

Aus dem Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Klinik für Gynäkologie/Gynäkologische Onkologie
und Geburtshilfe
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. M. Kaufmann)

**Der Einfluß von Prostaglandin F2-Alpha auf HCG-Sekretion und
Zellmorphologie
menschlichen intra- und extrauterinen Trophoblastgewebes in
einem
standardisierten Kultursystem**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs
Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Bruno Späth
aus Baden- Baden

Frankfurt am Main, 2000

Ich danke Herrn Priv. Doz. Dr. med. R. Baumann für die Überlassung des Themas.
Herrn Dr. med. D. Schäfer danke ich für die stetige Förderung bei der Durchführung
dieser Arbeit, seinen fachlichen Rat und seine Hilfen bei der Beurteilung der
Ergebnisse.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	5
2.	Material und Methode	15
2.1	Gewebegewinnung und Reinigung	15
2.1.1	Material zur Reinigung	15
2.1.2	Durchführung der Reinigung	15
2.2	Kulturansatz	17
2.2.1	Material zum Kulturansatz.....	17
2.3	Kulturversorgung	17
2.3.1	Material zur Kulturversorgung.....	17
2.4	Methode des Kulturansatzes	18
2.5	Prostaglandin F ₂ α - Behandlung	19
2.5.1	Material und Prostaglandin-Konzentration	19
2.5.2	Erläuterungen der Dinoprost-Behandlung	20
2.6	Technik der Kulturversorgung	22
2.7	Verlauf der Laborarbeit.....	23
2.8	HCG - Messung	25
2.8.1	Material zur HCG - Messung.....	25
2.8.2	Grundlagen des Verfahrens	25
2.9	Statistische Auswertung.....	27
2.9.1	Testverfahren.....	27
2.10	Ethikkommission	27
3.	Ergebnisse	28
3.1	Beschreibung der HCG - Verläufe.....	28
3.2	Auswertung der arithmetischen Mittelwerte.....	32
3.3	Ergebnisse der angewandten statistischen Tests	37
3.3.1	Ergebnisse des Friedmann Tests	37
3.3.2	Ergebnisse der Tests nach Wilcoxon und Wilcox	40

3.4	Mikroskopische Betrachtung und morphologische Auswertung ...	44
3.4.1	Fotografische Darstellungen der Zellkulturen.....	45
3.5	Anamnestiche Angaben.....	53
3.5.1	Anamnestiche Angaben der Patientinnen mit EUG`s	53
3.5.2	Anamnestiche Angaben der Patientinnen mit IUG`s.....	54
4.	Diskussion	55
5.	Zusammenfassung	63
6.	Literaturverzeichnis	65
7.	Anhang	79
7.1	Standardabweichungen zu den Mittelwertkurven.....	79
7.2	Abkürzungen.....	81
7.3	Lebenslauf.....	82
7.4	Ehrenwörtliche Erklärung	84

1. Einleitung

Noch vor 100 Jahren waren Eileiterschwangerschaften eine der Hauptursachen für die mütterliche Mortalität. Aus dem Bericht von J. S. Parry vom Jahre 1876 ist zu entnehmen, daß von 529 Frauen mit Tubargravidität noch weit über die Hälfte, nämlich 69 % verstarben (59).

Seit der ersten chirurgischen Therapie einer Extrauterinravidität (EUG) durch Salpingektomie im Jahre 1884 haben sich Diagnostik, Therapie und dadurch auch die Prognose erheblich verbessert (90). Die Mortalität konnte entscheidend gesenkt werden. Amerikanische Studien mit einem Zahlenmaterial von über 100 000 EUG's zeigten 1979/80 eine Mortalität von 0,8 pro 1 000 Erkrankungsfälle (18). Andere Autoren berichteten über eine Mortalitätsrate zwischen 2 und 4 auf 1 000 Erkrankungen (73).

Heute bei steigender Rate von EUG's traten die Bemühungen um die Erhaltung der Fertilität in den Vordergrund.

Betrug die Inzidenz in früheren Jahren etwa 1 %, so wird sie heute auf 2 % aller Schwangerschaften beziffert (9). Als Gründe dafür werden in der Literatur die Zunahme an Infektionen durch Chlamydien, Gonokokken (28, 84, 91, 92), häufige Bauchoperationen (47, 81, 82, 17, 57) auch Tubenchirurgie (93), die Verbreitung von Intrauterinpressaren (30, 94), die Zunahme von hormoneller Infertilitätsbehandlung (86), In-Vitro-Fertilisation (10, 43) und Nikotinabusus (95, 96, 97) genannt. Wahrscheinlich sind hochsensitive Schwangerschaftstests, die kontinuierliche Verbesserung des vaginalen Ultraschalls und der zunehmende Einsatz der diagnostischen Laparoskopie wie auch der höhere Aufklärungsgrad der Bevölkerung für die häufigere Diagnose ebenfalls von Bedeutung (32).

Dank der dadurch frühzeitigen Erfassung von noch nicht rupturierten EUG's vollzog sich ein Wandel im Behandlungskonzept. Die Entwicklung pelviskopischer Operationstechniken erlaubte die Reduzierung radikaler abdominalchirurgischer Techniken zugunsten des Tuben- und fertilitätserhaltenden Minimaleingriffs (41, 50, 79). Die operativen Methoden umfassen das Exprimieren der EUG (milking out) bei Sitz des Schwangerschaftsproduktes im fimbriennahen Anteil der Ampulle,

die Salpingostomie, d.h. die Eröffnung der Tube im Bereich des Fimbrientrichters und „Ausschälen“ der Gravidität und die Salpingotomie. Diese umfaßt die mikrochirurgische Längsinzision der Tube über der EUG mit anschließendem „Ausschälen“ des Schwangerschaftsproduktes. Außerdem kommt die Segmentresektion mit mikrochirurgischer End-zu-End-Amastomosierung in einer zweiten Operation zur Anwendung (6, 42, 72).

Neben der Adaptierung und Entwicklung chirurgischer Behandlungsmethoden haben sich in den letzten Jahren auch verschiedene medikamentöse Behandlungsformen etablieren können.

Tanaka et al. beschrieben im Jahre 1982 erstmals die Methotrexat-Behandlung einer Tubargravidität mit klinischer Bestätigung der Tubendurchgängigkeit. Dabei verwendeten sie einmalig 30 mg Methotrexat intramuskulär (i.m.) nach 2 Tagen nochmals 15 mg Methotrexat i.m., diese Dosis wurde weiter an 5 aufeinanderfolgenden Tagen injiziert. Mit Hilfe der Hysterosalpingographie konnten sie den Erfolg der Behandlung beobachten und die Tubendurchgängigkeit einen Monat nach der Methotrexat-Behandlung bestätigen (80).

Methotrexat ist ein Folsäureantagonist, der seine Wirkung über die kompetitive Hemmung des Enzyms Dihydrofolat-Reduktase entfaltet. Die Umwandlung von Dihydrofolsäure zu Tetrahydrofolsäure, welche für die Synthese der DNA-Bausteine Thymin, Guanin und Adenin benötigt wird, wird gestört. Somit wird die DNA-Synthese gestört und damit letztendlich die Zellproliferation unterbrochen (13). Methotrexat ist so Mittel der Wahl bei der Behandlung von proliferativen und malignen Trophoblasterkrankungen (49).

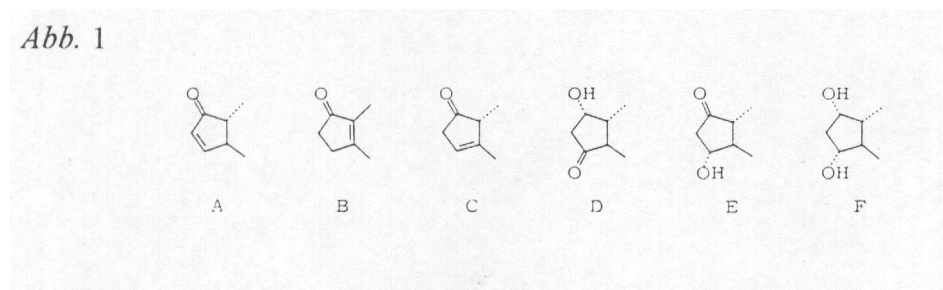
Seither wurden zahlreiche Fälle von EUG's publiziert, bei denen Methotrexat zur Therapie angewendet wurde. Die systemische Methotrexatgabe erfolgte oral (60, 98), i.m. (78, 80, 99,100), intravenös (i.v.) (58) und lokal intratubar (23, 101). In der klinischen Anwendung wurde mit verschiedenen Methotrexat-Konzentrationen gearbeitet.

Patsner et al. verwendeten zur oralen Therapie 0,4 mg/kg/Tag an 5 aufeinanderfolgenden Tagen (60). Sauer injizierte 1,0 mg/kg Methotrexat i.m. am 1., 3., 5. und 7. Tag nach diagnostischer Laparoskopie, zusätzlich am 2., 4., 6. und 8. Tag 0,1 mg/kg Leukovorin i.m. um die Nebenwirkungen zu reduzieren (67).

Ory et al. injizierten 4 mal 1 mg/kg Methotrexat i.m. jeden 2. Tag, zusätzlich wurde Leukovorin in einer Konzentration von 0,1 mg/kg i.m. gegeben, jeweils 24 Stunden nach der Methotrexat-Gabe (58).

Kooi injizierte 100 mg Methotrexat mit Hilfe der Laparoskopie lokal in die EUG. 30 Stunden danach wurden zusätzlich 15 mg Leukovorin oral gegeben (42).

Neben den systemischen Nebenwirkungen konnte eine die Gonaden schädigende Wirkung nicht sicher ausgeschlossen werden (32). Bei der Suche nach Alternativen wurden auch Prostaglandine untersucht. Prostaglandine sind Bestandteil einer größeren Klasse von Lipidmediatoren. Bis heute wurden über 200 verschiedene Substanzen, die sich alle aus der gleichen Vorstufe, der Arachidonsäure (Eikosatetrasäure) herleiten, entdeckt. Aus Arachidonsäure entstehen mit Hilfe der Lipoxygenasen Hydroperoxyd und Hydroxyeikosatetrasäuren sowie Leukotriene, durch die Zyklooxygenase Thromboxane und Prostaglandine. Zusammengefaßt werden diese Metabolite heute als Eikosanoide bezeichnet. Die physiologisch aktiven Prostaglandine unterteilen sich in sechs verschiedene Grundtypen, A, B, C, D, E und F, die sich in der Struktur des Cyclopentanrings unterscheiden (*Abb. 1*). Sie werden in allen Zellen des Körpers wenn auch in unterschiedlichen Mengen gebildet und verfügen über eigene Rezeptoren an der glatten Muskulatur (2).



Struktur des Cyclopentanrings bei den sechs verschiedenen Grundtypen der physiologisch aktiven Prostaglandine.

Daher spielt bei allen biologisch aktiven Produkten die Wirkung auf den Tonus der glatten Muskulatur eine bedeutende Rolle. Prostaglandin $F2_{\alpha}$ (PG $F2_{\alpha}$) z.B. führt zur Kontraktion der Gefäßmuskulatur und Muskulatur des Corpus uteri (74, 24, 2). Einige Autoren berichteten über verschiedene in-vitro Versuche zur Evaluierung der Wirkung von Prostaglandinen auf Teile der Tubenmuskulatur, der Tubenarterien sowie der Kapsel des Corpus luteum. PG $F2_{\alpha}$ zeigte hier einen deutlich Tonus erhöhenden Effekt auf die Arterienmuskulatur, während Prostaglandin E2 die Aktivität der Tubenmuskulatur verminderte und nur einen moderaten konstriktiven Effekt auf die tubaren Arterien aufwies. Gleichzeitig konnte in-vitro eine Reduktion der Progesteronproduktion des Corpus luteum durch PG $F2_{\alpha}$ im Gegensatz zu Prostaglandin E2 demonstriert werden (26, 51, 27). Lindblom et al. beschrieben 1987 als erste die PG $F2_{\alpha}$ -Behandlung einer EUG. Von 9 Frauen mit gesicherter Eileiterschwangerschaft erhielten 5 Patientinnen zwischen 0,5 und 1,5 mg PG $F2_{\alpha}$ und 4 Patientinnen 75 μ g 15-Methyl-Prostaglandin $F2_{\alpha}$ intratubar appliziert, eine identische Dosis wurde jeweils in das Corpus luteum injiziert. Alle 9 Frauen konnten schon 1-2 Tage später entlassen werden. Bis auf eine Patientin, die 14 Tage nach der ersten PG $F2_{\alpha}$ -Gabe wegen steigender β -Human Choriongonadotropin (β -HCG)-Werte neuerlich demselben Procedere unterzogen wurde, zeigten alle anderen Frauen sinkende β -HCG-Werte (52). Etwa zur selben Zeit wurden von Egarter et al. 6 Patientinnen mit laparoskopisch gesicherter Tubargravidität 10 mg PG $F2_{\alpha}$ intratubar injiziert, weitere 2,5 - 3 mg PG $F2_{\alpha}$ in das Corpus luteum tragende Ovar appliziert, zusätzlich 2 x 500 μ g synthetisches Prostaglandin E2 i.m. täglich über insgesamt 3 Tage. Bei jeder Patientin sank der β -HCG-Wert im Verlauf von mehreren Tagen bis unter die Nachweisgrenze. Bei einem Teil der Patientinnen kam es unmittelbar nach der intraovariellen Applikation zu Nebenwirkungen (z.B. vorübergehende Hypertonie, Tachykardie, ventrikuläre Extrasystolen, pulmonale Stauung). Deshalb wurde im weiteren anstatt PG $F2_{\alpha}$ 25 mg konjugiertes Östrogen intraovariell injiziert. So konnte zusätzlich und ohne jegliche systemische Nebenwirkung, der aus in-vitro Studien (65) und vom Rhesusaffenmodell (87) bekannte luteolytische Östrogeneffekt ausgenutzt werden (20, 33, 22).

Auch der Einfluß der Prostaglandin-Behandlung auf die Durchgängigkeit der Eileiter wurde untersucht.

30 Patientinnen mit laparoskopisch gesicherter Eileiterschwangerschaft wurden zwischen 7 und 10 mg PG F₂ α (je nach Größe der Tubargravidität) intratubar injiziert, weitere 25 mg konjugiertes Östrogen in das ipsilaterale Ovar, zusätzlich 2 x 500 μ g Sulproston i.m., täglich über 3 Tage. Diese Prostaglandin E₂ Gabe entfiel bei 4 Patientinnen wegen Übelkeit und Erbrechen ohne anderweitige Substitution.

Bis auf 2 Patientinnen, die aufgrund steigender β -HCG-Werte und 3 Patientinnen wegen klinischer Symptome einer erneuten Laparotomie und operativen Ausräumung des Schwangerschaftsproduktes zugeführt werden mußten, konnten die übrigen Patientinnen zwischen dem 2. und 5. Tag post operationem (p.o.) entlassen werden. Bis auf Fieber bei einer Patientin war der postoperative Verlauf unauffällig. Bei insgesamt 12 Patientinnen wurde ein Hysterosalpingogramm zur Prüfung der Tubendurchgängigkeit durchgeführt.

Die Hysterosalpingographie zeigte eine freie Durchgängigkeit des betroffenen Eileiters nach PG F₂ α Instillation in 11 von 12 Fällen (34).

Bei der Prostaglandin-Behandlung der EUG hat es sich als günstig erwiesen, bestimmte Kriterien festzulegen, bei denen das medikamentöse Vorgehen zur Behandlung der EUG erfolgversprechend ist (35).

Einschlußkriterien:

1. Nicht rupturierte Tubargravidität
2. Guter Allgemeinzustand der Patientin
3. Kinderwunsch
4. Schriftliche Zustimmung
5. β -HCG-Wert < 2500 mU/ml

Ausschlußkriterien:

1. Tubarruptur
2. Schock
3. Positive Herzaktion im Ultraschall
4. β -HCG-Wert > 2500 mU/ml

Unter Beachtung dieser Kriterien wurden von Egarter et al. 71 Patientinnen mit nicht rupturierter, laparoskopisch festgestellter Eileiterschwangerschaft behandelt. Dabei wurden jeweils etwa 1,5 bis 2 ml PG F2 α -Lösung (entspricht 7-10 mg PG F2 α) entsprechend der Größe der Eileiterschwangerschaft unter laparoskopischer Sicht mit einer Nadel langsam in die jeweilige Eileiterschwangerschaft injiziert. Im Anschluß erhielten die Patientinnen 25 mg konjugierte Östrogene in das Corpus luteum bzw. ipsilaterale Ovar appliziert. Zusätzlich zu dieser intraoperativen Therapie wurden zumindest an den ersten 3 postoperativen Tagen täglich 2 ml (entspricht 500 μ g) Sulproston (ein synthetisches Prostaglandin E2-Derivat) i.m. verabreicht. Diese Prostaglandin-Behandlung war in 50 Fällen (81 %) erfolgreich (21). Obige Kriterien wurden nachfolgend von verschiedenen Autoren angewandt und im Verlauf der Therapie modifiziert.

Degenhardt et al. behandelten 30 Frauen mit einer gesicherten Eileiterschwangerschaft nach 2 unterschiedlichen Schemata. 15 Patientinnen, bei denen zum Zeitpunkt der Behandlung der aktuelle β -HCG-Wert unter 850 mU/ml

lag, erhielten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen 2 x täglich 500 µg Sulproston, im Abstand von 4 Stunden i.m. verabreicht. Bei den übrigen 15 Frauen, deren aktueller β -HCG-Wert über 850 mU/ml lag, aber den Wert von 2 000 mU/ml nicht überschritt, wurde nach Sicherung der EUG per Laparoskopie die Instillation von 5-10 mg PG F2 α in die Tubenaufreibung vorgenommen. An den ersten 3 postoperativen Tagen erhielten die Frauen ebenfalls zusätzlich 2 x täglich 500 µg Sulproston i.m. im Abstand von 4 Stunden (15).

Spitzer et al. behandelte 33 Patientinnen mit nicht rupturierter, laparoskopisch gesicherter Tubargravidität. Nach laparoskopischer Sicherung der Eileiterschwangerschaft wurden bei 12 Frauen je nach Größe der EUG 5 - 15 mg PG F2 α unverdünnt, transabdominal unter laparoskopischer Sicht mit einer Nadel langsam in das Schwangerschaftsprodukt injiziert. Bei 11 Patientinnen wurde zusätzlich konjugiertes Östrogen (Premarin[®] 25 mg) in das Corpus luteum graviditatis, oder wenn nicht identifiziert in das ipsilaterale Ovar injiziert. 8 Frauen erhielten neben lokalem PG F2 α systemisch 500 µg Prostaglandin E2 (Sulproston, Nalador[®]) i.m. am Operationstag und an den ersten beiden postoperativen Tagen. 2 Patientinnen erhielten nur PG F2 α und Premarin[®] (77).

