausschließlich aus Zell- und Gewebematerialien.

Eine Besonderheit stellt die hohe Effektivität der Organsubstanzen bei den im Versuch gewählten niedrigen Konzentrationen dar; eine gute Stimulierung somatischer Zellen und signifikante Inhibition von Krebszellen erfolgt bereits im pg-Bereich und weist damit auf

den hohen Wirkungsgrad der stoffwechselaktiven Substanzen in den verwendeten Extrakten hin. Über den Wirkungsmechanismus dieser Faktoren ist noch wenig bekannt; möglicherweise imitieren die wachstumsstimulierenden Komponenten eine Hormonwirkung oder verändern die zelluläre Ansprechbarkeit auf Substrate. Bei den Mitose-inhibierenden Faktoren vermutet man chaionartige, niedermolekulare Peptide, die wahrscheinlich in die Zelle eindringen und die Replikation einschränken (1, 2). Während eine dauerhafte Stimulierung somatischer Zellen durch die Organextrakte über einen Zeitraum von mehreren Tagen experimentell feststellbar war, wurde eine kontinuierliche Repression der Krebszellen durch eine Dauersubstitution mit Organsubstanzen alleine nicht erreicht; möglicherweise liegt hier eine Adaptation der Zellen an die biologischen Inhibitoren oder deren schnelle Metabolisierung vor. Bei einer Tumorthherapie können jedoch die Organpräparate in höheren Konzentrationen zusätzlich immunologische Reaktionen, in Art einer Immunprovokation, auslösen. Diese, in der Zellkultur nicht nachvollziehbare Mobilisierung der körpereigenen Abwehrkräfte, spielen besonders im Organismus eine wesentliche Rolle. Da zelluläre Inhibitorstoffe keine zytostatischen oder krebszerstörenden Substanzen darstellen, bleibt selbst eine Verwendung isolierter Bestandteile wirkungsmäßig begrenzt. Die dokumentierbaren Erfolge mit zellulären Präparaten deuten aber darauf hin, daß es dem Organismus im Verlauf der Therapie gelingt, die exogenen und endogenen Regulationsmechanismen der organischen Funktionen erneut aufeinander abzustimmen.

Literatur:

1. FIUME, L., MATTIOLI, A., BUSI, C., SINIBALDI, P. and CAMPADELLI-FIUME, C.: "An endogenous inhibitor of fibroblast proliferation hinders Simian-Virus 40 replication"; Naturwissenschaften 66, 265-266 (1979)
2. LETNANSKY, K.: "Versuche zur Charakterisierung eines tumorspezifischen Inhibitors aus dem mütterlichen Anteil der Rinderplazenta"; Österr. Z. Onkol. 4, 42-46 (1977)

3. PAFFENHOLZ, V. und THEURER, K.: "Einfluß von makromolekularen Organsubstanzen auf menschliche Zellen in vitro. I. Diploide Kulturen"; Der Kassenarzt 18, 5218-5226 (1978)
4. PAFFENHOLZ, V. und THEURER, K.: "Einfluß von makromolekularen Organsubstanzen auf menschliche Zellen in vitro. II. Tumorzellkulturen"; Der Kassenarzt 19, 1876-1887 (1979)
5. THEURER, K.: "Makromolekulare Thymusextrakte, insbesondere beim Krebs"; Z. Krebsgeschehen 4, 1-4 (1978)

Zeitsequenzen zellulärer Prozesse:
Ursache für Unterschiede der Therapie- und Immunantwort

H. v. MAYERSBACH

Institut für Anatomie,
Medizinische Hochschule Hannover

Chronobiologie ist die Wissenschaft von der Zeitabfolge der Funktionen im Organismus. Diese chronobiologischen Veränderungen sind ein essentieller Bestandteil der funktionellen Organisation des Körpers und beruhen auf einer tiefgreifenden, periodischen Umordnung der Feinstruktur der Körperzellen, wie dies bereits in einem Übersichtsartikel im vorhergehenden Band dieser Reihe eingehend dargelegt wurde. Das gegenwärtige Referat soll Teil-Problemkreise aus der chronobiologischen Forschung vorlegen, die einerseits die Bedeutung der Zeitstruktur des Organismus für die Chemotherapie hervorheben, andererseits aber Anregung geben sollen, diese experimentellen Ergebnisse in die tägliche Praxis zur Verbesserung des Therapieerfolges zu übertragen.

Immunantwort

Die sekundären Immunreaktionen nach aktiver Immunisierung, aber auch im Rahmen eines allergischen Geschehens, beruhen im wesentlichen auf einer durch den Antigenkontakt ausgelösten Freisetzung von Histamin und die sich daraus ergebenden Folgen wie Kapillarerweiterung, erhöhte Kapillarpermeabilität (Ödeme, Entzündungen), Kontraktion der glatten Muskulatur (Bronchiospasmus) etc. Neben der altbekannten Tatsache, daß die Anfälle bei allergischem Asthma insbesondere in der Nachtzeit auftreten, konnte durch chronobiologische Untersuchungen in der Klinik eindeutig nachgewiesen werden, daß die Reaktionsantwort auf Allergenteste, aber auch die Reaktionsfähigkeit nach Histaminverabreichung an Gesunde in der Nacht besonders hoch ist (Mc GOVERN et al., 1977). Als Ursache für diese

tageszeitlich unterschiedlichen klinischen Erscheinungen nach Allergen- bzw. Histaminverabreichungen zu verschiedenen Tageszeiten könnten grundsätzlich drei verschiedene Faktoren in Frage kommen:

1. Zirkadiane Unterschiede im Histamingehalt der Mastzellen;
2. eine tageszeitlich unterschiedliche Histaminpermeation aus Mastzellen;
3. Histamingehalt und Histaminabgabe sind nach Allergenkontakt konstant; die Histaminempfindlichkeit der Zielorgane variiert jedoch tageszeitlich.

Zur Klärung dieser Fragestellung benutzen wir eine sehr einfache Versuchsanordnung in Anlehnung an den klassischen Mongar-Schild-Versuch:

Meerschweinchen wurden mit Bovinserumalbumin immunisiert und danach in Abständen von 4 Stunden innerhalb einer 24-Std.-Periode getötet. Unmittelbar darauf wurden die Lungen der Tiere entnommen, homogenisiert und die Gewebeproben mit Antigen bzw. mit dem Histaminreleaser Cp 48/80 versetzt. Dieser führt zu einer vollständigen Freisetzung von Histamin aus den Geweben. Durch geeignete Maßnahmen wurde sowohl das durch Antigen als auch durch den Histaminreleaser Cp 48/80 freigesetzte Histamin gesondert gewonnen und mit Hilfe eines von uns entwickelten, fluorimetrischen Verfahrens quantitativ bestimmt (ECKEBRECHT und v. MAYERSBACH, 1979). Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigt die Abb. 1. Daraus wird deutlich, daß sowohl durch den Antigenkontakt als auch durch den Histaminreleaser tageszeitlich abhängig unterschiedliche Mengen von Histamin freigesetzt werden. Diese in vitro nachgewiesenen, objektiven Freisetzungsdifferenzen korrelieren sowohl zeitlich als auch in ihrer Stärke mit den Änderungen der Vitalkapazität der Lunge, des Atemwiderstandes bzw. der Erythemgrößen nach Verabreichung von Allergenen an Menschen (REINBERG et al., 1969). Diese Tatsache unterstreicht den sinngemäßen und optimalen Einsatz von Antihistaminika

in den Nachtstunden, die damit gewissermaßen die Spitzen der Histaminausscheidung in der Nacht kupieren. Untertags, mit sowieso geringer Histaminabgabe, ist eine Medikation überhaupt nicht erforderlich bzw. nur in geringen Dosen. Nebeneffekte wie Ermüdung können dadurch hintangehalten werden.

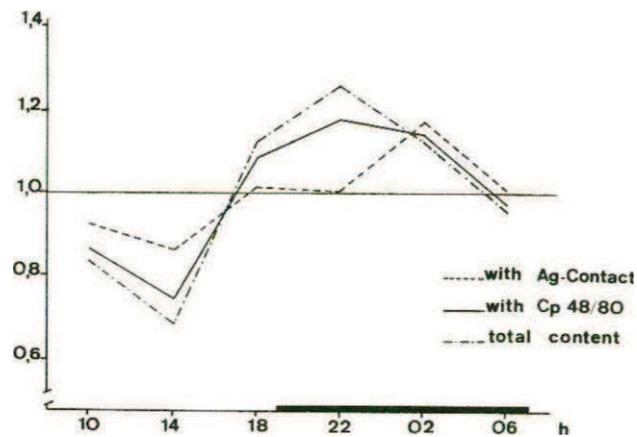


Abb. 1:

Zirkadianunterschiede der Histaminfreisetzung aus Lungen sensibilisierter Meerschweinchen durch Antigenkontakt, Histaminreleaser und dem sich daraus ergebenden Total-Histamingehalt der Lungen. Die Histaminmengen sind als Relativwerte wiedergegeben, d.h. die Ergebnisse zu den einzelnen Tageszeiten stehen im prozentualen Verhältnis zu dem jeweiligen 24-Std.-Mittel (=1).
(Aus ECKEBRECHT und v. MAYERSBACH, 1979)

Toxizität von Zytostatika

Wie eingehend gezeigt wurde, weisen sämtliche Medikamente und Giftstoffe Unterschiede im Ausmaß ihrer toxischen Wirkung auf, in Abhängigkeit vom Tageszeitpunkt ihrer Verabreichung (v. MAYERSBACH, 1979).

In diesem Zusammenhang schien es von Interesse zu überprüfen, inwieweit Zytostatika ebenfalls zirkadianrhythmische Effekte aufweisen, zumal es eine bekannte Tatsache ist, daß Zytostatika von Patienten unterschiedlich gut vertragen werden; dabei ist offen, inwieweit dies auf interindividuellen Unterschieden beruht oder ob diese Effekte möglicherweise auf die Klinikroutine der Verabreichung zurückzuführen sind. Aus diesem Grunde untersuchten wir die toxische Wirkung von Zyklophosphamid (Endoxan[®]) sowie die eines anderen Stickstofflostderivates (Th-R). Beide Zytostatika wurden zu verschiedenen Tageszeiten an männliche und weibliche Mäuse in der klassischen LD-50-Dosis verabreicht.

Die Abb. 2 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchung. Dabei stellt sich heraus, daß beide Zytostatika deutlich zirkadianrhythmisch-unterschiedlich toxische Effekte aufweisen mit jeweils niedrigsten Mortalitätsraten während der Nacht, also etwa zur Mitte der Aktivitätsphase der Versuchstiere.

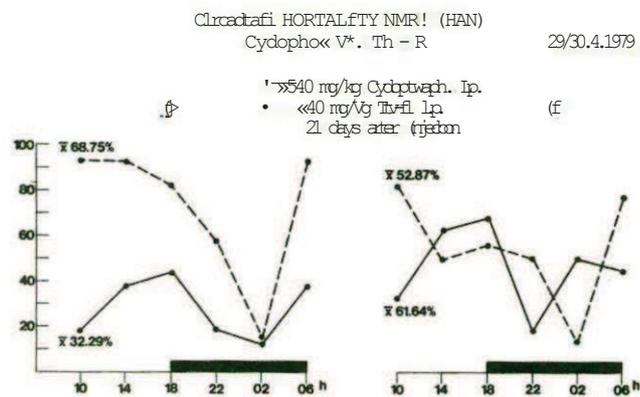


Abb. 2:

Zirkadiane Toxizität von Zytostatika
Mortalitätsraten (bis zur Beobachtung 21 Tage p.i.) nach Verabreichung identischer Dosen zu verschiedenen Tageszeiten an männliche und weibliche NMRI-Mäuse. (Aus ANAGNOU et al., 1979).

Eine weitere interessante Tatsache: Beide Zytostatika weisen einen geschlechtsspezifischen Unterschied hinsichtlich der mittleren Toxizität auf. Dies ist insbesondere für Zyklophosphamid ausgedrückt, wobei hier die weiblichen Tiere eine wesentlich niedrigere mittlere Mortalitätsrate (32,29 %) gegenüber den männlichen Tieren (61,64 %) aufweisen. Diese Tatsache ist von besonderem Interesse, da in der Literatur bisher keine Feststellungen über geschlechtsspezifische Unterschiede der Endoxanwirkung zu finden sind. Dies erklärt sich aber zweifellos daraus, daß zu Zeitpunkten der üblichen Untersuchungen in Laboratorien ein solcher Unterschied nicht sehr betont ist; dieser wird erst deutlich, wenn die Wirkung über 24 Stunden hinweg verfolgt wird. Eine weitere interessante Feststellung ist: Th-R wirkt zwar insgesamt toxischer als Endoxan weist im Zeitpunkt minimalsten: Wirkung jedoch praktisch keinen Unterschied gegenüber Endoxan[^] auf. Diese Feststellungen leiten natürlich zu der Frage über: Inwieweit stehen diese Toxizitätsunterschiede mit den zirkadian unterschiedlichen Effekten bei der Chemotherapie experimenteller Tumoren im Zusammenhang (v. MAYERSBACH, 1979)? Vergleicht man diese Ergebnisse mit den vorliegenden, dann wird eindeutig klar, daß die optimale kurative Rate bei der zirkadianen Chemotherapie des Krebses mit dem Zeitpunkt niedrigster toxischer Wirkung des Zytostatikums übereinstimmt (PHILIPPENS und SCHEVING, 1979).

Zirkadiane Teratogenität

Die Einführung eines neuen Arzneimittels setzt immer voraus, daß Embryotoxizität überprüft wird. Aber auch mit alteingeführten Medikamenten steht es nicht viel anders: Entweder sind deren embryotoxischen Wirkungen wenig bekannt, und man nimmt allgemein eine potentielle Schädigungsmöglichkeit an, die sich in den Anweisungen möglichst sparsamen oder Nichtgebrauches während einer Schwangerschaft äußern. Andererseits liegen in der Literatur starke Diskrepanzen hinsichtlich der Dosierung für teratogene Effekte einzelner Arzneimittel vor. Wir stellten uns deshalb die Aufgabe: Weisen teratogene Effekte ebenfalls eine Abhängigkeit vom Tageszeitpunkt ih-

rer Applikation auf, insbesondere in Hinsicht auf die Ermittlung einer größeren Medikamentensicherheit? Als Versuchsmode 11 dienten uns wiederum die beiden Stickstofflost-Präparate Endoxan[^] und Th-R, von denen zu erwarten ist, daß sie eine deutliche teratogene Wirkung aufweisen. SAUERBIER (1979) hat in ausgedehnten Untersuchungen in unserem Institut diese Frage eingehend untersucht und zwar durch einmalige Verabreichung einer einzigen therapeutischen Dosis zu verschiedenen Tageszeiten am 13. Gestationstag, der als Zeitpunkt hoher teratogener Empfindlichkeit für Ratte und Maus gilt (Abb. 3). Die dabei erzielten Ergebnisse waren höchst überraschend: In Übereinstimmung zum Zeitpunkt höchster Toxizität für die Muttertiere wurden auch schwerste Mißbildungen bei allen Embryonen gefunden, während die Verabreichung in der Nacht keine oder kaum erkennbare teratogene Schäden verursachte.



Abb. 3:

Zirkadiane Unterschiede der Embryotoxizität von Zytostatika

Die Muttertiere wurden am 13. Gestationstag zu verschiedenen Tageszeiten einmalig mit einer therapeutischen Dosis (2 mg/kg) Th-R behandelt und die Feten kurz vor dem Geburtstermin am 18. Gestationstag gewonnen und untersucht. Feten der Muttertiere, die um 7.00 Uhr morgens behandelt wurden, weisen praktisch keine Skelettveränderungen auf. Hingegen sind sämtliche Feten der um 19.00 Uhr mit der gleichen Dosis behandelten Muttertiere schwer mißgebildet und im Wachstum retardiert (in der Abbildung rechts).

(Aus SAUERBIER 1979)

Diese Beispiele führen wohl eindrücklich vor Augen, daß man in der experimentellen und praktischen Medizin den bisher kaum beachteten Faktor "Zeit" nicht länger als wesentliche biologische Größe vernachlässigen kann.

Literatur:

- ANAGNOU, J., MAYER, D., MAYERSBACH, H.v.: "Circadian toxicity of cytostatic drugs". Chronobiologia 73 (1979)
- ECKEBRECHT, D., MAYERSBACH, H.v.: "Circadian Variation of histamine release from lungs of sensitized guinea pigs by antigen contact". X. Int. Congress Allergology, Jerusalem 1979.
- MAYERSBACH, H.v.: "Das zelluläre Konzept der Circadianrhythmik als Grundlage von medizinischen Reaktionsunterschieden". In: H.Porcher, K. Theurer (Hrsg.): Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin. Enke-Verlag, Stuttgart 1979, pp. 200-218.
- MC GOVERN, J.P., SMOLENSKY, M.H., REINBERG, A.: "Chronobiology in Allergy and Immunology". Charles C. Thomas Publ., Springfield-Illinois 1977.
- REINBERG, A., GHATA, J., HALBERG, F., ZAGULA-MALLY, Z.: "Circadian reactivity rhythm of human skin to house dust, penicillin and histamine". J. Allergy jM, 292-306 (1969)
- SAUERBIER, I.: "Die Funktion der Tageszeit in der Teratogenese (Zirkadiane Teratogenstudie mit Zytostatika)". Tagung der Ges.f. Entwicklungsbiologie, Heidelberg, 1979

Diskussion:

THEURER:

Welcher Zeitpunkt ist optimal für eine organotherapeutische Behandlung? Es ist ja grundsätzlich ein Unterschied, ob das Individuum ein "Tagtier" oder "Nacht tier" ist.

v. MAYERSBACH:

Ob wir "Tag- oder Nachttiere" sind, das ist leider noch gar nicht

geklärt. Man redet zwar immer von den "Eulen" und den "Lerchen"; außer geringen Phasenverschiebungen bei physio-technischen Untersuchungen, bzw. beim Kortisolspiegel, hat man für diese Dinge - rein somatisch betrachtet - noch keinen Anhalt.

Hinsichtlich einer Optimierung der Therapie müssen wir erst mal empirisch am Menschen Daten sammeln. Natürlich kann am Krankenbett nicht so experimentiert werden wie bei Ratten. Durchführbar ist allerdings eine Therapie zu bestimmten Tageszeiten. Führt man genau Buch, ergibt sich zwangsläufig, ob bei gleichgearteten Fällen bessere Ergebnisse erzielt werden, wenn zu bestimmten Tageszeiten therapiert wird. Natürlich ist der Arbeitsaufwand höher, aber das sollte einen nicht davon abhalten.

Die "Alten" wußten über die chronobiologischen Zusammenhänge schon sehr gut Bescheid. Betrachtet man die ältere Literatur, etwa aus dem 17. Jahrhundert, so erstaunt immer wieder, wie dortmals schon chronobiologische Gesichtspunkte eine Rolle gespielt haben. Die alten Ärzte haben eben gut beobachtet und aus ihren Beobachtungen die richtigen Schlüsse gezogen.

SORKIN:

Ihre zirkadianrhythmische Betrachtung des Immunsystems hat mich sehr interessiert. Sie haben Ihre chronobiologischen Aufzeichnungen ja hauptsächlich nach der Immunisierung gemacht und dabei gewisse periodische Aktivitäten registriert, die wahrscheinlich durch das hormonelle neuro-endokrine System bedingt sind.

Haben Sie sich auch mit den zirkadianrhythmischen Gegebenheiten der Immunisierung selbst beschäftigt, also damit, wie die Immunantworten aussehen, wenn das Antigen morgens, abends oder nachts verabreicht wird? Ich frage aus einem ganz bestimmten Grund: HALBERG hat vor nicht allzu langer Zeit eine Arbeit über diese Fragestellung publiziert. Jeweils abhängig von der tageszeitlichen Verabreichung des Antigens, fand er total verschiedene Immunantworten. Macht es sich die Grundlagenforschung vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse nicht etwas zu leicht?

v. MAYERSBACH:

Eine absolut verbindliche Antwort werde ich Ihnen erst in einem Jahr geben können. Derzeit läuft an unserem Institut eine tierexperimentelle Versuchsreihe mit dem REVITORGAN-Serum-Aktivator. Auch wir hatten vor Jahren schon Ergebnisse über die quantitative zirkadianrhythmische Variation von Immunglobulinen beim Kaninchen vorgebracht. HALBERG konnte sogar zeigen, daß sich die Überlebensrate von Heterotransplantaten, durch geeignete Wahl des Zeitpunkts der Transplantation, verdoppelt.

THEURER:

Liegt dieser Zeitgeber in der Zelle oder werden diese Vorgänge extrazellulär über das Endokrinium bzw. das Vegetativum gesteuert? Vorausgesetzt, der Zeitgeber liegt extrazellulär, dann könnte dieser Rhythmus doch medikamentös beeinflußt werden. Ich denke an Epiphysen- bzw. Hypophysen-Extrakte. Liegt die Steuerung allerdings in der Zelle selbst, dann dürften wir weniger Möglichkeiten einer Manipulation haben.

v. MAYERSBACH:

Das ist die allerschwierigste Frage, die Sie einem Rhythmusforscher stellen können. Die Rhythmusforschung hat sich immer bemüht, diese Steuerungsuhr zu lokalisieren. Jedesmal glaubte man tatsächlich, die "Unruhe" gefunden zu haben. Immer wieder stellte es sich jedoch heraus, daß lediglich ein weiteres Rädchen entdeckt wurde. Leider sind wir heute nicht wesentlich weiter. Wir kennen zwar die verschiedenen Rädchen, die in diese Uhr eingreifen, die eigentliche "Unruhe", oder, um es moderner auszudrücken, den "Steuerquarz", den haben wir bisher noch nicht gefunden. Offensichtlich handelt es sich um Eigenrhythmen der Zelle, die durch direkte oder indirekte Einflüsse aus der Umwelt (Optico-hypothalamisch-adrenerge Achse) synchronisiert werden. Wie und wodurch diese Rhythmen gesteuert werden, damit sind wir heute noch vollkommen überfragt.

THEURER:

Sind in diesem Sinne schon Versuche an Zellkulturen durchgeführt worden? Zellkulturen sind ja unabhängig von zentralen Einflüssen.

v. MAYERSBACH:

An Zellkulturen sind derartige Experimente schon durchgeführt worden. Die Zellkultur hat allerdings ihre 6-Stunden-Rhythmik. Hier zeigt sich eine Grundrhythmik, die von einer extern beeinflussbaren 24-Stunden-Rhythmik überlagert wird.

THEURER:

Spielt hier die Synchronisation eine Rolle?

v. MAYERSBACH:

Ja.

PORCHER:

Sie zeigten ein Diagramm mit der Abhängigkeit der IgA-Werte von der Tageszeit. IgA wies den höchsten Titer gegen 12 Uhr auf, fiel morgens um 6 Uhr bzw. abends um 18 Uhr auf die niedrigsten Werte. Könnte man diese Ergebnisse nicht mit der jeweiligen Infektionsanfälligkeit von Patienten oder Versuchstieren korrelieren? Wenn ich die Ergebnisse richtig interpretiere, müßte ein Individuum gegen 12 Uhr am resistantesten, gegen 6 Uhr bzw. 18 Uhr hingegen am anfälligsten gegenüber Infekten sein. Wurden derartige Versuche schon durchgeführt?

v. MAYERSBACH:

Derartige Versuche sind durchgeführt worden. Leider sind alle so "unsauber" gemacht worden, daß man sie nicht zitieren kann. Anekdotisch hört man immer wieder die berühmte PETTENKOFERSche Geschichte: PETTENKOFER hat morgens Cholera-Vibrionen - ohne Schaden zu erleiden - eingenommen. Daß er diese Attacke überstanden hat, dürfte er tagesrhythmischen Schwankungen des Immunsystems zu verdanken haben.

WRBA:

Als Krebspraktiker habe ich den Ausführungen noch etwas hinzuzufügen. Immer mehr stellte sich heraus: Praktisch alle Lebensfunktionen werden irgendwie rhythmisch überlagert oder gesteuert. Auch bei der zytostatischen Therapie ist dies so; unter ganz bestimmten Voraussetzungen ergeben sich dann unterschiedliche Wirkungen, die Sie tierexperimentell zeigen können. Treffen diese Gesetzmäßigkeiten auch auf den Menschen zu oder - anders formuliert - was können wir aus all diesen Versuchen für den humantherapeutischen Bereich lernen? Falls dies nicht möglich ist, werden wir nur verunsichert.

Angeregt durch die Ergebnisse HALBERGs, haben wir bei sämtlichen uns zur Verfügung stehenden Tiertumoren verschiedene Zytostatika in unterschiedlicher Dosierung eingesetzt. Zweck dieser Untersuchungen war es, Optimierungsschemata in die Hand zu bekommen. Herausgekommen ist dabei fast gar nichts. Manche Zytostatika wirkten, andere wiederum versagten. Das Ganze ist halt, wie beim Krebs immer, eine fürchterlich heterogene Sache. Hinterher gelingt aus Tierversuchen keine Nutzenanwendung für den humantherapeutischen Bereich.

Wir verfügen etwa über 30 Zytostatika; auf diese Zytostatika reagieren manchmal 5 % der Patienten, manchmal 10 %. Würden wir ein anderes Zeitschema der Applikation anwenden, könnten wir vielleicht diese Resultate auf den Kopf stellen. Was wir jedoch brauchen, ist eine Korrelation zwischen einem wesentlichen Parameter und der Wirksamkeit eines Zytostatikums. Und da haben wir eigentlich fast gar nichts in der Hand.

v. MAYERSBACH:

Sobald wir Menschen therapieren, ist eben auch eine gewisse Disziplin in der Führung des Versuchsprotokolls unabdingbar. Halbherzig geführte Versuchsprotokolle sind verlorener Zeitaufwand. Arbeiten wir im Humanbereich, ist eine Spiegelung der an der Ratte gewonnenen Ergebnisse um 12 Stunden erforderlich. Die Ratte ist ein nachtaktives Tier. Die Immunparameter, die Leukozyten und Lymphozyten und weitere Parameter, sind bei Ratte und Maus gegenüber dem Menschen um 12 Stunden phasenverschoben. Sämtliche Parameter, die bis-

her bei der Ratte oder bei der Maus gemessen wurden, müssen in diesem Sinne den Werten beim Menschen gegenübergestellt werden.

Die meisten Fehlschläge rühren einfach daher: Es herrscht keine Disziplin bei der zeitgerechten Applikation. Wie oft habe ich schon versucht, Kliniker in diesem Sinne zu motivieren. Morgens um 6 Uhr muß einfach gewaschen werden - weil es so auf dem Stundenplan steht - die Medikamentenversorgung jedoch kann warten.

THEURER:

Ist die Krebszelle nicht aus diesem Rhythmus ausgebrochen? Gerade durch die Transformation und das autonome Wachstum der Krebszelle sind zahlreiche Regelkreise nicht mehr aufeinander abgestimmt.

v. MAYERSBACH:

Aus all den bisherigen Untersuchungen haben sich folgende interessanten Gesichtspunkte herauskristallisiert: Die höchste kurative Rate korreliert immer mit dem Zeitpunkt der niedersten Toxizität eines Zytostatikums für den Wirt. Die ganzen Wirkmechanismen sind gar nicht so kompliziert. In jener Phase, wo der Wirt am wenigsten geschädigt wird, gibt es die beste therapeutische Wirkung; auch die Dosis kann in dieser Phase erhöht werden. Der Tumor verhält sich, bis auf wenige Ausnahmen, sowieso arhythmisch. Für den Tumor ist es völlig egal, zu welchem Zeitpunkt sie ihn treffen. Es dreht sich also nur darum, den für den Wirt günstigsten Zeitpunkt der geringsten Schädigung auszuwählen.

MEISTER:

Wurde bei diesen zellulären Prozessen die innere Organuhr berücksichtigt? Die Gallenblase beispielsweise hat ihre Hauptaktivität nachts von 23 - 1 Uhr. Am Tage hingegen findet sich selten mal eine Gallenkolik.

v. MAYERSBACH:

Diese ganzen Organuhren, wie wir sie aus der fernöstlichen Medizin kennen, sind nichts anderes als Empirismen, von denen ich vorher

schon gesprochen habe- Das finden Sie übrigens auch in der Barockmedizin. Es wäre natürlich allerhöchste Zeit, uns in unserem praktischen Verhalten auch danach zu richten. Ich würde mich natürlich nicht an einer Organuhr orientieren, die aus der Barockzeit stammt. Aber ich möchte eine Organuhr für den Menschen konstruieren, so, wie wir es bei der Ratte bereits durchgeführt haben. Dann sind wir aber auch gehalten, diese Erkenntnisse zu berücksichtigen und danach zu handeln. Ich glaube, unser größter "Krebsschaden" ist eben, daß wir uns nur nach den Dienstzeiten orientieren. Heute darf ja eine klinische Tätigkeit nur von 8-12 Uhr und von 14-16 Uhr erfolgen. Das geht uns im Krankenhaus genauso wie in einem Fabrikbetrieb. Ich finde es außerordentlich bedauerlich, daß wir uns dieser Möglichkeit, zeitgerecht zu therapieren, berauben.

SEIFERT:

Beim Menschen unterscheiden wir zwischen sog. Nachtmenschen und Tagmenschen. Hat das irgend etwas mit den zirkadianen Rhythmen zu tun? Wenn ja, dann müßte man zunächst den individuellen Rhythmus bestimmen und die Medikation daran anpassen. Es dürfte also nicht so pauschalisiert werden, wie bei Ihrem Rattenexperiment vorexerziert wurde.

v. MAYERSBACH:

Wir unterscheiden tatsächlich zwischen "Lerchen" und "Eulen" beim Menschen. Faßbar war bisher lediglich eine leichte Verschiebung in der Kortikosteroid-Rhythmik, in dem Sinne, daß die "Eulen" ihren Peak 2 Stunden später hatten als die "Lerchen". Weitere Unterschiede hat man bisher noch nicht gefunden. Leider sind auch die Daten aus dem Humanbereich noch sehr dürftig; aber auch bei der Untersuchung größerer Kollektive haben sich nur geringe zeitliche Abweichungen von den allgemeinen Tagesmaxima und -minima ergeben. Im wesentlichen gibt es kaum größere Unterschiede, wenn man sich in etwa an die vorgegebenen Zeiten hält. Das geht schon aus den enormen Erfolgen der Allergieklinik in Paris hervor, die ihre ganze Allergentestung, ebenso wie die Allergen-Therapie, in die Nacht hinein verlegt haben und damit die Erfolgsquote unwahrscheinlich erhöhten

Immunoregulation im immunologisch-
neuroendokrinen Netzwerk

E. SORKIN

Schweizerisches Forschungsinstitut
Medizinische Abteilung
Davos, Schweiz

I. Einleitung:

Seit der Entdeckung der zellulären und humoralen Elemente des Immunsystems kommt der Frage seiner Regulation eine wachsende Bedeutung zu. Mehrere innerhalb des Systems wirksame regulatorische Prozesse sind bekannt geworden, wie etwa T-Lymphozyten-abhängige Suppression oder Hilfe, Rezeptorblockade, das idiotypische anti-idiotypische Netzwerk, genetische Elemente u.a. Diese Tatsachen haben zur Ansicht geführt, daß das Immunsystem als ein in sich geschlossenes, homoeostatisches, selbst-kontrollierendes System fungiert. Neuere Arbeiten haben aber eine weitere Möglichkeit sichtbar gemacht, nämlich die einer Kontrolle immunologischer Prozesse von außen (externe Immunoregulation). Wie im folgenden diskutiert werden soll, liegen bereits heute genügend experimentelle Hinweise dafür vor, daß das Immunsystem tatsächlich, analog zu anderen Körpersystemen, einer externen Regulation durch das neuroendokrine System unterworfen ist. Beide Möglichkeiten der Regulation schließen sich gegenseitig nicht aus; entsprechende Hinweise für gemeinsame Reaktionswege liegen bereits vor. Tatsachen und Argumente über Autoregulation und externe Regulation sollen hier im folgenden kurzgefaßt diskutiert werden.

II. Autoregulation des Immunsystems

Es ist seit längerem bekannt, daß das Immunsystem, zur Aufrechterhaltung seines homoeostatischen Gleichgewichts, internen regulatori-

sehen Mechanismen unterworfen ist. Derartige Regulationen müssen sich notwendigerweise auf zahlreichen Ebenen abspielen, z.B. während der vielen Differenzierungsschritte in der Ontogenese wie auch im Verlauf der verschiedenen Stadien der Immunantwort, als Folge antigener Signale. Dementsprechend gelten heute beträchtliche experimentelle und theoretische Bemühungen der Erforschung der verschiedenartigen regulatorischen Mechanismen, wie Antikörper-rückkopplung (UHR u. MÖLLER, 1968), Lymphozyten-Netzwerk (JERNE, 1974), genetische Kontrolle der Immunantwort (BENACERRAF u. Mitarb., 1974), und Suppressor- und Helfer-Lymphozyten sowie deren lösliche Mediatoren (GERSHON, 1979).

Die Entdeckung der Immunantwort-Gene, gefolgt von der Charakterisierung der Gen-Loci innerhalb des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) hat zu allermindest zu einem teilweisen Verständnis der Grundfragen geführt, welche die Mechanismen der interzellulären Kommunikation und damit Autoregulation des Immunsystems betreffen. Die Existenz der allelen Varianten der Differenzierungsantigene wurde benützt, um das T-Lymphozyten-System zu analysieren; dies führte zur Entdeckung von multiplen Zell-Untergruppen, die netzwerkartig, auf Grund ihrer funktionell verschiedenen genetischen Programme, miteinander kommunizieren. Es werden chemische, hormonartige Botschaften zwischen den verschiedenen Zell-Untergruppen ausgetauscht; dadurch wird die Intensität und der Typ der Immunantwort wesentlich bestimmt. Der Endeffekt aller dieser Wechselwirkungen könnte durchaus das Bestreben des Immunsystems sein, das, durch das Antigen gestörte, homöostatische Gleichgewicht wieder herzustellen.

Zweifellos sind unsere Kenntnisse über die verschiedenen regulatorischen Mechanismen innerhalb des Immunsystems noch sehr unvollständig. Es herrscht jedoch Obereinstimmung darüber, daß das Immunsystem als komplexes, autoreguliertes System funktioniert und daß es im rein operationellen Sinn durchaus anderen wohlbekanntem, selbstregulierten Körpersystemen entspricht.

III. Externe Regulation des Immunsystems

Abgesehen von den hier kurz skizzierten autoregulatorischen Mechanismen wird von uns u.a. angenommen, daß das Immunsystem auch durch hormonelle und neurale Inputs kontrolliert wird. Diese könnten auf verschiedene der erwähnten autoregulatorischen Mechanismen einwirken. In Anbetracht der Kompliziertheit der externen regulatorischen Signale, die das Immunsystem im Verlaufe der zahlreichen Schritte einer Immunantwort zu erreichen haben, ist es notwendig, daß geeignete Kommunikationskanäle zwischen dem antwortenden Immunsystem und dem zentralnervösen sowie endokrinen System existieren. Nur relativ wenig derartige experimentelle Tatsachen, über die hier berichtet werden soll, sind bisher hierzu bekannt geworden. Mit Sicherheit jedoch ist die Feststellung von JERNE (1976b) nicht korrekt, wonach sich das Nervensystem und das Immunsystem gegenseitig meiden. Zwar ist es dem Erfindergeist der modernen Immunologen gelungen, unter hoch artifiziellen in vitro Kulturbedingungen die Immunantwort eines intakten Tieres zu imitieren, doch zeigen unzählige andere physiologische Beispiele, daß Autoregulation mit integrativen Kontrollmechanismen des Zentralnervensystems koordiniert ist. Interne immunologische und neuroendokrine Signale werden daher von uns als Teil eines interagierenden synergistischen oder antagonistischen Rückkopplungssystems angesehen. Als Resultat dieser Wechselwirkung der verschiedenen Botschaften wird das Immunsystem in einem homoeostatischen Zustand, möglicherweise auf einem neuen Niveau, gehalten.

IV. Kriterien für neuroendokrine Kontrolle des Immunsystems

Ehe von einer neuroendokrinen Kontrolle des Immunsystems gesprochen werden kann, müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

1. Hormone und Neurotransmitoren müssen mit immunologischen Vorgängen interferieren können. Hierüber wurde von uns an anderer Stelle zusammenfassend berichtet (BESEDOVSKY u. SORKIN 1977a,b; s.a. BOURNE u. Mitarb. 1974; PARKER 1979). Es besteht Überein-

Stimmung, daß verschiedene Hormone und Neurotransmitoren auf zahlreiche zelluläre und subzelluläre Prozesse, die wesentlich für die Immunantwort sind, einwirken. So wird u.a. auch das Niveau intrazellulärer zyklischer Nukleotide in lymphoiden Zellen moduliert, was bekannterweise Antikörperproduktion, zellvermittelte Immunität und allergische Reaktionen beeinflusst.

2. Lymphozyten und akzessorische Zellen besitzen Rezeptoren für Hormone und Neurotransmitoren. Eine wesentliche Voraussetzung für eine neuroendokrine Kontrolle des Immunsystems ist das Vorhandensein von Rezeptoren für Hormone und Neurotransmitoren in immunologischen Zellen. Tatsächlich wurden bereits Rezeptoren nachgewiesen für Kortikosteroide (CAKE u. LITWACK 1975; WERB u. Mitarb. 1978), Insulin (HOLLENBERG u. CUATRECASAS 1974; HELDERMANN u. STROM 1978), Wachstumshormon (ARRENBRECHT 1974), Oestradiol (GILLETTE u. GILLETTE 1979), Testosteron (ABRAHAM u. BUG 1976), β -adrenergische Agenzien (HOLLENBERG u. CUATRECASAS 1974; SINGH u. Mitarb. 1979) und Acetylcholin (STROM u. Mitarb. 1974a; RICHMAN u. ARNASON 1979). Es scheint daher eine vernünftige Annahme, daß die meisten Wirkungen von Hormonen und Neurotransmitoren auf dem zellulären und subzellulären Niveau via solche Rezeptoren ausgeübt werden. Von besonderem Interesse ist die Tatsache, daß gewisse Rezeptoren (für Insulin und β -adrenergische Agonisten) erst nach Aktivierung der Lymphozyten auftreten (HOLLENBERG u. CUATRECASAS 1974).

3. Manipulation neuroendokriner Funktionen beeinflusst die Immunantwort. Das Vorliegen einer Fülle von experimentellen Befunden bestätigt, daß Hormone das Immunsystem auf mannigfaltige Weise beeinflussen können. Da der Rahmen dieser Arbeit durch eine detaillierte Schilderung bei weitem überschritten würde, sei auf folgende zusammenfassende Veröffentlichungen hingewiesen: DOUGHERTY u. Mitarb. 1964; WOLSTENHOLME u. KNIGHT 1970; FABRIS 1977; CLAMAN 1975; BESEDOVSKY u. SORKIN, 1977a, b, 1980 (im Druck). Untersuchungen über die Beteiligung von Hormonen in Immunprozessen hatten ihre Basis zumeist in der parenteralen Verabreichung von Hormonen, der Exstirpation oder Blockade von en-

r

. 62 .

dokrinen Drüsen. Zahlreiche Berichte stimmen überein, daß es, je nach Typ und Anwendungsart der Hormone, zu supprimierter oder stimulierter Immunantwort kommen kann.

Die Ergebnisse über die Wirkungen der Mediatoren des autonomen Nervensystems auf das Immunsystem sind widerspruchsvoll, aber im allgemeinen zeigen sie, daß Neurotransmitoren in vitro und in vivo die Immunantwort beeinflussen können (siehe auch BESEDOVSKY u. Mitarb. 1979a).

Zahlreiche Autoren berichteten auf Grund von direkten Manipulationen am Gehirn (z.B. elektrische Läsionen), daß dieses Organ in Immunmechanismen eingreift (siehe Übersicht von STEIN u. Mitarb. 1976).

Untersuchungen in unserem Laboratorium haben ebenfalls wahrscheinlich gemacht, daß Verbindungen zwischen einem immunologischen Organ (Milz) und zentralen Strukturen bestehen (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1979a). Es wurde gefunden, daß eine Denervierung der Milz bei Ratten die Immunantwort, im sonst intakten Tier, erheblich verstärkt. Auch chemische Sympathektomie mittels 6-Hydroxydopamin, besonders in Verbindung mit Adrenalektomie, führte zu einer 119 %igen Erhöhung der Zahl antikörperbildender Zellen (PFC) in der Milz. Diese Experimente unterstützen die Hypothese, daß das sympathische System einen signifikanten Einfluß auf die Immunantwort ausüben kann.

In in vitro-Versuche mit primären Milzzellenkulturen mit Noradrenalin und dem α -Agonisten Klonidin bestätigen die obigen Befunde im Sinne, daß eine starke Hemmung der Immunantwort unter dem

- 4 - 8

Einfluß der α -Agonisten (bei Konzentrationen von 10^{-4} - 10^{-8} M) gefunden wurde. Die Ergebnisse chirurgischer und chemischer Sympathektomie wurden von uns daher so interpretiert, daß durch eine Verminderung der Hemmung durch Noradrenalin eine Erhöhung der Immunantwort erfolgte.

Beurteilung: Es stellt sich somit die Frage, ob die erwähnten verschiedenen i_n_vi_vo-Versuche, die zum Teil grobe Eingriffe darstellen, wie Organexstirpation, Hormonapplikation, Denervierung, Gehirn-Stimulierung und -Läsionen, überhaupt die Existenz einer zentralen Regulation beweisen können? Da durch die erwähnten Manipulationen eine erhebliche Störung des gegenseitigen Informationsflusses und der regulatorischen Signale zwischen den Systemen nicht zu vermeiden ist, muß man letztlich die Aussagekraft dieser Methoden in Bezug auf eine externe Immunoregulation bezweifeln.

4. Nachweis dynamischer immun-neuroendokriner Wechselwirkungen.

Es gibt zunächst einmal zahlreiche indirekte Hinweise für gegenseitige Beziehungen zwischen dem Immunsystem und neuroendokrinen Mechanismen. Diese lassen sich am einfachsten durch die Existenz von bidirektionalen Informationskanälen zwischen dem Immunsystem und externen, mehr integrativen Strukturen erklären. Im besonderen sei hier kurz auf die bemerkenswerte, fast parallele Entwicklung des Immunsystems und des endokrinen Systems in verschiedensten Säugerarten während der Ontogenese hingewiesen (SOLOMAN 1971). Eine Reihe von Beispielen für bidirektionale Einflüsse zwischen dem endokrinen und dem Immunsystem liegen vor. An vier Beispielen sei gezeigt, wie Störungen im Immunsystem zu Störungen im endokrinen System (und vice versa) führen können:

a) Änderungen im hormonellen Milieu führen zu immunologischen Funktionsänderungen. Ein instruktives Modell ist die hypophysäre Zwergmaus mit ihrem genetisch bedingten Defizit an Wachstumshormon und Thyrotropin. Die zellvermittelte Immunität, gemessen am Kriterium der Verwerfung von Transplantaten, ist hier defizient (FABRIS u. Mitarb. 1971 a, b).

Ein anderes Tiermodell stellt die NZB-Maus dar, deren Autoimmunkrankheiten und gestörte Immunfunktionen weitgehend von weiblichen Sexualhormonen abhängen (TALAL 1977).

b) Der keimfreie Zustand von Tieren, d.h. Mangel an antigener Stimulation, manifestiert sich im Vergleich zu konventionellen Tieren in einer deutlichen Unterentwicklung der totalen Masse des lymphoiden Gewebes und des Immunglobulin-Niveaus wie auch im veränderten endokrinen Status (siehe Diskussion von BESEDOVSKY u. SORKIN 1977b).

c) Kongenital thymuslose und neonatal thymektomierte Mäuse haben ein stark gestörtes endokrines System, z.B. Degranulation STH-produzierender Zellen, verzögerte Pubertät in weiblichen Tieren, Unterfunktion der Schilddrüse, u.a. (für Referenzen siehe BESEDOVSKY u. SORKIN 1974, 1977a, 1980). Diese, und andere Befunde, weisen auf eine Funktion des Thymus in der Programmierung des neuroendokrinen Systems hin.

d) Chirurgisch bursektomierte Hühnerembryonen (62 Stunden alt) zeigen im späteren embryonischen Leben oder nach dem Schlüpfen zahlreiche endokrinologische Veränderungen (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1975a, PEDERNERA u. Mitarb. 1979).

Alle erwähnten Beispiele von Einwirkungen auf der Ebene der antigenen Stimulation, der Entwicklung von zentralen und peripheren lymphoiden Geweben oder auf dem Niveau der endokrinen Funktionen, belegen die Existenz eines komplexen Netzwerks von Wechselwirkungen zwischen dem Immunsystem und dem endokrinen System.

V. Das aktivierte Immunsystem induziert Veränderungen im neuroendokrinen System und empfängt regulatorische Signale.

Ein notwendiges Erfordernis für jeden Kontrollmechanismus ist es, daß er Veränderungen jener Niveaus registrieren kann, die er zu regulieren hat. Es darf daher erwartet werden, daß ein durch Antigen spezifisch aktiviertes Immunsystem neuroendokrine Änderungen auslöst. Wir haben hierzu erstmals einige kritische Befunde erhoben.

A) Änderungen von Hormonspiegeln im Blut während der Immunantwort.

Werden Ratten oder Mäusen nichttoxische Antigene wie Haemocyanin oder Schaferythrozyten verabreicht, so ändern sich überraschend die Niveaus von Blutkortikosteron und Thyroxin. Während sich in den ersten 24 Stunden nach Schaferythrozyten-Injektion keine wesentlichen Hormon-Änderungen feststellen lassen, findet von Tag 4 bis zum Tag 8 (mit Maximum am Tag 5) eine zwei- bis dreifache Erhöhung des Kortikosteron-Spiegels und eine 30 lige Senkung des Thyroxin-Spiegels statt (siehe Abbildung 1) (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1975b).

Abb. 1:

Immunantwort von Ratten gegen Antigen (Schaferythrozyten, SRBC) führt zu Änderungen im Hormonblutspiegel.

A: Plaque bildende Zellen (PFC) $\times 10^3$ per Milz

B: Kortikosteron-Niveau im Serum

0-0 Tiere mit SRBC immunisiert

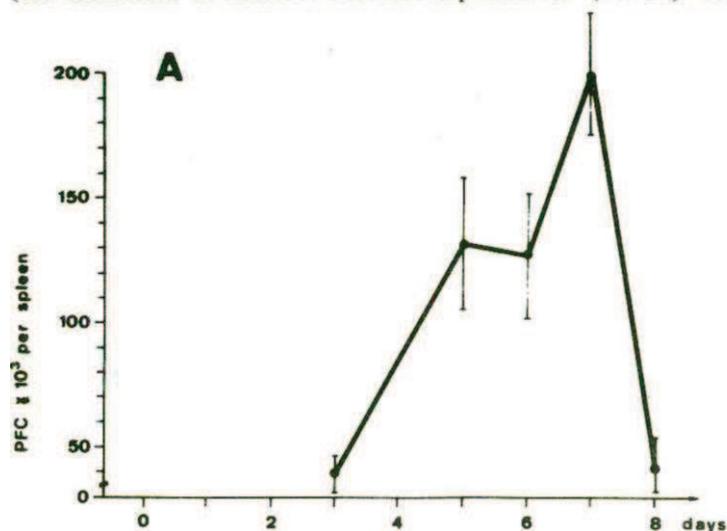
A" A Tiere mit Ratten-Blutzellen immunisiert

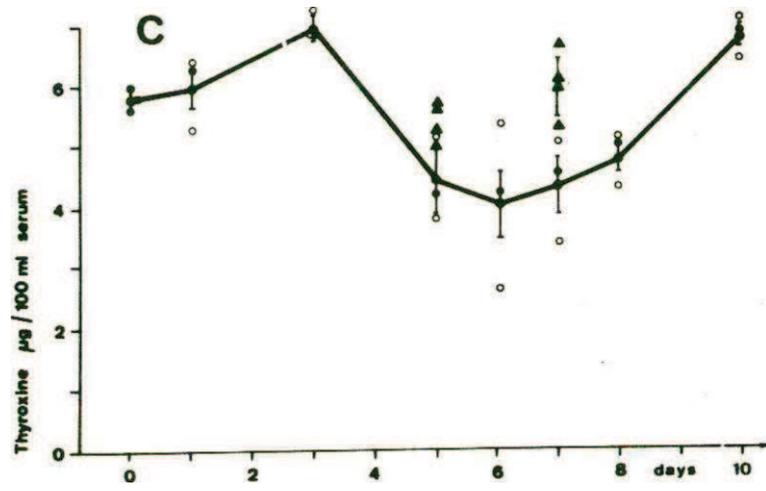
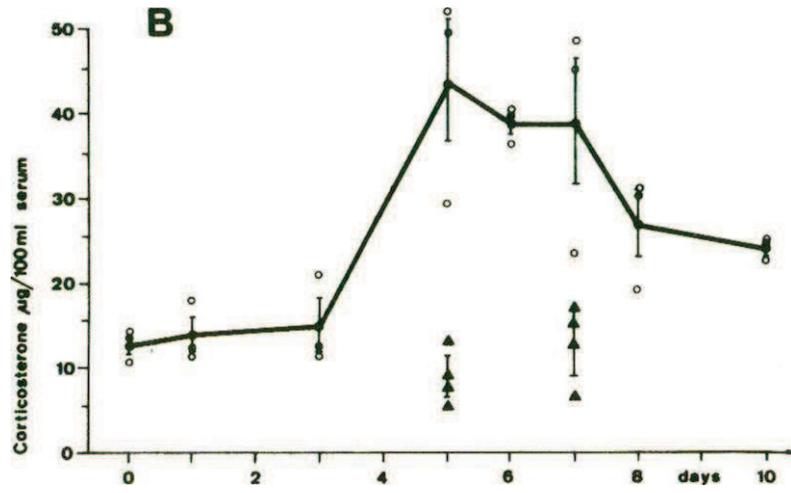
C: Thyroxin-Niveau im Serum

O - O Tiere mit SRBC immunisiert

A" A Kontroll-Ratten mit Rattenerythrozyten immunisiert (RRBC)

(aus BESEDOVSKY u. Mitarb.: Proc.Soc.exp.Biol.150 (1975b) 466)





Mit dem löslichen Protein Haemocyanin wurden in Ratten analoge Ergebnisse erzielt, jedoch erfolgte der Anstieg des Kortikosterons bereits früher, wohl in Verbindung mit der früher erfolgenden Immunantwort (Tag 1). Entsprechende hormonelle Änderungen wurden auch in Mäusen (C3HJ festgestellt.

Auch in einem Hauttransplantationssystem (Maus - Ratte) wurden Änderungen im Kortikosteron-Spiegel beobachtet (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1978).

Eine wichtige Folgerung aus diesen Experimenten: Die Immunantwort ist in der Lage, den Hormonblutspiegel, z.B. Kortikosteron, derart zu beeinflussen, daß die Immunantwort selbst wiederum dadurch beeinflußt werden kann. Dies kann bedeuten: Die beobachteten hormonellen Änderungen könnten, zumindest teilweise, durch einen Rückkopplungsmechanismus die Dauer und möglicherweise sogar die Höhe einer Immunantwort regulieren. Daß derartige Vorstellungen durchaus realistisch sind, wurde am Beispiel der antigenen Konkurrenz gezeigt.

Werden etwa nicht-kreuzreagierende Erythrozyten zweier Spezies (1 = Pferd, 2 = Schaf) nacheinander, z.B. im Abstand von 5 Tagen Ratten gespritzt, so wird die Antwort gegenüber dem zweiten Antigen unterdrückt. Dieses Phänomen der antigenen Konkurrenz ist weitgehend ungeklärt und auch nicht in vitro demonstrierbar. Auffälligerweise wurde festgestellt, die massive Suppression der Antwort auf das zweite Antigen erfolgt dann, wenn der Kortikosteron-Blutspiegel, infolge Immunisation durch das zuerst verabreichte Antigen, ein Maximum erreicht hat (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1979c). Sofern Kortikosteron tatsächlich eine wichtige Komponente bei der antigenen Konkurrenz darstellt, sollte eine chirurgische Entfernung der Nebenniere zu einer Verminderung oder Elimination der antigenen Konkurrenz führen. Ein derartiges Resultat wurde tatsächlich erhalten. Zudem konnte auch durch Zugabe von Kortikosteron zu in vitro Milzzell-Kulturen das Phänomen der antigenen Konkurrenz zwischen Pferde- und Schaferythrozyten imitiert werden.

Die Zielzelle des Kortikosterons ist unbekannt.. Aufgrund neuerer Untersuchungen von GILLIS u. Mitarb. (1979a, b) nehmen wir aber an daß Glukokortikoide die Produktion des sogenannten T-cell growth factors (TCGF) hemmen, wodurch die klonale Expansion aktivierter T-Zellen blockiert wird. Ein Zusammenhang unserer Ergebnisse über antigene Konkurrenz mit denen von GILLIS u. Mitarb., ist offensichtlich: Der durch Antigen 1 erhöhte Glukokortikoidspiegel verhindert die TCGF-Produktion, die für eine klonale Expansion, als Antwort auf Antigen 2, notwendig ist. Die Folge: keine Immunantwort auf Antigen 2, d.h. antigene Konkurrenz.

B) Durch das autonome Nervensystem vermittelte Immunoregulation.

Sympathische Signale werden durch Aktivitätsveränderungen der terminalen Nervenendigungen vermittelt, die mit lokalen Konzentrationsänderungen von Noradrenalin in der Nähe der Zielzellen einher gehen. Von der Rattenmilz ist bekannt, daß sie innerviert ist. Wir stellten uns die Frage, ob sympathische Nervensignale Lymphozyten in der Mikroumgebung einer stattfindenden Immunantwort erreichen können. Zu diesem Zweck wurde der Noradrenalingehalt der Milz und ihre Antikörperproduktion (PFC), nach Immunisierung mit Schaferythrozyten, untersucht (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1979a). Ein radioenzymatischer Test wurde zur Quantifizierung des Katecholamins verwendet (DA PRADA u. ZÜRCHER 1976). Die Ergebnisse, wiedergegeben durch Abbildung 2, zeigen, daß an den Tagen 3 und 4, nach Antigeninjektion, eine markante Verminderung des Noradrenalingehaltes der Milz auftritt. Diese Verminderung, die in allen 5 Experimenten beobachtet wurde, betrug zwischen 40-70 %. Sie trat stets vor dem Maximum der direkten PFC auf. Am Tage 8 war der Noradrenalingehalt wieder normal. Als nicht-lymphoides Kontrollorgan diente das Herz, das jedoch zu keiner Zeit nach der Immunisierung von der Norm abweichende Werte aufwies.

