Preisverleihung 1987

# STIFTUNG PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

Heft Nr. 15

«Rôle des lymphocytes T spécifiques
sur l'évolution des lésions induites
par leishmania major, un parasite vivant
dans les macrophages de leur hôte»

«Magnetische Resonanz – ein „magnetisches Auge"
zur Untersuchung der Lebensvorgänge in vivo»

# STIFTUNG
# PROFESSOR DR. MAX CLOËTTA

## *Vierzehnte Preisverleihung*

23. November 1987
Zürich

Heft Nr. 15 der Schriftenreihe
Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Kurhausstrasse 28, 8032 Zürich

INHALT

Vorwort des Präsidenten des Stiftungsrates,
Herrn Dr. Hans W. Kopp 5

Laudatio von Herrn Professor Dr. Henri Isliker
auf den ersten Preisträger,
Herrn Professor Dr. Jacques Louis 9

Urkunde für Herrn Professor Dr. Jacques Louis 11

Kurzbiographie von Herrn Professor Dr. Jacques Louis 13

Festvortrag von Herrn Professor Dr. Jacques Louis
mit dem Thema: «Rôle des lymphocytes T spécifiques sur
l'évolution des lésions induites par leishmania major, un
parasite vivant dans les macrophages de leur hôte» 15

Laudatio von Herrn Professor Dr. Kurt Wüthrich
auf den zweiten Preisträger,
Herrn Professor Dr. Joachim H. Seelig 32

Urkunde für Herrn Professor
Dr. Joachim H. Seelig 35

Kurzbiographie von Herrn Professor
Dr. Joachim H. Seelig 37

Festvortrag von Herrn Professor Dr. Joachim H. Seelig
mit dem Thema: «Magnetische Resonanz – ein „magneti-
sches Auge" zur Untersuchung der Lebensvorgänge in
vivo» 38

Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der
Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta 61

Ehrentafel der Preisträger 65

# VORWORT

In der Einführung zu Heft Nr. 14 der Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta, das die Preisverleihung 1986 und damit Stichworte wie die Regulation von Genen und der Gen-Transplantation betraf, habe ich die Notwendigkeit der Freiheit der Forschung unterstrichen, anderseits aber die Forscher an ihr persönliches Gewissen erinnert und so die alte Frage nach den Grenzen der Forschung in den Raum gestellt.

Keine «Einführung» zu «Cloëtta-Heften» hat bisher, was immer die Ursachen und Anstösse sein mögen, zu so zahlreichen und engagierten Reaktionen geführt. Ich gestatte mir deshalb, auf das gleiche Thema heute zurückzukommen.

Die zustimmenden Reaktionen überwogen. Soweit Zurückhaltung angedeutet wurde, hat mich ihr Tenor, offen gestanden, etwas erschreckt. Beispielsweise in der Mikroelektronik mache sich «eine gewisse Torschlussstimmung ... breit ... Nicht so sehr aus einem Sinneswandel von innen heraus, sondern weil die andern, welche mit freudiger Neugier weiterexperimentiert haben, uns heute das Tempo diktieren, uns zum Reagieren zwingen». Oder: «Ihre Postulate sind sehr vernünftig. Dennoch frage ich mich, ob sich hier nicht eine Entwicklung anbahnt, welche uns ... ins technologische Abseits drängt. Denn wo allzuviel gemahnt wird, wird es politisch inopportun, eine Forschungsrichtung zu fördern ... Ein Forschungsstopp würde immer auch bedeuten, Menschen, welche darauf angewiesen sind, Hilfe vorzuenthalten ... Auch in der Schweiz müssen von Grundlagenforschung und Industrie grosse Anstrengungen unternommen werden, um den Anschluss nicht zu verlieren. Bitte rufen Sie nicht mit im Chor der Mahner, sondern unterstützen Sie unser Anliegen. Wir ... werden es sowieso schwer haben, forschungsmässig nicht in die Rolle von Hinterwäldlern zu geraten.»

Dass der Unterzeichnete und die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta für die Forschung sich aktiv immer wieder verwendet haben und dies weiterhin tun, Verständnis gezeigt und gezeugt, Fortschritte gefordert und gefördert haben und überhaupt nach den verschiedensten Seiten in der Forschung halfen und helfen halfen, lässt sich leicht