Deckhardt et al. behandelten 15 Frauen mit nicht rupturierter, laparoskopisch gesicherter Tubargravidität. Die Patientinnen erhielten laparoskopisch 5 mg PG F2 α in 10 ml Lösung (1 ml PG F2 α + 9 ml 0,9% Kochsalzlösung) langsam, direkt in die Eileiterschwangerschaft injiziert. Zusätzlich erhielten die Frauen beginnend am 1. postoperativen Tag je 500 µg Sulproston i.m. über insgesamt drei aufeinanderfolgende Tage (14).

Über eine erfolgreiche Anwendung von PG F2 α liegen also eine große Zahl klinischer Berichte vor. Voraussetzung dafür waren nicht zuletzt ein besseres Verständnis über Aufbau und Funktion des Trophoblasten. Trophoblastzellen regulieren als selektiv arbeitendes Stoffwechselorgan den Flüssigkeits- und Stoffaustausch von und zum mütterlichen Milieu. Dort wo zu Beginn der Implantation der Keim Kontakt mit dem Uterusepithel aufnimmt, wandelt sich der Trophoblast unter Verlust der Zellgrenzen in ein Syncytium, Syncytiotrophoblast,

um. Unmittelbar unter dieser stark proliferierenden Schicht bleiben die Zellen als solche erhalten und bilden den Cytotrophoblast (70). In den letzten Jahren gelang es, Trophoblastzellen zu kultivieren und mit Hilfe von Antikörpern zu identifizieren bzw. ihr Verteilungsmuster zu erkennen.

In verschiedenen Studien konnten jeweils 4 charakteristische morphologische Zellformationen identifiziert werden (89, 53, 68):

1. Epithelialer Typ
2. Pflasterepithel Typ
3. Spindelförmiger Typ
4. Multiangulärer Typ

Zahlreiche Arbeiten befassen sich mit der näheren Charakterisierung des Trophoblasten (11, 54, 8, 31, 19, 40, 62, 1).

Als hauptsächlicher Ort der Hormonbildung wurde der Syncytiotrophoblast identifiziert. Diese vielkernige Zellmasse entwickelt sich wie mehrere Arbeiten zeigten durch Zellfusion aus dem Cytotrophoblasten. Diese Entwicklung geht mit einer Steigerung der HCG-Syntheserate einher. Hay et al. konnten eine Korrelation zwischen Syncytiumproliferation und HCG-Werten nachweisen (29). Um die Wirkung verschiedener Pharmaka am Trophoblasten zu erkennen, hat sich die HCG-Messung bewährt.

HCG ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht um 40 000 Dalton, bestehend aus zwei verschiedenen Untereinheiten, der α -Untereinheit (92 Aminosäuren) und β -Untereinheit (147 Aminosäuren).

Unter Verwendung von Antikörpern wurde festgestellt, daß der Trophoblast schon kurz nach der Implantation, etwa am 9. - 12. Tag nach der Ovulation, mit der HCG-Produktion beginnt. Die maximale HCG-Plasmakonzentration wird nach 8 - 9 Wochen gemessen. Nach einem raschen Abfall der Kurven in der 12. Schwangerschaftswoche (SSW) werden von der 18. Woche bis zum Schwangerschaftsende gleichmäßig niedrige Werte gemessen. Die Urinausscheidung von HCG läuft parallel zur Plasmakonzentration. Die stark erhöhte Bildung von

HCG im 1. Trimenon deutet auf eine gezielte biologische Funktion des Hormons in diesem Zeitraum hin (4). HCG bewirkt Wachstum und Erhaltung des Gelbkörpers und dessen Umwandlung zum Corpus luteum graviditatis (63). Das Corpus luteum wird zu vermehrter Progesteronsynthese angeregt und der Trophoblast sorgt so für ein genügendes Progesteronangebot, um das für die Schwangerschaft notwendige Milieu im Uterus zu unterhalten (25). Nach dieser Zeit übernimmt dann der Trophoblast selbst die Progesteron-Produktion. In letzter Zeit wird HCG auch mit den bisher noch ungeklärten Reaktionen zwischen Mutter und Frucht in Beziehung gesetzt. Erste Ergebnisse lassen vermuten, daß die für die Implantation und weitere Entwicklung notwendige Suppression der immunologischen Reaktion vom Uterus unterstützt wird. Es wird diskutiert, daß das bereits zu einem frühen Schwangerschaftszeitpunkt in hohen Konzentrationen an der Trophoblastoberfläche vorkommende Hormon eine lokale Immunsuppression bewirkt, die den Fetus solange vor einer Abstoßungsreaktion schützt, bis andere immunologische Mechanismen voll entwickelt sind. In geringerem Umfang gelangt HCG auch in den fetalen Kreislauf, wo die Konzentration etwa ein Zehntel der mütterlichen beträgt. Man nimmt die Stimulierung der Leydig-Zellen in den fetalen Testes bzw. auch eine Stimulierung weiblicher Gonaden an. Außerdem unterliegt die fetale Nebennierenrinde dem Einfluß von HCG, so wird z.B. die Synthese von Dehydroepiandrosteronsulfat angeregt. Über die weitere physiologische Bedeutung von HCG für die menschliche Schwangerschaft herrscht noch keine endgültige Klarheit (25).

Wie vorbeschrieben liegen somit zahlreiche Untersuchungen über die Wirkung von Prostaglandinen auf den mütterlichen Organismus vor (insbesondere Gefäß-, Uterus- und Tubenmuskulatur sowie Corpus luteum). Weiterhin wurden, wie bereits dargestellt, zahlreiche Fallberichte und Studien zur Anwendung von Prostaglandinen zur Behandlung der EUG veröffentlicht. Untersuchungen, die sich mit der Bedeutung von Prostaglandinen und ihres Metabolismus für den Trophoblasten befassen, lassen sich insbesondere für den Trophoblasten der reifen Plazenta finden (106, 107, 108, 109, 110). Hierbei stehen meist Fragestellungen im Zusammenhang mit Geburt, Wehenauslösung und Präeklampsie im Vordergrund. Welche Rolle Prostaglandine bei der Entwicklung und Differenzierung von Trophoblastzellen des ersten

Trimenons spielen wird hingegen wesentlich seltener untersucht (111, 112, 113). Hinsichtlich der Auswirkungen einer Prostaglandinbehandlung auf ektope Trophoblastgewebe gibt es bislang nur histopathologische Untersuchungen (114, 115). Zur Schließung dieser bestehenden Lücke beizutragen, ist daher hauptsächlich Ziel der vorliegenden Arbeit.

Hat eine PG F₂ α -Behandlung von Trophoblastzellen des ersten Trimenons Auswirkungen auf HCG-Sekretion und Morphologie dieser Zellen? Welcher Art sind diese Auswirkungen? Gibt es diesbezüglich Unterschiede zwischen Trophoblastzellen intrauterinen und ektope Ursprungs? Lassen sich aus den gewonnenen Ergebnissen wesentliche neue Erkenntnisse gewinnen? Welche Schlußfolgerungen könnten daraus für bereits bestehende oder neu zu entwickelnde medikamentöse Therapieverfahren der EUG ggf. gezogen werden?

Eine Beantwortung dieser Fragen wird in der vorliegenden Arbeit angestrebt durch Behandlung intrauteriner und ektope Trophoblastzellen des ersten Trimenons mit verschiedenen Konzentrationen von PG F₂ α in einem bereits etablierten, standardisierten Kultursystem (116).

2. Material und Methode

2.1 Gewebegewinnung und Reinigung

2.1.1 Material zur Reinigung

Sterilmaterial:

- Petrischalen, sterile Scheren, Pinzetten, Skalpelle, Pasteur-Pipetten (Einmalpipetten), mit Automatic-Sarpette von Sarstedt, sterile „SEP-T-VAC III“ Saugkanister (1200 cc) (SHERWOOD MEDICAL) zum Auffangen von Intrauterin-Gravidität (IUG) - Material.
- 0,9%ige Natriumchlorid (NaCl)-Lösung zum Vorreinigen
- PBS-Dulbecco (ohne Calcium (Ca) und Magnesium (Mg)) (Seromed) zur Spülung und Feinreinigung
- HAM'S F-10 (1 % Penicillin/Streptomycin, 20 % Fetales Kälberserum, 3,48 % Glutamin) (Seromed) zum Aufbewahren von EUG-Material.

2.1.2 Durchführung der Reinigung

Sämtliche Reinigungsschritte wurden unter sterilen Bedingungen an der sterilen Arbeitsbank (LAMIN AIR) der Firma Heraeus durchgeführt.

Das IUG - Material wurde in sterilen Saugkanistern aufgefangen. Das Material wurde stets sofort aufgearbeitet. Das Alter der IUG's lag zwischen der 6. und 12. Schwangerschaftswoche (SSW) post menstruationem (p.m).

Das geschätzte Gewicht des Trophoblastgewebes betrug mindestens 250 mg.

Das EUG-Material wurde post operationem (p.o.) in sterilen Glasflaschen mit HAM'S F-10/Flüssigmedium aufbewahrt. Das Alter der EUG's lag zwischen der 5. und 12. SSW p.m..

Das Gewicht des gewonnenen Trophoblastgewebes lag zwischen ca. 20 mg und 250 mg.

Die Aufarbeitung erfolgte meistens sofort, spätestens jedoch 6 Stunden p.o.. Die Aufbewahrung erfolgte bei 4 °C im Kühlschrank.

Grobreinigung:

Diese erfolgte mit Scheren, Skalpell und Pinzetten. Die Trennung der Einzelzotten bzw. der Zottensäckchen von Blut und mütterlichen bzw. embryonalen Gewebeanteilen erfolgte durch Spülung mit einer auf 37°C erwärmten NaCl-Lösung.

Feinreinigung:

Diese wurde unter dem WILD Steromikroskop M5A durchgeführt. Die grob gereinigten Chorionzotten wurden in eine Petrischale mit NaCl-Lösung gebracht und mit Pinzetten von den noch vorhandenen Blutresten und Gewebeanteilen wie z.B. Fibrin oder Eihaut gelöst.

Die so gereinigten Chorionzotten wurden anschließend mit der erwärmten PBS-Dulbecco-Lösung in Petrischalen mit Hilfe von Pipetten 3x gespült. Das Trophoblastgewebe war nun zum Kulturansatz vorbereitet.

2.2 Kulturansatz

2.2.1 Material zum Kulturansatz

- Pasteur Pipetten
- Gewebekulturflaschen Falcon 3013 E, 50 ml mit Schräghals, strahlensterilisiert (Falcon)
- auf 37°C vorgewärmtes Chang-Medium (Irvine Scientific)
- auf 37°C erwärmte 0,2 %ige Bacto-Trypsinlösung, (Difco)
- Kohlendioxid (CO₂) - Begasungsbrutschrank B 5060 EK (Heraeus)

2.3 Kulturversorgung

2.3.1 Material zur Kulturversorgung

- Auf 37°C vorgewärmtes Chang-Medium (1. - 6. Kulturtag)
- Auf 37°C erwärmte Ultroser-Gebrauchslösung (6. - 16. Kulturtag) (IBF biotechnics).

500 ml der Gebrauchslösung enthalten:

454 ml	RPMI 1640 (Seromed)
25 ml	Fetales Kälberserum (5%) (Seromed)
5 ml	Penicillin/Streptomycin, (1%) (Seromed)
6 ml	Glutamin, (Seromed)
10 ml	Ultroser (Seromed)

- Pasteur-Pipetten; sterile 5 ml Pipetten (in 1/10), (Falcon)
- Eppendorftubes

2.4 Methode des Kulturansatzes

Nach Grob- und Feinreinigung wurden die Chorionzotten für 20 Minuten in eine Petrischale mit 0,2%iger Bacto-Trypsin-Lösung gebracht. Trypsin, als proteolytisches Enzym, trägt dazu bei, die Zellen aus dem Gewebeverband zu lösen. Nach gründlichem Absaugen der Trypsinlösung wurde den Zotten anschließend Chang-Medium zugesetzt. Nun wurden die Chorionzotten mit Skalpellern zerkleinert, dabei wurde darauf geachtet, daß die Gewebestücke eine einheitliche Größe von ca. 2 mm³ hatten und mit Pasteur-Pipetten in die Gewebekulturflaschen gebracht. Um das Anheften der Zellen am Flaschenboden zu erleichtern, wurde zuvor der gesamte Boden der Kulturflasche mit Chang-Medium benetzt. In jede Kulturflasche wurde, soweit möglich, die gleiche Anzahl von Gewebestücken gebracht. Das Naßgewicht der Gewebestücke innerhalb einer Flasche betrug insgesamt ca. 8 - 12 mg. Die Schätzung des Naßgewichtes erfolgte mit Hilfe des „Zottenkatalogs“. Der „Zottenkatalog“ bestand aus Fotografien einer abgewogenen Menge von Chorionzotten unterschiedlicher Gewichtsklassen die zum Abschätzen des Gewichtes bei diagnostischen Chorionbiopsien diente. Dieser Katalog wurde an der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität Frankfurt am Main für Chorionzottenbiopsien erstellt.

Die Kulturflaschen kamen danach für 12 Stunden in den Brutschrank. Die Schraubverschlüsse waren dabei leicht geöffnet, um einen ungehinderten Gasaustausch zu ermöglichen. Die Temperatur betrug 37°C, der CO₂-Gehalt lag bei 5 %. Pro Kultur wurden 8 Kulturflaschen angesetzt. Nach 12 Stunden wurde der Mediumanteil, der sich noch in den Flaschen befand abgesaugt und verworfen. Danach wurden der 1. Kulturflasche 2,5 ml, der 2. Kulturflasche 2,0 ml, der 3. und 4. Kulturflasche 2,4 ml, der 5. Kulturflasche 2,0 ml Chang-Medium zugegeben. Die Kulturflaschen 6, 7 und 8, erhielten 2,5 ml Chang-Medium. Dieser Zeitpunkt wurde als Kulturtag 0 bezeichnet.

2.5 Prostaglandin F_{2α} - Behandlung

2.5.1 Material und Prostaglandin - Konzentrationen

- Dinoprost (Minprostin[®] F_{2α} sterile Lösung), (UPJOHN)

Zusammensetzung:

1 Ampulle (1 ml) Minprostin F_{2α} enthält 6,71 mg Dinoprost-Trometamolsalz entsprechen 5 mg Dinoprost (Prostaglandin F_{2α} und 9,45 mg Benzylalkohol).

Herstellung einer Verdünnungsreihe:

Durch entsprechende Verdünnung wurden folgende Endkonzentrationen von PG F_{2α} in der Kulturflasche erzielt:

AI 2 und AI 6:	1,0 mg/ml PG F _{2α}
AI 3 und AI 7:	0,1 mg/ml PG F _{2α}
AI 4 und AI 8:	0,01 mg/ml PG F _{2α}
AI 1 Kontrolle:	ohne PG F _{2α} , nur Chang-Medium
AI 5 Benzylalkohol 99,9 %:	durch entsprechende Verdünnung wurde eine Endkonzentration von 2,09 mg/ml erreicht.

	AI 1	AI 2 + AI 6	AI 3 + AI 7	AI 4 + AI 8	AI 5
Chang-Medium	+	+	+	+	+
PG F _{2α}	-	1,0 mg/ml	0,1 mg/ml	0,01 mg/ml	-
Benzylalkohol	-	1,89 mg/ml	0,189 mg/ml	0,0189mg/ml	2,09 mg/ml

2.5.2 Erläuterungen der Dinoprost - Behandlung

Die Zugabe von Dinoprost erfolgte mit der Eppendorf Pipette. Von jeder Gewebeprobe wurden insgesamt 8 Kulturflaschen angesetzt. Die erste Kulturflasche (AI 1) lief als Kontrolle, ohne Dinoprost und ohne Benzylalkohol. Die zweite Kulturflasche (AI 2) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 1,0 mg/ml und 1,89 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Die dritte Kulturflasche (AI 3) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 0,1 mg/ml und 0,189 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Die vierte Kulturflasche (AI 4) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 0,01 mg/ml und 0,0189 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Die fünfte Kulturflasche enthielt nur das Lösungsmittel Benzylalkohol in einer Konzentration von 2,09 mg/ml (AI 5). Die Kulturflasche sechs bis acht enthielten bis Tag 6 nur Chang-Medium. Am 6. Kulturtag erfolgte die Dinoprost-Zugabe. Die sechste Kulturflasche (AI 6) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 1,0 mg/ml und 1,89 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Die siebte Kulturflasche (AI 7) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 0,1 mg/ml und 0,189 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Die achte Kulturflasche (AI 8) enthielt eine Dinoprost-Konzentration von 0,01 mg/ml und 0,0189 mg/ml Benzylalkohol als Lösungsmittel. Auf eine Behandlung mit Benzylalkohol wurde aufgrund des begrenzten Gewebematerials verzichtet. Dinoprost verblieb bis zum nächsten Mediumwechsel, also für 48 Stunden in der Gewebekultur.

Das Verfahren des Kulturansatzes und die Dinoprost-Zugabe wurden im Verlauf durch Vorversuche und genaue Kulturbeobachtung entwickelt. Andere Möglichkeiten des Kulturansatzes, z.B. die von Schäfer et al. (68) beschriebene Kultivierungsmethode, d.h. das Ansetzen einer Langzeitkultur aus einer Zellsuspension, kamen nicht zur Anwendung, weil beim Arbeiten mit Zellsuspensionen die Menge des Ausgangsmaterials groß sein muß, da durch den Aufbereitungsvorgang relativ viel Material verloren geht. Die Menge des EUG-Materials war in den meisten Fällen für die Arbeit mit Zellsuspensionen nicht ausreichend, weil insgesamt 8 Kulturflaschen angesetzt werden sollten. Der Vorteil

des hier beschriebenen Verfahrens liegt darin, daß auch kleine Mengen an Ausgangsmaterial ausreichen.

