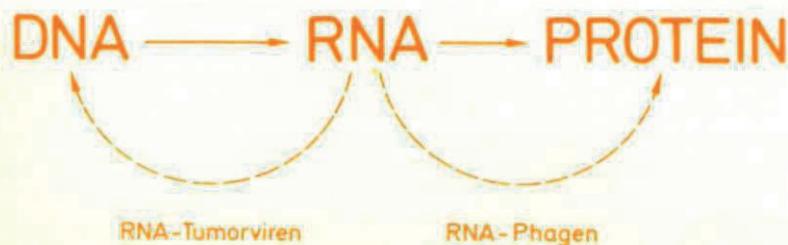


Wiederherstellung und Erneuerung als Prinzipien der Organo- und Immunotherapie

Forschung und Praxis im Dialog

Herausgegeben von
Karl Theurer, Götz F. Domagk und Helmut Kraft
Wissenschaftliche Organisation Harald Porcher



Wiederherstellung und Erneuerung
als Prinzipien der
Organo- und Immunotherapie

Wiederherstellung und Erneuerung als Prinzipien der Organo- und Immunotherapie

Forschung und Praxis im Dialog

Kongreßberichte der Jahrestagung 1980 der
Gesellschaft zur Erforschung der makromolekularen
Organo- und Immunotherapie e.V. (Gemoi)

Herausgegeben von Karl Theurer,
Götz F. Domagk und Helmut Kraft

Wissenschaftliche Organisation Harald Porcher

64 Abbildungen

« Ferdinand Enke Verlae Stutteart 1981

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

Professor Dr. med. Dipl. Chem. G. F. Domagk
Abteilung für Enzymchemie
Physiologisch-Chemisches Institut I
Humboldtallee 7
3400 Göttingen

Professor Dr. med. vet. Helmut Kraft
I. Medizinische Tierklinik
der Universität München
Veterinärstr. 13
8000 München 22

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Wiederherstellung und Erneuerung als Prinzipien
der Organo- und Immunotherapie :

Forschung u. Praxis im Dialog / hrsg. von K. Theurer ...
- Stuttgart : Enke, 1981.
(Verhandlungsberichte der Jahrestagung ...
der Gesellschaft zur Erforschung der Makromolekularen
Organo- und Immunotherapie e.V., Gemoi ; 1980)
ISBN 3-432-92401-1

NE: Theurer, Karl [[Hrsg/] ; Gesellschaft zur Erforschung
der Makromolekularen Organo- und Immunotherapie:
Verhandlungsberichte der Jahrestagung ...

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

© 1981 Ferdinand Enke Verlag, POB 1304, 7000 Stuttgart 1
Printed in Germany

Inhalt

Einleitung

K.THEURER, Forschungslaboratorien für Organo- und Immunotherapie Ostfildern Zytoplasmatische Therapie und Methoden der Serum-Desensibilisierung (Gegensensibilisierung und Antikörperfragmente)	1
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

I. Grundlagenforschung1. Biologie und Evolution

B.-O. KÜPPERS, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen In-vitro-Synthese umweltadaptierter RNA-Moleküle	5
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

R.H. SCHIRMER, Biochemisches Institut der Universität Heidelberg und G.E. SCHULZ, Max-Planck-Institut für Med. Forschung Heidelberg Bauprinzip in Proteinen und ihre Konsequenzen für die medizinische Therapie	25
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

F.A. POPP, H. KLIMA, B. RUTH, Flörsheim und Atom- institut der Österreichischen Universität Wien Über die biologische Bedeutung der "ultraschwachen" Photonenemission (PE) aus Lebewesen	48
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

2. Onkogenese und biologische Regulation

P. CHANDRA, H. LAUBE, L.K. STEEL, B. KORNHUBER, Zentrum der Biologischen Chemie (Abt. Molekularbiologie) und Zentrum der Kinderheilkunde (Abt. Päd. Onkologie) Klinikum der Universität Frankfurt/Main Das Myelofibrose-Syndrom im Kindesalter: Neue Ansätze zur Frage der Virusgenese	72
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

VI

G. GILLISSEN, Abteilung für Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität Aachen Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung heterologer Organpräparationen auf das Immunsystem unter besonderer Berücksichtigung von Transplantat-Tumoren	144
P.G. MUNDER, Freiburg Die antitumorale Wirkung von Organpräparaten	160
H. BUSCHMANN, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Universität München Über den In-Vitro-Einfluß von Neytumorin auf die lymphozytenabhängige Zytotoxizität	172
K. LETNANSKY, Wien, Institut für Krebsforschung der Universität Wien Untersuchungen über die Wirkungsweise makromolekularer Organextrakte auf normale und maligne entartete Zellen.	177
K. THEURER, Forschungslaboratorien für Organo- und Immunotherapie Ostfildern Adaptive Gen-Regulation des Synthesestoffwechsels durch persistierende Vorläufermechanismen des Immunsystems im Beziehung zur Onkogenese und molekularen Regeneration	184
 3• <u>Immunologische Synopsis</u>	
E. FERBER, Max-Planck-Institut für Immunobiologie, Freiburg Dynamik der äußeren Zellmembran bei der Stimulation von Lymphozyten	192
A. MAYR, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München Lokale Immunisierung und Paramunisierung: Neue Perspektiven für die Praxis	211

VII

J. SEIFERT und V. BRENDEL, Institut für Chirurgische Forschung im Klinikum Großhadern der Universität München Der Einfluß der Antigenresorption aus dem Gastro-Intestinal-Trakt auf die Immunantwort eines Organismus	231
II, <u>Organo- und Immunotherapie:</u> <u>Therapeutische Konsequenzen</u>	
K.-S. LACHNIT, A. KLAUSNER, E. PROSZOWSKI, L. RIEDER Wien - Lainz	
Altern und Krankheit - ein makromolekulares Problem?	242
H. FLASKAMP, Wasserburg Der Stellenwert der zytoplasmatischen Therapie im Rahmen der biologischen Medizin	259
K. FEDDERSEN, Flensburg Feldstudie über die Behandlung von 60 Patienten mit Neygeront-Vitalkapseln	264
H. BREIDENBACH, Pfungstadt Behandlung von Sterilitäts- und Fertilitätsstörungen mit modifizierter Eigenbluttherapie und makrolekularen Organextrakten - Kasuistischer Beitrag -	269
Z. HOFFMANN, Stuhr Eine Alternative zur Therapie des Gelenkrheumatismus	277
H. KUSCHKE, Berlin Erfahrungen mit der Serumkur bei chronisch persistierender und chronisch aggressiver Hepatitis sowie posthepatischer Leberzirrhose mit portaler Hypertension	283

VIII

G. POLLMÄCHER, Freiburg/Br., Eindrucksvolle Ergebnisse in der Behandlung chro- nischer Krankheiten, insbesondere Asthma bron- chiale, parenchymatöser Nierenerkrankungen, Poly- arthritits und chronisch aggressiver Hepatitis	290
R. PLOHBERGER, Hainburg/Donau Österreich Die Behandlung allergischer Erkrankungen mit Ge- gensensibilisierung und zytoplasmatischer Therapie	301
C.H. van RHIJN, Enschede/Niederlande Beeinflussung des retardierten kindlichen Wachstums - Kasuistischer Beitrag -	310
R. WEBER, Hoya/Weser Coronarinsuffizienz und Angina pectoris: Therapeutische Erfahrungen mit der Zytoplasmati- schen Therapie	312
H. WIRSAM, Bad Harzburg Revitorgan-Therapie bei akuten Zuständen	317
J. KLÜTER, München Neyparadent: Ein neues therapeutisches Prinzip auf Liposomenbasis bei Schleimhauterkrankungen in der Zahnheilkunde	321
III. <u>Organo- und Immunotherapie in der Veterinärmedizin</u>	
H. KRAFT, Übersichtsreferat	329
IV. <u>Round-Table-Gespräch</u>	
K. THEURER, U. DERBOLOWSKY, FLASKAMP, J. KLÜTER, R. PLOHBERGER, P. SCHWARZ und H. WIRSAM	338
Index	351

Einleitung

Zytoplasmatische Therapie und Methoden der
Serum-Desensibilisierung
(Gegensensibilisierung und Antikörperfragmente)

K. THEÜRER

Forschungslaboratorien für Organo- und
Immunotherapie Ostfildern

In der Humanmedizin spielt die Psyche eine beträchtliche Rolle.

Suggestion, Glaube und Placebo können Heilungen zustande bringen. Diesen Vorgängen liegen, wie auch den von gesunden Zellen ausgehenden Selbstheilungsvorgängen biochemische und bioelektrische Mechanismen zugrunde, die wir mit der zytoplasmatischen Therapie nachahmen. Dadurch wollen wir die physiologischen Verhältnisse wieder herstellen und gestörte Organfunktionen und -regulationen wieder in Gang bringen.

Die symptomatische Therapie blockiert hingegen natürliche Reaktionen und macht den Organismus weiterhin therapieabhängig. Zwar verdanken wir dieser Richtung bei vitalen Indikationen und Notfällen enorme Fortschritte, doch können diese Arzneimittel wegen ihrer einseitigen Ausrichtung die eigentliche Heilung verhindern und neue Krankheitszeichen auslösen. Die Zunahme chronischer Krankheiten, die gegenwärtig festzustellen ist, mag dazu in einem gewissen Zusammenhang stehen.

Der Name zytoplasmatische Therapie bedeutet, daß die Wirkfaktoren vorwiegend aus dem Zytoplasma stammen. Zytoplasma ist der Zelleib ohne Zellkern. Protoplasma bedeutet hingegen die gesamte Zelle, aus der die Wirkstoffe gewonnen werden. Die Organspezifität, das heißt die strukturelle und funktionelle Besonderheit, durch die sich zum Beispiel eine Leber-

zelle von einer Herzmuskelzelle unterscheidet, liegt im Zytoplasma begründet. Der Kern einer Zelle enthält die gesamten Informationen für alle Differenzierungsmöglichkeiten. Die verschiedenen Organarten unterscheiden sich lediglich durch die Expression verschiedener Gen-Abschnitte, durch die bestimmte Informationen realisiert werden. Versuche von GURDON in Oxford beleuchteten diese Toti-Potenz der Zellkerne und die Wahrscheinlichkeit, daß Faktoren des Zytoplasmas den Informationsspeicher einer differenzierten Organzelle "erwecken" können.

Aus der Eizelle des Frosches *Xenopus* wurde der Zellkern entfernt und durch einen Kern aus differenzierten Darmzellen eines erwachsenen Tieres ersetzt. Einige der so manipulierten Eizellen entwickelten sich durch Parthenogenese ohne Befruchtung zu geschlechtsreifen Fröschen. Die Teilungsfähigkeit des Zellkerns und das gesamte Spektrum der darin gespeicherten Informationen wird also durch Faktoren aus dem Zytoplasma in Funktion gesetzt.

Vor kurzem wurde bekannt, daß auf ähnliche Weise genetisch identische Mäuse durch Klonen zur Entwicklung gebracht wurden. Die Zellkerne wurden aus embryonalen Mäusezellen entnommen und die Zellkerne in gerade befruchteten Eizellen damit ausgetauscht. Die entstehenden Blastozysten wurden dann nach vier Tagen in ein vorbereitetes Mäuseweibchen implantiert.

Diese Versuche sind wichtige Beweise für die Induktions- und Differenzierungstheorie von SPEMANN. Jedoch besitzen die therapeutisch ebenfalls mitverwendeten Faktoren aus dem Zellkern Potenzen für die DNA-Reparatur und für Rekombinationsvorgänge, das heißt für eine genetische Neuprogrammierung. Auch die Hypothesen über immunologische Mechanismen der zytoplasmatischen Therapie sind inzwischen experimentell bestätigt worden und gehören zum Bestand der Wissenschaft.

Man weiß heute, daß die Vielfalt des Lebens auf dem Baukastenprinzip beruht. Makromoleküle sind aus monomeren Untereinheiten zusammengesetzt. Zahlreiche Proteine sind in den letzten Jahren in ihrer Aminosäuresequenz ("Primärstruktur") aufgeklärt worden. Vergleichende Betrachtungen führten zu der Erkenntnis, daß gewisse Sequenzen in ganz verschiedenen Proteinen wiederkehren. Solche Peptidabschnitte, denen manchmal bestimmte molekulare Funktionen, wie Coenzym-Bindung, zugeordnet werden konnten, bezeichnet man als "Domänen". In der Entwicklung und Phylogenese scheinen diese Bausteine in allen Schichten austauschbar zu sein. Reparaturvorgänge an Desoxyribonukleinsäuren sind schon länger bekannt und für die zytoplasmatische Therapie experimentell am österreichischen Atomforschungszentrum in Wien-Seibersdorf nachgewiesen worden. Auch bei den Proteinen scheint eine Art Reparatur defekter Moleküle möglich zu sein: Durch Inhibitoren funktionell ausgeschaltete Enzyme können eine vergiftete Untereinheit austauschen gegen eine intakte und somit die katalytisch aktive Quartärstruktur des Moleküls wieder herstellen. Möglicherweise bestehen bezüglich des Austausches von Domänen Parallelen zur Behandlung mit Pharmaka aus Pflanzen und Mikroorganismen. In dieser Forschungsrichtung sehe ich eine Zukunftsaufgabe für die Pharmakologie; jedoch dürften sich phylogenetisch nahestehende animalische Bestandteile für die Therapie günstiger auswirken.

Unser besonderes Herstellungsverfahren, die Säuredampflyse im Vakuum, ermöglicht es, Mischungen von nativen Makromolekülen und Untereinheiten aus diesen zu gewinnen. Diese Mischungen bedingen nicht nur eine pharmakologische Verfügbarkeit, sondern zusammen mit der Dosierbarkeit die immunologische Toleranz der Präparate und damit deren gute Verträglichkeit. Die zytoplasmatische Therapie überbrückt also nicht nur Stoffwechseldefekte durch Substitution fehlender Faktoren, sondern führt zur echten Wiederherstellung und Erneuerung der molekularen Zellbestandteile. Induktions- und Differenzierungsstoffe bewirken andererseits aber auch

die "morphologische Regeneration" durch Vermehrung ruhender Stammzellen und Differenzierung der Tochterzellen.

Die beiden Modifikationen der Eigenbluttherapie in Form der Gegensensibilisierung und der Behandlung mit Antikörperfragmenten stehen in enger Beziehung zu dem geschilderten Baukastenprinzip in der Zusammensetzung der Antikörper. Eine besondere Rolle spielen dabei die verschiedenen variablen antiterminanten Gruppen und das F^C-Fragment.

Die zytoplasmatische Therapie und die Methoden der Serum-Desensibilisierung sind also naturwissenschaftlich begründete Organ- und Immunotherapie und damit eine Brücke zwischen Naturheilkunde und Lehrmedizin.

In-vitro-Synthese umweltadaptierter RNA-Moleküle

B.-O. KÜPPERS

Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie,
Göttingen1. Das zentrale Dogma der Molekularbiologie

Es gehört zu den großen naturwissenschaftlichen Entdeckungen unserer Zeit, daß alle Lebewesen - vom Bakterium bis hin zum Menschen - auch im molekularen Bereich nach denselben Grundprinzipien aufgebaut und organisiert sind. Diese Entdeckung wird in der Molekularbiologie durch das sogenannte "zentrale Dogma" auf eine kurze und prägnante Formel gebracht (Abb. 1). Das zentrale Dogma bezieht sich auf den Prozeß der molekulargenetischen Informationsverarbeitung und besagt, daß in der lebenden Zelle die biologische Information immer von der DNA über die RNA zum Protein fließt.

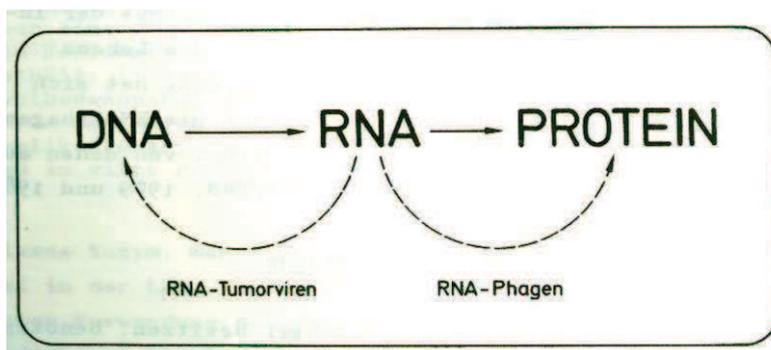


Abb. 1: Informationsfluß in der lebenden Zelle

Nach dem "zentralen Dogma" der Molekularbiologie fließt die biologische Information immer von der DNA über die RNA zum Protein. Es gibt jedoch Fälle, wo der vektorielle Charakter der molekulargenetischen Informationsverarbeitung verletzt wird.

Eine Ausnahme von diesem allgemeinen Schema der Informationsübertragung machen lediglich die RNA-Viren. Diese zeichnen sich bekanntlich durch zwei wichtige Eigenschaften aus: Zum einen verfügen sie - wie alle Viren - über keinen autonomen Stoffwechsel, zum anderen ist ihre genetische Information nicht in einer DNA, sondern in einer RNA niedergelegt. Dies hat natürlich gewisse Konsequenzen im Hinblick auf den Mechanismus der viralen Informationsverarbeitung. Entweder wird - wie bei den RNA-Tumroviren - die Virus-RNA zunächst in eine DNA umgeschrieben und anschließend nach dem in Abb. 1 gezeigten Flußdiagramm ausgewertet, oder die Virus-RNA wird - wie bei den RNA-Phagen - direkt als m-RNA benutzt und in die virusspezifischen Proteine übersetzt.

Die RNA-Tumroviren verletzen ganz eindeutig das zentrale Dogma der Molekularbiologie, während die RNA-Phagen den durch das Dogma postulierten mehrstufigen Prozeß der Informationsverarbeitung einfach kurzschließen. Aber gerade anhand solcher "pathologischen" Fälle konnten die Mechanismen der biologischen Informationsübertragung in der lebenden Zelle weitgehend aufgeklärt werden. Im folgenden soll gezeigt werden, daß die RNA-Viren auch wichtige Hinweise auf den Mechanismus der Informationsentstehung und damit die Entstehung des Lebens schlechthin liefern. Das experimentelle Interesse hat sich hierbei in den letzten Jahren vornehmlich auf die RNA-Phagen konzentriert, also auf jene RNA-haltigen Viren, von denen ausschließlich Bakterien befallen werden (KÜPPERS, 1979 und 1980).

2. Informationsübertragung bei RNA-Phagen

Da die Viren keinen autonomen Stoffwechsel besitzen, benötigen sie immer den Proteinsyntheseapparat einer Wirtszelle, um funktionell wirksam werden zu können. Eine stark vereinfachte Darstellung vom Infektionszyklus des Bakteriophagen ϕ zeigt Abb. 2. Nach ihrem Eindringen in die Wirtszelle induziert die Virus-RNA neben einer Reihe virusspezifischer Proteine (Hüllprotein, Reifungsprotein usw.) auch die Synthese einer RNA-abhängigen RNA-Polymerase.

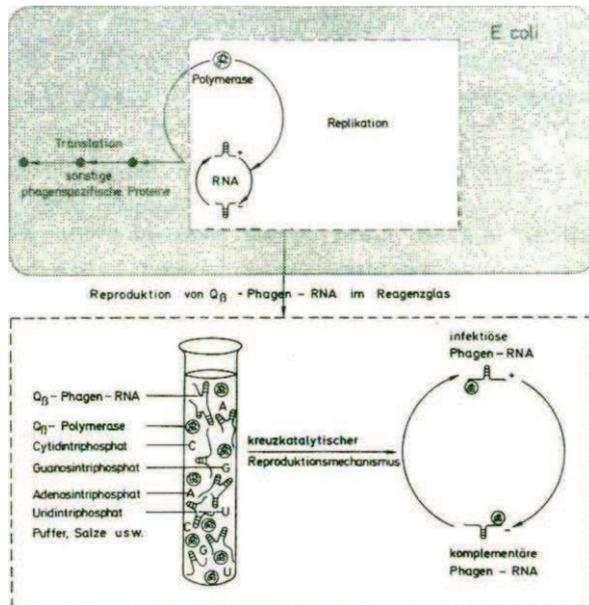


Abb. 2: Das RNA-Replikationssystem des Bakteriophagen Q β

Die Reproduktion der Virus-RNA erfolgt nach dem kreuzkatalytischen Prinzip der komplementären Basenerkennung jeweils über eine (+)- und (-)-RNA. Dieser Reaktionskreis ist über ein Replikationsenzym mit sich selbst gekoppelt. Die Kopplung enthält: (1) eine Übersetzung der Virus-RNA durch den Proteinsyntheseapparat der Wirtszelle und (2) eine Reproduktion der Virus-RNA durch die matrixspezifische Polymerase. Das RNA-Replikationssystem des Bakteriophagen Q β kann man isolieren und in vitro reaktivieren.

Dieses Enzym, man nennt es heute auch kurz Q β -Polymerase, ist in der Lage, eine vorgegebene Ribonukleinsäure direkt unter Verwendung der energiereichen Grundbausteine (Ribonucleosidtriphosphate) zu kopieren.

Die Q β -Polymerase hat eine bemerkenswerte Eigenschaft. Sie ist nämlich außerordentlich spezifisch bezüglich der Replikation ihrer homologen Virus-RNA. Unter einer Vielzahl von RNA-Molekülen erkennt das Enzym genau die zugehörige Virus-RNA, um sie anschließend bevorzugt zu reproduzieren. Offen-

bar besitzt die Phagen-RNA ein ganz bestimmtes Erkennungssignal, das immer erst von dem Kopierungsenzym überprüft wird, bevor dieses mit der Reproduktion der RNA beginnt. Die Einzelheiten des Erkennungsmechanismus werden in Abschnitt 4 ausführlich diskutiert.

Das RNA-Reproduktionssystem der RNA-Phagen kann man komponentenweise isolieren und zur zellfreien Synthese der entsprechenden Virus-RNA einsetzen (HARUNA et al., 1963)- Die biochemischen Voraussetzungen für ein solches Experiment sind - wiederum für das Q^S-System - in Abb. 2 zusammengestellt. Im einzelnen benötigt man für die in-vitro-Synthese von Q^A-Phagen-RNA:

1. Die Virus-RNA als molekulare Matrize;
2. Die Q^A-Polymerase als Kopierungsenzym;
- 3» Die vier Klassen von Ribonukleosidtriphosphaten als Bausteine der RNA.
4. Diverse biochemische Faktoren (Puffer, Salze usw.), damit die Q^A-Polymerase unter Reagenzglasbedingungen aktiv ist.

Wenn man eine solche Standardreaktionslösung bei 37° C inkubiert, initiiert die Q^S-Polymerase an der Phagen-RNA zunächst die Synthese einer komplementären RNA-Kopie, welche dann in einem weiteren Schritt wieder in das Positiv umgekehrt wird. Die RNA-Replikation erfolgt also nach dem kreuzkatalytischen Prinzip der komplementären Basenerkennung jeweils über einen (+)- und einen (-)-Strang.

3. De-novo-Synthese umweltadaptierter RNA-Moleküle

Das Replikationsenzym- die -Polymerase - besitzt eine Reihe faszinierender Eigenschaften. Auf die extreme Matrizespezifität wurde im vorigen Abschnitt bereits hingewiesen. Vor allen Dingen hat sich gezeigt, daß von der -Polymerase in einer bisher noch nicht bekannten Art und Weise das zentrale Dogma der Molekularbiologie verletzt wird.

Einen ersten Hinweis auf diese Eigenschaft der Q ϕ -Polymerase lieferte die Beobachtung, daß das hochgereinigte Enzym auch ohne vorgegebene RNA-Matrizen noch aktiv ist (SUMPER und LUCE, 1975)' Man geht bei einer solchen de-novo-Synthese wieder von einer Standardreaktionslösung aus, der nun jedoch keine RNA-Matrizen zugegeben werden (Abb. 3).

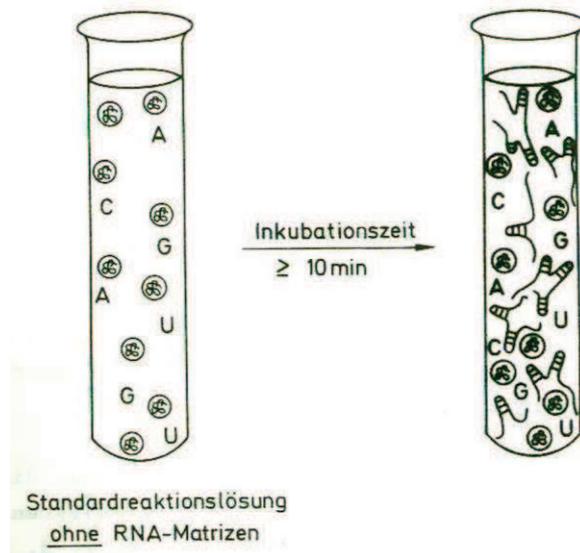


Abb. 3: De-novo-Synthese einer Q ϕ -spezifischen RNA

Die Q ϕ -Polymerase ist auch ohne exogene RNA-Matrizen noch aktiv. In einer matrizenfreien Standardreaktionslösung, die im wesentlichen nur die Q ϕ -Polymerase und die aktivierten Monomere enthält, werden von dem Enzym schon nach relativ kurzen Inkubationszeiten komplexe RNA-Strukturen de novo synthetisiert. Die de-novo-Produkte haben selbstreplikative Eigenschaften und sind den jeweiligen Umweltbedingungen angepaßt, unter denen sie entstanden sind.

Wenn man die matrizenfreie Reaktionslösung inkubiert, findet man hierin schon nach relativ kurzen Inkubationszeiten von etwa 10 bis 15 Min. wieder die ersten selbstreplizierenden RNA-Moleküle. "Selbstreplikativ" bedeutet in diesem Zusammenhang, daß die RNA-Moleküle ihre eigene Reproduktion als molekulare Matrizen nur instruieren. Der Reproduktionsprozeß selbst bedarf in jedem Fall der katalytischen Hilfe durch das Replikationsenzym. Die de-novo-Reaktion findet wohlgerne statt, ohne daß der Reaktionslösung irgendwelche exogene RNA-Moleküle zugegeben werden. Die Polymerase synthetisiert vielmehr entgegen der vom zentralen Dogma postulierten Richtung selbsttätig bestimmte RNA-Moleküle, die sie anschließend als endogene RNA-Matrizen verwendet und in einer autokatalytischen Reaktion vervielfältigt.

Darüberhinaus kommt es bei der de-novo-Reaktion offenbar auch zu einer systemimmanenten Selektion; denn die RNA-Endprodukte sind hinsichtlich ihrer Primärstruktur relativ homogen und den jeweiligen Reaktionsbedingungen angepaßt, unter denen sie entstanden sind. Dies soll im folgenden mit einigen experimentellen Beispielen belegt werden.

Schon seit langem kennt der Biochemiker Substanzen, die die enzymatische Reproduktion von Nukleinsäuren inhibieren. Hierzu gehören unter anderem bestimmte Farbstoffe, wie z. B. Acridinorange und Ethidiumbromid. Setzt man nun eine de-novo-Reaktion an, bei der man zuvor die Reaktionslösung mit einer hohen Dosis an Farbstoff kontaminiert hat, so kann man eine interessante Beobachtung machen. Und zwar findet man nach einer Inkubationszeit von (in der Regel) mehreren Stunden in der Reaktionslösung tatsächlich wieder selbstreplizierende RNA-Moleküle, die nunmehr gegenüber dem Farbstoff resistent sind.

Die Replikationseigenschaften solcher farbstoffresistenten RNA-Moleküle sind in Abb. k dargestellt. Zum Vergleich ist auch die Replikationskinetik einer farbstoffempfindlichen RNA gezeigt.

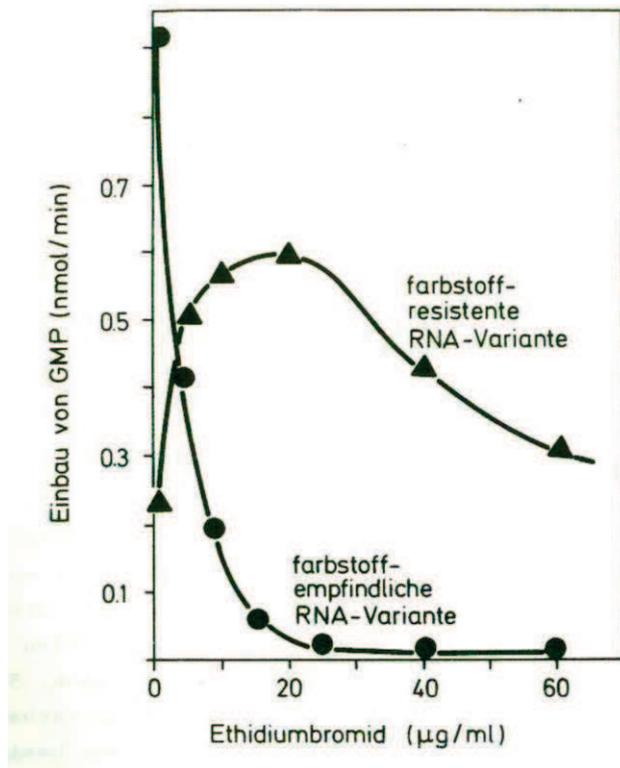


Abb. 4: Replikationseigenschaften von RNA-Molekülen in Gegenwart von Ethidiumbromid

Die Wachstumskinetik zweier RNA-Spezies wurde untersucht, welche unter verschiedenen Reaktionsbedingungen in einer de-novo-Reaktion entstanden sind: De-novo-Produkte, die in Gegenwart von Ethidiumbromid entstanden sind, sind nicht nur gegenüber dem Inhibitor resistent, sondern von diesem sogar in einem bestimmten Konzentrationsbereich abhängig. Die Reproduktionsgeschwindigkeit von de-novo-Produkten, die aus einer farbstofffreien Reaktionslösung selektioniert wurden, nimmt dagegen erwartungsgemäß mit wachsender Färbstoffkonzentration ab.

(Sumper und Luce, 1975)

Die Replikationsfähigkeit der letzteren nimmt erwartungsgemäß mit wachsender Farbstoffkonzentration ab. Ganz anders verhält sich dagegen die farbstoffresistente RNA. Diese ist nicht nur über einen weiten Konzentrationsbereich gegenüber dem Farbstoff resistent, sondern sie ist sogar färbstoffabhängig, d. h. sie benötigt eine bestimmte Menge Ethidiumbromid, um ihre optimale Reproduktionsgeschwindigkeit zu erreichen.

Durch geschickte Wahl der Reaktionsbedingungen für die de-novo-Synthese kann man praktisch RNA-Moleküle mit beliebigen Eigenschaften selektionieren. Solche Experimente - wie auch das Ethidiumbromid-Experiment - sind in größerer Zahl von SUMPER durchgeführt worden. In Abb. 5 ist z. B. die Replikationsfähigkeit eines RNA-Moleküls gezeigt, das gegenüber einem RNA-abbauenden Enzym, nämlich Ribonuklease T, resistent ist. Auch hier ist wieder zum Vergleich die Kinetik einer nicht resistenten RNA gezeigt. In einer ribonukleasefreien Lösung (Abb. 5, helles Feld) haben beide RNA-Strukturen etwa dieselben Reproduktionseigenschaften. Ganz anders verhalten sich die Moleküle jedoch in Gegenwart von Ribonuklease (Abb. 5i dunkles Feld). Die RNA-(1) zeigt nun überhaupt kein Wachstum mehr, während die RNA-(2) eine beachtliche Resistenz besitzt. In dem letzten Experiment war übrigens die Ribonukleasekonzentration genau so groß wie die, unter der die resistente Variante selektioniert wurde.

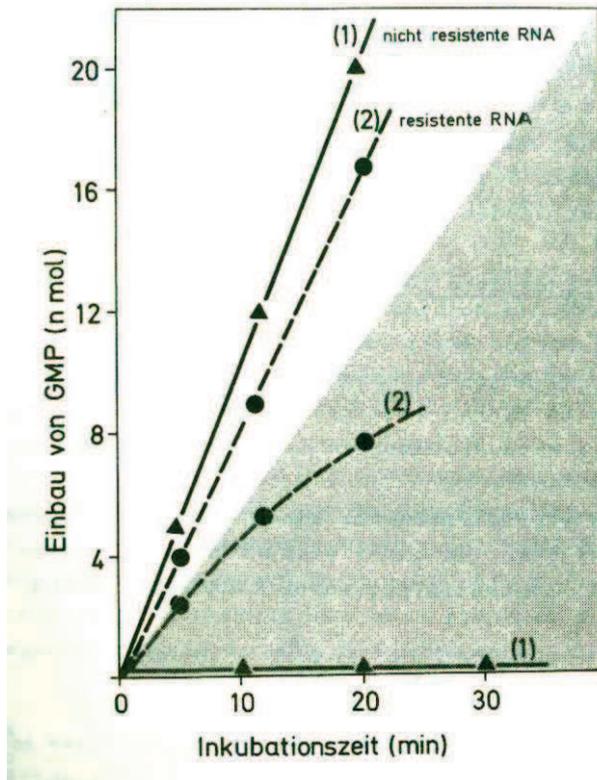


Abb. 5: Replikationseigenschaften von RNA-Molekülen in Gegenwart von Ribonuklease T_1

Die Wachstumskinetik zweier RNA-Spezies wurde untersucht, welche unter verschiedenen Reaktionsbedingungen in einer de-novo-Reaktion entstanden sind: In einer ribonukleasefreien Reaktionslösung (helles Feld) zeigen beide RNA-Varianten annähernd dieselbe Replikationskinetik. In Gegenwart von Ribonuklease T_1 zeigen die beiden RNA-Strukturen jedoch ein ganz unterschiedliches Verhalten (dunkles Feld). Die Variante (1), die de novo in einer ribonukleasefreien Reaktionslösung entstanden ist, wächst nun überhaupt nicht mehr, während die Variante (2) bis zu einem gewissen Grad gegenüber der Ribonukleasewirkung resistent ist. Bei diesem Experiment war die Ribonukleasekonzentration genau so groß wie die, unter der die resistente Variante (2) selektiert wurde.

(Sumper und Luce, 1975)

Die Möglichkeiten zur Synthese umweltadaptierter RNA-Moleküle ergeben sich vor allem daraus, daß im Qjj-System der Selektionsdruck direkt auf das genetische Material einwirkt und nicht auf dem Umweg über das Gen-Produkt. Dieser Mechanismus setzt allerdings voraus, daß bereits die RNA-Moleküle gewisse phänotypische Merkmale besitzen, die von der Umwelt erkannt und selektiv bewertet werden können.

k. RNA-ErkennungsSignale für die Q^j-Polymerase

Offenbar kann nur eine intensive Produktanalyse Licht in den Mechanismus der de-novo-Synthese bringen. Aus diesem Grund hat man in den letzten Jahren in verschiedenen Laboratorien damit begonnen, die de-novo-Produkte zu isolieren und zu sequenzieren.

In Abb. 6 ist die Primärstruktur eines RNA-Moleküls gezeigt, das von der Q_j-Polymerase unter Standardbedingungen in einer de-novo-Reaktion synthetisiert wurde (KRAMER u. MILLS, 1978).

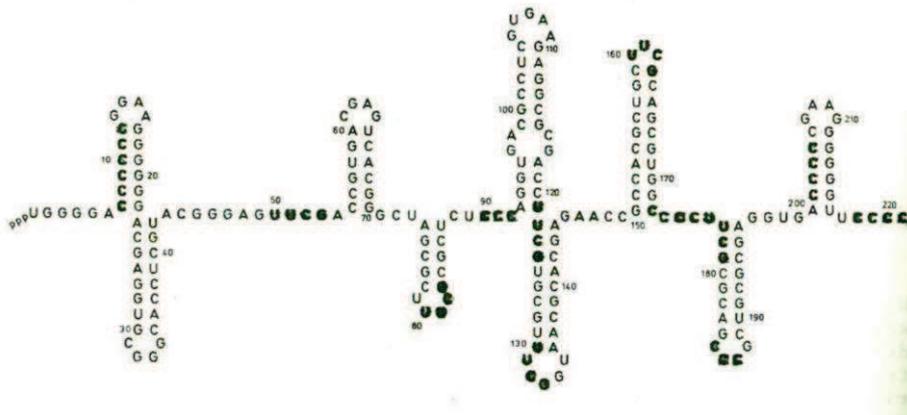


Abb. 6: Vollständige Nucleotidsequenz einer Q(J-spezifischen RNA

Das RNA-Molekül mit der hier gezeigten Nucleotidsequenz ist unter Standardbedingungen als Selektionsprodukt aus einer de-novo-Reaktion mit der Q_j-Polymerase hervorgegangen. Besonders auffallend ist das häufige Vorkommen der Oligonucleotide CCC (C) bzw. UUCG. (Nach KRAMER und MILLS, 1978).

Besonders auffallend an diesem Molekül ist dessen ausgeprägte Faltungsstruktur, die durch die vielen intramolekularen, komplementären Sequenzbereiche zustande kommt. Dabei sind in diesem Bild nur die ebenen Faltungsstrukturen erfaßt. In Wirklichkeit ist das Molekül auch noch in komplizierter Weise dreidimensional gefaltet, wodurch es in der Tat charakteristische phänotypische Merkmale erhält. Alle funktionell wirksamen RNA-Moleküle, bei denen es auf hohe Stabilität und bevorzugte Reproduktion ankommt, evolvieren zu solch komplexen Strukturen. Diese Aussage läßt sich auch theoretisch begründen (EIGEN, 1971). Die Voraussetzungen für eine genotypische Selektion durch die Q_p-Polymerase sind also bei den Q_j-spezifischen RNA-Molekülen erfüllt.

Wie bereits erwähnt, liegt der Schlüssel zum Verständnis des Erkennungsmechanismus bzw. der de-novo-Synthese in der Primärstruktur der de-novo-Produkte verborgen. Hier fallen sofort bestimmte Sequenzmuster auf (vgl. Abb. 6). So treten insbesondere mit einer außerhalb der statistischen Wahrscheinlichkeit liegenden Häufigkeit die Oligonukleotide CCC(C) und UUCG auf.

Es konnte experimentell nachgewiesen werden, daß gerade die C-Nukleotide eine entscheidende Rolle bei der Nukleinsäureerkennung durch das Replikationsenzym spielen (KÜPPERS und SUMPER, 1975). Und zwar sind am Erkennungsschritt immer zwei C-Triplets beteiligt, die in einer definierten Anordnung zueinander mit der Q_β-Polymerase in Wechselwirkung treten müssen. Die Polymerase überprüft bei der Initiation mit ihren beiden Bindungsplätzen, ob in einer Nukleinsäure zwei C-Triplets vorhanden sind und ob diese in einem für die Erkennung kritischen Abstand zueinander angeordnet sind. Sind beide Bedingungen erfüllt, beginnt die Polymerase mit der Reproduktion der RNA.

Aus Sequenzanalysen, die an verschiedenen de-novo-Produkten ausgeführt wurden, läßt sich ermitteln, daß der Minimalabstand zwischen den beiden Erkennungssignalen einer Sequenzlänge

von 14 Nukleotiden entspricht. Diese Information erlaubt eine direkte experimentelle Überprüfung des Erkennungsmodells (KÜPPERS und SUMPER, 1975). Zu diesem Zweck wurden Nukleinsäuren mit einer definierten Sequenz synthetisiert, die jeweils an beiden Enden ein Erkennungssignal, d.h. ein C-Triplett enthielten (Abb. 8). Des Weiteren waren die Erkennungssignale über Nukleotidbrücken unterschiedlicher Kettenlänge miteinander verbunden. Es wurde dann als Test für die Richtigkeit des postulierten Wechselwirkungsmechanismus zwischen Polymerase und RNA-Matrize die Initiationsgeschwindigkeit der RNA-Replikation als Funktion der Kettenlänge n gemessen. Nach dem in Abb. 7 dargestellten Modell durften nur solche Moleküle eine Matrizenaktivität besitzen, bei denen $n \approx 14-6 = 8$ ist. Die in Abb. 8 aufgezeichnete Initiationskinetik bestätigt die aus dem Modell abgeleitete Voraussage in vollem Umfang.

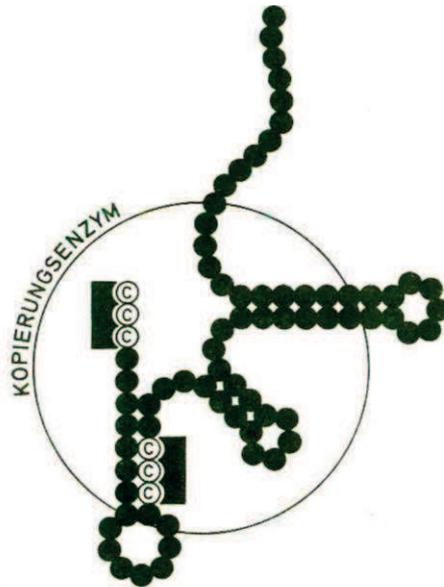


Abb. 7: Spezifische Wechselwirkung zwischen der Q_{β} -Polymerase und einer RNA-Matrize

Die Initiation der RNA-Replikation wird durch die simultane Bindung von zwei C-Tripletts an die Q_{β} -Polymerase ausgelöst (KÜPPERS und SUMPER, 1975).

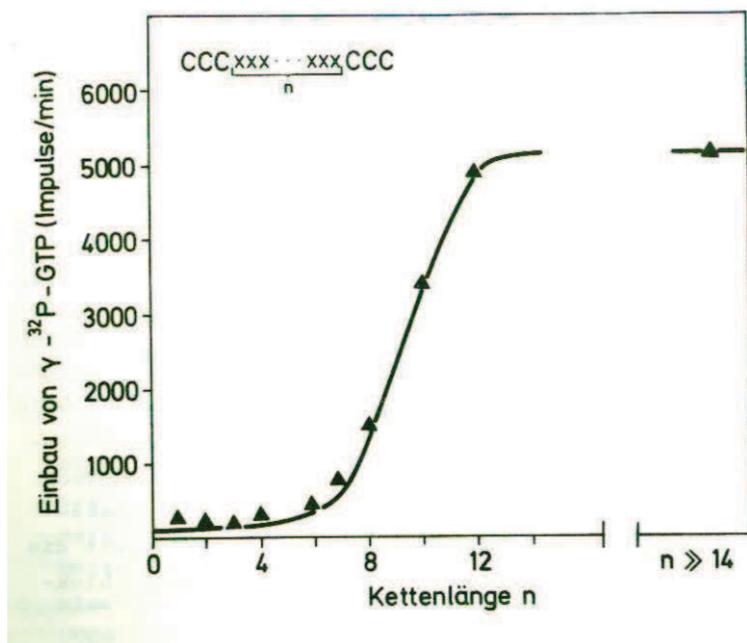


Abb. 8: Matrizenaktivität von Q ϕ -spezifischen Modellsubstanzen

Als Modellsubstanzen dienten synthetische RNA-Moleküle, die jeweils am 3' - und 5'-Ende ein C-Triplett enthielten. Die beiden Erkennungssignale waren über Nukleotidbrücken unterschiedlicher Kettenlänge miteinander verbunden. Gemessen wurde die Initiationsgeschwindigkeit der RNA-Synthese als Funktion der Kettenlänge n . (Küppers und Sumper, 1975)

5. Mechanismus der de-novo-Synthese

Aufgrund der in den vorherigen Abschnitten beschriebenen Experimente haben EIGEN und SCHUSTER einen plausiblen Mechanismus für die de-novo-Reaktion vorgeschlagen (EIGEN und SCHUSTER 1979). Ihr Vorschlag basiert auf der bereits erwähnten Beobachtung, daß in den Standardprodukten der de-novo-Reaktion auffallend häufig die Oligonukleotide CCC (C) und UUCG vorkommen. Nach dem Modell von EIGEN und SCHUSTER werden im wesentlichen diese zwei Oligonukleotidsorten sowie deren Komplementärsequenzen GGG(G) und CGAA als Rohmaterial für den Aufbau

komplexer RNA-Strukturen verwendet.

Im einzelnen sieht das vorgeschlagene Reaktionsschema folgendermaßen aus (s. auch Abb. 9): In der Primärphase der de-novo-Synthese synthetisiert die Qp-Polymerase aus den aktivierten Monomeren zunächst die genannten Oligonukleotide. Diese werden anschließend (statistisch) zu langen Ketten von einigen hundert Nukleotiden zusammengesetzt. Auf diese Weise entsteht in der Anfangsphase der Reaktion ein ganzes Zufallsspektrum von RNA-Molekülen. Alle Moleküle, die selbstreplikative Eigenschaften besitzen, d.h. die u. a. die Erkennungssignale sowohl im (+)- als auch im (-)-Strang enthalten, treten schließlich in einen Konkurrenzkampf um unbesetzte Polymerasemoleküle ein. Dem DARWINSCHEN Prinzip entsprechend geht aus dieser Selektionskonkurrenz diejenige RNA-Spezies als Gewinnerin hervor, die unter den augenblicklich herrschenden Reaktionsbedingungen die besten Wachstumseigenschaften hat und somit die Polymerasemoleküle am häufigsten für ihre Konkurrenten blockiert.

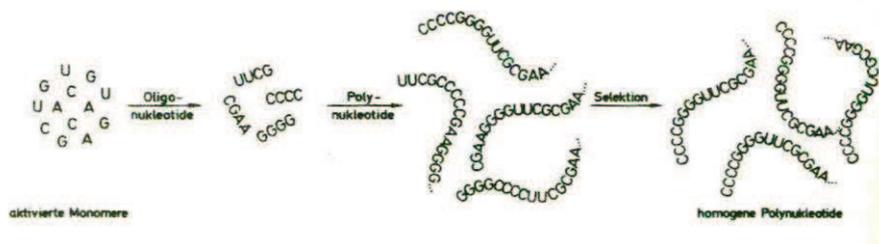


Abb. 9' Möglicher Reaktionsmechanismus für die de-novo-Synthese von Qp-spezifischer RNA

Die de-novo-Synthese erfolgt offenbar in mehreren Schritten: (1) Synthese von Oligonukleotiden aus den aktivierten Monomeren, (2) Aufbau von komplexen RNA-Strukturen aus den Oligonukleotiden, (3) Selektion einer selbstreplikativen RNA-Spezies aufgrund einer systemimmanenten Bewertung.

Verschiedene experimentelle Befunde deuten daiauf hin, daß der hier vorgeschlagene Reaktionsmechanismus für die de-novo-Synthese in seinen Grundzügen richtig ist:

1. Die Kinetik der de-novo-Synthese hängt in der Primärphase der Reaktion von der k . Potenz der Monomerkonzentration ab, was auf die Bildung von Tetrameren hindeutet.
2. Die Q_p -Polymerase besitzt - wie experimentell nachgewiesen wurde - spezifische Erkennungsstellen für das Oligonukleotid CCC.
3. Die Q_β -Polymerase besteht aus vier Untereinheiten. Hiervon ist eine Untereinheit identisch mit dem Proteinsynthese-Elongationsfaktor T^\wedge , der im Translationsapparat der Wirtszelle die Bindung der aminoacylierten t-RNA an das Ribosom vermittelt. Der Faktor T^\wedge bindet vermutlich in t-RNA-Molekülen bevorzugt an die Nukleotidsequenz TV CG. Diese Nukleotidsequenz ist wiederum äquivalent zum Oligonukleotid UUCG.
- k. Eine hypothetische RNA-Sequenz (Abb. 10), die nur aus den vier Oligonukleotiden CCC(C), GGG(G), UUCG und CGAA aufgebaut ist, stimmt immerhin in 161 von insgesamt 220 Positionen mit dem natürlichen de-novo-Produkt überein, dessen Nukleotidsequenz in Abb. 6 dargestellt ist.

```

natürliche RNA — UGGGACCCCGGAAAGGGGGGACGAGGUGGGGACCUUGUACG
hypothetische RNA — GGGGCCCGCCCGAAGGGGGGGCGAAGGGGGGCCCUUCGUUCG
                    10      20      30      40
                    50      60      70      80      90      100
GGAGUUCGACCGUGACGAGUCACGGGCUAGCGCUUUCGGGUCUCUCCAGGUGACGCCUC
GGGUUCGCCCAGGGCGAACCCCGGGCGAACCCCUUCGCGAACCCGGGGGGGCCCUUC
                    110      120      130      140      150      160
GUGAAGAGGGCGGACCUUCGUGCGUUUCGGUAUCGCACGAGAACCAGCACGCUUCUUCG
GCGAAGGGGCCCGCCCUUCGUUCGUUCGGUUCGCGCGAACCCCUUCGCCCUCG
                    170      180      190      200      210
CAGCGUGGGCCCUUCGCGAGCCCGCUGCGGAGGUGACCCCGAAGGGGGGUUCCCG
GCCCGGGGCCCGUUCGCGAACCCCGUUCGCGAAGGGGCCCGAAGGGGGGGGCCCG

```

Abb. 10: Sequenzvergleich zwischen einem natürlichen de-novo-Produkt und einer hypothetischen RNA

Die hypothetische RNA besteht nur aus den Oligonukleotiden CCC(C) und UUCG sowie deren Komplementärsequenzen GGG(G) und CGAA. Die Oligonukleotide sind so aneinandergereiht, daß die hieraus resultierende Sequenz eine möglichst große Übereinstimmung mit der in Abb. 6 gezeigten natürlichen RNA-Sequenz aufweist. Nach dieser Methode läßt sich die Nukleotidsequenz des natürlichen de-novo-Produktes in 161 von insgesamt 220 Positionen rekonstruieren. (Eigen und Schuster, 1979)

6. Schlußfolgerungen

Welche Schlußfolgerungen können wir aus den hier geschilderten Experimenten mit dem Q|J-System ziehen?

Zunächst einmal zeigen die Experimente ganz deutlich, daß auch Proteine bis zu einem gewissen Grad die Instruktion für den Aufbau von Nukleinsäuren liefern können. Auch wenn im Gegensatz zur Nukleinsäure-Translation der Informationsfluß bei der de-novo-Synthese von Q β -spezifischer RNA nicht auf einer "Bit-für-bit-Anweisung" durch die Polymerase basiert, so wird das zentrale Dogma der Molekularbiologie doch eindeutig verletzt.

Die Experimente mit dem Q \wedge -System ermöglichen darüber hinaus auch eine Reihe von evolutionstheoretischen Folgerungen:

1. DARWINS Selektionsprinzip ist bereits im molekularen Bereich gültig und führt in einem Gemisch selbstreplizierender RNA-Moleküle bei geeignet gewählten Reaktionsbedingungen zur Selektion umweltadaptierter RNA-Strukturen.
2. RNA-Moleküle können differenzierte phänotypische Merkmale ausbilden, die unter bestimmten Replikationsbedingungen von der Umwelt erkannt und selektiv bewertet werden. Die strenge Trennung in den Genotypus (Nukleinsäure) und den Phänotypus (Protein), wie wir sie heutzutage in der lebenden Zelle vorfinden, ist wahrscheinlich eine relativ späte "Erfindung" der Evolution und erst nach der Entstehung des genetischen Codes erfolgt.
3. Eine Spezifität in der Protein-Nukleinsäurewechselwirkung konnte sich bereits vor der Fixierung eines genetischen Codes entwickeln (KÜPPERS, 1979 und 1980).
- k. Aus einem primitiven Replikationsmechanismus für Nukleinsäuren können bereits einheitliche und reproduzierbare Sequenzmuster hervorgehen.

7• Zusammenfassung

Die RNA-Viren des Bakterienstammes *Escherichia coli* besitzen eine bemerkenswerte Eigenschaft: Sie induzieren in der Wirtszelle die Synthese einer RNA-abhängigen RNA-Polymerase, die spezifisch bezüglich der Replikation ihrer homologen Virus-RNA ist.

Das RNA-Replikationssystem des Bakteriophagen Q β kann man komponentenweise isolieren und *in vitro* untersuchen. Hier hat sich gezeigt, daß die Q β -Polymerase unter bestimmten Bedingungen auch *de novo*, d. h. ohne die Hilfe exogener RNA-Matrizen verhältnismäßig komplexe RNA-Moleküle aufbauen kann (SUMPER und LUCE, 1975). Die *de-novo*-Produkte dienen als endogene RNA-Matrizen und werden von der Polymerase in einer autokatalytischen Reaktion vervielfältigt.

Darüber hinaus unterliegen die de-novo-Produkte einer systemimmanenten Selektion; denn die Endprodukte einer de-novo-Reaktion sind hinsichtlich ihrer Primärsequenz weitgehend homogen und den jeweiligen Reaktionsbedingungen angepaßt, unter denen sie entstanden sind.

Experimentelle Untersuchungen an synthetischen, spezifischen RNA-Molekülen (KÜPPERS und SUMPER, 1975) erlauben Rückschlüsse auf den Mechanismus der de-novo-Synthese (EIGEN und SCHUSTER, 1979).

Literatur

1. EIGEN, M.: Self-Organization of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules. *Naturwissenschaften* 58 465-523 (1971).
2. EIGEN, M. und SCHUSTER, P.: The Hypercycle - A Principle of Natural Self-Organization. Part C: The Realistic Hypercycle. *Naturwissenschaften* 65, 3¹-369 (1978).
3. HARUNA, I.; NOZU, K.; OTHAKA, Y. und SPIEGELMAN, S.: An RNA "replicase" induced by and selective for a viral RNA: isolation and properties. *Proc. Nat. Acad. Sei. USA* 50, 905-911 (1963).
4. KRAMER, F.R. und MILLS, D.R.: RNA sequencing with radioactive chain-terminating ribonucleotides. *Proc. Nat. Acad. Sei. USA* 75., 5334 - 5338 (1978).
5. KÜPPERS, B.-O. und SUMPER, M.: Minimal requirements for template recognition by bacteriophage Q_{jj} replicase: Approach to general RNA-dependent RNA synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sei. USA* 7¹. 2640-2643 (1975).
6. KÜPPERS, B.-O.: Towards an Experimental Analysis of Molecular Self-Organization and Pre-cellular Darwinian Evolution. *Naturwissenschaften* 66, 228-243 (1979).
7. KÜPPERS, B.-O.: Evolution im Reagenzglas. In: *Mannheimer Forum 80/81*, hrsg. v. H.v. Dittfurth. Boehringer, Mannheim 1980.

8. SUMPER, M. und LUCE, R.: Evidence for de novo production of self-replicating and environmentally adapted RNA structures by bacteriophage Q λ replicase.
Proc. Nat. Acad. Sei. USA 72, 162 (1975).

Diskussion

P. CHANDRA: Herr Küppers, ein System, das ohne RNA-Matrize eine genaue RNA-Synthese bzw. RNA-Kopie machen kann, hat für einen Molekularbiologen natürlich hervorragende Eigenschaften. Wenn Sie jedoch keine RNA-Matrize vorlegen, was meinen Sie dann mit "farbstoffresistenter" RNA?

B./O. KÜPPERS: Wir inkubieren in der Tat die Reaktionslösung zunächst ohne Zugabe von RNA-Matrizen. Das Enzym synthetisiert dann während der Primärphase der Reaktion bestimmte RNA-Moleküle de novo. Alle RNA-Moleküle, die selbstreplikative Eigenschaften haben, werden von der Replikase als "Ersatzmatrizen" akzeptiert und autokatalytisch vervielfältigt. Wenn man nun diese RNA-Produkte isoliert und ihre matrizengesteuerte Replikation untersucht, so stellt sich heraus, daß die Replikationseigenschaften jeweils den speziellen Reaktionsbedingungen angepaßt sind, die während der de-novo-Reaktion herrschten. Die Farbstoffresistenz bezieht sich also auf die kinetischen Eigenschaften der RNA-Endprodukte.

P. CHANDRA: Sie geben Ethidiumbromid gleich am Anfang der Reaktion zu. Der Initiator determiniert dann doch irgendwie die Reihenfolge des Nukleotideinbaus, so daß nicht ohne weiteres auf die Oligonukleotide geschlossen werden kann.

BrO. KÜPPERS: Hier liegt, glaube ich, ein Mißverständnis vor. Das Ethidiumbromid ist kein Initiator für die de-novo-Reaktion. Der Farbstoff spielt bei der Reaktion gewissermaßen nur die Rolle eines "passiven" Umweltfaktors. Dennoch hat natürlich das Ethidiumbromid, da es wegen seiner interkalierenden Eigenschaften ein Inhibitor für die RNA-Replikation ist, einen gewissen Einfluß auf die Struktur der Reaktionsprodukte. Dies bezieht sich aber nicht so sehr auf die Primärstruktur, als vielmehr auf die Sekundärstruktur.

G.F. DOMAGK: Die Sekundärstruktur wird doch viel später gebildet. Wir haben doch noch gar keine Sekundärstruktur, wenn Sie der Reaktion Farbstoff begeben.

B.O. KÜPPERS: Die Replikase synthetisiert zunächst mehr oder weniger statistisch bestimmte RNA-Sequenzen. Anschließend kommt es in dem System zu einer Selektion. Hierbei haben nur solche RNA-Moleküle eine "Überlebenschance", die den jeweiligen Reaktionsbedingungen angepaßt sind. Im Falle der mit Ethidiumbromid kontaminierten Reaktionslösung sind das jene Moleküle, die eine geringe Sekundärstruktur aufweisen; denn es sind vorzugsweise die doppelsträngigen Molekülbereiche, mit denen der Farbstoff interkaliert.

P. CHANDRA: Kann man davon ausgehen, daß die farbstoffresistente und die nicht resistente RNA völlig unterschiedliche Basenzusammensetzungen haben?

ByO. KÜPPERS: Hier muß man zwischen RNA-Produkten, die in einer de-novo-Reaktion entstanden sind und solchen, die aus einem matrizenabhängigen Selektionsexperiment hervorgegangen sind, unterscheiden. SPIEGELMAN und Mitarb. haben für den letzteren Fall ein resistentes und ein nicht resistentes Molekül sequenziert. Die farbstoffresistente RNA, die durch Selektion aus einer präexistenten, nicht resistenten RNA hervorgegangen war, unterschied sich von der Stammsequenz nur durch drei Punktmutationen.

Für die de-novo-Produkte, mit denen wir es zu tun haben, gibt es leider noch keine Sequenzdaten. Aufgrund der bisher vorliegenden Experimente vermute ich aber, daß die resistenten und nicht resistenten Moleküle unterschiedliche Primärsequenzen haben, die wegen des Aufbaus aus nur vier Klassen von Oligonukleotiden wahrscheinlich ein einheitliches Grundmuster aufweisen.

K. THEURER: Es gibt hier natürlich sehr viele Fragen, auch mit Bezug auf die allgemeine Therapie. Welche Proteine werden beispielsweise durch derartige Spontanveränderungen oder Neubildungen synthetisiert?

Gibt es solche Replikasen auch für andere Stoffe? So wäre es doch sinnvoll, beispielsweise bei einer RNA-Replikation für die Synthese von Antikörpern, Antikörperfragmenten - insbesondere für die konstante Gruppe der Antikörper - hier eine schnelle Vermehrung zu ermöglichen. Auf der Ebene der Translation allein gibt es ja weniger Einflußmöglichkeiten. Es wäre also sinnvoll, wenn die RNA schon in Form der m-RNA vermehrt werden könnte.

BTO. KÜPPERS: Die RNA-Produkte einer de-novo-Reaktion entstehen in vitro. Sie unterliegen keinem natürlichen Selektionsdruck in dem Sinne, daß in ihnen die Information für den Aufbau eines Proteins, z. B. einer Replikase, niedergelegt sein muß. Beim Qp -Replikase-System wird vielmehr das Replikationsenzym extern zugegeben. Der einzige "Lebenszweck" der RNA-Moleküle besteht also darin, sich unter den gegebenen optimalen Bedingungen möglichst schnell zu vermehren. Von der systeminhärenten Selektion werden hierbei nur die phänotypischen Eigenschaften der RNA-Komponente bewertet. Aus statistischen Gründen ist es nahezu ausgeschlossen, daß parallel dazu in der Primärsequenz dieser Moleküle auch zufällig die Information für den Aufbau eines optimierten Enzymmoleküls entsteht.

Ihre zweite Frage, ob es in der lebenden Zelle noch andere RNA-abhängige RNA-Polymerasen gibt, muß man zum gegenwärtigen Zeitpunkt verneinen.

Bauprinzipien in Proteinen und ihre Konsequenzen für die praktische Medizin

R.H. SCHIRMER, Biochemisches Institut der Universität Heidelberg
und
G.E. SCHULZ, Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung,
Heidelberg

Proteine sind Träger und Repräsentanten fast aller Lebensvorgänge

Der Name Protein spiegelt die Bedeutung dieser Stoffklasse wieder: jtpCJroj heißt erstrangig. Die biologischen Vorgänge, die unser Leben erhalten oder bedrohen, beruhen ganz oder teilweise auf der Aktivität von Proteinen. Will man Krankheitsprozesse wirklich verstehen - in dem Sinne, daß gezieltes Eingreifen und Vorhersagen möglich werden -, muß man die beteiligten Proteine im atomaren Detail kennen. Untersuchungen an Immunglobulinen (1) und am Hämoglobin (2) beweisen diese Notwendigkeit: Der Befund, daß die Immunglobulin-Struktur zwei identische Bindungszentren für ihr Antigen hat und daß jedes Bindungszentrum aus zwei verschiedenen Proteinketten besteht, führte die Immunologie aus dem Bereich des mysteriösen Außenseiters in das Zentrum der Medizin. Der Sauerstofftransport gilt erst als verstanden, seitdem man die Wechselwirkungen der Hämoglobine mit kleineren Molekülen, vor allem mit Diphosphoglyzerat, im atomaren Detail kennt

Ein einfaches Protein besteht aus einer langen Aminosäurenkette, die zu einer kompakten Struktur gefaltet ist.

Proteine enthalten als Bausteine 20 verschiedene Aminosäuren. Dem Arzt besonders bekannte Aminosäuren sind Glutaminsäure, Asparaginsäure, Tyrosin, Histidin, Lysin und Tryptophan. Zum Aufbau eines Proteins werden Hunderte von Aminosäuren zu einer langen unverzweigten Hauptkette aneinandergereiht. Jedes Kettenglied trägt eine Seitenkette, die für die individuellen Aminosäuren charakteristisch ist.

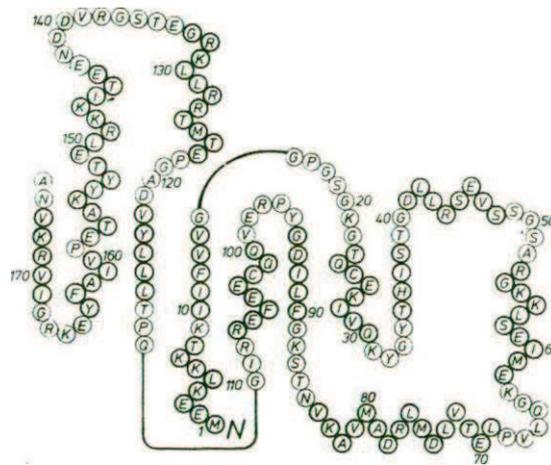


Abb. 1:

Die Aminosäuresequenz der menschlichen Adenylatkinase, eines kleinen Proteins. Die Kette hat 19[^] Glieder; sie beginnt bei N und endet bei C. Die einzelnen Aminosäuren sind durch Kreise mit Großbuchstaben dargestellt. G bedeutet beispielsweise Glykoll und K Lysin. Der Verlauf der Kette im fertig gefalteten Protein ist angedeutet.

In einem Protein erscheint die Reihenfolge der Aminosäuren, die "Sequenz" als willkürlich, in Wirklichkeit ist sie jedoch durch die Erbsubstanz (DNA) festgelegt. Die Sequenz bestimmt erstens den Faltungsprozeß, der zur dreidimensionalen Struktur der Hauptkette führt und zweitens die relative Anordnung aller, und damit auch der funktionellen Seitenketten in der fertigen Struktur (Abb.2). Letztlich bestimmt also die Erbsubstanz indirekt über die Aminosäuresequenz die Funktion eines Proteins.

Kurz zur Methodik der Proteinstrukturforschung: Die Aminosäuresequenz wird mit Hilfe chemischer Methoden analysiert: die lange Kette wird von Enzymen oder chemischen Reagentien in mehrere Stücke gespalten; von diesen werden dann die Aminosäuren eine nach der anderen abgetrennt und identifiziert. Zur Aufklärung der Kettenfaltung werden Proteine kristallisiert und dann mit Hilfe der Röntge;beugungsanalyse untersucht. Das ist eine recht aufwendige physikalische Methode, deren Daten nur mit Hilfe eine»

Rechners verarbeitet und interpretiert werden können. Das gemeinsame Resultat der chemischen und physikalischen Analysen ist ein Modell des Proteins (Abb. 2), in dem die Position aller Atome bekannt ist (5,6).

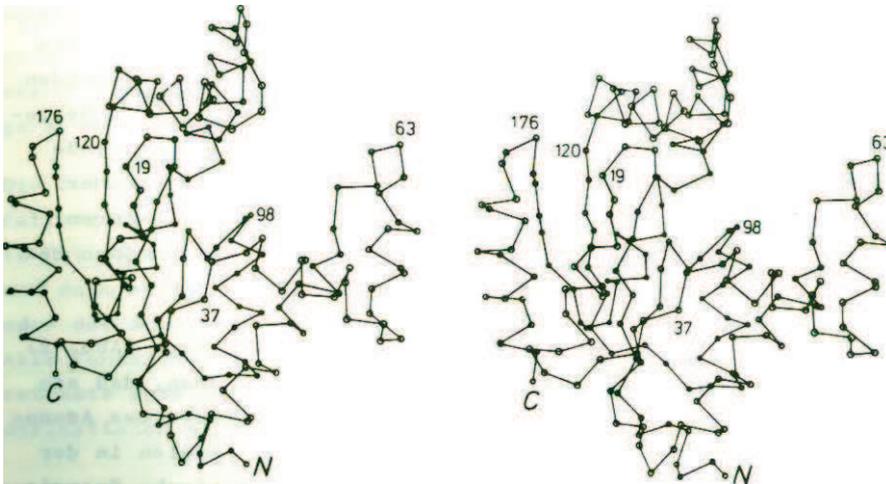


Abb. 2:

Stereoezeichnung der Polypeptidkette der Adenylatkinase. C_{α} -Atome sind durch Kreise markiert. N- und C-Termini und einige Positionsnummern sind angegeben. Das Bild enthält keine Seitenketten, sonst wäre es zu verwirrend. Insgesamt enthält dieses Molekül 3090 Atome.

Zwischen 1960 und 1980 sind etwa 100 verschiedene Proteinstrukturen analysiert worden. Vergleichende Untersuchungen ergaben, daß Proteine in der Faltung ihrer Hauptketten übereinstimmen können, ohne daß sie einander in Sequenz oder Funktion ähnlich sind. Es lohnt sich also, nach Regelmäßigkeiten in Proteinarchitekturen (7) zu suchen.

Domänenstrukturen sind geeignet, um die Fülle der Lebenserscheinungen auf molekularem Niveau zu ordnen.

Die physikalisch-chemischen, organisatorischen und biologischen Einflüsse und Gesetzmäßigkeiten, denen die Proteine unterworfen sind, kennen wir erst unvollkommen. Aufgrund der vorliegenden Daten kann man aber folgende Arbeitshypothese formulieren. Die modernen Proteine sind die Nachfahren eines begrenzten Kreises von etwa 300 Urproteinen, der sich vor mehr als zwei Milliarden Jahren etablierte. Neue Proteine ohne verwandtschaftliche Beziehung zu diesen Archetypen wurden nur selten zugelassen. Große Proteine mit komplizierten Funktionen bestehen oft aus einer Kombination solcher Urproteine; die individuellen Strukturen sind in der Regel deutlich erkennbar und werden als Domänen bezeichnet (7) •

Betrachten wir als Beispiele die Enzyme Adenylatkinase (Abb. 2) und Glutathionreduktase. Gemeinsam ist beiden Enzymen, daß sie Bindungszentren für Nukleotide, genauer, für Derivate des Adenosinmonophosphats (AMP) haben. Adenosinphosphate spielen in der Natur eine dominierende Rolle: Sie übertragen chemische Energie, und sie sind Bausteine von Nukleinsäuren und Cofaktoren. Wichtige adenosinhaltige Metabolite sind ATP, ADP, AMP, zyklisches AMP, S-Adenosylmethionin, 3-Phosphoadenosin-5'phosphosulfat (PAPS), NAD, NADP, FAD und Coenzym A, Adenosylmethionin und 5'-Desoxycobalamin. Insgesamt treten mehr als die Hälfte der bekannten Proteine mit Nukleotiden in Wechselwirkung. Viele Proteine binden Dinukleotide vom Typ FAD oder NADPH oder zwei einzelne Nukleotide.

Es lag also nahe, nach strukturellen Ähnlichkeiten zwischen nukleotidbindenden Proteinen zu suchen. Dabei zeigte sich, daß Proteine mit sehr unterschiedlichen Funktionen ihre Nukleotide in gleicher Weise binden: Jeweils liegen die Phosphatgruppen der Nukleotide an der oberen Kante eines parallelsträngigen -Faltblatts im Protein, während die Nukleotidbasen an den Seiten des Faltblatts fixiert sind. Anschaulich könnte man sich zwei Mäd-

eben (=Nukleotide) vorstellen, die zu beiden Seiten einer Mauer (=Faltblatt) stehen und sich wie in Abb. 3 dargestellt an der oberen Mauerkante die Hände (^Phosphate) reichen.

Dieses Strukturmotiv kommt in der Adenylatkinase einmal vor (Abb. 3a). In der Glutathionreduktase finden wir es zweimal, und zwar an den Bindungszentren für die Coenzyme NADPH und FAD (Abb. 3b). Beides sind AMP-Derivate, die an zahllosen biologischen Redox-Reaktionen beteiligt sind. Darüberhinaus wurde dieses Motiv auch in vielen anderen nukleotidbindenden Proteinen gefunden.

Die Universalität dieses Strukturmotivs zeigt uns, daß der Einfallreichtum der Natur durchaus beschränkt ist. Einmal etablierte Motive wurden immer wieder aufgegriffen, leicht abgewandelt, und dann als neue Produkte auf den Stoffwechsel-Markt gebracht oder der Entwicklung neuer Organsysteme zur Verfügung gestellt. Alle Funktionen der Milchdrüse - eine der neuesten und die erfolgreichste Entwicklung der Natur - beruhen beispielsweise auf Modifikationen älterer Proteinstrukturen.

Größere Proteine sind nach dem Baukastenprinzip aus Domänen aufgebaut.

Wie das Beispiel Glutathionreduktase in Abb. k zeigt, sind komplizierte Proteine modular konstruiert, d.h. nach einem Baukastenprinzip, in dem genormte Teile für den Aufbau unterschiedlicher Erzeugnisse verwendet werden (8). Glutathionreduktase besteht aus zwei Strukturbereichen (Domänen), die je ein Dinukleotid binden, sowie einem dritten Bereich, der das Substrat Glutathiondisulfid und die andere Untereinheit fixiert. Dieses Enzym ist also aus drei verschiedenen Baugruppen (Domänen) zusammengesetzt worden, die jeweils spezifische Teilfunktionen für die Katalyse mitbringen. Das Baukastenprinzip hat sich bei einer Reihe anderer Proteine bestätigt (7).

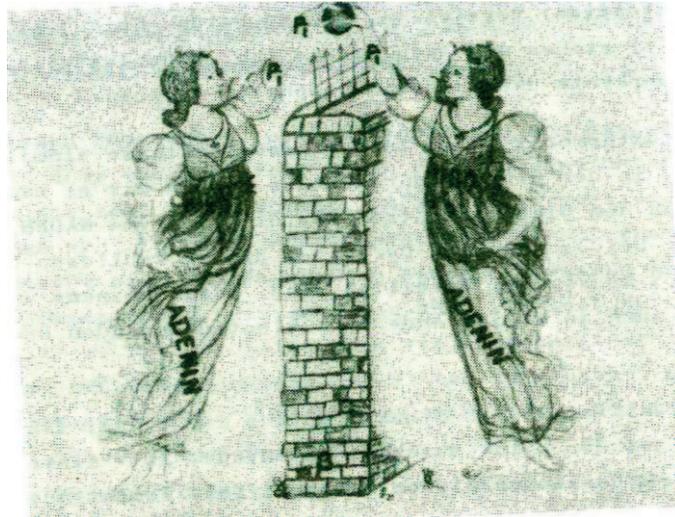


Abb. 3a:
Darstellung der Bindung der Nukleotide ATP (links) und AMP (rechts) in der Adenylatkinase. Die Phosphorylgruppe wird über ein β -Faltblatt gereicht.

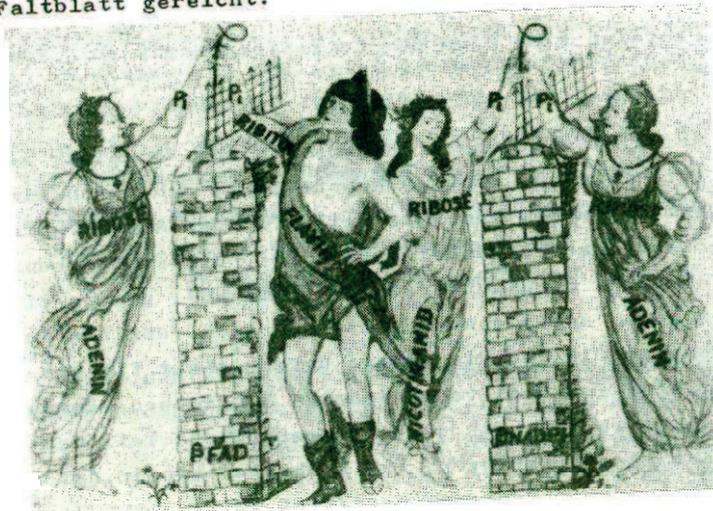


Abb. 3b:
Die Bindung der Dinucleotide FAD und NADP in der Glutathionreduktase kann auf die gleiche Weise dargestellt werden wie oben bei der Adenylatkinase.

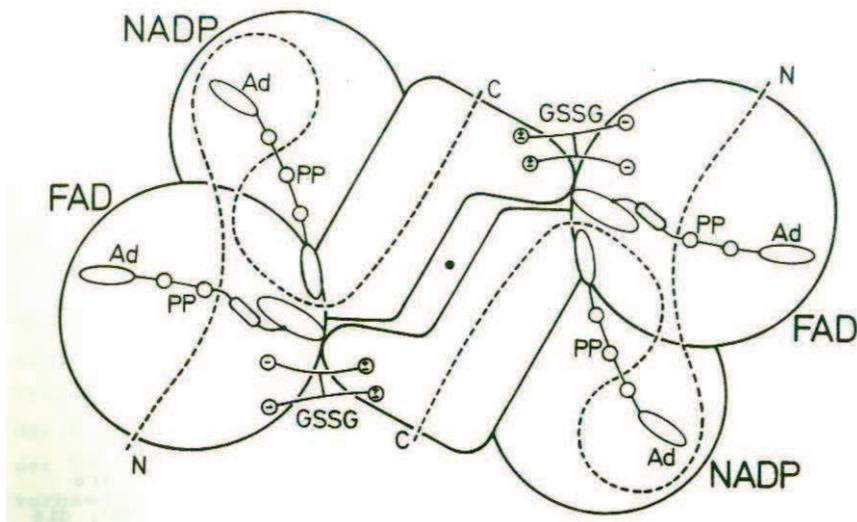


Abb. k:

Domänenstruktur der Glutathionreduktase. Das Enzym ist ein Dimer aus identischen Untereinheiten. Der Verlauf der Polypeptidkette von N nach C ist gestrichelt dargestellt. Jede Untereinheit des Moleküls unterteilt sich in 3 Domänen, eine davon bindet FAD, die zweite NADPH und die dritte oxidiertes Glutathion (GSSG) sowie andere Untereinheit.

Synthetische und defekte Proteine sind zwar vielseitig, jedoch in situ unbrauchbar.

Nachdem wir die Nukleotidbindung an Proteine besprochen haben, sollten wir den komplementären Befund betrachten: Nukleotide wie ATP werden von vielen Proteinen nicht gebunden. Ein geordneter Metabolismus wäre wahrscheinlich unmöglich, wenn es unspezifische Bindungsstellen an Proteinen für Nukleotide und andere Metaboliten gäbe. Tatsächlich verhält sich die Oberfläche eines Proteins wie die abweisende Felsenküste einer Insel, die durch die Einfahrt zu einem Hafen unterbrochen ist; in diesem Hafen können nur Schiffe mit bestimmten Charakteristika festmachen.

Die Schaffung starrer Proteine, deren Oberfläche nur mit dem physiologischen Lösungsmittel in Wechselwirkung treten, war eine besondere Leistung der Evolution. Das ergibt sich aus der Analyse von synthetischen Polypeptiden. Solche Pseudoproteine binden fast alle anorganischen und organischen Bestandteile der Zelle und katalysieren überraschend viele biochemische Reaktionen (9). Die synthetischen Polypeptide haben im Gegensatz zu den natürlichen Proteinen keine feste Struktur mit abweisenden Oberflächen. Dies gilt wahrscheinlich auch für einige defekte Proteine in situ (10).

Eigenschaften von Domänen - eine Zwischenbilanz

1. Bei der Betrachtung eines Proteins sind Domänen globuläre Strukturen mit Molekulargewichten von 10 000 bis 20 000, die von anderen Domänen abgrenzbar sind.
 2. Charakterisiert ist eine Domäne durch ihre innere Struktur, den geometrisch charakteristischen Verlauf der Hauptkette. Eine Domäne kann also verschiedene Sequenzen und Funktionen repräsentieren.
 3. Die Anzahl verschiedener Domänen in der Natur ist begrenzt. Komplizierte Proteine sind nach dem Baukastenprinzip aus mehreren Domänen aufgebaut. Dabei liegen in der Regel die einzelnen Domänen hintereinander entlang der Polypeptidkette (Abb. 4).
- k. Eine Domäne ist eine definierte und feste Struktur, die sich innerhalb biologisch sinnvoller Zeit, also innerhalb von Sekunden bis Minuten, spontan aus einer neu synthetisierten ungeordneten Polypeptidkette bilden kann. Betrachtet man eine Domäne als Ergebnis eines bestimmten einzigartigen Faltungsprozesses, so werden ihre Eigenschaften plausibel - beispielweise
- ihre Verwendung als normierte Baueinheit, denn geeignete Kettenfaltungen waren unwahrscheinliche und deshalb vielfach genutzte Entdeckungen

- ihre Größe und ihre innere Organisation, denn für einen effektiven Faltungsweg ist es günstig, daß benachbarte Abschnitte der Kette auch in der fertigen Struktur benachbart liegen.

Domänen in transepithelialen, extrazellulären und intrazellulären Proteinstrukturen.

Ob Domänen in einem funktionellen Protein kovalent verbunden sind, hängt von der Funktion und Lokalisation des Proteins ab. Transepitheliale Proteine wie z.B. Enzyme in Sekreten sind in der Regel klein und bestehen aus einer oder zwei Domänen. Bei der Ungewißheit ihres Schicksals ist es am effektivsten, das vorhandene Material auf möglichst viele unabhängige Einheiten zu verteilen. Extrazelluläre Proteine wie z.B. das Serumalbumin und die Immunglobuline sind Gebilde mit vielen Domänen entlang einer Polypeptidkette. Dadurch sind die Moleküle groß und gehen nicht durch Filtration in der Niere verloren. Intrazelluläre Proteine wie das Hämoglobin bestehen in der Regel aus mehreren identischen Untereinheiten, die nicht kovalent verbunden sind. Jede Untereinheit kann aus einer oder mehreren Domänen bestehen. Einer der vielen Vorteile des Aufbaus aus Untereinheiten - die Ermöglichung rascher Reparaturen - wird weiter unten besprochen.

Was kann die praktische Medizin von der Proteinstrukturforschung erwarten?

Diese Frage soll in vier Punkten erörtert werden.

Aufklärung biologischer und pharmakologischer Reaktionen.

Wie notwendig die detaillierte Kenntnis von Proteinstrukturen für das Verständnis lebenswichtiger Funktionen ist, zeigen die Beispiele des Hämoglobins und der Immunglobuline (1,2). Es ist auch plausibel, daß Einsichten über die Wechselwirkung von Medikamenten und Proteinen erst zu erwarten sind, wenn man die Anordnung einzelner Atome zueinander kennt.

Übertragung von Erkenntnissen auf schwer zugängliche Systeme. Diesen Punkt möchten wir am Beispiel der sogenannten Serinproteasen (Tab. 1) erörtern. Die Mitglieder dieses Klans sind einander sehr ähnlich; die meisten Ergebnisse, die für die Verdauungsenzyme Trypsin und Chymotrypsin gewonnen wurden, gelten auch für deren Verwandte, die beispielsweise bei der chronischen Bronchitis oder bei der Befruchtung der Eizelle eine wesentliche Rolle spielen. So ist es verständlich, daß Wissenschaftler, die sich bisher intensiv mit der Hemmung von Verdauungsenzymen beschäftigten, plötzlich kompetente Vorschläge zur (vorbeugenden) Behandlung des Lungenemphysems machen. Was unsere eigenen Arbeiten über nukleotidbindende Proteine betrifft, so hoffen wir, daß die Ergebnisse auf nicht kristallisierbare Proteine, beispielsweise Membran-ATPasen anwendbar sind.

Einsichten über Nebenwirkungen von Medikamenten.

Bei der Strukturaufklärung der Adenylatkinase zeigte sich, daß dieses Enzym eines der Zielmoleküle des Aspirins ist. Es fixiert Salizylat, das aktive Prinzip des Aspirins, im Adenosinbereich der ATP-Bindungsstelle (Abb. 5) Eine entsprechende Position des Salizylats fand man auch in anderen nukleotidbindenden Enzymen. Keines dieser Enzyme ist jedoch das therapeutisch erwünschte Ziel des Medikaments. Hier zeigte also die Strukturanalyse, daß Aspirin Adenosin-Bindungsstellen blockiert. Da es, wie oben besprochen, sehr viele dieser Bindungsstellen gibt, muß dieses Pharmakon erhebliche Nebenwirkungen haben. Erst wenn die Struktur des eigentlichen Zielmoleküls bekannt ist, kann man Salizylat maßgerecht verändern und seine Nebenwirkungen unterdrücken.

Wenn einander sehr ähnliche Proteine in ganz unterschiedlichen Organsystemen oder verschiedenen Organismen existieren, ist zu erwarten, daß wirksame Medikamente in der Regel auch Nebenwirkungen haben. Noch einmal sollen die Serinproteasen als Beispiel dienen. Bei der akuten Bauchspeicheldriisenentzündung werden Verdauungsenzyme wie das Trypsin am falschen Ort zur falschen Zeit aktiv und haben verheerende Wirkungen. Obwohl man

extrem wirksame Mittel gegen das Trypsin kennt, ist deren therapeutischer Einsatz problematisch; sie hemmen auch andere Serinproteasen und können zu schwer kontrollierbaren Komplikationen führen.

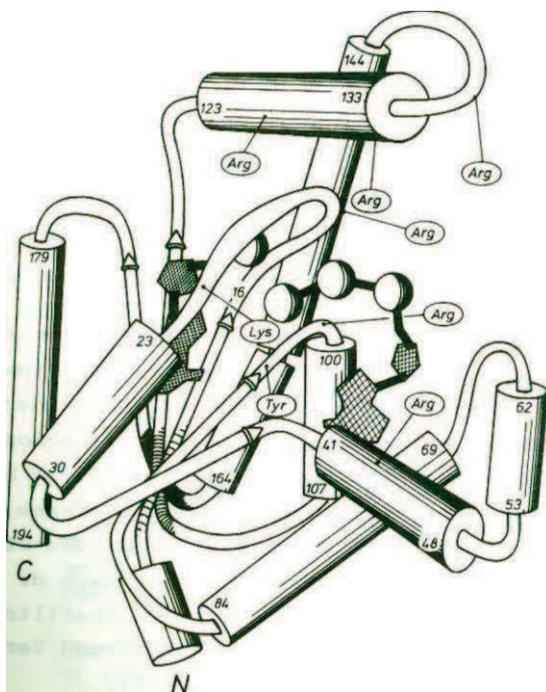


Abb. 5:

Skizze des Kettenverlaufs und der Nukleotidbindung in der Adenylatkinase. Die Zylinder repräsentieren α -Helices. Das Falblatt ist durch Pfeile markiert. Einige wesentliche Aminosäureseitenketten sind angegeben. Die Bindungspositionen der Nukleotide AMP (links) und ATP befinden sich auf je einer Seite des Falblattes. Dieses Bild verdeutlicht die Abbildungen 1 bis 3.

Umfassende und dennoch überschaubare Erkenntnisse über die meisten Proteine der belebten Natur.

Proteine, die in Bakterien, Menschen und Pflanzen wirken, haben dieselben Vorfahren und sind deshalb einander ähnlich. Man darf also annehmen, daß ein umfassendes Wissen über die Proteine der belebten Natur erreichbar ist. Vor 10 Jahren war die Fülle der Lebenserscheinungen auf dem Proteinniveau einem faszinierenden Dschungel vergleichbar, ebenso unendlich wie undurchdringlich. Man schätzte, daß es eine milliarde grundsätzlich verschiedener Proteine gebe. Heute weiß man, daß es nur 100 bis 500 sind und vergleicht die Gesamtheit der Proteinstrukturen mit den etwa 100 - 500 Skulpturen einer Ausstellung, die man an einem intensiven kulturellen Tag durchaus bewältigen kann.

Proteinchemische Aspekte der Zytoplasmatischen Therapie

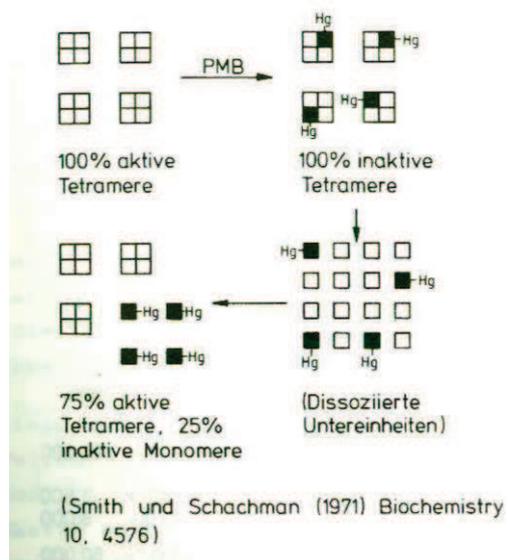
Nach dieser Einführung in die Proteinstrukturen möchten wir auf Wechselwirkungen zwischen Proteinchemie und zytoplasmatischer Therapie eingehen. Gemäß den Grundkonzepten der zytoplasmatischen Therapie können Makromoleküle aus heterologen Organismen defekte oder fehlende Makromoleküle im kranken menschlichen Organismus gezielt ersetzen. Aus diesem Grundkonzept ergeben sich zahlreiche neue Aufgaben für die Biochemie. Davon sollten beide Seiten profitieren, denn nach de DUVE war es schon immer erfolgreich, wenn eine wissenschaftliche Disziplin die Gesamtheit ihrer Methoden, Ergebnisse und Vorurteile auf einen anderen Problemkreis überträgt (15).

Defektheilungen in vitro

Im Labor kann man Defektheilungen demonstrieren. Ein bekanntes Beispiel stammt von SMITH und SCHACHMANN (11). Sie ließen auf Glyzerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase, ein wichtiges Enzym der Glykolyse - soviel quecksilberhaltiges Reagens einwirken, daß die Enzymaktivität von 100 % gerade auf Null absank. Nach einer Stunde betrug die Enzymaktivität jedoch wieder etwa 75 % der Ausgangsaktivität. Analysen ergaben folgende Erklärung. ^{Fi B}

aktives Enzymmolekül besteht aus k Untereinheiten. Je eine Untereinheit war durch die Quecksilberverbindung vergiftet worden, was zur Folge hatte, daß das ganze Tetramer inaktiv war. Dissoziation der Untereinheiten (Abb. 6) und Reassoziierung der intakten Untereinheiten ergab nach einer Stunde einen Zustand, in dem 75 % der Untereinheiten in Form funktionstüchtiger Tetramere vorlagen und 25 % in Form quecksilberhaltiger defekter Monomere.

„Selbstheilung“ eines tetrameren Enzyms nach Vergiftung mit quecksilberhaltigem PMB



"Selbstheilung" eines tetrameren Enzyms (11) nach Vergiftung mit quecksilberhaltigem PMB.

Vorbeugung *in situ*

Defektheilungen *in situ* sind vor allem bei großen komplexen Funktionseinheiten, z.B. Ribosomen oder Myofibrillen, nötig und möglich. Nötig sind sie, weil Fehler vor, bei und nach der Proteinbiosynthese unvermeidbar sind. Möglich sind die Heilungen molekularer Defekte, weil der Proteinanteil großer Funktionsein-

heiten nicht aus einem Stück, sondern nach dem Baukastenprinzip aus vielen Bauelementen besteht, die ausgetauscht werden können. Wie in Tab. 2 aufgeführt, besteht das einfachste kontraktile System - wie es vermutlich im glatten Muskel vorliegt- beispielsweise aus 450 000 Aminosäureresten. In der Perisyntheseperiode, also bei oder nach der Bildung der Polypeptidkette, schleicht sich auf etwa je 3000 Aminosäurereste ein Fehler ein, der das System funktionsunfähig macht. Die Wahrscheinlichkeit, daß eine einzige richtige Kette mit 450 000 Gliedern synthetisiert wird, ist unendlich klein, nämlich $e^{-2150000/3000} = 10^{-65}$. Tatsächlich besteht das System aber aus etwa 1200 Einzelproteinen, die sich spontan zur Funktionseinheit zusammenfinden. Bei einer durchschnittlichen Kettenlänge von 350 Gliedern und einem deletären Fehler pro 3000 Kettenglieder sind 90 % der Ketten, der Bauelemente, in Ordnung. Synthetisiert die Zelle also etwa 3° % mehr Ketten wie eine hypothetische fehlerfrei arbeitende Maschine, so gibt es mehr als genug Ketten für die Bildung der Kontraktilen Struktur und den Ersatz defekter Teile.

Der molekulare Bewegungsapparat

Strukturen	Anzahl der Proteinmonomere	Anzahl der Aminosäurereste
2 Aktinfilamente	$2 \times 2 \times 175 = 700$	$700 \times 400 = 280\,000$
2 Myosinmoleküle	$2 \times 4 \text{ LC} = 8$ $+ 2 \times 2 \text{ HC} = 4$	$8 \times 200 = 1\,600$ $U \gg 2000 = 8.000$
Tropomyosinkabel	$2 \times 2 \times 2 \times 25 = 200$	$200 \times 300 = 60\,000$
Troponinkomplexe	$2 \times 2 \times 3 \times 25 = 300$	$300 \times 250 = 75.000$
α -Aktinin, Kinasen, Phosphatasen +FAPS	$\gg 50$	25.000
	<u>≈ 1260</u>	<u>$\ll 250\,000$ entspr $e^{-450.10^{-200}} \%$</u>

Durchschnittliche Kettenlänge 350 Aminosäurereste . d h
 $e^{-300000} = e^{-0.75} = 70\% \text{ richtige Ketten}$

Richtigen

Tab. 2

Defektheilung durch heterologe Proteine.

Kontraktile Systeme sind übrigens ein Musterbeispiel dafür, daß sich *in vitro* aus heterologen Proteinen durch spontane Aggregation (seifensammlung) eine funktionsfähige Einheit bilden kann. Es ist auch möglich, in einem homologen Kontraktionsapparat funktionelle Defekte, z.B. den Verlust der Regulierbarkeit durch Ca^{++} -Ionen, durch Zugabe heterologer Proteine zu beheben. Die Wirksamkeit heterologer Proteine in supramolekularen Strukturen ist erklärbar. Kontaktflächen zwischen Proteinen unterliegen ähnlich strengen physiko-chemischen Gesetzmäßigkeiten wie das Innere von Proteindomänen. Deshalb verändern sich solche Kontaktflächen - im Gegensatz zu den übrigen Oberflächen der Proteine - während der Phylogenese außerordentlich langsam.

Die Domänen des Diphtherietoxins - nicht nur eine theoretische Bereicherung der zytoplasmatischen Therapie?

Das sogenannte Diphtherietoxin - dessen wirksames Prinzip auf einer nukleotidbindenden Domäne beruht - besitzt viele Eigenschaften, die für die zytoplasmatische Therapie erwünscht oder bedenkenswert sind.

Dieses Protein hat ein Molekulargewicht von 61 000 und besteht aus zwei Teilen, dem Bindungsfragment B ($M = 39\ 000$) und der aktiven Domäne A ($M_r = 22\ 000$). A und B sind durch ein Stück Polypeptidkette sowie durch eine Disulfidbrücke verbunden. Das Bindungsfragment B ist Ligand für spezifische Rezeptoren bestimmter Zellen, beispielsweise der Herzmuskelzellen. Wenn das Toxin fixiert ist, gelangt die A-Domäne durch die Zellmembran in das Zytoplasma (Abb. 7). Während dieses Vorgangs wird A durch eine Protease und durch Glutathion von B abgetrennt. B bleibt extrazellulär. Die A-Domäne ist ein Enzym, das den ADP-Ribosylrest des NAD auf einen essentiellen Faktor der Proteinbiosynthese (EF-2) überträgt. Durch diese Reaktion wird EF-2 inaktiviert; die Proteinbiosynthese der Zelle kommt innerhalb von Stunden Stillstand; innerhalb einiger Tage stirbt die Zelle.

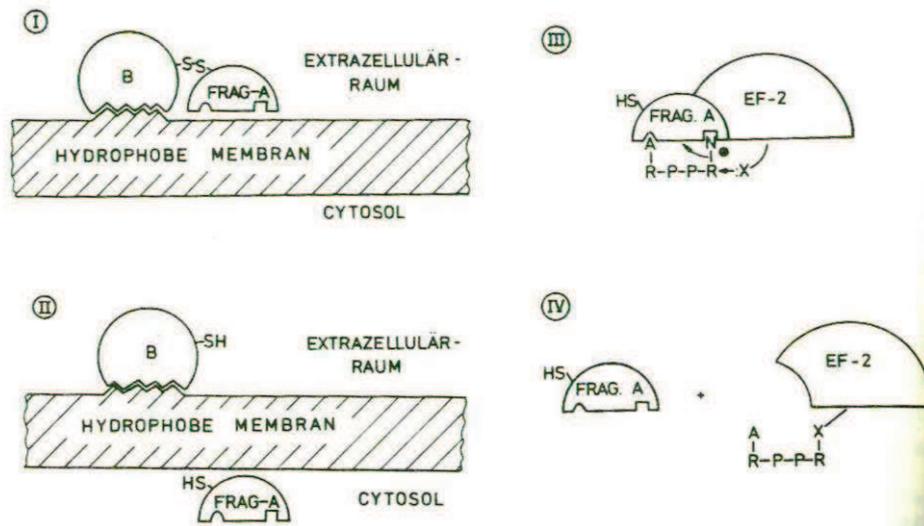


Abb. 7:

Wirkung des Diphtherietoxins auf Herzmuskel- und andere Zellen. I. Das Toxin bindet an der Zelloberfläche. II. Domäne A wird durch die Membran transportiert und dabei durch eine Protease und Glutathion abgetrennt. III. Fragment A (= Domäne A) bindet NAD und an den Faktor EF-2 der Proteinbiosynthese. IV. Die A-Domäne überträgt als Enzym den ADP-Ribosylrest des NAD auf EF-2, der dadurch inaktiviert wird.

