Aus der Klinik für Geburtsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Vergleich der in-vitro Wirkung von Atosiban und Magnesium sowie ihrer Kombination auf humanes Myometrium von Schwangeren

zur Erlangung des medizinischen Grades
Doctor medicinae

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Julia Machinek
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. J. Dudenhausen

2. Prof. Dr. K. D. Kalache

3. Prof. Dr. S. Schmidt

Datum der Promotion: ...22.03.2013.....

1.EINLEITUNG 6

1.1 Frühgeburtlichkeit früher und heute 6

1.2 Das Problem der vorzeitigen Wehen und die Rolle des Oxytocins 6

1.3 Geschichte der Therapie der vorzeitigen Wehen 8
1.3.1 Ethanol 9
1.3.2 Prostaglandin-Synthesehemmer 9
1.3.3 Calciumkanal-Blocker 9
1.3.4 Betamimetika 10
1.3.5 Sonstige 11

1.4 Magnesium 11
1.4.1 Geschichte der Anwendung und Studien zur Effektivität 11
1.4.2 Pharmakologie und Wirkung 13
1.4.3 Konzentrationen 14
1.4.4 Verwendung als Tokolytikum 15
1.4.5 Nebenwirkungen 15

1.5 Oxytocinantagonisten/Atosiban 17
1.5.1 Entwicklung und Studien 17
1.5.2 Pharmakologie 18
1.5.3 Nebenwirkungen 19

1.6 Zielsetzung/Fragestellung 20

2 MATERIAL UND METHODEN 22

2.1 Planung 22

2.2 Materialgewinnung 22

2.3 Substanzen 23
2.3.1 Hilfsmittel 23
2.3.2 Pufferlösung 23
2.3.3 Pharmaka 23

2.4 Geräte 24

2.5 Software 24

2.6 Erhebung der Patientinnendaten 24

2.7 Versuchsaufbau 25

2.8 Versuchsablauf 26
2.8.1 Pufferherstellung 26
2.8.2 Präparation der Streifen 27
2.8.3 Einspannen der Streifen 27
2.8.4 Konzentration der Pharmaka 28
2.8.5 Versuche mit spontanen Kontraktionen 29

2.8.6 Versuche mit Oxytocinstimulation 30

2.9 Auswertung der Messwerte **31**

2.10 Untersuchung auf einen möglichen Zusammenhang der anamnestischen Patientinnen-Daten mit der Reagibilität des Myometriums auf Oxytocinstimulation und der Ermüdung des Myometriums in den Oxytocinversuchen **33**

2.11 Statistik **34**

3 ERGEBNISSE **35**

3.1 Beschreibung des Patientinnenkollektivs **35**

3.2 Auswertung **36**
3.2.1 Anzahl der Streifen und Messungen 36

3.3 Ergebnisse der Versuche mit Oxytocin-Stimulation **37**
3.3.1 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Atosibangabe 37
3.3.2 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Magnesiumgabe 38
3.3.3 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Gabe von Atosiban und Magnesium 40
3.3.4 Vergleich der Medikamente bei oxytocinstimulierten Versuchen 41

3.4 Ergebnisse der Versuche mit Spontankontraktionen **42**
3.4.1 Restkontraktilität nach Atosibangabe 42
3.4.2 Restkontraktilität nach Magnesiumgabe 43
3.4.3 Restkontraktilität nach Gabe von Atosiban und Magnesium 44
3.4.4 Vergleich der Medikamente bei Versuchen mit Spontanaktivität 45

3.5 Ermüdung des Myometriums in den Oxytocinversuchen und Untersuchung auf einen möglichen Zusammenhang mit anamnestischen Patientinnendaten **47**

4. DISKUSSION **48**

4.1 Versuchsaufbau **48**

4.2 in-vitro Versuche an humanem Myometrium **48**
4.2.1 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Magnesium 48
4.2.2 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Atosiban 50
4.2.3 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Medikamentenkombinationen 52

4.3 Übertragbarkeit auf klinische Anwendung **53**

4.4 Ausblick **54**

5. ZUSAMMENFASSUNG **55**

ABBILDUNGSVERZEICHNIS **56**

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS **57**

LITERATURVERZEICHNIS **58**

ANHANG **64**

DANKSAGUNG **70**

CURRICULUM VITAE **71**

EIDESTATTLICHE ERKLÄRUNG **72**

1.EINLEITUNG

1.1 Frühgeburtlichkeit früher und heute

Trotz aller Fortschritte der modernen Medizin ist das Problem der Frühgeburt weder behoben noch verringert worden. Im Gegenteil, seit Beginn der Reproduktionsmedizin ist ein deutlicher Anstieg an zu früh geborenen Kindern, also vor vollendeten 37 Schwangerschaftswochen, zu verzeichnen [1]. In Deutschland sind es zwischen 5-8 %, weltweit sogar bis zu 10 % [2]. Ungefähr 70 % der perinatalen Morbidität und Mortalität gehen zu Lasten der Frühgeburtlichkeit [3]. Durch die Unreife der Organsysteme sind die Kinder vor allem durch bronchopulmonale Dysplasie, Atemnotsyndrom, intrakranielle Blutungen, periventrikuläre Leukomalazie, Infektionen, Hypothermie, Hypoglykämie, Hyperbilirubinämie und nekrotisierende Enterokolitis bedroht. Langzeitfolgen können verschiedene neurologische oder körperliche Behinderungen, psychomotorische Retardierung, Lernschwierigkeiten und Blindheit durch die Retinopathia praematurorum sein. Wenn auch zumindest die Überlebenschancen dieser Kinder durch die Entwicklungen in der Neonatologie deutlich gestiegen sind, bleibt die Verhinderung der Frühgeburt das primäre Ziel. Die Ursachen der Frühgeburt sind vielfältig. Allgemeinerkrankungen wie Infektionen oder endokrine Erkrankungen [4], Uterusfehlbildungen [5], Myome, Zervixinsuffizienz, aszendierende Infektionen der Geburtswege, schwangerschaftsbedingte hypertensive Erkrankungen sind Ursachen auf Seiten der Mutter. Von Seiten des Feten kann eine Mehrlingsschwangerschaft zur Frühgeburt führen. Außerdem sind sozioökonomische Faktoren wie das Alter der Mutter, psychischer Stress und starke körperliche Anstrengung von Bedeutung [6]. In einem Großteil der Fälle geht man jedoch heute von der bakteriellen Vaginose und damit verbundenen aszendierenden Infektionen bzw. einer überstarken lokalen Immunreaktion des mütterlichen Organismus als Hauptursache der Frühgeburt aus.

Präventiv müssen prädisponierende Faktoren ausgemacht und eliminiert werden. Bei einem Scheitern dieser Maßnahmen besteht die Aufgabe darin, die Frühgeburt zu verhindern beziehungsweise hinauszuzögern.

1.2 Das Problem der vorzeitigen Wehen und die Rolle des Oxytocins

Zeichen der drohenden Frühgeburt sind Auflockerung, Verkürzung und Dilatation der Zervix, ein vorzeitiger Blasensprung und in 30% der Fälle eine vorzeitige Wehentätigkeit [7]. Eine Vielzahl der Frühgeburten ist mit einer intrauterinen Infektion verbunden. Durch aszendierende

Keime kommt es über eine Entzündungskaskade zur Wehentätigkeit und dadurch zur Zervixreifung und schließlich zur Ausbreitung auf Cavum uteri und die Fruchthöhle.
1906 demonstrierte Dale, dass der Hyphophysenhinterlappen eine Substanz enthält, die uterusstimulierende Eigenschaften hat - das Oxytocin [8]. Kurze Zeit später benutzten Blair-Bell et al. in der Geburtshilfe erstmals ein Extrakt der Hyphophyse, um die Geburt einzuleiten und die Kontraktion des Uterus postpartum zu fördern [9] [10]. Damit begann der therapeutische Einsatz des Oxytocins in der Geburtshilfe.
Oxytocin ist ein Peptidhormon, das vor allem in neurosekretorischen Neuronen des Hypothalamus gebildet wird, durch axonalen Transport in den Hypophysenhinterlappen gelangt und dort gespeichert wird. Es ist ein Oktapeptid und unterscheidet sich von Vasopressin nur in zwei Aminosäuren. Die Wirkung des Oxytocins wird über den G-Protein-gekoppelten Oxytocinrezeptor (OT-R) vermittelt, dessen Struktur erstmals 1992 von Kimura et al. [11] beschrieben wurde. Über die Wirkung am Myoepithel der Brustdrüse ist Oxytocin verantwortlich für die Milchabgabe. Am Uterus verursacht Oxytocin durch vermehrten Einstrom von extrazellulärem Calcium und Calciumfreisetzung aus intrazellulären Speichern einen Anstieg des intrazellulären Calciums in der Myometriumzelle [12]. Calcium aktiviert die Aktin- und Myosinfilamente. Es kommt zur Kontraktion des Myometriums.
Verschiedene Studien zur Konzentration von Oxytocin im mütterlichen Serum während Schwangerschaft und Geburt kamen zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen [13]. Das mag teilweise an Nachweismethoden, die nicht sensitiv genug waren, gelegen haben und wurde erst mit der Einführung der Radioimmunoassays einfacher. 1970 äußerten Chard et al. [14] die Hypothese einer im Geburtsverlauf an Frequenz zunehmendenden pulsatilen Freisetzung des Oxytocins, der sich Gibbens et al. 1972 anschlossen [15]. Dawood et al. konnten 1977 einen proportionalen Zusammenhang zwischen steigenden Oxytocin-Konzentrationen und zunehmender Uterusaktivität demonstrieren. Außerdem äußerten sie den Verdacht einer fetalen Oxytocin-Produktion [13], der durch die höhere Oxytocin-Konzentration in der Umbilikalarterie im Vergleich zur Umbilikalvene in späteren Studien bestätigt wurde [16]. Die Existenz spezifischer Oxytocinrezeptoren im Uterus wurde von Sakomoto et al. 1979 entdeckt [17]. Einen Anstieg dieser Rezeptoren mit fortschreitender Schwangerschaft [18] und damit eine molekulare Ursache für die Zunahme der Oxytocin-Sensitivität des Uterus [19] wurde 1984 von Fuchs et al. demonstriert. Da die Rezeptor-Konzentrationen bei Patientinnen mit vorzeitigen Wehen frühzeitig erhöht waren, unterstützt diese Studie die Hypothese, dass Oxytocin auch in der Ätiologie der vorzeitigen Wehen eine Rolle spielt. Fuchs et al. [20] formulierten die folgende Hypothese zum Mechanismus des Geburtsbeginns und der Doppelrolle des Oxytocins: Ein

deutlicher Anstieg der Oxytocinrezeptor-Konzentration führt zu einer erhöhten Uterussensitivität. Das Myometrium reagiert mit Kontraktionen und die Dezidua mit einer gesteigerten Prostaglandin-Synthese, die die Reifung der Zervix beeinflusst. Das vom Uterus und vom Feten produzierte Oxytocin stimuliert sowohl weitere Kontraktionen als auch die fortgesetzte Prostaglandin-Produktion. Unterstützt wurde diese Theorie durch erste erfolgreiche Versuche, vorzeitige Wehen mit einem Oxytocin-Antagonisten zu hemmen [21]. 1992 konnte bei Ratten die Produktion von Oxytocin in der Plazenta und im Uterus nachgewiesen werden, das die Prostaglandin-Synthese im Amnion stimuliert [22, 23]. Der Beweis der uterinen Oxytocin-Produktion beim Menschen wurde 1993 von Miller et al. [10] erbracht, die zeigen konnten, dass gegen Ende der Schwangerschaft Amnion, Chorion und Dezidua zunehmend Oxytocin produzieren. Damit wurde die Hypothese der parakrinen Wirkung des Oxytocins zur Wehenauslösung formuliert. Die Regulation der lokalen Synthese und Sekretion des Oxytocins beruht demnach auf einem lokalen Feedback-Mechanismus, stimuliert durch Sexualhormone und Zytokine [24] [25].

1.3 Geschichte der Therapie der vorzeitigen Wehen

Vorzeitige Wehen sind ein Teilaspekt des Problems der Frühgeburt. Die vorzeitigen Wehen zu hemmen und damit die drohende Frühgeburt zu verhindern, ist keine neue Idee. Schon im antiken Rom gab es nicht nur Mittel, die Geburt voranzutreiben, sondern auch Möglichkeiten diese hinauszuzögern. Als wirksamstes Mittel galt nach Diorides der „Adlerstein“ aus Eisentrioxid. Am Schenkel der Gebärenden festgebunden sollte er die Geburt erleichtern. Wenn er jedoch am linken Arm befestigt war, verzögerte er die Geburt oder verhinderte sie ganz [26]. Eine andere wirksame Methode wird in einer Geschichte aus den Metamorphosen Ovids beschrieben: Lucina, die Göttin der Geburt, wird von der eifersüchtigen Juno bestochen, um die Geburt von Herakles zu verhindern. Während Alkmene in den Wehen liegt verhindert sie durch das Übereinanderschlagen der Knie und das Ineinanderschlingen der Finger die Geburt solange, bis sie durch den Trick einer Dienerin Alkmenes diese Körperhaltung aufgibt [27].

Im Lauf der Zeit gab es die verschiedensten Verhaltensregeln und Kräuter, die eine vorzeitige Geburt verhindern sollten. Insbesondere die körperliche Schonung wird bis heute bei vorzeitigen Wehen empfohlen.

Pharmakologisch eine Hemmung vorzeitiger Wehen, also eine Tokolyse, zu erzielen ist durch die verschiedensten Medikamente versucht worden. Dabei sind zwei Angriffsorte möglich: Zum einen die Verhinderung der Synthese und/oder Sekretion uterusstimulierender Substanzen und zum anderen die Beeinflussung der Kontraktilität des Myometriums.

1.3.1 Ethanol

Ethanol inhibiert die Freisetzung von Oxytocin [28]. 1967 wurde es erstmals in einer Studie von Fuchs et al. erfolgreich als Tokolytikum eingesetzt [29]. Versuche an Ratten und Kaninchen zeigten eine Wehenhemmung durch Ethanol. Außerdem wurde ein direkter hemmender Einfluß auf das Myometrium angenommen sowie die Hemmung von Synthese und Sekretion der Prostaglandine [30]. Spätere Studien [31] [32] zeigten eine geringere Wirksamkeit des Ethanols im Vergleich zu Magnesium oder Ritodrine. Ethanol beeinflusst mehrere Organsysteme. Dadurch erklärt sich die Vielzahl von Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Unruhe, Hypoglykämie, Tachykardie, Dehydratation, Veränderungen der Serumelektrolyte und Atemdepression [33]. Da Ethanol plazentagängig ist, betreffen diese Nebenwirkungen auch den Feten. Außerdem ist Ethanol als fruchtschädigend bekannt. Die Verwendung als Tokolytikum wird seit den siebziger Jahren nicht mehr empfohlen.

1.3.2 Prostaglandin-Synthesehemmer

Prostaglandine spielen eine wichtige Rolle in der Beeinflussung der Kontraktilität des Myometriums. Eine Hemmung ihrer Synthese führt zu einer Verringerung der Kontraktionsfähigkeit des Uterus [34] [35]. Prostaglandine kommen im Körper ubiquitär vor. Die Hemmung ihrer Synthese ruft demzufolge eine Vielzahl an Nebenwirkungen hervor. Die schwerwiegendsten sind Blutungen, Thrombozytopenie, gastrointestinale Ulceration und Perforation und allergische Reaktionen [33]. Diese Risiken betreffen auch hier in verstärkter Form den Feten. Ein erhöhtes Risiko für die nekrotisierende Enterokolitis, intraventrikuläre Hämorrhagien und bronchopulmonale Dysplasien konnte beispielsweise bei Versagen einer Indomethacintherapie in einigen Studien beobachtet werden. Außerdem stieg mit dem Schwangerschaftsalter bei Therapie das Risiko auf einen vorzeitigen Verschluss des Ductus arteriosus Botalli [36] [37] [38]. Indomethacin und andere Prostaglandinsynthesehemmer werden als effektive [39] [40], aber wegen der gefährlichen Nebenwirkungen nur als Tokolytika der zweiten Wahl gesehen [41].

1.3.3 Calciumkanal-Blocker

Es gibt mehrere Klassen von Calciumkanal-Blockern. Die meiste klinische Erfahrung mit der Anwendung als Tokolytikum existiert für Nifedipin. Calciumkanal-Blocker wirken relaxierend auf die glatte Muskulatur. Eine Verminderung des Calciumeinstroms durch spannungsabhängige Calciumkanäle vermindert die Kontraktilität des Uterus. Eine hohe Effektivität verbunden mit wenigen Nebenwirkungen ist mehrfach beschrieben worden [42] [43] [44]. Die beschriebenen

Nebenwirkungen sind: Tachykardie, Kopfschmerzen, Schwindel, Übelkeit, Flushing, Hämodilution und in sehr seltenen Fällen maternale Hepatoxizität [45]. Die Kombination mit Magnesium sollte vermieden werden, da es wegen des beiden gemeinsamen Calcium-Antagonismus zu einer neuromuskulären Blockade mit ausgeprägter Muskelschwäche kommen kann [46]. Mehrere Studien haben in Tierversuchen eine Verminderung des uteroplazentaren Blutflusses sowie Blutdruckabfall, Hyperkapnie, Azidose und Hypoxämie beim Feten beobachtet [47] [48] [49]. Dopplerruntersuchungen am menschlichen Feten haben keine derartigen Effekte gezeigt [50] [51] und einige aktuelle Studien zeigen Nifedipin als wirksames Tokolytikum, so dass es verwendet wird. Die mütterlichen Nebenwirkungen scheinen nach einigen Tagen nachzulassen und fetale Nebenwirkungen haben sich kaum gezeigt. Als besonders positiv ist auch die Möglichkeit der oralen Gabe und damit eine bessere Compliance zu werten. Obwohl Nifedipin keine Zulassung als Tokolytikum hat, es sich also um einen Off-Label-Use handelt, wird es zunehmend auch im klinischen Alltag zu diesem Zweck eingesetzt.

1.3.4 Betamimetika

1925 bemerkten Rucker et al., dass geringe Dosen Epinephrin über β_2-Rezeptoren eine uterine Hyperaktivität hemmten [52]. Die sehr kurze Dauer dieser Effekte, verbunden mit ausgeprägten kardialen Nebenwirkungen, verhinderte jedoch den therapeutischen Einsatz. Die erste Generation der als Tokolytika einsetzbaren Betamimetika bestand aus Isoxsuprine, Orciprenalin und Isoprenalin, aber die kardialen Nebenwirkungen waren immer noch sehr ausgeprägt. Die nachfolgende Generation von Betamimetika wie Salbutamol, Terbutalin, Fenoterol und Ritodrine sind spezifischer für ß2-Rezeptoren und wirken länger. Sie hemmen die uterine Aktivität durch Stimulation der betaadrenergen Rezeptoren. Doch ist ihre ß2-Selektivität nur relativ und nicht absolut. Sie wirken daher auch weiterhin, wenn auch in geringerem Maße als ihre Vorläufer, auf die Rezeptoren des Herzens, der Niere und anderer Organe. Das erklärt die große Zahl verschiedener Nebenwirkungen. Das Auftreten von maternalen Nebenwirkungen ist dabei häufiger als das von fetalen [53]. Risiken und Komplikationen der Therapie sind: Zittern, Tachykardie, Kopfschmerzen, Übelkeit, Hyperglykämie, Hyperinsulinämie, Hypokaliämie, Hypocalcämie, Wasserretention, Transaminasenerhöhung, Lungenödem, Erbrechen, Fieber, Ausschlag, Halluzinationen, Schilddrüsenfunktionsstörungen, Herzinsuffizienz und –versagen, Myokardischämien, Arrhythmien, paralytischer Ileus und Tod [41]. Letztere treten jedoch in hohen Dosen oder bei Kombination mit anderen Medikamenten wie Corticosteroide auf. Ein Teil dieser Risiken lässt sich durch Vorsichtsmaßnahmen und Kontrollen minimieren, es kommt jedoch auch nicht selten zum Abbruch der Therapie, da die Nebenwirkungen meistens von den

Schwangeren nicht toleriert werden. Die Betamimetika sind gut plazentagängig. Dabei steigt das Risiko für Nebenwirkungen auf fetaler Seite mit der Dauer der Therapie [41]. Langjährige klinische Erfahrung und zahlreiche Studien zur Effektivität sichern den Betamimetika ihren Platz in der Therapie der vorzeitigen Wehen trotz der Nebenwirkungen. Ritodrine ist nach wie vor das einzige von der Food and Drug Administration zugelassene Tokolytikum in den USA. In Deutschland hat sich eher die Therapie mit Fenoterol durchgesetzt, welches ebenfalls ein zugelassenes Tokolytikum ist und in oraler und intravenöser Darreichungsform erhältlich ist.

1.3.5 Sonstige

Verschiedene andere Medikamente wie zum Beispiel Morphine, Tranquillizer, Halothan sind auf ihre mögliche Anwendung zur Wehenhemmung untersucht worden und haben sich als ineffektiv oder unpraktisch in der Handhabung erwiesen [33].

Für die tokolytische Therapie zugelassen sind in Deutschland außer Fenoterol noch der Oxytocinantagonist Atosiban und Magnesium, die im Folgenden ausführlicher beschrieben werden.

Vorhergehende Versuche der Arbeitsgruppe [54-56] zeigten Atosiban als neues viel versprechendes Tokolytikum mit geringen Nebenwirkungen. Eine Kombinationstherapie zur weiteren Verbesserung der Wirksamkeit zu testen erschien sinnvoll. Dabei fiel die Wahl auf Magnesium, da zum einen eine besonders lange klinische Erfahrung, sei es als alleinige Therapie oder in Kombination, besteht, zum anderen zeichnet es sich gleichfalls durch eine gute Verträglichkeit aus. Erste Vorversuche zeigten auch bei Magnesium eine gute tokolytische Wirkung. Da es sich bei Magnesium um einen anderen Wirkungsmechanismus als bei Atosiban handelt, könnte eine Kombination beider Medikamente eine noch effektivere Wehenhemmung bewirken

1.4 Magnesium

1.4.1 Geschichte der Anwendung und Studien zur Effektivität

Magnesium ist in der Geburtshilfe schon seit 1910 zur Behandlung der Präeklampsie etabliert. Dies bedingt eine lange klinische Erfahrung mit Wirkungen und Nebenwirkungen. Trotzdem dauerte es einige Zeit, bis es auch als Tokolytikum Verwendung fand.