Dinoprost - Konz. (mg/ml)	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
1,0 mg/ml	+	+	+	+
0,1 mg/ml	+	+	+	+
0,01 mg/ml	+	+	+	+
Benzylalkohol	+	+	-	-
Kontrolle (ohne Dinoprost)	+	+	+	+

Tab. 1. Dinoprost - Konzentrationen der Zellkulturen

Gruppe 1 = IUG, am Tag 0 mit Dinoprost behandelt

Gruppe 2 = EUG, am Tag 0 mit Dinoprost behandelt

Gruppe 3 = IUG, am Tag 6 mit Dinoprost behandelt

Gruppe 4 = EUG, am Tag 6 mit Dinoprost behandelt

2.6 Technik der Kulturversorgung

Der Mediumwechsel erfolgte jeweils alle 48 Stunden. Bis zum 8. Kulturtag wurden die Kulturen mit Chang-Medium gefüttert. Ab dem 8. Kulturtag bis zum 16. Kulturtag wurde aus Kostengründen Ultroser Gebrauchslösung verwendet. Jede Kultur erhielt jeweils 2,5 ml Medium. Der Mediumwechsel erfolgte durch Absaugen mit Pasteur-Pipetten und Überführen des Mediums in Zentrifugenröhrchen. Diese wurden 10 min. bei 2000 U/min zentrifugiert. Gelöste bzw. nicht angewachsene Gewebsanteile wurden so vom Medium getrennt. Danach wurde das Medium in Eppendorftubes gefüllt und bei -21°C eingefroren.

Der Mediumwechsel erfolgte pro Kultur 8 mal, und zwar am 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14. und 16. Kulturtag. Nach der 8. Mediumabnahme d.h. am 16. Tag wurden die Kulturen verworfen.

In regelmäßigen Abständen wurde das Wachstum der Zellen und die Morphologie registriert (LEITZ-Diavert-Mikroskop). Das Wachstum der Kulturen konnte durch das Auszählen der Zellklone, eingeteilt in klein, mittelgroß und groß, quantitativ erfaßt werden. Der Kulturverlauf einiger repräsentativer Kulturen wurde fotografisch festgehalten. Dazu wurde das LEITZ-Diavert-Mikroskop mit Adapter für die Kamera (Olympus OM-4Ti Black) verwendet. Als Fotomaterial wurden Filme der Firma Polaroid (Pola Pan 35 mm Film, Kunstlicht 20 DIN, 80 ASA, ISO 80/20°) verwendet.

2.7 Verlauf der Laborarbeit

Einschließlich der Vorversuche wurden für die Arbeit 17 IUG's und 13 EUG's bearbeitet. Diese Zahlen beinhalten die Kulturansätze, die ein ausreichendes Zellwachstum aufwiesen. Einige wenige Kulturen mußten verworfen werden, da sie kein Wachstum zeigten.

Die Laboruntersuchungen begannen mit IUG-Material. Dieses sollte als Vergleichsgruppe dienen. Es stammte von Patientinnen bei denen eine Abortio durchgeführt wurde.

Es wurde mit Konzentrationen von 1 mg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml und 1 µg/ml PG F_{2α} gearbeitet. Bei jeder Patientin wurde stets eine Kulturflasche als Kontrolle geführt, d.h. diese Flasche enthielt zu keinem Zeitpunkt Dinoprost. Um einen möglichen Lösungsmiteleinfluß auszuschließen, wurde zusätzlich eine Kulturflasche als Lösungsmittelkontrolle geführt, d.h. diese Flasche enthielt 5,22 mg Benzylalkohol.

Bei der Auswertung der Meßergebnisse der Vorversuche zeigte sich, daß sich der HCG-Kurvenverlauf bei der Dinoprost-Konzentration von 1 µg/ml nicht von dem der Kontrolle unterschied. Deshalb wurde für die eigentlichen Versuche auf diese Konzentration verzichtet. Im weiteren Verlauf wurde Dinoprost beim Ansetzen der Kultur und am 6. Kulturtag ausgetestet.

Am Ende der Laborarbeit gingen jeweils 10 IUG und 10 EUG in die statistische Auswertung ein, siehe Tabelle.

Dinoprost-Zugabe bei Kulturansatz:

Konzentration		Kontrolle (ohne PG F2 _α)	1,0 mg/ml PG F2 _α	0,1 mg/ml PG F2 _α	0,01 mg/ml PG F2 _α	2,09 mg/ml Benzyl- alkohol
EUG	n	10	10	10	10	10
IUG	n	10	10	10	10	10

Dinoprost-Zugabe am 6. Kulturtag:

Konzentration		Kontrolle (ohne PG F2 _α)	1,0 mg/ml PG F2 _α	0,1 mg/ml PG F2 _α	0,01 mg/ml PG F2 _α
EUG	n	10	10	10	10
IUG	n	10	10	10	10

Der statistische Vergleich konnte zwischen IUG's und EUG's am Tag 0 und Tag 6 anhand von je 10 Kulturen geführt werden. Für den Vergleich innerhalb der IUG's und EUG's sowohl am Kulturtag 0 als auch am Kulturtag 6 standen 10 Kulturen zur Verfügung. Bei jeder Zellkultur konnten bis zum Kulturende, d.h. am 16. Kulturtag, HCG-Werte im Medium gemessen werden.

Insgesamt wurden im Verlauf der Arbeit 1 928 Messungen durchgeführt.

Davon gingen 1 280 HCG-Messungen in die statistische Auswertung ein.

2.8 HCG-Messung

2.8.1 Material zur HCG-Messung

IMx HCG-Test (ABBOTT)

Reagenzien:

- IMx HCG Reagenzienpackung (Nr. 3A63-20) mit Reaktionseinsätzen
- IMx HCG Kalibratoren (Nr. 3A63-01)
- IMx HCG Kontrollen (Nr. 3A63-10)
- Diluent-Buffer 2 (Nr. 31245M200 Imx)
- Eppendorf Pipetten 100 und 200 mit Pipettenspitzen

2.8.2 Grundlagen des Verfahrens

Der IMx HCG-Test basiert auf der Technologie des Mikropartikel-Enzymimmunoassays (MEIA)

Die MEIA-Assays enthalten folgende Reaktionspartner:

- Mit einem Bindemolekül beschichtete Mikropartikel
- Fluoreszenzsubstrat (4-Methylumbelliferyl-phosphat)
- Mit alkalischer Phosphatase markiertes Konjugat
- Reaktionseinsatz mit Glasfibrermatrix zur Bindung des Immunkomplexes

Die IMx HCG-Reagenzien werden wie folgt in die Reaktionseinsätze abgegeben:

- Die Probenadel-/Elektrodeneinheit pipettiert die Probe, das IMx HCG Probenverdünnungsmittel, das Anti- β -HCG: Alkalische Phosphatase-Konjugat und mit Anti-HCG beschichtete Mikropartikel in die Inkubationskammer des Reaktionseinsatzes.
- HCG bindet an den enzymatisch markierten Antikörper und an den mit Antikörper beschichteten Mikropartikel und bildet einen Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex
- Ein Teil des Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexes wird auf die Glasfibrermatrix überführt. Die Mikropartikel werden irreversibel an die Glasfibrermatrix gebunden.
- Um das ungebundene Material zu entfernen, wird die Matrix gewaschen.
- Die Messung des Immunkomplexes auf der Glasfibrermatrix erfolgt mit Hilfe eines mit einer alkalischen Phosphatase markierten Konjugats, das die Hydrolyse von 4-Methylumbelliferyl-phosphat zu 4-Methylumbelliferon katalysiert. Die Geschwindigkeit, mit der 4-Methylumbelliferon auf der Matrix gebildet wird, ist proportional zur Konzentration der zu bestimmenden Substanz in der Probe. 4-Methylumbelliferon ist fluoreszierend, und die Rate der 4-Methylumbelliferon-Produktion wird mit Hilfe des optischen Meßsystems für MEIA gemessen.
- Das optische Meßsystem für MEIA-Tests besteht aus einem Auflicht-Fluorimeter mit einer Quecksilberdampfampe als Lichtquelle. Das emittierte Licht wird durch ein Anregungsfilter geleitet, aus dem Licht mit einer Wellenlänge von 365 nm austritt. Dieses Licht wird anschließend auf die Matrixoberfläche des Reaktionseinsatzes fokussiert.

Das optische Meßsystem mißt die Intensität des an der Matrixoberfläche des Reaktionseinsatzes entstandenen Fluoreszenzlichts. Das fluorogene Substrat (4-Methylumbelliferyl-phosphat) wird auf die Matrixoberfläche gegeben und durch ein Enzym (alkalische Phosphatase) in ein fluoreszierendes Reaktionsprodukt umgewandelt (4-Methylumbelliferon). Dieses absorbiert das Anregungslicht und wird angeregt. Bei der Rückkehr zum Ausgangszustand emittiert das Licht mit

448 nm. Das emittierte Licht passiert ein System aus zwei Filtern, das Licht mit der entsprechenden Wellenlänge ausfiltert und auf die Photomultiplier-Röhre fokussiert. Die dort auftretende Lichtintensität wird gemessen und zur Berechnung der Konzentration der zu bestimmenden Substanz in der Probe verwendet.

Durch Messung bekannter Konzentrationen der zu bestimmenden Substanz wird eine Kalibrierungskurve erstellt und gespeichert. Anschließend wird die Konzentration der Substanz in den Mediumproben anhand dieser gespeicherten Kurve ermittelt (37).

2.9 Statistische Auswertung

2.9.1 Testverfahren

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit Hilfe des Softwarepaketes SPSS/PC+. An statistischen Verfahren wurde die Friedman-Rangvarianzanalyse, ein nicht-parametrisches Mehr-Stichproben-Testverfahren für verbundene Stichproben, sowie der Wilcoxon/Wilcox Test für multiple Vergleiche abhängiger Stichproben verwendet (83, 64).

2.10 Ethikkommission

Vor Beginn der Untersuchungen war das Vorhaben der Ethikkommission des Universitätsklinikums Frankfurt am Main vorgestellt und deren Zustimmung zu seiner Durchführung eingeholt worden.

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung der HCG-Verläufe

Tag 0:

Bei Betrachtung der Einzelkurven war bei den unbehandelten IUG-Kulturen vom 2. zum 4. Kulturtag stets ein leichter Anstieg im HCG-Verlauf zu erkennen. Die Konzentrationen 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml PG F_{2α} zeigten vom 2. bis zum 6. Kulturtag ebenfalls überwiegend einen leichten Anstieg im HCG-Verlauf. Bei der Konzentration 1,0 mg/ml zeigte sich vom 2. bis zum 6. Kulturtag dagegen immer ein starker HCG-Abfall.

Auch die Kulturen, welchen ausschließlich Benzylalkohol zugegeben wurde, zeigten vom 2. bis zum 6. Kulturtag vorwiegend einen starken HCG-Abfall. Dieser war jedoch meist nicht so ausgeprägt wie bei der höchsten PG F_{2α} - Konzentration.

Bei den unbehandelten EUG-Kulturen war vom 2. bis zum 6. Kulturtag meist ein mäßig starker HCG-Abfall zu erkennen. Die Konzentrationen 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml PG F_{2α} zeigten vom 2. bis zum 6. Kulturtag ebenfalls zum überwiegenden Teil einen mäßigen HCG-Abfall. Der HCG-Abfall war wesentlich deutlicher ausgeprägt bei der Konzentration 1,0 mg/ml PG F_{2α} und stets zu beobachten.

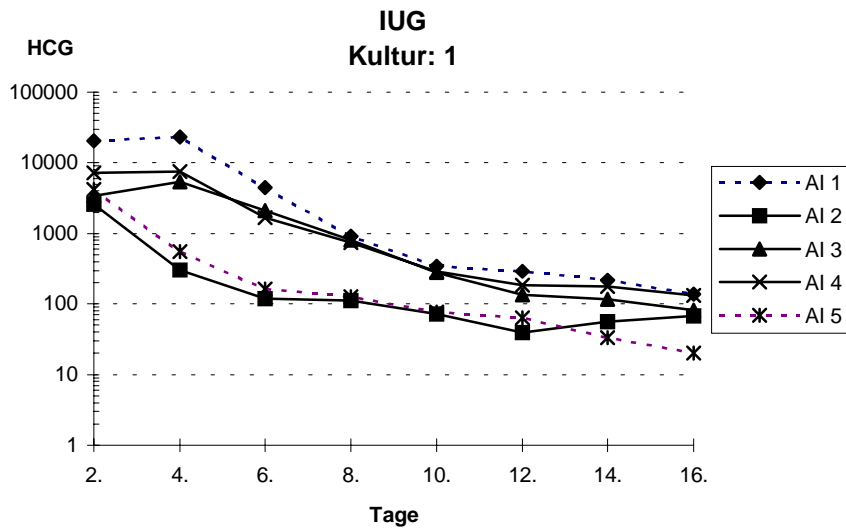
Auch die nur mit Benzylalkohol behandelten Kulturen zeigten, bis auf eine Ausnahme, einen mäßigen Abfall der HCG-Werte, allerdings nicht so ausgeprägt wie bei der höchsten PG F_{2α} - Konzentration.

Tag 6:

Die am 6. Kulturtag behandelten IUG-Kulturen zeigten bei den Konzentrationen 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml am 8., 10. und 12. Kulturtag überwiegend einen mäßigen bis starken HCG-Abfall. Die Konzentration 1,0 mg/ml zeigte am 8., 10. und 12. Kulturtag immer einen starken HCG-Abfall. Die EUG-Kulturen zeigten bei den Konzentrationen 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml am 8., 10., und 12. Kulturtag zum größten Teil einen mäßigen bis starken HCG-Abfall. Die Konzentration 1,0 mg/ml zeigte am 8., 10., und 12. Kulturtag immer einen starken HCG-Abfall.

Als Beispiel für den Kulturverlauf bei Dinoprost-Zugabe am Tag 0 dient für die IUG's die Kultur 1 und für die EUG's die Kultur 2 (Abb. 2)

a.)



b.)

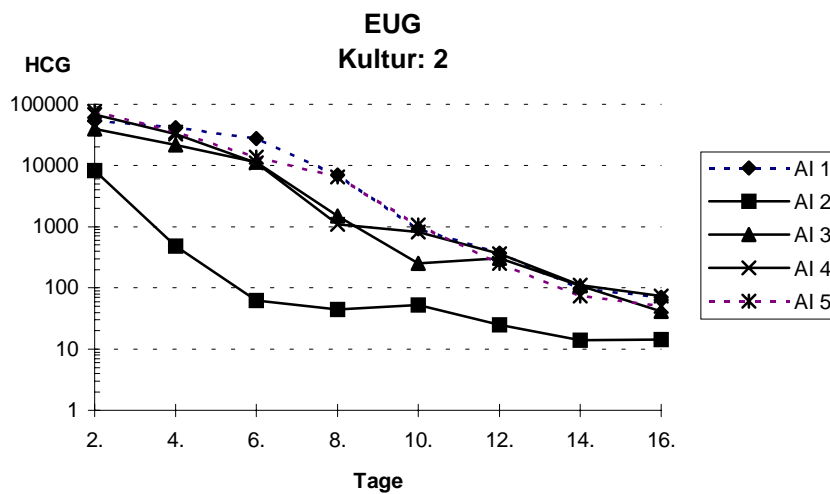


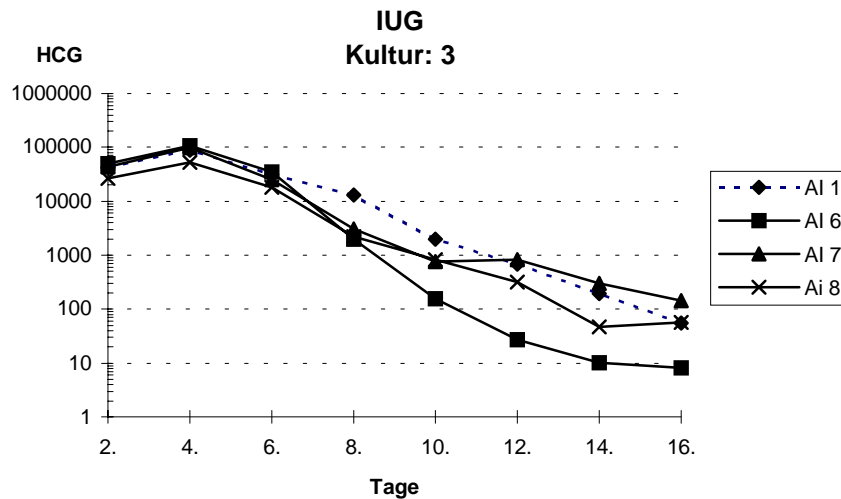
Abb. 2 a.) HCG-Werte der Kultur 1 (IUG) bei Dinoprost-Zugabe am Tag 0

b.) HCG-Werte der Kultur 2 (EUG) bei Dinoprost-Zugabe am Tag 0

AI 1	Kontrolle (ohne PG F _{2α})
AI 2	1,0 mg/ml PG F _{2α}
AI 3	0,1 mg/ml PG F _{2α}
AI 4	0,01 mg/ml PG F _{2α}
AI 5	2,09 mg/ml Benzylalkohol

Als Beispiel für den Kulturverlauf bei Dinoprost-Zugabe am 6. Kulturtag soll bei den IUG's die Kultur 3 und bei den EUG's die Kultur 4 zur Darstellung kommen. (Abb. 3)

a.)



b.)

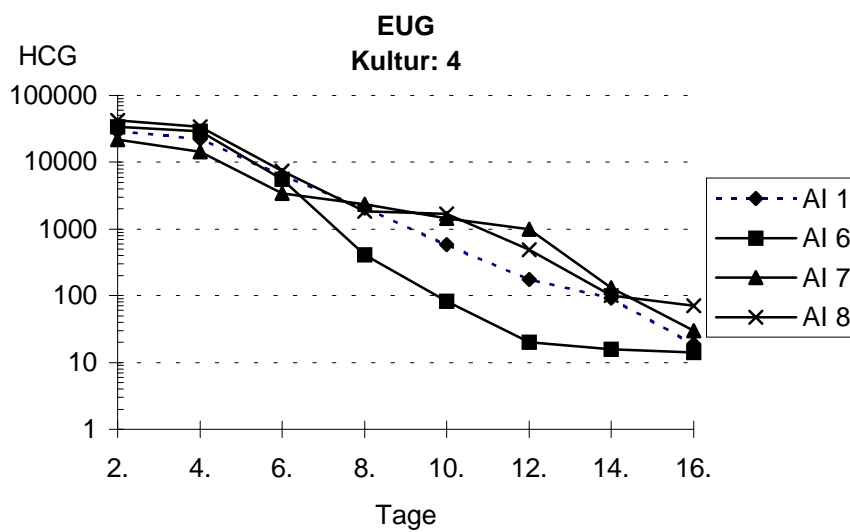


Abb. 3 a.) HCG-Werte der Kultur 3 (IUG) bei Dinoprost-Zugabe am Tag 6

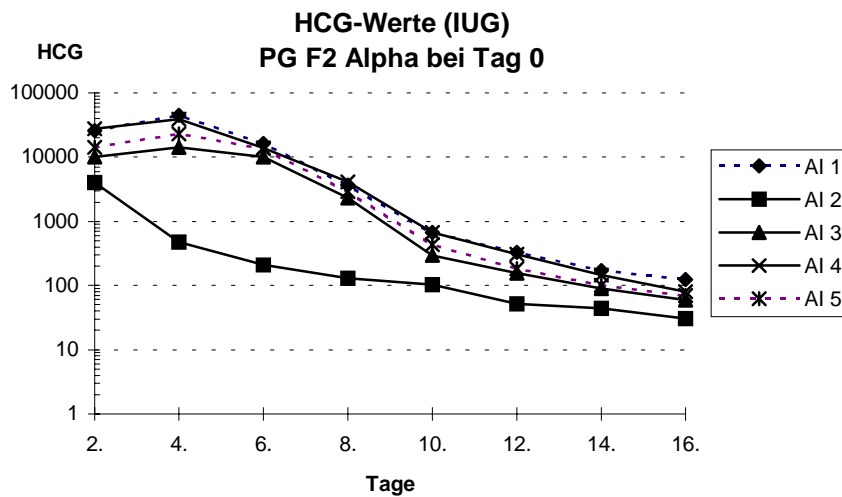
b.) HCG-Werte der Kultur 4 (EUG) bei Dinoprost-Zugabe am Tag 6

AI 1	Kontrolle (ohne PG F _{2α})
AI 6	1,0 mg/ml PG F _{2α}
AI 7	0,1 mg/ml PG F _{2α}
AI 8	0,01 mg/ml PG F _{2α}

3.2 Auswertung der arithmetischen Mittelwerte

Die Auswertung der Mittelwerte ergab für IUG's und EUG's jeweils für Tag 0 folgende graphische Darstellungen. (Abb. 4)

a.)



b.)