Welche Schlußfolgerungen ergeben sich aus dieser molekularen Analyse der Toxinwirkung auf die zytoplasmatische Therapie?

1. Es gibt Mechanismen, die die Aufnahme hydrophiler Proteine vom Extrazellulärraum ins Zytoplasma ermöglichen.
2. Wenige, vielleicht sogar einzelne Proteinmoleküle können intrazellulär dramatische Wirkungen haben - im Fall der A-Domäne des Diphtherietoxins den Tod der Zelle.

3. Das Diphtherietoxin wird erst durch eine intrazelluläre Protease des Menschen zu einem giftigen Enzym gemacht. Auf makromolekularem Niveau gibt es neben den Prinzipien der Selbstheilung auch das Potential zur Selbstzerstörung der Zelle.

Dem Diphtherietoxin steht einerseits ein sicherer Mechanismus zur Einschleusung der A-Domäne zur Verfügung. Andererseits kann aber die A-Domäne auch unspezifisch in Zellen gelangen, die gar keine Rezeptoren für das B-Fragment haben, der zweite "Mechanismus" beruht auf dem gleichzeitigen Auftreten einiger unwahrscheinlicher Ereignisse, z.B. auf dem Platzen von Pinocytose-Bläschen, die zufällig (am falschen Ort zur falschen Zeit von B getrenntes) A enthalten. Trotz seiner Unwahrscheinlichkeit ist dieser Weg bei hohen Konzentrationen therapeutischer Moleküle wesentlich und muß beachtet werden.

Zelltypspezifische Therapie.

Man sollte zur Lösung theoretischer und praktischer Probleme einerseits die A-Domäne und andererseits das B-Fragment des Diphtherietoxins mit anderen Proteinen unter folgenden Gesichtspunkten kombinieren:

1. Spezifischer Ligand für einen bestimmten Zelltyp plus Diphtherie-Enzym führt zum Tod der markierten Zelle. Ein konkretes Beispiel haben MASUHO et al (12) beschrieben. Sie verknüpften über eine Disulfidbrücke einen Antikörper gegen den Leukosezellstamm L 1210 mit der A-Domäne des Diphtherietoxins. In Zellkulturen konnte gezeigt werden, daß diese Proteinchimäre wirkungsvoll arbeitet: Der Antikörperanteil markierte die Tumorzellen selektiv, das Diphtherieenzym tötete sie.

Mischung therapeutischer Makromoleküle plus spezifischer Ligand für bestimmte Zelltypen (z.B. B-Fragment des Diphtherie-enzym für Herzmuskelzellen) ermöglicht eine höhere Spezifität und Wirksamkeit der Makromoleküle. Durch Anheften der therapeutischen Proteine an Schleper-Proteine - deren Proto-

typ die ungiftige Domäne des Diphtherietoxins ist - könnte man Organspezifität und Wirksamkeit der Zellaufschlüsse steigern. Die Kopplung an Schlepper-Proteine würde außerdem verhindern, daß die oft kleinen Untereinheiten therapeutischer Proteine ($M^{\wedge} = 40\ 000$) durch die Niere ausgeschieden werden.

Da die zytoplasmatische Therapie sich mit dem Phänomen der Organotropie befaßt, könnte gerade diese Disziplin auf der Basis der einzigartigen Eigenschaften des Diphtherieenzym neue therapeutische Prinzipien entwickeln. Der augenblickliche Kenntnisstand über Proteinstrukturen gekoppelt mit den derzeitigen Möglichkeiten der Biochemie ermöglicht "lebensechte" Therapien, also Prinzipien, die so spezifisch wie die Lebensvorgänge selbst arbeiten. Die biomimetische Therapie (14) könnte die bisherigen Holzhackermethoden ersetzen, die notgedrungen eine Wüste von durch Nebenwirkungen ge- und zerschlagene Zellen hinterlassen.

Tabelle 1

Lebenswichtige und lebensbedrohliche Mitglieder des
Klans der Serinproteasen (aus Ref. 7)

Serinprotease	Ort der Tätigkeit	Kontrollierter (patho-) physiologischer Prozeß
Trypsin	Dünndarm	Verdauung von Proteinen
Thrombin	a) Blut b) Entzündete Gewebe	Blutgerinnung Abkapselung des Gebietes
Plasmin	a) Wunden b) Entzündete Gewebe	Auflösung des Fibrinprovisoriums
Akrosomale Protease des Spermatozoons	Eizelle	Befruchtung
Komponenten des Komplementsystems	Zytoplasma-Membran von Bakterien	Zerstörung fremder Zellen
	Infizierte Gewebe	Initiation von Entzündungsprozessen u.a.
Kallikrein	Blut und Gewebe	Kreislaufregulation Schmerzempfindung
H-Protease	Inselzellen der Bauchspeicheldrüse	Bildung von Insulin aus einer inaktiven Vorstufe
Leukozyten-Protease	Entzündete Gewebe	Zerstörung von Krankheitserregern und von elastischem Bindegewebe
M-Protease	Sarkom-Zellen	Tumorwachstum
D-Protease	Herzmuskel und andere Zellen	Freisetzung des giftigen Diphtherieenzym aus dem Toxin

Literatur:

1. HUBER, R.: Trends Biochem. Sci. 1, 174 - 178 (1976)
2. PERUTZ, M.F.: Brit. Med. Bull. 32, 195 - 208 (1976)
3. von ZABEN, I., B. WITTMANN-LIEBOLD, R. UNTUCHT-GRA, R.H. SCHIRMER, E.F. PAI (1976) Eur. J. Biochem. 68, 281 - 290 (1976)
4. SCHULZ, G.E., M. ELZINGA, F. MARX, R.H. SCHIRMER (1974) Nature 250, 120 - 123 (1974)
5. NEEDLEMANN, S.B.: Advanced Methods in Protein Sequence Determination, Springer-Verlag Berlin 1977
6. BLUNDELL, T.L., L.N. JOHNSON: Protein Crystallography, Academic Press, London 1976
7. SCHULZ, G.E., R.H. SCHIRMER: Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, New York 1979
8. SCHULZ, G.E., R.H. SCHIRMER, V. SACHSENHEIMER, E.F. PAI: Nature 273, 120 - 124 (1978)
9. ZUCKERKANDL, E.: J. Mol. Evol. 7, 1 - 57 (1975)
10. PERUTZ, M.F.: in Protein Folding (R. JAENICKE, ed.) 317 - 322, Elsevier-Verlag, Amsterdam 1980
11. SMITH, G.D. & H.K. SCHACHMAN: Biochemistry 10, 4576 - 4588 (1971)
12. MASUHO, Y., T. HARA & T. NOGUCHI: Biochem. Biophys. Res. Comm. 90, 320 - 326 (1979)
13. PAPPENHEIMER, A.M., in: Ann. Rev. Biochem. 46, 69 - 94 (1977)
14. THEURER, K. in: Biomimetik als Chance: Ein neues therapeutisches Prinzip (H. PORCHER & K. THEURER, eds.) 135 - 148, Enke-Verlag, Stuttgart 1980
15. DE DUVE, Ch.: Biochem. Soc. Transaction 7, 823 - 835 (1979)

Diskussion:

H. EBERHARD: Wir haben so viel über die Proteinsynthese gehört und eigentlich nichts über die Umstände, das Milieu, in dem diese Synthese stattfindet. Als praktischer Mediziner interessiert mich: Gibt es Informationen darüber, ob man beispielsweise durch entsprechend vorgegebene Wasserstoff-Ionen-Konzentrationen oder Elektrolyte, die Proteinbiosynthese steuern kann? Dabei denke ich natürlich auch an das innere Milieu im Organismus, an Bikarbonate und Sauerstoff.

R.H. SCHIRMER: Inwieweit durch Änderungen des inneren Milieus Quantität und Qualität von Proteinstrukturen geändert werden können, ist noch nicht systematisch untersucht worden. Die Frage ist u.a. deswegen so schwer zu klären, weil das innere Milieu nicht nur auf Proteinsynthese und Proteinfaltung, sondern auch auf den Proteinabbau einen starken Einfluß hat.

H. EBERHARD: Gibt es Bausteine, insbesondere Proteinbausteine, die man sowohl im Menschen als auch im Bakterium vorfindet, beispielsweise in *Escherichia coli*, einem physiologischen Bakterium im Darm des Menschen?

R.H. SCHIRMER: Die meisten Bausteine für die Synthese von Makromolekülen - beispielsweise Aminosäuren oder Nukleotide - sind in Bakterien und auch beim Menschen identisch. Es gibt viele Proteine, die im *Colibacterium* und in menschlichen Zellen dieselbe Aufgabe erfüllen mit wahrscheinlich sehr ähnlichen Strukturen. Beispiele für solche Proteine sind die Enzyme Adenylatkinase und Glutathionreduktase.

G.HARISCH: Aus meinem Fachgebiet heraus interessiert mich brennend folgende Frage: Welche Rolle messen Sie der Bildung von gemischten Disulfiden zwischen Glutathion und Enzymen zu? Sind solche gemischten Glutathion-Disulfide schon gleich nach der Ablösung des Proteins vom Ribosom denkbar, oder entstehen sie erst im Laufe etwa zirkadianer Enzymaktivitätsveränderungen? Sie wissen, verschiedene Autoren fordern dabei die Existenz einer zirkadian schwankenden Glutathionreduktaseaktivität. In aller Bescheidenheit möchte ich aber auch Kritik an Ihrer Aussage, der Einfallsreichtum der Natur sei begrenzt, anmelden. Ich glaube, er ist nicht begrenzt! Aber, es werden immer wieder gewisse, sich als praktisch erweisende Prinzipien realisiert.

R.H. SCHIRMER: Der "begrenzte Einfallsreichtum der Natur" bezog sich nur auf Proteinstrukturen; ihre schöne Formulierung der Wiederverwendung bewährter Prinzipien ist ein komplementärer Gesichtspunkt. Die Modulierung von Proteinaktivitäten durch Glutathion spielt in situ wahrscheinlich eine ebenso wichtige Rolle wie die reversible Phosphorylierung von Proteinen. Es ist durchaus denkbar, daß Glutathion schon am Ribosom an Cysteinreste eines Enzyms in statu nascendi gebunden wird. Das Schicksal dieser reversiblen Disulfidbildung hängt aber dann vom Aktivitätsmuster verschiedener Oxidoreduktasen ab. Die Frage, ob die ^hl onredUktaSe am zirkadianen Rhythmus des Glutathionsystems ^ft ist> halte ich für ungeklärt; Sie sollten Ihre inter-
P G Mt-vn ten auf diesem Gebiet fortsetzen!

durch Ki Herr SCHIRMER - Sanz am Schluß erwähnen Sie, daß
gebrach? Ung an ein Protein L 1210-Tumorzellen zum Absterben
werden konnten. War das *in vitro* oder *in vivo*?

R.H. SCHIRMER: Diese Versuche wurden in vitro an Zellkulturen durchgeführt.

H. ANGELOV: In diesem Zusammenhang spielt die zytoplasmatische Therapie, also die Substitution zellulärer Wirkstoffe, eine Rolle. Entsteht ein Defekt durch Blockade am aktiven Zentrum bestimmter Enzyme, beispielsweise durch exogene oder endogene Toxine, so werden Flavinmononukleotid (FMN) und Flavin-dinukleotid (FAD) blockiert. Dann kommt es zu einem Stau von reduziertem NADH. Dies führt letztlich zu zellulären Struktur-schäden, denn die Zelle kann nicht mehr atmen. Wenn wir die Möglichkeit haben, zytoplasmatische Präparate zuzuführen, dann muß es doch möglich sein, hier im Sinne einer Korrektur einzugreifen. Hierzu hätte ich gerne die Meinung von Herrn THEURER gehört.

K. THEURER: Die Zelle ist ein lebender Organismus. Die Selektion durch den lebenden Organismus bestimmt auch die Verwertung der zugeführten Stoffe. Ein in vitro-System ist starr. Setzen Sie hier toxische Reize, dann gibt es meist irreversible Schäden. Eine lebende Zelle hingegen wird - sofern die Noxe nicht überhand nimmt - mit einer Stresssituation fertig. Hier ist es mehr oder weniger ein Mengenproblem. Sicher spielen hier auch stimulierende und inhibierende Faktoren eine Rolle. Wir glauben, eine Methode gefunden zu haben, stimulierende und hemmende Faktoren aufgrund ihrer Bindungsfähigkeit einerseits zu DNA und andererseits zu Eiweiß, also nach dem Monod'schen Prinzip, einsetzen zu können. Danach lassen sich dereprimierte Gene durch Eiweiß, durch Repressoreiweiß blockieren; andererseits können diese Regulatoren auch wieder abgelöst werden, wodurch eine Induktion von Genorten möglich ist und damit eine Expression von Genen. Bestätigen sich diese Experimente, wäre das natürlich ein entscheidender Durchbruch auf Regulationsebene. Die Dosierung spielt natürlich eine Rolle. Wir haben in Zellkulturen gefunden, daß mit höheren Verdünnungen, von 10^4 bis 10^6 g/ml, eine biologische Hemmwirkung auf Tumorzellen oder auch auf das Immunsystem ausgeübt werden kann. (Nicht im Sinne einer toxischen Wirkung, da es sich bei den zytoplasmatischen Substanzen um keine Fremdstoffe im eigentlichen Sinne, sondern um phylogenetisch ähnliche Stoffe handelt). Immunsuppression ist letztlich auch eine Frage der Hemmwirkung über Regeulationen, die so erzielt werden kann. Auf der anderen Seite kann durch höhere Konzentrationen, von 10^{-4} bis 10^{-6} g/ml, eine Stimulation, eine Boosterung erreicht werden. Zusammenfassend möchte ich sagen: Sie benötigen relativ wenige Moleküle, um an der DNA eine Wirkung zu erzielen, denn es gibt nur wenige Genorte, die blockiert werden müssen. Wollen Sie jedoch Repressoren blockieren, um eine Induktion zu bekommen, so sind diese in der Überzahl. Sie brauchen also höhere Konzentrationen an zellulären Faktoren. Quantitative Aspekte müssen also mitberücksichtigt werden. Wegen der Domänenbildung möchte ich an Herrn SCHIRMER noch eine Frage stellen. Man weiß heute, daß in eukaryonten Systemen die DNA gesplittert ist. Das bedeutet: Viele Gene sind unterteilt, und diese Abschnitte können verschieden kombiniert werden. Sind diese Unterteilungen auf Gen-Ebene nun identisch mit der Information für ebensolche Domänen?

R.H. SCHIRMER: Ihre Frage - eine der aktuellsten in der Molekularbiologie - ist noch offen. Bei den Immunglobulinen spricht dafür, daß Proteindomänen als Einheiten in der DNA codiert sind bei den Hämoglobinen und beim Lysozym dagegen hat man nur Hinweise auf Korrelationen zwischen Codierungseinheiten innerhalb eines Gens Elementen der Proteinstruktur gefunden. Zu den von Herrn THEURER genannten Zahlen möchte ich anmerken, daß 10^{-9} g Protein pro ml etwa 10^{10} Proteinmolekülen pro ml entspricht. Auch wenn es sich um eine Mischung sehr verschiedener Proteine handelt, ist 10^{10} eine beachtliche Zahl; denn für bestimmte Proteine gilt, daß schon ein einziges Molekül das Verhalten einer ganzen Zelle ändern kann.

Über die biologische Bedeutung der "ultraschwachen"
Photonenemission (PE) aus Lebewesen

F.A. POPP, H. KLIMA*, B. RUTH

Flörsheim und *Atominstitut der
Österreichischen Universitäten
Wien

Einführung

Tierische und pflanzliche Zellverbände senden Lichtwellen aus. Die Gesamtintensität in der Größenordnung einiger weniger bis ² etwa hundert Photonen pro Sekunde und pro cm Austrittsfläche im Spektralbereich von ca. 1.000 nm (Infrarot) bis mindestens 200 nm (Ultraviolett) können mit modernen Lichtmeßverfahren (z. B. Photomultiplier mit "Look-in"-Technik) nachgewiesen werden.

MAMEDOV und Mitarb. (1) stellten nach systematischen Untersuchungen an über 90 Arten fest, daß diese "ultraschwache" Photonemission, die wir im weiteren mit PE abkürzen, mit zunehmender Entwicklungsstufe der Lebewesen ausgeprägter erscheint. Zusammenhänge zur gewöhnlichen Lumineszenz lassen sich nicht erkennen.

Kürzlich erschien eine Übersicht der bisherigen Ergebnisse (2, 19). Obwohl die Existenz der PE heute nicht mehr ernsthaft bezweifelt wird, herrscht über die Quelle(n) und die biologische Bedeutung dieser Erscheinung nach wie vor völlige Unklarheit. In diesem Beitrag wollen wir die mögliche Bedeutung der PE für das Zellgeschehen, wie sie sich heute darstellt, diskutieren.

Zur Einführung betrachten wir einen Effekt, der schon allein belegt, daß es sich bei der PE nicht um Photonen aus "toter" Materie, bakteriellen Verunreinigungen oder chaotischen Prozessen im Zellstoffwechsel handeln kann.

Nachweis antagonistischer Effekte

Aufbau und Funktion unserer Meßanordnung wurden ausführlich und wiederholt beschrieben (2, 3, 4, 19) - Wir können die PE sowohl mit Filtern spektral auflösen als auch die totale Intensität im Ansprechbereich des Multipliers (Typ EMI 9558 QB mit S-20-Q-Kathode, Durchmesser 44 mm) messen. Dabei entsprechen der Zählrate (CR = Count rate) von 100 cps (counts per second) etwa eintausend Photonen pro Sekunde.

Da Zellverbände Licht speichern können (2,5) geht die PE im allgemeinen zunächst zurück, wenn die biologisch aktive Probe in den dunklen Meßraum gebracht wird. Nach Abklingzeiten in der Größenordnung von einigen zehn Minuten stellt sich in der Regel ein quasistationärer Zustand mit relativ konstanter Lichtemission ein.

Abb.1 zeigt den zeitlichen Verlauf der PE von zwanzig Weizenkeimen, denen nach einer Stunde Aufenthalt im Meßraum lichtdicht eine wäßrige Lösung Actinomycin D zugesetzt wird. Die Kurve ist typisch für metabolische Inhibitoren, wie wir an weiteren Beispielen (Heparin, SDS (=sodium dodecyl sulfat), Phenylquecksilberacetat, Chloramphenicol, Ethidiumbromid, Kochsalz) zeigen könnten. Zunächst erfolgt, eventuell nach einer spontanen Fluktuation, ein starker Abfall der PE. Bei geringerer Intensität bleibt die Emission im allgemeinen über längere Zeit, hier über mehrere Stunden, relativ stabil. Sechs Stunden nach Zugabe von Actinomycin D erkennen wir an diesem Beispiel einen plötzlichen Anstieg der PE um das Vierfache. Daran beteiligen sich fast gleichzeitig alle Keime so, als ob sie untereinander kommunizieren würden. Dieser Effekt tritt mehr oder weniger deutlich in allen Fällen auf. Nach dem Maximum der Emission nimmt die PE nahezu exponentiell bis zum völligen Verschwinden, dem Tod der Keime, ab.

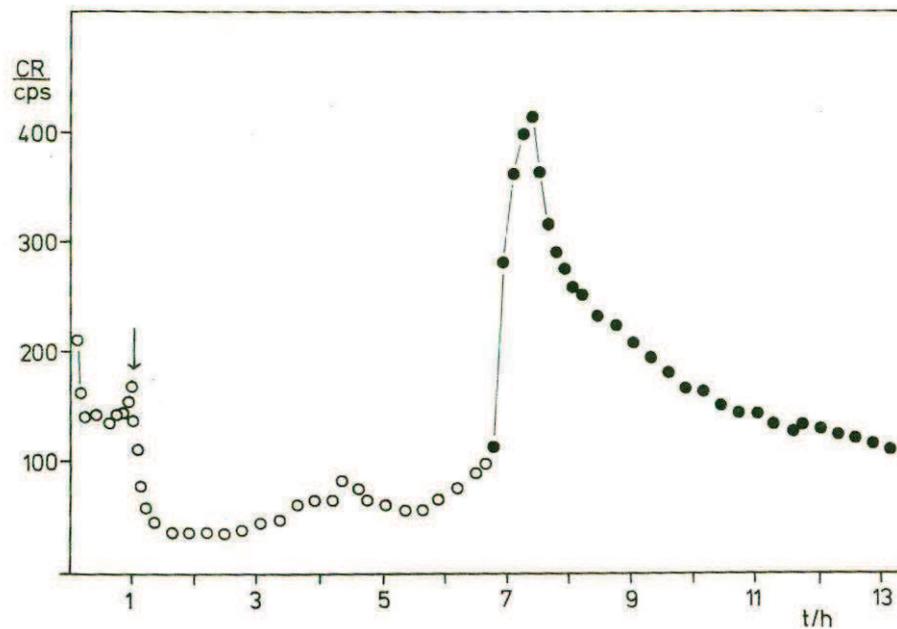


Abb. 1:

Etwa 20 Weizenkeimen wird nach einer Stunde Aufenthalt im Meßraum eine gesättigte, wässrige Lösung Actinomycin D zugesetzt. Der Abfall der PE-Intensität zu Beginn der Messung läßt sich auf die Lichtspeicherung der Keime im Hellen zurückführen. Nach Einbringen in den Dunkelraum geben sie verstärkt Photonen ab. Die Zählrate ("Count Rate" CR) wird in cps ("counts per second") angegeben. Mit dem Faktor 10 multipliziert, erhält man daraus etwa die Zahl der Photonen pro Sekunde, die der Photomultiplier registriert.

Nach Zugabe von Actinomycin D fällt die Zählrate auf einen sehr niedrigen Wert, der über längere Zeit relativ stabil bleibt. Nach etwa sechs Stunden beobachtet man eine für alle Keime nahezu gleichzeitig auftretende Strahleneruption, die danach bis zum Verschwinden, dem Tod der Keime, quasi exponentiell abfällt.

Diesen Effekt können wir dazu nutzen, um zum Beispiel Gegengifte zu Zellgiften gezielt und ohne den üblichen Aufwand der herkömmlichen Methoden zu ermitteln. Abb. 2 verdeutlicht dies am Fall einer Heparin-Vergiftung. Die obere Kurve zeigt die Strahleneruptionen von Weizenkeimen nach Zugabe von Heparin (1 mg/ml). Hier schaukeln sich die Fluktuationen der PE zu immer höheren Werten auf, bis nach etwa zwölf Stunden der ständige Rückgang bis zum Zelltod einsetzt. Wird dagegen ca. 30 Minuten nach Zugabe der gleichen Heparindosis der bekannte Antagonist Protamin hinzugefügt, geht nach einer spontanen Erhöhung der PE die Intensität sofort in den Verlauf normaler Keime über, ein Zeichen für die Wirksamkeit des Gegengiftes. Durch Variationen der verschiedenen Dosierungs- und Fraktionierungsmöglichkeiten läßt sich eine gezielte Optimierung der antagonistischen Wirkung erreichen. Am Beispiel von Chloramphenicol konnten wir belegen, daß sich die Reversibilität der Wirkungen nicht toxischer Inhibitoren erwartungsgemäß im selbsttätigen Übergang der PE in den Verlauf normaler Keime bestätigt. Darüberhinaus ließen sich die Qualityfaktoren verschiedener Strahlenqualitäten von Alpha-, Beta-, Gammastrahlen und Neutronen aus dem Anstieg der PE nach Wechselwirkung mit sehr schwachen Dosen ermitteln (6).

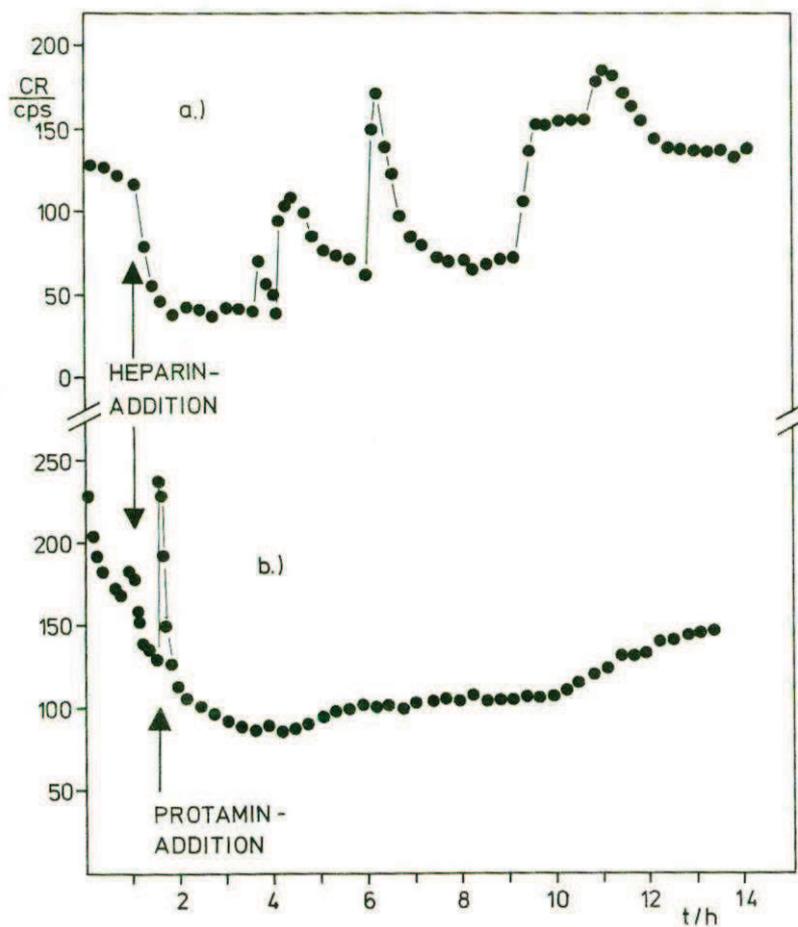


Abb. 2:

Im gleichen Experiment wie nach Abb. 1 wird anstelle von Actinomycin D Heparin (1 mg/ml) verwendet. Nun beobachtet man nach dem Absinken der PE länger anhaltende Fluktuationen, die sich mehr und mehr aufschaukeln, bis nach etwa 12 Stunden der Tod der Keime einsetzt. Dieser Effekt läßt sich völlig aufheben durch den bekannten Antagonisten Protamin, wie die untere der beiden Kurven zeigt. Die PE kann folglich als Indikator zur Ermittlung von Zell-Gegengiften verwendet werden.

Temperaturabhängigkeit

Als ein wesentlicher Indikator für die biologische Bedeutung der PE kann ihre Temperaturabhängigkeit betrachtet werden. Abb. 3 stellt den zeitlichen Verlauf der PE von Gurkenkeimen dar, die im Meßraum entweder sechs Stunden (obere Kurve) oder knapp zwei Stunden (untere Abb.) auf der Temperatur $t = 19^\circ \text{C}$ gehalten wurden, bevor die Temperatur innerhalb einer Stunde auf einen höheren Wert (30, 35 und 40°C) gebracht und stabilisiert wurde. Die Kurven normierten wir bei den verschiedenen Proben auf den gleichen Anfangswert der Intensität nach zwei Stunden Aufenthalt im Meßraum. Der notwendige Skalenfaktor lag nicht weit von 1 entfernt, so daß wir - um Verwirrungen zu vermeiden - auf seine exakte Berücksichtigung in der Graphik verzichten können. Die Kurven belegen jedenfalls, daß die PE den gleichen typischen Verlauf in Abhängigkeit von der Temperatur zeigt, wie er anderen physiologischen Funktionen (Sauerstoffutilisation und vielen weiteren metabolischen Prozessen (7)) eigen ist. Zunächst beobachtet man den deutlichen Anstieg der PE mit dem Anwachsen der Temperatur. Die Emission geht danach trotz höherer Temperaturwerte ganz oder auch teilweise auf die Ausgangsintensitäten zurück. Die Relaxationszeiten bewegen sich in der Größenordnung von Stunden. Daß dabei Gedächtnisfunktionen eine Rolle spielen könnten, läßt sich aus dem stark unterschiedlichen Verlauf der PE für die verschiedenen Aufenthaltszeiten bei der Ausgangstemperatur entnehmen. SLAWINSKI und Mitarb. (8) konnten mit Hilfe von Hysteresekurven der PE bei zyklischer Temperaturvariation ähnliches feststellen. Auf jeden Fall belegt die Temperaturabhängigkeit der PE, daß es sich nicht um chaotische Chemilumineszenzen ("Imperfections" (9)) handeln kann. Vielmehr ist die PE entweder ein Produkt physiologischer Prozesse oder/und die PE selbst steuert biochemische Reaktionen, ein Standpunkt, der aufgrund weiterer Charakteristika der PE von uns vorgeschlagen und vertreten wird (2, 5i 10).

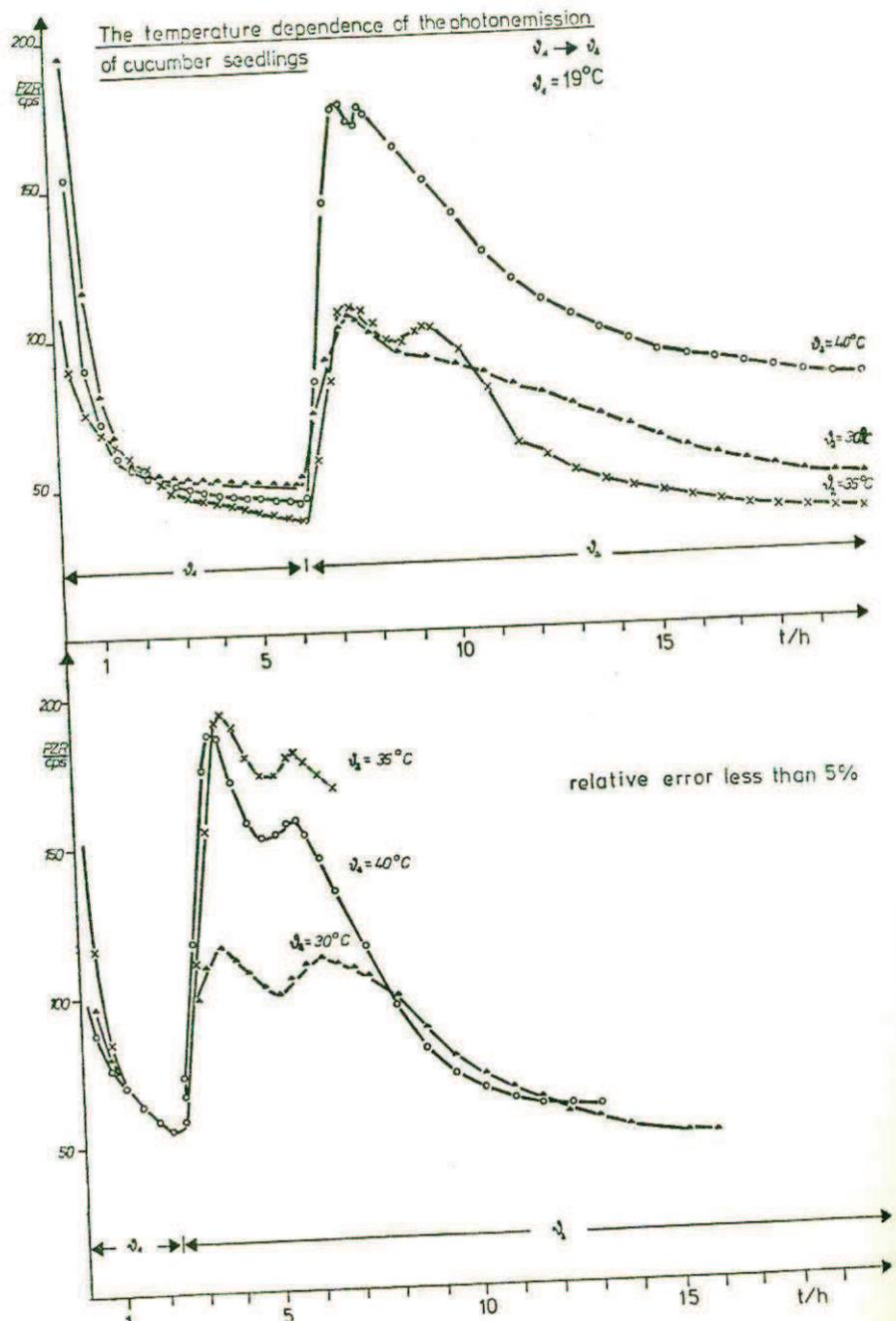


Abb. 3

Abb. 3:

Gurkenkeime werden über längere Zeit - sechs Stunden in der Abb. oben, etwa zwei Stunden in der Abb. unten - auf der niedrigen Temperatur $t = 19^{\circ} \text{C}$ im Meßraum gehalten. Anschließend wird die Temperatur auf verschiedene Werte t (30, 35 und 40°C) erhöht. Die PE steigt zunächst deutlich mit der Temperatur an, um anschließend trotz erhöhter Temperatur der Umgebung den Ausgangswert anzustreben. Ähnliche Charakteristiken haben viele andere physiologische Funktionen. Das unterschiedliche Verhalten bei unterschiedlicher Aufenthaltsdauer im Meßraum bei der niedrigen Temperatur t deutet Gedächtnisfunktionen an. Die Kurven sind auf gleiche PE-Intensitäten nach zwei Stunden Aufenthalt im Meßraum normiert.

In jüngster Zeit findet man auch in russischen Arbeiten dieses Fachgebietes die Auffassung, daß die PE Steuer- und Kommunikationsfunktionen hat (11, 12). Ungeachtet ihres Ursprungs kann die PE jedenfalls als empfindlicher Indikator für das biologische Geschehen gelten, wobei noch weiter zu prüfen ist, welche Funktionen einbezogen sind. Wir konnten bisher kein Agens ausmachen, das die PE nachweislich nicht in typischer Weise beeinflusst.

Der spektrale Verlauf

Wesentliche Aussagen über die biologische Bedeutung der PE gewinnt man aus dem Spektrum. In früheren Arbeiten (2, 10, 13) wurde gezeigt, daß von etwa 800 nm bis 200 nm verschiedene Resonanzen auftreten, die selbst dann, wenn die Probe mit starken Zellgiften, z. B. Aceton, abgetötet wird, stabil bleiben können, obwohl sich die Intensität unter dieser Behandlung bis zum Faktor 1000 erhöht. Bisher wurde kein Pigment-system mit dem gleichen Wirkungsspektrum gefunden. Wir interpretieren die Resonanzen als Hohlraumresonatorwellen der DNA (2, 14). Berücksichtigt man die unvermeidlichen Meßunsicherheiten und die heutige Unkenntnis der genauen Strukturen der DNA, insbesondere ihrer Superstrukturen, dann läßt sich ohne weiteres aus dem DNA-Speichermodell die quantitative Beschreibung der bekannten Charakteristika der PE liefern (2,14,15).

Diese Hypothese wurde 1979 zusätzlich von unserer Marburger Arbeitsgruppe gestützt, als wir bei menschlichen Erythrozyten, die im Gegensatz zu allen anderen bisher untersuchten Zellen keine DNA enthalten, auch keine PE finden konnten, weder im unbehandelten Zustand noch nach Abtöten mit verschiedenen Zellgiften. Leider ließen sich Kontrollversuche mit Hühnererythrozyten nicht mehr durchführen.

Das Spektrum liefert ferner den fundamentalen Hinweis, daß sich biologische Systeme "weit weg" vom thermischen Gleichgewicht, im zeitlichen Mittel an einer Phasengrenze zwischen chaotischem und kohärentem Regime aufhalten, bei der ihre PE ein Photonenfeld mit einer Vielfalt gekoppelter Moden um die Laserschwelle herum charakterisiert (2, 10, 16). Da besonders dieser Aspekt für "pattern recognition" (Mustererkennung) im Zellverband - so bei der Immunabwehr, Reparaturvorgängen, Gedächtnisfunktionen - von grundlegender Bedeutung ist, bemühten wir uns in letzter Zeit vorwiegend um die experimentelle Prüfung der Kohärenz der PE.

Photonenzählstatistik ("Photon-Count Statistics" PCS)

Die Grundlagen der PCS-Theorie sind zum Beispiel in (17) beschrieben. Unter PCS-Experimenten versteht man die Messung der Häufigkeit $H(n,t)$, mit der in einem vorgegebenen Meßzeitintervall t - das in unseren Experimenten in der Größenordnung einiger hundert Millisekunden vorgewählt werden kann - eine bestimmte Photonenzahl n mit $n = 0, 1, 2, \dots$ registriert wird.

Hier sollen die einfachsten Begriffe in stark vereinfachter Form aufgeführt werden, um das Anliegen verständlich zu machen.

Die Wahrscheinlichkeitsverteilung $p(n,t)$, n Photonen im Meßzeitintervall t anzutreffen, erhält man einfach nach (I) aus den Häufigkeiten und der Gesamtzahl N der bei der Messung registrierten Photonen.

$$p(n, t) = \frac{H(n, t)}{N} \quad (11)$$

Die Verteilung $p(n,t)$ erlaubt wertvolle Rückschlüsse auf den Informationswert der Strahlung im biologischen System. Im Fall einer chaotischen Quelle ohne Information, wie sie beispielsweise vom schwarzen Strahler bei einer festen Temperatur repräsentiert wird, gilt für eine Mode Bez. (II), wobei m^{\wedge} als Mittelwert der registrierten Zahl chaotischer Photonen im Meßzeitintervall t definiert ist.

Im Gegensatz zu dieser chaotischen "BOSE-EINSTEIN"-Quelle folgt kohärentes Licht (z. B. der ideale Laser) einer Poissonstatistik nach (III) mit m_c als Mittelwert der Zahl kohärenter Photonen im Zeitintervall t .

$$p(n,t) = \frac{(m_c)^n \cdot \exp(-m_c)}{n!} \quad (\text{III})$$

Die Überlagerung beider Quellen liefert (IV) mit $m = m^{\wedge} + m_c^{\wedge}$ als Mittelwert der Messung.

mit L^{\wedge} : Laguerrepolynom n -ter Ordnung.

Wir analysierten die PE nach diesen Beziehungen unter Berücksichtigung mehrerer Freiheitsgrade M , der Zahl voneinander unabhängiger Lichtquellen im Meßzeitintervall t . Zu diesem Zweck wird m durch M unabhängige Terrae der Einzelintensitäten (m_{ch} / M) substituiert. M darf den Mittelwert m_{ch} , nicht signifikant überschreiten, da ein einzelnes Photon im Extremfall höchstens von einer Lichtquelle herrühren kann, die unabhängig von allen anderen Quellen ist. So erhält man die Möglichkeit, ohne explizite Kenntnis von M den kohärenten Teil der Strahlung nach unten abzuschätzen aus dem Maß,

um das M die Zahl m_{ch} überschreiten muß, falls man von der Annahme ausgeht, es handele sich um rein chaotisches Licht. Ein bequemes Kriterium dafür ist neben den faktoriellen Momenten, die wir zusätzlich untersuchen, der sogenannte "Entartungsparameter" & nach (V), mit σ^2 als Varianz der gemessenen Photonenzahl im Intervall t .

Für chaotisches Licht erhalten wir unter den vereinfachenden Annahmen stets einen Wert über 1. Mit zunehmender Kohärenz der Strahlung nimmt & bei gleichbleibender Zahl der Freiheitsgrade ab und erreicht für den idealen Laser den Wert 0. Für $<5 \cdot 1$ sind kohärente Anteile der Strahlung nicht mehr auszuschließen. Bei vergleichbaren Proben lassen sich unter gleichen Bedingungen Schlüsse über die Änderung des Kohärenzgrades der PE unter den vielen möglichen Einflüssen, denen die Systeme auszusetzen sind, ziehen. Unsere Flörsheimer Arbeitsgruppe, die sich zur Zeit mit diesen Fragen beschäftigt, konnte bisher folgendes feststellen:

Die Lichtemission unseres Meßraumes, das Rauschen der Anordnung, ist im wesentlichen durch den Dunkelstrom des Multipliers vorgegeben. Der Meßraum weist eine chaotische Verteilung mit der größten Varianz aus und liefert entsprechend hohe Anteile bei lebenden Objekten, die mit etwa gleicher Intensität strahlen. Die f -Werte des Meßraums liegen bei vergleichbaren Messungen und Zeitintervallen von einigen hundert Millisekunden zwischen 2 und 6. Sie lassen sich durch chaotisches Licht mit ca. 3 Freiheitsgraden beschreiben. Eine Temperatursteigerung des Meßraums auf 33°C erhöht die berechenbare Zahl der Freiheitsgrade etwa um die gleiche Zahl, wie chaotische Photonen hinzukommen. Dies finden wir bestätigt.

Völlig anders verhalten sich biologische Objekte. Die S -Werte liegen im allgemeinen weit unter 1. Bringt man die Varianz des Meßraums zum Abzug, finden wir S -Werte, die - in Abhängig-

keit von verschiedenen Einflüssen u. U. sehr stark - um Null schwanken. Genau dieses Verhalten erwartet man an der Laserschwelle.

Um weitere Vergleiche zu ermöglichen, untersuchten wir auch Streulicht, das durch einen Drosselspalt in die Apparatur gelassen wird. Die Intensität wird auf die Höhe der PE des untersuchten Objektes eingestellt. Streulicht ist bekanntlich nicht chaotisch. Unsere Augen erkennen im Streulicht scharfe Muster. Durch den Drosselspalt wird die Kohärenz zusätzlich erhöht (18). Aus unseren bisherigen Messungen (ca. 10^4 Meßwerte) läßt sich die Tendenz erkennen, daß der f-Wert von Streulicht vergleichbarer Intensitäten im allgemeinen etwas höher liegt, als der biologisch aktiver Proben. Nicht ausschließen wollen wir jedoch, daß man durch künstliche Eingriffe den λ -Wert von Streulicht vergleichbar niedrig halten kann.

Zum unmittelbaren Vergleich untersuchten wir verschiedene Proben der Pflanze "Digitalis lanata", die einerseits chemisch gedüngt und andererseits einer biologisch-dynamischen Düngung unterzogen war. In Übereinstimmung mit den Erwartungen zeigte sich, daß der S^2 -Wert der biologisch-dynamischen Proben nach Abzug der Meßraum-Varianz im Mittel niedriger lagen, als der aus konventionellem Anbau. Bei Rübensäften konnten wir aufgrund dieses Kriteriums biologisches Pflanzenmaterial gegenüber konventioneller Substanz signifikant trennen.

Abb. 4 stellt ein typisches PCS-Experiment vor. Zum Vergleich wurden $p(n,t)$ für Gurkenkeime, Streulicht etwa gleicher Intensität und für den Meßraum allein gemessen und in Abhängigkeit von n/m normiert aufgetragen. Die verschiedenen $\langle f$ -Werte über Zeitstufen zwischen 100 ms und 500 ms ohne und mit Berücksichtigung der Meßraumvarianz sind Abb. 5 zu entnehmen. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, daß Arzneimittelwirkungen oder auch Kommunikationsphänomene zwischen verschiedenen Pflanzen über die PCS-Analyse nachzuweisen sind. Betreffende Arbeiten finden sich in Vorbereitung.

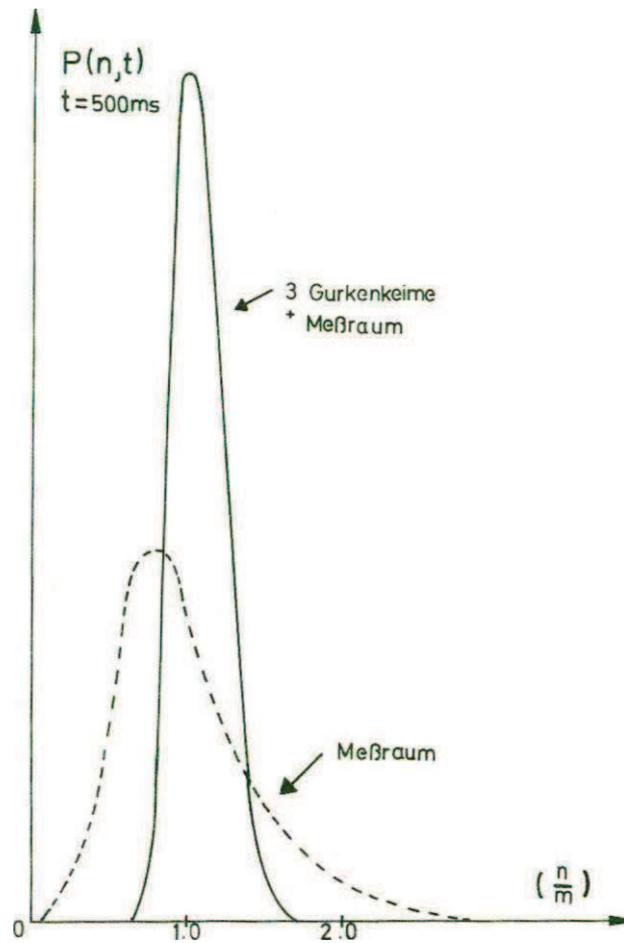


Abb. 4a:

Die Wahrscheinlichkeitsverteilungen $p(n,t)$, die angeben, mit welcher Wahrscheinlichkeit n Photonen im Meßzeitintervall t registriert werden, zeigen, daß biologische Objekte vergleichsweise das "ruhigste" Licht abstrahlen können. Gurkenkeimlinge zeigen eine geringere Streuung als der Meßraum (Abb. 4a), der den weitaus größten Beitrag zur Varianz liefert. Auch gegenüber Streulicht etwa gleicher Intensität zeigen biologische Objekte im allgemeinen die kleinere Varianz (Abb. 4b).

(Diese Arbeiten wurden im Rahmen einer Dissertation (R. Teubner, Univ. Freiburg) durchgeführt.)

6t

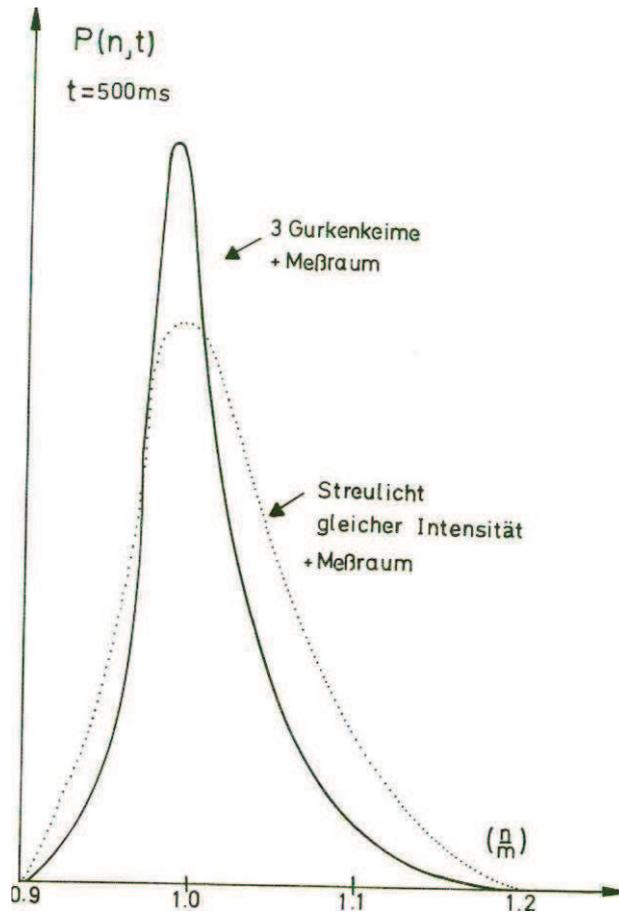


Abb. 4b

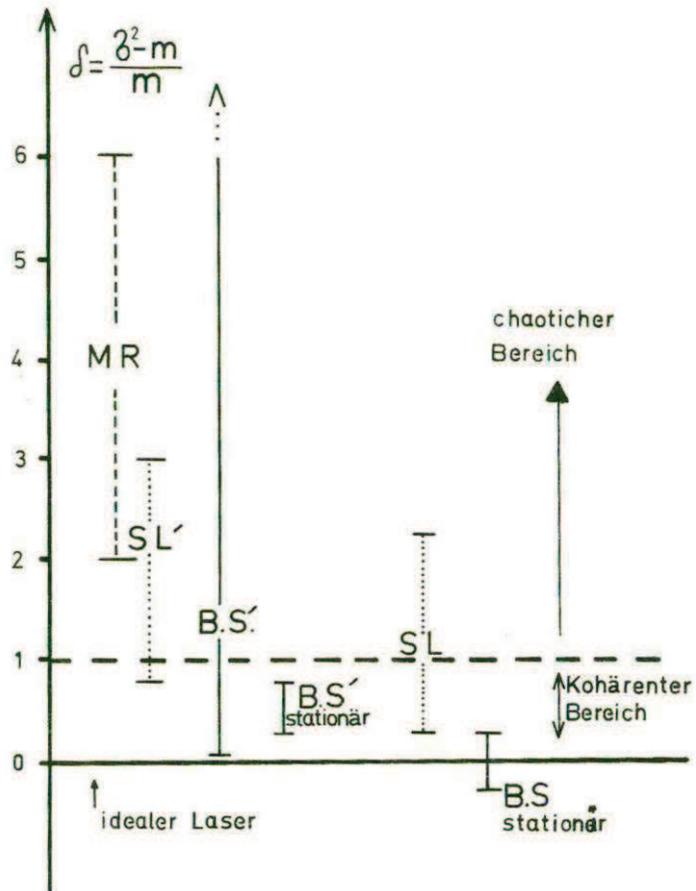


Abb. 5•

Die Entartungsparameter S für die drei verschiedenen Lichtquellen - Meßraum, Streulicht, biologische Systeme (B.S.) im nichtstationären Zustand und biologische Systeme im stationären Zustand - fallen im allgemeinen unterschiedlich aus. Sie liefern ein Maß für die Kohärenz der Strahlung. Danach enthält das Licht des Meßraums im allgemeinen den größten Anteil chaotischen Lichts. Nach Abzug der Varianzen des Meßraums, die sich in jedem Fall hinzu addieren, ergeben sich für biologische Systeme im stationären PE-Zustand Mittelwerte von/um Null, ein Zeichen dafür, daß die Strahlung einer Poissonstatistik unterworfen ist (s. Text).

Grundlagen einer Hypothese

Zweifelsohne sind an der PE auch Lumineszenzen beteiligt. Es wäre naiv, anzunehmen, daß Photonen im Zellverband nicht auch Chemilumineszenz-Reaktionen auslösten, die selbst zum Photonenfeld beitragen. Solche Möglichkeiten wurden kürzlich eingehend erörtert (2).

Unsere Hypothese stützt sich auf die Annahme, daß der PE primär die durch Bosekondensation bewirkte Photonenspeicherung der DNA zugrunde liegt (2, 10, 15, 16, 19).

Bisher gibt es wenig experimentelle Stützen. Selbstverständlich koppelt die PE im Zellgeschehen unter anderem auch mit der DNA, die außer den bekannten Singulettzuständen der Basenpaare um 250 nm eine Vielfalt weniger leicht anregbarer elektronischer Zustände vom IR bis in den UV-Bereich bereitstellt. Überdies verbleiben Möglichkeiten der Hohlraumspeicherung (2, 1k, 15) die mit den bisherigen Befunden, wie zum Beispiel dem drastischen Anstieg der PE selbst im Kältetod, am besten übereinzustimmen scheinen. DOSKOCH und Mitarb. (20) fanden auch tatsächlich Abhängigkeiten der PE von genetischen Faktoren: Weizen sendet seine PE-Todessignale bei umso niedrigeren Temperaturen aus, je winterfester er genetisch gezüchtet ist.

Deutliche Hinweise auf genetische Komponenten liefern die Arbeiten von KAZNACHEEV und Mitarb. (12, 21).

Unser Speichermodell schafft einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen der Selbstinformation einer biologischen Struktur und den meßbaren PE-Parametern als Ausdruck der Kommunikation im Zellverband. Nehmen wir beispielsweise in starker Vereinfachung die kohärenten und inkohärenten Intensitäten des PE-Feldes resp. $I_{c,j}$ und die Resonatorgüte Q im Verband. $Q(\nu)$ ist bekanntlich identisch mit der Information (in bit), die durch Modulation mit der Resonanzfrequenz innerhalb der Kohärenzzeit $T = Q(\nu)/\nu$ zu übermitteln ist. Bei exakter Betrachtung sind die Intensitäten und Resonatorgüten natürlich keine skalaren Größen, da Ausbreitungs- und Polarisationsrichtung der Strahlung zu berücksichtigen sind. Von

diesen nicht grundsätzlichen Überlegungen wollen wir zur Vereinfachung absehen. $Q(V)$ läßt sich aus den Abklingkurven der Photonenspeicherung von Strahlung entsprechender Frequenz abschätzen, nicht aber aus den Linienbreiten der beobachtbaren Resonanzen, da natürlich nicht jede Zelle zum gleichen Zeitpunkt exakt die gleichen Resonanzfrequenzen aufweisen kann. Messungen liefern weit höhere Q -Werte im optischen Bereich, als wir sie von der Technik her gewöhnt sind. Sie liegen mindestens um den Faktor 10^1 höher. In guter Übereinstimmung mit diesem Befund finden wir aus unserem Speichermodell die Abschätzung (VI) (15):

Dabei sind V und F das Volumen resp. Fläche des Speichers, c die Lichtgeschwindigkeit und N_g die Zahl speichernder Basenpaare der DNA, die eher dem Heterochromatin als dem Euchromatin zuzuordnen sind.

Aus diesen Vorstellungen lassen sich Modelle der Zellproliferation konstruieren (2). Sie zeigen, daß mit zunehmender Zellzahl die Resonatorgüte des Verbandes im allgemeinen ansteigt, entsprechend auch die Zahl speichernder Gene. Bei Tumorzellverbänden verhält es sich genau umgekehrt: Hier läßt die Resonatorgüte mit steigender Zellzahl nach. Dafür haben wir inzwischen auch einige experimentelle Stützen (5, 22).

Aus diesem Modell folgen auch unmittelbare Zusammenhänge zwischen kohärenter und inkohärenter PE-Intensität, Proliferationsrate, Zelldifferenzierung, Zelladhäsion und Mustererkennung ("Visibility"), wie sie zum Beispiel bei der Immunität und den Gedächtnisfunktionen eine Rolle spielt. Tab. 1 gibt eine knappe und vereinfachende Übersicht der Zusammenhänge, wobei generell gilt, daß die betrachtete Funktion (im allgemeinen nicht linear) mit den angegebenen Termen ansteigt.

Tabelle 1: Zusammenhänge zwischen biologischer Funktion und PE-Größen

PE - Term	damit steigende biologische Funktion
$Q \cdot I$	Differenzierung, Zelladhäsion und Mustererkennungsfähigkeit ("Visibility") Photoreaktivierung, Wachstumshemmung.
I_{crit}/Q	Biochemische Reaktivität, Proliferationsrate.

Zwar kann man bestätigen, daß die generelle Tendenz durch diese Kopplungen wiedergegeben ist, doch erfordert die wissenschaftliche Untermauerung dieser Ansätze noch weit mehr experimentellen und theoretischen Aufwand.

Literatur

1. MAMEDOV, T.G; G.A. POPOV; V.V. KONEV: Biophysics 14, 1102 (1969).
2. POPP, F.A.; G. BECKER; H.L. KÖNIG; W. PESCHKA (Edts.): Electromagnetic Bio-Information. Urban u. Schwarzenberg, München - Baltimore 1979*
3. RUTH, B.: Dissertation (Exp. Physik), Marburg 1977«
4. RUTH, B.; F.A. POPP: Z. Naturforsch. 31c, 741 (1976).
5. POPP, F.A.; B. RUTH; W. BAHR; J. BÖHM; P. GRAß; G. GROLIG; M. RATTEMEYER; H.G. SCHMIDT; P. WULLE: Collective Phenomena, in press.
6. KLIMA, H.: Dissertation (Physik), Wien, in press.
7. PRECHT, H.; J. CHRISTOPHERSEN; H. HENSEL; W. LARCHER (Edts.): Temperature and Life. Springer, Berlin - Heidelberg - N. Y. 1973-
8. SLAWINSKI, J.; E. GRABIKOWSKI; I. MAJCHROWICZ: Bio-Photon-Physics 1 (1980), erhältlich bei: Biomed-Verlag GmbH, Auf dem Rosenberg 2, D - 5307 Wachtberg.
9. ZHURAVLEV, A.I. (Edt.): Ultraweak Luminescence in Biology. Moscow Soc. Naturalists, vol. 39, Nauka, Moscow p. 17-
10. FOPP, F.A.: Umschau 8, 235 (1979).
11. GURWITSCH, A.A.: Pers. Mitt. 1980
12. KAZNACHEEV, V.P.: Pers. Mittl. 1980
13. BAHR, W.: Diplomarbeit (Exp. Physik), Marburg 1979-
14. RATTEMEYER, M.: Diplomarbeit (Theor. Physik), Marburg 1977-
15. POPP, F.A.; H. KLIMA; H.G. SCHMIDT: Biophotonphysics 3_ s.(8). (1979).
16. POPP, F.A.: In: E. SCHRÄM, P. STANLEY (Edts.): Proc. I. Intern. Sympos. Analyt. Applic. Bioluminescence and Chemiluminescence. Brüssel 1978, pp 601. State Printing u. Publ., Inc., Westlake Village, Calif. (1979).

- 17- GLAUBER, R.J.: Quantum Optics. Academic Press, N.Y. - London (1969).
18. PERINA, J.: Coherence of Light. Van Nostrand R. Comp., London (1971).
19. LASER + Elektro-Optik 28 (1980).
20. DOSKOCH, Ya.Ye. ; A.P. YKOVLEV; B.N. TARUSOV: Biophysics 596 (1969).
21. BILD DER WISSENSCHAFT 2 (1973).
KAZNACHEEV, V.P.: Byulleten 'Eksperimental¹ noi Biologii i Meditsiny 87, 468 (1979).
22. POPP, F.A. Krebsgeschehen 2, 48 (1979).
23. POPP, F.A.: INE-Vorträge (Univ. Stuttgart, Postfach 801140) 1979.

Diskussion:

K. THEURER: Ist es möglich, beispielsweise Organtrockensubstanzen oder Dilutionen durch Strahlen bestimmter Frequenzen zu aktivieren? Wenn ja, verlieren diese Moleküle ihre Aktivität wieder durch Lagerung?

F.A. POPP: Wir haben an mehreren theoretischen Modellen Korrelationen zwischen der Absorption von Molekülen und ihrer Wirksamkeit untersucht. Wir haben sehr gute Korrelationen gefunden. Ich kann aber vorneweg noch nicht sagen, ob diese Korrelationen ausreichen, alles zu deuten. Hier dürften durchaus Zusammenhänge bestehen. Ich glaube aber nicht, daß ein Molekül durch Bestrahlung - sofern es nicht strukturell zerstört wird - seine Speichermöglichkeit verliert. Im Gegenteil! Ich denke jetzt beispielsweise an Eigenblutbehandlung mit vorheriger Bestrahlung. Hier könnte es durchaus sein, daß die Speichermöglichkeit des Blutes durch die Bestrahlung sogar aktiviert wird.

K. THEURER: Läßt sich durch eine Verdünnung, beispielsweise durch homöopathische Verfahren, nicht auch eine Aktivierung erreichen?

F.A. POPP: Es ist eine Aktivierung im Sinne zunehmender Resonatorgüte. In der Natur gibt es den Effekt, daß durch zunehmende Resonatorgüte die Kopplung bei exakt abgestimmter Resonanzfrequenz ansteigt. Dieser Effekt könnte beispielsweise der Wirksamkeit homöopathischer Mittel zugrunde liegen. Auch in der Technik können Sie diesen Effekt beobachten. Drehen Sie die Lautstärke eines Radios herunter, kann die Tonschärfe durchaus besser werden.

K. THEURER: Wie weit reicht diese Strahlung? Bis zu welchem Abstand ist eine Resonanz noch möglich?

F.A. POPP: Dies hängt sehr stark von der jeweiligen Wellenlänge ab. Im hochenergetischen Bereich, den wir untersuchen, besonders im UV-Bereich, werden sich diese Koppelungen mindestens auf 2 - 3 Zellen erstrecken. Dagegen können Sie im langwelligen Bereich, z. B. im Radiowellenbereich und im noch längerwelligeren Bereich, durchaus Kopplungen erreichen, die über den ganzen Organismus laufen.

K. THEURER: Üben von Sendern stammende Radiowellen oder Hochspannungsleitungen eventuelle negative Einflüsse auf die Gesundheit aus?

F.A. POPP: Durchaus richtig! Man weiß es sehr gut von Mikrowellen. Mikrowellen bestreichen schon einen Bereich, in dem Wechselwirkungen zwischen Zellverbänden relevant werden. Es kann sogar sein - theoretisch ist es nicht auszuschließen - daß auch sichtbares Licht und infrarotes Licht bereits über weitreichende Kopplungen gehen. Mit zunehmender Kohärenz steigt auch der Wechselwirkungsbereich, in dem solche kooperativen Kopplungen möglich sind.

K. THEURER: Nun noch zur Frage der Möglichkeit von Medikamententestungen. Bei der Akupunktur hat VOLL diese Medikamententestung eingeführt. Ich habe zwar keine Beziehung dazu, glaube aber doch, daß auf der Basis von Resonanzwirkungen eine Testung möglich sein könnte. Wie stehen Sie dazu? Entscheidend ist natürlich auch das gewählte experimentelle System, ob das einfach so mit Widerstandsmessungen zu erfassen ist?

F.A. POPP: Alle unsere Ergebnisse, soweit wir sie fundamental im zellulären Bereich untersucht haben, deuten daraufhin, daß diese hohe Speichermöglichkeit über den ganzen Organismus anhält. Man kann durchaus davon ausgehen, daß biologische Systeme extrem empfindliche Empfängersysteme sind und selbst noch auf schwächste Signale reagieren. So ist es beispielsweise möglich, daß Wale Feldstärken von 10^{-10} Volt/cm selektiv wahrnehmen können, eine Empfindlichkeit, die auch heute noch in der Technik bei normalen Temperaturen kaum erreichbar ist. Diese hohe Empfindlichkeit biologischer Systeme ist sicher auch ein Grund, weswegen z. B. Wünschelruten-Phänomene durchaus im Bereich des Möglichen liegen. Im Zusammenhang mit diesen Medikamententestungen ist es deshalb möglich, daß der Mensch sich selbst als Empfängersystem in diesen Schaltkreis einschaltet und auf diese schwachen Signale durchaus vernünftig reagieren kann. Unsere Arbeitsgruppe hat in Zusammenarbeit mit Prof. MEHLHARDT Untersuchungen in dieser Richtung durchgeführt. Dabei wurden die Meßwerte vieler Elektroakupunkturtestungen in der statistischen Häufigkeit aufgezeichnet. Hätten diese Meßwerte keine Bedeutung gehabt, wäre eine Gauß'sche Verteilung herausgekommen. Hier handelt es sich nämlich um eine chaotische, unzusammenhängende Verteilung. Meßwerte mit physiologischer Bedeutung müssen eine sogenannte logarithmische Normalverteilung ergeben, weil alle physiologischen Parameter, wie z. B. Blutdruck, Pulsfrequenz, Medikamenten-Empfindsamkeit usw., nach einer sogenannten logarithmischen Normalverteilung verlaufen. Interessanterweise ergaben diese Untersuchungen nun eine "bilderbuchartige" logarithmische Normalverteilung. Die Ergebnisse wurden veröffentlicht.

P.G. MUNDER: Wie stellen Sie sich den Einfluß einer kohärenten Strahlung auf die Karzinogenese vor?

F.A. POPP: Betrachtet man die Gleichung des Zellwachstums, so kann das Zellwachstum sehr stark erhöht werden, indem der Q-Wert (die Resonatorgüte) nachläßt, also kleiner wird. Dieser Q-Wert steht im Nenner. Wir vermuten, daß diese Resonatorgüte von Krebszellen, im Gegensatz zu normalen Zellen, sehr stark nachgelassen hat. Bei Pflanzentumoren haben wir das zeigen können.

Herr WOLTERS DORF: Sie haben erklärt, Zelldifferenzierung und Zellwachstum können durch biologische Strahlung synchronisiert werden. Mir ist anhand Ihres Experimentes mit Actinomycin D und Heparin nicht klar geworden, ob nun behandelte Zellverbände auch unbehandelte Zellverbände synchronisieren können. Lassen sich dabei stoffliche Wechselwirkungen wirklich ausklammern und wie läßt sich das überhaupt nachprüfen?

F.A. POPP: Ausklammern kann man stoffliche Wechselwirkungen nicht. Das wollten wir auch nie tun. Es wäre geradezu verkehrt, anzunehmen, daß bei Vorliegen einer Strahlung im Organismus nicht auch irgendwelche Kopplungen an Molekülen stattfinden, die unter Umständen Chemilumineszenz-Reaktionen auslösen können. Der Unterschied zur rein biochemischen Denkweise einer Chemilumineszenz in unserer Betrachtung ist der, daß wir glauben - glauben muß ich sagen, wir haben es noch nicht bewiesen - daß die Strahlung selbst die biochemische Reaktivität steuert und nicht umgekehrt. Diese Strahlung scheint Regulationsfunktionen im Organismus zu haben. Unter anderem scheint sie durch Photoaktivierung die biochemische Reaktion zu steuern und nicht umgekehrt. Es ist letztlich eine Frage des Ursprungs. Der Nachweis der Kohärenz dieser Strahlung zeigt, daß es sich nicht um stochastische biochemische Reaktionen handeln kann. Das schließt aber nicht aus, daß auch biochemische Reaktionen Strahlung erzeugen.

AUDITORIUM: Ist die Strahlung, die therapeutisch angewendet wird, künstlich herstellbar oder nimmt man hierzu bestimmte Organpräparate, die offenbar eine spezifische informations-tragende Wirkung haben?

F.A. POPP: Die Strahlung, die wir aus Gurkenkeimen gemessen haben, ist künstlich nicht herstellbar. Das sehen Sie allein daran, daß die Strahlung enorm ruhig ist. Künstliche Quellen, selbst Streulicht aus der Umgebung, das sehr kohärent ist, "flattert" wesentlich stärker, als diese Gurkenkeim-Strahlung. Bedenkt man, daß wir es hier nicht mit einer Wellenlänge zu tun haben, sondern mit einem Gemisch von vielen Wellenlängen, zeigt sich der extrem ruhige Charakter dieser Strahlung. Mit Laser können Sie natürlich so etwas annähern, aber niemals in der gleichen Wirksamkeit und Zusammensetzung.

AUDITORIUM: Meiner Meinung nach ist die Theorie der Wirksamkeit von biologischen Mitteln damit bewiesen.

F.A. POPP: Nein. Es gibt noch viele Einwände dagegen. Der experimentelle Nachweis muß noch detaillierter erfolgen. Alles, was wir bisher gefunden haben, deutet jedoch darauf hin, daß zumindest die Blickrichtung stimmt. Im Detail müssen wir aber möglicherweise noch das eine oder andere korrigieren.

AUDITORIUM: Noch eine Frage zu Hochpotenzen in der Homöopathie. Gibt es Nachweise, daß eine Strahlung selbst dann noch vorhanden ist, wenn der spezifische Stoff molekular gar nicht mehr nachweisbar ist?

F.A. POPP: Entschuldigen Sie, das ist eine Frage, die kann in zwei bis drei Minuten nicht beantwortet werden. Ich kann vielleicht nur soviel dazu sagen: Es ist aus physikalischer Sicht sicher möglich, daß Flüssigkeiten auch "Gedächtnis-funktionen" haben. Das ist theoretisch möglich, praktisch allerdings bisher noch nicht zweifelsfrei bewiesen.

K. THEURER: Wird die Fehlerbreite durch so hohe Verdünnung oder so geringe Meßintensität nicht ins Unermeßliche gesteigert? Die Fehlerbreite hängt doch unter anderem auch von den Konzentrationen im Meßbereich und der Empfindlichkeit

der Meßmethode ab.

F.A. POPP: Ich wollte gerade das Gegenteil sagen: Je geringer die Konzentration, um so größer ist auch die Wahrscheinlichkeit, daß sich die wechselwirkenden Moleküle in ihrer Kopplung nicht überlappen und dadurch die Resonanzkopplungen - sofern solche existieren - etrem schmal und scharf werden. Je höher die Kohärenz, umso weniger wichtig ist die Intensität.

Das Myelofibrose-Syndrom im Kindesalter:
Neue Ansätze zur Frage der Virusgenese

P. CHANDRA, H. LAUBE, L.K. STEEL,
B. KORNUBER

Zentrum der Biologischen Chemie (Abt. Molekularbiologie)
und Zentrum der Kinderheilkunde (Abt. Päd. Onkologie)
Klinikum der Universität Frankfurt/Main

1. DA^MYELOFIBROSE^SYNDROM

Dem Myelofibrose-Syndrom liegt eine Störung zugrunde, die vorwiegend das Knochenmark betrifft und zu dessen fibrotischer, manchmal sogar sklerotischer Umwandlung führt. Aufgrund der mannigfachen und zum Teil uncharakteristischen Symptome und der engen Verwandtschaft mit unterschiedlichen Erkrankungen der Hämpoese - in der neuen Literatur (DAMASHEK, 1951 und 1957; GUNZ, 1958; BOURONCLE und DOAN, 1962; LASLO, 1975) unter dem Begriff "myeloproliferative Erkrankungen" zusammengefaßt - wurde das Myelofibrose-Syndrom bisher unter mehr als 30 verschiedenen Synonyma (HELLER et al., 19⁷; HUNSTEIN, 197^b) beschrieben. Einige davon seien hier erwähnt: Osteomyelofibrose (OMF), Osteomyelosklerose (OMS), Osteomyeloretikulose, Myelofibrose (MF), agnogenic myeloid metaplasia (AMM), malignant myelosclerosis, myelofibrosis with myeloid metaplasia (MMM).

Trotz der vielen Untersuchungen und Publikationen, die bereits über das Myelofibrose-Syndrom vorliegen, ist die Ätiologie der Erkrankung immer noch unklar.

Das Myelofibrose-Syndrom wurde zum erstenmal 1879 von HEUCK in Heidelberg beschrieben. Er berichtete über "zwei Fälle von Leukämie mit eigenthümlichem Blut- und Knochenmarksbefund".

HEUCK betrachtete das gemeinsame Auftreten der Leukämie und des osteomyelofibrotischen Prozesses als zufälligen Befund und sah keinen ursächlichen Zusammenhang zwischen beiden Krankheiten (HEUCK, 1879).

1880 wurde dann von NEUMANN die Meinung vertreten, ein ursächlicher Zusammenhang der beiden von HEUCK beschriebenen Erkrankungen sei denkbar, und zwar im Sinne einer initialen Knochenmarkshyperplasie, die die Voraussetzung für den myelogenen Ursprung eines leukämischen Prozesses sei (NEUMANN; 1880). Seit dieser Zeit war die Diskussion kontrovers, ob die MF als eine eigenständige Erkrankung oder als Folgeerkrankung verschiedener Grunderkrankungen anzusehen ist.

Heute wird die MF überwiegend als eigenständige Erkrankung aufgefaßt (CHURG und WACHSTEIN, 1944; COOK et al., 1953; BOURONCLE und DOAN, 1902; LEWIS und SZUR, 1963; BERGSMAN und VAN SLYCK, 1971; LASZLO, 1975; MULDER et al., 1977; LIBNOCH et al., 1977) und unter den myeloproliferativen Erkrankungen subsumiert. Übergänge und Zwischenformen der Erkrankungen innerhalb des myeloproliferativen Syndroms sind häufig (LASZLO, 1975).

Den ersten Hinweis auf eine von der Leukämie verschiedene Erkrankung lieferte DONHAUSER bereits 1908 für die MF. Er beschrieb einen Patienten mit Splenomegalie, leichter Anämie, 11500 Leukozyten/mm⁻³ bei unauffälligem Differentialblutbild und dem Fehlen kernhaltiger Erythrozyten im peripheren Blut. Die Autopsie ergab eine Myelofibrose und eine myeloide Metaplasie (DONHAUSER, 1908).

Die erste Publikation über ein Myelofibrose-Syndrom bei einem Kind erschien erst 1943 von ROSENTHAL und ERF. Bisher wurden insgesamt erst ca. 12 - 15 Fälle von Myelofibrose bei Kindern in der Literatur bekannt (ROSENTHAL und ERF, 1943; WOOD und ANDREWS, 1940; STODTMEISTER und SANDKÜHLER, 1953; ROSENBERG und TAYLOR, 1958; SAY und BERKEL, 1964; MAAS und RUHRMANN, 1971; DUDIK, 1968; TEBBI et al., 1974).

1.2 DgFINITION

Die MF ist eine eigenständige, klinisch manifeste Erkrankung mit Splenomegalie, Markfibrose, die mehr als 1/3 des bei Knochenmarkbiopsien gewonnenen Materials ausmacht, mit leukoerythroblastischer Blutreaktion, Fehlen einer erhöhten Erythrozytenzahl, Fehlen des Philadelphia-Chromosoms. Außerdem darf die MF nicht sekundär durch identifizierbare Ursachen, wie z. B. Krebsmetastasen im Knochenmark verursacht sein. Für die Diagnose Myelosklerose gelten dieselben Kriterien. Hierzu kommt der Nachweis sklerosierten Knochenmarks durch Röntgenuntersuchung

des Beckens, der Wirbelsäule und der langen Röhrenknochen (LASZLO, 1975).

1.3 | INTEILUNG

Das Myelofibrose-Syndrom läßt sich unterteilen in eine primäre idiopathische Myelofibrose, auch autonome proliferative Myelofibrose genannt, mit parablomatöser Gewebsproliferation und in eine sekundäre reaktive Myelofibrose (symptomatische Form).

Die primäre Myelofibrose, von der hier im weiteren nur gesprochen werden soll, wird den myeloproliferativen Erkrankungen (myeloproliferative disorders = MPD) zugeordnet (DAMESHEK, 1951 und 1957; GUNZ, 1950; BOURONCLE und DOAN, 1962; LASZLO, 1975)-

Die verschiedenen Erkrankungen, die den myeloproliferativen Erkrankungen zugerechnet werden, sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1: Typen der myeloproliferativen Erkrankungen (nach GUNZ und BAIKIE, 1974)

Typ	
chronisch	Polycythaemia Vera Myelofibrose mit myeloider Metaplasie chronische myeloische Leukämie essentielle Thrombozythämie
akut	Di Guglielmo Syndrom erythemische Myelose Erythroleukämie akute myeloische Leukämie akute Myelofibrose mit myeloider Metaplasie

Anmerkung: Die Subsumierung der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie (PNH) zu den myeloproliferativen Erkrankungen wird diskutiert (DAMESHEK, 1969; LASZLO, 1975).

Die primäre idiopathische MF wird noch in eine akute MF und eine chronische MF unterteilt (GUNZ, 1950; GUNZ und BAIKIE, 1974; LASZLO, 1975). Diese Unterteilung der MF hat ihre Bedeutung aus klinischer Sicht hinsichtlich Verlauf und Prognose.

Weitere Einteilungen der MF existieren von OECHSLIN, der eine Einteilung aufgrund histologischer Befunde aus Markbiopsiematerial vornimmt. Er unterscheidet ein polyzythämisches Vorstadium, die Myelofibrose und die Myelosklerose (OECHSLIN, 1956).

NEUMANN unternimmt eine Stadieneinteilung der MF aufgrund von ferrokinetischen Untersuchungen, deren Ergebnisse in Tabelle 2 und 3 wiedergegeben sind. Die Einteilung von NEUMANN scheint gegenüber der von OECHSLIN eine stärkere Korrelation bezüglich klinischem Verlauf und Prognose der MF zu haben (NEUMANN, 1976).

Tabelle 2: Unterscheidung von drei Krankheitsstadien durch ferrokinetische Befunde
(nach NEUMANN, 1976)

Stadium	^{57}Fe Halbwertszeit	Plasma- Eisen-Umsatz	Eisen- einbau	Ferrokinetisch faßbare extra- medulläre Erythropoese	Ineffektive Erythropoese
I Vorstadium	verkürzt	erhöht	normal	0	0
II Kompensier- te Phase	verkürzt	erhöht	normal	+	0
III Dekompen- sierte Phase	verkürzt	erhöht	ver- mindert	+	+

Tabelle 3: Klinische Symptomatologie und Prognose der drei ferrokinetisch differenzierbaren Stadien (nach NEUMANN, 1976)

Stadium	Erythrozyten	Hämoglobin	Milztumor	Thrombozyten	Transfusions- bedarf	Prognose
I	normal - erhöht	normal - erhöht	+	normal - erhöht	-	günstig
II	normal - ernie- drigt	normal - ernie- drigt	++(+)	normal	-	günstig
III	erniedrigt	erniedrigt	+++	erniedrigt	+	schlecht

1.4 ÄTIOLOGIE_UND_PATHOGENESE

Die für die sekundären reaktiven Myelofibrosen diskutierten ätiologischen Faktoren sind in Tabelle 4 wiedergegeben. Es ist aber darauf hinzuweisen, daß eine Erklärung der MF bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML) als Folge massiver Zytostatika-Gaben (HUNSTEIN et al., 1965) anfechtbar ist, weil bereits 13 Fälle von MF bei CML beobachtet wurden, denen keine Zytostatika-Therapie vorausging (GRALNIK et al., 1971; GÄRTNER et al., 1973)•

Tabelle 4: Mögliche Auslösefaktoren beim Myelofibrose-Syndrom des Menschen (mod. nach HUNSTEIN und HAUSWALDT (1974 a)

1. Entzündliche Gefäßerkrankungen Endangiitis, Periarteriitis der Markgefäße; "Gefäßgifte".
2. Chronische Entzündungen: Tuberkulose, Syphilis, Lues III chronische Tonsillitis, primär chronische Polyarthritits (PCP).
3. Ionisierende Strahlen, Zytostatika (z.B. Busulfan).
4. Chemische Substanzen: Benzin, Benzol, CCl., Phosphor, Fluor.
5. Medikamente: Atebrin, Phenacetin, Aminopyrin, Acetanilin Phenothiazine, Östrogene, Phenolkörper.
6. Metastasierende Tumoren (Karzinome).

Auch die Deutung der MF bei CML als rezidivierend-entzündlichen, hyperergischen Prozeß mit finalem narbigen Erschöpfungszustand des Markes aufgrund der chronischen proliferativ-wirkenden "Entzündungsreize" ist nicht befriedigend (APITZ, 1938; WYATT und SOMMERS, 1950; STODTMEISTER und SANDKÜHLER, 1953; PEACE, 1958), zumal inzwischen die MF auch bei kindlichen akuten Leukämien beschrieben wurde (SAY und BERKEL, 1964; MAAS und RUHRMANN, 1971; ZITTOUN et al., 1972). Somit scheint die MF auch bei CML eher eine eigenständige Erkrankung und nicht Folge der CML zu sein.

Die Ätiologie der primären MF ist bis heute noch völlig unklar (LIMAN und BETHELL, 1957; BOURONCLE und DOAN, 1962; LASZLO, 1975). Lange Zeit wurde sogar generell die Existenz einer primären MF angezweifelt (HELLER et al., 1947; TAYLOR und SIMPSON, 1950; HICKLING, 1968). Der Beweis der Eigenständigkeit der MF innerhalb der myeloproliferativen Erkrankungen wurde erst erbracht, als einige Fälle kindlicher MF ohne Begleit- oder Primärerkrankungen beschrieben wurden, bei denen auch kein anderes Agens ursächlich verantwortlich werden konnte (MAAS und RUHRMANN, 1971; TEBBI et al., 1974).

Faßt man die neuere Literatur zusammen, so wird die MF als die Manifestation eines myeloproliferativen Prozesses unbekannter Ätiologie bezeichnet (DAMESHEK, 1951; HÜTT et al., 1953; LINMAN und BETHELL, 1957; GUNZ, 1958; LEWIS und SZUR, 1963; GUNZ und BAIKIE, 1974; LASZLO, 1975). Aufgrund der engen Verwandtschaft zu den anderen Erkrankungen des myeloproliferativen Syndroms (schematische Darstellung in Abb. 1) liegt die Vermutung nahe, für die myeloproliferativen Erkrankungen einen gemeinsamen induzierenden Faktor anzunehmen, der zu variabler Ausbildung von Hyperplasie des Knochenmarkes, Knochenmarksfibrose und extramedullärer Blutbildung führt (LASZLO, 1975).

Einer Virusätiologie, z. B. aufgrund eines onkogenen RNA-Virus, wurde bisher keine Beachtung geschenkt, obwohl bereits 1955 tierexperimentell in der Milz von Mäusen ein infektiöses Agens geringer Infektiosität nachgewiesen werden konnte.

Es induzierte im Knochenmark beimpfter Tiere eine Fibrose (UPTON und FURTH, 1955).

1.5 DIAGNOSE

Aufgrund der uncharakteristischen Symptome im Anfangsstadium der MF ist die Diagnose äußerst schwierig zu stellen. So wird berichtet, daß vom Auftreten der ersten uncharakteristischen Symptome bis zur Diagnosestellung im Durchschnitt sechs Monate vergehen (ENGELMANN et al., 1975). Den Verdacht auf eine MF lenkt oft erst die palpatorische Feststellung einer sehr ausgeprägten Milz- und evtl. Lebervergrößerung.

Die Sicherung der Diagnose MF ist nur durch Knochenmarksbiopsie (meist am Beckenkamm durchgeführt) möglich, wobei im Anfangsstadium der Erkrankung oft erst die mehrmalige Biopsie an verschiedenen Stellen zum Erfolg führt (BOURONCLE und DOAN, 1962; ENGELMANN et al., 1975; LASZLO, 1975).

Die Ergebnisse der Knochenmarksaspiration (Knochenmarkspunktion) sind meist schlecht, da sich oft kein Mark aspirieren läßt (BOURONCLE und DOAN, 1962).

Differentialdiagnostisch ist bei Verdacht auf eine MF stets auszuschließen: Eine Polycythaemia vera, eine chronische myeloische Leukämie, eine essentielle Thrombozythämie und eine Erythroleukämie (chronische Erythroblastose) (BERGEMANN, 1975).

1.6 KLINIK

Die Symptome im Anfangsstadium der MF sind uncharakteristisch. Häufig sind Schwächegefühl und Müdigkeit (64 %), Gewichtsverlust (48 %), Oberbauchbeschwerden durch die vergrößerte Milz (42 %). Dyspnoe, Blässe, Ödeme, Blutungsneigung, häufige Infektionen und Knochenschmerzen sind ebenfalls oft zu beob-

achten (BOURONCLE und DOAN, 1962). Die wichtigsten klinischen Befunde der MF bei Diagnosestellung sind in der folgenden Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Klinische Befunde der Myelofibrose bei Diagnosestellung (angegeben in Prozent %)

	+		mod. nach BOURONCLE und DOAN, 1962	
	++		mod. nach ROSENTHAL und MOLONEY, 1969	
	+++		mod. nach WARD und BLOCK, 1971	
	++++		mod. nach ENGELMANN et al., 1975	
B E F U N D	+	++	+++	++++
Splenomegalie	94%	98%	100%	94%
Heptomegalie	71%	75%	54%	75%
Blässe (Anämie)	21%	--	--	15%
Blutungs- neigung	7%	--	26%	45%
periphere Ödeme	11%	4%	10%	3%
Gelbsucht	1%	4%	10%	--
Lymphknoten- vergrößerung	12%	22%	10%	--

Hier in diesem Rahmen sollen nur die wichtigsten Laborbefunde erwähnt werden, da viele Veränderungen von Laborwerten bei der MF sekundärer Natur sind. Dafür sei auf die Literatur verwiesen (BOURONCLE und DOAN, 1962; PITCOCK et al., 1962; ROSENTHAL und MOLONEY, 1969; WARD und BLOCK, 1971; GUNZ und BAIKIE, 1974; LASZLO, 1975).

^{B e i} Diagnosestellung besteht gewöhnlich eine mäßige normochrome und normozytäre Anämie, deren Schwere mit fortschreitender Erkrankung zunimmt.

Die Leukozytenzahl ist uncharakteristisch. Sie kann normal, erniedrigt und erhöht sein. In den meisten Fällen sind unreife Granulozyten nachweisbar, deren Auftreten aber nicht mit der Leukozytenzahl korreliert. Phagozytose und Bakterienabtötung durch die Granulozyten scheinen bei den MPD normal zu sein.

Die Thrombozytenzahl kann anfangs erhöht, normal oder vermindert sein. Mit fortschreitender Erkrankungsdauer überwiegt die Thrombozytopenie.

Alkalische Leukozyten-Phosphatase (ALP): Die Vermutung, daß die ALP bei Patienten mit MF generell erhöht sei, im Gegensatz zur chronischen myeloischen Leukämie, bei der die ALP erniedrigt ist, ließ sich nicht bestätigen. Es wurden normale, erhöhte und sogar erniedrigte Werte (in 1 - 25 %) für die ALP gemessen. (VALENTINE et al., 1952; MITUS et al., 1958; ROSENTHAL und MOLONEY, 1969; WARD und BLOCK, 1971).

Zellgenetik

Ein Philadelphia-Chromosom, wie es bei Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie gefunden wird, läßt sich bei MF nicht nachweisen. (NOWELL und HUNGERFORD, 1962; SANDBERG et al., 1962 und 1964; GOH et al., 1964).

Neuere Untersuchungen weisen auf Chromosomenabnormalitäten bei der MF hin, doch es konnte keine eindeutige Korrelation zwischen Chromosombefund und den spezifischen hämatologischen Veränderungen gefunden werden (NOWELL et al., 1976). In einem Fall von MF konnte bisher ein dem Philadelphia-Chromosom ähnliches Chromosom nachgewiesen werden (CEHRELI et al., 1976).

5?diologische_Befunde: Nur 1/3 der Patienten mit MF haben eine so ausgeprägte Osteosklerose, so daß sie bei Routine-Röntgenaufnahmen des Thorax entdeckt werden kann. Die Myelofibrose an sich ist nicht mit vermehrter Dichte des Knochens vergesellschaftet. Fortschreitende Sklerose verengt allmählich den Markraum, so daß der Knochen ein streifiges Aussehen erhält.

F-Szintigraphie zeigt eine vermehrte Durchblutung des Knochens bei Patienten mit MF; ein Befund, wie er schon seit langem bei Morbus Paget bekannt ist (VAN DYKE et al. , 1971)'

Pathologie^ Aufgrund pathologischer Untersuchungen des Knochenmarks bei MF werden drei Typen unterschieden:

- a) Hyperplasie erythroider, myeloider und megakaryozytärer Zellformen.
- b) Gemischtes Auftreten hyperplastischer und fibröser Bezirke.
- c) Fortgeschrittene Myelofibrose und Myelosklerose (nach WARD und BLOCK, 1971).

Hyperplastisches Knochenmark bei MF tritt häufig zusammen mit geringer Milzvergrößerung auf, während Fibrose oder Sklerose des Knochenmarks oft mit massiver Splenomegalie vergesellschaftet ist.

1.7 BEHANDLUNG

Für die MF existieren bis heute noch keine definitiven Behandlungsschemata. Die Behandlung ist vorwiegend symptomatisch und hat in der Regel nur palliativen Charakter. Zur Besserung der meist bestehenden transfusionsbedürftigen Anämie kann eine Androgentherapie versucht werden. Bei Bestehen einer nennenswerten hämolytischen Komponente, bei schwerer Thrombozytopenie oder massiver Milzvergrößerung ist die Splenektomie zu erwägen.

Durch eine Chemotherapie mit alkylierenden Substanzen (Myle-
ran, Alkeran) läßt sich bei hyperplastischem Knochenmark oft ein Ansteigen des Hämoglobinwertes, der Thrombozytenzahl und eine Besserung der Splenomegalie erreichen. Bei bereits ausgeprägter Markfibrose ist ein Therapieversuch mit Myleran oder Alkeran wegen der Gefahr der Erzeugung einer unbeeinflussbar fortschreitenden Panzytopenie riskant.

Ein Therapieversuch mit Kortikosteroiden ist in den meisten Fällen erfolglos.

Die Bestrahlung der Milz zur Behandlung der Splenomegalie sollte auf Patienten beschränkt bleiben, die für die Splenektomie oder eine Chemotherapie nicht in Frage kommen. Für detaillierte Behandlungsregime sei auf die Literatur verwiesen (HICKLING, 1953; BOURONCLE und DOAN, 1962; SILVERSTEIN et al., 1967; GUNZ und BAIKIE, 1974; LASZLO, 1975; MULDER et al., 1977).

1.8 VERLAUF_UND_PROGNOSE

Das Myelofibrose-Syndrom entwickelt sich in der Regel schleichend. Es betrifft vor allem das Knochenmark, Milz und Leber. Aufgrund der außergewöhnlich langsamen Entwicklung der MF ist der Verlauf wahrscheinlich jahrelang asymptomatisch. Nach dem klinischen manifesten Verlauf der Erkrankung unterscheidet man zwischen akuter und chronischer MF. Bei chronischen Myelofibrosen wurden asymptomatische Verläufe bis zu 20 Jahren beobachtet. Die mittlere Überlebenszeit wird mit 4 - 5 Jahren (SILVERSTEIN et al., 1967; WARD und BLOCK, 1971), von anderen Autoren nur mit 35 Monaten (ENGELMANN et al., 1975) angegeben.

Für die akute MF wurde bei Kindern Überlebenszeiten von teilweise nur 6 Wochen mitgeteilt (ROSENTHAL und ERF, 1943). Bei Kindern scheint die akute Verlaufsform zu überwiegen und der Verlauf im allgemeinen kürzer zu sein, als bei Erwachsenen (HUNSTEIN und HAUSWALDT, 1974 a). Es ist allerdings ein Fall von angeborener MF bei einem Mädchen bekannt, das zum Zeitpunkt der Publikation schon seit 7 Jahren beobachtet wurde (MAAS und RUHRMANN, 1971).

Die Prognose ist besonders bei der akuten Verlaufsform schlecht. Häufige Komplikationen sind eine hämorrhagische Diathese z. T. mit intestinalen Blutungen. Infekte bei Agranulozytose, schwere Anämien und mechanische Beschwerden auf-

grund eines oft bestehenden riesigen Milztumors. Die Splenektomie führt in diesem Fall nur zu einer subjektiven Besserung der Beschwerden (BOURONCLE und DOAN, 1962; MULDER et al., 1977). Eine entscheidende Beeinflussung des Krankheitsverlaufs ist nicht möglich. Das Endstadium der MF kündigt sich meistens durch einen Parablastenschub an. Wird die Erkrankung erst in diesem Stadium erfaßt, ist eine Verwechslung mit einer akuten Lymphoblasten-Leukämie möglich.

1.9 HÄUFIGKEITALTERS-UND_GESCHLECHTSYERTEILUNG

Die Erkrankung kann in allen Lebensaltern auftreten, manifestiert sich jedoch meistens jenseits des 40. Lebensjahres. Bei Kindern ist das Krankheitsbild bisher selten beobachtet worden (ca. 12 - 15 Fälle in der Literatur).

Beide Geschlechter scheinen gleich häufig betroffen (HUNSTEIN, 1974 b; BEGEMANN, 1975). Über eine leichte Bevorzugung des männlichen Geschlechtes berichtet MÜLLER (1970). Aufgrund der verbesserten Diagnostik wird die MF heute so oft wie die chronische myeloische Leukämie diagnostiziert (BEGEMANN, 1975)»

2. EIGENEKASUISTIK

Im Februar 1974 wurde ein zweieinhalb Jahre altes Mädchen zur Behandlung in die Universitätskinderklinik der J.W. Goethe-Universität Frankfurt gebracht, das nach unauffälliger Geburt und normaler frühkindlicher Entwicklung bis zum 2. Lebensjahr plötzlich erkrankt war. Bis zur Erkrankung ergaben wiederholte ärztliche Untersuchungen keinen pathologischen Befund, auch keinen Anhalt für eine bestehende Anämie.

Das Kind zeigte bei Krankheitsbeginn folgende Symptome (GUNKEL et al. , 1976): Fieber von 39,6°C, Knochenschmerzen beider Unterschenkel, zunehmende Blässe von Haut und Schleimhäuten, petechiale Blutungen, vergrößerte Lymphknoten und eine Hepatosplenomegalie mit einer Leber, die 5^{cm} unter den

Rippenbögen tastbar war. Der Allgemeinzustand des Kindes war schlecht.

Die Laboruntersuchungen ergaben eine Anämie mit einem Hb-Vert von 5,8 g% bei 2,5 Mio. Erythrozyten/mm³, eine Leukozytenzahl von 7100/mm³, die differenziert 16 neutrophile Segmentkernige und 84 Paraleukoblasten pro 100 ausgezählten Zellen enthielt. Vorstufen von Granulozyten oder Erythrozyten ließen sich im peripheren Blut nicht nachweisen. Es bestand eine Thrombopenie (20.000 Thrombozyten/mm³).

Die Untersuchung des Serums ergab eine Erhöhung der LDH auf 4.670 IE, jedoch Normalwerte für die Transaminasen, AP, Bilirubin, Harnsäure und die plasmatischen Gerinnungsfaktoren. Außerdem bestand eine geringe Hypogammaglobulinämie von 9,5 % bei quantitativ normalen Immunglobulinen.

Bei der Knochenmarkspunktion wirkte der Knochen nicht auffällig hart. Es ließ sich jedoch nur wenig Mark aspirieren. Das Zellbild war monoton und bestand aus Parablasten, die zytochemisch PAS- und peroxydasenegativ waren. Normale Erythro- und Myelopoese fand sich in spärlichen Resten.

Röntgenuntersuchungen des Skeletts ergaben keine Verdichtungen der Knochenstruktur, sondern osteolytische Herde und subperiostale Aufhellungen in den langen Röhrenknochen.

Aufgrund der erhobenen Befunde wurde anfangs nur die Diagnose einer akuten peroxydase-negativen Leukämie gestellt, die zunächst zur Remissionsinduktion nach dem PINKEL-Schema (Studie VII) (PINKEL et al., 1972) mit Vincristin und Prednison behandelt wurde. Leider sprach die Erkrankung auf die Therapie nicht an. Leber und Milz wurden wider Erwarten größer weshalb zwei Wochen nach Behandlungsbeginn zusätzlich Daunorubicin (1 mg/kg KG) gegeben wurde. Gleichzeitig wurde eine Beckenkammbiopsie durchgeführt. Die histologische Untersuchung zeigte eine ausgeprägte Vermehrung der argyrophilen

Fibrillen bei Zurückdrängung der Blutbildung in den Sinusoiden bis auf spärliche Reste. Damit war die Diagnose einer Myelofibrose des Knochenmarks mit akutem Blastenschub gesichert.