belegen und wurde in allen uns zugekommenen Reaktionen als erwiesen vorausgesetzt. Hier kann somit ein Gegensatz nicht liegen.
Dass anderseits die Ethik die Einkehr meint, also – in Grenzfällen –, Einhalt gebieten oder die Tempi verlangsamen kann, lässt sich ebensowenig bestreiten. Ein Grund gegen die Ethik und Moral in der Forschung ist das aber nicht. Erst recht hat, ob andre oder gar eine Mehrheit um uns das gleiche tun oder lassen wie wir selber, ethisch und moralisch gesehen keinerlei Gewicht. Drohen wir überholt zu werden, hat rechtzeitig und in aller Offenheit und Transparenz eine Abwägung Platz zu greifen zwischen den Werten der Raschheit, vielleicht auch einer kurzfristigen Wirtschaftlichkeit und eines wirtschaftlichen und politischen und gesellschaftlichen Erfolgs, und den Werten der Ehrlichkeit und Gründlichkeit, der tief verankerten Verantwortung gegenüber dem Menschen und der Welt und allem, was hinter und über ihnen nach der Überzeugung des Einzelnen stehen mag.
Wir fühlen mit allen, denen ein Durchbruch in der Forschung in der und für die Schweiz, in und für Europa am Herzen liegt. Schmerzlich und nachteilig ist oder mag erscheinen, dass wir in Bedrängnis geraten, weil wir mehr statt weniger als andre, auch rechtzeitiger und umfassender und gründlicher als jene, nachgedacht oder nachzudenken uns bemüht haben.
Das alles berechtigt uns nicht, in der Forschung professionell zu arbeiten, in der Ethik und Moral der Forschung jedoch jämmerlich zu dilettieren. Dass der Ausschöpfung der durch den wissenschaftlichen Fortschritt erlangten Erkenntnisse wie auch der Wahl und der Verwendung der Mittel der Erkenntnisfindung Grenzen gesetzt oder zu setzen sind, ist von den besten Geistern gerade auch der Geschichte des Abendlands nicht bestritten worden. Leicht zu beantworten waren die sich stellenden Fragen, leicht zu befolgen die sich aufdrängenden Antworten nie. Angesichts der sich von uns weg verschiebenden Horizonte und des Leistungs- und Konkurrenzdrucks komplizieren die Verhältnisse sich, wenn nicht von Tag zu Tag, so doch gewiss von einem Jahr zum andern. Aber gerade darum haben wir die Erforschung der Ethik und Moral der Forschung ebenso professionell in Angriff zu nehmen oder, schalten andre sich für uns ein, zu beachten und in Betracht zu ziehen wie die Forschung selbst.
Ich bezweifle sehr, ob – vereinfachend und vergröbernd ausge-

drückt –; die Gefahr einer Blockierung oder Verlangsamung netto grösser ausfällt, als wenn wir Grundsätze dieser Art nicht erkennen oder sie vernachlässigen. Die Nachteile und Risiken steigen, drängt der Staat als der «souveräne Gebietsherrschaftsverband» sich uns auf. Er hat die Chance, qualitativ überlegen zu erscheinen, macht er von allen seinen Möglichkeiten der diskreten sachlichen Vertiefung wie auch der öffentlichen Abwägung und Kritik Gebrauch. Versäumt er, was leider eher die Regel als die Ausnahme darstellt, einen Teil seines Potentials, wirkt er selber dilettantisch. Was dann bleibt, ist im besseren Fall Demokratie, im schlechteren Fall Bürokratie; jedenfalls weniger als das, was der auch in den Bereichen von Ethik und Moral und darum umfassend professionelle Forscher von sich aus, dank seinem eigenen freien und darum verantwortlichen Gewissen, beitragen kann und muss.

Die Bedürfnisse der Forschung sind uns ein hohes und verpflichtendes Anliegen, die der Ethik und Moral der Forschung binden uns in gleichem Mass. Ein Interessenkonflikt erscheint, bei überlegtem und überlegenem Verständnis, auf die Dauer kaum denkbar.

Der Stiftungsrat der Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta beglückwünscht die diesjährigen Preisträger, die Herren Jacques Louis und Joachim Seelig, und wünscht ihnen Erfolg und Befriedigung auch in jeder künftigen persönlichen und professionellen Tätigkeit.

*Hans W. Kopp*

# ÉLOGE DU PROFESSEUR JACQUES LOUIS

*Professeur Henri Isliker*

C'est un plaisir tout particulier qui m'échoit de présenter le Prof. Jacques Louis en tant que lauréat du Prix Max Cloëtta.

Le Centre de recherches d'Epalinges comporte une unité de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) chargée, conjointement avec le groupe genevois du professeur P.-H. Lambert, de recherches en parasitologie et de la formation de spécialistes en immunologie en provenance des pays en voie de développement. L'unité lausannoise est dirigée, depuis huit ans, par le Dr Jacques Louis, qui a acquis sa formation à Liège, puis à la Scripps Clinic and Research Foundation à La Jolla. C'est grâce à des relations privilégiées entretenues avec ce dernier institut que nous avons été rendus attentifs aux travaux du Dr Jacques Louis qui, dès 1976, a trouvé une deuxième patrie à Lausanne. Il y a trouvé aussi des collaborateurs de renom, tels que les professeurs J. Mauel, de l'Institut de biochimie, et J.-C. Cerottini, de l'Institut Ludwig, ainsi que de nombreux chercheurs de l'Institut suisse de recherches expérimentales sur le cancer. Ses travaux sur la réponse immune contre le protozoaire Leishmania, publiés dans les meilleurs périodiques, ont rapidement conquis l'intérêt de la communauté scientifique et lui valent aujourd'hui une réputation internationale de tout premier ordre.

