

# JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

HORNUNG D, CHAO VA, TAYLOR RN, VIGNE J-L, WALLWIENER D  
*Glycodelin vermindert die Makrophagenanzahl in der  
Peritonealhöhle von C57BL/6-Mäusen - Neue Therapiemöglichkeit bei  
Endometriose?*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2003; 13 (1) (Ausgabe  
für Schweiz), 13-15*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 2003; 13 (1) (Ausgabe  
für Österreich), 16-20*

**Homepage:**

**[www.kup.at/fertilitaet](http://www.kup.at/fertilitaet)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

**Erschaffen Sie sich Ihre  
ertragreiche grüne Oase in  
Ihrem Zuhause oder in Ihrer  
Praxis**

**Mehr als nur eine Dekoration:**

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,  
Kräuter und auch Ihr Gemüse  
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller  
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz  
ohne grünen Daumen?

**Dann sind Sie hier richtig**



# Glycodelin vermindert die Makrophagenanzahl in der Peritonealhöhle von C57BL/6-Mäusen – Neue Therapiemöglichkeit bei Endometriose?

D. Hornung<sup>1,2</sup>, J.-L. Vigne<sup>2</sup>, V. A. Chao<sup>2</sup>, D. Wallwiener<sup>1</sup>, R. N. Taylor<sup>2</sup>

Eine erhöhte Anzahl von aktivierten Peritonealmakrophagen, die durch Chemokine angezogen werden, sind ein wichtiges pathophysiologisches Merkmal für Frauen mit Endometriose. In dieser Studie charakterisieren wir die inflammatorische Antwort in einem *in vivo*-Mausmodell von Peritonitis und untersuchen die antiinflammatorischen Effekte von Glycodelin. Menschliches Glycodelin wird in den Endometriumzellen der späten sekretorischen Phase und in der Frühschwangerschaft unter Hormoneinfluss synthetisiert. Die genaue physiologische Rolle von Glycodelin ist bisher noch nicht bekannt. Seine Expression während der Nidation des Embryos und seine Verhinderung der T-Zell-Proliferation läßt jedoch auf eine immunmodulatorische Rolle schließen. Die intraperitoneale Injektion von Thioglycollat-Medium in 7 Wochen alte, weibliche C57BL/6-Mäuse wurde dazu benutzt, um eine Rekrutierung von aktivierten Peritonealmakrophagen hervorzurufen. RT-PCR für Maus-spezifische *c-fms* mRNA-Transkripte verifizierten den monozytischen Ursprung dieser Zellen. Glycodelin, ein Glykoprotein von 27 kDa, welches zuvor schon *in vitro* seine immunsuppressiven Effekte gezeigt hatte, verhinderte die Makrophagenakkumulation im Mausmodell. Außerdem sekretierten die Peritonealmakrophagen der Glycodelin-Gruppe weniger RANTES und IL-1 $\beta$ -Protein, wenn sie *in vitro* kultiviert und mit TNF- $\alpha$  für 48 h stimuliert wurden, als die der Thioglycollat-Gruppe. Wir schlagen vor, daß weitere Studien durchgeführt werden sollten, um zu zeigen, ob Glycodelin als neue Therapie für Frauen mit Endometriose eingesetzt werden kann.

Elevated numbers of activated peritoneal macrophages, attracted by chemokines, are important pathophysiological features in women with endometriosis. In the current studies we characterized the inflammatory response in an *in vivo* murine model of peritonitis and assessed the anti-inflammatory effect of glycodelin. Human glycodelin is synthesized by endometrial cells in the late secretory phase and early pregnancy under hormonal regulation. Whereas the precise physiological role of glycodelin is unknown, its expression during embryonic nidation and its inhibition of T cell proliferation suggests an immunomodulatory role. Intraperitoneal injection of thioglycollate solution into 7-week-old female C57BL/6 mice was used to elicit the recruitment of activated peritoneal leukocytes. RT-PCR for mouse *c-fms* mRNA transcripts verified the monocytic derivation of these cells. Glycodelin, a 27 kDa glycoprotein with recently documented immunosuppressive effects *in vitro*, inhibited macrophage accumulation in the mouse model. When the murine peritoneal macrophages were cultured *in vitro* and stimulated with TNF- $\alpha$  for 48 hours, prior exposure to glycodelin resulted in less RANTES and IL-1 $\beta$  protein secretion than from cells of mice treated with thioglycollate alone. We propose that further studies should be done to show, if glycodelin could be considered as a novel therapy for women with endometriosis. **J Fertil Reprod 2003; 13: 16–20.**