Auch die Behandlung mit Daunorubicin war erfolglos. Es bestand weiterhin eine vorwiegend hämolytische, ständig transfusionsbedürftige Anämie (Hb um 5 g%) (eine Thrombozytopenie $\frac{3}{3}$ (10 - 20.000 mm³) mit Blutungsneigung und eine zunehmende exzessive Hepatosplenomegalie. Der Milztumor reichte schließlich bis ins kleine Becken und verursachte so massive mechanische Beschwerden, daß die Splenektomie trotz des bekannten Risikos durchgeführt wurde, das diese Maßnahme im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung mit Übergang in eine akute Leukose darstellt (BRAUER et al., 1971). Die extirpierte Milz wog 1[^]50 Gramm und war stark mit atypischen Blasten infiltriert. Die Grundstruktur war nur noch angedeutet erkennbar.

Postoperativ traten schwere Komplikationen auf, wie intra-abdominale Blutungen und ein Dünndarmileus, der sich auch nach Relaparotomie nicht beheben ließ. Drei Monate nach Beginn der Erkrankung verstarb die Patientin.

Die Obduktion bestätigte die Diagnose. Wirbelkörper und Sternum zeigte histologisch eine starke Knochenmarksfibrose mit einzelnen herdförmigen parablastären Infiltraten und Marknekrosen. In Leber und Lymphknoten fanden sich diffuse parablastäre und megakaryozytäre Infiltrationen.

3- ?UR_FRAGE_DER_VIRUSGENESE

3.1 YIREN_UND_TUMOREN

Die Bedeutung von Viren bei der Erzeugung von Tumoren wird schon seit mehr als 50 Jahren diskutiert.

Bereits 1908 konnten ELLERMAN und BANG eine Hühner-Myeloblastose durch die Injektion zellfreien Plasmas erkrankter Hühner auf gesunde Vögel übertragen (ELLERMAN und BANG, 1908). Diese Ergebnisse erregten kaum Aufsehen. Erst als kurze Zeit später FOUS die erfolgreiche Übertragung eines Hühnersarkoms durch intramuskuläre Injektion zellfreier Tumorfiltrate berichtete, wurde diesem Phänomen größere Beachtung geschenkt (ROUS, 1911). Seitdem konnten eine Reihe neoplastischer Erkrankungen bei Tieren verschiedener Klassen und Gattungen einschließlich der Primaten auf onkogene Viren zurückgeführt werden (Review von GALLO et al., 1975)* Der Beweis einer viralen Genese bei aniraalen Tumoren wurde zunächst nur direkt geführt, indem man die Viren aus den Tumoren der erkrankten Tiere isolierte und reinigte. Mit diesen gereinigten Virus-suspensionen wurde dann versucht, gesunde Tiere zu infizieren. Außerdem wurden die Viren elektronenoptisch dargestellt und biochemisch untersucht.

Analoge Überlegungen führten bald dazu, auch bei menschlichen Neoplasien, vor allem bei denen des hämatopoetischen Systems, nach einer viralen Genese zu suchen. Es ließen sich jedoch mit den bei Tieren erfolgreich angewandten Methoden keine sicheren und reproduzierbaren Hinweise für eine virale Genese bei menschlichen Neoplasien finden. Der elektronenoptische Nachweis virusähnlicher Partikel in humanen Tumoren hielt meist einer genaueren Untersuchung nicht stand, da Mykoplasmen und Thrombozytenfragmente bei den verwendeten elektronenoptischen Techniken C-Typ-Viruspartikeln ähneln können (DMOCHOWSKY und GREY, 1957; PORTER et al., 1964; PRINCE und ADAMS, 1966; DMOCHOWSKY et al., 1967; SEMAN und SEMAN, 1968). Häufig ließen sich elektronenoptisch trotz manifester Erkrankung überhaupt keine virusähnlichen Partikel finden (NEWELL et al., 1968). So führte die elektronenoptische Darstellung sogenannter viraler Partikel in menschlichen Neoplasien nicht weiter, weil der gleichzeitige molekularbiologische Nachweis der viralen Aktivität der dargestellten Partikel nicht geführt werden konnte. Auch der Versuch, Viren in Zellstrukturen menschlicher Tumorzellen zu züchten und dann zu isolieren, wie in vielen tierischen Neoplasien erfolgreich praktiziert, schlug lange fehl. Die gezüchteten Partikel ließen sich oft als Mykoplasmen und andere nicht virale Partikel identifizieren. Selbst neueste Publikationen über eine erfolgreiche Viruszüchtung und -isolierung aus menschlichen Tumorzellen (GABELMAN et al., 1975); GALLAGHER et al., 1975; NOOTER et al., 1975; GALLO und TODARO, 1976) werden z. T. skeptisch beurteilt, obwohl in diesen Untersuchungen neben der elektronenoptischen Darstellung der Vi-

ruspartikel gleichzeitig molekularbiologische Methoden zum Nachweis viraler Aktivität angewendet wurden. Die Konzentration der Forschung auf die Isolierung von Viren aus menschlichen Tumoren (mit den bekannten Methoden) und deren elektrooptische Darstellung erbrachte bisher für die Erforschung der Rolle von Viren in der menschlichen Onkogenese keine weiterführenden Erkenntnisse.

3.2 REVERSE_TRANSCRIPTASE_UND_RNA-TUMORVIREN

Einen neuen Zugang zur Lösung der Frage einer Virusbeteiligung in der menschlichen Onkogenese brachte die Anwendung und Verfeinerung molekularbiologischer Arbeitsmethoden. Die Isolierung einer RNA-abhängigen DNA-Polymerase aus RNA-Tumorviren im Jahre 1970 (BALTIMORE, 1970; TEMIN und MIZUTANI, 1970) ist durch molekularbiologische Arbeitsmethoden gelungen und hat sich bisher als ein entscheidender Schritt in eine neue Dimension der Krebsforschung dargestellt. Die Existenz einer RNA-abhängigen DNA-polymerase, oft auch als Reverse Transkriptase (RT) bezeichnet, wurde bereits 1964 von TEMIN in seiner Provirus-Theorie (TEMIN, 1964 a) gefordert. Mit dieser Theorie versuchte TEMIN zu erklären, wie ein RNA-Tumorvirus, wie das Rous-Sarcoma-Virus (RSV) in zellulären Genen eine neoplastische Transformation induzieren kann. Die grundlegende Idee der Provirus-Theorie beruht auf der Annahme, daß RNA-Tumorviren über eine DNA als Zwischenprodukt replizieren und nicht über eine intermediäre RNA, wie dies nicht-onkogene RNA-Viren tun. Diese Theorie stellte ein bis dahin absolut geltendes Naturgesetz der Biologie in Frage, daß genetische Information nur von einer DNA auf eine RNA und nicht umgekehrt von RNA auf DNA übertragen werden kann. Gestützt wurde diese Theorie durch Ergebnisse bei Versuchen mit Hemmstoffen, die von TEMIN (1964 b) und BADER (1964) durchgeführt wurden. Diese Versuche zeigten, daß Aktinomycin D ein potenter Hemmstoff der RSV-Replikation ist. Aktinomycin D hemmt aber nur DNA-gesteuerte Reaktionen und RSV ist ein RNA-Virus. Daraus folgerte TEMIN, daß in dem replikativen Zyklus von RSV eine DNA als Intermediärprodukt gebildet werden muß. Diese DNA bezeichnete er als "provirale DNA". Die besten An-

haltspunkte für die wirkliche Existenz dieser sogenannten "proviralen DNA" lieferten bis vor kurzem Studien an stationären Hühnerembryo-Fibroblasten, die mit RSV in Gegenwart von 5-Brom-Deoxyuridin infiziert wurden (BOETTIGER und TEMIN, 1970; BALDUZZI und MORGAN, 1970). Die Tatsache, daß in die RNA 5-Bromdesoxyuridin (BDU) nicht eingebaut wird und BDU-enhaltende DNA sehr lichtempfindlich ist, führte zu dem Schluß, daß BDU-enhaltende DNA die für die Infektion notwendige Information enthalten und in den infizierten Zellen synthetisiert worden sein müßte. Studien von HILL et al. (1975) und von COOPER und TEMIN (1975) ergaben direkte Hinweise für die tatsächliche Existenz der "proviralen DNA". Sie konnten eine infektiöse DNA aus Zellen isolieren, die vorher durch Infektion mit RSV zur Transformation gebracht worden waren. Vor kurzem berichteten WONGSTAAL et al. (1976), daß bei menschlicher AML im Genom der Leukämiezellen provirale DNA-Sequenzen eines endogenen RNA-Virus von Pavianen - baboon-endogenous-virus (BEV) - vorhanden sind.

Die Aufgabe der viralen RT ist damit die Transkription des Virusgenoms von RNA-Tumorzellen, das aus einer viralen 70 S-RNA besteht. Die Reverse Transkriptase führt also eine RNA-abhängige DNA-Synthese durch. Der Ablauf der Reversen Transkriptase, wie sie hypothetisch für die Transkription der genetischen Information der onkogenen RNA-Viren gefordert wird, ist in Abb. 2 schematisch dargestellt.

Die Bedeutung der RT für die Onkogenität von RNA-Viren ist bisher durch viele Versuche erhärtet worden. So bestand keine zelltransformierende Potenz von RNA-Viren bei Defektmutanten von RSV ohne RT (HANAFUSA und HANAFUSA, 1968 und 1971). Außerdem wurde das Enzym bei allen untersuchten onkogenen RNA-Viren nachgewiesen. Mehr als 35 verschiedene Virenstämme wurden getestet (KACIAN et al., 1971; HURWITZ und LEIS, 1972; ABRELL und GALLO, 1973; GRANDGENETT et al., 1973). Nichtonkogene RNA-Viren enthalten bis auf die folgenden Ausnahmen keine RT: Die "Foamy-Virus-Gruppe" (PARKS et al., 1971), "Visna-Virus" (LIN und THORMAR, 1970; SCHLOM et al., 1971; STONE et al.,

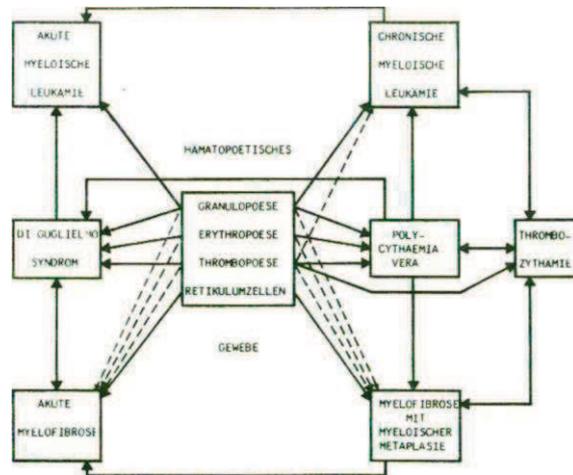


Abb. 1
Darstellung der myeloproliferativen Erkrankungen
(modifiziert nach GUNZ, 1958)

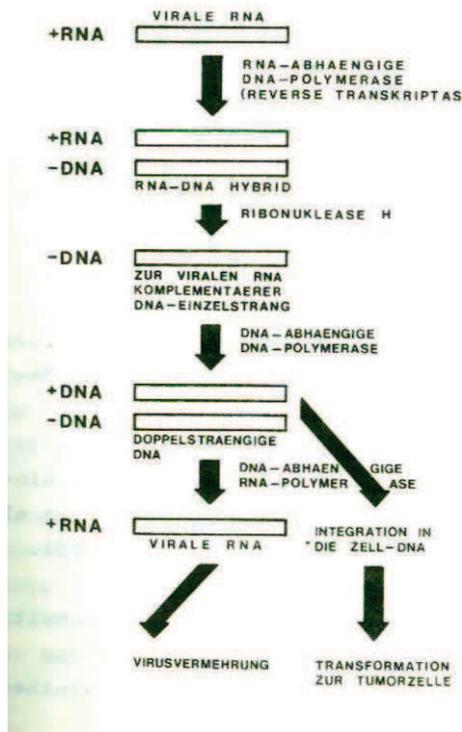


Abb. 2
Schematische Darstellung
der Transkription der
viralen RNA in zelluläre
DNA.
(modifiziert nach CHANDRA
et al., 1972)

1971) und "Slow-Pneumonia-Forming-Virus" (TAKEMOTO et al., 1971)•

Schließlich sprechen die Untersuchungen von RNA-Viren mit Inhibitoren auch für die Verantwortlichkeit der RT für die Onkogenität dieser Viren (APPLE, 1973; SMITH und GALLO, 1974; CHANDRA et al., 1975, 1977 a, b).

Mit der Entdeckung der RT sollte auch die Tumorforschung mit Bezug auf eine virale Genese menschlicher Neoplasien nach langer Erfolglosigkeit neue Impulse erhalten. Bereits sechs Monate nach der Entdeckung der RNA-abhängigen DNA-Polymerase in RNA-Tumurviren wurde von GALLO et al. (1970) eine RT aus frischen peripheren Blutzellen bei drei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL) isoliert. Diese Reverse Transkriptase-Aktivität konnte in normalen menschlichen Lymphozyten nicht nachgewiesen werden (SMITH und GALLO, 1972; LEWIS et al., 1974 a, b; MONDAL et al., 1974; MAYER et al., 1975).

3.3 BEDINGUNGENF^

MIT.EINER_REYERSEN_TRANSKRIPTAS|

Die DNA-Polymerase-Aktivität der RNA-Tumurviren kann in zwei Reaktionssystemen studiert werden. Bei der DNA-Synthese in der endogenen Reaktion wird keine exogene Matrize hinzugefügt. Die im Virion lokalisierte virale RNA, die die genetische Information des RNA-Tumovirus beherbergt, wird von der viralen DNA-Polymerase als Matrize abgelesen (SPIEGELMAN et al., 1970). Diese RNA, die man als die natürliche Matrize der viralen DNA-Polymerase bezeichnen kann, hat eine Größe von ca. 60-70 S. Für Einzelheiten der Reaktionsbedingungen endogener viraler DNA-polymerase-Aktivität sei auf einige Übersichtsarbeiten hingewiesen (BALTIMORE, 1970; SPIEGELMAN et al., 1970; GREEN et al. 1970, 1975; GALLO und TING, 1972; TEMIN und BALTIMORE, 1972).

In der exogenen Reaktion wird die DNA-Synthese in Abwesenheit der endogenen Matrize, der viralen 70 S RNA durchgeführt und stattdessen werden der Reaktion exogene natürliche oder synthe-

tische Nukleinsäuren als Matrizen zugefügt. Diese exogenen Matrizen werden dann entsprechend der Affinität der DNA-Polymerase zu dieser Nukleinsäure transkribiert.

Die Reinigung und Konzentrierung viraler Präparationen ist notwendig, um zelluläre Verunreinigungen zu entfernen, die eine unspezifisch hohe DNA-Syntheserate bewirken können. SPIEGELMAN et al. (1970) benutzten dazu Ammoniumsulfat-Präzipitationen in Verbindung mit Dichtegradientenzentrifugierung in Glycerin- und Saccharosegradienten. Derartig gereinigte Viruspräparationen zeigen eine nur geringe endogene DNA-Polymerase-Aktivität. Da das Polymerase-System im Viruskern, dem Nukleokapsid lokalisiert zu sein scheint, steigt die endogene Aktivität rapide an, wenn man ein nichtionisches Detergenz, z. B. Nonidet P-40 oder Triton X-100, hinzufügt, das die äußere Hülle des Virions spaltet. Die notwendige Konzentration des Detergenz hängt vom Virustyp und der Proteinkonzentration ab (GARAPIN et al., 1970). Die endogene DNA-Syntheserate liegt nach Spaltung der Virenhülle 20- bis 50-fach höher als in intakten Viren. Die vollständige Aktivierung des DNA-Polymerase-Systems benötigt außerdem alle vier Desoxyribonukleosidtriphosphate. Das Fehlen bereits eines der Desoxyribonukleosidtriphosphate führt bereits zur Reduktion der DNA-Synthese um 80 - 90 % (SARNGADHARAN et al., 1976). Eine 100-fache Zunahme der DNA-Syntheserate wurde beobachtet, wenn man die Konzentration von Desoxythymidin 5'-triphosphat (dTTP) von 5×10^{-7} auf 8×10^{-7} M in Gegenwart eines Überschusses von Desoxyadenosin-5-triphosphat (dATP), 2'-Desoxyguanosintriphosphat (dGTP) und Desoxycytidin-5'-triphosphat (dCTP) erhöht. Die dTTP-Abhängigkeit ist der DNA-Synthese direkt proportional (GARAPIN et al., 1971).

Ribonukleosidtriphosphate werden von der viralen RT nicht zur Synthese verwendet (BALTIMORE, 1970; SPIEGELMAN et al., 1970; TEMIN und MIZUTANI, 1970). Der stimulierende Effekt von ATP auf die DNA-Synthese mit RSV-RT (TEMIN und MIZUTANI, 1970; GARAPIN et al., 1970) ist wahrscheinlich indirekter Natur, indem das

ATP für noch aufgrund von Kontamination vorhandene Kinasen und Phosphatasen als Substrat dient und damit das dATP vor der Aktivität dieser Enzyme schützt. Für die DNA-Synthese steht somit eine größere dATP-Konzentration zur Verfügung.

Unerlässlich ist für die Aktivität der viralen DNA-Polymerase im Synthese-System außerdem ein divalentes Kation (Mg^{++} oder Mn). Ca kann weder Mg noch Mn ersetzen. Die optimalen Konzentrationen für Mg^{++} liegen im Bereich von 5 bis 10 mM und für Mn^{++} zwischen 0,5 und 2,0 mM (BALTIMORE, 1970; SPIEGELMAN et al., 1970; TEMIN und MIZUTANI, 1970; ABRELL und GALLO, 1973). Die Zugabe monovalenter Kationen ist nicht essentiell für die DNA-Polymerase-Aktivität, obgleich Konzentrationen von Na^+ oder K^+ bis ca. 100 mM einen leicht stimulierenden Effekt auf die DNA-Syntheserate zeigen. Höhere Konzentrationen hemmen die DNA-Polymerase-Aktivität in geringem Umfange.

Der optimale pH-Wert im DNA-Polymerase-System liegt für die verschiedenen untersuchten Viren im Bereich von 7,8 bis 8,0. Das Temperaturoptimum für die RT-Aktivität liegt bei Viren der Säugetiere zwischen 37° und $40^\circ C$ und für die Viren der Vögel zwischen 40° und $45^\circ C$. Ein reduzierendes Mittel wie Dithiothreitol oder beta-Mercapto-Äthanol ist für die volle Aktivität der DNA-Polymerase im endogenen System notwendig (BALTIMORE, 1970; SPIEGELMAN et al., 1970; TEMIN und MIZUTANI, 1970).

Aufgrund der Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen (BALTIMORE und SMOLER, 1971; GOODMAN und SPIEGELMAN, 1971; GALLO et al., 1972 a, b; ROBERT et al., 1972; WELLS et al., 1972; SARIN und GALLO, 1973, 1973a) erscheint es praktikabel, virale von zellulären DNA-Polymerasen aufgrund ihrer Affinität zu den verschiedenen Matrizen-Starter-Komplexen zu differenzieren (Tab. So transkribiert virale RT bevorzugt Oligo dT.Poly A und in noch höherem Maße Oligo dG.Poly rC (GALLO, 1972), während Oligo dT.Poly dA schlecht von den viralen Enzymen transkribiert wird. Doch auf die gamma-DNA-Polymerase, eine Polymerase zellulärer Herkunft, transkribiert Oligo dT.Poly A sehr gut. Die Matrize

Oligo dG.Poly rC wird dagegen von der gamma-Polymerase nur in geringem Umfang transkribiert. Einen Hinweis auf RT-Aktivität eines RNA-Tumorvirus gibt eine bevorzugte Transkribition von Oligo dT.Poly A gegenüber dem Matrizen-Orimer Oligo dT.Poly dA und eine effektive Transkription von Oligo dG.Poly rC (SARNGADHARAN et al., 1976).

Tabelle 6: Synthetische Starter-Matrizen-Komplexe für
gereinigte Reverse-Transkriptase
(nach SARNGADHARAN et al., 1976)

Starter-Matrize	Bevorzugt transkribierter Strang	Literatur
$(dT)_n \cdot (A)_m$	$(A)_n \cdot (dT)_m$ $(A)_n$	WELLS et al. (1972); GOODMAN u. SPIEGELMAN (1972); HURWITZ u. LEIS (1972); ROBERT et al. (1972); ABRELL u. GALLO (1973);
$(dA-dT)_n \cdot (dA)-$ $(dT)_n$	$(dA-dT)_n$	DUESBERG et al. (1971); WELLS et al. (1972); HURWITZ u. LEIS (1972);
$(dC)_n \cdot (dG)_m$	$(dC)_n$	WELLS et al. (1972); HURWITZ u. LEIS (1972);
$(dT)_{\sim 15} \cdot (A)_n$	$(A)_n$	GOODMAN u. SPIEGELMAN (1971); WELLS et al. (1972); ROBERT et al. (1972);
$(dG)_{\sim 15} \cdot (C)_n$	$(C)_n$	BALTIMORE u. SMOLER (1971); SARIN u. GALLO (1973);
$(dC)_{\sim 15} \cdot (I)_n$	$(I)_n$	BALTIMORE u. SMOLER (1971);
$(dG)_{\sim 15} \cdot (Cm)_n$	$(Cm)_n$	GERARD et al. (1974); GERARD (1975);

GERARD et al. (1974) zeigten, daß Poly (2¹-O-Methyl)-Cytidylat (Poly Cm) von der viralen RT effektiv transkribiert wird, dagegen von den zellulären alpha-, beta- und gamma-Polymerasen aus infizierten Zellen nicht transkribiert wird. Eine Übersicht über effektive synthetische Matrizen-Starter-Komplexe für gereinigte virale Reverse-Transkriptase zeigt die Tab. 7. Eine weitere Eigenschaft von Poly Cm ist, daß es gegen nukleolytische Degradierung resistenter ist als Poly C. Damit bietet die Matrize Poly Cm gegenüber der Matrize Poly C einen Vorteil, wenn die RT-Aktivität in ungereinigten Extrakten gemessen werden soll. Außerdem scheint der Matrizen-Starter-Komplex Poly Cm. (dG)[^],. spezifischer für die virale RT als Poly rC. (dG) zu sein (GERARD, 1975)•

Tabelle 7: DNA-Polymerase-Aktivität der Fraktion V-A(1): Reverse-Transkriptase
(0,23M KCL-Eluat der Phosphocellulose-Säule)

Volumen (ml) = 3,1
Gesamtprotein (mg) = 0,12

Matrize	Bivalentes Kation	³ H-dNTP	Einbau von ³ H-dNMP in die DNA	
			Gesamtaktivität (pMol/60 Min.)	Spezifische Aktivität (pMol/60 Min./mg Protein)
Poly (dA-dT)	Mg ⁺⁺	dTTP	27	224,80
	Mn ⁺⁺	dTTP	5	38,50
Poly rA.dT ₁₂	Mg ⁺⁺	dTTP	209	1.741,20
	Mn ⁺⁺	dTTP	185	1.355,00
Poly dA.dT ₁₀	Mg ⁺⁺	dTTP	41	0,01
	Mn ⁺⁺	dTTP	41	7,90
Poly rC.dG ₁₂	Mg ⁺⁺	dGTP	195	1.623,30
	Mn ⁺⁺	dGTP	247	2.060,10
aktivierte DNA	Mg ⁺⁺	dTTP	4	30,80

3.4 BEDgUTTGW=DgR_REVE^

MARKER BEI MENSCHLICHEN NEOPLASIEN

Der Nachweis biologisch aktiver Viren in Huraantumoren ist sehr schwierig. Eine konstante Beobachtung zahlreicher Laboratorien ist die Tatsache, daß im Gegensatz zu den onkogenen Viren der Tiere einschließlich der Primaten, die onkogenen Viren der menschlichen Gewebe zwar stark transformierend, in ihrer Replikation jedoch sehr beschränkt sind. Die eingeschränkte Replikationsfähigkeit der Viren wurde u.a. dadurch erwiesen, daß man in Leukämiezellen unreife intrazytoplasmatische Viren gefunden hat, die als A-Partikel bezeichnet werden und als Vorläufer der C-Typ-Viren anzusehen sind (TODARO und GALLO, 1973; GALLO et al., 1973 und 1975)« Diese Partikel sind nicht in der Lage, die normalen menschlichen Lymphozyten zu infizieren. Auch bei anderen virusähnlichen Partikeln, die aus Mammatumoren isoliert wurden, konnte man bislang keinen Beweis für ihre Infektiosität liefern. Im Gegensatz dazu ist es in einem Fall gelungen (GALLO et al., 1975), menschliche Lymphozyten durch Viruspartikel, die aus dem Blut einer Patientin mit AML isoliert wurden, zu infizieren. Auch wenn man in einigen Humantumoren solche unreifen Viren identifizieren konnte, wurden diese Partikel nicht genügend charakterisiert, um ihre Rolle bei der Onkogenese festlegen zu können. Diese Schwierigkeiten bei der Untersuchung menschlicher Tumoren kann man überwinden, indem man sogenannte virale Marker aus Tumoren zu isolieren versucht. Dabei erwiesen sich zwei virale Komponenten als besonders geeignet, um bei der Suche nach viraler Information als virale Marker zu fungieren:

1. die 70 S RNA bzw. high-molecular-weight RNA (HMW-RNA) und
2. die Reverse Transkriptase der RNA-Tumorviren.

Diese Marker beweisen eine virale Beteiligung bei der Onkogenese jedoch nur, wenn sie hochgereinigt dargestellt bestimmte Eigenschaften aufweisen. Der Nachweis und die

Charakterisierung schon einer dieser beiden viralen Marker wird zur Zeit als sicherer Hinweis für eine virale Beteiligung bei der Onkogenese des untersuchten Tumors betrachtet (SARNGADHARAN et al., 1972; TODARO und GALLO, 1973; GALLAGHER et al., 1974 und MONDAL et al., 1975).

Im wesentlichen beruht der Nachweis viraler Spuren in menschlichen Tumorzellen, die onkogenetisch von Bedeutung sind, auf zwei molekularbiologischen Methoden. Beide Methoden benutzen direkt oder indirekt die Funktion der RT. Die eine Methode, die von SPIEGELMAN et al. (1974) eingeführt wurde, basiert auf der molekularen Hybridisierung von Nukleinsäuren aus RNA-Tumorviren tierischen Ursprungs und aus menschlichen Tumorzellen. Diese Studien wurden mit stark markierter DNA durchgeführt, die das Produkt der endogenen DNA-Synthese mit RT war. Diese DNA wurde dann dazu benutzt, homologe Sequenzen in der DNA menschlicher Tumorzellen zu entdecken. Die Experimente mit der molekularen Hybridisierungstechnik ermöglichen theoretisch die Entdeckung und Identifizierung viraler Sequenzen im Genom menschlicher Tumorzellen. Diese Ergebnisse sind jedoch bisher mehr suggestiver Natur. Sie zeigen die Anwesenheit komplementärer Sequenzen, die mit Nukleinsäuren einiger tierischer Tumorviren verwandt sind. Trotz exzellenter Methodik darf jedoch nicht verschwiegen werden, daß die Anzahl komplementärer Sequenzen, die verglichen mit negativen Kontrollen gefunden wurde, gering ist. Außerdem ist die Proliferation normaler und maligner Zellen unterschiedlich, so daß es bisher nicht sicher ist, ob die komplementären Sequenzen auf die unterschiedliche Proliferation oder auf die maligne Transformation der Zellen zurückzuführen sind (CHANDRA et al. 1970). Mit der zweiten Methode, die direkter Natur ist, wird nach einem spezifischen viralen Protein in menschlichen Tumorzellen oder Tumorgewebe gesucht. Das spezifische virale Protein ist die virale Reverse Transkriptase. Diese Methode wurde erstmals von GALLO et al. (1970) erfolgreich bei menschlichen Geweben angewendet. Sie entdeckten eine Reverse Transkriptase-Aktivität in frischen menschlichen Lymphozyten aus dem Blut von Patienten mit Leukämie. Dieses Enzym katalysiert

die RNA-abhängige DNA-Synthese. Es ist in allen onkogenen RNA-Tumoviren vorhanden und seine bedeutende Rolle bei der Transformierung von Zellen durch RNA-Tumoviren kann als gesichert gelten (HANAFUSA und HANAFUSA, 1971? HANAFUSA et al., 1972; MASON et al., 1974; VERMA et al., 197^a; VARMUS et al., 197^a; LEIS et al., 1975; TRONICK et al., 1975). Daher wird die Isolierung, Reinigung und hinreichende Charakterisierung der RT als Beweis für eine virale Komponente in den untersuchten Tumorgeweben gedeutet. Viel Verwirrung stifteten in diesem Zusammenhang Berichte von angeblich RNA-abhängigen DNA Polymerasen auch in normalen, nicht virusinfizierten Zellen. Derartige Berichte basierten jedoch zumeist auf der unkritischen Verwendung von weniger spezifischen synthetischen Matrizen oder von ungenügend charakterisierten und wahrscheinlich mit DNA kontaminierten RNA-Präparationen (HEHLMANN, 1976) Bei der Reinigung und Charakterisierung der Reversen Transkriptase werden bis heute derartige Fortschritte gemacht, daß jetzt diesem ältesten viralen Marker noch oder wieder eine große Bedeutung bei der Suche nach viralen Komponenten in menschlichen Neoplasien zukommt. Die Verfeinerung der Methoden hat dazu geführt, daß eine ganze Reihe von Kriterien aufgestellt wurden, die bei der Charakterisierung einer RT erfüllt werden müssen.

In Anlehnung an SARIN und GALLO (1973 a, b) lassen sich folgende Charakteristika der RT auflisten, deren Nachweis immer die Grundlage für die Identifizierung einer Reversen Transkriptase-Aktivität in menschlichen Tumorzellen sein sollte:

1. Das Enzym muß sich bei der Gelelektrophorese als ein einheitliches Protein darstellen.
2. Partiiell gereinigt soll das Enzym in der Lage sein, unter endogenen Bedingungen die DNA-Synthese durchzuführen, die durch RNase blockiert werden kann.

- 3- Die Analyse der Produkte, die unter endogenen Bedingungen gebildet werden, zeigt RNA-DNA-Hybride als Beweis für die Transkription eines RNA-Stranges.
4. Die synthetisierte DNA läßt sich mit einer 70 S-RNA aus Tumurviren hybridisieren.
- 5- Die gereinigte Reverse Transkriptase kopiert den Matrizen-Starter-Komplex Poly rA. $(dT)^2$ wesentlich besser als Poly dA. $(dT)^1$.
6. Die gereinigte Transkriptase transkribiert die Matrize Poly rC gut.
7. Sie kann heteropolymere Abschnitte der viralen 70 S RNA gut transkribieren.

Der Nachweis der aufgelisteten Eigenschaften wird allgemein als Beweis für die Identifizierung einer viralen Reversen Transkriptase anerkannt (GALLO et al., 1975 und 1976 a). Anhand der bisher erwähnten Charakteristika läßt sich die Frage, ob die virale Information endogener oder exogener Natur ist, nicht beantworten. Dazu ist die serologische Charakterisierung der RT unumgänglich. Damit kann man die immunologische Verwandtschaft der isolierten RT mit anderen RT aus Tumurviren, z. B. von Primaten, darstellen (GALLAGHER et al., 1974; MONDAL et al., 1975). Auch ist die immunologische Unterscheidung von den normalen zellulären alpha-, beta- und gamma-Polymerasen möglich (GALLO et al., 1975)- Zusammengefaßt bedeutet dies: Eine RT ist erst ausreichend charakterisiert, wenn sie hochgereinigt dargestellt werden kann und sowohl biochemisch als auch immunologisch nach den oben genannten Kriterien untersucht worden ist.

Wir konnten (CHANDRA et al., 1978 a, 1978 b) durch eine Reihe von Experimenten zur immunologischen Charakterisierung der RT aus menschlichem Tumorgewebe interessante Resultate

erzielen. So wurde u. a. gezeigt, daß die RT aus einer Myelofibrosemilz und dem Orbitaltumor eines AMML (akute myelomonozytäre Leukämie)-Patienten serologisch mit SiSV und BaLV verwandt ist. Im Gegensatz dazu zeigte das Enzym aus menschlichem Melanom mit keinem der oben angeführten Primaten (also auch menschlichen) Enzymen eine Kreuzreaktion. Es ist anzunehmen, daß an den genannten malignen Erkrankungen C-Typ-Viren beteiligt sind. Die Untersuchungen bieten somit Hinweis daß auch innerhalb menschenpathogener C-Typ-Viren eine Subgruppenspezifität ausgeprägt ist.

4. |R^BNISSE_|IGENER_UNTERSUCHUNG|N

4.1 ISOLIERUNG_UND_REIN^

AUS_^ELOFIBROTISCHER_MILZ

Zur Isolierung und Identifizierung der viralen RT aus Tumorzellen wurden mehrere Methoden angewendet (ABRELL und GALLO, 1973; GALLAGHER et al., 1974; GREEN und GERARD, 1974; GALLO et al., 1975; ALLAUDEEN et al., 1976; SARNGADHARAN et al., 1976).

Prinzipiell kann man diese Methoden in zwei Gruppen einteilen

Zur ersten Gruppe gehören die Methoden, bei denen zuerst eine subzelluläre Partikelkomponente hergestellt wird, in der die RT-Aktivität angereichert ist. Aus dieser Fraktion kann man die RT mittels Sepharose-Chromatographie und wiederholte Saccharose-Dichtegradienten-Zentrifugation weiter reinigen (GALLO et al., 1973; GALLAGHER et al., 1974; WITKIN et al., 1975).

In die zweite Gruppe gehören die Methoden, bei denen das gesamte Zellysat ohne vorherige Fraktionierung in Partikel verwendet wird. Die Methode hat den Vorteil, daß man nicht nur die RT, sondern auch die anderen zellulären DNA-Polymerasen reinigen kann (WEISSBACH et al., 1971; McCAFFREY et al., 1973; LEWIS et al., 1974 a; GALLO et al., 1975). Die von LEWIS

et al. (1974 a) entwickelte Methode geht von der Beobachtung aus, daß eine hochtourige Fraktion (Überstand) aus lysierten Leukozyten sowohl die RT als auch die zellulären DNA-Polymerasen enthält. Die Auftrennung der einzelnen zellulären DNA-Polymerasen aus menschlichen Zellen gelang LEWIS et al. (1974a). Sie konnten aus den mit SiSV infizierten Zellen (human lymphoblastoid Stamm NC-37) alle drei zellulären DNA-Polymerasen (alpha, beta und gamma) und die virale RT reinigen.

Mit der von uns angewandten Methode, die in der Abb. 3 schematisch dargestellt ist, konnten wir in der Milz des Patienten vier verschiedene DNA-Polymerasen, nämlich die zellulären DNA-Polymerasen alpha, beta und gamma und eine RT nachweisen.

Unter Verwendung von Template-Primern bestimmter Zusammensetzung kann man die Enzymaktivitäten einzelner DNA-Polymerasen differenzieren. Nach den Ergebnissen von CHANG und BOLLUM (1972) und denen von LEWIS et al. (1974 a, b) ist bekannt, daß Poly rC.oligo dG für die RT, Poly dA.oligo dT für die beta-Polymerase, aktivierte DNA für die alpha-Polymerase und Poly rA.oligo dT für die gamma-Polymerase am besten geeignet ist. Dagegen wird Poly (dA-dT) von fast allen DNA-Polymerasen gut transkribiert.

Die Auftragung der Fraktion IV-A (siehe Abb. 3) auf eine Phosphozellulose-Säule und anschließend die Eluierung der Säule mit einem linearen Gradienten der KCl-Lösung führt zu einer Trennung der beta-DNA-Polymerase und der RT, wie aus Abb. k ersichtlich ist. Mißt man die enzymatischen Aktivitäten in den einzelnen Fraktionen, so erhält man, wie aus der Abb. zu entnehmen ist, zwei Peaks, die in ihrer Matrizen-spezifität sich unterschiedlich verhalten. Poly rA.dT⁻-abhängige enzymatische Aktivität wird bei einer 0,23 M KCl-Lösung eluiert, dagegen wird die Poly dA.dT⁻-abhängige Aktivität bei einer 0,51 M KCl-Lösung eluiert. Da bei diesen Fraktionen die gamma-Aktivität abwesend ist, haben wir die Poly rA.dT⁻-abhängige Aktivität als Nachweis der RT verwendet.

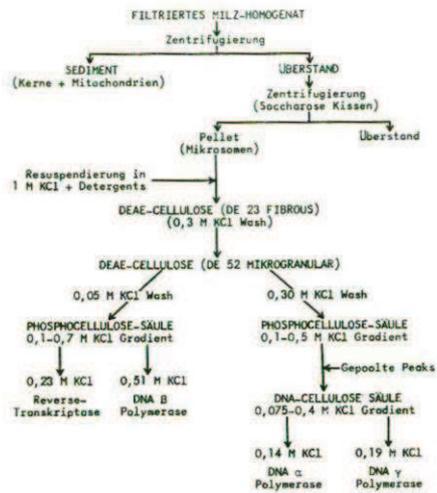


Abb. 3

Schematische Darstellung der Methode zur Isolierung und Reinigung von DNA-Polymerasen aus myelofibrotischer Milz

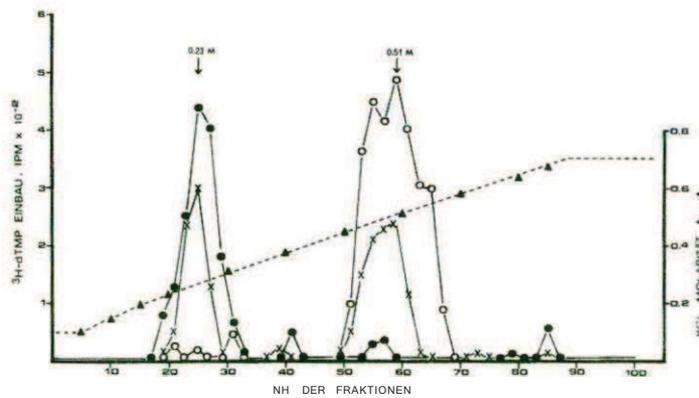


Abb. k

Phosphocellulose-Chromatographie der Fraktion IV-A (0,05M KCl-Eluat der DEA 52-Cellulose-Säule) 100 Fraktionen (je 2 ml) wurden gesammelt und jede zweite Fraktion auf DNA-Polymerase-Aktivität getestet.

- —● Poly rA.dT₁₂, Mn⁺⁺
- x —x Poly (dA-dT), Mn⁺⁺
- o —o Poly dA.dT₁₀, Mn⁺⁺

4.2 BIOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG

REVERSE-TRANSKRIPTASE

Die Matrixspezifität und die Ionenabhängigkeit der RT, die bei der 0,23 M KCl-Konzentration eluiert wurde, sind in der Tab. 7 zusammengestellt. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, erhält man die höchste spezifische Aktivität in Anwesenheit von Poly rC.dC²* Gleichzeitig ist auch ersichtlich, daß bei diesen Untersuchungen die manganabhängige Aktivität etwas höher liegt, als die, die von Mg⁺⁺-Ionen katalysiert wird. Ein charakteristisches Merkmal dieser Tabelle ist die Tatsache, daß diese Enzymfraktion kaum in der Lage ist, Poly dA.dT^Q als Matrize zu verwenden.

Wie in der Literatur erwähnt, dient dieses negative Ergebnis zur Charakterisierung der RT. Von GALLO und Mitarbeitern wurde dies als "negative probe" für die RT bezeichnet (GALLO et al., 1975).

Das pH-Optimum der zellulären DNA-Polymerasen und der RT sind in den Abbildungen 5A bis 5D angegeben. Demnach liegt das pH-Optimum der /<-DNA-Polymerase um etwa 7,4; das der RT etwa um 7,5« Dagegen liegen die pH-Optima der gamma- und beta-DNA-Polymerasen höher. In einer neueren Arbeit haben STALKER et al. (1976) die beta-DNA-Polymerasen aus dem NOVIKOFF-Hepatom gereinigt und festgestellt, daß die optimale Aktivität bei einem pH-Wert von 8,4 liegt.

Führt man die enzymatischen Reaktionen unter optimalen Bedingungen, wie Temperatur, pH-Wert, Inkubationszeit usw. durch, so kann man in Anwesenheit der spezifischen Matrizen die maximalen Aktivitäten der einzelnen DNA-Polymerasen erzielen. Unter diesen Bedingungen haben wir die Affinitäten der einzelnen Enzyme zu ihrer spezifischen Matrize gemessen (Tab. 8).

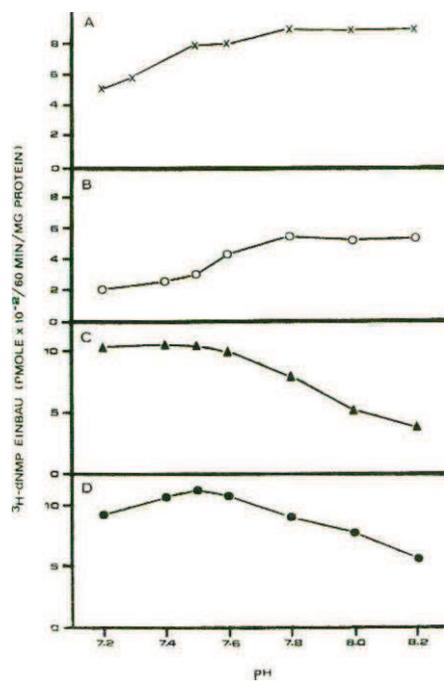


Abb. 5

Einfluß verschiedener (H^+)-Ionenkonzentration auf die Reverse Transkriptase - sowie DNA-Polymerasen β »• Aktivität.
Der pH-Bereich wurde in diesem Testsystem von pH 7,2 bis 8,2 variiert.

- A: Polymerase δ , Poly rA.dT₁₂, Mn⁺⁺
 B: Polymerase β , Poly dA.dT₁₀, Mn⁺⁺
 C: Polymerase α , aktivierte DNA, Mg⁺⁺
 D: Reverse Transkriptase, Poly rC.dG₁₂, Mn⁺⁺

Tabelle 8: K_m -Werte der zellulären DNA-Polymerasen und der Reverse-Transkriptase aus myelofibrotischer Milz

Enzym	Matrizen-Primer	$^3\text{H-dNTP}$	K_m [M]
Polymerase α	aktivierte DNA	dTTP	$1,67 \times 10^{-5}$
Polymerase β	Poly dA.dT ₁₀	dTTP	$9,80 \times 10^{-6}$
Polymerase γ	Poly rA.dT ₁₂	dTTP	$9,35 \times 10^{-6}$
Reverse Transkriptase	Poly rC.dG ₁₂	dGTP	$1,82 \times 10^{-5}$

Die graphische Darstellung der kinetischen Daten nach LINEWEAVER-BURK ergab einen K_m -Wert für die alpha-DNA-Polymerase von $1,67 \times 10^{-5}$ M. Bei diesen Untersuchungen wurde aktivierte DNA als Matrize verwendet und bei dieser Reaktion wurde der Einbau von $^3\text{H-dTTP}$ in der DNA untersucht. Ähnlich ergab die graphische Darstellung der kinetischen Daten nach LINEWEAVER-BURK einen K_m -Wert von $9,8 \times 10^{-6}$ M für die beta-DNA-Polymerase. Bei diesen Untersuchungen wurde der Einbau von $^3\text{H-dTTP}$ in Gegenwart von Poly dA.dT₁₀ gemessen. Der K_m -Wert für die gamma-DNA-Polymerase in Gegenwart von Poly rA.dT (Tab. 9) ist $9,35 \times 10^{-6}$ M. Der K_m -Wert für die RT in Gegenwart von Poly rC.dG ist $1,82 \times 10^{-5}$ M (Tab. 9)-

Zur weiteren Charakterisierung der zellulären DNA-Polymerasen und der RT wurden die Molekulargewichtsbestimmungen (MG) durchgeführt. Die Sedimentationsprofile der alpha-, beta- und gamma-DNA-Polymerasen in einem linearen Saccharose-Gradienten sind in der Abb. 6 dargestellt. Bei diesen Untersuchungen haben wir drei Marker verwendet, nämlich Hühneralbumin (MG 45 000), Bovinserumalbumin (MG 67 000) und Aldolase (MG 147 000). Da die aufgetragenen Mengen der Enzyme sehr gering waren, haben wir die Sedimentation der Enzymfraktion aufgrund ihrer Aktivitäten festgestellt. Die alpha-DNA-Polymerase-Aktivität erscheint in einem Bereich, in dem die Sedimentation der Aldolase festgestellt wird. Daraus ist zu entnehmen, daß das MG der alpha-DNA-Polymerase bei etwa 150 000 liegt. Die beta-DNA-Polymerase-Aktivität erscheint in einem Bereich, in dem das Hühneralbumin sedimentiert. Daraus ist zu entnehmen, daß das MG der beta-DNA-Polymerase in etwa 40 000 ist. Die gamma-DNA-Polymerase-Aktivität wurde etwa in der Mitte des Gradienten gefunden (Abb. 6). Das MG der gamma-DNA-Polymerase liegt bei etwa 100 000.

Die Molekulargewichtsbestimmung der RT haben wir sowohl mit Hilfe der Gelelektrophorese als auch mit der Dichtegradienten-Zentrifugation durchgeführt. In beiden Fällen haben wir drei Marker verwendet, nämlich Hühneralbumin (MG 45 000), Bovinserumalbumin (MG 67 000) und Aldolase (MG 147 000). Die Molekulargewichtsbestimmung mit Hilfe der Disc-Gelelektrophorese zeigte, daß das MG der RT um etwa 67 000 liegt. Weiterhin fanden wir bei der Trennung der RT, daß es sich um ein einheitliches Protein handelt. Die MG-Bestimmung mit Hilfe der Dichtegradienten-Zentrifugation unter Verwendung von Glyceringradienten ist in der Abb. 7 angegeben. Bei diesen Untersuchungen haben wir die Sedimentation der einzelnen Marker aufgrund ihrer optischen Dichte gemessen. Dagegen wurde die Sedimentation der Enzymfraktion aufgrund ihrer Aktivität gemessen (Abb. 7 b). Aus dieser Abbildung geht hervor, daß das MG der Reversen Transkriptase um etwa 70 000 liegt. Außer der von uns gereinigten RT sind bisher noch vier andere RT

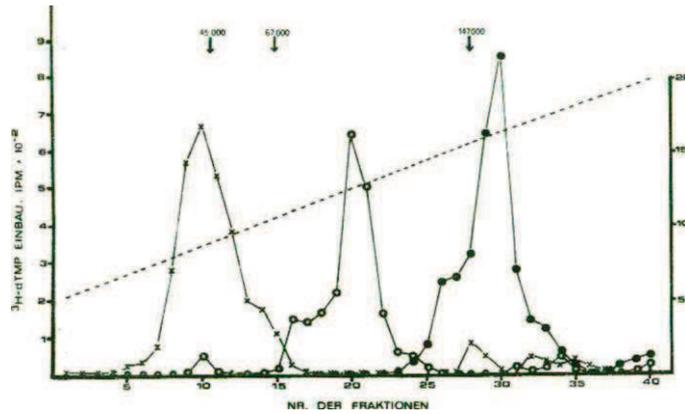


Abb. 6

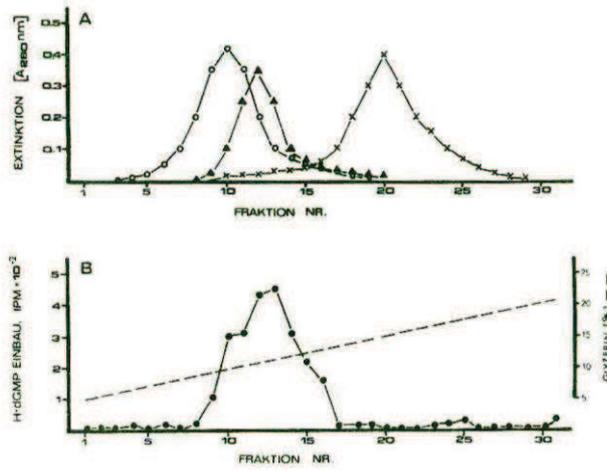


Abb. 7

Legenden zu den Abbildungen

Abb. 6: Analyse von verschiedenen DNA-Polymerasen, die aus myelofibrotischer Milz isoliert wurden mittels Saccharose-Dichte-Gradientenzentrifugation. Als Referenzproteine dienten Eialbumin, BSA und Aldolase. Die Pfeile () zeigen, wo sich die Regionen der drei Referenzproteine im Saccharose-Gradienten befinden. Eialbumin (MG 45 000); BSA (MG 67 000); Aldolase (MG 147 000).

● ——— ● Polymerase α , aktivierte DNA, Mg^{++}
 x ——— x Polymerase β , Poly dA.dT₁₀, Mn^{++}
 o ——— o Polymerase γ , Poly rA.dT₁₂, Mn^{++}
 ----- Saccharose-Konzentration in Prozent

Abb. 7i Analyse der gereinigten Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer Milz mittels Glyzerin-Dichte-Gradientenzentrifugation. Als Referenzproteine dienten Eialbumin, Aldolase und BSA.

A: o ——— o Eialbumin (MG 45 000);
 ▲ ——— ▲ BSA (MG 67 000);
 x ——— x Aldolase (MG 147 000);
 B: ● ——— ● Einbau von ³H-dGTP in die DNA
 (Poly rC.dG₁₂, Mn^{++})
 ----- Glyzerin-Konzentration in Prozent

Abb. 8: Einfluß verschiedener KCl-Konzentrationen auf die Reverse Transkriptase-Aktivität aus myelofibrotischer Milz. Der Einfluß der KCl-Konzentration (0-200 mM) auf die Enzymaktivität wurde untersucht.

Abb. 9: Einfluß verschiedener Mn^{++} -Konzentrationen auf die Reverse Transkriptase-Aktivität aus myelofibrotischer Milz. Der Mn^{++} -Bereich wurde in diesem Testsystem von 0 bis 8,0 mM variiert.

● ——— ● als Matrizen-Primer wurde Poly rA.dT₁₂ verwendet.
 o ——— o als Matrizen-Primer wurde Poly rC.dG₁₂ verwendet.

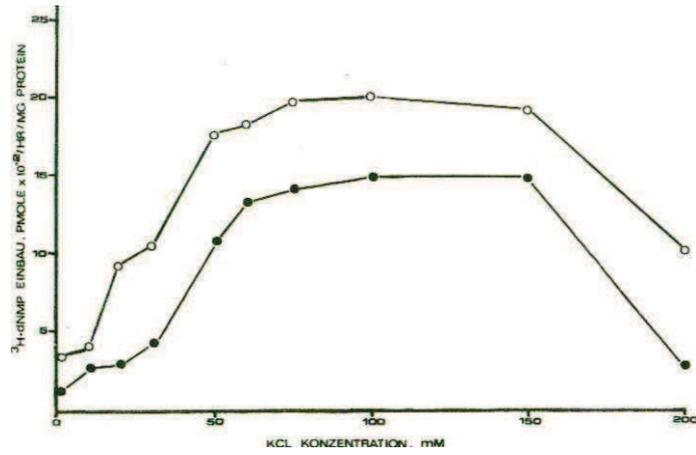


Abb. 8

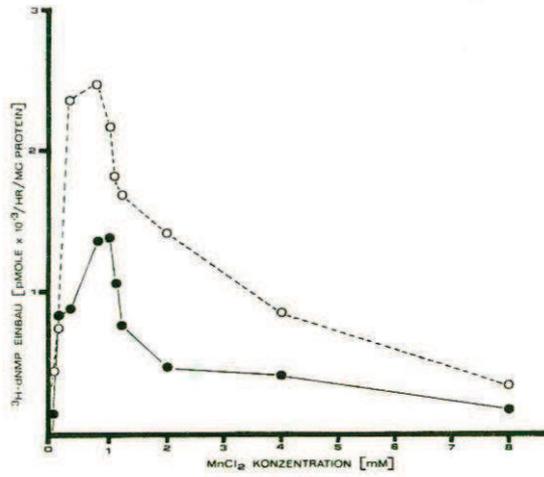


Abb. 9

aus menschlichem Gewebe bzw. menschlichen Zellen gereinigt worden. Bei diesen RT handelt es sich um die RT aus Lymphozyten von Leukämiepatienten (MG 70 000 bzw. 137 000), (GALLO et al., 1975) i aus Milz an chronisch lymphatischer Leukämie erkrankten Patienten (MG 70 000), (WITKIN et al., 1975), aus menschlichem Mammakarzinom (MG 70 000), (OHNO et al., 1975), aus dem menschlichen Melanomgewebe (MG 70 000), (CHANDRA et al., 1978 a) und aus einem kindlichen Osteosarkom (MG 70 000) (EBENER et al., 1979)•

Im Gegensatz zu der zellulären DNA-Polymerase spielt die Ionen-Spezifität bei der RT eine große Rolle. Aufgrund ihrer Ionenabhängigkeit kann man die einzelnen RT sogar ihrem Ursprung zuordnen. Aus einer Vielzahl von Arbeiten (siehe GILLESPIE, SAXINGER und GALLO, 1975) ist bekannt, daß die Ionenabhängigkeit der RT aus Avian-Viren, murinen Viren und Primaten-Viren sehr unterschiedlich sind. Wir haben deshalb die Ionenabhängigkeit der RT ausführlich untersucht. Bei diesen Untersuchungen haben wir sowohl monovalente Ionen (KCl) als auch bivalente Ionen (Mg^{++} - und Mn^{++} -Ionen) herangezogen. Die Beeinflussung der enzymatischen Aktivität durch Kaliumchlorid ist in der Abb. 8 dargestellt. Bei diesen Untersuchungen haben wir die Ionenabhängigkeit der Poly rA-dT[^] und Poly rC.oligo dG-abhängigen Aktivitäten gemessen. Wie aus der Abb. 8 hervorgeht, liegt das Optimum beide Male in etwa dem gleichen Bereich. Nach dem Kurvenverlauf konnte man von einer minimalen und auch maximalen Konzentration sprechen. Dazwischen ist der Kurvenverlauf recht schwach, so daß man annehmen kann, daß in diesem breiten Bereich die optimale enzymatische Aktivität gleich bleibt. Dieser flache Bereich liegt etwa zwischen 50 und 150 mMol. Auch bei den Mg^{++} -Ionen haben wir in einem bestimmten Bereich diese flache Kurve beobachtet. Hier war ebenfalls der Kurvenverlauf bei den beiden Matrizen etwa der gleiche. Die höchste enzymatische Aktivität wurde in einem Bereich von 8 - 10 mMol Mg^{++} -Konzentration beobachtet. In Gegenwart von Mn^{++} -Ionen fanden wir jedoch eine sehr starke Konzentrationsabhängigkeit der enzyma-

tischen Aktivität. Der Konzentrationsbereich, um optimale Aktivitäten zu erzielen, ist im Falle der Mangan-Ionen viel enger als die Ionenabhängigkeit bei Kaliumchlorid oder Magnesiumchlorid. Weiterhin ist aus der Abb. 9 ersichtlich, daß die optimale Transkribierung der Matrize Poly rA.dT⁺ etwas größere Mengen an Mangan-Ionen benötigt, im Gegensatz zu der Transkribierung der Poly rC.oligo dG-Matrize. In beiden Fällen liegen die optimalen Aktivitäten in einem Bereich von 0,8 bis 1 mM-Mengen von Mangan-Ionen.

Ein Vergleich der Ionenabhängigkeit von verschiedener RT menschlicher Herkunft zeigt, daß die Enzymaktivität sowohl von Magnesium als auch von Mangan abhängig ist. So zeigte die RT aus den Lymphozyten von Leukämiepatienten optimale Aktivität mit Mangan-Ionen in einer Konzentration von 1,0 mM (GILLESPIE et al., 1975)- Die RT aus der Milz von Leukämiepatienten (CLL) bevorzugt Magnesium-Ionen in einer Konzentration von 6,0 mM (WITKIN et al., 1975), während die RT aus einem Orbitatumor bei akuter myelomonozytärer Leukämie mit Mn⁺⁺-Ionen bei einer Konzentration von 0,4 mM die höchste Aktivität zeigte (CHANDRA et al., 1978). Die aus dem Knochenmark von Patienten mit Polycythaemia vera isolierte RT bevorzugte eine Mn⁺⁺-Ionenkonzentration von 1,0 mM und die aus menschlichem Mamma-Karzinom isolierte RT zeigte mit Magnesium-Ionen (5,0 mM) die höchste Aktivität (OHNO et al., 1977). In der Abb. 10 ist noch einmal vergleichend die Matrizen- und Ionenspezifität der isolierten RT aus der myelofibrotischen Milz dargestellt. Wie aus der Abbildung ersichtlich, zeigt besonders die Poly rC.(dG)⁺ gesteuerte DNA-Synthese unserer RT eine ausgeprägte Mangan-Ionen-Abhängigkeit. Das Fehlen von Mn⁺⁺-Ionen reduzierte die RT-Aktivität bei sonst optimalen Reaktionsbedingungen um 99,85 %. Außerdem ist aus der Abbildung 10 ersichtlich, daß die Poly (dA-dT) gesteuerte RT-Aktivität nur mit Magnesium-Ionen effektiv ist.

In der Tabelle 9 a ist eine Übersicht der Ionenpräferenzen und -optima der einzelnen RT, die bisher aus menschlichen

Tumoren isoliert werden konnten, zusammengestellt. Ferner sind die Ionenabhängigkeiten der RT der Primatenviren BEV, GaLV und SiSV und von AMV tabellarisch aufgezeigt (Tab. 9b).

Tabelle 9a: Darstellung der Ionenabhängigkeit verschiedener Reverse-Transkriptase
(zusammengestellt aus der Literatur)

Reverse Transkriptase isoliert aus	Matrizen-Starter	Optimale Ionen- konzentration (mM)	Bevorzugtes bivalentes Kation	Zitierte Litera- turstellen
MF ^{a)}	Poly rA. (dT) ₁₂	Mg ⁺⁺ 10,0	Mg >> Mn	siehe Text
		Mn ⁺⁺ 1,0		
	Poly rC. (dG) ₁₂	Mg ⁺⁺ 10,0	Mn >> Mg	siehe Text
		Mn ⁺⁺ 0,8		
AMML ^{b)}	Poly rA. (dT) ₁₂₋₁₈	Mg ⁺⁺ NG	Mn >> Mg	GALLAGHER et al. (1974)
		Mn ⁺⁺ 1,0		
AMML ^{c)}	Poly rA. (dT) ₁₂ u. Poly rC. (dG) ₁₂	Mg ⁺⁺ 8,0	Mn >> Mg	CHANDRA et al. (1978)
		Mn ⁺⁺ 0,4		
CLL ^{d)}	Poly rA. oligo dT	Mg ⁺⁺ 6,0	Mg >> Mn	WITKIN et al. (1975)
		Mn ⁺⁺ 0,5-1,2		
PCV ^{e)}	Poly rA. (dT) ₁₀	Mg ⁺⁺ 5,0	Mn >> Mg	WEIMANN et al. (1975)
		Mn ⁺⁺ 1,0		

Tabelle 9b:

Reverse Transkriptase isoliert aus	Matrizen-Starter	Optimale Ionenkonzentration (mM)	Bevorzugtes bivalentes Kation	Zitierte Literaturstellen
HBC ^{f)}	Poly rA.oligo dT	Mg ⁺⁺ 5,0 Mn ⁺⁺ 0,8	Mg >> Mn	OHNO et al. (1977)
SiSV ^{g)}	Poly rA.poly dT	Mg ⁺⁺ 5,0 Mn ⁺⁺ 1,0	Mn >> Mg	ABRELL und GALLO (1973)
GalV ^{h)}	70 S RNA (GalV)	Mg ⁺⁺ 5,0 Mn ⁺⁺ 1,5	Mn >> Mg	HAREWOOD et al. (1975)
AMV ⁱ⁾	Poly rA.oligo dT	Mg ⁺⁺ 4,0 Mn ⁺⁺ 0,3	Mn >> Mg	KIESSLING und GOULIAN (1976)
	Poly rC.oligo dG	Mg ⁺⁺ 4,0 Mn ⁺⁺ 0,5	Mg >> Mn	
BEV ^{k)}	Poly rA.(dT) ₁₂₋₁₈	Mg ⁺⁺ 10,0 Mn ⁺⁺ 0,8	Mn >> Mg	MAYER et al. (1974)

Erklärung der Indicies a) bis k) aus der Tabelle 9 (a, b)

- a) MF = Myelofibrose, RT* isoliert aus der Milz eines an Myelofibrose erkrankten Kindes
- b) AMML = akute myelomonozytäre Leukämie, RT* isoliert aus Leukozyten von Leukämiepatienten mit AMML
- c) AMML = akute myelomonozytäre Leukämie, RT* isoliert aus der Milz eines an AMML erkrankten Kindes
- d) CLL = chronisch lymphatische Leukämie, RT* isoliert aus der Milz eines an CLL erkrankten Patienten
- e) PCV = Polycythaemia vera, RT* isoliert aus einer Zelllinie aus dem Knochenmark eines Patienten mit PCV
- f) HBC = human breast cancer, RT* isoliert aus Partikeln menschlicher Mamma-Karzinome
- g) SiSV = Simian-Sarkom-Virus, RT* isoliert aus dem Tumorstoff bei dem Primaten Woolly Monkey (Altweltaffenart)
- h) GaLV = Gibbon-Ape-Leukämie-Virus, RT* isoliert aus dem Leukämievirus von Gibbon Ape (Neuweltaffenart)
- i) AMV = Avian-Myeloblastose-Virus, RT* isoliert aus dem Myeloblastose-Virus der Vögel
- k) BEV = Baboon-Endogen-Virus, RT* isoliert aus einem endogenen Pavianvirus in normaler Plazenta von Rhesusaffen

*RT = Reverse Transkriptase

Ein weiteres Charakteristikum der viralen RT ist die Fähigkeit dieses Enzyms, die virale RNA zu transkribieren. Bei dieser viralen RNA handelt es sich um 70 S RNA, die ausschließlich in den Oncorna-Viren vorhanden ist. Bislang gibt es keine Untersuchungen, die belegen, daß irgend ein Enzym außer der RT in der Lage ist, die 70 S-RNA zu transkribieren. Diese Aussage ist insbesondere für die Abgrenzung gegenüber der gamma-DNA-Polymerase wichtig. Wie früher berichtet, (ROBERT-GUROFF et al., 1977), ist auch die gamma-DNA-Polymerase in der Lage, die RNA-Matrize zu transkribieren. Beide Enzyme lassen sich aber eindeutig dadurch unterscheiden, daß nur die RT die Möglichkeit besitzt, 70 S-RNA zu transkribieren. Die Transkription der 70 S-RNA aus R (Mu)LV ist in Tab. 10 beschrieben. Bei diesen Untersuchungen haben wir sowohl den Einbau von $^3\text{HdGMP}$ als auch von $^3\text{HdTMP}$ untersucht.

Tabelle 10: Matrizenaktivität einer 70 S RNA aus R(Mu)LV* in Gegenwart von gamma-DNA-Polymerase und Reverse-Transkriptase aus der Milz

Matrizen- Primer	Einbau von $^3\text{H-dNMP}$ in die DNA (pMol/60 Min./mg Prote- in) in Gegenwart von:			
	DNA Polymerase (Y)		Reverse Transkriptase	
	$^3\text{H-dGMP}$	$^3\text{H-dTMP}$	$^3\text{H-dGMP}$	$^3\text{H-dTMP}$
70 S-RNA	0,01	13,70	4,90	74,70
70 S-RNA + p(dT) ₁₂₋₁₈	0,01	0,01	43,40	146,40
p(dT) ₁₂₋₁₈	0,01	0,01	0,01	0,01

*R(Mu)LV = RAUSCHER-MURIN-Leukämievirus

Dies war wichtig, um zu zeigen, daß es sich bei der Transkription um die Transkribierung der heteropolymeren Regionen handelt. Wie aus den Ergebnissen hervorgeht, wird die 70 S-RNA von der RT transkribiert, wobei sowohl $^3\text{HdGMP}$ als auch $^3\text{HdTMP}$ eingebaut wird. Dagegen ist die gamma-DNA-Polymerase nicht in der Lage, in Anwesenheit von 70 S-RNA $^3\text{HdGMP}$ in die DNA einzubauen, obwohl $^3\text{HdTMP}$ in geringeren Mengen auch von der gamma-DNA-Polymerase eingebaut wird. Fügt man zu der Reaktion oligo dT hinzu, so läßt sich die Transkription der 70 S-RNA durch die RT um ein mehrfaches steigern. Sehr eindrucksvoll ist vor allem die Zunahme der Einbaurrate von

$^3\text{HdGMP}$ in der DNA. Im Gegensatz zu der Reverse-Transkriptase Aktivität konnten wir die gamma-DNA-Polymerase-Aktivität in diesem System nicht nachweisen. Verwendet man allein den Orimer oligo dT im Inkubationsgemisch, so ist die enzymatische Aktivität gleich Null. Aus den Ergebnissen der Tab. 10 kann man zwei Schlüsse ziehen:

1. daß die gamma-DNA-Polymerase nicht in der Lage ist, die heteropolymeren Regionen der 70 S-RNA zu transkribieren, da der Einbau von $^3\text{HdGMP}$ bei allen Systemen gleich Null ist;
2. daß der Einbau von $^3\text{HdTMP}$ in Gegenwart von 70 S-RNA darauf hindeutet, daß die gamma-DNA-Polymerase lediglich die Poly A-Stränge der viralen RNA transkribiert.

Die 70 S-RNA-Moleküle aller Tumor-Viren entstehen aus langen Sequenzen und ausschließlich aus Adenosin. Da der Primer oligo dT selbst keine Antwort induziert, ist anzunehmen, daß die Stimulierung der enzymatischen Aktivität in einem System, in dem 70 S-RNA und oligo dT vorhanden sind, darauf zurückzuführen ist, daß in diesem oligo dT als Initiator bzw. lediglich als Primer dient. Aus den Ergebnissen von ROBERT-GUROFF et al. (1977) geht ebenfalls hervor, daß die gamma-DNA-Polymerase nicht in der Lage ist, die heteropolymeren Regionen der viralen 70 S-RNA zu transkribieren. Die Suche nach den tumorspezifischen Enzymen führte 1973 zu der Beob-

achtung (McCAFFREY et al., 1973), daß in transformierten Lymphoblasten von an Leukämie erkrankten Patienten eine Terminaltransferase vorhanden ist. Diese Beobachtung wurde von SARIN und GALLO (1974) bestätigt. Die Terminaltransferase wurde erstmals 1968 von BOLLUM (1968) nachgewiesen. Es wurde daher zunächst vermutet, daß die RT und die Terminaltransferase-Aktivität in der Leukämogenese eine gemeinsame Funktion haben oder daß Enzymaktivitäten funktionell miteinander verknüpft sind. Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob in unserer Enzymfraktion auch eine Terminaltransferase-Aktivität vorhanden ist. Wie aus der Tab. 11 ersichtlich, erzielt man die höchste Aktivität in Gegenwart von Poly rC.dG⁻. Führt man die enzymatische Reaktion allein in Anwesenheit von oligo dG sowie von allen vier Triphosphaten durch, so ist die enzymatische Aktivität um 90 % gehemmt. In Anwesenheit von oligo dG und nur einem der Triphosphate beobachteten wir kaum eine enzymatische Aktivität. Im Falle des Vorhandenseins einer Terminaltransferase hätten wir die höchste Aktivität im letzten Fall erwarten müssen. Die Tatsache, daß wir in An-

3

Wesenheit von oligo dG und HdGTP kaum eine Aktivität nachweisen konnten, führt zu der Annahme, daß in unserer Enzymfraktion keine Terminaltransferase-Aktivität vorhanden ist.

Tabelle 11: Untersuchung der gereinigten Reverse-Transkriptase aus der Milz auf Terminaltransferase-Aktivität

Matrizen-Primer bzw. Primer	Triphosphate	Einbau von $^3\text{H-dGMP}$ in die DNA (pMol/60 Min./mg Protein)	
		Mn ⁺⁺	Mg ⁺⁺
Poly rC.dG ₁₂	$^3\text{H-dGTP}$ dATP, dCTP, dTTP	2060,10	1628,30
Oligo dG	$^3\text{H-dGTP}$ dATP, dCTP, dTTP	24,10	25,50
Oligo dG	$^3\text{H-dGTP}$	0,01	0,10

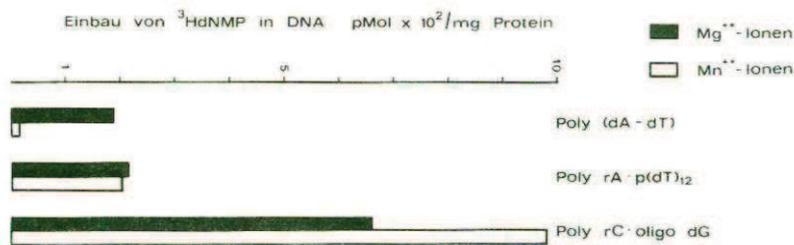


Abb. 10

Vergleichende Darstellung der Reverse Transkriptase-Aktivität bei den Matrizen-Primern Poly (dA-dT)₀, Poly rA¹²(dT)₀, Poly rC (dG)₀ und den bivalenten Kationen Mg^{++} und Mn^{++}

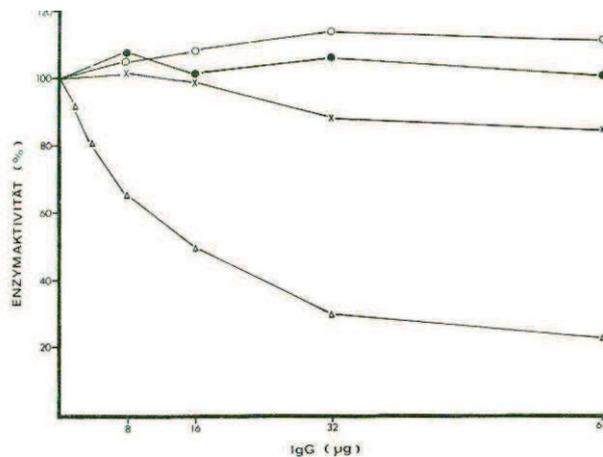


Abb. 11

Wirkung von IgG gegen Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer Milz auf die Aktivität der DNA-Polymerasen sowie die Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer Milz

Abszisse: Konzentration der IgG (μMg Protein/Reaktionsgemisch)

Ordinate: Prozent der Enzymaktivität. Als Kontrolle diente die Enzymaktivität in Gegenwart von präimmunem IgG (Kontrolle - 100 %)

- — ● Polymerase α , aktivierte DNA, Mg^{++}
- — ○ Polymerase β , Poly (dA - dT), Mg^{++}
- x — x Polymerase γ , Poly rA.dT₁₂, Mn^{++}
- ▲ — ▲ Reverse Transkriptase, Poly rC.dG₁₂, Mn^{++}

k.3

DER

R|VERSEN_TRANSKRIPTASE

Das breite Spektrum experimenteller Beobachtungen läßt keinen Zweifel daran, daß Tumorstoffe für die menschliche Onkogenese eine Bedeutung haben. Von besonderem Interesse sind die letzten Studien von GALLO und Mitarb. (GALLAGHER et al., 1975; MONDAL et al., 1975)» die die Produktion eines infektiösen, mit dem Simian Sarcoma Virus (SiSV) verwandten C-Typ Virus in kultivierten Zellen eines Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) beobachteten. Das Virus (HL 23V) konnte auf eine zweite Zelllinie übertragen werden. Ein ähnliches Virus wurde aus dem Knochenmark desselben Patienten *ik* Monate später (GALLAGHER et al., 1975; TEICH et al., 1975) isoliert. NOOTER et al.

(1975) konnten aus in Zellkulturen eines Patienten mit lymphosarkomatöser Leukämie und GABELMAN et al. (1975) aus kultivierten Zellen eines Patienten mit lymphozytärer Leukämie und mit Lungenkarzinom C-Typ Viren isolieren, die SiSV verwandt waren. Über die Isolierung virusspezifischer Informationen in oncornaviralen Partikeln aus Zellkulturen von Knochenmarkszellen von Leukämiepatienten in Remission und im Rückfall berichten MAK et al. (1975). Ferner wurde von VIOLA et al. (1976) über das Vorhandensein einer viralen RT in Leukozyten von Leukämiepatienten in kompletter Remission berichtet. In einer Arbeit wird auch über die simultane Entdeckung einer RT und einer hochmolekularen RNA aus Zellen von Patienten mit Morbus Hodgkin berichtet (CHEZZI et al., 1976). Der derzeitige Wissensstand über die Rolle von Onkornaviren in der menschlichen Kanzerogenese, begründet durch die Ergebnisse unterschiedlicher Experimente, läßt vermuten, daß derartige Viren bei der menschlichen Kanzerogenese, besonders bei den malignen Systemerkrankungen des hämatopoetischen Systems, mitwirken.

Danach drängt sich die Frage auf, woher diese virale Information kommt. Zur Klärung der Frage der Evolution oder des Ursprungs solcher menschlicher Tumorstoffe wurden schon viele experimentelle Untersuchungen durchgeführt. So entdeckten

WONG-STAAAL et al. (1976) provirale Sequenzen von baboon endogenous Typ-C Virus (BEV) in der Zell-DNA von Leukämiezellen verschiedener Patienten mit myeloischer Leukämie. Eine ähnliche Beobachtung konnte von REITZ et al. (1976) gemacht werden, die Nukleinsäuresequenzen von C-Typ Viren der Primaten (woolly monkey und baboon) aus Zellen bei menschlicher akuter myeloischer Leukämie identifizieren konnten.

Über den Ursprung und die Evolution der Tumurviren existieren bereits eine Reihe von Theorien, die in mehreren Übersichtsarbeiten dargestellt sind (BALTIMORE, 1976; GALLO et al., 1975; GILLESPIE et al., 1975; GROSS, 1976; HEHLMANN, 1976; TEMIN, 1976). Die zwei Haupttheorien, die zur Evolution und zum Ursprung der Tumurviren in den transformierten Zellen aufgestellt wurden und die heute noch als Basistheorien bezeichnet werden können, postulieren:

1. Die Protovirus-Theorie (TEMIN, 1971):

Virusspezifische Information wird ursprünglich durch einen infektiösen Vorgang übertragen. Eine Vermehrung dieser Information über die virale Reverse Transkriptase kann dann zu einer Transformation der Zelle führen.

2. Die Onkogen-Theorie (TODARO und HUEBNER, 1972):

Die onkogene virale Information ist schon in der Keimbahn verankert. Als "Onkogen" wird der Abschnitt des Zellgenoms bezeichnet, der die onkogene virale Information beherbergt. Das Onkogen ist in normalem Zustand, den man als präonkogen bezeichnen könnte, durch einen Repressor, der von einem Regulatorgen gesteuert wird, reprimiert. Diese Repressorkontrolle des Onkogens kann jedoch durch exogene Faktoren (z. B. Strahlen, karzinogene Stoffe etc.) gestört werden, so daß das Onkogen transkribiert wird. Diese genetische Information des Onkogens kann dann über die virale Reverse Transkriptase vermehrt werden.

Ein Vergleich der beiden Theorien zeigt, daß nach beiden Hypothesen die RT bereits in normalen Zellen vorhanden sein müßte. Inzwischen konnten auch mehrere Laboratorien über die Anwesenheit einer RNA-abhängigen DNA-Polymerase in normalen bzw. embryonalen Geweben berichten. Da diese Polymerasen oft nur anhand ungenügender Kriterien untersucht wurden, ist ihr Nachweis und ihre Charakterisierung sehr kritisch zu analysieren. So konnte eine oft festgestellte RNase-Empfindlichkeit der Polymerase-Reaktion partiell gereinigter Enzyme - die RNase hydrolysiert den RNA-Strang des Matrizen-Starterkomplexes - darauf zurückgeführt werden, daß nicht der RNA-Strang der Matrize transkribiert wurde, sondern daß die Oligo-RNA-Stränge als Starter einer DNA gesteuerten DNA-Synthese dienten (REITZ et al., 1974). Unter Berücksichtigung dieser Sachverhalte blieben von den sogenannten Reversen Transkriptasen in normalen Zellen nur vier Ausnahmen übrig.

So konnten MIZUTANI und TEMIN (1973) aus Hühnerembryo ein Enzym isolieren, das in der Lage war, virale 70 S RNA zu transkribieren. Dieses Enzym erfüllte auch hinsichtlich Matrizen- und Ionenspezifität sowie RNase-Empfindlichkeit die Kriterien einer viralen RT, war aber interessanterweise serologisch nicht mit den RT aus RNA-Tumorviren, sondern mit der zellulären beta-Polymerase verwandt. Daraus ist zu schließen, daß diese RT nicht viraler Herkunft war.

Ein weiteres Beispiel für eine RT in normalen Zellen war die Isolierung einer RT aus der Plazenta eines Rhesusaffen, die ebenfalls serologisch keine Verwandtschaft mit der RT aus Tumorviren zeigte (MAYER et al., 1974). Aus Hühnereiern konnten BAUER et al. (1976) eine RT isolieren und reinigen, die keine serologische Kreuzreaktion mit RT der RNA-Tumorviren zeigte. Die aus der Plazenta und dem Uterus von Kaninchen isolierte partikel-assoziierte RT ließ sich physikalisch und biochemisch als RT und als nicht identisch mit einer zellulären Polymerase charakterisieren. Eine serologische Untersuchung wurde jedoch nicht durchgeführt (BEDIGIAN

et al., 1976).

Anhand der hier genannten Beispiele kann man klar erkennen, daß die aus nicht onkogen-transformierten Zellen isolierten Enzyme biochemisch die Kriterien für eine RT erfüllen, aber serologisch nicht mit den viralen RT verwandt sind. Daraus kann man den Schluß ziehen, daß diese RT aus nicht transformierten Zellen für die Onkogenese nicht von Bedeutung sind. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache ist es unabdingbar, die Herkunft einer isolierten RT durch eine serologische Charakterisierung festzustellen.

Um die erforderlichen immunologischen Untersuchungen durchzuführen, stellten wir Antikörper gegen unsere RT durch Immunisierung von zwei Ziegen her. Wie früher mitgeteilt, gelang es uns nicht, Antikörper durch Immunisierung von Kaninchen oder Meerschweinchen herzustellen (CHANDRA und STEEL, 1977)•

Aus den gewonnenen Seren wurde IgG isoliert. Die Einwirkung dieser IgG-Fraktion auf die enzymatische Aktivität der zellulären DNA-Polymerasen und der RT ist in der Abb. 11 dargestellt. Die enzymatischen Aktivitäten der alpha- und beta-DNA-Polymerasen bleiben durch den Antikörper unbeeinflusst. Unter denselben experimentellen Bedingungen wurde bei einer Konzentration von $64 \mu\text{g}$ Protein der Anti-Reverse-Transkriptase-Fraktion die gamma-DNA-Polymerase-Aktivität um etwa 15 % gehemmt. Bei niedriger Konzentration war keine Hemmung festzustellen. Führt man die Hemmversuche mit der RT durch, so beobachtet man eine konzentrationsabhängige Hemmung der enzymatischen Aktivität. Bei einer Konzentration von $64 \mu\text{g}$ Protein IgG wurde die Reverse Transkriptase-Aktivität um ca. 80 % gehemmt. Bei all diesen Versuchen wurden Kontrollen durchgeführt, bei denen die Präimmun-IgG-Fraktion aus Ziegen-serum in der Polymerase-Reaktion getestet wurde. Aufgrund dieser Ergebnisse ist die Aussage erlaubt, daß die von uns gereinigte RT keine serologische Beziehung zu den zellulären Polymerasen alpha-, beta und gamma hat. Dies führt zu der Annahme, die RT müsse durch eine Infektion in die Zelle

gelangt sein. Um diese Frage näher zu untersuchen, wurden die immunologischen Eigenschaften dieser RT geprüft, indem wir die RT zahlreicher Tumoviren testeten. Bei diesen Untersuchungen wurden die enzymatischen Aktivitäten der RT sowohl muriner- als auch avianer- und primater Tumoviren in Gegenwart der Anti-Reverse-Transkriptase-Fraktion untersucht.

Die Einwirkung der Anti-Reverse-Transkriptase-Fraktion auf die enzymatische Aktivität der RT aus SiSV, GaLV, RLV, Baboon-Endogen-Virus (BEV) und Avian-Myeloblastosis-Virus (AMV) ist in der Abb. 12 dargestellt. Wie aus der Abbildung zu entnehmen ist, bleiben die enzymatischen Aktivitäten der RT aus Nichtprimatenviren unbeeinflusst. Dagegen beobachtet man eine konzentrationsabhängige Neutralisierung der enzymatischen Aktivität der primaten Tumoviren, nämlich GaLV und SiSV. Interessant bei dieser Hemmung ist die Tatsache, daß unsere Antikörper die enzymatische Aktivität der RT aus SiSV sehr viel stärker hemmen als die Aktivität des Gibbon-Enzyms. Dieses Ergebnis war nicht zu erwarten, da man evolutionsgemäß zwischen dem menschlichen Enzym und dem Enzym der Gibbons eine nähere Verwandtschaft erwartet als mit dem Enzym der Altweltaffen (Simian-Spezies).

Die Tatsache, daß unser Enzym mit der RT aus SiSV immunologisch näher verwandt ist, hat uns veranlaßt, den Hemmmechanismus näher zu untersuchen. Bei diesen Untersuchungen sollte die Hemmwirkung direkt in den Viren untersucht werden, um festzustellen, ob die endogene Aktivität durch unsere Antikörper in gleichem Ausmaß gehemmt wird. Die Wirkung der Anti-RT aus der Myelofibrosemilz auf die endogene bzw. matrixenabhängige DNA-Polymerase-Aktivität der SiSV und R (Mu) LV ist in der Abb. 13 dargestellt. Es zeigt sich, daß die endogene Aktivität der DNA-Polymerase aus SiSV am meisten durch die homologen Antikörper (Anti-SiSV) gehemmt wird. Die zweitstärkste Hemmung der endogenen Aktivität von SiSV wird mit dem Antikörper gegen die myelofibrotische RT erzielt.

Führt man die DNA-Polymerase-Reaktion der SiSV-Viren in Gegenwart von Poly rA.dT[^] durch, so erzielt man dieselbe Hemmwirkung wie bei der endogenen Reaktion. Im Gegensatz zu den DNA-Polymerase-Aktivitäten der SiSV war es nicht möglich, sowohl die endogene als auch die matrizenabhängige Polymerase-Aktivität bei Rauscher-Leukämie-Viren durch unsere Antikörper zu hemmen. Aus diesen Untersuchungen sollte der Beweis erbracht werden, daß die immunologische Neutralisierung der DNA-Polymerase-Aktivität durch unsere Antikörper unabhängig von der Art der Matrize ist, die bei den einzelnen Systemen verwendet wurde.

Eine Gegenprobe, die immunologische Beziehung unserer RT zu der verschiedener Tumurviren festzustellen, wäre die Hemmwirkung der Antikörper gegen RT verschiedener Tumurviren auf die enzymatische Aktivität unserer RT zu untersuchen. Diese Gegenprobe bietet die Möglichkeit, die bisher beobachtete immunologische Spezifität unseres Enzyms zu bestätigen und darüberhinaus eine Aussage zu ermöglichen, ob innerhalb der primaten Viren unser Enzym tatsächlich mit dem Enzym aus SiSV näher verwandt ist.

Die Einwirkung der Antikörper-Fraktionen gegen RT aus GaLV, SiSV, RLV und AMV auf die enzymatische Aktivität der RT aus myelofibrotischer Milz ist in der Abb. dargestellt. Es zeigt sich, daß die Antikörper der RT aus RLV und AMV nicht in der Lage sind, die Polymerase-Aktivität der myelofibrotischen Milz zu hemmen. Dagegen bekommt man in Gegenwart von den Antikörper-Fraktionen gegen RT aus beiden Primatenviren eine dosisabhängige Hemmung der RT aus der Milz. Auch hier ist die Hemmwirkung der Antikörper gegen SiSV wesentlich stärker, als die Hemmwirkung der Anti-Reversen-Transkriptase aus GaLV.

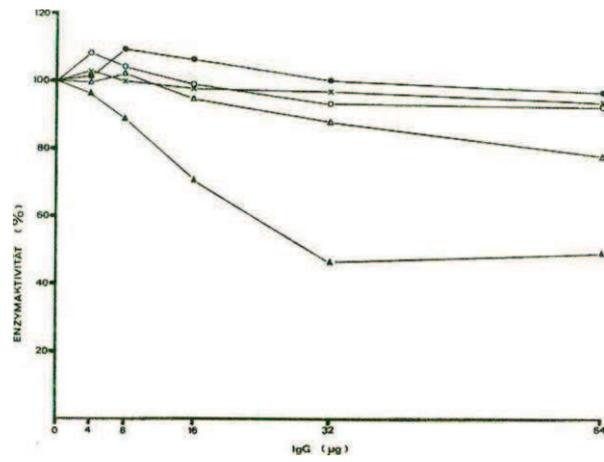


Abb. 12

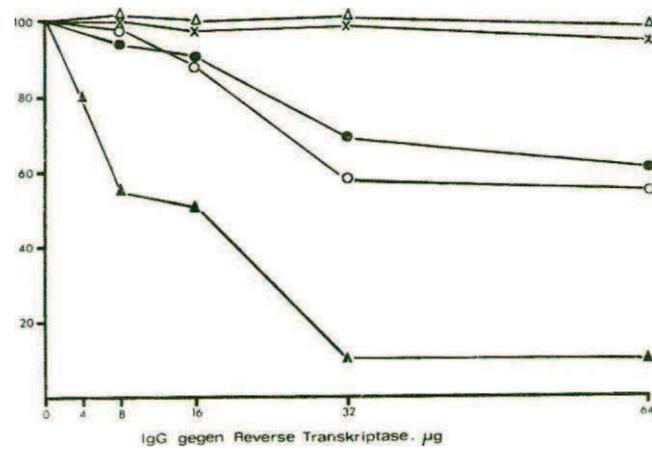


Abb. 13

Legenden zu den Abbildungen

Abb. 12: Wirkung von IgG gegen Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer Milz auf die Aktivität der Reverse Transkriptaseil anderen Ursprungs.

Abszisse: Konzentration der IgG (μg Protein/Reaktionsgemisch)

Ordinate: Prozent der Enzymaktivität. Als Kontrolle diente die Enzymaktivität in Gegenwart von präimmunem IgG (Kontrolle = 100 %)

- ▲ — A Reverse Transkriptase aus SiSV
(100 % = 1.130 IPM)
- A — A Reverse Transkriptase aus GaLV
(100 % = 619 IPM)
- x — x Reverse Transkriptase aus R(Mu)LV
(100 % = 897 IPM)
- — • Reverse Transkriptase aus BEV
(100 % = 595 IPM)
- o — o Reverse Transkriptase aus AMV
(100 % = 9^3 IPM)

Abb. 13: Wirkung von IgG gegen Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer Milz sowie IgG gegen Reverse Transkriptase aus SiSV auf die Aktivität der SiSV und R(Mu)LV.

Abszisse: Konzentration der IgG (μg /Protein/Reaktionsgemisch)

Ordinate: Prozent der Enzymaktivität. Als Kontrolle diente die Enzymaktivität in Gegenwart von präimmunem IgG (Kontrolle = 100 %).

- — ● SiSV Virus: IgG gegen Reverse Transkriptase aus der Milz, endogene Reaktion
(100 % Aktivität = 1.189 IPM)
- ▲ — ▲ SiSV Virus: IgG gegen Reverse Transkriptase aus SiSV, endogene Reaktion
(100 % Aktivität = 1.033 IPM)
- o — o SiSV Virus: IgG gegen Reverse Transkriptase aus der Milz, Poly rA.dT ,
(100 % = $37 \cdot 7^6$ IPM)
- x — x R(Mu)LV Virus: IgG gegen Reverse Transkriptase aus der Milz, Poly rA.dT ,
(100 % = 11.020 IPM)
- △ — △ R(Mu)LV Virus: IgG gegen Reverse Transkriptase aus der Milz, endogene Reaktion
(100 % = 1.172 IPM)

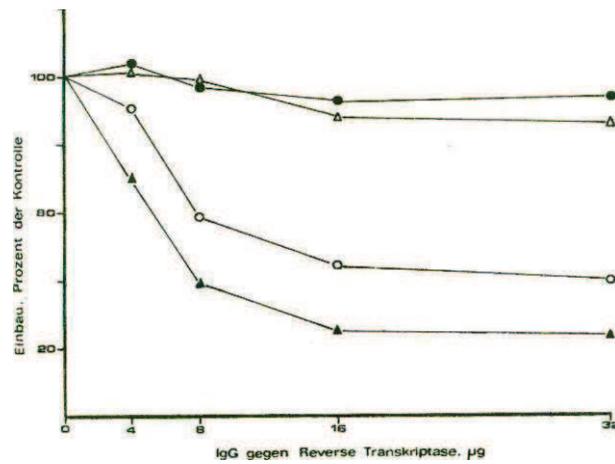


Abb. 14

Wirkung von IgG gegen Reverse Transkriptase
 anderen Ursprungs auf die Aktivität der
 Reverse Transkriptase aus myelofibrotischer
 Milz.

- — • AMV (RTase) IgG
- ^ — ^ RLV (RTase) IgG
- o — o GaLV (RTase) IgG
- A — A SiSV (RTase) IgG

5. DISKUSSION_UND_SCHLUßFOLGERUNG

Die Erfahrung in zahlreichen Laboratorien zeigt, daß der Nachweis biologisch aktiver Viren in Humantumoren schwierig zu führen ist. Im Gegensatz zu den onkogenen Viren der Tiere, einschließlich der Primaten, sind die onkogenen Viren menschlicher Tumoren zwar stark transformierend, ihre Replikationsfähigkeit ist aber sehr gering. Die eingeschränkte Replikation der Viren wurde u. a. dadurch belegt, daß man z. B. in Leukämiezellen unreife intrazytoplasmatische Viren gefunden hat, die als A-Typ Partikel bezeichnet werden und als Vorläufer der C-Typ Viren anzusehen sind (TODARO und GALLO, 1973; GALLO et al., 1973 und 1976 a). Diese Partikel sind nicht in der Lage, die normalen menschlichen Lymphozyten zu infizieren. Auch für andere virusähnliche Partikel, die aus Mammatumoren isoliert wurden (AXEL et al., 1972 a, b; VAIDYA et al., 1974), konnte bislang man keinen direkten Beweis ihrer Infektiosität liefern. In einem Fall ist es jedoch gelungen (GALLO et al., 1975), menschliche Lymphozyten durch Viruspartikel, die aus dem Blut einer ALL-Patientin isoliert wurden, zu infizieren. Außerdem hat man aus den kultivierten Leukozyten eines Patienten mit AML reife C-Typ Viren isolieren und charakterisieren können (GALLAGHER et al., 1975; GALLAGHER und GALLO, 1975)« Auch wenn man in einigen Humantumoren solche Viren nachweisen konnte, wurden diese Partikel oft nicht hinreichend charakterisiert, um ihre Rolle für die menschliche Onkogenese festlegen zu können. Unsere heutigen Kenntnisse zum Problem der Karzigenese unter Beteiligung von Viren verdanken wir in erster Linie molekularbiologischen Arbeitsmethoden.

Hauptziel molekularischer Untersuchungen ist es, festzustellen, ob in menschlichen Tumoren Strukturkomponenten vorhanden sind, die mit Tumolviren verwandt sind, die bei Primaten zur Entstehung von Tumoren führen.

RNA-abhängige DNA-Polymerase, auch Reverse Transkriptase (RT) genannt, ist eine der molekularen Komponenten der RNA-Tumurviren, der Onkorna-Viren (TEMIN und BALTIMORE, 1972). Die Anwesenheit dieses Enzyms in eukaryotischen Zellen wird sehr häufig als biochemischer "Marker" für das Vorhandensein von Tumurviren angesehen. Diese Vermutung ist jedoch nur dann gerechtfertigt, wenn das Enzym sowohl die biochemischen als auch die serologischen Eigenschaften einer onkogenen viralen RT hat.

Es sind nämlich weitere Enzyme der DNA-Biosynthese bekannt, die in der Lage sind, die RNA-abhängige DNA-Biosynthese durchzuführen. Diese Enzyme sind aus embryonalen Geweben (MAYER et al., 197[^]; BEDGIAN et al., 1976) oder aus Hühner-eiern (BAUER et al., 1976) isoliert und gereinigt worden. Trotz ihrer großen Ähnlichkeit bezüglich der biochemischen Eigenschaften sind diese Enzyme serologisch nicht mit der RT der Tumurviren verwandt. Es muß daher der Auffassung Fachfremder, daß die RT der Tumurviren keine Spezifität dieser Viren darstellen, widersprochen werden. Die oncornavirale RT ist, unter Berücksichtigung biochemischer und serologischer Eigenschaften, immer ein zuverlässiger Hinweis auf RNA-Tumurviren. Daher sind die zahlreichen Studien der letzten Jahre (BALTIMORE und SMOLER, 1971; ABRELL und GALLO, 1973; GALLAGHER et al., 1974; GREEN und GERARD, 1974; WAALKES et al., 1974; GALLO et al., 1975; SMITH et al., 1975; ALLAUDIN et al., 1976; KIESSLING und GOULIAN, 1976; SARNGADHARAN et al., 1976), in denen man versucht hat, die virale RT als "Marker" der viralen Information in einer Tumorzelle bzw. in einem Tumorgewebe darzustellen und zu charakterisieren, auch heute noch gültig.

Ausgehend von dieser Strategie, virale Marker in humanen Tumoren zu suchen, hat man verschiedene methodische Möglichkeiten untersucht. Die Methoden, die mit dem Ziel diese Strategie zu verfolgen, eingesetzt werden, kann man unterteilen in:

1. Nachweis viraler Antigene durch serologische Methoden;
und
2. Nachweise viraler Informationen in Zellen bzw. Geweben
durch molekularbiologische Methoden.