Schon 1869 wurde der hemmende Einfluss des Magnesiums auf Muskelkontraktionen von Vulpian beschrieben [57]. Van Dyke und Hastings zeigten 1928, dass die Wirkung abhängig von der Dosis ist [58]. Eine Relaxation der Uterusmuskulatur zeigte sich sowohl in Abwesenheit als auch in Anwesenheit besonders hohen Dosen von Magnesium, wohingegen mittlere

Konzentrationen eine Verstärkung der Kontraktionen hervorriefen. Die hemmende Wirkung auch auf durch wehenfördernde Medikamente stimulierte Kontraktionen wurde 1945 von Ababarnel et al. demonstriert [57]. Dabei zeigte sich allerdings auch, dass diese Wirkung ausblieb, wenn die erste Phase der Geburt etabliert war. 1959 veröffentlichten Hall et al. [59] ihre Untersuchungen zur kontraktionshemmenden Wirkung von Magnesium. Sie hatten eine deutliche Verlängerung der Geburtsdauer von Präeklampsie-Patientinnen, die mit Magnesium behandelt worden waren, beobachtet. Dabei stieg die Geburtsdauer proportional zur Serum-Magnesium-Konzentration. Daraufhin untersuchten sie die Wirkung von Magnesium auf das gravide und nongravide humane Myometrium in-vitro. Es zeigte sich eine deutliche Kontraktionshemmung, die bei höheren Dosierungen stärker ausgeprägt war. Besonders deutlich war das Ergebnis am schwangeren Uterus. 1963 konnten Kumar et al. zeigen [60], dass sowohl Oxytocin-induzierte als auch spontane Kontraktionen des Uterus durch Magesium gehemmt werden.

Der erste gezielte Einsatz als Tokolytikum wurde 1966 von Rusu et al. [61] beschrieben, und 1975 berichteten Kiss und Szoke [62] über die Verwendung von intravenösem Magnesium. Beide Studien äußerten den Verdacht, dass ein Magnesiummangel die Entstehung vorzeitiger Wehen begünstigt. Auf dieser Hypothese gründeten sich zwei Therapieansätze. Einerseits die orale Magnesiumsubstitution in der Schwangerschaft als präventive Maßnahme zur Verhinderung von Frühgeburten [63], andererseits die intravenöse Magnesiumtokolyse zur Therapie der drohenden Frühgeburt. Die erste amerikanische Studie zur tokolytischen Wirkung von Magnesium wurde 1977 von Steer und Petrie [31] veröffentlicht und zeigte eine deutliche Überlegenheit von Magnesium gegenüber Alkohol. Bei einer Muttermundsöffnung von maximal 1 cm konnte in 96 % der Fälle für 24 h eine komplette Wehenhemmung erreicht werden. Diese Erfolgsquote reduzierte sich auf 25 %, wenn der Muttermund bei Therapiebeginn bereits 2-5 cm geöffnet war. Ein Zusammenhang zwischen Schwangerschaftsalter und Wirksamkeit des Magnesiums zeigte sich nicht. Petrie et al. [64] bekräftigten diese Ergebnisse in einem ersten Review zur Anwendung von Magnesium 1981. Im gleichen Jahr beschrieben Spätling et al. [63] positive Ergebnisse mit oraler Magnesiumtherapie zusätzlich zur Tokolyse mit Betamimetika. In einer Studie, in die erstmals auch Patientinnen mit einem Blasensprung eingeschlossen wurden, konnte 1982 in 60% (mit Blasensprung) bzw. in 70% (ohne Blasensprung) der Fälle eine Wehenhemmumg für 48 Stunden und in 45-49% der Fälle für eine Woche erzielt werden [65]. Magnesium spielte in der Geburtshilfe eine zunehmend wichtigere Rolle. Einige empfahlen wegen der guten Erfolge, der geringen Nebenwirkungen und der geringen Kosten den Einsatz als Tokolytikum der ersten Wahl [66] [40], andere die orale Magnesiumsubstitution zur Therapie

eines Magnesiummangels und der damit verbundenen Frühgeburtsbestrebungen (vorzeitige Wehen und Plazentainsuffizienz) [63, 67, 68]. Außerdem wurde Magnesium auch als Zusatzmedikation bei einer Tokolyse mit Betamimetika eingesetzt, dabei erhoffte man sich außer der zusätzlichen tokolytischen Wirkung eine Kardioprotektion und damit eine Verringerung der unangenehmen Nebenwirkungen der Betamimetika [68, 69]. Gerade die Verringerung der Nebenwirkungen wurde aber auch bezweifelt. Im Gegenteil, es gab Anhaltspunkte für einen deutlichen Anstieg der Nebenwirkungen. [42]. Insgesamt lässt sich feststellen, dass Magnesium sehr lange das meist benutzte Tokolytikum in den USA war [41], obwohl nur Ritodrine die Zulassung der Food and Drug Administration hierfür hat. Skepsis an der Wirksamkeit von Magnesium als Tokolytikum besteht teilweise noch immer, da ein Großteil der älteren Studien weder blindiert noch placebokontrolliert oder randomisiert waren. Es gibt sowohl neuere Studien, die Magnesium als gutes Standardtokolytikum beschreiben [70] [40] [71], als auch Studien mit einem negativen Ergebnis [72] [73] [74]. 1998 wurde die Idee einer neuroprotektiven Wirkung des Magnesiums auf den Feten formuliert [75]. Die Folgestudie 2000 konnte diese Hypothese jedoch nicht bestätigen [76]. In einer Studie von Mittendorf et al. zeigte sich sogar eher das Gegenteil. Intraventrikuläre Hämorrhagien und zerebrale Insulte der Kinder nahmen unter Magnesiumtherapie zu [77]. 2008 konnten Rouse et al. [78] in einer Multicenter-Studie mit mehr als 2000 Patientinnen jedoch weder einen schädlichen noch einen protectiven Einfluss feststellen. Eine 2009 durchgeführte Metaanalyse aller Daten von randomisierten Studien zur Tokolyse von Magnesium hingegen zeigte eindeutig eine Reduzierung der zerebralen Insulte [79]. 2011 propagierten Neubauer und Klockenbusch [80] sogar die intravenöse Magnesiumtherapie bei drohender Frühgeburt allein zur Neuroprotektion bei drohender Frühgeburt vor der 28. vollendeten Schwangerschaftswoche.

1.4.2 Pharmakologie und Wirkung

Magnesium ist ein essentieller Bestandteil des menschlichen Körpers. Der Gesamtbestand von 30 g, verteilt auf Knochen, Intrazellulärraum und Extrazellulärraum, wird durch einen Tagesbedarf von 0,2 bis 0,3 g aufrechterhalten. Das intrazelluläre Magnesium ist ein wichtiger Co-Faktor bei enzymatischen Reaktionen. Magnesium und Calcium dienen als Co-Faktoren der Prostaglandinsynthese und NO-Produktion. Calciummangel bewirkt eine Abnahme des NO, in Kombination mit einem Magnesiummangel führt dies über einen intracellulären Calciumtransport zur Steigerung der Erregbarkeit des Myometriums [81].

Im Skelettmuskel hemmt Magnesium die Freisetzung von Acetylcholin an der motorischen Endplatte. Dadurch wird die Umsetzung des Reizes in Muskelaktivität verhindert. Die

Kontraktionen der glatten Muskulatur sind nicht abhängig von nervalen Reizen und Acetylcholin. Magnesium muß in diesem Fall also eine direkte Wirkung auf die Muskelzelle haben. In einer in-vitro Studie zeigten Marshall et al. 1965, dass Magnesium die Frequenz der Aktionspotentiale und die Stärke der Kontraktionen vermindert [82]. Die Umsetzung von Erregung in Kontraktion wird so verhindert. Eine andere Hypothese geht von einem Einfluss des Magnesiums auf die kontraktilen Elemente der Zelle aus [83]. 1989 veröffentlichten Popper et al. eine Studie, die zeigte, dass Magnesium die Calciumaufnahme von Myometriumstreifen in-vitro signifikant hemmt. Sie schlossen daraus, dass die tokolytische Wirkung des Magnesiums auf einer Hemmung des Calciumeinstroms in die Myometriumzelle beruht [84]. Diese Hypothese wurde durch nachfolgende Studien unterstützt [83] [85]. 1998 zeigten Phillippe et al., dass Magnesium außer dem extrazelluären Calciumeinstrom auch die intrazelluläre Freisetzung von Calcium hemmt. Intrazelluläre Caciumschwankungen, und dadurch die Kontraktion des Myometriums, werden so verhindert [86].

1.4.3 Konzentrationen

Die durchschnittliche Magnesium-Plasmakonzentration einer Frau beträgt ca. 1,8 mmol/l. Um den Geburtstermin ist dieser Wert auf ca. 1,4 mmol/l gesunken [57]. Verschiedene Studien haben die Plasmakonzentration unter Magnesiumtokolyse untersucht. Hall et al. (1959) beschrieben Konzentrationen von 5-8 mmol/l als effektiv in in-vitro Studien, 8-10 mmol/l bewirkten eine fast komplette Kontraktionshemmung, 14-30 mmol/l eine komplette Hemmung. In der Literatur wird eine Kozentration von <8 mmol/l als therapeutisch sinnvoll und nicht toxisch gewertet. [87] [59] [60], [72]. Ab 8-10 mmol/l kommt es zu einem Verlust des Patellesehnenreflexes, ab 10 mmol/l zur Atemdepression und bei 12 mmol/l zum Atemstillstand [72].

In der klinischen Studie von Elliot et al. genügten Konzentrationen von 4-6 mmol/l zur Tokolyse [66], Hollaender et al. beschreiben eine gute Wirkung bei 5,3 mmol/l [88]. Cox et al. hingegen testeten 1990 die Wirksamkeit der tokolytischen Wirkung unter Konzentrationen von 5,5 mmol/L und zeigten, dass unter dieser Konzentration keine effektive Tokolyse erzielt werden konnte [72].

Madden et al. beschrieben 1990 erste Zweifel an der Korrelation von Serummagnesium-Konzentration und tokolytischem Erfolg [89], und 1996 wiesen Jaspers et al.daraufhin, das sich nur 5% des totalen Magnesiumgehaltes des Körpers im Extrazellulärraum befinden und der Serummagnesium-Spiegel keine zuverlässigen Schlüsse auf das Vorliegen eines Magnesiummangels zulässt [90]. 2002 konnten Taber et al. in einer Studie zeigen, dass Serummagnesium-Gehalt und Höhe des ionisierten Magnesiums nicht miteinander korrelieren.

Nur etwa bei der Hälfte des gesamten Magnesiums handelt es sich um freies bzw. ionisiertes Magnesium, der Rest ist an Plasmaproteine gebunden. Da die ionisierte Form jedoch die aktive ist, werteten Taber et al. eine Serummagnesium-Bestimmung zur Prüfung des tokolytischen Therapieerfolges als nutzlos [91].

1.4.4 Verwendung als Tokolytikum

Magnesium wird oral und intravenös als Tokolytikum benutzt. Die orale Form wurde dabei eher zur Prävention vorzeitiger Wehen verwendet. Die intravenöse Anwendung geschieht als Dauerinfusion über Infusomaten, wobei sich die Dosierung nach Wirkung und Nebenwirkung richtet.

Desweiteren wurde Magnesium früher häufig mit Fenoterol kombiniert, weil man einerseits von einem Synergismus ausging, andererseits die kardioprotektive Wirkung des Magnesiums nutzen wollte, um die Nebenwirkungen des Fenoterols zu minimieren.

1.4.5 Nebenwirkungen

Elliot et al. beschrieben als eine der ersten die Nebenwirkungen, die bei der wehenhemmenden Therapie mit Magnesium auftreten können. In einer klinischen Studie mit 355 Patientinnen und Serum-Magnesiumspiegeln, die im Durchschnitt zwischen 3,5 bis 6,4 mg/dl lagen, traten in 7% der Fälle Nebenwirkungen auf, in 2% der Fälle führten diese zum Therapieabbruch. Beobachtete Komplikationen waren: Lungenödem, Brustschmerzen, massive Übelkeit, Flushing, Müdigkeit und verschwommenes Sehen [66]. Die bedrohlichste Nebenwirkung ist das Lungenödem, dessen Inzidenz in Elliots Studie bei 1,1% lag und damit niedriger als bei der Therapie mit Betamimetika [41].

Magnesium wird hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden. Bei Überdosierung der Infusion oder gestörter Ausscheidungsfähigkeit der Niere kommt es zur Hypermagnesiämie mit ernsthaften Folgen für Mutter und Fetus: Verminderte Reflexe, Atemdepression, Atemstillstand, Überleitungsstörungen am Herzen und Herzversagen. Flüssigkeitshaushalt, Ausscheidungs-Funktion und Serummagnesiumwerte sollten unter intravenöser Therapie kontrolliert werden. Patientinnen, die an Myasthenia gravis leiden, haben ein höheres Risiko für einen Atemstillstand unter Magnesiumtherapie und sollten daher nicht mit Magnesium behandelt werden [92]. Eine andere seltene Komplikation ist die maternale Hypothermie, die mit Bradykardie von Mutter und Fetus einhergeht und nach Absetzen von Magnesium reversibel ist.

Vor allem unter Langzeit-Magnesiumtherapie kann es zu einem Abfall der Konzentration des Gesamtcalciums, des ionisierten Calciums und des Parathormonspiegels kommen [93].

Cruikshank et al. beobachteten jedoch einen Anstieg des Parathormons. Sie stellten die Hypothese auf, dass durch das Ansteigen des Parathormons ein stärkeres Absinken des Calciumspiegels verhindert wird. Aus der veränderten Calciumhomöostase während und nach einer Langzeit-Magnesiumtherapie resultiert ein Calciumverlust über die Niere. Folge davon können ein erniedrigtes Serumcalcium und eine gestörte maternale und fetale Knochenmineralisation sein [94]. Die Bedeutung dieser Nebenwirkung insbesondere für den Feten wird unterschiedlich beurteilt. Einige gehen von einer reversiblen geringfügigen Mineralisationsstörung aus [95], andere beschreiben Fälle von angeborener Rachitis [96].
In sehr seltenen Fällen kann es unter Tokolyse mit Magnesium zu einem paralytischen Ileus der Mutter kommen, der allerdings meist durch eine Dosisreduktion wieder zu beseitigen ist [97].
Fetale Nebenwirkungen der Tokolyse mit Magnesium sind selten. Der Einfluss auf das biophysikalische Profil des Feten wird unterschiedlich beurteilt. Peaceman et al. beobachteten die Abnahme der fetalen Atembewegungen und der Reaktionen auf Stress. Tonus, Bewegung des Feten und Fruchtwassermenge blieben unverändert, es kam jedoch zu einem signifikanten Absinken der Baseline der fetalen Herzfrequenz. Insgesamt stellte er also eine Veränderung des biophysikalischen Profils fest [98]. Im Gegensatz dazu stellten Gray et al. in einer Studie keinen Einfluss des Magnesiums fest [99].
Eine Auflistung der Nebenwirkungen und Komplikationen bei Mutter und Fetus zeigt Tabelle I [41].

Tabelle I bekannte Nebenwirkungen von Magnesium

Maternale Nebenwirkungen	**Kindliche Nebenwirkungen**
Hypermagnesiämie	Fetal:
Hypocalcämie	Verminderte Atembewegungen
Hypercalciurie	Verminderte Oszillationsfrequenz im CTG
Hypothermie	Verminderte Baseline der Herzfrequenz
Flushing, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen	Veräderung des diastolischen Blutflusses der Arteria cerebri media
Überleitungsstörungen am Herzen	
Myokardischämie	
Herzstillstand	Neonatal:
Hypotension	Hypocalcämie

Allgemeine Muskelschwäche/-lähmung Lethargie Trockener Mund Urticaria Atemdepression Osmotische Diurese Verschwommenes Blickfeld, Schwindel Obstipation Lungenödem Veränderung des diastolischen Flusses der Arteria uterina Verminderte Knochendichte Paralytischer Ileus Tetanie	Hypercalcämie Hypermagnesiämie Verminderter Muskeltonus Schläfrigkeit Verminderte Bewegung Atemdepression Mekoniumileus Demineralisation der langen Röhrenknochen Angeborene Rachitis Radiologisch sichtbare Knochenveränderung

1.5 Oxytocinantagonisten/Atosiban

1.5.1 Entwicklung und Studien

Schon 1960 wurde durch eine geringfügige Strukturänderung des Oxytocinmoleküls der erste partielle Antagonist des Oxytocins entdeckt. Nachfolgend wurden eine Reihe verschiedener Antagonisten entwickelt, von denen nur wenige in Tierversuchen getestet wurden. Die Entwicklung von Oxytocinantagonisten sollte helfen die Bedeutung des Oxytocins in der Wehenentstehung zu klären. Gleichzeitig war damit ein völlig neuer Therapieansatz denkbar. In verschiedenen Versuchen am effektivsten erwies sich das 1986 von Melin et al. entwickelte Atosiban [100]. Tierversuche mit Atosiban [101], gefolgt von Versuchen an nicht-schwangeren Frauen, waren erfolgreich hinsichtlich einer Kontraktionshemmung [102]. Auch erste Pilotstudien an schwangeren Frauen zeigten vielversprechende Ergebnisse [103] [21]. Bereits zwei Arbeiten unserer Arbeitsgruppe haben sich mit der Wirkung von Atosiban beschäftigt [54]. Dabei zeigte sich Atosiban konzentrationsabhängig als sehr wirksames Tokolytikum bei oxytocininduzierten Kontraktionen in-vitro [54-56]. 1994 veröffentlichten Goodwin et al. die erste randomisierte, plazebokontrollierte Studie zur Wirkung von Atosiban auf die Aktivität der humanen Uterusmuskulatur [104]. Es zeigte sich eine deutliche Hemmung der Kontraktionen verbunden mit dem Fehlen signifikanter Nebenwirkungen. Die Wirkung des Atosiban war dabei unabhängig vom Schwangerschaftsalter. Nachfolgende Studien demonstrierten ebenfalls eine

gute Effektivität mit einem Minimum an Nebenwirkungen [105] [106]. In der Studie von Romero et al. zeigte sich Atosiban allerdings erst nach der 28. Schwangerschaftswoche wirksam. Seit dem Mai 2000 ist Atosiban als erster Oxytocinantagonist unter dem Namen Tractocile (Ferring Arzneimittel, Kiel, Deutschland) im Handel. Die Wirkung von Atosiban auf Oxytocin induzierte Kontraktionen in-vitro wurden von unserer Arbeitsgruppe bereits untersucht [55, 56]. Dabei zeigten sich neben der Dosisabhängigkeit der Wirkung auch Hinweise für eine kontraktionshemmende Wirkung von Atosiban auf die Spontanaktivität des Myometriums, so dass eine Studie diesbezüglich sinnvoll erschien. Untersuchungen zur Wirkung von Atosiban im Rahmen einer Kombinationstherapie sind bisher nur in einer Arbeit dieser Arbeitsgruppe bezüglich Ritodrine erfolgt, und zeigten keine Verbesserung der Wirkung [55].

1.5.2 Pharmakologie

Atosiban ist ein synthetisches Peptid. Es wirkt als kompetitiver Antagonist von humanem Oxytocin auf Rezeptorebene. Im Vergleich zum Oxytocinmolekül erfolgte eine Modifikation in Position 1, 2, 4 und 8, woraus sich der Name 1-(3-Mercaptopropionsäure)-2-[3-(p-Ethoxyphenyl)-d-Alanin]-4-L-Threonin-8-L-Ornithin-Oxytocin, abgekürzt Mpa1D-Tyr(Et)2Thr4Orn8-Oxytocin ableitet.

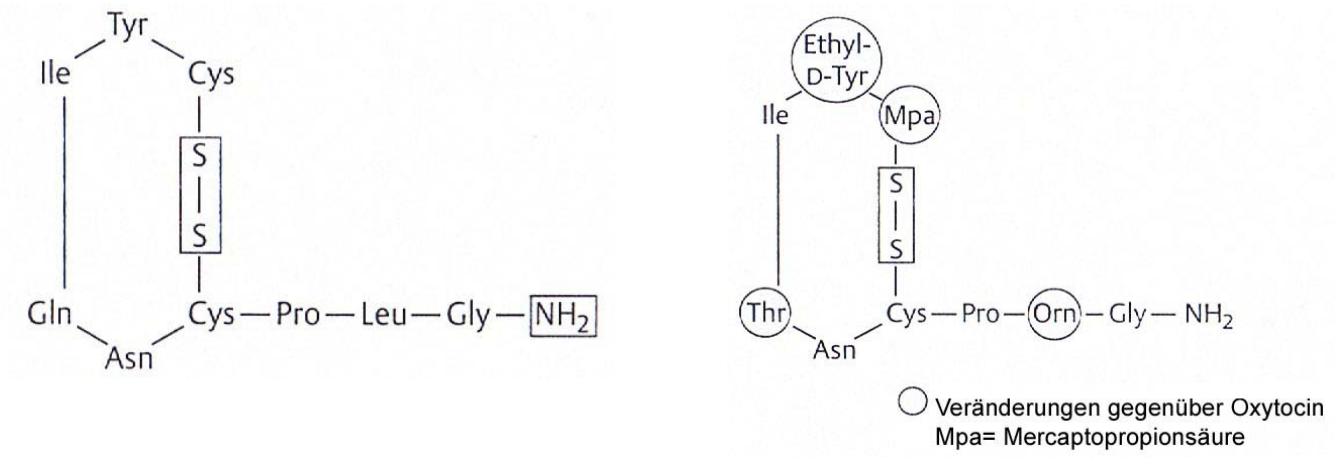

Abbildung I : Strukturformeln von Oxytocin und Atosiban

In der Literatur werden auch Namen wie dE-TVT, 1-deamino-2-D-tyr(Oet))-4-Thr-8-Orn-vasotocin, [Mpa1Tyr(et)2]-Oxytocin, ORF 22164 oder RWJ 22164 verwendet. Außer an myometrale und deziduale Oxytocinrezeptoren [107] bindet Atosiban, wenn auch mit einer sehr

geringen Affinität, an V1a Rezeptoren und kann somit auch die Wirkung von Vasopressin beeinflussen [108] [109]. In Tierversuchen zeigte Atosiban allerdings keine kardiovaskuläre Wirkung (Fachinformation). Am Oxytocinrezeptor ist die Affinität des Atosibans geringer als die des Oxytocins selbst.

Atosiban wirkt in vitro und in vivo dosisabhängig [56, 103]. Clearance, Verteilungsvolumen und Halbwertszeit sind nicht dosisabhängig. In humanen Urin- und Plasmaproben wurden zwei Metaboliten identifiziert, wobei der Hauptmetabolit M1 (des-(Orn8, Gly-NH29)-[Mpa1, D-Tyr(Et)², Thr4]-Oxytocin) in-vitro eine ebenso starke Hemmwirkung auf oxytocininduzierte Wehentätigkeit wie die Muttersubstanz hat (Fachinformation).

Die Plasmaproteinbindung von Atosiban beträgt bei Schwangeren 46-48%.

Atosiban ist plazentagängig. In einer Untersuchung von Valenzuela et al. zeigte sich eine etwa zehnfach höhere Atosiban-Konzentration im Blut der Mutter als im Blut des Feten. Eine Akkumulation von Atosiban im Fetus war nicht nachweisbar [110].

Eine Hemmung der hepatischen Cytochrom P 450-Isoformen beim Menschen durch Atosiban ist bisher nicht bekannt.