Endometriose mit der Anwesenheit von ektope Endometrium-Stroma und -Drüsen ist ein häufiger Grund für Dysmenorrhoe, Unterbauchschmerzen und Infertilität [1, 2]. Die Pathophysiologie der endometrioseassoziierten Symptome ist noch nicht vollständig geklärt, aber es deutet vieles darauf hin, daß die Symptome der Endometriose das Produkt einer lokalen, inflammatorischen Antwort sind [3–6]. Endometrioseläsionen treten hauptsächlich in der Peritonealhöhle auf. In den letzten 20 Jahren wurde entdeckt, daß die Endometriose-Implantate von einer Immunzell-Infiltration begleitet sind. Endometriose ist mit einem hauptsächlich monozytischen Peritonealexsudat verbunden [1, 7]. Mit der Hilfe von Boyden-Kammern konnten wir die Monozytenmigration *in vitro* quantifizieren und demonstrieren, daß Glycodelin die menschliche Monozytenchemotaxis inhibiert [8].

Endometriose tritt spontan bei Frauen und menstruirenden Primaten auf [9–11], jedoch nicht bei anderen Tieren. Modelle der Endometriose wurden bei Ratten dadurch kreiert, daß uterines Gewebe an das Beckenperitoneum genäht wurde [12, 13] oder dadurch, daß athymischen Mäusen menschliches Endometrium intraperitoneal appliziert wurde [14, 15]. Keines dieser Modelle spiegelt jedoch die lokale Immunantwort dar, die typisch für die peritoneale Endometriose bei Frauen ist.

Die Thioglycollatinjektion in Mäuse induziert ein Peritonealexsudat, welches das inflammatorische Milieu bei Patientinnen mit Endometriose gut widerspiegelt [16, 17]: Die Immunantwort ist hauptsächlich monozytisch. Unsere Daten zeigen, daß Glycodelin die Monozytenmigration *in vivo* im Maus-Modell hemmen kann. Klinische Studien müssen zeigen, ob die anti-inflammatorische Wirkung von Glycodelin dazu dienen kann, die Symptome der Patientin mit Endometriose zu behandeln.

## Tiere und Methodik

Wir benutzten für diese Experimente 7 Wochen alte, weibliche C57BL/6 Mäuse. Die Mäuse wurden in der University of California, San Francisco in den USA gehalten. Sie erhielten Wasser und Futter ad libitum. Die Experimente wurden von dem UCSF Animal Care and Use Committee genehmigt und entsprachen den Richtlinien des National Institute of Environmental Health Sciences.

## Medien und Reagenzien

1 ml 4 % Thioglycollat-Medium (Sigma, St. Louis, USA) wurde dazu benutzt, Peritonealmakrophagen in die Peritonealhöhle anzuziehen [16, 17]. Glycodelin wurde aus der Dezidua des ersten Schwangerschaftstrimesters extrahiert, wie zuvor beschrieben [8]. Alle zuvor genannten Reagenzien waren endotoxinfrei und wurden in Kalzium und Magnesium freier, Phosphat gepufferte NaCl-Lösung (PBS) gelöst, um die Effekte der Zelladhäsion zu minimieren.

## Stimulation und Gewinnung der inflammatorischen Peritonealzellen

1 ml 4 % Thioglycollat-Medium oder PBS (Kontrolle) wurde in die Peritonealhöhle von je 4 Mäusen an den Behandlungstagen 1 und 3 injiziert. Zusätzlich zu Thioglycollat erhielten je 4 Mäuse 20  $\mu$ g Glycodelin intraperitoneal an

Von der <sup>1</sup>Universitätsfrauenklinik Tübingen, Deutschland und dem <sup>2</sup>Center for Reproductive Sciences, University of California, San Francisco, USA

Korrespondenzadresse: Priv. Doz. Dr. Daniela Hornung, Universitätsfrauenklinik Tübingen, D-72076 Tübingen, Calwerstraße 7; E-mail: D.Hornung@macnews.de

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Projekt Ho 1832/2-2 (DH), und von der NIH/NICHD, Projekt U54-HD37321, gefördert (DH, J-LV, VAC und RNT).

den Tagen 1 und 3 appliziert. An dem 4. Behandlungstag wurden die Tiere dekapitiert, um eine traumatische Blutung in die Peritonealhöhle zu minimieren. Diese Versuche wurden dreimal wiederholt, so daß insgesamt 12 Mäuse pro Behandlungsgruppe untersucht wurden. Die Peritonealflüssigkeit wurde folgendermaßen gewonnen: 4 ml PBS wurde in die Peritonealhöhle injiziert und das Abdomen vorsichtig massiert, um die Flüssigkeit gleichmäßig zu verteilen. Das Abdomen wurde daraufhin durch eine Ventralinzision eröffnet, wobei darauf geachtet wurde, daß der Inhalt nicht verloren wurde. Die Flüssigkeit wurde aspiriert, nochmals 3 ml PBS instilliert und der Aspirationsprozess wiederholt. Die Zellen wurden unter dem Mikroskop in einer Neubauer-Zählkammer von 3 unabhängigen Beobachtern in jeweils 4 Meßquadraten ausgezählt.