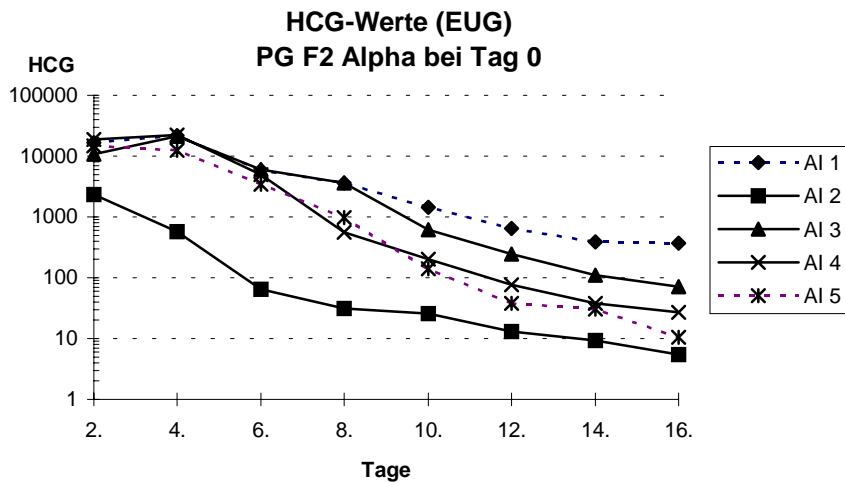


Abb. 4 Darstellung der HCG-Mittelwerte von Extra- und Intrauteringraviditäten

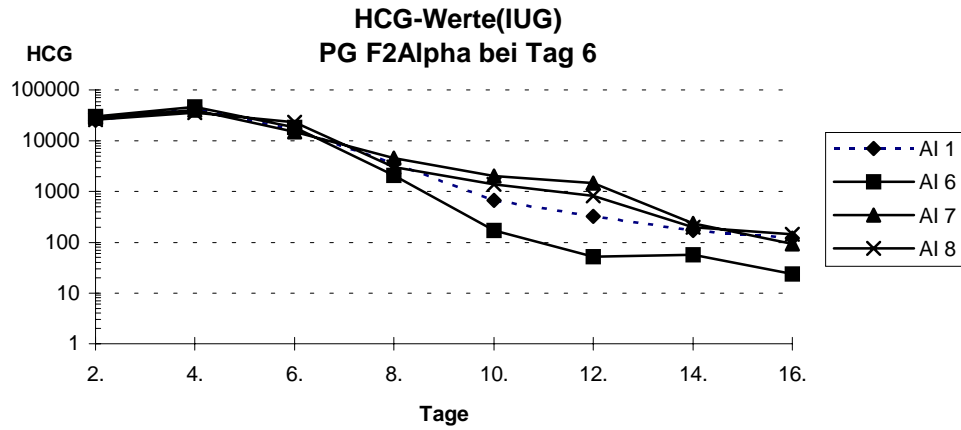
a.) HCG-Mittelwerte der IUG's (n = 10) Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 0

b.) HCG-Mittelwerte der EUG's (n = 10) Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 0

AI 1	Kontrolle (ohne PG F2 α)
AI 2	1,0 mg/ml PG F2 α
AI 3	0,1 mg/ml PG F2 α
AI 4	0,01 mg/ml PG F2 α
AI 5	2,09 mg/ml Benzylalkohol

Die Auswertung der Mittelwerte ergab für IUG's und EUG's jeweils für Tag 6 folgende graphische Darstellungen. (Abb. 5)

a.)



b.)

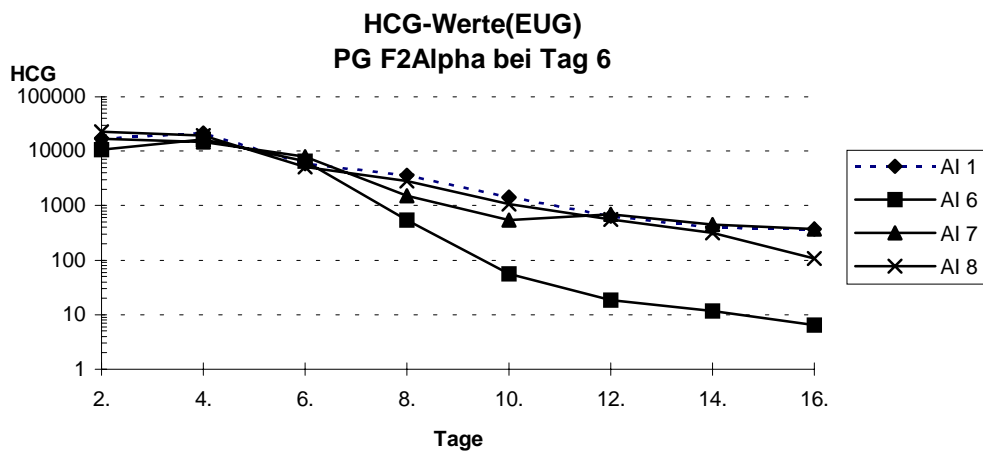


Abb. 5 Darstellung der HCG-Mittelwerte von Extra- und Intrauterin graviditäten

a.) HCG-Mittelwerte der IUG's (n = 10) Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 6

b.) HCG-Mittelwerte der EUG's (n = 10) Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 6

AI 1	Kontrolle (ohne PG F2 _α)
AI 6	1,0 mg/ml PG F2 _α
AI 7	0,1 mg/ml PG F2 _α
AI 8	0,01 mg/ml PG F2 _α

Die Standardabweichungen wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht in die Kurvenverläufe eingetragen. Sie sind im Anhang aufgeführt.

Aus den HCG-Mittelwerten für IUG's und EUG's bei Dinoprost-Zugabe am Tag 0 ergibt sich:

1. Die Dinoprost-Konzentration von 1,0 mg/ml weist jeweils den stärksten und frühesten Abfall der HCG-Werte im Vergleich zur Kontrolle auf.
2. Bis auf die höchste Dinoprost-Konzentration liegen bei den IUG's alle Kurven relativ dicht zusammen.
3. Die HCG-Werte der Kontrolle liegen über den HCG-Werten der mit Dinoprost behandelten Kulturen.
4. Die Streuung der HCG-Werte bei EUG's ist größer als bei IUG's.

Bei den IUG's, die am Tag 0 behandelt wurden, nimmt mit fallender Dinoprost-Konzentration die Höhe der HCG-Werte zu. Die Kulturen die mit 0,01 mg/ml behandelt wurden, zeigen bis ca. zum 12. Tag annähernd gleiche Werte wie die Kontrolle. Die HCG-Werte der Kulturen, die mit der Konzentration 0,1 mg/ml behandelt wurden liegen sowohl unter den Werten der Kulturen, die die Konzentration 0,01 mg/ml enthielten, als auch unter den Werten der Kulturen, die Benzylalkohol enthielten. Die HCG-Werte für die Konzentration 1,0 mg/ml sind von Beginn an im Vergleich zu den anderen Konzentrationen niedriger. Es erfolgt kein anfänglicher HCG-Anstieg wie er bei allen anderen PG F2 α -Konzentrationen, der Benzylalkohol-Kultur und der Kontrolle zu beobachten ist. Auch am Kulturende zeigen die mit 1,0 mg/ml behandelten Kulturen die niedrigsten HCG-Werte.

Bei den EUG's, die am Tag 0 behandelt wurden ist bei der mittleren und niedrigsten Dinoprost-Konzentration kein eindeutiger Zusammenhang mit der Höhe der HCG-Werte zu erkennen. Die Kulturen, die mit 0,01 mg/ml behandelt wurden liegen jedoch bis auf Tag 4 etwas unter den Werten der Kulturen, welche die Konzentrationen 0,1 mg/ml enthielten.

Die HCG-Werte der Kulturen die mit der Konzentration 0,1 mg/ml behandelt wurden zeigen bis zum 8. Tag annähernd gleiche Werte wie die Kontrolle.

Die HCG-Werte der Kulturen, die mit Benzylalkohol behandelt wurden, liegen durchgehend unterhalb der Werte der Kulturen, welche die Konzentration 0,1 mg/ml enthielten und außer am 8. Tag, durchgehend unterhalb der Werte der Kulturen, welche die Konzentrationen 0,01 mg/ml enthielten.

Die HCG-Werte für die Konzentrationen 1,0 mg/ml sind von Beginn an im Vergleich zu den anderen Konzentrationen deutlich niedriger. Es erfolgt am 4. Tag kein HCG-Anstieg. Auch am Kulturende zeigen die mit 1,0 mg/ml behandelten Kulturen die niedrigsten HCG-Werte. Am Kulturende, ca. ab dem 12. Tag, zeigen die mit Dinoprost behandelten Kulturen insgesamt einen stärkeren Abfall im Kurvenverlauf als die unbehandelten.

Aus den HCG-Mittelwerten für IUG's und EUG's bei Dinoprost-Zugabe am Tag 6 ergibt sich:

1. Die Dinoprost-Konzentration von 1,0 mg/ml weist jeweils den stärksten und frühesten Abfall der HCG-Werte im Vergleich zur Kontrolle auf.
2. Die Kurven der unbehandelten Kulturen und der Konzentrationen 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml liegen eng, deutlich von der Konzentration 1,0 mg/ml abgesetzt, beieinander.
3. Die Streuung der HCG-Werte bei IUG's und EUG's ist annähernd gleich.

Bei den IUG's wie auch bei den EUG' die am Tag 6 behandelt wurden, sind die einzelnen Kurven wie zu erwarten bis zum 6. Tag fast deckungsgleich, d.h. die Höhe der HCG-Werte der Kulturen die am Tag 6 behandelt wurden und der Kontrolle ist annähernd gleich. Dies spricht dafür, daß eine gleichmäßige Verteilung des Trophoblastgewebes auf die einzelnen Kulturflaschen gelungen ist.

Die HCG-Werte der Kontrolle und der Konzentration 0,01 mg/ml und 0,1 mg/ml unterscheiden sich nur sehr wenig.

Bei den am Tag 6 behandelten Kulturen sind die HCG-Werte für die Konzentration 1,0 mg/ml von Tag 10 (IUG's) bzw. 8 (EUG's) an, im Vergleich zu den anderen Konzentrationen erkennbar niedriger.

3.3 Ergebnisse der angewandten statistischen Tests

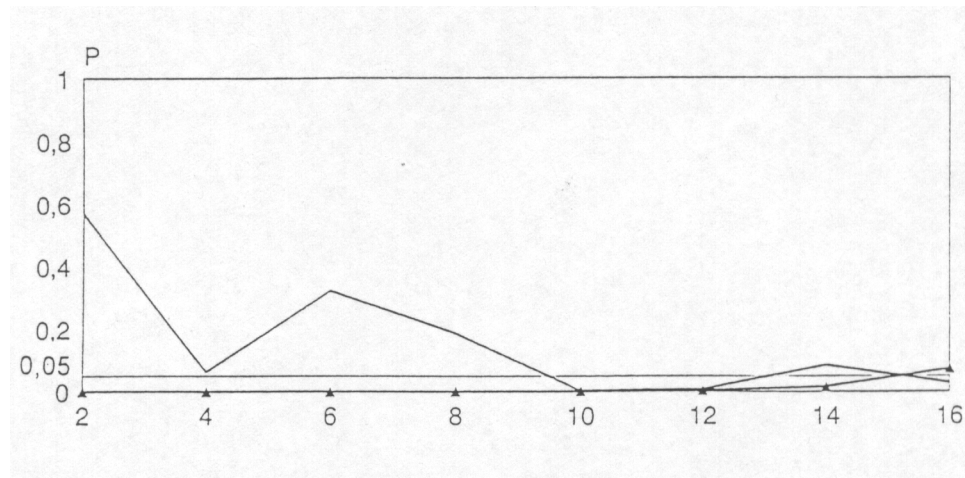
Für die statistische Auswertung interessierten zwei Sachverhalte:

1. Besteht innerhalb der Gruppe der IUG's und der EUG's ein signifikanter Unterschied zwischen den mit Dinoprost behandelten und den unbehandelten Kulturen, jeweils bei Dinoprost-Zugabe am Tag 0 bzw. am 6. Kulturtag ?
Hierfür wurde der Friedmann-Test, ein nichtparametrischer Mehr-Stichproben-Test für verbundene Stichproben verwendet. Gewählt wurde ein 5 %-Signifikanzniveau. Innerhalb der IUG's wurden 10 Kulturen miteinander verglichen. Getestet wurden die Konzentrationen 1,0 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,01 mg/ml, Benzylalkohol und die Kontrolle. Diese Konzentrationen wurden auch bei den EUG's verglichen. Hier standen ebenfalls 10 Kulturen zur Verfügung.
2. Wann und bei welchen Konzentrationen besteht ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Konzentrationen und der Kontrolle bzw. den Konzentrationen untereinander jeweils für EUG's und IUG's bei der Dinoprost-Behandlung am Tag 0 und Tag 6 ?
Hierfür wurde der Test nach Wilcoxon und Wilcox für multiple Vergleiche abhängiger Stichproben verwendet. Gewählt wurde ein 5 %-Signifikanzniveau.

3.3.1 Ergebnisse des Friedmann Tests

Das Ergebnis des Friedman Tests drückt sich in folgenden grafischen Darstellungen aus (*Abb. 6*):

a.) Intrauteringraviditäten

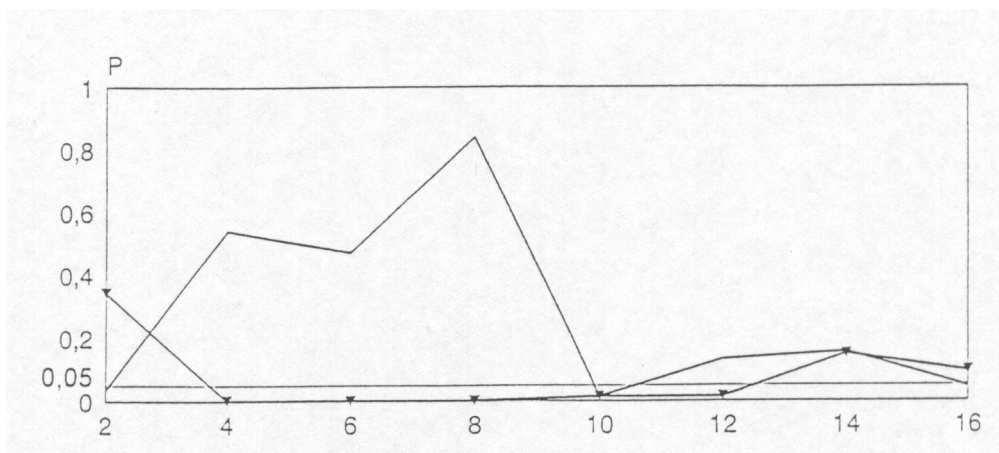


Tag

△ PG F2 α Tag 0

— PG F2 α Tag 6

b.) Extrauteringraviditäten



Tag

△ PG F2 α Tag 0

— PG F2 α Tag 6

Abb. 6 P-Werte nach Friedman Two-way ANOVA (— p = 0,05)

a.) für Intrauteringraviditäten (n = 10)

b.) für Extrauteringraviditäten (n = 10)

△ PG F2 α Tag 0 = Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 0

— PG F2 α Tag 6 = Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 6

Aus der Grafik der IUG's ergibt sich:

- 3.3.1.1 Für die IUG's, die am Kulturtag 0 behandelt wurden, besteht vom 2. bis 14. Kulturtag ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen.
- 3.3.1.2 Für die IUG's die am 6. Kulturtag mit Dinoprost behandelt wurden ist ein signifikanter Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen am 10., 12. und 16. Kulturtag nachweisbar.

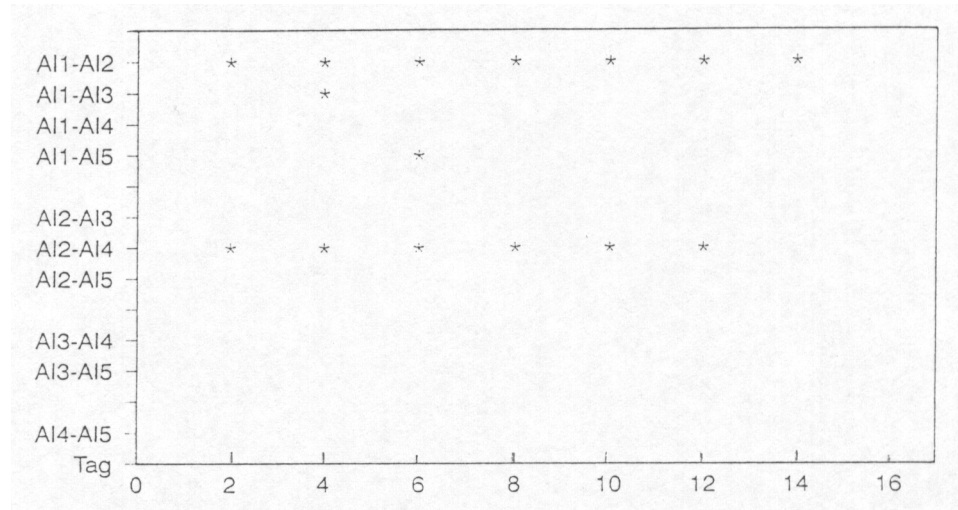
Aus der Grafik für die EUG's ist folgendes ablesbar:

- 3.3.1.3 Für die am Tag 0 behandelten Kulturen besteht ein signifikanter Unterschied am 4., 6., 8., 10. und 12. Kulturtag zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen.
- 3.3.1.4 Dies trifft für die EUG's, die am 6. Kulturtag mit Dinoprost behandelt wurden, nicht zu. Hier besteht nur am 2. und 10. Kulturtag ein signifikanter Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen.