1.5.3 Nebenwirkungen

In klinischen Prüfungen traten in 48% der Fälle Nebenwirkungen auf die allerdings leicht waren. Die häufigste Nebenwirkung auf mütterlicher Seite war Übelkeit. Einen genauen Überblick der Nebenwirkungen und der Häufigkeit ihres Auftretens zeigt Tabelle II.

Spezifische Nebenwirkungen beim Neugeborenen zeigten sich in den klinischen Studien nicht.

Auch bei Untersuchungen von Säuglingen 6-12 Monate nach der Geburt waren keine Schäden oder Entwicklungsstörungen nachweisbar [111] [105].

Tabelle II Nebenwirkungen von Atosiban

Sehr häufig (>10%)	**Häufig (1-10%)**	**Gelegentlich (0,1-1%)**	**Selten (<0,1%)**
Übelkeit	Kopfschmerzen Schwindel Hitzewallungen Erbrechen Tachykardie Hypotonie	Fieber Schlaflosigkeit Juckreiz Hautausschlag	Allergische Reaktion Uterusblutungen Uterus-Atonie

	Hyperglykämie Reaktionen an der Injektionsstelle		

1.6 Zielsetzung/Fragestellung

Magnesium, das lange Zeit am häufigsten angewandte Tokolytikum in den USA [112] und Atosiban, das erst seit dem Mai 2000 zugelassen ist, sollen in ihrer in-vitro Wirkung auf das humane Myometrium untersucht werden. Von besonderem Interesse ist Magnesium immer noch, da zum einen eine besonders lange klinische Erfahrung, sei es als alleinige Therapie oder in Kombination, besteht, zum anderen zeichnet es sich durch eine gute Verträglichkeit aus. Von Atosiban, das als erstes Medikament speziell zur Wehenhemmung entwickelt wurde, erhofft man sich sowohl eine spezifischere und damit effektivere Therapie der vorzeitigen Wehentätigkeit, als auch eine verbesserte Compliance durch die geringen Nebenwirkungen. Die beiden Tokolytika mit der besten Verträglichkeit sollen also einander gegenübergestellt werden. Vorhergehende eigene Arbeiten [54-56] haben die konzentrationsabhängige Wirkung von Atosiban auf oxytocinstimulierte Kontraktionen in-vitro gezeigt. Die Wirkung auf spontane Kontraktionen ist bisher kaum untersucht und soll daher nun im direkten Vergleich getestet werden. Die Wirkung von Magnesium soll erneut unter kontrollierten Bedingungen evaluiert werden. Ein Vergleich der Effektivität von Atosiban und Magnesium auf stimulierte und spontane Kontraktionen ist dabei von besonderem Interesse. Dazu werden drei Atosibankonzentrationen, zwei Magnesiumkonzentrationen und vier Kombinationen der beiden Gruppen in-vitro getestet.

Folgende Fragen zur Wirkung von Magnesium und Atosiban werden formuliert:

Werden spontane und bzw. oder oxytocinstimulierte Myometriumkontraktionen durch Magnesium gehemmt? Ist diese Wirkung konzentrationsabhängig oder abhängig von einer Stimulation mit Oxytocin? Wirkt Atosiban auch hemmend auf spontane Kontraktionen? Zeigt sich eins der Medikamente als überlegen?

Bei verschiedenen Wirkungsmechanismen beider Medikamente ist eine Kombinationstherapie ein mögliches Vorgehen. Im Hinblick auf die Möglichkeit der daraus resultierenden Dosisreduktion und damit Verringerung der Nebenwirkungen bei der klinischen Anwendung soll daher die in-vitro Testung einen ersten Hinweis auf die Frage nach dem Vorteil einer Kombination von Atosiban und Magnesium erbringen.

Diese Arbeit bietet durch in-vitro-Versuche die Möglichkeit, die Effektivität von Magnesium und Atosiban unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen und dadurch neue Denkanstöße für die klinische Anwendung zu provozieren.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Planung

Die Versuche fanden an humanem Myometrium statt, das nach schriftlicher Einwilligung der aufgeklärten Patientinnen bei geplanten Kaiserschnitten gewonnen wurde. Der Aufklärungsbogen ist als Anhang am Ende der Arbeit angefügt.

Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Charité, Campus Virchow-Klinikum genehmigt (Antragsnummer 141/2002).

Die Einschlusskriterien waren dabei eine primäre Sectio caesarea, die Einwilligung der Patientin sowie deren Volljährigkeit. Patientinnen, die nicht geschäftsfähig waren, nicht bei Bewusstsein waren oder keine Einverständniserklärung unterschrieben hatten, waren von der Studie ausgeschlossen. Auch bei bekannten chronischen Infektionen (HIV oder Hepatitis B) oder Vorliegen eines Amnioninfektions-Syndroms wurde auf die Probenentnahme verzichtet.

Die Versuche wurden spätestens 20 h nach dem Kaiserschnitt durchgeführt, wobei wenn möglich Material für zwei Testreihen aus einer Myometriumprobe gewonnen wurde. Vorversuche zeigten jedoch eine Veränderung der Reaktionsfähigkeit des Myometriums auf Oxytocin bei einem Versuchsbeginn >10h post Sectionem, so dass die Versuche mit Oxytocin nur innerhalb von 10h nach erfolgtem Kaiserschnitt durchgeführt werden konnten. Bei den Versuchen ohne Oxytocin zeigte sich kein Unterschied in der Reaktionsfähigkeit des Myometriums, so dass der mögliche Versuchszeitraum bis zu 20 h nach dem Kaiserschnitt betrug.

Nur Myometrium, bei dem innerhalb von drei Stunden nach Einbringen in den Versuchsaufbau spontane Kontraktionen auftraten, war für den Versuch geeignet. Blieben die Kontraktionen aus, wurde die Probe nicht mit in die Studie eingeschlossen.

Idealerweise waren für jeden Versuch sechs Myometriumstreifen vorgesehen, wobei wenn möglich an jedem Streifen drei Messungen vorgenommen wurden. Bei der Hälfte der Versuche wurde das Myometrium vor Zugabe der Testmedikamente mit Oxytocin stimuliert.

2.2 Materialgewinnung

Nach Entwicklung des Kindes und der Plazenta sowie der Naht der lateralen Wundränder wurde aus dem oberen Rand der Uterotomie Myometriumgewebe von ca. 2x1x1 cm Größe durch den Operateur entnommen. Die so gewonnene Probe wurde in einem Gefäß zweimal mit ca. 4°C kalter 0,9%iger Ringerlösung gespült, um Blutreste zu entfernen. Dadurch sollte eine

Beeinträchtigung des Gewebes durch Stoffwechselprodukte der Erythrozyten und Kaliumfreisetzung aus diesen vermieden werden. In frischer Lösung schwimmend wurde die Probe ins Labor transportiert und bis zum Versuchsbeginn bei 4°C aufbewahrt.
Die Probengewinnung hatte keine Vergrößerung der Narbe, Erhöhung des Blutverlustes oder Verlängerung des Eingriffs zur Folge. Bei dem Auftreten von Komplikationen jeglicher Art während des Eingriffs wurde auf die Entnahme des Myometriums verzichtet.

2.3 Substanzen

2.3.1 Hilfsmittel

0,9%ige Ringerlösung für den Transport und die Lagerung der Probe, Ecotainer®, Fa. Braun
Verdünnte Salzsäure (HCL, zum Reinigen der Organbadgefäße), selbst hergestellt
Carbogengasgemisch (95% Carbogen, 5% Sauerstoff , AGA Gas GmbH
Bad Stabil, neoLab®, neoLab, Laborbedarf-Vertriebs GmbH

2.3.2 Pufferlösung

2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazino]-Ethansulfonsäure 99% (HEPES), Fa. Aldrich , St. Louis (USA)
4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid (HEPES), Fa. Fluka, St. Louis (USA)
Calciumchlorid ($CaCl_2$), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
D(+)Glucose, wasserfrei, Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Kaliumchlorid (KCl), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Kaliumhydrogenphosphat (KH_2PO_4), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($MgSO_4 {}^{*}7H_2O$), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Natriumchlorid (NaCl), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Natriumhydrogencarbonat ($NaHCO_3$), Fa. Merck KGaA, Darmstadt (D)
Pyruvic Acid (α-Ketopropionic acid) Sodium Salt, Fa. Sigma, St. Louis (USA)

2.3.3 Pharmaka

Atosiban, Tractocile ®, 7,5 mg/ml, Fa. Ferring AG, Fa. Boehringer Ingelheim, Ingelheim (D)
Magnesiumsulfat 7 H_2O, Mg 5-Sulfat Amp.50%®, je Ampulle 20,25 mmol Mg, Fa.Cassella-med GmbH, Köln (D)
Oxytocin, Syntocinon ®, 3 I.E/ml, Fa. Novartis Pharma; Zürich (Ch)

2.4 Geräte

Laborwaage, SAC51, Fa. Scaltec; Göttingen (D)

Vortex, Typ REAX 1DR, Fa. Heidolph; Schwabach (D)

pH-Meter 766 Calimatic, Fa. Knick; Berlin (D)

Stereolupe, Highlight 3000, Fa. Olympus® Europe; Hamburg (D)

Thermostat D1, Fa. Thermo Haake; Karlsruhe (D)

Universal-Kühlautomat FKS 3600 10 A, Fa. Liebherr; Biberach (D)

Ultra Low Freezer, U 57085; Fa. New Brunswick Scientific GmbH; Nürtingen (D)

372 F 30 Force Transducer, Fa. Hugo Sachs Elektronik; March-Hugstetten (D)

Organbäder nach Schuller, Glasbläserei, Handwerksmeister Horst Müller (Berlin)

Präparierschale mit Gummieinlage und Nadeln

2 anatomische Pinzetten, kleine Präparierschere

Diverse Glas- und Eppendorfpipetten

Eppendorfgefäße (0,5 ml, 1ml)

Diverse Glaskolben:

2000ml Glaskolben für Erstellung des Puffers

300ml Glaskolben für Vorwärmung des Puffers in Wasserbad

4 x 100ml Glaskolben für Puffer-Stammlösungen

PC Scenic Pro C5, Fa. Fujitsu Siemens Computers GmbH; München (D)

PC Pentium II, Intel; Santa Clara (USA)

2.5 Software

UterData®, ITERATION Informatik Technologien GmbH; Wetzlar (D)

SPSS 11.0®, SPSS Inc.; Chicago (USA)

Word 2000, Microsoft (USA)

End Note 5.0, ISI ResearchSoft (USA)

2.6 Erhebung der Patientinnendaten

Die gynäkologischen und allgemeinen Anamnesedaten wie das Alter der Patientin, Gravidität, Parität, Schwangerschaftsalter bei Entbindung, Voroperationen am Uterus, Vorerkrankungen oder Nikotinabusus und Informationen zum Schwangerschafts- und Geburtsverlaufs wie Wehen

vor Entbindung, Mehrlingsschwangerschaft und Narkoseform wurden aus den Akten am Tag der Probenentnahme übernommen und statistisch ausgewertet.

2.7 Versuchsaufbau

Eine schematische Darstellung des Versuchaufbaus zeigt die Abbildung II. Die Apparatur besteht aus sechs doppelwandigen Organbädern, so dass während eines Versuchsablaufes an sechs Streifen gleichzeitig experimentiert werden kann. Jedes Organbad fasst etwa 12 ml und weist Zu- und Ablaufstutzen für ein Warmwasserumlaufsystem, einen Gaszulauf und ein Ablaufsystem auf. Während des Versuches soll ein annähernd physiologisches Milieu aufrechterhalten werden. Zu diesem Zweck wird zum einen das Organbad durch eine Fritte im Boden mit Carbogengas versorgt, zum anderen über einen Thermostat durch das Wasserumlaufsystem eine konstante Temperatur von 37°C aufrechterhalten. In Abbildung II soll eine schematische Darstellung den Aufbau verdeutlichen.

Die Organbäder waren mit 10 ml einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung, die in bestimmten Zeitabständen erneuert wurde, gefüllt. Der durchschnittliche pH-Wert betrug 7,43+/-0,05. Vor jedem Versuchstag erfolgte eine Kontrolle des pH-Wertes.

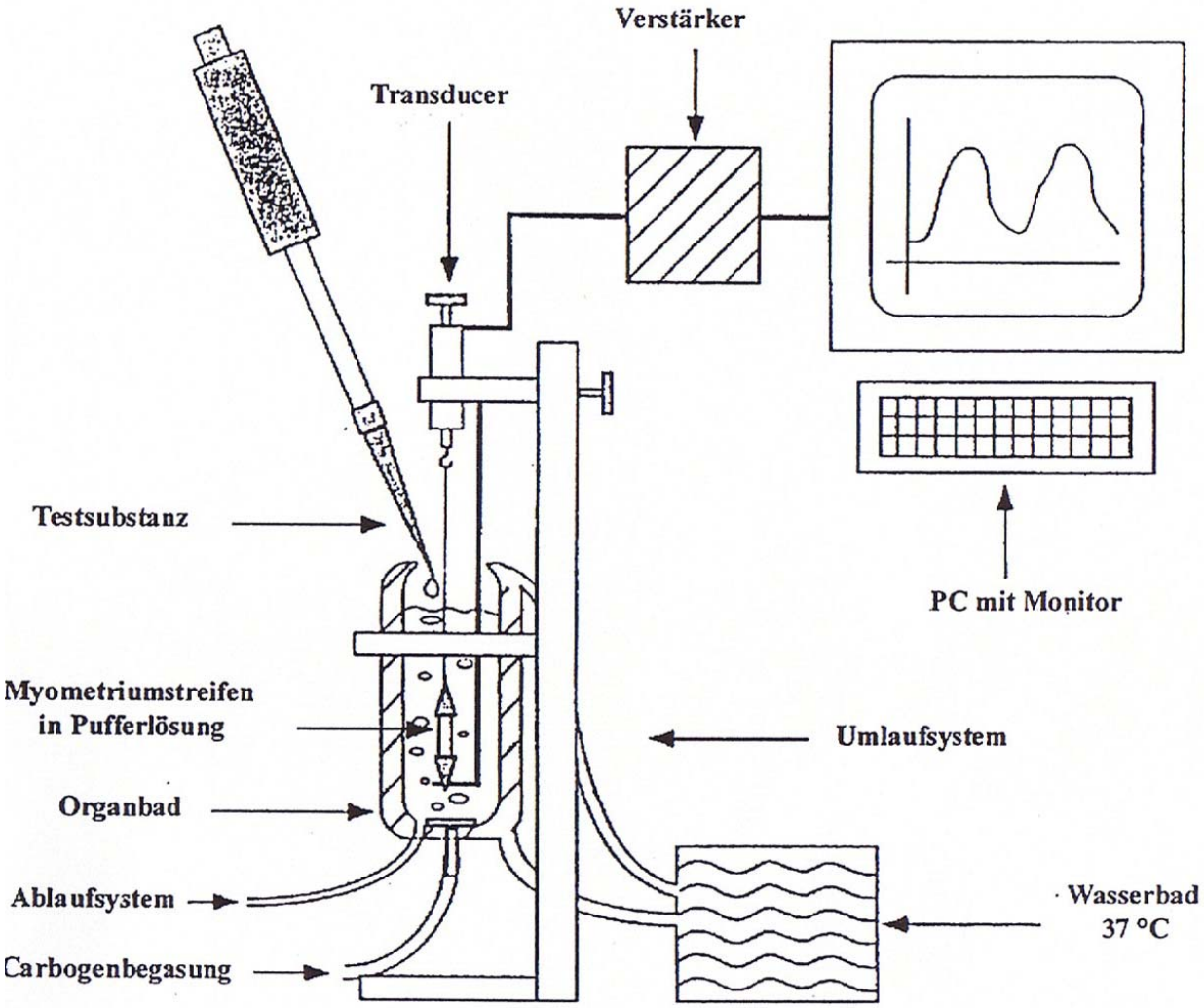

Abbildung II: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

2.8 Versuchsablauf

2.8.1 Pufferherstellung

Die modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung hat einen pH-Wert von 7,43 +/- 0,05. Dieser wurde bei jedem Pufferansatz kontrolliert.

Etwa zwei Liter Pufferlösung wurden für einen Versuchsdurchlauf benötigt. Tabelle III zeigt die Stoffe, die zur Pufferherstellung in Aqua dest. gelöst wurden.

Tabelle III Pufferzusammensetzung

Feste Substanzen	Konzentration in der Lösung	Stammlösungen	Konzentration in der Lösung
0,44 g Pyruvat	2,5 mmol/l	2,9 ml MgSO4 20%ig	2,4 mmol/l
2,18 g NaHCO3	24,9 mmol/l	3,26 ml KH2PO4 10%ig	1,2 mmol/l
2,8 g HEPES	5,9 mmol/l	5 ml CaCl2 1%ig	1,5 mmol/l
3,6 g Glucose	10 mmol/l	6 ml KCl 10%ig	4 mmol/l
13,6 g NaCl	116 mmol/l		

2.8.2 Präparation der Streifen

Aus der Myometriumprobe wurden mit einer anatomischen Pinzette und einer Schere mit größtmöglicher Sorgfalt Streifen von 10 x 2 x 2 mm Größe in Längsrichtung präpariert. Dazu wurde das Gewebe in eine mit Pufferlösung gefüllte Schale gelegt und unter einem Binokular begutachtet. Der Faserverlauf der Muskulatur und die Beschaffenheit des Gewebes waren dadurch sehr gut zu beurteilen. Um eine Beschädigung und Austrocknung des Gewebes zu vermeiden, musste zügig und so atraumatisch wie möglich gearbeitet werden. Dabei musste bei der Präparation darauf geachtet werden, dass in den Streifen keine Gefäßabschnitte oder Bindegewebe zu sehen waren. Die Streifen einer Versuchsreihe sollten idealerweise gleich groß sein.

Insbesondere beim Einspannen der Muskelpräparate war auf besondere Vorsicht und geringe Manipulationen zu achten.

2.8.3 Einspannen der Streifen

Die Myometriumstreifen wurden zwischen zwei Metallklammern aufgespannt, deren Schenkel wie bei einer Pinzette geöffnet und geschlossen und durch einen verschieblichen Ring fixiert werden. Die untere Klammer war über einen Haltestab unbeweglich befestigt, die obere durch einen dünnen Kunststofffaden mit dem Kraftaufnehmer verbunden. Mit Hilfe von Justierschrauben konnte der aufgespannte Myometriumstreifen vertikal in das Organbad gesenkt werden.

An jedem Muskelstreifen wurden durch einen Kraftaufnehmer (Type 372 F30 Force Transducer) die Kontraktionen, also vertikale Bewegungsänderungen und auch Phasen anhaltender Spannung

erfasst. Die Ausgangssignale wurden über einen Brückenverstärker mit einer A.-D-Wandlerkarte an den PC geleitet. Einmal pro Sekunde registrierte der Computer die Kontraktionskraft der Myometriumstreifen. Das Programm UterData (ITERATION Informatik Technologien GmbH) ermöglichte dadurch parallel zum Versuchsablauf eine graphische Darstellung der Messkurven auf dem Monitor als Kraft-Zeit-Diagramm.

2.8.4 Konzentration der Pharmaka

Es wurde der Einfluss verschiedener Tokolytika auf humanes Myometrium bei spontanen Kontraktionen oder mit 1 I.E./l Oxytocin induzierte Kontraktionen untersucht.

Nach den Fachinformationen der Firma Ferring empfiehlt sich ein Therapieschema mit einer Atosibaninfusion für sechs bis zwölf Stunden von 300 µg/min. Die Steady-state-Plasmakonzentration von 442 ± 73 ng/ml im Mittelwert (Berreich 298 bis 533 ng/ml) wird dabei innerhalb einer Stunde nach Infusionsbeginn erreicht. Daher wählten wir die Studien-Konzentrationen im Bereich der therapeutischen Plasma-Konzentrationen, die sich bei Anwendung des obigen, vom Hersteller empfohlenen Schemas bei den Schwangeren ergeben. Entsprechend wurde Atosiban in drei verschiedenen Konzentrationen, die sich an der durchschnittlichen therapeutischen Plasma-Konzentration von knapp 500 ng/ml orientierten (halbe therapeutische Plasma-Konzentration, therapeutische Plasma-Konzentration und doppelte Plasma-Konzentration) verwendet.

Die Entscheidung, welche Magnesium-Konzentrationen getestet werden sollte, war schwieriger. Der Hersteller gibt keine therapeutische Plasma-Konzentration für eine tokolytische Wirkung an. Da auch in der Literatur keine einheitlichen Konzentrationen angegeben werden und wir unter 1.4.3 auch die Einwände aus der Literatur zur therapeutischen Aussagekraft des Serum-Magnesiumspiegels erwähnt haben, erfolgten Serum-Magnesiumspiegelbestimmungen von fünf Patientinnen unter intravenöser Tokolyse mit Magnesium und Fenoterol. Die Spannbreite der Spiegelbestimmung reichte dabei von 1,06 mmol/l bis 4 mmol/. Danach fiel die Endscheidung, mit 1,5 mmol/l und 3 mmol/l im Vergleich zur Literatur eher niedrige Konzentrationen zu untersuchen.

Die Zahl der Patientinnen, denen nach Zustimmung eine Myometriumprobe entnommen wurde, war von der Ethikkommision begrenzt. Daher beschränkten wir uns auf die Testung dieser fünf Konzentrationen, um für die einzelnen Konzentrationen ausreichend Daten zu erheben.

Die in den Versuchen getesteten Konzentrationen:

Atosiban 250 ng/ml

Atosiban 500 ng/ml

Atosiban 1000 ng/ml

Magnesium 1,5 mmol/l

Magnesium 3 mmol/l

2.8.5 Versuche mit spontanen Kontraktionen

Nach Einbringen der Proben in die Organbäder folgte die teilweise bis zu vier Stunden dauernde Äquilibrierungsphase. Dazu wurden die Muskelstreifen zu Beginn drei Mal innerhalb von wenigen Sekunden einer Vorspannung von 20 mN ausgesetzt. Streifen, die gleich zu Beginn unter 5 mN und damit zu stark relaxierten, wurden bis zu zweimal nachgespannt.

Auf diesen Reiz folgte eine Phase der Relaxation. Die Pufferlösung wurde während dieser Zeit alle dreißig Minuten gewechselt. Nach einiger Zeit traten Spontankontraktionen auf. Wenn diese Spontanaktivität eine Stunde lang konstant blieb, konnte der eigentliche Versuch beginnen. Streifen, die nicht kontrahierten oder wieder zu stark relaxierten, wurden nicht weiter verwendet.