1. Serologischer Nachweis viraler Antigene

Aus experimentellen Studien ist bekannt, daß die RNA-Tumorviren zwei antigenie Hüllenproteine enthalten; das Oberflächen-Antigen "GP^o" und das Antigen des Viruscore "P^o". Aus zahlreichen Versuchen geht hervor, daß das der Tumorviren vom Murintyp eine Kreuzreaktion mit dem P^o-Protein der "C-Typ Partikel" aus Primaten gibt. Man verwendet die Antisera gegen diese P^o-Proteine, um virale Information in Tumorzellen nachzuweisen. Die Methode hat zwei Nachteile: Erstens wurden diese Studien meist nur mit ungereinigten Proteinen durchgeführt, und zweitens fehlen bisher Versuche zur Relevanz der Befunde für die Humanonkologie, da es noch keine P^o-Fraktion aus Humantumorviren gibt. Vor kurzem konnten allerdings in menschlichen peripheren Leukozyten von fünf Patienten mit akuter Leukämie (AL) Antigene gefunden werden, die dem Strukturprotein P^o von C-Typ Viren, isoliert aus Wollaffe und Gibbon, verwandt waren (SHERR und TODARO, 1975)

Trotzdem kann man bisher diese Untersuchungen höchstens als Hinweis betrachten. Eine feste Aussage ist aus diesen Versuchen noch nicht möglich.

2. Nachweis einer viralen Information durch molekularbiologische Methoden

Die in den letzten 10 Jahren erreichte methodische Perfektion hat es ermöglicht, anhand von molekularbiologischen Mikromethoden virale "Marker" in Zellen bzw. Geweben nachzuweisen. Es sind hierzu mehrere technische Möglichkeiten vorhanden, z. B. die molekulare Hybridisierung oder "simultaneous detection technique". Diese Technik wurde von SPIEGELMAN et al. (1971) entwickelt. Die Methode beruht darauf, daß zuerst aus den hybridisierten Zellen die Partikel iso-

liert werden, die eine Dichte von 1,16 - 1,17 g/cm aufweisen, diese Partikelfractionen werden mit den Komponenten der Reversen Transkriptase-Reaktion (DTT, Desoxyribonuklosidtriphosphate, Mn^{++} bzw. Mg^{++}) inkubiert und anschließend wird das Produkt dieser Reaktion mit einer onkorna-viralen 70 S RNA hybridisiert. Aufgrund der Hybridisierungsrate kann man vermuten, ob eine virale Information vorhanden ist oder nicht. Diese Methode liefert keine Werte, die scharf abgrenzbar sind und sicher als positiv oder negativ interpretiert werden können. Man sollte daher auch Ergebnisse dieses Tests nur als Indikator betrachten.

Ein sicherer Weg war auch der erste - aus den Tumorzellen bzw. -geweben die Enzyme der DNA-Biosynthese zu charakterisieren. Der Nachweis einer RT in Tumormaterial, die in ihren biochemischen und serologischen Eigenschaften einer viralen (z. B. Tumorzellen oder Primaten) RT entspricht, ist ein deutlicher Hinweis

auf die Genese dieses Tumors. Voraussetzung für eine solche Aussage ist, daß das isolierte Enzym hoch gereinigt wurde, so daß das Enzym ein homogenes Protein darstellt. Verunreinigungen in den Enzympräparationen könnten die serologischen Eigenschaften dieser Enzyme beeinflussen.

Das erste Enzym aus humanen Tumoren, das alle diese Voraussetzungen erfüllte, wurde von der Arbeitsgruppe um GALLO aus Leukozyten von Patienten, die an Leukämie erkrankt waren, isoliert (SARNGADHARAN et al., 1972; TODARO und GALLO, 1973; GALLAGHER et al., 1975 und MONDAL et al., 1975). Sie konnten eine RT aus den Leukozyten der Leukämiepatienten reinigen und serologisch prüfen. Das gereinigte Enzym stellte sich bei der Gelelektrophorese als ein einheitliches Protein dar und hatte zwei Molekülgrößen, eine monomere und eine dimere Form mit Molekulargewichten von 70 000 bzw. 130 000. Die wichtigsten biochemischen Eigenschaften dieses Enzyms (GALLO et al., 1975) waren:

- a) In partiell gereinigter Form war dieses Enzym in der Lage, unter endogenen Bedingungen die DNA-Synthese durchzuführen, die durch RNase blockiert werden konnte,
- b) die Analyse der Reaktionsprodukte, die unter endogenen Bedingungen gebildet wurden, zeigte RNA-DNA-Hybride. Daraus ist zu entnehmen, daß ein RNA-Strang transkribiert wurde.
- c) Die synthetisierte DNA konnte mit einer 70 S-RNA der Tumoviren aus Primaten hybridisiert werden,
- d) das gereinigte Enzym hatte eine viel höhere Affinität für den Matrizen-Starter Poly rA.(dT)₁₂ als für Poly dA.(dT)₁₂-
- e) Das Enzym war in der Lage, die Matrize Poly rC zu transkribieren,
- f) das Enzym konnte die heteropolymeren Regionen einer viralen 70 S-RNA gut transkribieren.

Alle diese Eigenschaften entsprechen den charakteristischen Merkmalen einer RT aus Tumoviren. Dies wurde eindeutig durch serologische Versuche bestätigt, in denen gezeigt werden konnte, daß das aus Leukämiezellen isolierte Enzym durch die Antikörper (IgG-Fraktion) gegen RT aus Tumoviren der Primaten (SiSV) in dosis-abhängiger Weise gehemmt wurde. Damit war erwiesen, daß in Leukozyten von Leukämiepatienten eine RT viraler Herkunft vorhanden ist (GALLO et al., 1976 a). Wenig später gelang es der Arbeitsgruppe um GALLO, aus Leukozyten einer Patientin mit AML, Viruspartikel zu isolieren (GALLAGHER et al., 1975; GALLAGHER und GALLO, 1975). Die RT dieses Virus war in ihren serologischen Eigenschaften mit der RT, die sie aus Leukämiezellen anderer Patienten isoliert hatten, identisch. Außerdem zeigte sich, daß das Enzym aus menschlichen Leukämiezellen mit der viralen RT aus SiSV

serologisch verwandt ist und eine immunologische Verwandtschaft zwischen den Viruspartikeln aus humanen Leukämiezellen und den onkogenen SiSV der Primaten besteht (GABELMAN et al., 1975; GALLAGHER und GALLO, 1975; NOOTER et al., 1975; PANEH et al., 1975; TEICH et al., 1975). Damit war der erste Hinweis einer Virusätiologie einer menschlichen Neoplasie geliefert.

Auch der Nachweis von Tumorzellen bzw. "viralen Markern" bei der menschlichen Leukämie durch GALLO und Mitarb. läßt die Rolle der Viren nicht eindeutig festlegen. Sie ist auf zwei Ebenen denkbar:

Wird die leukämische Transformation durch Viren verursacht, oder werden die Viren erst von den leukämischen Zellen produziert. Mit anderen Worten lautet die zu klärende Frage, ist das Vorkommen viraler Komponenten in Leukämiezellen die Ursache der leukämischen Transformation oder nur deren Folge. Der Nachweis "viraler Marker" in einem "präonkogenen Zustand" ist in diesem Zusammenhang von größtem Interesse.

Davon ausgehend haben wir in prä-malignen Erkrankungen nach viralen Markern gesucht. Die Myelofibrose, eine myeloproliferative Erkrankung, ist als ein prä-leukämischer Zustand anzusehen, weil sie in späteren Krankheitsstadien oft in eine akute Leukämie übergeht. Wir konnten aus der Milz eines an Myelofibrose erkrankten Kindes eine RT reinigen. Die Entdeckung dieser RT in der operativ entfernten Milz des Kindes ist das erste Beispiel eines tumorspezifischen Enzyms aus menschlichem Gewebe, das sowohl biochemisch als auch immunologisch charakterisiert worden ist. Die Reinigung einer RNA-gesteuerten DNA-Polymerase aus Milzen von Leukämiepatienten wird auch von WITKIN et al. (1975) berichtet. Dieses Enzym wurde aber nur unvollständig biochemisch charakterisiert und serologisch überhaupt nicht untersucht.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen den Schluß zu, daß in der Milz dieser Patienten mit Myelofibrose eine virus-spezii-

fische RT vorhanden war. Nochmals zusammengefaßt basiert diese Feststellung auf folgenden Tatsachen:

1. Die Homogenität des gereinigten Enzyms und seine Molekulargroße (Molekulargewicht 70 000) entsprechen einer RT, wie sie aus Tumorzellen isoliert werden konnte. Hinzu kommt der Beweis, daß dieses Enzym keine Terminaltransferase-Aktivität besitzt.
2. Die biochemische Charakterisierung dieses Enzyms ergibt eine RNase-Empfindlichkeit und Abhängigkeit der DNA-Polymerase-Aktivität von divalenten und monovalenten Ionen.
3. Die Matrizenspezifität dieses Enzyms und seine Fähigkeit, die heteropolymeren Sequenzen einer viralen 70 S RNA R (Mu) LV ZU transkribieren, entsprechen den Eigenschaften einer viralen RT.
4. Die serologische Charakterisierung dieses Enzyms zeigt eindeutig, daß das Enzym aufgrund seiner Antigenität den RT aus Tumorzellen von Primaten (SiSV und GaLV) nahe verwandt ist.

Aufgrund der in den Punkten 1 - 4 zusammengefaßten Eigenschaften, ist kaum zu bezweifeln, daß es sich bei der von uns gereinigten RT um einen viralen "Marker" handelt. Weiterhin wurde festgestellt, daß diese RT keine serologische Kreuzreaktion mit den zellulären DNA-Polymerasen alpha, beta und gamma zeigt (Nomenklatur der zellulären DNA-Polymerasen nach WEISSBACH et al., 1975). Dieses Ergebnis läßt annehmen, daß der von uns gefundene virale "Marker", die RT, aus einem exogenen Virus stammt.

Das aus unseren Untersuchungen entwickelte Konzept führt zu der Protovirus-Theorie der Onkogenese (TEMIN, 1971, a,b). Diese Theorie postuliert einen Mechanismus, der es einer

somatischen Zelle erlaubt, den Genotyp zu ändern und das Genom zu erweitern. Damit einher gehen Veränderungen bei der Zelldifferenzierung und beim Wachstum. Nach der Onkogen-Theorie (TODARO und HUEBNER, 1972) entstammen die C-Partikel zellulären Genen, Teile davon enthalten das "Provirus". Letzteres erscheint als Produkt einer zellulären RNA-Matrize mit der RT. Werden diese Proviren verändert oder abnormal integriert, dann kommt es zur Onkogenese. Ob und wie ein Karzinogen dazu imstande ist, wird durch die Theorie nicht beantwortet. Nach dieser Theorie kann man das Entstehen der entarteten Zellen auf eine somatische Mutation zurückführen.

Ausgehend von diesen Hypothesen und den Ergebnissen der experimentellen Untersuchungen kann man annehmen, daß bei der Myelofibrose die virale Information aus einem exogenen Virus eine ätiologische Rolle spielt. Da wir in der Milz der Patientin nicht nach kompletten Viruspartikeln gesucht haben, bleibt die Aussage bezüglich einer viralen Ätiologie der Myelofibrose unbeantwortet. Untersuchungen auf komplette Viruspartikel bei Humantumoren gestalten sich sehr schwierig. Es ist bisher nur in einem Fall gelungen, aus humanen Tumorzellen komplette Viren nachzuweisen (GALLAGHER et al., 1975; GALLAGHER und GALLO, 1975).

Die Wichtigkeit unserer Ergebnisse liegt in erster Linie darin, daß die vorgelegten Ergebnisse nahelegen, daß die gefundene virale Information für den Übergang des präleukämischen in den leukämischen Zustand verantwortlich ist. Die Tatsache, daß diese Patientin drei Wochen nach der Splenektomie eine myeloische Leukämie entwickelte und ähnliche Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen, wie oben ausgeführt, weisen daraufhin, daß es sich bei dem myelofibrotischen Syndrom um einen präleukämischen Zustand handelt. Wenn das der Fall ist, ist anzunehmen, daß die von uns gefundene RT für die Synthese einer proviralen DNA und für die Entartung der Zellen verantwortlich ist. Damit hat sowohl die biochemische als auch die serologische Charakterisierung einer

virusspezifischen RT bei einer präleukämischen Erkrankung, wie sie die Myelofibrose darstellt, einen ersten sehr überzeugenden Hinweis auf eine viral bedingte Onkogenese bei humanen Tumoren geliefert. Außerdem sprechen die Befunde dafür, daß dem menschlichen Myelofibrose-Syndrom eine Virus-ätiologie zugrunde liegt. Im Tierversuch konnte die virale Genese der Myelofibrose bei Ratten durch VAN GORP und SWAEN bereits 1969 aufgezeigt werden.

Zusammenfassung

1. Aus der postoperativen Milz eines Patienten mit Osteomyelofibrose wurden drei zelluläre DNA Polymerasen (alpha, beta und gamma) und eine Reverse-Transkriptase isoliert und gereinigt. Die gereinigten Enzyme wurden biochemisch charakterisiert.
 - a) Molekulargewichtsbestimmungen ergaben folgende Werte alpha-DNA Polymerase (150 000); beta-DNA Polymerase (kO 000); gamma-DNA Polymerase (100 000) und die Reverse-Transkriptase (70 000).
 - b) Die K[^]-Werte der Enzyme unter optimalen Bedingungen (Template-Primer, Ionenabhängigkeit usw.) ergaben folgende Werte:

2. Die Reverse-Transkriptase-Reaktion wurde sowohl unter endogenen als auch unter exogenen Bedingungen gemessen.
 - a) Sowohl unter exogenen als auch unter endogenen Bedingungen war die Reaktion RNase-empfindlich.
 - b) Die Reverse-Transkriptase war in der Lage, die heteropolymeren Regionen des Virusgenoms, einer 70 S-RNA, zu transkribieren.

- c) Die höchste Aktivität wurde in Gegenwart von Poly rC.Oligo dG beobachtet.
- d) Hochspannungselektrophorese ergab, daß es sich bei der Reverse-Transkriptase um ein einheitliches Protein handelt.
- e) Die von uns gereinigte Reverse-Transkriptase besitzt keine Terminal-Transferase-Aktivität.

3. Serologische Untersuchungen ergaben:

- a) Diese Reverse-Transkriptase besitzt keine serologische Beziehung zu den zellulären DNA Polymerasen.
- b) Auch die Reverse-Transkriptase der Tumoviren wie AMV und R(Mu)LV wurden durch Antikörper gegen unsere Reverse-Transkriptase kaum neutralisiert.
- c) Eine enge serologische Beziehung zwischen der Reverse-Transkriptase aus Primaten-Viren (SiSV und GaLV) und unserer Reverse-Transkriptase wurde festgestellt.
- d) Die enzymatische Aktivität unserer Reverse Transkriptase wurde von Antikörpern, die aus den Membranen der Humanleukämiezellen isoliert wurden, stark gehemmt (in Zusammenarbeit mit GALLO, National Cancer Institute, USA, persönliche Mitteilung).

Die Untersuchungen, die unter Punkt 2 und 3 berichtet wurden, weisen daraufhin, daß in der Milz des Patienten mit Myelofibrose eine Reverse Transkriptase vorhanden ist, die sowohl biochemisch als auch serologisch mit der Reverse-Transkriptase der menschlichen Leukämiezellen identisch ist. Diese Versuche liefern den ersten Hinweis, daß bei der kindlichen Myelofibrose eine Virusätiologie zugrunde liegen könnte.

Nicht im Text erklärte Abkürzungen

DTT: Dithiothreitol; DEAE: Diethylaminoäthyl;
 FLV: Friend Leukämievirus; GS-Antigen: Gruppenspezifisches Antigen; ³HdGTP: Radioaktiv mit Tritium markiertes dGTP; ³HdTTP: Radioaktiv mit Tritium markiertes dTTP;
 NMP: Nukleosidmonophosphat; Oligo^{dG}₁₂₋₁₈: Oligodesoxyguanidylsäure (Kettenlänge 12-18); Oligo^{dT}₁₂₋₁₈: Oligodesoxythymidylsäure (Kettenlänge 12-18); Poly A: Poly-Adenylsäure; Poly (dA-dT): Doppelsträngige synthetische DNA (Kopolymer), die beiden Stränge Desoxyadenyl- u. Desoxythymidylsäure in alternierender Reihenfolge enthaltend;
 Poly rA.(dT)₁₂: Doppelsträngiges Hybridpolymer aus einem Strang Polyadenylsäure und einem Strang Polydesoxythymidylsäure (Kettenlänge 12-18); Poly rC.(dG)₁₂₋₁₈: Doppelsträngiges Hybridpolymer aus einem Strang Polycytidylsäure und einem Strang Polydesoxyguanylsäure (Kettenlänge 12-18);
 Polymerase alpha, beta u. gamma: Eukaryotische DNA-Polymerasen (Nomenklatur nach WEISSBACH et al., 1975); RSA: Rinder-serumalbumin; RPC-5: Reversed-phase chromatography mit Adogen^{^^} (= Trialkylmethylammoniumchlorid); 70 S RNA: Genom der RNA-Tumoviren; R(Mu)LV: Rauscher-Murin-Leukämievirus;
 SDS: Sodium-Dodecylsulfat; t-RNA: Transfer-RNA;
 TCA: Trichloressigsäure; Tris: Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan; TEMED: NNN 'N'-Tetramethylethyldiamin.

Diskussion: A. Mayr: Herzlichen Dank, Herr Chandra, für Ihren hervorragenden Vortrag, vorallem für diese klaren Experimente. Ich bin überzeugt, wir müssen uns-zumindest was die C-Typ-Viren anbelangt-damit auseinandersetzen, daß dem Krebsgeschehen möglicherweise doch eine virale Genese zugrunde liegt. In der Tier- und in der Humanmedizin wird schon seit Jahren diskutiert, daß möglicherweise Beziehungen zwischen der Katzenleukämie und der menschlichen Leukämie bestehen. Ihre Untersuchungen zeigen hier einen interessanten und gangbaren Weg.

Danksagung: Ein Teil der in dieser Arbeit verwendeten Antisera wurden uns freundlicherweise vom National Cancer Institut (USA) im Rahmen des Cancer-Virus-Programms zur Verfügung gestellt. Diese Untersuchungen wurden von den Stiftungen Volkswagenwerk, Kind-Philipp und Riese finanziert.

Literatur beim Verfasser

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung
heterologer Organpräparationen auf das Immun-
system unter besonderer Berücksichtigung von
Transplantat-Tumoren

G. GILLISSEN

Abteilung für Medizinische Mikrobiologie der
Medizinischen Universität, Aachen

Extrakte aus gefriergetrockneten, meist fetalen heterologen Organen, die durch wasserfreie Säuredampflyse im Vakuum gewonnen wurden (23), bewirken eine ganze Reihe biologischer Effekte und werden auch klinisch-therapeutisch eingesetzt. Beschrieben wurde mit solchen Extrakten aus fetaler Rinderleber eine Anregung der Proteinsynthese im zellfreien System (8), nach mehrmaliger Applikation bei Mäusen eine Verhinderung des Angehens von transplantierten Methylcholanthren-Tumoren oder sogar eine Regression solcher Tumoren als therapeutischer Effekt (17). Mit Homogenaten aus Leber und Milz von Kaninchen wurde bei Ratten eine Hemmung der Xenotransplantations-Reaktion beobachtet (21).

Aber auch mit Organpräparationen anderer Provenienz wurden experimentell biologische Effekte beschrieben, die für eine Wirksamkeit bei medizinischer Anwendung sprechen können. Zu nennen ist beispielsweise die Stimulierung der Proteinsynthese durch Präparationen aus heterologem Gehirn oder Pankreas (2) und die erhöhte IgM-Produktion durch Applikation von Extrakten aus "Fetalem Herzmuskel" (25) oder aus "Fetaler Plazenta" (22).

Die meisten experimentellen Befunde liegen mit Extrakten aus Plazenta vor. So wurde beschrieben eine Stimulierung des Repair-Mechanismus mit Präparaten aus dem fetalen Anteil der Rinder-Plazenta bei Milzzellen von Mäusen nach UV-Bestrahlung (1), eine längere Überlebenszeit bei einem Ratten-Sarkom nach

Gaben von Extrakten aus "Materner Plazenta" (Rind) (24) oder mit derselben Präparation - am Beispiel des Melanoms bei Zahnkarpfen - eine Verminderung der malignen Transformation resp. Vermehrungshemmung transformierter Zellen (7). Mit Extrakten aus menschlicher Plazenta wurde eine Hemmung der DNA-Synthese beobachtet (3)- Aus Extrakten von Rinder-Dezidua wurde chromatographisch (10) ein Faktor isoliert, der den Einbau³ von H-Thymin in Tumorzellen hemmt (11, 12, 13). Derselbe Faktor führt nach Vorinkubation mit Zellen des EHRLICH-Aszite Tumors (EAT) zu einer verzögerten Absterberate nach Transplantation dieser Zellen (14).

Bei diesen Arbeiten wurde meist nur mit einer Präparation bezüglich der organbezogenen Provenienz gearbeitet. Nur in einzelnen Fällen wurden verschiedene Präparationen verglichen, wobei dann - je nach Versuchsmodell - entweder ähnliche (1) oder auch differente Effekte beobachtet wurden (22).

Die beschriebenen biologischen Wirkungen wurden meist über eine Beeinflussung des Immunsystems gedeutet (17» 21, 22), aber auch - im Falle von Tumorversuchen - über eine unmittelbare Einwirkung auf Tumorzellen (14). Experimentell weniger definiert ist bei der Anwendung in vivo die Frage nach der Bedeutung der Dosierung.

Untersucht wurde deswegen parallel der Einfluß von vier Präparationen aus verschiedenen Organen auf verschiedene Parameter der Immunabwehr incl. dem Modell der Tumorabwehr unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Dosisbezuges der Wirkung.

Material und Methoden

Als Testsubstanzen wurden für alle Versuche folgende Präparationen verwandt:

Extrakte aus "Materner Plazenta" (270_y<tg Protein/ml),
 aus "Fetaler Plazenta" (290 ^g Protein/ml),
 aus "Fetalem/juvenilem Thymus" (250 Ag Protein/ml) und

aus "Fetaler Leber" (360 μ g Protein/ml), alle vom Rind (Firma Vitorgan).

Versuchstiere:

Männliche Balb/c/A-BOM-f-Mäuse von 20 - 25 g sowie - für die Gewinnung von B-Lymphozyten aus der Milz - die thymus-lose Variante Balb/c-BOM-nu/nu von 18 - 20 g (BOMHOLTGARD, Ry, Dänemark). Die Tiere wurden in Gruppen zu 4 in Makroionkäfigen und klimatisierten Ställen (22 - 24° C) gehalten (Futter: Herilan R/M; Eggersmann, Rinteln).

Als Transplantat-Tumor wurde EAT in seiner soliden Form und Transplantation in die Nackengegend benutzt. Tumorhaltung und Transplantation erfolgten in früher beschriebener Weise bei einer Anordnung in randomisierten Blöcken (6, 20).

Die Bestimmung der Zahl IgM-bildender Zellen (direct plaque cells = DFC) (9, 4) erfolgte an Tag 3? ^Q Immunisierung der Tiere an Tag 0 durch i.p. Injektion von 2×10^8 Schafserthrozyten (SRBC) in 0,5 ml phys. NaCl-Lösung. Die Mittelwerte errechneten sich aus $n = 4$.

Der Makrophagen-Migrations-Hemmtest (16) wurde mit Peritoneal-Exsudat-Zellen (PEC) von Mäusen durchgeführt, die 5 Tage nach i.p. Injektion von 2,0 ml Bayol (ESSO AG) gewonnen wurden. Zur Zellgewinnung enthielt das Medium (TC 199, Difco, mit 10 % fetalem Kälberserum, Flow. Lab. und 100 IE Pc/ml, pH 7.2) 10 E Heparin/ml (Liquemin, Roche), nicht aber für die Waschprozesse und die Inkubation der Zellen. Alle Ansätze erfolgten im vierfachen Ansatz. Die Ablesung der Resultate mit Planimetrie der Migrationsfläche geschah nach einer Inkubationszeit von 24 h bei 37° C. Als Mitogen wurde Phytohämagglutinin-P (Difco) benutzt.

Die Bestimmung der Aktivität der sauren Phosphatase erfolgte in früher beschriebener Weise (5) unter Verwendung von 5×10^6 Lymphozyten/ml und einer Inkubationszeit von 1 h bei 37° 0.

Als Kriterium diente die Freisetzung von p-Nitrophenol aus p-Nitrophenyl-Phosphat.

Zur Immunisierung gegen menschliche Leberantigene wurde ein Extrakt mit 3M KCl-Lösung hergestellt (19, 15). Mit demselben Material wurde dann auch die antigen-induzierte Hemmung der Makrophagen-Migration und der darauf mögliche Einfluß der Testpräparationen geprüft.

Ergebnisse

1. Antikörperbildung

Bestimmt wurde der Einfluß einer Vorbehandlung der Versuchstiere mit den Testpräparationen an den drei, der Sensibilisierung mit SRBC vorangegangenen Tagen auf die Zahl der IgM-bildenden Zellen in der Milz. Die Präparate wurden mit einer Einzeldosis zwischen 1,25 mg ("Fetaler/juveniler Thymus") und 1,8 mg ("Fetale Leber") pro kg i.v. injiziert

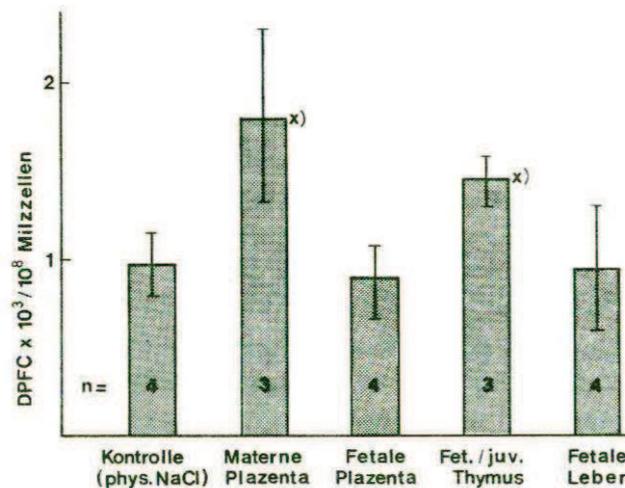


Abb. 1

Aus Abb. 1 ist zu entnehmen, daß gegenüber den Kontrollen (Injektion von phys. NaCl-Lösung) die Applikation von Extrakten aus "Materner Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus" bei dem vorgegebenen Dosierungsschema zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der Zahl IgM-bildender Zellen führt. Ein Vergleich dieser beiden Präparate untereinander gibt keinen signifikanten Unterschied. Die Präparationen aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetaler Leber" zeigten unter diesen Versuchsbedingungen keinen Effekt.

2. Die Makrophagen-Migrations-Hemmung

a) Versuche über eine Beeinflussung in vitro

Bei diesem Versuch wurden die Testpräparationen in Konzentrationen von 0,1 - 10 % (bezogen auf das Ausgangspräparat) dem Medium zugegeben. Damit sollte ein Direkt einfluß auf die Migrationsgröße erfaßt werden. Parallel dazu enthielt das Medium bei den gleichen Präparat-Konzentrationen noch 10 PHA-P/ml. Ziel dieser Versuche war die Erfassung einer möglichen Beeinflussung der mitogen-induzierten Migrationshemmung in vitro.

Die Versuche ergaben - in Abwesenheit von PHA-P - mit allen Präparaten und allen Konzentrationen Werte im Normbereich. Eine gewisse Ausnahme stellte das Präparat "Fetale Plazenta" dar, mit dem - aber nur bei den kleineren Konzentrationen von 0,1 und 5 % ~ eine gewisse Migrationshemmung beobachtet wurde.

Die PHA-P induzierte Migrationshemmung wurde dagegen von keinem Präparat und keiner Konzentration beeinflusst

Von besonderem Interesse war nun die Bedeutung einer Vorbehandlung der Versuchstiere - also der Einfluß in vivo - für die Reaktivität der Lymphozyten auf PHA-P im Migrationstest.

Versuche über die Beeinflussung in vivo

Wurden die Tiere mit einer i.v. Injektion (0,5 ml der Präparate 1 : 5, am Tag -1) vorbehandelt, dann zeigten die am Tag 0 gewonnenen PEC gegen die der nicht behandelten Kontrollen keine Veränderung der PHA-P-induzierten Migrationshemmung.

Wurden die Tiere aber mehrmals vorbehandelt, dann ergaben sich deutliche Unterschiede.

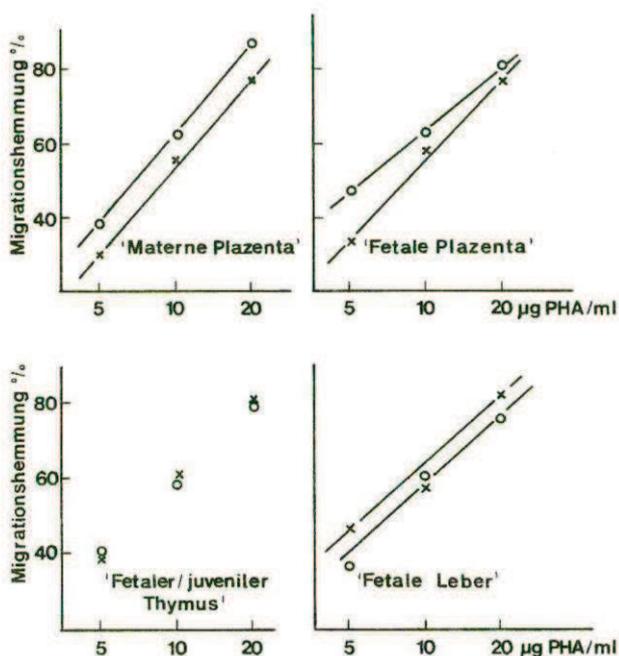


Abb. 2

Aus Abb. 2 ist zu ersehen, daß eine derartige Vorbehandlung der Versuchstiere mit den Präparaten aus "Materner" und aus "Fetaler Plazenta" zu einer Verstärkung der Reaktivität, also bei gleicher PHA-P-Konzentration wie in der Kontrolle zu einer ausgeprägteren Migrationshemmung führt. Dagegen ist unter den gleichen Bedingungen die Vorbehandlung mit "Fetalem/juvenilem Thymus" ohne Effekt, und eine Vorbehandlung mit "Fetaler Leber" führt eher zu einer gewissen Minderung der Reagibilität.

c) Beeinflussung der spezifischen Lymphozyten-Reaktivität

Untersucht wurde hier im Gegensatz zur PHA-P-induzierten Migrationshemmung von Makrophagen die mögliche Beeinflussung einer Migrationshemmung, die durch spezifisches Antigen ausgelöst wird. Hierzu wurden Mäuse gegen Antigene aus menschlicher Leber unter Verwendung von CFA sensibilisiert und vor der Gewinnung von PEC mehrmals mit Präparationen aus heterologer "Fetaler Leber" bzw. von "Fetalem/juvenilem Thymus" behandelt (Kontrolle = phys. NaCl-Lösung). Die Migrationshemmung wurde dann mit verschiedenen Konzentrationen des sensibilisierenden Antigens ausgelöst.

Die Versuche (Abb. 3) ergaben, daß in der Kontrolle eine dosisabhängige Migrationshemmung als Ausdruck einer vorhandenen zellulären Immunität auftrat.

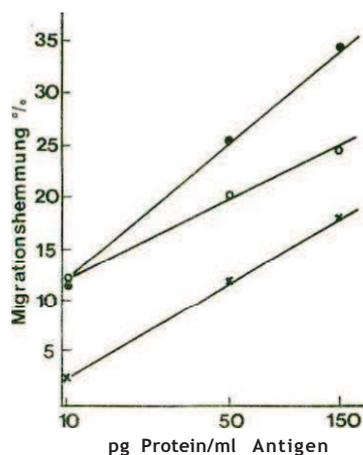


Abb. 3

Die Behandlung der Tiere wirkte sich bei Verwendung beider Präparationen im Sinne einer Verstärkung der antigen-induzierten Reaktion aus. Dies ist deutlicher ausgeprägt mit Zellen der mit "Fetaler Leber" als bei den mit "Fetalem/juvenilem Thymus" behandelten Tieren. Eine dreimalige Behandlung der Tiere vor der Immunisierung gab ähnliche Resultate, jedoch keine klare lineare Beziehung.

3• Beeinflussung der Aktivität der sauren Phosphatase

Bei diesen Versuchen wurde der in-vitro-Einfluß der heterologen Organpräparationen in verschiedenen Konzentrationen auf die Enzymaktivität von Thymozyten und B-Lymphozyten aus der Milz untersucht.

Aus Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß die Aktivität der sauren Phosphatase von B-Zellen durch alle Präparationen dosisabhängig stimuliert wird. Lediglich das Ausmaß dieses Effekts scheint etwas unterschiedlich zu sein.

Präparation		Thymozyten		B-Lymphozyten	
		μgNP	%	μgNP	%
Maternale Plazenta	1:10	- 8,0	- 21,8	+ 5,3	+ 12,6
	1:50	+ 0,4 ^{xxx)}	+ 1,0	+ 2,8	+ 6,6
	1:100	+ 4,0	+ 10,8	+ 0,9 ^{x)}	+ 2,0
Fetale Plazenta	1:10	+ 1,1	+ 2,6	+ 6,8	+ 16,0
	1:50	+ 0,7 ^{x)}	+ 1,7	+ 3,8	+ 9,0
	1:100	+ 0,07 ^{xxx)}	+ 0,2	+ 2,8	+ 6,5
Fetaler/juv. Thymus	1:10	+ 2,1	+ 4,9	+ 9,6	+ 22,7
	1:50	+ 1,4 ^{xxx)}	+ 3,3	+ 7,2	+ 17,0
	1:100	- 0,3 ^{xxx)}	- 0,7	+ 5,3	+ 12,6
Fetale Leber	1:10	- 4,5	- 10,9	+ 11,2	+ 26,4
	1:50	- 1,1	- 2,6	+ 10,1	+ 23,9
	1:100	- 0,04 ^{xxx)}	- 0,09	+ 7,8	+ 18,4

Tab. 1:

Der Einfluß von Organpräparationen in vitro auf die Aktivität der sauren Phosphatase - Differenz zur Kontrolle in $\mu\text{g NP}$ resp. % - Ansatz: 5×10^6 Lymphozyten/ml; Inkubationszeit = 1 h; n = 3; NP = p-Nitrophenol, freigesetzt aus p-Nitrophenylphosphat.

x) = Signifikant mit P 0,05

xxx) = Nicht signifikant, alle anderen Werte signifikant mit $P < 0,01$.

Thymozyten reagieren dagegen sehr verschieden. Das Präparat aus "Fetaler Leber" bewirkt - dosisabhängig - eine Hemmung der Aktivität, "Materne Plazenta" aber nur in der höchsten Konzentration. Die Präparationen aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus" verursachen, ebenfalls in Abhängigkeit von der Dosis, eine Stimulierung.

4. Entwicklung von EAT

Für die Versuche wurden alle Präparationen in verschiedenen Konzentrationen und in verschiedener Häufigkeit i.v. injiziert (Tab. 2). Zum Vergleich wurden die relativen Behandlungseffekte gegenüber der korrespondierenden Kontrolle = 100 aufgetragen (Abb. 4).

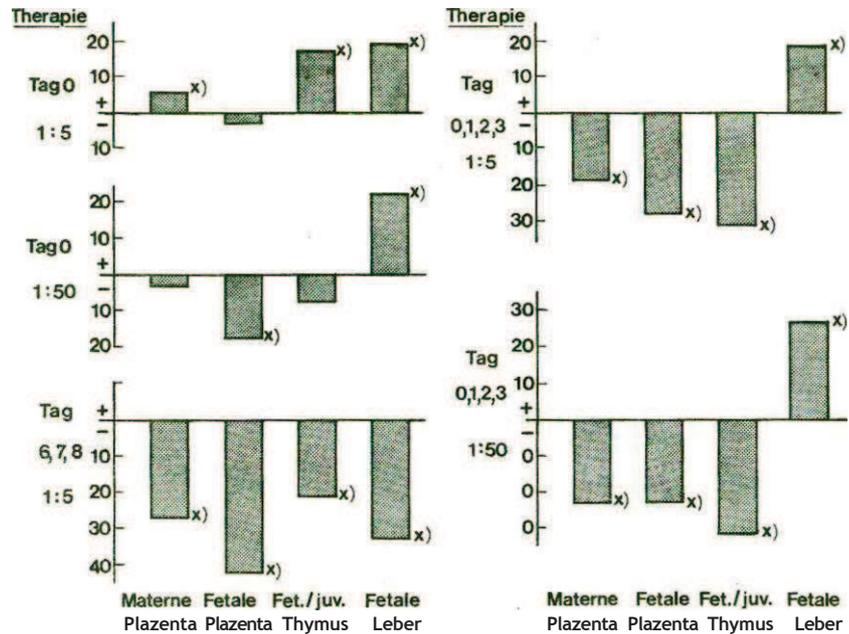


Abb. 4

Dosierung	Maternale Plazenta n x ± s.d.	Fetale Plazenta n x ± s.d.	Fet./juv. Thymus n x ± s.d.	Fetale Leber n x ± s.d.
- (phys.NaCl)	11 1.28 ± 0.03	11 1.73 ± 0.08	7 2.20 ± 0.15	11 1.47 ± 0.19
Tag 0; 1:5	11 1.36 ± 0.07	12 1.69 ± 0.15	6 2.61 ± 0.24	10 1.77 ± 0.27
Tag 0; 1:50	7 1.24 ± 0.07	8 1.41 ± 0.14	5 2.05 ± 0.08	9 1.79 ± 0.21
Tag 0, 1, 2, 3; 1:5	10 1.05 ± 0.09	9 1.24 ± 0.10	8 1.52 ± 0.19	7 1.75 ± 0.29
Tag 0, 1, 2, 3; 1:50	10 0.99 ± 0.05	12 1.33 ± 0.20	6 1.50 ± 0.09	11 1.86 ± 0.42
Tag 6, 7, 8; 1:5	11 0.93 ± 0.12	10 1.07 ± 0.18	8 1.74 ± 0.15	9 0.99 ± 0.06

Tab. 2: Einfluß von Organpräparaten auf die
Entwicklung von solidem EAT.
Dosis-Volumen 0.5 ml i.v.;
Tumorgewicht in g.

Die Versuche ergaben bei mehrmaliger Applikation, beginnend am Tag 0, also dem Tag der Tumortransplantation, unabhängig von der Höhe der gewählten Einzeldosis mit allen Präparaten eine deutliche Hemmung der Tumorentwicklung. Eine Ausnahme stellte das Präparat "Fetale Leber" dar. In diesem Fall wurde die Tumorentwicklung sogar begünstigt.

Wurde die Behandlung - ebenfalls wiederholt - aber beginnend zu einem späteren Zeitpunkt nach der Tumortransplantation durchgeführt, dann hatten alle Präparationen - also auch das Präparat "Fetale Leber" - eine Hemmwirkung

Eine einmalige Applikation zeigte im Gesamtbild weniger charakteristische Auswirkungen.

Besprechung der Ergebnisse

Untersucht wurden vier Präparationen, die aus Organen vom Rind gewonnen worden waren, auf verschiedene Parameter der Immunantwort. Die Präparationen sind in gleicher Weise hergestellt, aber nach ihrer biochemischen Zusammensetzung im einzelnen nicht definiert. Die Konzentrationsangaben beziehen sich lediglich auf den Proteingehalt. Durch Parallelansätze solcher Organpräparationen verschiedener Provenienz sollten Wirkungscharakteristika der einzelnen Präparationen erfaßt oder Hinweise auf stoffbezogene Ähnlichkeit erhalten werden. Berücksichtigt wurden bei dieser Studie auch die Bedeutung verschiedener Dosierungen und zwar nicht nur im Hinblick auf einen dosisabhängigen biologisch gleichgerichteten Effekt, sondern auch deswegen, weil mit ein und derselben Präparation offenbar auch gegensinnige Wirkungen beobachtet wurden, also Effekte im Sinne einer Stimulierung oder Hemmung (19). Die Einstellung verschiedener Konzentrationen erfolgte einheitlich durch Verdünnung mit steriler phys. NaCl-Lösung, da das Ausmaß bestimmter Reaktionen eines gegebenen Präparates mit der Wahl des Lösungsmittels variieren kann (23)

Unter diesen Voraussetzungen zeigten die Versuche eine Stimulierung der Antikörperbildung (IgM) mit den beiden Präparaten aus "Materner Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus", nicht aber mit solchen aus "Fetaler Plazenta" oder aus "Fetaler Leber". Bei Versuchen über eine Beeinflussung der mytogen-induzierten Migrationshemmung dagegen war die Präp. aus "Fetalem/juvenilem Thymus" unwirksam, während die aus "Materner Plazenta", zusätzlich aber auch die aus "Fetaler Plazenta" die Reagibilität auf PHA-P stimulierte. Die Beobachtung, daß die vier Präparationen in vitro und bei derselben Methode keinen Einfluß haben, läßt vermuten, daß der nach mehrmaliger in-vivo-Applikation auftretende biologische Effekt über zelluläre Interaktionen zustande kommt.

Der Versuch einer Beeinflussung der Migrationshemmung mit spezifischem Antigen, also mit Zellen sensibilisierter Tiere, ergab bei einer Sensibilisierung gegen Antigene aus menschlicher Leber eine sehr deutliche Verstärkung der Reaktivität durch mehrmalige Vorbehandlung mit den Präparaten aus heterologer "Fetaler Leber". Dies war aber auch der Fall - wenn auch weniger ausgeprägt - nach Vorbehandlung mit der Präparation aus "Fetalem/juvenilem Thymus". Dieses Resultat kann als eine mit der Antikörperbildung parallel verlaufende Stimulierung der zellulären Immunität gewertet werden. Die stärkere Wirkung des Präparates aus "Fetaler Leber" kann aber vorläufig noch nicht bindend als spezifische Komponente dieser Stimulierung gedeutet werden, zumal es sich um ein heterologes Organpräparat handelt.

Unterschiede nach Präparation und Zellklasse zeigen sich auch bei Versuchen einer in-vitro-Beeinflussung der Aktivität der lysosomalen sauren Phosphatase. Während B-Zellen durch alle Präparate - wenn auch verschieden ausgeprägt - diesbezüglich stimuliert werden, reagieren Thymozyten je nach Präparation sehr verschieden. Noch nicht berücksichtigt ist dabei aber die spezielle Reaktivität von Suppressor-Zellen und die Korrelation zur Transformations-Reaktion.

Von besonderem Interesse war die Beeinflussung der Entwicklung von solidem EAT mit den Testpräparationen unter Berücksichtigung der Dosierung, da diese Präparate schon verschiedentlich für Tumorversuche eingesetzt wurden. Hervorzuheben ist, daß das Präparat aus "Fetaler Leber", unabhängig von Zahl und Stärke der Einzeldosis, das Angehen des Transplantat-Tumors favorisiert, wenn am Tage der Tumortransplantation mit der Behandlung begonnen wurde. Alle drei anderen Präparate zeigten dagegen (mehrmalige Applikation beginnend am Tag 0) eine signifikante Hemmung. Aber auch das Präparat aus "Fetaler Leber" führt zu einer Hemmung, wenn es - ebenfalls öfters - zu einem späteren Zeitpunkt nach der Tumortransplantation verabreicht wurde. Die Wirkung der drei Präparationen aus "Materner Plazenta", aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus" zeigten also eine gewisse Einheitlichkeit in diesem Versuchsmodell, während das Präparat aus "Fetaler Leber" in Abhängigkeit von der Applikationszeit und damit dem Stadium der Tumorentwicklung eine gegensinnige Wirkung aufweist.

Insgesamt zeigen die Versuche, daß belegbare Einflüsse auf verschiedene Parameter der Immunabwehr auslösbar sind und daß neben gewissen Unterschieden manche Effekte mit Präparaten verschiedener Organprovenienz gleichsinnig verlaufen. Eine weitergehende biologische Analyse der Präparationen setzt eine Auftrennung und eine biochemische Definition der Inhaltsstoffe voraus.

Zusammenfassung

Im Tierversuch mit Mäusen wurde der Einfluß von heterologen Organpräparationen ("Materne Plazenta", "Fetale Plazenta", "Fetalem/juveniler Thymus" und "Fetale Leber") auf verschiedene Parameter der Immunabwehr untersucht. Durch dreimalige Vorbehandlung mit den Präparationen aus "Materner Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus", nicht aber mit Präparationen aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetaler Leber" wurde die Antikörperbildung (IgM) stimuliert. Die Reaktivität von Lymphozyten auf PHA-P, gemessen mit dem Makrophagen-Migrations-

Hemmtest, wurde durch dreimalige Vorbehandlung der Versuchstiere mit den Präparaten aus "Materner und Fetaler Plazenta" gesteigert. Alle Präparate stimulierten in vitro die Aktivität der sauren Phosphatase von B-Lymphozyten. Die Enzym-Aktivität von T-Zellen wurde dagegen nur von Präparaten aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus" gesteigert. Die anderen Präparate bewirkten eher eine Minderung.

Versuche mit dem soliden EHRLICH-Ascites-Tumor ergaben durch mehrmalige, am Tag der Tumortransplantation beginnende Behandlung mit den Präparaten aus "Materner Plazenta", aus "Fetaler Plazenta" und aus "Fetalem/juvenilem Thymus" eine Hemmung, während bei diesem Applikationsmodus die Präparation aus "Fetaler Leber" die Tumorentwicklung eher favorisiert. Alle Präparate führten aber zu einer Hemmung der Tumorentwicklung, wenn sie - ebenfalls wiederholt - zu einem späteren Zeitpunkt nach der Tumortransplantation verabreicht wurden.

Literatur

1. ALTMANN, H. und A. WOTTAWA: Symposium über "DNA-Repair and Late Effects". Wien, 1975-
2. AXMANN, G.: "Untersuchungen zur organotropen Wirkung von zellulären Extrakten auf die Proteinsynthese in vivo". Diplomarbeit, Univ. Frankfurt/Main, 1973-
3. BADER, H.P.: J. Natl. Canc. Inst. j>0, kj (1973).
- k. DRESSER, D.W.: In: "Handbook of Exp. Immunology" Vol. 2. Ed. Weir D.M., Blackwell Scientific Publ. - Oxford, London 1978.
- 5- GILLISSEN, G. und P. MECKE: Z. Immunitätsforsch. 146, 55 (1973).
6. GILLISSEN, G. und G. NEHRING: Beitr. Klin. Tuberk. 139, 206 (1969).

7. HAAS-ANDELA, H.: XXI. Jahrestagung über die "Zytoplasmat. Therapie", Tagungsbericht, Stuttgart 1975-
8. JACHERTS, D. ; JACHERTS, B. und G. MAY: *Mediz. Klin.* 58, 752 (1963).
9. JERNE, N.K.; HENRY, C.; NORDIN, A.A.; FUJI, H.; KOROS, A.M.C. and I. LEFKOWITZ: *Transpl. Rev.* jjJ, 130 (197[^]) •
10. LETNANSKY, K.: *Exp. Path.* 8, 205 (1973)•
11. LETNANSKY, K. : *Exp. Path.* 9, 354 (1974).
12. LETNANSKY, K.: *Österr. Z. Onkologie* 2, 31 (1974).
13. LETNANSKY, K.: *Österr. Z. Onkologie* 42 (1977).
14. LETNANSKY. K.: *Ehk.* 29, 201 (1980).
15. MELTZER, M.S.; LEONARD, E.J.; RAPP, H.J. and T. BORSON: *J. Nat. Cancer Inst.* V?, 703 (1971).
16. MORLEY, J.; WOLSTENCROFT, R.A. and D.C. DUMONDE: In "Handbook of Exp. Immunology" Vol. 2. Ed. Weir D.M. - Blackwell Scientific Publ. - Oxford, London 1978.
17. MUNDER, P. : *Ehk.* 29, 201 (1980).
18. PAFFENHOLZ, V.: XXV. Jahrestagung über die "Zytoplasmatische Therapie", Tagungsbericht, Stuttgart 1979«
19. REISFELD, R.A.; PELLEGRINO, M.A. and B.D. KAHAN: *Science* 172, 1134 (1971).
20. SCHWEIZER, K.: *Z. Immunitätsforsch.* 142, 455 (1971) •
21. SEIFERT, J.: *Selecta* 21 (24.5. 1976); 21. Jahrestagung über "Zytoplasmatische Therapie", Tagungsbericht, Stuttgart 1975-
22. SORKIN, E.: *Expertise, Revitorganinformationen* 1/1971*
23. THEURER, K. : *Selecta* 2J (24.5* 1976).
24. WERTH, G.: XXI. Tagung über die "Zytoplasmatische Therapie" Tagungsbericht, Stuttgart 1975 - *Selecta* 21 (24-5- 1976).
25. WRBA, H.: Jahrestagung über die "Zytoplasmatische Therapie" Tagungsbericht, Stuttgart 1975 - *Selecta* J21 (24.5. 1976).

Diskussion

P. CHANDRA: Haben Sie jemals versucht, das Wirkungsprinzip dieser Stoffe nachzuweisen, beispielsweise durch Ribonukleasen oder Proteasenbehandlung?

G. GILLISSEN: Diese Versuche wurden von mir nicht durchgeführt, weil MUNDER derzeit solche Versuche laufen hat und Experimente in dieser Richtung auch an der Wiener Universität durchgeführt wurden (LETNANSKY 1973, 1971/1977).

K. THEURER: Bei Ihrem Testsystem handelt es sich ja nicht um Proliferationsveränderungen der Tumorzellen, sondern um Stoffwechselbeeinflussungen des Tumors. Wie wirkt sich dies nun auf die Tumorpromotion aus?

G. GILLISSEN: Ich glaube nicht, daß durch eine Stoffwechseländerung eine unmittelbare Wirkung auf die Tumorzelle zustande kommt. Ich glaube eher, daß die Wirkung über den Umweg der Zellen des Immunsystems zustande kommt.

Es gibt beispielsweise Möglichkeiten, die Wachstumsrate eines gegebenen Tumors pro Tag zu bestimmen. Dadurch konnte beispielsweise der Nachweis erbracht werden, daß IgM-Antikörper für die Abwehr bei Tumoren eine gewisse Bedeutung haben. Im Gegensatz hierzu begünstigen IgG-Antikörper ein Enhancement. Wenn Sie zum Beispiel die Generationszeit eines Tumors messen, und zwar die Vermehrung in Gewichtseinheiten pro Tag, fällt die Reduktion der Wachstumsrate mit der IgM-Spitze zusammen. Diese steigt dann nachher wieder an. Sobald das IgG wieder ansteigt, erhöht sich auch wieder die Wachstumsrate.

K. THEURER: In diesem Zusammenhang interessiert natürlich auch, wie weit beispielsweise davon die Regulation der Tumorbildung betroffen ist. Geht man davon aus, daß es sich hier um phylogenetisch alte Gene handelt, die eigentlich weniger zellspezifisch und nicht einmal artspezifisch sind, könnte man doch annehmen, daß die Tumorbeflussung weniger organ- bzw. zellspezifisch sein muß. Genauso gut könnte auch der Antikörperbildung eine ubiquitäre Stimulierung von Seiten der Regulation her zugrunde liegen, weil ja die Antikörpersynthese durch verschiedene Mitogene oder Antigene stimuliert werden kann. Grundsätzlich kann die Syntheserate der Antikörper durch ganz verschiedene Stoffe stimuliert werden. Diese "unspezifische" Ansprechbarkeit erklärt vielleicht auch die Tatsache, daß Sie keine Organspezifität gefunden haben.

G. GILLISSEN: Ich bin trotzdem der Meinung, wir kämen hier weiter, wenn wir die Präparate in gereinigter Form hätten.

K. THEURER: Aus neueren Untersuchungen MUNDERS geht jedoch hervor, daß Kombinationen biologisch trotzdem sinnvoll sein können.

Die antitumorale Wirkung von Organpräparaten

P.G. HUNDER, Freiburg

Auf der letztjährigen Tagung habe ich über Versuche berichtet, in denen eine therapeutische Wirkung von foetalem Lebergewebe, so wie es von der Firma VITORGAN zur Verfügung gestellt wird, nachgewiesen werden konnte.

Überraschend war die Tatsache, daß diese Präparation aus foetalem Lebergewebe besonders wirksam war, wenn sie bis zu 14 Tage nach Transplantation des Tumors intramuskulär oder i.v. verabreicht wurde. Die zunächst vorläufige Beobachtung einer Antitumorwirkung wiederholte sich regelmäßig und ich kann feststellen, daß es bisher keinen Fehlversuch gegeben hat, obwohl 5 neue Tumormodelle in die Untersuchungen einbezogen worden sind.

Das erste Modell, in dem wir die Wirkung von foetaler Leber untersucht haben, war das sog. METH-A-Sarkom der Maus. Dieser Tumor wird i.k. in die Bauchhaut überimpft und wächst etwa 4 - 5 Wochen (Abb. 1). Behandelt man Tiere, die einen Tumor von etwa 1 cm Größe tragen, mit dem foetalen Lebergewebe, so gelingt es, bis zu 80 % der Tiere zu heilen.

Da wir die ersten Versuche mit foetaler Leber gemacht haben, nahmen wir an, daß zwischen dem Tumorantigen, d.h. dem tumorspezifischen Transplantationsantigen des METH-A-Sarkoms, und einem onkofoetalen Antigen eine strukturelle Beziehung besteht, die zu einer humoralen oder zellulären Immunantwort gegen das Tumorgewebe führt. Folglich mußte der Nachweis geführt werden, daß juveniles oder erwachsenes Lebergewebe, das kein onkofoetales Antigen enthält, auch keine Antitumorwirkung besitzt.

Abb. 2 zeigt aber, daß das nicht der Fall ist: sowohl foetales wie auch juveniles Lebergewebe inhibieren das Wachstum des METH-A-Sarkoms in vivo. Damit schied die erstgenannte Hypothese als Erklärung aus. Die nächste Hypothese war die Vorstellung, daß durch das Aufbereitungsverfahren sowohl bei juvenilem wie auch bei foetalem Lebergewebe Strukturen exponiert werden, die eine Kreuzreaktion mit dem transplantierten Tumor auslösen.

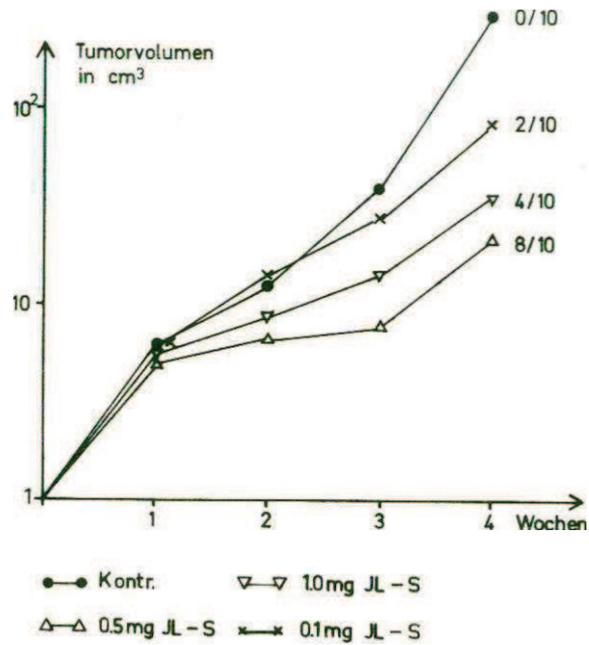


Abb. 1:

"Dosisabhängige Hemmung des Meth-A-Wachstums bei Behandlung mit juvenilem Lebergewebe"

1.0 mg, 0.5 mg, 0.1 mg juveniles Lebergewebe sulfatiert (JL-S) wurde am Tag +3» +5i +7 nach i.e. Transplantation von 1×10^6 Meth-A-Sarkomzellen i.m. injiziert.

Das Wachstum des Tumors wurde durch wöchentliche Messung von zwei Durchmessern des Tumors bestimmt und nach der Formel

errechnet.

(Die Zahlen am rechten Rand bedeuten Überlebende von der Gesamtzahl).

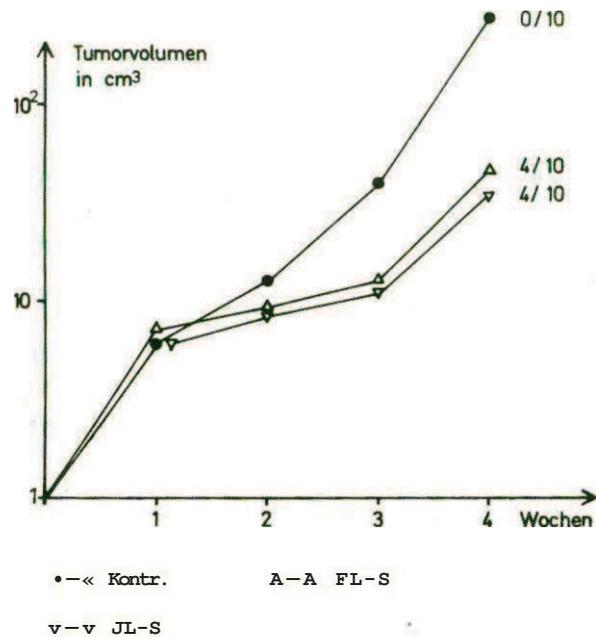


Abb. 2:

"Antitumorwirkung von foetalem (FL-S) und juvenilem (JL-S) Lebergewebe auf das Wachstum von Meth-A-Sarkomzellen in vivo". Sonstige Versuchsbedingungen s. Legende zu Abb. 1.

Wir fanden einen beträchtlichen quantitativen Unterschied zwischen sulfatiertem und nicht-sulfatiertem Gewebe (Abb. 3). Bei der Behandlung mit sulfatiertem Lebergewebe überleben 9/10 der Tiere gegenüber nur 4/10 bei nur lyophilisiertem Gewebe. Eine Mittelstellung nimmt die Proteinfraction J-3 aus sulfatiertem juvenilem Lebergewebe ein, die von H.STIEFEL durch Isotachophorese gewonnen wurde.

In einer weiteren Versuchsserie wurde geprüft, ob die Behandlung mit Enzymen oder die chemische Hydrolyse die antitumorale Wirkung aufhebt (Abb. 4). Weder die Behandlung mit DNA'se oder RNA'se beeinflusst die antitumorale Wirkung, wohl aber die Säure Untersuchungen mit anderen Enzymen werden gegenwärtig durchgeführt.

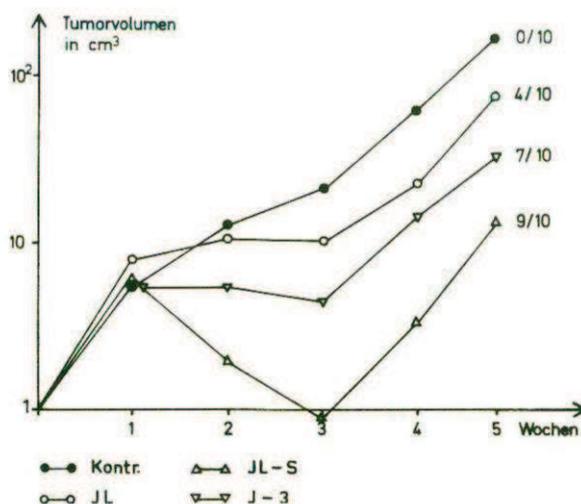


Abb. 3:

"Der Einfluß von verschiedenen Präparationen aus juveniler Leber auf das Wachstum des Meth-A-Sarkoms in der Maus (10 Tiere/Gruppe)".

Sonstige Versuchsbedingungen s. Legende zu Abb. 1.

Diese Abb. dient im wesentlichen zum Nachweis, daß zwischen sulfatiertem und juvenilem Lebergewebe kein Unterschied besteht. Die Fraktion J-3 ist eine iso-tachophoretisch aufgetrennte Fraktion mit einem MW von weniger als 10 000.

Alle Versuche sind in der Regel mit Gaben von 3 * 1 mg pro Maus durchgeführt worden. Wir wissen bis jetzt nicht, ob eine größere Anzahl von Injektionen oder eine höhere Dosis pro Injektion die bisherigen Ergebnisse noch verbessern könnten. 0.05-0.1 mg scheint die niedrigst wirksame Dosis zu sein; dieser Befund wurde mehrfach bestätigt.

Ich möchte noch drei andere Tumoren vorstellen, bei denen wir ebenfalls eine deutliche Antitumorwirkung haben beobachten können. Zunächst handelt es sich um das 3-LEWIS-LUNG-Carcinom, das für tumorbiologische Forschung insofern von besonderem Vorteil ist, als es

1. wie die meisten menschlichen Tumoren kaum immunogen ist und
2. weil es in die Lunge metastasiert.

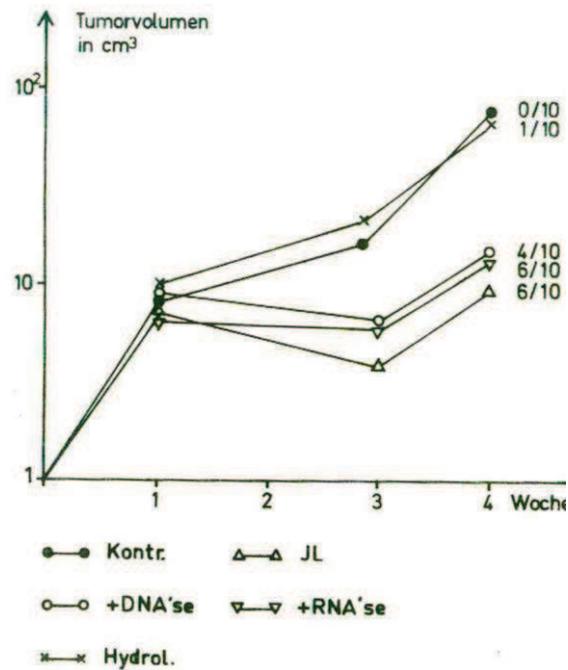


Abb. 4:

"Enzymatische Behandlung von juvenilem Lebergewebe und antitumorale Wirkung".

Die Enzyme wurden an Sephadex gekoppelt und die Leberpräparationen 24 Stunden im Recycling-Verfahren über die jeweiligen Säulen geschickt. Trotz DNase und RNase-Behandlung bleibt die Wirksamkeit erhalten, während die Hydrolyse durch 6 N HCl für 24 Stunden bei 110 die Wirkung nahezu komplett aufhebt.

Der Versuch wird so durchgeführt, daß das Tier zunächst in eine Pfote 100.000 Tumorzellen injiziert bekommt und das injizierte Bein bei einer bestimmten Größe des Tumors dann amputiert wird. Bis zu diesem Zeitpunkt sind in der Regel aus dem primären Tumor bereits Zellen in die Peripherie gelangt, die dann zu Lungen-Metastasen führen, an denen das Tier schließlich stirbt.

Man kann das auch quantifizieren, indem man den Durchmesser des tumortragenden Beines mißt und mit der Kontrollgruppe vergleicht. In der Regel werden pro Gruppe etwa 20 Tiere verwendet. Der Durchmesser des tumortragenden Beines ist unter der Behandlung

mit juveniler Leber, sulfatiert oder nicht, in der Regel um 50 % geringer als in der Kontrollgruppe (Abb. 5). Die Zahlen unter den Säulen geben die Gewichtsreduktion des Primärtumors an im Vergleich zur Kontrolle.

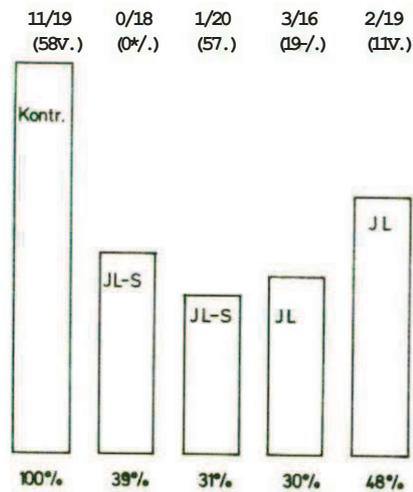


Abb. 5:

"Der Einfluß von juvenilem Lebergewebe auf den Primärtumor und die Metastasierung des 3-LL-Carcinoms".
Die weiteren Versuchsbedingungen waren wie folgt:
1 x 10⁶ 3-LL-Carcinomzellen wurden in die hintere Pfote von C57Bl/6 injiziert. Nachdem die injizierte Pfote durch das Wachstum des Tumors einen Durchmesser von 5-6 mm erreicht hatte, wurde das Tier amputiert. Die Tiere wurden mit 0.5 bzw. 1 mg sulfatierten (JL-S) bzw. nicht sulfatiertem (JL) am Tag -2 bzw. +3, +7 in Bezug auf die Amputation behandelt. Die Histogramme geben in % (Kontrolle = 100 %) die Wachstumshemmung des Primärtumors in der Pfote durch Bestimmung des Durchmessers an. Die Prozentzahlen unter den Säulen geben die prozentuale Veränderung des Gewichtes der amputierten tumortragenden Pfote gegenüber der 100 %-Kontrolle an. D.h. also eine Doppelbestimmung des wachstumshemmenden Effektes der Leberpräparationen. Die Zahlen über den Säulen stehen, geben die Anzahl der metastasenträgenden Tiere 35 Tage nach Amputation im Gesamtkollektiv an. Die Prozentzahlen darunter in Klammern geben die prozentuale Verteilung an.

Weitere Untersuchungen betrafen das DS-Sarkom in der BD-2-Ratte und die Leukämie 5222 der BD-9-Ratte. Abb. 6 zeigt die antitumorale Wirkung von foetalem Lebergewebe auf das DS-Sarkom bei verschieden hohen Tumorzellzahlen.

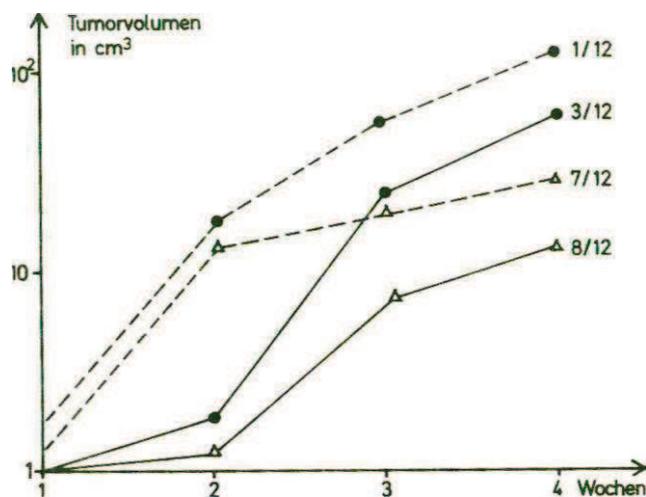


Abb. 6:

Wachstum des DS-Sarkoms in BD-2-Ratten unter Therapie mit foetalem Lebergewebe (FL-S). Das Tumorstadium wurde induziert durch einmalige i.k. Injektion von 10^5 (●) bzw. 5×10^5 (○) Tumorzellen. Die Therapie erfolgte durch Gaben von jeweils 1 mg FL-S am Tag +4, +7 und +14 (▲ bzw. △).

Auch in diesem Tumor-Modell ist eine eindeutige antitumorale Wirkung nachzuweisen.

Schlußendlich sei noch auf 3 Experimente verwiesen, in denen der Einfluß von juvenilem Lebergewebe auf das Wachstum der Leukämie 5222 in BS-9-Ratten untersucht wurden. Vorausgeschickt sei die Feststellung, daß 10 Zellen dieser Leukämie 100 % der Tiere innerhalb von 1k - 16 Tagen töten.

Die Zeitspanne für therapeutische Möglichkeiten ist also sehr eng. Trotzdem ist es uns gelungen, ebenfalls unter therapeuti-

sehen Bedingungen, d.h. also, bei Behandlung nach Implantation von 1.000 Leukämiezellen sowohl eine deutlich verlängerte Überlebenszeit wie auch bei 30 % der Tiere eine totale Heilung zu erzielen.

Wir haben bei weitem nicht so viele in vitro-Versuche zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus durchgeführt, wie es wünschenswert gewesen wäre. Der Grund hierfür lag in der Tatsache, daß wir immer wieder dieses für uns unerklärliche biologische Phänomen in anderen Tumormodellen untersucht haben. Nach Versuchen in der Gewebekultur kann ich 3 Ergebnisse erwähnen:

1. Alle Verwendeten Gewebepreparationen haben auf keinen der von uns verwendeten Tumorzelllinien in vitro einen direkten zytotoxischen Effekt.
2. In der Milz von Tieren, die mehrfach mit juvenilem Lebergewebe behandelt worden sind, reichern sich Zellen an, die gegen wenigstens 4 verschiedene etablierte Tumorzelllinien der Maus eine erhöhte Zytotoxizität aufweisen. Ob es sich um T-Zellen, K-Zellen oder NK-Zellen handelt, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.
3. Eigene Untersuchungen über eine mögliche Aktivierung von Knochenmarksmakrophagen der Maus lassen es möglich erscheinen, daß auch diese Zellen bei Inkubation mit foetalem wie auch juvenilem Lebergewebe mit erheblich gesteigerter Kapazität Tumorzellen zerstören können.

In meiner vor der Tagung abgedruckten Zusammenfassung ist erwähnt, daß es uns auch gelungen sei, das Wachstum von METH-A-Sarkomzellen in thymuslosen Mäusen zu hemmen. Diese Feststellung muß ich revidieren: In mehreren Versuchen konnte der ursprüngliche Eindruck, daß foetales oder juveniles Lebergewebe diesen Tumor in nu/nu Mäusen zur Regression bringen kann, nicht bestätigt werden. Das würde bedeuten, daß in der Tat Thymuszellen, die diesen Tieren ja fast vollständig fehlen, eine gewisse Rolle bei der Antitumorwirkung spielen könnten. Und damit komme ich zum Abschluß zu ein paar Gedanken, wie man sich die vielfältige Wirkung auf völlig verschiedene Tumoren in Maus und Ratte erklä-

ren könnte. Es hat mir fast soviel Mühe wie die Versuche selbst gemacht, diese mögliche Erklärung aus der Literatur zusammenzusuchen.

Im letzten Jahr hat BACH aus Wisconsin eine Methode vorgestellt, T-Zellen gegen autologe Tumorzellen zu sensibilisieren, indem er diese T-Zellen gegen eine Vielzahl von allogenen Determinanten exponiert, d.h. die möglichen Abwehrzellen wurden mit etwa 20 - 25 verschiedenen Lymphozyten verschiedener Spender inkubiert. Diese so überreizten T-Zellen waren in der Lage, gegen eigene autologe schwache Tumorzellen zu reagieren.

Verfolgt man diese Spur weiter, so finden sich in der Literatur 2 bis 3 Arbeiten aus den letzten 5 Jahren, in denen gezeigt werden konnte, daß z.B. das tumorspezifische Antigen des METH-A-Sarkoms einen gemeinsamen Abschnitt mit dem Histokompatibilitäts-Antigen besitzt. Es könnte sein,

- a) daß dieser gemeinsame Abschnitt eigentümlich ist für das TSTA oder aber
- b) was noch viel aufregender wäre, daß bei der Carcinogenese ein stilles Histokompatibilitäts-Antigen exprimiert wird, das mit dem Tumorantigen identisch ist.

Diese Vorstellungen von BACH, PARMIANI und auch SCHIRRMACHER geben die bestmögliche Erklärung für unsere Versuche ab.

Unvollständig ist sie aber vor allem aus 2 Gründen:

1. Alle Versuche zur Potenzierung der Tumorabwehr der genannten Arten waren nur erfolgreich, wenn sie prophylaktisch durchgeführt wurden; eine Therapie war immer erfolglos.
2. Es ist sehr ungewöhnlich, daß lösliche Proteine mit einem Molekulargewicht von 12 - 68.000, wie wir sie in der Regel verwenden, eine effiziente zelluläre, d.h. T-Zell-vermittelte Immunreaktion auslösen, die bei Tumoren zu Therapieerfolgen führen, wie man sie selbst mit Chemotherapeutika nur schwer erzielen kann, - ganz zu schweigen von den Nebenwirkungen.

Ich weiß, daß die von uns verwendeten Konzentrationen bei Hochrechnung auf den Menschen möglicherweise nicht verantwortbar wären. Wir selbst haben natürlich bei Maus und Ratte nach Zeichen eines anaphylaktischen Schocks gesucht. Selbst bei zehnmaliger intravenöser Injektion von 1 mg juvenilem Lebergewebe über ein halbes Jahr hinweg ist keinerlei anaphylaktische Reaktion aufgetreten.

Viele ungeklärte Fragen bleiben für uns bestehen!

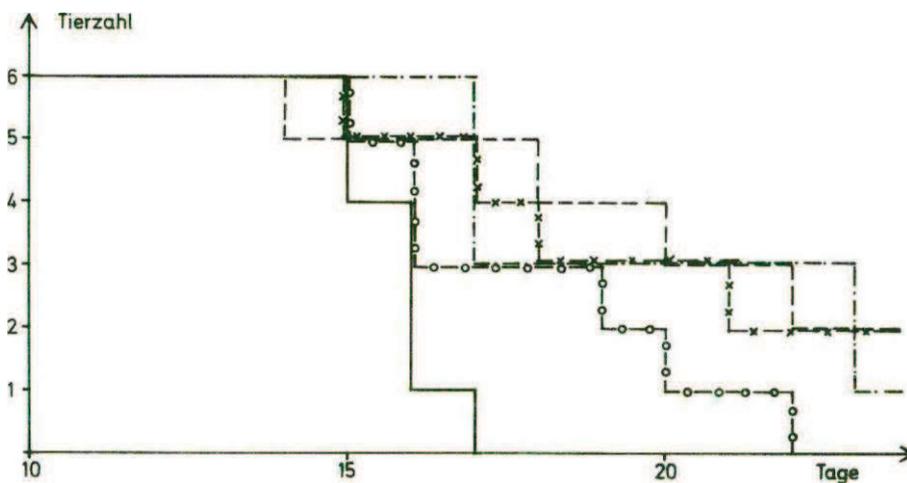


Abb. 7:

Wachstum der Leukämie 5222 in BD-9-Ratten unter Therapie mit juvenilem Lebergewebe. Weibliche Ratten, Gewicht 200 - 250 g, erhielten 1000 Tumorzellen s.k. injiziert. Die äußerst maligne Leukämie führt bei allen unbehandelten Tieren in 16 - 17 Tagen zum Tode. Therapiert wurde am Tag +1, +4, und +7 mit 0,5 mg juvenilem Lebergewebe.

Diskussion:

K. THEURER: Die lokalen Reaktionen, Herr MUNDER, sind ja ein Problem, das mich von Anfang an sehr beschäftigt hat. Bei Ihren ganzen Experimenten sind unter der Behandlung mit unseren Organpräparaten praktisch keine lokalen Entzündungsreaktionen am Tumor abgelaufen. Bei einem Immunmechanismus, unter Beteiligung von T-Zellen oder Killer-Zellen, müßten sich doch Lymphozyten- oder T-Zellen am Tumor in einer Entzündungszone ansammeln. Das scheint doch hier nicht der Fall gewesen zu sein.

P.G. MUNDER: Vielleicht haben wir uns hier mißverstanden. Wir injizieren in der Regel 3mal. Am Injektionsort selbst ist es durch die lösliche Fraktion nie zu einer entzündlichen Reaktion gekommen. Am wachsenden Tumor kommt es jedoch selbstverständlich zur Einwanderung von Lymphozyten, Makrophagen usw. Nur die Substanz an sich hat nie örtlich oder systematisch eine Nebenwirkung ausgelöst.

K. THEURER: Es wäre nun die Frage, ob nicht durch unsere Organpräparate ein Regulationsmechanismus in Gang kommt, der dafür sorgt, daß der Tumor gewissermaßen sui generis abstirbt, ohne daß eine exogene zelluläre oder humorale Einwirkung stattfinden müßte. Möglicherweise haben Sie lokal dann auch eine Invasion von Leukozyten. Ich vermute nämlich einen Regulationsmechanismus - nicht den üblichen immunologischen Mechanismus mit immunologischer Abwehr und Aggression - sondern Faktoren, die in die zelluläre Regulation eingreifen.

P.G. MUNDER: Es ist sehr schwierig, den zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus rein anhand der durchgeführten Experimente zu ermitteln.

P. CHANDRA: Mehrere Autoren haben beobachtet, daß es bei Ratten und Mäusen kaum zu anaphylaktischen Schocks kommt. Möglicherweise sind Ratten und Mäuse tolerantere Tiere. Vielleicht ist es deshalb bei Ihnen auch einfacher, Tumoren zu therapieren. Betrachtet man Ihre ganze Batterie an Untersuchungen, beispielsweise, daß beide Leberarten, foetal wie juvenil, gleichermaßen aktiv sind, daß auch Hirnextrakte aktiv sind, daß durch DNase und RNase die Aktivität nicht gehemmt werden kann, sondern nur durch Hydrolyse, so habe ich hierfür möglicherweise eine Erklärung. Stimmt es, daß die Aktivität noch 10 Tage nach der Tumortransplantation nachweisbar ist?

P.G. MUNDER: Therapeutisch spielt sich alles innerhalb von 5 - 10 Tagen ab.

P. CHANDRA: Wenn die Extrakte noch 10 Tage danach wirken, weiß ich nicht, inwiefern hier überhaupt T-Zellen überhaupt noch eine Rolle spielen. Ein besserer Kandidat scheint mir irgendein Chemoregulator zu sein. Wir haben Untersuchungen durchgeführt, die wir bisher noch nicht publiziert haben. So sind gerade Hirn und Leber die reichsten Quellen für zyklisches AMP! Gerade diese beiden Extrakte sind auch nicht durch DNase und RNase abbaubar. Wenn Sie natürlich hydrolysieren, geht die Phosphatbindung kaputt. Mein Vorschlag wäre deshalb: Können Sie diese Versuche nicht mit verschiedenen Mengen an zyklischem AMP, aber konstanten Mengen von Extrakt, noch einmal wiederholen?

P.G. MUNDER: Ich habe gehofft, daß ein Vorschlag dieser Art kommt. Ich werde ihn sicher aufgreifen. Denn es wirklich sehr schwierig, diese Effekte rein experimentell zu erklären. Sicher ist es ein Weg, auf dem man weitergehen sollte oder den man versuchen sollte. Vielen Dank.

G. HARTSCH: Als böser Mensch, für den Genetik nicht das Hauptarbeitsgebiet ist, wollte ich auch vorschlagen, daß evtl. zusätzliche Parameter des Leberstoffwechsels herangezogen werden sollten, um die interessanten Fragen abzuklären. Ich denke daran, daß beispielsweise durch Organpräparate der Radikalbildungsmechanismus u.U. verändert sein könnte. So erhöht das cAMP die Peroxydkonzentration der Leber. Man müßte also die Superoxyddismutase untersuchen.

P.G. MÜNDER: Es gibt einen gewissen Engpaß an Manpower. Ich halte Ihre Anregungen durchaus für wertvoll und richtig und werde diese gerne weiterverfolgen. Ich kann jedoch nicht sämtliche Experimente durchführen. Irgendwann reicht unser "Manpower" hierfür nicht aus.

J. SEIFERT: Ich möchte doch einmal auf die fehlenden Nebenwirkungen und die gute Verträglichkeit von zytoplasmatischen Leberpräparaten eingehen. Es klang so ein bißchen an, als ob Mäuse und Ratten weniger zu immunisieren wären und deswegen kaum Nebenwirkungen beobachtet werden konnten. Wir haben nun Kaninchen mit diesen Organpräparaten behandelt und keinen Titer erzielen können, obwohl Kaninchen bekanntlich gute Antikörperbildner sind. Das läßt, glaube ich, den Schluß zu: Die Präparate sind an sich sehr wenig immunogen und deswegen auch sehr gut verträglich.

P.G. MÜNDER: Das ist ja gerade ein Vorteil dieser so hergestellten Präparate!

A. MAYR: Wir können nicht daran vorbeigehen, das haben die Versuche von GILLISSEN und MÜNDER anhand biometrisch abgesicherter Daten deutlich gezeigt, daß diese sulfatisierten Organpräparate bei unterschiedlichen Tumoren therapeutisch wirken. Dies müssen wir zur Kenntnis nehmen. Auf der anderen Seite sind die Wirkungsmechanismen noch nicht aufgeklärt. Wir kennen eine ganze Reihe von Präparaten, beispielsweise Immunstimulanzen, BCG usw., mit denen man ebenfalls ähnliche Effekte erzielen kann. Wir selber haben über Paramunitätsinduktoren gearbeitet mit vergleichbaren Effekten. Diese wirken praktisch alle auf zellulärer Ebene, auf Ebene der T-Zelle und Makrophagen. Ob es sich nun um Regulationen auf makromolekularer Ebene handelt, darüber wissen wir derzeit noch sehr wenig.

Über den In-Vitro-Einfluß von Neytumorin
auf" die lymphozytenabhängige Zytotoxizität

H. BUSCHMANN

Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektion«- und Seuchenmedizin der
Universität München

Der Schutz des Organismus vor allogenen Zellen und vor eigenen Zellen, deren Oberflächenstruktur durch Viren oder maligne Entartung verändert worden ist, d.h. also auch der Schutz vor einer Tumortransformation, wird zu einem wesentlichen Teil durch die Mechanismen der zellulären Zytotoxizität bewerkstelligt. Es handelt sich hierbei um ein komplexes System, welches sich einteilen läßt in die lymphozytenvermittelte Zytotoxizität und in die makrophagenvermittelte Zytotoxizität (Tab. 1).

Zur Untersuchung der Beeinflussung der zellvermittelten, von Antikörpern unabhängigen Zytotoxizität durch CTL Lymphozyten benutzten wir ein Testsystem, wie es von BRUNNER und CEROTTINI ausgearbeitet wurde, und das die Freisetzung von ^{51}Cr aus markierten Zielzellen durch spezifisch sensibilisierte Milzzellen mißt. Als Zielzellen dienten P815 Mäuaemastozytomzellen, die auch zur Sensibilisierung der Milzzellspendertiere, nämlich NMRI-Mäuse, benutzt wurden. Bei der eigentlichen in vitro Reaktion betrug das Verhältnis zwischen Milzzellen und Zielzellen 100:1. Als Inkubationszeit wählten wir vier Stunden. Zu dem in-vitro-Ansatz von 0,2 ml Milzzellsuspension (2×10^7 Zellen/ml) und 0,2 ml ^{51}Cr -markierter P815 Zielzellen (2×10^6 Zellen/ml) fügten wir 0,2 ml von der zu testenden Substanz hinzu.

In der Tabelle 2 sind unsere Ergebnisse mit NEYTUMORIN III aufgezeichnet.

Tabelle 1: Mechanismen der zellulären Zytotoxizität

Phänomen	Bezeichnung der Effektorzellen	Thymusabhängigkeit	Beteiligung von Antikörpern	Funktion
<u>Lymphozytenvermittelte Zytotoxizität</u>				
1. Von Antikörpern unabhängige Zytotoxizität durch sensib. T-Zellen.	CTL	ja	nein	Schutz des Organismus vor allo-genen Zellen und vor eigenen Zellen, deren Oberflächenstruktur durch Viren, Tumortransformation oder Addition eines Hap-tens modifiziert worden ist.
2. Antikörpervermittelte (IgG-abhängige) Zyto-toxizität durch nor-male Lymphozyten ("Null"-Zellen)	K	teil-weise	ja	Auftreten bei einer großen Zahl entzündlicher Prozesse
3. "Natürliche" Zytotoxi-zität durch Lymphozy-ten (unreife T-Zellen?) normaler, d.h. nicht künstlich sensibilis. Individuen.	NK	nein	teil-weise	Thymus-unabhängiger Schutz des Organismus vor Tumorstadium.
<u>Makrophagenvermittelte Zytotoxizität</u>				
1. Zytotoxizität durch Kontakt mit den Ziel-zellen nach Einwirkung von Aktivierungsfaktoren aus T-Zellen		ja	nein	Zytolytischer Effekt auf Tumorzellen, wahrscheinlich aufgrund von C3a-Bildung

noch Tabelle 1:

Phänomen	Bezeichnung der Effektorzellen	Tymusabhängigkeit	Beteiligung von Antikörpern	Funktion
2. Zytotoxizität durch Antikörper, die mittels des Fc-Rezeptors an Makrophagen gebunden wurden		nein	ja	Schutz des Organismus vor allogenen Zellen

Tabelle 2: Zytotoxischer Effekt von sensibilisierten Mäusemilzzellen auf PÖ15 Mastrozytomzellen in Gegenwart von NEYTUMORIN III

	c.p.m. + Sj (10 Tests)	Zytotoxi- scher Effekt: Exp.Cr-Rel.- Spontan Max.Rel.- Spontan x 100
Sensib.Milzzellen + Zielzellen + 0,2 ml NEYTUMORIN	3 [^] 2,3 + 25,92	7, [^] 1
Sensib.Milzzellen + Zielzellen + 0,2 ml Medium ¹⁾	319,8 + 28,22	6,35
Nicht sensib.Milzzellen + Ziel- Zellen + 0,2 ml NEYTUMORIN III	178,3 + 12,91	
Nicht sensib.Milzzellen + Zielzellen + Medium	179,9 + 15,28	
Zielzellen + 0,2 ml NEYTUMORIN + Medium	185,6 + 13,1 [^]	
Spontanrelease der Zielzellen in Gegenwart v. Medium	185,37 + 10,95 (= 8,05 % des Max.Release)	
Max.Release	2302 + 106,50	

¹⁾ Dulbecco-Medium + 5 % inakt. FKS

Au» den Untersuchungen geht hervor, daß NEYTUMORIN günstigen Einfluß auf die Zytotoxizität gegenüber Tumorzellen ausübt.

Literatur

BRUNNER, K.T., MAUEL, J., CEROTTINI, J.C., CHAPUIS, B.:
Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on ⁵¹Cr-labelled allogeneic target cells in vitro; inhibition by isoantibody and by drugs. Immunology , 181 (1968).

Diskussion

K. THEURER: Biologische Vorgänge sind sehr komplexer Natur. Es ist also wenig sinnvoll, nur nach einem Stoff zu suchen, sondern es gibt wahrscheinlich eine ganze Skala, die irgendwie ähnliche Wirkungen haben. Dies läßt sich ja auch anhand der Regulationshypothesen und -theorien nach MONOD ableiten. Es sind immer mehrere Faktoren, die ein Tumorgen irgendwie beeinflussen können. Noch komplexer wird die ganze Sache, daß in Ihrem System immunologische Vorgänge mit Regulationsmechanismen parallel laufen. Sind Sie nicht auch der Meinung, daß es eben sehr schwierig ist, ein System isoliert zu erkennen und anzusprechen?

H. BUSCHMANN: Selbstverständlich! In der Biologie existieren vielerlei Mechanismen und Interaktionen. Wir haben mehrere Substanzen in unserem System untersucht. Nur wenige zeigten einigermaßen gute Effekte. Aus der Literatur kennen wir zwar die Endotoxine von Bakterien, im großen und ganzen waren wir jedoch sehr enttäuscht, wie wenige Substanzen eigentlich in dem Versuchssystem einen fördernden Einfluß auf die Zytotoxizität gezeigt haben.

Untersuchungen über die Wirkungsweise makromolekularer
Organextrakte auf normale und maligne entartete Zellen

K. LETNANSKY

Institut für Krebsforschung
der Universität Wien

Eine Reihe eindrucksvoller Studien scheint die Wirksamkeit bestimmter Faktoren, die in Organpräparaten enthalten sind, gegenüber Krebs immer mehr zu bestätigen. Dies geht vor allem hervor aus den Versuchen von ANDERS et al. (1) am spontanen Melanom des Zahnkarpfens sowie aus jenen von GILLISEN (diese Tagung) bzw. MUNDER (diese Tagung und (2)) an verschiedenen chemisch induzierten oder Impftumoren der Ratte und der Maus. Von besonderem Interesse sind wohl die Befunde von LINDENMANN, der über deutlich positive Wirkungen bei Humantumoren berichten konnte (3)-

Für den Wissenschaftler ist nun darüber hinaus noch die Frage nach dem "wie" von fundamentaler Bedeutung. Die Forschung ist ja etwas Zukunftsorientiertes - aus den Erkenntnissen der Gegenwart und der Vergangenheit wollen wir ja so viel lernen, daß künftige Modelle noch zweckmäßiger, besser, billiger etc. arbeiten.

Daher galt seit langem unser Hauptinteresse der Wirkungsweise bestimmter makromolekularer Substanzen, die sich bei explantierten tierischen und menschlichen Tumoren als wirksam erwiesen hatten. Unser Kriterium war der Einbau von Thymidin in die DNS und unsere Modelle waren das Ehrlich-Ascites-Carcinom der Maus und das Yoshida-Sarkom der Ratte sowie die malignen Zelllinien 2T und E14. Als normale Vergleichszellen diente uns Rattenknochenmark und der Fibroblastenstamm Wi3Ö. Dabei ergab sich unter Verwendung weitgehend gereinigter Fraktionen aus mäterner Rinderplazenta eine bis zu 80 %ige Hemmung des Thymidineinbaues in die Tumorzellen (4.5).

Die Hauptkomponente der wirksamen Fraktionen ist offenbar ein Protein oder enthält zumindest einen für seine Aktivität essentiellen Proteinanteil. Dies geht daraus hervor, daß proteolytische Enzyme, wie Trypsin oder Papain, seine Wirksamkeit weitgehend vernichten (6). Das Molekulargewicht liegt bei etwa 60.000 (4).

Die wiederholt beschriebene hemmende Wirkung makromolekularer Substanzen auf die Zellproliferation ist zweifellos ein komplexer Vorgang. Einerseits werden im lebenden Organismus sehr wahrscheinlich Immunstimulationen eintreten. Andererseits scheinen zelluläre Vorgänge, vor allem die Synthese der DNS, signifikant gehemmt zu werden. Wie letzteres vor sich gehen könnte, dafür zeigt Ihnen Abb. 1 in sehr vereinfachter, schematisierter Form einige Möglichkeiten. Zunächst: Wo kann etwa ein Effektor "E" am DNS-Syntheseapparat angreifen?

1. Es kann die DNS blockiert werden (z.B. Acridinorange, Actinomycin D).
2. Die Tertiärstruktur des Chromatins kann verändert werden (z. B. chemische Modifizierung von Kernproteinen).
3. Einfluß auf die DNS-Polymerase selbst (z. B. durch SH-Blocker).
4. Einfluß auf Kontroll- und Regelvorgänge im Chromatin (z. B. Hormone).

Die nächste Frage aber, die wir uns in diesem Zusammenhang stellen müssen, lautet: Wie kommt der Effektor überhaupt in die Zelle? Auch dafür sind in Abb. 1 einige Möglichkeiten eingezeichnet:

1. Eindringen des unveränderten Effektors durch Diffusion oder durch carrier-vermittelten aktiven bzw. passiven Transport.
2. Eindringen durch Diffusion, aber im Zellinneren Bindung an einen Rezeptor. Wirkung im Zellkern als Effektor-Rezeptor-Komplex.

3. Bindung an einen Membran- (Oberflächen-) Rezeptor und Weitergabe des Signals in das Zellinnere. Ein "second messenger" (z. B. cAMP) leitet dann die Information weiter in den Zellkern.

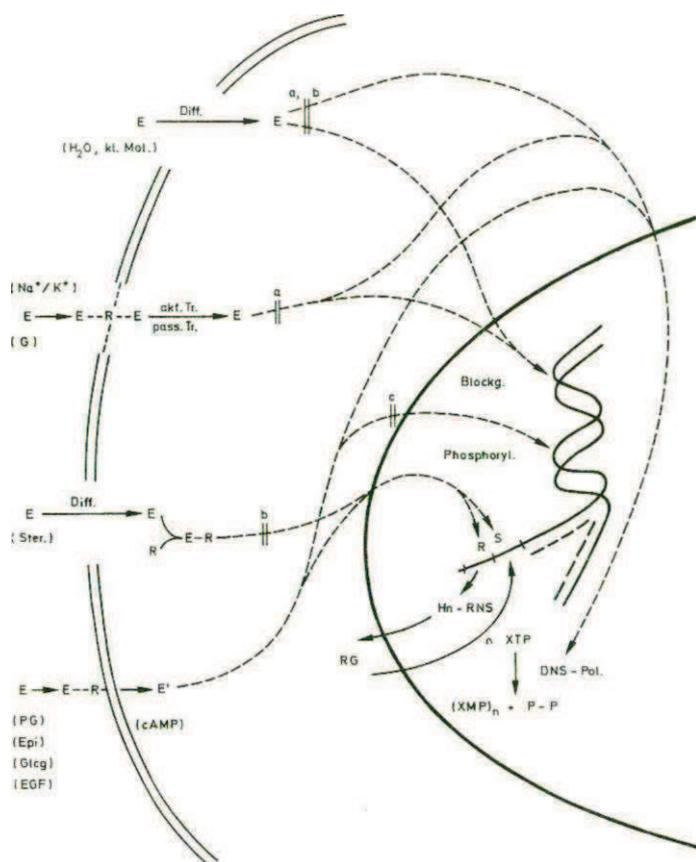


Abb. 1

Für unsere Verhältnisse kommen die Varianten 1) und 2) sehr wahrscheinlich nicht in Frage. Es konnte nämlich gefunden werden, daß bei Verwendung eines Versuchsansatzes, der Zellkerne anstelle von intakten Zellen enthielt, der Hemmeffekt nicht mehr nachzuweisen ist (7). Außerdem haben Bedingungen, die zu einer erhöhten Membranpermeabilität führen sollten,

keine Steigerung des Hemraeffektes zur Folge (8).

Als wahrscheinlichster Transportmechanismus bleibt somit der von vielen Peptidhormonen eingeschlagene Weg über den Membranrezeptor übrig. Ein "second messenger" wird dann wahrscheinlich die Hemmwirkung im Zellkern bewirken, wobei jedoch eine veränderte Tertiärstruktur des Chromatins nicht involviert zu sein scheint. Dies könnte man vor allem dann erwarten, wenn der Inhibitor zu einer Veränderung im Grad der Phosphorylierung oder Azetylierung der Kernproteine führen würde, was nicht beobachtet werden konnte (8). Eine Deutung in dieser Richtung wäre insofern naheliegend, als cAMP, der "second messenger" vieler Peptidhormone, eine Reihe von Proteinkinasen stimuliert.

Ein weiterer Hinweis auf die Beteiligung von Membranrezeptoren im Zuge der Wirkung des DNS-Synthese-Inhibitors aus mütterlicher Rinderplazenta wird durch Versuche mit Trypsin behandelten Tumorzellen gebracht. Eine Vorinkubation der Zellen mit diesem Enzym unter milden Bedingungen führt nämlich zu einer deutlichen Verminderung der Hemmwirkung bei der nachfolgenden Inkubation mit dem Inhibitor. Dies kann nur dadurch erklärt werden, daß bei der Vorinkubation Oberflächenproteine mit binding-Funktion zerstört wurden (8).