Dans son travail, Jacques Louis a utilisé non seulement les techniques les plus modernes, mais, de plus, a toujours gardé le souci de vérifier les effets de manipulations immunologiques *in vivo*, sur l'animal entier. Je me suis souvent demandé d'où il puisait les ressources lui permettant, en un temps record, de produire tant de travaux originaux, tout en maintenant la qualité scientifique à son niveau le plus élevé. Certes, plus on pénètre, en tant que chercheur, dans le monde des parasites, plus on est fasciné par la subtilité des mécanismes immunitaires impliqués: c'est soit le parasite qui échappe à la défense de l'hôte grâce à des mécanismes des plus sophistiqués, soit davantage encore, l'hôte qui essaie de contourner les ruses du parasite. On a comparé ces interactions à une gigantesque partie d'échecs, chaque partenaire, parasite et hôte, y jouant au cours de l'évolution tous ses

atouts, afin d'assurer sa survie. Vous en verrez tout à l'heure un exemple.

Mais il y a une autre raison qui motive Jacques Louis, sans qu'il en fasse état: c'est un intérêt spontané le poussant à aider les populations les plus délaissées du tiers monde, dont la plupart souffrent de maladies parasitaires. Nous échangions récemment nos observations sur certains hôpitaux africains totalement surchargés, où le pédiatre se voyait forcé de faire chaque matin un tri: d'un côté, les enfants qu'une prise en charge avait des chances de guérir; de l'autre, les enfants défaillants pour qui toute intervention était vouée à l'échec, les moyens et le temps disponibles ne permettant que quelques gestes thérapeutiques aléatoires. Et nous nous souvenions du regard suppliant, désespéré de telle mère, qui comprenait qu'une issue fatale était inévitable. Désormais, contribuer à aider ces désemparés ne pouvait aller que de soi.

C'est ainsi que notre lauréat n'a pas seulement choisi la recherche que nous récompensons aujourd'hui, mais qu'il a su saisir l'occasion de se vouer à la formation de cadres du tiers monde. Il existe, en effet, au Centre de recherches d'Epalinges, une infrastructure qui permet d'organiser chaque année deux cours d'immunologie et d'immunopathologie, l'un en français, l'autre en anglais, à l'intention d'immunologues des pays en voie de développement choisis par l'OMS avec beaucoup de soin. Le Centre accueille aussi quelques stagiaires pour des périodes allant de 3 mois à 3 ans, en vue de perfectionner leurs capacités de recherche et d'enseignement. Depuis la création de ces cours, quelque 400 cadres du tiers monde ont eu l'occasion de parfaire leurs connaissances à Lausanne, créant ainsi un vaste réseau, dont l'utilité est actuellement reconnue par la Section de la coopération au développement et à l'aide humanitaire de notre pays. C'est donc grâce à l'aide généreuse de la Confédération et de l'OMS que cette activité a pu se développer, et j'aimerais exprimer ma gratitude aux pionniers qui ont rendu cette œuvre possible.

Mais ces contributions n'auraient certainement pas porté leurs fruits sans une personnalité aussi riche et généreuse que celle de notre lauréat. Au nom de mes collègues lausannois, j'aimerais lui transmettre des vœux chaleureux pour la continuation de ses travaux qui honorent notre Centre d'Epalinges.

LE PRIX GLOPTA 1987
EST DÉCERNÉ À

MONSIEUR

# JACQUES LOUIS

DOCTEUR EN MÉDECINE

NÉ EN 1949 À LIÈGE, BELGIQUE
PRIVAT-DOCENT ET CHERCHEUR DU CENTRE CNRS DE RECHERCHE ET
DE FORMATION EN IMMUNOLOGIE
À L'INSTITUT DE BIOCHIMIE DE L'UNIVERSITÉ DE LAUSANNE
POUR SES RECHERCHES DANS LE DOMAINE DE L'IMMUNOLOGIE
ET DE L'IMMUNOPATHOLOGIE DES LEISHMANIOSES ET
AUTRES MALADIES PARASITAIRES

ZURICH, LE 21 NOVEMBRE 1987

AU NOM DU CONSEIL DE LA FONDATION:

LE PRÉSIDENT: LE VICE-PRÉSIDENT:

UN MEMBRE:

Professeur Jacques Louis

# CURRICULUM VITAE

*de Monsieur le Professeur Jacques Louis*

| | |
|---|---|
| Date de naissance | 26 avril 1943 |
| Lieu de naissance | Liège, Belgique |
| Etat civil | Marié, 3 enfants |
| *Etudes* | |
| 1960–1967 | Université de Liège, Belgique: Docteur en médecine en 1967 |
| 1967–1971 | Université de Liège, Faculté de médecine: Spécialiste en Médecine interne |
| *Positions* | |
| 1966–1967 | Interne, Département de Médecine interne, Université de Liège, Belgique |
| 1967–1971 | Médecin-assistant, Départment de Médecine interne, Université de Liège, Belgique |
| 1971–1974 | Research Fellow in the Department of Experimental Pathology, Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla, California, USA |
| 1975–1976 | Specialist adjoint au Département de Médecine interne, Université de Liège, Belgique |
| 1976–1979 | Chercheur établi, Coordinateur du Centre OMS de recherche et de formation en immunologie, Institut de biochimie, Université de Lausanne, Epalinges |
| 1980– | Directeur du Centre OMS de recherche et de formation en immunologie, Institut de biochimie, Université de Lausanne, Epalinges |
| 1981 | Privat-docent, Faculté de médecine, Université de Lausanne |
| 1987 | Professeur, Faculté de médecine, Université de Lausanne |

*Distinctions*

| | |
|---|---|
| 1971--1972 | NATO International Fellowship |
| 1972-1974 | Dernham Fellowship in Oncology, American Cancer Society |
| 1973–1974 | Vice President of the Society of Fellows, Scripps Clinic and Research Foundation |

*Sociétés*

| | |
|---|---|
| 1974 | American Association of Immunologists |
| 1976 | Société française d'immunologie |
| 1978 | Société suisse d'allergie et d'immunologie |

# RÔLE DES LYMPHOCYTES T SPÉCIFIQUES SUR L'ÉVOLUTION DES LÉSIONS INDUITES PAR *LEISHMANIA MAJOR*, UN PARASITE VIVANT DANS LES MACROPHAGES DE LEUR HÔTE

*Prof. Jacques Louis*

L'essor de l'immunologie au cours des vingt dernières années a eu une influence capitale dans les progrès de la lutte contre les maladies infectieuses. Les mécanismes de défense de l'organisme contre les infections sont maintenant mieux compris et l'on commence à identifier des antigènes microbiens susceptibles d'induire une protection contre des agents pathogènes.

Afin de faire profiter au plus tôt les pays en développement du potentiel exceptionnel offert par les progrès en immunologie, il convenait d'assurer, dans cette discipline, une formation adéquate de médecins, d'enseignants et de jeunes chercheurs provenant de ces pays. C'est dans cette optique que, dès 1965, l'Organisation Mondiale de la Santé a décidé de mettre en œuvre un programme de recherche et de formation en immunologie. La réalisation en a été confiée au Centre OMS de recherche et de formation en immunologie. Une section de ce centre est établie au sein de l'Institut de biochimie de l'Université de Lausanne, l'autre au sein du Département de pathologie de l'Université de Genève. Outre l'organisation annuelle de cours avancés de durée assez brève (de 5 semaines à 2 mois), le Centre OMS accueille des stagiaires qui participent activement à des programmes de recherche centrés sur l'étude de maladies infectieuses touchant plus particulièrement les pays en développement. La qualité des recherches effectuées par le centre doit beaucoup à l'excellent environnement scientifique fourni par les institutions qui l'hébergent.

Au cours de cet exposé, j'aimerais résumer les travaux entrepris, sous ma responsabilité, dans la section lausannoise du Centre OMS. Ils concernent l'étude du rôle de la réponse immunitaire cellulaire sur l'évolution des lésions induites par un parasite intracellulaire. Je tiens à souligner que plusieurs jeunes chercheurs de pays en développement ont pris une part active dans la réalisation de ces travaux.

*A. Introduction*

Les leishmanies, agents responsables de l'ensemble des maladies appelées leishmanioses, sont des parasites protozoaires vivant dans les cellules phagocytaires de leurs hôtes infectés. Les formes cutanées, mucocutanées et viscérales représentent les différentes variétés cliniques de cette affection. Il semble que l'expression clinique de cette maladie dépend à la fois de l'espèce de leishmanie impliquée et de la réponse de l'hôte infecté.

Les lésions qui surviennent après infection expérimentale de souris au moyen de la souche *Leishmania major* (L.major) sont très semblables à celles qui se développent, chez l'homme, suite à une infection naturelle. En outre, suivant la souche de souris infectées, le spectre complet des manifestations décrites chez l'homme peut être reproduit expérimentalement. Par exemple, les souris BALB/c sont extrêmement sensibles à l'infection par *L.major*, tandis que les souris CBA y sont résistantes (1). Il n'est pas surprenant que le modèle murin d'infection par *L.major* soit le système expérimental le plus utilisé dans l'étude des paramètres déterminant la prédisposition ou la résistance à ces infections.

De nombreuses observations expérimentales chez la souris suggèrent que l'activité des macrophages (cellules à l'intérieur desquelles vivent les leishmanies chez le sujet infecté) pourrait influencer la sévérité de cette maladie (1, 2).