Der Versuchsablauf ist in Abbildung III schematisch dargestellt. Während eines 15 Minuten-Intervalls wurde die Spontanaktivität vor der Medikamentenzugabe, in der Abbildung als Ausgangsaktivität bezeichnet, gemessen. Direkt im Anschluss erfolgte die Zugabe des jeweiligen Pharmakons, das ebenfalls für einen Zeitraum von 15 Minuten im Organbad belassen wurde (in der Abbildung 1. Messung). Somit diente die jeweils der Substanzapplikation vorhergehende Phase, also die Ausgangsaktivität als Referenzaktivität. Nach einer 60minütigen Spülphase, in der die Pufferlösung alle 15 Minuten ausgetauscht wurde, folgte die Bestimmung einer zweiten Ausgangsaktivität über 15 Minuten, bevor erneut ein Medikament hinzugegeben wurde (2. Messung). Eine dritte Messung wurde bei ausreichender Erholung im Anschluss an eine zweite 60minütige Spülphase und Bestimmung der Ausgangsaktivität vorgenommen.

Im Verlauf des Versuches wurde darauf geachtet an einem Muskelstreifen immer die gleiche Substanz zu testen. Außerdem wurden nur gleiche oder zunehmend höhere Konzentrationen eines Medikamentes an einem Muskelstreifen appliziert.

Wenn der Versuch nicht durch vorherige Ermüdung der Myometriumstreifen früher beendet werden musste, betrug die maximale Versuchsdauer etwa 7,5 Stunden.

Zeit (min)

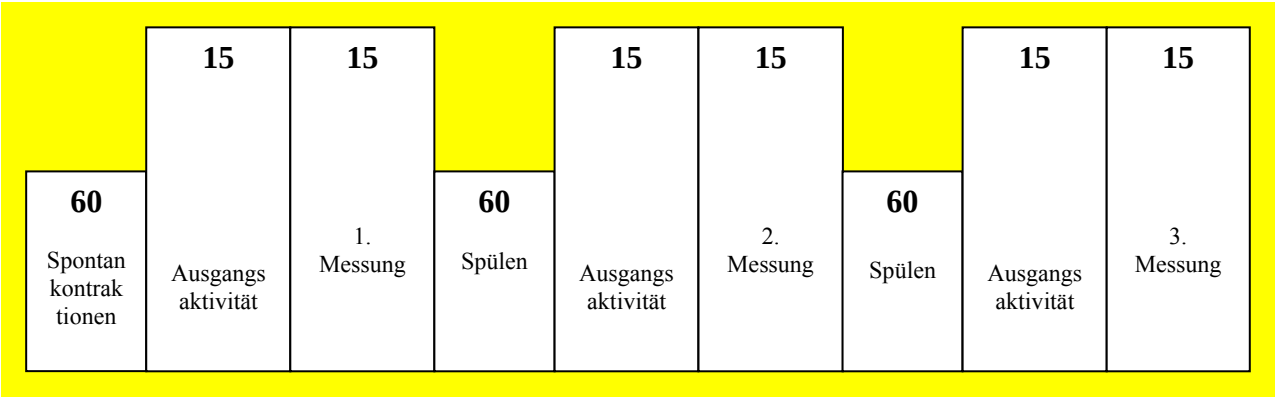

Abbildung III schematischer Versuchsablauf von Versuchen mit Spontankontraktionen

2.8.6 Versuche mit Oxytocinstimulation

Die Äquilibrierungsphase vor Versuchsbeginn verlief wie bei den Versuchen ohne Oxytocinstimulation. Dann erfolgte zu Beginn die Gabe von Oxytocin, die Konzentration von 1 I.E./l verblieb für 15 Minuten im Organbad. Die Kontraktionsaktivität in diesem Zeitraum wurde als Ausgangsaktivität für den Versuch bezeichnet. Nach einer sich anschließenden 60minütigen Spülphase, in der die Pufferlösung alle 15 Minuten gewechselt wurde, um jegliche Restwirkung des Oxytocins auszuschließen und die Muskelstreifen nach den induzierten Kontraktionen einer Erholungsphase auszusetzen, folgte die erste Messung. Dazu wurde zuerst das Testmedikament und sofort danach Oxytocin in das Organbad gegeben wurde. Anders als bei den Versuchen ohne Stimulation wurde nicht vor jeder Messung eine Ausgangsaktivität bestimmt, sondern eine zu Beginn und eine Restaktivität nach Ende aller Messungen. Aus diesen beiden Werten wurde dann die jeweilige Referenzaktivität rechnerisch ermittelt. Zwischen erster, zweiter und dritter Messung sowie vor Bestimmung der Restaktivität wurde jeweils 60 Minuten lang gespült.

Es wurden die gleichen Konzentrationen getestet wie in den Versuchen ohne Oxytocinstimulation. In Abbildung IV ist der Versuchsablauf schematisch dargestellt.

Es ergab sich eine maximale Versuchdauer von 9 Stunden und 15 Minuten.

Zeit (min)

	15	**15**		**15**		**15**		**15**
60 Spontan kontrak tionen	Ausgangs aktivität mit Oxytocin	1. Messung	**60** Spülen	2. Messung	**60** Spülen	3. Messung	**60** Spülen	Rest-aktivität mit Oxytocin

Abbildung IV schematischer Versuchsablauf von Versuchen mit Oxytocinstimulation

2.9 Auswertung der Messwerte

Die Berechnung und Auswertung wurde mit Hilfe eines PCs und dem Programm Uterdata (Uterdata, Iteration GmbH, Berlin, Germany) vorgenommen. Dazu wurden die einmal pro Sekunde registrierten Werte (in mN) innerhalb eines definierten Zeitraumes (15 Minuten) addiert. Die so berechneten Intergrale bzw. die Fläche unter der Kurve (area under the curve AUC) in einem 15 Minuten Intervall dienten als Maß für die Kontraktilität der Myometriumstreifen

Bei den Versuchen ohne Stimulation wurde vor jeder Messung die Spontanaktivität bestimmt und als Ausgangsaktivität (=100 %) gewertet. Nach Zugabe des Medikamentes wurde dann die Kontraktilität in der anschließenden Messung bestimmt und mit der Ausgangsaktivität verglichen. Restaktivität und Hemmung der Kontraktilität wurden in Prozent angegeben. In Tabelle IV und V sind die einzelnen Begriffe und ihre Erklärung noch einmal zusammengefasst.

Tabelle IV Messphasen der Versuche mit Oxytocinstimulation

Aktivität/Messphase	**Beschreibung/Berechnung**
Spontanaktivität	Spontankontraktionen des Myometriums nach der Äquilibrierungsphase, ohne Medikamentenzugabe, 15 Minuten vor der Bestimmung der Ausgangsaktivität
Ausgangsaktivität	Kontraktionen nach Oxytocingabe
Messung	Kontraktionen nach Gabe von Oxytocin und Atosiban oder Magnesium oder Atosiban und Magnesium in verschiedenen Konzentrationen
Restaktivität	Kontraktionen nach Oxytocingabe am Ende des Versuchs
Referenzaktivität	Berechnet aus Ausgangs- und Restaktivität

Tabelle V Messphasen der Versuche ohne Oxytocinstimulation

Aktivität/Messphase	**Beschreibung/Berechnung**
Spontanaktivität = Ausgangsaktivität	Spontankontraktionen des Myometriums, ohne Medikamentenzugabe, jeweils 15 Minuten vor der Medikamentenzugabe
Messung	Kontraktionen nach Gabe von Atosiban oder Magnesium oder Atosiban und Magnesium in verschiedenen Konzentrationen

Bei den Oxytocinversuchen wurde zuerst die Referenzaktivität (RF), berechnet aus Ausgangs (A)- und Restaktivität (R) abhängig von der Anzahl der Messungen ermittelt.
Bei nur einer Messung wurden Ausgangs- und Restaktivität jeweils nach Oxytocingabe addiert. Durch zwei geteilt ergab sich daraus die Referenzaktivität ((A+R)/2=RF). Bei zwei oder drei Messungen hintereinander wurde die Ausgangsaktivität nach Oxytocingabe und die Restaktivität nach Oxytocingabe in Abhängigkeit von der Versuchszahl unterschiedlich gewichtet, um eine Ermüdung des Kontraktionsverhaltens im Versuchsablauf mit einzubeziehen und damit einen möglichen Einfluss der Ermüdung auf die Ergebnisse zu verringern. Dabei wurde von einer linearen Ermüdung der Myometriumstreifen ausgegangen.
Bei zwei aufeinander folgenden Messungen ergibt sich folgende Berechnung: Für die erste Messung gilt: die Summe aus der doppelten Ausgangsaktivität und der einfachen Restaktivität wird durch drei geteilt ((A+A+R)/3=RF1). Für die Referenzaktivität der zweiten Messung wird die einfache Ausgangsaktivität mit der doppelten Restaktivität addiert und die Summe durch drei geteilt (A+R+R)/3=RF2.
Wurden drei Messungen hintereinander durchgeführt, berechneten sich die Referenzwerte nach dem gleichen Prinzip: (A+A+A+R)/4=RF für die erste Messung, (A+A+R+R)/4 für die zweite Messung und (A+R+R+R)/4=RF für die dritte Messung.
Die Restkontraktionen in Prozent berechneten sich als Quotient aus der Aktivität während der Messphase und der Referenzaktivität multipliziert mit 100. Um die Ermüdung der Myometriumstreifen unter Oxytocinstimulation im Versuchsablauf festzustellen, bildeten wir den Quotienten aus der Restaktivität unter Oxytocingabe nach Versuchsende und der Ausgangsaktivität unter Oxytocingabe vor Versuchsbeginn.
Die Oxytocinreagibilität wurde als Quotient aus der Ausgangsaktivität unter Oxytocinstimulation und der spontanen Ausgangsaktivität bestimmt.

2.10 Untersuchung auf einen möglichen Zusammenhang der anamnestischen Patientinnen-Daten mit der Reagibilität des Myometriums auf Oxytocinstimulation und der Ermüdung des Myometriums in den Oxytocinversuchen

Es wurde untersucht, ob sich ein Zusammenhang zwischen der Reagibilität des Myometriums auf Oxytocinstimulation und/oder der Stärke der Ermüdung des Myometriums und verschiedenen anamnestischen Daten wie dem Alter der Patientin, Gravität, Parität, Schwangerschaftsalter bei Entbindung, Wehen vor Entbindung, Mehrlingsschwangerschaft, Voroperationen am Uterus, Narkoseform oder Nikotinabusus herstellen ließ.

2.11 Statistik

Zur statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurde das Programm SPSS für Windows 11.0 (SPSS ® Chicago, Illinois, USA) verwendet.

Der Median sowie die 25. und 75. Perzentile wurden dabei als beschreibendes Lagemaß der Verteilung der Kontraktilität berechnet, weil es sich bei den untersuchten Parametern nicht um normalverteilte Parameter handelte. Die Prüfung der Medianunterschiede bei stetigen Variablen erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Test. Die Prüfung der Häufigkeitsunterschiede bei diskreten Parametern erfolgte mit Hilfe des χ^2–Testes. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,05 ($p < 0,05$) bezeichneten wir als signifikant, kleiner als 0,01 ($p<0,01$) als hochsignifikant und größer als 0,05 ($p>0,05$) als nicht signifikant.

3. ERGEBNISSE

3.1 Beschreibung des Patientinnenkollektivs

42 Frauen gaben ihr Einverständnis an der Studie teilzunehmen. In fünf Fällen zeigte das Myometrium keinerlei Spontanaktivität, so dass die Proben dieser Frauen schon vor Beginn der Versuche aus der Studie ausschieden. Die restlichen 37 Probandinnen waren zwischen 20 und 40 Jahre alt und wurden alle durch einen primären Kaiserschnitt entbunden. Der Großteil der Frauen (19) befand sich zu diesem Zeitpunkt in der 39. Schwangerschaftswoche, 7 Frauen waren in der 38. Schwangerschaftswoche, 5 in der 37., 4 in der 40. und jeweils eine Frau war in der 36. bzw. 41. Schwangerschaftswoche. In 34 Fällen waren noch keine, in 3 Fällen nicht zervixwirksame und in einem Fall zervixwirksame Wehen aufgetreten. 13 Frauen waren Zweitpara, 10 Erstpara, 9 Drittpara, jeweils 2 Frauen waren Viert- und Fünftpara und eine Frau war Achtpara. In 17 Fällen war die Indikation für die Schnittentbindung eine Beckenendlage. Viermal wurde eine mütterliche Indikation zur Sectio festgestellt. In je drei Fällen waren Mehrlinge, relatives oder fetomaternales Missverhältnis oder eine vorangegangene Sectio der Grund. Zwei Fälle von Querlage und anderen kindlichen Indikationen traten auf. Jeweils einmal waren ein pathologisches CTG, eine traumatische Erstentbindung in der Anamnese und eine Placenta praevia totalis für die Indikationsstellung entscheidend.

25 Frauen hatten keine Grunderkrankung, je zwei Frauen litten unter Pyelonephritis oder Hypothyreose und je eine hatte eine chronische Glomerulonephritis, eine Hypertonie, einen Myokardinfarkt, Herzrhythmusstörungen, ein Vitium cordis, eine chronische Bronchitis, Asthma brochiale und eine Subarachnoidalblutung in der Anamnese.

Die Mehrzahl der Frauen (16) hatte keinen operativen Eingriff am Uterus in der Anamnese. In zehn Fällen waren eine Kürrettage, in zehn Fällen ein Kaiserschnitt und in einem Fall eine Myomenukleation in der Anamnese zu finden.

19 Frauen hatten eine kombinierte spinal-epidurale Anästhesie, zehn eine Periduralanästhesie und acht eine Intubatiosnarkose.

Anamnestisch rauchten während der Schwangerschaft 27 Frauen nicht, jeweils zwei Frauen 1-5 bzw. 6-10 Zigaretten pro Tag, drei Frauen 11-15 Zigaretten pro Tag und drei Frauen 16-25 Zigaretten pro Tag.

3.2 Auswertung

3.2.1 Anzahl der Streifen und Messungen

Es wurden Versuche an Myometriumproben von 37 Patientinnen durchgeführt, wobei wegen technischer Probleme, fehlender Spontanaktivität, Terminproblemen, zu wenig Material oder Fehlern im Versuchsablauf nicht bei jeder Probe zwei Testreihen stattfinden bzw. ausgewertet werden konnten. In die endgültige Auswertung wurden jedoch nur die Proben von 30 dieser Patientinnen miteinbezogen. Eine Probe einer Patientin wurde wegen des frühen Schwangerschaftsalters aus der allgemeinen Auswertung herausgenommen, bei den restlichen sechs Patientinnen erfolgten die Messungen erst nach über 12 Stunden, so dass sie nicht in die Auswertung mit einflossen. Von 30 Patientinnen wurden an 101 Streifen insgesamt 271 Messungen durchgeführt und 123 Kombinations-Messungen Es wurden 87 Messungen mit Atosiban, 61 Messungen mit Magnesium und 123 Messungen mit Medikamentenkombinationen vorgenommen. Tabelle VI zeigt die Verteilung der Streifen auf Versuche mit und ohne Stimulation mit Oxytocin, sowie die einzelnen Konzentrationen.

Anzahl der Messungen	**Stimulation mit Oxytocin**	**Keine Stimulation**	**insgesamt**
1. Atosiban 250 ng/ml	9	17	26
2. Atosiban 500 ng/ml	13	20	33
3. Atosiban 1000 ng/ml	7	21	28
4.Magnesium 1,5 mmol/ml	9	20	29
5. Magnesium 3 mmol/ml	11	21	32
6. Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	11	22	33
7. Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	10	22	32
8. Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	7	20	27
9. Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	11	20	31

Tabelle VI Verteilung der Streifen

3.3 Ergebnisse der Versuche mit Oxytocin-Stimulation

Die Zusammenfassung der Ergebnisse zeigt Tabelle VII auf Seite 38.

3.3.1 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Atosibangabe

Drei verschiedene Konzentrationen von Atosiban wurden getestet: 250 ng/ml (1.), 500 ng/ml (2.) und 1000 ng/ml (3.).

In allen Fällen mit Zugabe von Atosiban wurden die Kontraktionen gehemmt, wobei sich zwischen den verschiedenen Konzentrationen allerdings kein signifikanter Unterschied in der Stärke der Wirkung zeigte. Die kleinste Konzentration hemmte die Muskelkontraktionen bis zu einer Restkontraktilität von 29,7% (12,1%; 38%), die mittlere bis zu 24,1% (10,2%; 36,2%) und die höchste bis zu 29,9 % (3,1%; 37,2%) Prozent Restkontraktilität.

Die prozentuale Restkontraktilität bezieht sich auf die für jeden einzelnen Muskelstreifen individuelle Referenzaktivität, berechnet aus Ausgangsaktivität und Restaktivität (siehe Methodenteil). Ein typischer Kurvenverlauf unter Oxytocingabe ist in Abbildung V zu sehen, Abbildung VI zeigt den Kurvenverlauf bei Atosibangabe.

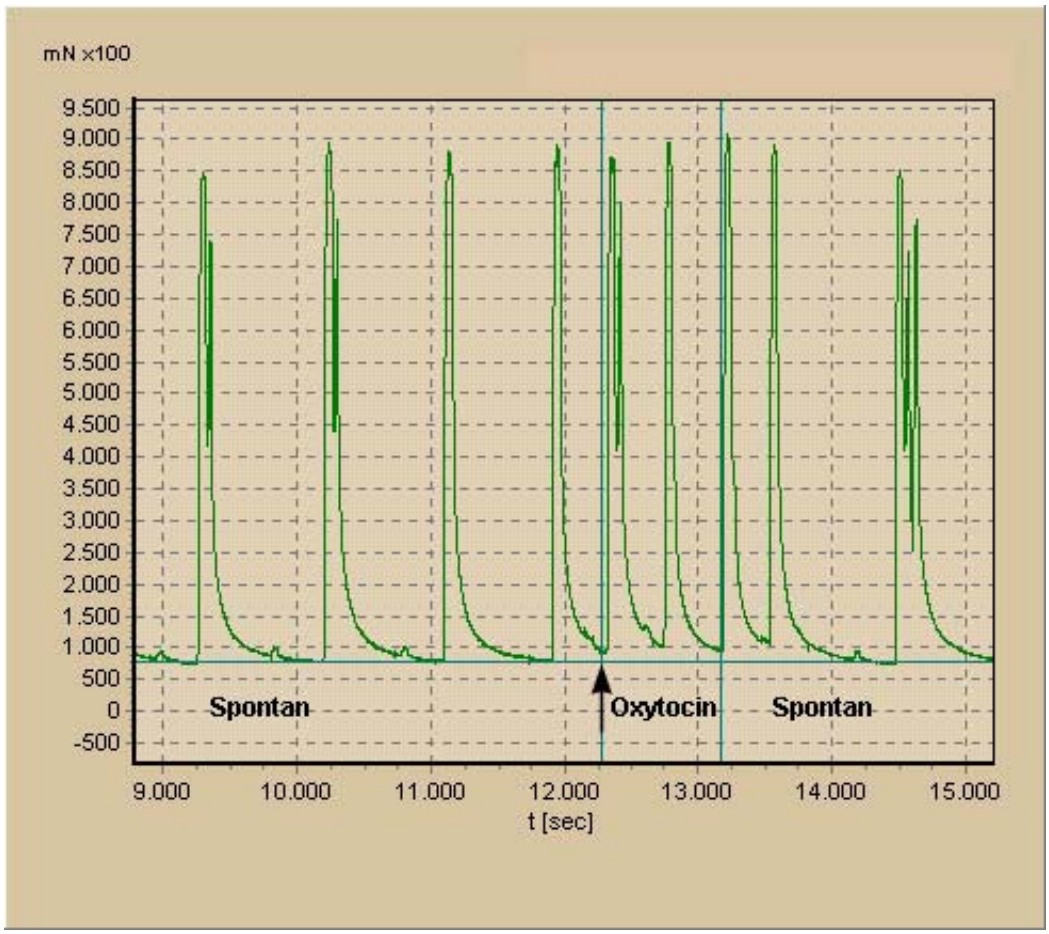

Abbildung V: Beispiel für einen Kurvenverlauf unter Oxytocin-Stimulation

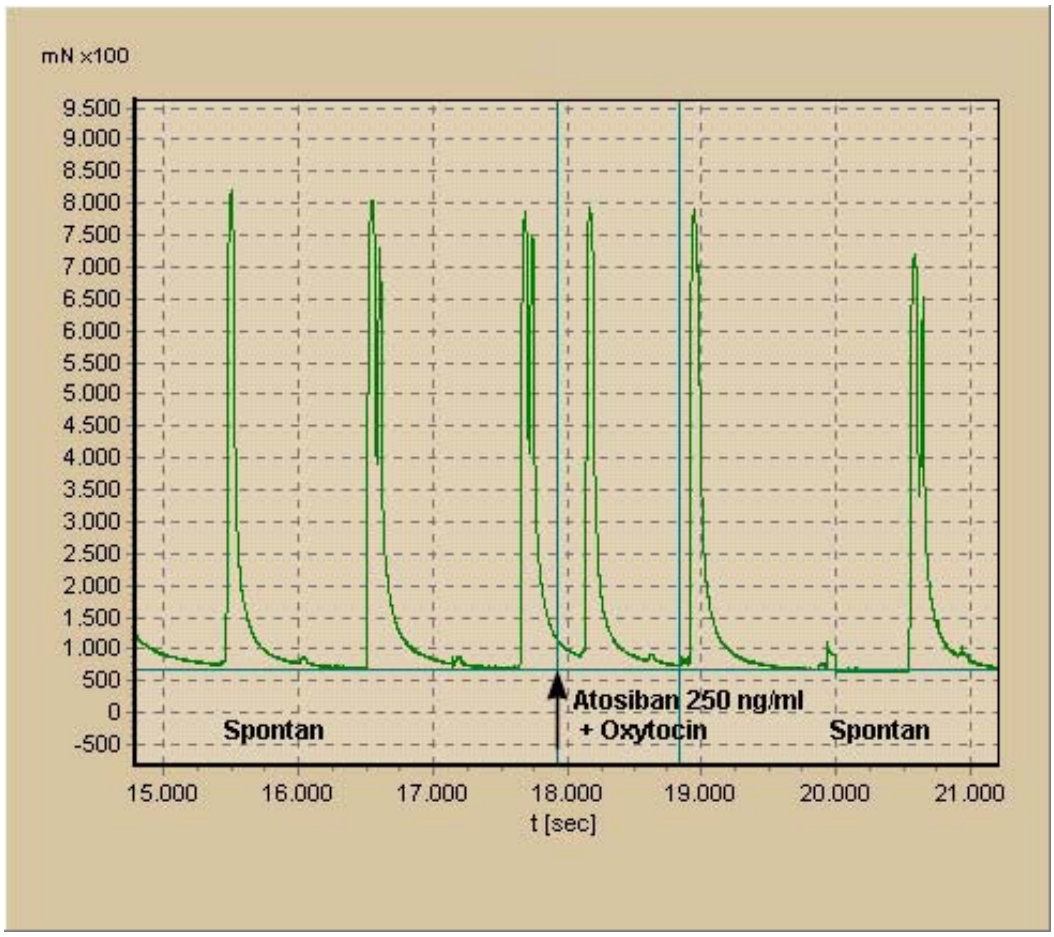

Abbildung VI Beispiel für einen Kurvenverlauf unter Atosibanwirkung

3.3.2 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Magnesiumgabe

Magnesium wurde in Konzentrationen von 1,5 und 3 mmol/l getestet. Die Wirkung von 1,5 mmol/ml Magnesium führte zu einer Restkontraktilität von 75,3% (60,65; 96,8%), die Wirkung von 3 mmol/ml zu einer Wirkung von 87,1% (83,3%; 91,9%). Der Unterschied in der Wirksamkeit war auch hier nicht signifikant.