Diese Ergebnisse erbringen erstmals den Beweis, daß physiologisch bedeutsame Änderungen des Noradrenalingehalts in der Umgebung Antikörperbildender Zellen stattfinden. Von diesem Vorgang darf angenommen werden, daß er die Aktivität der immunokompetenten Zellen

beeinflusst. Tatsächlich wurde bereits oben mitgeteilt, daß Noradrenalin und der synthetische «.-Agonist Klonidin eine in vitro induzierte primäre Immunantwort zu hemmen vermögen.

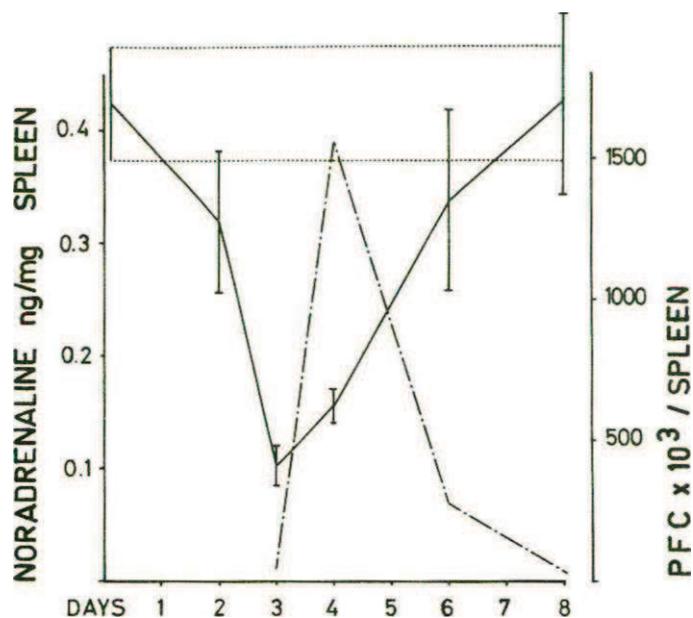


Abb. 2:

Immunoregulation, vermittelt durch das autonome sympathische Nervensystem: Abnehmender Noradrenalin Gehalt (RA) in der Rattenmilz im Verlauf der Immunantwort. Den Ratten wurden Schaferythrozyten verabreicht und nach verschiedenen Zeiten die Anzahl der direkten PFC und der Noradrenalin Gehalt in der Milz bestimmt. Kontrollen für Noradrenalin nach NaCl-Injektion (Tag 0).

Jeder Punkt der Noradrenalin-Kurve repräsentiert den Mittelwert + SEM aus Bestimmungen von 4 Tieren.

RA: —

PFC: - - -

(aus BESEDOVSKY u. Mitarb.: Cellular Immunology 48 (1979a) 436).

Es wird daher vorgeschlagen, daß die im Verlauf der Immunantwort eingetretenen Änderungen des Noradrenalingehaltes den efferenten Arm von Reflexmechanismen darstellen, die durch Antigen-stimulierte, immunologische Zellen ausgelöst werden. Die Noradrenalin-Änderungen stellen wahrscheinlich regulatorische Signale dar, die in der Lage sind, eine im Gang befindliche Immunantwort zu modulieren. Darüber hinaus ist es nicht ausgeschlossen, daß Noradrenalin auch den lymphoiden Zellverkehr beeinflußt.

C. Vom aktivierten Immunsystem ausgehende afferente Signale lösen eine Antwort in Neuronen des Hypothalamus aus.

Der Hypothalamus ist an zahlreichen autonomen und endokrinen Kontrollmechanismen beteiligt. Um direkte Beweise für die Ankunft von Signalen im Hypothalamus zu erbringen, die vom antigenisch stimulierten Immunsystem abstammen, haben wir die elektrische Aktivität individueller Neuronen im ventromedialen Teil des Ratten-Hypothalamus gemessen (BESEDOVSKY u. Mitarb. 1977). Ratten wurden durch Injektion von Schafererythrozyten oder TNP-Haemocyanin immunisiert. Die Kinetik der Immunantwort und die Hypothalamus-Aktivität wurden dann nach verschiedenen Intervallen gemessen. Die Ergebnisse in Abbildung 3 zeigen, daß am Tag 1 nach Antigen-Injektion (Schafererythrozyten) im Vergleich zu Kontrollen (NaCl) keine Änderung in der Aktivitätsfrequenz der Neuronen eintrat. Am Tag 5 dagegen, d.i. beim Maximum der direkten PFC in der Milz, wurde ein mehr als zweifacher Anstieg der Feuerungsfrequenz der ventromedialen Neuronen festgestellt (Kontrolle: 3.75 ± 1.3 "spikes"/sek.; Schafererythrozyten: 8.82 ± 1.3 "spikes"/sek., $P < 0.001$). In einigen Ratten, die immunologisch nicht reagierten, konnten keine erhöhten neuronalen Aktivitäten gemessen werden.

In einem anderen Modell mit TNP-Haemocyanin als Antigen, wurden ebenfalls signifikant erhöhte Feuerungsraten der Neuronen festgestellt, doch war die höchste Aktivität bereits am Tag 2 meßbar, eine Tatsache, die wahrscheinlich auf die viel früher eintretende Immunantwort zurückzuführen ist.

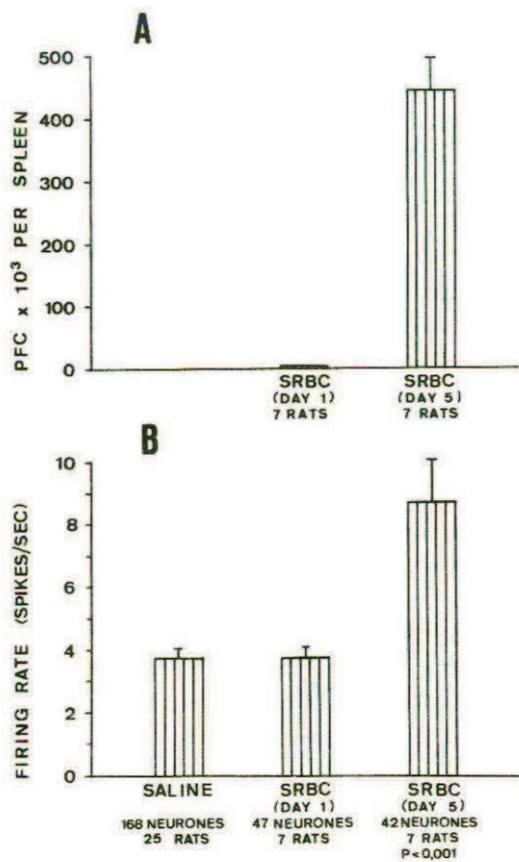


Abb. 3.:

.Antigene Stimulierung (Schaferythrozyten) führt zu Erhöhung der neuronalen .Aktivität im ventromedialen Kern des Ratten-Hypothalamus.

A) Antikörper-produzierende Zellen (direkte PFC) in der Milz.

B) Neuronale .Aktivität (firing rates, spikes/sec.).

(aus BESEDOVSKY u. Mitarb.: European Journal Immunology 7 (1977) 325)

Die erwähnten Studien lassen den Schluß zu, daß als Folge (nicht-toxischer, nicht-streßbedingter) antigener Stimulation von lymphoiden Geweben herstammende Signale den Hypothalamus erreichen. Die Natur dieser Signale, der Reaktionsweg innerhalb des Hypothalamus der Typ der Neuronen u.a. sind noch abzuklären.

VI. Zusammenfassung

Immunoregulation ist die zentrale Fragestellung in der gegenwärtigen Immunologie. Es wurden zwei Mechanismen der Immunoregulation unterschieden:

1. Autoregulation
2. Externe Immunoregulation im Sinne eines integrativen immuno-neuroendokrinen Netzwerks.

Es wurde experimentell nachgewiesen, daß der scheinbar "unschuldige" Akt der antigenen Stimulation nicht nur zu einer Immunantwort führt, sondern daß vom Immunsystem noch unbekannte Signale ausgehen, die zu Veränderungen im

1. endokrinen System,
2. autonomen Nervensystem,
3. Hypothalamus

führen. Die Veränderungen im Neuroendokrinium und weitere Wechselwirkungen zwischen Immunsystem und Hormonen werden dahingehend interpretiert, daß die autoregulatorischen Immunmechanismen während des ganzen Lebens einem komplexen System von hormonellen Rückkopplungen und neuralen Signalen unterworfen sind.

Diese Arbeit wurde durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Nr. 3.213.77, unterstützt.

Literatur:

- ABRAHAM, A.D. and BUG, G.: ³H-testosterone distribution and binding in rat thymus cells in vivo. *Molecular & Cellular Biochemistry* 13 (1976) 157.
- ARRENBRECHT, S.: Specific binding of growth hormone to thymocytes. *Nature* 252 (1974) 255. .
- BENACERRAF, B., KATZ, D.H., KAPP, J.A. and PIERCE, C.W.: Regulatory mechanisms in the immune response. In "Cellular Selection and Regulation in the Immune Response" (G.M. Edelman, ed.), pp. 265-281. Raven Press, New York, 1974.
- BESEDOVSKY, H.O. and SORKIN, E.: Thymus involvement in female sexual maturation. *Nature* 249 (1974) 356.
- BESEDOVSKY, H.O., PEDERNERA, E. and ROSSI ALLORAS, H.: Influencia de la bursa de fabricious sobre el desarrollo endocrino del embrion de pollo. *Medicina* 35 (1975a) 6.
- BESEDOVSKY, H.O., SORKIN, E., KELLER, M. and MÜLLER, J.: Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc. Soc. exp Biol. (N.Y.)* 150 (1975b) 466.
- BESEDOVSKY, H.O., SORKIN, E., FELIX, D. and HAAS, H.: Hypothalamic changes during the immune response. *Eur. J. Immunol.* 7 (1977) 325.
- BESEDOVSKY, H.O. and SORKIN, E.: Hormonal control of immune processes. In "Endocrinology" Vol. 2 (V.H.T. James, ed.), pp. 504-513 Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, 1977a.
- BESEDOVSKY, H.O. and SORKIN, E.: Network of immune-neuroendocrine interactions. *Clin. Exp. Immunol.* 21 (1977b) 1.
- BESEDOVSKY, H.O., SORKIN, E. and KELLER, M.: Changes in the concentration of corticosterone in the blood during skin-graft rejection in the rat. *J. Endocr.* (1978) 175.
- BESEDOVSKY, H.O., del REY, A., SORKIN, E., Da PRADA, M. and KELLER H.H.: Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. *Cellular Immunology* 48 (1979a) 346.
- BESEDOVSKY, H.O., del REY, A., and SORKIN, E.: Role of prethymic cells in acquisition of self-tolerance. *J. exp. Med.* 150 (1979c) 1351.
- BESEDOVSKY, H.O. and SORKIN, E.: Immunologie-neuroendocrine circuits: Physiological approaches. J. "Psychoneuroimmunology".

(R. Ader, ed.) in press. Academic Press, New York, 1980.

BOURNE, H.R., LICHTENSTEIN, L.M., MELMON, K.L., HENNEY, C.S., WEINSTEIN, Y. and SHEARER, G.M.: Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. Receptors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leukocyte functions. *Science* 184 (1974) 19.

CAKE, M.H. and LITWACK, G.: The glucocorticoid receptors. In "Biochemical Actions of Hormones" (G. Litwack, ed.). pp. 317-390. Academic Press, New York, San Francisco, London, 1975.

CLAMAN, H.N.: How corticosteroids work. *J. Allergy Clin. Immunol.* 55 (1975) 145.

Da PRADA, M. and ZÜRCHER, G.: Simultaneous radioenzymatic determination of plasma and tissue adrenaline, noradrenaline and dopamine within the femtomole range. *Life Sciences* 19 (1976) 1161.

DOUGHERTY, T.F., BERLINER, M.L., SCHNEEBELI, G.L. and BERLINER, D.L.: Hormonal control of lymphatic structure and function. *Ann. New York Acad. Sci.* JJ_3 (1964) 825.

FABRIS, N., PIERPAOLI, W. and SORKIN, E.: Hormones and the immunological capacity. III. The immunodeficiency disease of the hypopituitary Snell-Bagg dwarf mice. *Clin. Exp. Immunol.* 9 (1971a) 209.

FABRIS, N., PIERPAOLI, W. and SORKIN, E.: Hormones and the immunological capacity. IV. Restorative effects of developmental hormones or of lymphocytes on the immunodeficiency Syndrome of the dwarf mouse. *Clin. Exp. Immunol.* 9 (1971b) 227.

FABRIS, N.: Hormones and aging. In "Immunology and Aging" (T. Makinodan and E. Yunis, eds.). pp. 73-89. Plenum Medical Book, New York 1977.

GERSHON, R.K.: Immune regulation. *Fed. Proc.* 38 (1979) 2051.

GILLETTE, S. and GILLETTE, R.W.: Changes in thymic estrogen receptor expression following orchidectomy. *Cell. Immunol.* **£2** (1979) 194.

GILLIS, S., CRABTREE, G.R. and SMITH, K.A.: Glucocorticoid-induced inhibition of T-cell growth factor production. I. The effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *J. Immunol.* 123 (1979a) 1624.

GILLIS, S., CRABTREE, G.R. and SMITH, K.A.: Glucocorticoid-induced Inhibition of T-cell growth factor production. II. The effect on the in vitro generation of cytolytic T-cells. J. Immunol. 125 (1979b) 1632.

HELDERMAN, J.H. and STROM, T.B.: Specific insulin binding Site on T- and B-lymphocytes as a marker of cell activation. Nature 274 (1978) 62.

HOLLENBERG, M.D. and CUATRECASAS, P.: Hormone receptors and membrane glycoproteins during in vitro transformation of lymphocytes. In "Control of Proliferation of Animal Cells" (B. Clarkson and R. Baserga, eds.) pp. 423-434, Cold Spring Harbour, Lab., 1974.

JERNE, N.K.: Towards a network theory of the immune system. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 125C (1974) 373.

JERNE, N.K.: The immune system. In "Immuno'logy" (F.M. Burnet, ed.) pp. 49-57. Scientific American, New York, 1976b.

JERNE, N.K.: The immune system: A web of V-domains. Harvey Lectures, Ser. 70, pp. 93-110. Academic Press, New York, 1976a.

PARKER, C.W.: The role of intracellular mediators in the immune response. En "The Biology of the Lymphokines" (S. Cohen, E. Pick and J.J. Oppenheim, eds.) pp. 541-583. Academic Press, New York, 1979.

PEDERNERA, E., ROMANO, M. and AGUILAR, M.C.: Influence of early surgical bursectomy on the Leydig cells in the chick embryo testis J. Steroid Biochemistry J1 (1980) in press.

RICHMAN, D.P. and ARNASON, B.G.: Nicotinic acetylcholine receptor: Evidence for a functionally distinct receptor on human lymphocytes Proc. Natl. Acad. Sei. USA 76 (1979) 4632.

SINGH, U., MILLSON, D.S., SMITH, P.A. and OWEN, J.J.T.: Identification of B-adrenoceptors during thymocyte ontogeny in mice. Eur. J. Immunol. 9 (1979) 31.

SOLOMAN, J.B.: "Foetal and Neonatal Immunology", North Holland Publ. Company, Amsterdam, 1971.

STEIN, M., SCHIAVI, P.C. & CAMERINO, M.: Influence of brain and behaviour on the immune system. The effect of hypothalamic lesions on immune processes is described. Science 191 (1976) 435.

- STROM, T.B., SYTKOWSKY, A.J., CARPENTER, C.B. & MERRILL, J.P.:
Cholinergic augmentation of lymphocyte-mediated cytotoxicity. A
study of the cholinergic receptor of cytotoxic T-lymphocytes.
Proc. Natl. Acad. Sei. USA **71** (1974) 1330.
- TALAL, N.: Autoimmunity and lymphoid malignancy: Manifestation of
immunoregulatory disequilibrium. In "Autoimmunity" (N. Talal, ed.)
pp. 194-197. Academic Press, New York, 1977.
- UHR, J.W. and MÖLLER, G.: Regulatory effect of antibody on the im-
mune response. In "Advances in Immunology". Vol. 8 (F.J. Dixon, jr
and H.G. KUNKEL, eds.) pp. 81-127. Academic Press, New York, 1968.
- WERB, Z., FOLEY, R. and MUNCK, A.: Interaction of glucocorticoids
with macrophages. Identification of glucocorticoid receptors in
monocytes and macrophages. J. Exp. Med. 147 (1978) 1684.
- WOLSTENHOLME, G.E.W, and KNIGHT, J.: "Hormones and the Immune Re-
sponse". Ciba Foundation Study Group No. 36. J. & A. Churchill,
London, 1970.

Diskussion:

v. MAYERSBACH:

Darf ich um Diskussionsfragen zu diesem hochinteressanten Vortrag
bitten, der wieder einmal gezeigt hat, wie wenig wir eigentlich
über die simpelsten und primitivsten Dinge wissen, die wir tagtäglich
tun.

PORCHER:

Als ich Prof. NOSSAL 1976 in Cremona traf und ihm im Rahmen eines
Interviews die Frage nach der Bedeutung der "immunological sur-
veillance" für die Tumorentwicklung gestellt habe, hat er sich sei-
nerzeit sehr bescheiden geäußert. Welcher Stellenwert kommt nach
dem derzeitigen Stand des Wissens der "immunological surveillance"
bei der Tumorgenese zu?

SORKIN:

Wir arbeiten zwar auch über Tumormunität; trotzdem meine ich,
Prof. WRBA wäre hier mehr Experte. Das Surveillance-Konzept bei Tu

moren ist in Schwierigkeiten geraten. THOMAS und BURNET stellten die Theorie auf, die primäre Aufgabe des Immunsystems bestünde nicht nur darin, als Abwehrsystem gegen Bakterien, Viren und Parasiten zu fungieren, sondern Krebszellen in statu nascendi zu vernichten. Zweifellos gibt es Hinweise, daß Zellen des Immunsystems in der Lage sind, Krebszellen in vitro zu hemmen und zu töten; auch Makrophagen sind dazu in der Lage. Eine ganz andere Frage ist: Läuft dies beim Krebsgeschehen auch wirklich so ab? Ist es eigentlich bewiesen, daß die ersten Tumorzellen immunologisch erkannt werden? Wir wissen, daß Krebszellen tumorspezifische Marker verlieren und damit, immunologisch gesehen, inkognito bleiben können. Deshalb zielen neuere Experimente darauf, Tumorzellen zu markieren, ihnen neue Eigenschaften zu verleihen und sie damit für das Immunsystem wieder erkennbar zu machen.

Erst kürzlich wurde ein völlig neuer Zelltyp entdeckt, die "natural-killer-cells". Diese können ohne Zweifel gewisse Tumorzellen töten. Was mich sehr bedenklich stimmt, ist, daß "natural-killer-cells" - meines Wissens - funktionell überhaupt nicht im Tumor selbst vorkommen. Dieser neue Zelltyp ist zwar im "immunological-surveillance-Konzept" ein guter Kandidat, aber, ob das zu seinen eigentlichen Aufgaben gehört, ist noch nicht sicher. Vielleicht hat diese Zelle ganz andere Aufgaben, z.B. auf der Ebene der Regulation.

Ob es nun eine Immun-surveillance-Zelle gibt, ist mir unbekannt. In der Phase, wo sie entscheidend ist, d.h. Tumorzellen im Frühstadium vernichtet werden, dort funktioniert es offensichtlich bei jedem Vierten nicht.

THEURER:

Vom Fötalleben besteht doch wahrscheinlich eine Toleranz gegen embryonale fötale Antigene. Solange diese Toleranz nicht durchbrochen werden kann, kommt auch keine Immunabwehr gegen den Tumor zustande, falls nicht völlig neue Antigen-Qualitäten auftreten, wie beispielsweise bei Mutationen der Strukturgene. Ich bin sogar überzeugt, daß der Tumorentwicklung letztlich eine Schädigung der Re-

gulatorgene zugrunde liegt, wodurch vormals "stumme" Strukturgene wieder dereprimiert und damit aktiv werden.

SORKIN:

Das kann ich nicht beantworten, obgleich es eine sehr wichtige Frage ist. Mit Ausnahme von B-Zellen wissen wir noch nicht, wie Antigene von Zellen des Immunsystems erkannt werden. Es könnte durch aus sein - und da stimme ich Ihnen zu - daß gegenüber Tumor-Antigenen Toleranz bestehen kann.

Es existiert vermutlich auch ein Selektionsprozess; die Tumorzellen, die überleben, können immunologisch nicht attackiert werden, da sie immunologisch gar nicht registriert werden.

Weiter gibt es durchaus ernst zu nehmende Forscher, die glauben, daß das Immunsystem auch zu einem besseren Wachstum der Krebszellen führen kann (PREHN).

THEURER:

Seit Jahren vermute ich, daß ein Vorläufermechanismus des Immunsystems, in Art der adaptiven Synthese von Antikörperfragmenten, mit der variablen Gruppe der Antikörper, bei der Krebsabwehr eine Rolle als Repressoren bzw. auch als Induktoren der Tumorgene spielt*. Leider konnten diese Hypothesen bisher nicht nachgeprüft werden.

Wenn ich Sie richtig verstanden habe, sind Sie aber auch der Meinung, daß es bei Erkrankungen des Immunsystems, bei Autoaggressionserkrankungen, bei Immundefizienzen, nicht ausreicht, nur ein Organ, hier im speziellen das Immunsystem, zu behandeln. Man müßte auch die korrelativ am Krankheitsgeschehen mitbeteiligten Organe, insbesondere das Zwischenhirn und die endokrinen Drüsen, mitbehandeln. Auch die Milz und die Leber können geschädigt sein. Das sind alles außerordentlich komplexe Dinge.

*) Selecta 39/1979; 51/1977; Krebsgeschehen 6/1978.

Die Zytoplasmatische Therapie wurde als Kombinationstherapie konzipiert. Pate stand dabei die klinische Erfahrung, daß wir beispielsweise in der Allergologie eben nicht nur eine Erkrankung des Immunsystems haben, sondern daß auch Effektoren, die zentrale Regulation, das Endokrinium, das Vegetativum, eine Rolle spielen. Deswegen gehen wir bei Erkrankungen des Immunsystems von verschiedenen Seiten heran, nicht nur in Art einer hormonellen Substitution, sondern eben über eine Beeinflussung der Organe selbst.

SORKIN:

Ich glaube, Sie haben durchaus recht, wenn Sie so vorgehen. Es ist nur sehr schwer - wenn ich das als Grundlagenwissenschaftler so in aller Offenheit sagen darf - angesichts der komplexen biologischen Abläufe vorauszusagen, wo man nun genau Einfluß nimmt.

THEURER:

Ich könnte mir vorstellen, wenn ich von nur einer Seite einen Stoß in ein System gebe, daß dieser Stoß unerwünschte Gegenreaktionen in einer ganz bestimmten Art auslöst. Gehe ich hingegen auf breiter Basis vor, ist die Gegenreaktion nicht so eindeutig massiv und führt zur Umstimmung und Neuorientierung.

WRBA:

Herr Kollege SORKIN, ich finde es großartig, daß Sie den Einfluß exogener Faktoren auf das Immunsystem so klar nachgewiesen haben. Für mich jedenfalls ziehe ich die Erkenntnis daraus, daß das, was Sie "immunological surveillance" genannt haben, mehr ist als nur das Vorhandensein von funktionierenden Lymphozyten. Dazu gehört auch ein ganz komplex funktionierender immunbiologischer Apparat. Damit bestätigt sich, was die Kliniker schon immer gesagt haben. Die Kliniker haben sich uns Immunologen gegenüber immer gesträubt, nur von Immunkompetenz und von B- und T-Zellen zu sprechen. Sie arbeiteten mit den Begriffen "Immunbiologie" und "Abwehrapparat". Die Immunologen wiederum haben das immer ein wenig lächerlich gefunden. In Wirklichkeit ist es nun tatsächlich so, daß das Immunsystem nur ein Teil der "immunological surveillance" darstellt. Das halte ich für einen ganz entscheidenden Befund. Es besteht gar

kein Zweifel daran, daß die Immuno-surveillance, wie immer man sie definieren mag, bei der Verhinderung der Tumorentstehung eine große Rolle spielt; aber sie ist nicht alles!

Ich würde also sehr davor warnen, diese Dinge zu vereinfachen. Das Immunsystem ist weit komplexer als wir es uns ursprünglich vorstellten. Da bin ich ganz Ihrer Meinung - obwohl Meinung natürlich in der Wissenschaft nichts gilt. Trotzdem meine ich, daß wir uns in der Immunologie schon viel zu lange damit beschäftigt haben, nur zu analysieren. Ungefähr 10 Jahre lang haben wir immer neue Tests, neue Funktionen, neue Lymphokine usw. gefunden. Jetzt werden wir dazu übergehen müssen, das einmal funktionell zu vereinigen. Wir werden uns überlegen müssen, wozu ist denn die ganze Geschichte gut - sie muß ja einen Sinn haben! Sicher sind wir analytisch wesentlich vorangekommen. Aber jetzt müssen wir uns tatsächlich um die funktionelle Immunabwehr kümmern.

SORKIN:

Ihnen ist sicher als Krebsforscher bekannt, und bei Klinikern besteht mittlerweile auch gar kein Zweifel mehr daran, daß Streßreaktionen, wie beispielsweise Partnerverlust, Verluste in der Familie, größere soziale Probleme, zum Auftreten von Tumoren führen können. Der Organismus reagiert auf Streß wahrscheinlich im Sinne eines veränderten Endokriniums, veränderten Verhaltens des autonomen Nervensystems und des Hypothalamus usw. Damit ändert sich die Mikroumgebung der immunkompetenten Zellen in Form eines erhöhten Kortikosteroid- und Noradrenalinpiegels etc. In dieser neuen Mikroumgebung verhalten sich die Zellen dann funktionell ganz anders. Falls diese Immunzellen eine Abwehrfunktion, beispielsweise im Erkennen und Töten einer Tumorzelle, haben, so könnte dieses System unter Umständen dadurch supprimiert werden. Eine Verbindung zur Psychosomatik scheint mir durchaus gegeben.

WRBA:

Sie sprechen mir aus der Seele? Es besteht gar kein Zweifel, daß die Entstehung eines Krebses Endpunkt einer Entwicklung ist, bei der sehr viele Faktoren mitgespielt haben, und daß da sehr wohl

psychologische Faktoren und Streß eine Rolle spielen. Nur, bei 15 mitbeteiligten Faktoren ist die Identifizierung eines einzelnen sehr schwierig. Das ist die Problematik für die naturwissenschaftliche Bestimmung solcher Faktoren, und daran ist die Psychologie bisher gescheitert.

v. MAYERSBACH:

Ich möchte Herrn Kollegen SORKIN herzlich danken. Wenn hinterher die Diskussionen ausgeüfert sind, spricht das nur für die Bedeutung der Probleme. Ich muß zugeben, daß ich nicht den Mut hatte, sie abzubrechen. Vielen Dank!

Wirkungsweisen informatorischer RNS
und extrazellulärer DNS
als Beispiele biologischer Regulation

D. JACHERTZ

Institut für Hygiene und
Medizinische Mikrobiologie der
Universität Bern

25 Jahre Zytoplasmatische Therapie bedeuten u.a. auch 25 Jahre Streben nach dem Verständnis komplizierter Regulationsmechanismen, um diese therapeutisch beeinflussen zu können. Aus den theoretischen und arbeitshypothetischen Ansätzen heraus haben sich empirisch bewährte Therapieformen entwickelt, die, aufgrund der statistischen Signifikanz, einen sicheren Platz im therapeutischen Repertoire zahlreicher Ärzte gefunden haben. In diesen 25 Jahren hat die experimentelle Bearbeitung der Wirkungsmechanismen, die der Zytoplasmatischen Therapie zugrunde liegen, manchen Einzelaspekt verständlich machen können. Die Komplexizität biologischer Abläufe bringt es allerdings mit sich, daß eine lückenlose Kausalkette der Mechanismen noch nicht beschrieben werden kann. In der Praxis eilt die ärztliche Intuition der Empirie voraus, die Aufklärung eines Wirkungsmechanismus hinkt der Empirie nach. Die Aufklärung des Wirkungsmechanismus in einer lückenlos bewiesenen Kette von Kausalzusammenhängen ist aber nicht nur die höchste wissenschaftliche Rechtfertigung eines therapeutischen Verfahrens. Sie ist außerdem eine sichere Basis, von der aus die ärztliche Intuition zu neuen Gedankenansätzen ausgehen kann.

Die Beschreibung einer Kette kausaler Zusammenhänge auf der Grundlage von experimentellen Beweisen wird oft als "Theoretische Medizin" empfunden. Sie ist überhaupt nicht theoretisch, sondern im höchsten Maße Ausdruck intelligenter praktischer, d.h. handwerklicher Tätigkeit. Eine solche Arbeit ist nur dann vom gewünschten Er-

folg gekrönt, wenn sie von richtigen Prämissen ausgeht. Sie kann in relativ kurzen Zeiträumen die Erkenntnis innerhalb einer Kategorie erheblich erweitern. Der erkennende Übertritt von einer niederen in eine höhere Kategorie erfordert jedoch erfahrungsgemäß lange Zeiträume von Jahrzehnten. So erhebt sich die Frage nach 25 Jahren experimenteller Arbeit über Wirkungsmechanismen, die der Zytoplasmatischen Therapie zugrunde liegen könnten, ob wir nicht an der Schwelle zum Übertritt in eine neue Kategorie des Verständnisses biologischer Regulation stehen. Diese Frage wird erst dann mit praktisch verwertbarem Sinn erfüllt, wenn sie so gestellt wird, daß eine auch experimentell faßbare Antwort möglich ist. Ich möchte deshalb aus meiner eigenen experimentellen Erfahrung heute einige Ergebnisse beschreiben, die möglicherweise die Antwort auf die oben gestellte Frage in einer bestimmten Richtung erwarten lassen könnten.

Am Ausgangspunkt zu den hier zu diskutierenden Experimenten stehen die Vorstellungen, die man heute vom Mechanismus der Enzyminduktion hat - also das Zusammenspiel von Induktor, Repressor, Operatorgen, Regulatorgen, Promotorregion und den Strukturgenen - und die Vorstellungen von der Lokalisation der Strukturgene von Immunglobulinen - also die Erkenntnis, daß variable und konstante Regionen der leichten und der schweren Kette der Antikörpermoleküle nicht kohärent an einer bestimmten Stelle, sondern diskontinuierlich an verschiedenen Stellen im Genom angeordnet sind.

Das erste Experiment, welches ich in diesem Zusammenhang erwähnen möchte, wurde vor mehr als 10 Jahren gemacht. Eine zellfrei synthetisierte informatorische RNS wurde zu Lymphozytenkulturen gegeben. Anschließend wurde geprüft, welche allotypischen Merkmale sich auf den Antikörpern finden lassen. In der Tabelle 1 ist gezeigt, daß die i-RNS selbst im zellfreien System nur Antikörper mit allotypischen Merkmalen codieren kann, die denjenigen des Spenders der DNS entsprechen, von der die i-RNS im zellfreien System transkribiert wurde. Die Tabelle 2 zeigt dagegen zum Vergleich, daß die Lymphozytenkultur zwar zu Beginn der Antikörpersynthese nach Zugabe von i-RNS sich wie das zellfreie System verhält, daß aber nachher zuneh-

mend allotypische Merkmale der Empfängerzelle auftreten.

Tabelle 1

*Gm- und InV-Merkmale der DNS-Spe. rule.rze.Uen, des zellfreien Testsystems für die informatorische RNS und der in diesem Testsystem synthetisierten Antikörper**

Formel des Spenders der DNS, an der die informatorische RNS im zellfreien System synthetisiert wurde:	Formel des Spenders des zellfreien Systems, in dem die Aktivität der informatorischen RNS geprüft wurde:	Formel des im zellfreien System synthetisierten Antikörpers:
InV1 ⁺	InV1 ⁻	InV1 ⁺
InV1 ⁻	InV1 ⁺	InV1 ⁻
Gm ₁₋₄₊₁₂₊	Gm ₁₊₄₋₁₂₋	Gm ₁₋₄₊₁₂₊
Gm ₂₋	Gm ₂₊	Gm ₂₋
Gm ₁₋ InV1 ⁺	Gm ₁₊ InV1 ⁻	Gm ₁₋ InV1 ⁺
Gm ₁₋₂₋	Gm ₁₊₂₊	Gm ₁₋₂₋

* Es sind in der Tabelle nur diejenigen Merkmale aufgeführt, die beim DNS-Spender und im zellfreien System verschieden sind.

Tabelle 2

Allotypische Merkmale von Antikörpern, die in Lymphozytenkulturen zu verschiedenen Zeiten nach Zugabe von i-RNS gebildet wurden

Spender der DNS, an der die i-RNS im zellfreien System transkribiert wurde	Spender der Lymphozytenkultur	Zeit nach Zugabe der i-RNS	Antikörper synthetisiert in der Lymphozytenkultur
Gm 1 ⁺ 2 ⁺ JnV1 ⁻	Gm 1 ⁻ 2 ⁻ JnV1 ⁺	Tag 1	Gm 1 ⁺ 2 ⁺ JnV1 ⁻
		Tag 2	Gm 1 ⁺ 2 ⁻ JnV1 ⁺
		Tag 3	Gm 1 ⁻ 2 ⁻ JnV1 ⁺

Ein analoges Experiment konnte vor kurzem mit extrazellulärer DNS, zusammen mit den Herren P. MAURICE, P. ANKER und M. STROUN aus Genf* durchgeführt werden. Diese extrazelluläre DNS wird nach Stimulation mit einem bestimmten Antigen aus Lymphozyten in das Medium abgegeben und enthält die Information für Antikörper gegen das stimulierende Antigen. Transkribiert man an dieser extrazellulären DNS

*) Immunol. 37, 755 (1979)

eine i-RNS - ein Vorgang, der nur durch das entsprechende Antigen ausgelöst werden kann - so zeigt sich, anhand der durch diese i-RNS synthetisierten Antikörper, der Informationsgehalt der als Matrize verwendeten extrazellulären DNS: Das durch diese i-RNS synthetisierte Protein ist der zum stimulierenden Antigen passende Antikörper. Er zeigt die allotypischen Merkmale der DNS-Spender-Zellen. Gibt man jedoch diese extrazelluläre DNS zu einer Lymphozytenkultur mit differenten allotypischen Merkmalen, so findet man in der Zeit nach der Aufnahme dieser extrazellulären DNS alle Übergänge vom Spender- zum Empfängertyp hinsichtlich der allotypischen Merkmale. Einige Beispiele sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3

Miotypische Merkmale der Spender von T-Lymphozyten, der Spender von B-Lymphozyten und der Antikörper von B-Lymphozyten nach Zugabe von extrazellulärer DNS der mit Antigen stimulierten T-Lymphozyten

Allotypische Merkmale der		
Spender der T-Lymphozyten	Spender der B-Lymphozyten	Antikörper der B-Lymphozyten nach Zugabe von extrazellulärer DNS der mit Antigen stimulierten T-Lymphozyten
a ⁻ g ⁻ JnV1 ⁺	a ⁺ g ⁺ JnV1 ⁻	a ⁻ g ⁻ JnV1 ⁺
a ⁺ g ⁺ JnV1 ⁻	a ⁻ g ⁻ JnV1 ⁺	a ⁺ g ⁺ JnV1 ⁺
a ⁻ g ⁻ JnV1 ⁺	a ⁺ g ⁺ JnV1 ⁻	a ⁺ g ⁺ JnV1 ⁻

Beide Moleküle, die i-RNS und die extrazelluläre DNS, stellen extrachromosomale Elemente dar, die auf einen spezifischen Reiz, der die Oberfläche von Zellen trifft, synthetisiert werden und spezifische Information außerhalb des Genoms verfügbar machen. Stofflich sind diese extrachromosomalen Elemente rekombinierte Moleküle, die weit voneinander entfernt liegende Informationsinhalte des Genoms in enger Nachbarschaft vereint tragen.

In beiden Fällen, d.h. sowohl bei der Übertragung von Informationsinhalt durch extrazelluläre DNS, beobachtet man eng begrenzte Optima der Konzentration von i-RNS und extrazellulärer DNS, innerhalb deren Grenzen es nur gelingt, die übertragene Information zu realisieren. Unterhalb und vor allem eben auch oberhalb dieser Optima bleibt ein an sich sinnvoller Informationsgehalt biologisch stumm. Dies gilt sowohl im zellfreien System als auch in Zellkulturen, sowohl für i-RNS als auch für die extrazelluläre DNS. Im zellfreien System kann die Synthese der i-RNS von 20 Genomen aus gestartet werden und führt in wenigen Minuten in logarithmischer Vermehrung zu ⁹ 10⁹ Kopien der ursprünglich an der DNS transkribierten Information. Ein wahrlich eindrucksvoller Verstärkermechanismus.

In der Zellkultur läßt sich die Übertragung von spezifischer Information durch Verdünnung des verwendeten i-RNS-Präparates oder DNS-Präparates gewissermaßen titrieren. Solche Experimente zeigen, daß die i-RNS 10⁶mal effektiver ist. Während man 1000 DNS-Moleküle benötigt, um einen Lymphozyten zu informieren, benötigen 1000 Lymphozyten nur 1 i-RNS-Molekül. Diese unglaubliche Rationalisierung der Informationsübertragung ist möglich durch einen Verstärkermechanismus in den Empfängerzellen in Form der i-RNS-abhängigen RNS-Polymerase. Ein solches Experiment gestattet uns einen Einblick in die Funktionsweise der biologischen Informationsrealisation. Dabei ist nicht nur die unvorstellbare Rationalität - ein Molekül informiert 1000 Zellen - sondern vor allem der an dem Wechsel allotypischer Merkmale erkennbare Übertritt von individuell fremder in individuell eigene Information ein völlig neuer Befund.

Experimente, wie ich sie eben erwähnt habe, sind keine Sonderfälle. Inzwischen sind bei der Vermehrung von Adenoviren, bei der Synthese von Ovalbumin und bei der Analyse der Information für die Synthese von Myelomproteinen ähnliche Befunde erhoben worden. Sie zeigen, daß Informationsinhalte an verschiedenen Stellen des Genoms niedergelegt sind und daß der Synthese von Proteinen die Rekombination von Information-tragenden Molekülen vorausgeht. Bedauerlich ist nur, daß Ausdrücke wie "Intron", "Exon" und "Splizing" den wahren Inhalt eines experimentellen Befundes mehr verschleiern als er

läutern.

Betrachtet man abschließend diese Experimente, so erscheint Altbekanntes mit Ungewohntem gemischt. Transkription und Translation begegnen uns so, wie seit langem bekannt. Neu jedoch ist der extrachromosomale Zustand von Informationen, neu ist die Rekombination von Inhalten, neu ist auch die relativ eng begrenzte optimale Konzentration, innerhalb deren die Information überhaupt realisierbar ist, und neu ist der Übergang von individuell fremder in individuell eigene Information. Die Fragen, die sich hieraus ergeben, betreffen die Regulation rekombinativer Prozesse im Laufe der Realisation biologischer Information. In einem Vergleich ausgedrückt, könnte man die Sequenz der Nukleotide in einer Nukleinsäure als biologisches Wissen bezeichnen, die bekannten Vorgänge bei der Enzyminduktion würden dann als biologisches Gedächtnis bezeichnet werden können, und die hier zu diskutierenden Phänomene könnten als biologische Vernunft verstanden werden. Genausowenig wie man z.B. einen Schwingkreis nur aus der Kenntnis von Induktion und Kapazität verstehen kann, genauso unmöglich ist es, die biologische Vernunft als Netzwerk aus Wissen und Gedächtnis zusammengesetzt zu verstehen. Wenn auch die aus bekannten Grundlagen ermöglichte induzierte Rekombination als Ausdruck der biologischen Vernunft erkannt werden kann, so sind wir von deren Verständnis deshalb noch so weit entfernt, weil hierfür eine neue Kategorie oder Dimension der Erkenntnis Voraussetzung wäre. Wenn wir also von dem Ziel, den Wirkungsmechanismus der Zytoplasmatischen Therapie völlig zu verstehen, noch entfernt sind, liegt das nicht an der mangelnden Objektivierbarkeit der Vorgänge an sich, sondern an der Beschränkung unseres Vorstellungsvermögens.

Diskussion:

GUUSSEN:

Prof. Jachertz hat schon sehr früh mit zytoplasmatischen Präparaten gearbeitet, diese bei Protein-Biosynthese-Experimenten im zellfreien System eingesetzt - damals noch ein Novum. Als erster hat er hier eindeutig experimentelle Wirkungen nachweisen können. Ich glaube, die Möglichkeit der Informationsübertragung durch extrazelluläre DNS ist wissenschaftlich und praktisch von großer Bedeutung.

THEURER:

RNS, DNS, Wirkungen auf Zellen oder am zellfreien Synthese-System betreffen ganz spezielle Probleme. Wir selbst haben von Anfang an die Wirkung unserer Therapiearten nicht nur immunologisch gesehen, sondern auch die Wirkung von Mediatoren von Funktionsstoffen der Zelle mitberücksichtigt, darunter auch Matrizen, die von der Zelle übernommen und eingebaut werden können. Gerade deshalb bin ich Prof. HOLMES sehr dankbar, konnte er doch die Wechselwirkungen und Reaktionsmöglichkeiten auf molekularer Ebene veranschaulichen.

Zu den Ausführungen von Prof. JACHERTZ wollte ich noch hinzufügen: Die Wirkung der Zytoplasmatischen Therapie beruht nicht nur auf Rekombinations- und Informationsvorgängen auf Ebene des Immunsystems. Die Komplexität biologischer Systeme macht es jedoch unerhört schwierig - das ging auch aus dem Vortrag von Prof. SORKIN hervor - genau festzulegen, welche Faktoren letzten Endes den zu beobachtenden klinischen Effekt auslösen.

JACHERTZ:

Meine Absicht bestand nicht darin, die Wirkungen der Zytoplasmatischen Therapie nur auf informatorische RNS oder extrazelluläre DNS zurückzuführen. Ich wollte in keiner Form bewerten, welche Mechanismen häufig, welche weniger häufig bei der Zytoplasmatischen Therapie zum Zuge kommen.

An diesen beiden relativ einfachen Beispielen wollte ich nur aufzeigen, wie ungeheuer komplex ein System sofort wird, wenn das zellfreie Synthesystem verlassen wird und man sich auf die Ebene einer Zelle begibt. Ebenso wollte ich Ihnen nahelegen, mit- oder nachzuempfinden, wieviel komplexer ein System sein muß, sobald wir die Zelle verlassen und auf den Gesamtorganismus übergehen. Aus all den Gründen ist es ungeheuer schwierig, Probleme der experimentellen Medizin durch eine lückenlose Beweiskette untermauern zu wollen.

Emperipolesis:

Interaktion zwischen Lymphozyten und Organzellen unter
physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen

U.-P. KETELSEN

Abteilung "Pädiatrische Muskelerkrankungen"
der Universitäts-Kinderklinik Freiburg und
Max-Planck-Institut für Immunbiologie Freiburg i.Br.

Die aktive Invasion lymphoider Zellen in andere Zellen wurde mehrfach, insbesondere unter pathologischen Bedingungen, beobachtet. Bei Autoimmunkrankheiten, z.B. der HASHIMOTO-Struma und bei der Zerstörung von Tumorzellen, können aggressive Lymphozyten in andere Zellelemente eindringen. Dabei erfolgt eine Alteration und schließlich auch eine Zerstörung dieser Zellen. Der Vorgang der aktiven Invasion lymphoider Zellen in andere Organzellen kann aber offensichtlich auch unter physiologischen Bedingungen stattfinden, z.B. bei der Interaktion von Lymphozyten mit Stroma-Zellen der Milz oder mit intestinalen Epithelzellen, ohne daß dabei die Wirtszelle zerstört wird. Diese Fähigkeit der Lymphozyten, andere Zellen aktiv zu durchwandern, nannten HUMBLE und Mitarbeiter (3) "Emperipolesis". Das "pathologische" Eindringen von Lymphozyten einerseits, und die physiologische Emperipolesis andererseits, besitzen zwar eine erstaunliche morphologische Ähnlichkeit, trotzdem sind es Interaktionsvorgänge zwischen zwei Zellelementen mit grundverschiedener Funktion. Das unter pathologischen Bedingungen erfolgende Eindringen der Lymphozyten in andere Organzellen sollte deshalb, in Anlehnung an BECHTELSHEIMER und Mitarbeiter (1), als "aggressive" Emperipolesis von der physiologischen Emperipolesis unterschieden werden. Unter physiologischen Bedingungen kommt der Interaktion von Lymphozyten und Stromazellen des Thymus eine besondere Bedeutung zu. Die Differenzierung von T-Lymphozyten ist ein äußerst komplexer Interaktionsprozeß zwischen lymphoiden Zellen einerseits

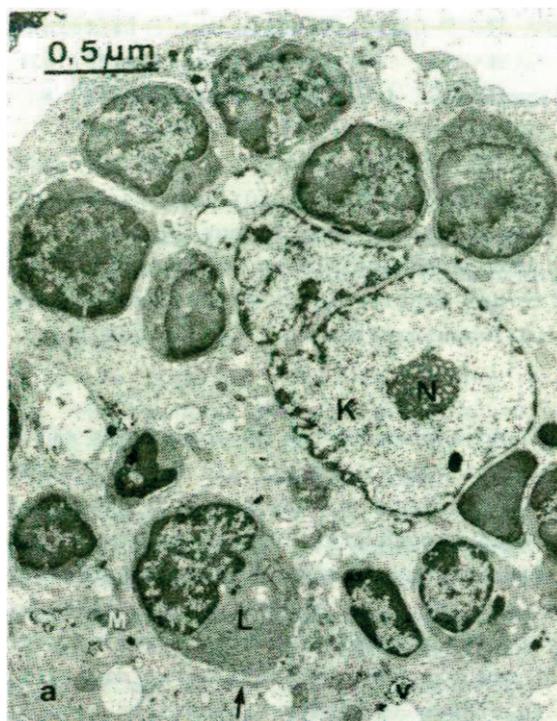
und Stromazellen des Thymus andererseits. Es besteht kein Zweifel, daß neben humoralen Faktoren die T-Lymphozyten in ihrer Differenzierung den direkten Zellkontakt mit bestimmten, bisher nicht eindeutig identifizierten, Stromazellen des Thymus benötigen (2, 8, 9, 10).

Gemeinsam mit H. WEKERLE (Max-Planck-Institut für Immunbiologie Freiburg) gelang es, einen Zelltypus aus dem Thymus junger bis adulter Mäuse zu isolieren und morphologisch zu charakterisieren, der offensichtlich mit Hilfe der Emperipolesis an Differenzierungsschritten der Lymphozyten zu immunkompetenten T-Zellen beteiligt ist (7).

Diese erstaunlich großen Zellen können bis zu 50 kleine bis mittelgroße Lymphozyten enthalten. Wir bezeichnen sie als "Ammenzellen". Abbildung 1 zeigt die elektronenmikroskopische Aufnahme einer solchen Ammenzelle mit zahlreichen Lymphozyten. Dieser Zelltyp weist in seiner Ultrastruktur viele morphologische Kriterien epithelialer Zellen des Thymuscortex auf, wie u.a. Tonofilamente, insbesondere in peripheren Zellbereichen, charakteristische Vakuolen mit granulär-osmiophilem Inhalt und ein oder zwei Zellkerne mit retikulärem Nucleolus. Weder die eingeschlossenen Lymphozyten noch die Wirtszelle selbst zeigen signifikant degenerative Veränderungen. Die Lymphozyten werden in Caveolae von einer intrazytoplasmatischen Membran der Ammenzelle allseitig umschlossen.

Überraschenderweise konnten wir in den Ammenzellen zahlreiche Mitosen der Lymphozyten nachweisen (Abb. 1b). Um zu testen, ob eine Kommunikation zwischen Ammenzelle und extrazellulärem Milieu besteht, wurden die Ammenzellen in einem Medium inkubiert, welches 5 mg kationisiertes Ferritin pro ml Medium enthielt.

Von diesem Ferritin ist bekannt, daß es in Poren oder Einfaltungen der äußeren Zellmembran eindringt, welche mit dem extrazellulären Milieu kommunizieren. Wir konnten in diesem Experiment nachweisen, daß nur die äußere Membran der Ammenzelle mit Ferritin-Partikeln besetzt ist, dagegen die zytoplasmatische Membran, welche den

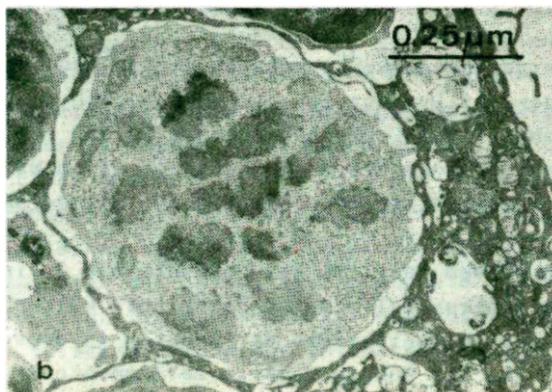


.Abb. 1:

Durch Zellfraktionierung des Thymus von C^H-Mäusen (Methode s.Lit.Nr.6) gewonnene "Ammenzelle" im elektronenmikroskopischen Bild.

- a) Übersichtsaufnahme einer "Ammenzelle" mit zahlreichen kleinen und mittelgroßen Lymphozyten (L). Kern der Ammenzelle (K) mit retikulärem Nucleolus (N). Im Cytoplasma der Ammenzelle finden sich Mitochondrien (M), kleine Vakuolen (V) mit granulär-osmiophilem Inhalt und Tonofilamente

- b) Mitose eines Lymphozyten in einer Ammenzelle.



Lymphozyten umhüllt, frei von Ferritin-Partikeln ist, daß also kei-ne Kommunikation mit dem extrazellulären Milieu besteht. Die Caveolarmembranen bilden mit der Lymphozytenmembran meist fokale Kontaktstellen, die im Ultradünnschnitt keine erkennbare Substruktur aufweisen.

Im Gefrierbruch zeigen die Caveolarmembranen jedoch molekulare Spezialisierungen, z.B. in Form charakteristischer Partikelaggregate, die als morphologisches Äquivalent integrierter Membranproteine gelten. Diese molekularen Membranspezialisierungen entsprechen morphologisch z.T. bereits bekannten Membranstrukturen, die einerseits der Zell-zu-Zell-Kommunikation, andererseits der Zellbefestigung dienen. Obwohl eine funktionelle Analyse dieser Strukturen noch aussteht, ist anzunehmen, daß diese Membranspezialisierungen an der Interaktion zwischen Ammenzelle und eingeschlossenen Lymphozyten beteiligt sind. Neben den beschriebenen Partikelaggregaten finden sich in der Caveolarmembran mikropinozytotische Einfaltungen, welche möglicherweise der Regulierung des intracaveolären Mikromilieus dienen.

Allgemein müssen wir für die physiologische Emperipolesis oder besser Symbiose zwischen 2 Zellpartnern des gleichen Organismus, folgende Merkmale fordern:

1. Der Invasion der Wirtszelle muß ein wechselseitiger Erkennungsmechanismus von Membranstrukturen beider Zellpartner vorausgehen, möglicherweise durch sich ergänzende Oberflächenrezeptoren.
2. Diese Erkennung muß die Spezifität der zellulären Interaktion gewährleisten.
3. Zwischen Wirtszelle und Symbiont müssen Stoffwechselprodukte ausgetauscht werden, die entweder der Ernährung der Zellpartner oder als Signalfaktoren dienen. Dieses kann nur durch spezialisierte Transportstrukturen in den jeweiligen Membranen gelingen, auf die unsere morphologischen Befunde hinweisen.

Die Frage, warum diese beschriebenen Ammenzellen bisher nicht sicher in situ nachgewiesen wurden, mag durch technische Probleme beantwortet werden, da das normale Thymus-Stroma gewöhnlich im lichtmikroskopischen Präparat durch Lymphozyten überlagert wird und auch elektronenmikroskopisch die Ammenzelle im Ultradünnschnitt wahrscheinlich als Zellelement mit langen, dendritischen Zellfortsätzen interpretiert wurde, zwischen denen, nach dieser Interpretation, extrazellulär Lymphozyten liegen (5).

Während wir die Emperipolesis unter physiologischen Bedingungen als komplizierten Erkennungs- und Maturationsmechanismus verstehen, kann die "aggressive" Emperipolesis, die unter pathologischen Bedingungen zur Schädigung und zur Zerstörung der Zielzelle führt, zu den Autoaggressionserkrankungen gezählt werden.

Die Effektormechanismen, mit denen das Immunsystem gegen zelluläre Fremdartigene reagiert, sind vielfältig. Humorale Reaktionen stützen sich auf die Bildung löslicher Antikörper, welche das Antigen direkt inaktivieren oder, zusammen mit gebundenen und aktivierten Komplement-Komponenten, zur Zellzerstörung führen. An die Zelle gebundene Antikörper sind jedoch auch in der Lage, über ihre Fc-Teile, K-Lymphozyten an das Antigen zu binden und eine zellvermittelte Lyse zu bewirken.

Letztlich kennt man zytolytische T-Lymphozyten, welche direkt oder durch die Aktivierung von Makrophagen die Zielzellen zerstören. Selbstreaktive T-Lymphozyten in menschlichen Autoaggressionskrankheiten wurden bisher noch nicht einwandfrei nachgewiesen. Der Befund einer aggressiven Emperipolesis durch lymphozytäre Zellen erscheint deshalb in diesem Zusammenhang von besonderer Bedeutung. Über die lymphozytäre, aggressive Emperipolesis ist bisher nur in wenigen Untersuchungen berichtet worden. LEVINE und Mitarbeiter (4) fanden Thymozyten in neoplastischen Retikulumzellen, SEEMAYER und Mitarbeiter (6) berichteten über lymphozytäre Emperipolesis im Thymusretikulum von Mäusen bei experimentell ausgelöster "Graft versus host"-Reaktion, und BECHTELSHEIMER und Mitarbeiter (1) wiesen die aggressive Emperipolesis bei chronischen Hepatitiden nach.

Ich selbst möchte Ihnen im folgenden den Mechanismus dieser offensichtlich zellvermittelten Zytotoxizität am Beispiel eines Patienten mit der klinischen Diagnose einer Polymyositis demonstrieren. Es gibt bisher in der Humanpathologie nur wenige Beobachtungen über den Mechanismus der Interaktion zwischen Lymphozyten und quergestreiften Muskelzellen in vivo. Die Mehrzahl der licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen beziehen sich auf experimentelle Studien in vitro, die es jedoch ermöglichen, die folgenden analogen Befunde in vivo zu interpretieren.

Unser Patient kam im Alter von 11 Jahren mit der Verdachtsdiagnose Myopathie in unsere Klinik. Klinische, serumenzymatische und elektromyographische Befunde bestätigen diese Diagnose, ohne mit diesen Untersuchungen bereits sicher zwischen einer primär dystrophischen und einer myositischen Erkrankung des Muskels unterscheiden zu können. Erst die histopathologische Untersuchung führte zur differentialdiagnostischen Abklärung einer Myositis.