Il est en outre clairement démontré que les lymphocytes T spécifiques produits au cours de l'infection jouent un rôle capital dans la guérison des lésions dues aux leishmanies (3).

Par ailleurs, les leishmanies, vivant à l'intérieur des cellules phagocytaires, sont à l'abri de l'activité des anticorps spécifiques. Actuellement, aucune évidence expérimentale ne suggère un rôle bénéfique de ces anticorps.

Le système immunitaire comprend deux lignées de lymphocytes: les lymphocytes B et les lymphocytes T. Les uns et les autres sont issus de cellules souches situées dans la moelle osseuse. Contrairement à celle des lymphocytes B, la maturation des lymphocytes T dépend du thymus. Ces deux lignées de lymphocytes sont à la base de la dualité fonctionnelle du système lymphoïde: les cellules B produisent les anticorps responsables de l'immunité humorale, alors que les lym-

phocytes T sont le support de l'immunité à médiation cellulaire.
L'étude des marqueurs de surface des lymphocytes T compétents a révélé l'existence de deux molécules protéiques dont l'expression est mutuellement exclusive. Ces molécules, appelées L3T4 et Lyt-2 chez la souris (respectivement T4 et T8 chez l'homme), permettent d'identifier deux sous-populations principales de lymphocytes T dans les organes lymphoïdes périphériques.
Les lymphocytes B, par l'intermédiaire de leurs récepteurs pour l'antigène, peuvent fixer (ou lier) des molécules d'antigène en solution. Il en va tout autrement des lymphocytes T. Ceux-ci ne reconnaissent un antigène que lorsqu'il est présent à la surface d'une autre cellule. De plus, il faut que l'antigène, sous forme de fragments peptidiques, soit associé à une molécule membranaire codée par le complexe majeur d'histocompatibilité (système $H_2$ chez la souris, HLA chez l'homme).
Les lymphocytes Lyt-$2^+$ reconnaissent les antigènes en association avec une molécule de classe I, alors que les lymphocytes L3T$4^+$ reconnaissent un antigène associé à une molécule de classe II du complexe d'histocompatibilité majeure.
Au cours des cinq dernières années, nous nous sommes efforcés de préciser l'importance des différentes sous-populations de lymphocytes T dans le contrôle de la leishmaniose expérimentale. Plusieurs de nos observations ont indiqué que les lymphocytes T spécifiques produits au cours d'une infection par *L.major* peuvent d'une part favoriser la guérison des lésions provoquées par *L.major*, et par ailleurs augmenter la sensibilité envers cette infection.

*B. Importance des cellules T exprimant le marqueur L3T4 sur l'évolution des lésions provoquées par* L.major

Dans le but d'évaluer l'importance des cellules T L3T$4^+$ sur l'évolution des lésions, nous avons étudié le cours de l'infection chez des souris privées de cellules exprimant la molécule L3T4.
L'élimination (95%) des cellules L3T$4^+$, par l'administration continue d'anticorps monoclonaux dirigés contre la molécule L3T4, a favorisé, de manière très significative, le développement des lésions induites par *L.major*. En outre, ce traitement a rendu des souris nor-

malement génétiquement résistantes extrêmement sensibles à cette infection. Ces résultats, obtenus également chez les souris génétiquement sensibles, indiquent que les cellules L3T4 jouent un rôle très important dans le contrôle de la leishmaniose expérimentale (4). Il est vraisemblable que les cellules L3T4 libèrent des substances capables d'activer les macrophages. Après activation, ces derniers sont aptes à détruire des parasites intracellulaires.
D'autres observations ont démontré que l'élimination de seulement 60 à 70% des cellules L3T4$^+$ provoquait toujours une exacerbation des lésions chez les souris résistantes mais que, par contre, elle rendait résistantes les souris génétiquement sensibles aux infections par *L.major*. Ces résultats montrent clairement que les cellules L3T4$^+$ peuvent aussi favoriser la croissance de ces parasites dans les lésions (5).

### *C. Enumération des cellules T spécifiques de* L.major *dans les ganglions lymphatiques drainant les lésions*

Afin de comparer les réponses cellulaires provoquées par une infection par *L.major* chez les souris sensibles et chez les souris résistantes, nous avons déterminé, dans les ganglions drainant les lésions de ces animaux, à différents moments après le début de l'infection, la fréquence des cellules T capables de transférer une réaction d'hypersensibilité retardée spécifique à des animaux non immunisés. Nous avons également déterminé le phénotype des cellules T spécifiques.
Après infection, la fréquence des cellules T spécifiques (capables d'induire une réaction d'hypersensibilité retardée) est nettement plus élevée dans les ganglions lymphatiques drainant les lésions des souris sensibles que chez les souris résistantes. De plus, chez les souris sensibles, la majorité des cellules T spécifiques appartient à la sous-population L3T4$^+$. Il faut noter que, chez les souris résistantes, il apparaît, suite à l'infection, un nombre égal de cellules T spécifiques L3T4$^+$ et Lyt-2$^+$ (6).
En conclusion, comparée à celle des souris résistantes, la réponse cellulaire T spécifique provoquée chez les souris sensibles, suite à l'infection par *L.major*, est caractérisée par la présence d'un très grand nombre de cellules spécifiques T L3T4$^+$.