Abbildung VII zeigt den Kurvenverlauf unter Oxytocinwirkung und Abbildung VIII die Kurve nach Magnesiumgabe.

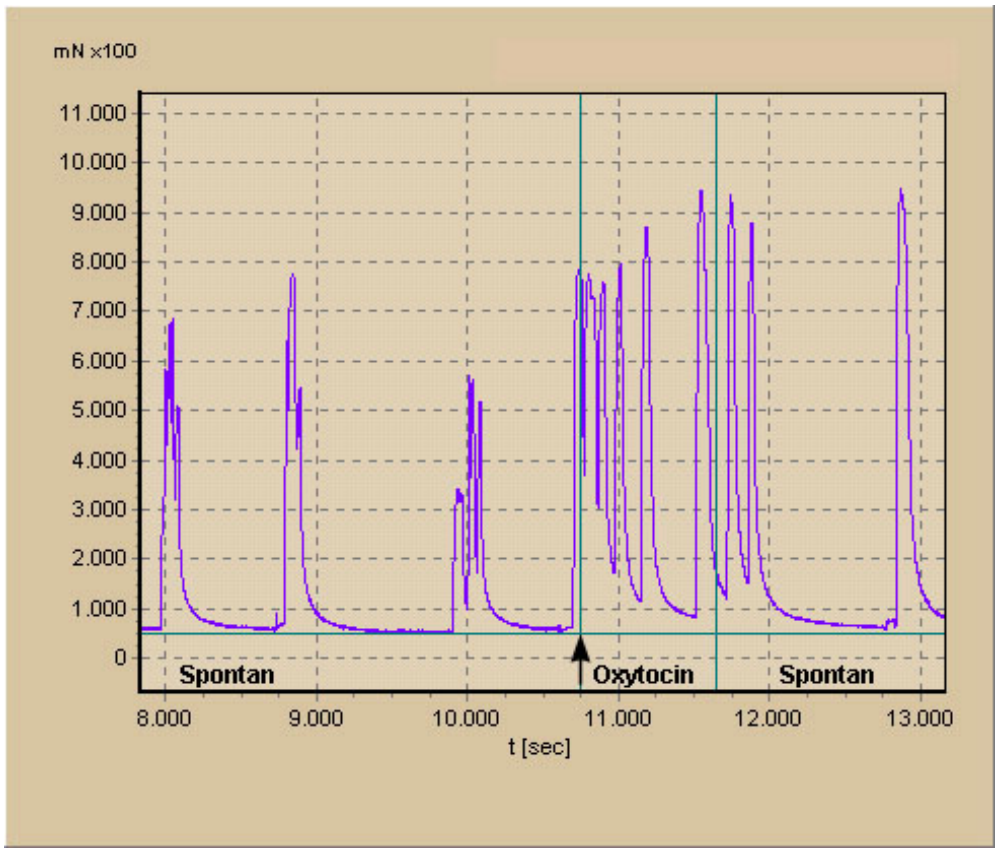

Abbildung VII: Beispiel für Oxytocinstimulation

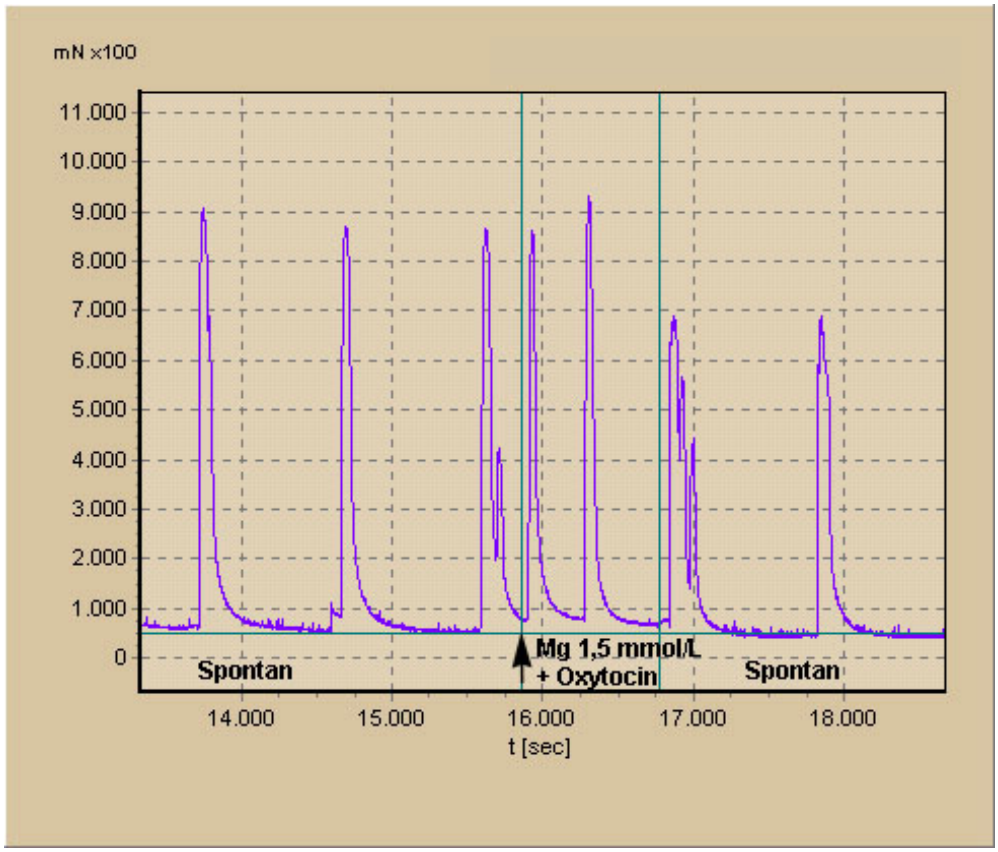

Abbildung VIII Beispiel für Magnesiumwirkung

3.3.3 Restkontraktilität nach Oxytocin-Stimulation unter Gabe von Atosiban und Magnesium

Vier verschiedene Kombinationen wurden untersucht: Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml (6.), Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml (7.), Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml (8.), Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml (9.).

Die Restkontraktilität betrug 38,2 % (12,5%; 61,1%) bei 6., 34,5% (19,8%; 48,2%) bei 7., 31,7% (21,9%; 55,6%) bei 8. und 31,3% (3,5%; 44,4%) bei 9. Es war kein signifikanter Unterschied in der Wirkungsstärke festzustellen.

Tabelle VII zeigt die einzelnen Werte im Detail.

Tabelle VII

Medikament	**Prozentuale Restkontraktilität 50. Perzentile (25. und 75. Perzentile)**	**Anzahl der Messungen**
(1.) Atosiban 250 ng/ml	**29,7%** (12,1 %; 38%)	**9**
(2.) Atosiban 500 ng/ml	**24,1%** (10,2%; 36,2%)	**13**
(3.) Atosiban 1000 ng/ml	**29,9%** (3,1%; 37,2%)	**7**
(4.)Magnesium 1,5 mmol/ml	**75,3%** (60,6%; 96,8%)	**9**
(5.) Magnesium 3 mmol/ml	**87,1%** (83,3%; 91,9%)	**11**
(6.) Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	**38,2%** (12,5%; 61,1%)	**11**
(7.) Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	**34,5% (**19,8%; 48,2%)	**10**
(8.) Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	**31,7%** (21,9%; 55,6%)	**7**
(9.) Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	**31,3%** (3,5%; 44,4%)	11

3.3.4 Vergleich der Medikamente bei oxytocinstimulierten Versuchen

Atosiban hemmt die oxytocinstimulierten Kontraktionen signifikant besser als Magnesium (p=<0,01).

Es gab keinen Unterschied in der Wirkung der Kombination von Atosiban und Magnesium gegenüber Atosiban alleine.

Im Vergleich mit Magnesium alleine erweist sich die Kombination als signifikant besser (p<0,01)

Das Balkendiagramm in Abbildung IX verdeutlicht die Ergebnisse.

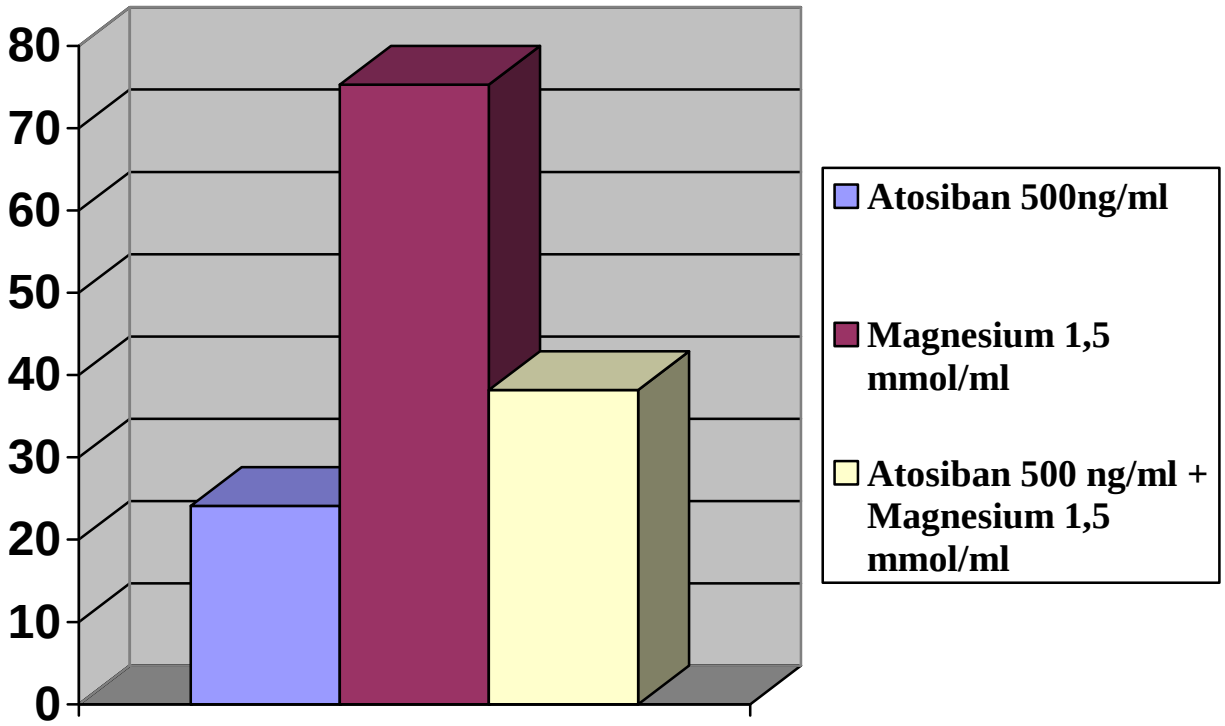

Abb. IX zeigt die Restkontraktilität bei Versuchen mit Oxytocinstimulation in Prozent

Tabelle VIII zeigt die signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Medikamente gegeneinander.

Restkontraktilität unter Medikamentengabe	**Signifikanzlevel**
Atosiban 500 ng/ml < Magnesium 1,5 mmol/ml	< 0,01
Atosiban 500 ng/ml < Magnesium 3 mmol/ml	< 0,01
Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmo/ml l < Magnesium 1,5 mmol/ml	<0,01
Atosiban 500 ng /ml + Magnesium 3 mmol/ml < Magnesium 3 mmol/ml	<0,01

3.4 Ergebnisse der Versuche mit Spontankontraktionen

Tabelle IX (S. 44) zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse.

3.4.1 Restkontraktilität nach Atosibangabe

Untersucht wurden dieselben drei Konzentrationen wie in den Versuchen mit Oxytocin-Stimulation. Auch hier zeigt sich eine hemmende Wirkung, wenn auch die Restkontraktilitäten deutlich höher liegen: 85,7% (51,1%; 103,7%), 80,2% (32,2%; 90,1%) und 93,1% (40,1%, 119,4%). Der Unterschied zwischen den Wirkungen der einzelnen Konzentrationen war nicht signifikant. Einen typischen Kurvenverlauf zeigt Abbildung X.

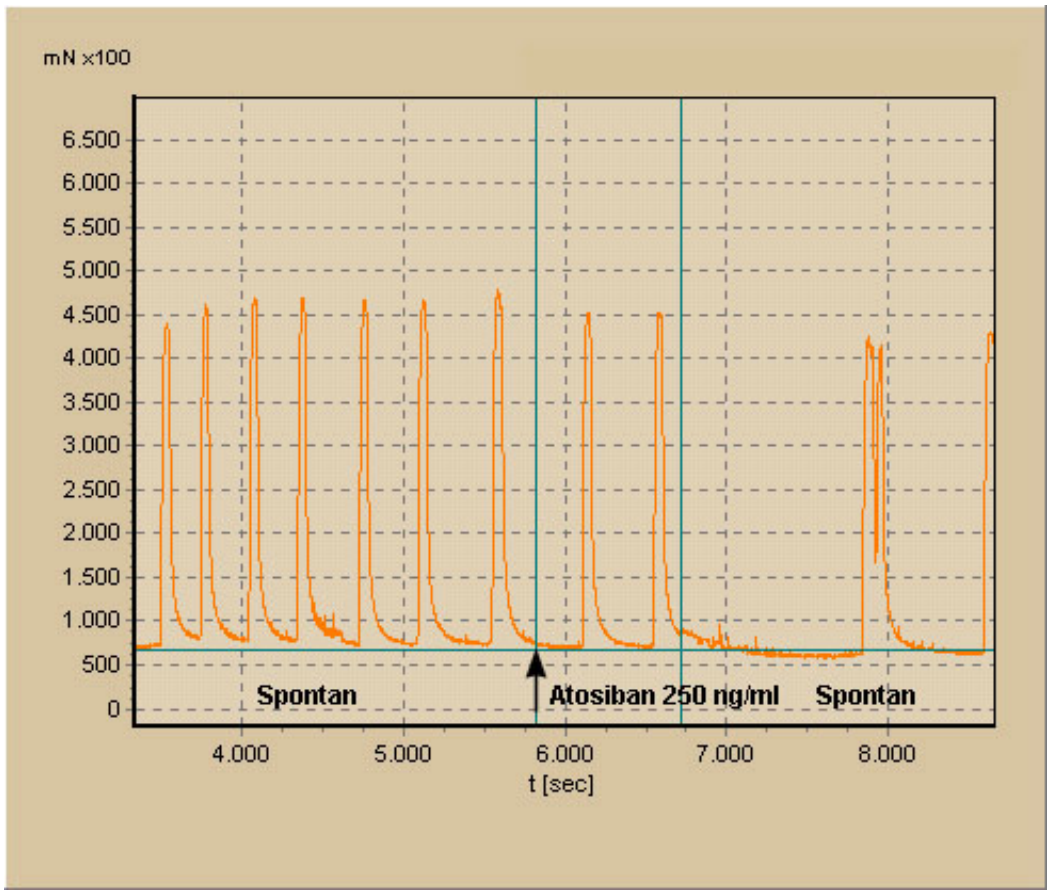

Abbildung X: Beispiel einer Kontraktionskurve unter Atosibangabe

3.4.2 Restkontraktilität nach Magnesiumgabe

Unter Gabe von Magnesium war eine deutliche Kontraktionshemmung zu beobachten. Wobei 3 mmol Magnesium mit einer Restkontraktilität von nur von 8,9% (1,2%; 30,3%) den 1,5 mmol Magnesium mit 38,7% (5,9%; 65,9%) überlegen waren. Dieser Unterschied erwies sich jedoch als statistisch nicht signifikant ($p>0,05$). Abbildung XI stellt ein Beispiel für einen Kurvenverlauf dar.

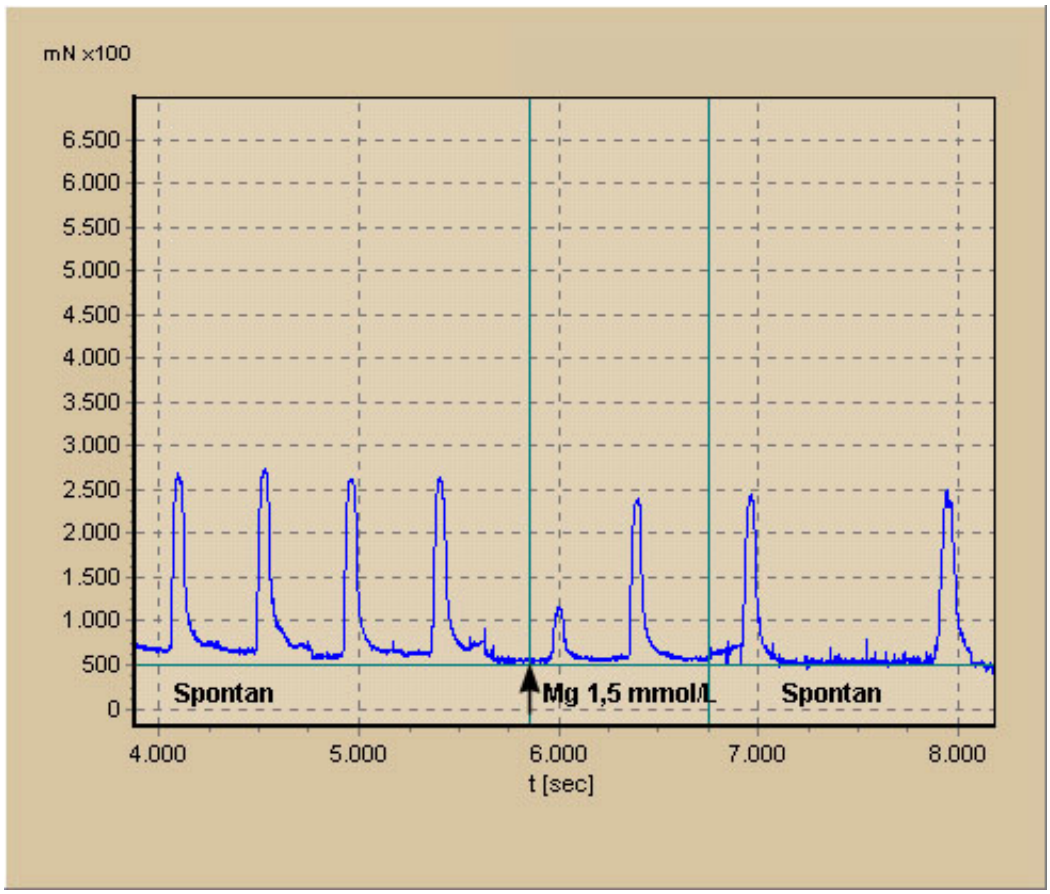

Abbildung XI: Beispiel einer Kontraktionskurve unter Magnesiumgabe

3.4.3 Restkontraktilität nach Gabe von Atosiban und Magnesium

Alle vier Konzentrationen hemmten die Kontraktilität der Myometriumstreifen. Dabei ergaben sich für Atosiban 500 ng/ml + 1,5 mmol/ml Magnesium (6.) eine Restkontraktilität von 54,3% (18,1%; 87,3%), für Atosiban 500 ng/ml + 3 mmol/ml Magnesium (7.) von 5,5% (1,4%; 45,7%), für Atosiban 1000 ng/ml + 1,5 mmol/ml Magnesium (8.) von 26,0% (2,4%; 51%) und für Atosiban 1000 ng/ml + 3 mmol/ml Magnesium (9.) von 6,5% (2,3%; 70,3%). 7., 8. und 9. wirkten stärker hemmend als 6., wobei nur der Unterschied zwischen 6. und 7. und 6. und 8. signifikant war ($p<0,05$). Zwischen 7., 8. und 9. ließ sich kein signifikanter Unterschied in der Wirkung feststellen.

Tabelle IX zeigt die einzelnen Werte der Restkontraktilitäten nach Gabe von Atosiban und Magnesium im Detail

Medikament	**Prozentuale Restkontraktilität 50. Perzentile (25. und 75. Perzentile)**	**Anzahl der Messungen**
(1.) Atosiban 250 ng/ml	**85,7%** (51,1%; 103,7%)	**17**
(2.) Atosiban 500 ng/ml	**80,2%** (32,2%; 90,1%)	**20**
(3.) Atosiban 1000 ng/ml	**93,1%** (40,1%, 119,4%)	**21**
(4.)Magnesium 1,5 mmol/ml	**38,7%** (5,9%; 65,9%)	**20**
(5.) Magnesium 3 mmol/ml	**8,9%** (1,2%; 30,3%)	**21**
(6.) Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	**54,3%** (18,1%; 87,3%)	**22**
(7.) Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	**5,5%** (1,4%; 45,7%)	**22**
(8.) Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	**26,0%** (2,4%; 51%)	**20**
(9.) Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	**6,5%** (2,3%; 70,3%)	**20**

Tabelle IX prozentuale Restkontraktilität

3.4.4 Vergleich der Medikamente bei Versuchen mit Spontanaktivität

Magnesium hemmt die Spontankontraktionen signifikant stärker als Atosiban ($p<0,01$)

Die Kombination von Magnesium und Atosiban wirkt signifikant stärker als Atosiban alleine ($p<0,05$)

Die Ergebnisse von Atosiban und Magnesium und alleiniger Magnesiumgabe zeigten keinen signifikanten Unterschied.

Das Balkendiagramm in Abbildung XII verdeutlicht das Ergebnis.