Den direkten Beweis für das Vorliegen bestimmter membrangebundener Rezeptorproteine kann man natürlich nur dann führen, wenn man die Bildung des Inhibitor-Rezeptor-Komplexes selbst nachweisen kann. Zu diesem Zweck isolierten wir zunächst Membranfraktionen aus Yoshida-Ascitestumorzellen und inkubierten sie mit dem Inhibitor, der jedoch vorher zwecks Identifizierung radioaktiv markiert worden war. Die Einführung der Radioisotope in Form eines Tritium-markierten Propionsäurerestes ist in Abb. 2 dargestellt:

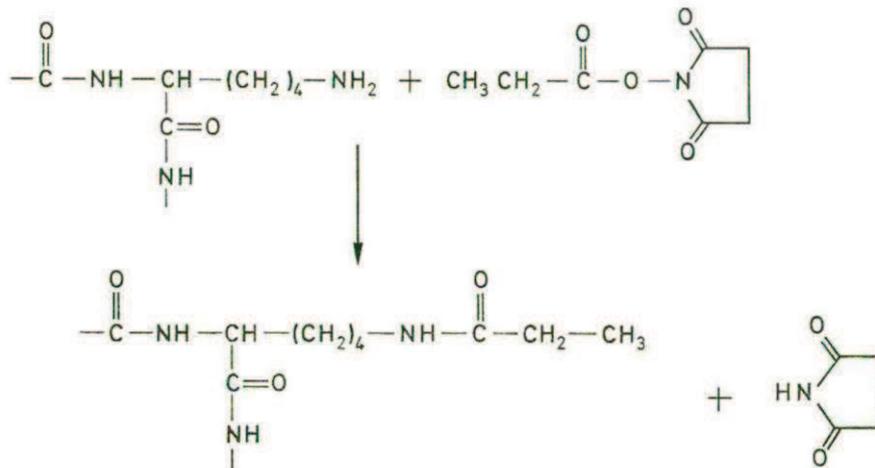


Abb. 2

N-Propionyl-succinimid ist eine sehr reaktionsfreudige Verbindung, die ihi-en Propionsäurerest gerne an freie Aminogruppen abgibt. Diese freien Aminogruppen können entweder endständige Aminosäuren von Proteinen sein oder aber basischen Aminosäuren, wie etwa Lysin, entstammen. Dieser Eingriff ist so geringfügig, daß er im allgemeinen ohne weitere Folgen für das chemische und physikalische Verhalten des solcherart markierten Proteins bleibt.

Vvonn wir also den markierten Inhibitor gemeinsam mit der Membranpräparation inkubieren und dann abzentrifugieren, dann können wir eine beträchtliche Radioaktivität an die Membranen gebunden finden. Wenn man ein wenig spekuliert und annimmt, daß in jedes Inhibitormolekül ein Propionatrest eingeführt wurde - was allerdings experimentell keineswegs erwiesen ist - dann könnte man daraus eine Anzahl an Bindungsstellen für den Inhibitor an die Tumormembranen berechnen, wie er in der gleichen Größenordnung für die Bindung von Glucagon an Leber-

raembranen gefunden wurde (9), nämlich etwa 3 pMol/mg Membranprotein.

Die nächste Frage, die zu beantworten sein wird, ist jene, ob auch Normalzellen diese Membranrezeptoren im gleichen Ausmaß besitzen wie Tumorzellen. In Vorversuchen konnte zunächst an Membranen von Knochenmarkzellen festgestellt werden, daß diese Zellen wohl auch den Inhibitor binden können, daß aber die Anzahl der Bindungsstellen wesentlich geringer ist. Ähnliches gilt sehr wahrscheinlich auch für die Plasmamembran von Leberzellen.

Wenn sich diese, zunächst noch ein wenig mit Vorsicht vorgebrachten Befunde, nun tatsächlich erhärten und auf weitere Tumor- bzw. Normalsysteme ausweiten ließen, könnten wir mit etwas Glück möglicherweise gleich um zwei Schritte vorwärts kommen. Zum einen kämen wir durch das Auffinden vermehrter Inhibitorrezeptoren an der Oberfläche von Tumorzellen der Erklärung der Wirkungsweise wesentlich näher. Zum anderen jedoch könnte man ein wenig für die Zukunft spekulieren: Wenn es ein Molekül gibt, das Tumorzellen erkennen kann, indem es dort bevorzugt gebunden wird, und wenn dieses Molekül mit anderen Molekülen bzw. Molekülresten fest verbunden werden kann, wie dies die Einführung des Tritium-markierten Propionsäurerestes bewiesen hat, dann könnte man doch vermutlich auch einen Rest daran binden, der von sich aus schon eine carcinostatische Wirkung aufweist. Damit sollten die beiden Funktionen "Erkennen der Tumorzelle" und "Wirkung auf die Tumorzelle" und damit auch die Wirksamkeit des Präparates potenziert werden können; ein Traum, wie er schon oft und seit langem geträumt wurde - vielleicht sind wir auch ihm einen Schritt näher gekommen.

Literatur

1. ANDERS, F. (Hrsg.): Organo- und Immunotherapie: Neue Perspektiven in der Medizin. Enke-Verlag Stuttgart 1979

2. **MUNDER, P.G.: Erfahrungsheilkunde 29, 201 (1980)**
3. LINDENMANN, M. Erfahrungsheilkunde 29, 217 (1980)
4. LETNANSKY, K. Exp. Path. 2: 35^ (1974)
5. LETNANSKY, K. Oesterr. Zeitschr. Onkol. 2, 31 (1974)
6. LETNANSKY, K. Oesterr. Zeitschr. Onkol. 4, 2 (1977)
7. LETNANSKY, K. unveröffentlicht
8. LETNANSKY, K. Gesterr. Zeitschr. Onkol. 4, 42 (1977)
9. RODBELL, M.; H.M.J. KRANS; S.L. POHL; L. BIRNBAUMER:
J. biol. Chera. 246, 1.861 (1971)

Diskussion

K. THEURER: Ihr Vortrag hat mich sehr motiviert. Ich möchte darauf hinweisen, daß wir meines Wissens die Ersten waren, die die Schlepperfunktion von Molekülen therapeutisch nutzten. So bei den Antikörperfragmenten und den Organpräparaten "N". Diese Präparationen beruhen auf dem Prinzip, biologische Faktoren, Vitamine oder sogar Hormone in ganz geringen Konzentrationen an organotrope Organpräparate anzukoppeln. Damit wird eine bessere lokale Wirkung erzielt.

K. LETNANSKY: Es ist entscheidend, das Agens mit dem Schlepper fest zu verknüpfen.

K. THEURER: Bei den Antikörperfragmenten haben wir eine kovalente Bindung. Hier sind die Pharmaka direkt chemisch an die Immunglobuline und deren Fragmente angekoppelt. Bei den Organpräparaten ist es schwieriger, chemisch irgend etwas zu verändern. Man weiß nie, ob dadurch nicht das eigentliche Wirkprinzip zerstört wird. Wahrscheinlich reichen aber auch schon nicht-kovalente Bindungen.

Adaptive Gen-Regulation des Synthesestoff-
wechsels durch persistierende Vorläufer-
mechanismen des Immunsystems in Beziehung
zur Onkogenese und molekularen Regeneration

K. THEURER

S,

Forschungslaboratorien für Organo- und
Immunotherapie Ostfildern

Die Regulation des zellulären Synthesestoffwechsels ist Voraussetzung für Leben und Gesundheit. Sie beruht im Grunde auf der Fähigkeit von Molekülen, sich gegenseitig zu erkennen und miteinander zu reagieren. Im ausgewachsenen, gesunden Organismus halten sich Zelluntergang und Zellneubildung die Waage. Der Zellneubildung geht eine vermehrte Synthese der Zellinhaltsstoffe voraus. Abbau, Synthesevorgänge und Zellproliferation müssen deshalb miteinander in gemeinsamer Regulation gekoppelt sein. Die Mechanismen dafür sind bisher nur zum Teil bekannt.

Rasch ablaufende Routineregulationen für die Anpassung an Milieuveränderungen können als Summationawirkung über präformierte Mechanismen von Hormonen und "Second messenger" wie das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) ablaufen. Zur Überwindung von gravierenden Noxen und speziellen Zellschäden dürften jedoch Einzelregulationen von Genen nach der Theorie von JACOB und MONOD auf der Ebene der Transkription (11), d.h. bei der Entstehung der mRNA oder aber auch auf der Ebene der Translation (13)» d.h. bei der Synthese von Proteinen an den Ribosomen, erfolgen.

Die Blockade von Genen geschieht durch Repressoren, das sind niedermolekulare Eiweißstoffe, am Promotoranteil der Regulatorgene. Diese regulieren über das Operatorgen die ent-

sprechenden Strukturgene, d.h. die eigentliche Synthesinformation. Diese wird durch den indirekten Mechanismus mittels Repressoren abgeschaltet und mittels Induktoren eingeschaltet. Die Induktoren erkennen spezifisch die Repressoren und heben diese vom Regulatorgen ab, wodurch die Transkription in Gang kommt. Wahrscheinlich gibt es bei höheren Organismen verschiedene Regulationswege:

den der Dauerblockade und

den des reversiblen, der jeweiligen Stoffwechsellage angepaßten, "An- und Abschaltens".

Nach BONNER sollen Gene, die bestimmte Entwicklungsschritte determinieren, durch Histone auf Dauer blockiert sein, solange ihre Information nicht gebraucht wird (2). Bei der Dauerblockade auf Histon-Basis könnte die Fähigkeit zum Ersatz der Histone beim Turn-over, dem alle Bio-Moleküle unterworfen sind, involvieren, so daß es auf eine kanzerogene Noxe hin bei gegebener Disposition zur Derepression und dauerndem Einschalten gewisser Gene kommt - was eine Präkanzerose oder Tumorentstehung bedeuten kann. Eine Blockierung könnte demgegenüber auch an den Ribosomen stattfinden. Die Inaktivierung bzw. Blockierung von Hemmstoffen der Synthesmechanismen bedeutet Derepression bzw. Induktion, d.h. Einschalten der Synthesvorgänge für die jeweils kontrollierten Einzelgene, gegebenenfalls auch für eng benachbarte Gene, die im "Operon" gleichzeitig reguliert werden. Bei Mutation des Promotoranteils der Regulatorgene oder der Synthesinformation für die Repressoren geht die Erkennungsfähigkeit beider Faktoren verloren, so daß es ebenfalls zur Tumorbildung kommen könnte, wenn nicht eine Anpassung an den veränderten Gen-Abschnitt stattfindet. Andererseits müssen Repressor und Induktor bei Strukturveränderungen wieder aufeinander angepaßt werden, um die Einschaltung der dazu gehörenden Strukturgenabschnitte zu ermöglichen.

Die Anpassung einerseits vom Repressor zum Genabschnitt und

andererseits vom Induktor zum Repressor, könnte durch einen Vorläufermechanismus des Immunsystems erfolgen. Ein solcher hypothetischer Adaptationsmechanismus ist Voraussetzung für die Evolution, weil auch dort eine entsprechende Anpassung der Regulation an die veränderte Situation für die Erhaltung des Lebens notwendig sein kann. Ich habe für diese hypothetischen, adaptativen Regulationsstoffe die Bezeichnung "Antikörperartige Funktionsstoffe" gewählt (18), weil komplette multivalente Immunglobuline für die Funktion ungeeignet sind. Immunglobuline können normalerweise nicht in ungeschädigte Zellen eindringen und würden durch Präzipitation oder Agglutination mit dem Antigen sowie durch Komplementbindung zytotoxisch bzw. zytolytisch wirken. Es ist deshalb an Funktionsstoffe zu denken, ähnlich den monovalenten, nicht präzipitierenden und agglutinierenden und nicht komplementbindenden, inkompletten Antikörpern oder den variablen Bestandteilen (Domänen) von Antikörpermolekülen mit erhaltener antideterminanter Bindungsfähigkeit am Antigen bzw. Hapten. Repressoren hätten dann die DNA zum auflösenden Antigen, während die Induktoren durch die Repressoren induziert werden würden. Der angenommene Vorläufermechanismus der Antikörpersynthese für solche Regulationsstoffe könnte intrazellulär in den betroffenen Zellen ablaufen und bisher nur deshalb noch nicht erkannt sein, weil der qualitative Nachweis solcher niedermolekularer adaptativer Regulationsstoffe auf Schwierigkeiten stößt.

Monovalente Antikörper wurden bisher bei erworbenen Blutkrankheiten gegen Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten gefunden und mit dem Coombs-Test nachgewiesen (5). Monovalente Antikörper können auch durch Inhibition der Präzipitations- oder von Trägerreaktionen quantitativ bestimmt werden. Beziehungen zu monovalenten Antikörpern dürften auch bei den sogenannten blockierenden Antikörpern bestehen (7). Diese wirken allergischen Vorgängen, die durch Reagine ausgelöst sind, entgegen und können die Plazenta passieren. Sie setzen aus Leukozyten kein Histamin frei und sind thermostabil.

Nach Untersuchungen von HEIDELBERGER und KENDALL sind mehr als 20 % des gesamten Antikörpergehalts eines Individuums monovalente Antikörper (10). Sie entstehen im frühen Stadium der Immunisierung, noch bevor Antikörper der IgM-Klasse auftreten. Diese pentavalenten IgM-Antikörper-Moleküle können in fünf monovalente Untereinheiten aufgespalten werden. Man hat deshalb daran gedacht, daß die monovalenten Antikörper sich nicht zum kompletten IgM-Molekül kombiniert haben oder daß sie bereits auseinandergefallene Einheiten eines IgM-Moleküls darstellen (16). Die spezifischen Bindungseigenschaften der monovalenten Untereinheiten sind gegenüber dem nativen IgM-Molekül nicht vermindert und verhalten sich serologisch wie monovalente Fragmente von IgM-Molekülen. Fragmente, welche die Antideterminante tragen und die klassenspezifischen Eigenschaften der Immunglobuline nicht aufweisen, werden außerordentlich rasch eliminiert. Im Harn sind reichlich Fab- und $F(ab^1)^-$ -Fragmente nachzuweisen, hingegen wenig Fc-Fragmente oder intakte IgG-Moleküle. Bei gewissen Krankheiten, so der Heavy chain disease, findet sich auch eine deutliche Vermehrung von H-Ketten im Harn. Fab-Fragmente tragen je einen antideterminierenden Bezirk.

Das $F(ab^1)^-$ -Fragment verhält sich hingegen wie ein bivalenter Antikörper und vermag das Antigen zu präzipitieren. Es ist deshalb zur adaptativen Regulation ungeeignet. H- und L-Ketten können das Antigen oder Hapten blockieren. Zur Blockierung der determinanten Gruppe eines Antigens würden Polypeptide mit einem Molekulargewicht von bis zu 13-000 ausreichen. Das Fc-Fragment des Antikörpers besitzt keinen antideterminierenden Bezirk und bedeutet eine Neuerwerbung des Immunsystems im Rahmen der konstanten Antikörperbestandteile. Das Immunsystem selbst ist aber in der Phylogenese erst relativ spät aus der phagozytären Abwehr entstanden. Phagozytose bedeutet intrazellulären Abbau, so daß dort entsprechende Mechanismen der adaptativen Enzyymbildung wirksam sein konnten. Antideterminante Peptide könnten hierbei als Apoferment mit einem Ko-Enzym hybridisieren.

Die Hypothese über die zelluläre Regeneration durch anti-körperartige Funktionsstoffe (18) wird nicht nur gestützt durch die Zellproliferation im Anfangsstadium von immunopathogenen Erkrankungen wie z.B. der HASHIMOTO'SCHEN Thyreoiditis, sondern auch durch die Stimulierung des Tumorzellwachstums nach Immunisierung mit Homogenaten und Extrakten aus abgetöteten, gleichartigen Tumoren (4). Dieses Phänomen einer Steigerung der Anzahlerate und der Größe der Tumoren, der Zahl und Größe der Metastasen sowie der Anzahl tödlich ablaufender Versuche kann meines Erachtens nicht allein durch ein immunologisches Enhancement der Tumorzellen erklärt werden. Blut von Tieren, das während der Regeneration der Leber nach teilweiser Hepatektomie gewonnen wird, enthält einen Faktor, der erst 24 bis 72 Stunden nach der Operation im Serum auftritt und der in der Phase der Leberregeneration einen zusätzlichen Anstieg der Zellneubildung in der Leber verursacht. FRIEDRICH-FREKSA und ZAKI konnten durch einmalige intravenöse Injektion des Serums von partiell hepatektomierten Ratten eine signifikante Steigerung der Zahl der Mitosen auch bei gesunden Rattenlebern herbeiführen (6). Normales Rattenserum erwies sich hingegen als völlig wirkungslos. An explantierten Zellen hat WRBA die stoffwechselstimulierende Wirkung des Serums teilweise hepatektomierter Ratten durch die vermehrte Aufnahme von radioaktiv markierten Phosphat nachgewiesen (22). Die Steigerung der Synthesevorgänge ist organspezifisch, aber nicht artspezifisch. Die fördernde Wirkung des Blutserums konnte auch an Mäusen und Goldhamstern gefunden werden. Entsprechende Ergebnisse zeigten Seren von nephrektomierten Tieren bezüglich der Stimulierung von Nierengewebe.

Wegen der Latenzzeit von 24 bis 78 Stunden zwischen der Organ-schädigung und dem Auftreten der regenerationsfördernden Eigenschaften im Serum war daran zu denken, daß die wirksamen Faktoren nicht direkt aus den geschädigten Zellen stammen, sondern erst gebildet werden, nachdem die intrazellulären Repressoren ins Blut gelangt sind und dort immunogen wirken (18). Weiter spricht für diese Hypothese auch die vielfach

behauptete, allgemein revitalisierende Wirkung von zytotoxischen, antimesenchymalen Seren in Art der BOGOMOLETZ-Seren (19). Diese könnten in geeigneter Dosierung als aktive Immunisierung die Gewebe des Immunsystems für die Bildung von Syntheseinduktoren stimulieren und andererseits in höherer Konzentration als passive Wirkung Immunzellen vernichten und Immunsuppression bewirken. Eine Wirkung über Antiidiotyp-Antikörper ist indessen nur im autologen System unter Verwendung von patienteneigenen Antikörpern wahrscheinlich (20). Der Mechanismus der adaptativen Regulation könnte aber auch an der therapeutischen Wirksamkeit von makromolekularen Organextrakten beteiligt sein. Synthese-reprimierende Faktoren können einerseits direkt wirken und andererseits durch immunogene Dosierung die Bildung von Synthese-stimulierenden antikörperartigen Funktionsstoffen auslösen (21).

Die von BULLOUGH aus verschiedenen Organgeweben isolierten Chalone hemmen die Zellproliferation. Sie wirken streng gewebsspezifisch und sind nicht artspezifisch. Der Effekt ist reversibel. Man kennt bisher 50 verschiedene Arten, die aus unterschiedlichen Geweben isoliert werden konnten und auch im Urin nachweisbar sind. Der chemische Aufbau dieser Stoffe ist unterschiedlich und reicht von der Größe der Polypeptide mit einem Molekulargewicht von 2000 bis zum Molekulargewicht von kleineren Proteinen mit über 50.000. Im Krebsgewebe sind die Chalone gegenüber dem Muttergewebe auf 1/10 reduziert. Es ist auch ein epidermischer Mitose-Inhibitor bekannt, der die Zellteilung in der Haut spezifisch hemmen soll. Möglicherweise bestehen Beziehungen zu den Tumorchemostoffen, den Anti-Neoplastonen, die BURZYNSKI aus dem Harn bzw. dem Blut von Gesunden isoliert hat (3). Vermutlich sind diese Faktoren nicht organspezifisch, weil sie eine Mischung aus verschiedenen Organarten darstellen. Ähnlich verhält es sich bei der zytoplasmatischen Therapie mit der Organkombination NEYTUMORIN (23). Durch eine Affinitätschromatographische Methode (24) an trägergebundener, gepoolter DNA sind wir dabei, die Hemmfaktoren von stimulierenden Faktoren zu trennen und die

Unterschiede der therapeutischen Wirkung gegenüber dem Präparat zu überprüfen. Aufgrund der theoretischen Vorstellungen, daß Hemmstoffe durch immunogene Dosierung als Gegenstoffe Stimulationsstoffe erzeugen, dürfte die therapeutische Wirkung auch weiterhin von der richtigen Dosierung abhängen. Hemmstoffe müßten immunologisch tolerogen durch einschleichende Konzentration dosiert werden.

Zusammenfassung:

Die Anpassung der genetischen Regulation an mutagene Veränderungen oder Defekte wird als wichtiger, lebenserhaltender Reparaturmechanismus postuliert. Dieser wird in einem persistierenden Vorläufermechanismus des Immunsystems aufgrund der Neubildung von antideterminanten Peptiden vermutet (18). Diese könnten als Repressoren der Transkription wirken oder sich gegen Regulationsfaktoren der Translation richten. Eine biochemische Trennung erscheint möglich, jedoch wäre für die therapeutische Anwendung eine immunologisch tolerogene Dosierung zur Vermeidung eines Umschlages des Effektes zu berücksichtigen.

Literatur;

1. BOGOMOLETZ, O.A.: Zit. n. Canad. Med. Ass. j⁷⁶, 84 (19^{k7})
2. BONNER, F. u.a.: Science 159, k7 (1968)
3. BULLOUGH, W.S., LAURENCE, E.B.: Nature 220, 13⁻139 (1968)
Nat. Cancer Inst. Monogr. 38.' (1973)
BURZYNSKI, S.R. aa., Physiol. Chem. and Phys.,
6_y 485-500 (1977)
4. CASEY, A., CASEY, J., HATHAWAY, C.: Proc. Soc. exp. Biol. 100, 762 (1959)
5. COOMBS, R., MOURENT, A., RACE, R.: Brit. J. exp. Path. 26, 255 (19^{^5})

6. FRIEDRICH-FREKSA, H., ZAKI, F.G.: Z. Naturforschg.
9 b, 394-397 (195[^])
7. HANSEN, K.: Allergie. Thieme Verlag Stuttgart
8. HARGRAVES, M., RICHMOND, H., MORTON, R.: Proc. Mayo Clin.
23, 25 (1948)
9. HARGRAVES, M. : Proc. Mayo Clin. 2.4, 234 (1949)
10. HEIDELBERGER, M. , KENDALL, F.: J. exp. Med. J&2, 697 (1935)
11. JACOB, F., MONOD, J.: J. Mol. Biolog. 8, 318-356 (1961)
12. KALISS, N., MOLOMUT, N., HARRIS, S., GAULT, S.: J. nat.
Cancer Inst. J_2, 847 (1953)
13. Zit. n. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Thieme Verlag, Stuttgart
14. KULBERG, A., TARKHANOVA, I.s Folio biol. (Praha) 8,
147 (1962)
15. LETNANSKY, K. : Exp. Path. _9, 354-360 (1974); Bericht 22.
Jahrestag. Zytoplasmat. Therapie 1976: vitOrgan Ostfildern
1.
16. STEFFEN, C.: Allgem. und exp. Immunologie und Immunopath.
Thieme Verlag, Stuttgart
17. THEURER, K. : Therapiewoche 171 (1955); 132 (1955)
18. -, -: Physikal. Med. u. Rehabil. 1J2, 266 (1974)
19. -: Ärztl. Forschg. jj, 1/259 (1957); Tgber. V. Europ.
Allergiekongr. Basel 1962
20. -: Die Medizinische 44, 1569 (1956)
21. -, -: Ärztl. Sammelbl. jH, 1 (1951)
22. WRBA, H.: D. Naturwissensch. f5, 97-101 (1962)
23. Literatur: vitOrgan Arzneimittel GmbH, Brunnwiesenstr.23
D-7302 Ostfildern 1
24. EPA 801066.6

Dynamik der äußeren Zellmembran
bei der Stimulation von Lymphozyten

E. FERBER

Max-Planck-Institut für Immunbiologie,
Freiburg

Lymphozyten reagieren auf eine große Anzahl von Substanzen (Antigene), die von Oberflächenrezeptoren erkannt werden können. Ohne einen äußeren Reiz befinden sich Lymphozyten in einem Ruhezustand. Sie sind kleine, stoffwechselarme Zellen, die sich nicht teilen und keine erkennbaren Funktionen zeigen. Bindet ein Antigen an die Oberfläche, vermehrt sich die Antigen-reaktive Zellfamilie (Klon) und nimmt Funktion auf. Eine Subpopulation der Lymphozyten wandelt sich in Antikörper-sezernierende Zellen um (B-Lymphozyten), eine andere Subpopulation generiert Antigen-sensitiven Zellen, die Funktionen der zellulären Immunität ausüben oder die Antikörpersynthese regulieren (T-Lymphozyten).

Bei einem Antigenreiz reagiert nur ein verschwindend kleiner Anteil der Lymphozyten. Man kann jedoch in vitro einen großen Prozentsatz der Lymphozyten auch durch Substanzen aktivieren, die mit Strukturen an der Oberfläche der Lymphozyten zu reagieren vermögen. Man bezeichnet solche Substanzen als Mitogene, Stimulanzien oder allgemein als polyklonale Liganden (PCL).

Bei der Aktivierung durchlaufen die Lymphozyten eine charakteristische Sequenz biochemischer Veränderungen, die in T- oder B-Lymphozyten gleich ist. Unmittelbar nach Bindung eines Liganden an die Membranrezeptoren kommt es zu Änderungen an der Membran selbst. Die Rezeptoren werden umverteilt, es bilden sich Rezeptoraggregate. Diese Umverteilung scheint notwendig für den Aktivierungsprozess zu sein, da nur min-

destens zwei- oder mehrwertige Liganden die Lymphozytenaktivierung auslösen können. Gleichzeitig steigt die Permeabilität für Zucker, Aminosäuren, Nukleoside und Ionen an. Eine Reihe von membrangebundenen Enzymen wird in ihrer Aktivität verändert. Membrangebundene ATP-asen, Enzyme, die zyklische Nukleotide generieren und Phospholipid-metabolisierende Enzyme sind aktiviert. Die Viskosität der Plasmamembran ist herabgesetzt.

Nach etwa ein bis zwei Stunden sind auch Veränderungen im Zellinneren nachweisbar: Es kommt zu einer gesteigerten RNS- und Proteinsynthese. Nach einigen Stunden der Aktivierung sind auch die ersten morphologischen Veränderungen der Zellaktivierung erkennbar: Eine aktivierte Zelle wird größer und Zellorganellen wie Lysosomen oder Mitochondrien werden vermehrt gebildet (Blasttransformation). Nach etwa 36 Stunden beginnt ein aktivierter Lymphozyt DNS zu synthetisieren und etwa nach drei Tagen teilt er sich.

Die Aktivierung wird durch die Wechselwirkung zwischen einem Liganden und den Rezeptoren der Plasmamembran ausgelöst. Dabei ist die Bindung eines Liganden an diese Rezeptoren allein hinreichend für die Auslösung der Zellaktivierung: Mitogene oder Antigene, die durch chemische Kupplung an Trägerstrukturen (Sephrose, Boden eines Petrischälchens) unlöslich gemacht wurden, führen ebenfalls zur Aktivierung des Lymphozyten. In diesen Fällen kann ein Ligand nicht in das Innere der Zelle eindringen. Auch die chemische oder enzymatische Veränderung der Zelloberfläche durch Periodatbehandlung oder Behandlung mit Neuraminidase und Galactoseoxidase führt zur Aktivierung.

Für den Mechanismus der Aktivierung ist es eine zentrale Frage, wie ein von außen auf die Zelle wirkendes Signal von der Membran in das Zellinnere vermittelt wird.

Im Grunde existieren drei Möglichkeiten:

- a) Die Rezeptoren für die verschiedenen Liganden sind membran-penetrierende Proteine. Eine solche Vorstellung nimmt keine Rücksicht auf die beschriebenen sehr frühen Veränderungen der Membran selbst oder postuliert, daß die Rezeptoren sehr heterogen sind und gleichzeitig Signalübermittlung und Membranveränderungen hervorrufen.
- b) Eine der frühen Membranveränderungen stellt das "Signal" dar, z. B. der erhöhte Einstrom von Ca^{++} . Auch in diesem Fall bleibt das gleichzeitige Auftreten anderer Membranveränderungen unberücksichtigt.
- c) Es existiert in der Plasmamembran ein Verstärkungs- oder Amplifikationsmechanismus, der verantwortlich ist für die Vielfalt der Membranveränderungen und der gleichzeitig einen wesentlichen Teil der Signalübermittlung darstellt.

Struktur und Funktion von Membranen werden wesentlich von ihren Phospholipiden bestimmt. Von ausschlaggebender Bedeutung sind dabei die Fettsäureketten der Phospholipide, da hydrophobe Wechselwirkungen für die Bindung integraler Proteine an die Lipide verantwortlich sind. Die Veränderung von Phospholipiden und ihre Bedeutung für die Zellaktivierung wurde bereits in einigen Übersichtsarbeiten ausführlich diskutiert. In diesen Arbeiten ist auch die Literatur ausführlich zitiert (1 - 5)-

Änderungen des Phospholipid-Stoffwechsels in aktivierten, intakten Lymphozyten

Die zwei Stoffwechselwege, mit denen Phospholipide auf- oder umgebaut werden können, sind am Beispiel des Lecithins in Abbildung 1 dargestellt. Phospholipide können aus Glycerinphosphat neu synthetisiert werden (de novo Synthese).

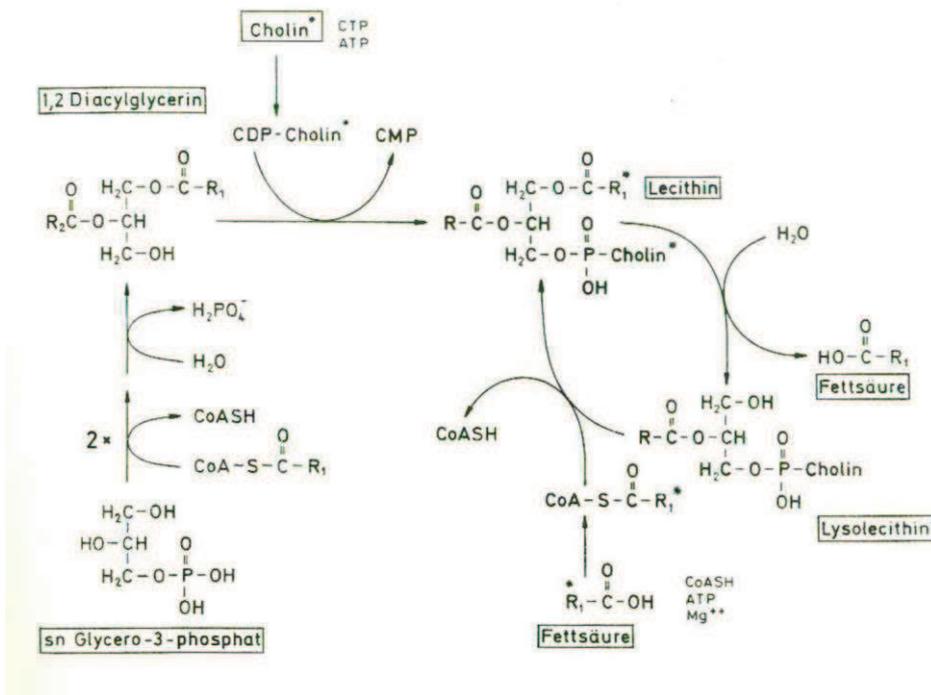


Abb. 1

Dieser Stoffwechselweg kann beim Lecithin durch den Einbau von markiertem Cholin gemessen werden. Daneben können aber auch die Fettsäureketten separat umgesetzt werden. Eine Fettsäurekette kann durch eine Phospholipase A abgespalten werden, das dabei entstehende Lysophosphatid wird entweder degradiert oder es wird das ursprüngliche Phospholipid durch den Einbau einer aktivierten Fettsäure resynthetisiert. Der Sinn dieses Deacylierungs-Reacylierungszyklus besteht darin, die Fettsäurezusammensetzung eines Phospholipids zu verändern.

Vergleicht man beide Stoffwechselwege in ruhenden Lymphozyten (Abb. 2), so stellt man fest, daß der Umsatz der Fettsäureketten, gemessen am Einbau von ¹⁴C-Olsäure die de novo Synthese, gemessen am Einbau von ³H-Cholin um mehr als das 100-fache übersteigt (6). Damit wird beim Einbau einer radioaktiv markierten langkettigen Fettsäure ausschließlich die

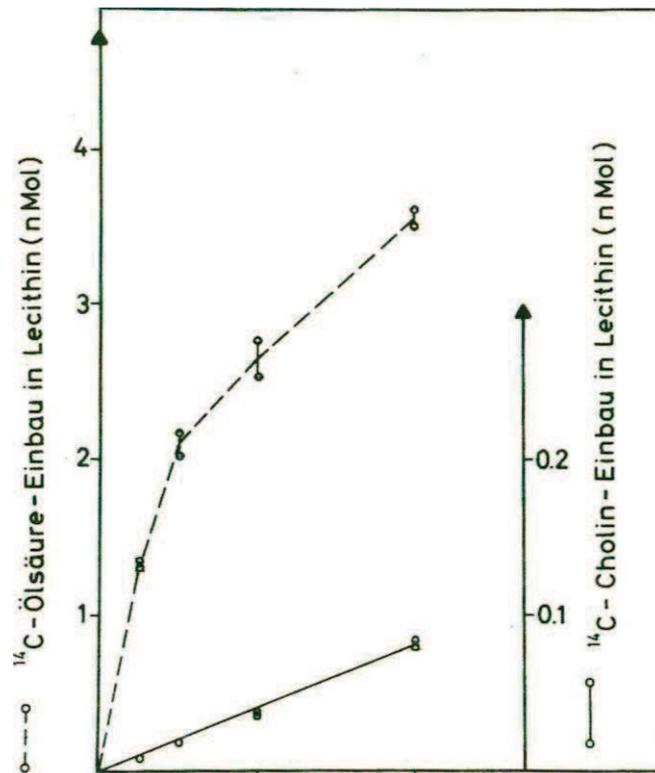


Abb. 2

Recycling eines endogen gebildeten Lysophosphatids gemessen. Der Umsatz der Fettsäureketten von Lecithin ist so groß, daß ein Lymphozyt in etwa 6-10 Std. die gesamten Fettsäureketten dieses Phospholipids erneuern könnte (2). Aktiviert man Lymphozyten mit Mitogenen, so steigt der Einbau von ^{14}C -Ölsäure innerhalb einer Stunde nach Beginn der Aktivierung an (Abb. 3). Der Umsatz der Fettsäureketten der Phospholipide ist sowohl in aktivierten T-Lymphozyten (die durch ConA oder PHA stimuliert werden) als auch in aktivierten B-Lymphozyten (die durch Anti-Immunglobuline stimuliert werden) erhöht.

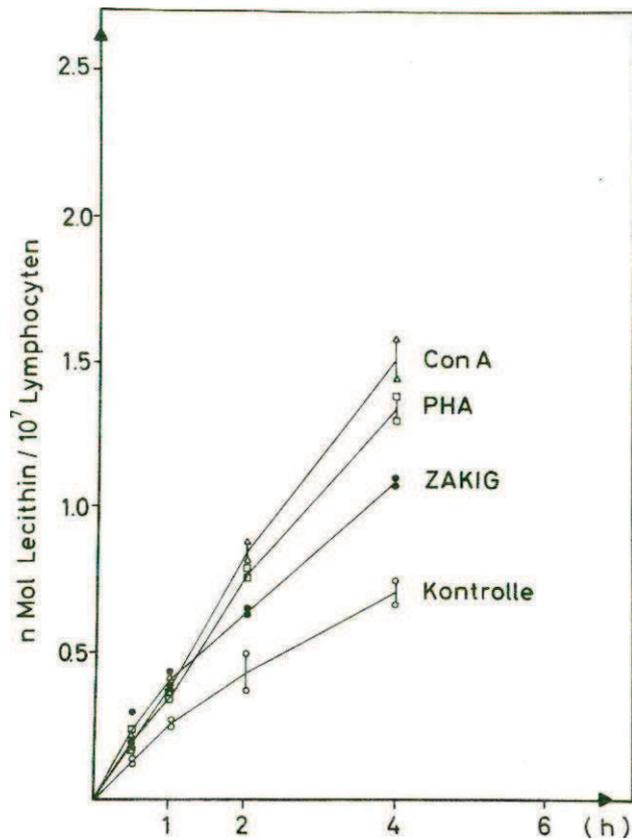


Abb. 3

14

Die Steigerung des Einbaus von ^{14}C -Olsäure betrifft selektiv die Phospholipide: Zumindest innerhalb der ersten Stunden der Kultivierung wird der Einbau in die Neutralfette nur geringfügig verändert.

Azetat wird in Lymphozyten in den ersten Stunden der Kultivierung ausschließlich in die Fettsäureketten der Phospholipide und nicht in ihr Glycerin-Rückgrat eingebaut. Daher ist der Einbau von ^{14}C -Acetat ähnlich wie der Einbau von ^{14}C -Olsäure während der Aktivierung erhöht (6).

Inkorporation langkettiger Fettsäuren in Phospholipide
der äußeren Membran

Um die Veränderungen der Phospholipide der äußeren Membran zu messen, wurde folgender Versuchsansatz gewählt:

14

Lymphozyten wurden zusammen mit ¹⁴C-Olsäure mit oder ohne Mitogen kultiviert. Nach verschiedenen Inkubationszeiten wurden die äußeren Membranen isoliert und der Einbau von

¹⁴C-Olsäure in die Phospholipide bestimmt.

14

Der Einbau von ¹⁴C-Olsäure in die Phospholipide der mikrosomalen Fraktion (die etwa zu 80 % aus Plasmamembran besteht) steigt bereits 10 Minuten nach Zugabe von PHA zu Lymphozyten an. Es fällt auf, daß die Steigerungsrate des Ölsäureeinbaus ungefähr konstant bleibt, nämlich bei einem Faktor von 3- Die Erhöhung des Ölsäureeinbaus beruht dabei ausschließlich auf Veränderungen der Plasmamembran.

Der Einbau von ¹⁴C-Olsäure in die Phospholipide der äußeren Membran ist empfindlich genug, um auch Veränderungen, die in sensibilisierten Lymphozyten durch Antigene hervorgerufen werden, zu messen. Lymphozyten aus den regionalen Lymphknoten von Kaninchen, die mit BCG immunisiert sind, zeigen eine 20 %ige Erhöhung des ¹⁴C-Olsäureeinbaus in die Mikrosomen, die ebenfalls über die Zeit konstant bleibt (7,8).

Aktivierung der Lysolecithin-Acyltransferase der Plasmamembran

Da sich die hohen Inkorporationsraten langkettiger Fettsäuren nur über einen De- und Reacylierungsmechanismus erklären lassen, untersuchten wir die Enzyme, die diesen Umbau katalysieren.

Vor allem die Acyl-CoA: Lysolecithin Acyltransferasen erwiesen sich in diesem Zusammenhang als interessant, da sie in Lymphozyten, wie Abb. 4 zeigt, überwiegend in der äußeren

Zellmembran lokalisiert sind (9) und direkt nach Zugabe des Stimulans aktiviert werden (10).

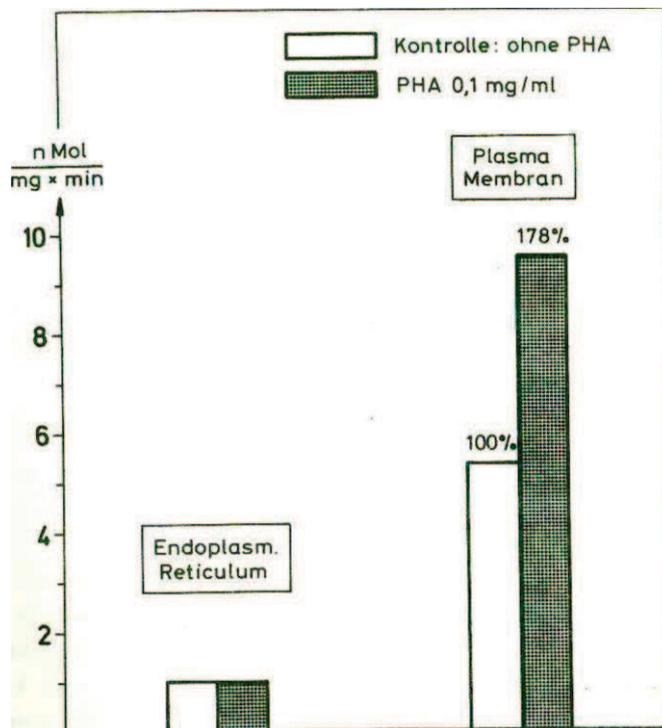


Abb. k

Die Richtung des Umbaus der Phospholipid-Fettsäuren wird durch die hohe Affinität der Transferase für hoch-ungesättigte Fettsäuren bestimmt, Tabelle 1 zeigt, daß in stimulierten Zellen die höchsten Aktivitäten und die höchste Affinität gefunden wird, wenn man als aktivierte Fettsäure eine Fettsäure mit vier Doppelbindungen verwendet. Aus Tabelle 1 geht ferner hervor, daß das Ausmaß der Enzymaktivierung bei Verwendung von Arachidonoyl-CoA (C_{20}) höher ist als mit Oleoyl-CoA als Substrat (11).

Tab.1: Substrat-Spezifität der mikrosomalen Acyl-CoA: Lysolecithin-Acyltransferase in Con-A-stimulierten Thymozyten

Substrat	Oleoyl-CoA (18:1)		Arachidonoyl-CoA (20:4)	
	V_{max}	K_m (M)	V_{max}	K_m (M)
Kontrolle	3,9	$1,0 \times 10^{-5}$	7,6	$6,4 \times 10^{-7}$
Con A	7,9	$1,2 \times 10^{-5}$	31,7	$8,5 \times 10^{-7}$

V_{max} ist in $nMol \times mg \text{ Protein} \times min^{-1}$ angegeben

Der Beweis dafür, daß die Enzymaktivierung ein primärer Vorgang ist und offenbar sofort nach Bindung des Stimulans erfolgt, wurde durch die folgenden Experimente erbracht:

1. Der Aktivierungsprozeß ist unabhängig von der Temperatur. Bei 0° C wird das Enzym im gleichen Ausmaß aktiviert wie bei 37° C. Dies zeigt, daß die Aktivierung nicht von der Proteinsynthese abhängt und auch nicht sekundär durch Stoffwechselprodukte erfolgt (10, 11).
2. Ein weiteres Argument für die sofortige Veränderung dieses Enzyms zeigen vergleichende Untersuchungen des zeitlichen Verlaufs der Bindung des Stimulans an die Zelle und des Aktivierungsprozesses. Beide Prozesse - sowohl die Bindung wie die optimale Aktivierung - sind bei 37° C nach 3° Minuten abgeschlossen und deuten damit auf simultane Prozesse hin.
3. Der Prozeß der Aktivierung kann unterbrochen werden, wenn man innerhalb der ersten halben Stunde die weitere Bindung von Concanavalin A an die Zelle spezifisch unterbindet, indem man einen konkurrierenden Zucker wie alpha-Methylmannosid zugibt (11).

Obwohl die Bindung und Aktivierung gleichzeitig ablaufen, lassen sie sich unterscheiden. Vergleichende kinetische Untersuchungen mit steigenden Konzentrationen von Concanavalin A zeigen für die Bindung eine normale, hyperbole Sättigungsfunktion, während die Aktivierung eine sigmoide Kurve ergibt, die charakteristisch für kooperative Prozesse ist. Dies wird bestätigt durch logarithmische Umformung dieser Funktionen (Sips-plot für die Bindung und Hill-plot für die Enzymaktivierung). Die Steigung der Geraden kann als Maß für die Stärke der kooperativen Interaktion verwendet werden. Diese ist bei der Bindung gleich 1,0 und zeigt damit, daß keine kooperative Interaktion zwischen den Bindungsstellen besteht (unabhängige Bindungsstellen) während die Funktion der Enzym-

aktivierung mit einer Steigung von 1,8 auf eine beträchtliche kooperative Wechselwirkung hinweist (11)»

Diese Befunde lassen sich am besten dadurch erklären, daß die Kooperation nicht direkt zwischen Concanavalin A und dem Enzym zustande kommt, sondern zwischen dem Concanavalin A-Rezeptor Komplex auf der einen Seite und dem Membranenzym auf der anderen Seite, oder daß aber die erwähnte Aggregation von Membranbestandteilen für die Enzymaktivierung erforderlich ist.

Veränderungen der Zusammensetzung der Phospholipid-Fettsäuren

Um zu untersuchen, ob die beschriebenen Stoffwechseländerungen auch zu meßbaren Änderungen der Fettsäureverteilung in den Phospholipiden führen, führten wir Fettsäureanalysen nach verschiedenen Stimulationszeiten durch. Tabelle 2 zeigt die Analyse von Thymuszellen nach *k*-ständiger Inkubation bei 37° C. Es sind getrennt bestimmt worden die Fettsäuren der Position 1 und 2 des Lecithinmoleküls. Es fällt auf, daß normale nicht stimulierte Lymphozyten im Vergleich zu anderen Zellen einen relativ hohen Gehalt an gesättigten Säuren in Stellung 2 aufweisen. Auf dieser Grundlage sind die Veränderungen interessant, die nach Stimulation auftreten. Ausschließlich in der Position 2 des Lecithinmoleküls kommt es zu einem Anstieg der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, vor allem von Linolsäure und Arachidonsäure. Summarisch ist dieser Anstieg dargestellt durch das Verhältnis von Polyensäuren zu gesättigten Fettsäuren, das nach 4-stündiger Stimulation etwa verdoppelt ist. Damit steht dieser Befund in guter Übereinstimmung mit der hohen Affinität der Acyltransferase für ungesättigte Fettsäuren und ihrer Spezifität bei der Übertragung dieser Fettsäuren auf die Stellung 2 des Lecithinmoleküls (11, 12).

Tab. 2: Änderung der Fettsäureverteilung im Lecithin von Kaninchen-Thymozyten während der Stimulation durch Con A

	M o l %						Polysäuren/ gesättigte Säuren
	16:0	18:0	18:1	18:2	20:4	22:6	
<u>Position 1</u>							
Kontrolle	50,6	17,9	22,5	4,9	-	-	0,072
Con A	58,1	16,0	20,7	5,2	-	-	0,070
<u>Position 2</u>							
Kontrolle	47,4	3,2	20,0	19,4	7,8	-	0,538
Con A	39,0	1,6	21,7	20,3	17,2	-	0,924

Die Zellen wurden 4 Stunden in Eagle's Medium mit 5 μ g Con A/ml kultiviert.

Die Rolle der Phospholipide für die Aktivierung von Lymphozyten

Die frühen Ligand-induzierten Veränderungen der Plasmamembran sind vielfältig ("pleiotypisch"). Jede der dabei auftretenden Veränderungen kann zum "Signal" für die Auslösung von Zellaktivierung beitragen. Wegen der bekannten kooperativen intermolekularen Interaktionen der Phospholipide postulieren wir, daß Veränderungen der Fettsäureanteile der Phospholipide die molekulare Basis für den Auslösemechanismus der Zellaktivierung darstellen. Drei Phasen können beteiligt sein:

1. Membranen weisen eine Mosaikstruktur auf mit quasi-kristallinen Phospholipidanteilen innerhalb mehr flüssiger Phospholipide. Integrale Membranproteine sind mit spezifischen Phospholipiden assoziiert. Um Zellaktivierung in Lymphozyten zu induzieren, müssen die mitogenen Rezeptoren durch mehrwertige Liganden aggregiert werden. Die Membranareale in der Umgebung von Rezeptoren mit hoher Bindungsaffinität für ein Mitogen haben in einigen Phospholipiden einen höheren Anteil an gesättigten Fettsäuren. Die Aggregation der Rezeptormoleküle kann damit eine Phasentrennung der Phospholipide zur Folge haben: Membrananteile, die nicht mit den Rezeptoren hoher Bindungsaffinität assoziiert sind, werden fluider, Membran-assoziierte Enzyme können ihre Aktivität verändern. Der Vorteil eines solchen Mechanismus liegt darin, daß sehr rasche physikalische Membranveränderungen große Anteile der Plasmamembran verändern, die nicht in unmittelbarer Nachbarschaft zu den (mitogenen) Rezeptoren liegen.
2. Unmittelbar nach der Bindung eines Liganden ist der Umsatz der Fettsäureketten der Membran-Phospholipide erhöht. Dieser erhöhte Umsatz beruht auf der Bildung von Lysophosphatiden in der Membran und der nachfolgenden Recyclierung. Zwischenprodukte dieses Stoffwechselzyklus - Lysophosphatide und freie langkettige Fettsäuren - sind sehr oberflächenaktiv. Daher kann eine Änderung der

Membraneigenschaften aus geringen Abweichungen ihrer Gleichgewichtskonzentrationen resultieren. Innerhalb weniger Minuten nach Zugabe eines Mitogens werden langkettige Fettsäuren mit einer erhöhten konstanten Rate in die Plasmamembran inkorporiert. Dies zeigt an, daß im aktivierten Lymphozyten sehr rasch ein neues Gleichgewicht der Intermediärsubstanzen eingestellt wird. Die Entfernung einer Fettsäurekette aus einem Phospholipid (z. B. Lysolecithin-Bildung) führt zu einer weniger dichten Packung der Fettsäureketten in einem Phospholipidbilayer mit einer erhöhten Fluidität.

3. Infolge der aktivierten Lysolecithin-Acyltransferase, die bevorzugt hochungesättigte Fettsäuren in Phospholipide transferiert, steigt in stimulierten Lymphozyten der Gehalt an Polyenfettsäuren - Linolsäure und Arachidonsäure - an. Ähnlich wie die Zunahme von Lysophosphatiden führt die Erhöhung der Ungesättigtheit zu einer fluideren Phospholipidphase. Der Ersatz gesättigter Fettsäuren durch ungesättigte erfordert Zeit.

Mitogene müssen für einige Stunden an der Oberfläche der Lymphozyten anwesend sein, um zur Zellaktivierung zu führen. Die qualitative Veränderung der Phospholipidfettsäuren erzeugt eine "neue" Membran mit veränderten Eigenschaften. Es ist gut vorstellbar, daß diese Veränderungen bis zu einem bestimmten Punkt fortschreiten müssen, damit ein stabiler neuer Zustand erreicht ist, der für die Initiierung von Zellteilung erforderlich ist.

Damit können die beschriebenen Veränderungen der Membranphospholipide die molekulare Basis darstellen, sowohl für die Initiierung der Lymphozytenaktivierung wie für die Ligand-unabhängige Aufrechterhaltung eines veränderten Membranzustandes, der zur Beendigung des mitotischen Zyklus notwendig erscheint.

Literatur

1. FERBER, E. : The Dynamic Structure of Cell Membranes, 22. Colloq. Ges. Biologische Chemie, Mosbach 1971 (Wallach, D.F.H. and Fischer, H. eds.), Springer, Heidelberg, New York.
2. FERBER, E.; RESCH, K.: Structure and physiological roles of lipids in the lymphocyte membrane. In: The Lymphocyte: Structure and Function (Marchalonis, J.J. ed.) Marcel Dekker, New York, im Druck.
3. RESCH, K.; FERBER, E.: The role of phospholipids in lymphocyte activation. In: Immune Recognition, Proc. 9th Leucocyte Culture Conference. Academic Press, New York 1975«
4. FERBER, E.: Phospholipid dynamics in plasma membranes. In: Biological Membranes 2, 221 (Chapman, D. and Wallach, D.F.H. eds.) Academic Press 1973«
5. RESCH, K.: Membrane associated events in lymphocyte activation. In: Receptors and Recognition (Cuatrecasas, P. and Greaves, M. eds.) 1, Chapman and Hall, London, im Druck.
6. RESCH, K.5 FERBER, E.: Eur. J. Biochem. 27, 153 (1972)
7. RESCH, K.; GELFAND, E.W.; HANSEN, K.; FERBER, E.: Eur. J. Immunol. 2, 598 (1972).
8. RESCH, K.; FERBER, E.; GELFAND, E.W.: Proc. 7th Leucocyte Culture Conference. (Daguillard, F. ed.) Academic Press, New York 1973-
9. FERBER, E.; RESCH, K.; WALLACH, D.F.H.; IMM, E.: Biochim. Biophys. Acta 266, k9k (1972).
10. FERBER, E.; RESCH, K.: Biochim. Biophys. Acta 296, 335 (1973)•

11. FERBER, E.; REILLY, C.E.; DE PASQUALE, G.G; RESCH, K.:
Proc. Leucocyte Culture Conference, uppsala 1973
(Lindhahl-Kiessling, K. and Osoba, D. eds.): Lymphocyte
Recognition and Effector Mechanisms., Academic Press,
New York.
12. FERBER, E.; DE PASQUALE, G.G.; RESCH, K.: Biochim.
Biophys. Acta 398, 364 (1975)
13. BRÜNNER, G.; FERBER, E.; RESCH, K.: Differentiation,
im Druck.

Diskussion:

J. SEIFERT: Herr Ferber, Ihre Darstellung einer Abhängigkeit der Membran-Fluidität von dem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, ist sehr eindrucksvoll. Nun weiß man ja aus der Immunologie, daß bei Verfütterung ungesättigter Fettsäuren an Tiere die Immunantwort auf ein Antigen verstärkt werden kann. Inwieweit beeinflussen solche Fluiditätsänderungen nun die Reaktionsfähigkeit einer immunologisch relevanten Zelle, zum Beispiel eines Lymphozyten? Ist ein Lymphozyt reaktiver, wenn die Membran "flüssiger" ist, oder ist er weniger reaktiv?

E. FERBER: Darüber, glaube ich, ist sehr wenig bekannt. Dazu müßte man in vitro-Versuche mit Zellkulturen durchführen oder sogar Versuche an isolierten Membranen. Die Vorstellung die generell hierüber besteht, ist die, daß zum Beispiel auch Rezeptoren mehr oder weniger exprimiert werden können, sofern sich die Fluidität ändert. In einer starren Membran sind Rezeptoren fest verankert und können sich nicht bewegen für Antigene, antigene Oberflächenstrukturen, gilt prinzipiell dasselbe. Es muß nicht unbedingt der Rezeptor sein. Allein schon durch die Verankerung in der Membran können diese sehr unterschiedlich wirken. Beweisende oder widerlegende Vorstellungen wurden bisher nicht erbracht.

R.H. SCHIRMER: Kurz zu dem spezifischen Effekt der Arachidonsäure in Ihrem letzten Experiment: Wenn man das Experiment bei höherer Temperatur durchführen würde, hätte die Ölsäure vielleicht den gleichen Effekt, so daß es sich möglicherweise um eine generelle Fluidisierung handelt.

E. FERBER: Das ist durchaus möglich, da die Ölsäure ja nicht völlig inaktiv war. In Wirklichkeit ist es natürlich nur ein quantitativer Unterschied. Wir müssen von der normalen Körpertemperatur ausgehen. Dann ist die Frage, ob es darüberhinaus noch irgendwelche regulierenden Faktoren gibt, die die Fluidität steuern. Derartige Phasenübergänge kennt man seit etwa 10 Jahren. Phasenübergänge kommen zwischen Temperaturen von 0 und 10 vor, oder noch darunter. Das bedeutet: Unter physiologischen Bedingungen sind solche Lipidmembranen immer flüssig. Deswegen ist der Phasenübergang für Biologen uninteressant, davon müssen wir ausgehen. Daneben stellt sich aber auch die Frage, ob nicht bestimmte Bereiche in der Membran existieren, die dennoch, trotz hoher Temperatur, relativ kristallin sind und verändert werden können. Es müßten - meines Erachtens - Untersuchungen in Bezug auf die Körpertemperatur und einzelner Bezirke durchgeführt werden. Allerdings gibt es bisher noch keine Methoden hierfür. Man kann zwar die Fluidität in der Gesamtmembran, ein statistisches Mittel, daraus bestimmen, aber nicht die einzelnen Bezirke. Das ist sehr schwierig.

A. MAYR: Die Bindung spezifischer Antigene oder Mitogene, beispielsweise Phythaemagglutinin (PHA), die manche als unspezifisch bezeichnen, lösen doch in etwa dieselben Wirkungen aus. Nehmen wir einmal das PHA, so haben B-Zellen zwar Rezeptoren dafür, reagieren aber beispielsweise in der Transformation nicht darauf.

E. FERBER: Das stimmt.

A. MAYR: Gibt es ein Korrelat hierzu im Sinne einer anderen Reaktion der Membran?

E. FERBER: Das ist natürlich eine gute Frage. Wir wissen es nicht. Wir haben nur diese Unterschiede, diese Spezifität, ausgenutzt, indem wir sie als Kontrolle benutzt haben. Insofern stimmen alle unsere Versuche darin überein. Für Con A gilt dasselbe. Con A bindet an B-Zellen, aktiviert diese aber nicht und ruft auch keine Veränderungen im Lipidstoffwechsel hervor. Wir haben eine strenge Korrelation gefunden - soweit wir es bisher untersucht haben - zwischen dem Lipidstoffwechsel und verschiedenen Arten der Stimulation. Das gilt im negativen wie im positiven Sinne. Beispielsweise lassen sich B-Zellen mit Lipopolysacchariden stimulieren, nicht dagegen mit Con A. Worauf das nun beruht, darüber sind viele Hypothesen aufgestellt worden. So zum Beispiel, daß für die Beweglichkeit eine Vernetzung vorhanden sein muß, die nur den T-Zellen zueigen ist. Dafür spricht, daß Con A erst durch Bindung an irgend einen Träger wirkt. Solange es frei und löslich ist, stimuliert es die B-Zellen nicht. Irgendetwas muß an der makromolekularen Struktur der Plasmamembran verändert werden. Darin liegt wahrscheinlich auch der Unterschied zwischen der T- und B-Zellen-Stimulation.

K. THEURER: Sind auch andere Elemente als Proteine bzw. Proteide in die Membran eingebaut? Gerade in der Tumorthherapie wird ja versucht, mit Neuraminidase die Zelloberfläche anzudauen. Das würde eigentlich doch dafür sprechen, daß andere Antigen-Qualitäten, auch bei den Rezeptoren, frei werden. Lipide scheinen dabei wohl keine Rolle zu spielen.

E. FERBER: Nein, aber Glyko-Anteile würde ich sagen.

K. THEURER: Sind diese ähnlich eingebaut, also auch schwimmend oder gibt es direkte Verbindungen?

E. FERBER: Nein. Die Glykoproteine sind natürlich nicht nur dazu da, um als Rezeptoren zu wirken; sie haben noch viele andere Funktionen. Umgekehrt kann man jedenfalls immer sagen, daß Rezeptoren Glykoproteine sind. Diese reichen durch die ganze Membran und sind damit die interessanteren Proteine. Ein derart wichtiger Zuckerbestandteil, der auch noch Ladungsträger ist, wie die Neuraminsäure, hat natürlich große Rückwirkungen auf die umgebenden Lipide, Möglicherweise kann dadurch auch die Stimulation direkt ausgelöst werden. Zumindest können durch Veränderungen am Zuckeranteil, chemischen Veränderungen, Oxidation, Vernetzung, Lymphozyten stimuliert werden. Es muß also nicht unbedingt der Lipidanteil sein, sekundär jedoch kann dieser dadurch reguliert werden.

K. THEURER: Oberflächenaktive Substanzen können die Transformationsrate bei Bakterien erheblich steigern und eine Rekombination erzwingen. Diese Versuche wurden seinerzeit von Prof. JACHERTZ durchgeführt. In unseren Dilationen befindet sich Natriumlaurylsulfat, also eine oberflächenaktive

Substanz, in Dosen, die zu keiner Zell-Lyse führen. Vielleicht erzielt man dadurch auch eine gewisse Adjuvanswirkung. Wenn ja, in welcher Weise?

Bei dem Phänomen des Adjuvans könnten auf der anderen Seite auch hemmende Effekte eine Rolle spielen.

E. FERBER: Soweit es das Adjuvans betrifft, könnte vielleicht Herr MUNDER dazu Stellung nehmen, es ist ja eines seiner Hauptgebiete. Selbstverständlich können gegenteilige Effekte auftreten. Eine Erklärungsmöglichkeit wäre, daß diese Substanz entweder direkt lytisch wirkt oder aber oberflächenaktiv. Lysoleeithin beispielsweise wirkt auch als Substrat und kann dadurch die Bildung neuen Lecithins fördern. Insofern kann man sich durchaus gegenteilige Effekte vorstellen.

Lokale Immunisierung und Paramunisierung:

Neue Perspektiven für die Praxis

A. MAYR

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Nach der Tilgung bzw. erfolgreichen Kontrolle der klassischen Infektionskrankheiten mittels Immunprophylaxe, Chemotherapie, sanitäts- und umweltverändernden Maßnahmen gewinnen heute immer mehr infektiöse und immunbedingte Krankheiten an Bedeutung, bei denen die Ursache-Wirkungs-Relationen außerordentlich kompliziert sind. Die Spanne reicht von der Geburt bis ins Alter. Es handelt sich dabei im wesentlichen um folgende Krankheitskomplexe:

1. Perinatale Infektionskrankheiten,
2. infektiöse Faktorenkrankheiten, insbesondere Erkrankungen des Respirations- und Urogenitaltraktes,
3. Virusinfektionen,
4. chronische Krankheiten unbekannter Genese einschließlich Tumoren,
5. altersbedingter Krankheiten, z.B. Autoimmunkrankheiten..

Die Erforschung der lokalen Immunisierung einschließlich der laktogenen Immunität und der Paramunisierung hat die Prophylaxe und Therapie dieser Krankheiten enorm erweitert und neue Perspektiven für die Praxis geschaffen (5).

Dabei können Paramunisierung und Immunisierung für sich allein oder simultan genutzt werden. Eine Paramunisierung überbrückt z. B. die ersten 1 - 6 Tage bis zum Einsetzen

einer Immunität. Umgekehrt lösen lokale Immunisierungen mit bestimmten Impfstoffen bereits nach wenigen Stunden paraspezifische Vorgänge aus. Die wichtigsten Grundlagen zum Verständnis hierfür sind:

1. Lokale Immunisierungsvorgänge sind durch die Bildung sekretorischer Antikörper vom Typ IgA, im Darm teilweise auch vom Typ IgM und IgG, charakterisiert.
2. Lokal stimulierte B-Plasmazellen werden über Lymphbahnen und Blutzirkulation verbreitet und siedeln sich auch in den Schleimhäuten anderer Organe (Milchdrüse, Speicheldrüse u.a.m.) an. Dadurch können bei weiterem Antigenkontakt auch diese Schleimhäute sekretorische Antikörper bilden, was besonders für die Milchdrüse wichtig ist (laktogene Immunität).
3. Dem Auftreten sekretorischer Antikörper läuft eine Aktivierung des zellulären Immunsystems in den Schleimhäuten voraus.
- k. Korpuskulare Antigene werden rasch resorbiert, gelangen in den Blutkreislauf und können so auch die Bildung einer humoralen bzw. systemischen Immunität auslösen.
5. Den besten lokalen, passiven Schutz für die Neugeborenen verleihen die lokal im Endstadium der Schwangerschaft bzw. Trächtigkeit und am Anfang der Laktationsphase entstandenen, sekretorischen IgA- bzw. IgM-Antikörper, die in das Kolostrum und in die Muttermilch übergehen.
6. Lokal gebildete Memory-Zellen werden durch jeden parenteralen Booster aktiviert.

Als Paramunität wird der Zustand eines nichterreger- und nichtantigenspezifischen Schutzes gegenüber einer Mehrzahl ganz unterschiedlicher Infektionserreger, Antigene, Gifte

und Noxen bezeichnet (4,8,9). Paramunität schließt die Begriffe "non specific resistance", "non specific immunity", erworbene Resistenz und ähnliche Wortbildungen ein. Paramunisierung ist damit eine logische Weiterentwicklung der Anfänge einer erregerunspezifischen Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten, die empirisch entstand und etwa seit den 20iger Jahren mit den Begriffen "unspezifische Eiweißtherapie", "Steigerung der unspezifischen Resistenz", "unspezifische Reiztherapie" und später dann mit "nicht antigenspezifischer Immunisierung, Interferonisierung, Medikation mit immunregulatorisch wirksamen Substanzen" verbunden ist. Wir wissen heute über die zellulären und makromolekularen Vorgänge, die für den erregerunspezifischen Schutz eines Individuum gegenüber Infektionen verantwortlich sind und die einer Immunität voraus bzw. parallel laufen, mehr als früher und können sie deshalb auch gezielt stimulieren. In Anlehnung an die paraspezifischen Wirkungen von Schutzimpfungen haben wir bewußt den Ausdruck "Paramunisierung" gewählt und ihn der Immunisierung damit gegenübergestellt. So wie man unter Immunisierung den Vorgang des Erwerbes eines erreger-, antigen- oder toxinspezifischen Schutzes versteht, definiert Paramunisierung den Vorgang des Erwerbes eines erreger-, antigen- oder toxinunspezifischen Schutzes.

Als funktionelle Grundlagen einer Paramunisierung wurden bisher nachgewiesen:

1. Schnelle Aktivierung der Makrophagen mit verstärkter Freigabe von Mediatoren. Beide Vorgänge führen bei der zentralen Funktion der Makrophagen zu einer enormen Steigerung der Abwehr;
2. Stimulierung speziell von T-Lymphozyten, was zu einer Bevorzugung der zellulären Abwehrmechanismen mit entsprechender Rückwirkung auf die humoralen Vorgänge führt;

Induktion der Bildung von körpereigenem Interferon;

4. Steigerung der Lysozym-Produktion;
5. Interaktionen mit der spontanen, zellvermittelten Zytotoxizität;
6. Aktivierung humoraler, nichterregerspezifischer Abwehrfaktoren, z.B. des Komplement-Systemes und
7. Förderung der regulatorischen Wirkung von Lymphokinen.

Die Möglichkeit einer medikamentösen, nichtantigenspezifischen Erhöhung der körpereigenen Abwehr vereint in sich folgende Vorteile:

1. Eintritt der Wirksamkeit in wenigen Stunden,
2. Erfassung einer breiten Skala unterschiedlicher Abwehrmechanismen,
3. keine Ausbildung einer immunbiologischen Gedächtnisreaktion,
4. keine Sensibilisierung,
5. einfache lokale wie parenterale Applikation.

Paramunisierung und Immunisierung stellen ein äußerst kompliziertes Netzwerk von sich gegenseitig positiv wie negativ beeinflussenden Mechanismen dar, welche sich als biologisches Regelsystem in ihrer Reaktionsintensität gegenseitig kontrollieren.

Die zellulären Träger dieses Regelsystems sind die Makrophagen, die T- und B-Lymphozyten. Ihre Differenzierung läuft in zwei Ebenen ab, sie wird gesteuert durch den Milieueinfluß von Knochenmark bzw. Thymus. Durch Differenzierung aus Stammzellen im Knochenmark entstehen die immunkompetenten B-Zellen. Als Folge der Wechselwirkung zwischen Antigenen und Rezeptoren kommt es zur Proliferation der B-

Zellen, aus denen letztlich die Antikörper-sezernierenden Plasmazellen werden. T-Lymphozyten differenzieren aus Stammzellen im Thymus, wobei Phasen eines Reifungsprozesses erkennbar sind, die teilweise durch im Thymus gebildete Polypeptidhormone gesteuert werden. Analog den B-Zellen verfügen T-Lymphozyten über immunglobulinähnliche Rezeptor-Areale, die Antigene spezifisch erkennen.

Die Makrophagen entstehen aus Monozyten des Blutes, phagozytieren Antigene und bauen sie intrazellulär ab. Die Antigenmoleküle werden in der Zellmembran (bzw. in deren unmittelbarer Nachbarschaft) lokalisiert. Die antigenträgenden Makrophagen kooperieren mit den T-Lymphozyten und vermitteln für die T-Zellaktivierung wichtige Sekundäreignale.

Das durch Makrophagen, T- und B-Lymphozyten zustande gekommene Netzwerk wird durch die Funktion von T-Lymphozyten regulativ beeinflusst. Dabei sind mindestens 2 Subpopulationen von T-Lymphozyten operativ, die Helfer (T^H)- und Suppressor (T_S)-Zellen. Während die Kooperation zwischen T^H - und B-Zellen für die Differenzierung von B-Zellen in Antikörperbildende Plasmazellen erforderlich ist, hemmen T_S -Zellen die Reifung von B-Zellklonen. Darüberhinaus üben diese T_S -Zellpopulationen eine Kontrollfunktion innerhalb des T-Zellsystems (Killerzellen, Effektorzellen, Memoryzellen) selbst aus. Sie setzen biologisch aktive Mediatoren frei, welche die Funktion von B- und T-Lymphozyten sowie von Makrophagen entweder aktivieren (Helfer-Faktor) oder supprimieren (Suppressor-Faktor).

Die molekularen Vermittler in dem durch Makrophagen, B- und T-Lymphozyten aufgebauten Abwehrsystem sind lösliche Mediatoren. Dabei unterscheidet man antigenspezifische und nicht-antigenspezifische Mediatoren. Antigenspezifische Mediatoren sind z.B. die durch Plasmazellen gebildeten Antikörper, die durch T_S - und T_H -Zellen stimulierten Suppressor- und Helfer-Mediatoren und möglicherweise die durch T-Effektorzellen

freigesetzten Transferfaktoren. Eine nicht minder große Bedeutung besitzen die nichtantigenspezifischen Mediatoren. Sie werden vor allem durch Monozyten und T-Lymphozyten gebildet. Leider wissen wir über ihre Funktion bei weitem noch nicht alles, aber immerhin doch soviel, daß sie eine zentrale Rolle in dem Regelsystem der Immunität und Paraimmunität spielen. Die durch Lymphozyten produzierten Mediatoren bezeichnet man ganz allgemein als Lymphokine und die der Monozyten als Monokine. Funktionell unterscheidet man dabei drei Gruppen: Hemmende, stimulierende und Entzündungsfaktoren. Hemmende Lymphokine sind z.B. Substanzen, die Empfängerzellen lysieren (Lymphotoxine) oder ihre Proliferation hemmen. Zu den stimulierenden Lymphokinen gehören mitogene Faktoren, die mit den Lymphozyten oder Makrophagen kooperieren, hämatopoetisch wirksame Faktoren und Mediatoren, die zwischen T- und B- und T- und T-Zellen vermitteln. Entzündungs-Lymphokine wirken bevorzugt auf Leukozyten und Gefäße, z.B. Migrationshemmungsfaktoren, Makrophagen aktivierende Faktoren, chemotaktische und die Gefäßpermeabilität beeinflussende Mediatoren.

Neben all diesen Mediatoren sind an dem komplexen System noch beteiligt sekretorische Produkte von aktivierten Makrophagen: Lysosomale Enzyme, Komplementfaktoren, Prostaglandine, Thromboplastin.

Ein eigenes Kapitel stellen die Interferone dar, die man ebenfalls zu den nichtantigenspezifischen Mediatoren rechnet. Neben der schon lange bekannten Hemmwirkung auf die Vermehrung von Viren besitzen sie weitere biologische Aktivitäten, z.B. Inhibierung des Wachstums bestimmter Tumoren und anderer Zellen, Interferenzen mit der Antikörperbildung, Makrophagenaktivierung, Stimulierung von Prostaglandinen u.a.m. Man unterscheidet heute zwei Gruppen von Interferonen:

Typ 1 - Interferone (klassisches Interferon) werden von ganz verschiedenen Zellen nach einer Virusinfektion gebildet.

Typ 2 - Interferone sind lösliche Mediatoren aus Lymphozyten, die durch Antigene oder Mitogene stimuliert wurden und mit Makrophagen kooperieren.

Das Wissen um all diese Vorgänge hat in den letzten Jahren bereits zu einer praktischen Nutzenanwendung vor allem in der Tiermedizin geführt, wobei die hier gemachten Erfahrungen sicher zur Lösung der anfangs erwähnten Problemgruppen auch für die Humanmedizin wertvoll sind.

Die lokale Immunisierung hat sich bei all den Infektionskrankheiten besonders gut bewährt, bei denen die Schleimhäute die primären Eintrittspforten für den Erreger bilden und bei denen die an den Schleimhäuten ablaufenden, pathogenetischen Vorgänge von entscheidender Bedeutung für den Verlauf der Erkrankung sind. Eine lokale Immunisierung führt zum Aufbau eines schnellen, lokalen Schutzes an den Schleimhäuten, stimuliert gleichzeitig die Bildung einer systemischen Immunität, induziert paraspezifische Effekte und reduziert bestimmte postvaccinale Komplikationen, die speziell parenterale Schutzimpfungen belasten. Es gibt zahlreiche Möglichkeiten, lokal zu immunisieren. In der Praxis haben sich davon nur die orale und nasale Applikation bewährt.

In der Tiermedizin haben wir die orale Schutzimpfung mit gutem Erfolg zuerst zur Bekämpfung der durch E.coli bedingten Durchfallskrankheiten beim Kalb und Schwein eingesetzt (1,5). Voraussetzung für eine belastbare Darmimmunität sind dabei folgende Bedingungen:

1. Die tägliche Impfdosis muß pro Tier mindestens 10^{10} inaktivierte E.coli-Bakterien betragen. Die Inaktivierung erfolgt durch Kurzzeiterhitzung (etwa 3 Min. bei 100°C) in einem geschlossenen Durchlaufsystem.
2. Die Impfung muß an mindestens 10 aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt werden.

Zum Einsatz kamen polyvalente als auch stallspezifische Vaccinen. Wir verfügen derzeit über Erfahrungen bei etwa 20.000 neugeborenen Kälbern in sogenannten Problembetrieben. Nach Einsatz der stallspezifischen Vaccinen kam es zu einem fast vollständigen Verschwinden der schweren Diarrhoen mit Todesfolge. Bei etwa 20% der Tiere ließen sich die Diarrhoen nicht ganz unterdrücken, der Verlauf war aber mild. Bei Verwendung einer polyvalenten Vaccine traten etwa bei 3094 der Tiere noch schwere Diarrhoen auf, die durch Serotypen bedingt waren, die der Impfstoff nicht enthielt.

Neben den durch E.coli bedingten Krankheiten belasten die Aufzucht unserer Nutztiere vor allem die durch Parvo-, Rota- und Coronaviren verursachten Diarrhoen. Eine besonders gefährliche Krankheit ist die übertragbare Gastroenteritis der Schweine (TGE). Der Erreger ist ein Coronavirus.

Neugeborene Ferkel sind während der ersten Lebenswochen am empfänglichsten für eine TGE-Virusinfektion. Häufig werden Erkrankungsfälle schon kurz nach der Geburt beobachtet, zu einem Zeitpunkt also, bis zu welchem eine aktiv induzierte Immunität mittels Schutzimpfung noch nicht wirksam ist. Hinzu kommt, daß Serumantikörper für den Schutz der Ferkel keine Bedeutung besitzen. Entscheidend ist das ständige Vorhandensein von Antikörpern im Lumen des Dünndarms, wodurch die hochempfindlichen Epithelzellen vor einer Infektion geschützt werden. Aus diesem Grunde haben wir die orale Schutzimpfung der Mutter erprobt, um über den passiven Immuntransfer mittels Kolostralmilch die Ferkel zu schützen. Ein Immunschutz wird dabei durch die kontinuierliche Aufnahme von antikörperhaltigem Kolostrum und Milch gewährleistet. Bei dieser laktogenen Immunität besitzen die sekretorischen Antikörper der Immunglobulinklasse A (IgA), die lokal im Milchdrüsengewebe produziert werden, eine überragende Bedeutung.

Die Applikation des Impfstoffes erfolgte in säurefesten

Kapseln; alle Sauen bildeten TGE-Virusantikörper in Serum, Kolostrum und Milch. Die Auftrennung der Immunglobuline von Kolostrum und Milchproben bewies, daß ein hoher Anteil von sekretorischem IgA vorlag. Nach Aufnahme von Kolostrum und Milch waren 90% der Ferkel (78 von 87 Tieren) gegen eine Testinfektion mit 100-500 LD₅₀ eines virulenten TGE-Stammes geschützt (5).

Die beiden Beispiele beweisen, daß man Neugeborene gegen gefährliche enterale Infektionen oral sowohl aktiv wie passiv wirksam immunisieren kann, was durch parenterale Schutzimpfungen nicht gelingt.

Ähnlich gute Ergebnisse erzielten wir mit der nasalen Schutzimpfung junger und älterer Tiere gegen verschiedene respiratorische Krankheiten bakterieller wie viraler Genese und bei Mischinfektionen. Interessant ist, daß man auch gegen Tetanus intranasal immunisieren kann (2). Hier hat sich die intranasale Applikation des Toxoids sowohl beim Pferd wie beim Menschen besonders gut bei Revaccinationen bewährt. Während es nach parenteraler Impfung häufig zu unangenehmen postvaccinalen Reaktionen kommt, sind die intranasalen Impfungen dadurch nicht belastet.

Die lokale wie systemische Paramunisierung haben wir in den letzten Jahren sowohl in der Human- wie Tiermedizin erprobt, wobei wir in der Tiermedizin über ein wesentlich größeres, biometrisch vergleichbares und auswertbares Erfahrungsgut verfügen. Bei der Paramunisierung muß man zwischen zwei Verfahren unterscheiden:

1. einer generellen Stimulierung der wichtigsten für die nichterregerspezifische, zellvermittelte Abwehr verantwortlicher Mechanismen, z.B. gleichzeitige Stimulierung der Phagozytose, der Interferonsynthese, der T-Lymphozyten und der für eine erhöhte Synthese zellulärer Abwehrmechanismen wichtiger, löslicher Substanzen wie Lysozym, Lymphokine und Komplement (Inducertyp I);

2. einer gezielten Stimulierung nur einzelner Aktivitäten, z.B. Induktion von Interferon, Aktivierung der Phagozytose, mitogene oder antigene Stimulierung bevorzugt der B- oder T-Lymphozyten, Aktivierung humoraler Abwehrfaktoren der zellulären oder antikörpervermittelten Abwehr (Inducertyp II).

Paramunitätsinducer vom Typ I sind solche Präparate, welche die Stimulierung all der Zellpopulationen und Mediatoren bewirken, die speziell für die zellulären Abwehrvorgänge verantwortlich sind. Sie dürfen die Antikörperbildung nicht gezielt erhöhen. Der Einsatz solcher Inducer ist ungefährlich, da er kein unerwünschtes Enhancement der Antikörperbildung zur Folge hat, andererseits aber dort wirksam wird, wo ein "Mangel" oder ein "Zuviel" in dem komplexen Abwehrsystem eines Organismus vorliegt.

Je nach beabsichtigter Wirkung wird man deshalb einmal mehr Paramunitätsinducer der Typen I oder II den Vorzug geben. Paramunitätsinducer sind Arzneimittel, die dazu bestimmt sind, bei Mensch und Tier zur Erzeugung von Abwehr- und Schutzstoffen oder zur Stimulierung körpereigenen Abwehrmechanismen im Sinne einer allgemeinen oder gezielten Paramunisierung angewendet zu werden. Bei den im Versuch befindlichen, teilweise auch schon in der Praxis (überwiegend tierärztlichen Praxis) verwendeten Inducern handelt es sich durchwegs um biologische Inducer. Typ I-Inducer sind z.B. die von uns aus Avipox- oder Parapox-Viren entwickelten Präparate PIND-AVI bzw. PIND-ORF oder der von RAETTIG aus 19 verschiedenen Bakterienstämmen produzierte Lysat-Impfstoff IRS 19. Typ II-Inducer sind z.B. reine Interferon-Inducer, die aus den unterschiedlichsten Keimen hergestellt werden (z.B. aus Herpesviren, Parainfluenzaviren, Bakteriophagen), bestimmte Immunstimulantien und Adjuvantien, die speziell die Antikörperbildung erhöhen, und bakterielle Endotoxine. Die verschiedenen, von THEURER entwickelten REVITORGAN-Präparate besitzen ebenfalls eine paramunisierende Wirkung. Eine Zu-

Ordnung der einzelnen Formulierungen zum Typ I oder II ist derzeit aber noch nicht möglich. Nach den bisher nachgewiesenen Wirkungen gehören sie mehr zum Inducertyp I, wodurch ihr Einsatz risikoarm ist, zum anderen aber ein breites Indikationsfeld ermöglicht.

Unsere Erfahrungen mit dem Paramunitätsinducer PIND-AVI (Typ I) lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Prophylaktisch bewährte sich der Inducer

1. bei Neugeborenen (7,10) zur Reduzierung der perinatalen Sterblichkeit und schnelleren Adaption an die keimhaltige Umwelt (größere Gewichtszunahme, verminderte Morbidität),
2. zur Verhinderung von Streß-Schäden durch Milieuwechsel, Crowding bei der Mast, Transport, erhöhten Leistungsanforderungen (4,13.14),
3. bei akuter Infektionsgefährdung,
4. als Strahlenschutzsubstanz (6).

Therapeutisch erzielten wir gute Ergebnisse bei der Behandlung von Virusinfektionen (z.B. Herpeserkrankungen), infektiösen Faktorenkrankheiten, besonders Erkrankungen des Respirationstraktes durch Mischinfektionen (4,7,12) und bei Immunsuppressionen. Im Experiment ließ sich bei Mäusen die Angehrate von Strahlinduzierten Osteosarkomen signifikant erniedrigen (3)*

Die Paramunisierung nach Typ I als generelle Stimulierung einer Vielzahl von nichtantigenspezifischen, zellulären Abwehrmechanismen hat sicher gute Ansatzpunkte und stellt eine zusätzliche Möglichkeit für die Prophylaxe und Therapie von Infektions- und Immunkrankheiten dar. Nachteilig kann sie sich auswirken bei chronischen Krankheiten unbekannter Ätiologie und bei Allergien vom Spättyp, wenn dabei Mechanismen stimuliert werden, die für die Genese dieser Krankheiten verantwortlich sind. Besonders interessant ist deshalb dane-

bei der gezielten Paramunisierung nach Typ II. Hier ergeben sich ganz neue Ansatzpunkte z.B. durch Induktion von Suppressor-Mechanismen bei IgE-vermittelten Allergien, durch Stimulierung von T-Lymphozyten bei der Multiplen Sklerose (11) oder im Alter z.B. zur Verhinderung von Autoimmunerkrankheiten, durch Induktion spezifischer Immuntoleranz oder durch eine gezielte Inhibierung von Tumoren.

Die Erforschung der lokalen Immunisierung und der lokalen wie systemischen Paramunisierung steht bezüglich praktischer Nutzenanwendung noch durchaus in den Anfängen. Es bietet sich viel Raum für neue, umwälzende Gedanken und Experimente. Unsere Aufgabe ist es, vorbehaltlos, wenn es notwendig ist, auch gegen den Zeitgeist der sogenannten klassischen Medizin, diesen Ideen zum Durchbruch zu verhelfen und die gegebene Herausforderung anzunehmen.

Zusammenfassung

Die Erforschung der lokalen Immunisierung und Paramunisierung hat in den letzten Jahren die Prophylaxe und Therapie enorm erweitert und damit neue Perspektiven für die Praxis geschaffen. Es sind medizinische, immunologische wie technische Gegebenheiten, die zu dieser Entwicklung geführt haben.

1. Bei vielen Infektionskrankheiten sind die an den Schleimhäuten ablaufenden pathogenetischen Vorgänge von entscheidender Bedeutung für den Verlauf der Erkrankung.
2. Eine lokale Immunisierung oder Paramunisierung der Schleimhäute verwehrt schnell und mehr oder weniger lang alle Erreger den Eintritt, die über die Schleimhäute aufgenommen werden.
3. Bestimmte postvaccinale Komplikationen, die speziell parenterale Immunisierungen belasten, fehlen oder sind nicht so stark ausgeprägt.

4. Die lokale Applikationsform ist schnell, einfach und wirtschaftlich. Es können ungefährlich Massenimpfungen durchgeführt werden (z.B. über das Trinkwasser, Aerosole u.a.m.).

Die wichtigsten immunologischen Parameter sind:

1. Lokale Immunisierungsvorgänge sind durch die Bildung sekretorischer Antikörper vom Typ IgA, im Darm teilweise auch vom Typ IgM und IgG, charakterisiert.
2. Lokal stimulierte B-Blastzellen werden über Lymphbahnen und Blutzirkulation verbreitet und siedeln sich auch in den Schleimhäuten anderer Organe an (Milchdrüse, Speicheldrüse u.a.m.). Dadurch können bei weiterem Antigenkontakt auch diese Schleimhäute sekretorische Antikörper bilden, was besonders für die Milchdrüse wichtig ist (laktogene Immunität).
3. Dem Auftreten sekretorischer Antikörper läuft eine Aktivierung des zellulären Immunsystems in den Schleimhäuten voraus.
4. Korpuskuläre Antigene werden rasch resorbiert, gelangen in den Blutkreislauf und können so auch die Bildung einer humoralen bzw. systemischen Immunität auslösen.
5. Den besten lokalen, passiven Schutz für die Neugeborenen verleihen die lokal im Endstadium der Schwangerschaft bzw. Trächtigkeit und am Anfang der Laktationsperiode entstandenen, sekretorischen IgA- bzw. IgM Antikörper, die in das Kolostrum und in die Muttermilch übergehen.
6. Lokal gebildete Memory-Zellen werden durch jeden parenteralen Booster aktiviert.

Als Paramunität wird der Zustand eines nichterreger- und nichtantigenspezifischen Schutzes gegenüber einer Mehrzahl ganz unterschiedlicher Infektionserreger, Antigene, Gifte

und Noxen bezeichnet. Die Lamina propria der Schleimhäute stellt für die lokale Paramunisierung ein unerwartet aktives Gewebe dar. Als funktionelle Grundlagen einer lokalen Paramunisierung wurden bisher nachgewiesen:

1. Schnelle Aktivierung der Makrophagen mit verstärkter Freigabe von Mediatoren. Beide Vorgänge führen bei der zentralen Funktion der Makrophagen zu einer enormen Steigerung der Abwehr.
2. Stimulierung speziell von T-Lymphozyten, was zu einer Bevorzugung der zellulären Abwehrmechanismen mit entsprechender Rückwirkung auf die humoralen Vorgänge führt.
3. Induktion der Bildung von körpereigenem Interferon.
4. Steigerung der Lysozym-Produktion.
5. Interaktionen mit der spontanen, Zellvermittelten Zytotoxizität.

Paramunisierung und Immunisierung wirken synergistisch zusammen. Sie können für sich allein oder simultan genutzt werden. Eine Paramunisierung überbrückt z.B. die ersten 1-6 Tage bis zum Einsetzen einer Immunität. Umgekehrt lösen lokale Immunisierungen mit bestimmten Impfstoffen bereits nach wenigen Stunden paraspezifische Vorgänge aus.

Die Nutzung der funktionellen Grundlagen einer lokalen Paramunisierung und Immunisierung führt nicht nur zu neuen Möglichkeiten für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten, besonders von infektiösen Faktorenkrankheiten, sondern eröffnet auch neue Perspektiven für die Vorbeuge von Stress-Schäden, von altersbedingten Krankheiten und von Tumoren.

Ausgewählte Literatur:

1. BALJER, G.: Orale Immunisierung neugeborener Ferkel gegen E.coli. Tierärztliche Praxis 417 (1975)
2. BALJER, G., J. SAILER u. A. MAYR: Vergleichende Untersuchungen über eine lokale Immunisierung gegen Clostridium tetani und Clostridium novyi. Wehrmed. Mschr. 2, 48 (1978)
3. ERFLE, V., L. STRUBEL, A. LUZ, R. HEHLMANN u. A. MAYR: Growth inhibition of murine osteosarcoma by treatment with avian poxvirus inactivated by gamma-rays. Strahl. Therapie, im Druck.
4. MAYR, A.: Erfahrungen mit dem Paramunitätsinducer PIND-AVI in der Tiermedizin. Prakt. Tierarzt 6(), 35 (1979)
5. MAYR, A.: Entwicklung neuer Immunisierung»- und Paramunisierungsv erfahren in der Tiermedizin. Die Blauen Hefte 60, 494 (1979)
6. MAYR, A., G. BALJER, J. SAILER u. D. SCHELS: Untersuchungen über eine Strahlenschutz Wirkung des Paramunitätsinducers PIND-AVI am Modell "Tetanus-Schutzimpfung - Maus" nach Röntgenbestrahlung. Strahl. Therapie 156, 795 (1980)
7. MAYR, A. und R. BRUNNER: Untersuchungen über die Wirksamkeit einer Paramunisierung zur Bekämpfung von Ferkelverlusten und der Enzootischen Pneumonie (Ferkelgrippe). Zbl. Vet. Med. B 27., 589 (1980)
8. MAYR, A., H.-J. RAETTIG, H. STICKL u. META ALEXANDER: Paramunität, Paramunisierung, Paramunitätsinducer-. - Fortschr. Med. jg., 1159 und 1205 (1979)
9. MAYR, A. und H. STICKL: Über die Wirksamkeit eines neuen Paramunitätsinducers (PIND-AVI) für Mensch und Tier. Fortschr. Med. £7, ^81 (1979)
10. MAYR-BIBRACK, B.: Paramunisierung bei Neugeborenen. Prakt. Tierarzt 715 (1980)

11. REINHERZ, E.L., H.L. WEINER, ST.L. HAUSER, J.A. COHEN, J.A. DISTASO and ST.F. SCHLOSSMAN: Loss of suppressor T cells in active multiple sclerosis. New Engl. J. Med. 303, 125 (1980)
12. THEIN, P., W. LEISTNER u. H. HECHLER: Erfahrungen mit dem Einsatz des Paramunitätsinducers PIND-AVI in der Pferdepraxis. Zbl.Vet.Med. B 2f, 499 (1980)
13. WIZIGMANN, G.: Erfahrungen mit einer aktiven Paramunisierung zur Prophylaxe der Crowding disease bei der Kälber- und Bullenmast. Fortsehr. Vet.Med. J28, 51 (1978)
14. WIZIGMANN, G: Weitere Erfahrungen mit einer aktiven Paramunisierung in der Rinderpraxis. Prakt. Tierarzt 10, 765 (1978)

Diskussion;

H. PORCHER: Unter den Paramunitäts-induzierenden Stoffen haben Sie auch das Interferon erwähnt. Das Interferon ist in der Laienpresse als Anti-Krebsmittel stark hochgespielt worden. Ich nehme doch an, daß hier die Luft in der nächsten Zeit etwas entweichen wird, außer vielleicht beim Osteosarkom wie es Prof. CHANDRA erwähnt hat. Ich hoffe, daß die potentiellen Möglichkeiten von Interferon - speziell in der Therapie von Tumoren - in der Zukunft etwas realistischer eingeschätzt werden. Mehr Chancen räume ich dem Interferon bei viralen Erkrankungen ein, auch bei viral-induzierten Tumoren.

Generell: Halten Sie eine endogene Interferon-Stimulierung, beispielsweise mit Conjectisan B, nicht für sinnvoller als etwa eine in vitro-Synthese über Fibroblastenkulturen, Leukozytenkulturen oder sogar Genetical-engineering?

A. MAYR: Ich bin sehr froh, daß Sie diese Frage stellen. Dazu kann ich ganz offen Stellung nehmen. Wir haben schon vor 12 Jahren mit der Herstellung von exogenem Interferon begonnen und es in großen Mengen benutzt. Teilweise konnten wir damit sehr gute Erfolge erzielen, teilweise mußten wir aber schwere Schädigungen hinnehmen. Interferon ist keine harmlose Substanz! Es ist ein Antagonist des Cortisons. Erst vor einer Woche habe ich einen Patienten gesehen, der durch Überdosierung und falsche Applikation von Interferon schwerste Schädigungen im Rahmen generalisierter Tumoren bekam.

Es gibt keinen Zweifel, daß exogenes Interferon seine Indikation hat. Unter exogenem Interferon verstehen wir Interferon, das in anderen Systemen, hauptsächlich in Zellkulturen

(Leukozyten- und Fibroblastenkulturen) hergestellt wird. Man muß sich jedoch davon freimachen, Interferon für alles benutzen zu wollen. Interferon hat hauptsächlich Sinn in der Behandlung lokaler Virusinfektionen, sei es am ZNS oder an den Augen. Das sind im wesentlichen die Interferon zugänglichen Indikationen.

Der Rummel, der in letzter Zeit um Interferon als antitumorale Substanz entstanden ist, hängt damit zusammen, daß Interferon Zellen schädigen kann. Aber die Zellschädigung betrifft nicht nur die Tumorzellen, sondern auch andere Körperzellen. Ein weiterer Nachteil des Interferons liegt darin, daß es sehr schnell abgebaut wird und in erster Linie dort wirkt, wo es massiv vorhanden ist. Nun haben wir in etwa denselben Entwicklungsstand wie damals bei dem Übergang von der passiven Immunisierung zur aktiven Immunisierung. Die Nachteile einer passiven Immunisierung haben die Wissenschaftler dazu bewegt, nach Methoden zu suchen, die den Organismus veranlassen, aktiv Antikörper zu bilden. Das ist heute der vorgezeichnete Weg für Interferon. Auch die kritischen Arbeiten der letzten Wochen und Monate, vor allem in der englischsprachigen Literatur, weisen daraufhin, daß es sinnvoller ist, den Organismus nicht mit exogen vorgebildeten großen Mengen, teilweise eindeutig toxisch wirkenden Interferons zu belasten, sondern ihn zu veranlassen, sein eigenes Interferon zu bilden. Diese Mechanismen setzen wir unter anderem mit den sogenannten Interferon-Inducern in Gang.

Eine Weiterentwicklung der Interferon-Inducer sind dann die Paramunitäts-Inducer. Hier unterscheiden wir zwei Typen. Typ II-Inducer sind z. B. reine Interferon-Inducer, bestimmte Immunstimulantien, -adjuvantien und bakterielle Endotoxine. Paramunitäts-Inducer vom Typ I sind Präparate, die die Stimulierung all jener Zellpopulationen und -mediatoren bewirken, die speziell für die zellulären Abwehrvorgänge verantwortlich sind. Wir bevorzugen den Typ I, weil wir hier das ganze Spektrum der zellulären Abwehr bekommen.

Wir wissen, Interferon wirkt stimulierend auf die Makrophagen, auf der anderen Seite jedoch wiederum inhibierend auf humorale Vorgänge. Ich bin überzeugt, die endogene Interferon-Stimulierung ist der Weg für die Zukunft, eben weil er nicht so gefährlich ist, weil der Organismus nicht im Übermaß Interferon bilden kann, sondern es nur in dem Maße bildet, wie er es braucht. Die Zukunft wird deshalb sicher der aktiven Induktion der Bildung von körpereigenem, sogenanntem endogenem Interferon gehören. Zu den Präparaten, die wir hier angesprochen haben, gehört auch CONJUNCTISAN B.