Ces résultats suggèrent que le rôle protecteur des cellules T L3T4$^+$ spécifiques vis-à-vis du parasite dépend du nombre de cellules induites durant l'infection. Cette hypothèse est confortée par les observations montrant que des manipulations du système immunitaire (administration d'anticorps anti-L3T4), empêchant l'induction d'un nombre exagéré de cellules T spécifiques L3T4$^+$, transforment les souris sensibles en souris résistantes. En excès, les cellules spécifiques L3T4$^+$ pourraient conduire à une exacerbation des lésions.
L'existence de deux types de cellules L3T4$^+$ ayant des fonctions distinctes est également envisageable. Selon cette hypothèse, deux types de cellules T L3T4$^+$ spécifiques vis-à-vis du parasite apparaîtraient au cours de l'infection: un type de cellules aurait un rôle protecteur et apparaîtrait de manière préférentielle chez les souris résistantes; l'autre type de cellules favoriserait la croissance du parasite et ces cellules apparaîtraient en grand nombre chez les souris sensibles. L'évolution dépendrait alors de la quantité relative de ces deux types de cellules. Des résultats récents, suggérant l'existence de deux populations fonctionnellement distinctes de cellules T L3T4$^+$ spécifiques de *L.major*, semblent conforter cette dernière hypothèse (Th. Pedrazzini et J. Louis, manuscrit en préparation).

*D. Importance des cellules exprimant le marqueur Lyt-2 sur l'évolution des lésions induites par* L.major

L'élimination des cellules T Lyt-2$^+$, par administration d'anticorps monoclonaux dirigés contre la molécule Lyt-2 à des souris infectées par *L.major*, a eu comme conséquence d'aggraver les lésions de manière très significative. Il faut cependant noter que les lésions provoquées chez des souris au taux de cellules Lyt-2 très réduit (seulement 2% de la normale) finissaient toujours par guérir spontanément. En outre, les ganglions drainant les lésions de souris résistantes contenaient, au moment de la guérison spontanée des lésions, un plus grand nombre de cellules Lyt-2$^+$ spécifiques de *L.major*. L'ensemble de ces résultats suggère que les cellules Lyt-2$^+$ jouent également un rôle dans le contrôle de l'infection provoquée par *L.major* (4). Il est cependant clair que les cellules qui jouent le rôle essentiel dans l'élimination de ce parasite par l'hôte infecté appartiennent au sous-groupe L3T4$^+$.

*E. Populations homogènes de cellules T L3T4⁺ aggravant les lésions provoquées par* L.major

En raison du rôle déterminant joué par les cellules T spécifiques dirigées contre le parasite dans l'établissement d'un état de résistance ou de sensibilité à l'infection par les leishmanies, nous nous sommes efforcés

a) d'obtenir et de maintenir *in vitro* des lignées et des clones de cellules T spécifiques;
b) de caractériser leur fonction immunologique et
c) d'étudier leur effet sur l'évolution des lésions provoquées par ces parasites.

Plusieurs lignées et clones de cellules T L3T4⁺, capables de reconnaître des antigènes de *L.major*, ont été obtenus et propagés *in vitro*. Toutes ces cellules étaient capables de provoquer, chez des souris normales (non immunisées), une réaction d'hypersensibilité retardée spécifique. Elles avaient également une activité auxiliaire dans la production d'anticorps antileishmanie par les cellules B (7, 8). Après stimulation par le parasite *in vitro*, ces cellules sécrétaient, en quantités appréciables, des facteurs stimulant la multiplication et la différentiation de cellules souches hématopoiétiques (9).

Nous avons été surpris de constater que l'injection de ces lignées cellulaires T L3T4⁺ à des animaux non immunisés, 24 heures avant l'infection par *L.major*, conduisait toujours à une aggravation substantielle des lésions et favorisait la croissance des parasites, cela aussi bien chez les souris sensibles que chez les résistantes (10). Un des mécanismes responsables de cet étonnant effet des cellules T L3T4⁺ a récemment été élucidé. Nous avons pu démontrer que, dès 24 heures après leur injection, ces cellules T L3T4⁺ se concentrent dans la lésion et y sont activées par les antigènes parasitaires présents en grande quantité. Cette activation engendre le recrutement, au niveau de la lésion, de cellules phagocytaires circulantes, concentrant ainsi à ce niveau les cellules dans lesquelles ce parasite se multiplie (9). De plus, il est vraisemblable que les facteurs sécrétés par ces cellules L3T4⁺, stimulant la multiplication des cellules souches hématopoiétiques, augmentent le nombre de cellules phagocytaires recrutables au niveau de la lésion. Cette hypothèse est confortée par les résultats d'expériences récentes, lesquelles ont montré que l'administration

d'Interleukine 3 (un des facteurs stimulant l'hématopoièse) à des souris infectées par *L.major* aggravait fortement le développement des lésions (Kindler, Vassali et Louis, manuscrit en préparation).
Tous les efforts entrepris jusqu'ici pour obtenir *in vitro* des populations de cellules T favorisant la guérison des lésions *in vivo* ont été vains. Ceci pourrait suggérer que la croissance *in vitro* de cellules $L3T4^+$ propices à l'élimination des parasites est plus délicate que celle des cellules $L3T4^+$ dont l'activité aggrave le développement des lésions.