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Muskelbiopsie aus dem M. quadriceps zeigt in zahlreichen Muskelzellen segmentale Degenerationsherde mit Homogenisierung der Myofibrillen. Darüberhinaus finden sich Faseraufspaltungen, pathologische Faserkalibervariationen und eine Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes. Im Interstitium werden Entzündungszellen, vorwiegend lymphoide Zellelemente sowie Makrophagen, nachgewiesen.

Überraschenderweise findet sich bei Behandlung der Schnitte mit dem Serum des Patienten, im indirekten Fluoreszenz-Test, eine deutliche Fluoreszenz des interstitiellen Gewebes, der Muskelzellmembranen und vereinzelt intrazellulärer Muskelzellbereiche. Diese Fluoreszenz blieb sowohl am Formol-fixierten, wie an nativen Schnitten, bis zu einer Serumverdünnung von 1:265 erhalten.

Elektronenmikroskopisch weisen die Muskelzellen zahlreiche degenerative Veränderungen an den Myofibrillen und Zellorganellen auf.

Perivaskuläre und interstitielle Entzündungszellen werden überwiegend als Lymphozyten identifiziert. Darüberhinaus finden sich Makrophagen, die vereinzelt einen engen Kontakt zu den lymphoiden Zellen aufweisen. Neben kleinen lymphoiden Zellen finden wir grössere aktivierte Lymphozyten.

Letztere weisen meist einen prominenten und mehr pleomorphen Kern auf als die kleinen Lymphozyten. Das Zytoplasma der aktivierten Lymphozyten enthält Mitochondrien und Polyribosomen, z.T. ein rauhes endoplasmatisches Retikulum. Die Makrophagen dagegen sind grösser und werden insbesondere aufgrund ihrer lysosomalen Strukturen identifiziert.

Im Semidünnschnitt können bereits lichtmikroskopisch innerhalb der Muskelzellen mononukleäre Zellen, z.T. in Form kleiner Zellnester, nachgewiesen werden (Abb. 2).

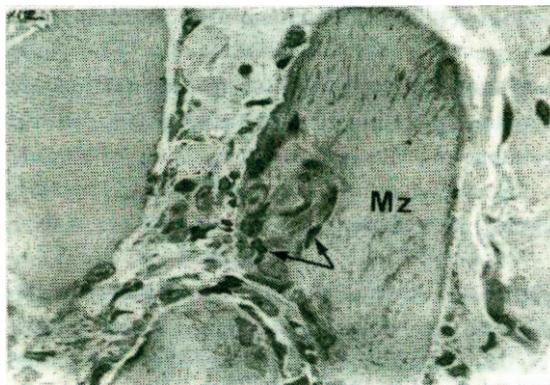


Abb. 2:

Semidünnschnitt von Muskelgewebe (M. quadriceps) eines 11jährigen Patienten mit Myositis. Muskel- (Mz) mit invaginierten mononukleären Zellelementen (→). Im Interstitium finden sich Makrophagen, lymphoide Zellen und kollagene Bindegewebsfasern.

Elektronenmikroskopisch wird diese Beobachtung bestätigt und erweitert. Mononukleäre Zellen liegen zwischen Basalmembran und Plasmalemm der Muskelzellen und bilden mit dem Plasmalemm Kontaktstellen durch kleine pseudopodienartige Zellausbuchtungen (Abb. 3). Diese Zellen entsprechen morphologisch den beschriebenen aktivierten Lymphozyten.

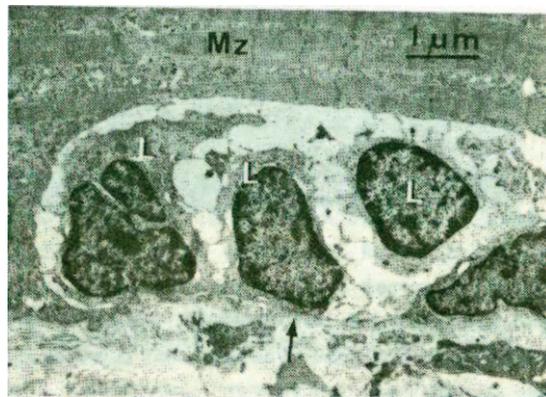


Abb. 3:

Aktivierte Lymphozyten (L) zwischen Basalmembran (→) und Plasmalemm einer Muskelzelle (Mz) des M. quadriceps umschriebenen Interaktionen zwischen Lymphozyten und Plasmalemm der Muskelzelle durch pseudopodienartige Fortsätze der Lymphozyten.

Sie invaginieren die Plasmamembran und liegen schließlich in der Muskelzelle selbst, meist umgeben von einer muskelzellulären Membran (Abb. 4).

Die Muskelzellen sind, insbesondere im Bereich der eingeschlossenen Lymphozyten, degenerativ verändert.

Wie diese Befunde gezeigt haben, führt die Interaktion von Lymphozyten und Skelettmuskelzellen zu einer aggressiven Emperipolesis, welche im Gegensatz zur Emperipolesis unter physiologischen Bedin-

gungen die Zielzelle alteriert und zerstört.

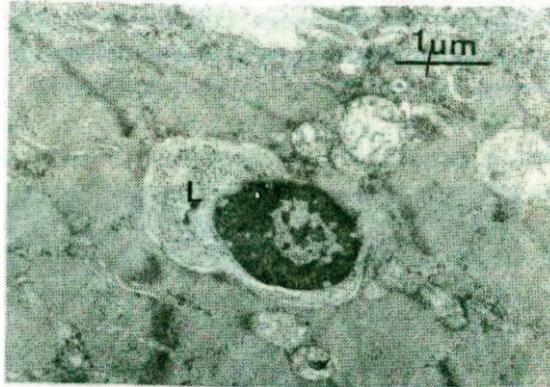


Abb. 4:

Lymphoide Zelle (L) innerhalb einer Muskelzelle, umgeben von einer muskellulären Membran.

Obwohl die Rolle der Makrophagen generell von sekundärer Bedeutung zu sein scheint, weisen die erwähnten interstitiellen Zellkontakte zwischen transformierenden Lymphozyten und Makrophagen auf ihre Beteiligung im immunologischen Prozess hin. Der initial auslösende Faktor jedoch, der zur Sensibilisierung der Lymphozyten gegen körpereigene Orgazellen führt, in unserem Fall gegen die Skelettmuskelzelle, kann sehr unterschiedlicher Art sein. In der Mehrzahl aller Immunreaktionen richtet sich die Reaktion des Immunsystems streng gegen fremde antigene Determinanten. Selbstantigene dagegen werden toleriert. Autoaggressionsreaktionen können ihre Ursache in 2 grundlegend verschiedenen Pathomechanismen haben:

1. Autoaggression als Folge einer Veränderung der organzellulären Selbstantigene, z.B. durch Viren oder Arzneimittel oder
2. Autoaggression als Folge eines Defektes des Immunsystems selbst

Ad 1:

Als Folge einer Veränderung des antigenen Potentials der Organzelle, in unserem Beispiel der Skelettmuskelzelle, penetrieren die Lymphozyten die Basalmembran der Muskelzelle, kommen in direkten Kontakt mit der Plasmamembran und werden in die Muskelzelle invagiiert. Eine virale oder Arzneimittel-bedingte Ursache konnte nicht nachgewiesen werden. Die akute Alteration und Zerstörung der Muskelfaser ist als zytotoxischer Mechanismus der sensibilisierten und aktivierten Lymphozyten nach Kontakt mit dem veränderten Antigen zu interpretieren.

Ad 2:

Es mehren sich die Hinweise, daß selbstreaktive Lymphozytenpopulationen oder Klone existieren, die normalerweise durch Kontrollmechanismen an der Aktivierung, und damit Reaktion gegen Autoantigene, gehindert werden. So finden sich im Serum Faktoren, welche eine Erkennung der Autoantigene verhindern. Als zweiter Schutz wirken sog. Suppressor-Lymphozyten, welche Autoantigene oder aktivierbare, selbsterkennende Lymphozyten identifizieren können und dem Fortschreiten einer beginnenden Autoaggressionskrankheit entgegenwirken.

Defekte dieser Kontrollmechanismen könnten theoretisch zu Autoaggressionskrankheiten führen. Tatsächlich ist die Suppressortätigkeit bei Autoaggressionskrankheiten geschwächt. Autoaggressionskrankheiten, die auf einer Störung von Kontrollmechanismen des Immunsystems beruhen, beschränkten sich in der Mehrzahl nicht auf einzelne Organe. Ein typisches Beispiel hierfür ist der systematische Lupus erythematodes mit seiner Vielfalt an Symptomen sowie die multiplen Autoaggressionsmanifestationen im alternden Organismus.

Da sich bei unserem Patienten die Autoaggressionsreaktion offensichtlich selektiv gegen die Skelettmuskulatur richtet, müssen wir einen Pathomechanismus, in Art eines veränderten Antigenpotentials der Muskelzellen, in Betracht ziehen. Veränderte Zellantigene werden möglicherweise erst durch den Mechanismus der Emperipolesis von Lymphozyten als fremd erkannt.

Literatur:

1. BECHTELSHEIMER, H., GEDIGK, P., MÜLLER, R., KLEIN, H.:
"Aggressive Emperipolesis bei chronischen Hepatitiden", Klin.
Wochenschr. 54, 137-140 (1976)
2. BEVAN, M.: "In a radiation chimera, host H-2-antigens determine
immune responsiveness of donor cytotoxic cells", Nature 269,
417 (1977)
3. HUMBLE, J.G., JAYNE, W.H.W., PUVLERTAFT, R.J.V.: "Biological
interaction between lymphocytes and other cells", Brit. J. Hae-
matol. 2, 283 (1965)
4. LEVINE, G.D., ROSAI, J., BEARMAN, R.M., POLLIACK, A.: "The fine
structure of thymoma, with emphasis on its differential diagno-
sis. A study of ten cases." Am. J. Pathol. 8J, 49 (1975)
5. OLAH, I., RÖHLICH, TÖRÖ, I.: "Ultrastructure of lymphoid Or-
gans. An electron-microscopic atlas." Masson, Paris, 105 (1975)
6. SEEMAYER, T.A., LAPP, W.S., BOLANDE, R.P.: "Thymic epithelial
injury in graft-versus-host reactions following adrenalectomy",
Am. J. Pathol. 93, 325 (1978)
7. WEKERLE, H., KETELSEN, U.-P.: "Thymic nurse cells - Ia-bearing
epithelium involved in T-lymphocyte differentiation?" Nature
283, 402 (1980)
8. ZINKERNAGEL, R.M.: "Thymus and lymphohemopoietic cells: Their
role in T cell maturation in selection of T cells H-2 restric-
tions-specificity and in H-2 linked Ir gene control." Immun.
Rev. **42**, 224 (1978)
9. ZINKERNAGEL, R.M., CALLAHAN, G.N., ALTHAGE, A., COOPER, S.,
KLEIN, P.A., KLEIN, J.: "On the thymus in the differentiation
of "H-2-self recognition" by T cells: Evidence for dual recog-
nition?" J. Exp. Med. 147, 882 (1978)
10. ZINKERNAGEL, R.M., CALLAHAN, G.N., KLEIN, J., BENNERT, G.:
"Cytotoxic T Cells learn specificity for self H-2 during differ-
entiation in the thymus." Nature 271, 251 (1977)

Di skussion:

PORCHER:

Die Bezeichnung "Ammenzellen" ist ja sehr treffend gewählt. Wie würden Sie nun die immunologische Toleranz, und zwar die aktiv erworbene Toleranz, in dieses "Ammenschema" einbauen?

KETELSEN:

Die "Ammenzellen" enthalten unreife Lymphozyten mit der Tendenz, sich zu immunkompetenten T-Lymphozyten zu entwickeln. Die Lymphozyten "lernen" irgendwo ihre Immunkompetenz; sie ist nicht von vornherein existent. Mit Hilfe der Immunfluoreszenz konnten bestimmte Oberflächenantigene der "Ammenzellen" mit denen der T-Lymphozyten verglichen werden. Der erstaunliche Befund, daß die in den "Ammenzellen" eingeschlossenen Lymphozyten eine hohe Mitoseaktivität aufweisen sowie die Tatsache, daß sich die Oberflächenantigene der Ammenzellen von denen der T-Lymphozyten unterscheiden und molekulare Spezialisierungen der Caveolarmembranen, die die eingeschlossenen Lymphozyten umgeben, nachgewiesen wurden, berechtigen zu der Hypothese, daß die Ammenzellen eine wesentliche Rolle in der Ausbildung unreifer zu immunkompetenten Lymphozyten spielen.

THEURER:

Bestehen hier vielleicht gewisse Beziehungen zur Hybridisation in dem Sinne, daß der Zellkern dieser kleinen Lymphozyten evtl. mit dem Zellkern einer befallenen Zelle verschmelzen kann? Auf eine andere Situation übertragen, bestünde damit die Möglichkeit eines Selbstheilungsmechanismus. Eine defekte Zelle könnte auf diese Weise intakte genetische Information übertragen bekommen.

KETELSEN:

Kernverschmelzungen und Hybridisationen haben wir in diesen Zellen nicht nachweisen können. Ich halte es auch für unwahrscheinlich. Die Lymphozyten sind total von einer Membran der "Ammenzelle" umschlossen und haben überhaupt keinen direkten Kontakt mit dem Kern der Wirtszelle. Wir haben natürlich danach gesucht, ob Fusionsstellen zwischen den beiden Membranen bestehen.

Es fanden sich jedoch keinerlei Hinweise für eine Fusion zwischen den Lymphozyten und der ".Ammeizelle".

BECKMANN:

Wir erleben es immer wieder, daß Patienten mit Polymyositis hervorragend auf Cortison oder dann auch auf Zytostatika bzw. beides ansprechen. Dann haben wir wiederum Patienten mit der gleichen Erkrankung, bei denen wir überhaupt nicht zum Zuge kommen. Können Sie aus dem Befund, den Sie erhoben haben, irgendwie eine Erklärung ableiten?

KETELSEN:

Ausgehend von den Befunden würde ich die hier vorgestellte Myositis als eine Autoimmun-Myositis bezeichnen. Wir wissen allerdings nicht, worin die Ursache für die Veränderung irgend eines Antigens der Muskelzellen liegt. Es könnten beispielsweise Viren sein; elektronenmikroskopisch haben wir allerdings keinen Hinweis gefunden, daß hier eine primäre Virusinfektion vorlag.

BECKMANN:

Sie hatten kürzlich einen Patienten untersucht, bei dem intrazellulär Nukleokapsid von Myxoviren nachweisbar war. Der ganze Prozeß bei dieser von Ihnen als Autoimmun-Myositis bezeichneten Erkrankung läuft nun seit mindestens 20 Jahren so. Therapeutisch kommen wir überhaupt nicht vorwärts, trotz aller Bemühungen.

KETELSEN:

Das ist unterschiedlich. Ich habe inzwischen mehrere erwachsene Patienten identifizieren können, die solche Einschlußkörper haben. Diese Patienten zeigten aber keine lymphozytäre Reaktion in Form einer aggressiven Emperipolesis von Lymphozyten in die Muskelzellen.

Die Regulation der Zellproliferation
in normalen und maligne entarteten Zellen

K. LETNANSKY

Institut für Krebsforschung
der Universität Wien

Vor genau 18 Jahren wurden Entdeckungen gemacht, die für die Beantwortung von Fragen aus dem Bereich der biologischen Forschung von fundamentaler Bedeutung waren:

- Wo sind die Eigenschaften eines Individuums festgelegt und wie werden sie weitergegeben?
- Wie können aus einer pluripotenten Zelle durch Zellteilung und Differenzierung eine Reihe von Zellen mit ganz unterschiedlichen, spezifischen Eigenschaften entstehen?
- Wie wird die Vermehrung der Zellen überhaupt reguliert?

Die Entdeckung des genetischen Codes (10, 17) und die Schaffung eines Modells zur Regulation der Genaktivität (7) zählen zu den beiden grundlegenden Erkenntnissen.

Im Wesentlichen wird darin ausgesagt: Sämtliche von einer Zelle synthetisierten Proteine sind schon in ihrer Struktur auf der DNS im Zellkern verankert. Die Struktur eines Proteins, d.h. die Reihenfolge der einzelnen Aminosäuren im Molekül und damit der räumliche Aufbau, ist verantwortlich für die Eigenschaften eines Proteins. Schon in der DNS muß deshalb eine logische Sequenz von einzelnen Bausteinen verankert sein; diese Aufeinanderfolge muß von der DNS auf das Protein übertragen werden. Dieser Prozeß erfordert eine weitere Komponente im zellulären Ablauf der Proteinsynthese - eine Ribonucleinsäure, die wegen ihres informationsübertragenden

Charakters Boten-RNS oder Messenger-RNA genannt wird. Die DNS selbst ist ein Makromolekül, das aus einzelnen Nucleotiden zusammengesetzt ist; jeweils drei Nucleotide werden zu einem Triplet zusammengefaßt, wobei die Reihenfolge der Nucleotide innerhalb dieser Triplets typisch für eine Aminosäure ist.

Daraus ergibt sich zusammenfassend: In der DNS der Gene ist durch die Reihenfolge der Nucleotide die Aminosäuresequenz aller Proteine einer Zelle codiert ("genetischer Code"). Diese Information wird durch Replikation der DNS vor der mitogenetischen Teilung einer Zelle an die Tochterzelle weitergegeben. Durch Transkription über die mRNA erfolgt die Informationsübertragung in das Zytoplasma, den Ort der Proteinsynthese. Wir müssen jedoch berücksichtigen: Im Genom ist ein Vielfaches jener Information gespeichert, die in der differenzierten Zelle exprimiert wird. Spezielle Mechanismen sorgen dafür, daß jene Gen-Sequenzen, die nicht benötigt werden, reprimiert werden. Diese Situation kann sich aber schlagartig ändern, sobald äußere Anlässe die Zelle zwingen, sich auf eine andere Funktion umzustellen, wie etwa während der Differenzierung oder bei der malignen Transformation.

Für den Phänotypus einer Zelle sind somit Regulationsmechanismen am Genom von entscheidender Bedeutung. Es muß aber nicht immer zur Änderung des Charakters einer Zelle kommen, wenn die Auswahl der transkribierten Gene verändert wird. Auch die Aktivität der in Funktion befindlichen Gene kann gehemmt oder verstärkt werden; die Folge ist eine Verminderung oder eine Stimulierung des Zellwachstums. Bekannte Beispiele dafür sind die Regeneration von Geweben und die Wundheilung.

Auslösend für derartige Mechanismen sind Inhibitoren oder Stimulatoren, die in den Aufbau oder in die Funktion des Chromatins eingreifen. Abgesehen davon, daß auch posttranskriptionelle Regulationen eintreten können, also vorwiegend Regulationen bei der Übertragung der Information an den Ort der Proteinsynthese oder bei der Proteinsynthese selbst, kann die Wirkung von Regulatoren im Zellkern mannigfaltiger Art sein.

Nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnis dürften derartige Substanzen so wirken, daß sie nach Eintritt in die Zelle an einen Rezeptor gebunden und in den Zellkern transportiert werden. Dort binden sie, vermutlich mit Hilfe eines anderen, kernspezifischen Rezeptors, an die DNS oder an Nüchthiston-Proteine. In weiterer Folge kann ein direkter Einfluß auf das Chromatin-Template ausgeübt werden. Steroidhormone zum Beispiel wirken überwiegend nach diesem Prinzip (Übersichtsartikel Ref. 18).

Einen ähnlichen Angriffspunkt haben möglicherweise Chalone. Hier handelt es sich um organspezifische Inhibitoren des Zellwachstums, die über einen negativen Rückkoppelungsmechanismus wirken: Die reifen, funktionellen Endzellen eines Gewebes produzieren Substanzen, wodurch die Proliferationsrate der unreifen Vorläuferzellen dieses Gewebes vermindert wird. Zellkinetisch betrachtet äußert sich dies in einer Anhäufung von Zellen in der G1- oder G2-Phase des Zellzyklus (2, 5). Der molekulare Mechanismus dieses Vorganges ist noch weitgehend unbekannt; es gibt jedoch Hinweise, daß bei bestimmten Systemen die Wirkung möglicherweise auf eine Hemmung der DNS-Polymerase zurückzuführen ist (16).

Andere Mediatoren, etwa Glucagon oder Epinephrin, müssen nicht in die Zelle eindringen, um wirksam zu werden. Diese Stoffe werden zunächst an die Zellmembran gebunden, wo sie ein Enzym, die Adenylcyclase, stimulieren. Dies führt zu einem erhöhten Gehalt an zyklischem Adenosin-3',5'-monophosphat in der Zelle. Dadurch werden verschiedene, vor allem Phosphat-übertragende Enzymsysteme stimuliert oder gehemmt. Die Einstellung des Gleichgewichtes bei der Glycogensynthese beruht überwiegend auf diesem Prinzip (19). Zyklisches AMP hat aber auch auf die Phosphorylierung von Kernproteinen, sowohl Histonen (9), als auch Nüchthistonen (8), einen Einfluß. Da nun der Phosphorylierungsgrad dieser Proteine das Ausmaß der Kondensierung des Chromatins, und damit seine genetische Aktivität, mitbestimmt (15), sind Auswirkungen auf die Proliferationsrate auch auf diesem Weg zu erwarten.

Es steht außer Zweifel: Es gibt eine große Zahl verschiedener Regulationssysteme; für definierte Gewebstypen sind bestimmte Mechanismen von spezieller Bedeutung. Ein für derartige Studien sehr interessantes Gewebe schien uns die Plazenta zu sein, um so mehr als schon früher über Wirkungen ihrer Inhaltsstoffe auf den Zellstoffwechsel berichtet wurde (6, 11).

Von besonderem Interesse war für uns die Tatsache, daß Extrakte aus diesem Gewebe gewisse Funktionen im Zellstoffwechsel von Tumorzellen entscheidend beeinflussen. So wurde etwa gefunden, daß der Einbau von radioaktivem Phosphat in die Zellen von Rattenleber-Explantaten stimuliert wurde, während der gleiche Vorgang, bei Verwendung von Yoshida-Tumorzellen, in vermindertem Ausmaß ablief (3, 20). Dieser Effekt ist auf die Wirkung von Faktoren zurückzuführen, die vor allem im mütterlichen Anteil der Plazenta zu finden sind. Die Rinderplazenta eignet sich hierfür besonders, da diese leicht in den mütterlichen und den fötalen Teil getrennt werden kann.

In diesem Organ befinden sich aber auch Faktoren, welche den Einbau von Thymidin in die DNS in hohem Maße beeinflussen. Vor allem die Dezidua mit ihrer spezifischen Hemmwirkung gegenüber Tumorzellen ist von besonderem Interesse. Durch Gelfiltration mit Hilfe von Sephadex G-100 sowie bei der Elektrophorese in Polyacrylamidgelen konnten derartige Faktoren von anderen, weniger spezifischen, abgetrennt werden (12, 13).

Das Molekulargewicht der Substanzen beträgt mindestens 60 000. Dabei handelt es sich um Proteine bzw. um Substanzen, die für ihre Wirksamkeit einen Proteinanteil benötigen. Versuchsbedingungen wie 90 min. Inkubation bei 37° mit Trypsin oder Papain heben die hemmende Wirkung weitgehend auf (14).

3

Die Faktoren hemmten den Einbau von H-Thymidin in die DNS von Ehrlich-Ascitestumorzellen der Maus oder Yoshida-Sarkomzellen der Ratte bis zu 82 %, während die als Normalzellen vergleichsweise untersuchten Zellen des Rattenknochenmarks keine wesentliche Hemmung aufwiesen (12). Ähnliche Resultate erhielten wir mit Zellen aus der

Gewebekultur: Die Einbaurate in das menschliche Osteosarkom 2T und in das Bronchialkarzinom H14 wurden bis zu 67 % gehemmt, die Werte für den Fibroblastenstamm Wi38 hingegen betragen nur 6 % (14).

Ein großer Teil der Tumorzellen trägt bei einer 2 Stunden dauernden Inkubation bei 37° mit dem Inhibitor schwere Schädigungen davon. Am Beispiel des Ehrlich-Ascites-Karzinoms konnten wir zeigen, daß solche Tumorpräparationen viel schlechter angingen und die Tiere eine signifikant verlängerte Überlebenszeit aufwiesen: Während aus einer Gruppe von 9 Tieren bei den Kontrollen die ersten drei Tiere 10 Tage nach der Tumorrmpfung starben, das letzte nach 20 Tagen, starben die Tiere der Versuchsgruppe (inokuliert mit Tumorzellen, die vorher mit dem Inhibitor inkubiert wurden) erst zwischen dem 11. und 91. Tag nach der Tumorrmpfung (Abb. 1). Dies geht konform mit Beobachtungen über die tumorschädigende Wirkung von Plazentapräparationen *in vivo*, wie sie etwa von HAAS-ANDELA (4) und ANDERS (1) bei Melanomen des Zahnkarpfens gemacht wurden. Diesen Versuchen zufolge wird die Anzahl und/oder die Vermehrung spontan auftretender Tumorzellen stark reduziert, sofern den Embryonen dieser Fische maternaler Plazentaextrakt verabreicht wird. Nach Ansicht der Autoren ist im genetischen System dieser Tiere ein "Tumorgen" vorhanden, das in der Lage ist, Stammzellen der verschiedenen Gewebe neoplastisch zu transformieren. Es ist anzunehmen, daß die Wirkung der Plazentaextrakte auf der Genebene zu suchen ist.

In der Tat weisen auch die an unserem System erhobenen Befunde in diese Richtung. Es scheint allerdings zunächst ein Mechanismus erforderlich zu sein, der über ein einfaches Penetrieren der Zellmembran hinausgeht, da eine Erhöhung der Penetrierbarkeit nicht mit einer Erhöhung der Hemmwirkung verbunden ist. Eine Veränderung der Zelloberfläche, im Zuge einer Inkubation mit proteolytischen Fermenten, korreliert hingegen mit einer drastischen Verminderung der Inhibitorwirkung (14). Vermutlich ist also der erste Schritt ein komplizierter Einschleusungsvorgang, wobei Oberflächenrezeptoren beteiligt sind. Daraus ließe sich übrigens auch die gewisse Spezifität gegenüber Tumorzellen herleiten.

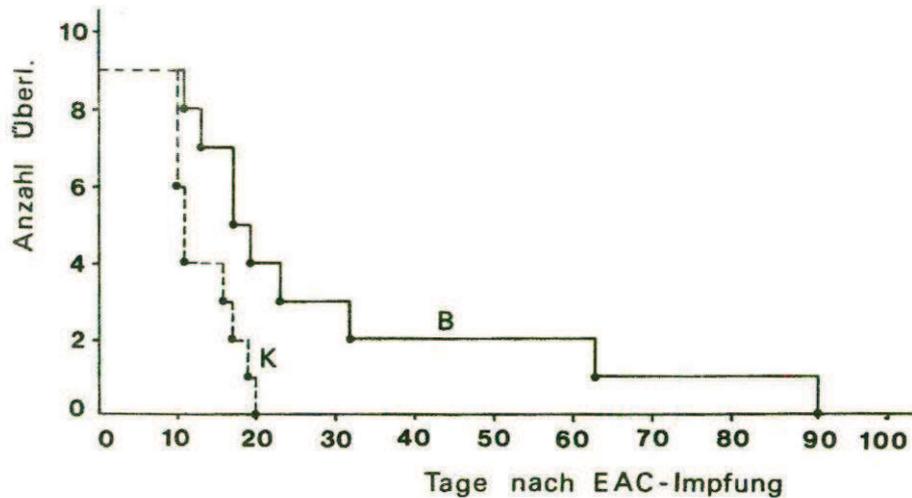


Abb. 1:

Absterbekurve von Mäusen, die mit Ehrlich-Ascitestumorzellen inokuliert wurden.

B: Inkubation der Tumorzellen vor der Überimpfung mit Inhibitorfraktion aus Sephadex-G-100-Chromatographie (12)_{A7}

K: Kontrolle; Inkubation mit Elutionspuffer TKM (10 M Tris-HCl, pH 7,4, 10^{-2} M KCl, $1,5 \cdot 10^{-3}$ M MgCl₂).

Die Inkubationsansätze enthielten 2 ml Zellsuspension (17)

und 1 ml Inhibitorfraktion bzw. TKM. Inkubationsdauer:

2 Stunden bei 37 °C.

Hinsichtlich der Wirkung innerhalb der Zelle können wir zunächst annehmen: wesentliche Veränderungen im Kondensationsgrad des Chromatins, die zu einer veränderten genetischen Aktivität führen würden, finden vermutlich nicht statt. Derartige Prozesse sollten ihren Niederschlag in geänderten chemischen Modifizierungen, beispielsweise Phosphorylierungen und Acetylierungen gewisser Kernproteine, finden: Dies konnte nicht beobachtet werden (4). Nicht auszuschließen wäre allerdings eine Beeinflussung der DNS-Polymerasefunktion, direkt durch die Inhibitoren - ein Mechanismus, wie er

möglicherweise auch bei einem aus Ehrlich-Ascitestumorzellen gewonnenen Chalon vorliegt.

Literatur:

1. ANDERS, F.: Tagung der Gesellschaft zur Erforschung der Makromolekularen Organo- und Immunotherapie, Stuttgart, 1978, Abstracts S. 6
2. ELGJO, K.: Natl. Cancer Inst. Mon. 38 (1973), 71
3. GEIPEL, A.: Z. Gynäkol. 87 (1965), 1433
4. HAAS-ANDELA, H.: XXI. Jahrestagung über die Zytoplasmatische Therapie, Stuttgart, 1975, Tagungsbericht S. 7
5. HALL, R.G.: Exper. Cell Res. 58 (1969), 429
6. JACHERTS, D., JACHERTS, B., MAY, G.: Mediz. Klin. 58 (1963), 752
7. JACOB, F., MONOD, J.: J. Mol. Biol. 3 (1961), 318
8. JOHNSON, E.M., ALLFREY, V.G.: Arch. Biochem. Biophys. 152 (1972), 786
9. LANGAN, T.A.: Ann. N.Y. Acad. Sei. 185 (1971), 166
10. LENGYEL, P., SPEYER, J.F., OCHOA, S.: Proc. Natl. Acad. Sei. U.S. 47 (1961), 1936
11. LETNANSKY, K.: Exper. Path. 8 (1973), 205
12. LETNANSKY, K.: Exper. Path. 9 (1974), 354
13. LETNANSKY, K.: Österr. Z. Onkologie 2 (1974), 31
14. LETNANSKY, K.: Österr. Z. Onkologie 4 (1977), 42
15. MATTHEWS, H.R., BRADBURY, E.M.: Exper. Cell Res. 111 (1978), 343
16. NAKAI, G.S., GERGELY, H.: Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 20 (1979), 23
17. NIRENBERG, M.W., MATTHAEI, J.H.: Proc. Natl. Acad. Sei. U.S. 47 (1961), 1558
18. PASQUALINI, J.R.: "Receptors and Mechanism of Action of Steroid Hormones", Marcel Dekker, Inc., New York und Basel (1977), S. 311, 399
19. De WULF, H., HERS, H.G.: Europ. J. Biochem. 6 (1968), 558
20. WRBA, H., KALB, H.W.: Naturwiss. 47 (1960), 85

Diskussion:

WRBA:

Stammt dieser Extrakt aus frischen Plazenten?

LETNANSKY:

Diese Hemmungen erhält man sowohl mit Extrakten aus frischen Plazenten als auch mit den uns von Dr. THEURER zur Verfügung gestellten Präparaten.

WRBA:

Mit der Hemmung des Tumorwachstums durch die Plazenta oder durch Plazenta-Präparate hat es so seine besondere Bewandnis. Wir haben schon viel auf diesem Gebiet gearbeitet. Es gibt Versuchsbedingungen, in denen man mit diesen Präparaten eine hervorragende Hemmung erzielt, dann wiederum Situationen, in denen überhaupt nichts passiert. Hier spielen sicher Wechselwirkungen mit irgendwelchen anderen Größen eine Rolle, sei es die Reife der Plazenta, seien es Wechselwirkungen mit anderen biologischen Faktoren. Diese Hintergründe sind noch nicht völlig geklärt. Jedenfalls müßte man diesem Gebiet weit mehr Aufmerksamkeit schenken als bisher.

LETNANSKY:

Die Problematik liegt wohl darin: Die Plazenta enthält eine Reihe von Mediatoren, Hemmstoffe, ebenso wie Stimulatoren. Möglicherweise hängt die Mengenrelation dieser Faktoren auch vom Reifegrad der Plazenta ab. Wir versuchten, diesen "Hemmer" zu isolieren und nur damit - nicht mit dem Totalextrakt - zu arbeiten. Das heißt natürlich noch lange nicht, daß man nicht auch mit dem Totalextrakt ähnliche Ergebnisse bekommt, möglicherweise sind diese aber nicht immer reproduzierbar. Die Reproduzierbarkeit wird vermutlich größer, wenn man mit isolierten Faktoren arbeitet bzw. diese anreichert.

THEURER:

Trifft diese Reproduzierbarkeit nur auf bestimmte Tumormodelle zu oder gilt das allgemein? In unserem Forschungslabor wurden nämlich

folgende Versuche durchgeführt: Nach unserem Verfahren hergestellte Organopräparate stimulieren einerseits Normalzellen im Stoffwechsel, hemmen andererseits jedoch Tumorzellen und heteroploide Zellen. Diese bivalente Wirkung zytoplasmatischer Extrakte war zwar nicht in dem Maße wie beim maternalen Anteil der Plazenta zu beobachten - den ich in die Therapie eingeführt habe - aber dennoch deutlich ausgeprägt. Es besteht grundsätzlich die Frage, welche Faktoren hier überhaupt eine Rolle spielen.

Ich habe früher schon angenommen, daß es sich hier möglicherweise um Repressoren handeln könnte, die auf Regulationsebene eingreifen. Zahlreiche krebsspezifische Eigenschaften werden nicht unbedingt von den Strukturgenen codiert. Nehmen wir einmal das Wiederauf-flackern foetaler embryonaler Eigenschaften beim Krebs, so spricht vieles dafür, daß es sich nicht um eine reine Mutation der Strukturgene handeln kann, sondern um eine Mutation der Regulatorgene. Gene können durch diesen Vorgang dereprimiert und damit der Regulation entzogen werden. Schon 1965 habe ich diese These in der "Medizinischen Klinik" veröffentlicht - leider ohne irgendwelche Resonanz. Ich freue mich deshalb, daß diese Dinge jetzt wieder akut werden.

Bei unseren Experimenten wurden u.a. auch isolierte zelluläre Faktoren mit Nativextrakten bzw. Vollpräparaten verglichen. Praktisch war die Wirkung gleich. Überdies sollte beachtet werden: Jede Auftrennung eines Extraktes führt zu enormen Verlusten an Wirkstoffen und Begleitfaktoren. Bei Thymusextrakten lassen sich gewisse Wirkungen beispielsweise gar nicht mit Einzelfaktoren erzielen, sondern nur mit einem Totalextrakt. Gerade Cofaktoren spielen auf biologischer Ebene eine entscheidende Rolle.

Beim Plazenta-Präparat könnte es durchaus sein, daß jene Präparation, die die nativen Hemmfaktoren enthält, sogar noch wirksamer ist, als der aufgetrennte Extrakt. Natürlich wäre der ideale Weg jener, zunächst einmal den Wirkstoff zu isolieren, diesen dann aufzuklären, seine Eigenschaften und Funktionen zu bestimmen und ihn schließlich nach Möglichkeit zu synthetisieren. Aber selbst

aus der Hormontherapie wissen wir: reine Hormone sind u.U. biologisch gar nicht so sinnvoll, weil sie die natürliche Regulation stören und zu Nebenwirkungen führen können.

LETNANSKY:

Sicher spielt das jeweilige Versuchsmodell, woran man die Faktoren testet, eine Rolle. In Abhängigkeit davon wird sich die eine oder andere Methode dann als Methode der Wahl herauskristallisieren. In unserem Modell jedenfalls haben wir die klareren Ergebnisse mit den isolierten Faktoren, oder sagen wir besser, mit den angereicherten.

THEURER:

Das hängt sicher auch vom Grad der Hydrolyse ab, alles Dinge natürlich, die sehr schwer überprüfbar sind. Derartige Präparate müsste man deshalb laufend an einem Bioassay-Modell überprüfen; es kann ja nicht jeder Einzelstoff nachgewiesen werden. Wirkungen zeigen sich oft noch in sehr hohen Verdünnungen. In unserem Tumorzell-Kultursystem wurden Hemmungen bis in den ng-Bereich nachgewiesen, Konzentrationen, die selbst für den Radio-Immuno-Assay schon schwer zu erfassen sind.

LETNANSKY:

Diese Faktoren können praktisch nur biologisch nachgewiesen werden. Chemisch ist es bei diesen Minimal-Konzentrationen nicht mehr möglich.

Induktion einer Immunantwort gegen tumortragende Mäuse
mit heterologen foetalen Antigenen

P. MUNDER

Max-Planck-Institut für Immunbiologie,
Freiburg

Embryonales und foetales Gewebe besitzen zelluläre Oberflächenstrukturen, die im serologischen Test eine gewisse Gemeinsamkeit mit Tumorstrukturen aufweisen. Der Nachweis des sog. carcino-embryonalen Antigens (CEA) hat im wesentlichen keine klinisch-therapeutische Bedeutung erlangt, wohl aber eine diagnostische. Obwohl bisher keine Untersuchungen vorliegen, in denen gezeigt wurde, daß unter Verwendung von relativ hochgereinigtem CEA das Wachstum eines transplantierbaren Tumors beeinflußt werden kann, haben wir unter Verwendung von heterologem foetalem Lebergewebe (Revitorgan-Trockensubstanz Nr. 1) untersucht, ob die Transplantation von syngenen Tumoren in der Maus beeinflußt werden kann (Abb. 1).

10⁶ inokulierte Zellen eines Methylcholanthren-Tumors führen innerhalb von 3-4 Wochen zum Tod der Tiere (Abb. 2+3). Während nun eine einmalige Injektion der Trockensubstanz Nr. 1 keinerlei Effekt zeigt, konnte unter 3facher vorheriger Injektion bei 7 von 10 Tieren das Anwachsen eines Tumortransplantates verhindert werden (Abb. 4). Klinisch noch relevanter war der therapeutische Versuch: Wurden die Tiere 5, 7, 9 Tage nach Inokulation mit den Tumorzellen mit der Revitorgan-Trockensubstanz Nr. 1 behandelt, überlebten 8 von 10 Tieren gegenüber keinem in der Kontrollgruppe (Abb. 5). Die Ergebnisse sind reproduzierbar. Das Präparat enthält demnach Substanzen, die sogar wachsende Tumoren zur Regression bringen können. Welche Wirkmechanismen diesem Effekt zugrunde liegen, ob es sich um spezifische Kreuzreaktionen zwischen carcino-embryonalen Antigenen und Tumorantigenen handelt oder ob andere Mechanismen eine Rolle spielen, müssen weitere Versuche klären.

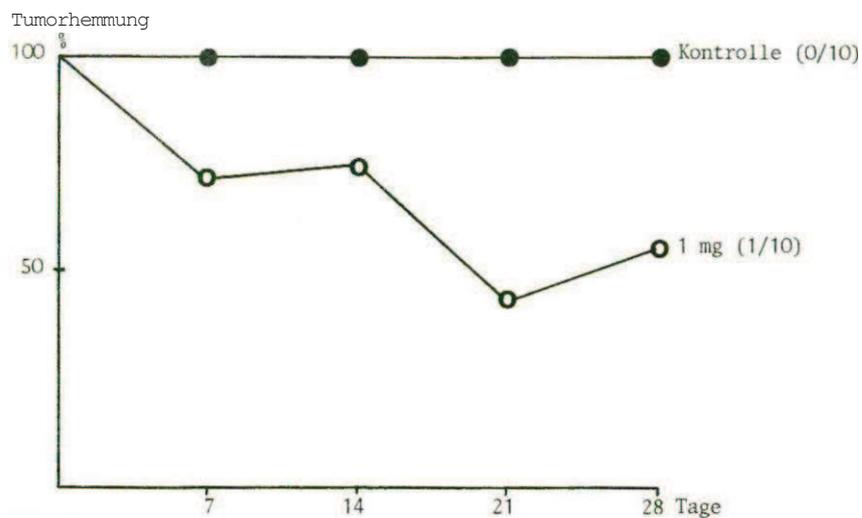


Abb. 1:

Weibliche Mäuse (Balb/c x C57 b16) F1 wurden am Tag -12 mit 1 mg foetalem Lebergewebe s.c. injiziert; am Tag 0 wurden die Tiere mit 10^6 Tumorzellen (Fibrosarkom) intracutan auf der Bauchseite injiziert. 10 Tiere/Gruppe. Kontrollgruppe wurde mit 0,2 ml NaCl vorbehandelt. Das Tumorwachstum wurde durch Messung zweier Durchmesser 1 x wöchentlich bestimmt. Kontrollgruppe = 100 Zahlen in der Klammer = Überlebende/Gesamtzahl.

Abb. 2:

Tumorwachstum des Fibrosarkoms in den Kontrolltieren. Zustand nach 4 - 5 Wochen.

Abb. 3:

Tumorgröße nach Behandlung mit foetalem Lebergewebe.

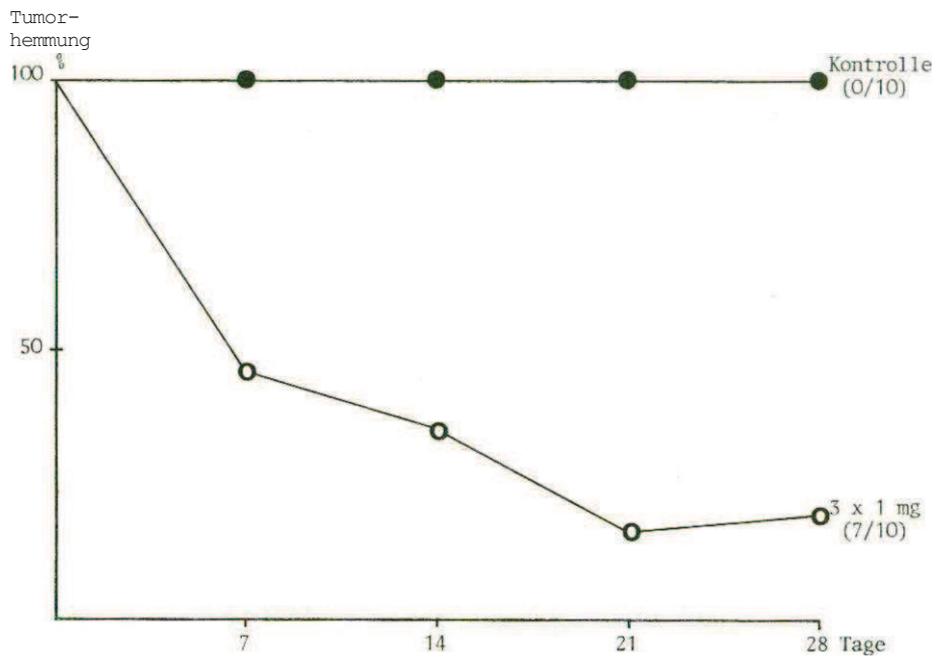


Abb. 4:

Mehrfache Vorbehandlung mit foetaler Leber und Tumorzustand. Bedingungen s. Abb. 1. Die Tiere wurden am Tag -12, -8 und -4 mit je 1 mg foet. Gewebe vorbehandelt.

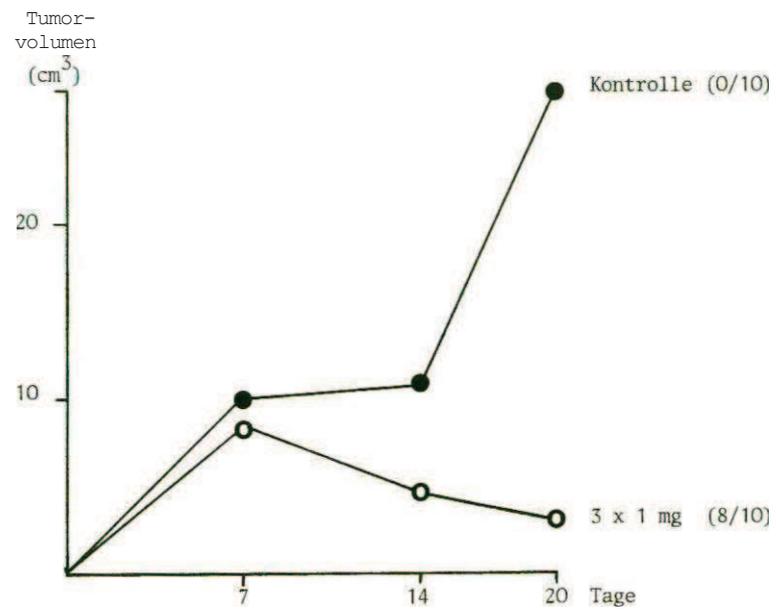


Abb. 5:

Therapie mit foetalem Lebergewebe.
Versuchsbedingungen s. Abb. 1. 10 Tiere/Gruppe wurden am Tag +5, +7 und +9 nach Setzen der Tumorzellen mit 1 mg foetalem Lebergewebe s.c. injiziert.
Ordinate = absolutes Tumolvolumen der Tumoren in allen Tieren/Gruppe.

Diskussion:

PORCHER:

Herr Dozent MUNDER, die "prophylaktischen" Experimente mit Methylcholanthren-induzierten Tumorzellen sprechen doch eigentlich für immunologische Wirkungseffekte bei der Revitorgan-Trockensubstanz Nr. 1. Denn, erst eine 3malige Applikation in Art einer Boosterung führt zu dieser bemerkenswerten Wirkung. Ganz ähnlich verliefen offensichtlich die therapeutischen Experimente. Auch hier mußte eine 3malige Immunisierung vorausgehen.

MUNDER:

Vieles spricht für einen spezifisch-immunologischen Prozeß. Trotz alledem möchte ich mich noch nicht festlegen. Ich könnte mir nämlich durchaus vorstellen, daß durch diese Substanzen andere, nicht unbedingt spezifisch-immunologische, tumorgerichtete Abwehrmechanismen stimuliert werden.

THEURER:

Meines Erachtens spielen hier mit Sicherheit weitere Faktoren eine Rolle. Ich denke da an Chalone und andere, die Regulationsmechanismen beeinflussende Faktoren, wie die bereits in der Diskussion erwähnten Vorläufer der Antikörperbildung. Es ist sowieso eine Frage, ob diese fast unglaublichen Wirkungen überhaupt allein immunologisch, ohne Berücksichtigung von Repressions-Phänomenen, erklärt werden können.

MUNDER:

Wir haben schon seit mehreren Jahren versucht, gereinigte tumorspezifische Antigene zu verwenden. Erfolge, wie mit dieser Substanz, sind uns aber noch nie geglückt. Das heißt doch: Die Substanz muß also mehr können als nur spezifisch gegen ein carcinoembryonales Antigen immunisieren. Was es ist, welcher Mechanismus dem therapeutischen Effekt zugrunde liegt, wissen wir noch nicht. Die Experimente gehen weiter.

THEURER:

Im Serum gibt es Faktoren, so den Tumor-Nekrosis-Faktor oder andere Hemmstoffe, die alle zur Leber in Beziehung stehen und dort in höherer Konzentration vorkommen. Seit Jahren empfehlen wir im Rahmen unserer adjuvanten Tumorthherapie deshalb u.a. foetale Leber.

Prof. WANNAGAT aus der Bad Mergentheimer Leberklinik behandelt Lebertumoren und schwere Lebererkrankungen mit foetaler Leber. In Einzelfällen hat er bis zu 20 mal die Trockensubstanz Leber verabreicht, ohne irgendwelche hyperergisch-allergische Reaktionen hervorzurufen. Ein Beweis der guten Verträglichkeit dieser Organsubstanzen.

MUNDER:

Das kann ich nur bestätigen: Auch wir haben bei diesen 3maligen Injektionen überhaupt keine allergischen oder hyperergischen Reaktionen beobachtet. Ob die Wirkung nun über den Tumor-Nekrosis-Faktor vermittelt wird, glaube ich nicht. Sollte dieser überhaupt eine Rolle spielen, dann ist die Wirkung sicher nicht Endotoxinvermittelt.

Auch mit Endotoxinen lassen sich diese Tumoren gut beeinflussen. In krassem Gegensatz zu den zytoplasmatisch behandelten Tieren leben aber die mit Endotoxin (50 ug bis 100 pg) behandelten Tiere mindestens für 2-3 Tage in einem elenden Zustand. Mit foetaler Leber treten dagegen keine Nebenreaktionen auf. Außerdem ist das Bild einer Endotoxin-induzierten Tumor-Nekrose völlig anders.

Modulation der Proliferationsaktivität
durch gewebseigene Faktoren -
dargestellt am Beispiel des granulopoietischen Systems

IV.R. PAUKOVITS*, O.D. LAERUM**

*) Institut für Krebsforschung der Universität Wien

***) Institut für Pathologie der Universität Bergen

Für die Regulation der Granulopoese kennt man schon einige Teilmechanismen, allerdings ist deren Zusammenwirken im gesamten Regulationssystem noch unbekannt. Die Bildung der Blutzellen findet nicht mit konstanter Geschwindigkeit statt, sondern unterliegt starken tageszeitlichen Schwankungen. Dies betrifft nicht nur das Auftreten neuer Zellen im peripheren Bereich, sondern auch die proliferative Aktivität der unreifen myeloischen Zellen im Knochenmark.

Vor einiger Zeit haben wir darüber berichtet (AARDAL, LAERUM, PAUKOVITS und MAURER, 1977), daß teilweise gereinigte Extrakte, in denen der Hemmfaktor Granulocytenchalon (GCh) enthalten ist, stark inhibierend auf die Bildung von myeloischen Kolonien in Agar wirken.

In den vorliegenden Untersuchungen wird a) über eine verbesserte Reinigung von GCh, b) einige seiner chemischen Eigenschaften sowie c) über die sich daraus ableitende Möglichkeit einer Integration von regulatorischen Teilmechanismen berichtet.

Methoden und Ergebnisse

1. Reinigung von Granuloeytenchalon

Als Ausgangsmaterial für die Präparation von reinem Granulocytenchalon wurde konditioniertes Medium (5 Stunden, 37°) von 10 nor-

malen menschlichen Leukocyten verwendet. Nach Zentrifugation wurde der zellfreie Überstand lyophilisiert und in einem kleinen Volumen wieder gelöst. Eine grobe Fraktionierung dieses Extraktes wird durch Gelfiltration auf einer Sephadex-G-10-Säule erreicht. Die Fraktionen zwischen dem "Front"-Peak (Mol.-Gew. 700) und dem "Salz"-Peak wurden vereinigt, eine Stunde bei Zimmertemperatur mit 10 mM Mercaptoäthanol behandelt, lyophilisiert und nach dem Wiederauflösen an 400 mg Thiopropyl-Sepharose 6B (Pharmacia, Uppsala) adsorbiert. Nach dem Abwaschen der nicht gebundenen Substanzen wurden die Thiol-haltigen Peptide durch 50 mM Mercaptoäthanol von der Säule eluiert (Abb. 1a).

Die Entfernung der unerwünschten Reaktionskomponenten (Puffersubstanzen, etc.) aus dem Eluat geschieht durch Gelchromatographie an Sephadex G-10 (Abb. 1b). Die Fraktionen bei $R_0^V = 1-37$ üben einen signifikanten Hemmeffekt auf den Thymidineinbau in Knochenmarks-Zellen aus (bezüglich der Durchführung dieses Tests siehe PAUKOVITS und HINTERBERGER, 1978). Sie wurden vereinigt und durch Ionenaustauschchromatographie an Dowex 50 weiter gereinigt (Abb. 1c). Die gesamte Hemmaktivität wird von dieser Säule, wie bereits beschrieben, im stark sauren Bereich eluiert (PAUKOVITS und HINTERBERGER, 1978).

2. Reinheitsprüfung

Die erhaltene Präparation sowie 2 verschiedene fluoreszierende Derivate erweisen sich in 4 verschiedenen Lösungsmittelsystemen, bei der Dünnschichtchromatographie, sowie bei 3 verschiedenen pH-Werten, bei der Hochspannungselektrophorese, als einheitliche Substanz.

3. Wechselwirkung mit Knochenmarkszellon

Granulocytenchalon wurde mit Dansylaziridin (einem Reagens auf Thiolgruppen) gekoppelt. Nachfolgende Dünnschichtchromatographie zeigt einen einzigen fluoreszierenden Fleck bei niedrigem R^V -Wert (Abb. 2). Wird die Granulocytenchalon-Präparation zuerst mit Kno-

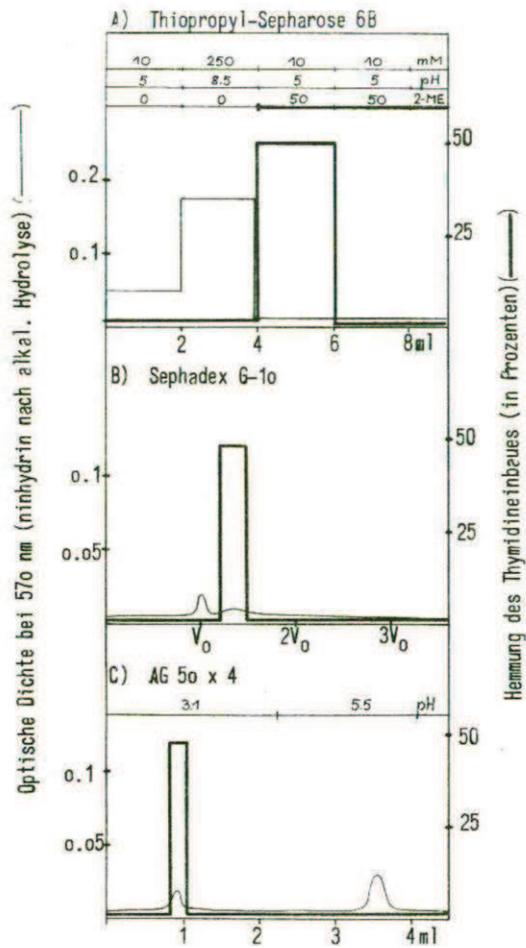


Abb. 1:

Reinigung von Granulocytenchalon (vorfraktioniert auf Sephadex G-10)

A) Thiopropyl-Sepharose 6B

mM Salzkonzentration des Elutionspuffers

pH pH-Wert des Elutionspuffers

2-ME Mercaptoäthanolkonzentration im Elutionspuffer (in mM)

B) Sephadex G-10, eluiert mit Pyridin-Essigsäure-Puffer (pH=3,1)

C) Ionenaustauscher AG50x4, eluiert mit Pyridin-Essigsäure-Puffer

pH pH-Wert des Elutionspuffers.