3.3.2 Ergebnisse der Tests nach Wilcoxon und Wilcox

Nachfolgenden grafischen Darstellungen zeigen die Ergebnisse des Tests für Zugabe am Tag 0 (Abb. 7) bzw. Tag 6 (Abb. 8).

a.) Intrauteringraviditäten



b.) Extrauteringraviditäten

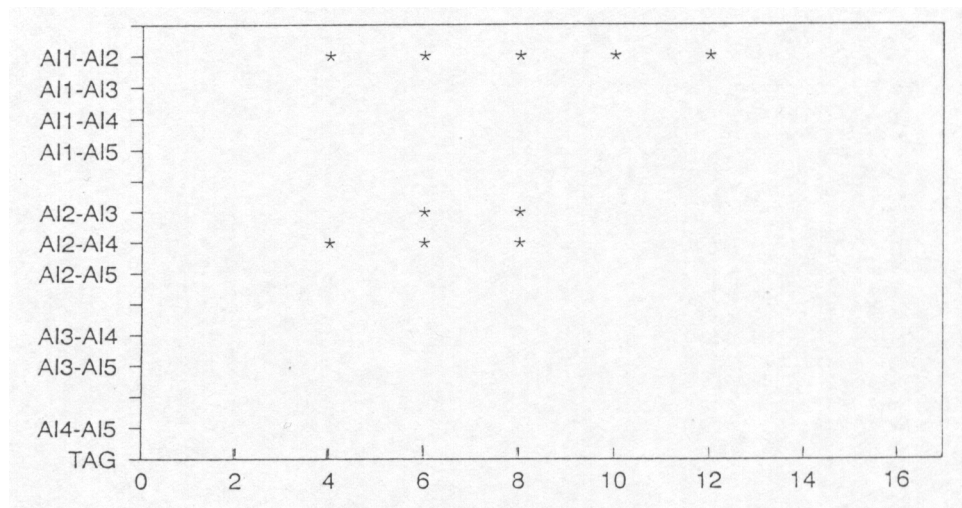


Abb. 7 Multiple Vergleiche nach Wilcoxon/Wilcox

a.) Intrauteringraviditäten (n = 10) bei Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 0

b.) Extrauteringraviditäten (n = 10) bei Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 0

AI 1=Kontrolle (ohne PG F2 α)

AI 2=1,0 mg/ml PG F2 α

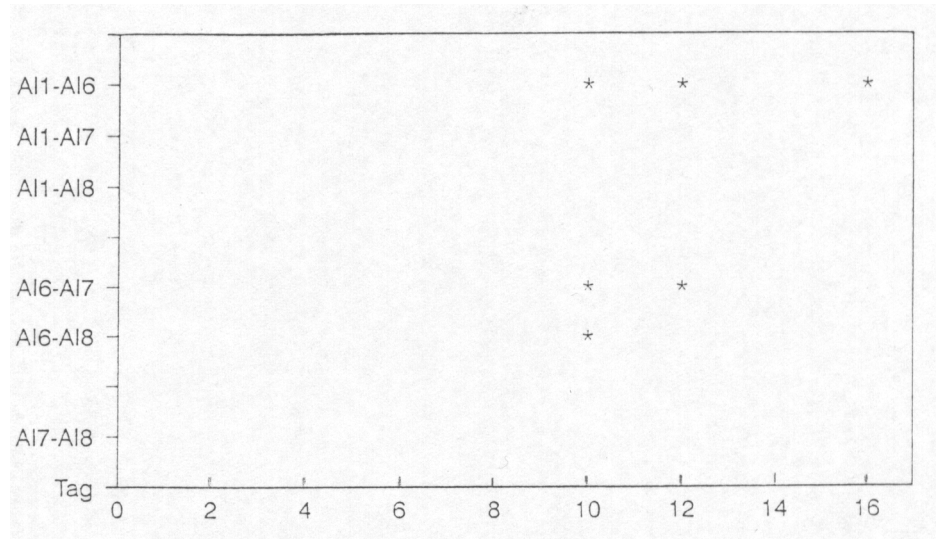
AI 3=0,1 mg/ml PG F2 α

AI 4=0,01 mg/ml PG F2 α

AI 5=2,09 mg/ml Benzylalkohol

* = p < 0,05

a.) Intrauteringraviditäten



b.) Extrauteringraviditäten

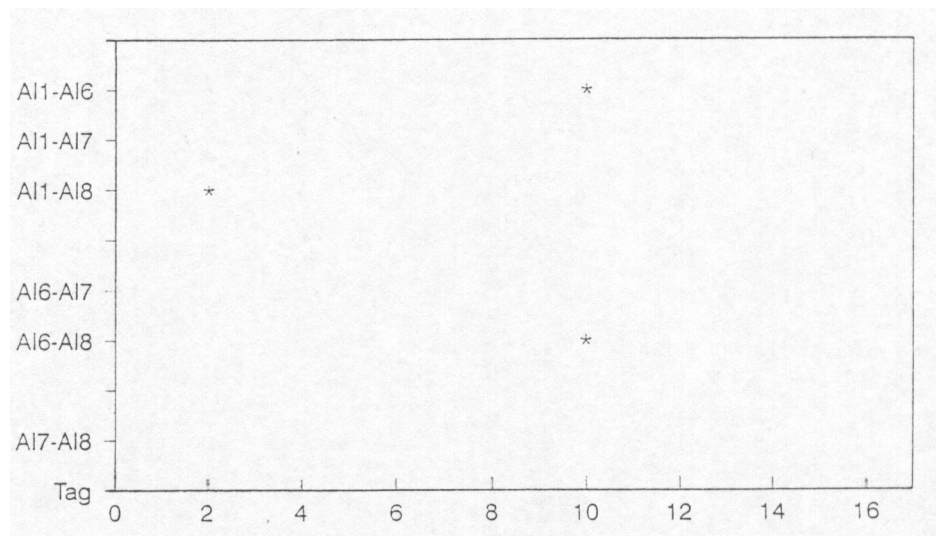


Abb. 8 Multiple Vergleiche nach Wilcoxon/Wilcox

a.) Intrauteringraviditäten (n = 10) bei Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 6

b.) Extrauteringraviditäten (n = 10) bei Dinoprost - Zugabe am Kulturtag 6

AI 1= Kontrolle (ohne PG F2 α)

AI 6 = 1,0 mg/ml PG F2 α

AI 7 = 0,1 mg/ml PG F2 α

AI 8 = 0,01 mg/ml PG F2 α

* = p < 0,05

Aus den Grafiken läßt sich ableiten:

- 3.3.2.1 Für die IUG's, die am Kulturtag 0 behandelt wurden, besteht am 2.-14. Kulturtag eine signifikante Dinoprost-Wirkung für die Konzentration 1,0 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle. Am 4. Kulturtag auch für die Konzentration 0,1 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle. Am 6. Kulturtag eine signifikante Benzylalkohol-Wirkung im Vergleich zur Kontrolle. Der Vergleich der Konzentrationen untereinander innerhalb der IUG's ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen der Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,01 mg/ml vom 2.-12. Kulturtag.
- 3.3.2.2 Für die IUG's, die am Kulturtag 6 behandelt wurden, besteht am 10., 12. und 16. Kulturtag eine signifikante Dinoprost-Wirkung für die Konzentration 1,0 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle. Der Vergleich der Konzentrationen untereinander innerhalb der IUG's ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,1 mg/ml am 10. und 12. Kulturtag sowie zwischen den Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,01 mg/ml am Kulturtag 10.
- 3.3.2.3 Für die EUG's, die am Kulturtag 0 behandelt wurden besteht am 4., 6., 8., 10. und 12. Kulturtag eine signifikante Dinoprost-Wirkung für die Konzentrationen 1,0 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle. Der Vergleich der Konzentrationen untereinander innerhalb der EUG's ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,1 mg/ml am 6. und 8. Kulturtag. Ein signifikanter Unterschied besteht vom 4.-8. Kulturtag auch zwischen den Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,01 mg/ml. Der Vergleich des Benzylalkohols mit den Konzentrationen 1,0 mg/ml, 0,1 mg/ml 0,01 mg/ml und der Kontrolle ergibt keinen signifikanten Unterschied.

3.3.2.4 Für die EUG's die am Kulturtag 6 behandelt wurden besteht nur am 10. Kulturtag eine signifikante Dinoprost-Wirkung für die Konzentrationen 1,0 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle. Am 2. Kulturtag besteht ein signifikanter Unterschied für die Konzentrationen 0,01 mg/ml im Vergleich zur Kontrolle.

Der Vergleich der Konzentrationen untereinander innerhalb der EUG's ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen den Konzentrationen 1,0 mg/ml und 0,01 mg/ml am 10. Kulturtag.

3.4 Mikroskopische Betrachtung und morphologische Auswertung

Die mikroskopische Begutachtung wurde durchgeführt, um herauszufinden, ob sich, abhängig von den verschiedenen Prostaglandin-Konzentrationen, Unterschiede in Zellwachstum und Zellmorphologie zeigen.

In den Zellkulturen fanden sich 4 verschiedene Zellformen:

Multianguläre, spindelförmige, ovale und „Spiegelei“ Zellen. Ähnliche Zellformen wurden von Sand et al (66) und Yagel et al (89) in ihren Arbeiten beschrieben. Am 2. Kulturtag wurde die erste mikroskopische Betrachtung durchgeführt, weil die Aussprossung der Zellen frühestens zu diesem Zeitpunkt, durchschnittlich am 3.-5. Kulturtag began. Um die Gewebestücke stellten sich zuerst multianguläre Zellen dar. Diese waren größer als die anderen Zellformen und hatten zahlreiche Zellausläufer.

Im weiteren Kulturverlauf (ca. 8.-10. Kulturtag) erschienen spindelförmige Zellen. Diese waren parallel zueinander und sternförmig um das Gewebestück angeordnet, dazwischen bestanden kaum Freiräume. Am 6.-10. Kulturtag erschienen vereinzelt in dicht bewachsenen Zonen ovale Zellen und ganz vereinzelt auch „Spiegelei“ Zellen. Insgesamt wurden im Kulturverlauf am häufigsten multianguläre Zellen gefunden, gefolgt von spindelförmigen Zellen.

Eine mikroskopische Unterscheidung war sowohl zwischen den verschiedenen Prostaglandin-Konzentrationen, als auch zwischen den behandelten und unbehandelten Zellkulturen, nicht möglich. Es waren keine Unterschiede im Kulturwachstum bzw. in der Wachstumsgeschwindigkeit und der Zellmorphologie zu erkennen.

In der mikroskopischen Betrachtung fanden sich zwischen IUG's und EUG's grundsätzlich keine Unterschiede, die beschriebenen Zellformen fanden sich sowohl in den IUG- wie in den EUG-Kulturen.

3.4.1. Fotografische Darstellungen der Zellkulturen

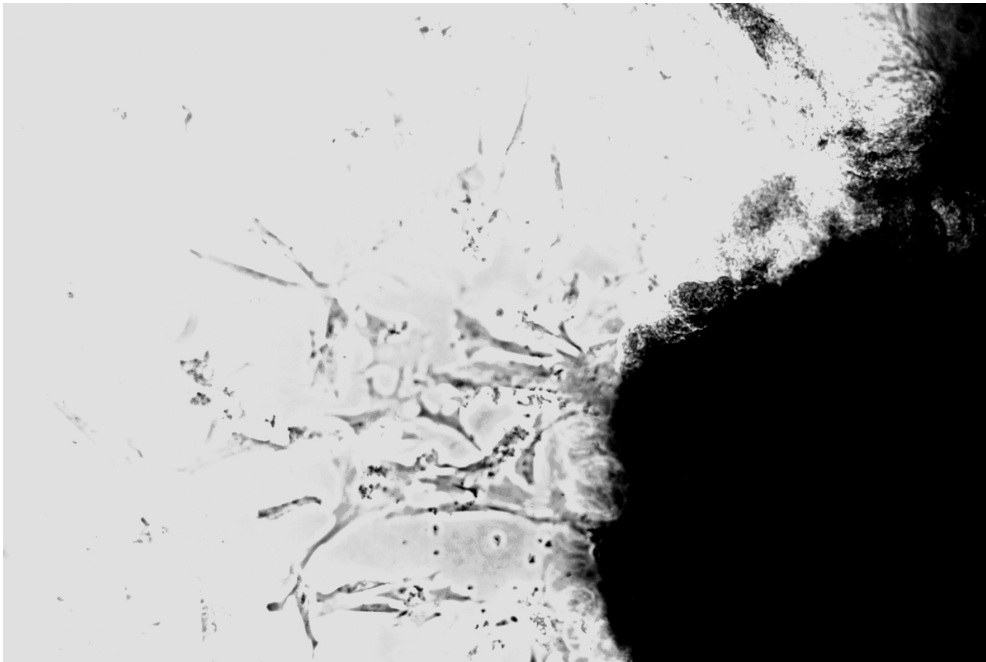
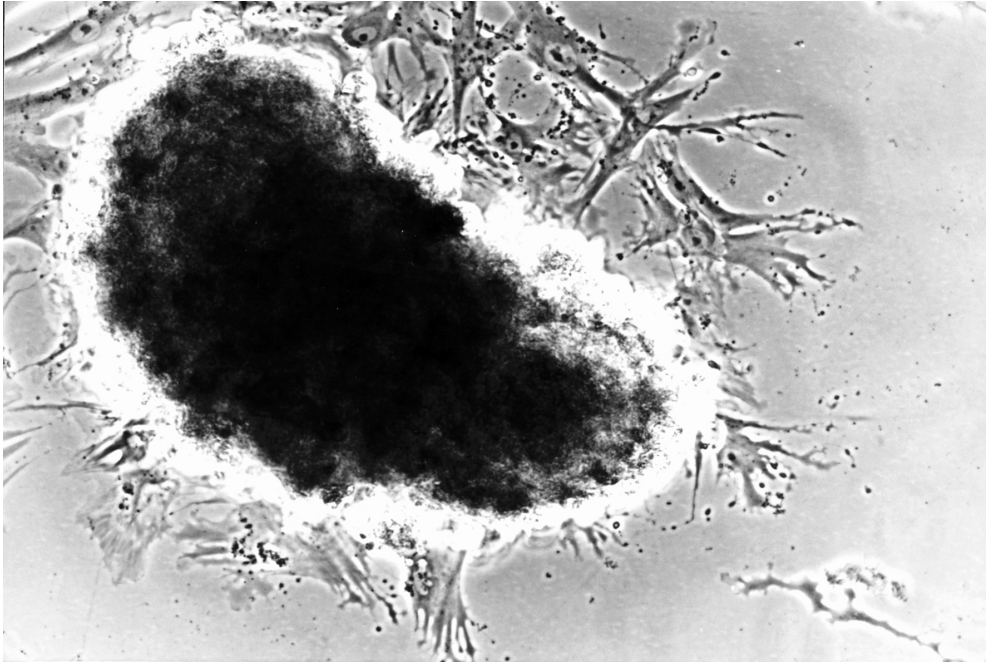


Abb. 9 a, b **Multianguläre Zellformen**

- a) Kultur 16 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
fotografiert am 6. Kulturtag, Vergrößerung 1:250
- b) Kultur 16 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 0,01 mg/ml
fotografiert am 6. Kulturtag, Vergrößerung 1:250

Abb. 10 a, b **Multianguläre und ovale Zellformen**

- a) Kultur 18 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
fotografiert am 12. Kulturtag, Vergrößerung 1:50
- b) Kultur 24 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
fotografiert am 10. Kulturtag, Vergrößerung 1:50

Abb. 11 a, b **Spindelförmiger Zelltyp**

- a) überwiegend spindelförmige Zellen
Kultur 22 (IUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 0,1 mg/ml,
fotografiert am 10. Kulturtag, Vergrößerung 1:250
- b) spindelförmige Zellen zwischen ovalen und vereinzelt
multiangulären Zellen
Kultur 18 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 0,1 mg/ml
fotografiert am 15. Kulturtag, Vergrößerung 1:50

Abb. 12 **„Spiegelei“ Zelltyp**

- a) Kultur 18 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 0,1 mg/ml,
fotografiert am 8. Kulturtag, Vergrößerung 1:250

Abb. 13 a, b **6. Kulturtag**

- a) Kultur 26 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 1,0 mg/ml,
Vergrößerung 1:50
- b) Kultur 26 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
Vergrößerung 1:50

Abb. 14 a, b **10. Kulturtag**

- a) Kultur 26 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 1,0 mg/ml,
Vergrößerung 1:50
- b) Kultur 26 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
Vergrößerung 1:50

Abb. 15 a, b **16. Kulturtag**

- a) Kultur 26 (EUG), Prostaglandin-Behandlung am Kulturtag 0,
Prostaglandin-Konzentration 1,0 mg/ml,
Vergrößerung 1:50
- b) Kultur 26 (EUG) ohne Prostaglandin-Behandlung (Kontrolle),
Vergrößerung 1:50

3.5 Anamnestiche Angaben

3.5.1 Anamnestiche Angaben der Patientinnen mit EUG`s

Alter	Geburten	Fehlgeburten	Gynäkol. Vorerkrankung	Diagnostik	Diagnose	Therapie
38 Jahre	-	1 x missed abortion	-	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie	Tubargravidität rechts	Laparotomie: Salpingotomie unter mikrochirurgischen Bedingungen
41 Jahre	2 x Sectio caesarea wg.cephalopelvinem Mißverhältnis	-	1 x laparoskopische Adhäsiolyse	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Corpuscurettag Douglaspunktion	Cornuale EUG rechts	Re-Re-Laparotomie: Ausschälen des Schwangerschaftsproduktes unter Belassung der rechten Tube
31 Jahre	-	-	-	Cürettage	Tubargravidität links	Laparotomie: Tubenteilresektion links
34 Jahre	-	-	-	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie	Tubargravidität links	Laparotomie: Tubenerhaltende Operation mit Exprimieren des schwangerschaftsspezifischen Materials
26 Jahre	2 x Spontanpartus	-	-	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Cürettage	Tubargravidität rechts	Laparoskopie, Laparotomie: Tubotomie rechts
32 Jahre	-	habituelle Aborte (4)	Z.n. Resektion eines Uterusseptums	HCG- Bestimmung Vaginalsonographie Cürettage	Tubargravidität rechts	Laparotomie: Salpingotomie rechts
31 Jahre	1 x Spontanpartus	-	1 x diagn. Laparoskopie wg. Ovarialzyste rechts	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Cürettage	Rupturierte Tubargravidität rechts	Laparoskopie, Laparotomie: Salpingotomie rechts
30 Jahre	1 x Spontanpartus	-	-	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Douglaspunktion	Rupturierte Tubargravidität rechts	Laparotomie: Tubenteilresektion rechts
39 Jahre	1 x Spontanpartus 2 x Interruptiones	1 x EUG rechts (mit Salpingektomie rechts)	-	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Cürettage	Tubargravidität links	Laparoskopie, Laparotomie: Salpingotomie links
35 Jahre	2 x Spontanpartus	-	1 x Adnexitis	HCG-Bestimmung Vaginalsonographie Douglaspunktion	Tubargravidität rechts	Laparoskopie, Laparotomie:Salpingektomie rechts

3.5.2 Anamnestische Angaben der Patientinnen mit IUG's

Von den Patientinnen, die sich der Abruption unterzogen war es nicht möglich Angaben zur Anamnese zu erhalten, weil der Eingriff ambulant in einer gynäkologischen Praxis durchgeführt wurde. Das Alter der Patientinnen lag zwischen 26 und 37 Jahren, mit einem Mittelwert von 29 Jahren.