### *F. Conclusion*

Ces études démontrent la complexité de la réponse cellulaire T provoquée par un parasite protozoaire. L'induction, par *L.major*, de cellules T $L3T4^+$ dont l'activité est néfaste pour l'hôte infecté, rend plus difficile la mise au point d'un vaccin. La caractérisation des antigènes de *L.major* capables de stimuler une réponse cellulaire T protectrice, et la découverte de manipulations immunologiques empêchant l'apparition des cellules qui favorisent l'infection sont des étapes indispensables pour l'élaboration d'un vaccin efficace contre cette maladie. Il est évident que la possibilité de propager *in vitro* aussi bien les cellules $L3T4^+$ protectrices que celles favorisant la croissance du parasite faciliterait beaucoup l'étude de la spécificité, des capacités fonctionnelles et des paramètres nécessaires à l'activation de ces cellules.

### *Remerciements*

Les travaux résumés dans ce manuscrit ont été financièrement soutenus par le Fonds national suisse de la recherche scientifique, l'OMS et le Programme spécial de recherches et de formation sur les maladies tropicales (UNDP/ World Bank/ WHO). Ils n'auraient pu être menés à bien sans l'aide de celles et ceux avec lesquels j'ai eu et ai la chance de collaborer.
Ma reconnaissance va au professeur Henri Isliker pour son soutien toujours enthousiaste, au professeur Paul-Henri Lambert qui a

éveillé mon goût pour la recherche, au Dr Jacques Chiller qui m'a révélé les merveilles de l'immunobiologie et au professeur Jean-Charles Cerottini pour ses stimulantes discussions. J'aimerais remercier mon épouse et mes enfants pour leurs encouragements affectueux et constants.

# RÉFÉRENCES


1 Behin, R., Mauel, J. et Sordat, B. (1979). Exp. Parasitol. *48*, 81.
2 Nacy, C. A., Fortier, A. H., Pappas, M. G. et Henry, R. (1983). Cellular Immunol. *77*, 298.
3 Mitchell, G. F. (1984). Immunol. Today. *5*, 224.
4 Titus, R. G., Milon, G., Marchal, G., Vassali, P., Cerottini, J.-C. et Louis, J. A. (1987). Eur. J. Immunol., sous presse.
5 Titus, R. G., Ceredig, R., Cerottini, J.-C. et Louis, J. A. (1985). J. Immunol. *135*, 2108.
6 Milon, G., Titus, R. G., Cerottini, J.-C., Marchal, G. et Louis, J. A. (1986). J. Immunol. *136*, 1467.
7 Louis, J. A., Zubler, R. H., Coutinho, S. G., Lima, G., Behin, R., Mauel, J. et Engers, H. D. (1982). Immunological Rev. *61*, 215.
8 Louis, J. A., Lima, G. C., Postel, J., Titus, R. G. et Engers, H. D. (1984). Contemp. Top. Immunobiol. *12*, 201.
9 Louis, J. A., Mendonça, S., Titus, R. G., Cerottini, J.-C., Cerny, A., Zinkernagel, R., Milon, G. et Marchal, G. (1986). In: Progress in Immunology. No. VI (Cinader et Miller, Eds.). Academic Press, New York, p. 762.
10 Titus, R. G., Lima, G. C., Engers, H. D. et Louis, J. A. (1984). J. Immunol. *133*, 1594.

# PUBLICATIONS JACQUES LOUIS


1 Delrez, R., Servais, J., Louis, J. A., and Hubin, P. Action de la méthyloestrenolone sur le comportement d'exploration du rat mâle. Arch. Int. Pharmacoly, 1967. *168:* 442.

2 Louis, J. A., and Paulus, J. M. Essai d'un nouvel hémostatique: la Dicynone. Revue médicale de Liège, 1967. *22:* 649.

3 Louis, J. A., and Paulus, J. M. Activité d'un nouvel hémostatique. Revue de l'Association des médecins de langue française, 1969. *5:* 2.

4 Louis, J. A. Le myélone et son traitement. Revue médicale de Liège, 1969. *24:* 706.

5 Louis, J. A., and Salmon, J. Etude du syndrome de coagulation intravasculaire secondaire aux réactions anaphylactiques du lapin. C. R. Soc. Biol. 1969. *163:* 2778.