4. Oxidation und Reduktion von Granuloeytenchalon

Granuloeytenchalon kann durch Behandlung mit Luftsauerstoff in seine oxidierte Form übergeführt werden (Disulfidbildung). In dieser Form ist Granuloeytenchalon nicht nur als Inhibitor der Myelopoese inaktiv, sondern wandelt sich im Gegenteil in einen Stimulator der Koloniebildung in Agar um (LAERUM, PAUKOVITS, AARDAL und MORILD, 1979).

Dieser Stimulationseffekt ist durch Behandlung mit Mercaptoäthanol leicht wieder in einen Hemmeffekt umzukehren. Mercaptoäthanol selbst hat bei der angewandten Konzentration keinen signifikanten Einfluß auf die Koloniebildung (die Ergebnisse der Abb. 3 wurden mit einer teilweise gereinigten GCh-Präparation erhalten).

Die hemmende Wirkung von Granuloeytenextrakten auf die Myelopoese ist seit mehreren Jahren bekannt und wird einem, in den Extrakten enthaltenen Granuloeytenchalon zugeschrieben (PAUKOVITS 1976, AARDAL et al. 1977, PAUKOVITS und HINTERBERGER 1978). Die mehrmalige Extraktion der Zellen führt zu stark reduzierten Ausbeuten (RYTÖMAA und KIVINIEMIE 1968), weshalb die Versuche, den Inhibitor auch aus hochgereinigten Granuloeyten zu erhalten, erfolglos blieben (HERMAN, GOLDE und GLINE 1978), da die dazu nötige mehrfache Sedimentation, Zentrifugation und hypotone Lyse gleichzeitig eine mehrfache Extraktion bedeutet. Diese im Methodischen begründete Diskrepanz läßt jedoch nicht den Schluß auf Nichtexistenz des Granuloeytenchalons zu.

Die Beobachtungen, daß dieser gewebeeigene Rückkoppelungsmechanismus auch bei maligner Entartung der Zellen, zumindest teilweise, noch funktionsfähig bleibt (RYTÖMAA et al. 1976) und zu einer günstigen Beeinflussung der neoplastischen, myeloischen Proliferation bei Patienten mit akuter Leukose herangezogen werden kann, erfordert eine genaue Untersuchung der biologischen Eigenschaften des Granuloeytenchalons. Da die für eine solche Untersuchung erforderlichen Mengen an Granuloeytenchalon nicht aus biologischem Material erhal-

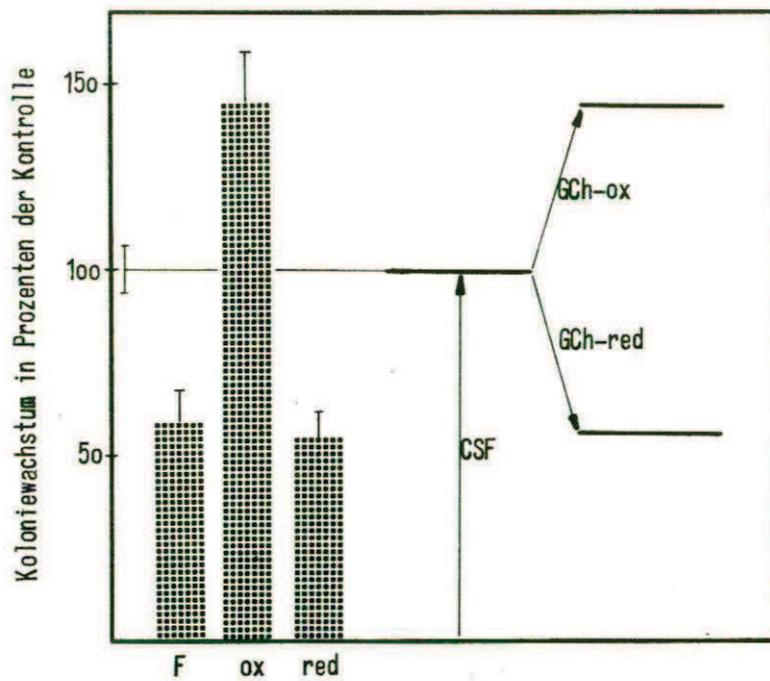


Abb. 3:

Einfluß von Granulocytenchalon auf die Koloniebildungsrate in Abhängigkeit vom Redoxzustand.

F ... frisches Granulocytenchalon

OX ... Luftoxidiertes Granulocytenchalon

-4

red ... nach Behandlung mit 10⁻⁴ M Mercaptoäthanol

CSF ... Colony Stimulating Factor

ten werden können, haben wir Methoden ausgearbeitet, um diesen Inhibitor in reiner Form zu isolieren und seine chemischen Eigenschaften sowie seine Struktur zu bestimmen. Da es sich um ein kleines Peptid handelt (PAUKOVITS und HINTERBERGER, 1978; PAUKOVITS und PAUKOVITS, 1978), ergibt sich dabei die Möglichkeit, reines Granulocytenchalon in jeder gewünschten Menge synthetisch herzustellen und für präklinische und klinische Untersuchungen einzusetzen.

Im Verlauf dieser Arbeiten stellte sich heraus, daß Granulocytenextrakte nach längerdauerndem Kontakt mit atmosphärischem Sauerstoff ihre Hemmaktivität verlieren und dann sogar einen stimulierenden Effekt auf das Teilungsverhalten unreifer myeloischer Zellen zeigen. Da dieser Effekt durch Behandlung mit Mercaptoäthanol leicht wieder umzukehren ist (Abb. 3), muß geschlossen werden, daß das Granulocytenchalon-Molekül eine SH-Gruppe enthält. Thiolhaltige Peptide können mit Hilfe neuer chromatographischer Verfahren selektiv gereinigt werden, indem man sie mit einem polymer gebundenen SH-Gruppen-Reagens reagieren läßt und nach dem Auswaschen der Begleitsubstanzen die Thiolpeptide durch reduktive Behandlung wieder gewinnt (Abb. 1a). Auf diese Weise war es möglich - nach einem weiteren Ionenaustausch-Schritt - eine chromatographisch und elektrophoretisch reine Präparation von Granulocytenchalon zu erhalten.

Dieses Peptid, dessen Molgewicht in der Nähe von 600 liegt (PAUKOVITS und HINTERBERGER, 1978) tritt spezifisch mit Knochenmarkszellen in Wechselwirkung, indem es offensichtlich an die Zellen gebunden, und so aus der Lösung entfernt wird. Andere Peptide, welche in teilweise gereinigten Präparationen noch neben dem Granulocytenchalon enthalten sind, zeigen eine solche Wechselwirkung nicht. Der Effekt scheint also für Granulocytenchalon und Knochenmarkszellen spezifisch zu sein und stellt einen weiteren Hinweis auf die Chalonnatur unseres Hemmpeptides dar.

Die Redox-Eigenschaften von Granulocytenchalon und dessen damit gekoppelte Umwandelbarkeit von einem Inhibitor in einen Stimulator

überlagern sich mit einer, durch den "colony stimulating factor" (Granulopoietin?) vermittelten Proliferationsrate (Abb. 3), wodurch es zu einer Modulation in der Geschwindigkeit der Granulopoese kommen dürfte, möglicherweise die Basis für bekannte tagzeitliche Schwankungen.

Literatur:

- AARDAL, N.P., LAERUM, O.D., PAUKOVITS, W.R. und MAURER, H.R.:
Virchows Archiv für Path. (B) 24, 27 (1977)
- HERMAN, S.P., GOLDE, D.W. und CLINE, M.J.: Blood 5J, 207 (1978)
- LAERUM, O.D., PAUKOVITS, W.R., AARDAL, N.P. und MORILD, I.:
Chronobiologia 6, 124 (1979)
- PAUKOVITS, W.R.: In: Houck, J.C. (ed.): Chalmers, Elsevier
(Amsterdam) p. 311 (1976)
- PAUKOVITS, W.R. und HINTERBERGER, W.: Blut 37, 7 (1978)
- PAUKOVITS, W.R. und PAUKOVITS, J.B.: IRCS Med. Sei. 6, 176 (1978)
- RYTÖMAA, T. und KIVINIEMI, K.: Cell Tissue Kinet. 1, 341 (1968)
- RYTÖMAA, T., VILPO, J.A., LEVANTS, A. und JONES, W.A.: Scand. J.
Haematol. Suppl. No. 27 (1976)

Tierexperimenteile Untersuchungen
zur Biochemie des Lernens

G. F. DOMAGK

Physiologisch-Chem. Institut
Universität Göttingen

Die in ihrer Anzahl auf 10^8 geschätzten Nervenzellen des menschlichen Gehirns stehen über Synapsen in vielfältiger Verbindung miteinander. Erregungsabläufe im Gehirn müssen bei der Impulsübertragung von einem Neuron auf das nächste durch Freisetzung chemischer Neurotransmitter ermöglicht werden. Der Stoffwechsel dieser Transmitter, von denen etwa 10 verschiedene mit Sicherheit nachgewiesen sind, ist in den letzten Jahren eingehend untersucht worden. Z. Zt. gilt ein Hauptinteresse der Neurobiologen den, auf der Oberfläche der postsynaptischen Zelle sitzenden, Rezeptorproteinen.

Anlässlich der XXIV. Jahrestagung über die Zytoplasmatische Therapie (DOMAGK, G.F., 1978) habe ich berichtet, wie die systematischen Untersuchungen des Schweden HYDEN dazu führten, daß man in Zusammenhang mit Lernprozessen stehende chemische Veränderungen an Biomakromolekülen des Gehirns charakterisieren konnte. Hyden zeigte, daß es in umschriebenen Hirnarealen zur vermehrten Bildung von spezifischer RNS kommt. Auf diesen Erkenntnissen basierend, haben Magdeburger Pharmakologen gefunden, daß hohe Gaben der Nukleinsäurevorstufe Orotsäure zu besserem Lernen und länger anhaltendem Gedächtnis führen. Durch die Arbeitsgruppen der Amerikaner AGRANOFF und FLEXNER wurde daraufhin sichergestellt, daß die Ausbildung von Langzeitgedächtnis nur erfolgt, wenn die Proteinsynthese im Gehirn nicht gehemmt ist. Es gibt einige Anzeichen dafür, daß auch diese Synthesen, jeweils abhängig von funktionell zusammenhängenden Hirnarealen, lokal verstärkt ablaufen.

Die Forschung der letzten Jahre wies nun in der Gehirnsubstanz vieler Tiere niedere Peptide nach, deren Freisetzung zu bestimmten Verhaltensweisen des betreffenden Lebewesens führt. So sei hier an die Existenz der Schmerz-unterdrückenden Endorphine und Enkephaline, eines Schlaf-auslösenden und eines Appetitlosigkeit bewirkenden Peptids, erinnert.

Auf solche verhaltenswirksamen Peptide war man schon seit 1965 aufmerksam geworden, als die ersten Versuche zum "memory transfer" anliefen. Dabei wurden Tiere auf bestimmte Aufgaben trainiert, häufig sogar übertrainiert. Aus den Gehirnen derart vorbehandelter "Spender" lassen sich verhaltenswirksame Extrakte herstellen, die bei der Verabfolgung an nicht-trainierte Empfängertiere verhaltensändernd wirken. Einige Forscher dieser Arbeitskreise glaubten zeitweilig, daß jedes Lernen über die Biosynthese spezifischer Peptide ablaufen müsse. Betrachten wir uns allerdings die Beispiele für bisher durchgeführte positive Transfer-Effekte (Abb. 1), so müssen wir uns die Frage stellen, ob es sich hier tatsächlich um Lernvorgänge handelt. Die beobachteten Verhaltensänderungen jedenfalls sind sehr beeindruckend.

Wir beschäftigen uns seit einigen Jahren mit der Farbdiskriminierung junger Hühnchen. Bei den von uns verwendeten, spektral definierten Blau- bzw. Grünfiltern stellen wir fest, daß ca. 98 % der etwa 8 Tage alten Hühnchen eine Vorliebe für "Grün" zeigen. Nach mehreren Veränderungen der Testapparatur, ausgehend von einem Y-Labyrinth, arbeiten wir heute mit einem 150 cm langen, einstreckigen Wahlapparat, dessen Stirnseiten wechselweise "blau" oder "grün" beleuchtet werden können. Das Laufverhalten in dem oben durch Deckel abgeschlossenen Apparat kann durch 4 Infrarot-Schranken verfolgt werden.

Hungrige Hühnchen lassen sich nun innerhalb weniger Tage durch wiederholte Fütterung vor dem "Blau-Fenster" dazu bringen, daß sie Blau als "positiv" werten und spontan dorthin laufen. "Blau-Extrakte" aus dem Gehirn solcher Spender führen nun, bei auf ihre spontane "Grün-Präferenz" vorgetesteten Empfängern, zu einer Umstellung auf

Abb. 1

Beispiele für positive Transfer-Effekte			
Tierart	Gelernte Aufgabe	Motivierung	Autor
Ratte	Dunkelfurcht	Fußschock	UNGAR 1972
Ratte	Pole Jumping	Fußschock	UNGAR 1971
Maus	Akustische Belastung	Gewöhnung	UNGAR u. BURZYNSKI 1973
Ratte	Schwimmen im Labyrinth	Landgang	RADCLIFFE u. SHELTON 1974
Goldfisch	Farbunterscheidung	Futterbelohnung	ZIPPEL u. DOMAGK 1969
Goldfisch	Geschmacksunterscheidung	Futterbelohnung	ZIPPEL u. DOMAGK 1971
Schleie	Dunkelfurcht	Synthet.Scotophobin	THINES, DOMAGK u. SCHONNE 1973
Maus	Geschmacksaversion	Röntgenkater, Apomorphin	LeVAN 1970
Biene	Farbunterscheidung	Futterbelohnung	LINDAUER u. MITARB. 1978
Huhn	Farbunterscheidung	Futterbelohnung	DOMAGK u. MITARB. ab 1975

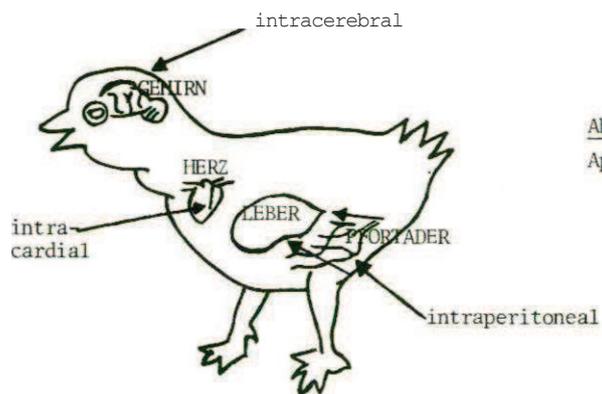


Abb. 2:
Applikation der Hirnextrakte

eine Blau-Präferenz. Dieses Verhalten wurde bisher an etwa 450 Hühnchen getestet. Dabei führten die Extrakte bei 38 % der Empfänger zu einer "Blau-Reaktion".

Warum wird bei diesem Umstell-Effekt keine höhere Ausbeute erzielt? Eine Schwierigkeit könnte sich aus der Art der Extrakt-Applikation ergeben. So gelangen die von uns i.p. verabfolgten Extrakte ausnahmslos über das Pfortadersystem zur Leber und werden dort vielleicht einem intensiven Abbau unterworfen (Abb. 2).

Eine in anderen Experimenten, an Ratten und Mäusen, erfolgreich durchgeführte intracerebrale Injektion ließ sich bei den Hühnchen bisher nicht durchführen, da diese Tiere nicht über injizierbare Seitenventrikelräume verfügen. So setzen wir z.Zt. große Hoffnung auf eine uns neu vermittelte intracardiale Injektionstechnik.

Noch mehr Hoffnung aber ruht auf der 1979 angelaufenen Zusammenarbeit mit der Forschungsabteilung der Firma vitOrgan. Für unsere Transferversuche werden die von uns aus trainiertem Hühnergehirn extrahierten Peptide in "Liposomen" inkorporiert (THEURER, PORCHER KOTTWITZ). Liposomen sind feinste Fett-Tröpfchen, in denen Organwirkstoffe inkorporiert werden können. Der Organotropismus beruht auf dem Einbau von Membran-Bestandteilen der Zielzelle - in unserem Falle Lipide von Hühnergehirn - in die Lipid-Membran (DBP 2650502.2). Wahrscheinlich finden diese künstlichen Vehikel, schneller als im Plasma gelöste Peptide, den Weg zu ihren cerebralen Wirkorten (Abb. 3).

Erstaunlicherweise haben die letzten Jahre, in denen sich die Zahl der aktiven Gedächtnisforscher stark vergrößert hat, nichts Wesentliches zur Biochemie der Gedächtnisspeicherung beigetragen. Im Gegenteil: Während es noch vor 10 Jahren als relativ sicher galt, die für das Gedächtnis verantwortlichen Moleküle in der Klasse der Polypeptide zu suchen, wird heute auch auf ganz anderen Gebieten erfolgreich gesucht.

i.p.-Injektion von „Blau-Extrakt“ in wäßriger Lösung bzw. als Liposomen (Blindversuch) PORCHER, MASCHER und DOMAGK (1979)					
Anzahl der Empfänger	NaCl	Extrakt		von grün auf blau umgestellt	
		Liposomen			
28	14	mit un- gereinigtem Lecithin 14	5	36 %	
			4	29 %	
29	15	mit ge- reinigtem Lecithin 14	4	27 %	
			7	50 %	

.Abb. 2:

Vergleich Liposomen-integrierter Hirnextrakte mit wäßrigen Extrakten

So wirken Desoxyzucker, die für die immunologische Spezifität vieler Glykoproteine entscheidend sind, im Tierversuch gedächtnisverbessernd - ihr Einbau in Hirnproteine ist nachgewiesen (POPOV et al., 1976) - und schließlich sind auch spezielle Gehirnlipide, sogenannte Ganglioside, in letzter Zeit als gedächtnisrelevant erkannt worden (DUNN et al., 1974). Ein hochinteressantes Gebiet steht weiterer Forschung damit offen.

Literatur:

- AGRANOFF, B.W.: "Memory and Protein Synthesis", Scientific American 216, 115-122 (1967)
- DOMAGK, G.F. und Mitarb.: Unpubl. Ergebnisse (1979)
- DUNN, A. und Mitarb.: "Biochemical Correlates of Brief Behavioural Experiences", in F.O. SCHMITT und F.G. WORDEN (Hrsg.): The Neurosciences: Third Study Program (1974), MIT Press, Cambridge, Mass.
- HYDEN, H.: "Behaviour, Neural Function and RNA", Progr. Nucl. Acid Research 6, 187-218 (1967)
- MARTIN, U. und LINDAUER, M.: "Transplantation of a Time-Signal in Honeybees", J. comp. Physiol. J24-, 193-201 (1978)

- MONNIER, M. und SCHOENENBERGER, G.: "Schlafinduzierendes Nonapeptid", Med. et Hyg. 35, 2112 (1977)
- LEVAN, H. und Mitarb.: "Induction of Post-Irradiation Conditioned Avoidance Behaviour by Intraperitoneal Injection of Brain Tissues", Experientia **26**, 648-649 (1970)
- POPOV, N. und Mitarb.: "Increased Fucose Incorporation into Rat Hippocampus During Learning", Brain Res. 101, 295-304 (1976)
- RADCLIFFE, G.J. und SHELTON, J.W.: "Molecular Coding of Maze Learning: Demonstration by Bioassay", Experientia 30, 1284 (1974)
- REICHELT, K.L. und Mitarb.: "Humoral Control of Appetite.-II. Purification and Characterization of an Anorexogenic Peptide from Human Urine", Neurosciences 3, 1207-1211 (1978)
- THEURER, K., PORCHER, H. und KOTTWITZ, O.: Unpubl. Ergebnisse (1979)
- THINES, G. und Mitarb.: "The Effect of Synthetic Scotophobin on the Light Tolerance of Teleosts", in H.P. ZIPPEL (Hrsg.): Memory and Transfer of Information, Plenum Press New York (1973)
- UNGAR, G.: "Peptides and Behaviour", Internat. Rev. Neurochem. 17, 37-60 (1975)
- UNGAR, G. und BURZYNSKI, S.R.: "Isolation and Purification of a Habituation-Inducing Peptide from Trained Rat Brain", Feder. Proc. 32, 367 abs (1973)
- ZIPPEL, H.P. und DOMAGK, G.F.: "Versuche zur chemischen Gedächtnisübertragung von farbdressierten Goldfischen auf undressierte Tiere", Experientia 25., 938-940 (1969)
- ZIPPEL, H.P. und DOMAGK, G.F.: "Transfer of Taste Preference from Trained Goldfish into Untrained Recipients", Pflügers Arch. 323, 258-264 (1971)

Diskussion:

THEURER:

Normalerweise läuft der Informationsfluß bei der Eiweiß-Synthese von der DNS zum Protein. Proteine können deshalb m.E. keine Dauerwirkung ausüben, da Eiweißkörper verstoffwechselt werden. Die Übertragung einer dauerhaften Information auf der Basis von Pro-

teinen wäre nur möglich, wenn diese i.S. einer "rückläufigen Informationsübertragung" im Gehirn gespeichert werden könnten. Diese Vorstellung verstößt derzeit noch gegen das Dogma des Informationsflusses. Eine Neusynthese von Proteinen ist aber sonst kaum möglich. Voraussetzung für die Dauerwirkung irgendeiner einmal zugeführten Information ist eben, daß das Protein immer wieder neu zur Verfügung steht, sonst fällt die Wirkung aus. Solange das Eiweiß zur Verfügung steht, hält zwar die Wirkung an, auf die Dauer kann dadurch aber nicht das Phänomen Langzeit-Gedächtnis erklärt werden.

DOMAGK:

Die Wirkung ist tatsächlich nur kurzzeitig. Wir haben mit Herrn ZIPPEL in Göttingen bei Goldfischen verglichen, wie lange ein durch aktives Training erworbener Wissensstand anhält und wie lange, wenn man dem Tier "Gedächtnismoleküle" injiziert. Bei Tieren, die aktiv gelernt hatten, ist noch nach 120 Tagen die Information meßbar. Dagegen ist der Effekt bei den Fischen, die per Injektion "gelernt" hatten, nach 7 Tagen abgeklungen. Hier dreht es sich also sicherlich um Kurzzeitwirkungen. Unserer Meinung nach handelt es sich bei den injizierten Substanzen nicht um Proteine, sondern um Peptide in einer Größenordnung von 6-15 oder bis maximal 20 Aminosäuren. Diese werden, sobald sie ins Gehirn gelangen, wahrscheinlich nach dem Prinzip der Neurotransmitter arbeiten. Ich glaube nicht, daß diese Peptide in den Zellkern über eine Reverse-Transkriptase inkorporiert werden. Ein Dauergedächtnis wird man auf diese Weise wohl kaum erreichen können.

PORCHER:

Es freut mich natürlich, daß der Wirkungsgrad der verabreichten Gedächtnismoleküle in Liposomen durch Verwendung hochgereinigten Lecithins noch verbessert werden konnte. Das haben Sie an dem zweiten Liposomen-Versuch deutlich zeigen können. Betrachtet man jedoch den Herstellungsprozeß der Liposomen, so sieht es derzeit so aus, daß nur ein geringer Prozentsatz der "Gedächtnispeptide" - wenn ich es mal so bezeichnen darf - tatsächlich in die Liposomen inkorporiert wird. Ein großer Teil schwimmt noch außen in der

Trägerflüssigkeit bzw. ist extern an die Liposomen-Membran angelagert. Die nächste durchzuführende Stufe wäre nun: Anreicherung der Liposomen mit inkorporierten Gedächtnisproteinen durch Zentrifugation. Ich bin überzeugt: Auf diese Weise kann der Wirkungsgrad entscheidend verbessert werden.

Eingliederung der Therapie
mit makromolekularen Organextrakten
in die moderne Pharmakologie

K. THEURER

Forschungslaboratorien Karl Theurer
für Organo- und Immunotherapie, Ostfildern

Die Pharmakologie ist in ständiger Weiterentwicklung (20). Forschungsergebnisse der letzten Jahrzehnte aus der Biochemie, insbesondere der Molekularbiologie und Molekulargenetik, sowie der Organ- und Transplantationsimmunologie sind bisher noch nicht in die Pharmakologie voll integriert. Ansätze in diese Richtung bestehen jedoch über die Rezeptoretheorie und die Lehre von Struktur-Wirkungsbeziehungen. Auch erkennt das Deutsche Arzneimittelgesetz (BGB 1) Organ- und Zellbestandteile ausdrücklich als Arzneimittel an. In § 2 werden genannt: Tierkörper, auch lebender Tiere, sowie Körperteile, -bestandteile und Stoffwechselprodukte von Mensch und Tier in bearbeitetem Zustand.

Das Spektrum der Wirkstoffe der makromolekularen zytoplasmatischen Organotherapie* umfaßt native molekulare Zellbestandteile von lebenswichtigen heterologen (xenogenischen) und zum Teil auch homologen (allogenen) fetalen und juvenilen Organen, wie Proteine, Nukleinsäuren (RNS und DNS), Lipide und Polysaccharide bis zu deren monomeren Untereinheiten und Bestandteilen, den Oligo- und Polypeptiden, Nukleotiden u.a. Diese werden nach einem besonders schonenden Herstellungsverfahren aus lyophilisierten Organtrockenpulvern mittels Säuredampfolyse im Vakuum bei Raumtemperatur gewonnen (37).

*) REVITORGAN-Trockensubstanzen, -Dilutionen mit und ohne Arzneimittelzusätze, -Lingual-Präparate, -Augentropfen, -Organsalben, -Liposomen.

Hersteller: vitOrgan Arzneimittel GmbH., 7302 Ostfildern 1

Daraus werden dann physiologisch gepufferte wässrige Lösungen (p_H 7,2) als Dilutionen in verschiedenen Verdünnungsstufen (mg , Pg 10^3 g \gg Pg) unter Mitverwendung von Spurenelementen (Cu, Co, Mg, Zn) und oberflächenaktiven Stoffen hergestellt. Es erfolgt eine Fraktionierung auf Molekulargewichte unter 1 Million Dalton.

Zusätzlich steigern Pharmaka die Wirksamkeit der Organsubstanzen. Oberflächenaktive Substanzen wirken als Adjuvans, verbessern die Permeabilität, vermeiden eine Reaggregation von molekularen Untereinheiten und wirken als Emulgatoren für Lipide. Der Herstellungsprozeß der makromolekularen Präparate verhindert unkontrollierte enzymatische und autolytische Abbauprozesse. Der Tropismus gewisser Organfaktoren erlaubt, organotherapeutische Wirkstoffe als Vehikel für andere Arzneimittel, z.B. Hormone und Vitamine, zu verwenden (Dilutionen "N" und Lingual-Präparate).

Bei der Zytoplasmatischen Therapie handelt es sich um ein geschlossenes System einer molekularen Organotherapie zur stufenweisen Dosierung nach immunologisch-allergologischen Grundsätzen. Durch tolerogene Dosierung mit einschleichenden Konzentrationen wird die immunologische Barriere überwunden, so daß die Organfaktoren in den Stoffwechsel geschädigter Zellen eingebaut und krankheitsbedingte Stoffwechseldefekte überbrückt werden können (40). Eine indirekte Wirkung erfolgt über Immunmechanismen und die Beeinflussung vegetativer Reaktionsabläufe.

Die Direktwirkung auf geschädigte, fehlfunktionierende Organzellen erfolgt durch Substitution von Enzymen, Nucleinsäuren sowie durch Untereinheiten und Bestandteile dieser Makromoleküle. Diese können zur Reparatur molekularer Defekte und geschädigter Regulationsmechanismen, wie auch als Matrizen für ihre eigene Reproduktion dienen. Die Zufuhr neuer biologischer Information kann eine Neu- bzw. Umprogrammierung bewirken. Bei Selbstheilungsvorgängen geht diese Reparationshilfe von gesunden Zellgeweben auf dysfunktionierende, kranke Zellen über. Bei genetischen Defekten und Molekularkrankheiten fehlen jedoch solche Faktoren; diese müssen deshalb aus gesunden Organismen zugeführt werden. Voraussetzung für eine Wirk-

samkeit von Biomolekülen ist die Spezifitäts-Erhaltung ihrer molekularen Grundstrukturen. Zu kleine Bruchstücke haben keine biologischen Spezifitätsgrade mehr, beispielsweise Aminosäuren, so daß diese nur als Bausteine für Reparaturvorgänge dienen können.

Der Organtropismus wurde durch radioaktive Markierung der Organpräparate bewiesen (16, 31). Auch ließ sich der Organtropismus über die Synthesestimulierung analoger Organe (Pankreas, Gehirn) im Tierversuch nachweisen (3). Die Resorption von organspezifischen Faktoren durch die Schleimhäute von Zunge, Skleren und Darm ist Tracer-analytisch durch Markierung mit fluoreszierenden Farbstoffen (23) und mit radioaktiven Nukliden (31) nachgewiesen.

Die Wirksamkeit einer oralen Anwendung zytoplasmatischer Faktoren konnte tierexperimentell bestätigt werden (19). In wiederholt reproduzierten Versuchen mit makromolekularen Extrakten aus Rinder-Chorion (foetaler Anteil der Plazenta) mit Konzentrationen im ng-Bereich, konnte die semikonservative DNS-Synthese um mehr als 65 %, und die reinen DNS-Repairvorgänge, nach UV-Bestrahlung, um 32 % gesteigert werden (2). Nach neueren Forschungsergebnissen aus dem Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin in Göttingen soll auch eine Korrektur von Fehlern bei der enzymatischen Synthese von Eiweißketten möglich sein (10).

Der Austausch von Untereinheiten zwischen Enzymen aus verschiedenen Organismen ist durch die Bildung von Enzymchimären bewiesen (12). Zugeführte mRNA könnte durch reverse Transkriptase als DNS ins Genom integriert (27) oder als Untereinheit durch terminale Desoxynukleotidyl-Transferase an DNS angekoppelt werden (5). Auch ein Mechanismus der Hybridisierung defekter RNS mit Poly- bzw. Oligo-Ribonukleotiden, die als Informationsmatrize dienen, und eine nachfolgende Reparatur der DNS, erscheint möglich. Schließlich ist auch an eine besondere Form der genetischen Rekombination durch Übertragung von genetischer Substanz aus Fremdorganismen, im Sinne einer Transfektion, zu denken (11). Diese könnte zu einer Ersatzprogrammierung geschädigter somatischer Zellen führen, wobei die neugewonnene Information repliziert würde. In diesem Fall handelt

es sich um eine Art molekularer Transplantation (31).

Verständlicherweise lassen sich aber biologisch positive, orthomolekularisierende bzw. euthetisierende Wirkungen experimentell nicht so leicht nachweisen wie schädigende Wirkungen. Jedoch konnten AXMANN und CHANDRA tierexperimentell in vivo die Eiweißsynthese im Gehirn mit Dilutionen aus Gehirn, und die Eiweißsynthese im Pankreas mit Dilutionen aus Pankreas in ng-Konzentrationen um mehr als 50 % weitgehend organspezifisch stimulieren (3).

Die klassischen Transplantationsexperimente von SPEMANN (3) und seiner Schule haben gezeigt, daß makromolekulare Organextrakte aus einem bestimmten Bezirk des Amphibienkeims Faktoren enthalten, die zur Differenzierung von Organanlagen führen. Insbesondere konnte ein neuraler Faktor und ein mesenchymaler Faktor isoliert werden. Beide Faktoren sind Proteine, durch deren Zusammenwirken es zur Bildung vollständiger Keimanlagen kommt. In der späteren Entwicklung lassen sich Determinationsstoffe nachweisen, so z.B. ein chondrogener Faktor und ein Nervenwachstumsfaktor mit Molekulargewichten um 60 000. Solche Stoffe dürften auch eine Einwirkung auf die Proliferation und Differenzierung von Stamm- und Vorläuferzellen für die morphologische Regeneration haben. Die Induktionsstoffe wirken wahrscheinlich über den Zellkern und aktivieren bestimmte Gene, die dann den Anstoß zur Bildung zellspezifischer Stoffe geben (18) .

Als Wirkfaktoren kommen auch Mediatoren des Stoffwechsels in Betracht, wie man sie besonders für das Immunsystem gefunden hat (1), Überträgerstoffe von Hormonwirkungen, wie z.B. das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP), einschließlich der auf- und abbauenden Enzyme der Adenyl-Zyklase und Phosphodiesterase (34), dann aber auch Regulationsstoffe des Wachstums, z.B. Chalone (6) und Prostaglandine (26) .

Wegen geringfügiger struktureller Abweichungen in der Sequenz von Aminosäuren oder Nukleotiden wirken xenogenische oder allogene makromolekulare Organsubstanzen, je nach Dosierung, immunogen oder

tolerogen bzw. immunsuppressiv. Die gewünschte immunologische Wirkung wird durch verschiedene Verdünnungsstufen der makromolekularen Organpräparate (36) erzielt. Hohe Verdünnungen erzeugen eine low-zone-tolerance in geeigneter Dosierung bzw. eine Immunsuppression. Mittlere Konzentrationen sensibilisieren, und ganz große Mengen lösen eine Immunparalyse aus.

Die immunologische Wirkung ist also ein wesentlicher Teil des therapeutischen Effekts von makromolekularen Organfaktoren. Dabei ist eine Beeinflussung des Immunsystems, unabhängig vom sensibilisierenden Antigen, durch Veränderung der gesamten immunologischen Reaktionslage ebenso möglich wie eine antigenspezifische Beeinflussung.

Bei Autoimmunkrankheiten erfolgt die Dosierung nach Gesichtspunkten der immunologischen Toleranzerzeugung durch wiederholte Injektionen von höheren Verdünnungen der Organantigene, in Art einer low-zone-tolerance, mit pg beginnend und ansteigend zum /jg-Bereich. Bei einer Insuffizienz des Immunsystems, z.B. in der Geriatrie, ist eine Stimulierung des Stoffwechsels durch Injektion von Dosen in mg-Mengen möglich. Die größeren Injektionsmengen können jedoch nur in längeren Seitintervallen wiederholt injiziert werden. Deshalb stehen von jedem Einzelpräparat, wie auch von jedem Kombinationspräparat, eine Reihe verschiedener Verdünnungsgrade zur Verfügung. Bei krankheitsbedingter Autosensibilisierung wird die Behandlung analog der spezifischen Hyposensibilisierung in der Allergologie mit hohen Verdünnungsgraden begonnen, und die Dosierung, in sich verlängernden Abständen, individualisierend gesteigert. Die immunologischen und molekularbiologischen Wirkungen benötigen zur Effektivität eine Latenzzeit. Entscheidend ist deshalb die Zeit der Einwirkung bzw. die Zeitspanne zwischen der Wiederholung der Anwendung.

Eine Furcht vor Eiweiß und Makromolekülen ist hier wegen des besonderen Lyseverfahrens, dem die Präparate unterzogen werden, und der Möglichkeit für eine individuelle Dosierung, unbegründet. Die schonende Lyse bedeutet immunologisch eine Haptenisierung (39).

Sie vermindert die Artspezifität unter Beibehaltung der Organspezifität (22). Zudem bewirkt das Lyseverfahren, wie auch die Fraktionierung auf Molekulargewichte unter 1 Million Dalton, eine Desinfektion gegen etwaige Infektionskeime und Viren (43). Trotzdem erfolgen wiederholte Sterilitätskontrollen.

Niedere Antikörperkonzentrationen und Untereinheiten von Antikörpern, die auch ins Zellinnere permeieren, können sowohl eine Aktivierung als auch eine Hemmung der Synthesevorgänge bewirken (42). Antideterminante Bezirke von Isoantikörpern, die sowohl gegen das Arzneimittel als auch gegen den Empfängerorganismus gerichtet sind, können mit Rezeptoren der Zelloberfläche reagieren. Möglich erscheint auch eine Derepression von reprimierten Genen und damit eine Syntheseaktivierung, sofern sich diese Antikörperbestandteile gegen Repressoren, d.h. Hemmstoffe der Gen-gesteuerten Synthese, richten (38). Andererseits könnte die Repression, d.h. die Hemmung der Synthesevorgänge, z.B. beim Krebs, durch antideterminante Bezirke von Antikörpern erfolgen, die gegen DNS-Anteile, insbesondere gegen die Promotoranteile von dereprimierten Tumorgenen gerichtet sind (41). Entsprechende Immunogene oder haptene Faktoren, vermutlich aber auch intrazelluläre Regulationsstoffe, werden mit fetalen Organpräparaten übertragen. Eine Einwirkung auf Synthesevorgänge erscheint auch auf Translationsebene an den Ribosomen möglich.

Zur Normalisierung gestörter Stoffwechselfvorgänge werden bei der makromolekularen Organotherapie phylogenetisch ähnliche Funktions- und Regulationsstoffe aus gesunden Individuen verwendet. Nicht benötigte Faktoren unterliegen dem normalen Metabolismus und Abbau. Die körpereigenen Regulationen werden nicht beeinträchtigt. Es ist anzunehmen, daß die therapeutische Wirkung von der Konzentration und vom Ionenmilieu der Wirkstoffe abhängt, und das Selektionsvermögen des Organismus, wie auch Feedback-Mechanismen, die therapeutische Wirkung steuern. Dabei spielen auch das pH, die Temperatur sowie chronobiologische und Zellteilungszyklen eine Rolle. Nicht zu befürchten sind schädliche Nebenwirkungen. Auch besteht keine Gefahr eines genetischen "engineering" durch pathogene Fehlinfor-

mationen, weil hier physiologische Stoffe und nicht Gene aus pathogenen Mikroorganismen, Viren oder künstliche Hybridisations- und Umwandlungsprodukte verwendet werden.

An biologischen Reaktionsabläufen sind Cofaktoren und Regelmechanismen beteiligt. Isolierte Einzelfaktoren aus Zellinhaltsstoffen sind deshalb therapeutisch meist weniger wirksam als das native Stoffgemisch. Trotzdem hat die Erforschung von Einzelfaktoren aber großes wissenschaftliches Interesse an der Aufklärung der Wirkungsmechanismen. Da jedes Cystron, d.h. jedes Gen, sowie auch jedes Operon, also jeweils zusammenarbeitende Genorte, einzeln reguliert werden, sind unterschiedliche DNS-Informationen für Repressoren mit unterschiedlicher Aminosäuresequenz erforderlich. Deshalb sind für eine biologische Therapie Gemische solcher Faktoren vorteilhaft. Für die Ansicht, daß das Ganze wirksamer sein müsse als die einzelnen Teile, die sich in der Mischung nicht nachteilig beeinflussen, gibt es viele Beispiele, so die verschiedenen Immunglobulinklassen, die Kaskade der Blutgerinnungsfaktoren und des Komplements, sowie die Enzymaktivierung in Wirkstoffgemischen. Erklärbar ist diese Tatsache durch die Fähigkeit der Großmoleküle, ihre Reaktionspartner und Rezeptoren gegenseitig zu erkennen und mit diesen zu reagieren.

Der Wirkungsnachweis der makromolekularen Organextrakte erfolgt routinemäßig durch Tierversuche (14), Bio-Assay an Zell und Gewebekulturen (8), an zellfreien Synthesystemen (15) sowie durch immunbiologische Methoden (24), z.B. dem Hämolyse-Gel-Test, ebenso aber auch durch den Phagozytose-Test. Es lassen sich auch Verfahren heranziehen, wie sie für die Titerbestimmung von antigenen Impfstoffen, unter Verwendung von standardisierten Antikörperseren, angewandt werden (2). Im Gegensatz zu Toxinen und Fremdstoffen ist zu berücksichtigen, daß die Wirkung nur an einem geschädigten oder nicht optimal wirkenden biologischen System geprüft werden kann. Die Organspezifität läßt sich nicht physikalisch-chemisch, wohl aber immunologisch-serologisch bis zum ng-Bereich durch Radioimmunassay (RIA), wie auch durch Gelpräzipitation nachweisen. Die Erstellung einer Dosis-Wirkungskurve oder einer Kon-

zentrationen-Wirkungskurve ist bei den molekularreparativen und replizierenden Wirkungsmechanismen, in gleicher Weise wie bei Immunreaktionen, die von der Reaktionslage des Patienten und einer etwaigen Vorsensibilisierung abhängen, nur bedingt möglich. Gewisse Hinweise auf die Kompetenz des Organismus zur Verwertung der zugeführten Organsubstanzen lassen sich durch anamnestische Angaben über die Reaktionsbereitschaft auf Medikamente und durch Überprüfung des Immunstatus gewinnen.

Die Auswahl der Organpräparate für Prophylaxe und Therapie erfolgt nach den patho-physiologischen Erkenntnissen unter Deutung der Anamnese, der Symptomatik und der Befunde. Diese geben Hinweise über korrelative Organbeteiligungen am Krankheitsgeschehen. Dabei sind Geschlecht und Alter des Patienten wegen der Disposition des Endokriniums zu berücksichtigen. Aufgrund der Organspezifität der verschiedenen Gewebearten und -zellen werden Faktoren aus Einzelorganen, die bei Multimorbidität und Beteiligung verschiedener Organarten kombiniert werden können, und für bestimmte Indikationen fertige Kombinationspräparate, aus verschiedenen Organarten, angewandt.

Der Vergleich der Pharmakologie von makromolekularen Organsubstanzen mit dem heute üblichen Arzneimittelschatz, erlaubt folgende Abgrenzung der Indikationen: Für die symptomatisch wirkenden Pharmaka liegen die Hauptindikationen in der Behandlung von Infektionen und akut bedrohlichen Zuständen, bei denen das Biosystem nicht mehr auf biologische Reize anspricht oder zu langsam reagiert. Dazu gehören Erkrankungen mit temporären, reversiblen Störungen des Stoffwechsels und der Organfunktionen, dann aber auch irreversible Krankheitszustände, bei denen keine Restitution mehr möglich ist. Bedrohliche Situationen sollten damit zunächst kupert werden, um so die Voraussetzungen für eine bessere Ansprechbarkeit auf die organotherapeutische Umstimmungstherapie zu schaffen. So können bei schweren Krankheitszuständen Biomechanismen blockiert sein, z.B. bei chronischen Infektionskrankheiten, allergischen und rheumatischen Erkrankungen, sowie immunopathogenen Autoaggressionskrankheiten, ebenso aber auch bei endokrinen Störungen und chroni-

sehen Organerkrankungen. Die makromolekulare Organotherapie ist also keine Notfalls-Therapie und im eigentlichen Sinne des Wortes keine anti-biotische Therapie.

Die eigentlichen Indikationen der makromolekularen Organotherapie liegen bei jenen Erkrankungen, bei denen eine Restitution durch Selbstheilungsvorgänge nicht oder nicht mehr möglich ist, wie z.B. bei genetisch bedingten Erkrankungen eines "errors of metabolism", bestimmten hereditären Krankheitsdispositionen und Entwicklungsstörungen, sowie erworbenen Stoffwechseldefekten, besonders bei chronischen und rezidivierenden Leiden und in der Geriatrie. Zu den Indikationen zählen auch iatrogene und postinfektiöse Folgeschäden. Auch genetisch bedingte Regulationsstörungen des Stoffwechsels durch chromosomale Aberrationen lassen sich günstig beeinflussen. Bei zellulären Mosaiken wird vermutlich die Proliferation und Differenzierung von Normalzellen gegenüber den chromosomal aberrenten Zellen stärker stimuliert, so daß sich die Relation zugunsten der Normalzellen verbessert. Deshalb sollte beim Down-Syndrom die Behandlung möglichst früh einsetzen (9). Es ist dann auch ein Einfluß auf die Entwicklung und Reifung des Gehirns möglich.

Eine Krankheitsprophylaxe im Sinne einer Steigerung der Resistenz gegen virale Infektionen, Intoxikationen und kanzerogene Noxen, gewinnt in unserem Zeitalter der vermehrten Umweltschädigungen zunehmend an Bedeutung. Präparationen aus dem maternalen Anteil der Plazenta konnten im Doppelblindversuch bei Verfütterung an Spontan-Tumoren erkrankenden syngenen Mäusen, wie auch nach Anwendung von Methylcholanthren und anderen Carcinogenen, die Überlebensrate um 40 % steigern (46). Die Verfütterung der Deziduapräparate erfolgte über 84 Wochen. Nachteilige Wirkungen wurden nicht beobachtet. Eine Injektionstherapie, ebenso aber auch eine dreimalige Behandlung mit Präparationen aus foetaler Leber hatte bis über 80 % Schutzwirkung (46). In der Tumorthherapie ersetzen makromolekulare Organextrakte die Methoden der unspezifischen Stimulierung des Immunsystems mittels bakterieller Infektionen, Endotoxinen und

bzw. oder chemischen Stoffen. Bei Behandlungsbeginn in einem frühen Entwicklungsstadium des Tumors konnte tierexperimentell an verschiedenen Tumorsystemen bis über 80 % vollständige Regression der Tumoren erzielt werden (46). Präparate aus dem maternalen Anteil der Rinderplazenta wirken auf Tumoren katabolisierend und auf Normalgewebe anabolisierend. Der anoxibiotische Stoffwechsel der Tumoren wird auf oxidative Vorgänge umgestellt. Nach Veröffentlichungen von MEDAWAR (25) sowie von WACKER (44), wurden mit Präparationen aus foetaler Leber bzw. mit foetalen Frischgeweben überwiegend prophylaktische Wirkungen bei Impftumoren erzielt, jedoch keine therapeutische Wirkung bei bestehenden Tumoren. Mit zytoplasmatischen Organlysaten lassen sich dagegen auch therapeutische Wirkungen erzielen. Dies spricht dafür, daß das Herstellungsverfahren für die Wirksamkeit der Präparate von Bedeutung ist.

An kontrollierten Feldversuchen bei der Fütterung von Hühnern, Schweinen und Kälbern äußerte sich eine Zufuhr derartiger Präparate bis zur Schlachtung in einer signifikant verbesserten Futterverwertung wie auch der Zunahme des Körpergewichts und der Resistenz. Die Ergebnisse waren denen bei der Verfütterung von Antibiotika und anabolen Hormonen mindestens gleichwertig (7).

Besonders wichtige Indikationen sind auch atopische Erkrankungen und die Umstimmung einer hyperergisch-allergischen Reaktionslage. Dabei ist auf eine Wirkungsumkehr von Präparaten aus foetalen und jugendlichen Organen zu achten. So hemmt z.B. foetaler Thymus die Immunreaktionen im JERNE-Test, während jugendlicher Thymus immunologisch stimulierend wirkt (32). Kombinationspräparate aus foetalen und jugendlichen Anteilen normalisieren die Funktionen nach beiden Richtungen.

Die makromolekulare Organotherapie wird seit fast drei Jahrzehnten in Praxis und Klinik angewandt. Ihre Wirkung ist statistisch an Tausenden von Behandlungsfällen in der Praxis mit einer Erfolgsquote von über 80 % (28) sowie in kontrollierten klinischen Doppelblindstudien (4, 17, 21, 29, 30, 45) nachgewiesen. Die Behand-

lung kann heute weitgehend routinemäßig durchgeführt werden, ohne Therapieschäden befürchten zu müssen.

Die experimentellen Beweise für die makromolekulare Organotherapie stammen bisher hauptsächlich aus den theoretischen Fächern und der Grundlagenforschung. Die Pharmakologie ist aber in besonderem Maße der Klinik und Praxis verpflichtet. Sie hat die Aufgabe, diese Forschungen weiterzuführen und die Ergebnisse, zum Nutzen der Kranken, in ihre Lehre einzugliedern.

Literatur:

1. Academic Press N.Y., London 1974: "The Immune System: 3. ICN-UCLA Symp. on Mol. Biol."
2. ALTMANN, H., VOTTAWA, A., THEURER, K.: Vorträge Jahrestagung 1974 und 1976. Zytoplasmatische Therapie, vitOrgan; THEURER, K.: Sympos. on DNA-Repair and late effects 1975, Wien, Edition Roetzer, Eisenstadt 1976
3. AXMANN, G.: Diplomarbeit Inst. f. Therapeut. Biochemie d. Univ. Frankfurt, 10.2.1973
4. BIRKMAYER, W.: Expertise, vitOrgan-Informationen 1/1971
5. BOLLUM, F.J.: 14. Karl August Forster Lecture, Mainz, Okt.1974
6. BÜCHER, Th., SIES, H.: "Inhibitor tools in cell research", Colloquium d. Ges. f. Biol. Chemie, Springer Verlag 1969
7. BUSCHMANN, H., WEISS, WOERNLE, II.: Tagungsberichte Zytoplasmatische Therapie 1974-76; vitOrgan Arzneimittel GmbH.
8. BUSCHMANN, H.: Tagungsbericht Zytoplasmatische Therapie 1974; vitOrgan Arzneimittel GmbH;
LETNANSKY, K.: Exp. Path. 8, 205-212 (1973); 9, 354-360 (1974); Österr. Zeitschr. f. Onkologie 2, 31-32 (1974); 2-3, 42 (1977); E H K 2 0 2 (1980);
LICHT, W.: Versuchsbericht 1964;
LIPP, R.: Z. Tierphysiol., Tierernährung u. Tierfuttermittelkunde 39, 35-47 (1977);
PAFFENHOLZ, V., THEURER, K.: Der Kassenarzt 27 (1978); J9, 1876-1887 (1979); 20, 1295-1298 (1980);

9. GEESING, H., POLLMÄCHER, C., THEURER, K.: Physik. Med. u. Rehabil. 5 (1979)
10. v.d. HAAR, GRAESER: Selecta 20, 2024 (1976)
11. HARBERS, E.: "Nucleinsäuren - Biochemie u. Funktionen": Georg Thieme Verlag, Stuttgart;
ROOSA, R.A., BAILEY, E.: J. Cell Physiol. 75, 137 (1970);
SZYBALSKI, W.: Exper. Cell Res. 18, 588 (1959);
SZYBALSKA, E.H., SZYBALSKI, W.: Proc. Nat. Acad. Sei. U.S. 48, 2026 (1962)
12. HARTMANN, G.R.: Angew. Chem. 88, 197-203 (1976)
13. HOFSCHEIDER, P.H.: "Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin": Enke, Stuttgart (1979), ISBN 3-432-90851-2
14. Inaugural-Dissertationen aus der Vet.Med. Fakultät der Univ. München: FISCHER, G. (1960); RONNEBERGER, II. (1961); BERNS, S. (1962); SAMBRAUS, H.-H. (1965); MISSEL, W. (1966); LANGHANS, U. (1966); EICHER, E. (1967); SCHACHTEL, E. (1968); BEITZEL, F. (1977); HEMPT, M. (1977);
aus der Univ. des Saarlandes: FORCHER, P. (1979); SCHERER, K. (1978);
aus der Univ. Tübingen: GEHRING, H. (1971);
aus der Univ. Freiburg/Breisgau: HOVESTADT, I. (1975).
HAAS-ANDELA, H.: Tagungsbericht Zytoplasmat. Therapie 1975, vitOrgan Arzneimittel GmbH.;
WIGGE, B.: Kleintierpraxis 4, 131-136 (1975)
15. JACHERTZ, D. JACHERTZ, B. und MAY, G.: Med. Klin. 58, 752-754 (1963); LETNANSKY, K.: siehe Nr. 8
16. JACHERTZ, D.: Versuchsbericht in: 25 Jahre Zytoplasmatische Therapie, Leitfaden 1979;
BYRNE: Medical Tribune 12a (1969)
17. JANSEN, W., BRÜCKNER, G.W.: Psycho 4/79; Neurol. Psychiat. 5, 214-220 (1979)
18. KARLSON, P.: Kurzgefaßtes Lehrbuch der Biochemie 378-379 (1972) Thieme-Verlag
19. KRAFT, H.: EHK 6 (1972)
20. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie; Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1974)

21. LACIINIT, K.S.: EHK 3, 215 (1979);
FUCHS, J.: Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde 6, 715-878 (1979)
22. v. MAYERSBACH, H.: Vortrag Jahrestagung Zytoplasmat. Therapie 1965; vitOrgan Arzneimittel GmbH.
23. v. MAYERSBACH, H.: Expertise, Vortrag Jahrestagung Zytoplasmat. Therapie 1968
24. MAYR, A., BUSCHMANN, H.: vitOrgan-Informationen 1/1971;
THEURER, K.: Krebsgeschehen 4 (1977);
WRBA, H.: persönliche Mitteilung.
25. MEDAWAR, P.B., HUNT, R.: Nature Vol. 271, 164-165 (1978)
26. MTP-Press: Lancaster 1976; Advances in Prostaglandin research X, XIII (1976)
27. PENNER, P.E., COHEN, L.H., LOEB, L.A.: Nature New. Biol. 232, 58-61 (1971)
28. PETER, H.: Tagungsbericht Zytoplasmat. Therapie 1970, S. 19 ff.
MICHALEK, H.L., vitOrgan-Informationen 1/1970
29. RETT, A.: Z. Kinder-Jugendpsychiatrie 1, 156-170 (1973); Tagungsbericht Zytoplasmat. Therapie S. 26 (1974), vitOrgan Arzneimittel GmbH.
30. SCHUH, E.: Zahnärztl. Praxis 3, 63 (1974)
31. SEIFERT, J., GANSER, R., PFLEIDERER, A., BRENDEL, W.: Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 175, 795-798 (1979)
32. SORKIN, E.: Expertise 1969 - vitOrgan-Informationen 1/1971
33. SPEMANN, H.: Arch. Entwicklungsmechanik 43, 448-555 (1918)
34. SQUIBB and Sons: Cyclic AMP 1957-1969; Research and Development, New Brunswick, New Jersey 08903
35. THEURER, K.: Therapiewoche 5/6, 132 (1955)
36. THEURER, K.: Therapiewoche 7/8, 171 (1955)
37. THEURER, K.: DBP 1090821;
GRAUL, E.H., RÜTHER, W., STEINER, B.: Med. Kl. 17, 691-694 (1964)
38. THEURER, K.: Physikal. Med. u. Rehabil. 9 (1966)
39. THEURER, K.: Physikal. Med. u. Rehabil. **6**, 127-130 (1971);
Zeitschr. f. Arztl. Fortbildung, Berliner Ärzteblatt 1 (1969)
40. THEURER, K.: ZfA 5, 234-237 (1972)
41. THEURER, K.: Selecta 42, 3468 (1977)
42. THEURER, K.: Krebsgeschehen 6, 157-160 (1978)

43. THEURER, K.: Verfahren zur schonenden Sterilisation
DBP 2944278, 2 (1979)
44. WACKER, A.: Naturwissenschaften 66, 628 (1979)
45. WEINMANN, H.: Tagungsberichte Zytoplasmat. Therapie, 1978 und.
1979
46. WRBA, H.: Persönl. Mitteilung;
MUNDER, P.G.: EHK 3, 201 (1980)
THEURER, K.: Krebsgeschehen 1980 (in Druck)

Prophylaxe und Therapie
von Präkanzerosen und Malignomen
mit makromolekularen Organextrakten

K. THEURER

Forschungslaboratorien Karl Theurer
für Organo- und Immunotherapie, Ostfildern

Die Basis für jede Neuentwicklung von Arzneimitteln und Behandlungsmethoden ist auch in der heutigen naturwissenschaftlichen Medizin noch immer die Empirie. Um Suggestion und psychosomatische Einflüsse auszuschalten, müssen dann aber die empirisch gewonnenen Ergebnisse durch reproduzierbare Tierversuche und Grundlagenversuche an menschlichen Zellkulturen und zellfreien Synthesystemen fundiert werden. Dies gilt auch für die Onkologie, insbesondere aber für die Tumorphylaxe, weil diese am Menschen aus ethischen Gründen nicht zu beweisen ist. Wenn auch die Ergebnisse solcher Experimente nicht absolut auf den Menschen übertragbar sind, bleibt ohne experimentelle Untermauerung eine echte therapeutische Wirkung am Menschen so lange fragwürdig, bis umfangreiche, langwierige Statistiken von kontrollierten klinischen Doppelblindstudien die Wirkung bestätigen. In einer 3. Phase der Beweisführung wird man dann versuchen, die Wirkungsmechanismen aufzuklären, um nach Möglichkeit die Wirksamkeit einer Therapie noch zu optimieren.