4. Diskussion

Zur medikamentösen Behandlung der EUG wurden in den letzten Jahren verschiedene Substanzen eingesetzt.

So beschrieben Tanaka et al. 1982 erstmals die Methotrexat-Behandlung einer Tubar-gravidität mit klinischer Bestätigung der Tubendurchgängigkeit. Dabei verwendeten sie einmalig 30 mg Methotrexat i.m., nach 2 Tagen nochmals 15 mg Methotrexat i.m., diese Dosis wurde weiter an 5 aufeinanderfolgenden Tagen injiziert. Seither wurde der Folsäureantagonist Methotrexat systemisch in oraler (60, 98) und parenteraler Form i.m. (78, 80, 99, 100), i.v. (58) des weiteren in lokal intratubar applizierter Form (23, 101) eingesetzt. Ein weiteres Medikament das zur medikamentösen EUG-Behandlung verwendet wurde ist das Antiprogesteron RU 486 (39, 102, 103, 104).

Kenigsberg et al. (39) beschrieben die Behandlung einer persistierenden EUG mit RU 486. Dabei verabreichten sie RU 486 oral in einmaliger Dosis. Eine klinische Befundbesserung trat jedoch nicht ein, die HCG-Werte zeigten keine Remission, so daß zusätzlich Methotrexat in Kombination mit Leukovorin verabreicht wurde. Daraufhin trat der erwünschte HCG-Abfall ein .

In China wurde Trichosanthin, ein pflanzliches Abortivum, vereinzelt zur EUG-Behandlung verwendet (105). Auch der Einsatz von Kaliumchlorid zur lokalen EUG-Behandlung ist in der Literatur beschrieben, ein breiter therapeutischer Einsatz ergab sich nicht (78).

Zur medikamentösen EUG-Behandlung wurden in jüngerer Zeit auch Prostaglandine eingesetzt. Zahlreiche klinische Studien folgten, z.B. wurden in einer prospektiven Multicenterstudie in Österreich 71 Patientinnen durch laparoskopische Injektion von 7 bis 10 mg PG F_{2α} behandelt. Im Anschluß erhielten sie 25 mg konjugierte Östrogene in das Corpus luteum bzw. ipsilaterale Ovar appliziert. Zusätzlich wurde an den ersten 3 postoperativen Tagen 2 mal täglich 500 µg Sulproston (ein synthetisches Prostaglandin E₂-Derivat) i.m. verabreicht. 50 von 71 Patientinnen

(81 %) wurden so erfolgreich behandelt, 21 Frauen mußten wegen steigender β -HCG-Werte oder zunehmender klinischer Symptomatik nach unterschiedlichen Intervallen einer operativen Sanierung der Eileiterschwangerschaft zugeführt werden. Die Versagerquote war mit 12 % in der Gruppe der Patientinnen mit präoperativen β -HCG-Werten unter 2 500 mU/ml deutlich niedriger als mit 75 % in der Gruppe mit β -HCG-Werten über 2 500 mU/ml. Nur 2 (8 %) der 24 post operationem durchgeführten HSG's wiesen eine Okklusion der Tube auf, bei 4 Patientinnen konnte nachfolgend eine intrauterine Konzeption festgestellt werden (21).

Vejtorp et al. führten eine Untersuchung an 30 Patientinnen durch, die je 0,75 bis 1,5 mg PG F_{2 α} in die Tube und das Corpus luteum des Ovars per Laparoskopie injiziert erhielten. In 24 Fällen war die Behandlung erfolgreich (80 %). 5 Frauen erhielten sekundär eine Laparotomie wegen ansteigender β -HCG-Werte und 1 Patientin wurde trotz abfallender β -HCG-Werte, am 3. Tag nach der Prostaglandingabe, wegen einer Blutung aus dem Corpus luteum, laparotomiert (85).

Paulsson et al. (61) behandelten 93 Patientinnen durch laparoskopische Injektion von 1 mg PG F_{2 α} in die Tubargravidität und zusätzlich 0,5 mg PG F_{2 α} unter die Kapsel des das Corpus luteum tragenden Ovars. 79 von 93 Patientinnen (85 %) benötigten keine weitere Therapie. Von den 14 Laparotomien wurde die Hälfte wegen abdomineller Schmerzen durchgeführt .

Neben der laparoskopischen Behandlung mit Prostaglandinen wurde auch als Fallbericht über die erfolgreiche hysteroskopische Applikation mittels Tubenkanülierung bei 2 Patientinnen berichtet (44).

Die klinischen Studien konnten sich bisher nicht auf in vitro Untersuchungen stützen, die eine Behandlung von EUG-Gewebe mit Prostaglandinen beinhalten. In der vorliegenden Arbeit wurde IUG- und EUG-Gewebe mit PG F_{2 α} behandelt. Dabei wurde IUG-Gewebe unter den gleichen Bedingungen kultiviert und behandelt wie EUG-Gewebe. Dieser Versuchsaufbau ermöglichte es, Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen IUG- und EUG-Gewebe herauszuarbeiten. Deutlich ergab sich

im Vergleich der HCG-Verläufe von IUG's und EUG's, daß EUG's in Zellkultur langsamer und weniger ausgeprägt als IUG's auf PG F_{2α} reagierten (*Abb.6*). Bei PG F_{2α}-Zugabe am 6. Kulturtag trat diese Tatsache zwar weniger deutlich hervor, ist aber dennoch zu erkennen.

Eine Erklärungsmöglichkeit für diese Beobachtung wäre, daß intakte IUG's gesundes leistungsfähiges Trophoblastgewebe besitzen und so optimal in der Lage sind, die PG F_{2α}-Wirkung zu vermitteln. Prinzipiell wird eine Wirkung von PG F_{2α} damit erklärt, daß es sich als extracelluläres Prostaglandin des cAMP-Systems der Trophoblastzellen, dem sogenannten second-messenger-Systems bedient (76). Das EUG-Gewebe ist im Gegensatz dazu, bedingt durch die Einnistung in der Tube, suboptimalen Wachstumsbedingungen ausgesetzt mit daraus resultierenden Folgen für Zellmorphologie und -physiologie. Die hierdurch verursachten nekrobiotischen Veränderungen des Trophoblasten resultieren in einer Abnahme der HCG-Biosynthese. Dies zeigt sich auch daran, daß bei EUG's die im Harn gemessenen HCG-Werte bezogen auf die Gestationszeit weit unter der Norm liegen. Der Urin-Schwangerschaftstest kann positiv, schwach positiv oder bei verschleppten protrahierten Fällen auch negativ sein. So fanden sich bei R. Winter et al. nur bei 11,4 % von 224 Fällen HCG-Werte, die denen einer intrauterinen Schwangerschaft entsprachen (88).

Bei der Betrachtung der EUG-Präparate unter dem Dissektionsmikroskop post operationem konnten diese in drei Gruppen eingeteilt werden:

1. Es war die bis zur OP intakte Schwangerschaft mit Embryo, Amnionhöhle und Chorionzotten zu erkennen.
2. Im Präparat fand sich ein Zottensäckchen ohne embryonale Anteile.
3. Das Operationspräparat zeigte in Resorption befindliches Gewebe, in dem sich nur noch hyphenartig wachsende Einzelzotten im Koagel befanden.

Die Serum-HCG-Werte der 10 EUG-Patientinnen, die in die statistische Auswertung einbezogen wurden, spiegeln diese drei Gruppen wider. Fand sich eine vollständige

Fruchthöhle mit Embryo (n = 2) so lagen die prä-operativen Werte bei 3 890 U/l bzw. 47 000 U/l, war ein komplettes Zottensäckchen ohne embryonale Anteile vorhanden (n = 4), so ergaben sich Werte zwischen 600 U/l und 3 500 U/l. Fanden sich in EUG-Präparat nur Einzelzotten (n = 4) so wurden Werte zwischen 220 U/l und 1 060 U/l gemessen.

Chromosomale Veränderungen stellen wahrscheinlich keine Ursache für die geringere Sensitivität der EUG-Zellen dar. Die Ergebnisse der Untersuchungen von Schäfer et al weisen darauf hin, daß chromosomale Ursachen für die Ätiologie der EUG keine Rolle spielen, denn es wurden keine chromosomalen Unterschiede zwischen EUG's und IUG's gefunden (69).

Bei der Betrachtung der Mittelwertkurven zeigte sich eine schnelle und starke Reaktion auf PG F_{2α} bei Behandlung am Tag 0. Schon nach 48 Stunden ließ sich sowohl bei den mit PG F_{2α} behandelten EUG's als auch IUG's ein HCG-Abfall beobachten. Bei den am Tag 6 mit PG F_{2α} behandelten Kulturen zeigte sich der HCG-Abfall im Kurvenverlauf erst ca. 4 - 6 Tage nach der Behandlung. Dies traf für EUG's und IUG's zu. Möglicherweise liegt dies am Trypsinisierungsvorgang, der eine Membranschädigung verursacht haben könnte und eine erhöhte Zellpermeabilität für PG F_{2α} zur Folge hätte. Da die Trypsinisierung am Kulturansatz stattfindet, hätten die am Tag 0 behandelten Zellen weniger Zeit für Reparaturvorgänge an ihren Membransystemen als die am Tag 6 behandelten Zellen und reagierten hierdurch sensibler auf die Behandlung. Zwischen Trypsinisierung und PG F_{2α}-Behandlung am Tag 0 lagen 12 Stunden. Bis zur PG F_{2α}-Behandlung am Tag 6 waren 156 Stunden vergangen. Diese Zeit müßte für am Tag 6 behandelte Zellen ausreichen, um reversible Schädigungen an den Zellmembranen zu korrigieren.

Außerdem zeigte sich, daß die Kulturen, die am Tag 0 behandelt wurden, zum Behandlungszeitpunkt durchschnittlich höhere HCG-Werte aufwiesen als die am Tag 6 behandelten Kulturen. Unter der Annahme, daß die HCG-Produktion Rückschlüsse auf die allgemeine Stoffwechselaktivität der Trophoblastzelle am

Tag 0 zuläßt, kann angenommen werden, daß sie in der Lage war mehr PG F_{2α} aufzunehmen als am Tag 6.

Ein weiterer Grund könnte mit der Beobachtung zusammenhängen, daß sich der Cytotrophoblast in Kultur verändert und so z.B. die Aufgaben des Synzytiotrophoblasten, also die HCG-Produktion, übernimmt. Diese Vermutung ergibt sich aus der Beobachtung daß in reinen Cytotrophoblastkulturen ein HCG-Nachweis nach 35-72 Stunden erbracht werden konnte, was am Beginn der Kultivierung nicht möglich war (40).

Interessant ist auch die Beobachtung, daß die Zellen des Cytotrophoblasten nach 24-48 Stunden ein Syncytium durch Zellfusion bilden und in der Lage sind, die HCG-Sekretion zu übernehmen (40).

Die HCG-Produktion ist in der menschlichen Plazenta eine Leistung des Synzytiotrophoblasten, dieser stellt die aus dem Cytotrophoblasten hervorgehende synzytiale Außenschicht des Chorionzottenepithels dar. Der Cytotrophoblast ist der zum Inneren der Frucht gerichtete Teil des Trophoblasten, er besteht aus fermentbildenden großen Zellen. Das sich aus ihm differenzierende Synzytium stellt den Synzytio- oder Plasmadiotrophoblasten dar (5). Die Behandlung der Kulturen mit PG F_{2α} könnte diese Umwandlungsprozesse stören, so daß als Resultat die HCG-Werte stark abfallen.

Welche Hypothesen gibt es bislang bezüglich des Wirkmechanismus bei der Behandlung der EUG mit Prostaglandinen?

Bezüglich der Prostaglandine existieren zahlreiche in vivo Hormonuntersuchungen bei Abortinduktion (22,45,75) und in vitro Untersuchungen zur Wirkung auf verschiedene andere Gewebe (12, 16, 27, 46, 51), jedoch nur spärliche Daten über die Wirkung auf Trophoblastgewebe in vitro (48). In vitro Untersuchungen konnten jedoch zeigen, daß PG F_{2α} einen starken kontraktilen Effekt auf die Eileiter- und Gefäßmuskulatur aufwies (26), wodurch es zu einer extremen Zunahme des intratubaren Drucks bzw. zu einer Abnahme des lokalen Blutflusses kommen sollte. Der

hypothetische Wirkungsmechanismus geht dabei davon aus, daß durch die Kompression und Hypoxie das ohnehin schon gestörte Gleichgewicht zwischen HCG-Produktion durch den Trophoblasten und Progesteronproduktion durch das Corpus luteum weiter verschlechtert wird. Dadurch sollte es zu einem kompletten Absterben und letztlich zu einer Resorption der Tubargravidität kommen (36).

Weiterhin zeigt PG F_{2α} einen Antiprogesteroneffekt (7), welcher möglicherweise zusätzlich eine Rolle spielt (sog. Luteolyse). Schmidt-Gollwitzer et al. (71) untersuchten die Wirkung von 5 mg extraamniot appliziertem PG F_{2α} auf das Corpus luteum graviditatis bei 7 Frauen mit Schwangerschaften mit einem Gestationsalter zwischen 2-4 Wochen p.m.. 4 Frauen mit einer Schwangerschaft von mehr als 9 Wochen dienten als Kontrollgruppe. Bei den jüngeren Schwangerschaften fielen die Serumkonzentrationen von 17 β-Östradiol und Progesteron innerhalb von einigen Stunden nach der Prostaglandininstillation ab. Die 17-Hydroxyprogesteron Konzentration im Serum blieb jedoch unverändert hoch und nahm erst wesentlich später in ähnlicher Weise wie HCG ab. Bei der Kontrollgruppe wurden keine signifikanten Veränderungen der Serumhormonspiegel gemessen. Dieser Unterschied im Abfall von 17-Hydroxyprogesteron und den anderen gemessenen Steroiden kann möglicherweise durch 2 Mechanismen, einen primären mechanischen und einen sekundären luteolytischen erklärt werden. Der immense Anstieg des intrauterinen Drucks, der innerhalb von Minuten nach der Prostaglandininstillation auftritt, und die Konstriktion der arteriellen Gefäße führen zu einer Zerstörung bzw. Beeinträchtigung der fetoplazentaren Einheit. Hierdurch kommt es zu einem Abfall der plazentaren Steroid- und HCG-Produktion, die wiederum in frühen SSW für den Erhalt des Corpus luteum graviditatis notwendig ist.

Ein weiterer möglicher Wirkmechanismus der Prostaglandine wäre ein direkter zytotoxischer oder stoffwechselmodulierender Effekt des PG F_{2α} auf den Trophoblasten, insbesondere bei Verwendung von relativ hohen, pharmakologischen Dosen. Nach Egarter et al. (22) ergibt sich zwar hinsichtlich der Hormonproduktion des Trophoblasten bei Inkubation mit PG F_{2α} versetztem Nährmedium in einer

Konzentration von 5 und 10 µg/ml keine wesentliche Reduzierung der Hormonproduktion der Trophoblasten. Im Gegensatz dazu konnten Mc Natty et al. (55) jedoch einen deutlichen *in vitro* Effekt von PG F_{2α} nachweisen. Die Progesteron-Produktion kultivierter menschlicher Granulosa-Zellen wurde durch die Gabe von PG F_{2α} in Konzentrationen von 1-8 000 µg/ml deutlich reduziert bzw. gehemmt ohne aber deren Lebensfähigkeit zu beeinflussen. Als möglicher Wirkmechanismus wird eine direkte Einwirkung auf das sogenannte „second-messenger“ System mit Inaktivierung der Hormonwirkung durch Beeinträchtigung des Adenylcyclase-Systems angesehen (55).

Nach Baum et al. bedient sich PG F_{2α} zur Luteolyse ebenfalls des second-messenger-Systems. Danach aktiviert PG F_{2α} in Rattenovarien spezielle Membranproteine mit Hilfe Ca²⁺-aktivierter Proteinkinasen und führt so zur Luteolyse (3). Daß PG F_{2α} in der Lage ist, die intrazelluläre cAMP-Konzentration zu erhöhen wurde auch von anderen Autoren beschrieben (56). Es konnte auch gezeigt werden, daß PG F_{2α} zur cGMP-Erhöhung im Ratten-Uterus, Leber und Gehirn fähig ist (65). Auch wenn die vorliegende Arbeit keinen Beitrag zur Klärung des zugrundeliegenden Wirkmechanismus leisten kann, muß aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung davon ausgegangen werden, daß PG F_{2α} in der Lage ist, eine direkte Wirkung auf Trophoblastzellen auszuüben, welche zu einer Reduktion der HCG-Produktion/-Sekretion führt. Da sich morphologisch und bezüglich des Zellwachstums keine Unterschiede zwischen PG-behandelten und unbehandelten Kulturen verifizieren ließen, ist zumindest ein ausgeprägter zytotoxischer Effekt als unwahrscheinlich anzusehen. Wohl aber kann von einem stoffwechselmodulierenden Effekt von PG F_{2α} auf Trophoblast-Gewebe ausgegangen werden. Damit muß neben der Vasokonstriktion, der reaktiven Hypertonie der Tubenmuskulatur und der Luteolyse, auch ein direkter Einfluß von PG F_{2α} auf Trophoblastzellen als Beitrag zur therapeutischen Wirkung in Betracht bezogen werden. Weiterführende Untersuchungen hierzu sind erforderlich.