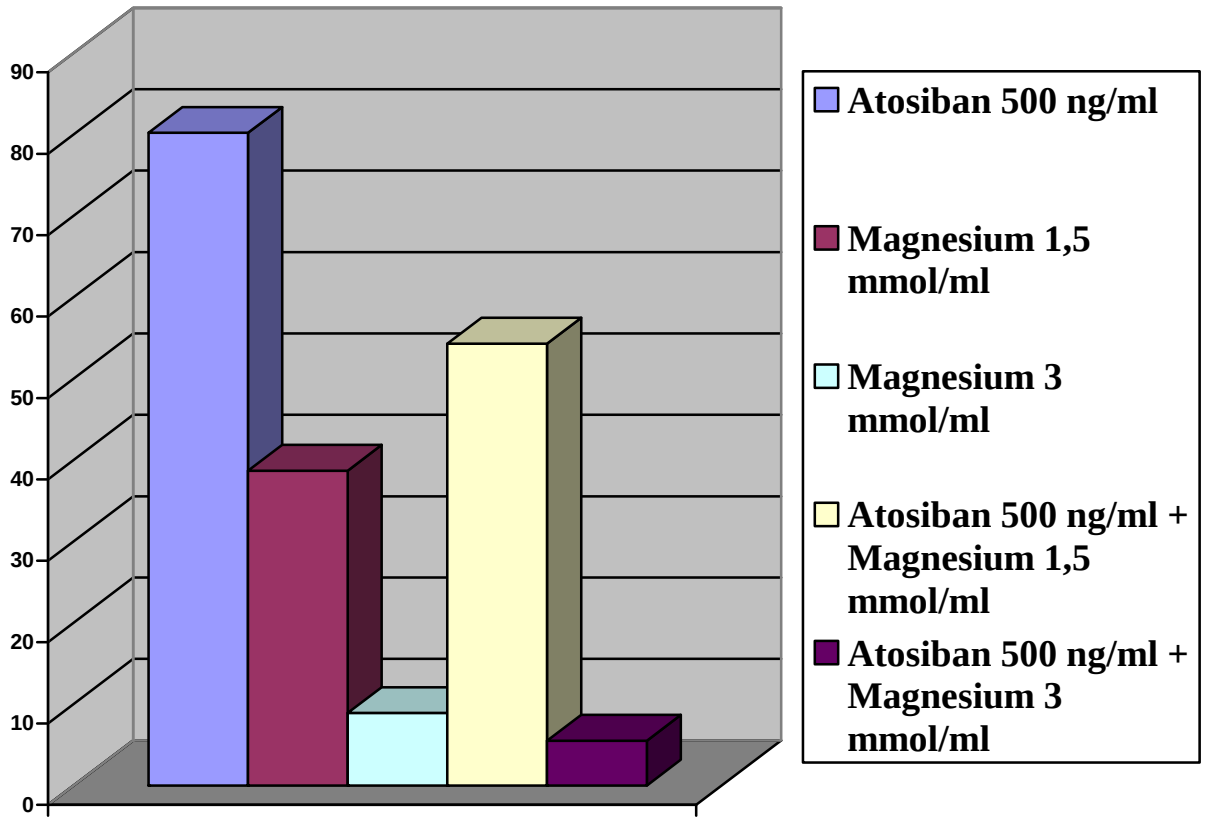

Abbildung XII zeigt die Restkontraktilität bei Versuchen mit spontanen Kontraktionen in Prozent.

Tabelle X zeigt die signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Medikamente bei Versuchen mit Spontanaktivität in Bezug auf Hemmung oder auf Restaktivität

Medikamente	**Signifikanzlevel**
Atosiban 500 ng/ml > Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	<0,05
Atosiban 500 ng/ml > Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol/ml	<0,05
Atosiban 500 ng/ml > Atosiban 1000 ng/ml + Magnesium 3 mmol/ml	<0,05
Atosiban 500 ng/ml > Magnesium 1,5 mmol/ml	<0,05
Atosiban 500 ng/ml > Magnesium 3 mmol/ml	<0,01
Atosiban 1000 ng/ml > Magnesium 1,5 mmol/ml	<0,01
Atosiban 1000 ng /ml > Magnesium 3 mmol/ml	<0,01
Atosiban 500 ng/ml + Magnesium 1,5 mmol /ml > Magnesium 3 mmol/ml	<0,01

3.5 Ermüdung des Myometriums in den Oxytocinversuchen und Untersuchung auf einen möglichen Zusammenhang mit anamnestischen Patientinnendaten

Die Restaktivität betrug nur noch etwa 65% der Ausgangsaktivität. Es wurde untersucht, ob sich ein Zusammenhang zwischen der Stärke der Ermüdung und verschiedenen anamnestischen Daten wie dem Alter der Patientin, Gravität, Parität, Schwangerschaftsalter bei Entbindung, Wehen vor Entbindung, Mehrlingsschwangerschaft, Voroperationen am Uterus, Narkoseform oder Nikotinabusus herstellen ließ. Die statistische Analyse ergab jedoch keine Korrelation zwischen der Ermüdung des Myometriums und den anamnestischen Patientinnendaten.

4. DISKUSSION

4.1 Versuchsaufbau

Kontraktionsversuche an isoliertem Myometrium sind eine gute Möglichkeit, die Wirkung von Tokolytika zu testen. Eine direkte Übertragung in den klinischen Alltag ist zwar nicht möglich, aber ohne Risiko für Mutter und Kind lassen sich neue Ideen entwickeln bzw. bereits bekannte Ergebnisse bessere reproduzieren und objektivieren. Ein weiterer Vorteil ist dabei das Fehlen eines Placeboeffektes. Ein Problem hingegen ist der Zeitpunkt der Probengewinnung. Tokolytika werden nur bis 34+0 SSW verwendet, also sollten Tokolytika idealerweise auch in diesem Schwangerschaftsalter getestet werden. Die Durchführung einer Schnittentbindung zu diesem Zeitpunkt ist jedoch meist ein Notfall, so dass eine Aufklärung über die Gewebeentnahme für eine Studie häufig nicht möglich bzw. ethisch nicht vertretbar ist.

Insgesamt finden sich in der Literatur trotz der Vorteile nur wenige Untersuchungen dieser Art. Im Weiteren werden einige dieser Studien an humanem Myometrium betrachtet.

4.2 in-vitro Versuche an humanem Myometrium

4.2.1 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Magnesium

Bei bereits langjährigem klinischen Einsatz von Magnesium in der Therapie der Präeklampsie wurde die erste in-vitro Untersuchung zur tokolytischen Wirkung 1959 von Hall [59] veröffentlicht (siehe Einleitung). Die Myometriumstreifen stammten dabei von nicht schwangeren Patientinnen, die hysterektomiert wurden. Der Versuchsaufbau war vergleichbar mit dem Aufbau der Versuche mit Spontankontraktionen dieser Arbeit. Je höher die Magnesium-Konzentration in der Versuchslösung war, desto ausgeprägter war die Hemmung der Kontraktionen. In der magnesiumfreien Lösung konnte außerdem eine deutliche Tonussteigerung beobachtet werden. Popper und Mitarbeiter [84] haben 1989 an Myometriumstreifen von acht nichtschwangeren Frauen die in-vitro Wirkung von zwei verschiedenen Magnesium-Konzentrationen auf Spontankontraktionen und durch KCl stimulierte Kontraktionen untersucht. Dabei zeigte sich eine dosisabhängige Kontraktionshemmung. Mit 12 bzw. 24 mmol/l waren hier deutlich höhere Konzentrationen als in der vorliegenden Arbeit verwendet worden.

1990 veröffentlichte Kawarabayashi et al .[113] eine Studie, die einen Vergleich zwischen spontanen und oxytocinstimulierten Versuchen beschreibt. Magnesium wurde in zwei Konzentrationen getestet (1,2 mmo/l und 2,4 mmol/l), die etwa den Konzentrationen dieser Arbeit entsprechen. In den Versuchen mit Spontankontraktionen zeigte sich dabei eine

effektivere Kontraktionshemmung bei der Gabe von 2,4 mmol/l. Einen weiteren Unterschied zeigte das Ergebnis bei den oxytocinstimulierten Versuchen. Hier zeigte sich eine Zunahme der Kontraktilität durch Magnesium, während die hier vorliegende Arbeit eine signifikante Kontraktionshemmung beschreibt. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten auf den unterschiedlichen Zeitpunkt der Oxytocingabe zurückzuführen sein. In der Arbeit von Kawarabayashi et al. wurde 1 I.E/l Oxytocin erst 30 Minuten nach Magnesiumgabe, in der hier vorliegenden Arbeit die gleiche Menge an Oxytocin innerhalb von Sekunden nach Magnesiumgabe hinzugegeben. Die Zunahme der Kontraktilität in der Arbeit von Kawarabayashi et al. könnte dabei als Rebound-Effekt nach vorangegangener Hemmung gewertet werden.

In den hier durchgeführten und beschriebenen Experimenten konnte die kontraktionshemmende Wirkung des Magnesiums an humanem Myometrium in vitro noch einmal deutlich demonstriert werden. Dabei hemmte Magnesium sowohl die spontanen als auch die oxytocininduzierten Wehen. Überraschend war jedoch die deutliche Überlegenheit des Magnesiums gegenüber Atosiban in der Hemmung spontaner Kontraktionen. Diese Überlegenheit zeigt noch einmal, dass die Wehenentstehung von ganz verschiedenen Faktoren auf unterschiedlichen Ebenen beeinflussbar ist. Die Beeinflussung der Kontraktilität durch einen Eingriff in den Calciumhaushalt der Myometriumzelle ist daher „oxytocinunabhängiger“. Die tokolytische Wirkung des Magnesiums beruht einerseits auf einer Hemmung des extrazelluären Calciumeinstroms, andererseits aber auch auf der Hemmung der intrazellulären Freisetzung von Calcium. Magnesium entfaltet seine Wirkung also unabhängig von den Oxytocin-Rezeptoren im distalen Teil des Kontraktionspathways (dargestellt in der Abbildung).

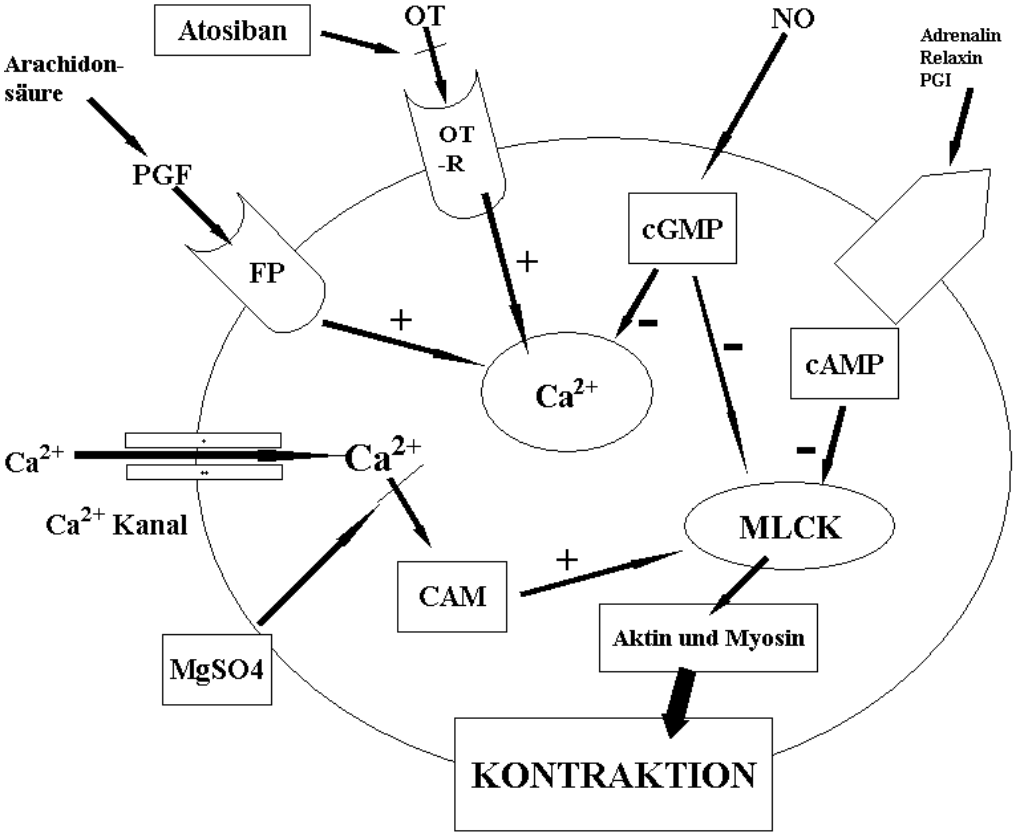

Abbildung XIII: Das Aktin-Myosin-System und seine Regulatoren [114]

4.2.2 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Atosiban

Vorangegangene Arbeiten von Riesenkampff und von Dehn [55, 56] haben bereits die hemmende Wirkung von Atosiban auf das humane Myometrium sowie die Dosisabhängigkeit der Wirkung gezeigt.

Bossmar und Mitarbeiter [115] untersuchten 1994 als erste die Wirkung von Atosiban an humanem graviden Myometrium in Bezug auf Rezeptordichte und Kontraktionsverhalten. Dabei wurde das Myometrium mit Oxytocin oder Vasopressin stimuliert. 1995 veröffentlichten Akerlund und Mitarbeiter [116] eine Studie, in der die in vitro-Wirkung dreier verschiedener Oxytocinanaloga untersucht wurde. Das Myometrium stammte dabei sowohl von schwangeren als auch von nichtschwangeren Frauen. Die Stimulation erfolgte mit 1 µg Oxytocin/ml. Dabei stellte sich Atosiban als das wirksamste antagonistische Agens ohne agonistische Aktivität heraus. Es wurden Konzentrationen zwischen 0,04 und 5 µg/ml (40 ng/ml und 5000 ng/ml) untersucht. Die hemmende Wirkung war konzentrationsabhängig und lag zwischen 38 und 57%. In der Arbeit von Riesenkampff et al. wurden Konzentrationen zwischen 100 ng/ml und 50000 ng/ml Atosiban getestet. Auch hier zeigte sich eine Konzentrationsabhängigkeit der Wirkung.

Die prozentuale Hemmung lag jedoch mit 61 bis 78% deutlich höher. In beiden Untersuchungen erfolgte die Stimulation des Myometriums mit Oxytocin, allerdings in unterschiedlichen Konzentrationen. Dies könnte eine Erklärung für die Differenzen in der Wirkstärke sein. Wir wählten die Studien-Konzentrationen im Bereich der therapeutischen Plasma-Konzentration, die sich bei Anwendung des vom Hersteller empfohlenen Schemas bei der tokolytischen Standard-Therapie ergibt. Entsprechend wurde Atosiban in der hier vorliegenden Arbeit in drei verschiedenen Konzentrationen, die sich an der durchschnittlichen therapeutischen Plasma-Konzentration von knapp 500 ng/ml orientierten (halbe therapeutische Plasma-Konzentration 250 ng/ml, therapeutische Plasma-Konzentration 500 ng/ml und doppelte Plasma-Konzentration 1000 ng/ml) verwendet. Diese Konzentrationen bewirkten auch in-vitro eine ausreichende Hemmung des Myometriums, wie bereits vorhergehenden Arbeiten der Arbeitsgruppe [55, 56] gezeigt hatten. Dabei ergab sich eine Kontraktionshemmung von 70%, 76% und 70%, wobei die Unterschiede in den Dosierungen nicht signifikant waren. Alle getesteten Konzentrationen lagen im Bereich der therapeutischen Plasmakonzentration. Das Ergebnis dieser Studie ist also auch als weitere Einengung dieses Bereiches zu sehen, da auch eine höhere Dosierung keine stärkere Hemmung bewirkte.

Eine gezielte Untersuchung der Atosibanwirkung auf Spontankontraktionen ohne zusätzliche Stimulation wie in dieser Arbeit wurde bisher kaum durchgeführt. Diese Fragestellung ist jedoch von besonderem Interesse, da die Hemmung von oxytocinstimulierten Kontraktionen durch einen Oxytocin-Antagonisten zu erwarten ist. Die Hemmung von Spontankontraktionen durch einen Oxytocin-Antagonisten ist jedoch überraschend. Daraus ergibt sich die Frage, ob Atosiban möglicherweise nicht nur durch eine Blockade des Oxytocin-Rezeptors wirkt, sondern auch über einen zweiten Mechanismus eine relaxierende Wirkung erzielt. Wilson et al untersuchten in ihrer in-vitro Studie die Wirkung von Atosiban und dem spezifischeren und selektiveren Oxytocin-Rezeptor-Antagonisten L371, 257 auf spontane Kontraktionen an Myometriumstreifen. Dabei konnten sie eine Inhibition der Oxytocin-Rezeptor-Aktivität beobachten. Dieses Ergebnis führte zur Hypothese der konstitutiven Aktivierung des Rezeptors, also eine Aktivierung ohne Vorliegen von Oxytocin. Atosiban und L-371,257 wirken damit als inverse Agonisten. Diese Hypothese wäre eine mögliche Erklärung für die kontraktionshemmende Wirkung von Atosiban auf Spontankontraktionen dar. Die Spontankontraktionen scheinen aber nicht ausschließlich über die konstitutive Rezeptoraktivierung ausgelöst zu werden, sonst wäre wiederum eine effektivere Hemmung durch Atosiban zu erwarten.

Sollte sich die Hypothese von Atosiban als inversem Agonisten bestätigen, wäre dies von besonderer Bedeutung, da sie neue therapeutische Einsatzgebiete eröffnet, beispielsweise die Dysmenorrhoe oder zur Vorbehandlung des Uterus bei der IVF.

4.2.3 in-vitro Versuche an humanem Myometrium mit Medikamentenkombinationen

Bei der Dosierung eines Medikamentes sind allgemein zwei Punkte von wesentlicher Bedeutung. Zum einen die erwünschte Wirkung, zum anderen die Nebenwirkungen. Die optimale Dosierung ergibt sich somit aus der besten Wirkung verbunden mit einer tolerierbaren Nebenwirkung. Bei der Tokolyse ist dies umso mehr von Bedeutung, da Mutter und Kind betroffen sind. Mit Beginn der medikamentösen Tokolyse stellte sich damit immer wieder zusätzlich zur Wahl des Medikamentes das Problem der richtigen Dosierung.

Von der Kombination verschiedener Tokolytika verspricht man sich zwei mögliche Vorteile: Erstens eine bessere Wirksamkeit und dadurch die Möglichkeit der Dosisreduktion der Medikamente und zweitens eine günstige Beeinflussung des Nebenwirkungsspektrums.

In den letzten Jahren wurden insbesondere die ß-Mimetika wie Fenoterol oder Ritodrine zur Tokolyse verwendet. Die Kombination von ß-Mimetikum und Magnesium ist seit den 80er Jahren häufig verwendet und klinisch untersucht worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind allerdings sehr variabel. Während Wischnik et al. [69] und Spätling et al. [117] in ihren Untersuchungen 1982 und 1984 zwar keinen synergistischen Effekt, aber eine Kardioprotektion durch Magnesium beschrieben, zeigte sich in der Arbeit von Fergueson et al [42] nicht nur ein fehlender Synergismus, sondern auch eine Zunahme der Nebenwirkungen. Einen Einfluss des Magnesiums auf die metabolischen Veränderungen unter Ritodrine-Tokolyse (z. B. Kalium, Glukose, Harnstoff oder Hämatokrit) konnte er jedoch nicht nachweisen [118]. Hatijis et al. [119] und Kosasa et al. [120] beschreiben in ihren Studien die Kombination eines ß-Mimetikums mit Magnesium als gute und sichere Methode, ohne eine erhöhte Anzahl an Lungenödemen zu beobachten, wie dies in der Studie von Ogburn et al. [121] der Fall war.

Atosiban als neues Tokolytikum, das durch die geringeren Nebenwirkungen künftig anstelle des Fenoterols verwendet werden könnte, ist bisher nicht in Kombination mit Magnesium getestet worden. Für die vorliegende Arbeit war also nicht nur die Frage nach der alleinigen Wirkung des Magnesiums von Interesse, sondern insbesondere auch die Möglichkeit einer zusätzlich verbesserten Therapie durch die Kombination von Magnesium und Atosiban. Die Ergebnisse zeigen zwar keinen Vorteil bei Verwendung einer Kombination von Atosiban und Magnesium hinsichtlich einer möglichen Dosisreduktion bei gleicher Effektivität. Auch wenn in den in-vitro Versuchen kein Vorteil einer Kombination gezeigt werden konnte, muss dieses Ergebnis in-vivo

nicht unbedingt genauso ausfallen. In der Arbeit von Kajikawa et al. [122] beispielsweise zeigte sich in der Kombination von Magnesium und UTI (urinary trypsin inhibitor) in-vitro kein Vorteil, in-vivo konnte jedoch ein deutlicher synergistischer Effekt beobachtet werden.
Atosiban ist bisher nur bei in-vitro Tierversuchen in Kombination mit Ritodrine getestet worden. Eine Studie von Doret et. al. [123] konnte dabei einen synergistischen Effekt und die damit verbundene Möglichkeit der Dosisreduktion demonstrieren. Ein Ergebnis, dass weitere Untersuchungen in dieser Richtung sinnvoll erscheinen lässt. Zudem bleibt das Argument bestehen, dass anders als in den vorliegenden in-vitro-Versuchen, Wehen nicht immer nur eine Ursache haben, so dass es durchaus denkbar ist, dass die kombinierte Gabe von mehreren Medikamenten ein besseres Ergebnis in der Frühgeburtsvermeidung hat. Insbesondere Atosiban und Magnesium, die auf verschiedenen Ebenen der Kontraktionskaskade eingreifen und beide sehr gut verträglich sind, bieten sich für eine Kombinationstherapie an, die nach unseren Studienergebnissen allein schon deshalb sinnvoll ist, weil Atosiban stärker bei oytoxin-induzierten- und Magnesium stärker bei spontanen Kontraktionen wirkte. Vorzeitige Wehentätigkeit in vivo ist ein multifaktorielles Geschehen, eine „multifaktorielle Therapie“ bietet also auch die besten Chancen auf Erfolg. Ob dabei zusätzlich eine Dosisreduktion der einzelnen Medikamente möglich ist, ist eine andere Frage.
Aber nicht nur die einfache Kombinationstherapie sollte weiter untersucht werden. Eine weitere Möglichkeit wäre zum Beispiel eine sequentielle Medikamentengabe als Therapieform, da dadurch gegebenenfalls auftretende Unverträglichkeiten bei Kombinationsgabe vermieden werden könnten und dennoch eine effektivere Therapie durch die multifaktorielle Vorgehensweise denkbar ist.