Die 3 Phasen der Entwicklung: Empirie, Grundlagenversuche und Aufklärung der Wirkungsmechanismen, hat auch die makromolekulare Zytoplasmatische Therapie mit Organextrakten* durchlaufen (19). Ich möchte nun zunächst über einige experimentelle und klinische Ergebnisse berichten, bevor ich auf die praktische Anwendung und die Wirkungsmechanismen eingehe.

*) Revitorgai[^]Trockensubstanzen, -Dilutionen mit und ohne Arzneimittelzusätzen, Lingualpräparate u.a., Revitorgan-Serum-Activator.
Hersteller: vitOrgan Arzneimittel GmbH., D-7302 Ostfildern-Ruit

Eine Tumorphylaxe erscheint aufgrund von Langzeitstudien mit makromolekularen Organextrakten an Inzuchttieren, mit Suszeptibilität für Tumorbildung, möglich. In einem Doppelblindversuch am Krebsforschungsinstitut der Universität Wien, der über 84 Wochen mit 3 verschiedenen Gruppen von spontan an autochthonen Mammatumoren erkrankenden Inzuchtmäusen durchgeführt wurde, wie auch bei Krebserzeugung durch Kanzerogene während der prophylaktischen Anwendung, überlebten mehr als 40 % der Tiere, wenn dem Futter ma-

-9

terne Plazenta (Dezidua) in einer Konzentration von 10 g/g Trockenfutter zugesetzt wurde. Bei den Gruppen ohne Plazentazusatz und denjenigen mit Zusatz von foetaler Plazenta (Chorion) verstarben alle Tiere (23).

In einem weiteren Versuch an Mäusen wurde durch Injektion von 0,25 mg Methylcholanthren eine Tumorbildung ausgelöst. Ohne Behandlung gingen die Tiere nach 36 Wochen ein. Dagegen überlebten 40 % jener Tiere, denen 3mal in 14tägigem Abstand jeweils 0,1 ml eines wässrigen Extrakts aus Dezidua parenteral injiziert wurde (24). Auch in einem Vergleichssystem, der diaplazentaren Kanzerogenese durch Äthylnitrosoharnstoff, waren die Ergebnisse hochsignifikant.

F. ANDERS, Universität Gießen, hat bei spontan an Melanomen erkrankenden Zahnkarpfen die schützende Wirkung von Dezidua-Präparationen feststellen können. Die Wirkstoffe wurden dem Aquariumwasser in Verdünnungen von 10^{-9} zugesetzt (2, 3).

G. WERTH, Universität Homburg, konnte die präventive Lebenszeitverlängernde Wirkung von Rinderdezidua bei Sarkom-WE-11-tragenden Ratten nachweisen (21). Auch liegen umfangreiche Versuchsergebnisse von LETNANSKY (5) über die prophylaktische und therapeutische Wirkung dieser speziell aufbereiteten Organlysate* in Tierversuchen vor (Abb. 1).

*) DBP 1 090 821

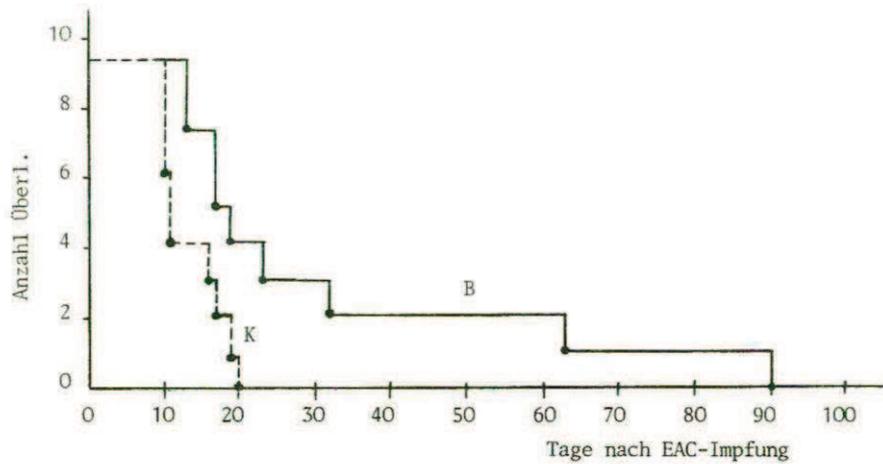


Abb. 1:

Absterbekurve von Mäusen nach Inkubation mit Ehrlich-Aszites-Tumorzellen.

B: Inkubation der Tumorzellen vor der Überimpfung mit Inhibitorfraktion aus Sephadex-G-100-Chromatographie (12).

K: Kontrolle; Inkubation mit Elutionspuffer.

(LETNANSKY, K.: *Erfahrungsheilkunde* 29 (1980) 3, 202)

P. MUNDER, Max-Planck-Institut für Immunologie, Freiburg, konnte mit unseren Präparationen aus foetaler Rinderleber im prophylaktischen Tumorversuch 70 % der Mäuse am Leben erhalten. Die Applikation der Präparationen erfolgte am -10., -8. und -4. Tag vor Überimpfung von 10^{10} Zellen eines Methylcholanthren-induzierten Tumors. Diese Ergebnisse waren an verschiedenen Tumorsystemen reproduzierbar (11).

Geradezu spektakulär waren die therapeutischen Ergebnisse mit foetaler und juveniler Rinderleber: Am +5., +7. und +9. Tag nach Tumorüberimpfung verabreichte Leberextrakte (0,5 mg) führten zu

einer 80 %igen Tumorheilung, während in der Kontrollgruppe alle Tiere eingingen. Auch diese Ergebnisse waren an verschiedenen Tumorsystemen reproduzierbar (11).

Die Ergebnisse einer prophylaktischen Tumorschutzwirkung durch Lebergewebe werden durch Arbeiten von F.B. MEDAWAR (9) und von A. WACKER (20) bestätigt. Diese Versuche wurden mit syngenem Präparaten aus foetalen Zellgeweben der gleichen Inzuchtrasse bzw. daraus gewonnenen zytoplasmatischen Extrakten ohne Zellkerne durchgeführt. Der Wirkungseffekt war geringer als bei den Versuchen von MÜNDER, der xenogene, d.h. heterologe Präparate von einer anderen Tierart verwendete. Im Gegensatz zu MÜNDER konnten MEDAWAR und WACKER jedoch praktisch keine therapeutische Wirkung nach Überimpfung der Tumorzellen erzielen. Folgendes kann daraus geschlossen werden: Entweder sind die heterologen Faktoren wirksamer als syngene Faktoren oder aber kommt der Wirkungsunterschied durch das besondere Aufschließungsverfahren, die Säuredampflyse im Vakuum bei Raumtemperatur zustande. Letzteres konnte MÜNDER, durch Wirkungsvergleich mit Frischgewebe und nur lyophilisierten Präparationen nachweisen.

Therapeutisch, d.h. bei Anwendung nach der Promotion des Tumors, wurden mit Dezidua bei Versuchstieren ebenfalls sehr gute Ergebnisse durch ANDERS (2, 3), LETNANSKY (5) und WRBA (24) berichtet. Auch an menschlichen Zellkulturen ließ sich die tumorhemmende Wirkung übereinstimmend von LETNANSKY (5), LIPP (7), PAFFENHOLZ und THEURER (12) nachweisen. Interessant war hier: Zytoplasmatische Präparate, auch aus anderen Organarten, stimulierten diploide gesunde Zellen im Wachstum, heteroploide Tumorzellen blieben hingegen entweder unbeeinflusst oder aber wurden gehemmt. Als mögliches Wirkprinzip von Deziduaextrakten wies LETNANSKY eine Stimulierung des oxydativen Stoffwechsels von Tumorzellen nach und Frau WERTH (22) eine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung. In einem zellfreien Synthesystem konnten D. JACHERTZ, B. JACHERTZ und G. MAY (4) die Hemmwirkung des mütterlichen Anteils der Plazenta demonstrieren.

Seit Jahren liegen umfangreiche therapeutische Erfahrungen über die Tumorbehandlung mit unseren Präparaten aus Klinik und Praxis der Human- und Veterinärmedizin vor (13). M. LINDENMANN (20), Krankenhaus der Stadt Wien-Lainz, berichtete über 66 Patienten, die bereits ausbehandelt und im prognostisch infausten Stadium der Metastasierung waren. Die Behandlung erfolgte nach folgendem Schema:

Abb. 2:
Behandlungsschema für Neoplasmen

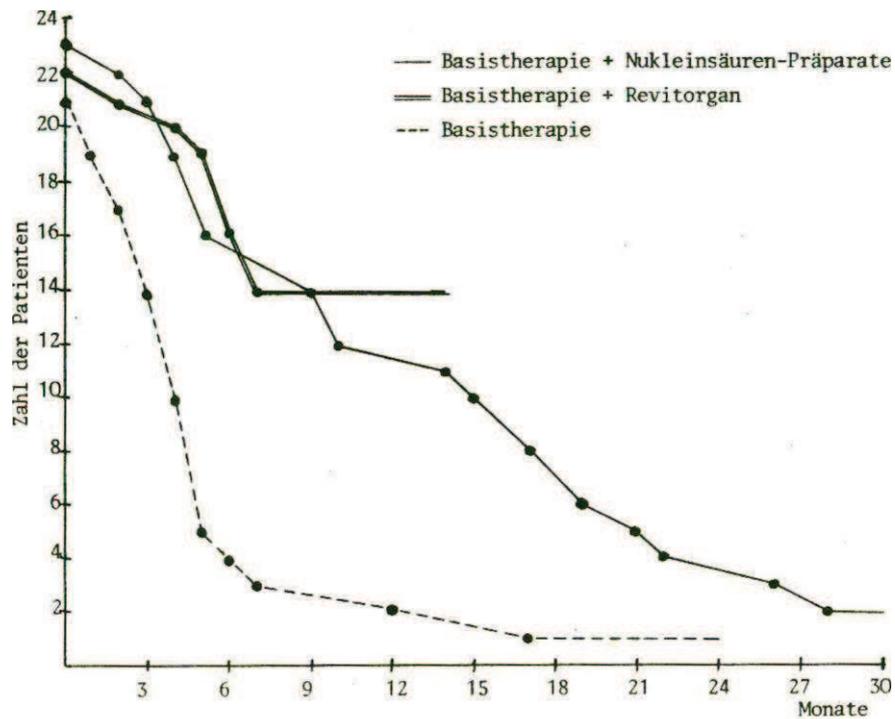
1. Blutentnahme für Immunstimulation (GS) in Venüle mit Zitratzusatz			
1. Tag	REVITORGAN-Trs. Nr. 29	(foetaler u. juveniler Thymus)	i.m.
2. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.v.
3. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.v.
4. Tag	REVITORGAN-Trs. Nr. 1 + Nr. 19	(foetale Leber) (Testes ohne Spermatogenese bei Mammatumoren)	i.m.
5. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml s.c. oder i.m.
6. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
7. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
8. Tag	REVITORGAN-Trs. Nr. 66	(Organmischung)	i.m.
10. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml s.c. oder i.m.
12. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
14. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml i.m.
16. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
19. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml i.m.
21. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
24. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml i.m.
27. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
30. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml i.m.
33. Tag	REVITORGAN-Dil. Nr. 70 Stärke II	(Dezidua)	5 ml i.m.
37. Tag	GS Verdünnung 10^{-4}		0,5 ml s.c.
42. Tag	GS Verdünnung 10^{-4}		0,5 ml s.c.
49. Tag	GS Verdünnung 10^{-2}		0,5 ml i.m.
57. Tag	GS Verdünnung 10^{-2}		1,0 ml i.m.

An den injektionsfreien Tagen und zur Nachbehandlung REVITORGAN-Lingual Nr.66 2 mal täglich 5 - 8 Tropfen.

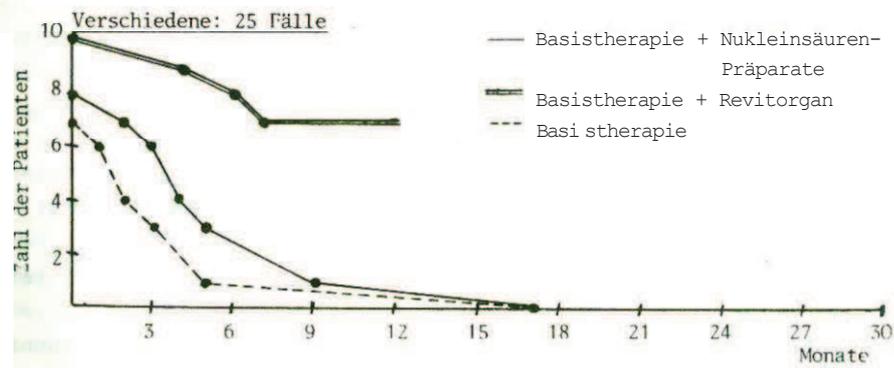
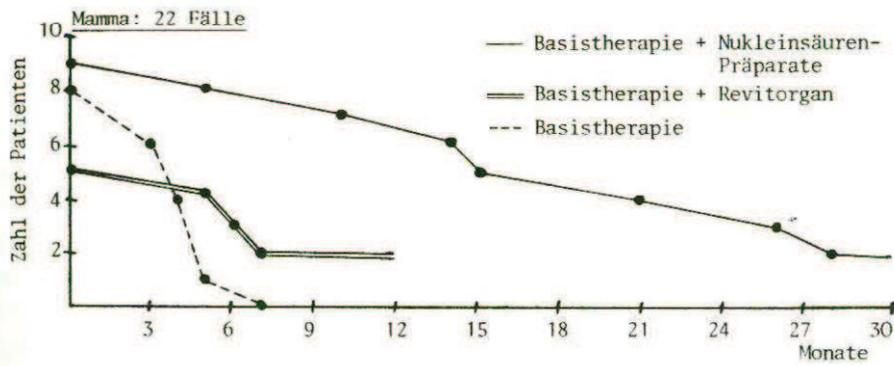
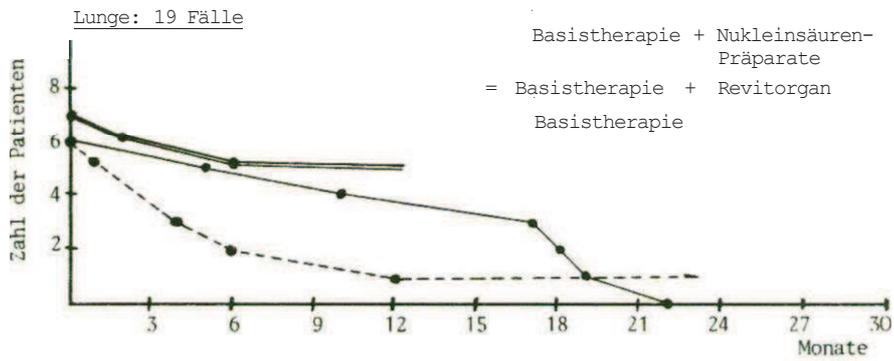
Die gesamte Injektionskur sollte in Abständen von einem viertel bis einem halben Jahr wiederholt werden. Zwischenzeitlich kann REVITORGAN-Lingual Nr.66 zunächst 2 mal tgl., dann 1 mal tgl. und schließlich jeden 2. Tag 1 mal tgl. 5 - 8 Tropfen verordnet werden.

21 der desolaten Fälle erhielten lediglich eine Basistherapie mit Substitution von Enzymen, Spurenelementen, Vitaminen u.a., 23 Patienten eine Kombination der Basistherapie mit Nukleinsäurepräparaten und 22 eine Kombination der Basistherapie mit Revitorgan und der Modifikation der Eigenblutbehandlung unter Mitverwendung von Revitorgan-Serum-Activator (15). Diese "Gegensensibilisierung" dient in höherer Dosierung zur Stimulierung des Immunsystems. Das Schema kann aufgrund der Versuche von MUNDER erweitert werden, indem am -8. und -4. Tag vor Beginn des angegebenen Schemas jeweils der Inhalt von 2 Ampullen der Präparate aus Leber (Nr. 1 oder Nr. 26), gelöst in physiologischer NaCl-Lösung, i.m. injiziert werden. Derartige Injektionen können auch 8 und 4 Tage vor einer geplanten Operation durchgeführt werden.

Abb. 3: 66 Fälle mit generalisierter Metastasierung



Aufschlüsselung nach Sitz des Primärtumors



Aus der Überlebenskurve ist trotz der relativ kurzen Beobachtungszeit mit der Kombination Basisbehandlung + Revitorgan + modifizierte Eigenblutbehandlung, eine wesentlich verlängerte, und für den Patienten subjektiv verbesserte Lebenserwartung zu ersehen. Die Basistherapie allein war nicht ausreichend. LINDENMANN ist deshalb der Meinung: Die Kombinationstherapie sollte möglichst früh, schon vor oder gleich nach der Operation, angewandt werden. Es erscheint möglich, die Behandlung zu vereinfachen, indem man sich auf die Injektionen der höheren Organkonzentrationen (Trockensubstanzen) und die linguale Therapie beschränkt und gegebenenfalls auch auf die Eigenblutbehandlung verzichtet. Zur Tumor-Prophylaxe könnte eine Injektionskur in Abständen von 9 - 12 Monaten ausreichen.

Die Wirkungsmechanismen der Prophylaxe und Therapie mit makromolekularen Organextrakten sind komplexer Natur. Zugrunde liegt die genetische Regulationstheorie der Tumorentstehung. Diese fußt auf den Erkenntnissen über die Genregulation von enzymatischen Prozessen (JAKOB, LWOFF und MONOD). Für Krebszellen sind Eigenschaften des autonomen Wachstums, unregelmäßige, z.T. amitotische Zellteilung, veränderte Kern-Plasma-Relation, Verlust der Kontakthemmung, aerobe Glykolyse, vermehrter RNA-Gehalt im Zytoplasma, kennzeichnend. Diese Prozesse lassen sich auf eine Derepression, d.h. Aktivierung von Tumorgenen, die im Embryonalleben bestimmte Funktionen ausübten und dann unterdrückt werden, zurückführen. Der unphysiologische Zeitpunkt der Genreaktivierung ist für die Tumorentstehung verantwortlich. Es ist deshalb anzunehmen: Genabschnitte, die diese Funktionen codieren und die bei der weiteren Entwicklung unterdrückt sind, treten bei einer Transformation zur Tumorzelle wieder in Aktion. Die allgemeine Theorie der mutagenen Krebsentstehung kann deshalb weniger auf Strukturgene zutreffen als auf Regulator- und Operatorgene. Regulatorgene sind Informationsträger für die Bildung zytoplasmatischer Produkte, vermutlich relativ stabile Proteine, die über das Operatorgen repressiv auf Strukturgene einwirken. Folgerichtig werden Produkte der Regulatorgene als interne Repressoren bezeichnet. Werden diese Repressoren durch mutierte Regulatorgene nicht mehr korrekt synthetisiert, treten die Tumor-

gene in Aktion.

Die Dereprimierung von Tumorgenen, die für krebsige Eigenschaften verantwortlich sind, bedeutet einen Verlust an Differenzierung. Nach H. SPEMANN (14) bewirken foetale Zellfaktoren Differenzierungsreize, die für eine Krebsprophylaxe und -therapie entscheidend sind. Weiter spielt die Anregung immunologischer und phagozytärer Vorgänge, die Durchbrechung der Immuntoleranz gegen karzinoembryonale Antigene (K. THEURER (17)) ebenso wie die Normalisierung von Organfunktionen, dem Endokrinium, dem Mesenchym, dem Vegetativum sowie der immunologischen Reaktionslage, eine Rolle. Auch die Aktivierung von DNS-Repair-Vorgängen (1), Stimulierung der Synthese von Interferon (8), Chalonen (25) und weiteren tumorhemmenden Prinzipien, wie z.B. dem Tumor-Nekrosis-Faktor und dem Hemmfaktor der Metastasierung, sind in Betracht zu ziehen.

Ich vermute: Es gibt einen besonderen Reparationsmechanismus für den adaptativen Ersatz von mutierten Regulationsstoffen der gesteuerten Synthese. Dieser ist als persistierender Vorläufermechanismus einer Antikörpersynthese aufzufassen. Dabei kämen die variablen, antideterminanten Bezirke der Immunglobuline als blockierende Regulationsstoffe zur Wirkung. Antideterminante Antikörperfragmente gegen Promotoranteile der Tumorgene würden analog den Repressoren die Tumorgene blockieren. Da es vermutlich mehrere Tumorgene gibt, sind auch unterschiedliche Repressoren bzw. Regulatortogene erforderlich. Andererseits bewirken Antikörperfaktoren gegen Repressoren eine Derepression und das Einschalten von Genfunktionen, wie es bei Regenerationsvorgängen erwünscht ist. Die bisherigen Vorstellungen über die Tumorummunologie würden durch diese Theorie der adaptativen Ersatzregulation sinnvoll ergänzt. Jede allgemeine chemische oder endokrine Immunsuppression beeinträchtigt die adaptative Regulation und vergrößert die Inzidenz für eine Tumorentstehung. Bekanntlich steigt diese Inzidenz um das Hundertfache durch allgemeine Immunsuppression z.B. nach Organtransplantationen. Bei Anwendung von biomimetischen spezifischen Methoden in Form der Zytoplasmatischen Organotherapie und der modifizierten Eigenblutbehandlung, wurden hingegen keine krebsför-

dernden Wirkungen, noch schädliche Nebenwirkungen beobachtet.

Für die genetische Regulationstheorie und für die Differenzierungstheorie der Krebsentstehung gibt es heute viele experimentelle Beweise (2). Die adaptative Regulation als Reparationsvorgang nach Mutationen von Regulatorgenen ist noch nicht bearbeitet. Danach könnten foetale Organsubstanzen direkt auf die Tumorzelle einwirken oder aber über einen indirekten Mechanismus, durch Induktion solcher adaptativer Regulationsstoffe.

Präkanzerosen kommen, nach diesen Ansichten, durch partiell dereprimierte Tumorgene zustande, wobei Reizzustände eine vollkommene Dereprimierung und somit Transformation zum Tumor auslösen. Diese Auffassung verträgt sich deshalb mit der Vorstellung PISCHINGER's, daß Krebs durch chronische Hyperregeneration, aufgrund einer vegetativen Regulationsstarre im mesenchymalen System der Grundregulation, entsteht. Es genügt also nicht, die Präkanzerosen chirurgisch zu entfernen, vielmehr müssen Reizzustände beseitigt und dereprimierte Tumorgene durch Hemmstoffe blockiert, sowie sich neubildende Zellen zur Differenzierung gebracht werden. Da auch Hyperfunktionszustände bzw. Fehlfunktionen des Immunsystems einen chronischen Reiz bedeuten, ist die Normalisierung der Funktion des Immunsystems durch gezielte Immunsuppression notwendig. Hingegen kann eine ungezielte Immunsuppression die Krebsentstehung begünstigen. Andererseits müssen auch das Endokrinium und die erkrankten Organe beeinflußt werden.

Als Beispiel häufig zum Krebs führender Autoimmunerkrankungen mag die Colitis ulcerosa dienen, die sich durch die geschilderten Behandlungsmethoden günstig beeinflussen und sogar ausheilen läßt. Hierüber liegen von verschiedener Seite Erfahrungsberichte vor (W. DE MEYER und H. WIRSAM (10)). Die Gegensensibilisierung als modifizierte Eigenblutbehandlung muß bei derartigen Autoimmunerkrankungen zunächst desensibilisierend, beginnend mit hohen Verdünnungen in kürzeren Zeitabständen, erfolgen. Hingegen sind bei Tumoren hohe Konzentrationen in größeren Abständen von mehreren Tagen, im Sinne einer Immunprovokation zu applizieren. Zur Organo-

therapie bei immunopathogenen Erkrankungen kommen Präparate aus Thymus, Chorion, Nebenniere, Gelbkörper, jugendlicher Hoden, Zwischenhirn sowie die jeweilig unmittelbar erkrankte Organart - bei der Colitis als foetaler Darm - in Betracht. G. GILLISSEN hat experimentell bestätigt, daß Clorion-Präparate das Immunsystem dämpfen und Dezidua-Präparate stimulieren.

Nobelpreisträger PAULING fordert als Therapie eine Orthomolekularisierung. Die makromolekulare Organotherapie kommt diesem Ideal einer physiologisch angepaßten Heilweise sehr nahe, weil hier funktionell gleichartige oder phylogenetisch ähnliche Biomoleküle substituiert oder induziert werden, die der Organismus integrieren kann. Es handelt sich deshalb um eine biomimetische Therapie, die die natürlichen Heilungsvorgänge unterstützt.

Zusammenfassung:

Eine Tumorphylaxe mit makromolekularen Organpräparaten aus dem maternalen Anteil der Plazenta, wie auch aus foetaler Rinderleber, scheint, aufgrund von Langzeitstudien an Inzuchttieren mit Suszeptibilität für Tumorbildung, möglich. Therapeutische Wirkungen bei Malignomen wurden an Versuchstieren sowie in Klinik und Praxis der Human- und Veterinärmedizin erzielt. Der Organo- und Immunotherapie bei Neoplasmen liegen folgende theoretischen Grundlagen und Wirkungsmechanismen zugrunde:

- A) Die genetische Regulationstheorie der Tumorentstehung (K. THEURER, 1965) und der adaptative Ersatz von mutierten Regulatorgenen und Repressoren,
- B) Differenzierungsreize durch foetale Zellfaktoren,
- C) Anregung von immunbiologischen und phagozytären Vorgängen, Durchbrechung der Immuntoleranz gegen Carzino-embryonale Antigene,

- D) Normalisierung von Organfunktionen, dem Endokrinium, dem Mesenchym, dem Vegetativum,
- E) DNS-Repairvorgänge, Stimulierung der Synthese von Interferon, Chalonen und anderen tumorhemmenden Prinzipien, wie z.B. dem Tumor-Nekrosis-Faktor nach S. GREEN und dem Hemmfaktor der Metastasierung nach S. SEGAL und E. GORELIK.

Literatur:

1. ALTMANN, H. WOTTAWA, A. u. THEURER, K.: "Beeinflussung von Repairmechanismen durch hochmolekulare Organextrakte." Symposium über DNA-Repair and late effects Dec. 1975, Wien, Edition Roetzer, Eisenstadt 1976.
2. ANDERS, F., SCHOLL, M., SCHARTL, M.: Xiphophorus als Modell in der Krebsforschung: Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin. Enke-Verlag, Stuttgart 1979.
3. HAAS-ANDELA, H.: Genetisches Inst. d. Univ. Gießen: Bericht Jahrestagung Zytoplasmatische Therapie 1975.
4. JACHERTZ, D., JACHERTZ, B. und MAY, G.: "Prüfung der Wirksamkeit von Organextrakten an einem zellfreien System aus Hela-Zellen." Med. Klin. J₈ (1963) 752-754.
5. LETNANSKY, K.: "Placental Regulators of cell metabolism and their effects in normal and Cancer cells." Exp. Path. (1973) 205-212;
"Tumor specific factors of the Placenta and cell proliferation." Exp. Path. 9 (1974) 354-360;
"Factors from placenta with influence on cellular proliferation." Österr. Zeitschr. f. Onkologie **2** (1974) 31-32;
"Versuche zur Charakterisierung eines tumorspezifischen Inhibitors aus dem mütterlichen Anteil der Rinderplazenta." Österr. Zeitschr. f. Onkologie Vol. 4 (1977) H. 2-3, 42;
"Die Regulation der Zellproliferation in normalen und maligne entarteten Zellen." Erfahrungsheilkd. 29 (1980) H. 3, 202.
6. LINDENMANN, M.: "Die Stellung der makromolekularen Organotherapie in der Onkologie." Der Kassenarzt 2Q (1980) H. 10;

- Erfahrungsheilkd. 29 (1980) H. 3, 217.
7. LIPP, R.: "Die Wirkung von Hühner-Hmbryonalextrakten (unterschiedlicher Herstellung) auf Gewebe und Zellen in Kultur." Z. Tierphysiol., Tierernährung u. Futtermittelkunde 39 (1977) 35-47.
 8. MAYR, A.: Expertise über die Stimulierung von endogenem Interferon bei Kaninchen durch vitOrgan-Präparate. Inst. f. Mikrobiol., Infektions- u. Seuchenmedizin d. Univ. München, Nov. 1975.
 9. MEDAWAR, P.B., HUNT, R.: "Vulnerability of methylcholanthrene induced tumors to immunity aroused by syngenic foetal cells." Nature Vol. TT_ (1978) 164-165.
 10. DE MEYER, W. und WIRSAM, Ii.: "Zytoplasmatische Therapie und Gegsensensibilisierung bei Colitis mucosa und ulcerosa sowie Morb. Crohn u. Divertikulitis-Divertikulose." Erfahrungsheilkd. 29 (1980) H. 3, 229.
 11. MUNDER, P.G.: "Induktion einer Immunantwort gegen tumortragende Mäuse mit heterologen foetalen Antigenen." Erfahrungsheilkd. 29 (1980) H. 3, 201.
 12. PAFFENHOLZ, V., THEURER, K.: "Einfluß von makromolekularen Organsubstanzen auf menschliche Zellen in vitro. I. Diploide Kulturen." Der Kassenarzt 24 (1978); "II. Tumorzellkulturen." Der Kassenarzt J9 (1979) 1876-1887.
 13. REUTER, H.J.: "Die multifaktorielle immunologische Krebstherapie in der Urologie." Helv. chir. Acta (1976) 279-283. Tagungsberichte Zytoplasmatische Therapie 1954 - 1979.
 14. SPEMANN, H.: Arch. Entwicklungsmechanik 43 (1918) 448-555; s.auch KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Thieme-Verlag, Stuttgart 1972, S. 378-379.
 15. THEURER, K.: "Zur Auswirkung von Antikörperseren auf schon vorhandene gleichartige Antikörpertiter." Ärztl. Forschung 1_ (1956) S. 11/1-11/2; Medizinische 44 (1956) 1569-1572; "Modifikation der Eigenblutbehandlung - Die Gegsensensibilisierung und die Behandlung mit Antikörperfragmenten." Physik. Med. und Rehabil. (1974) H. 12, 266-268; H. 2 und 11 (1968).

16. THEURER, K.: "Krebstherapie mit Deziduaextrakten auf der Basis neuerer Erkenntnisse der experimentellen Genetik." Med. Klin. 47 (1965) 1909-1911;
"The anticancerous effect of macromolecular extracts from the maternal portion of the placenta." Ninth internat. Cancer Congr. Oct. 1966, Tokyo Abstract 0730;
"Multifaktorielle Krebstherapie mit hochmolekularen Organextrakten und tumortropen Antikörperfragmenten." Physik. Med. u. Rehabil. 6 (1971) 127-130.
17. THEURER, K.: "Multifaktorielle Krebstherapie mit hochmolekularen Organextrakten und tumortropen Antikörperfragmenten." Phys. Med. und Rehab. (1971) H. 6, 127-130; (1968) H. JJ, 306-309.
18. THEURER, K.: "Sind monovalente Antikörper u. Antikörperfragmente Derepressoren bzw. Repressoren der genetischen Synthesemechanismen und der Zellproliferation." Krebsgeschehen TO (1978) H. 6, S. 157-160;
"Tumor-Therapie. Ketzerische Thesen." Selecta (1977) H. 39, **2800**;
"Ist die Kanzerogenese umkehrbar?" Selecta (1977) H. 42, 3468.
19. THEURER, K.: "Organotherapeutische Adjuvantien in der immunologischen Krebsprophylaxe und Therapie." Krebsgeschehen £ (1977) 85-89;
25 Jahre Zytoplasmatische Therapie - Leitfaden 1979.
20. WACKER, A.: "Karzinom-Immunität bei Mäusen nach Gabe von Mäuse-Embryo-Homogenaten." Naturwissenschaften 66 (1979) 628.
21. WERTH, G.: Univ. d. Saarlandes, Homburg: Bericht Jahrestagung 1975.
22. WERTH, G.: Inauguraldissertation: FORCHER, P. u. SCHERER, K.: "Einfluß von Rinderplazentaextrakten (Dezidua und Chorion) auf die oxidative Phosphorylierung von Mitochondrien eines Walker-Karzinoms und zweier bösartiger Sarkome bei Ratten." Fachbereich 3 - Theoretische Medizin - Fachrichtung biochemische Tumorforschung d. Univ. d. Saarlandes, Homburg 1979.
23. WRBA, II.: Persönliche Mitteilung.
24. WRBA, "Krebsverhütung und Verhinderung der Krebsentstehung." österr. Ärztezeitung 29 (1974) H. 23, 1351.

25. WRBA, H., LETNANSKY, K., MICKSCHE, M. und PAUKOVITS, W.:
"Regulation durch Zellinhaltsstoffe." *Erfahrungsheilkd.* 28
(1979) H. 8, 15;
BÜCHER, Th., SIES, II.: "Inhibitor-tools in cell-research."
Colloquium d. Ges. f. Biol. Chemie, Springer 1969.

Die Stellung der makromolekularen Organotherapie
in der Onkologie

M. LINDENMANN

Facharzt für Lungenerkrankungen
Wien

Bei der gigantischen Weiterentwicklung aller Fachgebiete in den letzten zwei Jahrzehnten zeichnet sich immer mehr der Trend zu einer Überspezialisierung, vor allem bei der apparativen Medizin, ab. Nun wird kein vernünftig denkender Mensch den Spezialisten in Abrede stellen wollen, die Ausbildung unseres Nachwuchses darf dabei aber nicht dahin ausarten, nurmehr fachliche "Scheuklappenmediziner" zu züchten, unter sträflicher Vernachlässigung der alten Schulweisheit, den Menschen als Ganzes zu betrachten.

Da die Maschine den Menschen nie wird voll ersetzen können, muß es zwangsläufig zu immer häufigeren Fehlinterpretationen kommen und zwar in erster Linie bei unseren chronisch Kranken.

Wen nimmt es da Wunder, daß im Zeitalter der Massenmedien keine Woche vergeht, ohne daß Ärzte in Tageszeitungen angegriffen, neue Heilbehandlungen und Mittel publiziert werden im Glauben, den davon betroffenen Kranken etwas Gutes zu tun, in Wirklichkeit aber durch die Vielfalt der Publikationen zu einer totalen Verunsicherung des Patienten beitragen, weil die propagierten Methoden häufig den angewandten Dogmen der Schulmedizin zuwiderlaufen.

Das allerseits beliebteste Thema ist zur Zeit wohl der Krebs, die rätselhafte Geißel der Menschheit, bei Arzt und Patient gleichermaßen Horror und eine Kettenreaktion auslösend, vom diagnostischen bzw. therapeutischen Radikalismus bis zum Nihilismus und Suizid alles beinhaltend.

Die Fahndung nach den Krebsursachen nimmt einen breiten Rahmen ein und läßt bei genauer Analyse für die carcinogenen Substanzen lediglich den Schluß zu, daß sie als Krebsbeschleuniger gelten können.

Auch die Frühdiagnostik ist immer noch das große Wunschdenken der Onkologen. Es kann heute als erwiesen angesehen werden, daß es Monate bis Jahre braucht, ehe eine Krebsgeschwulst so groß ist, daß wir sie mit den derzeitigen Methoden nachweisen können. Wenn man bedenkt, daß eine Krebszelle so groß wie eine Kormalzelle ist, also $1/100$ mm, so besteht ein Tumor von 1 mm^0 mindestens aus einer Million Zellen. Kein optisches, immunologisches oder biochemisches Verfahren ist bisher in der Lage, solche Herde exakt nachzuweisen. Dies alles bezogen auf den Primär-Tumor - metastatische Geschwülste allerdings können Sie unter bestimmten Umständen wachsen sehen.

Die Krebskrankheit entscheidet sich letzten Endes erst im Stadium der Metastasierung. Unser Bestreben muß dahin gehen, die Etablierung von Tochtergeschwülsten mit allen zur Zeit erfolgversprechenden Methoden, deren sinnvolle Kombination und zeitgerechte Verabreichung, zu verhindern.

Während eine nicht unbeträchtliche Gruppe von Ärzten in der Praxis schon bei der Diagnose "Krebs" resigniert und Morphium in der Kombination mit Corticosteroiden als vorweggenommene ultima ratio verordnet, bietet die Klinik neben Operation und Bestrahlung eine ganze Palette von zytostatischen Substanzen an, deren Toxizität geflissentlich übersehen oder gewaltig unterschätzt wird.

Dazwischen liegt eine Gruppe von Behandlern, die leider noch immer als Außenseiter abgestempelt wird, weil sie versucht, die darniederliegende Abwehr und Entgiftungsfunktion des Organismus wieder in Gang zu bringen, aber gerade bei sogenannten "ausbehandelten Fällen" oft noch Erstaunliches erreicht.

Nachdem Krebs als keine in Entstehung und Ablauf einheitliche Erkrankung aufzufassen ist, sondern einen Sammelbegriff für eine

Reihe von bösartigen Erkrankungen mit vermutlich unterschiedlichen Ursachen darstellt, muß die Therapie bei aller Fortschrittlichkeit der Diagnostik zur Zeit noch vielschichtig und damit problematisch sein, zumal es eine standardisierte Krebsbehandlung - und die ist auch nicht allgemein anerkannt - nur bei wenigen Tumorformen gibt.

Daß beim Krebs Spontanheilungen wie Krankheitsstillstand - behandelt und unbehandelt - vorkommen, ist ebenso bekannt, wie die Tatsache, daß am Primärtumor niemand sofort stirbt, es sei denn, eine lebenswichtige Funktion wird durch seinen Sitz unterbunden. Diese Patienten werden meist erfolgreich radikal operiert, trotzdem treten bei vielen schon in kurzer Zeit Metastasen auf. Meiner Meinung nach wird in der Behandlung noch immer viel zu wenig beachtet, ob es sich bei dem Patienten lediglich um einen Tumorträger oder schon um einen Tumorkranken handelt.

Seit vielen Jahren beschäftige ich mich mit dieser Problematik und halte mich dabei an folgende Richtlinien:

Nach Erstellung einer Carcinomdiagnose und Klassifizierung eines Falles in operabel oder inoperabel muß unterschieden werden, ob der Patient nur Tumorträger oder bereits tumorkrank ist.



Tumorträger bereichern die Erfolgsstatistik in der Chirurgie, Radiologie und Polychemotherapie, weil der Organismus das Krankheitsgeschehen bis zu einem gewissen Grad noch im Griff hat. Weniger spektakulär bis schlecht sind die Erfolge beim Tumorkranken. Bei den operierten Patienten mag das daran liegen, daß durch den Operationsschock, offenbar infolge unseres chromaffinen Systems, die Abwehrkräfte heftig mobilisiert werden, um dann aber ohne weitere Behandlung in 8 bis 12 Wochen wieder zu erlahmen und so zum Rezidiv bzw. zur Metastasierung im bereits geschädigten Organismus zu führen.

Der Grundstein dazu wird wohl auch beim vielzitierten Radikaloperierten durch intraoperative Manipulation am Tumor mit meßbarer Tumorzellausschwemmung gelegt, weshalb die Radikalitätsbeurteilung mit größter Vorsicht zu bewerten ist, denn auch der beste Chirurg mißt bei der Operation nur mit Auge und Finger und wird mittels des Operationspräparates letztlich ergänzt durch den Pathohistologen. Daraus ergibt sich, daß auch alle operablen Patienten einer intensiven Vor- und Nachbehandlung zu unterziehen sind.

Tumorkranke a priori immunsuppressiv zu therapieren, scheint mir geradezu widersinnig und muß diese Therapieform in Mißkredit bringen, da sie der Organismus nur verkraften kann, wenn sein Abwehrsystem funktioniert. Gerade dieses in Gang zu bringen, gibt es verschiedene Wege. Hier bietet die Organo- und Immunotherapie wesentliche Angriffspunkte. Makromolekulare Organextrakte wirken einerseits direkt auf die Tumorzellen, andererseits aber auch indirekt auf den Gesamtorganismus durch Aktivierung der zellulären und humoralen Abwehr.

Nachdem bei uns operierte Patienten in randomisierten Studien erfaßt und einer vorbestimmten Therapie zugeführt werden, konnte sich meine Arbeit zwangsläufig nur auf die "Ärmsten der Armen" beschränken, also Kranke, die bereits Operation, Bestrahlung und Chemotherapie hinter sich hatten und im prognostisch infausten Stadium der generalisierten Metastasierung waren.

Ich möchte Ihnen nun in Kurzfassung die durchgeführten Grund- und Kontrolluntersuchungen, das Behandlungsschema und die bisherigen Ergebnisse demonstrieren.

Grunduntersuchungen:

In Tabelle 1 sind alle erforderlichen Laboruntersuchungen zusammengestellt, aus denen die, fast allen Tumorkranken eigenen, Organfunktionen ablesbar sind, wie:

Sub- bis Anacidität und Fermentmangel. Antibiotika- und Zytostati-
 kaschäden mit daraus resultierender Darm-Atonie, verlängerter Darm-
 passage, Dysbakterie, Gärungs- und Fäulnisdyspepsie, die fast immer
 nachweisbare Alkalose, Hypalbuminämie, Absinken der Gammaglobuline,
 Anämie, Lymphozyto- und Thrombozytopenie, gestörter Wasser- und
 Elektrolythaushalt, sowie die Unterfunktion des gesamten endokrinen
 Systems, um nur die wichtigsten und häufigsten Veränderungen zu
 nennen.

Diese Befunde werden allzuoft zwar minutiös gesammelt, ohne jedoch
 daraus therapeutische Konsequenzen zu ziehen.

Tabelle 1:
Laboruntersuchungen

<i>Bei Eintritt: generell</i>	<i>auf spezielle Anordnung</i>
BSG	Glucosebelastungstest
Kompletter Blutstatus	Gamma-GT
Thrombozyten	GLDH
Gerinnungsstatus	LDH
Blutzucker	Kreatinin
Serumbilirubin	
Transaminasen GOT/GPT	<i>Exsudate aus Thorax- und</i>
BUN	<i>Bauchraum:</i>
Harnsäurespiegel	zytologische Untersuchung
Elektrolyte	LDH
Serum-Kupfer, Serum-Eisen	
Elektrophorese	
Phosphatasen, alkalisch-sauer	
Blut-pH	
<i>Sputum:</i>	zytologisch
	Antibiogramm
<i>Harn:</i>	Albumin
	Sacch.
	Aceton
	Uro
	Bil.
	Benz.
	Sediment
<i>Stuhl:</i>	Benzidin
	bakteriologisch
<i>Wiederholungsuntersuchungen:</i>	
Blutbild	
Thrombozyten	} wöchentlich
Elektrophorese	
Elektrolyte	
Kontrolle pathologischer Befunde nach Maßgabe!	

Basistherapie zur Körperentgiftung

Von diesen Befunden leitet sich die bei allen Patienten durchgeführte, sogenannte Basistherapie ab, die, ganz vereinfacht gesagt, alles das substituiert, was dem tumorgeschädigten Organismus fehlt. Unter anfänglicher Nahrungskarenz wird zunächst mittels Infusionen, Elektrolytausgleich, Zufuhr von Eiweiß (Humanalbumin, Frischblut), Vitaminen, Fermenten, Spurenelementen und ständiger Ansäuerung eine gesteigerte Diurese erreicht, die, im Verein mit laxativen Maßnahmen, die Entgiftung des Körpers beschleunigt.

Umstimmung

Erst nach Wirksamwerden dieser Maßnahmen beginnt ein langsamer Nahrungsaufbau mit einer absolut zuckerfreien, lactovegetabilen Kost und die vorsichtige medikamentöse Stimulierung, um so eine allmähliche Umstimmung des Organismus in die Wege zu leiten, die, sofern es gelingt, das Gleichgewicht in den Körperfunktionen wiederherzustellen, zu einer Stabilisierung der Metastasierung führt.

Tumorabbau

Ist dieses Stadium erreicht, können auch vordem nicht mehr durchführbare chirurgische Eingriffe, Radio- und Chemotherapie zur Reduktion der Tumormasse wieder herangezogen werden.

Bei der Organo- und Immunotherapie hielten wir uns an das von der Wissenschaftlichen Abteilung der Firma vitOrgan vorgegebene Schema (Tabelle 2). Für die zur Verfügung gestellten Präparate und eingehende Beratung darf ich an dieser Stelle herzlich danken.

Behandlungsschema liii Neoplasmen

1. Blutentnahme für Immunstimulation (GS) in Venüle mit Zitratzusatz

1. Tag	REVITORGAN-Trs . Nr. 29	(foetaler u. juveniler Thymus)		i .m.
2. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .v.
3. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .v.
4. Tag	REVITORGAN-Trs . Nr. 1 + Nr. 19	(foetale Leber) (Testes ohne Spermato- genese bei Mammatumoren)		i .m.
5. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	s .c.
			oder	i .m.
6. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
7. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
8. Tag	REVITORGAN-Trs . Nr. 66	(Organmischung)		i .m.
10. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml	s .c.
			oder	i .m.
12. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
14. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml	i .m.
16. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
19. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml	i .m.
21. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
24. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml	i .m.
27. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
30. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 29 Stärke II	(Thymus)	2 ml	i .m.
33. Tag	REVITORGAN-Dil . Nr. 70 Stärke II	(Dez idua)	5 ml	i .m.
37. Tag	GS Verdünnung 10^{-4}		0,5 ml	s .c.
42. Tag	GS Verdünnung 10		0,5 ml	s .c.
49. Tag	GS Verdünnung 10^{-2}		0,5 ml	i .m.
57. Tag	GS Verdünnung 10		1,0 ml	i .m.

An den injektionsfreien Tagen und zur Nachbehandlung REVITORGAN-Lingual Nr.66, 2 mal täglich S - 8 Tropfen.

Die gesamte Injektionskur sollte in Abständen von einem viertel bis einem halben Jahr wiederholt werden. Zwischenzeitlich kann REVITORGAN-Lingual Nr.66, zunächst 2 mal tgl., dann 1 mal tgl. und schließlich jeden 2. Tag 1 mal tgl. 5 - 8 Tropfen verordnet werden.

Welche Verbesserung unserer bisherigen Therapie der Einsatz der makromolekularen Organotherapie und Gegenseibilisierung gebracht hat, möchte ich in einer Gegenüberstellung anhand von 66 Fällen zeigen.

Von den 66 Fällen erhielten 21 lediglich die Basistherapie, 23 eine Kombination von Basistherapie mit Regeneresen, laut Hersteller organspezifische Ribonukleinsäuren aus fetalen und Jung-

tierzellen, sowie Ribonukleinsäure aus Hefe nach Dyckerhoff, und 22 Patienten die Kombination von Basistherapie plus Revitorgan plus Gegensensibilisierung.

Wie aus den Überlebenskurven ersichtlich, ist trotz der relativ kurzen Beobachtungszeit mit der Kombinationstherapie Basisbehandlung plus Revitorgan plus Gegensensibilisierung eine wesentlich verlängerte und für den Patienten subjektiv verbesserte Lebenserwartung abzulesen, so daß es an der Zeit wäre, diese Therapie schon unmittelbar nach der Operation zum Einsatz zu bringen.

Tabelle 3:

66 Fälle mit generalisierter Metastasierung

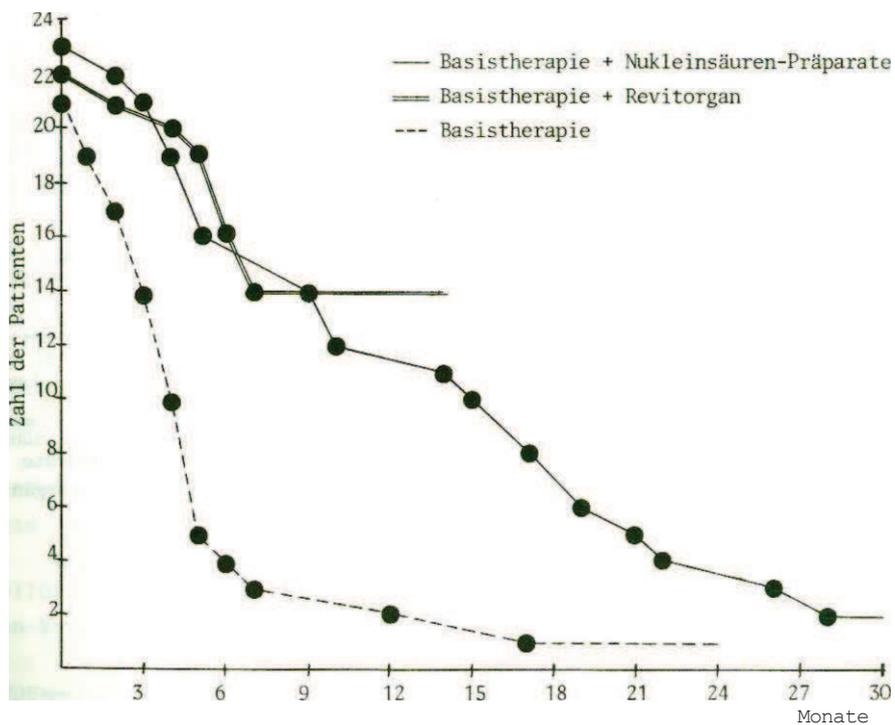
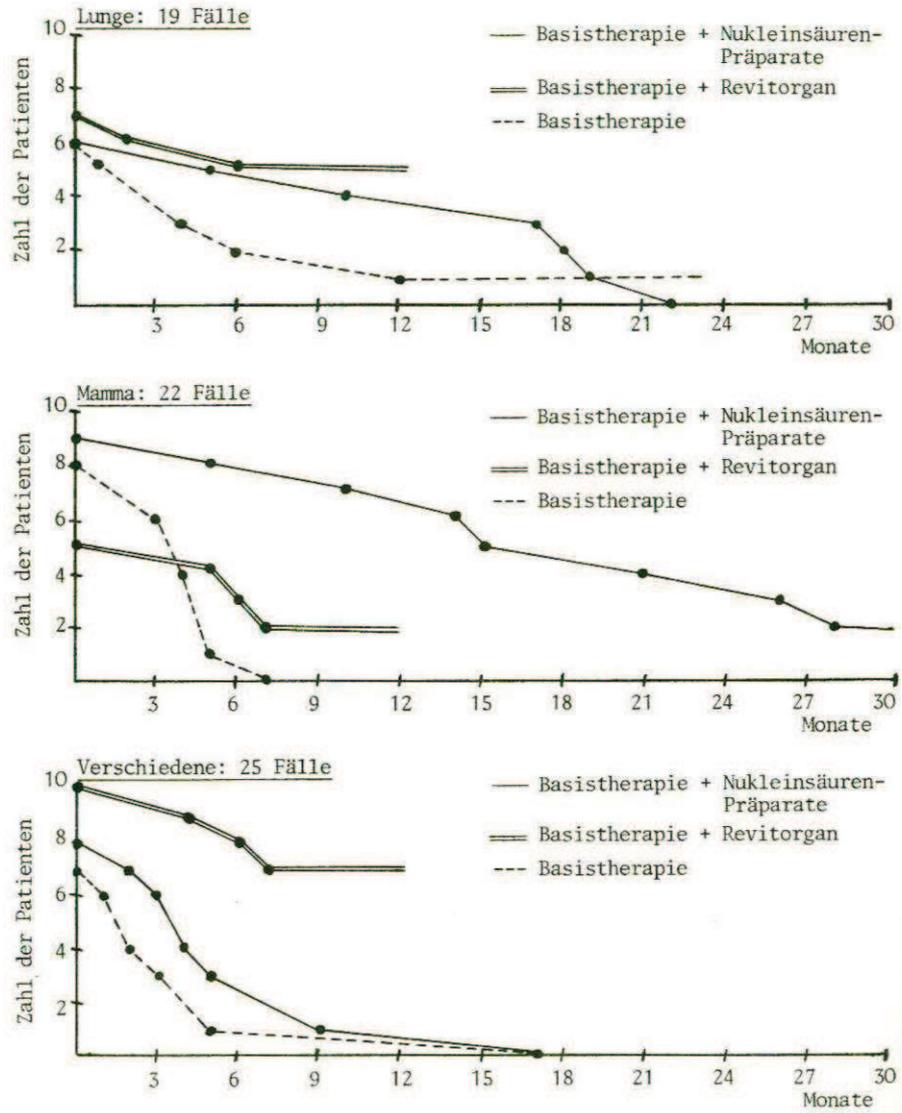


Tabelle 4:
Aufschlüsselung nach Sitz des Primärtumors



Niemand, der sich intensiv mit Tumor-Therapie beschäftigt, wird bei so einem Krankengut Wunder erwarten. Mit der heutigen Intensivmedizin gelingt es sehr wohl, das Leben, aber damit auch die Leiden zu verlängern.

Mir geht es aber darum, das Leben, und sei es auch nur für Monate, lebenswert zu verlängern, um zu beweisen, daß von einer zielgerichteten Therapie sehr wohl etwas zu erwarten ist. Mit dieser Therapie sollte aber begonnen werden, solange es dem Patienten noch scheinbar gut geht und nicht erst dann, wenn es, schon für den Laien ersichtlich, zu spät ist.

Diskussion:

WRBA:

Die Wirkung bei den Lungentumoren ist erstaunlich! Vorausgesetzt, die Stadien sind in allen 3 Gruppen vergleichbar - ein springender Punkt bei solchen Untersuchungen - ist die Behandlungsmethode ein wesentlicher Fortschritt..

LINDENMANN:

Ich bin Lungenarzt und Thorax-Chirurg und war selbst über diese Ergebnisse erstaunt.

HESS:

Warum bricht Ihre Revitorgan-Kurve so spontan ab?

LINDENMANN:

Diese Studie läuft erst seit 14 Monaten.

AUDITORIUM:

Wann kann die Therapie als abgeschlossen gelten?