P. G. MUNDER: Ich bin froh, daß Sie sich derart kritisch zu Interferon geäußert haben.

Herr EBERHARD: Sie haben vorhin angedeutet, daß es durchaus möglich ist, den Organismus oder das Immunsystem oral zu stimulieren. Es gibt Hinweise von Autoren, die diesen Weg noch einen Schritt weitergegangen sind. Die Basis ist dabei die Symbiose des Menschen mit Mikroorganismen. Der Zustand des Immunsystems hängt nunmehr entscheidend davon

ab, welche Spezies von Mikroorganismen im Verdauungstrakt vorhanden sind. Gibt es Ihrerseits Informationen darüber, inwieweit eben tatsächlich durch die Mikroökologie, Mikrobiologie des Darmes, auch tatsächlich das Immunsystem gesteuert oder stimuliert werden kann?

A. MAYR: Darüber gibt es heute überhaupt keinen Zweifel mehr! Wir wissen durch zahlreiche Parallelversuche zwischen sogenannten gnotobiotisch aufgezogenen Tieren und konventionell aufgezogenen Tieren, daß die keimfrei aufgezogenen Tiere eine weit geringere Immunreaktion haben. Die konventionell aufgezogenen Tiere sind bessere Immunitätsbildner und wesentlich resistenter gegen Erreger. Die ganzen Immunmechanismen, die heute vormittag angesprochen wurden, müssen trainiert werden. Der Organismus hat sie zwar von Anfang an angelegt, genetisch mehr oder weniger gut verankert, aber ob sie nun besonders gut funktionieren oder nicht, ist eine Frage des Trainings. Wir müssen also unsere Abwehr trainieren. Unsere Superhygiene oder das Wohnen im 40. Stock eines Hochhauses sind Vorgänge, die dazu führen, daß eine normale Auseinandersetzung mit der keimhaltigen Umwelt nicht mehr gegeben ist. Es gibt gar keinen Zweifel mehr, die Besiedlung der Schleimhäute, ob es sich nun um die Besiedlung des Darmkanals oder um die Besiedlung der Nasen-Rachen-Höhle oder des Urogenitaltraktes handelt, ist ein wichtiger Erreger unspezifischer wie spezifischer Abwehrfaktor.

Wir sind jedoch noch weit von der vor etwa 30 bis 40 Jahren inaugurierten sogenannten Eubiose entfernt. Dieses Konzept stimmt nicht ganz. Jedes Individuum hat postnatal seine individuelle Keimflora im Magen-Darm-Kanal und an den Schleimhäuten eigenständig erworben. Dabei überwiegen natürlich bestimmte Keimarten, z.B. grampositive Keime. Gramnegative Keime sind nicht so günstig. Bezüglich der einzelnen Erreger besteht jedoch eine genauso große Individualität wie im psychischen Verhalten.

K. THEURER: Läßt sich die Paramunität eventuell durch Anwendung solcher Inducer in Liposomen oder in Wasser-in-Öl-Emulsionen bzw. Öl-in-Wasser-Emulsionen verbessern?

A. MAYR: Durch Zugabe von multiplen Emulsionen kann man schon eine Verstärkung erreichen. In der Regel sind das aber alles Adjuvantien, die die humoralen Vorgänge stimulieren. Das wollen wir jedoch wegen einer Allergisierungsgefahr gerade vermeiden. Die Stimulierung der humoralen Immunität ist höchstens bei Impfstoffen, die in erster Linie die Antikörperbildung anregen sollen, erwünscht. Auch bei den Impfstoffen müssen wir zwischen jenen unterscheiden, bei denen die Wirkung auf der Antikörperbildung liegt und solchen, bei denen die Wirkung mehr auf dem zellulären Sektor liegt. Ich sehe die Zugabe von multiplen Öl-Emulsionen als problematisch an.

K. THEURER: Auch unsere Präparate wurden in Ihrem Institut als Inducer verwendet. Wir haben noch nie gehört, daß irgendwelche Sensibilisierungen oder irgendwie negative Wirkungen aufgetreten wären, obgleich unsere Organsalben selbstver-

ständig auf Öl-Wasser bzw. Wasser-Öl-Basis aufgebaut sind und auch Liposomenpräparate speziell für die Schleimhäute Anwendung finden. Wahrscheinlich ist die Sensibilisierung oder Nicht-Sensibilisierung mehr eine Frage der verwendeten Ausgangssubstanz. Ich könnte mir vorstellen, daß körperähnliche, also heterologe Organsubstanzen vielleicht weniger sensibilisierend wirken, als vielleicht weiter entfernte biologische Substanzen aus dem Pflanzen- oder Tierreich.

A. MAYR: Das ist sicher der Fall, denn die lokale Immunisierung läuft mal zellulär, mal humoral. Hier handelt es sich aber hauptsächlich um die sekretorischen Antikörper. Die humorale Allergisierung basiert auf den IgG-Antikörpern. Hier könnte ich mir vorstellen, daß die Gefahr nicht so groß ist.

Beispielsweise impfen wir Pasteurella-Impfstoffe parenteral. Dies führt beim Tier gelegentlich zu einem anaphylaktischen Schock mit Todesfolge. Wird derselbe Impfstoff mit der gleichen Immunogenität und Schutzrate oral verabreicht, gibt es keine Probleme. Ähnlich verhält es sich beim Tetanus! An zahlreichen, freiwilligen Probanden haben wir damit intranasale Revakzinationen durchgeführt und nie Reaktionen gesehen. Und dies bei Probanden, die sonst parenteral schwere Reaktionen bekommen hätten. Ähnlich verhält es sich bei Pocken.

P. G. MUNDER: Ich habe eine Frage zur lokalen Immunisierung. Die Wirksamkeit ist doch ziemlich umstritten. Nun habe ich natürlich keine Ahnung über die Möglichkeiten in der Veterinärmedizin. Aber die Erfahrungen auf verschiedenen Symposien zeigen doch eigentlich immer wieder, daß ein wesentlicher Punkt der oralen Immunisierung - ob nun beim Tier oder beim Menschen - die Penetration der Bakterien ist.

A. MAYR: Das stimmt nicht. Wir verwenden keine vermehrungsfähigen Bakterien, sondern inaktivierte. Weshalb die orale Immunisierung in der Humanmedizin umstritten ist, das ist eine reine Frage der Quantität. Bei inaktivierten Bakterien benötigen Sie etwa hundertmal mehr.

P. G. MUNDER: Ist es nicht so, daß Sie bei abgetöteten Impfstoffen zur Paramunisierung, wie Sie sie verwenden, enorm höhere Dosen verwenden müssen, als man normalerweise bei lokaler Immunisierung verwenden würde?

A. MAYR: Das stimmt. Wir reden jetzt nur von der Immunisierung, nicht von der Paramunisierung. Bei der lokalen, oralen Immunisierung brauchen wir etwa 100 bis 1000 mal mehr Antigen als bei der parenteralen und bei der nasalen Immunisierung etwa 10 bis 50 mal mehr.

P. G. MUNDER: Sind abgetötete Vakzinen oral wirksam?

A. MAYR: Das ist so sicher, wie das Amen in der Kirche. Sie müssen nur entsprechend hohe Antigenmengen nehmen. Eines ist noch zu bedenken: Handelt es sich um Keime, die im Magen abgebaut werden, müssen entsprechend magensaftresistente Kapseln verwendet werden.

J. SEIFERT: Bei der Verwendung abgetöteter Keime muß wesentlich höher dosiert werden. Beispielsweise haben wir Meer-schweinchen mit 10^8 Lebendkeimen *Pseudomonas aeruginosa* immunisiert. Erst mit 10^{11} abgetöteten Keimen haben wir die gleiche Abwehrlage bekommen. Das ist etwa die Spanne, die Sie dazurechnen müssen, wenn Sie mit inaktivierten Keimen arbeiten. Auf der anderen Seite ist die Gefahr, damit irgendeine Nebenwirkung zu induzieren, gleich Null. Wir haben das bei einem Patienten mit chronischer Knocheninfektion durchgeführt. 10^8 abgetötete Keime, täglich über acht Wochen lang dem Patienten verabreicht, führten zu einem sehr schönen Heilerfolg (EHK 2/80, Seite 9k).

P. G. MUNDER: Die hier geschilderten Einwände bezüglich der oralen Immunisierung stammen nicht von mir, sondern von Autoren aus Afrika und Australien. Diese stehen auf dem Standpunkt, das wichtigste bei einer lokalen, oralen Immunisierung ist das Eindringen in die Peyer'sehen Plaques. Ein toter Keim kann hier nicht eindringen.

A. MAYR: Wir haben mit Hefezellen derartige Versuche durchgeführt. Innerhalb von drei Stunden sind diese bereits im Blut. Jedes Partikelchen korpuskulärer Art wird sofort persorbiert, sei es nun lebend, inaktiviert oder tot.

P. G. MUNDER: Natürlich wird vieles davon im Darm aufgenommen. Es geht aber doch darum, ob das, was "feindlich" ist, auch als feindlich in den Peyer'sehen Plaques erkannt wird. Das ist doch das Kernproblem bei der lokalen Immunisierung. Wir immunisieren ja auch nicht gegen unser mit-tägliches Steak! Da muß noch ein Unterschied bestehen, Herr SEIFERT.

A. MAYR: Das ist ein immunologisches Problem. Die Resorption oder die Persorption ist bei der oralen Immunisierung zweifelsohne da.

Der Einfluß der Antigenresorption aus dem
Gastro-Intestinal-Trakt auf die
Immunantwort eines Organismus

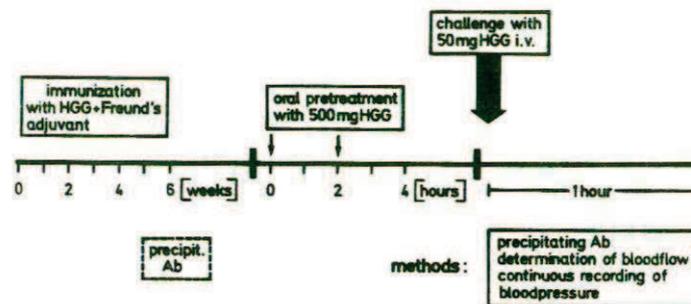
J. SEIFERT und W. BRENDEL

Institut für Chirurgische Forschung
im Klinikum Großhadern der Universität
München

Die intravenöse Applikation eines Antigens verursacht bekanntlich bei vorhandenem zirkulierendem Antikörper normalerweise eine ausgeprägte Kreislaufreaktion als Folge einer Antigen-Antikörperreaktion. Für die gefahrenlose parenterale Anwendung von Fremdproteinen, wie z. B. Antitoxinen gegen Schlangengift bzw. Mikroorganismen, aber auch Antiseren gegen Lymphozyten zur Immunsuppression, wäre es wünschenswert, wenn bei einer vorhandenen Sensibilisierung gegen Pferdeprotein, etwa aus dem Zweiten Weltkrieg durch Anti-Tetanusserum, durch eine immunologische Manipulation wieder ein Zustand der Toleranz herbeigeführt werden könnte. Anhaltspunkte dafür, daß eine vorhandene Immunantwort durch Bruchstücke eines Antigens zum mindestens für eine begrenzte Zeit in eine Toleranz umgewandelt werden kann, sind bei der Penicillin- und Dextranallergie beobachtet worden. Mit der Nahrungsaufnahme gelangen u. a. auch eine ganze Reihe von den verschiedensten Antigenen über den Magen-Darm-Trakt in den Organismus. Unsere Arbeitshypothese war nun, daß diese resorbierten Antigene oder Antigenbruchstücke möglicherweise einen Einfluß auf eine vorhandene Immunitätslage haben. Folgende Einzelbeobachtungen bestärkten uns in der Annahme, daß tatsächlich eine vorhandene Immunantwort durch die enterale Applikation des Immunogens verändert werden kann: Hunde waren gegen Pferde-Gammaglobulin sensibilisiert, so daß man präzipitierende Antikörper im Serum nachweisen kann-

te. Eine intravenöse Belastung mit Pferde-Gammaglobulin verursachte ernste klinische Symptome, wie Erbrechen und Blutdruckabfall. Durch eine Vorbehandlung dieser sensibilisierten Tiere mit oral verabreichten Gammaglobulin in der Dosierung von 1 g blieben die klinischen Symptome der Unverträglichkeit aus, obwohl die Tiere intravenös mit Pferde-Gammaglobulin belastet worden waren.

Dieser Beobachtung wurde durch systematische Untersuchungen am Kaninchen nachgegangen. Dazu wurden Kaninchen mit menschlichem Gammaglobulin + Freund'schem Adjuvans sechs Wochen lang immunisiert, bis sie im Serum präzipitierende Antikörper aufwiesen. Danach wurden die Tiere oral vorbehandelt, wobei sie in der Resorptionszeit von vier Stunden zweimal 500 mg menschliches Gammaglobulin bekamen.



Um die Kreislaufparameter, wie Blutdruck oder auch die Durchblutung, messen zu können, wurden die Kaninchen narkotisiert. Die intravenöse Belastung erfolgte mit 50 mg HGG; dabei wurden die Antikörper vor, während und nach der Fütterung und intravenösem Challenge mittels eines Radioimmuno-Assays bestimmt. Bei einer zweiten Gruppe von Tieren erfolgte die orale Vorbehandlung nicht mit intaktem Gammaglobulin, sondern mit pepsin-gespaltenem HGG. Diese zweite Gruppe wurde durchgeführt, um den Einfluß der Pepsinspaltung bei der Magenpassage abschätzen zu können.

Abb. 2 zeigt das Blutdruckverhalten von oral vorbehandelten Tieren, welche präzipitierende Antikörper im Serum aufwiesen, verglichen mit Kontrolltieren, die oral nicht vorbehandelt waren. Während unbehandelte Tiere von einem normalen Blutdruck über 100 mm Hg auf Werte unter 40 mm Hg abfallen, ist der Abfall nach oraler Vorbehandlung nicht so stark ausgeprägt. Die Tiefstwerte liegen bei 60 mm Hg. Auffallend ist weiterhin, daß sich bei vorbehandelten Tieren innerhalb von 30 Minuten die Blutdruckwerte wieder auf Normalwerte erholen, während die Kontrolltiere im Schock verbleiben. Ein noch besseres Ergebnis zeigt die untere Hälfte der Abbildung, wo der Blutdruck von Kontrolltieren dem Blutdruck von mit pepsin-gespaltenem HGG vorbehandelten Tieren gegenüber gestellt wurde. Durch die Vorbehandlung mit Fab[^] bzw. Fc-Fragmenten wird der maximale Blutdruckabfall noch stärker verringert (durchschnittliche Tiefstwerte 80 mm Hg).

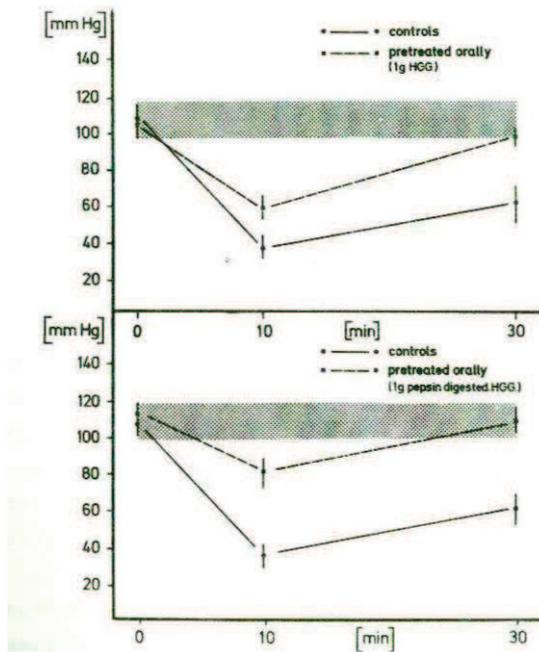


Abb.2: Blutdruck HGG-sensibilisierter Kaninchen nach i.V.-Gaben von 50 mg HGG

Entsprechend dieser Beobachtungen des Blutdruckes ist auch das Verhalten der Durchblutung und das Verhalten der Mortalitätsrate. Innerhalb von 60 bis 90 Minuten sterben 60 % der Kontrolltiere an einem Kreislaufschock. Durch die orale Vorbehandlung durch HGG wird diese Mortalitätsrate um die Hälfte gesenkt. Bei Tieren, die mit HGG-Spaltprodukten vorbehandelt waren, ist sie jedoch gleich Null.

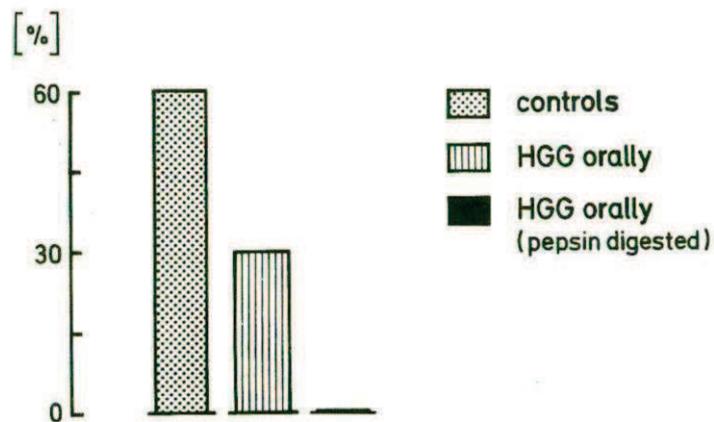


Abb. 3: Mortalität in der 60 - 90 Min. Zeitspanne

Auf der Suche nach einer Erklärung für dieses im Kaninchen-Experiment beobachtete Phänomen haben wir folgende Überlegung angestellt: Es ist denkbar, daß zirkulierende Antikörper dadurch vermindert werden können, daß sie im Magen-Darm-Trakt durch resorbiertes Antigen bzw. Antigenbruchstücke gebunden werden. Eine solche Bindung müßte auch von der Dosis abhängig sein. Um diesen Gedankengang zu überprüfen, haben wir in einer zweiten Versuchsserie den Antikörper, also Kaninchen-Anti-HGG, radioaktiv markiert und intravenös verabreicht. Oral erhielten diese Tiere unterschiedliche Dosen von HGG. Nach vier Stunden wurden die Kaninchen getötet, der Magen-Darm-Trakt entnommen und die in der Darmwand befindliche Radioaktivität bestimmt. Kontrollexperimente wurden mit radioaktiv-markiertem Normal-Kaninchen-IgG ohne die HGG-Komponente durchgeführt.

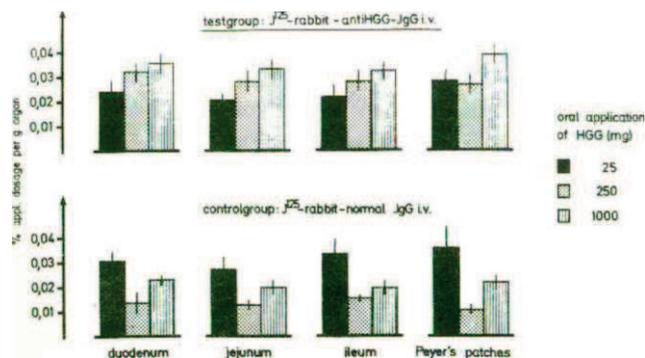


Abb. 4: Radioaktivität in verschiedenen Regionen des Gastro-Intestinal-Trakts

Die Abb. 4 zeigt die Ergebnisse. Im unteren Abschnitt sind die Kontrollexperimente dargestellt und im oberen Abschnitt die Experimente mit markiertem Antikörper. Die orale Gabe von HGG wurde von 25 mg auf 250 mg und 1000 mg gesteigert. Während die Bindung des radioaktiv markierten Antikörpers in der Darmwand sehr deutlich von der applizierten Dosis abhängt, kann das bei den Kontrollexperimenten im unteren Teil der Abbildung nicht korreliert werden. Die Menge der Radioaktivität in der Darmwand ist bei der Testgruppe deutlich über der Radioaktivitätsmenge bei der Kontrollgruppe.

Aus diesen Experimenten könnte man schließen, daß in der Darmwand Antigen-Antikörperkomplexe entstehen und damit tatsächlich der Antikörpergehalt im zirkulierendem Blut verringert wird. Um für diesen Verdacht noch mehr Anhaltspunkte zu sammeln, haben wir für die Bestimmung des Antikörpergehaltes einen Radioimmuno-Assay entwickelt. Damit wurde der Antikörperspiegel vor und während der enteralen Vorbehandlung und nach der intravenösen Belastung gemessen. Man sieht deutlich, daß tatsächlich der Antikörperspiegel im Serum von immunisierten Tieren durch die enterale Gabe des Antigens

abnimmt. Bei den Kontrolltieren ohne orale Vorbehandlung nimmt der Antikörpergehalt erst durch die intravenöse Belastung mit dem Antigen ab. Da die Schwankungsbreite dieser Durchschnittswerte relativ groß ist, wurden noch weitere Versuche durchgeführt mit oraler Gabe von pepsin-gespaltenem Antigen, um dieses Ergebnis abzusichern.

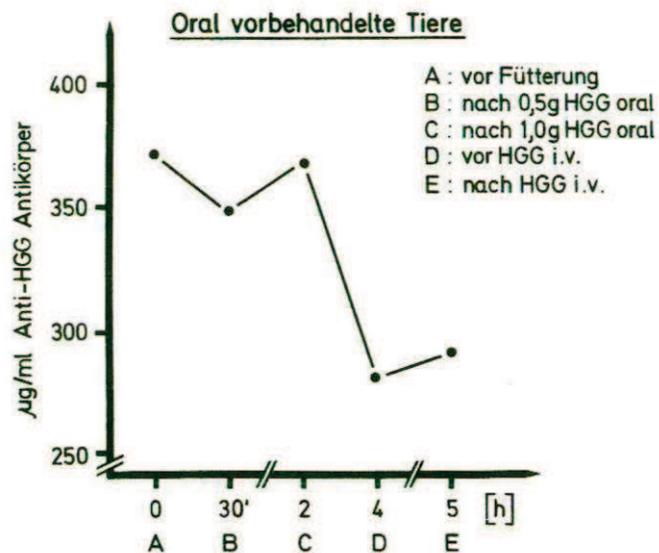


Abb. 5: Radioimmunologische Bestimmung der Antikörper

Die nächste Abbildung zeigt einen noch stärkeren Abfall der zirkulierenden Antikörper im Serum, bedingt durch die orale Gabe von pepsin-gespaltenem Antikörper.

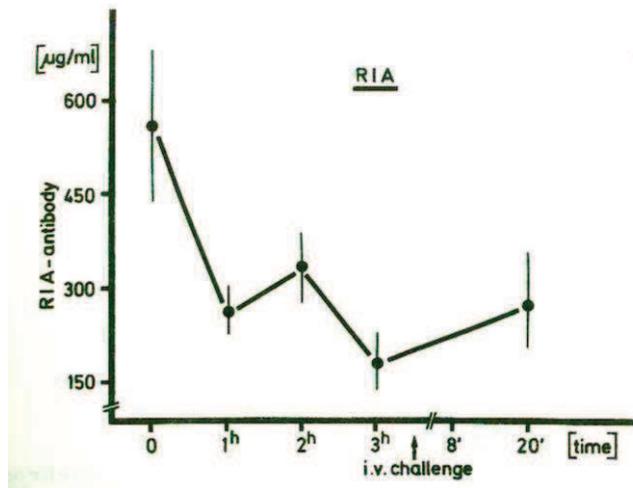


Abb. 6

Wenn man es aufgrund der Beobachtungen als gegeben annimmt, daß Antigen-Antikörperkomplexe in der Darmwand entstehen, muß man sich als nächstes fragen, was passiert damit. Werden sie abgebaut oder gelangen sie wieder in die Blutbahn?

Da die Antikörperkomplexe in ihrem Molekulargewicht wesentlich schwerer sind als das Antigen allein, haben wir eine molekulargewichtsabhängige Trennung der Radioaktivität mit Sephadex G200-Säulenchromatographie im Serum von Kontrolltieren und Testtieren durchgeführt. Kurve I der Abbildung 7 zeigt die Molekulargewichtsverteilung von Kaninchen-IgG, Kurve II von der Radioaktivität von Kaninchen, die enteral mit dem Antigen vorbehandelt waren. Sie sehen eine deutliche Linksverschiebung der Kurve II, die durch Antigen-Antikörper-Komplexe verursacht sein könnte.

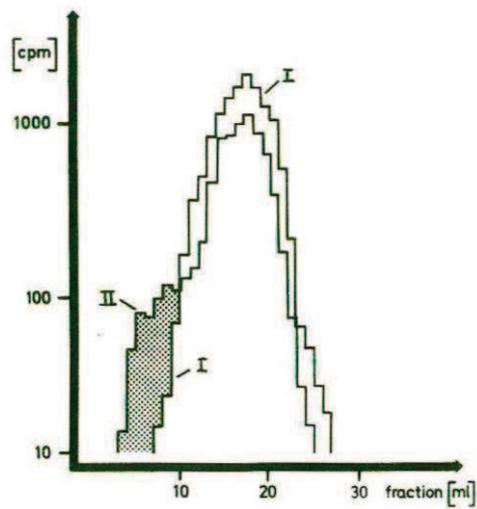


Abb. 7: Säulenchromatographie der Serum-Antikörper am Sephadex G-200

Somit können offensichtlich diese Komplexe zum Teil auch in das Serum gelangen. Sie werden aber auch auf die andere Seite der Darmwand, nämlich in das Darmlumen, transportiert. Abbildung 8 zeigt, daß bei Tieren, die den radioaktiv-markierten Antikörper und oral das Antigen appliziert bekamen, die Radioaktivität im Darmlumen viermal höher ist, als bei Kontrolltieren. Das bedeutet, daß der Antigen-Antikörper-Komplex wohl hauptsächlich darmlumenwärts transportiert und dort abgebaut und ausgeschieden wird.

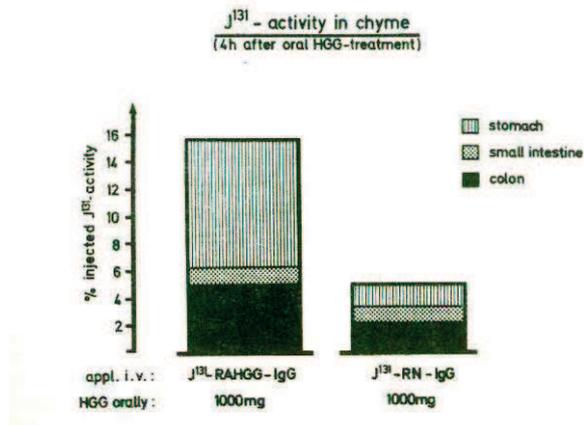


Abb. 8: J^{131} -Aktivität im Chymus (4 Stunden nach oraler HGG-Gabe)

Die hier vorgestellten Ergebnisse sind noch nicht vollständig abgesichert, um als allgemein gültiges Prinzip auch auf den Menschen übertragen werden zu können. Die Ergebnisse erklären aber, warum man mit oral verabreichten Allergenen oder Antigenen erfolgreich desensibilisieren kann. Möglicherweise ist dieser beobachtete Effekt auch verantwortlich für die therapeutische Wirksamkeit von oral applizierten Organpräparationen.

Diskussion:

K. THEURER: Schon Paracelsus hat die Methodik der Spagyrik, d.h. die Zerkleinerung von Stoffen zur besseren Verträglichkeit, in die Arzneimittelanwendung eingeführt. Er war der Meinung, aus den Untereinheiten, den Domänen, wie es neuerdings heißt, können neue Kombinationen entstehen. Das war zwar nicht der Ausgangspunkt unserer Dilutionen und unserer Herstellungsverfahren. Unser Herstellungsverfahren beruht jedoch gerade auf dieser partiellen Hydrolyse. Dabei werden Untereinheiten gebildet. Neben den Untereinheiten befinden sich dann noch unveränderte Makromoleküle.

Nun ist die Frage, ob sich nicht durch eine Mischung haptensierter Antigene und intakter Immunogene die Verträglichkeit bessern läßt und etwaige Sensibilisierungsvorgänge überwunden werden können. Von diesen Überlegungen ausgehend, haben wir andererseits auch Antikörperfragmente in die Therapie einge-

bracht. Antikörperfragmente werden bei den schwersten Arten von Sensibilisierungsvorgängen gegen mesenchymales Gewebe, insbesondere bei Rheumatismen, beim Lupus erythematodes, verwendet. Diese Serumpräparate werden ausgezeichnet vertragen, wobei es natürlich auch von der Dosierung abhängt. Der Darm ist eines der stärksten Lymphorgane des Organismus. Es könnte nun möglich sein, daß der Darm überhaupt als Ausscheidungs- oder Abbauorgan im Sinne eines Filters bei derartigen Komplexen eine große Rolle spielt.

J. SEIFERT: Es ist vollkommen richtig, daß mit einem Gemisch aus großen Molekülen und gespaltenen Molekülen eine "Toleranz" erzeugt werden kann. Sie haben nun die Schwierigkeit, daß Ihre Moleküle nicht genau definiert sind. Nun gibt es ein Modell, bei dem dieses Phänomen genau nachgewiesen werden kann. So werden in der Schulmedizin Gamma-Globuline im großen Stil verabreicht. Gerade gespaltene Gamma-Globulin-Präparate erfreuen sich nun sehr großer Beliebtheit, weil sie zu keinen Unverträglichkeiten führen. Das beruht einfach darauf, daß in der Präparation nicht nur intaktes Gamma-Globulin enthalten ist, sondern auch kleinere Bruchstücke davon. Diese kleinen Bruchstücke können dann, bei einer evtl. Sensibilisierung, die zu Unverträglichkeiterscheinungen führen würden, schneller reagieren und Rezeptoren blockieren; die Gamma-Globuline gelangen dann nicht mehr bis zu den Rezeptoren. Das ist ein gängiger Hapten-Inhibitions-Mechanismus, der hier ausgenutzt wurde. Zum Zeitpunkt, als die Immunglobulin-Präparate konzipiert wurden, wußte man hierüber natürlich noch sehr wenig.

Ganz generell glaube ich, daß über den Magen-Darm-Trakt eine ganze Reihe von Antigenen zugeführt werden. Das gilt für den menschlichen wie auch für den tierischen Organismus. Es ist immer eine Frage der Dosierung und der Antigen-Präsentation im Magen-Darm-Trakt, ob das Antigen als Tolerogen akzeptiert wird oder als Immunogen. Hier gibt es noch sehr viel zu forschen. Das ist Neuland.

AUDITORIUM: Gibt es überhaupt Experimente bzw. Erfahrungen über die Verbesserung der Abwehrlage mit hochverdünnten radioaktiven Substanzen, etwa in der Größenordnung 10^{-10} ?

J. SEIFERT: Ich glaube, diese Fragestellung gebe ich jetzt lieber an Herrn Prof. THEURER weiter. Er weiß über die Dilutionen besser Bescheid.

K. THEURER: Wir verwenden das Prinzip der spezifischen Desensibilisierung, und da kann ich Sie auf die ganzen Erfahrungen der Allergologie verweisen. Heute hat man darüber ganz andere Vorstellungen. Man nimmt an, daß bei diesen desensibilisierenden Prozessen Feed-back-Mechanismen beteiligt sind. Es sind also nicht nur blockierende Mechanismen durch Gegenantikörper, sondern Regulationsvorgänge an der Zelle selbst.

Herr RAU: Bleibt die Toleranz nach enteraler Zufuhr des Antigens erhalten, oder ist das nur ein kurzfristiger Effekt?

J. SEIFERT: Verabreichen Sie das Antigen enteral nur einmal, erreichen Sie nur einen passageren Effekt, d. h. das Tier - in unserem Fall - ist nach 2k Stunden wieder voll immun und reagiert immunologisch normal. Führen Sie aber dauernd Antigene zu - wie beispielsweise in unserem Kaninchen-Experiment - können Sie insgesamt den Antikörperspiegel derart signifikant absenken, und zwar dauerhaft absenken, daß Sie eine echte Desensibilisierung erreichen.

K. THEURER: Ich darf vielleicht noch hinzufügen, daß diese Prozesse ähnlich ablaufen wie bei der spezifischen Desensibilisierung. Irgendwie ist das ein Gewöhnungseffekt. Wir haben das heute schon von anderer Seite gehört: Training und Gewöhnung sind ganz entscheidende Dinge im Reaktionsablauf eines Organismus. Wenn Sie lange im Bett liegen, können Sie nachher Ihre Muskulatur auch nicht mehr gebrauchen.

P.G. MUNDER: Das Absinken der Antigen-Antikörper-Komplexe kommt doch durch die Leber zustande?

J. SEIFERT: Diese Antigen-Antikörper-Komplexe befinden sich in der Darmwand. Es handelt sich also um einen ganz lokalen Prozeß. Die Komplexe, die dann noch ins Serum gelangen, gehen zunächst einmal über die Leber.

P.G. MUNDER: Dann fällt der Titer ab.

J. SEIFERT: In der Leber werden die Komplexe sicher auch abgebaut. Ich habe jedoch betont, daß sehr wenige Antigen-Antikörper-Komplexe ins Serum gelangen. Viel höhere Konzentrationen, auch von Bruchstücken, findet man im Lumen. Offensichtlich hat der Organismus irgendwie eine natürliche Möglichkeit, solche Antigen-Antikörper-Komplexe aus dem Körper herauszuhalten.

P.G. MUNDER: Es kann doch keinen Zweifel mehr daran geben, daß die Leber jenes Organ ist, das in der Lage ist, Toleranz im Organismus zu erzeugen.

J. SEIFERT: Nein, absolut nicht! Natürlich ist nachgewiesen worden, daß man mit solchen, aus dem Darm stammenden Komplexen, über die Leber eine Toleranz induzieren kann. Das ist eine Möglichkeit. Darüberhinaus könnten sie aber auch über die Peyer'sehen Plaques, d. h. die erste Lymphstation im Darm, genauso eine Toleranz erzeugen. Hier spielen Suppressor-T-Zellen eine Rolle. Der Wirkungsmechanismus wurde neuerdings durch eine amerikanische Gruppe nachgewiesen. Die Effekte sind schon nach vier Stunden nachweisbar. Ob das jetzt bei Tins eine Rolle gespielt hat, oder was bei uns überhaupt eine Rolle gespielt hat, das weiß ich nicht. Ich habe es bisher nicht untersucht.

Altern und Krankheit - ein makromolekulares Problem?

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

Wien - Lainz

Zusammenfassung

Beschäftigte sich schon Aristoteles mit den Problemen von Altern und Krankheit, so sind im Laufe der Geschichte der Geriatrie bis heute zahlreiche Theorien über die Ursachen und Veränderungen des Alterns genannt worden: Schädigungen und Mangelercheinungen, Abnutzung und Degeneration, Regulations- und Stoffwechselstörungen in Organen, Geweben und Zellen sind die wesentlichsten Interpretationen für den Ablauf des Alternsprozesses. Die moderne biologische Grundlagenforschung hat diese Erkenntnisse aber auf die Ebene der Makromoleküle verlagert. Aus der Fülle der Untersuchungen über Funktionsänderungen der verschiedenen Makromoleküle sei nur auf die "Fehler-Katastrophen" Theorie nach ORGEL und die Theorie von den lebenserhaltenden Prozessen nach CUTLER kurz hingewiesen.

Wenn also die Störungen der Makromoleküle beim Altern des Menschen im Vordergrund stehen, liegt es auf der Hand, daß nur eine umfassende makromolekulare Organotherapie eine kausale Therapie von Altern und Krankheit sein kann. Die Wurzeln der Organotherapie reichen wohl weit zurück, doch ist sie erst in den letzten 100 Jahren aus dem Nimbus der Zaubermedizin und der Mystik herausgetreten. Es ist das Verdienst von K. THEURER, daß es ihm gelang, diese makromolekulare Organotherapie als "Zytoplasmatische Therapie" auf eine gesicherte wissenschaftliche Basis zu stellen.

Nachdem bereits von einigen anderen Untersuchern die therapeutische Beeinflussung geriatrischer Patienten mit zytoplasmatischen Präparaten bekannt wurde, haben wir, ermutigt durch eine eigene Pilotstudie, eine Untersuchungsreihe mit zytoplasmatischer Therapie bei alten Patienten durchgeführt. Ziel der

Studie war die Prüfung, ob es gelingt, den bestehenden körperlichen und geistigen Abbau von Patienten einer großen geriatrischen Krankenabteilung günstig zu beeinflussen. Da im Alter die Erscheinungen der cerebralen Insuffizienz und die Veränderungen des Myocards und der Coronararterien ziemlich homogen vorhanden sind, wurde die Methodik der Untersuchung auf diese beiden Parameter ausgerichtet. Die Ergebnisse dieser randomisierten Doppelblindstudie bestätigen nicht nur die theoretischen Grundlagen und die Empfehlungen früherer Untersuchungen, sondern geben auch wichtige Hinweise für diese neue Form geriatrischer Therapie.

"Demgemäß ist es richtig, wenn man die Krankheit ein erworbenes Alter, das Alter aber eine natürliche Krankheit nennt. Zudem zeigen gewisse Krankheiten die gleichen Folgen wie das Alter."

Diese Worte des Arztsohnes ARISTOTELES stehen eigentlich am Beginn der Geriatrie, als der Wissenschaft von den Krankheiten und Problemen des Alters. Und 400 Jahre später faßte GALEN von PERGAMON, der Leibarzt Marc Aurels und anderer römischer Kaiser, alle bisherigen Erkenntnisse kritisch zusammen. Dabei kam er allerdings zu dem Ergebnis, daß, im Widerspruch zu ARISTOTELES, das Alter eine unausweichliche Phase des Lebens wäre, die "Jeden ereilt und daher im Einklang mit der Natur stünde". Im Gegensatz dazu wäre Krankheit eindeutig naturwidrig, gegen die Ordnung des natürlichen Ablaufes gerichtet. Von da führt ein kontinuierlicher Weg bis zur heutigen modernen Geriatrie, teilweise gekennzeichnet durch Perioden reiner Deskription des Alters, oder auch von Abschnitten spektakulärer Wundermittel, "um das Alter zu überlisten". Stets stand aber die Kardinalfrage nach den Ursachen der Veränderungen im Alter im Vordergrund. Schon aus historischen Gründen lohnt es sich, sich mit den verschiedenen Interpretationen des Alterns auseinanderzusetzen. Schädigungen und Mangelerscheinungen, aber auch Abnutzung und Degeneration, Regulations- und Stoffwechselstörungen, ja sogar Vergiftungen, bilden viele einleuchtende und interessante Theorien, um das biologische Phänomen "Alter"

erklären zu können. Es ist aber sicherlich keine Laune der Wissenschaft, wenn sich in den letzten Jahrzehnten, vielleicht auch durch die neuartigen Technologien unterstützt, die gerontologische Forschung auf die Ebene der Makromoleküle verlagert. Ob es sich um Altern als Folge der gestörten Funktionstüchtigkeit der Enzyme und Strukturproteine handelt, oder um Veränderungen der informationstragenden Nukleinsäuren als aktive Steuerung oder als passive Begleiterscheinung des Alterns, immer mehr werden molekularbiologische Störungen in Zusammenhang mit den Alterungsprozessen gebracht. Dabei muß aber korrekterweise darauf hingewiesen werden, daß wir erst am Beginn einer Forschungsrichtung stehen und unser Wissen darüber noch sehr lückenhaft ist. Zwei Theorien seien aus der Fülle von Untersuchungen herausgegriffen: Die "Fehler-Katastrophen"-Theorie von ORGEL (6) besagt, daß mit zunehmendem Alter Veränderungen in der Struktur der Proteine entstehen. Diese veränderten Proteine in den alten Zellen haben aber auch eine veränderte oder überhaupt fehlende biologische Funktion. Dies führt schließlich zu einem kompletten Zusammenbruch des gesamten intrazellulären Stoffwechsels. Die Theorie "lebenserhaltender Prozesse" von CUTLER (3) schließt darauf, daß der Begriff der maximalen potentiellen artspezifischen Lebenslänge mit der Erhaltung der Homöostase und der Reparaturmechanismen der DNS im Zellkern verbunden sind. "Man lebt solange, wie man seine Gene noch flicken kann".

Wenn also die Störungen der Makromoleküle beim Altern im Vordergrund stehen, ist es einleuchtend, daß nur eine umfassende makromolekulare Organotherapie eine echte und kausale Therapie physiologischer und pathologischer Altersveränderungen sein kann. Die Wurzeln der Organotherapie reichen bis in graue Vorzeit zurück, wo die Zaubermedizin eine Vorliebe für Knochen, Fleisch und Blut, aber auch für Tiere mit langem Leben hatte. So wurde Äson von Medea mit dem Kopf einer alten Krähe verjüngt, aber auch eine exaktere Quelle, wie der berühmte Arzt und Botaniker DIOSKURIDES, gibt Schlangenfleisch als Hilfe, ein höheres Alter zu erreichen, an. Übergehen wir die Jahrhunderte der Mystik, bis 1889 BROWN-SEQUARD (2) der erstaunten

Pariser Akademie der Wissenschaften die Mitteilung von einer Injektion machte, mit der er sich selbst als 72-jähriger von dem altersbedingten Kräfteverfall rasch erholte. Diese wässrige Lösung von zerriebenen Hunde- und Meerschweinchenhoden war aber zugleich der Beginn einer wissenschaftlichen Organtherapie. Der Weg führt über STEINACH, VORONOFF, METSCHNIKOFF, BOMOLOLETZ und vielen anderen bis zur makromolekularen zytoplasmatischen Organotherapie des Karl THEURER in unseren Tagen. Nachdem bereits an anderer Stelle über die wissenschaftlichen Grundlagen und Forschungen zur Normalisierung des Zellstoffwechsels durch Wiederherstellung geschädigter Regulationsvorgänge ausführlich berichtet wurde, darf ich über unsere eigenen Untersuchungen zur kausalen Unterstützung der Heilungsvorgänge älterer Menschen berichten.

Problemstellung

Es sollte geprüft werden, ob es mit der zytoplasmatischen Therapie mit makromolekularen Organsubstanzen (Revitorgan-Dilutionen-Trockensubstanzen und -Lingualpräparate der Firma vitOrgan-Arzneimittelfabrik Dr. THEURER GmbH & Co KG, D-7302 Ostfildern 1 / Ruit) gelingt, bei alten Patienten einer geriatrischen Krankenabteilung den bestehenden körperlichen und geistigen Abbau günstig zu beeinflussen.

Untersuchungsgut und Methodik

Von den Patienten der IV. medizinischen Abteilung des Pflegeheimes der Stadt Wien-Lainz wurden 109 Patienten (davon 53 Männer und 56 Frauen) im Alter von 55 bis 94 Jahren und einem Durchschnittsalter von 77,7 Jahren ausgewählt (Tab. 1). Entsprechend dem Charakter der Abteilung handelt es sich um pflegebedürftige geriatrische Patienten mit einer gewissen Homogenität bezüglich der cerebralen und cardialen Veränderungen. Dies ist umso mehr zu betonen, als auch nach unseren Erfahrungen cerebrale und cardiale Insuffizienzen im Vordergrund geriatrischer Diagnosen stehen. Aus diesem Grund konzentrierte sich unsere Untersuchung auf diese beiden Parameter.

Tabelle 1: Patientenaufteilung

109 Patienten
 Alter von 55 - 9^a a
 Durchschnittsalter 77,7 a
 - davon 6 Pat. Ausschlußkriterien
 3 Pat. Exitus (Vorperiode-2. Wo.)
 1 Pat. verweigert

 Tatsächliche Zahl: 99 Pat.
 davon Verum-Gr. 55 (28 j 27 d*)
 Plazebo-Gr. 44 (23 5 21 <f)

Die übrigen, durch die im Alter charakteristische Multimorbidität, häufigeren Diagnosen (Immunkörperveränderungen, chronischer Harnwegsinfekt, Diabetes, Hypertonie und Hyperlipidämie) treten dagegen zurück. Nicht in die Studie aufgenommen wurden: Moribunde Patienten und Patienten, die voraussichtlich die Gesamtbeobachtungsdauer von 10 Wochen nicht erleben würden, nicht kooperative Patienten, Patienten mit schwersten irreparablen hirnorganischen Veränderungen und Patienten mit Tendenz zu schweren Nieren- und Stoffwechsellentgleisungen, aber auch Patienten mit keinen oder nur geringfügigen EKG-Veränderungen.

Diese 109 Patienten wurden streng randomisiert, doppelblind mit Schichtung hinsichtlich Krankenstation und Geschlecht aufgeteilt. Der Code wurde beim Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Wien hinterlegt und war weder dem Leiter der Studie noch den beteiligten Ärzten oder Schwestern bekannt. Die strengen Untersuchungen innerhalb der Vorperiode ergaben noch zusätzliche Ausschlußkriterien für 6 Patienten. Drei Patienten verstarben (ein Patient - akut exacerbierte diabetische Gangrän - in der 1. Woche, ein Patient - akute Niereninsuffizienz - in der 1. Woche, ein Patient - akuter Myocard -Infarkt in der 2. Woche), eine Patientin (ehemalige Oberschwester) verweigerte die Medikamente trotz anfänglicher Zustimmung. Damit betrug die tatsächliche Anzahl der Patienten 99» Da nach einer ausgesprochenen Zu-

Galligkeit die Ausfälle vor allem in der Placebogruppe waren, wie sich nachträglich herausstellte, lautete die endgültige Aufteilung: 55 Patienten in der Verum- und 44 Patienten in der Placebogruppe. Die statistische Auswertung ergab eine gute Übereinstimmung in der Altersverteilung bei beiden Gruppen. Aber auch in den wichtigen EKG-Parametern, den cerebralen Symptomen sowie den psychologischen Testen zeigte sich diese gute Übereinstimmung der Ausgangsuntersuchungen bei der Verum- und der Placebogruppe, was bei der großen Zahl von Patienten aufgrund der zufälligen Zuteilung zu erwarten war (Abb. 1). Die Gesamtbeobachtungsdauer wurde geteilt in eine zweiwöchige Vorperiode, eine vierwöchige Behandlungsperiode und eine vierwöchige Nachbeobachtungszeit. Wie aus dem Schema (Tab. 2) hervorgeht, erfolgte wöchentlich eine genaue klinische Untersuchung; insgesamt dreimal die Labordiagnostik (komplettes hämatologisches und klinisch-chemisches Programm), jeweils am Ende der betreffenden Perioden, damit verbunden die Untersuchung cerebraler Funktionsstörungen, wöchentlich EKG-Untersuchungen - alle Untersuchungen zwischen 8 und 9 Uhr vormittag sowie am Anfang und am Ende die psychologischen Tests. Die klinische Untersuchung sowie die Beurteilung der Labordaten und der cerebralen Erscheinungen (nach der SCAG-Skala) erfolgt durch die Ärzte der Abteilung, die EKG-Beurteilung durch den Leiter der Studie und die psychologischen Tests durch eine dafür besonders geeignete Oberärztin. Die psychologischen Tests wurden aus dem Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (7) ausgewählt: Allgemeiner Kenntnisstand zur Messung der Intelligenz und des Wissens, Zahlennachsprechen, vor- und rückwärts, als Test für das Kurzzeitgedächtnis und der Mosaiktest als Test für die nichtverbale Intelligenz.

Tabelle 2: Durchführung der Studie

Woche	V1	V2	1	2	3	4	5	6	7	8
Klin. Unters.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Labor		x					x			x
EKG	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Psych. Test		x								x
Präparat			x	x	x	x				

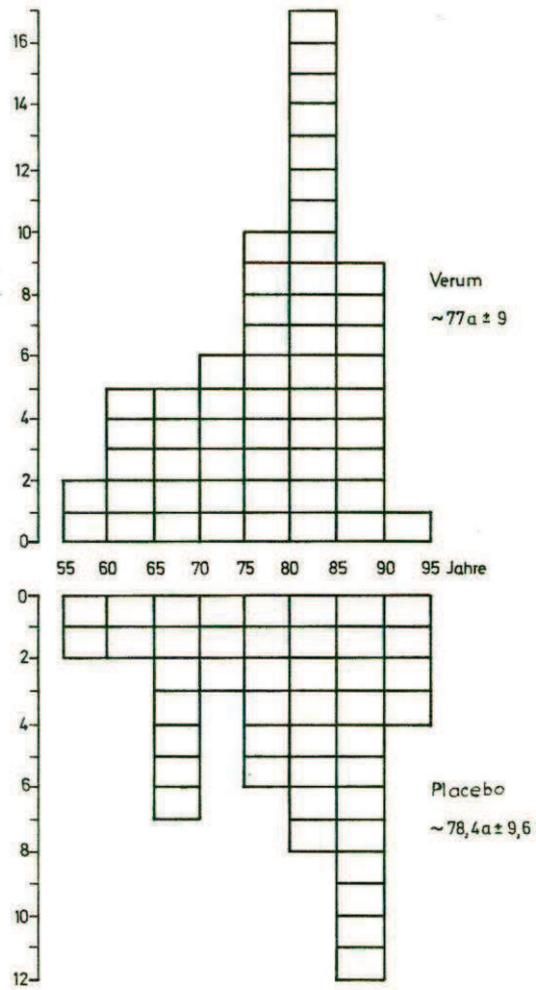


Abb.1: Altersverteilung

Da eine vorherige Pilotstudie (4) bereits eine hochsignifikant Wirkung makromolekularer Organsubstanzen auf die cardialen Veränderungen ergeben hatte, wurde mit Rücksicht auf die große Zahl von Placebopatienten aus ethischen Gründen auf ein Absetzen der cardialen Therapie verzichtet. Alle Patienten erhielten ihre bisherige cardiale und sonstige Therapie bei, mit Ausnahme von cerebrovaskulär- und hirnstoffwechselwirksamen Substanzen sowie psychotropen Präparaten.

Die Auswahl der Präparate erfolgte nach einem Schema der Firma vitOrgan (Tab. 3)- Dabei wurden uns die Präparate, für jeden Patienten einzeln, stationsweise zur Verfügung gestellt. Placebopräparate (physiologische Kochsalzlösung bzw. chromatographisch reines Humanalbumin) und Wirksubstanzen waren äußerlich weder an Form oder Kennzeichnung noch an Farbe zu unterscheiden.

Die erhobenen Daten jeder Untersuchungsgruppe eines Patienten wurden auf einem eigenen Prüfungsbogen dokumentiert. Am Ende der Studie wurden alle Prüfungsbogen dem Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Wien übergeben. Die Auswertung der Daten erfolgte nach dem Chi-Quadrat-test zum Vergleich von Häufigkeitsverteilungen *).

Tabelle 3: Behandlungsschema

	Mo	Mi	Fr
1. Wo	D 61 N/I	D 69 N/I	D 61 N/I
2. Wo	D 69 N/I	D 61 N/I	D 69 N/I
3. Wo	D 61 N/II	D 69 N/II	D 61 N/II
4. Wo	D 69 N/II	T 64 b	T 70 + T 29

Dazwischen L 96 + L 98

*) Die biometrische Planung und Auswertung erfolgte durch Herrn Univ.Doiz. Dr. P. BAUER am Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Wien (Vorstand: Univ. Prof. Dr. F.X WOHLZOGEN).

Ergebnisse

Die Auswertung der einzelnen Beurteilungs- und Kontrollgruppen zeigt:

1. EKG-Beurteilung: Diese erfolgte getrennt nach PQ-Abschnitt, QRS-Komplex, ST-Strecke und T-Welle nach einem Zahlensystem von 0 bis 3 (0-keine, 1-leichte, 2-mittelschwere und 3-schwere Veränderungen). Es finden sich in der Verum-Gruppe deutliche Besserungen der PQ-Veränderungen (welche allerdings von vornherein nicht bei allen Patienten vorhanden waren), deutliche Besserungen des QRS-Komplexes und außerordentlich ausgeprägte Veränderungen von ST und T (Abb. 2). In der Placebogruppe war im wesentlichen eine leichte Tendenz zur Verschlechterung der EKG-Parameter zu beobachten, so daß der statistische Vergleich zwischen den beiden Gruppen bei PQ und QRS signifikante, bei ST und T hochsignifikante Unterschiede ergab.

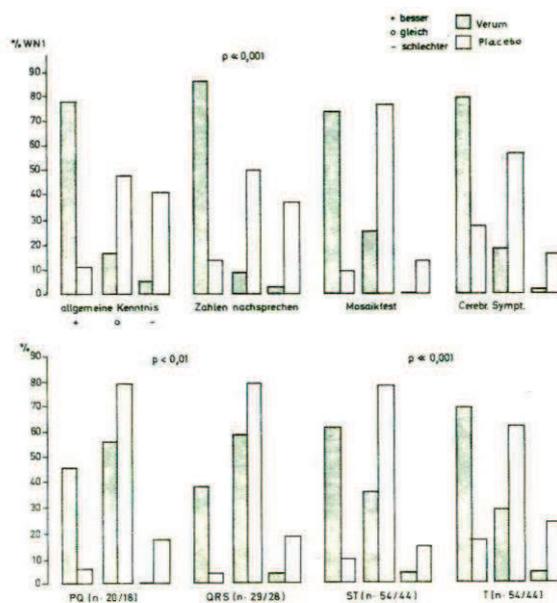


Abb. 2 : Ergebnisse

2. Hochsignifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen traten auch bei der Entwicklung der allgemeinen cerebralen Symptome sowie bei den psychologischen Testen auf; diese Merkmale waren alle unter Verum nach Medikation gegenüber der Vorperiode deutlich verbessert, während in der Placebogruppe keine wesentlichen Veränderungen festzustellen waren.
3. Eine Sichtung der allgemeinen klinischen Untersuchung und der Laborbefunde gab keinen Hinweis auf allfällige Nebenwirkungen.

Diskussion

Wenn wir uns am Beginn der Untersuchung die Frage gestellt haben, ob die makromolekulare Organotherapie eigentlich eine kausale Therapie des Alterns und der damit verbundenen Erkrankungen sein könnte, so müssen wir nach Überblicken der Untersuchungsergebnisse diese Frage bejahen. Das Altern ist sicherlich ein komplexer Vorgang aus konstitutioneller und genbedingter Anlage, aus Veränderungen der verschiedenen Organe und Organsysteme, zellulären und subzellulären Prozessen, vor allem aber aus den Defiziten und Funktionsstörungen der Proteine und Nukleinsäuren. Wie unsere Untersuchungen gezeigt haben, kann die Zufuhr makromolekularer Organsubstanzen gleichsam fehlende oder defekte Enzym- und Strukturproteine, wahrscheinlich auch die verschiedenen Nukleinsäuren substituieren und somit zu einem besseren "repair"-Mechanismus oder zur Neubildung beitragen. Klinisch ergaben unsere Untersuchungen deutliche Besserungen des Allgemeinzustandes mit einer vermehrten Revitalisierung. Auffällig aber auch, daß die vielen kleineren und größeren Beschwerden alter Menschen, die die vorhandene Teilnahmslosigkeit und Depression immer aufs Neue verstärken, plötzlich wie weggewischt erscheinen. Der alte Mensch erinnert sich gar nicht mehr daran, daß es früher "so schlecht" war. Diese größtenteils subjektiven Symptome gewinnen aber an Bedeutung, wenn man die objektiven Untersuchungen durch psychologische Tests betrachtet. Hier findet sich

eine hochsignifikante Besserung der Merkfähigkeit und der Konzentration, welche, wie der Vergleich von Verum- und Placebogruppe bei der Prüfung des allgemeinen Wissensstandes zeigt, weit über reine Lerneffekte hinausgeht. Aber auch der im Alter so charakteristische Verlust des Kurzzeitgedächtnisses und die im Mosaiktest geprüfte allgemeine Intelligenz durch Feststellung der Kombinationsfähigkeit und Koordination wird durch die zytoplasmatische Organotherapie hochsignifikant gebessert. Einzelne Ergebnisse kann man geradezu als "sensatio-nell" bezeichnen und sie waren selbst für uns seit langem in der Geriatrie tätigen Ärzte überraschend. Wenn diese Einzelfälle im Rahmen der allgemeinen Auswertung auch untergingen, so lassen sie doch den Schluß zu, daß die Ansprechbarkeit zellulärer Syntheseprozesse von Patient zu Patient verschieden und wahrscheinlich vom Grad der Stoffwechsellage abhängig ist. Andererseits zeigte sich aber auch, daß sogenannte "cerebral komplett Abgebaute", und dies geht aus der Gesamtheit unserer Untersuchungen an alten Pflegeheimpatienten, quasi einer negativen Auslese alter Menschen, hervor, doch noch zu Hirnstoffwechselverbesserungen fähig sind und stimuliert werden können. In den letzten Jahren überwiegt ja die Meinung, daß Hirnstoffwechselveränderungen für die Gesamtheit cerebraler Erscheinungen verantwortlich zu machen sind und die cerebrale Durchblutung eher eine untergeordnete Rolle spielt. Betrachtet man den zweiten von uns untersuchten Parameter, nämlich die cardiale Situation, so ergibt sich ein ähnliches Bild. Da die Herztherapie im Alter zu den am meisten notwendigen und auch verordneten Therapien gehört, wurde aus ethischen Gründen diese Therapie (Digitalis, Diuretika, Nitropräparate u. a.) in gestraffter Form beibehalten. Dennoch kann aus dem Vergleich beider Gruppen, da ja unter gleichen Voraussetzungen, eine Aussage gemacht werden. Die Ergebnisse bestätigen die bereits bei einer früheren rein kardiologischen Untersuchung (4) gemachten Erfahrung, daß auch in der geriatrischen Kardiologie Organsubstanzen sinnvoll angewendet werden können. Da durch die laufende Therapie und Überwachung, wie an unserer Abteilung üblich, cardiale Dekompensationen äußerst selten

vorkommen, wurde das EKG als Parameter für die cardiale Wirksamkeit genommen. Dies ist besonders wichtig, da sich gerade in der Erregungsrückbildungsphase im EKG neben coronaren Störungen auch Stoffwechseleränderungen des Myokards nachweisen lassen. Bei der Auswertung der EKG-Untersuchungen war die signifikante Besserung beim PQ- und QRS-Komplex erstaunlich, sind doch die Störungen in diesem Abschnitt hauptsächlich aufgrund früherer akuter Ereignisse meist später manifest und endgültig fixiert (z.B. P-Veränderungen, AV-Block, Hypertrophie und Schenkelblockbilder). Hochsignifikant waren erwartungsgemäß, sei es aufgrund der theoretischen Überlegungen, sei es aufgrund unserer früheren Untersuchungen, die Ergebnisse der Erregungsrückbildung. Hier kommt es durch die Organtherapie zu einer echten Substitution und Besserung myocardialer und vielleicht auch coronarer Stoffwechselstörungen. Gerade neueste Theorien über das Auftreten von Angina pectoris, Myokardinfarkt und plötzlichem Herztod durch Coronar spasmen (5), vielleicht bedingt durch lokale und allgemeine Elektrolyt- und Stoffwechseleränderungen, versprechen ein Umdenken der bis jetzt noch immer nicht befriedigenden Coronartheorie und lassen den Streit - Coronar- oder Myokardtheorie - vielleicht in einem anderen Licht erscheinen.

Sieht man sich die verabreichten Substanzen näher an, so bietet sich eine weitere Erklärung für den Erfolg und damit eine Bestätigung früherer Theorien über den Wirkungsmechanismus der Organotherapie mit makromolekularen Substanzen. "Fegacoren" enthält hydrolysierte Extrakte aus Gewebezellen von Herz, Aorta, Thymus und verschiedenen inneren Stoffwechselorganen. "Antifokal" enthält u. a. Zwischenhirn, Klein- und Großhirn, Rückenmark und ebenfalls verschiedene Stoffwechselorgane. Ähnlich auch die Trockensubstanzen (zusätzlich mit Plazenta, Nebenniere und Thymus), und die Lingualpräparate. Da die Wirkung einwandfrei nachzuweisen ist, muß der Konnex von makromolekularer Therapie und Beeinflussung von Gehirn- und Herzstoffwechsel und damit des Allgemeinzustandes alter Patienten bejaht werden. Zu ergänzen wäre noch, daß alle Erscheinungen und Nebenwirkungen der eher berüchtigten Zellular

therapie (1), wie Infektionen, Allergisierung bis zum anaphylaktischen Schock, abartige Immunkomplexbildungen u.v.a.m. durch die grundsätzlich verschiedene Art und Herstellung der zytoplasmatischen Präparate nicht vorkommen. Daß weder Nebenwirkungen noch Schädigungen zu erwarten sind, zeigen unsere klinischen Untersuchungen und die Laborbefunde. Bei sonst unveränderten Laborbefunden finden sich jedoch drei interessante Hinweise (die noch einer genaueren statistischen Abklärung bedürfen): Die eher günstige Verschiebung der Leber- und Fettwerte in Richtung zu einer Besserung und die Verschiebung der Werte der alkalischen Phosphatase in Richtung Erhöhung. Da die alkalische Phosphatase auch Zeichen für einen gesteigerten Knochenstoffwechsel sein kann, bietet sich eine verstärkte Stoffwechselaktivität als gemeinsame Erklärung an.

Faßt man die Ergebnisse zusammen, so können frühere eigene Untersuchungen, aber auch die anderer Autoren, voll bestätigt werden. Darüberhinaus findet man an einem repräsentativen Querschnitt von Patienten einer geriatrischen Kranken- und Pflegeabteilung hochsignifikante Besserungen der cerebralen und myokardialen Leistungsfähigkeit. Mit der zytoplasmatischen Therapie könnte es gelingen, die durch die Multimorbidität im Alter zwangsläufig resultierende Polypragmasie zu vereinfachen und kausal Erscheinungen von Altern und Krankheit zu behandeln. Bei der bis jetzt unbefriedigenden, weil insuffizienten Therapie mit sogenannten "Geriatrika" ein neuer, vielleicht echter Weg für eine Therapie des Alterns.

Literatur

1. BAENKLER, H.W.: Problematik der Zellulartherapie im Alter in: Störmer A. u. D. Michel: Schwerpunkte in der Geriatrie 5, Arzneimittelgebrauch im Alter. Werkverlag Dr. E. Banaschewski, München-Gräfelfing 97-101 (1978).

- BROWN-SEQÜARD, Ch.F.: Des effets produits chez l'homme par des injections souscutanees d'un liquide retire des testicules frais de cobayes et de chien in: Comt. rend. Soc. Biol. 41, 415 (1889).
- CUTLER, R.G. : Nature of aging and life maintenance processes; in: Cellular Aging: Concepts and Mechanisms Part I. Interdisc. Topics in Gerontolology, vol. S. Karger AG, Basel-München-Paris-London-New York-Sidney ; 83-133 (1976).
- LACHNIT, K.-S.: Organotherapie in der geriatrischen Kardiologie: Eine Pilotstudie; Erfahr. h.K. 215-217 (1980).
- MASERI, A.: Koronarspasmen bisher unterschätzt. Münch. Med. WSCHR. 122 Nr. 29/30; 1047-1048 (1980).
- ORGEL, L.E.: The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. Proc. Nat. Acad. Sei. Washington 49, 517-521 C1963)-
- ORGEL, L.E.: The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. A correction. Proc. Nat. Acad. Sei. Washington 6j7, 1476 (1970).
- WECHSLER, D.: Die Messung der Intelligenz Erwachsener. Verlag Hans Huber Bern u. Stuttgart; 3. Aufl. 1964.
- JANSEN, W. : Zytoplasmatische Therapie in der Geriatrie Erfahr. h.K. VI, 396-398 (1969).
- JANSEN, W.: Wirkung von zytoplasmatischen Organtherapeutika auf die cerebrale Leistungsfähigkeit und altersbedingte Beschwerden. ZFA JJ5, 852-854 (1978).
- JANSEN, W u. G.W. BRÜCKNER: Behandlung hirnnorganischer Störungen von Alterspatienten. Neurol. Psychiat. 5 214-220 (1979).
- PFÄFFENHOLZ, U. u. K. THEURER: Makromolekulare Organextrakte in der Geriatrie. Erfahr. h.K. 19, 390-392 (1980).
- THEURER, K.: Rezeptorentheorie in der Geriatrie. Ärztl. Praxis 67, 2823-2824 (1977).

- 13' WANDERKA, H.: Das Lern- und Anpassungsverhalten von Alttieren unter Applikation zytoplasmatischer Substanzen. Zschr. f. präklin. Ger. 10, 265-274 (1975).
14. WEBER, R.: Therapeutische Erfahrungen in der geriatrischen Praxis mit der zytoplasmatischen Therapie. Die Heilkunst 91/9; 1 - 4 (1978).

Diskussion

Herr MASCHKE: Durch die Elektroakupunkturmessungen versuchte ich, festzustellen, wo die zytoplasmatische Therapie angreift. In tausenden von Testversuchen wurde herausgefunden, daß der entscheidende energetische Impuls immer über die Epiphyse läuft. Kann ich die Epiphyse mit der eingebrachten Ampulle im Meßfeld auf den Normalwert regulieren, erreicht man auch den therapeutischen Effekt.

K.-S. LACHNIT: Hierzu haben wir keine eigenen Erfahrungen.

R. BECKMANN: Darf ich als Pädiater vielleicht einen Gesichtspunkt mit in die Diskussion einbringen? Was beim erwachsenen, alternden Menschen abläuft ist genau das Gegenteil dessen, was wir beim Säugling beobachten. Der Säugling macht einen funktionsbedingten Wachstums- und Reifewandel durch. Dieser Prozeß geht bis zur völligen Reife des Menschen. Beim Erwachsenen hingegen haben wir eher eine regressive Tendenz in dem Sinne, daß das, was vorher ausgereift ist, jetzt wieder einer gewissen "Unreife" zustrebt.

Hier wurden schon Versuche mit adaptierter Milch durchgeführt, also Milch, die grob chemisch der Frauenmilch angeglichen wurde. Die alten Leute haben das allerdings nur vier Wochen mitgemacht, dann wollten sie wieder ihr Steak haben. Auch unter diesen Bedingungen konnte eine Vitalisierung und eine verminderte Erkrankungshäufigkeit beobachtet werden. Betrachtet man nun die makromolekularen Substanzen und die Anreicherung mit anderen Wirkstoffen, so wird verständlich, daß wir auch auf diese Art und Weise Geriatrie betreiben können.

K.-S. LACHNIT: Danke für diese Bemerkung! Die Geriatrie ist, wie wir alle wissen, eine Wissenschaft, die noch um ihre Anerkennung und ihre Existenz kämpft. Obgleich in den Wartezimmern von uns praktizierenden Ärzten zwei Drittel alte Menschen sitzen, gibt es im deutschsprachigen Raum kaum entsprechende Ausbildungsmöglichkeiten. Der Begriff "Geriatrie" ist relativ jung; so alt wie die Wissenschaft an sich selbst ist. Er wurde 1907 von NASHER, USA, in Anlehnung an die Pädiatrie geprägt. Hier bestehen also durchaus gewisse Zusammenhänge. Während es nun selbstverständlich ist, einem Kind nicht jedes Medikament geben zu können - diese Altersgruppe hat schon eigene Dosierungsangaben und eigene Beipackzettel - ist

das beim alten Menschen leider nicht selbstverständlich. Wir haben schon oft gefordert, daß die Universitäten praktizierende Ärzte und auch Studenten endlich auf die Besonderheiten der Erkrankungen des Alters, deren Adaptionsfähigkeit, Abnützungserscheinungen, Multimorbidität und Therapie hinweisen. Dieser Vergleich zwischen Pädiatrie und Geriatrie von Ihnen war sehr wichtig. Sie sind jedoch in einer weit besseren Ausgangsposition, denn Lehrstühle für Pädiatrie existieren schon seit über 80 Jahren.

R.H. SCHIRMER: Ist das WERNER-Syndrom ein gutes Modell für Altersprozesse? Kann man an diesem Modell beispielsweise auch die zytoplasmatische Therapie ausprobieren?

K.-S. LACHNIT: Sie meinen die vorzeitige Vergreisung! Das wäre sicher ein Modell. Wir kennen verschiedene Formen der Progerie, der frühzeitigen Vergreisung. Nun sind wir in der glücklichen Lage, keine derartig furchtbaren Fälle in der Klinik zu haben. Unsere Patienten sind alt, schwer krank und pflegebedürftig.

R.H. SCHIRMER: Inwiefern könnten sensationelle Fälle Ihre Statistik verfälschen?

K.-S. LACHNIT: "Sensationelle" Fälle, damit meinte ich Patienten, die man seit langem kennt und weiß, daß diese seit Monaten und Jahren nur im Bett liegen und nun plötzlich aufstehen und sich am Rehabilitationsprogramm beteiligen. Das sind für uns sensationelle Fälle! Es braucht ja nicht gleich so weit zu gehen, wie bei einem Patienten, der einer Schwester einen Liebesantrag machte. Aber im wesentlichen sind das Einzelfälle, die uns wirklich überraschten. So z. B. bei den psychometrischen Tests. Wir haben zunächst geglaubt, den alten Leuten den genormten Hamburg-Wechsler-Test nicht zumuten zu können. Wir haben ihn dann trotzdem unverändert übernommen. Es ist unglaublich, wie sich die Patienten bei der Zweituntersuchung in der Verum-Gruppe gebessert haben. Das sind für mich also die sensationellen Fälle. Aus statistischen Gründen haben wir die Gesamtergebnisse punktemäßig errechnet und sind so zu einem allgemeinen Durchschnitt gekommen.

Prof. BECKMANN: Vielleicht noch einen Hinweis zur Progerie, der vorzeitigen Vergreisung bei Kindern. Wir sehen dieses Syndrom "gottseidank" selten. Bei einem Durchgang von jährlich 18 bis 20.000 Patienten an der Universitäts-Kinderklinik in Freiburg, einschließlich unserer Ambulanz, sehen wir einen solchen Patienten vielleicht alle zwei bis drei Jahre.

W. POHL: Wurden auch Lingual-Präparate eingesetzt?

K.-S. LACHNIT: Zwischen den Dilutionen und Trockensubstanzen haben wir die Lingual-Präparate Nr. 96 und 98 eingesetzt (s. Tabelle).

Dr. SCHWARZ: Wie lange haben diese Besserungen angehalten?

K.-S. LACHNIT: Wir hatten eine zweiwöchige Vorperiode, eine vierwöchige Behandlungszeit und eine vierwöchige Nachbeobachtungszeit. Die projizierten Ergebnisse wurden also nicht unmittelbar nach Behandlungsende gewonnen, sondern erst nach

einer vierwöchigen Nachbeobachtungszeit. Wir beobachten weiter! Ich bin sicher bald in der Lage, Daten vorzulegen, wie lange der Behandlungserfolg anhält. Die Statistik, die am Institut für Medizinische Dokumentation und Statistik in Wien von Prof. WOHLZOGEN durchgeführt wurde, ist noch nicht nach sämtlichen Gesichtspunkten ausgewertet worden. Wir müssen noch weiter aufschlüsseln. Das ist zwar eine Heidenarbeit, aber es lohnt sich.

Dr. POHL: Vielleicht könnten Sie diese Versuche auch mit NeyGeront-Vitalkapseln durchführen; da diese Applikation viel einfacher durchzuführen ist. Es wäre interessant; zu wissen; wie lang dann die Wirkung anhält. Ich gebe diese Vitalkapseln sehr gern nach einer zwei- oder dreiwöchigen Kurbehandlung i.S. einer geriatrischen "Nachsorge". Leider habe ich noch keine Parameter darüber, wie lange die Wirksamkeit der NeyGeront-Vitalkapseln anhält.

K.-S. LACHNIT: Diese Daten können wir Ihnen sicher in der nächsten Zukunft liefern. Wir geben ja auch NeyGeront-Kapseln. Nur, wenn ich jetzt hier vor Ihnen stehe und einen Vortrag über die klinisch zu dokumentierende Wirkung der makromolekularen Organotherapie halte, so erwartet jeder von mir gesicherte Daten. Gesicherte Daten in Bezug auf einen Doppelblindversuch, auf Placebo-Wirkung und auf genaue Kontrollen. Dazwischen befinden sich natürlich viele Patienten, die wir nicht tun der Studie willen behandeln. Auch hier haben wir beste Erfahrungen. Eine klinische Studie darüber existiert bisher noch nicht. Vielleicht besteht aber die Möglichkeit, Ihrem Wunsch bald entgegen zu kommen.

K. THEURER: Die Ergebnisse von Primarius LACHNIT werden in Kürze in der "Therapiewoche" (30; 8023-8033 (1980)) veröffentlicht und werden mit Sicherheit auf breites Interesse stoßen.

Der Stellenwert der zytoplasmatischen Therapie
im Rahmen der biologischen Medizin

H. FLASKAMP

Wasserburg

Es gibt wohl kaum einen Begriff, der in der heutigen Zeit so umstritten ist, wie das Wort "biologisch", weil nicht nur die Medizin, sondern auch die moderne Technologie diesen Begriff benutzt. Teils dient er dazu, eigene Methoden zu rechtfertigen; oder er wird als Schlagwort benutzt, um andersartige, theoretische Vorstellungen als unbiologisch abzuqualifizieren. Dabei ist das Wort "biologisch" letztlich in einer sehr tief-sinnigen Weise verstehbar, da es aus dem Grundwort "logos", d. h. Gesetz und dem Wort "bios", d. h. Leben, besteht, so daß biologisch also etwa heißt: Dem Gesetz des Lebens folgend.

Gemessen an diesem Begriff wird auch deutlich, in welcher großer Problematik sich die Wissenschaft vom Menschen, die heutige Medizin, befindet. Es wäre sicherlich nicht gut, wenn man die technisch großartigen Leistungen der modernen Medizin verkennen wollte - denkt man an die Möglichkeiten der operativen Fächer in der Chirurgie mit Einsatz der Anästhesie oder an die Dialyse, die doch vielen Menschen ein Überleben ermöglichen. Daneben besteht jedoch unbestreitbar eine echte Zunahme der chronischen Krankheiten, was sich nicht nur an dem zunehmenden Kostenanstieg im Gesundheitswesen und der zunehmenden Frequenz der bestehenden Arztpraxen ablesen läßt. Die Medizin versteht sich heute als eine Wissenschaft, die ihre Aufgabe darin sieht, logisch zu denken, in einer Weise, daß vordergründig Fehlhaltungen des Organismus durch chemische oder chirurgische Maßnahmen korrigiert werden. Gleichzeitig stellen wir fest, daß wir in diesem logischen Spezialistentum immer einseitiger werden und die Gesamtkonzeption nicht mehr so erfassen können, wie dies Ärzten früherer Jahr-

hunderte intuitiv zu eigen war. In dieser recht schwierigen Situation ergibt sich durchaus eine Erweiterung des Gesichtsfeldes, des Gesamtspektrums und vielleicht auch eine gemeinsame Basis, wenn der Organismus des Menschen als ein universales Regelsystem aufgefaßt wird.

Was versteht man nun unter einem Regelsystem? Der Mensch befindet sich dann in einer relativen Gesundheit, wenn seine Regelmechanismen im menschlichen Organismus, die eng aufeinander eingespielt sind, harmonisieren und richtig funktionieren. Regelmechanismen findet man in vielen Teilgebieten der Technik ebenso wie im menschlichen Körper - z. B. die Heizung in einem Haus, die Automatik in einem Auto oder die moderne Computertechnologie - andererseits, bezogen auf den menschlichen Organismus, die vielfältigen Regelvorgänge im nervalen Bereich, die Regelung des Blutzuckerspiegels im Tagesverlauf, die Schilddrüsenhormonausschüttung, die Temperaturregulation oder die komplizierten Verdauungsvorgänge im Darm. Funktionsstörungen und Versagen solcher Regelsysteme sind es, mit denen es der praktizierende Arzt bei der überwiegenden Zahl seiner Patienten zu tun hat. Als Beispiel sei der fieberhafte Infekt angeführt, der jedem praktizierend tätigen Arzt geläufig ist. Es ist sicherlich sinnvoll, eine akute Infektion, die mit Fieber einhergeht und die sich auf andere Weise nicht beherrschen läßt, mit den üblichen Medikamenten wie Antibiotika usw. zu behandeln. Doch sollte man sich darüber im klaren sein, daß eine Temperaturerhöhung auch eine sinnvolle Reaktion des menschlichen Organismus darstellt, um die wärmeempfindlichen Erreger abzutöten. Durch fiebersenkende Mittel wird er nun in dieser Reaktion gehemmt, so daß es sich bei dieser Art einer therapeutischen Beeinflussung des Krankheitsgeschehens auch um einen störenden Eingriff in das körpereigene Regelsystem handelt. Der Organismus wird somit gezwungen, nicht nur gegen die ursprüngliche Störung, sondern auch gegen die Störung der Gegenregulation gegenzuregeln. Oft ist die Folge nur eine vorübergehende Symptombeseitigung, d. h. das Fieber, die erhöhte Temperatur, normalisiert sich.

Oft bedeutet dies aber nicht Heilung im letzten, sondern eine Verdrängung insofern, als der Organismus die Toxine, die bei der Infektion in den Körper eingedrungen sind, anderweitig deponiert und nicht in der Lage ist, sie auszuschleiden. So werden oft weit schwerere Krankheiten durch diese Verdrängung induziert; z. B. Leukämie nach Sulfonamidbehandlung oder Behandlung eines grippalen Infektes durch Antibiotika oder Insulinmangeldiabetes nach retroxischer Behandlung einer Angina.

Gesundheit und eine biologisch normale Umwelt, in der der Organismus nicht ständig gegenregulieren muß, werden heute immer mehr als eine Einheit angesehen werden müssen. Auch ist es keine Frage mehr, daß ein in seinem Regelsystem gestörter Mensch weder mit Psychotherapie noch mit sozialer Hilfe entscheidend zu einer Gesundung kommen kann. Eine Störung im Regelsystem des Organismus stellt sich weiterhin so dar, daß sich das normale harmonische Wellenfeld der körpereigenen Schwingungen in eine Dysharmonie ändert und die Funktion der Körperzellen beeinträchtigt wird. Infolgedessen arbeiten die Organsysteme unvollständig und der Mensch wird krank, weil sich seine Zellen auf der untersten Ebene nicht mehr verständigen können.

Auf der Basis dieser Überlegungen ist es durchaus folgerichtig, daß der Arzt dann grundsätzlich therapiert, wenn er dem Organismus hilft, auf biologische Weise seine Funktionen zu regeln, bzw. gestörte Regelvorgänge wieder zu normalisieren. Auch ist es sicherlich unabdingbar, daß der Mensch in seiner Gesamtheit gesehen werden muß und dementsprechend sowohl schulmedizinische, biologisch richtige Maßnahmen, wie auch biologisch richtige Therapieansätze, wie sie sich in der Phytotherapie, der Homöotherapie, der Akupunktur, der Elektro-neuraltherapie nach CROON, der Bindegewebsmassage und der ASCHNERSchen Methoden finden, zur Anwendung kommen.

Zu diesen Grundlagen gehört sicherlich nicht nur das Wissen um eine biologisch richtige Ernährung, sondern auch der Blick

dafür, wie die Wohnumwelt des Menschen, das Milieu, beschaffen sein sollte. Daß Kunststoff, Beton und elektrische Störfaktoren eine erhebliche Belastung für die Umwelt und für den Menschen darstellen, ist wohl kein Geheimnis mehr.

Therapiemaßnahmen, wie ich sie zuvor erwähnt hatte, lassen sich im Rahmen des Regelkreisdenkens auch in dem Begriff der HEADSchen Zone unterbringen, d. h. daß sich Krankheitsprozesse, die sich im Inneren des Organismus abspielen, an bestimmte Hautareale in der Körperoberfläche projizieren. Auf dieser Erfahrung beruhen die Therapiemaßnahmen früherer Jahrhunderte bis in die heutige biologische Therapie; sinnvoll in ihrem biologischen Zusammenhang und therapeutisch wirksam, weil nie nur ein Symptom kuriert wird, sondern immer der Organismus als Ganzes erfaßt wird.

Der zentrale Gedankengang meiner Ausführungen sollte in einem Versuch bestehen, die zytoplasmatische Therapie einzuordnen. Wie ja bekannt ist, besteht das Behandlungsprinzip in einer Anregung der Selbstheilungsvorgänge durch Zufuhr lebenswichtiger Organsubstanzen in natürlicher, unveränderter Form. Hierbei kommen Bestandteile des Zellkerns und des Zellkörpers zur Anwendung, die von den geschädigten, kranken Zellen unmittelbar aufgenommen werden können. Die Wirkung beruht auf einer Wiederherstellung und Erneuerung der geschädigten Zellen, der Einregulierung ihrer Funktionen, so daß erkrankte Organe wieder repariert und leistungsfähig werden können. Man wird sich der Bedeutung dieser Aussage bewußt, wenn man weiß, daß im Rahmen des normalen Alterungsprozesses, jedoch auch der Chronifizierung vieler Krankheiten, wichtige Regelkreise im Leben des Individuums ausfallen und blockiert werden, infolge Fermentschwächen, Umweltbelastung und individueller Fehler. Durch die zytoplasmatische Therapie kann zwar keine Regeneration im anatomischen Sinne durch Vermehrung der Zellen erreicht werden, denn die Funktion gesunder und leistungsfähiger Organe und Zellen läßt sich nicht weiter steigern, wohl aber können insuffiziente Zellfunktionen wiedererweckt werden. Kranke Zellen bekommen wieder ihre Fähigkeit

zur normalen Reizbarkeit, so daß während des Heilungsprozesses eine etwa vorhandene Therapieresistenz gegenüber üblichen Behandlungsmethoden endet.

Diskussion

Dr. EBERHARDT: Seit nahezu acht Jahren betreibe ich sehr intensiv biologische Medizin mit durchaus passablen Heilerfolgen. In diesen acht Jahren habe ich aber auch eines gelernt, daß ein chronisch kranker Mensch in nahezu allen Fällen eine Phase durchläuft, die durch klinische Turbulenzen gekennzeichnet ist. Geht es bei der Anwendung der zytoplasmatischen Therapie auch ohne Krise?

K. THEURER: Die zytoplasmatische Therapie mit Organpräparaten bewirkt keine bruske Gegenregulation! Eine Krise ist immer Ausdruck einer überschießenden Aufbäumung des Organismus gegen Krankheitsvorgänge. Die Heilung beruht bei der zytoplasmatischen Therapie auf physiologischer Integration von informationstragenden Molekülen. Bei richtiger Dosierung werden Sie also bei der zytoplasmatischen Therapie keine Krise erleben.

Die Ergebnisse aus der Klinik von Herrn Prof. KRAFT, die heute vorgetragen wurden, sprechen jedoch dafür, daß selbst zu starke Gegenregulationsvorgänge auf irgendwelche Noxen durch die zytoplasmatische Therapie ausgeglichen werden können.

U. DERBOLOWSKY: Wir haben von Herrn Kollegen FLASKAMP gehört, daß durch Erkrankungen Regelsysteme gestört werden, wodurch die Verständigung unter den einzelnen Zellen erschwert wird. Die Therapie muß darauf abzielen, diesen Zustand zu ändern. Zytoplasmatische Präparate enthalten Organeiweiß mit intaktgebliebener Organspezifität, jedoch weitgehend reduzierter Artspezifität. Entsprechend verdünnt eingesetzt, fordern diese zytoplasmatischen Präparate den Zellen unmittelbar Eigenleistungen ab, zwischen sich und dem, was da angeboten wird, quasi zu unterscheiden. Dadurch wird quasi die "Verständigungsfähigkeit" der Zellen wieder verbessert, und der Organismus wird in all seinen Funktionen wieder stimuliert. Außerdem können die angebotenen Substanzen gleichzeitig als Bausteine verwendet werden, um Defizite und Defekte auszugleichen.

Feldstudie über die Behandlung von 60
Patienten mit Neygeront-Vitalkapseln.

K. FEDDERSEN
Flensburg

Nachdem 1977 bereits von einem ersten Eindruck über die Neygeront-Vitalkapseln berichtet wurde, konnten 1980 60 Patienten systematisch beobachtet und kontrolliert werden.

Der Forschung von THEURER und seinen Mitarbeitern ist es gelungen, nach den Trockensubstanzen, den Dilutionen und Lingualtropfen nun eine Arzneimittelform zu entwickeln, die erst im Dünndarm gelöst wird und damit therapeutisch wirksam werden kann.

Neygeront-Vitalkapseln enthalten die in den bisherigen Verarbeitungen enthaltenen Zellinhaltsstoffe von Organ-Frischgeweben von Herz, Thymus, Keimdrüsen, Gehirn, Leber, Bauchspeicheldrüse und anderen Drüsen, Schleimhäute, Milz, Zellfaktoren aus totalem Foet, Plazenta, Eihaut und Nabelstrang. Zusätzlich wird der Schleppereffekt dieser organspezifischen Zellbausteine genutzt, um Vitaminkomplexe von Vitamin B 6, B 12 und Vitamin E sowie Biolecithin und Spurenelemente den Organen zuzuführen. Die therapeutischen Wirkungsprinzipien sind somit zweifach: Zum einen durch Makromoleküle zur Regeneration und zur Normalisierung von Zellfunktionen über Selbstheilungsvorgänge, zum anderen durch tonisierende Arzneimittel, Vitaminkomplexe, Aminosäuren, Biolecithin, die insbesondere die Hirnaktivität fördern und den geschwächten Zellstoffwechsel anregen. Durch ein eigenes Zellaufschlußverfahren sowie die besondere Anwendung in dünndarmwirksamer Form soll die biologische Verfügbarkeit der zugeführten Zellbausteine und Wirkstoffe gewährleistet werden.

Ich habe an dieser Stelle nicht auf die Basisforschung der zytoplasmatischen Therapie einzugehen. In diesem Zusammenhang ist aber auf eine Reihe neuerer Forschungsberichte, unabhängig von der Forschung im Rahmen der zytoplasmatischen

Therapie, hinzuweisen, die nachweisen können, daß die Arteriosklerose kein biologischer Vorgang, sondern eine pathologische Erscheinung darstellt. Darauf aufbauend sind namhafte Forscher zu dem Resultat gelangt, daß die Arteriosklerose keineswegs ein schicksalbedingtes Leiden darstellt, sondern - und dies ist eine der wichtigsten neueren Erkenntnisse - therapeutisch angegangen werden kann. Ich will nicht in ätiologische und pathogenetische Aspekte eingehen, da ich von praktischen Erfahrungen zu sprechen habe. Aber ich möchte doch auf Fälle hinweisen, über die in der Literatur von erstaunlichen Regressionen berichtet wird.

Da ist z.B. STARZL, der den Fall eines Mädchens mit homozygoter Typ II-Hyperlipoproteinämie beschreibt, wo nach erfolgter Cholesterinspiegelsenkung durch einen portocavalen End-zu-Seit-Shunt 17 Monate nach der Operation der Nachweis erbracht werden konnte, daß nicht nur Xanthome zurückgegangen waren, sondern auch die präoperativ vorhandene Aortenstenose und eine ausgesprochene Koronaratheromatose. Sicher muß man bei Jugendlichen mit Rückschlüssen vorsichtiger sein.

Auch SCHETTLER beschreibt u.a. den Fall eines Patienten mit schwerer Xanthomatose vom Typ III der Hyperlipoproteinämie, bei welcher es nach langdauernder Behandlung mit Lipidsenkung zum völligen Verschwinden der Xanthomatose und gleichzeitiger Rückbildung pathologischer EKG-Veränderungen kam. Diese Reihe ließe sich noch ganz beträchtlich fortsetzen. Mir kommt es eigentlich nur darauf an, hervorzuheben, daß Regressionen der Arteriosklerose durchaus möglich sind. Daß sich solche Erfolge auch durch die zytoplasmatische Therapie erreichen lassen, ist von einer Reihe namhafter Forscher nachgewiesen worden und auch von mir in mehrfachen Referaten hervorgehoben worden. Diese Erfolge sind nun durch die bisherigen Möglichkeiten der Therapie, insbesondere durch die Dilutionen und, gerade bei Älteren, durch die Trockensubstanzen erreicht worden. Ich bin der Ansicht, daß durch die Wirkungsweise der zytoplasmatischen Therapie gegenüber den einfachen Lipidsenkern eine mehr kausale Therapie zur Anwendung kommt, mit

bedeutend längeren und tiefergreifenden Einflüssen.

Im Rahmen systematischer Beobachtungen an 60 Patienten konnte nun auch beobachtet werden, daß die Wirkungen der bisherigen zytoplasmatischen Therapie annähernd erreicht werden konnten.

Es handelt sich durchweg um ältere und alte Patienten, bei welchen serologisch Hyperlipidämien nachgewiesen waren, in den meisten Fällen auch bereits Folgen im EKG, im EEG (Kontrolle wurde durch einen Neurologen durchgeführt) und an den peripheren Blutgefäßen nachweisbar waren. Ich habe darauf Wert gelegt, daß alle Patienten verlässlich waren und allgemein davon ausgegangen werden konnte, daß die Therapie sorgfältig eingehalten wurde. Neben den Neygeront-Vitalkapseln wurde eine weitgehend an gesättigten Fettsäuren arme Kost empfohlen, viel Bewegung, der Nikotinverbrauch war bis auf wenige oder gar keine Zigaretten einzuschränken. Das letztere wurde sicher nicht immer eingehalten. Die Vitalkapseln sollten regelmäßig zweimal täglich vor den Mahlzeiten eingenommen werden.

Eine weitere medikamentöse Beeinflussung wurde weitgehend im Interesse einer Objektivierung der therapeutischen Wirkung vermieden. Lediglich konnte auf notwendige Digitalisierung nicht verzichtet werden, wie natürlich auch blutdrucksenkende Mittel und Insulin beibehalten werden mußten. Es kann aber auch schon an dieser Stelle gesagt werden, daß in einer Reihe von mäßig ausgeprägten Fällen die Dosierungen herabgesetzt, in sieben Fällen sogar auf die Digitalisierung verzichtet werden konnte. Auf den Diabetes mellitus werde ich noch später eingehen.

Ich habe in der Studie aus dem Jahre 1977 über elf Patienten gesagt, daß die Wirkungen nach dem Absetzen der Kapseln recht schnell wieder nachließen, so daß die heutige Studie eine Zeit von wenigstens einem Jahr und länger übersieht.

Von den 60 Patienten gaben 83 % spürbare subjektive Besserungen an, 17 % meinten wenig oder gar nichts zu spüren. Bei der Beurteilung des subjektiven Erfolges muß aber auf die sehr

langsame Wirkung hingewiesen werden, so daß mancher Patient den Anfangszustand nicht mehr erinnert. Von den 83 % der Patienten waren 62 % mit der Wirkung sehr zufrieden, 9 % gaben in verschiedenen Bereichen Besserungen an, die letzten 2 % spürten eine allgemeine Vitalitätssteigerung. Überhaupt war die subjektive Wirkung teilweise überraschend, und die Patienten berichteten, daß sie sich "seit Jahren nicht so wohl" gefühlt hätten. Insbesondere fiel die geistige Aktivitätssteigerung auf, die Besserung der Konzentration, des Schwindels, der Unsicherheit. Vielfach wurde die Gehstrecke deutlich verlängert, Schmerzen in den Beinen ließen an Intensität und Häufigkeit nach. Depressive Verstimmungen schwan- den (natürlich nur, wenn sie zerebralsklerotisch bedingt waren), Appetit und Initiative nahmen zu. Alle diese Erscheinungen, bei welchen natürlich koronarsklerotische Stenokar- dien ebenfalls reagierten, standen deutlich in einem Verhält- nis zu den objektiven Befunden. Hier waren es die mittel- schweren und leichteren Hyperlipidämien, die am besten re- agierten, in gleicher Weise die mittelschweren und leichten Koronarinsuffizienzen usw. Konkret pflegten Hyperlipidämien bis zu Werten von 350 mg% an Cholesterin und etwa 200 mg% bei den Triglyceriden am besten anzusprechen. Ebenfalls die entsprechenden EKG-Befunde. Auffallend günstig sprachen EEG- Befunde an. Interessant ist die Tatsache, daß die Männer deutlicher und besser ansprachen als die Frauen, auch unter den 17 % der Patienten, die wenig Erfolg zeigten, waren 14 % Frauen und nur 3 % Männer. Wieweit bei diesen 17 % nun doch vielleicht Nachlässigkeiten, Nikotinabusus und anderes mit- spielte, kann ich nicht absichern.

Eine deutliche Wirkung hat sich auch bei älteren Diabeti- kern nachweisen lassen. Bei den Patienten mit Altersdiabe- tes - es wurden 9 kontrolliert - haben alle eine Senkung des Blutzuckerspiegels erfahren, so daß auch in zwei Fällen so- gar die Tabletten abgesetzt werden konnten. Aber auch in zwei Fällen mit kontrolliertem Insulindiabetes - der eine da- von ist der Autor selbst - konnte die Insulindosis reduziert werden.

Es fiel auf, daß in den ersten Wochen ein deutlicher Einfluß der Kapseln spürbar wurde, der danach nur langsam zu weiteren Besserungen führte und dann sich weitgehend über die Kontrollzeit konstant hielt. Natürlich machten sich negative Einflüsse auch hier bemerkbar, wie interkurrente Erkrankungen, Operationen und anderes. Doch erholten sich die Patienten deutlich schneller als erwartet.

Im Vergleich zu der bisherigen zytoplasmatischen Therapie sind die Kapseln erwartungsgemäß nicht so intensiv in der Wirkung wie z. B. die Injektion der Trockensubstanzen bei alten Menschen, aber sie sind auch problemloser und einfacher in der Handhabung. Die Patienten sind eher zu einer solchen Behandlung zu motivieren.

1977 fiel mir auf, daß die Wirkung nach vierwöchigem Gebrauch und folgendem Absetzen schnell wieder nachließ. Ich hatte Gelegenheit, dieses bei verschieden langen Einnahmezeiten zu kontrollieren. Je länger die Kapseln eingenommen wurden, desto länger hielt die Wirkung vor. Nach einem Jahr der Einnahme stiegen die Fettwerte erst nach vier bis sechs Monaten langsam wieder an, so daß dann wieder eine erneute Langzeitbehandlung eingeleitet werden sollte.

Wenngleich sicher die Neygeront-Vitalkapseln eine Lücke gefüllt haben und wohl schnell zu der meist angewandten Zubereitung der zytoplasmatischen Therapie arteriosklerotischer Zustände gehören werden, so kann der erfahrene Therapeut doch sicher nicht auf die anderen Formen und Zubereitungen verzichten und wird sie gezielt anzuwenden wissen.

Behandlung von Sterilitäts- und Fertilitäts-
störungen mit modifizierter Eigenbluttherapie
und makromolekularen Organextrakten.

- Kasuistischer Beitrag -

H. BREIDENBACH

Pfungstadt

Fall 1:

1961 K.C., Ehefrau, 26 Jahre. Ehemann 32 Jahre, 3 Jahre verheiratet. Die Pat. nahm keine hormonellen Verhütungsmittel und war wegen Kinderwunsch bei mehreren Gynäkologen in Behandlung. Es wurde eine Abrasio durchgeführt, die jedoch auch nicht den gewünschten Erfolg herbeiführte. Nach intensiver zyklusgerechter Behandlung über einen Zeitraum von 5 Monaten mit den Dilutionen Nr. 17 und 21, trat dann die von Beginn der Ehe an gewünschte Schwangerschaft ein. Frau C. wurde 9 Monate nach Beendigung der Behandlung von einem gesunden Jungen entbunden. Diesem folgte ohne vorausgegangene Behandlung noch ein weiterer Sohn nach drei Jahren.