4.3 Übertragbarkeit auf klinische Anwendung

Die vorliegende Arbeit betrifft in-vitro Untersuchungen. Eine in-vivo Übertragung ist nicht ohne weiteres möglich, da viele Faktoren Einfluss nehmen. Immerhin könnte diese in-vitro Studie als Wegweiser verwendet werden. Sowohl Atosiban als auch Magnesium werden bereits in der Klinik verwendet, Magnesium allerdings im Gegensatz zu Atosiban nicht mehr so häufig als Tokolytikum. Zwischenzeitlich deuteten Studien, die erst nach Abschluss des experimentellen Teils der Arbeit vorlagen, bei i.v. Gabe von hochdosiertem Magnesium auf eine Gefährdung des Kindes hin [77]. Eine aktuelle Metaanalyse zu diesem Thema zeigte hingegen eher Hinweise für eine Neuroprotektion des Kindes durch Magnesiumgabe [79, 80]. Erste Studien zum klinischen Einsatz von Atosiban zeigten gute Ergebnisse hinsichtlich der Effektivität bei deutlich weniger Komplikationen durch Nebenwirkungen im Vergleich zu Fenoterol [124]. Auch die europaweit

angelegte, multizentrische, randomisierte und vergleichende TREASURE-Studie bestätigte eine gute Effektivität von Atosiban bei geringem Nebenwirkungsspektrum [125].
Zusammenfassend lässt sich für beide Medikamente eine gute in-vitro-Wirkung feststellen, die den in-vivo-Einsatz als Tokolytikum bestätigt und weitere Untersuchungen vor allem hinsichtlich der Kombination beider Medikamente rechtfertigt

4.4 Ausblick

Die Anwendungsmöglichkeiten und Vorgehensweisen bei Atosibangabe sollten weiter untersucht werden. Mit der vorliegenden Arbeit ist nun wiederholt auch die Wirkung von Atosiban auf Spontankontraktionen demonstriert worden. Daraus ergeben sich neue Einsatzmöglichkeiten. Die Ergebnisse dieser Arbeit geben Anlass zur Hoffnung, dass Atosiban auch in früheren Schwangerschaftswochen, in denen die Oxytocinrezeptoren noch nicht in dem Maße zur Ausprägung gekommen sind, beispielsweise zur Durchführung der Lungenreifeinduktion bei vorzeitigem Blasensprung genutzt werden könnte.
Der wichtigste Aspekt dieser Arbeit und damit auch von zentraler Bedeutung für weiterführende Studien, ist jedoch der Versuch einer Wirkungsverbesserung durch die Kombination mit verschiedenen Medikamenten. Wenn man von der Vielschichtigkeit der Wehenentstehung ausgeht, erscheint es nur logisch, eine Wehenhemmung auf mehreren Ebenen anzustreben. Bei deutlich höheren Kosten von Atosiban im Vergleich zu Fenoterol stellt sich zudem die Frage einer möglichen Kostenreduzierung durch mögliche Kombinationen mit anderen Medikamenten und dadurch denkbare Dosisreduktionen. Des Weiteren ist ein Medikament als Standard-Patentlösung für jede Art vorzeitiger Wehen eher unwahrscheinlich, so dass grundsätzlich in der klinischen Anwendung bei jeder Patientin nach weiteren Medikamenten als Therapiealternative gesucht werden sollte.
Die Ergebnisse der Versuche mit Spontankontraktionen und Magnesium sind deutlich schwerer auf die Klinik zu übertragen. Nach den aktuellen Studien, die auf eine potentiell neuroprotective Wirkung des Magnesiums hinweisen ist der Einsatz von Magnesium bei drohender Frühgeburt aus anderen Gründen wieder mehr ins Interesse gerückt [79, 80]. Eine erneute Evaluation des Einsatzes als Tokolytikum erscheint daher sinnvoll.
Ein anderer interessanter Aspekt, der sich aus der vorliegenden Arbeit ergibt, ist der mögliche Einsatz im gynäkologischen Bereich, beispielsweise bei der Therapie der Dysmenorrhoe, wobei eine derartige Anwendung das Problem der Applikation aufwirft, da kontraktionshemmende Dosen von Magnesium bei oraler Einnahme kaum erreichen lassen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit sollte die Wirkung von Atosiban und Magnesium auf das humane Myometrium von Schwangeren untersuchen sowie die Kombination beider Medikamente.

Die Versuche erfolgten an 2x2x10 mm großen Streifen von humanem Myometrium, das bei primären Sectiones in der Nähe des Entbindungstermins aus dem unteren Uterinsegment gewonnen wurde. Getestet wurden drei verschiedene Atosibankonzentrationen, zwei Magnesiumkonzentrationen und vier Kombinationen von Magnesium und Atosiban mit und ohne Oxytocinstimulation.

Die Myometriumproben stammten von 37 Patientinnen, Da nicht alle Myometrium-Proben geeignet waren, d.h. spontane regelmäßige Kontraktionen zeigten, konnten in die endgültige Auswertung schließlich Proben von 30 Patientinnen miteinbezogen werden, von denen an 101 Streifen insgesamt 271 Messungen durchgeführt wurden. Die Medikamentenwirkung berechnete sich aus der Fläche unter der Kontraktionskurve vor und nach Medikamentengabe.

Atosiban hemmte bereits in der niedrigsten Dosierung (250 ng/ml) die oxytocinstimulierten Kontraktionen besser als Magnesium. Eine Wirkungssteigerung durch Kombination beider Medikamente zeigte sich nicht.

Bei den Versuchen mit Spontankontraktionen hingegen zeigte sich eine signifikant stärkere Kontraktionshemmung durch Magnesium. Auch hier ließ sich durch die Gabe beider Medikamente in Kombination kein Vorteil feststellen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Atosiban eine signifikant stärkere Hemmung Oxytocin-induzierter Wehen an menschlichem Myometrium in-vitro ermöglicht als Magnesium, das die spontanen Kontraktionen menschlichen Myometriums in-vitro besser hemmt.

Eine Kombination beider Medikamente zeigte weder bei Oxytocin-induzierten noch bei spontanen Kontraktionen eine verbesserte Wirksamkeit. Dennoch könnte eine Kombination beider Medikamente in der klinischen Anwendung nicht zuletzt deswegen sinnvoll sein, weil die Ursache der vorzeitigen Wehentätigkeit häufig multifaktoriell ist.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildungen		Seite
I	Strukturformeln von Oxytocin und Atosiban	17
II	Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus	25
III	schematischer Versuchsablauf mit Spontankontraktionen	29
IV	schematischer Versuchsablauf mit Oxytocinstimulation	30
V	Beispiel Kontraktionskurve unter Oxytocinwirkung	36
VI	Beispiel Kontraktionskurve untzer Atosibanwirkung	37
VII	Beispiel Kontraktionskurve unter Oxytocinwirkung II	38
VIII	Beispiel Kontraktionskurve unter Magnesiumwirkung	38
IX	Restkontraktionen bei Versuchen mit Oxytocinstimulation in Prozent	40
X	Beispiel einer Kontraktionskurve unter Atosibangabe	42
XI	Beispiel einer Kontraktionskurve unter Magnesiumgabe	43
XII	Restkontraktionen bei Versuchen mit Spontankontraktionen in Prozent	45
XIII	Das Aktin-Myosin-System und seine Regulatoren	49
Tabellen		
I	bekannte Nebenwirkungen von Magnesium	15
II	Nebenwirkungen von Atosiban	19
III	Pufferzusammensetzung	26
IV	Messphasen in Oxytocinversuchen	31
V	Messphasen in Versuchen mit Spontankontraktionen	31
VI	Verteilung der Streifen auf Versuche mit und ohne Oxytocinstimulation	35
VII	Restkontraktionswerte in Oxytocinversuchen	39
VIII	Ergebnisse beim Vergleich der Medikamente gegeneinander	41
IX	Restkontraktionen nach Gabe von Atosiban und Magnesium im Detail	44
X	Ergebnisse beim Vergleich der Medikamente bei Versuchen mit Spontanaktivität	45

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Ausgangsaktivität
Aqua dest.	Aqua destillata
AUC	area under the curve
Ca^{2+}	Calcium
CAM	Calcium-Calmodulin
Fa.	Firma
FP	PGF-Rezeptor
HIV	Human Defiecency Virus
i.v.	Intra venös
MgSO4	Magnesiumsulfat
MLCK	Myosin-light-chain-Kinase
n.s.	Nicht signifikant
NO	Stickstoffmonoxid
OT	Oxytocin
OTR	Oxytocinrezeptor
PC	Personal Computer
PGF	Prostaglandin F
R	Restaktivität
RF	Referenzaktivität

LITERATURVERZEICHNIS

1. **Ventura, S.J., et al.,** ***Births: final data for 1999.*** **Natl Vital Stat Rep, 2001. 49(1): p. 1-100.**
2. **Saling, E., M. Schreiber, and T. al-Taie,** ***A simple, efficient and inexpensive program for preventing prematurity.*** **J Perinat Med, 2001. 29(3): p. 199-211.**
3. **McCormick, M.C.,** ***The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity.*** **N Engl J Med, 1985. 312(2): p. 82-90.**
4. **Mestman, J.H., P.R. Manning, and J. Hodgman,** ***Hyperthyroidism and pregnancy.*** **Arch Intern Med, 1974. 134(3): p. 434-9.**
5. **Craig, C.J.,** ***Congenital abnormalities of the uterus and foetal wastage.*** **S Afr Med J, 1973. 47(42): p. 2000-5.**
6. **Donnelly, J.F., et al.,** ***Maternal, Fetal, and Environmental Factors in Prematurity.*** **Am J Obstet Gynecol, 1964. 88: p. 918-31.**
7. **Arias, F. and P. Tomich,** ***Etiology and outcome of low birth weight and preterm infants.*** **Obstet Gynecol, 1982. 60(3): p. 277-81.**
8. **Dale, H.H.,** ***On some physiological actions of ergotamin.*** **J. Physiol., 1906. 34: p. 163-166.**
9. **Blair-Bell, W.,** ***The pituitary body and the therapeutic value of the infundibular extract in shock, uterine atony, and intestinal paresis.*** **Br. Med. J., 1909. 2: p. 1609-1909.**
10. **Miller, F.D., R. Chibbar, and B.F. Mitchell,** ***Synthesis of oxytocin in amnion, chorion and decidua: a potential paracrine role for oxytocin in the onset of human parturition.*** **Regul Pept, 1993. 45(1-2): p. 247-51.**
11. **Kimura, T., et al.,** ***Structure and expression of a human oxytocin receptor.*** **Nature, 1992. 356(6369): p. 526-9.**
12. **Maher, E., et al.,** ***Endothelin- and oxytocin-induced calcium signaling in cultured human myometrial cells.*** **J Clin Invest, 1991. 87(4): p. 1251-8.**
13. **Dawood, M.Y.,** ***Oxytocin in Human Pregnancy and Parturition.*** **Obstetrics and Gynecology, 1978. 51(2): p. 138-143.**
14. **Chard, T., et al.,** ***The development of a radioimmunoassay for oxytocin: the extraction of oxytocin from plasma, and its measurement during parturition in human and goat blood.*** **J Endocrinol, 1970. 48(2): p. 223-34.**
15. **Gibbens, D., N.R. Boyd, and T. Chard,** ***Spurt release of oxytocin during human labour.*** **J Endocrinol, 1972. 53(3): p. liv-lv.**
16. **Kumaresan, P., et al.,** ***Oxytocin in maternal and fetal blood.*** **Obstet Gynecol, 1975. 46(3): p. 272-4.**
17. **Sakamoto, H., et al.,** ***Study of oxytocin receptor in human myometrium using highly specific 3H-labeled oxytocin.*** **Endocrinol Jpn, 1979. 26(4): p. 515-22.**
18. **Fuchs, A.R., et al.,** ***Oxytocin receptors in the human uterus during pregnancy and parturition.*** **Am J Obstet Gynecol, 1984. 150(6): p. 734-41.**
19. **Koffler, E.,** ***Die Bedeutung der Oxytocinempfindlichkeit für den spontanen Wehenbeginn beim Menschen.*** **Geburtshilfe Frauenheilkd, 1983. 43: p. 553-537.**
20. **Fuchs, A.R., et al.,** ***Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labor.*** **Science, 1982. 215(4538): p. 1396-8.**
21. **Andersen, L.F., et al.,** ***Oxytocin receptor blockade: a new principle in the treatment of preterm labor?*** **Am J Perinatol, 1989. 6(2): p. 196-9.**
22. **Lefebvre, D.L., et al.,** ***Oxytocin gene expression in rat uterus.*** **Science, 1992. 256(5063): p. 1553-5.**
23. **Lefebvre, D.L., A. Giaid, and H.H. Zingg,** ***Expression of the oxytocin gene in rat placenta.*** **Endocrinology, 1992. 130(3): p. 1185-92.**

24. **Bennett, P.R., et al.,** ***Mechanisms of parturition: the transfer of prostaglandin E2 and 5-hydroxyeicosatetraenoic acid across fetal membranes.*** **Am J Obstet Gynecol, 1990. 162(3): p. 683-7.**
25. **Gibb, W.,** ***The role of prostaglandins in human parturition.*** **Ann Med, 1998. 30(3): p. 235-41.**
26. **Curatulo, G.E.,** ***Die Kunst der Juno Lucina in Rom. Geschichte der Geburtshilfe von ihren ersten Anfängen bis zum 20. Jahrhundert.*** **1902: p. 64-66.**
27. **Ovid,** ***Metamorphosen, Galanthis.*** **p. 9.283.**
28. **Wagner, G. and A.R. Fuchs,** ***Effect of ethanol on uterine activity during suckling in post-partum women.*** **Acta Endocrinol (Copenh), 1968. 58(1): p. 133-41.**
29. **Fuchs, F., et al.,** ***Effect of alcohol on threatened premature labor.*** **Am J Obstet Gynecol, 1967. 99(5): p. 627-37.**
30. **Mantell, C.D. and G.C. Liggins,** ***The effect of ethanol on the myometrial response to oxytocin in women at term.*** **J Obstet Gynaecol Br Commonw, 1970. 77(11): p. 976-81.**
31. **Steer, C.M. and R.H. Petrie,** ***A comparison of magnesium sulfate and alcohol for the prevention of premature labor.*** **Am J Obstet Gynecol, 1977. 129(1): p. 1-4.**
32. **Lauersen, N.H., et al.,** ***Inhibition of premature labor: a multicenter comparison of ritodrine and ethanol.*** **Am J Obstet Gynecol, 1977. 127(8): p. 837-45.**
33. **Caritis, S.N., D.I. Edelstone, and E. Mueller-Heubach,** ***Pharmacologic inhibition of preterm labor.*** **Am J Obstet Gynecol, 1979. 133(5): p. 557-78.**
34. **Niebyl, J.R., et al.,** ***The inhibition of premature labor with indomethacin.*** **Am J Obstet Gynecol, 1980. 136(8): p. 1014-9.**
35. **Zuckerman, H., et al.,** ***Further study of the inhibition of premature labor by indomethacin. Part II double-blind study.*** **J Perinat Med, 1984. 12(1): p. 25-9.**
36. **Norton, M.E., et al.,** ***Neonatal complications after the administration of indomethacin for preterm labor.*** **N Engl J Med, 1993. 329(22): p. 1602-7.**
37. **Major, C.A., et al.,** ***Tocolysis with indomethacin increases the incidence of necrotizing enterocolitis in the low-birth-weight neonate.*** **Am J Obstet Gynecol, 1994. 170(1 Pt 1): p. 102-6.**
38. **Eronen, M., et al.,** ***Increased incidence of bronchopulmonary dysplasia after antenatal administration of indomethacin to prevent preterm labor.*** **J Pediatr, 1994. 124(5 Pt 1): p. 782-8.**
39. **Morales, W.J. and H. Madhav,** ***Efficacy and safety of indomethacin compared with magnesium sulfate in the management of preterm labor: a randomized study.*** **Am J Obstet Gynecol, 1993. 169(1): p. 97-102.**
40. **Lewis, D.F., et al.,** ***A comparison of magnesium sulfate and indomethacin to magnesium sulfate only for tocolysis in preterm labor with advanced cervical dilation.*** **South Med J, 1995. 88(7): p. 737-40.**
41. **Hill, W.C.,** ***Risks and complications of tocolysis.*** **Clin Obstet Gynecol, 1995. 38(4): p. 725-45.**
42. **Ferguson, J.E., 2nd, P.A. Hensleigh, and D. Kredenster,** ***Adjunctive use of magnesium sulfate with ritodrine for preterm labor tocolysis.*** **Am J Obstet Gynecol, 1984. 148(2): p. 166-71.**
43. **Glock, J.L. and W.J. Morales,** ***Efficacy and safety of nifedipine versus magnesium sulfate in the management of preterm labor: a randomized study.*** **Am J Obstet Gynecol, 1993. 169(4): p. 960-4.**
44. **Smith, L.G., Jr., P.A. Burns, and R.J. Schanler,** ***Calcium homeostasis in pregnant women receiving long-term magnesium sulfate therapy for preterm labor.*** **Am J Obstet Gynecol, 1992. 167(1): p. 45-51.**

45. Sawaya, G.F. and P.A. Robertson, *Hepatotoxicity with the administration of nifedipine for treatment of preterm labor.* Am J Obstet Gynecol, 1992. 167(2): p. 512-3.
46. Snyder, S.W. and M.S. Cardwell, *Neuromuscular blockade with magnesium sulfate and nifedipine.* Am J Obstet Gynecol, 1989. 161(1): p. 35-6.
47. Holbrook, R.H., Jr., *Effects of calcium antagonists during pregnancy.* Am J Obstet Gynecol, 1989. 160(4): p. 1018-9.
48. Parisi, V.M., J. Salinas, and E.J. Stockmar, *Fetal vascular responses to maternal nicardipine administration in the hypertensive ewe.* Am J Obstet Gynecol, 1989. 161(4): p. 1035-9.
49. Leonardi, M.R. and G.D. Hankins, *What's new in tocolytics.* Clin Perinatol, 1992. 19(2): p. 367-84.
50. Hanretty, K.P., et al., *Effect of nifedipine on Doppler flow velocity waveforms in severe pre-eclampsia.* Bmj, 1989. 299(6709): p. 1205-6.
51. Mari, G., et al., *Doppler assessment of the fetal and uteroplacental circulation during nifedipine therapy for preterm labor.* Am J Obstet Gynecol, 1989. 161(6 Pt 1): p. 1514-8.
52. Rucker, M.P., *The action of adrenalin on the pregnant human uterus.* South. Med. J., 1925. 18: p. 412.
53. Hankins, G.D., T.L. Hammond, and E.R. Yeomans, *Amniotic cavity accumulation of magnesium with prolonged magnesium sulfate tocolysis.* J Reprod Med, 1991. 36(6): p. 446-9.
54. Buscher, U., et al., *Effects of oxytocin receptor antagonist atosiban on pregnant myometrium in vitro.* Obstet Gynecol, 2001. 98(1): p. 117-21.
55. Dehn, D.v., *Vergleichende in vitro-Studie zur kontraktionshemmenden Wirkung von Atosiban versus Ritodrine am Myometrium schwangerer Frauen,*, in *Klinik für Geburtsmedizin*. 2005, Charité, Universitätsmedizin Berlin: Berlin.
56. Riesenkampff, E., *In-vitro-Wirkung des Oxytocin-Antagonisten Atosiban auf das Kontraktionsverhalten von humanem Myometrium schwangerer Frauen,*, in *Klinik für Geburtsmedizin*. 2002, Charité, Universitätsmedizin Berlin: Berlin.
57. Gordon, M.C. and J.D. Iams, *Magnesium sulfate.* Clin Obstet Gynecol, 1995. 38(4): p. 706-12.
58. Van Dyke H.B., H.A.B., American Journal of Physiology, 1928. 83: p. 563.
59. Hall, D.G., et al., *The effects of magnesium therapy on the duration of labor.* Am J Obstet Gynecol, 1959. 78(1): p. 27-32.
60. Kumar, D., P.A. Zourlas, and A.C. Barnes, *In Vitro and in Vivo Effects of Magnesium Sulfate on Human Uterine Contractility.* Am J Obstet Gynecol, 1963. 86: p. 1036-40.
61. Rusu, O., *Magnesiuvl serie in sarcina normala la termen si nasterea prematura. Rolvl magnesiterapiei in combatera nasterii premature.* Obstet. Ginecol., 1966. 14: p. 215.
62. Kiss, D. and B. Szoke, *Rolle des Magnesiums bei der Verhütung der Frühgeburt.* Zentralbl Gynakol, 1975. 97(15): p. 924-7.
63. Spatling, L., *Orale Magnesiumzusatztherapie bei vorzeitiger Wehentätigkeit.* Geburtshilfe Frauenheilkd, 1981. 41(2): p. 101-2.
64. Petrie, R.H., *Preterm parturition. Tocolysis using magnesium sulfate.* Semin Perinatol, 1981. 5(3): p. 266-73.
65. Spisso, K.R., G.M. Harbert, Jr., and S. Thiagarajah, *The use of magnesium sulfate as the primary tocolytic agent to prevent premature delivery.* Am J Obstet Gynecol, 1982. 142(7): p. 840-5.

66. Elliott, J.P., *Magnesium sulfate as a tocolytic agent.* Am J Obstet Gynecol, 1983. 147(3): p. 277-84.
67. Conradt, A., H. Weidinger, and H. Algayer, *Magnesium therapy decreased the rate of intrauterine fetal retardation, premature rupture of membranes and premature delivery in risk pregnancies treated with betamimetics.* Magnesium, 1985. 4(1): p. 20-8.
68. Classen, H.G. and J. Helbig, *Magnesiumtherapie in der Schwangerschaft.* Fortschr Med, 1984. 102(34): p. 841-4.
69. Wischnik, A., et al., *Magnesium-aspartat als Kardioprotectivum und Adjuvans bei Tokolyse mit Betamimetika.* Z Geburtshilfe Perinatol, 1982. 186(6): p. 326-34.
70. Terrone, D.A., et al., *A prospective, randomized, controlled trial of high and low maintenance doses of magnesium sulfate for acute tocolysis.* Am J Obstet Gynecol, 2000. 182(6): p. 1477-82.
71. Elliott, J.P. and T.G. Radin, *Serum magnesium levels during magnesium sulfate tocolysis in high-order multiple gestations.* J Reprod Med, 1995. 40(6): p. 450-2.
72. Cox, S.M., M.L. Sherman, and K.J. Leveno, *Randomized investigation of magnesium sulfate for prevention of preterm birth.* Am J Obstet Gynecol, 1990. 163(3): p. 767-72.
73. Higby, K., E.M. Xenakis, and C.J. Pauerstein, *Do tocolytic agents stop preterm labor? A critical and comprehensive review of efficacy and safety.* Am J Obstet Gynecol, 1993. 168(4): p. 1247-56; discussion 1256-9.
74. Akoury, H.A., et al., *Failure of magnesium sulfate infusion to inhibit uterine activity in pregnant sheep.* Am J Obstet Gynecol, 1997. 177(1): p. 185-9.
75. Grether, J.K., et al., *Magnesium sulfate tocolysis and risk of neonatal death.* Am J Obstet Gynecol, 1998. 178(1 Pt 1): p. 1-6.
76. Grether, J.K., et al., *Magnesium sulfate for tocolysis and risk of spastic cerebral palsy in premature children born to women without preeclampsia.* Am J Obstet Gynecol, 2000. 183(3): p. 717-25.
77. Mittendorf, R., et al., *Association between the use of antenatal magnesium sulfate in preterm labor and adverse health outcomes in infants.* Am J Obstet Gynecol, 2002. 186(6): p. 1111-8.
78. Rouse, D.J., et al., *A randomized, controlled trial of magnesium sulfate for the prevention of cerebral palsy.* N Engl J Med, 2008. 359(9): p. 895-905.
79. Conde-Agudelo, A. and R. Romero, *Antenatal magnesium sulfate for the prevention of cerebral palsy in preterm infants less than 34 weeks' gestation: a systematic review and metaanalysis.* Am J Obstet Gynecol, 2009. 200(6): p. 595-609.
80. Neubauer, K., *Kindliche Neuroprotektion durch Magnesiumsulfat bei drohender Frühgeburt.* Frauenarzt, 2011. 01: p. 34-38.
81. Lemancewicz, A., et al., *Permeability of fetal membranes to calcium and magnesium: possible role in preterm labour.* Hum Reprod, 2000. 15(9): p. 2018-22.
82. Marshall, J.M., *calcium and uterine smooth muscle membrane potentials.* Muscle, 1965: p. 229.
83. Sperelakis, N., Y. Inoue, and Y. Ohya, *Fast Na+ channels and slow Ca2+ current in smooth muscle from pregnant rat uterus.* Mol Cell Biochem, 1992. 114(1-2): p. 79-89.
84. Popper, L.D., S.C. Batra, and M. Akerlund, *The effect of magnesium on calcium uptake and contractility in the human myometrium.* Gynecol Obstet Invest, 1989. 28(2): p. 78-81.
85. Mizuki, J., et al., *Magnesium sulfate inhibits oxytocin-induced calcium mobilization in human puerperal myometrial cells: possible involvement of intracellular free magnesium concentration.* Am J Obstet Gynecol, 1993. 169(1): p. 134-9.
86. Phillippe, M., *Cellular mechanisms underlying magnesium sulfate inhibition of phasic myometrial contractions.* Biochem Biophys Res Commun, 1998. 252(2): p. 502-7.