#### **Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)**

Die Gesamt-RNA von den Peritonealmakrophagen wurde mit Trizol<sup>®</sup> isoliert und 2 µg von jeder RNA-Probe wurde mittels MMLV reverser Transkriptase, oligo-dT und Randomhexamer-Primern revers transkribiert, wie zuvor beschrieben [18]. Die PCR-Amplifikation von cDNA wurde mit *c-fms*-spezifischen Primern wie nachfolgend durchgeführt: upstream: 5'-GGT GCG CTG GAA GAT CAT CGA GAG ATA-3'; downstream: 5'-CTC CGT GAG TAC AGG CTC CCA AGA GGT T-3'. Die Zyklusparameter für die PCR-Amplifikation waren: 94 °C, 11 Minuten; 8 Zyklen von 94 °C, 40s; 60 °C, 20s, 75 °C, 80s, 30 Zyklen von 94 °C, 40s; 62 °C, 20s, 75 °C, 80s. Eine abschließende Extensionsrunde (75 °C, 10 Min) wurde dazu benutzt, um die komplette Produktformation zu optimieren. 10 µl von jedem PCR-Produkt wurde mit Samplepuffer gemischt und auf ein 4% E-Gel Agarosegel aufgetragen (Invitrogen, Carlsbad, USA). Die RT-PCR für GAPDH-Transkripte wurde als Kontrolle eingeschlossen, um die Integrität der RNA zu bestätigen.

#### **Statistische Analysen**

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Jedes Experiment wurde dreimal wiederholt. Wir benutzten non-parametrische Methoden (Kruskal-Wallis- und Mann-Whitney-Statistiken), um die Daten zu analysieren. Signifikante Unterschiede wurden akzeptiert, wenn die Analysen einen P-Wert < 0,05 ergaben.

### **Ergebnisse**

Die Peritonealzellen wurden direkt nach ihrer Gewinnung an Tag 4 gezählt. Die Gesamtzellanzahl in der Kontrollgruppe (PBS) betrug 117.000 ± 11.000 Zellen. Die Anzahl der Zellen von Mäusen, die nur mit Thioglycollat behandelt worden waren, betrug 381.000 ± 69.000 und war damit mehr als dreifach gegenüber der Kontroll-PBS-Gruppe erhöht. Die Mäuse, die mit Thioglycollat plus Glycodelin behandelt wurden, zeigten eine Reduktion der Zellanzahl um 44 % auf 233.000 ± 19.000 Zellen verglichen mit der Gruppe, die ausschließlich Thioglycollat erhalten hatte. Beide Ergebnisse waren statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

Die Peritonealzellen wurden gewonnen, gewaschen und auf Gewebekulturschalen kultiviert. Wir konnten durch RT-PCR für Maus *c-fms* mRNA verifizieren, daß es sich bei den gewonnenen Zellen um Makrophagen handelte. *c-fms* kodiert den CSF-1-Rezeptor, der spezifisch für Makrophagen bei Mäusen ist. Die RT-PCR für alle experimentellen Gruppen war positiv für *c-fms*. Eine positive Kontrolle wurde durch die RNA von Maus-Plazenta, eine negative Kontrolle durch RNA von adrenalen MA10-Zellen

durchgeführt. GAPDH-Transkripte als positive Kontrolle für die Integrität der mRNA war in allen Proben nachweisbar.

Die RANTES-Protein-Produktion der Mausmakrophagen in Kulturmedium wurde nach 48h Stimulation mit 100 ng TNF-α gemessen. Die Sekretion von Maus-RANTES wurde mit Hilfe eines ELISA gemessen und pro 100.000 Zellen angegeben. Die Peritonealmakrophagen der Kontrollgruppe (PBS) produzierten 1551 ± 198 pg/ml RANTES pro 100.000 Zellen. Die RANTES-Sekretion von Mausmakrophagen der Thioglycollatgruppe war auf 3393 ± 1062 pg/ml/100.000 Zellen erhöht und betrug damit 218 % mehr als bei der negativen Kontrolle mit PBS. Glycodelin bewirkte eine signifikante Hemmung der RANTES-Sekretion der Makrophagen auf 1919 ± 368 pg/ml/100.000 Zellen und damit um 80% verglichen mit der Gruppe, die nur mit Thioglycollat behandelt worden war ( $p < 0,05$ ).