Fall 2;

1963 E.P., Ehefrau, 25 Jahre. Ehemann 30 Jahre. Das Ehepaar war fünf Jahre kinderlos und deswegen auch schon bei verschiedenen Gynäkologen erfolglos in Behandlung. Pat. wurde von mir mit den Dilutionen 17 und 21 behandelt, verzog dann aber leider nach Gießen. Sie fand dort einen Gynäkologen, der die Behandlungsart belächelte und den Erfolg bezweifelte, jedoch die Injektionen auf dringenden Wunsch der Pat. fortführte. Nach einem halben Jahr trat die ersehnte Schwangerschaft ein. Pat. hat im Abstand von zwei Jahren zwei Jungen geboren.

Fall 3:

1978 R. Sch., Ehefrau, 23 Jahre. Ehemann 27 Jahre. 2 1/2 Jahre kinderlos verheiratet. Keine Pilleneinnahme, da von Beginn der Ehe Kinderwunsch bestand.

Pat. erhielt 10 Gegensesibilisierungen vom 15. Nov. 1978 bis 8. Dez. 1978, anschließend die Dilutionen 65 N, 67, 69 N. Und als Abschluß am 19. Jan. 1979 Trockensubstanz Nr. 17. Letzte Periode am 11. Jan. 1979. Der am 6. März durchgeführte Praegnosticontest war positiv. Frau Sch. hat inzwischen ein gesundes Mädchen geboren. Da die Empfängnis ungefähr 5 bis 6 Tage nach der verabfolgten Trockensubstanz eingetreten sein muß, und das Kind völlig gesund ist, ist dies ein eindeutiger Beweis dafür, daß diese Art der Behandlung nicht teratogen ist.

Fall

Ehepaar B. Dieser Fall erscheint besonders wichtig, da beide Ehepartner behandelt werden mußten, und die Behandlung des Ehemannes klinisch dokumentiert werden kann.

Zur Vorgeschichte: Ehefrau 28 Jahre, Ehemann 31 Jahre; 8 Jahre verheiratet. Die Pat. hatte bis 1975 die Anti-Baby-Pille genommen, danach bestand intensiver Kinderwunsch. Die Pat. war ebenfalls bei mehreren Gynäkologen in Behandlung. Da jedoch trotz intensiver allopathischer Behandlung keine Schwangerschaft eintrat und der Pat. gynäkologisch für völlig gesund befunden wurde, ließ der Ehemann eine Fertilitätsuntersuchung durchführen. Die erste erfolgte am 11.9. 1978 und ergab folgende Ergebnisse: Sperma-Untersuchung, Orientierungspräparat Eindruck: Zweifelhaft, Volumen: 2,5 ml; pH-Wert 7,2. Viscosität: Normal, Spermienzahl/ml: 10.000.000, Gesamtzahl: 25.000.000, Beweglichkeit: Qualitativ: Ausreichend, quantitativ: 50 Fehlförmigkeiten 40 %, Initialfruktose 108 mg%, Spermio-genesezellen k %. Beurteilung: Subfertil. Außerdem bestand eine Varicozele, die operiert wurde.

Diagnose: Oligo-asteno-terato-Spermie.

Es wurden dem Pat. inzwischen die Einnahme von männlichen Hormonen empfohlen, die Behandlung wurde jedoch von ihm nicht durchgeführt.

Sperma-Untersuchung vom 15. Januar 1979: Orientierungspräparat: Eindruck zweifelhaft, Volumen 4,0; pH-Wert 7,0. Viscosität: Normal, Spermienzahl/ml: 18.600.000, Gesamtzahl: 94.400.000; Beweglichkeit: Qualitativ: Herabgesetzt, quantitativ: 25 % ; Fehlformen 40 %. Spermiogenesezellen 10 % \ Initialfruktose 130 mg%; Beurteilung: Subfertil; Diagnose: Mittelgradige Oligo-asteno-terato-spermie.

Am 4. April 1979 begann die zytoplasmatische Behandlung mit folgenden Präparaten: Dilutionen 61 N, 16, 51, 35, Lingual 35» 61, 96 und Trockensubstanz 16, 47 und 96. Vom 14. Mai bis zum 13. Juni erfolgte Gegensensibilisierung.

Die Sperma-Untersuchung vom 11. 6. 1979 ergab daraufhin folgende Befunde: Orient. Präp. Eindruck: Zweifelhaft; Volumen: 5,0; pH-Wert 7,0; Viscosität normal; Spermienzahl/ml 32.000.000; Gesamtzahl 161.000.000; Beweglichkeit: Qualitativ gut, quantitativ 75 %» Fehlformen 30 %; Spermiogenesezellen 10 %, Initialfruktose 83 mg%. Beurteilung: Subfertil; Diagnose: Nicht allzu hochgradige Oligo-zoospermie. Befund gegenüber Vorbefunden deutlich gebessert. Nach Lage der Dinge empfehlen wir jetzt eine eineinhalbjährige Behandlungspause. (Hiermit war die nicht durchgeführte Hormonbehandlung gemeint.)

Eine erneute Sperma-Untersuchung vom 4. Februar 1980 brachte folgende Ergebnisse:

Orientierungspräparate: Eindruck: Positiv; Volumen: 4,5 ml; Viskosität: Normal; pH-Wert 7,2; Spermienzahl/ml: 43.600.000; Gesamtzahl: 196.200.000; Beweglichkeit qualitativ: Ausreichend; quantitativ: 70 %; Fehlformen 30 %; Spermiogenesezellen: 5 %; Initialfruktose 105 mg%.

Beurteilung: Aufgrund mehrfacher Untersuchung: Fertil.

Diagnose: Normospermie.

Weitere Maßnahmen nicht erforderlich.

Dieses Ergebnis ist m. E. lediglich auf die durchgeführte zytoplasmatische Behandlung zurückzuführen, da der Patient, wie bereits erwähnt, sonst keinerlei Medikamente eingenommen hatte.

Die Ehefrau von Herrn B. hat regelmäßig ihre Basaltemperatur gemessen, wobei festgestellt wurde, daß monatlich ein Eisprung erfolgte, jedoch der Zyklus sich meistens um mehrere Tage verschob. Da trotz der inzwischen eingetretenen Fertilität des Mannes keine Schwangerschaft eintrat, die Pat. inzwischen depressiv geworden war, nicht mehr glauben wollte, daß sie je ein Kind bekommen könnte, wurde im November 1979 mit einer Serumgegensensibilisierung begonnen, da eine Allergie gegen das Sperma des Ehemannes angenommen wurde. Außerdem wurde zyklusgerecht die Dilution 21 und 17 gegeben, um die Periode zu normalisieren. Diese Behandlung wurde bis zum Februar 1980 fortgeführt.

Der letzte Eisprung trat bereits 10 Tage nach der Periode auf, weswegen die Pat. nochmals ihren Gynäkologen aufsuchte. Er versuchte Frau B. klarzumachen, daß sie hormonell behandelt werden müsse, da bei so frühzeitigem Eisprung eine Gravidität auf keinen Fall erfolgen könne. Die nächste Periode blieb aus und ein 14 Tage später durchgeführter Schwangerschaftstest war positiv. Die Pat. ist jetzt im 6. Monat gravide.

Zusammenfassung:

Berichtet wird über 5 ausgewählte Fälle von Infertilität, bei denen mittels genauester Anamneseerhebung und teilweiser Fremddokumentation eine Gravidität nur aufgrund der vorausgegangenen zytoplasmatischen Therapie erfolgte.

Diskussion

AUDITORIUM: Wie werden die Dilutionen Nr. 17 und Nr. 21 zyklusgerecht gespritzt?

H. BREIDENBACH: Nr. 17i also totales Ovar, vom 3. bis 15- Tag und Nr. 21, Ovar Corpus luteum, vom 16. bis 25- Tag und zwar jeden zweiten Tag.

AUDITORIUM: Könnte man vielleicht die Reihenfolge der verabreichten Präparate nochmals wiederholen?

H. BREIDENBACH: FegaCoren (Nr. 61 "N"), 16, 51, NeyMan (Nr. 35)i Lingual 351 61, 96 und Trockensubstanzen 16, k7 und 96."

AUDITORIUM: Wie gehen Sie bei anovulatorischem Zyklus vor?

H. BREIDENBACH: Die Behandlung bleibt die gleiche.

AUDITORIUM: Ich habe bisher eine Patientin, nach Absprache mit Prof. PETER, behandelt. Leider ist der Erfolg noch ausgeblieben. Wir haben die Gegensensibilisierung durchgeführt, Dilutionen und Trockensubstanzen verabreicht. Beim Ehemann wurde ebenfalls eine Gegensensibilisierung durchgeführt. Serologisch und hormonell ist alles in Ordnung. Was könnte die Ursache des bisher ausbleibenden Therapieerfolgs sein?

H. BREIDENBACH: Ist das Spermogramm in Ordnung, liegt eine Aberration der Geschlechtschromosomen bei einem der Partner vor?

AUDITORIUM: Das Spermogramm ist in Ordnung, es wurde schon dreimal kontrolliert. Über die Geschlechtschromosomen ist nichts bekannt. Man müßte diese noch untersuchen.

H. BREIDENBACH: Bei gewissen Formen der gonosomalen Aberration hilft natürlich keine Therapie, auch wäre eine solche aus eugenischen Gründen nicht wünschenswert. Wurde auch die Ehefrau gegensensibilisiert?

AUDITORIUM: Ja! Damit haben wir praktisch angefangen. Sie wurde in Heidelberg an der Universitätsklinik kontrolliert und steht heute noch unter Kontrolle.

H. BREIDENBACH: Welche Verdünnungsstufen der Gegensensibilisierung haben Sie gespritzt?

AUDITORIUM: Mit der GS gingen wir von 10^{-12} bis 10^{-2} .

H. BREIDENBACH: Sind Reaktionen aufgetreten?

AUDITORIUM: Überhaupt keine!

H. BREIDENBACH: Dann hätten Sie in der Behandlung bis zur ersten geringen Reaktion fortfahren müssen. Ich gehe bei der GS immer bis zu einer geringen Hautreaktion. Das ist für mich das Zeichen, daß der Organismus nun anspricht. Ich breche also nie eine Gegensensibilisierung ab, ehe sich nicht die geringsten Anzeichen einer Reaktion zeigen.

AUDITORIUM: Diese Reaktion habe ich jedesmal bei allergischen Rhinitiden und beim Heuschnupfen gesehen. Sind diese Reaktionen

aufgetreten, kommt es daraufhin auch zu keinem Rückfall. Aber, bei diesem speziellen Fall zeigte sich überhaupt keine Reaktion.

H. BREIDENBACH: Dann hätten Sie höher spritzen müssen, also 10 oder aber das Volumen der Verdünnungsstufe 10^{-2} steigern müssen.

AUDITORIUM: Stellen Sie die Gegensensibilisierung in solch einem Fall grundsätzlich vor oder nach der Dilution?

H. BREIDENBACH: Besteht bei der Frau eine echte Allergie gegenüber dem männlichen Sperma, ist mit der Gegensensibilisierung zu beginnen. Bei allen anderen Arten der Erkrankung, bei denen ich vorher Dilutionen gegeben habe, wende ich die GS anschließend an, um Trockensubstanzen noch besser verträglich zu machen. In den letzten 2 1/2 Jahrzehnten habe ich auf diese Weise noch keine allergische Reaktion auf Trockensubstanzen erlebt.

AUDITORIUM: Spritzen Sie die GS-Verdünnung intrakutan oder subkutan?

H. BREIDENBACH: Subkutan! Hierfür empfiehlt sich die alte Tuberkulinkanüle, mit der Sie streng subkutan arbeiten können. Das können Sie mit keiner anderen Kanüle, weil Sie dort nicht wissen, ob Sie schon im Fettgewebe sind. Bei subkutaner Applikation bekommen Sie nämlich keine Reaktionen im Sinne unerwünschter Knötchen.

H. PETER: In der zytoplasmatischen Therapie noch unerfahrene Kollegen sollten nur das machen, was der Wissenschaftliche Beratungsdienst empfiehlt. Herr BREIDENBACH hat Erfahrung, er kann sich immer helfen. Wenn Sie jetzt gehört haben, man soll Reaktionen herbeirufen, so ist das eine Frage der Erkrankungsart. Bei der Allergie und bei Autoaggressionskrankheiten darf nie stimuliert werden. Und wenn der Kollege sagt, er habe leider keine Reaktion erlebt, so ist das völlig normal bei der Gegensensibilisierung. Sie dürfen ja bei einer Allergie nie eine Reaktion haben, sonst würden Sie den allergischen Prozeß wieder stimulieren und das wäre falsch.

Das ist also nichts Gegenteiliges zu dem von Herrn BREIDENBACH. Bei der infertilen jungen Frau kann durchaus ein Stimulus von großer Wichtigkeit sein. Es gibt aber auch Herzinfarkte, die nicht stimuliert werden dürfen, sonst kommt es nämlich zu Rhythmusstörungen. Man sollte also eher nicht überdosieren. Bleiben Sie immer bei der desensibilisierenden Therapie, das gilt ganz besonders für den "Fahrschüler". Der Erfahrene kann alles machen.

Noch etwas Grundsätzliches zu dem Vortrag von Dr. BREIDENBACH: Alle Gegensensibilisierungen und Dilutionsbehandlungen haben natürlich nur dann Sinn, wenn die Ursachen der Sterilität damit erfaßt werden. Haben wir beispielsweise einen Tubenverschluß, dann werden Sie keinen Erfolg haben. Hier ist eine Tubendurchblasung notwendig, und die Schwangerschaft kann plötzlich eintreten.

AUDITORIUM: Was gehört nun an den Anfang? Die Dilutionen oder die Gegensensibilisierung?

H. PETER: Zu 99 % empfehlen wir zu Beginn die Dilutionen.

AUDITORIUM: Weshalb?

H. PETER: Weil die Erfahrung dafür spricht. Wir weichen von dieser Methode nur ab, wenn akute Erscheinungen dazu zwingen. Je akuter die Erscheinung, desto eher muß gegensensibilisiert werden. Auch heute noch, beispielsweise bei Asthma allergicum, bei Colitis ulcerosa und evtl. bei schweren Gelenkbeschwerden. Bei allen akuten Prozessen bitte erst desensibilisieren und dann die Dilutionen.

H. BREIDENBACH: Die Dilutionen an sich wirken ja schon "desensibilisierend" i Sie drängen die allergischen Fraktionen des organspezifischen Bereichs zurück, der in den Dilutionen enthalten ist. Bei der GS erfassen Sie sämtliche krankmachende Allergene des Blutes. Deswegen werden zuerst die Dilutionen verabreicht, um die spezifischen Antikörper zurückzudrängen, dann die Gegensensibilisierung, um alle jene pathogenen Faktoren zu erfassen, die im Blut vorhanden sind.

H. PETER: Herr Kollege BREIDENBACH hat recht. Wenn wir beispielsweise einen Gelenkprozeß haben, dann ist NeyArthros (Nr. 43) und NeyChondrin (Nr. 68) indiziert. Man kann primär damit anfangen. Liegen aber irgendwelche allergischen Prozesse zugrunde, deren Ursache wir nicht kennen, die nicht endogen organbedingt sind, sondern exogen, dann empfiehlt sich zuerst die Gegensensibilisierung. Wir haben erst kürzlich einen Fall im eigenen Betrieb gehabt: Eine junge Frau mit schweren asthmatischen Anfällen, die jedesmal auftraten, wenn sie Kontakt mit einem bestimmten Hund hatte. Wir haben zuerst die ganze Gegensensibilisierung durchgeführt, ohne Erfolg. Dann haben wir die Dilutionen hinterher verabfolgt. Nach Abschluß der Behandlung waren die Beschwerden verschwunden. Die junge Frau konnte sich ohne asthmatische Beschwerden wieder dem Hund nähern. Ich meine: Erfahrung gehört schon dazu. Wir sind ja Ärzte! Wir müssen also vorsichtig vorgehen. Aber ich möchte noch einmal betonen, bitte wenig Experimente. Als "Fahrschüler" müssen Sie sich immer an das System halten, das Ihnen vom Wissenschaftlichen Beratungsdienst empfohlen wird. Wenn man dann auf dem "zytoplasmatischen Klavier" spielen kann, darf man anschließend auch variieren. Dann macht die Therapie umso mehr Freude.

H. BREIDENBACH: Vor 25 Jahren behandelte ich eine 24jährige Patientin, die bereits vier Heilverfahren wegen Emphysemthorax und schwerstem Asthma hinter sich hatte. Nahezu jede zweite Nacht wurde ich herausgerufen. Die Patientin wurde nur mit der Gegensensibilisierung geheilt. Sie ist heute, nach 25 Jahren, noch beschwerdefrei.

Auch einen weiteren hochinteressanten Fall möchte ich nicht zurückhalten: Mein erster Patient vor 25 Jahren war ein Mann mit Gefäßverschluß am Oberschenkel bds. Darüber habe ich schon in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht. Der Patient gab damals an, schon wenn er über einen Strohhalm gehen müßte, könnte er vor Schmerz laut aufschreien. Er lag

ein Vierteljahr bei Prof. RATSCHOW, dem damaligen "Durchblutungsspezialisten" in Eberstadt. Dieser entließ ihn mit dem Vermerk: "Spätestens in fünf Jahren müssen beide Beine amputiert -werden". Der Patient war damals Schichtarbeiter bei Opel. Neben seiner Schichtarbeit hat er damals noch den "Schreinermeister" gemacht und im Anschluß seinen Dienst bei Opel quittiert. Heute ist er ein ausgezeichnete Schreinermeister mit einer riesigen Werkstatt und angeschlossenen Möbelgeschäft. Insgesamt wurden zwei zytoplasmatische Kuren durchgeführt. Der Mann läuft heute noch, nach 25 Jahren, auf seinen eigenen Beinen, ohne Beschwerden!

Eine Alternative zur Therapie des
Gelenkrheumatismus

Z. HOFFMANN

Stuhr

In zwei Jahren wurden über 90 Polyarthritiker mit aktivierten Eigenseeren und zytoplasmatischen Organextrakten behandelt. Dabei hat es sich bewährt, die Rheumatherapie ganz allgemein einzuteilen in die Basistherapie, die intraartikuläre Lokalthherapie und die allgemeine Therapie der betroffenen inneren Organe. Durchaus sicher ist die Basistherapie mit der Gegsensensibilisierung (GS) für alle rheumatischen Krankheiten an Muskeln, Sehnen und Gefäßsystem. Sie wirkt sicher, sofern es sich um eine Sensibilisierung des Organismus handelt. Sie führt zur Bildung von anti-idiotypischen Antikörpern und feed-back-Mechanismen. Die Monarthritiden, Arthrosen und aktivierte Arthrosen spricht gut an auf intraartikuläre Injektion von Noyarthros, einem Extrakt aus embryonalem Knorpelgewebe und Synovialis. Zusätzlich zur Lokalthherapie gebe ich die GS, weil immer eine rheumatische Komponente des Gefäßsystemes mitzubehandeln ist. Im Laufe von sechs Jahren habe ich über 200 Gelenke so heilen können, ohne daß Nebenwirkungen oder Versager auftraten. Bei der chronischen Polyarthritiden handelt es sich um das therapeutische Problem, das Entstehen des Rheumafaktors in der Synovialis zu verhindern und die Selbstperpetuation des Autoimmunprozesses zu durchbrechen. Offenbar gelingt das mit Hilfe von fragmentierten Auto-AK-Rheumafaktor-Komplexen aus Patienten-Eigenblut. Das Serum-Hydrolysat stellt das Blutlabor von Vitorgan her.

Folgendes Behandlungsverfahren hat sich als gut erwiesen:

Da die bisherige Therapie den Polyarthritiker in eine vegetative Regulationsstarre gebracht hat, gilt es zunächst,

sie zu durchbrechen durch Gaben von Calcium und Neydesib und Revitorgan 26 (Leber) für etwa eine Woche. Dann kommt die Serumkur mit GS und Hydrolysat zusammen mit Neynormin und Neyarthros, alles in einer Mischspritze s.k. 5 mal; anschließend die Eigenseren mit Neyarthros und Antifocal. Danach schließe ich gleich eine zweite Serumkur an und füge zytoplasmatische Präparate hinzu, die den Zustand des Patienten berücksichtigen sowie z. B. chronische Entzündungen innerer Organe oder bei stärkerer Usurierung des Gelenkknorpels Neytumorin, da doch die Proliferation des Pannus im Gelenk tumorartigen Charakter hat.

Mit dieser Therapie wird die Tatsache berücksichtigt, daß die PCP eine Allgemeinkrankheit ist. Daher unterstützen wir mit den zytoplasmatischen Präparaten den Zellstoffwechsel der Organe für Entgiftung, für das Immunsystem, das vegetative Nervensystem und die Gefäße.

Mit Trockensubstanzen sollte man zu Beginn nicht arbeiten, denn die Polyarthritiker sind oft hochallergisch. Ich habe einige Male stärkere Lokalreizung am Injektionsort erlebt. Die allergische Überempfindlichkeit ist ja auch der Grund für die Unverträglichkeit gegen die üblichen Antirheumatika. Arbeitet man stattdessen mit zytoplasmatischen Dilutionen, bleibt die Therapie ohne Nebenwirkungen.

Für die PCP im Stadium I und II, also die Exsudation, Knorpelentquellung und Entkalkung der Gelenkknochen, ist die angegebene Therapie sehr wirkungsvoll. Die Gelenke schwellen ab, werden schmerzfrei und belastbar, Kontrakturen lösen sich. Die Patienten arbeiten wieder beschwerdefrei in Haus und Garten. Schwere körperliche Arbeit sollte grundsätzlich für den Polyarthritiker nicht mehr erlaubt sein. Schwierig wird die Behandlung der Gelenke mit gröberen Usuren und Zerstörungen, die Stufe III und IV der PCP. Hier spielt der mechanische Reiz der aufgerauten und zerbrochenen Gelenkflächen und der Zelldetritus des zerriebenen Proliferationsgewebes eine immer wieder irritierende Rolle. Wohl kann man die allgemeine

Schmerzempfindlichkeit durch diese Kur dämpfen, so daß die Patienten mit ein bis zwei Tabletten am Abend auskommen. Aber da zerstörter Gelenkknorpel nicht regeneriert, sind diese Patienten dem Handchirurgen für alloplastischen Gelenkersatz zu überweisen. Doch würde ich immer die kombinierte Serumkur auch für Operationsfälle zusätzlich empfehlen. Eine sehr interessante Beobachtung ist nämlich die Tatsache, daß bei allen 46 durchbehandelten Fällen röntgenologisch keine Progredienz sich zeigte, auch nicht bei den schweren Fällen. Die Stadien I und II zeigten sogar eine rückläufige Tendenz der entzündlichen Entkalkung der Knochen, ganz unabhängig davon, ob der Rheumafaktor vorhanden war oder nicht. Es war zu beobachten, daß unter der Therapie der Rheumafaktor abklang, ebenso wie die BSG meistens auf Werte unter 20 mm Hg zurückging, was aber auftrat, wenn die CP noch keine fünf Jahre dauerte. Jedoch ist ein Beruhigen der klinischen Symptome nicht auch gleich mit einer Normalisierung von BSG und RF verbunden, das verläuft verzögert. Die Sonderformen der CP wie arthropathia psoriatica und Bechterew sprechen ebenfalls gut auf diese Therapie an. So konnte ein sehr versteifter Bechterew vom Stadium III - IV nach der Kur wieder den Kopf drehen und damit Auto fahren und konnte den Rasierapparat wieder zum Gesicht führen.

Die Ergebnisse der Rheumatherapie mit aktivierten Eigenseren und zytoplasmatischen Substanzen sind sehr erfreulich und risikofrei. Wahrscheinlich läßt sich bei Frühbehandlung das Absinken in die maligne Form der Gelenkzerstörung verhindern.

29jährige Frau

PCP-Beginn vor zwei Jahren in Händen, Füßen, Knien, Ellbogen. Therapie mit Ketoprophen und Resochin, ohne Wirkung, dann Corticoide und Gold. Dennoch solche Gelenkschmerzen, daß sie abends auf allen Vieren treppauf kriechen mußte. Nach fünf Monaten Therapie mit aktivierten Eigenseren und zytoplasmatischen Substanzen sind Gelenke völlig abgeschwollen, schmerz-

frei, Reststreckhemmung re. Ellbogen, Beugehemmung 2. und 3. Finger. Geht völlig frei, arbeitet voll im Haushalt.

11jähriges Mädchen

Mit fünf Jahren juvenile rheumatische Polyarthritits, Therapie mit Trolovol, mit sieben Jahren akut linksseitige Hemiparese, nach Absetzen des Medikamentes zurückgebildet. Unter Decortin mit acht Jahren floride Streptokokkensepsis mit Pancarditis, Thyreoiditis, Herzbeutelamponade - operative Entlastung. Chron. Tonsillitis, lange Zeit Penicilline. Mit zehn Jahren Umstellung der Therapie auf aktivierte Eigenseren, zytoplasmatische Substanzen, Tonsillektomie unter Schutz von Thyreoidaeextrakten. Nach 1/k Jahr völliges Wohlbefinden. Gelenke sind abgeschwollen. BSG normal!

62jährige Frau

Der Gelenkrheumatismus in den Händen begann wenig charakteristisch vor zehn Jahren. Er wurde quälend vor vier Jahren. Kur-aufenthalt, Klinikaufenthalt mit Durchführung einer Kur mit Trolovol, was Ödeme hervorrief und eine allgemeine Allergie. Vor 1 1/2 Jahren Eigenserum. Durch die GS schollen die Handgelenke ab, jedoch wegen der Fuß- und Hüftschmerzen wurde noch abends Amuno genommen (gegen Amuno Allergie mit Purpura, mußte abgesetzt werden). Nach einer zweiten GS ist der AZ gut, Patientin arbeitet wieder beschwerdefrei im Haushalt. Wegen der fortgeschrittenen Coxarthrosis ist TEP geplant.

Behandlungsplan:

A. Lösung der vegetativen Regulationsstarre:

Calcium i.v. Neydesib Revitorgan 26 Dil.

B. Aktivierte Eigenseren und zytoplasmatische Präparate

GS	D	10	Hydrolysat	Neyarthros	Neynormin
	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"
	D	8	"	"	"
	"	"	2. Packung	Neyarthros	Antifocal
	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"
	D	6	"	"	"
	"	"	"	"	"
	"	"	3. Packung	Neyarthros	Neytumorin
	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"

C. Wiederholung der Eigenseren evtl. mit zytoplasmat. Präp.

Erfahrungen mit der Serumkur bei chronisch persistierender und chronisch aggressiver Hepatitis sowie posthepatischer Leberzirrhose mit portaler Hypertension.

- Kasuistischer Beitrag -

H. KUSCHKE
Berlin

Bei einer 45jährigen Patientin wurde Anfang Januar 1900 wegen zunehmender Beschwerden im Bereich der linken Gesichtshälfte eine Röntgen-Aufnahme der Kiefernhöhlen angefertigt, die eine massive Verschattung der linken Kiefernhöhle ergab. Es handelte sich, wie die Probeexzision ergab, um eine histologisch gutartige Zyste. Bei der Operation kam es zu einem Kreislaufstillstand, der durch Reanimation beherrscht wurde. Komplikation: Zweimalige Nachblutung, nach 8 Tagen Nekrotisierung und Fistelbildung am harten Gaumen. Auch die Operationswunde am Vestibulum zeigte keine Heilungstendenz. Wochenlange Eiterung trotz Spülungen. Die Patientin wurde mir vom HNO-Arzt zur internistischen Durchuntersuchung überwiesen. Es erfolgte u.a. eine quantitative Bestimmung der Immunglobuline: Der Wert für IgG war deutlich erniedrigt, Antikörpermangelsyndrom. Während meines 3wöchigen Urlaubs ließ ich 5 Ampullen Beriglobin injizieren. Nach Rückkehr aus dem Urlaub, Ende März Applikation der GS und Injektionen von 29f und 73, Lingual 61 (FegaCoren), 65 (NeyNormin) und Lingual 96 (NeyTroph). Anfang Mai GS, Injektion 78 und 55, 65 und 2, Trockensubstanz 47. Unter dieser Behandlung kräftigte sich der Allgemeinzustand Zusehens. Die Eiterung aus der OP-Wunde hörte auf, so daß nunmehr die operative Schließung der Fistel am harten Gaumen vorgenommen werden konnte. Die Operation verlief komplikationslos.

2. 56jährige Patientin mit rezidivierenden Infekten bei chronischem Reizkolon. Dysbiose mit Hypocholerese. Pankreopathie. Die quantitative Immundiffusion ergab relativ niedrige Werte für IgG und IgM.

Therapie: Dilution 65 "N" (NeyNormin "N"), danach GS und 78 (NeyDesib) + 26, Trockensubstanz 47- Interkurrent trat ein Herpes zoster auf, der nach 10 Injektionen Macalvit i.v. abheilte. Danach wurden Dilutionen Nr. 61 "N" (Fega-Coren) + 29f (NeyThymun) und Trockensubstanz 29f + k, später noch die Trockensubstanz 61, verabreicht. Die Patientin fühlte sich subjektiv ausgezeichnet, die quantitative Immundiffusion ergab jedoch eine signifikante Verminderung der Immunglobuline IgG und IgM als Zeichen eines immunologischen Defektsyndroms mit erhöhter Infektexposition.

- 3- Eine 70jährige Patientin mit Adeno-Ca des Rektum und Lebermetastasen wurde am 17. 8. 1978 operiert und ein Anus praeter angelegt. Die Blutuntersuchung im immunologischen Labor von Prof. Vorlaender am 28. 1. 1980 ergibt eine absolut signifikante Erhöhung der CEA, wie sie nur bei Metastasenleber bisher gefunden wurde. Die Sonographie am 8. 2. 1980 im Klinikum Steglitz bestätigt diesen Befund: Multiple Lebermetastasen, die größte am unteren Leberrand hat einen Durchmesser von ca. 6 cm. Die Behandlung erfolgt nach dem im Leitfaden angegebenen Behandlungsschema für Neoplasmen. Trotz der sehr eigenwilligen Patientin, die die Behandlung mehrmals unterbricht, ergibt die Kontroll-Sonographie am 16. 7« 1980 bei relativen Wohlbefinden der sehr lebhaften Patientin einen unveränderten Befund - also keine Verschlimmerung. Am 5« 9- 1980 LDH 278 (120-240) Alkal. Phosphatase 136,2 (60-170).

4. 1966 erfolgte bei einem jetzt 50jährigen Patienten wegen eines Adeno-Ca eine abdomino-sakrale Rektumextirpation mit Anlegen eines Anus praeter. Jetzt nach 14 Jahren im März 1980 erneute Operation übermannsfaustgroßen Coecal-

tumors. Extirpation des Coecum und Anlegen einer Ileoscendostomie. Nebenbefund Metastase im Leberlappen. Lymphknotenmetastasen waren nicht nachweisbar: Die Histologie ergab eine Polyposis coli mit z. T. gestielten tubulovillösen Adenomen und Entwicklung eines adenopapillären, z. T. schleimbildenen Adeno-Ca mit Infiltration sämtlicher Wandschichten bis an das angrenzende Fettgewebe. Bei der Lebermetastase handelte es sich histologisch ebenfalls um ein schleimbildenes Adeno-Ca. Nach Entlassung aus der Klinik wurde sofort die Behandlung - wie im Leitfaden vorgeschrieben - eingeleitet und konsequent durchgeführt. Subjektiv fühlte sich der Patient so wohl wie noch nie zuvor und unternahm mit der Familie während der Schulferien eine Reise in die USA.

Aufgrund der im Leitfaden angegebenen Empfehlung nach der GS, die ja zur Abschwächung der Sensibilisierungsvorgänge dient, bei chronischen Erkrankungen mesenchymaler Gewebe die Serumkur mit in Bruchteile hydrolytisch gespaltenen Autoantikörpern anzuwenden, um den autonomen circulus vitiosus Autoantigen-Autoantikörper zu unterbrechen, so daß keine Umwandlung zum Antigen erfolgt, ist bei mehreren leberkranken Patienten diese Methode angewandt worden.

- 5» Bei einem heute 57jährigen Patienten ist seit Ende 1975 eine chronisch persistierende Hepatitis bekannt. Auf Empfehlung der Klinik keine Therapie, lediglich Alkoholka-
renz. Die Aktivitätswerte von GOT, GPT und Gamma-GT-hatten sich nach einem halben Jahr so weit verschlechtert, daß meines Erachtens therapeutische Maßnahmen notwendig waren. In einem Zeitraum von 8 Monaten wurde mehrmals die GS in
-10 U
den Verdünnungen von 10~ " bis 10~ gegeben und zwar in Abständen von drei bis vier Tagen. Gleichzeitig wurde Medivitan injiziert und Polilevo verordnet. Die Befunde normalisierten sich danach. GOT 9, GPT Gamma-GT 21 und blieben normal bis Ende 1978. Eine Kontrolluntersuchung am 21. 3. 1979 ergab jedoch wieder stark pathologische

Werte: GOT 51, GPT 138, Gamma-GT 63. Aufgrund dieses Befundes erneute Behandlung mit der GS, danach Dilution 6ln und 26 und 96. Im Anschluß daran Serumkur mit hydrolysierten Antikörperfragmenten bis Juli 1980. Der Befund vom 19. 8. 1980, GOT 50, GPT 106, Gamma-GT 56, war gegenüber dem Befund vom März 1979 fast unverändert schlecht, obwohl der Patient sich subjektiv wohler fühlte (die EP war übrigens immer normal!). Eine Erklärung für diese schlechten Befunde wäre nur die, daß der Patient, der eine Schuhfabrik in Italien besitzt, sich sehr viel dort drüben befindet und auch sonst sehr viel auf Reisen ist, eine geregelte Diät und Alkoholkarenz nicht einhält oder einhalten kann. Es ist dies der Nachteil einer ambulanten Behandlung. Man hat den Patienten nicht unter Kontrolle.
Am 2.10. 1980 Kontrolle der Laborwerte: GOT 42, GPT 116, Gamma-GT 62.

6. Eine 5-jährige Patientin mit einer seit mehreren Jahren bestehenden chronisch persistierenden Hepatitis wurde anfangs mit Dilution 6ln + 23 + 53 und 61 + 14 + 26 + 29f behandelt. Eine Kontrolle der Leberwerte im Blut ergab keine Besserung; GOT 58, GPT 101, Gamma-GT 20. Eine Kontrolle dieser Werte nach der im März 1980 durchgeführten Serumkur mit dem Hydrolysat führte am 5- 5- 1980 zu folgendem Ergebnis: GOT 13, GPT 65, Gamma-GT 56.
14 Tage danach erhielt die Patientin Dilution 6ln + 6 + 14 + 78 und 26 + 29f + 53- Am 20. 6. 1980 letzte Injektion.
Am 19. 8. 1980, zwei Monate später, Kontrolle der Blutwerte: GOT 111, GPT 89, Gamma-GT 75, Gamma-Globulin in der EP 38,6. Wieso sind nach Verabfolgung der Dilutionen, die doch eine gewisse desensibilisierende Wirkung haben sollen, die Blutwerte so schlecht geworden? Ich habe jetzt am 1.10. 1980 noch einmal diese Werte kontrollieren lassen und erhielt nun folgendes Ergebnis: GOT 57, GPT 80, Gamma-GT 61, Gamma-Globulin 36,5«

7. Bei einer 65jährigen Patientin besteht seit einer Virus-Grippe im Jahre 1963 eine chronische Hepatitis mit Übergang in eine chronisch-aggressive Hepatitis mit periportalen Faservermehrung und zirrhotischem Umbau. Die Diagnose ist durch Biopsie histologisch gesichert. Nach der GS, die mit Wiederholung von Januar bis Ende März 1980 durchgeführt wurde, waren die GOT 70, GPT 104, Gamma-GT 64 erhöht. Daran anschließend wiederholte Serumkur mit Hydrolysat von Anfang Mai bis Mitte September. Kontrolle der Blutwerte am 15. 7. 1980: GOT 52, GPT 66, Gamma-GT 43, Gamma-Globuline 23-7 (erhöht).
Kontrolle nach Abschluß der Serumkur am 19. 9. 1980;
GOT 47, GPT 60, Gamma-GT 46, Gamma-Globulin 20 (normal).
8. Ein 53jähriger Patient hat seit 1973 bekannte posttherapeutische Leberzirrhose mit portaler Hypertension und Ösophagusvarizen (Stadium III). Er ist in diesem Jahr das dritte Mal von der BfA nach Bad Kissingen verschickt worden. Dort wurde in diesem Jahr ein Stillstand der Erkrankung festgestellt.
Die Erkrankung war mit der GS und hydrolysierten Antikörpern erfolgt. Der Patient ist heute wieder arbeitsfähig.

Diskussion:

H. PORCHER: Ich möchte hier kurz noch auf das geschilderte Immunglobulin-MangelSyndrom eingehen. Sie haben in Ihrer Kasuistik nur die IgG-Werte angegeben. Mich würden jetzt besonders die IgA-Werte interessieren und zwar vor- und nachher. Ich glaube nämlich, daß das IgA, insbesondere das sekretorische IgA, bei einer Infektanfälligkeit eine ganz entscheidende Rolle spielt.

g

Was nun Ihre Therapie mit Beriglobin anbelangt, so handelt es sich hier um eine rein passive Zufuhr von Immunglobulinen. Die passive Zufuhr von Antikörpern ähnelt der diaplazentaren Übertragung von Immunglobulinen. Postnatal läßt die Wirkung nach einer gewissen Halbwertszeit sukzessive nach. Man sollte jedoch noch bedenken: Durch die Gabe von Immunglobulinen kann es sekundär zu einer Immunsuppression kommen, wie wir beispielsweise mit der GS bei Allergien therapeutisch erwünscht durchführen. Nochmals zu der Frage: Wie sieht es aus mit den IgA-Titern vor und nach der Therapie?

p

H. KUSCHKE: Was Beriglobin anbelangt, so ist es nur gemacht worden, weil ich eine Zeitlang verreisen mußte. Ich wollte eben die Patientin nicht in der Luft hängen lassen. Die erste Untersuchung wurde am 14. 2. durchgeführt; das IgA hatte einen Titer von 150, normal ist 90 - 450; das IgG 750 (Norm 800 - 1800); IgM 160 (Norm 60 - 280). Der Laborarzt schrieb dazu: "Die quantitative Bestimmung der Immunglobuline ergibt einen deutlich erniedrigten Wert für IgG, ein deutlicher Hinweis für ein Antikörper-Mangelsyndrom. Als Ursache könnten ein genetischer Defekt, Kachexie, maligne Prozesse oder nephrotische Syndrome in Betracht kommen."

Eine am 25. August durchgeführte Kontrolle ergab weiter abgesunkene Werte; IgA 140, IgG 610 und IgM 142. Diese Patientin mußte operiert werden; im Verlauf der Operation wurde eine Reanimation erforderlich. Sie fühlt sich nach der Therapie aber ausgesprochen gut, ist leistungsfähig, trotz eines relativ schlechten Immunstatus.

Bei der anderen Patientin wurde die erste Untersuchung am 14. April durchgeführt: IgA 250, IgG 960, also an der unteren Grenze, IgM 58. Folgender Befund wurde mitgeteilt: "Die quantitative Bestimmung ergibt einen relativ niedrigen IgG-Wert, Ausdruck eines Antikörper-Mangelsyndroms. Als Ursache könnte ein genetischer Defekt, Kachexie, maligne Prozesse oder ein nephrotisches Syndrom in Frage kommen."

Die Kontrolle am 4. September ergab: IgA 170, IgG 700 (Norm 800 - 1800), IgM 60 (Norm 60 - 280).

K. THEURER: Bei Immundefizienzen, Antikörper-Mangelsyndrom, ist NeyDesib (REVITORGAN-Dilution Nr. 78) nicht das richtige Präparat, sondern hier ist Neyimmun (REVITORGAN-Dilution Nr. 73) angezeigt. NeyDesib ist indiziert bei Allergie, Hyperergie und bei vermehrter, übersteigter Antikörperbildung. Als Einzelpräparat käme auch die Nr. 70 in Frage. Dies geht auch aus den Versuchen von Prof. GILLISSEN hervor. Die materne

Plazenta wirkte in diesen Experimenten immunstimulierend, die foetale Plazenta hemmend. Hier kommt ein antagonistisches Prinzip zum Ausdruck. Auch die Nebenniere (REVITORGAN-Dilution Nr. 20) wirkt hemmend auf die Immunvorgänge. Nebenniere wird deshalb von uns auch bei Allergien empfohlen. Thymuspräparate, sowohl foetale als auch jugendliche, wirken normalisierend.

Noch ein Hinweis für Tumorpatienten, die in den Süden reisen: Setzt sich ein Tumorpatient, dem es sonst gut geht, besonders exzessiven Stresssituationen aus, wie z. B. einem Klimawechsel, und hier vor allem der Sonne, ist dieses Verhalten leichtsinnig. Der ganze Behandlungserfolg kann dadurch in Frage gestellt werden. Ein Krebspatient ist Zeit seines Lebens immer irgendwie gefährdet. Er sollte sich deshalb keine Stresssituationen zumuten wie ein Gesunder.

Eindrucksvolle Ergebnisse in der Behandlung chronischer Krankheiten, insbesondere Asthma bronchiale, parenchymatöser Nierenerkrankungen, Polyarthritiden und chronisch aggressiver Hepatitis.

G. POLLMÄCHER, Freiburg/Br.

In einer Praxis für Naturheilverfahren haben die meist als hoffnungslos geltenden Fälle bereits einen langen Leidensweg in Kliniken oder Krankenhäusern hinter sich. Sie sind labormäßig durchuntersucht, ohne daß ihnen die bisherige Therapie helfen konnte.

Ich bringe bewußt nur Kasuistik, übersehe aus 25-jähriger praktischer Erfahrung dabei 1500 Fälle chronischer Erkrankungen, die ich mit der Gegensensibilisierung und der cytoplasmatischen Therapie behandelt habe.

Aus dem Krankengut von 30 Asthmakranken im Alter von 2 bis 78 Jahren seien drei interessante Fälle herausgegriffen:

Das zwei Jahre alte Kind I.H., dessen Allgemeinbefinden wegen der häufigen Asthmaanfalle stark beeinträchtigt war und das in seinem Wachstum infolge hoher Cortison-Gaben zurückgeblieben war, ließ sich die Gegensensibilisierungskur nur Mo, Mi und Fr jeweils 10 Tropfen einreiben. So kleine Kinder sind ja schwer zu spritzen und auch die Eltern sind dann viel besser für diese Therapie zu gewinnen. Schon nach der 8. Einreibung ließ das Giemen und Pfeifen über den Lungenpartien nach. Statt dessen trat dann an der Ellbeuge und in den Kniekehlen ein Ekzem auf. Diese Vikariation von der Imprägnation in die Reaktionsphase im Sinne Reckeweg¹ scher Phasenlehre ist durchaus positiv zu bewerten. Die Gegensensibilisierung wurde daraufhin mit der geringen Dosis von nur 2 bis 3 Tropfen dreimal wöchentlich lingual weitergeführt und anschließend zweimal wöchentlich die Dilutionen 65 und 20 morgens nüchtern als Trinkampulle verabreicht. Bei der nächsten Sprechstunde nach neun Wochen berichteten mir die Eltern, daß das Kind seither anfallsfrei sei und sie froh seien, daß sie die vom Hausarzt verordneten hohen Cortison-Gaben dem Kind nicht mehr verabreichen müßten.

Im zweiten Fall handelte es sich um den siebenjährigen Buben Ch. W., der von seinen Eltern schon nach Davos und durch sämtliche Spezialkliniken für Allergologie geschleppt worden war. Auch bei ihm führte ich die Gegensensibilisierungskur durch, indem ich zweimal in der Woche nach genau aufgestelltem Plan Spritzen subcutan verabreichen ließ. Bei der anschließenden Serumkur wurden Dilutionen Nr. 55, 20, 29f und Tartarus-Injeel zur Verdünnung dazugegeben. An injektionsfreien Tagen erhielt der kleine Patient Ambrosia- und Regena-Komplexe oral.

In einem weiteren Fall, Gerhard S., war das Asthma mit einem neurodermitischen Ekzem aufgetreten. Der Junge konnte jahrelang nicht regelmäßig die Schule besuchen. Die Therapie wurde in der gleichen Weise durchgeführt, mit dem Ergebnis, daß Gerhard 5 bis 6 Monate jeweils beschwerdefrei war. Der Patient kommt jährlich noch ein- bis zweimal, um, wie er sagt, sich die Kur mit der Blutmischung zu holen, die er sich dann selbst spritzt. Ich betreue diesen Patienten seit seinem 3. Lebensjahr. Jetzt ist er 23 Jahre alt, beschwerdefrei und berufsfähig. Als Basis- und Intervalltherapie an injektionsfreien Tagen dienen Darmsanierungsmittel - homöopathische Präparate zur Entgiftung des Stoffwechsels und eine Umstellung auf vegetarische Kost und biologische Getreidenahrung.

Dann folgt die cytoplasmatische Therapie.

In der gleichen Weise verfähre ich seit der Behandlung chronisch Niereninsuffizienter, speziell bei chronischer Pyelonephritis, Glomerulonephritis und Nephrose. Wie ich Ihnen früher schon berichtete, sind bei Nierenkranken im Vergleich zur Dialysebehandlung die Therapie mit cytoplasmatischen Substanzen weitaus billiger und gefahrloser, ohne Nebenwirkungen und auch erfolgreicher. Ich kann über ca. 30 chronische Fälle aus 21jähriger Behandlungs- und Beobachtungszeit berichten. Selbstverständlich muß bei so chronischen Leiden eine Dauertherapie durchgeführt werden mit Revitorgan-Dilutionen, die ein- bis zweimal wöchentlich zu verabreichen sind, entsprechender Diät und Lingualpräparaten Nr. 63, 65, ebenso homöopathische Tropfen in Form der Regena-Komplexe.

Im ersten Fall handelte es sich um die Jahre alte M.M., bei der die Niereninsuffizienz ganz plötzlich nach der Geburt des dritten Kindes auftrat. Die Geburt war in unverantwortlicher Weise mit den neuen Prostaglandinen künstlich eingeleitet worden, wobei dann eine gefährliche Hochdruckkrise und Atemnot entstand, so daß sich der Geburtshelfer genötigt sah, einen Kaiserschnitt durchzuführen. Leider war dann das Kind, ein gesunder, blonder Knabe, tot. Nach der Sektion des Kindes, Todesursache Asphyxie, meinte der Geburtshelfer, es könne nur an der ungewöhnlich allergischen Reaktion der Mutter auf die Prostaglandine gelegen haben. Jedenfalls litt meine Patientin nach dieser schwierigen Geburt an Nierenstörungen.

Frau M.M. hatte eine Niereninsuffizienz mit erhöhten Kreatinin- und Harnstoffwerten, Eiweiß positiv, im Sediment Erythrozyten und massenhaft Bakterien. Zweimal nach der Geburt kam es noch zu Blutdruckkrisen. Eine in der Klinik durchgeführte Antibiotikatherapie führte zur Resistenz der Keime. Die üblichen Medikamente versagten, weil die Patientin wegen Magenbeschwerden auch Cortison nicht vertrug. Ich habe hier sofort die Gegsensensibilisierungsserumkur durchgeführt und im Anschluß Revitorgan-Dilutionen 73, 63, 78, 29f, 69 und 64 verabreicht. Darauf senkte sich der nierenbedingte Bluthochdruck wieder zur Norm und bei den Laborwerten konnte das Absinken der erhöhten Kreatinin- und Harnstoffwerte und Rückgang der im Sediment gefundenen Erythrozyten auf 2 bis 3 pro Gesichtsfeld festgestellt werden. Die Bakteriurie, die interessanterweise schon nach der Gegsensensibilisierungskur verschwunden war, machte uns allerdings nach sechs Monaten wieder zu schaffen und es mußte noch einmal Ampicillin dazugegeben werden. Revitorgan-Dilutionen, Regena-Komplexe und Lingualpräparate wurden weiter verabreicht. Damit konnte die Niereninsuffizienz nach zwei Jahren ausgeheilt werden.

Ganz anders liegt der Fall der jetzt 59 Jahre alten Patientin A. K., die wegen einer schweren Nephrose mit urämischem Zustand erstmals 1959 in meine Behandlung trat. Als Kind

hatte sie schon Nierenentzündungen durchgemacht. Im Vordergrund standen hier die Ödeme, der hohe Eiweißbefund von 12 granulierte Zylinder, Rest-N-Erhöhung auf 130 mg eine Bakteriurie mit massenhaft Colibakterien und Enterokokken, erhöhten Kreatinin-Werten und eine zeitweise Anurie. Außerdem bestand eine Hypercholesterinämie von 600 mg % und eine Hypoproteinämie. Die fachärztlich durchgeführte übliche Behandlung hatte keinerlei Erfolg gehabt. Zu einer Dialyse-Behandlung konnte sich die Patientin nicht entschließen. Eine neue Niere wurde bisher noch nicht für sie gefunden. Bei ihr führe ich seit nunmehr 21 Jahren zweimal jährlich eine Gegensensibilisierungskur durch und gebe im Anschluß Dilutionen 69, 63, 65, 66, 78, 29k, 73 und 76 im Wechsel. Ab und zu erhält sie einmal jährlich Organsubstanzen Nr. 1, 63 und 60. Nebenbei nimmt sie Revitorgan lingual 63, 66 und 65 und spritzt sich selbst Serien von jeweils 10 Injektionen Dilutionen. Die zuletzt im März 1980 durchgeführten Laboruntersuchungen zeigten bei ihr bis auf die Globulinfraktion der Elektrophorese, die noch einen Dysproteinämie-Typ II aufweist, normale Nierenwerte. Im Sediment waren keine granulierten Zylinder zu finden. Im Urikult-Test Bakterien unter 10.000. Rest-N, Harnstoff, Kreatinin: alle Werte waren im Bereich der Norm.

Im dritten Fall suchte mich die 58-jährige Frau K. R. auf wegen nephrogenem Hochdruck, Niereninsuffizienz und einer Sehverschlechterung infolge Cataracta. Das-Isotopennephrogramm ergab bei ihr eine stumme linke Niere und eine funktionseingeschränkte rechte Niere infolge chronischer Glomerulonephritis mit typischen Veränderungen der Laborwerte. Klinisch bestand bei ihr eine Hämaturie, Proteinurie, Hypertonie und eine Retention harnpflichtiger Substanzen, Ich habe auch hier die Gegensensibilisierungs-Serum-Kur mit gutem Erfolg angewandt, ausgehend von der Überzeugung, daß bei chronischen Nierenleiden immunpathogene Autoaggressionsorgane sich abspielen. Allerdings mußte ich bei der Pa-

tientin mit 10 die Gegensensibilisierungskur beginnen. Bei chronisch Nierenkranken ist es sehr wichtig, daß man die Dosis nur sehr langsam steigert. Also je zweimal wöchentlich 10 bis höchstens 10 Bei 10~^ können manchmal bereits starke Reaktionen auftreten, d.h., die Patienten bekommen grippeähnliche Erscheinungen mit Schnupfen und Zerschlagenheit. Außerdem können sich etwaige vorhandene Zahnherde oder chronische Appendicitiden melden, so daß die Patienten zur Sanierung überwiesen werden müssen. Bei der 58-jährigen Patientin hatte ich durch die Verabreichung von Coniunctisan A und Trockensubstanz 52 guten Erfolg bezüglich der bestehenden Cataracta und einer Schlaflosigkeit. Nach der Behandlung konnte sie die Schrift im Fernsehen statt nur in zwei Meter Entfernung wieder auf fünf Meter Abstand gut lesen, und sie hatte auch wieder ohne Adumbran einen durchgehenden 8-Stunden Nachtschlaf.

Weil die Herdsuche bei chronisch Nierenkranken so wichtig ist, führe ich bei meinen Patienten jeweils einen Akupunkturtest durch und lasse die getesteten Ampullen, auch Dilutionen, bei der Serumkur zur Verdünnung mit einspritzen. Danach erst werden notwendige Organsubstanzen wie 63t *Skr*, 65 oder auch Trockensubstanz 52 und 40, wie in vorliegendem Fall für die Sehverschlechterung, gespritzt.

Im vierten Fall liegt bei der 39 Jahre alten Patientin R. N. eine chronische Pyelonephritis mit nephrotischem Syndrom vor. 1965 waren erstmals durch fachärztliche Untersuchung eine typische Leukozyturie und deutliche Zeichen einer Nierenparenchymschädigung, eine Proteinurie, Erythrozytenzylinder und eine Bakteriurie mit Colibakterien, Staphylokokken und Enterokokken therapieresistent festgestellt worden. Zeitweise zeigten sich auch granulierende Zylinder und Wachszylinder als Ausdruck der Niereninsuffizienz. Die Patientin kam zu mir wegen der immer wieder auftretenden häufigen Fieberschübe, chronischer Müdigkeit, Kopfschmerzen und sie war auch mit Gesichts- und Beinödemen geplagt. All diese Leiden machten sie berufsunfähig. Da sie noch

als alleinstehende Mutter für Familie zu sorgen hatte, war ihr viel daran gelegen, wieder arbeitsfähig zu werden. Eine durchgeführte Röntgenaufnahme der Niere und eine weitere fachärztliche Untersuchung ergab eine Verplumpung und Veränderung der Nierenkelche. Der Rest-N war auf 140 mg % angestiegen und die übrigen spezifischen Nierenlaboruntersuchungen im Sinne einer Niereninsuffizienz verändert. Die verordneten Ampicilline, Cephalosporine und Nitrofurantoinen konnten das Leiden in keiner Weise beeinflussen. Im EAP-Test wurde eine schwere Herdbelastung der oberen Schneidezähne und des 8. Odontons Ii. im Unterkiefer festgestellt und kieferchirurgisch angegangen. Vor und während der Zahnbehandlung lief bereits eine Nosoden-Injektionstherapie und hohe Verdünnungen der Gegenserisibilisierungskur wurden verabreicht. Danach hörten zunächst die Fieberschübe auf. Die Therapie wurde in derselben Weise wie vorwärts erwähnt durchgeführt. Nach achtmonatiger Behandlung ging es der Patientin gut. Seit Dezember 1979 sind von seiten der Niere keine Beschwerden mehr aufgetreten und die Patientin ist seither arbeitsfähig.

Die gleiche Therapie wandte ich in fünf Fällen einer Analgetika-Nephropathie an und hatte, je nachdem, wie lange der Analgetika-Abusus gedauert hat, auch entsprechende Erfolge. Irreversible Nierenschäden müssen natürlich in der gleichen Weise dauernd behandelt werden wie die Nephrose. Ich sah je doch, daß nach Absetzen der jahrelang eingenommenen Kopfschmerztabletten wegen Migräne und nach der durchgeführten Revitorgan-Therapie, es allgemein nach einem Jahr zur Normalisierung der pathologischen Labor-Nieren-Werte kam und zu einem guten Allgemeinbefinden.

In der gleichen Weise behandelte ich in meiner Praxis einige hundert Fälle mit chronischer Polyarthrititis und Arthritis der Kniegelenke.

Ich muß dabei sagen, daß jüngere Patienten, etwa zwischen

21 und 35 Jahren, leichter zu behandeln sind.

Ausgetestete Herdbelastungen müssen unbedingt saniert oder mittherapiert werden, was besonders bei der Polyarthrits sehr wichtig ist. Ich lasse dann die durch Elektroakupunkturtest ausgetesteten Medikamente, z. B. auch Nosode chronische Tonsillitis oder Hepatitis* mit der Serumkur einspritzen. Jedenfalls hat sich in der Behandlung der chronischen Polyarthrits gezeigt, daß Retard-Präparate wie Ammono, überhaupt auf die Dauer nicht wirksam sind, ebensowenig wie Cortison-Präparate, und daß es bei diesem Patientenkreis ohne radikale Herdsanierung nicht geht.

Da man ältere Menschen nicht mehr radikal sanieren kann, sind die Erfolge bei älteren Patienten auch nicht mehr so gut wie bei jüngeren.

Die Therapie besteht in der Verabreichung von Revitorgan-Dilutionen 43, 68, 78, 29f, evtl. auch 30, zweimal pro Woche und es hat sich als außerordentlich wirksam erwiesen, die Revitorgan-Dilutionen an die Zustimmungspunkte des Blasenmeridians oder auch auf die Akupunkturpunkte des Gouverneurgefäßes zu verabreichen.

Bei Gelenkbeschwerden, insbesondere bei Arthritis, wird intraartikulär oder intrakutan an die Akupunkturpunkte gespritzt, an injektionsfreien Tagen Regena-Komplexe eingenommen.

Eine 44-jährige Apothekerin A. S. aus Norddeutschland hatte mich aufgesucht, weil sie so ungefähr alle gängigen Rheumapräparate aus ihrer Apotheke an sich ausprobiert hatte, ohne einen Dauererfolg zu erzielen. Schon nach 6 Gegensensibilisierungseinspritzungen zeigte sich bei ihr eine Wendung. Allerdings mußte auch in diesem Fall seit einem Jahr wöchentlich regelmäßig Dilutionen eingespritzt werden, womit die Frau schmerzfrei und arbeitsfähig wurde.

Bei der 21-jährigen Patientin L. M. aus Elzach war von ihrem Hausarzt eine Goldtherapie durchgeführt worden, die zu schweren Allergien führte sowie zu pathologischen Leber- und Nierenwerten. Wegen der aufgetretenen Dermatitis mußte die

Patientin die Behandlung abbrechen. Eine Chloroquin-Behandlung, die Augenhintergrundsablagerungen machen kann, wurde ebenfalls nicht vertragen. Bei D-Penicillamin kam es zu Remissionen bis zu ca. 6 Monaten, und dann war wieder der gleiche Zustand eingetreten.

Der Patientin half am allerbesten die Gegensensibilisierungskur und anschließend Revitorgan-Dilutionen 65, 68, 43, 20 und 78. Zweimal wöchentlich wurden dieselben subkutan durch (j) Krankenschwester verabreicht. Auch die Organsubstanz Nr. 4, Bindegewebe, und Nr. 1, Leber, brachte nach Abschluß der Gegensensibilisierungskur gute Besserung.

Ich glaube, daß das Bindegewebe im System der Grundregulation nach Fischinger auch bei Polyarthritiden eine große Rolle spielt. Nach 6 Monaten kam die Patientin wieder mit einer erheblichen Verschlechterung und Schwellungen ihrer Gelenke in die Praxis. Da zu Beginn der Therapie die Gegensensibilisierung sofort Besserung gebracht hatte, ließ ich eine zweite GS-Kur anfertigen. Diesmal aber erlebten wir beide eine

-4

böse Überraschung. Bei 10 der Gegensensibilisierungskur meldete sich plötzlich ein chronischer Blinddarm, so daß wir auf eine chirurgische Intervention angewiesen waren. Vom Facharzt wurde eine chronische Appendizitis bestätigt und eine Appendektomie dringend notwendig erachtet. Ein chronisches Störfeld im Gebiet der Tonsillen war zuvor durch Neuraitherapie bereits ausgeschaltet worden und ein retinierter Zahn extrahiert worden. Wie mir aber eine 25jährige praktische Erfahrung in der Behandlung von Polyarthritikern gezeigt hat, ist eine totale Herdsanierung dringend notwendig. Ein solches systematisches Vorgehen in der Therapie der PCP ist dann allerdings auch keine symptomatische Behandlung, sondern bringt eine echte Heilung auch sonst unheilbarer chronischer Krankheiten. Ich darf sagen, daß ich bei den meisten Polyarthritikern damit eine zum Teil vollkommene Ausheilung oder zumindest einen Stillstand ihres Leidens erzielen konnte, je nachdem wie weit die Polyarthritiden bereits fortgeschritten war.

Auf keinem Gebiet der Medizin gibt es so viele Diskussionen und Meinungsverschiedenheiten, wie auf dem Gebiet der Therapie der Lebererkrankungen. Viele Ärzte schwanken zwischen Polypragmasie und Nihilismus hin und her. Sie behaupten, daß von den vielen angebotenen Lebertherapeutica nur etwa 10 % echte Medikamente seien. Wegen des oft schleichenden Beginns der Erkrankungen kommen die Patienten meist erst im chronischen Stadium in Behandlung, und die Klinik beschränkt sich lediglich auf die Verlaufskontrolle. Sie haben auch keine echten gesicherten Erfolgsergebnisse. Durch die Revitorgan-Therapie und durch die durch die Elektroakupunktur ausgetesteten Ampullen sind wir in der glücklichen Lage, der kranken Leber eine echte Regeneration zukommen zu lassen. Stellvertretend für die von mir bisher behandelten 50 leberkranken Patienten möchte ich den Fall des jetzt 58-jährigen Patienten E.St. schildern, dessen Lebererkrankung klinisch histologisch durch Leberbiopsie gesichert war. Das histologische Bild sprach für eine in Entwicklung begriffene Leberzirrhose auf der Basis einer chronisch aggressiven Hepatitis. Der Patient litt 1961 erstmals an einer Hepatitis. Darauf folgten 1964 und 1966 weitere Hepatitis-Schübe, die monatelang die typischen Krankheiterscheinungen wie Appetitlosigkeit, Abmagerung und Schwächezustände zeigten, und schließlich ging die Erkrankung in eine schwere chronisch aggressive Hepatitis über.

Der Patient wurde von mir zunächst zur Leberbiopsie in die Deutsche Klinik für Diagnostik nach Wiesbaden überwiesen. Die Laborwerte lagen beim Bromphtaleintest mit 17,8 im pathologischen Bereich. Die IGM war auf 294 erhöht, Cholesterin 400 mg %, GOT bei 66, die GPT bei 279 mikro Units. In der Elektrophorese waren insbesondere die Gammaglobuline mit 26 % hoch. Eine Verminderung der Albumine auf 51 der Quick lag bei 24 % erniedrigt. Dazu gesellte sich eine hepatogene Glukosetoleranzstörung mit 254 mg% in der ersten Stunde, 160 mg% in der zweiten Stunde und 214 mg% in der dritten Stunde. Eine in Wiesbaden zunächst durchgeführte Leberbiopsie wegen S. auf Leberzirrhose ergab eine schwere chronisch aggressive Hepatitis mit cirrhotischem feinhöckrigen Umbau im rechten Leberlappen. Mikroskopisch ergab das

Leberpunktat eine entzündliche Infiltration der Glisson'sehen Felder, die deutlich ausgeprägt war. Die Infiltrate bestanden überwiegend aus Lymphozyten, Histiocyten und herdförmigen Plasmazellen sowie eosinophilen granulierten Leukozyten, die in mäßiger reichlicher Zahl eingestreut waren; im Läppchen-Parenchym selbst herdförmig proliferierte Kupfer'sehe Sternzellen und geringe lymphomonozytäre Zellinfiltrate sowie vereinzelte Nekrosen mit Bildung von Councilman Körper. An Herz und Kreislauf fanden sich bei dem Patienten keine pathologischen Befunde. Im Bereich der LWS Veränderungen im Sinne einer Osteochondrose mäßigen Grades mit Grundplatteneinbrüchen. Ebenso eine Arthrose im Schultergelenk II.

In einem Bericht vom 15-12.1970 empfiehlt die Deutsche Klinik für Diagnostik eine sofortige stationäre Behandlung und schlägt dem Patienten täglich 20 mg Decortin-Einnahme vor, mit anschließenden weiteren Labor- und Transaminase-Kontrollen, Infusionstherapie und Immunsuppressiva. Leider konnte der Patient die im Anschluß durchgeführte Krankenhausbehandlung mit Cortison-Infusionen wegen einer Ulcus-Vorgeschichte nicht verkraften und ließ sich vorzeitig auf eigenen Wunsch entlassen. Von da an erfolgten alle drei Monate Kontrollen und zwar in der Spezialklinik für Leberkrankheiten, in der Prof.Kalk-Klinik in Bad Kissingen.

Der Patient erhielt von mir seit 1966 laufend Revitorgan-Dilutionen 6ln, 39, 70, 66 und Serien von Dilutionen 26, 39, 70, 64, 14 und 67 durch die ortsansässige Krankenschwester. Daneben ließ ich die jeweiligen Kontrollen durchführen. Ich bin daher in der Lage, den Verlauf der Erkrankung wissenschaftlich genau zu dokumentieren. Unter der Behandlung mit Revitorgan-Substanzen und einer entsprechenden Leberdiät haben sich die Befunde von Jahr zu Jahr gebessert. 1980 haben wir endlich eine Ausheilung des Prozesses erzielt. Die Kontrolluntersuchungen im Labor ergaben normale SGOT- und SGPT-Werte, als auch normale Thymol-Bilirubin-Werte und normale Werte in der Elektrophorese.

Der Patient spritzt sich jetzt nur noch wöchentlich einmal Revitorgan-Dilutionen Nr. 61n, \k und 65 und nimmt an injektionsfreien Tagen Revitorgan lingual Nr. 61 und Regena-Komplexe Nr. 35 und 79 je 10 Tropfen morgens.

Damit hat er allgemeines Wohlbefinden und Arbeitsfähigkeit erreicht. Nach den mehrfach durchgeführten Kontrolluntersuchungen in der Leberklinik in Bad Kissingen handelte es sich bei dem Patienten um eine Australia-positive chronisch aggressive Hepatitis mit fibrösem Parenchyumbau, deren Aktivität deutlich ist. Außerdem um eine hepatogene Glukoseverwertungsstörung. Die von den Kliniken verordneten Medikamente wie Adumbran, Ammunosuppositorien für die begleitende Osteochondrose, als auch die verordneten Cortison-Präparate wurden von dem Patienten einfach nicht eingenommen, dafür aber die Revitorgan-Therapie durchgeführt.

Wir sind zu einem sehr schönen befriedigenden Ergebnis gekommen, wie dies aus dem letzten Bericht der Leberklinik in Bad Kissingen hervorgeht.

Die letzte Diagnose lautet:

Mit Restfibrose geheilte chronisch aggressive Hepatitis.

Die Leberbiopsie ergab noch eine leichte Mesenchymaktivität und der Bericht besagt, daß laborchemisch so gut wie keine Aktivitätszeichen mehr vorhanden sind. Die Entgiftungsfunktion, ausgedrückt im Plasmaammoniakspiegel, lag völlig im Normbereich und die histologische Beurteilung ergab hier eine weitgehend stationäre Hepatitis mit restfibrotischer Ausheilung.

Die Behandlung allergischer Erkrankungen
mit
Gegensensibilisierung und zytoplasmatischer Therapie

R. PLOHBERGER

Hainburg/Donau
Österreich

Aus praxisnaher Sicht möchte ich über die Behandlung allergischer Erkrankungen mit Gegensensibilisierung und zytoplasmatischer Therapie berichten. •

Vorerst jedoch einige kurze allgemeine Bemerkungen:

Pirquet beobachtete 1904 nach der Seruminjektion die Serumkrankheit vieler Diphtheriekinder und nannte diese von der Norm abweichende Empfindlichkeit des Organismus "Allergie".

Heute versteht man unter Allergie ganz allgemein die auf einer Antigen-Antikörperreaktion beruhende veränderte Reaktionslage des Organismus nach vorausgegangener Sensibilisierung durch Allergene.

Die ursprünglich zum Schutz des Organismus gegen äußere Einflüsse und gegen Mikroorganismen entwickelte Antigen-Antikörperreaktion wird in unserer modernen Industriegesellschaft dauernd überfordert:

Neben Eiweißkörpern können Polysaccharide, Glykolipide sowie einfache chemische Substanzen, sofern eine Bindung an körpereigenes Eiweiß möglich ist, zum Allergen werden. Die Anzahl der in Frage kommenden Substanzen wird durch die Entwicklung der modernen Chemie, aber auch der Pharmazie nahezu unübersehbar.

Wenn es bei spezifischen Allergien noch möglich ist, eine

Austestung durchzuführen, sind die unspezifischen Allergien und auch die gemischten Allergien mit dieser Form der Diagnostik nicht mehr zu erfassen. Die notwendige Konsequenz, eine spezifische Desensibilisierung, ist daher in solchen Fällen nicht mehr möglich bzw. bringt keinen Erfolg.

Nun gibt es eine Methode, auch diese unspezifischen und gemischten Formen der Allergie therapeutisch zu beeinflussen, und zwar durch eine modifizierte Eigenblutbehandlung, die sogenannte Gegsensensibilisierung nach Theurer.

Bei dieser Methode werden die humoralen und zellulären Antikörper im Patientenblut durch den Revitorgan Serumaktivator, eine kolloidale Komplexverbindung aus Aluminiumhydroxyd und Kieselsäure unter Zusatz von Phenol, zum Antigen umgewandelt, bis 10⁻¹² verdünnt und in langsam gesteigerter Konzentration zur Desensibilisierung des Allergikers verwendet. Die Vorteile liegen klar auf der Hand:

eine spezifische Austestung ist nicht nötig, da ja nicht das Allergen, sondern das umgewandelte Patientenblut bzw. Plasma oder Serum zur Desensibilisierung benutzt wird;

auch unspezifische und gemischte Allergien werden auf diese Weise erfaßt;

überdies fallen gewisse Gefahrenmomente, die der spezifischen Desensibilisierung eigen sind, weg.

Im Anschluß an die Gegsensensibilisierung erfolgt die Umstimmung der allergischen Disposition des Patienten durch eine Organotherapie - sie bezieht sich vor allem auf das Hypophysen-Zwischenhirnsystem, die Stoffwechselorgane, die Schleimhäute und die lymphatischen Organe - mit Hilfe von Dilutionen der Organsubstanzen und anschließend von Trockensubstanz.

Die Aufbereitung des Patientenblutes und die schwierige Organwahl für die nachfolgende cytoplasmatische Therapie gs-

schieht durch die wissenschaftliche Abteilung der Revitorgan Arzneimittelfabrik. Auf diese Weise ist es selbst einem Anfänger möglich, exakt und erfolgreich zu arbeiten.

Ehe ich konkret aus meiner Erfahrung über Allergien berichte, möchte ich noch auf einen großen Fortschritt hinweisen, den die Gegensensibilisierung bei der heTägerecht durchgeführten Sanierung herdkrankter und herdbelasteter Patienten bringt.

Ein Focus im Sinne der Fokalpathologie wirkt als Allergenquelle. Altmann desensibilisierte nach exakter Herdbereinigung mit Autovaccinen. Viel einfacher ist die Gegensensibilisierung nach Theurer zu handhaben.

Ich möchte nun über einige Patienten mit allergischen Krankheitsbildern und sogenannten "Reaktionen vom Soforttyp" berichten. Immunologische Krankheitsbilder, die sogenannten "Reaktionen vom Spättyp", sollen hier ausgeklammert bleiben.

Fall 1: Penicillinallergie

Wie Sie wissen, ist das Penicillin das wichtigste und gefährlichste Allergen einer Medikamentenallergie. Nicht jede Penicillinallergie muß jedoch dadurch entstanden sein, daß der Patient eine Penicillin-Injektion erhalten hat; es genügt in manchen Fällen eine Pilzinfektion mit intraepidermal wachsenden Fadenpilzen, die als Ektotoxin geringe Mengen von Penicillin produzieren. Auf diese Weise kann eine Penicillin-Urticaria entstehen, aber auch eine schwere Form der Penicillinallergie, die der Serumkrankheit entspricht und auch innere Organe befällt.

Ernst W.. geb. 19³

Am 22. und 23. 1979 wegen Angina je 1 Depot-Penicillininjektion i.m. 8 Tage später Schwellung an den Knöcheln beider Beine, an den Gelenken der oberen und unteren Extremität. Am Stamm daumengroße, juckende Flecken. Therapieresistent. Hohe Dosen Cortison. Gewichtszunahme von 62 auf 73 Kilo,

Atembeschwerden, Schweißausbrüche, Herzklopfen und Kollapsneigung. Weglassen des Cortisons nicht möglich.
 Oktober 1979 Gegensensibilisierung. Schon nach 3 Wochen kann das Cortison abgebaut werden.
 Nach Durchführung der Gegensensibilisierung Dilutionen 78 und 5% 65 und 55 alternierend, anschließend Trockensubstanz Nr. 47, Revitorgan Lingual 61 und 65, 64.
 Die Allergie vollkommen geschwunden.
 Körpergewicht wieder k|, Wohlbefinden.

Fall 2: Rhinitis allergica

Neben Pollen kommen auch andere Allergene für die Sensibilisierung der Nasenschleimhaut in Betracht. Das Allergen kann in die Bronchien gelangen - aus der Rhinitis wird ein allergisches Asthma bronchiale. Das entsprechende Allergen wird im allgemeinen mittels Hauttest nachgewiesen.

Hier möchte ich einen Fall schildern, der durch Jahre vergebens nach der üblichen Methode behandelt wurde.

Christine R., geb. 1941

1959 Erkältung mit Fieber, erster Asthmaanfall. Anschließend weiterhin Asthma bronchiale wechselnder Stärke sowie Rhinitis. Nach jährlichen Urlauben in allergiefreiem Klima verschwanden die Asthma bronchiale-Anfälle, die Rhinitis blieb unbeeinflusst. Allergiebehandlung mit spezifischer Desensibilisierung, reichlich Volon-Injektionen.

12.11. 1979 Beginn der Gegensensibilisierung. Gegen Ende derselben schon Besserung. Anschließend Dilutionen 78 und 55» 65n, 21 und 36 sowie Trockensubstanzen 49 und 47, Revitorgan Lingual 65 und Conjunctisan B lokal.

Die Nase vollkommen frei. Im Mai 1980 Grippe, Rezidiv in d«r Zeit der Baumblüte, aber wesentlich geringer.

Fall 3: Urticaria, Conjunctivitis, Rhinitis, Asthma
bronchiale

Es handelt sich in diesem Fall um eine Patientin, die jahrelang schwerste allergische Erscheinungen, sowohl Urticaria, Conjunctivitis, Rhinitis, als auch Asthmaanfälle zeigte. Es war auch durch unsere Maßnahmen nicht leicht, ihr Leiden zu bessern.

Frau Dr. Martha S., geb. 1943

1970 erstmals Allergie. 1974 verstärktes Asthma bronchiale, allergisches Exanthem, zusätzlich Metallallergie (z.B. durch Tragen einer Uhr mit Metallband), schwere Asthmaanfälle zwischen 2 und 3 Uhr morgens, vor allem 1974 bis 1975. Spezifische Desensibilisierung gegen Hausstaub, Milben, Schimmelpilze, Nickel, Kobalt, Gras, Heu, Stroh, Goldrute, Iris, Milchprodukte, Hühnereiweiß, Fisch, Hülsenfrüchte, Katzenhaare, Pelz und Wolle.

Allmähliches Hinzutreten einer Kälteallergie.

Wechselnde Stuhlgewohnheiten: Obstipation wechselt mit Durchfällen. Der Darm offenbar schon 1966, nach Partus mit Lösung der Placenta und wochenlangen subfebrilen Temperaturen bei laufender Antibiotikagabe, schwer geschädigt.

Beginn der Gegensensibilisierung am 19. 3* 1979- Anschließend Dilutionen 78 und 2, 65n und 5, 21; Revitorgan-Lingual und Conjunctisan B lokal. Zur Gabe der Trockenzelle 47 und 19 kommt es nicht, da ein Rezidiv auftritt.

Daraufhin Durchführung eines Gesamtherdstatus: Hinweise auf den Bauchraum, das linke Tonsillenbett, das rechte Ohr; EHT-Symptomatik auch über Thyroidea und Wirbelsäule; chronische Gingivitis mit sekundären Knochenveränderungen.

Vordringlichste therapeutische Maßnahme: Parodontosebehandlung und Sanierung des Darmes (stoffwechselaktive Diät, Substitution der Verdauungsfermente, Symbioselenkung und Omniflora).

Anschließend neuerliche Gegensensibilisierung. Wechsel der

Dilutionen auf 65n, 71, 29f und 5, Lingual 98, 65 und Conjunctisan B lokal sowie schließlich Trockenzelle 47 und 19.

Nach kleinen Rückfällen, die immer wieder mit Gegensensibilisierung ausgeglichen werden, schließlich seit April 1980 nahezu vollkommen beschwerdefrei.

Trotz mehrmaliger Gegensensibilisierung und Veränderung der Organwahl bei der anschließenden cytoplasmatischen Therapie gelang es in diesem Fall erst durch Einleitung einer Darm-sanierung, die allergischen Erscheinungen so weit zurückzudrängen, daß das Leben der Patientin wieder lebenswert wurde.

Empfindlichkeit gegen gewisse allergisch wirkende Substanzen ist jedoch noch immer nachweisbar.

Fall 4: Mehlallergie

Zuletzt möchte ich noch über den Fall eines Bäckers berichten, der jahrelang von einer Mehlallergie gequält wurde und immer wieder Schübe schwerster Urticaria zeigte. Ein Berufswechsel kam aus wirtschaftlichen Gründen nicht in Frage.

Josef P., geb. 1921

Seit 20 Jahren fallweise allergisches, juckendes Exanthem an den Unterarmen, um den Nabel, im Gesicht, durch Schwitzen, Insektizide und Mehlstaub.

1963 akute Dermatitis nach Rheumasalbe, wieder heftige urticarielle Erscheinungen.

Gegensensibilisierung. Schon gegen Ende der Gegensensibilisierung vollkommenes Schwinden der Effloreszenzen, so daß die vorgesehenen Dilutionen 78. 43, 65, 55, Trockensubstanzen 47, 68 und Revitorgan-Lingual 61, 65, 96 nicht mehr gegeben wurden.

Da der Patient knapp vor dem Ruhestand steht und daher eine neuerliche Exposition durch den Beruf bald nicht mehr in Frage kommt, ist anzunehmen, daß er von seinem Leiden auf

Dauer befreit sein wird.

Erlauben Sie mir abschließend noch einige Bemerkungen.

Auch beim Allergiker hat es sich als vorteilhaft erwiesen, vor der angeführten Therapie eine genaue Herdtestung durchzuführen und, falls Herde vorhanden sind, diese herdgerecht zu eliminieren, selbstverständlich mit Gegensensibilisierung sowohl vor als auch nach dem Eingriff, wie es WINDSTOSSER bei seinen Karzinompatienten schon lange macht.

Neben den Kopfherden möchte ich besonders auf den Darm als mögliche Allergenquelle hinweisen. Es ist bekannt, daß durch die geschädigte Darmwand Eiweißbruchstücke mit einem sehr hohen Molekulargewicht diffundieren können.

Neben einer Regeneration der geschädigten Darmschleimhaut durch die eytoplasmatische Therapie muß nach meiner Überzeugung eine Besserung des allgemeinen Zustandes dieses locus minoris resistentiae mit Hilfe zusätzlicher Maßnahmen angestrebt werden:

durch eine stoffwechselaktive Vollwertkost, wie wir sie seit Jahrzehnten auch unseren Karzinompatienten verabreichen;

durch gleichzeitig durchgeführte Symbioselenkung und Substitution der Koli des Dickdarms und, falls notwendig,

durch Substitution der Magensäfte und der Verdauungsfermente.

Ich möchte in meiner Praxis die beiden kausal wirkenden Therapiearten - Gegensensibilisierung und eytoplasmatische Therapie - nicht mehr missen.

Diakussion:

AUDITORIUM: Wie haben Sie die Gegensensibilisierung dosiert?

R. PLOHBERGER: Ich habe mit zwei Quaddeln 10^{-12} begonnen, dann die Dosierung auf vier Quaddeln, sechs Quaddeln, je nach Reaktion, gesteigert. Sind Überempfindlichkeiten aufgetreten, bin ich wieder zurückgegangen. Die Gegensensibilisierung wurde von mir in längeren Zeitabständen als üblich durchgeführt, zunächst intracutan am Unterarm, einmal links und dann rechts. Bezüglich der verwendeten Präparate habe ich mich immer auf die therapeutischen Angaben der wissenschaftlichen Abteilung der vitOrgan Arzneimittel GmbH verlassen.

P. SCHWARZ: Wenn Sie die Injektionsseiten gewechselt haben, traten dann Schwierigkeiten auf? Haben Sie Rötungen gesehen bzw. allgemeine Reaktionen?

R. PLOHBERGER: Nein! Es ist bekannt, daß der Organismus quasi zweigeteilt ist. BERGSMANN hat darüber viel gearbeitet. Herdbelastete Patienten beispielsweise reagieren seitenungleich.

P. SCHWARZ: Ab und zu konnte ich verblüffende Beobachtungen machen: Haben wir z.B. Patienten für einige Zeit nur auf einer Körperseite behandelt und wurde später - aus welchen Gründen auch immer - die Injektionsseite gewechselt, traten, trotz anfangs richtiger Dosierung, auf der anderen Seite plötzlich überschießende Reaktionen auf.

R. PLOHBERGER: Die Blutsenkung ist links und rechts auch nicht immer gleich, selbst die Leukozyten-Werte sind verschieden. Es kommt immer darauf an, ob der Patient nur einseitig beherdet ist. Ist dies der Fall, schließen sich die Präkapillaren, d.h. die präkapillaren Verbindungsstücke zwischen Arterien bzw. Venen öffnen sich, der Sauerstoff wird nicht mehr dorthin transportiert, wo er eigentlich hin soll. Dieser Aspekt der Beherdung spielt auch eine Rolle. Auch der Blutdruck ist oft nicht einheitlich, ohne daß an den großen Gefäßen irgend etwas nachzuweisen wäre. Das haben wir x-fach beobachtet.

K. THEURER: Bei der Allergie von Frauen könnte eine Hyperoestrogenie, also zu viel weibliche Sexualhormone, die Allergie und evtl. auch Autosensibilisierung bis hin zum Rheumatismus, begünstigen. Bei Frauen sollte deshalb immer an die Gelbkörperkomponente gedacht werden. Während des Zyklus, also bei zu starker Oestrogenkomponente, empfiehlt es sich, vom Tag -k bis vielleicht +11 des Zyklus, Gelbkörper zum Ausgleich zu spritzen.

Bei diesen allergischen Erkrankungen von Frauen können Sie alternativ auch Trockensubstanz 49 - ein Kombinationspräparat aus Gelbkörper und jungem Hoden - applizieren. Die androgene Komponente spielt beim weiblichen Organismus nämlich auch eine Rolle. Eine Maskulinisierung wie bei einer androgenen Hormontherapie ist hier jedoch nicht zu befürchten. Als linguale Applikation empfiehlt sich das neu ins

Programm aufgenommene Kombinationspräparat NeyFam (REVITORGAN-Lingual Nr. 60). Dadurch erreichen Sie eine allgemeine Umstimmung von Frauen mit Hyperoestrogenie oder Corpus luteum-Insuffizienz. Dieses Kombinationspräparat enthält zusätzlich noch Leber als Stoffwechselorgan. Bekanntlich ist die Leber ein Regulationsorgan im hormonalen System, die den Hormonspiegel sowohl von der Synthese als auch des Abbaues regelt.

R. PLOHBERGER: Ihren Ausführungen kann ich durchaus zustimmen. Bei der Patientin M. S. hat die Therapie erst angeschlagen, als sie Corpus luteum (Nr. 21) plus Testes ohne Spermio-genese (Nr. 19) bekommen hat.

K. THEURER: Bei dieser Patientin lag aller Wahrscheinlichkeit nach eine endogene Ursache zugrunde, worauf sich erst später die Sensibilisierung aufgepfropft hat.

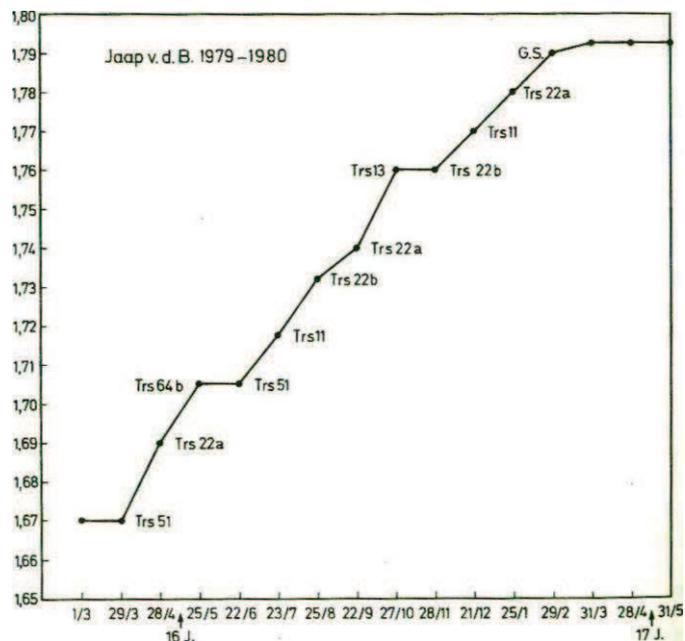
Beeinflussung des retardierten kindlichen Wachstums

- Kasuistischer Beitrag -

C.H. van RHIJN

Enschede / Niederlande

Jaap, 16 Jahre, wurde wegen eines sich entwickelnden Minderwertigkeitskomplexes überwiesen. Seine Körpergröße betrug 1,66 m. Er fürchtete, nicht mehr zu wachsen. Seit frühester Kindheit bestand bei Jaap eine asthmatische Bronchitis. Wahrscheinlich hat das gespannte Verhältnis zwischen seinen Eltern u.a. hierzu beigetragen. Seine Ergebnisse in der Schule waren schlecht, trotz guter Intelligenz. Auch seine sportlichen Leistungen ließen zu wünschen übrig.



Vom 29.3- 1979 wurde er monatlich mit einer Trockensubstanz, aufgelöst in 2 ml Impletol, behandelt. Ich bevorzuge die Auflösungen in Impletol, weil dadurch auch Wiederholungs-Injektionen besonders gut vertragen werden. Wie aus der Wachstumskurve ersichtlich (s. Abb.), wuchs Jaap nahezu jeden Monat ungefähr 1 cm, mit Ausnahme jener Monate, in denen Trockensubstanzen 64B und 13 verabreicht wurden. Offenbar sind die Trockensubstanzen 11, 22a (Hypophyse total), 22b (Hypophyse-Vorderlappen) und 51 in der Lage, das Wachstumshormon der Hypophyse zu aktivieren, nicht jedoch die Trockensubstanzen 64B und 13-

Jaap ist mittlerweile 1,80 m groß, seine Leistungen in der Schule haben sich wesentlich gebessert, er wirkt konzentrierter. Auch sein Asthma ist in den letzten Monaten nach einer Gegensensibilisierung und Dilutionsbehandlung zurückgegangen; dadurch haben sich seine sportlichen Leistungen ebenfalls stark gebessert.

Diskussion

AUDITORIUM: Kann man die Trockensubstanzen in den kurzen Abständen geben, wie es Dr. van RHIJN vortrug?

Prof. PETER: Herr Kollege van RHIJN ist ein "alter Zytomatiker" mit großer Erfahrung. Dem Anfänger dürfen wir dieses Vorgehen nicht empfehlen. Dr. van RHIJN hat in monatlichen Abständen die Trockensubstanzen gegeben. Immerhin erweitert sich dadurch unser Erfahrungsgut, auch in bezug auf die neueren Empfehlungen zur Tumortherapie. Auch dort wissen wir, daß eine wöchentliche Gabe von Trockensubstanzen reaktionslos vertragen wird. Die Behandlung erfordert jedoch Injektionsabstände von weniger als 5 Tagen. Möglicherweise vermindert auch das Anästhetikum Impletol eine Sensibilisierung. Bei dem vorgetragenen Fall hat der Junge immer verschiedene Trockensubstanzen bekommen. Dadurch wurde die tierische Restantigenität ebenfalls reduziert.

Sehr oft werden wir mit der Problemstellung konfrontiert, Wachstumsstörungen zu behandeln. Prof. TELLER hat ausdrücklich davor gewarnt, Kinder, die im Wachstum zurückgeblieben sind, hormonell mit Wachstumshormonen zu stimulieren. Das ist meist ein talscher Ergeiz der Eltern, daß nun einer, der nur 1,50 m groß ist, plötzlich 2 m groß werden soll. TELLER warnte vor einer solchen Hormon-Therapie, weil dadurch schwerste Störungen, u.a. auch eine Prognathie, auftreten können. Wer also solchen Wünschen der Eltern nachkommen will, hat in der Therapie mit den zytoplasmatischen Präparaten eine echte biologische Alternative, bei der noch nie irgendwelche pathologischen hormonellen Störungen bekanntgeworden sind.

Coronarinsuffizienz und Angina pectoris:
Therapeutische Erfahrungen
mit der Zytoplasmatischen
Therapie

R. WEBER

Hoya/Weser

Bei der Behandlung der stabilen und instabilen Angina pectoris (A.p.) wird die Therapie mit Nitroglycerin, Nitraten, Beta-Blockern, Calcium-Antagonisten und deren Kombinationspräparaten bevorzugt eingesetzt.

Bei schweren Fällen der Ruhe-A.p., aber auch bei der medikamentös resistenten instabilen A.p., wird eine invasive Abklärung zur Indikation einer Bypass-OP angestrebt. Durch Revascularisierung soll die A.p. verringert oder beseitigt, das Infarktrezidiv vermindert und die Leistungsfähigkeit verbessert werden.

Die Erfahrung der Praxis zeigt, daß bisher nur eine geringe Anzahl der Patienten im mittleren, besonders aber in höheren Altersklassen in Folge von Gegenindikationen und Multimorbidität für eine Bypass-OP geeignet sind. Die vom Verfasser seit 12 Jahren eingesetzte Behandlung der A.p. mit makromolekularen Substanzen scheint auch prognostisch ungünstige, nicht-operable Patienten noch eindrucksvoll zu bessern. Die nachstehend aufgeführten, unter Praxisbedingungen beobachteten Fälle stellen Beispiele aus einer größeren Anzahl von A.p.-Patienten dar, die vorher mit der o.g. konservativen Therapie ausbehandelt waren. Die makromolekulare Behandlung stellt also im Regelfall eine zusätzliche Therapie der Coronarinsuffizienz und A.p. dar.

Fall 1: Herr H. F. aus H., 56 Jahre, technischer Zeichner
Februar 1975 - Mai 1975 wegen ausgedehntem Vorderwandinfarkt»

klinisch behandelt. Instabile A.p. - Therapie: Adalat, Isoket ret., Clofibrat, Viskin, Nitrolingual.

Trotz medikamentöser Therapie 3-4 schwere A.p.-Anfälle täglich, auch nachts. Beginn der Revitorgan-Therapie am 9. 5. 1975 mit Dil.-Nr. 6 und 64 (10-mal) und Dil.-Nr. 6 und 70 (5-mal). Anschließend Trockensubstanz Nr. 64 R. Im Behandlungszeitraum ging die A.p. auf zwei Anfälle zurück, nächtliche Anfälle wurden nicht mehr beobachtet. Die nächste Revitorgan-Behandlung erfolgte am 20.10. 1975 mit TS 64 R, die dann in halbjährlichen Abständen wiederholt wurde bis Juni 1980. Unter dieser Behandlung ließen die A.p.-Anfälle kontinuierlich nach. Ab Februar 1976 wurde kein Nitrolingual mehr benötigt. Während der Behandlung hat sich die körperliche Leistungsfähigkeit und das Allgemeinbefinden erheblich gebessert. Der Patient kann unbeschränkt wandern, leichte Gartenarbeit verrichten und unternimmt weite Autoreisen ohne Beschwerden. Auch bei stärkster Kälte traten keine A.p.-Anfälle mehr auf.

Fall 2: Herr E. Th. aus W., 60 Jahre, Landwirt

Der Patient kam wegen stabiler Bewegungs-A.p. und Hyperlipämie am 10.4. 1979 in meine Behandlung, nachdem er vorher drei Jahre wie üblich behandelt wurde. Belastungsgrenze: 50 m Gehstrecke. Schwere landwirtschaftliche Arbeit konnte er in Folge seiner Stenocardien nicht mehr verrichten. Nach erfolgloser Behandlung mit Isoket ret. bekam der Patient am 6.6. 1979 erstmalig Revitorgan TS 64 R injiziert. Die Behandlung wurde in 6-monatlichen Abständen noch zweimal wiederholt. Während der Patient unter genauer Beobachtung seiner Belastungsgrenze vorher 4 Nitrolingual monatlich benötigte, brauchte er bis zum Sommer 1980 nur eine einzige Nitrolingual-Tablette, weil sich, bei einer ihn erregenden Belastung (Viehtreiben), ein A.p.-Anfall eingestellt hatte. Keine Beschränkung mehr beim Gehen, mittelschwere Arbeiten können wieder durchgeführt werden, auch bei versehentlich verrichteten schweren Arbeiten keine A.p. mehr.

Fall 3: Frau A. T. aus B., 75 Jahre, Hausfrau

Diagnose: Zustand nach Totalexstirpation, mäßige Hypertonie, cerebrale Durchblutungsstörungen, Coronarsklerose mit instabiler A.p. Kein Herzinfarkt.

Therapie: Isoket ret., Novodigal mite, Modenol, Adalat, Nitrolingual.

Unter dieser Behandlung konnte die Patientin zwei Jahre beschwerdefrei gehalten werden. Am 29.4. 1977 akute Verschlechterung und gehäufte Ruhe-, Kälte- und Bewegungs-A.p. Die Patientin wurde bettlägerig. Am 30.4. 1977 zusätzlich Revitorgan-TRS 64 R. Diese Injektion wurde dann in halbjährlichen Abständen bis April 1980 wiederholt. 14 Tage nach der ersten Injektion hatte sich die Ruhe-A.p. wesentlich gebessert, auch die cerebralen Ausfallserscheinungen gingen rasch zurück. Ab Juni 1977 konnte die Patientin beschwerdefrei spazieren gehen und hatte nur noch selten leichte Stenocardien. Bis Frühjahr 1980 ständige Zunahme der Leistungsfähigkeit, keine A.p.-Anfälle mehr, auch nicht bei Kälte.

Fall 4: Herr H. Tw. aus H., 68 Jahre, Rentner

Diagnose: Instabile Angina pectoris.

Der Patient bekam vom vorbehandelnden Arzt Isoket ret. verordnet. Trotz dieser Behandlung hatte der Patient fast täglich A.p.-Anfälle, besonders nachts. Große Empfindlichkeit gegen Temperaturunterschiede und körperliche Belastung. Am 29.1. 1978 erstmals mit Revitorgan TRS 64 R behandelt. Die Injektionen wurden in halbjährlichen Abständen bis Januar 1980 wiederholt. Vier Wochen nach der ersten Injektion war der Patient völlig beschwerdefrei. Er konnte sich zunehmend belasten, machte weite Wanderungen, ist nicht mehr kälteempfindlich und führt mittelschwere Gartenarbeiten ohne Beschwerden durch. Im letzten Jahr hat er wegen der guten Besserung Isoket ret. nicht mehr eingenommen.