Als Resümee der erwähnten Literatur und unter Berücksichtigung der *in vitro* Untersuchungen dieser Arbeit, läßt sich für die klinische EUG-Behandlung feststellen:

Die PG F2_α-Therapie ist eine mögliche Behandlungsmethode bei ausgewählten EUG's. Untersuchungen nach PG F2_α-Behandlung von EUG's ergaben, daß sich das Medikament wohl nicht nachteilig auf die Tubendurchgängigkeit auswirkt (21, 34). Ein Nachteil ist sicherlich die Notwendigkeit der laparoskopischen Anwendung, da die alleinige systemische Therapie wegen unerwünschter Wirkungen im kardiovaskulären und gastrointestinalen Bereich nicht in Frage kommt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung könnten jedoch Anlaß sein, chemisch modifizierte Prostaglandine zu entwickeln, welche eine noch ausgeprägtere direkte Wirkung auf Trophoblastgewebe zeigen als PG F2_α. Gelingte es dabei gleichzeitig die systemischen unerwünschten Wirkungen ausreichend zu vermindern, wäre eine rein systemische Behandlung der EUG durch ein solcherart modifiziertes Prostaglandinderivat prinzipiell möglich. Auch eine Kombination mit anderen Pharmaka, insbesondere Methotrexat, wäre dabei denkbar, wie dies bereits bei der Auslösung eines induzierten Abortes bei intrauteriner Schwangerschaft zum Einsatz kam (117). Möglicherweise ließe sich durch eine solche Kombinationstherapie eine medikamentöse EUG-Behandlung auch bei Konstellationen vornehmen, die dieser bislang nicht oder nur sehr bedingt zugänglich sind, z.B. bei positiver embryonaler Herzaktion bzw. hohen Ausgangs-HCG-Werten. Aufgrund der mit der ektopen Lokalisation verbundenen Gefahr einer Tubarruptur und intraabdominellen Blutung sind an die Sicherheit einer solchen Behandlung allerdings hohe Anforderungen zu stellen. Auch hier sind daher sorgfältige weitere Untersuchungen notwendig.

5. Zusammenfassung

Seit Ende der 80er Jahre kommt die medikamentöse Behandlung mit PG F2_α bei ausgewählten Extrauteringraviditäten (EUG) zur Anwendung. Über diese Therapien existieren zahlreiche klinische Studien, aber nur wenige in vitro Untersuchungen.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die PG F2_α -Wirkung auf Langzeitkulturen menschlichen Trophoblastgewebes. Dabei wurde in einem bereits etablierten, standardisierten Kultursystem Trophoblastgewebe intrauteriner und extrauteriner Schwangerschaften untersucht. Den Zellkulturen wurde für jeweils 48 Stunden PG F2_α in drei verschiedenen Konzentrationen zugegeben (0,01, 0,1 und 1,0 mg/ml). Die Zugabe erfolgte entweder beim Kulturansatz oder am 6. Tag danach. Für jede Kultur wurden in 2-tägigem Abstand die jeweiligen HCG-Konzentrationen bestimmt und HCG-Verlaufskurven erstellt. Die Auswertung erfolgte anhand der arithmetischen Mittelwerte sowie mittels Friedmann-Rangvarianzanalyse und Wilcoxon/Wilcox-Test. Die morphologischen Veränderungen der Trophoblastzellen während des Kulturverlaufes wurden fotografisch dokumentiert.

Trotz der bei extrauterinen Schwangerschaften häufig begrenzten Gewebemenge gelang es mit dem gewählten Kultursystem, Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen intrauterinem und extrauterinem Trophoblastgewebe bezüglich der Behandlung mit PG F2_α klar herauszuarbeiten. Sowohl bei intrauterinem wie extrauterinem Trophoblastgewebe kam es in den Kulturen mit der höchsten und teilweise auch der zweithöchsten PG F2_α -Konzentration zur einer signifikanten Erniedrigung der HCG-Werte gegenüber der Kontrolle. Die beobachtete Erniedrigung der HCG-Werte war bei intrauterinem erheblich deutlicher ausgeprägt als bei extrauterinem Gewebe. Sie war bei Behandlung bei Kulturansatz meist schon am zweiten Tag nach Behandlung, bei PG F2_α -Zugabe am Tag 6 erst 4-6 Tage danach zu beobachten. Weder bezüglich der Zellmorphologie noch der Wachstumsrate ließen sich Unterschiede zwischen den verschiedenen

Prostaglandinkonzentrationen oder zwischen behandelten und nicht behandelten Kulturen erkennen.

Die Ergebnisse weisen auf einen direkten Einfluß von $PG F2_{\alpha}$ auf die HCG-Sekretion intrauterinen wie extrauterinen Trophoblastgewebes hin. Aufgrund der Beobachtungen bezüglich Zellmorphologie und Wachstum der Zellen dürfte ein stoffwechselmodulierender Effekt als Ursache wesentlich wahrscheinlicher als ein zytotoxischer Einfluß sein. Die beobachteten Unterschiede zwischen den Geweben unterschiedlicher Herkunft zeigen, daß an Kulturen intrauterinen Trophoblastgewebes gewonnene Erkenntnisse nicht prinzipiell auf extrauterines Trophoblastgewebe übertragen werden können.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Ahmed, N. A., Murphy, B. E. P.: The effects of various hormones on human chorionic gonadotropin production in early and late placental explant cultures. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 159 (5), (1988), 1220-1227
- (2) Bader, H.: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 2. Auflage. VCH Verlagsgesellschaft, (1985), 180-187
- (3) Baum, M. S.: Prostaglandin F₂-Alpha administered in vivo induces Ca²⁺ - dependent protein phosphorylation in rat luteal tissue *Endocrinology* 124 (1), (1989), 555-557
- (4) Becker, V., Schiebler, Th. H., Kubli, F.: *Die Plazenta des Menschen*. Thieme Verlag Stuttgart, (1981), 209-237
- (5) Becker, V., Schiebler, Th. H., Kubli, F. *Die Plazenta des Menschen*. Thieme Verlag Stuttgart, (1981), 13-94
- (6) Benz, J., Glatthaar, E.: *Checkliste Gynäkologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1990), 97-100
- (7) Bennergrad, B., Hahlin, M., Wennberg, G., Nören, H.: Local luteolytic effect of PG F_{2α} in the human corpus luteum. *Fertil. Steril.* 56, (1991), 1070
- (8) Butterworth, B. H., Khong, T. Y., Loke, Y. W., Robertson, W. B.: Human cytotrophoblast population studied by monoclonal antibodies using single and double Biotin-Avidin-Peroxidase Immunocytochemistry. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* Vol. 33, No. 10, (1985), 977-983
- (9) Center for Disease control: Ectopic pregnancy, United States 1981-1983. *MMWR* 35, (1986), 289-290

- (10) Correy, J. F., Watkins, R. A., Bratfield, G. F., Garner, S., Watson, S., Gray, G.: Spontaneous pregnancies and pregnancies as a result of treatment on an IVF programm terminating in ectopic pregnancies or spontaneous abortions.
Fertil. Steril. 50, (1988), 85-88
- (11) Cotte, C., Easty, G. C., Neville, A. M., Monaghan, P.: Preperation of highly purified cytotrophoblast from human placenta with subsequent modulation to form syncytiotrophoplast in monolayer cultures.
In vitro 16 (8), (1980), 639-646
- (12) Croxatto, H. B., Ortiz, M. E., Giuloff, E., Ibarra, A., Salvatierra, A., Croxatto, H. D., Spilman, C. H.: Effect of 15-15-methyl PG F_{2α} on human oviductal motility and ovum transport.
Fertil. Steril. 30, (1978), 408-413
- (13) Curt, G.A., Allegra, C.J., Fine R.I.: Antimetabolites.
Cancer Chemother. Annual 6, (1984), 1
- (14) Deckhardt, R., Jänicke, F., Kuhn, W., Zhang, G.: H.: Laparoskopische Therapie der Eileiterschwangerschaft mit Prostaglandinen.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 533, (1990), 537
- (15) Degenhardt, F., Ebeling, B., Meier, B., Schlößer, H. W., Schneider, J.: Behandlung von Eileiterschwangerschaften mit Prostaglandinen.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 51, (1991), 649-652
- (16) Dennefors, B., Sjoergen, A., Hamberger, L.: Progesterone and adenosine 3', 5'-monophosphate formation by isolated human corpora lutea of different ages. Influences of HCG and prostaglandins.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 55, (1982), 102-107
- (17) Donnez, J., Casanas-Ronx, F.: Prognostic factors influencing the pregnancy rate after microsurgical cornual anastomosis.
Fertil. Steril. 46, (1986), 1089-1092
- (18) Dorfman, S. F.: Death from ectopic pregnancy, United States, 1979 to 1980.
Obstet. Gynecol. 62, (1983), 334-338

- (19) Douglas, G. C., King, B. F.: Isolation of pure villous cytotrophoblast from term human placenta using immunomagnetic microspheres.
Journal of Immunological Methodes 119, (1989), 259-268
- (20) Egarter, Ch., Husslein, P.: Behandlung der Tubargravidität durch lokale und systemische Applikation von Prostaglandin.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 48, (1988), 361-363
- (21) Egarter, Ch., Fitz, R., Spona, J., Grünberger, W., Wangenbichler, P., Haidbauer, R., Baumgarten, K., Beck, A., Leodolter, S., Kiss, H., Husslein, P.: Behandlung der Eileiterschwangerschaft mit Prostaglandinen: Eine Multizenterstudie.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 49, (1989), 808-812
- (22) Egarter, Ch.: Die Tubargravidität, neue Konzepte in der konservativen Behandlung. Vol. 10, (1989), 57 Seiten, Facultas Universitätsverlag, Wien
- (23) Feichtinger, W., Kemaenter, P.: Conservative treatment of ectopic pregnancy by tranvaginal aspiration under sonographie control and methotrexat injection.
Lancet 14, (1987), 381-382
- (24) Forth, W., Henschler, D., Rummel, W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, (1987), 194-201
- (25) Friedberg, V., Rathgen, G. H.: Physiologie der Schwangerschaft.
Thieme Verlag Stuttgart, (1980), 209-237
- (26) Hahlin, M., Bokström, H., Lindblom, B.: Ectopic pregnancy: in vitro effects of prostaglandins on the oviduct and corpus luteum.
Fertil. Steril. 47, (1987), 935-940
- (27) Hahlin, M., Dennefors, B., Johannson, C., Hamberger, L.: Luteotropic effects of PG E2 on the human corpus luteum of the menstrual cycle and early pregnancy.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 66, (1988), 909-914

- (28) Hartford, S. L., Silva, P. D., di Zerega, G. S., Yonekura, M. L.: Serologie evidence of prior chlamydial infektion and contralateral tubal ectopic pregnancy and contralateral tubal disease.
Fertil. Steril. 47, (1986), 118-121
- (29) Hay, D. L.: Placental histology and the production of human chariogonadotrophin and its subanits in pregnancy.
British Journal of Obstretics and Gynaecology, (1988), Vol. 95, 1268-1275
- (30) Herbertsson, G., Magnusson, S. S., Benediktsdottier, K.: Ovarian pregnancy and IUCD use in a defined complete population.
Acta. Obstet. Gynecol. Scaud. 66, (1987), 607-610
- (31) Hsi, B.-L., Yeh, C.-J. G., Johnson, P. M., Bereford, N., Stern, P. L.: Monoclonal antibody GB17 recognizes human syncytiotrophoblast.
Journal of Reproductive Immunology 12, (1987), 235-244
- (32) Husslein, P., Kiss, H.:Moderne Behandlung der Tubargravidität.
Gynäkol. Geburtshilfliche Rundschau 33, (1993), 204-210
- (33) Husslein, P., Pateisky, N., Seifert, M., Egarter, Ch.: Prostaglandin treatment for tubal pregnancy: Preliminary Results.
Sing. J. Obstetr. & Gynecol. 19, (1988), 101-103
- (34) Husslein, P., Fitz, R., Pateisky, N., Egarter, Ch.: Prostaglandin injection for termination of tubal pregnancy: Preliminary results.
Am. J. Perinat. 6, (1989), 117-120
- (35) Husslein, P., Kiss, H.:Moderne Behandlung der Tubargravidität.
Gynäkol. Geburtsh. Rundschau 33, (1993), 204-206
- (36) Husslein, P.: Neue Tendenzen in der Therapie der Extrauterinravidität.
Gynäkologe 24, (1991), 52-58
- (37) IMx-System Bedienungsanleitung, ABBOTT, Kapitel 1-10,
82 -5739/R1 B83 A61
- (38) Karsch, F. J., Sutton, G. P.: An intra-overian site for the luteolytic action of estrogen in the rhesus monkey.
Endocrinology 98, (1976), 553-555

- (39) Kenigsberg, D., Porte, J., Hull, M., Spitz, I.M.: Medical treatment of residual ectopic pregnancy: RU 486 and methotrexate.
Fertil. Steril. 47(4), (1987), 702-703
- (40) Kilman, H. J., Nestler, J. E., Sermasi, E., Sanger, J. M., Strauss III, J. F.: Purification, Characterization and in vitro Differentiation of Cytotrophoblasts from Human Term placentae.
Endocrinology Vol. 118 No. 4, (1986), 1567-1582
- (41) Kiss, H., Egarter, Ch., Husslein, P., Semm, K.: Retrospektive Vergleichsstudie der Behandlung einer Tubargravidität durch pelviskopische Operation oder Prostaglandin-Injektion.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 52, (1992), 536-538
- (42) Kooi, S., Kock, H. C. L. V.: Treatment of tubal pregnancy by local injection of methotrexate after adrenaline injection into the mesosalpinx: a report of 25 patients.
Fertil. Steril. 50 (1), (1988), 167-169
- (43) Kovacs, G., Shekleton, P., Leeton, J., Rogers, P., Wood, C., Buttery, B., Renov, P., Davidson, G.: Ectopic tubal pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer under ultrasonic control.
Journal In Vitro Fert. Embryo Transfer 2, (1987), 124-129
- (44) Kullander, S., Maltau, J.M.: Treatment of unruptured tubal pregnancy by an hysteroscopic procedure.
Acta. obstet. gynec.scand. 70, (1991), 247
- (45) Laatikainen, T., Pelkonen, J., Besonen, K., Kajonoja, P.: Effect of sulproston on concentrations of progesterone, 20 α -dihydroprogesterone, estrone, and estradiol in human placental tissue in the trimester of pregnancy.
Arch. Gynecol. 231, (1982), 149-152
- (46) Landanski, T., Akerlund, M.: Interaction of vasopressin and prostaglandin on myometrial activity in vivo in the first trimester of human pregnancy.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 87, (1980), 132-138

- (47) Langer, R., Bukovsky, I., Hermann, A., Ron-El, R., Lifshitz, Y., Caspi, E.: Fertility following conservative surgery for tubal pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol Scand.* 66, (1987), 649-652
- (48) Lewis, G. S., Watermann, R. A.: Metabolism of arachidonic acid in vitro by ovine conceptuses recovered during early pregnancy. *Prostaglandins* 30 (2), (1985), 263-283
- (49) Li, M. C., Hertz, R., Spencer, D. B.: Effects of methotrexate therapy upon choriocarcinoma and chorioadenoma. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 93, (1956), 361
- (50) Lindblom, B., Hahlin, M., Lundorff, P., Thornburn, J.: Treatment of tubal pregnancy by laparoscope-guided injection of prostaglandin F₂ alpha. *Fertil. Steril.* 54, (1990), 404-408
- (51) Lindblom, B., Hamberger, L., Wiqvist, N.: Differentiated contractile effects of prostaglandins E and F on the isolated circular and longitudinal smooth muscle of the human oviduct. *Fertil. Steril.* 30, (1978), 553-559
- (52) Lindblom, B., Källfelt, B., Hahlin, M., Hamberger, L.: Local prostaglandin F₂ α injection for termination of ectopic pregnancy. *Lancet*, (1987), 776-777
- (53) Loke, Y. W., Bridget, H., Butterworth, B. H., Margetts, J. J., Burland, K.: Identification of cytotrophoblast colonies in cultures of human placental cells using monoclonal antibodies. *Placenta* 7, (1986), 221-231
- (54) Loke, Y. W.: Early human trophoblast. *J. Cell Science*, (1987), 161-168
- (55) Mc Natty, K.P., Henderson, K.M., Sawyer, R.S.: Effects of Prostaglandin F₂ α and E₂ on the Production of Progesterone by Human Granulosa cells in Tissue culture. *J. Endocr.* 67, (1975), 231-240

- (56) Nagata, I., Furuya, K., Imaizumi, E., Seki, K., Makimura, N.: Changes in Plasma Cyclic AMP and cyclic GMP during spontaneous labor and labor induced by oxytocin, Prostaglandin F_{2α} and Prostaglandin E_{2α} .
Gynecol. obstet. Invest. 26, (1988), 21-28
- (57) Oelsuer, G., Morad, J., Carp, H., Mashiach, S., Serr, D. M.: Reproductive performance following conservative micro surgical management of tubal pregnancy.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 94, (1987), 1078-1083
- (58) Ory, ST. J., Villanueva, A. L., Sand, P. K., Tamura, R. K.: Conservative treatment of ectopic pregnancy with methotrexate.
Am. J. Obstet. Gynecol. 154 (6), (1986), 1299-1306
- (59) Parry, J. S.: Extrauterine pregnancies: Its causes, species, pathologic anatomy, clinical history, diagnosis, prognosis and treatment.
Philadelphia, (1876), Lea 8 Febiger
- (60) Patsner, B., Kenigsberg, D.: Successful treatment of persistent ectopic pregnancy with oral methotrexate therapy.
Fertil. Steril. 50 (6), (1988), 982-983
- (61) Paullson, G., Kvint, S., Labecker, B.M., Löfstrand, T., Lindblom, B.: Laparoscopic prostaglandin injection in ectopic pregnancy: success rates according to andocrine activity.
Fertil. Steril. 6, (1995), 473
- (62) Priest, R. E., Priest, J. H., Lanndon, C. H., Snider, P. W.:Multinucleate cells in cultures of human amniotics fluid form by fusion.
Laboratory investigation Vol. 43 No. 2, (1980), 140-144
- (63) Rabe, T.:Gynäkologie und Geburtshilfe, Lehrbuch, Weinheim: Edition medizin, VCH, (1990), 84-85
- (64) Sachs, L.: Angewandte Statistik, Anwendung statistischer Methoden 7., völlig neubearb. Aufl.- Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong-Kong, Barcelona, Budapest, Springer, (1992), 664-675