Die selben Zellkulturüberstände wurden ebenfalls mit Hilfe eines ELISA untersucht und die Menge an sekretiertem IL-1β gemessen. IL-1β von Mauszellen der PBS-Kontrollgruppe betrug 20 ± 4 pg/ml/100.000 Zellen. IL-1β der positiven Kontrolle (Thioglycollat) war auf 34 ± 12 pg/ml/100.000 Zellen und damit um 172 % gegenüber der negativen Kontrolle erhöht. Die IL-1β-Produktion der Peritonealmakrophagen in der Glycodelingupe war auf 26 ± 2 pg/ml/100.000 Zellen und damit um 55 % verglichen mit der Thioglycollatgruppe signifikant supprimiert ( $p < 0,05$ ).

### **Diskussion**

Thioglycollat-Medium, ein unspezifisches Irritant, konnte ein monozytisches, peritoneales Exsudat im Nagetiermodell hervorrufen [16, 17]. Es wurde behauptet, daß die inflammatorische Antwort mit einer reduzierten Fertilität einherging [16]. Diese Beobachtung wurde jedoch von einer anderen Arbeitsgruppe widerlegt [17]. In unserer Studie konnten wir bestätigen, daß Thioglycollat eine peritoneale Inflammation hervorrufen kann. Obwohl die Peritonealhöhle viele verschiedene Immun- und Mesothelzellen enthält, ist der vorherrschende Zelltyp in Thioglycollat-stimuliertem Peritonealexsudat der Peritonealmakrophage, wie durch Immunfluoreszenz-Flowzytometrie gezeigt werden konnte [19]. Wir haben die Makrophagencharakteristik dieser Zellen durch die Demonstration der Maus *c-fms*-mRNA-Expression verifiziert [20].

Die Behandlung mit Glycodelin, einem Endometrium-Lipocalin, reduzierte die Monozyteninfiltration im Mausmodell. Zuvor konnten wir schon zeigen, daß diese Substanz auch die menschliche Monozytenmigration *in vitro* in Boydenkammer-Versuchen gehemmt hatte [8]. Glycodelin war im Vergleich zu anderen Substanzen, wie z. B. Ciglitazone aus der Gruppe der Thiazolidinedione, durch eine noch deutlichere Makrophagenmigrationshemmung charakterisiert. Auch die Reduktion der Zytokinproduktion von RANTES und IL-1β nach 48h TNF-α-Stimulation war bei den Zellen von Tieren, die zuvor mit Glycodelin behandelt wurden, deutlicher als nach Vorbehandlung mit Thiazolidinedionen [21, 22]. Ein Problem für die klinische Anwendung von Glycodelin könnte darin bestehen, daß eine Herstellung von Glycodelin bisher nicht kommerziell durchgeführt wird, sondern seine Extraktion aus menschlicher Dezipua des ersten Trimesters oder aus Amnionflüssigkeit mittels aufwendiger HPLC-Technik durchgeführt werden muß [8]. Auf Basis unserer präklinischen Versuche schlagen wir vor, daß die Wirkungen und das Nebenwir-

kungsspektrum von Glycodelin noch näher untersucht werden sollten, bevor Glycodelin möglicherweise als medikamentöse Therapie bei Frauen mit Endometriose eingesetzt werden kann.