LINDENMANN:

Das ist eine Gretchenfrage. Wenn Sie mich so fragen, weiß ich nicht, wann ich mit dieser Therapie aufhören darf. Die Schulmei-

nung berücksichtigend, habe ich bei einer Karzinom-Patientin nach 5 Jahren mit der Therapie aufgehört; daraufhin bekam die Frau das zweite Karzinom. Wurde die Therapie nach 7 Jahren abgesetzt, bekam die Frau im 8. Jahr prompt ein drittes primäres Lungenkarzinom. So kann ich Ihnen etliche Fälle aufzählen. Zuletzt haben wir uns dahingehend geeinigt, die Patienten 5 Jahre streng zu überwachen und zu behandeln. Anschließend, ab dem 5. Jahr, werden dann Sicherungskuren, jeweils im Herbst und im Frühjahr, durchgeführt. Meistens sterben die Patienten sowieso nicht an Krebs, sondern an interkurrenten Erkrankungen. Um den Patienten auch in dieser Hinsicht einen Schutz zu geben, führen wir im Herbst und im Frühjahr eine Behandlung durch.

WRBA:

Sie geben auf Ihrem Schema im Falle der Revitorgan-Therapie Überlebenszeiten von 12 Monaten an. Diese Behandlung, mit eingeschlossen die GS-Immunprovokation, geht über 10 Wochen. Wird diese Therapie dann wiederholt?

LINDENMANN:

Wir wiederholen diese Therapie in gewissen Abständen.

WRBA:

Ununterbrochen?

LINDENMANN:

Die Therapie wird von uns in Tropfenform mit Revitorgan-Lingual Nr. 66 (NeyTumorin) weitergeführt. Wir haben auch vorgesehen, die Injektionskuren zu wiederholen.

ADDITION:

In welchen Abständen erfolgen die einzelnen Kuren?

LINDENMANN:

Das ist individuell verschieden. Ich möchte noch einmal betonen: Meine Fälle waren ausgesprochen infaust, so daß die Behandlung nur kurzzeitig unterbrochen werden konnte, um die Patienten nicht zu

gefährden.

AUDITORIUM:

Wie sieht das Behandlungsintervall postoperativ aus, also bei jenen Patienten, die in scheinbar gutem Zustand sind? Wann soll hier die Kur wiederholt werden?

LINDENMANN:

Wir führen die Kur postoperativ durch. Dann wird eine Pause von 3 Monaten eingelegt.

AUDITORIUM:

Gibt es im Rahmen der nichttoxischen Behandlung nicht auch Maßnahmen, die doch evtl. schädigen könnten?

LINDENMANN:

Unsere Basisbehandlung besteht aus jenen Substanzen, die dem Organismus fehlen und dem Krebskranken fehlt sozusagen alles. Von der endokrinen Dysfunktion bis hin zur Magensaft-Unterfunktion finden Sie bei einem Krebskranken so ziemlich alles. Auch auf die Darmfunktion wird viel zu wenig Rücksicht genommen. Nahezu bei allen unseren Patienten konnte eine Dysbakterie bis hin zur Abakterie und völliges Fehlen der Colibakterien nachgewiesen werden. Auch die Gärungs- und Fäulnisdyspepsie ist nicht unbekannt. Dadurch verzögert sich die Darmpassage und der Selbstvergiftung des Organismus wird Vorschub geleistet.

AUDITORIUM:

RILLING empfiehlt, die Mineralien zu ersetzen und SEEGER, die Zellatmung zu unterstützen. Kann diesen Anregungen ohne weiteres Folge geleistet werden?

LINDENMANN:

Selbstverständlich! Spurenelemente müssen dem Patienten sowieso zugeführt werden. In der Klinik ist es keine große Kunst, das Fehlen einzelner Elemente nachzuweisen. Beim Krebsgeschehen ist das Auseinandergehen der "Kupfer-Eisen-Schere" bekannt. Alle übrigen

Spurenelemente sind stationär leicht zu kontrollieren. Auch in der Praxis untersuche ich die Patienten daraufhin.

AUDITORIUM:

Betrachtet man die Literatur, drängt sich einem doch manchmal der Eindruck auf, als ob mit den Kombinationsbehandlungen nicht möglicherweise zu viel getan wird.

LINDENMANN:

Ich habe den Eindruck, auf diesem Gebiet wurde bisher zu wenig getan; vor allem im Hinblick auf eine nichttoxische Tumorthapie.

WRBA:

Jetzt wird die Diskussion zu allgemein. Dr. LINDENMANNs Patienten sind - wenn ich es richtig verstanden habe - Patienten, die inoperabel sind bzw. operiert wurden und danach rezidierten. Eine chemotherapeutische bzw. radiotherapeutische Behandlung konnte nicht mehr durchgeführt werden. Es handelt sich also um sogenannte ausbehandelte Patienten, von denen sich normalerweise die klinische Medizin abwendet.

Dann finden wir jene Situation vor, bei der der Patient aus der Klinik "tumorfrei" - bis zum Beweis des Gegenteiles - entlassen wird. Zwischen diesen beiden Situationen jetzt ein verbindliches Schema zu erarbeiten, das jedermann klar mit nach Hause nehmen kann, halte ich für unmöglich. Ob nun auf onkologischem Gebiet zu viel oder zu wenig gemacht wird, das richtet sich wohl jeweils nach Situation und Lokalisation des Tumors. Natürlich müssen wir um jeden einzelnen Patienten kämpfen. Generell aber nun zu behaupten, es wird zu viel oder zu wenig auf dem Gebiet der Onkologie getan, diese Aussage ist nicht haltbar. Hier muß man mit Fakten arbeiten. Illusionen sind zwecklos.

Gerade der aufgegebene Krebspatient ist ja ein ungemein dankbarer Patient. Allein die Tatsache, daß man sich überhaupt mit ihm beschäftigt, kann schon zu einer Besserung der Überlebenszeit führen. Nur halten derartige Effekte üblicherweise nicht über 24 Mo-

nate an. Sind die Überlebenszeiten höher, lohnt es sich in der Tat, darüber nachzudenken.

AUDITORIUM:

Es geht letztlich doch um diese desolaten Fälle, die praktisch wie "Müll" von den Kliniken an die Haustür des Praktikers geworfen werden. Tenor: "Wir haben sämtliche Möglichkeiten in der Klinik ausgeschöpft, so Praktiker, schau, wie Du mit dem Patienten zurecht kommst." Es wird alles empfohlen, was die Patienten mehr oder weniger schlecht vertragen. Der Leidensdruck der Patienten hält trotzdem an.

Ich überblicke jetzt 50 Krebsfälle im Laufe von mehr als 10 Jahren. Seit 5 Jahren arbeite ich mit Revitorgan. Aus eigener Erfahrung hat sich mir ein Therapieschema bewährt, mit dem bereits vor der stationären Einweisung in die Klinik begonnen wird. Die Kliniken schicken uns die Patienten zwischen der operativen Phase und der Bestrahlungsnachbehandlung zu.

Kürzlich wurde ein Patient mit inoperablem und klinisch als inkurabel eingestuftem Hautkrebs mit 7000 R innerhalb von 8 Wochen abgeheilt. Man muß sich diese harte Nekrose von 7000 R auf dem Brustbein einmal vorstellen! Ein Patient erträgt das nur, wenn dieser klinischen Behandlung eine nichttoxische Basistherapie vorausgeht und diese auch zwischenzeitlich durchgeführt wird. Der Patient hat die ambulant verabreichten 7000 R gut vertragen. Alternierend applizierten wir reichlich Vitamin B 12 und therapierten nach dem Neoplasmen-Schema. Die jeweiligen Behandlungen sollten nicht kombiniert, sondern "säulenartig" durchgezogen werden. Ohne die Organotherapie geht es mit Sicherheit nicht, aber sie reicht oft nicht aus, den Leidensdruck der Patienten völlig zu beheben. Die Klinik gibt uns für die desolaten Fälle noch eine Überlebenszeit von 3 Wochen bis 3 Monaten; in diesem Zustand kommen die Patienten nach Hause. Nach meinen Erfahrungen können diese Patienten 16 bis 24, manchmal bis zu 36 Monaten überleben.

Die konservative Behandlung des Altersstars
mit Conjunctisan A-Augentropfen

J. FUCHS

ehem. Direktor der Augenklinik
am Katharinen-Hospital Stuttgart

Zusammenfassung:

Im Gegensatz zu der anscheinend allgemein gültigen Ansicht, daß es keine erfolgreiche Behandlung der Cataracta senilis gibt, stehen die Ergebnisse einer Langzeitstudie an 192 mit Conjunctisan A behandelten Augen. Danach sind Linsentrübungen beim Altersstar durchaus therapeutisch zu beeinflussen. Conjunctisan A, ein neues therapeutisches Prinzip, nutzt dazu die Wirkung wasserlöslicher protoplasmatischer Bestandteile, insbesondere Proteine, Ribo- und Desoxyribonukleinsäuren, Phospholipide, Polysaccharide sowie linsenzellenspezifische Nukleinsäuren und Aminosäurevorstufen aus Linse, Glaskörper, Netzhaut, Sehnerv, Hornhaut, Bindehaut und Plazenta. Conjunctisan A - 2 bis 3 mal täglich in den Bindehautsack eingeträufelt - erzielte bei 192 Augen in einem Beobachtungszeitraum von 5 Jahren (1973 - 1978) in 36 % Stillstand und in 45 % Besserung der Linsentrübungen und des Visus. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit unseren früheren Untersuchungen an 74 Augen (1969 - 1973). Bemerkenswert ist, daß auch das Fortschreiten der Katarakt weit über den erfahrungsmäßig bisher angenommenen zeitlichen Verlauf verlangsamt wird, wie es auch aus einem Vergleich mit 75 nicht oder nur konventionell behandelten senilen Linsentrübungen hervorgeht.

Einleitung:

Versuche, durch konservative Behandlung dem Fortschreiten der Trübung der alternden Linse zu begegnen, sind in den letzten 50 Jahren schon mannigfach unternommen worden. Eine erfolgreiche medikamentö-

se Therapie, meist in Form von Augentropfen, konnte jedoch bisher niemals mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Makromolekulare Organlysate aus verschiedenen Augengeweben (Molekulargewicht $< 10^6$), angewandt in Form der Conjunctisan A-Augentropfen, sind ein völlig neues therapeutisches Prinzip in der konservativen Behandlung des Grauen Stars. Conjunctisan A-Augentropfen enthalten wasserlösliche protoplasmatische Bestandteile, insbesondere Proteine, Ribo- und Desoxyribonukleinsäuren, Phospholipide, Polysaccharide sowie linsenzellenspezifische Nukleinsäuren und Aminosäurevorstufen aus Linse, Glaskörper, Netzhaut, Sehnerv, Hornhaut, Bindehaut und Plazenta. Die Anwendung von Conjunctisan am Auge beruht auf den Forschungsergebnissen der Molekularbiologie und den umfassenden Ergebnissen aus der Praxis mit makromolekularen Zellinhaltsstoffen.

Der Organtropismus von zytoplasmatischen Stoffen wurde u.a. mit makromolekularen Extrakten aus Großhirn nachgewiesen. Diese zeigten einen spezifisch die Proteinbiosynthese des Gehirns stimulierenden Einfluß (AXMANN, CHANDRA). Am Gehirn gefundene und auch in der Praxis bestätigte Wirkungen führten zur Entwicklung von Augentropfen auf dieser Basis. Neben dem organotherapeutischen Wirkungsspektrum enthalten Conjunctisan A-Augentropfen Lanatoside in einer Verdünnung im Mikrogrammbereich sowie Aesculin. Ein Zusatz von gefäßaktiven Stoffen ist begründet durch die Erfahrungen mit anderen Digitalis-enthaltenden Augentropfen, deren Wirksamkeit auf den Ciliarmuskel früher schon nachgewiesen wurde (FUCHS und HOLLWICH 1952; HOLLWICH, GÜTH und DIECKHUS 1967). Es gilt demnach als gesichert, daß Digitalis einen pharmakologischen Effekt auf den Ciliarkörper besitzt, dessen Ciliarfortsätze die Produzenten des Kammerwassers sind.

Das Konzept der meisten bisherigen Behandlungsversuche der Katarakt aus neuerer Zeit beruhte auf der Annahme, daß der alternden, sich trübenden Linse, ein bestimmtes Agens fehle. Man glaubte, durch Substitution gewisser Stoffe dem Übel abhelfen zu können. Zu dieser Frage äußerte sich 1960 SAUTTER im Linsenkapitel des Handbuches

"Der Augenarzt" dahingehend, daß der Beweis für die Wirksamkeit der konservativen Behandlung des Altersstars noch nicht erbracht sei. Er betont dabei mit Nachdruck, daß eine senile Katarakt oft Jahre hindurch stationär bleiben und sogar durch Bildung stenopäischer Lücken zwischen den Trübungen eine Visussteigerung eintreten kann.

Dieser Hinweis hat bis heute noch seine Gültigkeit. Er schließt aber die Suche nach einem wirksamen Antikataraktikum nicht aus, denn mit der Entwicklung moderner biologisch-chemischer Untersuchungsmethoden sowie der Molekularbiologie ist man neuerdings in der Kenntnis über die biochemischen Vorgänge in der Linse und deren Trübungen sowie einer eventuellen Behandlungsmöglichkeit der Katarakt doch ein gutes Stück weitergekommen.

Die erste, einen Anfang setzende Grundlagenforschung über den Linsenstoffwechsel stammt von H.K. MÜLLER und seinem Mitarbeiter O. KLEIFELD. Diese Forscher haben schon 1960 den Versuch unternommen, medikamentös intern durch das Sulfonamid Debenal Einfluß auf das Geschehen bei der Kataraktbildung zu gewinnen. Die Versuche wurden nach einem zunächst durchaus positiven Bericht über 14 Patienten jedoch später eingestellt.

Biochemie des Linsenstoffwechsels

HOCKWIN, der die Untersuchungen von MÜLLER fortführte, hat in jahrzehntelanger intensiver Forschungsarbeit Licht in das Dunkel der biochemischen Vorgänge in der Linse, besonders der alternden, gebracht. Das Ergebnis dieser sorgfältigen Untersuchungen gipfelte in der Feststellung, daß es sich bei der Stoffwechselstörung, die der Trübung des Linseneiweißes zugrunde liegt, um die Folge einer Enzymveränderung handelt, der mit den bisherigen Mitteln medikamentös noch nicht beizukommen ist, allenfalls durch Aufhebung der festgestellten Enzymblockade.

Die Erforschung der Biochemie normaler Linsen ergab einen hohen Eiweißgehalt ihrer Zellen. Die Proteine garantieren die Transparenz der Linse. Unter Vermittlung von Enzymen kann die Linse aus Amino-

säuren des Kammerwassers Eiweiß synthetisieren. Im Alter jedoch verändern sich die Enzyme. Zur Eiweißsynthese benötigt die Linse neben den Aminosäuren des Kammerwassers Energie, sowohl zur Aufrechterhaltung der Grenzflächenpotentiale und des Fließgleichgewichtes als auch des Wachstums. Energie muß demnach stets vorhanden und verfügbar sein. Fehlt diese zelluläre Energie, entsteht die Katarakt. An dieser Stelle setzt nun der Versuch mit den protoplasmatischen Substanzen als Augentropfen ein, in der Annahme, daß diese auf die Linse als Energieträger und Überträger Einfluß gewinnen könnten. Die Möglichkeit eines solchen Vorganges setzt jedoch voraus, daß eine Penetration dieser Stoffe durch die Bindehaut erfolgt. Dieser Nachweis wurde im Institut für Chirurgische Forschung der Universität München durch BRENDEL und SEIFERT geführt. In diesem Zusammenhang sei an die Erfahrung erinnert, daß die Schleimhäute nicht nur absondern, sondern auch resorbieren. Der positive Allergen-Test an der Conjunctiva ist z.B. ein überzeugender Beweis für die Richtigkeit der Annahme, daß die Bindehaut zugeführte Stoffe zu resorbieren vermag.

Wirkungsprinzip zytoplasmatischer Organsubstanzen

Die therapeutische Wirksamkeit zytoplasmatischer Organsubstanzen, wie sie die Conjunctisan A-Augentropfen enthalten, basiert auf der Verwendung von Organlysaten bei molekularen Defektzuständen (THEURER). Protoplasmatische Zellinhaltsstoffe enthalten Induktions- und Wachstumsfaktoren (SPEMANN), die die RNA- und DNA-Synthese diploider Zellen aktivieren (PAFFENHOLZ und THEURER) und die "Reparaturkapazität" von Enzymen verbessern (ALTMANN und WOTTAWA). Das breite Spektrum protoplasmatischer Wirkfaktoren, in Kombination mit gefäßaktiven und oberflächenaktiven Substanzen, bietet sich damit zur Beeinflussung der Proteinveränderungen und -Vernetzungen (KRAMPS, BELLOWS und BELLOWS) ebenso an, wie eine Aktivierung der reduzierten Adenosintriphosphatase-Aktivität (GUPTA, HARLEY) im Laufe der Entwicklung der senilen Katarakt.

Parallel zur Beeinflussung des Stoffwechsels des alternden Auges, das in seinem retinalen Anteil ein vorgeschobener Gehirnteil ist, existieren praktische Erfahrungen und klinische Studien über die Beeinflussung von Altersveränderungen des Gehirns mit zytoplasmatischen Substanzen (JANSEN, BRÜCKNER). Mit diesen, nur das Gehirn betreffenden Substanzen und Forschungsergebnissen, wollen wir uns zunächst befassen.

Bei Ausfallerscheinungen von Gehirnfunktionen im Alter handelt es sich nach Ansicht dieser Autoren um einen Parenchymschaden der Hirnsubstanz, deren Ursache nicht rein vaskulär zu erklären ist, wengleich die Blutversorgung auch eine dominierende Rolle dabei spielt. Den zerebralen Veränderungen liegen folgende molekulare Ursachen zugrunde:

1. Gestörte oder eingeschränkte Übertragung genetischer Information auf die Protein-synthetisierenden Zellorganellen.
2. Zunehmende Fehlerhäufigkeit bei der Enzym-Eiweiß-Synthese.
3. Abnahme der Enzym-Adaptation auf gesteigerte metabolische Anforderungen und, damit verbunden, eine verminderte Fähigkeit des Gehirns, die metabolische und funktionelle Homöostase aufrecht zu erhalten.

Es scheint nun naheliegend, diese Vorstellungen von den Vorgängen bei Altersveränderungen am Gehirn auf die Altersvorgänge am Auge zu übertragen. In gewisser Weise erinnern sie an die Rolle der Enzyme bei der Kataraktbildung.

Eigene Untersuchungen

Die Beurteilung eines neuen therapeutischen Prinzips erfordert ein großes Krankengut, das auf kritisch verarbeiteten Beobachtungen fußt und sich auf, an der Spaltlampe und im regredienten Licht erhobene, schriftliche und zeichnerisch fixierte Befunde stützt.

Im Vergleich hierzu ergibt eine frühere Zusammenstellung über in 4 Jahren behandelte 76 Augen, in der Relation von Zahl und Zeit betrachtet ähnliche Verhältnisse bezüglich des Visus (Tab. 2). Aus der Behandlungsgruppe sind im Verlauf der 5jährigen Therapie 9 Patienten verstorben mit einem Durchschnittsalter von 82,4 Jahren. Bei dieser Altersgruppe war der Visus meist gleich geblieben (6 gleich, 2 besser, 1 schlechter). Das Sehvermögen dieser Altersgruppe schwankte zwischen 0,3 - 0,4. In ihren fortgeschrittenen Jahren waren die Betroffenen damit zufrieden und nicht mehr bereit zur Staroperation.

Tabelle 1:

Vergleich von Visus und Linsentrübung unter der Behandlung mit Conjunctisan A bei 192 Augen (1975 - 1978)

	besser	gleich	schlechter
Visus	87	68	37
Linsentrübung (Cat. incipiens / provecta)	87	70	35

Tabelle 2:

Der Einfluß von Conjunctisan A auf Linsentrübungen

	Zahl der Augen	besser	gleich	schlechter
konventionell (Unters.zeitr. 1964-68*)	75	8 %	24 %	68 %
Conjunctisan A (Unters.zeitr. 1969-73*)	74	46 %	33 %	21 %
Conjunctisan A (Unters.zeitr. 1969-78)	192	45 %	36 %	19 %

*) Medizinische Monatsschrift 5, 224-225 (1975)

Aufstellung von Katarakten
nach ihrer therapeutischen Beeinflußbarkeit:

I. Durch Conjunctisan A besserungsfähige bzw. aufzuhaltende Trübungen:

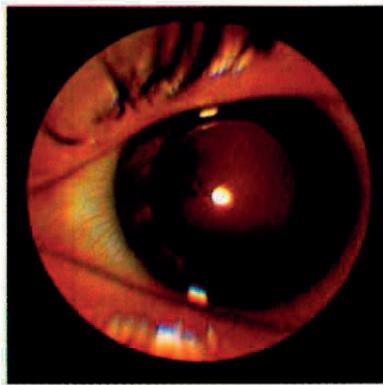


Abb. 1:
Beginnende Speichentrübung



Abb. 2:
Rosettenstar



Abb. 5:
Keulenförmige Trübung

II. Nur noch aufzuhaltende Kataraktstadien:

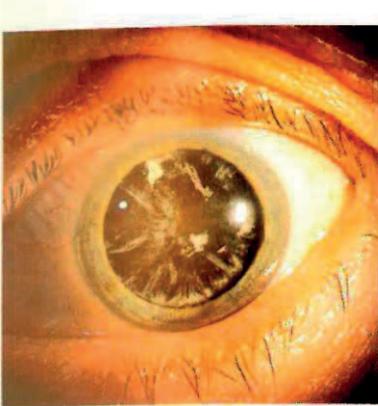


Abb. 4:
Kernstar mit Speichentrübung

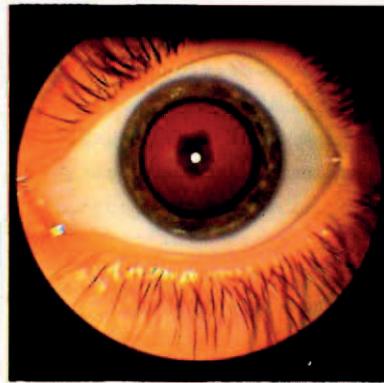


Abb. 5:
Vordere Poltrübung

III. Nicht mehr beeinflussbar:



Abb. 6:
Totale Linsentrübung (Cataracta matura)

Diskussion und Beurteilung

Betrachten wir die hier aufgestellte Statistik, so drängt sich die Frage nach deren Aussagekraft auf. Bei dem Umfang des verarbeiteten Materials dürfte sie wohl unbestritten sein. Eine derartige Anzahl von senilen Katarakten konnte überhaupt nur in einer sogenannten Alterspraxis untersucht werden, also in einer Sprechstunde, zu der vorwiegend alte Leute mit ihren Sehstörungen gekommen sind. Alle wiedergegebenen Befunde und Beurteilungen sind von mir persönlich erhoben und aufgezeichnet worden.

Im zugänglichen Schrifttum liegt meines Wissens nichts gleichartiges vor, insbesondere was Fallzahl und Dauer der antikataraktösen Behandlung anbelangt. Ebenso wenig findet sich in der Literatur eine Statistik herkömmlich behandelter Kollektive von Patienten mit *Cataracta senilis* (NORDMANN - zitiert von H. K. MÜLLER - sprach von 15 % "vorübergehender" Besserung).

Die Dauer einer Starerkrankung, vom ersten Erkennen der Linsentrübung bis zum notwendigen Operationstermin, wird im allgemeinen mit 3 Jahren angenommen. Ausnahmen kommen vor. Dieser zeitliche Ablauf ändert sich aber signifikant unter dem Einfluß von Conjunctisan A, indem die "Operationsreife bzw. -notwendigkeit" - wenn überhaupt. - wesentlich später eintritt. Viele Starpatienten sind bis zu ihrem Tod überhaupt nicht, mehr operiert worden und manche haben bis jetzt eine Behandlungsdauer bis zu 9 Jahren erreicht, ohne daß sich die Frage der Operation stellte.

Die Form des Altersstars ist übrigens für den Therapieerfolg nicht maßgebend. Am besten reagieren Wasserspalten und die sogenannten Linsenspeichen sowie die diffusen subkapsulären Trübungen der vorderen und hinteren Linsenrinde auf die neue Therapie. Überraschenderweise reagiert vielfach auch die Kerntrübung auf die Conjunctisan A-Behandlung. Versuche einer antikataraktösen Augentropfen-Behandlung bevorzugten zwei Prinzipien, nämlich:

1. allgemein-interne Maßnahmen, Hormone, Vitamine oder Gaben von Linsen-Eiweiß in irgendeiner Form per os oder
2. die Substitution von Stoffen, die der kataraktösen Linse fehlen oder die im Linsenstoffwechsel eine Rolle spielen.

HOCKWIN hat nach jahrzehntelanger Forschungsarbeit Grundlagen über das Zugrundegehen der Linsenfasern bei der Kataraktbildung geschaffen. Enzyme, insbesondere die Blockierung von Enzymen, spielen dabei eine große Rolle. Für einen dankbaren therapeutischen Ansatz hält HOCKWIN bezeichnenderweise die Aufhebung der enzymatischen Blockade.

Experimentell lassen sich im Tierversuch durch Gaben von Dinitrophenol (HOCKWIN und KLEIFELD) Linsentrübungen erzeugen; derartig ausgelöste Katarakte können wiederum durch enzymatische Aktivierung verhindert werden. Praktische Folgerungen aus diesen Forschungsergebnissen wurden von HOCKWIN bereits in Aussicht gestellt

In den Conjunctisan A-Augentropfen enthaltene Stoffe führen entsprechend dem derzeitigen Stand der Grundlagenforschung, dem Auge, bzw. der Linse, Eiweißstoffe als Energieträger zur Stimulation von ATP in den Zellen zu. Möglicherweise aktivieren auch in der Tränenflüssigkeit vorkommende Enzyme des Energiestoffwechsels (N.J. van HÄRINGEN, E. GLASIUS 1974 und 1975) die in den Conjunctisan A-Augentropfen enthaltenen linsenspezifischen Nukleinsäuren und Aminosäurevorstufen.

Daß in Conjunctisan A enthaltene makromolekulare Zellinhaltsstoffe den Stoffwechsel menschlicher Gewebezellen anregen können, ist im Forschungslaboratorium Karl Theurer für Organo- und Immunotherapie nachgewiesen worden (PAFFENHOLZ und THEURER).

Arbeitshypothese

Wir stellen uns diesen Wirkungsmechanismus der Aufnahme von makromolekularen Zellinhaltsstoffen nicht als einfachen passiven Permeabilitätsvorgang vor, sondern nehmen einen aktiven Durchdringungsvorgang an. Alle Schleimhäute, so auch die Bindehaut, sind in der Lage, Stoffe zu resorbieren, wie die erfolgreiche sublinguale Applikation von Arzneien schon lange bewiesen hat. Die bradytrophe Linse schwimmt quasi im Kammerwasser, das sie von allen Seiten umgibt, wie in einer Hydrokultur. Die Linse nimmt über ihr resorbierendes Epithel Stoffe auf und gibt sie an die Linsenfaser weiter (PAU). Deren Trübung ist, wie wir jetzt aufgrund unserer Beobachtungen annehmen, in den Anfangsstadien durchaus noch reversibel. Diese Reversibilität gewisser Formen von Linsentrübungen besteht aber für eine längere Zeitdauer als bisher angenommen wurde. Hierfür sprechen schon die immer wieder beobachteten Fälle spontaner Heilung der Cataracta senilis.

Ob nicht auch eine Beeinflussung des Ciliarkörpers durch Conju-ctisan A-Augentropfen zustande kommt, verdient weiterer Überlegung. Möglicherweise ist hier eine Einwirkung, auch durch die in dem organotherapeutischen Wirkstoffkomplex zusätzlich enthaltenen Digitalisstoffe, möglich. In diesem Zusammenhang ist an die experimentelle pharmakologische Arbeit von HOLLWICH, GÜTH und DIECKHUS (1967) zu erinnern, die eine erhöhte Kontraktilität des Ciliarmuskels nach Gaben der digitalishaltigen Augentropfen Stulln nachweisen konnten. Erst bei schon weit fortgeschrittener Katarakt und eingetretenem Linsentod tritt mit der irreparablen Trübung auch ein Zerfall der Linsenzellen ein. Erst von diesem Stadium ab gibt es keine Umkehr des Absterbeprozesses mehr, auch wenn Conju-ctisan A-Augentropfen gegeben werden. Trotzdem ist für den Beobachter aber immer wieder zu sehen, daß es bei der Trübung selbst weit fortgeschrittener Starformen nach Gaben von Conju-ctisan A-Augentropfen doch noch zu einer gewissen Aufhellung kommt. Derartige Beobachtungen konnten an Linsen relativ alter Patienten gemacht werden, die sich aus Gründen allgemeiner Hinfälligkeit, bei vorwiegend einseitiger Katarakt, nicht mehr zur Operation entschließen konnten.

Solche Beobachtungen haben zwar mehr theoretisches Interesse, sprechen ihrerseits aber für die Wirkung der organotropen makromolekularen Substanzen auch noch auf weit fortgeschrittene Linsentrübungen. In derartigen Fällen ist natürlich eine Operation unumgänglich. Die Auswahl der Fälle für die hier wiedergegebene Statistik schloß alle anderen sonstigen störenden Faktoren wie Glaukom, Netzhautleiden sowie Diabetes aus, welche ihrerseits Einfluß auf den Visus nehmen könnten. Hierunter fielen 176 Augen mit Komplikationen, die aus Gründen der Objektivierbarkeit ausgeschlossen werden mußten. Bezüglich der Beurteilung sind damit Mißverständnisse ausgeschlossen. Das Beobachtungsgut ist somit viel größer als das hier nur für die unkomplizierten Katarakte verarbeitete.

Für die Wirksamkeit dieser Behandlung spricht noch folgende Beobachtung:

Bei in vierteljährlichen Abständen durchgeführten Visusprüfungen hat sich in 9 % der Fälle folgendes feststellen lassen: Oftmals tritt bei beginnender Linsentrübung bekanntlich eine Myopie auf und zwingt zur Verordnung entsprechender Gläser. Werden derartige Augen mit Conjunctisan A behandelt, so kann die Myopie wieder zurückgehen. Die geänderte Refraktion muß durch Verordnung neuer Gläser nochmals korrigiert werden. Diese Myopiesierung (zwischen 0,5 bis 1,5 dpt schwankend) tritt schon etwa 4-6 Wochen nach Therapiebeginn ein und geht nach Behandlungsabbruch wieder zurück. Manche Patienten setzen nach eingetretener Besserung willkürlich mit der Tropfbehandlung aus (Patienten-Compliance) bis erneut Verschlechterung eintritt; sie führen damit ungewollt ein Experiment durch. Nach Wiederaufnahme der Behandlung ist wieder eine Zunahme des Visus und Abnahme der Myopie festzustellen. Dieser Vorgang geht konform mit der Zunahme bzw. Abnahme von Linsentrübungen.

Solche Beobachtungen sind natürlich nur möglich bei regelmäßig wiederholten Prüfungen der Refraktion und des Sehvermögens, zusätzlich zur zeichnerischen Dokumentation der Linsentrübungen. Neuerdings ist deren Objektivierung mit der Scheimpflug-Kamera möglich, welche die Fotografie der Linse in all ihren Abschnitten auf einem Bild zuläßt, sowie der computermäßigen Auswertung des Densogramms

(HOCKWIN). Von Interesse ist auch die Beantwortung der Frage nach dem durchschnittlichen Lebensalter der behandelten reinen Starpatienten. In unserem Patientengut lag das durchschnittliche Lebensalter bei 74 1/2 Jahren.

Die Fallzahl der an Katarakt erkrankten Augen unseres Untersuchungsgutes ist in ihrer Größe bemerkenswert. Dadurch wird auch eine Statistik ermöglicht, welche zahlenmäßig wohl weit an der Spitze aller derartigen Untersuchungen stehen dürfte. Wir blicken jetzt auf eine 10jährige Beobachtungszeit zurück. Die Ergebnisse sind über eine kritische Auswahl aus dem Krankengut einer ausgesprochenen Alterspraxis gewonnen worden, in der vierteljährlich etwa 200 Katarakt-Patienten beobachtet werden. Diese Tatsache hat meines Erachtens auch für eine "ex juvantibus"-Studie eine hohe Beweiskraft. Nebenwirkungen dieser biologischen Wirkstoffe sind nicht beobachtet worden.

Literatur:

- ALTMANN, WOTTAWA: Symposion on DNA-repair and late effects. Dezember 1975, Wien
- ALTMANN, WOTTAWA: 20. Jahrestagung über die Zytoplasmatische Therapie in Stuttgart 1974
- BELLOWS, J.G., BELLOWS, R.T.: Crosslinkage Theorie of senile Cataracts. Ann. Ophthalmol. p. 129, 8 Februar 1976
- ELKELES, G.: Grundsätzliches zur Frage der Wirkung der Conjunctisan A-Augentropfen. Ber. 17. Jahrestagung über die Zytoplasmatische Therapie in Stuttgart 1972
- FUCHS, J., HOLLWICH, F.: Über die lokale Digitalis-Anwendung bei asthenopischen Störungen des Auges. Med. Monatsschr. 6 (1952) 183
- FUCHS, J.: Die Wirkung von Conjunctisan A-Augentropfen auf Linsentrübungen. Med. Monatsschr. 29 (1975) 224
- GUPTA, J.D., GUPTA, H.: Decreased adenosine Triphosphatase activities in human senile cataractous lenses. Exp. Eye. Res. 20 (1975) 207
- HOCKWIN, O.: Fortschritte auf dem Gebiet der experimentellen Kataraktforschung. Ihre Bedeutung für die praktische Augenheilkunde.

- Aktuelle Ophthalmologie. Fachalmanach f. d. Augenheilk. J.F. Lehmanns Verlag, München 1976
- HOCKWIN, O., WEIGELIN, E., HENDRICKSON, P., KOCH, H.R.: Kontrolle des Trübungsverlaufs bei der Cataracta senilis durch Linsenphotographie im regredienten Licht. Klin. Mbl. f. Augenheilkunde 166 (1975) 498
- HOCKWIN, O., KOCH, H.R., OHRLOFF, Gh., BOURS, J.: Altern der Linse und Cataractentstehung. Klin. Mbl. f. Augenheilk. 169 (1976) 165
- HOLLWICH, F., GÜTH, V., DIECKHUS, B.: Die Wirkung von Digitalis auf den Ziliarmuskel. Klin. Mbl. f. Augenheilk. J_50 (1967) 540
- JANSEN, W.: Wirkung von zytoplasmatischen Organotherapeutika auf die cerebrale Leistungsfähigkeit. ZfA 54 (1978) 15
- JANSEN, W., BRÜCKNER, G.W.: Behandlung hirnerkrankter Störungen von Alterspatienten. Psycho 4 (1979) 1
- KLEIFELD, O., HOCKWIN, O.: Die Wirkung von Dinitrophenol, Aethylen-diamintetraessigsäure, Diamox und Butazololidein auf Stoffwechselabläufe der Linse. Albrecht v. Graefes Arch. experim. Klin. Ophthalm. 158 (1956) 1
- KRAMPS, H.A.: Protein changes in the human lens during development of senile nuclear cataract. Biochem. biophys. Acta 434 (1976) 32
- MÜLLER, H.K., KLEIFELD, O.: Die Behandlung der Cataracta senilis mit Debenal. Klin. Mbl. f. Augenheilk. (1960) 25
- MÜLLER, H.K., HOCKWIN, O., DARDENNE, M.U.: Über den Stoffwechsel der Linse. Almanach für die Augenheilkunde. S. 101, J.F. Lehmanns Verlag, München 1964
- PAU, H.: Die Permeabilitäts-Katarakt. Enke, Stuttgart 1954
- PAU, H.: Der Augenarzt. Bd. 1, S. 375. Thieme, Leipzig 1960
- PAFFENHOLZ, V., THEURER, K.: Einfluß von makromolekularen Organ-substanzen auf menschliche Zellen in vitro. Der Kassenarzt 21 (1978) 3
- SEIFERT, J., GANSER, R., PFLEIDERER, A., BRENDEL, W.: Resorption und Verteilung zytoplasmatischer Organlysate nach intrakonjunktivaler Applikation. Klin. Mbl. Augenheilk. V75 (1979) 795-798
- SPEMANN: In Induktion und Morphogenese, 13. Kolloquium der Ges. f. Physiolog. Chemie. Springer, Berlin 1963
- THEURER, K.: Die Weiterentwicklung der Zellulärtherapie. Therapie-woche 5 (1955) 1

Nachdruck aus "Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde und augenärztliche Fortbildung" V75 (1979) 799-805

Resorption und Verteilung zytoplasmatischer
Organlysate (Conjunctisan A-Augentropfen) nach
intrakonjunktivaler Applikation

J. SEIFERT, R. GANSER,
A. PFLEIDERER, W. BRENDL

Institut für Chirurgische Forschung
im Klinikum Großhadern der Universität München

Einleitung

Für einige in der Therapie verwendeten Substanzen liegen zwar gesicherte Erfolgsbeobachtungen vor, der Resorptions-, Transport- und Wirkungsmechanismus ist jedoch noch ungeklärt. Conjunctisan A gehört zu dieser Klasse von Stoffen. J. FUCHS hat über sehr gute Erfolge mit diesem Präparat bei der Behandlung des Altersstars berichtet und diese Beobachtung auch durch eine große Patientenstudie abgesichert. Ob aber, nach dem Einträufeln des Präparates in den Bindehautsack, Conjunctisan A resorbiert bzw. transportiert wird, und ob Bestandteile von Conjunctisan A überhaupt in das Auge gelangen, ist bis jetzt noch nicht untersucht worden. Es wäre ja auch denkbar, daß die therapeutischen Erfolge dadurch Zustandekommen, daß das Präparat, ein Hormon-, Immun- oder Enzymsystem, beeinflußt und damit indirekt wirksam wird.

Um mehr Licht in den Wirkungsmechanismus von Conjunctisan A zu bringen, wurden tierexperimentelle Untersuchungen an Kaninchen und Ratten vorgenommen, die klären sollten, ob Conjunctisan A resorbiert werden kann, wie es transportiert wird und ob Bestandteile des Conjunctisan, nach der Resorption aus dem Bindehautsack, auch in den Strukturen des Auges wiederzufinden sind. Um diese Frage nun zu lösen, war es notwendig, das Präparat Conjunctisan A-Augentropfen radioaktiv zu markieren. Hauptbestandteil von Conjunctisan A sind Proteine und Aminosäuren aus Linse, Glaskörper, Netzhaut,

Hornhaut und Sehnerv. Da sich Proteine und bestimmte Aminosäuren relativ einfach radioaktiv mit Jod-131 markieren lassen, kann man ihren Weg mit isotopentechnischen Mitteln sehr gut verfolgen.

Material und Methodik

Conjunctisan i(^-Organlysat *, in einer Konzentration von 0,3 mg pro ml, wurde radioaktiv mit Jod-131** markiert. Nach der Markierung wurde das Präparat von niedermolekularen Substanzen durch eine Säulenchromatographie über Sephadex-G-25 gereinigt und hatte danach eine Proteinkonzentration von 0,15 mg/ml.

Für die Tierversuche wurden Inzuchtratten des Stammes BD 9 und Bastardkaninchen, beiderlei Geschlechts» verwendet. Die Tiere waren, bevor sie in den Versuch genommen wurden, unter normalen Verhältnissen gehalten worden, d.h. sie konnten ad libidum Wasser trinken und bekamen Altromin-Futter.

Die Messung der Radioaktivität erfolgte in einem Vielkanal-Gamma-Spektrometer***, wobei die gemessene Radioaktivität auf g Organ bezogen wurde und in % der applizierten Dosis angegeben wird.

Für die statistische Auswertung wurden Mittelwerte und der mittlere Fehler des Mittelwertes errechnet und, wenn notwendig, die Unterschiede zwischen zwei Gruppen mit dem Student-t-Test gesichert.

Ergebnisse und Diskussion

Um festzustellen, ob Conjunctisan überhaupt resorbiert wird, nachdem es in den Bindehautsack des Auges geträufelt wurde, bekamen Ratten 0,5 ml radioaktiv markierten Präparates in das Auge appliziert. Wie die Abbildung 1 zeigt, wurden die Augen der so behandel-

*) vitOrgan Arzneimittel GmbH., Ostfildern

***) Fa. Amersham-Buchler, Braunschweig

***) Fa. Packard, U.S.A.

ten Tiere nach zwei Stunden bzw. sechs Stunden entnommen und die Radioaktivität darin bestimmt.

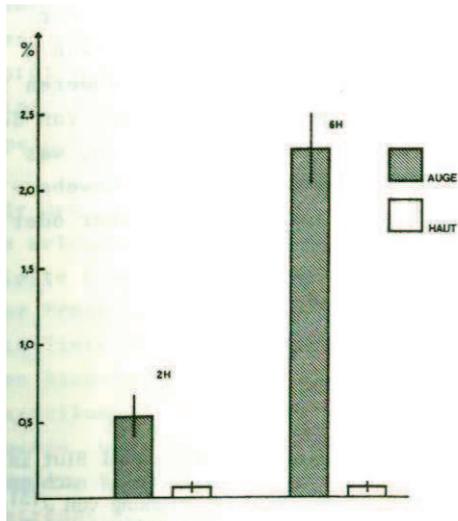


Abb. 1:

% der applizierten Dosis im Auge und Vergleichsgewebe nach Tröpfeln von 0,5 ml J^{153} -markiertem Conjunctisan bei Ratten

Als Vergleichsgewebe diente darüber hinaus Haut von den gleichen Tieren. Schon zwei Stunden nach der Applikation des radioaktiv markierten Conjunctisan reichert sich im Auge die Radioaktivität signifikant mehr an als in der Haut. Über die Beobachtungszeit von sechs Stunden ist dieser Anreicherungsprozeß noch einmal um das Fünffache gesteigert, während die Radioaktivität im Vergleichsgewebe - Haut - unverändert bleibt. Diese Anhäufung der Radioaktivität im Auge, in der Zeit von sechs Stunden, spricht dafür, daß das radioaktive Conjunctisan A selektiv in den Strukturen des Auges eingebaut wird.

Da die Resorbierbarkeit eines Präparates von der Anreicherung in einem speziellen Gewebe getrennt betrachtet werden muß, war der nächste Schritt festzustellen, in welcher Zeiteinheit die Resorption von radioaktiv markiertem Conjunctisan stattfindet. Darüberhinaus sollte geklärt werden, ob das Präparat auch nach oraler Applikation im Auge angereichert wird. Deswegen wurde im nächsten Ver

sich radioaktiv markiertes Conjunctisan oral verabreicht. Wie die Abbildung 2 zeigt, wurde zunächst die Radioaktivität in 1 ml Blut über die Beobachtungszeit von sechs Stunden gemessen und in 1-Std.-Abständen registriert. Aus der Abbildung gehen zwei Dinge sehr deutlich hervor: Einmal wird offensichtlich, daß Conjunctisan A auch über die Darmschleimhäute resorbiert wird, und zum anderen ist die Resorption schon innerhalb einer Stunde abgeschlossen. Von der ersten bis zur sechsten Stunde fallen die Werte langsam ab, was durch eine spezifische Anreicherung in einem bestimmten Gewebe - also Auge -, aber auch mit einer Elimination über die Leber oder die Niere am besten zu erklären ist.

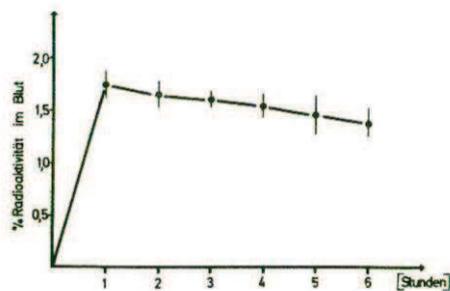


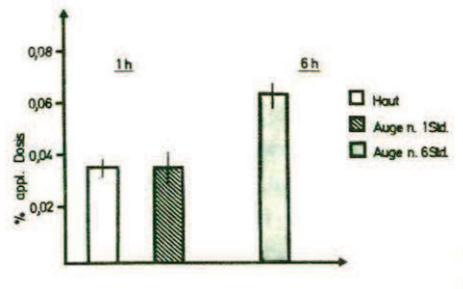
Abb. 2:

Radioaktivität in 1 ml Blut in % der applizierten Dosis nach enteraler Verabreichung von J^{\wedge} -markiertem Conjunctisan bei Ratten.

Daß auch nach oraler Applikation von Conjunctisan A eine Anreicherung im Auge stattfindet, zeigt die Abbildung 3. Auch bei dieser

Abb. 3:

Anreicherung von radioaktiv markiertem Conjunctisan im Auge von Ratten nach enteraler Applikation.



Applikationsart findet man eine signifikante Anreicherung nach sechs Stunden. Allerdings ist sie geringer als nach Einträufeln des Conjunctisan A in den Bindehautsack. Eine Erklärung dafür liegt wahrscheinlich in der enzymatischen Aktivität des Magen-Darm-Traktes, wobei das Conjunctisan A teilweise degradiert wird. Der Resorptionsprozeß ist, wie die Abbildung 2 gezeigt hat, innerhalb einer Stunde abgeschlossen; danach beginnt erst die spezifische Speicherung in den Strukturen des Auges.

Für den Wirkungsmechanismus ist folgendes von großer Bedeutung: In welchen Strukturen des Auges reichert sich das radioaktiv markierte Conjunctisan A an? Da das Rattenmodell zur Untersuchung dieser Frage ungeeignet ist, wurde dafür das Kaninchenauge gewählt. Die Tiere bekamen wiederum radioaktiv markiertes Conjunctisan A in den Bindehautsack geträufelt. Nach sechsständiger Resorptions-, Verteilungs- und Speicherungszeit wurden die Kaninchenaugen entnommen und die bekannten Strukturen wie Linse, Glaskörper, Ziliarkörper, Kammerwasser, Kornea, Netzhaut und Bulbus präpariert und getrennt gemessen. In der Abbildung 4 ist die Radioaktivität pro Gramm Gewebe in den genannten Strukturen aufgelistet. Es fällt auf, daß in den gut durchbluteten Anteilen des Auges, wie Netzhaut und Ziliarkörper, auch mehr radioaktiv markiertes Conjunctisan A zu finden ist. Eine mittlere Radioaktivitätsansammlung findet man im Kammerwasser, in der Linse und im Glaskörper, während in der Cornea deutlich weniger Radioaktivität beobachtet werden kann. Am niedrigsten liegt die Radioaktivität im Referenzgewebe - dem Muskel. Diese Radioaktivitätsverteilung in den Augenstrukturen kann damit erklärt werden, daß das über die Augenbindehaut resorbierte radioaktive Conjunctisan A über den Blut- vielleicht aber auch über den Lymphweg in das Auge gelangt, sicherlich aber nur zu einem sehr geringen Teil, wenn überhaupt, durch die Cornea.

Ciliarkörper	cpm/g	95 ± 34	Cornea	cpm/g	24 ± 2,5
Kammerwasser		45 ± 17	Netzhaut		114 ± 54,0
Linse		45 ± 14	Bulbus		38 ± 32,0
Glaskörper		38 ± 15	Muskel		10 ± 7,4

Abb. 4:

Verteilung der Radioaktivität im Auge von Kaninchen 6 Stunden nach Träufeln von 5 ml J^{131} -markiertem Conjunctisan.

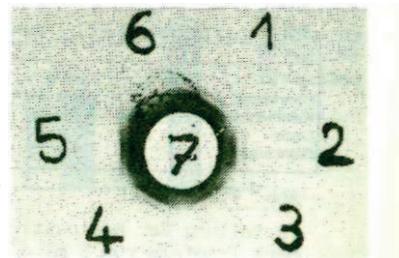
Da bis jetzt immer nur von einer Anhäufung der Radioaktivität gesprochen wurde, muß zum Schluß noch nachgewiesen werden, daß die Radioaktivität im Auge tatsächlich noch identisch ist mit den in Conjuunctisan A enthaltenen zellulären Wirkstoffen, die ursprünglich in den Bindehautsack geträufelt wurden. Von mehreren möglichen Nachweisverfahren haben wir uns für den immunologischen Weg entschieden. Dabei geht man von der Voraussetzung aus, daß das Augenpräparat Conjuunctisan A antigene Eigenschaften hat. Man erzeugt Antikörper und weist mittels Antikörper die antigenen Strukturen des Conjuunctisan nach der Resorption und Speicherung im Auge nach.

Dabei hat die Immunisierung von Kaninchen mit Conjuunctisan A erhebliche Schwierigkeiten bereitet, und weiterhin einen erheblichen Zeit- und Materialaufwand erfordert. Erst nach einer Behandlungszeit von drei Monaten mit sehr hohen Dosen, zusammen mit einem Adjuvans, gelang es dann endlich, präzipitierende Antikörper gegen Conjuunctisan herzustellen.

Diesen, mit Conjuunctisan präzipitierenden, Antikörper haben wir im Agargeldoppeldiffusionstest gegen Kammerwasser von Tieren laufen lassen, denen zuvor in den Bindehautsack Conjuunctisan A geträufelt worden ist. Die Abbildung 5 zeigt, daß resorbiertes und im Kammerwasser von Kaninchen angereichertes Conjuunctisan A mit dem Antikörper präzipitiert. Das bedeutet: Das im Kammerwasser befindliche Conjuunctisan hat noch die ursprüngliche Molekularstruktur. Im Tierexperiment ist damit der Nachweis erbracht, daß Conjuunctisan resorbiert werden kann und sich nach der Resorption speziell im Augengeewebe anreichert. Damit sind nun auch die therapeutischen Erfolge mit diesem Präparat bei der Behandlung des Altersstars leichter zu erklären.

Abb. 4:

Ein gegen Conjuunctisan gerichteter Antikörper (7) präzipitiert mit dem Kammerwasser von Kaninchen (1-5), die in den Bindehautsack Conjuunctisan geträufelt bekommen haben.



n k s a g u n g :

Die Autoren sind Herrn Dr. Porcher und Herrn Kottwitz, Forschungslaboratorien Karl Theurer für Organo- und Immunotherapie, für die freundliche Unterstützung mit linsenzellspezifischem Organlysat (Conjunctisan A) dankbar.

Literatur:

FUCHS, J.: "Die Wirkung von Conjunctisan A-Augentropfen auf Linsentrübungen"; Med. Monatsschrift 5, 224-225 (1975)

Diskussion:

PORCHER:

Herr Prof. SEIFERT, darf ich Sie zu diesen glasklaren Experimenten beglückwünschen! Unsere Erwartungen sind weit übertroffen worden. Ganz besonders freut mich natürlich, daß die 10jährige Standfestigkeit von Prof. FUCHS gegenüber seinen Fachkollegen sich letzten Endes als richtig erwiesen hat. Vor 2 Jahren habe ich es gewagt, die von Prof. FUCHS vorgetragene Ergebnisse der ersten Studie auf der XXII. Jahrestagung über die Zytoplasmatische Therapie, im Rahmen eines Tagungsberichtes zu veröffentlichen. Daraufhin wurde ich von dem Leiter der Augenklinik in Marburg auf das schwerste angegriffen. Tenor: Der Altersstar sei ein Erbmerkmal und damit unbeeinflussbar. Neueste Daten aus dem "Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information, Köln", haben es mir ermöglicht, diesen überholten Standpunkt zu widerlegen.

Erst kürzlich erschien wiederum ein Artikel gegen die medikamentöse Therapie der Linsentrübung. Diesmal aus anderer Feder. Tenor: Die einzig sinnvolle Therapie beim Grauen Star bestünde im "Starstechen". Da zu diesem Zeitpunkt schon die Ergebnisse von Prof. FUCHS und Prof. SEIFERT vorlagen, konnte fundiert entgegnet werden*. Ich hoffe, daß die klinische Studie von Prof. FUCHS und die

*) Selecta 43/1979

tierexperimentellen Ergebnisse von Prof. SEIFERT dazu beitragen, auch die letzten klinischen Hindernisse zu beseitigen.

SEIFERT:

Die Ergebnisse werden demnächst publiziert*. Ich hoffe, damit die letzten Zweifler zu überzeugen.

VOLKMANN:

Ich bin 72 Jahre alt und benutze ungefähr schon seit 10 Jahren Con-junctisan A. Meine Augen sind entschieden besser geworden. Selbst der kleine Randstar auf dem rechten Auge, der mich sehr behindert hatte, ist verschwunden. Meine Augenärztin sagte hierzu: "Das habe ich noch nie gesehen." Eines muß ich allerdings noch hinzufügen: Nach der Anwendung bekomme ich gelegentlich einen allergischen Schnupfen, so daß die Tropfen für einige Tage abgesetzt werden müssen.

AUDITORIUM:

Ich bin selbst Augenarzt und habe mich seit Jahren mit der Erfahrungsheilkunde beschäftigt: Herrn Prof. FUCHS möchte ich ganz besonders danken; er hat sich schon sehr frühzeitig für Con-junctisan A bei dieser Indikation eingesetzt. Aus eigener Erfahrung der letzten 2 Jahre kann ich die Wirksamkeit von Con-junctisan A nur bestätigen - wenn auch nicht durch statistische Aufstellungen. Allerdings glaube ich, man muß als Augenarzt hierzu noch folgendes kritisch anmerken: Die Statistik der Tierversuche sieht zwar sehr schön aus; hier dreht es sich aber um gesunde Tiere. Bei einem degenerativen Prozeß im Humanbereich dürfte sich die Wirkung von Medikamenten davon jedoch unterscheiden.

Ich bin überzeugt: Schon durch allgemeine geriatrische Maßnahmen kann die Alterung in gewisser Weise aufgehalten werden. Selbst die Psyche des Patienten und die Art, wie er die Tropfen anwendet, spielen eine Rolle.

*) "Resorption und Verteilung zytoplasmatischer Organlysate (Con-junctisan A-Augentropfen) nach intrakonjunktivaler Applikation"; Klin. Monatsblätter f. Augenheilkunde 175, 795-798 (1979)

An Herrn Prof. FUCHS sei noch die Frage gerichtet, wie oft er Con-junctisan A anwenden läßt. Ich empfehle eine 3malige Applikation täglich. Damit dürfte eine erforderliche Wirkstoff-Konzentration im Kammerwasser, oder überhaupt im Auge, erreicht werden.

SEIFERT:

Ehe Prof. FUCHS auf die ihm direkt gestellte Frage antwortet, möchte ich hier klarstellen: Mir ist natürlich bewußt, daß ein krankes Auge anders reagiert als ein gesundes. Mit diesen Tierexperimenten wollten wir nicht das Behandlungs- oder Wirkprinzip von Con-junctisan A untermauern, uns ging es vielmehr um den Nachweis der Resorp-tion und selektiven Anreicherung von Con-junctisan A im Augengewebe. Das ist uns isotopentechnisch und immunologisch geglückt.

FUCHS:

Auf die Erfahrung der Kollegin: Nur bei ganz wenigen Fällen kann eine gewisse Reizung und Konjunktivitis auftreten. Ich setze dann Con-junctisan kurz ab, behandle konjunktival mit den üblichen Mit-teln und fange nach Abklingen der Reizerscheinung wieder an.