87. Harbert, G.M., Jr., G.W. Cornell, and W.N. Thornton, Jr., *Effect of toxemia therapy on uterine dynamics.* Am J Obstet Gynecol, 1969. 105(1): p. 94-104.
88. Hollander, D.I., D.A. Nagey, and M.J. Pupkin, *Magnesium sulfate and ritodrine hydrochloride: a randomized comparison.* Am J Obstet Gynecol, 1987. 156(3): p. 631-7.
89. Madden, C., J. Owen, and J.C. Hauth, *Magnesium tocolysis: serum levels versus success.* Am J Obstet Gynecol, 1990. 162(5): p. 1177-80.
90. Jaspers, V., et al., *Magnesium, Kalzium, Hämoglobin, Hämatokrit, Östriol und HPL unter Magnesiumsubstitution in der Schwangerschaft.* Geburtshilfe Frauenheilkd, 1990. 50(8): p. 628-33.
91. Taber, E.B., et al., *Pharmacokinetics of ionized versus total magnesium in subjects with preterm labor and preeclampsia.* Am J Obstet Gynecol, 2002. 186(5): p. 1017-21.
92. Catanzarite, V.A., et al., *Respiratory arrest during therapy for premature labor in a patient with myasthenia gravis.* Obstet Gynecol, 1984. 64(6): p. 819-22.
93. Cholst, I.N., et al., *The influence of hypermagnesemia on serum calcium and parathyroid hormone levels in human subjects.* N Engl J Med, 1984. 310(19): p. 1221-5.
94. Cruikshank, D.P., et al., *Urinary magnesium, calcium, and phosphate excretion during magnesium sulfate infusion.* Obstet Gynecol, 1981. 58(4): p. 430-4.
95. Holcomb, W.L., Jr., G.D. Shackelford, and R.H. Petrie, *Magnesium tocolysis and neonatal bone abnormalities: a controlled study.* Obstet Gynecol, 1991. 78(4): p. 611-4.
96. Lamm, C.I., et al., *Congenital rickets associated with magnesium sulfate infusion for tocolysis.* J Pediatr, 1988. 113(6): p. 1078-82.
97. Hill, W.C., P.J. Gill, and M. Katz, *Maternal paralytic ileus as a complication of magnesium sulfate tocolysis.* Am J Perinatol, 1985. 2(1): p. 47-8.
98. Peaceman, A.M., et al., *The effect of magnesium sulfate tocolysis on the fetal biophysical profile.* Am J Obstet Gynecol, 1989. 161(3): p. 771-4.
99. Gray, S.E., et al., *Effect of intravenous magnesium sulfate on the biophysical profile of the healthy preterm fetus.* Am J Obstet Gynecol, 1994. 170(4): p. 1131-5.
100. Melin, P., et al., *Synthetic antagonists of the myometrial response to vasopressin and oxytocin.* J Endocrinol, 1986. 111(1): p. 125-31.
101. Hahn, D.W., et al., *Evaluation of 1-deamino-[D-Tyr(Oethyl)2, Thr4, Orn8] vasotocin, an oxytocin antagonist, in animal models of uterine contractility and preterm labor: a new tocolytic agent.* Am J Obstet Gynecol, 1987. 157(4 Pt 1): p. 977-82.
102. Akerlund, M., et al., *Vasotocin analogues which competitively inhibit vasopressin stimulated uterine activity in healthy women.* Br J Obstet Gynaecol, 1986. 93(1): p. 22-7.
103. Akerlund, M., et al., *Inhibition of uterine contractions of premature labour with an oxytocin analogue. Results from a pilot study.* Br J Obstet Gynaecol, 1987. 94(11): p. 1040-4.
104. Goodwin, T.M., et al., *The effect of the oxytocin antagonist atosiban on preterm uterine activity in the human.* Am J Obstet Gynecol, 1994. 170(2): p. 474-8.
105. Romero, R., et al., *An oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of preterm labor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue.* Am J Obstet Gynecol, 2000. 182(5): p. 1173-83.
106. Moutquin, J.M., et al., *Double-blind, randomized, controlled trial of atosiban and ritodrine in the treatment of preterm labor: a multicenter effectiveness and safety study.* Am J Obstet Gynecol, 2000. 182(5): p. 1191-9.

107. **Fuchs, A.R., et al.,** ***Oxytocin antagonist (dTVT) and oxytocin receptors in myometrium and decidua.*** **Am J Perinatol, 1989. 6(2): p. 205-8.**
108. **Ryden, G., et al.,** ***Binding of four oxytocin analogues to myometrial oxytocin and arginine-vasopressin binding sites in pregnant women.*** **Gynecol Obstet Invest, 1990. 29(1): p. 6-9.**
109. **Maggi, M., et al.,** ***Antagonists for the human oxytocin receptor: an in vitro study.*** **J Reprod Fertil, 1994. 101(2): p. 345-52.**
110. **Valenzuela, G.J., et al.,** ***Placental passage of the oxytocin antagonist atosiban.*** **Am J Obstet Gynecol, 1995. 172(4 Pt 1): p. 1304-6.**
111. **Valenzuela, G.J., et al.,** ***Maintenance treatment of preterm labor with the oxytocin antagonist atosiban. The Atosiban PTL-098 Study Group.*** **Am J Obstet Gynecol, 2000. 182(5): p. 1184-90.**
112. **Lewis, D.F., et al.,** ***Successful magnesium sulfate tocolysis: is "weaning" the drug necessary?*** **Am J Obstet Gynecol, 1997. 177(4): p. 742-5.**
113. **Kawarabayashi, T., et al.,** ***Modification by magnesium of the excitatory effect of oxytocin in electrical and mechanical activities of pregnant human myometrium.*** **Obstet Gynecol, 1990. 76(2): p. 183-8.**
114. **Challis, J.R.G., et al.,** ***Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm.*** **Endocr Rev, 2000. 21(5): p. 514-50.**
115. **Bossmar, T., et al.,** ***Receptors for and myometrial responses to oxytocin and vasopressin in preterm and term human pregnancy: effects of the oxytocin antagonist atosiban.*** **Am J Obstet Gynecol, 1994. 171(6): p. 1634-42.**
116. **Akerlund, M., P. Melin, and M. Maggi,** ***Potential use of oxytocin and vasopressin V1a antagonists in the treatment of preterm labour and primary dysmenorrhoea.*** **Adv Exp Med Biol, 1995. 395: p. 595-600.**
117. **Spatling, L.,** ***Magnesiumzusatztherapie zur Tokolyse: klinisch-chemische Überwachungsparameter.*** **Geburtshilfe Frauenheilkd, 1984. 44(1): p. 19-24.**
118. **Ferguson, J.E., 2nd, et al.,** ***Adjunctive magnesium sulfate infusion does not alter metabolic changes associated with ritodrine tocolysis.*** **Am J Obstet Gynecol, 1987. 156(1): p. 103-7.**
119. **Hatjis, C.G., et al.,** ***Efficacy of combined administration of magnesium sulfate and ritodrine in the treatment of premature labor.*** **Obstet Gynecol, 1987. 69(3 Pt 1): p. 317-22.**
120. **Kosasa, T.S., et al.,** ***Long-term tocolysis with combined intravenous terbutaline and magnesium sulfate: a 10-year study of 1000 patients.*** **Obstet Gynecol, 1994. 84(3): p. 369-73.**
121. **Ogburn, P.L., Jr., et al.,** ***Magnesium sulfate and beta-mimetic dual-agent tocolysis in preterm labor after single-agent failure.*** **J Reprod Med, 1985. 30(8): p. 583-7.**
122. **Kajikawa, S., et al.,** ***Tocolytic effect of magnesium sulfate and/or urinary trypsin inhibitor against lipopolysaccharide-induced preterm delivery in mice.*** **Acta Obstet Gynecol Scand, 1998. 77(6): p. 598-602.**
123. **Doret, M., et al.,** ***The in vitro effect of dual combinations of ritodrine, nicardipine and atosiban on contractility of pregnant rat myometrium.*** **BJOG, 2003. 110(8): p. 731-4.**
124. **Husslein, P.,** ***Development and clinical experience with the new evidence-based tocolytic atosiban.*** **Acta Obstet Gynecol Scand, 2002. 81(7): p. 633-41.**
125. **Husslein, P., et al.,** ***Clinical practice evaluation of atosiban in preterm labour management in six European countries.*** **BJOG, 2006. 113 Suppl 3: p. 105-10.**

ANHANG

Klinik für Geburtsmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. J.W. Dudenhausen

Tel.: 030 / 450 – 564072

Fax: 030 / 450 – 564901

email: joachim.dudenhausen@charite.de

" In-vitro-Wirkung der Tokolytika Atosiban, Nifedipin, Fenoterol und $MgSO_4$ sowie des Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten Losartan auf die Kontraktilität humanen Myometriums von Schwangeren und Nicht-Schwangeren."

Patientinnen-Aufklärung

Sehr verehrte Patientin,

zur Erforschung der Gründe für vorzeitig oder nicht einsetzende Wehentätigkeit am Ende der Schwangerschaft führen wir im Labor der Klinik für Geburtsmedizin eine Untersuchung auf Initiative und unter der Leitung von Dr. Frank Chen durch, bei der verschiedene wehenhemmend wirksame Medikamente mit unterschiedlichen Wirkungsweisen auf ihre Wirkung an frischem Gebärmuttermuskelgewebe getestet werden. Von all diesen Medikamenten ist bekannt, daß sie Wehen bei Schwangeren zu hemmen vermögen. Die Untersuchung soll dabei einen seit einem Jahr zugelassenen neuen Wirkstoff, das Atosiban gegen das bisher standardmäßig zur Wehenhemmung eingesetzte Fenoterol sowie das Magnesium testen. Zusätzlich in den Vergleich mit einbezogen wird das Nifedipin, das bislang weltweit überwiegend in der Bluthochdruckbehandlung eingesetzt werden, aber auch wehenhemmend wirkt. Ziel der Untersuchung ist es, die verschiedenen Medikamente, die auch verschiedene Wirkungsweisen repräsentieren, gegeneinander zu testen, um herauszufinden, welche dieser Substanzen im Labor am stärksten wehenhemmend wirkt. Zusätzlich wird das Losartan untersucht, ein Blutdruckmedikament, dessen Wirkung gegen Wehen bisläng nicht untersucht ist, aber ein anderes Wirkprinzip darstellt. Da die bisher eingesetzten Medikamente mehr oder weniger starke Nebenwirkungen haben, wäre es wichtig, ob eventuell andere Substanzen mit weniger Nebenwirkungen gleich gut oder sogar stärker Wehen bei Schwangeren hemmen können.
Mit der Entnahme von Gebärmuttergewebe während der Kaiserschnitt-Operation aus dem Bereich des eröffneten Gebärmutterschnittes werden Sie keinerlei zusätzlichem Risiko ausgesetzt. Durch die Entnahme dieses sehr kleinen, 2 x 1,5 x 1,5 cm großen Muskelstückes verlängert sich die Operationszeit nicht, es sind keine Veränderungen im Vorgehen während oder nach der Operation notwendig.
Die Muskelpräparate werden nach der Entnahme kurzzeitig gekühlt aufbewahrt, in kleine Streifen geschnitten und dann im Labor am selben oder am darauffolgenden Tage in die Versuchsapparatur gespannt und dann untersucht, indem die betreffenden Medikamente

dazugegeben und die Wehen dabei beobachtet und gemessen werden. Auf diese Weise können die Medikamente untersucht werden, ohne dass sie an anderen Schwangeren getestet werden müssen. Mit der Entnahme des Gewebes ist die Untersuchung für Sie beendet.

Aufklärung über den Datenschutz

Sofern und soweit Sie darin einwilligen, werden Ihre im Rahmen der o.g. Studie von der Studienärztin/vom Studienarzt erhobenen Daten wie folgt verarbeitet:

Ihr Name, Geschlecht, Geburtsdatum und Ihre Anschrift) werden auf der Einwilligungserklärung vermerkt und anonymsiert elektronisch aufgezeichnet). Diese Angaben bleiben bei der Studienärztin/bei dem Studienarzt.

Die im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Angaben über die Schwangerschaftswoche, in welcher der Kaiserschnitt durchgeführt wurde und der Grund, warum dieser bei Ihnen durchgeführt wurde, sowie Ihr Alter und die Ergebnisse der Untersuchung Ihrer Gewebsprobe, werden von der Studienärztin/dem Studienarzt getrennt von Ihren persönlichen Angaben handschriftlich und/oder elektronisch aufgezeichnet. Ein Rückbezug von der Probe auf Ihre Person ist hierdurch wesentlich erschwert.

Die Ergebnisse der o.g. Studie werden ohne Bezugsmöglichkeit auf Ihre Person voraussichtlich in einer medizinischen Fachzeitschrift veröffentlicht.

Die von Ihnen im Rahmen dieser Studie entnommenen Gewebeproben werden mit einer beim Prüfarzt befindlichen Kennziffer verschlüsselt. Die verschlüsselten Proben werden in einem Labor der Klinik untersucht.

Die im Rahmen der o.g. Untersuchung aufgezeichneten Daten werden 5 Jahre, die in die Krankenakte aufgenommene Information und Einwilligungserklärung 30 Jahre aufbewahrt und danach gelöscht bzw. vernichtet. Die für den Zweck der o.g. Studie entnommenen Proben werden nach ihrer Untersuchung vernichtet.

Sie haben das Recht, Auskunft über die Sie betreffenden aufgezeichneten Angaben und die Ergebnisse Ihrer Untersuchung bzw. Behandlung zu verlangen, soweit dies nicht aus technischen Gründen niemandem mehr möglich ist. Sie können bei unrichtiger Aufzeichnung von Angaben, die Ihre Person betreffen, auch eine Berichtigung dieser Angaben verlangen.
Sollten Sie einer Weiterverarbeitung Ihrer Daten widersprechen, werden keine weiteren Daten über Ihre Person zum Zweck der o.g. Studie erhoben und aufgezeichnet. Die bis zu diesem Zeitpunkt vorhandenen Daten müssen aber möglicherweise aus Gründen der Wahrung gesetzlicher Dokumentationspflichten weiter verarbeitet werden. Gleiches gilt für eine von Ihnen verlangte Löschung der Sie betreffenden Angaben und Vernichtung der Gewebsprobe.

Freiwilligkeit der Teilnahme.
Sie können die Teilnahme an dieser Untersuchung ohne Angabe von Gründen ablehnen oder widerrufen, ohne, dass Ihnen für Ihre weitere Behandlung hieraus ein Nachteil entsteht.

Rückfragen richten Sie bitte an Herrn Dr. Chen (Tel. 450564069)

Klinik für Geburtsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. J.W. Dudenhausen

Tel.: 030 / 450 – 564072
Fax: 030 / 450 – 564901

” In-vitro-Wirkung der Tokolytika Atosiban, Nifedipin, Fenoterol und $MgSO_4$ sowie des Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten Losartan auf die Kontraktilität humanen Myometriums von Schwangeren und Nicht-Schwangeren ”

Einwilligung

Hiermit erkläre ich, _____

dass ich durch Herrn/Frau, _____

mündlich und schriftlich über das Wesen, die Bedeutung, Tragweite und Risiken der wissenschaftlichen Untersuchung im Rahmen der Studie ” In-vitro-Wirkung der Tokolytika Atosiban, Nifedipin, Fenoterol und $MgSO_4$ sowie des Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten Losartan auf die Kontraktilität humanen Myometriums von Schwangeren und Nicht-Schwangeren ” die von der Klinik für Geburtsmedizin durchgeführt wird, informiert wurde und ausreichend Gelegenheit hatte, meine Fragen hierzu in einem Gespräch mit dem oben genannten Arzt zu klären.

Ich habe insbesondere die mir vorgelegte Patienteninformation verstanden und eine Ausfertigung derselben und dieser Einwilligungserklärung erhalten.

Ich bin bereit zur Entnahme von mütterlichem Gewebe während des Kaiserschnitts aus der Gebärmutter zur weiteren Verwendung für die Laboruntersuchungen im Rahmen der oben genannten Studie. Ich wurde darüber informiert, dass durch die Entnahme einer kleinen Gebärmuttergewebeprobe nach der Geburt meines Kindes und des Mutterkuchens aus der durch

den Kaiserschnitt entstandenen Gebärmutterwunde keinerlei Nachteile für mich entstehen. Die 2 x 1,5 x 1,5 cm lange Gewebeprobe wird, wenn möglich, im Rahmen einer Schnittbegradigung gewonnen.

Hiermit erkläre ich mich damit einverstanden, dass diese Gewebeentnahme während der Kaiserschnittoperation bei mir durchgeführt wird.

Die Ziele und Behandlungsmöglichkeiten dieser klinischen Untersuchung wurden mir erklärt, und ich hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen.

Ich verstehe, dass die Teilnahme an dieser Untersuchung freiwillig ist und dass ich die Untersuchung jederzeit ohne Angabe von Gründen verlassen kann. Wenn ich die Untersuchung verlasse, hat dies keinen Einfluss auf die weitere medizinische Versorgung.

Einwilligungserklärung zur Datenverarbeitung

Ich willige darin ein, dass die Klinik für Geburtsmedizin mich betreffende personenbezogene Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten im Rahmen und zum Zweck des o.g. Forschungsvorhabens verarbeitet.
Ich willige darin ein, dass meine im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Krankheitsdaten aufgezeichnet, verschlüsselt, verschlüsselt gespeichert und die gewonnenen Ergebnisse anonymisiert veröffentlicht werden.

Ggf.: Ich erkläre mich auch mit einer Information meines Hausarztes durch den/die Studienarzt/Studienärztin über meine Teilnahme an der o.g. Studie einverstanden.

Darüber hinaus bin ich mit der Entnahme, Herauslösung, Untersuchung sowie verschlüsselten Lagerung meines im Rahmen dieser klinischen Studie entnommenen Gewebes für den Zweck der Studie durch Dr. Chen einverstanden.

Unter den genannten Bedingungen gebe ich freiwillig meine volle Einwilligung, an dieser klinischen Untersuchung teilzunehmen.
Mir ist bekannt, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen für mich zurückziehen und einer Weiterverarbeitung meiner Daten jederzeit widersprechen kann.

Berlin, den Unterschrift der Versuchsteilnehmerin

Hiermit erkläre ich, den/die o.g. Versuchsteilnehmer/in am _____ über Wesen, Bedeutung, Tragweite und Risiken der o.g. Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt und ihm/ihr eine Ausfertigung der Information sowie dieser Einwilligungserklärung übergeben zu haben.

Berlin, den Unterschrift des aufklärenden Arztes/Ärztin

Charité

UNIVERSITÄTSKLINIKUM · MEDIZINISCHE FAKULTÄT DER HUMBOLDT-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

CHARITÉ · D-15344 BERLIN

CAMPUS VIRCHOW-KLINIKUM

Herrn Prof. Dr. Dudenhausen
Charité – Medizinische Fakultät der
Humboldt-Universität zu Berlin
Campus Virchow-Klinikum
Klinik f. Geburtsmedizin
Augustenburger Platz 1

13353 Berlin

Ethikkommission
Vorsitzender: Prof. Dr. med. H. Eichstädt
Wiss. Mitarbeiter: Ass. jur. Ch. von Dewitz

Telefon: (0 30) 450-570024
Telefax: (0 30) 450-570988
E-Mail: christian.von_dewitz@charite.de

vD 16. August 2002

Betr.: „In-vitro-Wirkung von der Tokolytika Atosiban, Nifedipin, Fenoterol und MgSO4 auf die Kontraktilität humanen Myometriums von Schwangeren und Nichtschwangeren."
Antragsnummer: 141/2002
Vorg.: Schreiben v. 08.08.2002

Sehr geehrter Herr Professor Dudenhausen, sehr geehrter Herr Dr. Chen,

hiermit bestätigen wir, dass Ihr o.g. Vorhaben in der 289. Sitzung der Ethikkommission am 15.08.2002 von den Mitgliedern beraten wurde.

Die Ethikkommission stimmt dem o.g. Vorhaben als ethisch vertretbar zu.

Für die Durchführung des o.g. Vorhabens wünschen wir Ihnen viel Erfolg und bitten um Übersendung eines Abschlussberichtes, ggf. in Form eines Sonderdruckes.

Nachfolgend aufgeführte Mitglieder der Ethikkommission haben über Ihren o.g. Antrag beraten und abgestimmt:
Herr Prof. Dr. Eichstädt, Herr Prof. Dr. Helge, Herr Prof. Dr. Kunze, Herr PD Dr. Köppel, Herr PD Dr. Laube, Frau Dr. Felderhoff, Herr Dr. Reichardt, Herr Dr. Dr. Sonnenfeld, Frau Berton, Herr Mellwig

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. H. Eichstädt
Vorsitzender

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich danken…

…Herrn Prof. Dr. med. Dudenhausen für die Vergabe des Dissertationsthemas und die besondere Geduld.

…Herrn Dr. med. Frank Chen, meinem Betreuer, der mich trotz der langen Dauer immer wieder ermutigt und unterstütz hat.

…Frau Josie Carandang und Frau Marion Marksteiner, die mich als MTAs mit der Arbeit im Labor vertraut machten.

…Donata von Dehn für die Einarbeitung in die Apparatur und den Versuchsablauf.

…Meiner Kollegin Charlotta Zacharias-Lindgren, die mich immer wieder an Details erinnert hat und durch die auch lange Versuche kurzweiliger wurden.

…meinem Freund Axel, ohne dessen bohrende Nachfragen ich die Arbeit vermutlich nie beendet hätte.

…meinen Eltern, die mir Studium und Dissertation überhaupt ermöglichten und mich jederzeit unterstützten, insbesondere meiner Mutter mit ihrem unerschütterlichen Optimismus.

…besonders natürlich den Frauen, die durch die Zustimmung zur Probenentnahme die Arbeit möglich gemacht haben.

CURRICULUM VITAE

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

EIDESTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, Julia Machinek, dass diese Dissertation von mir selbst verfasst wurde, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter. Es wurden keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt.

Julia Machinek