#### Literatur:

- Halme J, Becker S, Hammond M, Raj M, Raj S. Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 145: 333–7.
- Klein NA, Pergola GM, Rao-Tekmal R, Dey TD, Schenken RS. Enhanced expression of resident leukocyte interferon gamma mRNA in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1993; 30: 74–81.
- Hornung D, Bentzien F, Wallwiener D, Kiesel L, Taylor RN. Chemokine bioactivity of RANTES in endometriotic and normal endometrial stromal cells and peritoneal fluid. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 163–8.
- Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 75: 1–10.
- Mueller MD, Lebovic DI, Garrett E, Taylor RN. Neutrophils infiltrating the endometrium express vascular endothelial growth factor: potential role in endometrial angiogenesis. *Fertil Steril* 2000; 74: 107–12.
- Taylor RN, Ryan IP, Moore ES, Hornung D, Shifren JL, Tseng JF. Angiogenesis and macrophage activation in endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 1997; 828: 194–207.
- Hill JA, Anderson DJ. Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 861–4.
- Vigne JL, Hornung D, Mueller MD, Taylor RN. Purification and characterization of an immunomodulatory endometrial protein, glycodelin. *J Biol Chem* 2001; 276: 17101–5.
- D'Hooghe TM, Pudney J, Hill JA. Immunobiology of the reproductive tract in a female baboon. *Am J Primatol* 2001; 53: 47–54.
- Rier SE, Turner WE, Martin DC, Morris R, Lucier GW, Clark GC. Serum levels of TCDD and dioxin-like chemicals in rhesus monkeys chronically exposed to dioxin: Correlation of increased serum PCB levels with endometriosis. *Toxicol Sci* 2001; 59: 147–59.
- Schenken RS, Williams RF, Hodgen GD. Experimental endometriosis in monkeys. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622: 242–55.
- Nothnick WB, Curry TE, Vernon MW. Immunomodulation of rat endometriotic implant growth and protein production. *Am J Reprod Immunol* 1994; 31: 151–62.
- Sharpe-Timms KL, Zimmer RL, Jolliff WJ, Wright JA, Nothnick WB, Curry TE. Gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) therapy alters activity of plasminogen activators, matrix metalloproteinases and their inhibitors in rat models for adhesion formation and endometriosis: potential GnRH-a-regulated mechanisms reducing adhesion formation. *Fertil Steril* 1998; 69: 916–23.
- Bruner KL, Eisenberg E, Gorstein F, Osteen K. Progesterone and transforming growth factor-beta coordinately regulate suppression of endometrial matrix metalloproteinases in a model of experimental endometriosis. *Steroids* 1999; 64: 648–53.
- Tabibzadeh S, Miller S, Dodson WC, Satyaswaroop PG. An experimental model for the endometriosis in athymic mice. *Front Biosci* 1999; 4: C4–9.
- Steinleitner A, Lambert H, Lauredo I. Heterologous transplantation of activated murine peritoneal macrophages inhibits gamete interaction in vivo: a paradigm for endometriosis-associated subfertility. *Fertil Steril* 1990; 54: 725–9.
- Haney AF, Newbold CT, Doty E. An elicited intraperitoneal inflammatory response has no effect on the establishment of pregnancy in the mouse. *Fertil Steril* 1994; 61: 956–62.
- Hornung D, Ryan IP, Chao VA, Vigne J-L, Schriock ED, Taylor RN. Immunolocalization and regulation of the chemokine RANTES in human endometrial and endometriosis tissues and cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1621–8.
- Ho MK, Springer TA. Mac-2, a novel 32,000 Mr mouse macrophage subpopulation-specific antigen defined by monoclonal antibodies. *J Immunol* 1982; 128: 1221–8.
- Sherr CJ, Kato JY, Borzillo G, Downing JR, Roussel MF. Signal-response coupling mediated by the transduced colony-stimulating factor-1 receptor and its oncogenic fms variants in naive cells. *Ciba Found Symp* 1990; 148: 96–104.
- Hornung D, Waite LL, Ricke EA, Bentzien F, Wallwiener D, Taylor RN. Nuclear receptors PPAR-alpha and gamma have opposing effects on monocyte chemotaxis in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3108–14.
- Hornung D, Chao VA, Wallwiener D, Taylor RN. Thiazolidinediones, Agonisten des PPAR-γ-Rezeptors (Peroxisomaler Proliferator-aktivierender Rezeptor), reduzieren die peritoneale Makrophagenanzahl. Neue medikamentöse Therapieoptionen für die Inflammation und Infertilität bei Endometriose? *Geb Fra* 2002; 9: 882–6.



#### **Priv.-Doz. Dr. med. Daniela Hornung**

Geboren 1964 in Freiburg/Breisgau. Medizinstudium in Freiburg/Br., Staatsexamen und Promotion 1992. Facharztausbildung an der Universitätsfrauenklinik Tübingen. Fachärztin seit 1998, Oberärztin seit 2001. Forschungsaufenthalte 1995/1996 und 1999–2001 an der UCSF San Francisco, bei Prof. R. N. Taylor (DFG Ausbildungs- und Habilitationsstipendien). Habilitation 2002 an der Universitätsfrauenklinik Tübingen. 1991 Gödecke-Forschungspreis (Freiburg/Br.), 1997 Preis der Oberrhein. Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (Rastatt), 2002 First Prize Paper Award, Welt-Endometriose-Kongress, San Diego. Wissenschaftliche Schwerpunkte: Endometriose, Zytokine, Immunologie. Mitgliedschaften: World Endometriosis Society (WES), Deutsche Gesellschaft für Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin (DGGEF). 19 Originalarbeiten, 9 Buchkapitel, 29 Abstracts.

# Mitteilungen aus der Redaktion

## Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

## e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

## Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)