Sehr gefreut hat mich auch die Bestätigung des Kollegen. Ich ver-abreiche Con-junctisan A 3 mal täglich. Ursprünglich habe ich es nur 2 mal gegeben, weil es meistens alte Leute sind, und da bin ich schon froh, wenn sie es überhaupt 2 mal nehmen.

Ich habe folgende Erfahrung gemacht: Verordne ich 2 mal täglich, und die Patienten machen den Eindruck, als ob die Einnahme nicht regelmäßig erfolgte, werden sie ermahnt, 3-4 Wochen lang die Dosis zu erhöhen. In jedem Fall erreichen Sie wieder Besserungen, wenn Con-junctisan A konsequent verabreicht wird.

Ich bringe sogar den Patienten selbst bei, wie sie Con-junctisan in den Bindehautsack einträufeln müssen, ohne die Tropfen zu kontami-nieren und ohne die Flüssigkeit des Bindehautsackes anzusaugen. Bei diesem Vorgehen bleiben die Augentropfen ein Vierteljahr klar, obgleich sie, laut Aufdruck, nur 4 Wochen haltbar sein sollen. Zu-

sätzlich empfiehlt sich auch die nasale Anwendung.

Die Frage zur Allgemeinbehandlung ist interessant. In meinem Referat habe ich auch Spontanheilungen erwähnt. Hierbei handelte es sich um außerordentlich vitale Patienten. Die zusätzliche Vitalisierung mit Neygeront hat sicher eine unterstützende Wirkung.

Ich wollte heute aber das Problem absolut auf die Linse einengen. Wenn sich Conjunctisan - nach den Ergebnissen SEIFERTS - im ganzen Auge anreichert, hat es sicher auch noch weitere Wirkungen. Fangen wir jetzt an zu differenzieren, werden wir mit unserer Statistik überhaupt nicht mehr fertig. Jedenfalls halte ich Wirkungen auf andere Gebiete des Auges, als nur der Linse, nicht nur für möglich, sondern auch in der Praxis erfahrbar. Ich selbst halte deshalb Conjunctisan für ein ausgezeichnetes Geriatrikum des Auges !

HOLLWICH:

Dieser Nachweis von Prof. SEIFERT ist von eminenter Bedeutung! Bei all jenen Medikamenten, die zur Aufhellung der Linse angeboten werden, hat man nie die Resorption nachgewiesen. Hier wurde erstmals der Penetrationsweg eindeutig gezeigt. Zu Herrn FUCHS wollte ich noch sagen: Prof. FUCHS hat ja nicht nur den Visus, das Sehvermögen des Patienten, kontrolliert, der ja sehr subjektiv schwanken kann, sondern er hat im biomikroskopischen Schnitt der Spaltlampe die einzige Chance des Augenarztes - den Verlauf der Linsentrübungen, deren Zunahme und Abnahme, beobachtet. Neben der subjektiven Methode, der Bestätigung durch das Sehvermögen des Patienten, kommt noch die objektive Methode, der biomikroskopische Schnitt, hinzu. Deshalb sind die Untersuchungen so wertvoll und auch so eindeutig. Schönen Dank für die große 10jährige Studie.

HAGEN:

Ich bin Kleintierpraktiker und verwende seit über 10 Jahren die Conjunctisan-Augentropfen bei den unwahrscheinlich häufig vorkommenden Linsentrübungen des alternden Hundes. Ich kenne überhaupt kein Präparat, mit dem man auch nur annähernd solche verifizierbaren Erfolge haben kann wie mit Conjunctisan A.

AUDITORIUM:

Ich habe des häufigeren versucht, gleichzeitig Linsenextrakt (Revitorgan-Trockensubstanz Nr. 40) zu spritzen. Wie steht es damit in der Humanmedizin? Waren da die Erfolge größer, auch in jenen Fällen, wo die Trübung schon weiter fortgeschritten war, oder bringt das nichts?

FUCHS:

Ich beantworte diese Frage sehr gerne, da ich sie mir selbst oft gestellt habe. Es gibt ja Patienten, die zu ungeschickt sind, die Augentropfen zu handhaben oder aus irgendwelchen Gründen nicht konsequent genug sind. Diese Patienten habe ich allgemein behandelt. Subkonjunktival zu spritzen, wurde von den meisten abgelehnt. Die Angst vor einer Einspritzung ins Auge ist so groß, daß wir damit nicht weiterkommen. Deshalb kann ich nicht über Erfahrungen reden. In den Fällen, wo ich die Patienten allgemein behandeln konnte, wurde zumindest in vielen Fällen ein Stillstand erreicht. Mit den Conjunctisan-Tropfen erreicht man jedoch einen größeren Wirkungsgrad.

SHELLER:

Ich bin jetzt 88 Jahre, hatte anfangs eine Cataracta senilis, die durch Conjunctisan völlig verschwunden ist. Zusätzlich habe ich jetzt jedoch eine Makuladegeneration in der trockenen Form. Nach Rücksprache mit Prof. FUCHS wurde auch mal mit Trockensubstanz behandelt. Es stellte sich allerdings keine entscheidende Besserung ein. Der Visus wurde durch die Behandlung mit Revitorgan-Trockensubstanz Nr. 52 (Retina-Chorioidea - N. opticus) um 1-2,5 Zehntel dpt angehoben. Erst heute kam mir die Idee, ob die Wirkung von Trockensubstanz Nr. 52 nicht noch durch Nr. 70 (materne Plazenta), im Sinne einer besseren Durchblutung, unterstützt werden könnte.

FUCHS:

Es freut mich natürlich, daß Sie in Ihren "jungen Jahren" einen derartigen Erfolg mit Conjunctisan A-Augentropfen hatten. Auf Ihre Frage muß ich allerdings antworten: Hierzu habe ich keine Erfahrungen.

Aktuelle therapeutische Möglichkeiten
bei myogenen und neuromuskulären Erkrankungen -
Wege der Erforschung

R. BECKMANN

Ärztlicher Direktor der Abteilung
Pädiatrische Muskelerkrankungen
an der Universitäts-Kinderklinik Freiburg i.Br.

Auch jüngste Erkenntnisse über Permeabilitätsstörungen der Muskelzellemembran, eine genetisch fehlgesteuerte Muskelprotein-Synthese und gestörte Muskelontogenese kommen, trotz moderner Behandlungskonzepte, nicht an dem Dilemma vorbei, daß zahlreiche primär myogene Erkrankungen auch heute noch unheilbar sind. Diese Bestandsaufnahme trifft nicht nur für die primären Myopathien zu, sondern auch für neuromuskuläre Erkrankungen wie die spinalen und neuralen Muskelatrophien. Eine kausale Behandlung ist derzeit nicht möglich. Symptomatisch wirksame Behandlungsversuche in Form der Physiotherapie, fachorthopädische Hilfen, biochemisch und empirisch begründete medikamentöse Maßnahmen bieten begrenzte und unsichere Chancen einer therapeutischen Beeinflussung.

Man kennt heute über 500 verschiedene myogene und neuromuskuläre Erkrankungen. Viele davon stimmen in ihrem klinischen Erscheinungsbild weitgehend überein; die Diagnosestellung kann deshalb große Probleme bereiten. Erst mit modernen ergänzenden Untersuchungen, etwa dem EMG, der Messung der Nervenleitgeschwindigkeit, der Aktivitätsbestimmung von Muskelenzymen im Serum, z.B. der Kreatinkinase, der Kreatininausscheidung im Harn, dem qualitativen und quantitativen Nachweis von Myoglobin, kann eine eindeutige diagnostische Zuordnung erfolgen. Noch größere und entscheidendere Bedeutung hat in vielen Fällen die Muskel- und/oder Nervenbiopsie mit enzymhistochemischen, licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

Wichtige klinische, allerdings nicht spezifische Leitsymptome sind Muskelschwäche, Muskelhypotonie, Bewegungsarmut, verzögerte statomotorische Entwicklung. Bei Kleinkindern, die sich zunächst normal entwickelt hatten, wird eine zunehmende Gangunsicherheit mit leichtem Stolpern, selbst auf ebenem Boden, und häufigem Fallen beobachtet. Solche Kinder ermüden auch schneller und wollen bei Spaziergängen immer wieder getragen werden; es müssen längere Ruhepausen eingelegt werden.

Allmählich, ohne eigentliche Schmerzen, kommt es zu weiteren Behinderungen, zunehmender Kraftlosigkeit und schwächer werdenden Beinen sowie - da der Prozeß auch auf Rumpf- und Schultergürtelmuskulatur übergreift- in den Armen. Das Aufrichten vom Stuhl, Bett oder Fußboden wird immer schwerer, schließlich stützen sich die Patienten beim Hochkommen an sich selbst oder auf benachbarten Möbeln ab. Beim Treppensteigen ziehen sich die Kinder am Geländer hoch, bis auch dies ganz unmöglich wird. Es folgt das Stadium im Rollstuhl, danach eine derart völlige Hilflosigkeit, daß ständige Hinwendung und Pflege notwendig ist. Besonders tragisch ist, daß es sich um völlig normal intelligente Kinder und Erwachsene handelt, die, bei klarem Bewußtsein und selbstkritischer Beobachtung, eine motorische Funktion nach der anderen verlieren.

Versucht man eine grobe Einteilung der Muskelkrankheiten vorzunehmen, so lassen sich degenerative, entzündliche, spinale, neurale, funktionelle, metabolisch- und endokrin-bedingte sowie congenitale stationäre Muskelerkrankungen, darunter Myopathien, infolge anatomischer Fehlbildungen unterscheiden (Abb. 1). Neue Erkenntnisse der Myologie, der Lehre von den Muskelkrankheiten, konnten diese Gruppen weiter klassifizieren (Abb. 2).

Von den im Rahmen der Thematik dieser Tagung interessierenden myogenen und neuromuskulären Erkrankungen stelle ich eine besonders häufige Myopathie in den Mittelpunkt, die DUCHENNE-Muskeldystrophie der Knaben mit ihrer gutartigen linterform, der Beckengürtel-Muskeldystrophie nach BECKER-KIENER. Der Vererbungsmodus beider ist geschlechtsgebunden-rezessiv, ein Drittel der DUCHENNE-Knaben sind

sporadisch, infolge einer Spontanmutation, betroffen.

Abb. 1

MYOGENE UND NEUROMUSKULÄRE ERKRANKUNGEN

nach

ihren Ursachen bzw. ihrer Pathogenese:

1. Degenerative Myopathien (Muskeldystrophien)
2. Entzündliche Muskelerkrankungen (Myositiden)
3. Spinale und neurale Muskelatrophien
4. Funktionelle Myopathien
5. Metabolisch- und endokrin-bedingte Myopathien
6. Kongenitale stationäre Myopathien und anatomische Fehlbildungen

Abb. 2

Eine mögliche Klassifizierung der verschiedenen „Myopathien“

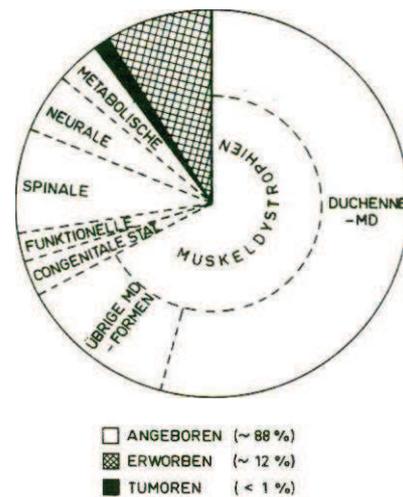
1. *Kongenitale stationäre Myopathien*
Folgen einer vorgeburtlichen Störung der Muskelfaserentwicklung (gestörte Myofibrillensynthese)
 - a) fehlerhafte Muskelfaserstruktur
 - b) Diskrepanz im Verhältnis von roten und weißen Muskelfasern („fiber type disproportion“)
 - c) abnormer Muskelfaserstoffwechsel
2. *Muskeldystrophien*
Ursache im Muskel selbst: Degeneration
3. *Entzündliche Muskelerkrankungen*
 - a) pseudomuskeldystrophische (= pseudomyopathische) Polymyositis
 - b) Myositis infolge einer bakteriellen, parasitären oder viralen Infektion
4. *Spinale Muskelatrophien*
Läsion von Vorderhornganglienzellen (peripher motorisches Neuron) im Rückenmark
 - a) frühinfantile maligne Form (*Werdnig-Hoffmann*)
 - b) chronisch-progressive Form (*Werdnig-Hoffmann*)
 - c) proximale, pseudomuskeldystrophische Form (*Kugelberg-Welander*) und andere
5. *Neurale Muskelatrophien*
Läsion von peripheren (Gliedmaßen-) Nerven
z. B. Form nach *Schultze-Charcot-Marie-Tooth*
6. *Funktionelle Myopathien*
Myasthenien, Myotonien, periodische Lähmungen
7. *Endokrin bedingte Myopathien*
Folge von Störungen der Drüsen mit innerer Sekretion (Hormone)
 - a) hypo- und hyperthyreote Myopathien
 - b) Steroidmyopathie
 - c) Myopathie bei Hyperparathyreoidismus
 - d) diabetische Amyotrophie
8. *Sogenannte Begleitmyopathien*
Bei systemischen Bindegewebskrankungen (Kollagenosen) und Osteopathien
9. *Toxisch bedingte Myopathien*
Medikamente
Alkoholabusus
Stoffwechselabbauprodukte
10. *Übrige Muskelerkrankungen*
 - a) infolge eines spezifischen Enzymmangels (*Pompe. McArdle. Tarui* u. a.)
 - b) Myoglobinurien (idiopathische paroxysmale paralytische Myoglobinurie, Myositis myoglobinurica)
 - c) vaskulär bedingte Myopathien (ischämische Muskelkontraktur *Folkmann*. Tibialis-anterior-Syndrom. Tortikollis)
 - d) Menopausemyopathien (?) („late onset“-Myopathie, Quadrizepsmyopathie)
 - e) Myopathien bei metabolisch-genetischen Leiden (Leuzinose, Homozystinurie, *M. Wilson*)
11. *Muskeltumoren*
 - a) Rhabdomyom und Rhabdomyosarkom
 - b) paraneoplastische Myopathien
12. *Myositis ossificans progressiva Münchmeyer*.
Calcinosis universalis interstitialis

In der BRD kann das Vorkommen der verschiedenen Muskelerkrankungen etwa mit 150.000 bis 200.000 Betroffenen, Kindern wie Erwachsenen, veranschlagt werden. An der Muskeldystrophie leiden etwa 10-12.000, sofern klinisch-genetische Untersuchungen von P.E. BECKER eine derartige Schätzung erlauben. Etwa die Hälfte davon, nämlich 5.000 - 6.000 Knaben, sind von der malignen DUCHENNE-Muskeldystrophie betroffen. Unser eigenes Krankengut umfaßt z.Zt. etwa 4.000 Patienten (Abb. 3). Das größte Kollektiv bilden Knaben mit DUCHENNE-Muskeldystrophie.

HÄUFIGKEITSVERTEILUNG MYOGENER UND NEUROGENER MUSKELERKRANKUNGEN BEI KINDERN (Schätzwerte)

- EIGENES KRANKENGUT: ca. 4000 PATIENTEN -

Abb. 3



Unsere Patienten mit Muskeldystrophien stammen zu einem nicht unbeachtlichen Teil aus Baden (Abb. 4), wobei freilich nur Kinder mit den verschiedenen Muskeldystrophien registriert wurden. Weitere, auch erwachsene Patienten, werden ebenso an den benachbarten Universitätskliniken in Heidelberg, Mannheim, Ulm, Tübingen, aber auch Basel und Straßburg erfaßt oder leben z.T. in Rehabilitationszent-

ren, die hier nicht berücksichtigt wurden,

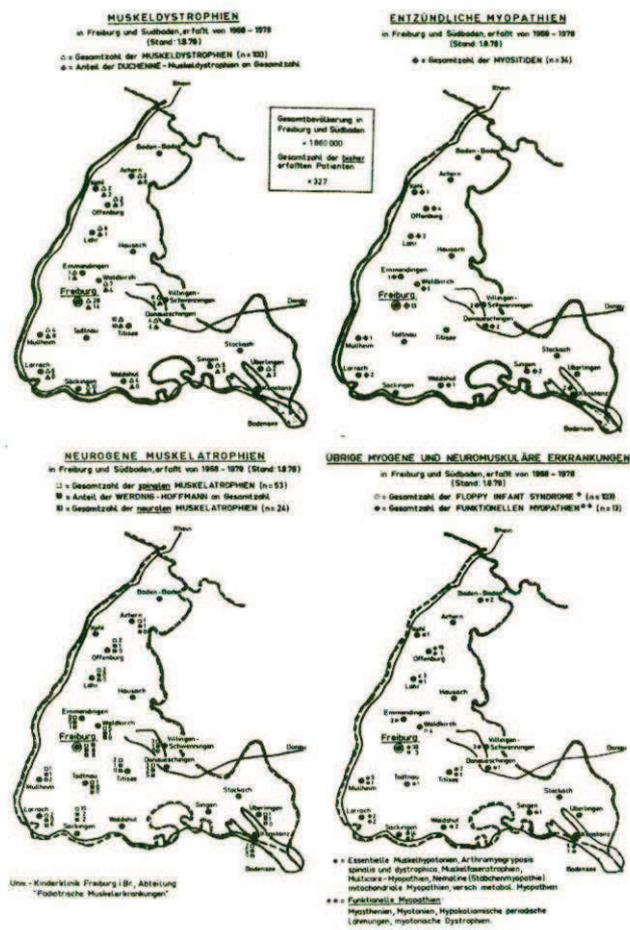


Abb. 4

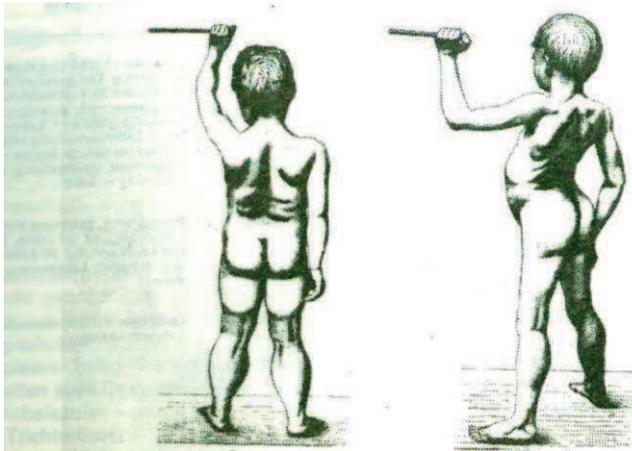


Abb. 5:

Typische klinische Symptome zweier Brüder mit Muskeldystrophie (n. W. ERB): Lordose, Gnomenswaden, Verschwächigung der proximalen Gliedmaßen, Scapulae alatae.

Allen Muskeldystrophien gemeinsam ist der progressiv-degenerative Schwund der Muskulatur an Rumpf und proximalen Gliedmaßen. Kau-, Zungen- und Gaumensegelmuskeln bleiben verschont. Die zunehmende Muskelschwäche, Muskelhypotonie und Muskeldystrophie, schließlich schlaffe Lähmungen, sind symmetrisch, mit Ausnahmen der Gliedergürtel- und okulären Form. Zahlreiche Patienten zeigen Pseudohypertrophien wie die sog. Gnomenswaden. Eine Beteiligung des zentralen und peripheren Nervensystems besteht nicht (Tab. I + II).

Bei der Beckengürtel-Muskeldystrophie vom Typ DUCHENNE können auch Wirbelsäulen- und andere Skelettdeformitäten, insbesondere Gelenkkontrakturen, gelegentlich Trichterbrust sowie die fast ausnahmslos anzutreffende dystrophische Herzmuskelerkrankung entstehen (Abb. 6).

Tab. I: Häufige Formen der Muskeldystrophien

	Geschlecht	Erbmodus	Beginn (Lebensjahre)	Verlauf und Prognose
<i>Beckengürtel-</i> bzw. infantile Formen: maligner Typ <i>Duchenne</i>		rezessiv-x- chromosomal	Erste 3	Zwischen 12. und 15. Lebensjahr gehunfähig, Tod gewöhnlich vor Erreichen des 30. Lebensjahres
Gutartiger Typ nach <i>Becker</i> und <i>Kiener</i>	♂		6.—19.	Langsamer, mehr gutartiger Verlauf. Gehunfähigkeit im 5. Lebensjahrzehnt. Lebenserwartung verkürzt
Gliedergürtelform oder „Limb- girdle“-Typ (<i>Leyden</i>)	♂ und ♀	rezessiv- autosomal	2.—40.	Verlauf bei frühem Beginn rasch progredient, sonst gutartig. Lebenserwartung verkürzt
<i>Schultergürtel-</i> bzw. juvenile Formen: fazioska- pulo-humerale Muskeldystrophie (<i>Landouzy-Dejerine</i> bzw. juvenile skapulo-humerale Muskeldystrophie (<i>Erb</i>))	♂ und ♀	dominant	7.—25.	Protrahierter, gutartiger Verlauf. Gehunfähigkeit nur selten. Funktionen kaum vor dem 30. Lebensjahr beeinträchtigt. Lebenserwartung normal
<i>Distale</i> Muskeldystrophien: Myopathia distalis, juvenilis hereditaria (<i>Biemond</i>)	♂ und ♀	dominant	5.—15.	Gutartiger Verlauf, normale Lebenserwartung
Myopathia distalis, hereditaria tarda (<i>Welander</i>)	♂ und ♀	dominant	20.—77.	
Muskeldystrophie vom atrophischen distalen Typ (<i>Milhorat</i> und <i>Wolff</i>) bzw. dominant erblich aszendierende Muskeldystrophie mit Beteiligung der kleinen Hand- muskeln (<i>Barnes</i>)	♂ und ♀	dominant	26.—43. 35.—50.	
<i>Okuläre</i> Muskeldystrophie (<i>Fuchs, Kiloh</i> und <i>Nervin</i>)	♂ und ♀	unregelmäßig dominant (?)	bis 60.	Verlauf schleichend protrahiert, meist über Jahrzehnte; auf die äußeren Augenmuskeln begrenzt

Tab. II: Gemeinsame klinische Merkmale der Muskeldystrophien

1. *Progressiver symmetrischer Schwund der Muskulatur an Rumpf und proximalen Gliedmaßen, der auch in abortiven Fällen niemals eine spontane Besserung aufweist.*
Kau-, Zungen- und Gaumensegelmuskeln bleiben verschont.
Bei einigen, in der BRD bisher kaum beobachteten Unterformen werden die distalen Gliedmaßenmuskeln, bei der okulären Muskeldystrophie die Augenmuskeln primär betroffen.
2. *Muskeldivädie und Muskelhypotonie mit symmetrischen Funktionsstörungen; schließlich schlaffe Lähmungen.*
3. *Abnahme der elektrischen Muskeleerregbarkeit, jedoch keine Entartungsreaktion, keine fibrillären und faszikulären Zuckungen, keine Sensibilitäts-, Blasen- und Mastdarmstörungen.*
4. *Pseudohypertrophien, d.h. eine scheinbare Vermehrung der Muskelmasse durch einwucherndes Fett- und Bindegewebe.*
5. *Erbliche Ätiologie und Mutationen.*
6. *Keine Beteiligung des zentralen und peripheren Nervensystems.*

8. Maligne Beckengürtelmuskeldystrophie (Duchenne)

Klinisches Bild

1. Meist verzögerte statomotorische Entwicklung **oder** Verlust der motorischen Funktionen nach zunächst unauffälliger Säuglings- und Kleinkindzeit.
Manifestation zwischen dem **3. und 5. Lebensjahr**.
2. Beginn der Muskelschwäche am Beckengürtel und an den Oberschenkeln.-Zunehmende Atrophien.
Watscheln, Zehengang, erschwertes Aufrichten aus dem Sitzen und Liegen. Hochklettern an sich selbst über die sog. Vierfüßler-Stellung (Gowers'sches Manöver) oder Abstützen an Möbeln (Wänden).
3. Pseudohypertrophien, besonders der Waden -
nicht gesetzmäßig, wenngleich häufig. Oft **Zungenmuskel!**
4. Mit zunehmendem Bewegungsverlust - unbehandelt: Ausbildung von Kontrakturen: Spitzfüße- Kontrakturen der Kniegelenke, in den Hüften -Ellenbeugen - Schultergelenken.
5. Späterer Befall des Schultergürtels: Sog. „Lose Schultern“ (abstehende Scapulae)
Selten auch Gesichtsmuskeln betroffen.
6. Wirbelsäulen - und andere Skelett-Deformierungen im weiteren Krankheitsverlauf.
- Trichterbrust -
7. Herzbeteiligung (Myokardschäden)

Progression

Stetig, doch mit unterschiedlicher Schnelligkeit, längere Stillstände möglich.

Zwischen dem 12. und 15. Lebensjahr meist gehunfähig,

j Tod gewöhnlich vor Erreichen des 20. bis 25. Lebensjahres (pulmonal, kardial)

Frühd Diagnose der Duchenne-Muskeldystrophie **bereits im Nabelschnurblut möglich!**

Die Progression ist stetig, jedoch mit unterschiedlicher Schnelligkeit; längere Stillstände sind möglich, Remissionen unbekannt. Bei der gutartigen Unterform nach BECKER-KIENER kommt es erst in der späten Adoleszenz oder im Erwachsenenalter zur klinischen Manifestation; die Gehfähigkeit und Berufsfähigkeit kann bis ins Alter erhalten bleiben. Verantwortlich hierfür ist ein zweites Gen auf einem X-Chromosom; die Carrier sind stets weiblich.

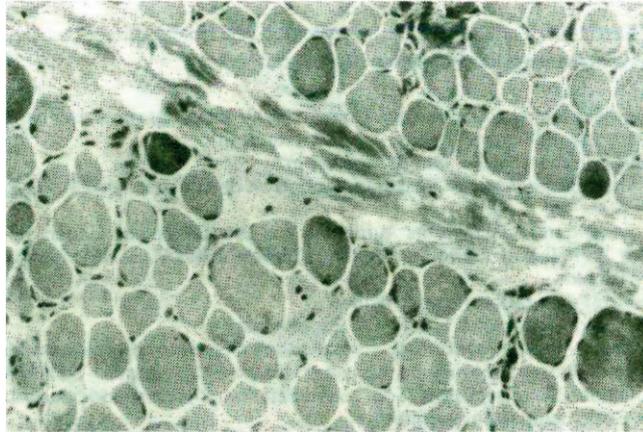


Abb. 7 a:

Progressive Muskeldegeneration, beginnende Kalibervariation im präklinischen, noch symptomfreien Stadium.

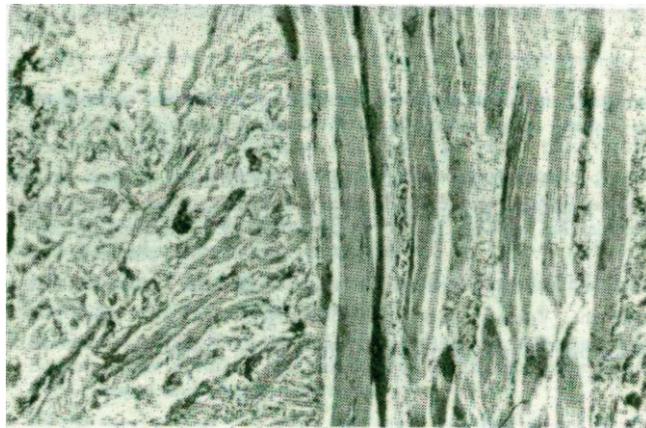


Abb. 7 b:

Fortgeschrittenes Stadium: Im Längs- und Querschnitt sind nur noch Muskelfaserreste mit eingewucherten, funktionslosen Bindegewebs- und Fettgewebszellen zu erkennen.

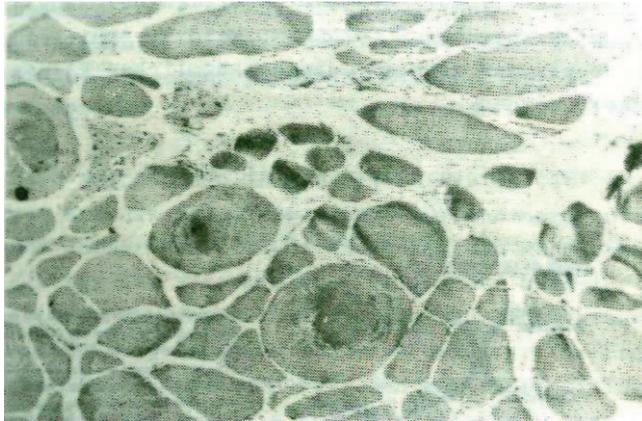
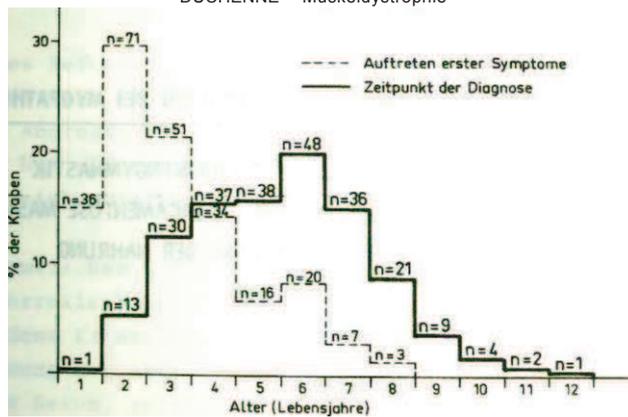


Abb. 7 c:
Muskelfaserquerschnitt: Kalibervariation mit hypertrophischen, atrophischen und noch normalen Muskelfasern.

Betrüblich ist die oft erst spät gestellte Diagnose, obwohl typische Symptome frühzeitig auftreten und an eine solche Erkrankung denken lassen sollten (Abb. 8).

Ergebnisse einer Umfrage bei 240 Eltern von Knaben mit DUCHENNE - Muskeldystrophie



Mit dem vielleicht schon bekannten CK-Screening-Test (Abb. 9) steht heute eine Methode zur Verfügung, die bereits bei Säuglingen eine Diagnose der präklinischen DUCHENNE-Muskeldystrophie erlaubt; ein positives Ergebnis muß noch mit den herkömmlichen klinischen Methoden abgesichert werden.

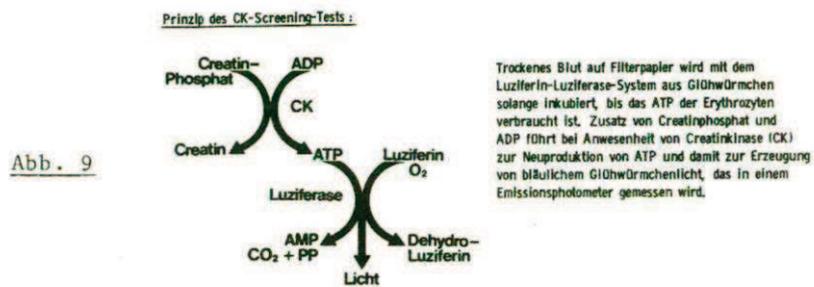


Abb. 9

Je mehr CK die Blutprobe enthält, desto stärker ist das bläuliche Glühwürmchenlicht

THERAPIE UND/ODER THERAPIEVERSUCHE BEI MYOPATHIEN

1. INDIVIDUELL ABGESTIMMTE KRANKENGYMNASTIK
2. BIOCHEMISCH BEGRÜNDETE, MEDIKAMENTÖSE MASSNAHMEN
3. SINNVOLLE ZUSAMMENSETZUNG DER NAHRUNG
4. FACHORTHOPÄDISCHE HILFEN
5. REHABILITATION
6. PSYCHISCHE FÜHRUNG

Abb. 10

Mehr als 25 Jahre habe ich Therapieversuche bei diesen leidvoll geprüften Kindern und Erwachsenen durchgeführt (Abb. 10). Zahlreiche Agenzien sind bis heute in den verschiedenen klinischen Zentren der Welt zur Anwendung gekommen. Eine Heilung ist leider noch immer nicht möglich.

1971 wurde ich durch einen in der freien Praxis tätigen Kollegen aus der Pfalz auf die zytoplasmatischen Organotherapeutika (Revitorgan aufmerksam gemacht und bekam die Möglichkeit, diese therapeutisch bei den verschiedenen Formen der Muskeldystrophie einzusetzen. 1975 wurden die Erfahrungen und Beobachtungen erstmals ausgewertet. Seitdem habe ich mehrfach über die Ergebnisse, ihre Möglichkeiten und Grenzen hier und andernorts ("Tagungsberichte der Jahrestagungen über die Zytoplasmatische Therapie" 1975-79; "Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin" Enke-Verlag, 1979) berichtet.

Bei konsequenter Anwendung der Dilutionen 22 und 96 (NeyTroph),

-9

Stärke II (10 g Organlysat / ml) aus Hypophyse, Skelettmuskulatur, Rückenmark, Thymus und foetalem Myocard, kam es bei einem Teil der Patienten zu einem Stillstand der sonst bekannten Progression, bisweilen sogar zu einer funktionellen Besserung, wenngleich bescheiden, vorübergehend und limitiert durch schon aufgetretene irreversible Muskelschäden.

Anhand eines Befundberichtes (Abb. 11) soll dargestellt werden, wie eine Kinderärztin in ihrer Praxis die Verlaufsbeurteilung vornimmt. Der kleine Andreas erhält die Dilutionen 22 und 96, Stärke II. Seine Motorik hat sich leicht gebessert bzw. ist im Verlaufe von 2 Jahren gleichgeblieben; die Kreatinkinase im Serum fiel ab.

Die therapeutischen Ergebnisse waren nicht immer mit biochemischen Befunden korrelierbar. Als Parameter diente das im 24-Stunden-Urin ausgeschiedene Kreatinin, ein anerkanntes Maß für die Muskelmasse. Die Bestimmung der Aktivitäten muskeleigener Enzyme, wie beispielsweise CK im Serum, zeigte starke Schwankungen und brachte keine sicher verwertbare Aussage. Die Kreatininbestimmung im Harn hingegen

ließ mehrfach eine Stabilisierung erkennen, gelegentlich sogar eine signifikante Anhebung, die dem jeweils faßbaren klinischen Zustand entsprechen könnte. Bis heute wurden mehr als 50 Muskeldystrophiepatienten, darunter über 30 Knaben allein in unserer Klinik in Zusammenarbeit mit Kollegen in der Praxis versuchsweise behandelt. Die günstigen Beeinflussungen mit Revitorgan wurden weiter bestätigt. Allerdings traten auch erneut Progressionen auf, hin und wieder kam es auch zu einem völligen Versagen.

Abb. 11

Dr. med. QERTRUD' C'ÜCKEL
FxmFOU (f- Kllldck, -nkfrctn)

BO fuchin/kt. 4.10.78
... 11----

An die
Univ. - Kinderklinik
Abt. Pädiatr. Muskelerkrank.
Prof. Cr. B. Beckmann
Hafthidenstr. 1

7800 Freiburg i. Br.

Befundbericht

von Kind Andreas geb. 4.7.72, wohnh. Willersdorf 26

Diagnose: Muskeldystrophie

27.9.78: a. Einbeinstand: rechts 40 Sek.
links 90 Sek.
b. Hüpfen: im Schlußsprung: 61 x
c. Hüpfen: im Wechsel der Beine: 158 x
d. Hüpfen: auf dem re. Bein 5 x
auf dem li. Bein 14 x
e. Rotation: Rumpf/Becken: durch Kniestand - Seitwärts-
Kniestand unverändert gut ausführbar.
f. Finger-Daumenopposition: schneller und koordinierter
möglich.
g. Mimik: etwas bewegter
h. Pfeiffen: zart, aber ausdauernder
i. Hinsetzen aus Rückenlage - Sitz: Unveränderter Befund
d. h. leichter Halt nötig.
j. Gestreckte Körperhaltung: Frei schwebend am Kopf und
Füßen gehalten mit 75 Sek. Ausdauer.
k. Treppensteigen: fällt nach wie vor schwer.
l. Wadenumfang: li. 31 cm; re. 30,3 cm
Beurteilung: Seit Juni 1978 ist Andreas 2 cm gewachsen. Körper-
gewicht 1 kg. zugenommen.

Bei der noch unklaren Ätiologie und Pathogenese der Erkrankungen und ihrer derzeitigen Unheilbarkeit scheint es nach den mehrjährigen Erfahrungen gerechtfertigt, Therapieveruche mit den zytoplas-

matischen Substanzen auch dann durchzuführen, wenn der Wirkungsmechanismus noch nicht vollständig geklärt ist. Mitentscheidend für einen Erfolg ist jeweils die frühzeitige Diagnose der Muskeldystrophie und rechtzeitige Anwendung dieser organotherapeutischen Maßnahmen.

Die Verlaufsbeurteilung von 415 Knaben mit DUCHENNE-Muskeldystrophie an der Universitätskinderklinik Freiburg in einem Zeitraum von z.T. mehr als 20 Jahren läßt Aussagen von 235, d.h. 56 % des Gesamtkollektivs zu. Von diesen 235 erfuhren 138, d.h. 78 %, eine Stabilisierung nach zuvor progressiv-muskeldystrophischen Prozessen. Die zeitliche Dauer dieser Stabilisierung betrug minimal 21 Monate und maximal bis zu 70 Monaten. 50 DUCHENNE-Knaben erfuhren im Verlaufe von gut 5 Jahren keine faßbare Verschlechterung. 38 zeigten bei Beginn der Therapieversuche die Frühstadien I und II, 9 das Stadium III und weitere 3 Knaben das Stadium IV mit schon beeinträchtigter Gehfähigkeit. Zwangsläufig sind auch andere Therapieversuche angestellt worden, unter den Patienten sind aber Knaben, die schon seit mehr als 2 Jahren zytoplasmatische Organotherapeutika erhielten. Einzelne sind bis heute stabil.

Zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus bieten sich radioaktive Markierungsmöglichkeiten, zunächst im Tierexperiment, an. Eine andere Möglichkeit sehe ich in der Fortführung der von THEURER und PAFFENHOLZ durchgeführten Gewebekulturversuche mit zytoplasmatischen Substanzen an normaler und dystrophischer Skelettmuskulatur menschlicher Provenienz.

Ein Wirkungsprinzip der zytoplasmatischen Organotherapie dürfte, nach ersten Befunden von THEURER und PAFFENHOLZ, auf organspezifischen, zellulären Proteinfaktoren beruhen, die in der Lage sind, Stoffwechsel- und Synthesevorgänge anzuregen.

Für die zahlreichen mit zytoplasmatischen Präparaten behandelten muskeldystrophen Patienten bin ich Herrn Dr. Theurer sehr zu Dank verpflichtet, weil er neue hoffnungsvolle Impulse bei den therapeutisch so problematischen Muskeldystrophien gesetzt hat. Diese

Ergebnisse sollten genutzt und durch Erweiterung der Grundlagenforschung verbessert werden: Durch biochemische Untersuchungen in Körperflüssigkeiten, Muskel- und Nervengeweben, elektrophysiologische Messungen (Elektromyogramm, Nervenleitgeschwindigkeit), histologische, enzymhistochemische und elektronenmikroskopische Befunderhebungen. Die Studien sollten sich dabei auf normale und dystrophische Skelettmuskulatur außerhalb des Körpers, einschließlich tierexperimenteller Medikamentenprüfungen, erstrecken, z.B. bei Mäusen mit erblicher Muskeldystrophie (C 57 BL/6Y).

Neben den Muskeldystrophien habe ich erstmals seit gut einem Jahr bei Patienten mit spinaler Muskelatrophie versuchsweise zytoplasmatische Substanzen eingesetzt. Die Ergebnisse sind noch nicht zu beurteilen, der Zustand scheint wenigstens stationär geblieben zu sein.

Es bleibt die Hoffnung und Erwartung, daß die in jüngster Zeit aktuell gewordene myologische Forschung zu sicheren Behandlungserfolgen, zumindest zu bleibenden Stillständen, führt. Die Muskeldystrophien stellen ein klinisch wichtiges Modell für Therapieversuche dar, deren Ergebnisse auch für zahlreiche andere myogene und neuromuskuläre Erkrankungen von Nutzen sein werden.

Literatur:

THEURER, K. und PAFFENHOLZ, V.:

"Die Beeinflussung zytoplasmatischer Enzyme in Zellkulturen von Patienten mit Muskeldystrophie". Der Kassenarzt **20**, 1295-1298 (1980)

Diskussion:

THEURER:

Wir danken Herrn Prof. BECKMANN für seinen Überblick und vor allem für seine Bereitschaft, diese Therapieform auch bei neuromuskulären Erkrankungen zu überprüfen und in größerem Maße in der Klinik anzuwenden. Am Anfang ist es ja immer sehr schwer, solche Methoden klinisch experimentell zu bearbeiten. Gerade bei derartigen Erkrankungen, wie der Muskeldystrophie, ist es auch nicht ganz einfach, die richtige Dosierung zu finden.

BECKMANN:

Zunächst haben wir Pilotstudien mit den Verdünnungen I bis III durchgeführt. Mit der Stufe II konnten dabei die besten Ergebnisse erzielt werden. Wir gehen nach einem ganz bestimmten Schema vor. Die Hausärzte bekommen von uns einen Plan, wie sie ambulant weiter therapieren müssen.

Zusätzlich zu den Revitorgan-Dilutionen geben wir eiweißreiche Nahrung. Man muß sich vorstellen: Kinder mit Muskeldystrophie verlieren viel Protein; dies ist nachweisbar anhand der pathologischen Hyperaminoacidurie.

Ein Athlet bringt seine volle Leistungsfähigkeit nur dann, wenn er mindestens 1 g Protein pro kg Körpergewicht pro Tag zu sich nimmt. Unsere Patienten, die laufend Protein verlieren, sollten deshalb mindestens 2 g tierisches Eiweiß pro kg Körpergewicht zugeführt bekommen. Hinzu kommen natürlich noch physiotherapeutische Maßnahmen in Form der Isometrie und des sog. Klopf-Druck-Verfahrens.

Trotz aller Maßnahmen gibt es auch Versager. Diesen Kindern geht es 1/2 Jahr oder 3/4 Jahr nach vorheriger Progression gut; man atmet richtig auf, diesen Patienten helfen zu können. Eines Tages, das befürchten wir auch bei unseren "Starpatienten" - wenn ich das so sagen darf - kommt dann die Katastrophe. Von einem Tag auf den andern verlieren diese Kinder ihre Funktionen, die bisher so stabil waren. Das ist natürlich sehr hart. Tritt dieser Fall ein, gibt es

praktisch keine Möglichkeiten mehr, die Kinder auf die Beine zu bringen.

Wir haben natürlich auch andere Substanzen eingesetzt, so beispielsweise ATP-haltige Nukleotid-Gemische; auch hier immer wieder mit nur begrenztem Erfolg. Bei Knaben mit drohendem Verlust der Gehfähigkeit setzten wir menschliches Wachstumshormon ein; Dosis: 0,4 E. pro kg Körpergewicht und Woche; danach fangen sich die Kinder z.T. wieder. Die Besserung ist manchmal geradezu dramatisch, aber dann kommt doch irgendwann wieder der Zusammenbruch.

Betrachten wir unseren derzeitigen Arzneimittelschatz, so sind die zytoplasmatischen Organotherapeutika außerordentlich wertvoll; allerdings können wir den therapeutischen Erfolg nicht voraussagen. Ich bin der festen Überzeugung, daß in den zytoplasmatischen Präparaten, vor allem in jenen fötaler Provenienz, ganz bestimmte Agenzien enthalten sind, die bei diesen Patienten zumindest zu einem Stillstand führen können. Es ist bisher keine kausale Behandlung, aber eine wirkliche Chance für diese Kinder, ihre Gehfähigkeit wieder zu bessern. Als Kinderarzt habe ich mich schon sehr lange damit befaßt. Die Lebenserwartung oder die Lebensqualität dieser Patienten kann damit bisweilen um 5-10 Jahre verbessert werden. Ich möchte Ihnen wirklich nochmals herzlich für die Empfehlung dieses therapeutischen Prinzips danken.

THEURER:

Würde die individuelle Dosierung hier nicht mehr bringen? Wäre es vielleicht nicht zweckmäßiger, Wiederholungskuren mit zunächst 1, 2 oder 3 Behandlungen Stärke I zu beginnen und daraufhin das subjektive Befinden der Kinder zu verfolgen?

Weiter wäre zu überlegen: Spielen bei den Kindern nicht auch vegetative Reaktionen eine Rolle, Streßreaktionen? Haben diese Kinder irgendwelche Herdbelastungen? Haben sie psychische Belastungen? Auch das kann zu Entgleisungen führen. Selbst ein Klimawechsel, wie beispielsweise eine Mittelmeerreise mit starker Sonnenbestrahlung, kann einen derartigen Streß bedeuten.

Zu überlegen wäre auch, ob hier nicht zusätzlich eine Substitution von Elektrolyten und Spurenelementen durchgeführt werden müßte. Die Kalium-, Calcium- und Natrium-Relation ist bei diesem Krankheitsbild ganz wesentlich. Normalerweise kann der gesunde Organismus Ungleichgewichte ausgleichen. Der kranke Organismus hingegen braucht zunächst eine Substitution, einen "künstlichen" Ausgleich, damit er wieder die Fähigkeit gewinnt, rein über die Ernährung, ins Gleichgewicht zu gelangen. Es gilt also, die Voraussetzung für eine Normalisierung zu schaffen. Auch die Dosierung sollte in diesem Sinne individualisierend durchgeführt werden. Bei der routinemäßigen klinischen Therapie ist das kaum möglich. Wir freuen uns, daß diese, der Klinik angepaßte Basistherapie zu Ergebnissen geführt hat. Ich bin überzeugt: Eine weitere Verbesserung der therapeutischen Möglichkeiten ist von der Auswahl bestimmter Organsubstanzen und deren richtigen Dosierung abhängig.

BECKMANN:

Ich stimme Ihnen voll bei. Wir würden diese therapeutischen Ansätze gerne weiter ausbauen, als wir es bisher tun konnten. Aber das Handicap liegt einfach darin: Meine Abteilung ist noch nicht so ausgestattet, wie es eigentlich erforderlich wäre. Wir sind deshalb bemüht, eine dringend notwendige bauliche Erweiterung der Universitäts-Kinderklinik durchzuführen. Allerdings fehlen die Gelder. Wir hoffen aber, daß der Staat die Notwendigkeit, sich hier zu engagieren, erkennt. Das Krankengut dieser Kinder wird immer größer, weil wir Schwierigkeiten hinsichtlich einer adäquaten Behandlung haben. Wir brauchen einfach eine zentrale Institution in der Bundesrepublik, die sich gezielt um die muskeldystrophen Patienten kümmert, so wie beispielsweise Diabetiker regelmäßig zu einer Kontrolle einbestellt oder aber Leukoscen und andere onkologische Erkrankungen überwacht werden. Eine derartige Institution fehlt bisher!

REICHELT:

Bei Messungen mit dem Voll'schen Gerät* zeigt sich immer wieder: Vor jeder Verschlechterung haben die sehr schmerzhaften Muskelansatzpunkte fast immer Werte zwischen 0 und 10; dagegen liegen die Meßpunkte des Rückenmarks alle sehr hoch. Es wäre vielleicht wichtig, etwas in Richtung auf das Bindegewebe zu unternehmen, an dem die Muskulatur hängt.

THEURER:

Wir danken Ihnen für diese Anregung. Das zytoplasmatische Präparat Dilution Nr. 96 (NeyTroph) enthält u.a. Muskulatur mit Sehnenansätzen.

BECKMANN:

Das Primäre ist der muskeldystrophe Prozeß und nicht der Bindegewebsprozeß. Der Bindegewebsprozeß ist nur sekundär in dem Sinne, daß zugrunde gegangene Muskulatur durch z.T. funktionsloses Fettgewebe ersetzt wird.

POHL:

Ist diese Behandlung auch bei der Multiplen Sklerose und bei amyotrophischer Lateralsklerose durchführbar?

BECKMANN:

Über die amyotrophische Lateralsklerose habe ich als Kinderarzt praktisch keine Erfahrung. Diese Patienten sehen wir nicht, das sind Ausnahmen. Bekomme ich Zuschriften dieser Art, verweise ich auf Prof. KUNZE von der Neurologischen Universitätsklinik in Glessen, der, meiner Meinung nach, auf diesem Gebiet besonders große Erfahrung hat. Was nun die anderen Erkrankungen anbelangt, meine ich, müßte man entsprechende Organextrakte einsetzen. Bei spinaler Muskelatrophie haben wir gerade erst damit begonnen. Sobald Ergebnisse vorliegen, werde ich darüber berichten.

*) dient zur Herd- und Störfeld-Diagnostik

Organotherapie in der geriatrischen Cardiologie
- Eine Pilot-Studie -

K.-S. LACHNIT, A. KLAUSNER, E. PROSZOWSKI

IV. Medizinische Abteilung
des Pflegeheimes der Stadt Wien-Lainz

Ähnlich den Krankenabteilungen der Allgemeinmedizin stellen die geriatrischen Kranken- und Pflegeabteilungen eine negative Auslese dar.

Am Beispiel der Situation in Wien finden wir, daß bei 436.285 über 60jährigen (d.s. 27,4 % der Gesamtbevölkerung), 37 % in Akutspitälern und 1,6 % in geriatrischen Kranken- und Pflegeabteilungen aufgenommen sind. Dennoch gehen gerade von diesen geriatrischen Abteilungen Impulse und Ergebnisse geriatrischer Forschung aus, die für die Gesamtheit alter Menschen, sowohl in diagnostischer, als auch in therapeutischer Hinsicht, von grundlegender Bedeutung sind.

Dies mag anhand cardiologischer Probleme an einer großen geriatrischen Abteilung dargestellt werden. Von 289 Patienten (98 Männer und 191 Frauen) im Alter von 50 bis 98 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 78,57 Jahren, bestehen bei 119 Patienten, d.s. 41 %, deutliche Zeichen einer klinisch manifesten Coronarinsuffizienz. Sicherlich ist der Prozentsatz der pathologischen Veränderungen wesentlich höher. Bei den pathologischen anatomischen Sektionen finden sich in 83,6 % coronarsklerotische Veränderungen. Diese bilden den Hauptanteil pathologischer Veränderungen am alten Herzen, gefolgt von Hypertrophie des linken Ventrikels und chronischem Cor pulmonale, Myocardveränderungen und Klappenveränderungen (vor allem der Mitralklappen). Dabei ist die für das Alter charakteristische Häufung mehrerer Veränderungen pro Herz (Polypathie oder Multimorbidität) hervorzuheben-. Diese Polypathie erklärt auch

die Besonderheiten morphologischer, funktioneller und haemodynamischer Erscheinungen im Alter.

An sogenannten "Risikofaktoren" und Begleitkrankheiten finden sich die diabetischen Stoffwechselstörungen im Vordergrund, dann die Hypertonie, Hyperlipidaemie, Nikotinabusus und Übergewicht.

Klinisch manifestiert sich die Coronarinsuffizienz bei einer grossen Anzahl von Patienten überhaupt nicht oder atypisch diagnostizierbar nur durch das EKG, durch Angina pectoris-artige Symptome, cardiale Decompensation, Rhythmus- und Überleitungsstörungen sowie vereinzelt durch Thrombosen und Embolien. Zu den bekannten Symptomen wäre noch hinzuzufügen, daß im Alter die akute Coronarinsuffizienz und Decompensation oft unter dem Bild eines akuten Abdomens oder einer diabetischen Stoffwechselentgleisung auftritt. Erschwerend oder oft auslösend sind akute Erkrankungen, besonders Pneumonie, Inanition und Kachexie, Anaemie und renale Insuffizienz, sowie Stoffwechselstörungen wie Diabetes und Dysthyreosen.

Die Therapie ist durch die besondere Pharmakokinetik im Alter geprägt: Mangelhafte orale und enterale Resorption durch Atrophie der Schleimhäute, verminderte parenterale Verteilung durch Vermehrung des Bindegewebes und Reduzierung der Kapillaren, ungenügende Metabolisierung durch funktionelle oder organische Insuffizienz des Leberparenchyms, mangelhafte Ausscheidung durch Insuffizienz der Nieren-Glomeruli und -Tubuli. Oft besteht auch ein verringertes Körpergewicht durch Mangelernährung, Malabsorption und Kachexie.

Betrachten wir die uns zur Verfügung stehende Therapie, so sind im Alter gewisse Beschränkungen zu beachten: Im Vordergrund steht natürlich die Digitalis-Behandlung, wobei die verschiedenen Kontraindikationen und Vorsichtsmaßnahmen im Alter besonders auffällig sind. Zumindest ebenbürtig ist das Strophantin, das sich im Alter nicht nur bei allen akuten Fällen parenteral, sondern auch in der umstrittenen peroralen Form bei den vielen Digitalis-empfindlichen Patienten bewährt hat. Die Diuretika sind meist von grundlegender

Wirkung, aber mit größter Vorsicht anzuwenden (Hypoaldosteronismus, Niereninsuffizienz, Dehydratation, Diabetes). Das gleiche gilt für die Sedativa. In der Gruppe der Antiarrhythmika gibt es heute schon so viele Präparate, daß es einer genauen Kenntnis der Wirkung und der Erfahrung des Therapeuten bedarf, diese gezielt einzusetzen. Antikoagulantien- und Heparintherapie sind im Alter eher kontraindiziert. Bei den Antihypertensiva ist eine abrupte Blutdrucksenkung zu meiden, andererseits können die Sympathicomimetica eine bestehende Coronarinsuffizienz eher verschlechtern. Der Vollständigkeit halber seien noch die Elektrolyte wie K und Mg erwähnt. Und zuletzt die große Gruppe der herzentlastenden Pharmaka: Die Beta-rezeptoren-Blocker sind im Alter kontraindiziert (Herzinsuffizienz, chronische asthmoide Bronchitis, Bradycardie und Schenkelblockbildung, Diabetes u.a.), die α -Blocker befinden sich noch im Experimentalstadium, und schließlich die Nitropräparate, die, trotz nicht restlos geklärtem Wirkungsmechanismus, die beste Wirkung zeigen. Wegen der unsicheren Wirkung wird die Gruppe der Calciumantagonisten nicht gesondert angeführt.

Betrachten wir diese kurze Einführung in die Cardiologie des alten Menschen kritisch, so müssen wir aus der praktischen Sicht des am Krankenbett stehenden Arztes feststellen, daß unsere Behandlungsmethoden sehr dürftig und, in Anbetracht der polypathologischen Veränderungen des alten Herzens, nur bedingt erfolgversprechend sind. Es liegt daher nahe, gerade auf diesem Gebiet nicht-problemathe Therapien auszutesten, in der Hoffnung, die morphologischen und funktionellen Störungen des Herzmuskels zu verbessern oder auch für die klassischen Therapien vorzubereiten.

In Form einer Pilot-Studie wurde randomisiert eine cardial betonte Organotherapie durchgeführt.