Fall 5: Herr H. B. aus Sch., 83 Jahre, Landwirt

Diagnose: Allgemeine Arteriosklerose, cerebrale Durchblutungsstörungen, Coronarsklerose mit instabiler A.p.
 Therapie: Dilcoran prot., Adalat. Bei dem Patienten bestand seit Jahren eine Coronarinsuffizienz, die mit obiger Therapie leicht beherrscht werden konnte. Mitte Januar 1976 traten erstmalig schwere Ruhe-A.p.-Anfälle auf, die den Patienten bettlägerig machten. Er wurde zunächst mit Revitorgan-TRS Nr. 70 behandelt, dann ab 11.5. 1976 in halbjährlichen Abständen mit Revitorgan-TRS Nr. 64 R. Nach der ersten Injektion TRS Nr. 70 am 4.2. 1976 trat schon nach wenigen Tagen eine wesentliche Besserung ein. Der Patient konnte nach 18 Tagen das Bett verlassen und war in Ruhe beschwerdefrei. Nach der 2. Injektion am 11.5* 1976 Zusehens rasche Erholung, keine A.p.-Anfälle mehr, cerebraler Schwindel völlig verschwunden, zunehmende Leistungsfähigkeit, die ihm leichtere Arbeit auf dem Bauernhof erlaubte.

Erst im Frühjahr 1980 traten wieder leichte Stenocardien auf, die aber seine Leistungsfähigkeit wenig einschränkten.

Fall 6: Herr O. D. aus Sch., 73 Jahre, Landwirt

Diagnose: Cerebrale Durchblutungsstörungen, stabile Angina pectoris, Dysbasia intermittens. Der Patient wurde seit Jahren mit der üblichen Behandlung beschwerdefrei gehalten. Mai 1974: Auftreten einer stabilen A.p., die bereits nach 40 m Gehstrecke auftrat. Der Patient bekam ab Juni 1974 in halbjährlichen Abständen Revitorgan-TRS Nr. 64 R und Revitorgan-TRS Nr. 6. Vier Wochen nach der ersten Injektion hörten die A.p.-Anfälle völlig auf, auch die Dysbasia intermittens war verschwunden. Sechs Wochen später wurde auch der cerebrale Schwindel nicht mehr beobachtet. Der Patient testete mittels Schrittzähler täglich seine Belastungsfähigkeit, er konnte im ersten Jahr nach dem Behandlungsbeginn 6 km täglich, im zweiten Jahr 9 km täglich und im dritten Jahr bis 15 km täglich wandern, ohne daß Beschwerden von Seiten des Herzens auftraten. Der Patient hat festgestellt, daß sich seine größte körperliche Belastungsfähig-

keit nach der 5» Injektionsbehandlung eingestellt hat.

Zusammenfassung

An Fallbeispielen wird dargestellt, daß schwere stabile und instabile A.p.-Fälle, die mit der üblichen konservativen Therapie ausbehandelt wurden, auf makromolekulare Therapie mit Revitorgan-Präparaten noch über Monate und Jahre günstig ansprechen. Gleichzeitig besserte sich sehr deutlich die allgemeine Leistungsfähigkeit, die Belastungsgrenze erhöhte sich und das Allgemeinbefinden wurde besser, als man es bei der üblichen konservativen Therapie zu sehen gewohnt ist. Es war auffällig, daß die nächtliche Ruhe-A.p. besonders schnell und günstig auf die Revitorgan-Behandlung reagierte.

Revitorgan-Therapie bei akuten Zuständen

H. WIRSAM

Bad Harzburg

Die meisten Berichte über die Anwendung der cytoplasmatischen Therapie in der Praxis beziehen sich auf chronische Zustände, und auch die Behandlungs-Schemata, die Sie von der Firma Vitorgan anfordern können, sind im wesentlichen auf chronische Zustände bezogen. Es dauert ja auch immer einige Tage, bis die Behandlungsanweisungen beim anfordernden Arzt zurück sind.

Ich möchte demgegenüber heute die Revitorgan-Therapie bei akuten Zuständen herausstellen, wobei sich naturgemäß eine gewisse Routine entwickeln mußte, die eine schnelle Wirksamkeit innerhalb von Stunden oder Tagen verbürgt.

Im Vordergrund stehen dabei in meiner Praxis die saisonalen grippalen und enteritischen Infekte, die im wesentlichen die Atemwege und das Magen-Darm-System betreffen. Hier hat es sich mir seit 10 bis 15 Jahren bewährt, mit einer Standardmischung zu arbeiten, ohne groß auf die beteiligten Organe einzugehen. Das heißt, ich brauche keine Rücksicht darauf zu nehmen, ob eine Rhinitis, Nebenhöhlenerkrankung, Pharyngitis, Angina tonsillaris, Laryngitis, Bronchitis oder Bronchopneumonie vorliegt oder ob der Patient mir gerade kommt und sagt, daß er sich seit einigen Stunden so ver-grippt vorkommt, Kopfschmerzen hat und beginnendes Fieber zeigt. Andererseits kann es eine Gastritis, Gastroenteritis, sogar mit Leber-, Gallen- oder Pankreasbeteiligung oder eine Enterocolitis sein: Mein Standardmittel ist immer das gleiche, weil es ganz breit alle akuten oder subakuten Zustände abdeckt.

Es wird m Zeiten akuter Infektionsachübe, insbesondere bei iruserkrankungen, bei mir stets von vornherein in einer

immer wieder frisch angesetzten Mischung vorrätig gehalten und zwar in den Stärken I und II. Es besteht aus: Dilution 2 (Lunge), Dilution 55 (Schleimhäute), Dilution 61 (Fegacoren neu), Dilution 65 (Neynormin neu) und Dilution 78 (Lymphdrüsenpräparat). Natürlich bekommt nun nicht jeder Patient 5 Ampullen, also 10 ccm, injiziert, sondern die Mischung ist im sterilen Penicillin-Fläschchen angesetzt, und der Patient bekommt davon 2 ccm, im allgemeinen Stärke II, intravenös. Bei Patienten, die bei früherer Behandlung schon eine Empfindlichkeit bewiesen haben, gebe ich nur die Stärke I. Da der Patient nur 2 ccm bekommt, brauche ich auch nicht jedem alle Ampullen aufzuschreiben, sondern nur einzelne, wie ich sie in der Praxis zur Ergänzung brauche.

Auf dieser Basis läßt sich, sofern notwendig, mit weiteren Mitteln aus der cytoplasmatischen Reihe oder aus der Homöopathie gut aufbauen, und der Patient bekommt sein homöopathisches Mittel zur häuslichen Einnahme aufgeschrieben.

Bei grippalen Infekten hat es sich bewährt, im Anfang Influenzinum D 30 oder Pyrogenium D 30 mitzugeben, bei Abwehrschwäche auch Echinacin gleich mit in die i.v.-Injektion.

Im weiteren Verlauf der Infektionskrankheit - unabhängig von der Lokalisation - wird die Mischung weiter gegeben oder es wird auch auf einzelne Mischungsanteile zurückgegangen, sofern sich die Erkrankung als reine Atemwegserkrankung oder Enteritis manifestiert. Selbst nach der klinischen Ausheilung bekommt der Patient die Mischung weiter, bis keine Reste der Erkrankung mehr feststellbar sind.

Mit dieser Methode gelingt es mir häufig, akute Viruserkrankungen zu coupieren, manchmal schon mit der ersten Injektion. Die Patienten sind sehr zufrieden mit dieser Behandlungsmöglichkeit und kommen jetzt schon früh genug von allein, um weitergehende Krankheitszustände zu vermeiden.

Wenn man bedenkt, daß gerade bei grippalen Infekten die Möglichkeiten der Schulmedizin sehr begrenzt sind, können wir

dankbar sein für diese schnellwirkende Methode.

Als orale Homöopathika bewähren sich dann die nach dem Krankheitsbild gegebenen Einzelmittel oder auch insbesondere Arum tripbyllnm-Pentarkan und, wenn man früh genug kommt, Metavirulent. Aus der Revitorgan-Reihe kommt Conjunktisan B hinzu.

Von einer weiteren Beobachtung aus langen Jahren der Arbeit mit der Revitorgan-Methodik möchte ich Ihnen noch berichten. Es gibt Patienten, die bei sehr vielen Krankheitszuständen immer wieder das gleiche Mittel brauchen, das ihnen dann auch sehr schnell hilft, und zwar auch bei Beschwerden, die zunächst gar nicht auf dieses Mittel hinzudeuten scheinen.

Diese Erfahrung habe ich bei vielen Patienten mit den Dilutionen 6k imd 65 gemacht, aber auch mit Dilution 6l. Merkwürdigerweise hat sich dabei die orale Dauertherapie mit diesen Mitteln nicht im gleichen Maße bewährt. Es ist immer wieder die intravenöse Injektion, die einen schnellen Umschwung herbeiführt. Es kann auch mal das Wechseln zwischen zweien dieser Dilutionen sein, wie es zum Beispiel bei der Patientin mit dem Morbus Crohn ist, von der ich im vorigen Jahr sprach. Sie braucht meistens Dilution 6l, manchmal dazwischen Dilution 65, und die orale Dauertherapie mit den entsprechenden Tropfen bringt für sie kaum etwas.

Zuletzt möchte ich noch auf den Einsatz der Dilution 29 F, Stärke I - also foetaler Thymus - bei akuten Krankheitsbildern eingehen:

Es gibt Rheumatiker, bei denen man mit dieser Injektion schlagartig eine Besserung herbeiführen kann, und zwar scheinen das die Rheumatiker zu sein, bei denen sich unter früherer Behandlung mit Corticoiden herausgestellt hat, daß diese sie zwar vorübergehend beschwerdefrei machen, andererseits aber zu Nebenwirkungen führen, so daß sie gemieden werden. Hier gebe ich nach Abnahme des Blutes für die Gegenensibilisierung einige Injektionen 29 F I, um dann die Gegenensibilisierung und evtl. auch die Behandlung mit dem Serumhydrolysat durchzuführen. Es handelt sich also um das

Behandlungsschema, über da» ich vor einigen Jahren berichtet habe, als es sich in meinem Vortrag um die Abgrenzung zwischen juvenilem und foetalem Thymus handelte, wobei dieses Schema für Allergien angegeben wurde.

Daher ist dieses Schema auch bei Nahrungsmittelallergien und beim Asthma bronchiale gut zu verwenden, wie auch chronisch recidivierende Hautallergien unter dieser Behandlung häufig sehr günstig beeinflusst werden können.

Besonders bewährt hat sich die Dilution 29 in Stärke I bei Überdosierungen von Kälberthymus, sei es bei der Verwendung von Revitorgan-Dilution 29 K oder auch von Thymus Mulli oder auch THX, das in meinem Praxisort zur Anwendung kommt, wenn auch nicht von mir gegeben wird. Gerade bei diesen Thymus-Fällen ist die Wirksamkeit von höchstverdünntem foetalem Thymus immer wieder verblüffend.

Neyparadent : Ein neues therapeutisches Prinzip
auf Liposomenbasis bei Schleimhauterkrankungen in
der Zahnheilkunde.

J. KLÜTER

Hünchen

Vor einem Jahr konnte erstmals über Praxiserfahrungen mit der zytoplasmatischen Therapie bei einem ganz bestimmten Krankheitsbild der Zahnheilkunde berichtet werden.

Bei der Behandlung der hyperämischen und pulpitischen Reizungen an Zähnen nach dem Beschleifen für Kronen, lag das Hauptgewicht der Behandlung bei den Injektionen mit dem Revitorganpräparat Nr. 10, dem Neypulpin . Es wurde damals aber auch schon das Mundtherapeutikum Neyparadent erwähnt, welches sich während des Schleifvorganges und bei der Behandlung der beschliffenen Zahnstümpfe sehr bewährt hatte. Bei der Diskussion nach dem damaligen Referat sprach sich vor allem DERBOLOWSKY sehr positiv über seine Erfahrungen mit Neyparadent , besonders bei der Behandlung von Aphten, aus.

Nun bin ich bei der Beurteilung von Medikamenten, Materialien und Ähnlichem in meinem Fach im Laufe meiner 32-jährigen Berufserfahrung außerordentlich mißtrauisch geworden. Um Erfahrungen zu sammeln, wurde Neyparadent bei möglichst vielen in der Praxis anfallenden Indikationen eingehend erprobt.

Daüber soll heute berichtet werden.

Zunächst ist es notwendig, sich etwas mit der Pharmakologie dieses Mittels zu beschäftigen, ist es doch grundsätzlich ein galenisches Neuland, welches die zytoplasmatische Forschung damit betreten hat. Das Neyparadent ist unter den Revitorgan Präparaten das erste in einer Liquidum-Form nur zur örtlichen Anwendung. Entsprechend neuartig ist daher auch die Wirkstoff Kombination, welche überaus interessant ist. Die Ausgangsmischung, mit welcher dann nach homöopathischen Methoden weitergearbeitet wird, ist praktisch die gleiche, wie beim Neypulpin . Es handelt sich also um eine Mischung makromoleku-

larer Organlysate aus *Crista dentalis fötalis*, Plazenta, Diencephalon und verschiedenen Arzneimittelgrundstoffen. Die Revitorganforschung konnte diese Grundsubstanz aus gutem Grund verwenden, hat sich diese Kombination im Neypulpin doch schon langjährig ausgezeichnet bewährt. Beim Neyparadent sind aber als Ergänzung Zusätze von spezifisch wirksamen Phytotherapeutika (Chamomilla, Arnica und Myrrha) mit eingearbeitet. Die neuartige Kombination dieser pflanzlichen Wirkstoffe mit der Ausgangsmischung ist weiter mit essentiellen Spurenelementen in Meerwasser suspendiert. Die dadurch auf sehr schonende Weise entstehende adstringierende Wirkung ist bei den entsprechenden Indikationen unseres Fachgebietes besonders erwünscht und wird praktisch auf natürliche Weise erreicht.

Was aber das besonders Moderne und sicher Geniale am Neyparadent darstellt und meines Erachtens die häufig verblüffenden Effekte bei der praktischen Anwendung erklärt, ist die Inkorporierung der bisher besprochenen Kombination in organspezifische Liposomen aus Soja-Lecithin, Cholesterin und Membran-Antigenen aus *Crista dentalis*. Allgemein ist zum Begriff der Liposomen zu sagen, daß sich diese spontan bilden, wenn Phospholipide im Wasser suspendiert werden. Die Liposomen sind vor allem therapeutisch so interessant, weil diese eine ideale Schleppersubstanz für andere Stoffe im menschlichen Organismus darstellen. Es wurden in dieser Hinsicht seit vielen Jahren große Anstrengungen unternommen, um Methoden zu finden, mit deren Hilfe Pharmaka an spezifische Körperstellen gebracht werden können. Im Gegensatz dazu wird bei der althergebrachten Technik die Wirksubstanz über den ganzen Körper verteilt, während es bei der Liposomentechnik nunmehr möglich ist, mit wesentlich geringeren Medikamentendosen bessere Wirkungen zu erreichen.

Als erster schlug der Engländer GREGORIADIS vor, Enzyme in Liposomen einzupacken, welche dann an Enzymdefekten leidenden Patienten verabreicht werden könnten. Die Liposomen haben dabei als Träger den Vorteil, daß sie aus natürlichen Molekülen wie z. B. Lecithin oder Cholesterin aufgebaut werden können.

Diese natürlichen Substanzen haben gegenüber den früher gleichsam als schützende Haut für die Pharmaka verwendeten körperfremden Substanzen den Vorteil, daß sie im Organismus metabolisiert werden können. Ausgehend von diesen Überlegungen wurden außer Enzymen chelatbildende Substanzen, Antibiotika, Cancerostatika, Hormone u. a. in Liposomen verpackt. Die Vorteile dieser neuen galenischen Form der behandelten Pharmaka wurden in zahlreichen Tierversuchen und neuerdings am Menschen bewiesen. Die Revitorgan-Forschung hat beim Neyparadent erstmals das Liposomen-Prinzip verwendet und damit uns Zahnärzte ganz besonders begünstigt.

Wenn man nun die Wirkung eines Mundtherapeutikums in der praktischen Anwendung feststellen will, so muß meiner Meinung nach ein sehr strenger Maßstab bei der Beurteilung von Behandlungserfolgen angelegt werden. Vor allem muß dies der Fall sein bei der Betrachtung der mit Abstand am häufigsten vorkommenden Indikation für das Neyparadent, nämlich die sogenannten Paradentopathien in ihrer ganzen Vielfalt. Dieses Krankheitsbild ist heute bekanntlich ungemein verbreitet und analog zu der Tatsache, daß es kaum noch vollkommen gesunde Mitbürger gibt, ist es eine absolute Seltenheit in der Praxis, ein ganz naturgesundes Paradentium zu sehen. Die Ursachen für diese traurige Feststellung, wissenschaftlich ausgedrückt, die Ätiologie für diesen pathologischen Komplex, sind vielfältig. In diesem Kreis interessieren natürlich vor allem die sicher sehr häufigen endogenen Zusammenhänge. Es ist sicher, daß pathologische Erscheinungen der Gingiva und des Paradentiums oftmals Niederschläge von anderweitig gestörten Organfunktionen sind. Ich darf in diesem Zusammenhang die von VOLL so ausgezeichnet herausgearbeiteten energetischen Zusammenhänge zwischen den einzelnen Odontonen und den dazugehörigen Organgruppen erwähnen, deren Richtigkeit immer wieder offen zu Tage tritt. Man ist stets von neuem von der Feinsinnigkeit dieser Erfahrungstheorie beeindruckt. Nur ist es leider so, daß man sich als Zahnarzt in der heutzutage auszuübenden Praxis in wesentlich erdhafteren Niederungen bewegen muß. Ich meine damit die Tatsache, daß bei den meisten Paradento-

pathien doch handfeste exogene Faktoren zu beseitigen sind, um einer entsprechenden medikamentösen Therapie, gleich welcher Art, den Weg zu bahnen. Es ist eine Erfahrungstatsache, daß allein die Eliminierung verschiedener derartiger exogener Faktoren den Zustand der Gingiva und des Parodontiums entscheidend bessern kann. Ich meine damit vor allem die Entfernung des sub- und supragingivalen Zahnsteins und der Konkremente, die möglichst günstige Gestaltung der Approximalräume aller Zähne durch Kariesbehandlung und Beseitigung unzweckmäßiger Füllungsrän- der, die Motivation zu einer leider sehr häufig notwendigen besseren Mundhygiene sowie zu einer zweckmäßigeren Ernährung, die Beseitigung von Frühkontakten beim Kauakt und damit die Schaffung günstigerer Belastungsverhältnisse. Außerdem ist es oft sehr wichtig, die Patienten auf die Möglichkeit von Fehlbelastungen im Gebiß durch Stress und andere psychische Faktoren hinzuweisen, da sonst ein durch übliche Behandlungsmaßnahmen nicht zu durchbrechender circulus vitiosus entsteht.

Zweifellos ist in allen derartigen Fällen eine zusätzliche Verordnung von Neyparadent -Mundtherapeutikum auf Grund der entzündungswidrigen Eigenschaften und der zusätzlichen regenerativen Kräfte des Mittels eine hervorragende Medikation. Vor allem ist es wichtig, die Patienten anzuhalten, die Selbstbehandlung auch nach einer eingetretenen Besserung genügend lange fortzusetzen und entsprechend später diese Therapie vorbeugend zu wiederholen.

Obwohl ich also den Einsatz des Neyparadent in allen Fällen von Parodontopathien leichteren und schwereren Grades für ausgezeichnet halte, genügt mir diese Erkenntnis nicht, um die ganz besondere Qualität dieses zytoplasmatischen Präparates herauszustellen. Ein entsprechender Kritiker kann nämlich mit einem gewissen Recht behaupten, daß eine Besserung des pathologischen Zustandes in derartigen Fällen möglicherweise allein durch die Beseitigung der vorher angeführten exogenen Faktoren erfolgt ist. Man kann also solchen Skeptikern nur dadurch entgegen- treten, daß man Behandlungserfolge auch bei Indikationen vorweisen kann, bei welchen allein nur die Wirkung des Medl-

kaments die Besserung herbeigeführt haben kann. So komme ich nun wieder zum Anfang, bei welchem ich die seinerzeitigen Ausführungen von DERBOLOWSKY über die Behandlung von Aphten mit unserem Neyparadent erwähnt habe, zurück. Ein Psychiater wird in seiner Praxis sehr häufig mit Aphten konfrontiert, da diese bei entsprechend prädestinierten Patienten allein durch psychischen Stress auftreten können. Dazu darf ich allerdings bemerken, daß man als Zahnarzt Bemerkungen von Nicht-Zahnärzten über Erfahrungen mit Medikamenten bei zahnärztlichen Indikationen äußerst reserviert gegenübersteht. Aber in diesem Fall muß ich ehrlich gestehen, daß der Psychiater DERBOLOWSKY mit seiner damaligen Bemerkung - ich habe diese noch genau im Gedächtnis -, daß man die Aphten nach der Behandlung mit Neyparadent direkt dahinschwinden sehen könne, wirklich recht gehabt hat. Ich halte es aber nun doch für notwendig, zur Illustrierung des derzeitigen wissenschaftlichen Standpunktes zum Aphtenproblem die Zusammenfassung eines ausgezeichneten Referates zu zitieren, welches im Forum parodontologicum der zahnärztlichen Quintessenz (November 1979) aus der Universitätszahnklinik Münster (Prof. LANGE und Dr. VOMHOF) erschienen ist: "Mit großer Sicherheit liegt den chronisch rezidivierenden Aphten bei immer noch ungeklärter Ätiologie ein stereotyper pathologischer Reaktionsmechanismus und damit ein einheitliches klinisches Bild zugrunde. Hoffnungen, durch gezielten Einsatz von Medikamenten mit bekanntem Wirkungsspektrum Rückschlüsse auf die Ätiologie zu ziehen, haben sich bisher nicht erfüllt. So wird die Behandlung chronisch-rezidivierender Aphten auch weiterhin symptomatischen Charakter haben. Der Einsatz verschiedener Medikamente wurde im Rahmen dieser Arbeit diskutiert."

Dazu noch die Einleitung zu dem Abschnitt "Therapie":

"Für die Behandlung chronisch-rezidivierender Aphten wurden ebenso viele Therapieansätze gemacht wie Hypothesen für die Entstehung aufgestellt wurden". Es würde aus zeitlichen Gründen zu weit führen, auf die einzelnen Behandlungshinweise der Autoren einzugehen, aber insgesamt ist herauszulesen, daß es eigentlich kein voll befriedigendes Therapiekonzept gibt.

Im Laufe meiner über 30-jährigen Berufstätigkeit habe ich verschiedenes in dieser Hinsicht versucht, bin aber eigentlich immer wieder zu einem Präparat zurückgekehrt, welches örtlich angewendet wird und eine Mischung aus Phenol liqu., Thymol, Menthol und Pellidol ist. Aus der Zusammensetzung zeigt sich die therapeutische Wirkungsweise. Ich kann jedoch ehrlich sagen, daß ich dieses Präparat seit einem Jahr kein einziges Mal mehr verwendet habe. Der Grund dafür war, daß sich mir das Neyparadent eindeutig überlegen gezeigt hat. Außerdem ist es im Gegensatz zu meinem alten Mittel so überaus schonend bei der Anwendung, daß man es dem Patienten ohne weiteres zur entsprechenden Selbstbehandlung überlassen kann. Bei der Charakterisierung dieses neuartigen zytoplasmatischen Präparates möchte ich zwei bekannte Begriffe aus der biologischen Medizin heranziehen. Aus der Homotoxinlehre nach RECKEWEG ist als erstes die sogenannte regressive Vikariation bekannt. Aphten stellen im Sinne der Homotoxinlehre eine Reaktionsphase dar. Bei der intensiven Touchierung des erkrankten Bezirkes mit dem unverdünnten Neyparadent kommt es regelmäßig zu einer Blutung. Man hat dabei eigentlich immer den Eindruck, als ob sich der bestehende pathologische Prozess unter dieser Blutung - homotoxinmäßig eine Exkretionsphase - weitgehend aufgelöst hat. In diesem Zusammenhang sei bemerkt, daß andererseits Neyparadent im Sinne einer Bivalenz hervorragend blutstillend wirkt. Ich konnte dies laufend bei vielen traumatischen Läsionen des Zahnfleisches, welche in der Praxis bei allen Präparationsmaßnahmen auftreten können und bei Vital-Pulpenbehandlung feststellen.

Bei dem zweiten Begriff meine ich das Sekundenphänomen der Neuraithérapie. Ähnlich wie bei diesem verschwindet bei den Aphten nach der Behandlung mit Neyparadent fast immer schlagartig der Schmerz, welcher meist erheblich und ausstrahlend ist und die betroffenen Patienten sehr beeinträchtigt. Diese sind sehr dankbar dafür, wenn man ihnen zeigt, wie sie sich durch Betupfen der Aphten mit Wattestäbchen bei multiplen Auftreten auch immer schnell selbst helfen können. Gerade bei den chronisch-rezidivierenden Aphten ist ein Präparat wie das

Neyparadent gar nicht hoch genug einzuschätzen, obwohl man bei diesen Fällen sicher auch an die allgemeine Beeinflussung der Konstitution derartiger Patienten denken muß.

Ähnlich günstig zu beurteilen ist der Einsatz des Neyparadent beim Herpes labialis. Die Wirkung tritt nicht so schlagartig auf wie bei den Aphten, aber die Abheilung erfolgt doch auffallend schnell. Wesentlich sind meines Erachtens auch die Erfahrungen, welche ich mit dem Neyparadent bei einigen schweren Parodontosefällen machen konnte. Es handelte sich dabei durchweg um Fälle, bei denen nur noch eine Extraktionstherapie in Frage kam. Aus verschiedenen Gründen war jedoch die temporäre Erhaltung der betreffenden Zähne erwünscht. Dabei sind neben der direkten Applikation des Mittels in die pathologischen Taschen Spülungen sehr günstig. Die Patienten gaben übereinstimmend an, seit der Anwendung des Neyparadent vor allem ein wesentlich besseres Gefühl in Hinsicht auf den vorher bestehenden schlechten Geschmack und den damit verbundenen Mundgeruch zu haben. Die Lösung wirkt also günstig auf die infolge der chronischen Entzündung bestehende Sekretion ein und bietet sich daher als unterstützende Medikation auch bei jeder vorbeugenden Parodontosebehandlung an, wobei natürlich auf die üblichen schulmäßigen Behandlungsmaßnahmen nicht verzichtet werden kann. Ähnlich günstig wie bei den eben beschriebenen Behandlungsmaßnahmen ist die Beeinflussung der entzündlichen Erscheinungen bei dentitio difficilis vor allem der unteren Weisheitszähne. Dabei wird in der Praxis dem Patienten ein mit Neyparadent getränkter Gazestreifen eingelegt. Die Nachbehandlung zu Hause kann, je nach Geschicklichkeit der Patienten, durch Betupfen des entzündeten Bereichs oder durch Spülungen erfolgen. Genauso wird bei allen banalen Gingivitiden verfahren, auf die ich nicht näher eingehen muß. Die gute blutstillende Wirkung trägt in diesen Fällen sicher zu den Behandlungserfolgen bei. Dieses Merkmal des Neyparadent habe ich bereits vorher bei den artefiziellen Zahnfleischverletzungen erwähnt.

Eine weitere iatrogene Indikation sind die durch Prothesendruckstellen auftretenden Dekubitus-Stellen. Diese sind in ihrem Erscheinungsbild häufig den Aphten sehr ähnlich. Entsprechend schnell ist dabei auch dann die Schmerzlinderung. Natürlich müssen zur dauernden Beschwerdefreiheit in solchen Fällen die Prothesen entsprechend berichtigt werden. Aber auch die alleinige Applikation von Neyparadent bringt für die betroffenen Patienten (oft ist ein kurzfristiges Aufsuchen des Zahnarztes nicht möglich) eine große Erleichterung. Es ist daher das Mittel der Wahl speziell in der Eingewöhnungsphase von Prothesen. Die Selbstapplikation ist in solchen Fällen sehr einfach: Die fast immer an den zahnlosen Kieferteilen gelegenen Dekubitus-Stellen sind leicht zu erreichen und werden mehrmals täglich mit dem tinverdünnten Neyparadent ausgiebig betupft. Dabei tritt die schmerzlindernde und abschwellende Wirkung am besten ein.

Das Neyparadent wurde bei den angegebenen Indikationen im vergangenen Jahr in etwa 200 Fällen angewendet. Der Erfolg war immer so gut, daß ich meinen Kollegen nur empfehlen kann, dieses hochinteressante Mittel in der Praxis zu erproben. Wahrscheinlich läßt es sich auch noch bei anderen Indikationen unseres Faches, vor allem auch im chirurgischen Bereich einsetzen. Es muß auch gesagt werden, daß ein nicht zu übersehender Vorteil die örtliche Anwendungsmöglichkeit ist. Mit den beim Neypulpin notwendigen Injektionen ist das bei einer nicht unerheblichen Zahl von Patienten aus psychologischen Gründen schwierig; einer Touchierungsbehandlung stimmen aber auch überempfindliche zu. Auch hält sich der Preis im Rahmen, so daß es auch in der Kassenpraxis keine Beanstandungen geben dürfte.

Diskussion

U. DERBOLOWSKI: Auch der Pruritus ist eventuell durch eine psychiartrische Diagnose zu belegen. Im vorigen Jahr habe ich darauf hingewiesen, daß das Neyparadent auch bei anderen Schleimhauterkrankungen wirkt. Ich möchte anregen, weitere Indikationsgebiete für das Neyparadent zu überprüfen, beispielsweise beim Sonnenbrand, wie es THEURER empfiehlt.

Indikationen und Ergebnisse der Anwendungen zytoplasmatischer Substanzen in der Veterinärmedizin

Von H.STROBEL, München, P.ARTMEIER und I.KÜHN, Augsburg,
S.BARTHOLD, Hamburg und G.AMBRONN, Schöningen.

Zusammengestellt von H.KRAFT, München

Von der Anwendung zytoplasmatischer Substanzen im Zusammenhang mit der Verabreichung muskelreizender Stoffe und der Beeinflussung von Laborwerten (Hämatokrit, Blutbild, Enzymaktivitäten im Serum von Transaminasen, CK, GLDH, SDH) berichtet STROBEL. Seine Untersuchungsergebnisse interpretiert er so: Beim gesunden Hund bewirkt damit die Verabreichung von Dilutionen und Trockensubstanzen zytoplasmatischer Provenienz keine Veränderungen der Serumenzymaktivitäten, des Hämatokrit», der Blutkörperchensenkung, der Leukozytenzahl sowie weiterer klinischer Parameter. Änderungen des Differentialblutbildes innerhalb des physiologischen Bereiches, im Sinne einer Zunahme der Lymphozyten, können möglicherweise als Stimulation des Immunsystems interpretiert werden. Während der Versuche traten keinerlei Unverträglichkeitsreaktionen auf, auch nicht bei Hunden, die während der Vorversuche bereits mit Trockensubstanzen vorbehandelt worden waren.

Während bei der Kontrollgruppe nach Traumatisierung der Muskulatur durch die Injektion ätherischer Öle ein Anstieg der Kreatinkinase bis über 400 mU sowie eine Steigerung der GOT (AST) -Aktivität über den Normbereich hinaus auftraten, waren in der Versuchsgruppe (Verabreichung von je 2 ml Dil. Nr. 96 an 3 aufeinanderfolgenden Tagen) deutlich geringere Steigerungen sowie eine frühzeitige Normalisierung der CK- und GOT-Aktivitäten zu verzeichnen. Dieses Ergebnis ist statistisch abgesichert

Die Serumenzymaktivitäten von GPT und GLDH wiesen in keiner der beiden Gruppen signifikante Abweichungen gegenüber den Ausgangswerten auf.

Die besprochenen Versuche zeigten einerseits, daß eine Beeinflussung klinischer Parameter durch die Verabreichung zytoplasmatischer Substanzen beim gesunden Hund nicht auftritt. Die Ver

änderung des weißen Blutbildes im Sinne einer Zunahme der Lymphozyten sollte weiter untersucht werden. Eine in diesem Zusammenhang erfolgte Stimulation des Immunsystems durch zytoplasmatische Substanzen ist möglich, wie auch aus Arbeiten von MAYR und BUSCHMANN hervorgeht. Die Verminderung der Serumkreatinkinase-Aktivität nach Traumatisierung der Muskulatur und gleichzeitiger Verabreichung zytoplasmatischer Substanzen kann, mit Vorbehalt, als muskelschützende Wirkung angesehen werden.

ARTMEIER und KÜHN haben in einem Zeitraum von 5 - 8 Jahren 151 Patienten mit zytoplasmatischer Therapie behandelt und die Ergebnisse ausgewertet. Davon entfielen 77 Fälle auf Tumorrezidivprophylaxe, 53 auf den Daekellähmekomplex und 21 auf die Geriatric.

Bei 27 Adenokarzinomen der Mamma lag das Durchschnittsalter der Hunde bei 9,4 Jahren (3-14 J.). In mehr als einem Drittel der Fälle (8 von 27) kam es zu keiner Rezidivbildung. Bei den restlichen 19 Hunden wurden im Durchschnitt 15[»] Monate danach wieder Rezidive beobachtet. In 7 Fällen traten mehrfach postoperativ Rezidive auf (einmal 4, einmal 3 und fünfmal 2). Die mittlere Überlebenszeit war 3 Jahre (4-66 Monate), das durchschnittliche Endalter 13,1 Jahre (8-16 J.) .

Hinsichtlich der 34 Patienten mit malignen Mischtumoren der Mamma konnten folgende Feststellungen getroffen werden: Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 9,1 Jahren (2-14 J.). Ein Drittel der Behandelten blieb rezidivfrei (10 von 34). Bei den restlichen 24 Hunden traten 32mal Rezidive auf in einem durchschnittlichen Zeitraum von 12,9 Monaten (1-3[^] Monaten). Zu wiederholter Rezidivierung kam es 6mal (in einem Fall 3mal, in fünf Fällen 1mal).

Die mittlere Überlebenszeit betrug 32 Monate, die noch lebenden Tiere einbezogen, sogar 34 Monate. Dabei lag die Streuung zwischen 2 und 72 Monaten.

Hinsichtlich maligner Tumoren anderer Lokalisation betrug das Durchschnittsalter 9,9 (6-13) Jahre. Ohne Rezidiv blieb rund ein Drittel (6 von 16 Fällen). Die Durchschnittszeit bis zur Rezidivbildung oder erkennbaren Metastasenbildung der restli-

chen Tiere lag bei nur 4 Monaten. Ebenso lag die Überlebenszeit mit 14 Monaten und das erreichte Endalter mit 10,4 Jahren wesentlich niedriger als bei den Mammatumoren. Histologisch wurden folgende Tumorarten diagnostiziert: maligne Melanome (2), Osteosarkom (1), Sarkom (1), Polymorphzellsarkom (1), Spindelzellsarkom (1), Fibrosarkome (2), Sertolizelltumor mit Seminom und Prostataatumor (1), Karzinolipom (1), Karzinome der Schilddrüse (3), indifferentes Karzinom des Kiefers (1), anaplastisches Karzinom (1), maligner Mastzellentumor der Lippe (1).

Die Erfahrungen der Autoren hinsichtlich postoperativer Anwendung zytoplasmatischer Substanzen ergibt, daß bei Mammakarzinomen eine Überlebenszeit von 39,3 Monaten und eine Rezidivierungszeit von 15 Monaten beobachtet wird, was etwa der fünf- bis zehnfachen Zeit der Angaben in der Literatur entspricht. Ebenso gut sind die Resultate bei den malignen Mischtumoren mit 32 Monaten Überlebenszeit und 13 Monaten Rezidivfreiheit. Bei den Tumoren anderer Lokalisation blieben immerhin ein Drittel rezidivfrei. Die schlechten Ergebnisse der restlichen Gruppe beruhen vor allem auf der häufig nicht vollständig durchführbaren chirurgischen Entfernung sowie einer ausgeprägten Neigung zur Metastasenbildung bei manchen dieser Tumoren. Die postoperative zytoplasmatische Nachsorgebehandlung bei bösartigen Tumoren des Hundes hat sich nach 15jähriger Erfahrung gut bewährt; Unverträglichkeitserscheinungen sind nie aufgetreten.

BARTHOLD hat seine Beobachtungen in Tab. 1 zusammengefaßt, die hier zusammen mit der Indikationstab. 2 wiedergegeben werden. Der Autor sieht in seiner Praxis die erfolgreichsten Anwendungsgebiete in der Geriatrie bzw. bei Erkrankungen, "die konventionell therapieresistent sind".

Tab. 1:

Indikation	gesamt	sehr gut	gut	mäßig	schlecht
Geriatric	19	15	1	2	1
Herz	12	3	3	2	4
Leber	14	5	4	4	1
Diabetes mellitus	2	-	-	-	2
Dackellähme	8	2	4	-	2
Lahmheiten div.	4	1	-	1	2
zentr. nerv.Krankh.	6	4	-	1	1
Prostata	9	9	-	-	-
Auge	10	1	5	-	4
Gehör	2	1	-	1	-
rezidiv. Fieber	1	-	-	-	1
riss. Nasenspiegel	1	1	-	-	-
Pruritus	8	4	2	1	1
Tumoren	12	5	-	1	6
Tumoren, Vögel	7	5	-	1	1
Lähmungen, Vögel	3	2	-	-	1
insgesamt:	118	58	19	14	27

Tab. 2:

Indikation	Präparat
Geriatric	Trs 64B, 35 (tf) , 71 (}) Dil. 64, 70, 35, 26 Ling. 64 NeyGeront-Vitalkapseln
Herz	Trs 6, 42, 64B Dil. 6, 64
Nieren	Trs 42, 63 Dil. 7, 63
Leber	Trs 45, 61 Dil. 26, 61
ZNS	
Schlaganfall	Dil. 64, 70
Nachhandschwäche	Dil. 64, 43, 68
Dackellähme	
akut	Dil. 26, 65 Dil. 70
atonisch	
Prostata	Trs 35
Linsentrübung	Trs 40 Conjunctisan A
Gehör (Alterstauheit)	Trs 38, 64B
riss. Nasenspiegel	Dil. 65 Trs 65

noch Tab. 2:

Indikation	Präparat
Pruritus sine materia	Dil. 5, 65 - GS - Trs 16 (<?) , Trs 21 (\$)
Tumor-Nachbehandlung	Dil. 66, Trs 66, Ling. 66
kümmernde Welpen	Dil. 64
Allg- Abwehrstärkung	Dil. 65
Vögel:	
Tumoren	Dil. 66 i.m. und peroral
Lähmungen	Dil. 26 i.m. und peroral

Schließlich liegt von AMBRONN ein kasuistischer Beitrag über Behandlungsergebnisse von Mammatumoren und Katarakten bei Hunden vor. Nach Ansicht des Autors hat die konservative Methode der Tumorbehandlung mit Neytumorin den Vorteil, Metastasierungen, die häufig nach chirurgischen Eingriffen auftreten, einzudämmen. Nebeneffekt dieser Behandlung ist eine, auch von den Tierbesitzern immer wieder bestätigte, Revitalisierung des Patienten. Die Vitalisierung, die sicher auch bestimmte Einflüsse auf den Abwehrmechanismus des Körpers hat, ist mit vierwöchigen Injektionen besser zu erzielen, als mit einer einmaligen Applikation von Trockensubstanzen.

Alle Patienten des letzten Jahres, die neu vorgestellt wurden, insgesamt 14, und nur ein Knötchen hatten, wurden nur mit Neytumorin und nicht operativ behandelt. Bei vier wurden Metastasen in Hirsekorngröße festgestellt. Trotzdem wurde die konservative Behandlung fortgeführt. Selbst solche Fälle sollten nach Meinung des Autors noch nicht chirurgisch angegangen werden, um eine verstärkte Metastasierung zu verhindern.

Bei einigen Fällen mit chronischem Katarakt der Linsen, die zur Blindheit auf einem oder beiden Augen geführt hatte, wurde, wegen der guten Erfolge, Conjunctisan A und B eingesetzt. Sämtliche Patienten waren vorher schon anderweitig erfolglos behandelt worden. Als Initialdosis wurde Conjunctisan B in kleinen Depots um das Auge injiziert, der Rest der Packung zur zweimal täglichen Einträufelung mitgegeben. Außerdem wurde im Abstand von acht Tagen dreimal Dilution Nr. 58 (föt. Auge) intramuskulär

gegeben. Im Anschluß daran wurde die gleiche Behandlung wie mit Conjunctisan B mit Conjunctisan A wiederholt.

Die Patienten reagierten vor der Behandlung überhaupt nicht auf Lichtreize. Nach der Behandlung kam es auf Lichtreize spontan zum Pupillenreflex. Die Trübungen waren nicht mehr so intensiv und die Einlagerungen kleiner geworden. Im Hellen zeigten die Tiere, die sich sonst nur nach Gcruch orientieren konnten, eine deutlich bessere Orientierung.

Anmerkung des Referenten:

Die Originalia sind in Heft (_3/1981) der "Erfahrungsheilkunde" nachzulesen.

Diskussion:

R. HEURER: Nachdem ich seit 15 Jahren mit der Zytoplasmatischen Therapie arbeite, möchte ich fragen, welcher Altersgruppe Ihre Prostata-Patienten angehören, waren es ältere oder jüngere Tiere, Herr Kollege BARTHOLD? Herr BARTHOLD: Ältere Tiere. Herr HEUER: Ältere? Ich habe immer wieder festgestellt und dies auch in früheren Referaten zum Ausdruck gebracht, daß es in erster Linie jüngere Tiere sind, die mit Prostata-Hypertrophien anzutreffen sind.

Auch zu den Mamma-Tumoren möchte ich kurz Stellung nehmen. Vor acht Jahren habe ich an derselben Stelle über eine 13jährige Daekelhündin mit Tumoren berichtet, die zytoplasmatisch behandelt wurde. Einzelne Tumoren gingen eindrucksvoll zurück, andere wuchsen hingegen weiter. Aufgrund langjähriger Erfahrungen stehe ich auf dem Standpunkt, zunächst chirurgisch vorzugehen und dann hinterher mit NeyTumorin nachzubehandeln. Dadurch stellen sich wesentlich weniger Rezidive ein, wie auch Herr Kollege ARTMEIER feststellen konnte.

Ich möchte noch eine weitere Anregung geben: Bei den epileptiformen Anfällen unserer Hunde, die gar nicht so selten sind, sind wir meistens ziemlich hilflos. Ich habe oft die Beobachtung gemacht, daß sich nach Einsatz der Dilution 98 die Anfälle in wesentlich größeren Zeitabläufen abspielen. In einigen Fällen sind seit Jahren sogar überhaupt keine Anfälle mehr aufgetreten. Ich möchte deshalb anregen, dieses Indikationsgebiet durch größere Fallzahlen statistisch weiter abzusichern. Vor Jahren hatte ich auch angeregt, den Kryptorchismus von Boxern mit Dilution 16 zu behandeln. Haben andere Kollegen unter dieser Dilution ein Herabsteigen der Hoden in den Hodensack feststellen können?

H.KRAFT: Die Ursache des epileptiformen Anfalls ist natürlich vielfältig. Ich möchte Sie deshalb bitten, die Differentialdiagnose immer sehr genau zu berücksichtigen. Sicher ist jedoch die Zytoplasmatische Therapie bei allen möglichen epileptiformen Anfällen wirksam.

G.KNECHT: Auch wir haben bei epileptiformen Anfällen die Dilution Nr. 98 eingesetzt und sind zu besonders guten Ergebnissen gekommen, wenn zunächst gegensensibilisiert wurde. Das vielleicht zur Anregung! Auch aus der Systematik der Erkrankung heraus, ist die Anwendung der Gegensensibilisierung anzuraten. Mir ist aufgefallen, daß bei Lactatio falsa oder sine graviditate sehr viel mit Gestagenen gearbeitet wird. Auf die Dauer kommt man sehr gut weiter, wenn dafür Epiphyse (REVITORGAN Nr. 23) und Totalovar (REVITORGAN Nr. 17) eingesetzt werden.

P.SCHWARZ: Diese vielen Sarkome bei den älteren Tieren sind sehr auffallend. Beim Menschen treten doch vergleichsweise selten Sarkome auf. Wie ist das zu erklären?

H.KRAFT: Es gibt Statistiken über diese Problematik. Bestimmte Hunderassen, beispielsweise Boxer, sind ausgesprochen anfällig für Sarkome.

K.THEURER: Bezüglich der Tumorbehandlung schlage ich vor, initial Trockensubstanz Nr. 1 oder Nr. 26 intramuskulär zu injizieren und diese Behandlung nach 4 Tagen nochmals zu wiederholen. Erst anschließend sollten dann Dilutionen gegeben werden. Vielleicht könnte man hier aus den Lingualpräparaten - unter sterilen Kautelen versteht sich - direkt durch den Tropfeinsatz die erforderliche Injektionsmenge entnehmen. Das würde eine wesentliche Preisvergünstigung der Therapie in der Veterinärmedizin bedeuten. Die Lingualpräparate entsprechen der Stärke der üblichen Dilutionen und haben keine Zusätze, die irgendwie nachteilig wirken könnten. Es ist nur wichtig, daß die Lösung steril entnommen wird.

In der Tumorthherapie ist folgendes noch ganz entscheidend: Ist ein Tumor vorhanden, beruht dieser primär auf einer Disposition, vielleicht sogar einer genetischen Disposition. Die Rezidivneigung ist deshalb permanent vorhanden, wie bei einer chronischen Krankheit. Eine einmalige Therapie reicht dann nicht aus, sondern die Therapie sollte in Abständen von einem halben Jahr oder kürzer wiederholt werden, wobei Sie auch Trockensubstanzen einsetzen können.

Zur Frage der epileptiformen Krampfleiden: Hier ist es ganz wichtig, intensiv zu behandeln. Sie können mit Dilution 23 anbehandeln und später direkt aus den Fläschchen Lingual Nr. 98 (NeyCalm) weitere Injektionsmengen entnehmen.

H.KRAFT: Hier liegt noch eine schriftliche Anfrage wegen der Keratitis pigmentosa vor. Diese kann im Primärstadium durch operative Maßnahmen, durch Abtragen des Gewebes in Narkose mit dem scharfen Löffel, beseitigt werden; danach folgt üblicherweise eine Glukokortikoid-Behandlung. Immer wieder jedoch kommt es zu Rezidiven. Gelingt es mit der Zytoplasmatischen Therapie, Rezidive zu verhindern, die üblicherweise nach 1/4 bis 1/2 Jahr wieder auftreten?

•THEURER: Bei allen proliferativen Vorgängen, von der Psoriasis angefangen bis hin zur Pannusbildung beim Rheumatismus im Gelenk, empfehle ich NeyTumorin (Dilution Nr. 66). Diese Dilution können Sie auch ohne weiteres bei Augenerkrankungen geben.

n liehe Dilutionen werden einwandfrei vertragen. Da hier lokale Vorgänge eine besondere Rolle spielen, sollten Sie unbedingt auch lokal handeln.

Anw ort: Bei der Keratitis pigmentosa haben wir durch die Anwendung von Conjunctisan keinen Effekt erzielt. Läßt sich der

therapeutische Effekt mit der Gegensenibilisierung verbessern und welche Organdilutionen kämen darüber hinaus noch in Frage?
 K. THEURER: Bei proliferativen Prozessen spielen nicht allein entzündliche Prozesse eine Rolle, die man mit Conjunctisan B sehr günstig beeinflussen kann. Chronische Entzündungen erfordern natürlich auch die Umstimmung des Gesamtorganismus. Neben der lokalen Behandlung spielt also auch die systematische Behandlung eine wichtige Rolle.

Hier können Sie Nebenniere in Form der Trockensubstanz spritzen. In der Humanmedizin hat sich dieses Präparat gerade bei solchen chronischen Augenerkrankungen, wo die Entzündungstendenz stark ausgeprägt ist, sehr gut bewährt. Bekanntlich dämpfen Kortikoide die Entzündungs- und überschießende Reaktionstendenz.

U. SCHLOSSAREK: Die von Prof. THEURER angeregte Tumorthherapie mit Trockensubstanzen Nr. 1 (fötale Leber), Nr. 26 (adulte Leber) am 1., k. und 11. Tag habe ich nachgeprüft und zwar in der doppelten Dosis. Das heißt, beim kleinen Hund, wo wir früher eine halbe Trockensubstanz gegeben haben, applizieren wir nunmehr eine und beim großen Hund zwei Trockensubstanzen. Trotzdem muß man Geduld haben, weil der Erfolg oft erst nach 3 Wochen, aber dann sichtbar, eintritt.

Die Nr. 1 ist auf jeden Fall stärker wirksam, verglichen mit Nr. 26. Bekommt man auf die Nr. 1 stärkere Hyperämien oder Durchblutungen im Tumorgebiet, sollte das nicht weiter beunruhigen. In diesem Fall setzt man gleich die nachfolgenden Injektionen. Von den Leberpräparaten sollte dann allerdings nur die Nr. 26 nachgespritzt werden und nicht mehr die Nr. 1.

P. SCHWARZ: Vorhin ist die Frage angeklungen, welcher Injektionsart bei der Gegensenibilisierung der Vorzug zu geben ist. Der grundsätzliche Unterschied besteht darin, daß bei der intrakutanen Injektion Rötungen auftreten können, bei der subkutanen Injektion hingegen keine. Demgegenüber ist die Kontrollfähigkeit bei der subkutanen Injektion in der Humanmedizin nur durch die indirekte Aussage des Patienten gegeben. Bei der intrakutanen Injektion haben Sie dagegen die direkte Kontrollfähigkeit über die Hautrötung. Hinzu kommt noch die Aussage beim Menschen mit Angaben, wie "ich bin verwirrt" oder "ich habe keinen guten Schlaf gehabt". Offensichtlich erfaßt die intrakutane Injektion noch psychische Bereiche, die bei der subkutanen Injektion der Gegensenibilisierung nicht so zum Tragen kommt.

G. AMBRONN: Ich gehe davon aus, daß ein vorhandener Tumor vom gesunden Gewebe irgendwie abgegrenzt ist. Im dem Moment, wo ich schneide, durchbreche ich unter Umständen einen Schutzwall und induziere damit Metastasen. Bleibt dieser Schutzwall bestehen, habe ich möglicherweise mehr Chancen mit der konservativen Therapie. Da ich diese Patienten alle k Wochen wiedersehe und laufend behandle, verspreche ich mir dadurch einiges. Wie nun die Ergebnisse sein werden, wird man erst in einigen Jahren sehen. Trotzdem werde ich versuchen, diese Tumoren nicht mehr zu schneiden, sondern eher konservativ vorgehen.

K. THEURER: Darf ich darauf hinweisen, daß es wünschenswert ist, Tumoren im Gesunden zu extirpieren.

G. AMBRONN: Genau das meine ich! Aber wie wollen Sie im Grunde genommen festlegen, daß Sie nur im gesunden Gewebe waren? Da müßten Sie ja jedesmal die ganze Mammaleiste herausnehmen, und das widerstrebt mir doch ein wenig.

p. ARTMEIER: Man sollte keinesfalls während der Scheinträchtigkeit operieren, sondern etwas warten. Dann sind die Erfolge günstiger, als wenn man zu irgendeinem beliebigen Zeitpunkt operiert. Ist bereits die Haut infiltriert, kann man davon ausgehen, daß lymphogene Metastasen vorhanden sind. In diesem Fall sind die therapeutischen Chancen weit geringer. Ich halte es deshalb für besser, lieber früher zu operieren, aber gleichzeitig jedoch den günstigsten Zeitpunkt der Operation auszuwählen.

K. THEURER: Ich glaube, das war eine ganz entscheidende Anregung, auch für die Humanmedizin!

Round - Table - Diskussion

Prof. THEURER, Dr. DERBOLOWSKY, Dr. FLASKAMP, Dr. KLÜTER,
Dr. PLOHBERGER, Dr. SCHWARZ und Dr. WIRSAM

U. DERBOLOWSKY: Wie wir auf verschiedenen Ebenen der wissenschaftlichen Sprache gehört haben, sind alle lebendigen Funktionen "Antwortprozesse". Die Organe, die wir haben, sind Funktionen; sie tragen nicht nur Funktionen, sie sind die Leibgestalt von Funktionen. Und Funktionen gibt es nur als Antwortprozesse. Dort, wo nicht geantwortet werden kann, kommt es zur Dystrophie, zur Atrophie und zum Tod. Aus diesem Grunde sind unsere biologischen Therapieformen alle darauf ausgerichtet, den beeinträchtigten Zellen und Organen das Antworten wieder zu ermöglichen.

Normergie ist Ausdruck einer normalen Antwort. Pathergie, sei sie nun hyp- oder hyperergisch, ist eine Fehlform des Antwortens. Unsere Therapien erfolgen häufig in zwei Schritten: Zunächst kommt es darauf an, überhaupt Antwortprozesse auszulösen, also lebenswichtige Vorgänge wieder in Gang zu bringen: Das Gespräch mit der Zelle, das Gespräch mit dem Zellverband, das Gespräch mit dem Organ, das Gespräch mit den Organprovinzen - wie VOGLER das genannt hat - wird aufgenommen. Der zweite Schritt erfolgt indikationsgemäß in verschiedene Richtungen. Die Hyperergien, das sind die überschießenden Antworten, müssen abgebaut und beruhigt werden. Auf der anderen Seite, wo Müdigkeit und Schläffheit, Erschöpfung und Beschädigung das Antworten erschweren, müssen wir versuchen, das "Schwache" zu wecken, dem Beschädigten beizustehen, die Regeneration zu fördern, um so das Antworten zu erleichtern und zu stärken.

AUDITORIUM: Ich möchte gleich an die Ausführungen von Herrn DERBOLOWSKY mit einem sehr konkreten therapeutischen Vorschlag anknüpfen. Häufig kommen zu uns neurotisch hysterische

Patienten, vor allen Dingen Patientinnen. Hier führt der Einsatz der gegengeschlechtlichen Hormone zu einer auffälligen Entkrampfung der isolierten Situation, in der sich diese Menschen befinden, ohne eine Antwort auf ihre spezifische Krankheitssituation zu bekommen. Es empfiehlt sich deshalb. Patientinnen mit einer Fülle angegliederter Symptome durchweg Androsteron zu verordnen, um sie von der physischen Seite aus ihrer Isolierung herauszuführen. Meinen positiven Erfahrungen gingen viele Testungen voraus. Ich weiß nicht, ob Herr DERBOLOWSKY auch schon Erfahrungen darüber gesammelt hat, die Antwortlosigkeit dieser Patienten von der hormonellen Seite her mit der zytoplasmatischen Therapie zu lösen und zu lockern.

U. DERBOLOWSKY: Es gibt zahlreiche Möglichkeiten, psychosomatische Erkrankungen mit der zytoplasmatischen Therapie zu behandeln. Bei nahezu allen psychischen Störungen, d. h. Störungen im Umgang mit sich selbst, wenn ein Mensch verspannt ist, bissig oder aggressiv reagiert, können sexuelle Spannungen zugrunde-liegen. Das entspricht der klassischen FREUDSchen Vorstellung, etwa von den Aktualneurosen. Wenn dem Konflikt eines Menschen sexuelle Frustrationen zugrunde-liegen, die der Betreffende nicht bewältigen kann, und die er in seinem Alltag auf verschiedene Weise abreagiert, dann wirkt Präparat Nr. 23 (Epiphyse) nach meinen Erfahrungen Wunder. Auch NeyCalm (Dilution Nr. 98) enthält u. a. Epiphyse und ist hier indiziert.

Selbst Schlafstörungen können in dieses Gebiet fallen. Hängen Schlafstörungen mit einer "Hyper-Situation" auf dem libidinosen Gebiet zusammen, erweist sich die Nr. 23 als ausgesprochen hilfreich; die Applikation führt zu einer Dämpfung dieses Sektors. Die Dämpfung führt dann dazu, daß auch die sekundären Auswirkungen, die Schlafstörung, die Verhaltensstörung, die sogenannten hysterischen Störungen, nachlassen.

AUDITORIUM; Was heißt "hysterische Störung"? Im allgemeinen gesellschaftlichen Sprachgebrauch wird das immer noch als Schimpfwort benutzt.

U. DERBOLOWSKY: Wir verstehen unter hysterischen Störungen einen überwertigen Signalwert von Äußerungen. Wenn ein Kind sich gestoßen hat, schreit es. Die Mutter kommt und sagt: "Es ist ja alles halb so schlimm!" Das Kind schreit weiter. Warum schreit es weiter? Weil es signalisieren will: "Ich habe Schmerzen, nimm mich doch ernst!" Nimmt die Mutter das Kind ernst und sagt zu ihm: "Ja, du hast dich gestoßen, wo ist denn der Stein? Ach, da ist er! Komm, den hauen wir mal!" Dann fühlt sich das Kind sofort in seinem Signalanliegen verstanden und hört auf zu schreien. Ähnlich verhält es sich mit Hunger, Sexualität, Müdigkeit usw. Sobald wir uns ausreichend verstanden fühlen, überhöhen wir den Signalwert unserer Ausdrucksmittel nicht, überhöht ein Mensch aber den Signalwert seiner Ausdrucksmittel dauernd, bezeichnet man das als hysterisch. Liegen überhöhte libidinöse Spannungen zugrunde, nehme ich die Nr. 23> liegen libidinöse Insuffizienzen vor, gebe ich beim Mann die Nr. 16 und bei der Frau Nr. 17 (Ovar) oder 20 (Nebenniere).

Sind Schuldgefühle im Spiel, so daß der Betreffende anfängt, sich dauernd in Argumentationen über länger zurückliegende Vorkommnisse zu verlieren - was ja in der Auseinandersetzung solcher klimakterischen und hysterisch "getönten" Dinge nicht ganz selten ist - dann bevorzuge ich Nr. 7 (Niere). Schon von Alten Testament her kennt man "die Prüfung auf Herz und Nieren". Schuldgefühle und Depressionen haben nicht immer nur etwas mit dem Herzen und dem Kreislauf zu tun, sondern eben merkwürdigerweise auch etwas mit dem uropoetischen System. Gibt man Niere, Stärke 11, beobachtet man oft, daß z. B. aus einem depressiven Zustandsbild, das insgesamt sehr facettenreich ist, plötzlich Schuldgefühle, die vorher deutlich zu sehen waren, nachlassen.

K. THEURER: Ich sehe durchaus Verbindungen zwischen "Herz und Niere" und dem Gefäßsystem. Bezüglich des Herzinfarktes wird heute die Spasmentheorie favorisiert. Nach neuerer Theorie liegen dem Herzinfarkt weniger thrombotische oder arteriosklerotische Ursachen zugrunde, sondern akute Spasmen.

Bei psychischen inneren Verkrampfungen ist oft das gesamte Gefäßsystem mitbetroffen. Es kann sogar zu einer echten hypertonen Krise durch Stresssituationen kommen.

Beispielsweise kann eine nächtliche Überfüllung der Harnblase u. U. vegetative Störungen bis hin zum Schüttelfrost auslösen. Bei Prostatikern, bei denen keine vollkommene Blasenentleerung mehr möglich ist, könnte das auch mit eine Ursache für die vegetativen und psychischen Veränderungen sein, die man bei solchen Patienten häufig vorfindet. Oft muß man also nur an einfache Dinge denken, um regulierend einzugreifen.

Bei Frauen beispielsweise spielt die Wechselwirkung im Zyklus von Gelbkörper und Oestrogen eine ganz entscheidende Rolle. Es gibt Patientinnen, die sowohl eine Gelbkörper-Insuffizienz haben, als auch eine Hyperoestrogenie. Hier sollte man nicht laufend nur Gelbkörper geben, denn hier ist die Mengenrelation zwischen Oestrogen und Gestagen gestört. Hier sollte man nur während der Oestrogen-Überfunktion Gelbkörper geben, um die körpereigene Gelbkörpersynthese zu aktivieren. Im Grunde genommen geht es hier nicht darum, hormonell zu substituieren - wie es bei der Hormontherapie der Fall ist - sondern die Regulation der körpereigenen Synthese therapeutisch wieder in Gang zu bringen.

AUDITORIUM: Mit Dilutionen oder Trockensubstanzen?

K. THEURER: Für eine Dauertherapie empfehlen sich die Dilutionen. Mit Trockensubstanzen können Sie auch stoßweise therapieren. Bei Oestrogenabhängigen Tumoren kann die Applikation von Gelbkörper und jugendlichen Hoden (Nr. 19) wichtig sein, andererseits beim Prostata-Carcinom mit Ovar (Nr. 17). Die umstimmende Wirkung von Trockensubstanzen hält allgemein länger an. Der Effekt der Trockensubstanzen beruht nicht nur auf einer reinen Substitution, über die Trockensubstanzen werden auch indirekte Mechanismen ausgelöst, die länger anhalten: Immunologische Mechanismen, Regulationsmechanismen, Induktion, Differenzierung.

Wir wissen in der Immunologie heute noch lange nicht alles!
Wir können nur über das reden, was bekannt ist.
Die Erkennung von biologischen Phänomenen wiederum hängt dann von den angewandten Untersuchungsmethoden ab. Diese Untersuchungsmethoden sind oft noch sehr unempfindlich.

Herr MAURER: Herr Kollege KLÜTER, ich darf Ihnen für Ihre klaren Ausführungen über die Parodontopathien und deren Beeinflussung mit NeyParadent ganz herzlich gratulieren. Leider ist es so, daß wir an und für sich keine Parameter besitzen, inwieweit sich die Wirksamkeit eines Medikaments objektivieren läßt. Bei diesen aphthösen Erkrankungen hat man nun in der Zeit einen sehr guten Parameter. Aphthöse Erkrankungen heilen mit NeyParadent unheimlich schnell ab und brauchen weit weniger Zeit zur Heilung, verglichen mit allen anderen herkömmlichen Medikamenten.

Sie haben vorgetragen, daß NeyParadent auch bei einer Entzündungsbereitschaft der Gingiva geeignet sei. Nun kennen wir parodontal suffiziente und parodontal insuffiziente Gebisse. Es würde sich doch empfehlen, NeyParadent bei diesen insuffizienten Gebissen anzuwenden, um auf indirektem Wege eine Besserung der ganzen Knochenstruktur und des Parodontiums zu erreichen.

AUDITORIUM: Meine Frage ist an Herrn Prof. THEURER gerichtet: Warum verwenden wir neuerdings die GS erst nach den Dilutionen? Früher wurde prinzipiell zunächst mit der GS begonnen und erst später mit Dilutionen und Trockensubstanzen therapiert.

K. THEURER: Die GS ist eine aktive Methode. Sie wirkt durch Gegenreaktionen. Im Organismus wird eine Gegenreaktion durch das "verfremdete" Agen ausgelöst. Voraussetzung für eine Reaktion ist natürlich die Funktionsfähigkeit des Organismus. Bei einer chronisch-allergischen Erkrankung sind diese Reaktionsmechanismen zum Teil blockiert oder gestört. Durch die Organbehandlung wollen wir nun eine Umstimmung erreichen,

so daß der Organismus auf die Gegensensibilisierung ansprechen kann.

Es wird immer auf die Ausgangssituation ankommen. Eine Verallgemeinerung wäre fehl am Platze. Es geht immer darum, eine möglichst individuelle Therapie durchzuführen. So gibt es sicher Fälle, wo Sie allein mit der Gegensensibilisierung zum Erfolg kommen. Verallgemeinert kann man jedoch sagen: Wenn Sie so vorgehen, kann gar nichts passieren. Sie können eine Normalisierung gewissermaßen schon durch die Dilutionsbehandlung erreichen und die Gegensensibilisierung anschließend darauf aufbauen. Anschließend können dann ggf. die Organ-dilutionen wiederholt werden.

Im Grunde genommen sind es immer zwei Dinge, die bei der Allergie eine Rolle spielen: Erstens ist es die primäre Disposition zur Allergie, die man nur mit Organpräparaten behandeln kann; zweitens ist es der darauf aufgepfropfte Sensibilisierungsvorgang. Die Gegensensibilisierung ist nun eine aktive Methode durch Gegenreaktionen und die Organbehandlung eine Methode der Umstimmung. Die Konsequenz hieraus ist, daß Sie nach der Gegensensibilisierung ggf. nochmals mit Dilutionen oder Trockensubstanzen zur eigentlichen finalen Umstimmung behandeln sollten. Auch in der Wahl der Therapie, beispielsweise bei Pollinosen, können Sie im symptomfreien Intervall organotherapeutisch behandeln.

AUDITORIUM: Ich hatte hier vor allem den chronischen Rheumatismus, die PCP, im Auge. Aufgrund Ihres Behandlungsvorschlages vor zehn Jahren habe ich eine Patientin behandelt., die seitdem beschwerdefrei ist. Dortmals wurde mit GS begonnen, dann folgte das Hydrolysat, schließlich die Dilutionen; Trockensubstanzen wurden keine gegeben. Jetzt habe ich einen ähnlich gelagerten Fall. Hier hat der Wissenschaftliche Beratungsdienst folgendes vorgeschlagen: Dilutionen, GS und dann Trockensubstanzen. Der Rückgang der Senkung von 98/120 auf 90/28 war zwar erstaunlich, die Reihenfolge von Präparaten und Gegensensibilisierung war mir aber nicht ganz verständlich.

K. THEURER: Trockensubstanzen dürfen bei einer Autosensibilisierung oder bei einem primär-chronischen Organleiden üblicherweise nicht verabreicht werden, ausgenommen die Leber. Leber können Sie spritzen, weil das Zielorgan sehr groß ist und die Leber relativ große Reize verträgt. Es gibt also keine Gesetzmäßigkeit "so oder so". Will man jedoch auf Sicherheit gehen, sollte bei entzündlichen Organerkrankungen nicht das gleiche Organ mit Trockensubstanzen behandelt werden. Bei einer chronisch-entzündlichen Erkrankung empfiehlt sich zur Umstimmungsbehandlung und Zurückdrängung der Entzündung Nebenniere. Unter Umständen kann man auch Thymus oder Keimdrüsenpräparate geben, je nachdem, ob man hemmen oder aktivieren will. Grundsätzlich muß man sich die Organe, die innerhalb dieser antagonistischen Regulationen im Gleichgewicht stehen, vorstellen. Im Leitfaden finden Sie eine Zusammenstellung der verschiedenen Organe, die anabol, bzw. katabol oder vegetativ aktivieren, hyperergisieren und auf der anderen Seite dämpfend wirken. Das Prinzip des Antagonismus ist in der gesamten Therapie wichtig und muß Basis unserer Überlegungen sein. Wir müssen uns fragen, ist es ein entzündlicher Prozeß - und zur Entzündung gehört auch der chronisch-entzündliche, allergische Prozeß - ist es mehr ein degenerativer oder proliferativer Prozeß. Je nachdem wie die Antwort ausfällt, müssen wir die Organwahl treffen. Wir haben antiproliferative Substanzen, dazu gehört Epiphyse, dazu gehört Ney-Tumorin, Leber, vor allen Dingen aber auch der materne Anteil der Plazenta. Dann gibt es wiederum Präparate, die mehr proliferativ wirken, so z. B. Schilddrüse, Ovarfollikel (Oestrogen). Das Gestagenpräparat (Corpus luteum) wirkt der Proliferation entgegen. Praktisch ist auch die Allergie Ausdruck einer Proliferation, da sich die Lymphozyten im Immunsystem vermehren müssen. Es reicht nicht, daß die Zellen nur das antigene Agens erkennen, sie müssen sich dann auch vermehren.

Bei Frauen mit Hyperoestrogenie müssen deshalb bezüglich der Pille Konsequenzen gezogen werden. Es gibt eine Antikonzep-tion auf Oestrogenbasis und eine andere auf Gestagenbasis.

Bei Allergie erscheint eine Antikonzeption auf Oestrogenbasis kontraindiziert. Dagegen ist ein auf Gestagenbasis beruhendes Antikonzipiens eventuell sogar therapeutisch günstig.

Aus diesen Überlegungen ergeben sich Konsequenzen, die praktisch allgemein die Therapie betreffen.

Auch beim Tumorgeschehen spielen proliferative Vorgänge eine entscheidende Rolle. Hier muß die Therapie natürlich anti-proliferativ ausgerichtet sein.

AUDITORIUM: Die chronischen Polyarthritiker stehen ja meist unter Cortison oder kommen oft mit einer gerade auslaufenden Gold-Therapie in die Praxis. Wie kann ich mich am besten und in welchem Zeitraum mit Cortison ausschleichen? Ich habe gerade solch einen Fall. Die Patientin ist selbst Ärztin und traut sich nicht so recht, Cortison abzusetzen. Wie und wann sollte ich am besten aussteigen? Noch vor der Trockensubstanz? Dann, wenn Patienten mit einer Gold-Therapie zu uns kommen, welche Karenzzeit müssen wir abwarten, bis mit der zytoplasmatischen Therapie begonnen werden kann?

K. THEURER: Man muß sich immer fragen, welche Wirkungsmechanismen stehen zur Verfügung. Bei der Gegensensibilisierung ist es ein aktiver Mechanismus, eine aktive Immunisierung in unterschwelliger Weise. Folgedessen wird der Wirkmechanismus der Gegensensibilisierung ganz entscheidend durch Corticoide und durch Reaktionshemmer des Mesenchyms, blockiert. Will ich also mit Corticoiden ausschleichen, sollte dies nicht während der Gegensensibilisierung geschehen, weil diese unter der Corticoid-Therapie gar nicht richtig zur Wirkung kommen kann. Am besten schleicht man sich während der organbezogenen Dilutionsbehandlung aus, weil diese einen substitutionellen und induktiven Einfluß auf die Organfunktionen hat, der trotz Corticoidwirkung vorhanden sein kann. Ich kann vielleicht auch Trockensubstanzen vor Organen, die nicht direkt von allergischen Reaktionen betroffen sind, verabfolgen, beispielsweise Nebenniere zur Aktivierung des insuffizienten Organs und in dieser Phase Corticoide ausschleichend absetzen.

Die Nebenniere wirkt auf der anderen Seite reaktionshemmend und begünstigt den Effekt, den Sie sonst mit Corticoiden erzielen würden.

Man muß einfach die körpereigene Nebennierenfunktion wieder anregen. Früher haben wir hier ACTH gegeben, heute geschieht das eben durch langsames Ausschleichen. Auf keinen Fall darf die Corticoid-Therapie plötzlich abgesetzt werden.

U. DERBOLOWSKY: Von welchem Tag an kann man Corticoide absetzen, wenn man mit Trockensubstanzen arbeitet?

K. THEURER: Trockensubstanzen setzen zunächst eine Streßreaktion, die praktisch zusätzlich körpereigene Corticoide erfordert. Der Organismus ist unter einer Hormontherapie nicht mehr in der Lage dazu, weil es durch Rückkopplungsreaktionen zu einer Insuffizienz der jeweiligen Hormon produzierenden Drüse kommt. Hier wäre es wichtig, die Auswirkungen der Streßsituation zunächst weiterhin mit den Corticoiden abzudecken und erst eventuell nach drei bis vielleicht acht Tagen mit dem Ausschleichen der Corticoide zu beginnen und die eigentliche Umstimmungstherapie erst vielleicht nach 14 Tagen bis drei Wochen anzuschließen, weil die Wirkung der Organ-Trockensubstanzen oft erst nach drei bis vier Wochen effektiv eintritt.

AUDITORIUM: Wie sieht es aus bei der Gold-Therapie? Welche Karrenzzeit ist hier abzuwarten, bis mit der zytoplasmatischen Therapie begonnen werden kann?

K. THEURER: Die Gold-Therapie ist eine unphysiologische und gefährliche Angelegenheit. Die Gold-Therapie beruht auf einer Blockierung des Mesenchyms und einer Blockierung phylakogener nützlicher Abwehrfunktionen. Gold-Therapie ist nicht mit der Corticoid-Therapie vergleichbar. Sie greift in die Reaktionsfähigkeit der antikörperbildenden Zellen des Immunsystems ein.

Die Grundlagenforschung ist so wichtig, um die Wirkungsmechanismen kennenzulernen. Wir befinden uns deshalb in engem Kontakt mit der Grundlagenforschung und sind stets bereit, erforderliche Konsequenzen daraus zu ziehen. Wir müssen wissen, was geschieht, um die Therapie darauf abzustimmen.

AUDITORIUM: Wie sehen die Erfolge der zytoplasmatischen Therapie bei der habituellen Obstipation aus, einer Crux Medicorum? Wie weit sind in diesem Zusammenhang zusätzliche biologische Heilbehandlungen üblich und erfolgversprechend?

K. THEURER: Bei der chronischen Obstipation ist es immer auch eine Frage der Ernährung. Hier empfiehlt sich schlackenreiche Kost mit Getreideschrot. Dann spielt natürlich das ganze System der Verdauung, des Darms und der Leber sowie des Pankreas eine Rolle. Hier können Sie mit den Präparaten Ney-Normin (Nr. 65), Leber (Nr. 26) und Pankreas (Nr. 14) sowie Schleimhäuten therapieren.

Auch das Endokrinium kann eine entscheidende Rolle spielen. Warum klagen denn gerade Frauen über Obstipation? Teilweise ist die Obstipation zyklusabhängig. Verschlimmern sich die Beschwerden immer kurz vor der Menstruation, dann ist es eine Hyperfollikulinie oder Gelbkörperinsuffizienz. Hier ist Gelbkörper angebracht. Sie können damit regulierend einwirken. Dann spielen auch vegetative und psychogene Faktoren eine Rolle. Die chronische Obstipation ist meistens auch durch eine Fixierung im Vegetativum bedingt. Hier empfiehlt sich ein gewisses Training und eine psychische Umstimmung. Da muß ich Herrn DERBOLOWSKY zustimmen: Auch die Vorsatzbildung nimmt beim Patienten einen gewissen Stellenwert ein; es ist nicht nur die Harmonisierung mit der Umwelt, sondern auch die Harmonisierung mit sich selbst. Steht ein Patient unter Zeitdruck, sollte er sich nicht einreden: "Ich kann ja doch nicht!" Sondern er muß sich sagen: "Ich kann, ich bin bereit, es zu tun."

Herr SCHWARZ: Hier noch eine kleine Anregung, wie ich es bei meinen Patienten durchführe. Denken Sie an die Lymphmassage nach VODDER. Die Methode ist ziemlich einfach. Man knetet den Colonverlauf entlang von links oben über links unten, dann die Flexur nach rechts und schließlich wieder aufwärts zur Leber. Lehren Sie dies Ihre Patienten.

R. PLOHBERGER: Bei der chronischen Obstipation ist die Symbioselenkung und die Schaffung einer normalen Darmflora noch hinzuzufügen.

Coliflora ist hier nämlich in Paracoli verwandelt, d. h. es handelt sich um Colibakterien, die nicht mehr die normale Funktion erfüllen. Durch die Symbioselenkung werden all diejenigen Lebensmittel - im Unterschied zum Nahrungsmittel - zugeführt, die lebenswichtige Stoffe und Enzymsysteme enthalten, die der Organismus braucht. In der modernen Industriegesellschaft werden weniger Lebensmittel als Nahrungsmittel zugeführt; nur Kalorien, nicht jedoch das, was KOLLAT und einige andere hervorragende Ernährungsforscher als lebensnotwendig bezeichnet haben.

J. KLÜTER: Auch die Kaufunktion sollte man nicht vergessen! In jeder Hinsicht sollten zunächst günstige Kauverhältnisse geschaffen werden, was bei Zahnlosen natürlich nicht immer so einfach ist. Hier müssen Implantate gemacht werden, denen ich natürlich, als biologisch eingestellter Zahnarzt, etwas reserviert gegenüber stehe, weil hier doch nicht unerhebliche künstliche Herde gesetzt werden.

U. DERBOLOWSKY: Der psychosomatische Aspekt nötigt uns immer wieder zur Erkenntnis: Wir haben nicht nur eine chronische Verstopfung, wir haben nicht nur einen Schnupfen, sondern wir sind verstopft, wir sind verschnupft. Die Menschen, die an chronischer Verstopfung leiden, haben es im allgemeinen verlernt, sich mit ihrem Darm zu identifizieren. Das Ganze ist im Grunde eine Frage der Beziehung, wie bei allem in der psychosomatischen Medizin. Wir müssen

den Menschen wieder dazu bringen, daß er richtig kaut. Es geht schon damit los, wie er sich das Essen zubereitet. Ich erlebe in meinem Jugenddorf mit 300 behinderten jungen Menschen, daß nicht wenige die Speisen einfach so in sich "hineinschaufeln" und damit erst aufhören, wenn Spannungsschmerzen im Oberbauch auftreten. Daß dann Funktionsstörungen im Darm auftreten, ist nicht weiter verwunderlich.

Hier müssen wir therapeutisch Zug um Zug vorgehen. Diese Menschen muß man innerlich zunächst einmal wachrütteln. Sie müssen lernen, sich auch als Darm und als Verdauung zu akzeptieren. Sie müssen lernen, das Essen dankbar einzunehmen. Zum anderen können wir mit der zytoplasmatischen Therapie und der Gegensensibilisierung unterstützend eingreifen, so mit der Trockensubstanz Nr. 55 zur Regeneration der Schleimhäute, mit NeyNormin zur günstigen Beeinflussung der Verdauungsorgane und der Anhangdrüsen. Auch vom psychischen Standpunkt aus sollte NeyPulpin nicht vergessen werden. NeyPulpin ist hier ein wichtiges Heilmittel. Fragen Sie einen Zahnarzt wieviel Menschen Schleifspuren an ihren Zähnen haben, weil sie nachts mit den Zähnen knirschen und so ihre "Bissigkeit" als Verhaltensstörung in ihren Träumen zum Ausdruck bringen, dann wird er Ihnen antworten, daß das keine seltene Symptomatik ist. Überspannte Menschen kann man deutlich mit einer Organotherapie allein nur selten heilen, weil oft das Verhalten tiefgreifend gestört ist. Verhaltenstherapeutische und zytoplasmatische Maßnahmen können aber synergistisch wirken, weil so der psychosomatische Bereich von beiden Seiten erfaßt wird und geschädigte Gewebe wieder regeneriert werden können. Überall, wo noch irgendein Antwortverhalten neu zu ermöglichen und zu verbessern ist, sollten wir die zytoplasmatische Therapie einsetzen.

AUDITORIUM: Wie läßt sich die sympathische Ophthalmie behandeln?

• THEURER: Zur sympathischen Ophthalmie ist zu sagen, daß diese eine autoaggressive Erkrankung ist, eine immunopatho-

gene Autoaggressionskrankheit, die eine Desensibilisierung, eine fortlaufende Desensibilisierung mit der Gegensensibilisierung eventuell erforderlich macht. Eingeschlichene immunologische Reflexe haften im immunologischen Gedächtnis fest und lassen sich nicht vollkommen beseitigen. Deswegen muß man hier die Behandlung öfter wiederholen, aber auch gegen die primäre hyperergische Tendenz der Reaktionslage des Organismus mit Organpräparaten umstimmend eingreifen. FUCHS hat wohl als erster bei der sympathischen Ophthalmie Versuche mit Antilymphozytenserum durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine allgemeine Immunsuppression. Unsere Methoden unterscheiden sich davon durch die Spezifität bezüglich des Krankheitsgeschehens, wobei die phylakogenen, also nützlichen Immunvorgänge für den Organismus erhalten bleiben. Bei der sympathischen Ophthalmie sollte also eine laufende Gegensensibilisierung durchgeführt werden. Wegen der allergischen Komponente ist CONJUNCTISAN B indiziert. Zusätzlich können Sie auch noch mit Nebenniere umstimmend wirken. Nebenniere dämpft die Reaktionslage. Bitte schauen Sie sich deshalb das Schema im Leitfaden über Hemmung und Dämpfung sowie die Bedeutung der verschiedenen Organarten noch einmal an.

Index

Abwehr, phagozytäre	187
Steigerung	213
faktoren, humoral-nichterregerspezifisch	214
mechanismus, zellulär	213, 220
Adaptionsmechanismus	186
Adenosinmonophosphat, zyklisches	184
Agglutination	186
Akupunkturtest	294
Allergie	186, 221, 231, 241, 301, 302, 303, 306
Aminosäuren	25, 26, 35, 38
Amplifikationsmechanismus	194
Angina pectoris	312
Antigen	186, 187, 192, 193, 231, 232, 233, 236, 238 240, 241
Antigen, korpuskular	212
bruchstücke	231
resorption	231
Antikörper	147, 235, 236, 237, 238, 239, 240
, antiidiotypische	189
, bivalent	187
, blockierende	186
, monovalente	186
fragment	1, 4
Anti-Neoplaston	189
tumorwirkung	160, 162, 163, 164
Apoferment	187
Appendizitis	297
Applikation	318, 319
Asthma bronchiale	290, 304, 305
Arteriosklerose	265
Arthritis	295
Arthrosis	277
Autoaggressionsvorgänge	293
Autoimmunkrankheiten	211
prozeß	277
Autovakzine	303
Avipox-Viren	220
Bakteriophagen	6
Basenerkennung, komplementäre	7
Bindungsfähigkeit, antideterminante	186
Biologie	48, 56, 259, 261
Bio-Molekül	185
Blockierung	185
Blutkrankheiten	186
B-Lymphozyten	146, 151, 155, 157, 192, 196, 212, 214
Blasttransformation	193
Bogomoletz-Serum	189
Booster, parenteral	212
B-Zellen, immunkompetent	214
Chalone	189
Chromatin	178, 180
Chromosomenabnormalität	82
C-Nukleotide	15
Coenzym	
Coombs-Test	

Coronarinsuffizienz	312
Crowding	221
C-Triplett	15,16
Dauerblockade	185
Defektheilung	36, 39
de-novo-Synthese	9, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 194
Derepression	185
Dermatitis	296
Diabetes mellitus	267
Differenzierungstheorie	2
DNA, proviral	90
Reparatur	2
Synthese	91, 92, 93, 100, 103, 104, 105, 107, 114, 119, 120, 121, 145
DNS	177, 178, 180, 244
Polymerase	178
Dogma, zentrales	5, 10, 20
Domäne	3, 31, 32, 40, 41
DS-Sarkom	162
Effekt, paraspezifischer	217
Effektor-Rezeptor-Komplex	178
Zellen	215
Ehrlich-Ascites-Tumor (EAT)	152, 153, 156, 157, 177
Eigenserum, aktiviert	277
EKG	249, 252
Ekzem, neurodermatitisches	291
Elektroakupunktur	298
Enhancement, immunologisch	188
Enteritis	317
Enzym	28, 29, 31, 3 [^] , 36, 37, 39, 41
, lysosomal	198, 200, 201, 202, 203, 204
bildung, adaptiv	216
Erkennungsfähigkeit	187
Erkrankung, immunopathogene	185
Evolution	188
Faktorenkrankheiten, infektiöse	186
Fehler-Katastrophen-Theorie	211
Frühbehandlung	244
Funktionsstoffe, antikörperartige	279
186, 188	
Gammaglobuline	231, 232, 23 [^] , 235, 241
Gastro-Intestinal-Trakt	231, 236
Gegensensibilisierung (GS)	1, 4, 269, 270, 271, 272, 277, 281, 283, 285, 286
287, 290, 293, 301, 302, 305, 306, 319	
Gen-Abschnitt	185
Blockade	184
Regulation, adaptive	184, 190
Gelenkrheumatismus	277
Geriatric	242, 243, 245, 250, 253
Gesamtintensität	48
Glomerulonephritis	291
Grippe	317
Hapten	186, 187
Helfer-Faktor	215

Helfer (T _H)-Zellen	215
Hemmstoffe	190
Hepatitis	290
Herdsanierung	296
Homogenat	188
IgA	212, 218
IgE	222
IgG	120, 121, 173, 212, 235, 238
IgM	144, 146, 147, 148, 155, 156, 187, 212
Infektion	221
Infektionsgefährdung	221
krankheit	317
krankheiten, perinatale	211
zyklus	6
Informationsfluß	5
übertragung, biologische	6
Immunabwehr	145
-antwort	161, 231
-globulin	186, 25
Immunsierung, lokal	211, 217
Immunität	217, 231
, humoral	212
, laktogene	211
, systemische	212
Immunsierung	187
Immunkrankheit	221
Immunologie	2, 3, 116, 120, 303
Immunotherapie	4
Immunstimulation	178
Immunsuppression	189, 221, 231
Immunsystem	144, 145, 151, 154, 156, 184, 212, 178
Immuntoleranz	222
Immunzellen	189
Inaktivierung	185
Inducer Typ I	220
Induktion	220, 222
Induktor	185
Induktionstheorie	2
Interferon	216, 217, 220
Interferon, körpereigen	213
Infertilität	269, 270, 271
Inhibitor-Rezeptor	180, 182
Ionen	109, 110, 111
Isotopennephrogramm	293
Kasuistik	264, 290
Killerzellen	215
Klon	2, 192
Ko-Enzym	187
Komplementbindung, zytologisch	186
, zytotoxisch	186
- faktoren	216
- Properdin-System	214
Komplikation, postvakzinal	217
Knochenmarksbiopsie	80
Kopierungsenzym	8
K-Zellen	163

Latenzzeit		188
Leber	145,149,150,151,152,153,154,155,156,157,298	
,foetal		160,163,164
(Regeneration		188
erkrankungen,chronisch		283
Leukämie	90,102,107,108,112,115,118,163	
3-Lewis-Lung-Carcinom		102
Lichtwellen		48
Liganden,polyklonale(PCL)		192,193,205
Liposomen		321,322
Lymphokine		214,216
Lymphozyten	192,194,197,198,203,215,216	
-Aktivierung		193,206
-Reaktivität		7
Lysozym-Produktion		214
Makromoleküle		3,243,244
Makrophagen		174,213,214
-Migration		147
-Hemmtest	146,148,149,150,155,156	
Mastozytomzellen		172,175
Matrizenaktivität		17
Spezifität		8
Mediatoren		213,215
Membran-Permeabilität		179
Rezeptor		179,180
Veränderungen		194
Memory-Zellen		212,215
Meth-A-Sarkom		160,161,164,165
Myelofibrose(MF)	72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,83,84,85	
Diagnose		80
Kasuistik		85,86,87
Prognose		84
Symptome		80,81,82
Therapie		83
Verlauf		84
Mikroso»		198
Mitogene	146,192,193,198,206	
Molekularbiologie		5
Monokine		216
Monozyten		215
Morbus Bechterew		279
Mortalitätsrate		235
m-RNA		6
Multiple Sklerose		222
Nebenwirkung		34,278
Neuprogrammierung,genetisch		2
Neuraltherapie		297
Neyarthros		277,278
Neydesib		278,281
Neygeront		264
Neynormiin		278,281
Neyparadent	321,322,323,324,325,326,327,320	
Neytumorin		172,175,176,277,281
Nierenerkrankungen	290,291,292,293,294	
NK-Zellen		
Nukleinsäure		
Nukleotide		28,3°»35

Oligonukleotid	14, 15, 17, 18, 19, 20
Onkogenese	i84
Onkogen-Theorie	118
Operon	185
Organextrakt, makromolekular	177, 189
Organspezifität	1
Osteosklerose	82
Osteosarkom, strahleninduziert	221
Paramunisierung	211
, lokal	219
, systemisch	219
Paramunitätsinducer	220
Parapox-Viren	220
Peptide, antiderminante	190
Phagozytose	187, 220
Phosphatase, alkalische	253
, saure	146, 151, 155
Phospholipide	194, 197, 198, 200, 203, 20%, 205, 206
Photonen	48, 49, 56, 57, 60, 64
Photonenemission (PE)	49, 50, 53, 5%, 55, 62, 63, 65
Phylogenese	187
Phytohämagglutinin - P	146, 148, 149, 150, 156
Pind-Avi	220
- -ORF	220
Plasmamembran	182
Plasmazellen, antikörper-sezernierende	215
Plazenta	144, 145, 148, 149, 151, 152, 153, 155 156, 157, 177, 180, 186
Polyarthritits	277, 278, 290
Polymerase, ^»-	7, 8, 14, 15, 18, 19
Polypeptid	32, 33, 187
hormone	215
Präkanzerose	185
Präzipitation	186
Prophylaxe	221
, erregerunspezifisch	213
Prostaglandine	216
Protein	25, 27, 29, 31, 32, 33, 36, 37, 39, 40, 42 100, 178, 181, 189, 231, 244
synthese	144
Protovirus-Theorie	118
Provirus-Theorie	89
Pyelonephritis, chronische	291
Radioaktivität	238, 239
isotope	180
Recycling	195, 196, 198, 205
Reagine	186
Regelsystem	260
Regeneration	4
, Leber	188
, molekulare	184
, zelluläre	188
Regulation, adaptive	187, 189
Regulatorgene	184
Reifungsprozeß	215
Rekombination	o

Heter-Mechanismus	144
Reparaturmechanismus	190, 244
Replikation	7, 0, 89
Replikationsfähigkeit	11, 13
- system	7, 10, 15
Repressoren	184, 185, 190
Reproduktion	6, 10, 12, 15
Respirationstrakt, Erkrankung	211, 221
Reverse Transkriptase (RT)	89, 90, 91, 95, 97, 98, 101, 102, 103, 105 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 116 117, 118, 119
Rezeptor	192, 194, 205
Rheuma	319
faktor	277, 279
therapie	277, 278, 279
Ribosom	185
Ribonukleosidtriphosphat	8
RNA	91, 113, 119
- -Matrize	16
- -Molekül	10, 11, 13, 14, 15, 17, 18
- -Phagen	6
- -Polymerase	6
- -Replikation	16
- -Synthese	17
- -Tumoviren	6
- -Virus	6, 79, 89, 90, 94, 98
Rous-Sarkom-Virus (RSV)	89, 90
Säuredampflyse	
Schock	233, 235
Schutzimpfung, nasal	219
, oral	217
, parenteral	217
Secondmessenger	184
Selbstheilung	37
selbstreplikativ	10, 18
Sensibilisierung	214, 231
Sequenz	26, 27
bereiche	15
muster	15
vergleich	20
Spättyp	221
Sterblichkeit, perinatale	221
»Reduzierung	192, 206
Stimulation	5, 188
Stimulierung	9
, antigene	9
, mitogene	188
, Nierengewebe	188
, Tumorstadium	221
Strahlenschutzsubstanz	221
Stress-Schäden	215
Suppressor-Faktor	222
-Mechanismus	215
(T)-Zellen	189
Syntheseinduktor	193
, Protein	193
I 'stoffwechsel	184

Temperaturabhängigkeit	53
Terminaltransferase	115,116
Therapie	221
, zytoplasmatische	1, 3, 36, 40, 160, 242, 245, 248, 250, 252, 253, 259, 262, 269, 270, 271, 272, 277, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 291, 301, 304, 306, 310, 311, 312, 313, 315, 317, 319, 321, 322
, erregerspezifisch	213
. Veterinärmedizin	329
Thromboplastin	216
Thymidin	177
, ³ H-	145
Thymozyten	151, 152, 155
Thymus	145, 148, 149, 150, 151, 153, 155, 156, 157
Zeilen	164
T-Lymphozyten	192, 196, 213, 214, 222
Transformation, maligne	145
, neoplastische	89
Transkription	184, 190
Translation	184, 190
Transplantat-Tumor	144, 146, 154, 156, 157
Transplantationsantigen	161
Tumor	88, 91, 98, 99, 101, 102, 109, 114, 117, 118, 122, 160, 161, 163, 164, 165, 177, 180, 182, 185, 188
abwehr	145
antigen	160, 165
- hemmstoff	189
- -Inhibierung	222
- -Transplantat	144, 146, 154, 156, 157
zellen	173, 176
Wachstum, Stimulierung	188
Turn-Over	185
T-Zellen	163, 164, 173
Überlebenszeit	84
Urogenitaltrakt, Erkrankungen	211
Vakzine, stall spezifische	218
, polyvalente	218
Verstärkungsmechanismus	194
Virusgenese	72, 79, 88, 89, 91, 98, 101, 114, 117, 118, 122
infektion	211, 221
- -RNA	6, 8
Vorläufermechanismus, persistierender	184
Wachstum	310, 311
Xanthomatose	265
Xenotransplantation	144
Yoshida-Sarkom	177, 180
Zahnheilkunde	321
Zellgifte	51, 52, 55
- Membran	192, 193, 205, 206
- Proliferation	178, 188, 189

Zellstoffwechsel	278
Zytoplasmatische Therapie s. Therapie, zytopl.	
Zytotoxizität	163
, lymphozytenabhängig	172, 173, 174, 176
, magrophagenvermittelte	172, 173
, spontan, zellvermittelt	214

Autoren

Ambronn, G.	329
Artmeier, P.	329
Barthold, S.	329
Breidenbach, H.	269
Buschmann, H.	172
Chandra, P.	72
Feddersen, K. C. F.	264
Ferber, E.	192
Flaskamp, H.	259
Gillissen, G.	144
Hoffmann, Z.	277
Klüter, J.	321
Kraft, H.	329
Küppers, B.-O.	5
Kuschke, H.	283
Lachnit, K»S.	242
Letnansky, K.	177
Mayr, A.	211
Munder, P. G.	160
Plohberger, R.	301
Pollmächer, G.	290
Popp, F.	48
van Rhijn, C. H.	310
Schirmer, R. H.	25
Seifert, J.	231
Strobel, H.	329
Theurer, K.	1, 184
Weber, R.	312
Wirsam, H.	317

>v r

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

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 der 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.

Biomimetik als Chance:
Ein neues
therapeutisches Prinzip
Forschung und Praxis im Dialog

Hrsg. von H. PORCHER/
K. THEURER

1980. X, 265 S., 29 z. T. farb. Abb.
zahlr. Tab., kart. DM 39,80

ISBN 3 432 91611 6

Biomimetik bedeutet Imitation der im Organismus natürlich vorkommenden Metabolite, Enzyme, Hormone, Regulationsstoffe, Transmitter und Induktoren, die bei 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. Die Organo- und Immunotherapie verwendet deshalb biomimetisch wirkende zelluläre Wirkstoffe und kommt damit einer kausalen Therapie sehr nahe.

J v

Preisänderungen vorbehalten

 Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

Man weiß heute, daß die Vielfalt des Lebens auf dem Baukastenprinzip beruht. Makromoleküle sind aus monomeren Untereinheiten zusammengesetzt. Zahlreiche Proteine sind in den letzten Jahren in ihrer Aminosäuresequenz (=Primärstruktur-) aufgeklärt worden. Vergleichende Betrachtungen führten zu der Erkenntnis, daß gewisse Sequenzen in ganz verschiedenen Proteinen wiederkehren. Solche Peptidabschnitte, denen manchmal bestimmte molekulare Funktionen, wie Coenzym-Bindung, zugeordnet werden können, bezeichnet man als »Domänen«. In der Entwicklung und Phylogenese scheinen diese Bausteine in allen Schichten austauschbar zu sein. Reparaturvorgänge an Desoxyribonukleinsäuren sind schon länger bekannt. Auch bei den Proteinen scheint eine Art Reparatur defekter Moleküle möglich zu sein: durch Inhibitoren funktionell ausgeschaltete Enzyme können eine vergiftete Untereinheit austauschen gegen eine intakte und somit die katalytisch aktive Quartärstruktur des Moleküls wieder herstellen.