- (65) Samuelsson, B., Goldyne, M., Granström, E., et al.: Prostaglandins and Thromboxanes. *Ann. Rev. Biochem.* 47, (1978), 997-1029
- (66) Sand, P.K., Stubblefield, P.A., Ory, St.J.: Methotrexate inhibition of normal trophoblasts in vitro. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 155(2), (1986), 324-329
- (67) Sauer, M.V., Gorril, M. J., Rodi, I. A., Yeko, T. R., Greenberg, L. H., Bustillo, M., Gunning, J. E., Buster, J. E.: Nonsurgical management of unruptured ectopic pregnancy: an extended clinical trial. *Fertil. Steril.* 48(5), (1987), 752-755
- (68) Schäfer, D., Pfuhl, J. P., Baumann, R., Neubert, S., Bender, H. G., Naujoks, N.: Trophoblast tissue culture of human intrauterine and ectopic pregnancies and treatment with methotrexate. 5th. Meet Eru Placenta Group, (1991)
- (69) Schäfer, D., Pfuhl, J. P., Baum, R., Rößler, M., Baumann, R.: Cytogenetische, endokrinologische sowie immunologische Studien an kultiviertem Gewebe ektopter Schwangerschaften. *Zent. Bl. Gynäkol.* 111 (27), (1989), 1476-1485
- (70) Schiebler, T. H., Schmidt, W.: *Lehrbuch der gesamten Anatomie des Menschen, Cytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, Makroskopische und Mikroskopische Anatomie.* Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, (1983), 90-93
- (71) Schmidt-Gollwitzer et al.: The effects of Prostaglandin F_{2α} on endocrine parameters in early pregnancy. *Arch. Gynäc.* 222, (1977), 149-157
- (72) Schmidt-Matthiesen, H.: *Gynäkologie und Geburtshilfe.* Schattauer Verlag Stuttgart, (1989), 224-229
- (73) Schneider, J., Berger, C. J., Catell, C.: Maternal mortality due to ectopic pregnancy, United States, 1979 to 1980. *Obstet. Gynecol.* 62, (1983), 334-338
- (74) Klockenbusch, W., Schror, K.: Prostaglandins and prostacyclin. *Gynäkologie* 25(4), (1992), 205-211

- (75) Seifert, B., Haßler, M. P., Herter, U.: Die Konzentration von Hormonen der Frühschwangerschaft während der Abortinduktion durch Prostaglandine. Zbl. Gynaekol. 104, (1982), 45-51
- (76) Silbernagel, S., Despopoulos A.: Taschenbuch der Physiologie, 2. Auflage. Thieme Verlag Stuttgart, (1983), 232-271
- (77) Spitzer, D., Steiner, H., Batka, M., Staudach, A.: Wirksamkeit lokaler Prostaglandin-Instillation bei Tubargraviditäten in Abhängigkeit vom präoperativen β -HCG Verlauf. Z. Geburtsh. und Perinat. 196, (1992), 244-246
- (78) Abolghar, M., Mansour, R., Serour, G.: Transvaginal injection of potassium chloride and methotrexate for the treatment of tubal pregnancy with a live fetus. Hum. Reprod. 5, (1990), 887
- (79) Stovall, T., Ling, F., Baster, J.: Reproductive performance after MTX treatment of ectopic pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 162, (1990), 1620
- (80) Tanaka, T., Hayashi, H., Kutsuzawa, T., Fujimoto, S., Ichinoe, K.: Treatment of interstitial ectopic pregnancy with methotrexate: report of successful case. Fertil. Steril. 37 (6), (1982), 851-852
- (81) Tulandi, T.: Reproductive performance of women after two tubal pregnancies. Fertil. Steril. 50, (1988), 164-166
- (82) Tuomivaara, L., Kanppila, A.: Radical or conservative surgery for ectopic pregnancy ? A follow-up Study of fertility of 323 patients. Ferti. Steril. 50, (1988), 580-583
- (83) Uehlinger, H.-M., Bauer, H., Olberg, D.: SPSS/PC+ Benutzerhandbuch Bd.1. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, (1988)
- (84) Urquhart, J.: Effects of the venereal disease epidemic on the incidence of ectopic pregnancy Implications for the evaluation of contraceptives. Contraception 19, (1979), 455-480

- (85) Vejtorp, M., Vejerslev, L.O., Ruge, S.: Treatment of Tubal pregnancy by local injection of prostaglandin: selection on patients and evaluation of subsequent tubal patency.
Eur. J. Obstet. Gynec. Biol. 41, (1991), 85
- (86) Weiss, D. B., Aboulaflia, Y.: Ectopic gestation and hydatid: form mole in clomiphene included pregnancies.
Lancet, (1975), 1094
- (87) Williams, M. T., Roth, M. S., Marsh, J. M., Le Maire, W. J.: Inhibition of HCG induced progesterone synthesis by estradiol in isolated human luteal Cells. J. Clin. Endocrinol. Metab. 48, (1979), 437-441
- (88) Winter, R., Weiß, P.A.M.: Die Choriongonadotropinausschüttung bei Extrauterin gravidität. Geburtsh. Frauenheilk. 35, (1975), 880-883
- (89) Yagel, S., Casper, R. F., Powell, W., Parhar, R. S., Lala, P. K.:
Characterization of pure human first-trimester cytotrophoblast cells in long-term culture: Growth pattern markers and hormone production.
Am. J. Obstet. Gynecol. 160, (1989), 938-945
- (90) Tait, R.L.: Five cases of extrauterine pregnancy operated upon at the time of rupture. Br. Med. J. 1, (1884), 1250
- (91) Coste, J., Laumon, B., Bremond, A., Collet, P., Job-Spira, N.:
Sexually transmitted diseases as major causes of ectopic pregnancy: results from a large case-control study in France.
Fertil. Steril. 62 (2), (1994), 289-295
- (92) Coste, J., Bouyer, J., Job-Spira, N.: Epidemiology of ectopic pregnancy: incidence and risk factors.
Contracept. Fertil. Sex. 24 (2), (1996), 135-139
- (93) Ankum, W. M., Mol, B. W., Van der Veen, F., Bossuyt, P. M.:
Risk factors for ectopic pregnancy: a meta analysis.
Fertil. Steril. 65 (6), (1996), 1093-1099

- (94) Xiong, X., Buekens, P., Wollast, E.: IUD use and the risk of ectopic pregnancy: a meta-analysis of case-control studies.
Contraception 52 (1), (1995), 23-34
- (95) Saraiya, M., Berg, C. J., Kendrick, J. S., Strauss, L. T., Atrash, H. K Ahn YW.: Cigarette smoking as a risk factor for ectopic pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol. 78 (3), (1998), 493-498
- (96) Bouyer, J., Coste, J., Fernandez, H., Job-Spira, N.: Tobacco and ectopic pregnancy. Arguments in favor of a causal relation.
Rev. Epidemiol. Sante. Puplicque. 46 (2), (1998), 93-99
- (97) Philips, R., Tuomala, R. E., Feldblum, P. J., Schachter, J., Rosenberg, M. J., Aronson, M. D.: The effect of cigarette smoking, chlamydia trachomatis infection and vaginal douching on ectopic pregnancy.
Obstet. Gynec., (1992),79-85
- (98) Borgatta, L., Burnhill, M., Stubblefield, P.: Single dose methotrexate therapy: application to interstitial ectopic pregnancy.
Int. J. Gynaeco. Obstet. 60 (3), (1998), 279-282
- (99) Parker, J., Bisits, A., Proietto, A. M.: A systematic review of single-dose intramuscular methotrexate for the treatment of ectopic pregnancy.
Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 38 (2), (1998), 145-150
- (100) Swaim, L. S., Maklad, N. F.: Interstitial pregnancy managed medically. A case report.
J. Reprod. Med. 42 (5), (1997), 312-314
- (101) Wilkinson, C., Petrucco, O., Pachulicz, M., Furness, M.: Interstitial ectopic pregnancy-management with laparoscopically-guided local methotrexate infiltration.
Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 38 (4), (1998), 434-437
- (102) Gazvani, M. R., Baruah, D. N., Alfirevic, Z., Emery, S. J.: Mifepristone in combination with methotrexate for the medical treatment of tubal pregnancy: a randomized, controlled trial.
Hum. Reprod. 13 (7), (1998), 1987-1990

- (103) Perdu, M., Camus, E., Rozenberg, P., Goffinet, F., Chastang, C., Philippe, H. J., Nisand, I.: Treating ectopic pregnancy with the combination of mifepristone and methotrexate: a phase II nonrandomized study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179 (3), (1998), 640-643
- (104) Paris, F. X., Henry-Suchet, J., Tesquier, L., Dacquin, G., Pez, J. P., Loyse, T., Loffredo, V., Roger, M., De Brux, J.: Effect d' un antiprogesterone (RU 486) sur les grossesses extra- uterines. *Revue. fr. Gynec. Obstet.*, (1986), 81,607
- (105) Zhong, H. P., Lu, P. X, Jin, Y. C.: Tube pregnancy treated with trichosanthin and followed up by hysterosalpingography. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih* 15 (2), (1995), 90-91
- (106) Lennon, C, Carlson, M. G, Nelson, D. M, Sadovsky, Y.: In vitro modulation of the expression of 15-hydroxy-prostaglandin dehydrogenase by trophoblast differentiation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999 Mar; 180 (3 Pt 1): 690-695
- (107) Cervar, M., Blaschitz, A., Dohr, G., Desoye, G.: Paracrine regulation of distinct trophoblast functions in vitro by placental macrophages. *Cell Tissue Res.* 1999 Feb; 295 (2): 297-305
- (108) Patel, F. A., Clifton, V. L., Chwalisz, K., Challis, J. R.: Steroid regulation of prostaglandin dehydrogenase activity and expression in human term placenta and choriondecidua in relation to labor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999 Jan; 84 (1): 291-299
- (109) Anteby, E. Y., Johnson, R. D., Huang, X., Dryden, D. K., Nelson, D. M., Sadovsky, Y.: Lipopolysaccharide enhances the transcription of prostaglandin H synthase-2 gene in primary human trophoblasts. *Am. J. . Gynecol.* 1998 Mar; 178 (3): 469-473

- (110) Wetzka, B., Nusing, R., Charnock-Jones, D. S., Schafer, W., Zahradnik, H. P., Smith, S. K.: Cyclooxygenase-1 and- 2 in human placenta and placental bed after normal and pre-eclamptic pregnancies.
Hum. Reprod. 1997 Oct; 12 (10): 2313-2320
- (111) Kelly, R. W., Carr G. G., Elliott, C. L., Tulppala, M., Critchley, H. O.: Prostaglandin and cytokine release by trophoblastic villi.
Hum. Reprod. 1995 Dec; 10 (12): 3289-3292
- (112) Cheng, L., Kelly, R. W., Thong, K. J., Hume, R., Baird, D. T.: The effect of mifepristone (RU486) on the immunohistochemical distribution of prostaglandin E and its metabolite in decidual and chorionic tissue in early pregnancy.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1993 Sep; 77 (3): 873-877
- (113) Diss, E. M., Gabbe, S. G., Moore, J. W., Kniss, D. A.: Study of thromboxane and prostacyclin metabolism in an in vitro model of first-trimester human trophoblast.
Am. J. Obstet. Gynecol. 1992 Oct; 167 (4 Pt 1): 1046-1052
- (114) Klein, M., Graf, A., Kiss, H., Czerwenka, K., Beck, A., Egarter, C., Husslein, P.: Histopathologic findings of the trophoblast and tubal wall after medicamentous therapy of tubal pregnancies.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 1995 Dec ; 55 (12): 671-673
- (115) Klein, M., Graf, A., Kiss, H., Beck, A., Czerwenka, K., Egarter, C., Husslein, P.: Impact of trophoblast penetration through the basal membrane on the efficacy of drug therapy in tubal pregnancies.
Hum. Reprod. 1995 Feb; 10 (2): 439-441
- (116) Schäfer, D., Pfuhl, J. P., Baumann, R., Neubert, S., Bender, H. G., Naujoks, H.: Trophoblast tissue culture of human intrauterine and ectopic pregnancies and treatment with methotrexate.
Hum. Reprod. 1992 Mar; 7 (3): 311-319

- (117) Creinin, M. D., Stewart-Akers, A. M., DeLoia, J. A.:
Methotrexate effects on trophoblast and the corpus luteum in early
pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol. 1998 Sep; 179 (3 Pt 1): 604-609

7. Anhang

7.1 Standardabweichungen zu den Mittelwertkurven

IUG, PG F2 α - Zugabe bei Kulturansatz

Tag	2	4	6	8	10	12	14	16
Konz. (mg/ml)								
1,0	2489,17	524,32	242,32	100,73	101,97	47,00	37,96	28,14
0,1	9233,10	17816,38	15494,77	3169,06	272,44	103,16	67,33	47,79
0,01	33464,20	48425,34	20642,87	6120,20	1017,12	395,84	115,14	66,38
2.09	13360,68	31335,27	26266,82	5157,70	521,17	194,70	124,25	101,12
Kontrolle	20612,71	39629,18	15647,78	4726,14	706,27	261,38	154,08	117,61

EUG, PG F2 α - Zugabe bei Kulturansatz

Tag	2	4	6	8	10	12	14	16
Konz. (mg/ml)								
1,0	2507,99	1434,52	146,96	51,50	22,13	13,07	10,99	5,72
0,1	16151,81	50659,50	8246,99	9330,22	1592,60	597,08	257,66	174,24
0,01	29567,77	45573,03	7181,52	620,00	270,51	114,55	45,49	45,17
2.09	28027,73	28065,26	7082,98	2123,92	327,17	75,52	48,62	14,88
Kontrolle	24748,62	39683,24	8246,99	8355,49	3775,81	1804,78	1126,41	1125,32

IUG, PG F2 α - Zugabe am 6. Kulturtag

Tag	2	4	6	8	10	12	14	16
Konz. (mg/ml)								
1,0	34228,25	43179,56	23024,61	2330,49	184,57	48,93	56,90	27,79
0,1	30137,79	39629,59	18847,12	8305,00	3707,97	2269,14	280,34	96,63
0,01	30703,67	37094,40	43479,93	4062,75	2005,35	1759,96	222,29	227,21
Kontrolle	20612,71	39629,18	15647,78	4726,14	706,27	261,38	154,08	117,61

EUG, PG F2 α - Zugabe bei Kulturansatz

Tag	2	4	6	8	10	12	14	16
Konz. (mg/ml)								
1,0	14671,94	27411,53	12185,15	730,77	57,17	17,37	9,84	6,86
0,1	22281,77	26668,26	18535,11	3014,28	963,64	1473,51	1308,79	1122,59
0,01	29828,98	22710,59	5387,08	5651,72	2274,29	1222,76	659,73	174,19
Kontrolle	24748,62	39683,24	10058,27	8355,49	3775,81	1804,78	1126,41	1125,32

7.2 Abkürzungen

– AI 1	Kontrolle (ohne PG F2 α)
– AI 2	1,0 mg/ml (PG F2 α)
– AI 3	0,1 mg/ml (PG F2 α)
– AI 4	0,01 mg/ml (PG F2 α)
– AI 5	2,09 mg/ml Benzylalkohol
– AI 6	1,0 mg/ml (PG F2 α)
– AI 7	0,1 mg/ml (PG F2 α)
– AI 8	0,01 mg/ml (PG F2 α)
Abb.	Abbildung
Ca	Calcium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CO ₂	Kohlendioxid
EUG	Extrauteringravidität
HCG	Humanes Choriongonadotropin
i.m.	intramuskulär
IUG	Intrauteringravidität
i.v.	intravenös
Konz.	Konzentration
Mg	Magnesium
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
PG F2 α	Prostaglandin F2-Alpha
p.m.	post menstruationem
p.o.	post operationem
SSW	Schwangerschaftswoche
Z.n.	Zustand nach

7.3 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Bruno Späth
Anschrift: Industriestr. 12 a, 77728 Oppenau
Geburtsdatum: 28.06.1962
Geburtsort: Baden-Baden
Familienstand: verheiratet
Nationalität: deutsch
Konfession: katholisch
Vater: Gerhard Späth, Fahrlehrer (Rentner)
Mutter: Elisabeth Späth, Bankkauffrau (Rentnerin)

Schulausbildung:

1969 - 1973 Grundschule Oberkirch
1973 - 1974 Gymnasium Oberkirch
1974 - 1983 Heimschule Lender/Sasbach

Berufsausbildung und Berufserfahrung:

1983 - 1985 Rettungssanitäter beim Deutschen Roten Kreuz in
Offenburg
1985 - 1986 Ausbildung zum Fahrlehrer in Stuttgart

Studium:

1986 - 1993 Studium der Medizin
an der Johann Wolfgang Goethe Universität,
Frankfurt a.M.
1993 - 1994 Praktisches Jahr in den Städtischen Kliniken Darmstadt

Arzt im Praktikum:

- 01.05.1994 - 31.08.1994 Institut für Pathologie im Kreiskrankenhaus in Lahr
(Prof. Dr.med. H. Wehner)
- 01.10.1994 - 28.02.1995 Psychiatrisches Krankenhaus in Heppenheim
(Ltd. Med. Dir. Dr. med. D. Marquetand)
- 01.03.1995 - 30.11.1995 Klinik für neurologische Rehabilitation in Seesen/Harz
(Prof. Dr. med. M. Holzgraefe)

Assistenzarzt:

- 01.12.1995 - 30.11.97 St. Josef Krankenhaus in Zell/Mosel, Neurologische
Abteilung (Dr. med. K. F. Masuhr)
- 15.11.1997 - 30.06.99 Klinikum Karlsbad-Langensteinbach, Neurologische
Abteilung (Dr. med. R. Heckl)
- seit 15.06.1999 Kreiskrankenhaus Freudenstadt, Psychiatrische
Abteilung (Prof. Dr. med. H. Schneider)

7.4 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main. zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

Der Einfluß von Prostaglandin F2-Alpha auf HCG-Sekretion und Zellmorphologie menschlichen intra- und extrauterinen Trophoblastgewebes in einem standardisierten Kultursystem

im Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main.

Unter Leitung von: Herrn Priv Doz. Dr. med. R. Baumann

Mit Unterstützung durch: Herrn Dr. med. D. Schäfer

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Arbeit angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher weder an einer in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Oppenau, 04.April 2000

Bruno Späth