M e t h o d i k :

40 Patienten (je 20 Männer und 20 Frauen) mit schweren cardialen Veränderungen, wo jedoch eine Erlebenschance bestand, wurden auf 2 Gruppen mit etwa ähnlichen Befunden (Status, Risikofaktoren,

Begleitkrankheiten) aufgeteilt (Tabelle 1).

Tab. 1: Aufteilung der Patienten

	Männer	Frauen	Alter	Durchschnitts- alter
Studie	10	10	57-90	77,7
Kontrollgruppe	10	10	69-90	77,05

In der 1. Gruppe wurde die gesamte cardiale Therapie (Digitalis, Nitropräparate und Antihypertensiva) abgesetzt, die 2. Gruppe erhielt als Kontrollgruppe die Therapie bei. Die Gesamtbeobachtungszeit für die Studie betrug 8 Wochen. Bei beiden Gruppen wurden wöchentlich Blutdruck, Herzfrequenz und EKG kontrolliert, sowie die Patienten auf subjektive Beschwerden (Herzbeschwerden) befragt und objektive Symptome (Dyspnoe, Oedeme, Stauung) untersucht. Zu Beginn und nach der Beobachtung wurden die kompletten haematologischen und klinisch-chemischen Laboruntersuchungen durchgeführt. Von der 1. bis zur 7. Woche erhielt die Verum-Gruppe eine Behandlung mit Revitorgan^{^^}-Präparaten nach einem Schema (Tabelle 2).

Tab. 2: Behandlungsschema

	Montag	Mittwoch	Freitag	An den injektions- freien Tagen
1. Woche	D6 I	D 96 I	D61 NI	L 61 und 98 (69)
2. Woche	D6 I	D 96 I	D61 NI	
3. Woche	D6 II	-	D96 II	
4. Woche	D61 NI	-	D96 II	
5. Woche	D96 II	-	D61 NII	
6. Woche	D6 III	-	D96 III	
7. Woche	D61 NII	-	-	

Als Kriterien der Beurteilung wurde die Zahl der Patienten mit jeweils subjektiven Beschwerden, objektiven cardialen Symptomen, sowie mit dem notwendigen Bedarf an Digitalis, Nitropräparaten und Antihypertensiva festgehalten. Beim EKG beurteilten wir getrennt

den QRS-Komplex, die ST-Strecke und die T-Welle, nach einem Punktesystem von 0-3 (keine, leichte, mittelschwere und schwere Veränderungen) (Tabelle 3) .

Tab. 3a: **Beurteilung der Ergebnisse**

	Subjektiv		Objektiv		Digitalis		Nitro		Anti-hypert.	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
Studie	11	3	18	3	16	3	20	4	7	7
Kontrollgruppe	12	10	16	13	20	20	20	20	9	11

Tab. 3b: **Beurteilung des EKG**

EKG	QRS		ST		T		Gesamt	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
Studie	16	6	18	2	29	12	63	20
Kontrollgruppe	19	21	24	23	26	31	69	75

E r g e b n i s s e :

Die Ergebnisse zeigen in der Verum-Gruppe einen deutlichen Rückgang der subjektiven und objektiven Zeichen. Im Vergleich dazu ist bei der herkömmlich behandelten Kontrollgruppe eine geringe Besserung zu verzeichnen. Nur 3 von 20 Patienten mußte während der Studiendauer erneut Digitalis gegeben werden und bei 4 Nitropräparate. Die Blutdruckwerte wurden nicht beeinflußt, die antihypertensive Therapie mußte wieder unverändert weitergeführt werden. Noch deutlicher sind die Ergebnisse im EKG. Unter einer Revitorgan-Therapie gelingt es offensichtlich, pathologische EKG-Veränderungen zu bessern bzw. z.T. überhaupt rückgängig zu machen.

Faßt man die Ergebnisse zusammen, ist festzustellen, daß es unter einer cardiologisch betonten Organotherapie mit zytoplasmatischen Substanzen zu einer Besserung der polypathologischen Veränderungen am Herzen alter Menschen kommt. Bei einem Teil der Patienten kann-

te überhaupt auf längere Zeit eine übliche Herztherapie entfallen, und schwere Fälle sprachen besser auf die Standard-Therapie an. Es wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, festzustellen, wie lange dieser Effekt anhält. Durch weitere multizentrische Untersuchungen sollten unsere Behandlungsergebnisse bestätigt und evtl. modifiziert werden, so daß dann endgültige therapeutische Richtlinien gesetzt werden können.

Zusammenfassung:

Geriatrische Krankenabteilungen stellen sicherlich hinsichtlich der allgemeinen Problematik alter Menschen eine negative Auslese dar. Dennoch bilden geriatrische Abteilungen am ehesten einen statistisch erfaßbaren Querschnitt durch die Geriatrie. Sie lassen diagnostische und therapeutische Konsequenzen zu, die auch für die Gesamtheit alter Menschen von grundlegender Bedeutung sind. Anhand einer großen geriatrischen Krankenabteilung werden die speziellen cardiologischen Probleme alter Patienten aufgezeigt. Die Besonderheit der Pharmakokinetik im Alter zwingt zu besonderer Vorsicht in der Therapie. Dadurch, und durch die schweren, zum größten Teil irreversiblen Veränderungen, ist nur bei einem kleinen Teil der Patienten mit einer Besserung zu rechnen. Es liegt daher nahe, biologische, nicht-toxische Behandlungsmethoden beim alten Menschen zu erproben. Von theoretischer Seite bietet sich die Organotherapie besonders an. In Form einer Pilotstudie nahmen 20 Patienten an einer kontrollierten, offenen Studie mit cardial betonter Organotherapie teil. Nach einem Überblick über Auswahl der Patienten und Methodik werden die Ergebnisse erläutert. Größere multizentrische Studien sollten diese Ergebnisse bestätigen, um dann therapeutische Richtlinien setzen zu können.

Behandlung von Haarkleidveränderungen
mit der Gegensensibilisierung
und zytoplasmatischen Präparaten

H.K. DREIER

Universitätsklinik für Geburtshilfe,
Gynäkologie und Andrologie,
Veterinärmedizinische Universität Wien

Haarkleid- und Hautveränderungen können durch verschiedene Ursachen hervorgerufen werden. Als Veterinärgynäkologen beschäftigen wir uns mit endokrin bedingten Haarveränderungen, die nach ARBEITER (1977) in 4 Gruppen eingeteilt werden:

- Ovarielle Dysfunktion
- Gonadotrope Dysfunktion
(HVL-NNR-Ovar-Achse)
- Dysfunktion der NNR
- Dysfunktion der Thyreoidea

In meinen kurzen Ausführungen werde ich auf Haarkleid- und Hautveränderungen, die durch ovarielle Dysfunktionen verursacht werden, eingehen. Diese Funktionsstörungen verursachen das Krankheitsbild einer verlängerten Läufigkeit, Hyperplasia glandularis cystica endometrii oder eines Granulosazelltumors. Bei diesen Gynäkopathien wird über einen unphysiologisch langen Zeitraum Östrogen produziert, das zu Haar- und Hautveränderungen führt. Solche Veränderungen können auch durch zu hoch dosierte Östrogenapplikationen (z.B. im Verlauf einer Nidationsverhütung; "Östrogenvergiftung") verursacht werden. Durch diese Östrogenbeeinflussung werden die Haare glanzlos, brüchig und fallen aus. In den meisten Fällen sind die ersten Veränderungen symmetrisch seitlich der Wirbelsäule, im Bereich der Ovarien und Nieren (sogenannte "Rückenbrille"), er-

kennbar. Der Haarausfall kann auch andere Lokalisationen aufweisen, wie Schwanzansatz, Perineum, Schenkelinnenfläche, Bauchunterseite sowie Nacken, der Bereich der Schulterblätter und des Nasenrückens. Der Haarausfall ist manches Mal so hochgradig, daß der Patient nurmehr an Kopf und Schwanzspitze Behaarung aufweist. Die Haut wird trocken, hyperkeratotisch und rissig. Mit zunehmender Dauer des Prozesses wird sie durch vermehrte Pigmenteinlagerung schwarz.

Es werden auch Patienten vorgestellt, die klinisch-gynäkologisch unauffällig sind und trotzdem während der Läufigkeit und Scheinträchtigungsperiode bzw. Lactatio sine graviditatem, Veränderungen des Haarkleides aufweisen. Mit jeder weiteren Läufigkeit werden die haarlosen Stellen unterschiedlich größer. In der Phase der Zyklusruhe (AnÖstrus) treten keine weiteren Verschlechterungen im Krankheitsbild auf.

Die von uns behandelten Patienten wiesen diese Haarkleidveränderungen bereits über Jahre auf, wurden tierärztlich mit geringem oder keinem Erfolg vorbehandelt. Da eine ovarielle Dysfunktion für diese Veränderungen als primäre Ursache angenommen wurde, erfolgte bei allen 29 Patienten die Ovariohysterektomie. Durch die Operation kam es, mit Ausnahme von 4 Patienten, zu keiner oder nur geringgradigen Besserung der Haarkleid- und Hautveränderungen. 4 Hündinnen waren nach etwa 4 Wochen wieder voll behaart. Nach ca. 3 Monaten begannen die Haare an denselben Stellen wieder auszufallen. Bei 2 von diesen 4 Patienten waren vor der Operation weder Hyperkeratose noch vermehrte Pigmenteinlagerung nachweisbar.

In 18 Fällen wurde die Gegensensibilisierung nach THEURER (1978) durchgeführt. Von jeder Hündin wurde in 2 sterilen Blutröhrchen Blut gewonnen und zentrifugiert. 4 - 5 ml Serum wurden in einem sterilen Fläschchen mit 2 ml Serumaktivator versetzt, aufgeschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Danach wurde mit physiologischer Kochsalzlösung die hergestellte Stammlösung auf 10 ml Gesamtmenge aufgefüllt. Unter sterilen Kautelen wurde eine Verdünnungsreihe von dieser Stammlösung hergestellt: von 10^{-2} bis 10^{-12}

Die Injektionsserie wurde mit 10^{-12} begonnen und mit 10^{-2} beendet. Jeden 3 Tag wurden 0,4 - 0,5 ml intracutan im Bereich der Kniefalte verabreicht. Fallweise kam es zu Unverträglichkeitserscheinungen die sich mit starker Rötung und Kontraktion der Haut im Bereich der Injektionsstelle bzw. der haarlosen Stellen zeigten. Auffallend war, daß bereits nach der 4-/5. Injektion neue Haare erkennbar waren. Die Hyperkeratose und -pigmentation erschienen zu diesem Zeitpunkt noch unverändert. Nach 4 - 6 Wochen waren die Patienten bis auf 6 Hündinnen vollständig behaart, die Haut hatte wieder weitgehend normale Beschaffenheit. Bei den verbleibenden 6 Fällen wiederholten wir die Gegsensensibilisierung, die dann bei 3 Hündinnen zur vollständigen Behaarung führte; in 2 Fällen konnte eine Besserung festgestellt werden, und bei einer Pudelhündin mußte die Behandlung ohne Erfolg abgeschlossen werden.

Bei den verbleibenden 11 Hündinnen wurde die Gegsensensibilisierung mit der Zytoplasmatischen Therapie kombiniert. Etwa 7 Tage nach Beendigung der Gegsensensibilisierung wurde 5 mal Revitorgan Dilution Nr. 5 (Stärke II) in 3 - 4 Tagesabständen appliziert. 8 Patienten zeigten 14 Tage nach Ende der Therapie ein der Rasse entsprechendes Haarkleid. Die Hyperpigmentation war teilweise noch erkennbar. Bei 3 Hündinnen trat eine Besserung ein; die Haut blieb etwas trocken und die haarlosen Stellen wiesen nur eine schütterere Behaarung auf (siehe Tabelle).

Zum Abschluß meiner Ausführungen möchte ich noch über eine 3jährige Dalmatinerhündin, die regelmäßig 2 mal jährlich scheinträchtig wurde, berichten. Die Besitzerin beobachtete, daß während der Lactatio sine graviditatem das Haarkleid struppiger und unansehnlicher wurde. Diese Haarveränderungen waren immer nur im März/April vorhanden, nicht jedoch im Herbst. Mit 3 Jahren traten dann neben den Haarkleidveränderungen Rötungen im Bereich der Extremitäten, Bauchunterseite und in den Flanken auf, die mit hochgradigem Juckreiz einhergingen. Die Hündin kratzte und benagte sich in einem Ausmaß, das sowohl für Hündin als auch Besitzerin unerträglich wurde. Auch in diesem Fall führten wir die Gegsensensibilisierung durch. Nach der 3. Injektion kratzte sich die Hündin weniger, und die Rötungen

nahmen deutlich ab. Die durch Kratzen und Benagen entstandenen Effloreszenzen begannen abzuheilen. Eine Woche nach der letzten Injektion war die Hündin vollkommen beschwerdefrei. Ein Jahr nach dieser Behandlung wurde bei der ersten Rötung, die zwischen den Zehen erkennbar war, sofort die Gegengensibilisierung durchgeführt. Verwendet wurde wieder die im Vorjahr hergestellte Stammlösung. Die Hündin kratzte sich kaum und es wurde nur die Lactatio sine graviditate behandelt.

Tabelle 1:
Gegengensibilisierung (GS) und Zytoplasmatische Therapie
bei Haut- und Haarkleidveränderungen

n	Alter Ø in Jahren	Rasse (n)	Art der Veränderungen	Anzahl d. GS	Zytoplasm. Therapie	Ergebnis	%
10	7	Boxer (3) Pudel (3) Dackel (2) Spaniel (2)	1, 2, 3	1	-	geheilt	68,6
3	7	Pudel (2) Dt.Vorstehh.(1)	1, 2	1	-	geheilt	
3	8	Pudel (3)	1, 2, 3	2	-	geheilt	15,7
1	10	Dt.Vorstehhund	1, 2	2	-	gebessert	10,5
1	6	Pudel	1	2	-	gebessert	
1	9	Pudel	1	2	-	ungeheilt	5,2
8	6	Pudel (3) Boxer (3) Spaniel (1) Dackel (1)	1, 2, 3	1	Revitorgan Dil. 5	geheilt	66,6
3	7	Pudel (2) Dt.Vorstehh.(1)	1, 2, 3	1	Revitorgan Dil. 5	gebessert	25,0
1	8	Dt.Vorstehhund	1	1	Revitorgan Dil. 5	ungeheilt	8,4

1 = Haarverlust, 2 = Hyperpigmentation, 3 = Hyperkeratose



Abb. 1:
DRH, 7 1/2 J.; Haar- und Hautveränderungen über Kreuzbein und Nieren-Ovargegend vor GS



Abb. 2:
DRH, 7 1/2 J.; Kreuzbein- und Nieren-Ovargegend nach GS



Abb. 5:
Pudel, 7 J.; Haar- und Hautveränderungen am Schwanz und Perineum vor GS



Abb. 4:
Pudel J, 7 J. ; Schwanz und Perineum nach GS



Abb. 5:
Boxer, 6 J.; Haar- und Hautveränderungen im Bereich des Perineums vor GS



Abb. 6:
Boxer, 6 J.; Perineum nach GS



Abb. 7:
Dalmatiner, J, 3 J.; Haar- und Hautveränderungen im Bereich d. Extremitäten, Bauchunterseite und in den Flanken vor GS

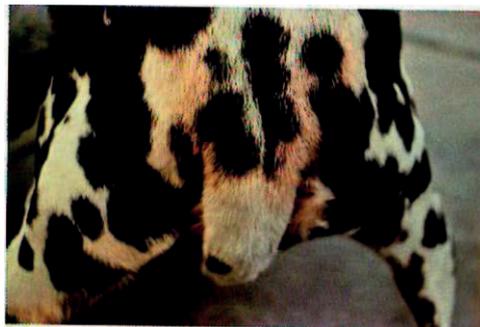


Abb. 8:
Dalmatiner, 2, 3 J.; Schwanz und Perineum nach GS

Literatur:

ARBEITER, K.: "Endokrinbedingte Haarkleidveränderungen beim Hund"
Kleintierpraxis **22**, 1 (1978) 10.

THEURER, K.: "Gegensensibilisierung: Alte Methode - neue Theorie"
Selecta 38 (1978) .

Diskussion:

HEUER:

Bei den ganzen Hauterkrankungen unserer Hunde spielt die Acanthosis nigricans eine bedeutsame Rolle. Leider sind alle bisherigen therapeutischen Bemühungen umsonst. Haben Sie, Herr Kollege DREIER, irgendwelche speziellen Erfahrungen in der Therapie dieser häßlichen Erkrankung?

DREIER:

Was die reine Acanthosis nigricans anbelangt, so haben wir keine eigenen Erfahrungen. Die mit hormonellen Störungen auftretende Acanthosis nigricans war offensichtlich mit der Gegensensibilisierung am besten zu beheben.

SCHLOSSAREK:

Bei der Acanthosis nigricans empfehlen wir die Trockensubstanz Nr. 73 (Neyimmun) und danach das Hautpräparat Nr. 5. Es müßte eigenartig sein, wenn der Hund nicht innerhalb von 4 Wochen wieder sein Fell bekäme.

Können Sie mir sagen, wie wir der sog. Wollfellbildung nach der Sterilisation von roten Langhaardackeln begegnen können? Dieses Phänomen kann übrigens auch ohne Sterilisation nach Gestagengaben auftreten.

DREIER:

Bei der Wollfellbildung machten wir gute Erfahrungen mit reiner Vitaminisierung und Gaben von Folsäure. In diesen Fällen haben wir

nicht zytoplasmatisch gearbeitet.

Was die Haarveränderungen bei einer Gestagen-Therapie anbelangt, konnten wir keine hochgradigen Veränderungen erkennen oder feststellen. Wir sahen, daß Hunde - und hier vor allem die kleineren Rassen - eher zu Fettsucht und struppigem Haarkleid neigen. Sobald der Einfluß der Gestagene vorbei ist, bessert sich die Haarqualität wieder; hier greifen wir nicht ein. Die Anzahl der Patienten, die mit diesen Problemen zu uns gebracht werden, ist recht klein.

BARTHOLD:

Wie haben Sie übrigens die Lactatio falsa behandelt? An und für sich kommt man doch hier mit Cortison sehr gut zurecht. Biologisch ist das allerdings nicht ganz vernünftig. Desweiteren führe ich die Gegensensibilisierung nach den Angaben von Prof. KRAFT durch, beginne also mit 10^{-8} bis 10^{-4} . Halten Sie die humanmedizinische

-12

Methode nach THEURER, beginnend mit 10 für besser?

DREIER:

Ich habe mich nur an die von Dr. THEURER ursprünglich inaugurierte Verdünnungsreihe von 10^{-8} bis 10^{-4} gehalten. Damit bin ich sehr zufrieden. Insgesamt sind das 6 Injektionen. Gelegentlich verabreichen wir die Verdünnungen 10^{-8} und 10^{-4} noch einmal in doppelter Dosierung. Eine Variation der Gegensensibilisierung habe ich nicht versucht. Ich kenne aber Kollegen, die die Gegensensibilisierung verkürzt durchführen und mit den dabei erzielten Erfolgen zufrieden sind. Ich bin jedoch überzeugt, der humanmedizinische Weg ist der bessere.

Nun zu Ihrer weiteren Frage: Die Scheinträchtigkeitsbehandlung wird entweder diätetisch mit entsprechender Gesäugebehandlung durchgeführt oder aber medikamentös mit Antiprolaktin.

I n d e x :

- Aberrationen, chromosomale 143
- Abwehr 165
 - Aktivierung 167
 - System 167
- Acetylcholin 61
- Acetylierung 108
- Adaptation 43
- Adenosin-3',5'-monophosphat (AMP) 105
 - , cyclisches (cAMP) 138
- Adenosintriphosphat (ATP) 187
- Adenosintriphosphatase-Aktivität 181
- Adenoviren 86
- Adenyl-Zyklase 105, 138
- Aesculin 179
- Adrenalektomie 62
- Äthylnitrosoharnstoff 150
- Agar 119, 123
 - Doppeldiffusionstest 198
- Agglutination 27
- Aggregationsstufen 3
- Agenzien 214
 - , β -adrenergische 61
- oc-Agonisten-Klonidin 62
- Aktin, F-Aktin 4
 - , globuläres 3
 - Filamente 3
 - Moleküle (G-Aktin) 4
- Aktivator 18, 20
- Aktivität, elektrische 70
 - , enzymatische 197
 - , genetische 105
 - neuronale 71
- Aktivitätsveränderungen 68
- Alkali 8
- Alter 223, 224, 228

Altersstar 178, 198
Aminosäuren 104, 180, 181, 193, 194
 -Reste 11
 -Sequenz 104, 141
 -Vorstufen 178, 179, 187
Amphibienkeim 138
Antiarrhythmika 224
Antibiotika 144
Antigene 25, 27, 28, 29, 46, 64, 65, 67, 68, 84, 85, 94, 113
 -, carcino-embryonale 113, 157, 159
 -, heterologe foetale 113
 -, sensibilisierende 139
 -, Autoantigene 99
 -, Histokompatibilitäts-Antigene 2
 -, Organantigene 139
Antigen-Antikörper-Komplex 25, 27
Antihistaminika 46
Antihypertensiva 225
Antikataraktikum 180
Antikörper 25, 27, 29, 83, 85, 94, 198
 -Bestandteile 140
 -Faktoren 157
 -Fragmente 157
 -Konzentrationen 140
 -Produktion 61, 68
 -Rückkopplung 59
 -Seren, standardisierte 141
 -Synthese 83, 157
 -Untereinheiten 140
Applikation, intrakonjunktivale 193
 -, sublinguale 188
Asthma 45
Artspezifität 140
Assembly-Ursprung 9, 11
Aufbau, dynamischer 14
 -, hierarchischer 3, 4
Augen 178, 182, 183, 187, 190, 193, 195, 196, 198

Augengewebe 179
-tropfen 32, 178, 179, 181, 187, 188, 190
Autoaggression 98
-serkrankungen 94, 99, 142
-smanifestation, multiple 99
Autoimmunkrankheiten 63, 90, 139, 158
Autoregulation 58, 60, 72
Autosensibilisierung 139
Bakteriophagen T4 5
Bakterienvirus T4 3
Basalmembran 97, 99
Basalplatte 6
Baukastenprinzip 1
Beta-Rezeptorenblocker 225
Bindegewebe 95
Bindehaut 178, 179, 181, 188, 197
-sack 193, 197, 198
Bio-Assay 141
Biomakromoleküle 127
Biomechanismus 142
Biomoleküle 137, 159
Biosynthese 128
Biosystem 142
-Blocker 225
Blutgerinnungsfaktoren 141
Bovinseryalbumin 46
Bradykinin 28
Bronchialkarzinom E14 106
Bronchospasmus 45
Bulbus 197
Calciumantagonisten 225
Carcinomdiagnose 166
Cardiologie 225
-, geriatrische 223
Carcinogene 143
Carrier 211
Cataracta senilis (Altersstar) 178, 179, 180, 186, 188, 190

Cataracta matura 185
Caveolae 91
Caveolarmembran 93
Chalone 105, 109, 138, 157, 160
Chorion 137, 150, 159
Chromatin 105, 108
 -Template 105
X-Chromosom 211
Chronobiologie 45
Ciliarfortsätze 179
Ciliarkörper 179, 188, 197
Ciliarmuskel 179, 188
Code, genetischer 103
Colitis ulcerosa 158, 159
Colony-Stimulating-Factor 124, 126
Computersimulation 18
Conjunctiva 181
Cornea 197
Coronarinsuffizienz 223, 225
Cor pulmonale 223
Cystron 141
Dansylaziridin 120, 122
Dauersubstitution 43
Defektzustände, molekulare 181
Degenerationsherde, segmentale 95
Dekompensation, cardiale 223
Denervierung 62, 63, 138
Densogramm 189
Derepression 140, 156, 157
Dereprimierung 157, 158
Desoxynukleotidyl-Transferase 137
Desoxyribonukleinsäure (DNS) 3, 5, 32, 83, 103, 178, 179
 -, extrazelluläre 82, 84, 85, 86
 -Information 141
 -Polymerase 105
 -Repairvorgänge 137, 157, 160
 -Synthese 37, 38, 39, 40, 137, 181

Desoxyzucker 130
Determinanten 98
Determinationsstoffe 138
Dezidua 106, 143, 150, 152, 159
 -Extrakte 152
Diagnostik 166
Differenzierung 16, 91, 103, 143, 157, 158
 -santigene 59
 -sreize 157, 159
 -stheorie 157
Digitalis 179, 188, 224, 227
Digoxin 26, 29
Dilutionen 32, 41, 136, 138, 149, 215, 231
Dinitrophenol 187
Disulfidbildung 123
Diurese 169
Diuretika 224
Doppelblindversuch 143, 150
Dosis-Wirkungskurve 141
Down-Syndrom 143
Dünnschichtchromatographie 120, 122
Dysfunktion, gonadotrope 229
 -, ovarielle 229, 230
 -, NNR-Dysfunktion 229
 -, Thyreoidea-Dysfunktion 229
Effektormechanismus 94
Effloreszenzen 232
Ehrlich-Aszites-Tumorzellen 106, 151
Eigenblutbehandlung 154, 156, 157, 158
EKG-Veränderungen, pathologische 227
Eiweißsynthese 138, 181
Elektrolyte 225
Elektrophorese 106
 -, Hochspannungselektrophorese 120
Elemente, extrachromosomale 85
Embryologie 16
Embryotoxizität 49

Embolien 223
Emperipolesis 90, 93, 94, 97, 99
Empirie 149
Endokrinismus 142
Endokrinologie 27
Endokrinium 157, 158, 160
Endorphine 128
Endotoxine 143
engineering, genetical 140
Enkephaline 128
Entartung, maligne 123
Enzyme 27, 28, 29, 105, 136, 154, 181, 187
 -, allosterische 3, 16
 muskeleigene 215
 -, spezifische 6
Enzym-Adaptation 182
 -Aktivität 29
 -Aktivierung 141
 -Blockade 180, 187
 -Chimären 137
 -Eiweiß-Synthese 182
 -Immuno-Assay (EIA) 25, 28, 29
 -, ELISA-EIA 29
 -, EMIT-EIA 29
 -Induktion 83, 87
 -Substrat-Spezifität 25
 -Veränderung 180
Erkennungsmechanismus 93
Erkrankungen, akute 224
 -, atopische 144
 -, myogene 204, 205, 206
 -, neuromuskuläre 204, 205, 206
Erregungsabläufe 127
Ersatzregulation 157
Erythrozyten, Schaferythrozyten 65, 67, 68, 69, 70
 -, Pferdeerythrozyten 67
Exon 86

Expansion, klonale 67
Extrakte, makromolekulare 137, 138
 zytoplasmatische 152
Faktoren, chondrogene 138
 -, diffusible 16
 haptene 140
 -, heterologe 152
 -, humorale 90
 -, mesenchymale 138
 morphogenetische 20
 -, neurale 138
 -, organspezifische 137
 -, syngene 152
 -, zytoplasmatische 137
Farbdiskriminierung 128
Fc-Teile 94
Federring (lock washer) 8, 11
Feedback-Mechanismus 140
Feldversuche 144
Ferritin 91
 -Partikel 91, 93
Feten 50
Fibroblastenstamm Wi38 106
Fibrosarkom 114
Filamente 4
Fließgleichgewicht 181
Fluoreszenzfarbstoffe 25
Folgeschäden, iatrogene 143
 postinfektiöse 143
Forschung, myologische 218
 -, geriatrische 223
Fraktionierung 120
Frühdiagnostik 165
Funktionen, endokrine 64
 neuroendokrine 61
Gammastrahlung 28
Ganglioside 130

Gedächtnis, biologisches 87
 -speicherung 130
 -moleküle 130
 Langzeitgedächtnis 127
Gegensensibilisierung 154, 158, 170, 171, 229, 230, 231, 232
Gehirn 127, 138, 182
 -Funktionen 182
 -Läsion 63
 -Stimulierung 63
 -Substanz 128
Gelbmosaikvirus (turnip-yellow-mosaic-virus) 13
Gelenkkontrakturen 209
Gel-Chromatographie 120
 -Filtration 27, 106, 120
 -Präzipitation 141
Gene 104, 138, 140, 211
 -, transkribierte 104
 -, Tumorgene 107, 157, 158
Gen-Abschnitte 156
 -Aktivität 103
 -Loci 59
 -Produkt 3
 -Reaktivität 156
 -Regulation 156
 -Sequenzen 104, 141
Genom 83, 85, 86, 104, 137
Geriatric 139, 143, 228
Geschwülste, metastatische 165
 -, Tochtergeschwülste 165
Gewebe, lymphoides 64, 72
 -, peripheres, lymphoides 64
 -, zentrales 64
Gewebekultur 106
Glaskörper 178, 179, 193, 197
Glaukom 189
Globuline 27
Glukose-6-Phosphatdehydrogenase 29

Glykogensynthese 105
Glykolyse 16, 17, 156
Glukokortikoide 67
Glukokortikoidspicgel 68
Glykoproteine 130
Graft versus host-Reaktion 94
Granula, sekretorische 20
Granulozytenchalon (GCh) 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125
 -Extrakt 123, 125
 -Molekül 125
Granulopoese 126
Granulosazelltumor 229
Grenzflächenpotentiale 181
Großhirn 179
Großmoleküle 141
Gynäkopathien 229
Haarausfall 230
Haarkleidveränderungen 229, 230, 231, 232
Haemocyanin 65, 66, 70
Haptene 28
Haptenisierung 139
Hashimoto-Struma 90
Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) 59
Haut 195
 -Biopsie 33
 -Transplantationssystem 67
 -Veränderungen 229, 230, 231, 232
Hefeglykolyse, oszillierende 17
Hefeextrakt 16
Helix, kurze (Federring) 8, 9
 tx-Helix 3, 4, 11
 -, LR-Helix 10, 11
 -, RNS-Helix 7
 V-Helix 10
Hemmaktivität 125
Hemmeffekt 123
Hemmfaktor 157, 160

Hemmwirkung 107
Hepatitis, chronische 94
Herz 68, 223, 227
Herzmuskel 36, 37
 -Erkrankung 209
 -Störungen 225
Hirn-Areale 127
 -Extrakt 33
 -Proteine 33, 130
 -Substanz 182
Histamin 45
 -Ausscheidung 47
 -Empfindlichkeit 46
 -Freisetzung 47
 -Gehalt 46
 -Permeation 46
 -Releaser 46, 47
Histone 105
Homöostase 182
Hormone 25, 29, 60, 61, 62, 63, 144
 -, Peptidhormone 20, 25, 27
Hormon-Antikörper-Komplex 29
 -Applikation 63
 -Spiegel 64
Hornhaut 178, 179, 194
Hühnerembryonen 64
Hüllprotein 8
Humanpathologie 94
Hybridisierung 137
Hydra 18, 20
 6-Hydroxydopamin 62
Hyperfunktionszustände 158
Hyperkeratose 230, 231
Hyperlipidämie 223
Hyperpigmentation 231
Hyperplasia glandularis cystica endometrii 229
Hyperregeneration 158

Hyposensibilisierung 139
Hypertonie 223
Hypertrophie 223
Hypophyse 36
Hypophysenextrakt 33
Hypothalamus 70, 72
 -Aktivität 70
Ikosaeder 12
 -Fläche 13
 -Schale 13
Immunantwort 53, 60, 61, 64, 69, 70, 113
 -, stimulierte 62
 supprimierte 62
 -Gene 59
Immunfunktionen 53
Immunglobuline 2, 83, 157
Immunglobulinklassen 141
Immunität 61, 63
Immunsierung 68, 198
Immunmechanismus 62
Immunmechanismen, autoregulatorische 72
Immunogene 140
Immunparalyse 139
Immunprovokation 43, 158
Immunreagentien 25
Immunreaktivität 29
Immunregulation 28, 60, 72
Immunstatus 142
Immunsuppression 139, 157, 158
Immunsystem 59, 60, 61, 63, 70, 94, 98, 139, 143, 154
Immuntoleranz 157, 159
Impfstoffe 141
Impftumoren 144
Impulsübertragung 127
Induktion 18, 113
 -sfaktoren 181
 -sstoffe 138

Induktor 83
Infektionen 142, 143
Infektionskrankheiten, chronische 142
Information, spezifische 86
 -smatrize 137
 -srealisation, biologische 86
 -sträger 156
Inhibitor 18, 42, 43, 105, 123, 125
 -Fraktion 151
 -Gradienten 18
 -Stoffe 43
 -Wirkung 107
Inkubation 106, 107
Input 60
Insuffizienz 139, 224
Insulin 27, 61
Interaktion 90, 93, 95
Interferon 157, 160
Interstitium 95
Intoxikationen 143
Intron 86
Ionenaustausch 27
 -Chromatographie 120
Isoantikörper 140
Isomorphen 8
Isomorphinismus 14
Jod-131 194
Jodierung 28
Jodisotope 28
Kammerwasser 179, 181, 197, 198
Kapillarerweiterung 45
Kapillarpermeabilität 45
Katarakt 178, 179, 181, 184, 187, 189, 190
 -Bildung 180, 182, 187
 -Stadien 185
Katecholamin 68
Kanzergene 150

Kanzerogenese, diaplazentare 150
Keratin 6
Kern-Plasma-Relation 156
Kette 4
 leichte 2, 83
 schwere 2, 83
Klappenveränderungen 223
Klone 99
Klonidin 68
Körperentgiftung 169
Körperfunktionen 169
Kollagen 6
Kolonien, myeloische 119
Koloniebildung 123
Kommunikationskanäle 60
Komplement 141
Komponenten 94
Kontakthemmung 156
Kontrolle, neuroendokrine 61
Kontrollmechanismus 60, 99
Konkurrenz, antigene 67, 68
Konzentrations-Wirkungskurve 142
Kortikosteroide 61, 165
Kortikosteron 65, 66, 67, 68
 -Spiegel 65
Kreatininausscheidung **201**
Kreatinkinase 204, 215
Krebs 164, 165
 -Behandlung 166
 -Beschleuniger 165
 -Entstehung 156, 158
 -Geschwulst 165
 -Ursachen 165
Kugelviren 12, 13, 14
Lactatio sine graviditatem 230, 231, 232
Läufigkeit 229, 230
Lanatoside 179

Latenzzeit 139
Leberextrakte 151
Lebergewebe 113
Lernen 128
Lernprozesse 127
Lernvorgänge 128
Leukocyten 119
Linse 178, 179, 180, 187, 188, 193, 197
Linsenfaser 187, 188
 -rinde 186
 -Stoffwechsel 180, 186
 -tod 188
 -trübung 178, 183, 186, 187, 188, 189
Lipide 130, 135
 -, Gehirnlipide 130
Lipid-Membran 130
Liposomen 130
Liquid-phase-Assay 29
low-zone-tolerance 139
Lücken, stenopäische 180
Lupus erythematosus 99
Lymphocyten 61, 84, 86, 90, 93, 95, 96, 99
 -, aggressive 90
 -, aktivierte 96, 97
 -Kultur 83, 85
 -Membran 93
 -Netzwerk 59
 -Population 9
 -, B-Lymphocyten 85
 -, Helfer-Lymphocyten 94
 -, T-Lymphocyten 59, 85, 90, 94
 -, Suppressor-Lymphocyten 59, 99
Lyse 94, 123
 -verfahren 139, 140
macro-molecular-assemblies 6, 11, 16
Makrophagen 94, 95, 96, 98
Malignome 149, 159

Marker 25, 28
Markierung, radioaktive 137
Matrize 85
Mechanismen, autoregulatorische 60
 -, neuroendokrine 63
Mediatoren 105
Medium 91, 119
Melanom 107, 150
Membranen 3, 6, 91, 98
Membranproteine 93
Membranstrukturen 93
memory-transfer 128
Mercaptoäthanol 120, 123, 125
Mesenchym 157, 160
Metabolisierung 43, 224
Metabolismus 140
Metaboliten 14
Metastasen 166
Metastasierung 153, 154, 157, 160, 165, 166, 167, 169, 171
Methylcholanthren 143, 150
Mikromilieu, intracaveoläres 93
Milz 62, 69, 71, 90
Milzzellenkultur 62, 67
Mitochondrien 14, 92
Mitose 92
 -Aktivität 37
 -Hemmung 32
 -Inhibitoren 32, 42
Modifikation, spezifisch enzymatische 5
Modulation 119, 126
Molekularkrankheiten 136
Mongar-Schild-Versuch 46
Morphium 165
Morphogenese 15, 18
Mortalitätsrate 48, 49
Motorik 215
Multienzymkomplexe 3

Multimorbidität 142, 223
Muskel 95, 197
 -Atrophie 204, 218
 -Biopsie 95, 204
 -Degeneration 212
 -Dystrophie Duchenne 205, 207, 214, 217
 -, Beckengürtel-Muskeldystrophie 205, 209, 211
 -Fasern 213
 -Hypotonie 205, 209
 -Krankheiten 205, 207
 -Membran 95
 -Ontogenese 204
 -Protein-Synthese 204
 -Schäden 209
 -Schwäche 205, 209
 -Schwund 209
Myelomproteine 86
Myocardveränderungen 223
Myofibrillen 4, 95
Myoglobin 204
Myologie 205
Myopathie 37, 95, 204, 205
Myopie 189
Myosinfilamente 3
Myositis 95
Nebenniere 37, 67
Neoplasmen 159
Neoplasmen-Behandlungsschema 153, 170
Nervenbiopsie 204
Nervenleitgeschwindigkeit 204
Nervensystem 60, 68, 72
Nervenwachstumsfaktoren 138
Netzhaut 178, 179, 193, 197
 -Leiden 189
Neuronen 70, 72, 127
Neurotransmittern 60, 61, 62, 127
Nichthistone 105

Nichthistonproteinc 105
Nikotinabusus 223
Nitropräparate 225, 227
Noradrenalin 62, 68, 69
 -Gehalt 68, 69, 70
Noxen, kanzerogene 143
Nucleinsäure 87, 135, 178, 179, 187
Nucleolus, retikulärer 92
Nucleoside, Isotopen-markierte 32, 33
Nukleotide 61, 87, 104, 135
Oberflächenrezeptoren 93
Oestradiol 61
Östrogen 229
 -Applikation 229
 -Vergiftung 229
Oligopeptide 32
Oligo-Ribonukleotide 137
Ontogenese 59, 63
Operationsschock 166
Operatorgene 83, 156
Onkologie 149, 164
Operon 141
Organextrakte, makromolekulare 135, 141, 143, 149, 150, 167
Organfaktoren 136
Organfunktionen 157, 160, 167
Organlysate 144, 150, 179, 181, 193, 194
Organmaterial 32
Organspezifität 141, 142
Organtransplantation 157
Organtropismus 130, 137, 179
Organsubstanzen 33, 37, 41, 42, 142, 158, 181
Organtrockenpulver, lyophilisierte 135
Organotherapeutika, zytoplasmatische 215, 217
Orotsäure 127
Orthomolekularisierung 159
Osteosarkom 2T 106
Ovalbumin-Synthese 86

Ovariohysterektomie 230
Oxidation 123
Pankreas 138
Papain 106
Parenchymschaden 182
Partikelaggregate 93
Pathomechanismus 98, 99
Patienten-Compliance 189
Peptide 27, 28, 43, 120, 125, 128
Penetration 181
Permeabilität 136
 -svorgane 188
 -ssstörungen 204
Peroxydase 29
PfortadeTsysteem 130
Phänotypus 104
Pharmakokinetik 224, 228
Pharmakologie 135, 142, 144
Phosphat, radioaktives 106
Phosphatase, alkalische 29
Phosphodiesterase 138
Phospholipide 6, 178, 179
Phosphofruktokinase 16
Phosphorylierung 105, 108, 152
 -sgrad 105
Physiologie 27
Pigmenteinlagerung 230
Plasma 130
 -Membran 14, 97, 99
 -Lemm 97
Plazenta 106, 143, 178, 179
 -Extrakte 107
 -Präparate 143
Polymyositis 94
Polypathie 223
Polypeptide 32, 130, 135
Poly-Ribonukleotide 137

Poly-Ribosomen 96
Polysaccharide 178, 179
Präkanzerosen 149, 158
Primärstruktur 3
Proliferation 32, 33, 42, 123, 138, 143
 -saktivität 119
 -srate 37, 42, 105, 126
Promotorregion 83
Prophylaxe 143, 149
 -, Krebsprophylaxe 149, 150, 157
Prostaglandine 138
Proteine 14, 25, 27, 85, 103, 130, 135, 156, 179, 180, 193
Protein-Biosynthese 179
 -Untereinheiten 6, 7, 8, 10, 11, 13
 -Struktur 2
 -Synthese 103, 104, 127
 -Veränderungen 181
 -Vernetzungen 181
 -, Kernproteine 105, 108
Pseudohypertrophien 209
Pseudosymmetrie 12, 13
Pyridinnukleotid 17
Quartärstruktur 3
QRS-Komplex 227
Radioaktivität 194, 195, 196, 197, 198
Radio-Immuno-Assay (RIA) 25, 26, 27, 28, 29, 141
Radionuklide 25, 28
Rattenleber-Explantate 106
Reaggregation 136
Reaktion 61, 130
 -santwort 45
 -skomponenten 120
 -slage 139, 144, 157
Redox-Eigenschaften 125
Reduplikation 14
Reflexmechanismen 70
Regeneration 138

Regenerationsvorgänge 157
Regression 113
Regulär assemblies 11
Regulation 82, 83, 103, 119, 140, 158
 -smechanismen 43, 82, 136
 -sstarre, vegetative 158
 -sstörung 143
 -sstoffe 140, 157
 -ssystem 106
 -sstheorie 156, 158, 159
Regulatorgene 83, 156
Rekombination, induzierte 87
Reparierkapazität 181
Reparationsmechanismus 157
Reparatur 136
 -Vorgänge 137
Repressoren 83, 140, 156, 157, 159
Resorption 137, 193, 196, 224
Restitution 142, 143
Reverse Transkriptase 137
Rezeptoren 61, 104, 140
Rezeptorproteine 127
Rezeptorentheorie 135
Rezidiv 166
Rhythmusstörungen 223
Ribonucleinsäuren 6, 103, 170, 171, 178, 179
 -Reste 11
Ribosomen 6, 140
Rinderserum, fetales (FBS) 33, 42
Rinderserumalbumin (BSA) 33, 42
Risikofaktoren 223
RNS 9, 11, 13, 32, 181
 -, informatorische 82
 -, spezifische 127
 -, Boten-RNS 104
 -, Einzelstrang-RNS 7
 -, i-RNS 83, 85, 86

RNS, m-RNS 104, 137
 Virus-RNS 8
RNS-Basen 10
i-RNS-Präparat 86
RNS-Sequenz 11
Rückenbrille 229
Rückenmark 36
Rückkopplung, hormonelle 72
 -smechanismus 67, 105, 123
 -ssystem 60
Säulenchromatographie 194
Säuredampflyse 135, 152
Sandwich-Technik 29
Sarkom WE11 150
Sarkomere 3, 4
Sauerstoffradikale 2
Schäden, teratogene 50
Scheinträchtigungsperiode 230
Schleimhaut-Atrophie 224
Schlüsselenzym 16
Schlüssel-Schloß-Prinzip 25
Schwanzfasern 5, 6
Sedativa 224
Sedimentation 123
Sehnerv 178, 179, 194
Sehstörungen 186
Sekundärfelder 16
Sekundärstruktur 3
Selbstantigene 98
Selbstheilungsvorgänge 136, 143
Selbstorganisation 8
Selektionsdruck 1
Self-Assembly 6
Semidünnschnitt 96
Sensibilisierung 98
Sephadex-G-10-Säule 120
Sequenzhomologie 2

Serum 37, 38, 39, 42, 95, 99, 230
Serum-Activator 149, 154, 230
Sexualhormone 63
SH-Gruppe 125
SH-Gruppen-Reagens . 125
Signale, afferente 70
 -, neuronale 72
 -, regulatorische 70
 -, sympathische 68
Skelettdeformitäten 209
Skelettmuskulatur 36, 217, 218
Solid-phase-Assay 29
Somatotropin 38, 39
Spaltlampe 182
Spender 128
Splizing 86
Spontanheilung 166
Spontanmutation 205
Spurenelemente 136, 154
Star-Operation 183
 -Patienten 186
 -, Grauer Star 179
 -, Rosettenstar 184
 -, Kernstar 185
Sterilitätskontrollen 140
Steroide 27, 28
Steroidhormone 105
STH 37, 42
Stickstofflostderivat 48
Stickstofflost-Präparate 50
Stimulation, antigene 64, 72, 84
Stimulierung, unspezifische 143, 154
Stoffwechsel 32, 144, 152, 182, 187
 -Defekte 143
 -Mediatoren 138
 -Produkte 93
 -Störung 180, 223, 224

Stoffwechselvorgänge 217
Strophantin 224
Strukturen, antigene 198
 -, biologische 3
 -, komplementäre 5
 organisierte 6
 -, röntgenkristallographische 10
 -, zentrale 62
Struktur-Domäne 2
 -Gene 83, 156
 -Klassifikation 12
Strukturierung, hierarchische 1
ST-Strecke 227
Studie, randomisierte 167
 -, Doppelblindstudie 144, 149
 -, Langzeitstudie 150, 159, 178
 -, Patientenstudie 193
 -, Pilotstudie 223, 225, 228
 ex-juvantibus-Studie 190
Substitution 136, 179
Substrate 43
Sulfonamid (Debenal) 180
Superoxiddismutase 2
Suppression, T-Lymphozyten-abhängige 58
Suppressortätigkeit 99
Suszeptibilität 150
Symbiose 93
Symmetrie 3, 11, 16
 -Grad 6
 -Gruppen 12, 14
Sympathektomie 62
Sympathikomimetika 225
Synapsen 127
Synthesestimulierung 137, 140, 157, 160
Synthesystem, zellfreies 149, 152
Synthetevorgänge 42, 140, 217
System, chromaffines 166

System, genetisches 107
-, granulopoietisches 118
-, zellfreies 86
Tabakmosaikvirus (TMV) 6, 7, 10
TMV-Assemblies 8
-Kernbildung 8
-Partikel 9, 10
-RNS-Stabilität 11
T-cell-growth-factor (TCGF) 68
Teratogenität, zirkadiane 49
Tertiärstruktur 3
Test, radioenzymatischer 68
-, serologischer 113
-, Allergen-Test
-, CK-Screening-Test 214
-, Fluoreszenz-Test 95
-, Hämolyse-Test 141
-, Jerne-Test 144
-, Phagozytose-Test 141
-, Student-t-Test 194
Testosteron 61
Therapie, Antikoagulantientherapie 225
Basistherapie 154, 156, 170, 171
Chemotherapie 45, 49, 169
Heparintherapie 225
Herztherapie 228
Immunotherapie 159, 167, 169
Kombinationstherapie 156, 171
Krebstherapie 157
Lingualtherapie 156
Organotherapie 135, 136, 140, 143, 144, 145, 149, 157,
159, 164, 167, 169, 170, 223, 225, 228
Physiotherapie 204
Radiotherapie 169
Standard-Therapie 228
Umstimmungstherapie 142
Therapie, antihypertensive 227

Therapie, biologische 141
 biomimetische 159
 cardiale 226
 zytoplasmatische 82, 83, 127, 136, 149, 231, 232

Thrombosen 223

³H-Thymidin 106

Thymidineinbau 120

Thymozyten 94

Thymus 36, 90, 91, 92, 144
 -Extrakt 33
 -Retikulum 94
 -Stroma 94

Thyrotropin 63

Thyroxin 65
 -Spiegel 65

Tierversuche 137, 141, 149, 159, 187, 194, 198

Titerbestimmung 141

Toleranzerzeugung 139

Tonofilamente 91, 92

Toxine 141

Tracer 27, 28

Transfektion 137

Transformation 156
 -, maligne 104

Transmitoren, synaptische 20

Transkription 87, 104

Translation 87

Transplantation 18, 113, 138

Triplet 104

Trockensubstanzen 32, 113, 149, 156

Tropismus 136

Tropomyosin 4

Troponin 4

Trübung, subkapsuläre 186
 -, Kerntrübung 186
 Speichentrübung 184
 -, Poltrübung 185

Trypsin 106
Tumor-Abbau 169
 -Aktivierung 156
 -Antigene 113
 -Behandlung 153
 -Bildung 150
 -Entstehung 156
 -Heilung 151
 -Immunologie 157
 -Impfung 107
 -Kranke 166, 167
 -Manipulation 167
 -Nekrosis-Faktor 157, 160
 -Prophylaxe 156, 159
 -Therapie 43, 143, 173
 -Träger 166
 -Transplantat 113
 -Versuch, prophylaktischer 151
 -Zellausschwemmung 167
Tumoren, syngene 113
 -, Mammatumoren 150
 -, Methylcholanthren-Tumor 113
 -, Primärtumor 154, 165, 166, 171
 -, Spontantumor 143
T-Welle 227
Überlebenskurve 156, 171
Überlebensrate 143
Überlebenszeit 107
Ultradünnschnitt 93, 94
Ultrastruktur 91
UmStimmung 169
Urstruktur 2
Vakuolen 91, 92
Vegetativum 157, 160
Vehikel 130, 136
Verdünnungsreihe 230
Vererbungsmodus 205

Verhaltensänderungen 128
Verstärkermechanismus 86
Verum-Gruppe 226, 227
Vielkanal-Gamma-Spektrometer 194
Viren 6, 11
 -Wachstum 9
Visus 178, 182, 189
 -Prüfung 189
 -Steigerung 180
Vitalkapazität 46
Vitamine 154
Vorläufermechanismus 157
Wachstum, autonomes 156
Wachstumsfaktoren 181
Wachstumshormon 61, 63
Wasserspalten 186
Wirbelsäulendeformitäten 209
Wundheilung 104
Zellbestandteile 135
Zellen, Ammenzellen 91, 92, 94
 -, Bindegewebszellen 212
 -, Blutzellen 119
 -, DNS-Spender-Zellen 85
 -, Empfängerzellen 83, 86
 -, Entzündungszellen 95, 96
 -, Epithelzellen, intestinale 90
 -, Fettgewebszellen 212
 -, Gewebezellen 187
 -, Knochenmarkszellen 120, 122, 125
 -, Krebszellen 32, 33, 37, 42, 156, 165
 -, Linsenzellen 188
 -, Mastzellen 46
 -, Melanomzellen 37, 39, 41, 42
 -, Muskelzellen 95, 97, 98, 99
 -, Nervenzellen 126

 Normalzellen 103, 106, 143, 165
 Organzellen 90, 99

Zellen, Retikulumzellen, neoplastische 94
Skelettmuskelzellen 98, 99
-, Stammzellen 138
-, Stromazellen 90, 91
-, T-Zellen 67
Tochterzellen 104
Tumorzellen 41, 90, 106, 107, 108, 109, 152, 156, 158,
167
Vorläuferzellen 105, 138
-, Wirtszelle 90, 91, 93
Wish-Zellen 33, 37, 40, 42
Zellen, akzessorische 61
-, Antikörper-bildende (PFC) 62, 68, 71
-, diploide 32, 181
-, embryonale 38
-, immunkompetente 68
-, immunologische 61
 lymphoide 61, 90, 95, 96, 98
-, menschliche 32
-»myeloische 119, 125
 maligne 103
 mononukleäre 96, 97
-, Plaque-bildende 65
-, pluripotente 103
-, postsynaptische 127
-, somatische 32, 33, 37, 42, 43, 137
Zellenassemblies 14
Zellelemente 94
Zellfaktoren, foetale 157, 159
Zellfortsätze, dendritische 94
Zellinhaltsstoffe, makromolekulare 179, 187, 188
 -, protoplasmatische 181
Zellkern 14, 91, 103, 105, 138, 152
Zellkontakte, interstitielle 98
Zellkultur 86, 149, 152
Zellmembran 105, 107 .
Zellorganellen 6, 14, 95, 182

Zellproliferation 36, 103
Zellstoffwechsel 106
Zellteilung 156
 -szyklen 140
Zellwachstum 104
Zellzerstörung 94
Zell-zu-Zell-Kommunikation 93
Zellzyklus 105
Zentrifugation 27, 120, 123
Zufallszahlengenerator 18
Zyklophosphamid 48, 49
Zyklusruhe (AnÖstrus) 230
Zytoplasma 96, 104, 156
Zytostatika 47, 48
Zytotoxizität 94

Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin

Forschung und Praxis im Dialog

Hrsg. von H. PORCHER/K. THEURER
1979. X, 353 S., 82 Abb., 12 Tab.,
kart. DM 30,-
ISBN 3 432 90851 2

(Tagungsberichte „Zytoplasmatische Therapie und die Methoden
der Serum-Desensibilisierung“)

Interdisziplinarität und Synopsis in Wissenschaft und Medizin - unter diesem Leitspruch finden alljährlich Tagungen in Stuttgart über die Zytoplasmatische Therapie und die Methoden der Serum-Desensibilisierung, unter Schirmherrschaft der Gesellschaft zur Erforschung der makromolekularen Organo- und Immunotherapie e. V. München (GEMOI), statt. Diese Gesellschaft hat sich die Förderung der wissenschaftlichen und klinischen Forschung sowie der Lehre auf den speziellen Gebieten der Human- und Veterinärmedizin zur Aufgabe gestellt.

Die Tagung 1978 brachte eine besonders ausgewogene Vortragsreihe von in- und ausländischen renommierten Wissenschaftlern aus verschiedenen naturwissenschaftlichen Disziplinen, Klinikern der Human- und Veterinärmedizin und Ärzten aus der Praxis. Dies veranlaßte die GEMOI, die vollständigen Vorträge dieses Symposiums zu veröffentlichen. Die Thematik umspannt neue Erkenntnisse der Molekularbiologie, der experimentellen Genetik, Immunologie und Allergologie bis hin zur Onkologie.

Möge dieser Band Impulse setzen für ein ganzheitsmedizinisches Konzept zur Überwindung der „Krise“ der heute überwiegend chemisch orientierten Medizin.

Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

Biomimetik bedeutet Imitation der im Organismus natürlich vorkommenden Metabolite, Enzyme, Hormone, Regulationsstoffe, Transmitter und Induktoren, die beim chronischen bzw. akuten Krankheitsgeschehen nicht mehr ausreichend synthetisiert werden.

Im Grunde genommen ist der Organismus nicht für synthetische, chemische Wirkstoffe gerüstet. Am Anfang war der Rezeptor, erst dann kam das Arzneimittel. Das bedeutet: Rezeptoren sind von Natur aus für körpereigene oder körperähnliche Regulationsstoffe und Mediatoren geschaffen und nicht für Chemopharmaka. Die Wirksamkeit von Chemopharmaka beruht lediglich auf der Ähnlichkeit mit gewissen Strukturkomponenten natürlicher Hormone und Gewebefaktoren.

Die Organo- und Immunotherapie verwendet deshalb biomimetisch wirkende zelluläre Wirkstoffe und kommt damit einer kausalen Therapie sehr nahe.