6 Salmon, J., and Louis, J. A. Etude du rôle joué par les plaquettes dans le syndrome de coagulation intravasculaire secondaire aux réactions anaphylactiques du lapin. C. R. Soc. Biol. 1970. *164:* 924.

7 Salmon, J., Lambert, P.-H., and Louis, J. A. Pathogenesis of the intravascular coagulation syndrome induced by immunological reactions. *In:* Immunologic Mechanisms in Blood Coagulation Thrombosis and Hemostasis (F. Duckert, Ed.), F. K. Shattauer, Stuttgart, 1971, p. 161.

8 Louis, J. A., Salmon, J., and Betz, Ch. Pathogénie du syndrome de coagulation intravasculaire d'origine immunologique: Influence du rapport antigène–anticorps dans le déclenchement du phénomène. C. R. Soc. Biol. 1971. *165:* 1484.

9 Weigle, W. O., Chiller, J. M., and Louis, J. A. Fate of different cell populations during induction of immunological unresponsiveness. Transpl. Proc. 1972. *4:* 372.

10 Louis, J. A., Chiller, J. M., and Weigle, W. O. Fate of antigen binding cells to HGG in unresponsive and immune mice. J. Exp. Med., 1973. *137:* 4612.

11 Weigle, W. O., Louis, J. A., Habicht, G. S., and Chiller, J. M. Modulation of the immunological unresponsive state. *In:* Advances in the Biosciences 12, Schering Symposium on Immunopathology. Cavtat, Yugoslavia (G. Raspe and S. Bernhard, Eds.), Pergamon Press, 1974, p. 93.

12 Louis, J. A., Chiller, J. M., and Weigle, W. O. The ability of bacterial lipopolysaccharide to modulate the induction of unresponsiveness to a state of immunity. Cellular parameters. J. Exp. Med. 1973. *138:* 1487.

13 Weigle, W. O., Chiller, J. M., Louis, J. A., and Habicht, G. S. Possible cellular events in leukemia. *In:* Comparative Leukemia Research (Y. Ito, Ed.), University of Tokyo Press, 1973.

14 Chiller, J. M., Louis, J. A., Skidmore, B. J., and Weigle, W. O. Manipulation of a tolerant: Cells and signals. *In:* The Immune System: Genes, Receptors, Signals – Proceedings of the 1974 I. C. N. – U.C.L.A. Symposium on Molecular Biology (E. E. Sercarz, A. R. Williamson and C. Fred Fox, Eds.), Academic Press, New York, 1974, p. 553.

15 Chiller, J. M., Louis, J. A., Skidmore, B. J., and Weigle, W. O. Cellular parameters of the tolerant state induced to human globulin in mice and of its modulation by bacterial lipopolysaccharides. *In:* Immunological tolerance: Mechanisms and potential therapeutic applications (D. H. Katz and B. Benacerraf, Eds.), Academic Press, New York, 1974, p. 373.

16 Weigle, W. O., Chiller, J. M., and Louis, J. A. Tolerance: Central unresponsiveness or peripheral inhibition. *In:* Progress in Immunology II (E. J. Holborow and L. Brent, Eds.), North Holland Publishing Company, Amsterdam, 1974. *3:* 174.

17 Morrison, D. M., Louis, J. A., and Weigle, W. O. Dissociation of anticomplementary and adjuvant properties of proteins derived from cobra venom. Immunology, 1976. *30:* 317.

18 Louis, J. A., and Weigle, W. O. A model of immunologic unresponsiveness and its relevance to autoimmunity. *In:* Pathobiology Annual (Joachim, Ed.). 1976. *6:* 259.

19 Izui, S., Kobayakawa, T., Zryd, M. J., Louis, J. A., and Lambert, P.-H. Mechanism for induction of anti-DNA antibodies by bacterial lipopolysaccharides in mice II. Correlation between anti-DNA induction and polyclonal antibody formation by various polyclonal B lymphocyte activators. J. Immunol. 1977. *119:* 2157.

20 Izui, S., Louis, J. A., and Lambert, P.-H. The spontaneous development of thymocytotoxic antibodies in athymic nude mice and its suppression after transfer of syngeneic thymocytes. Eur. J. Immunol. 1978. *8:* 221.

21 Louis, J. A., Izui, S., Kobayakawa, T., and Lambert, P.-H. Induction of autoantibodies by polyclonal B lymphocyte activators. Possible relevance to autoantibodies found in parasitic infections. *In:* The Pharmacology of Immunoregulation (G. H. Werner and F. Floch, Eds.), Academic Press, London, 1978, p. 225.

22 Kobayakawa, T., Louis, J. A., Izui, S., and Lambert, P.-H. Autoimmune response to DNA, red blood cells, and thymocyte antigens in association with Polyclonal Antibody Synthesis during Experimental African Trypanosomiasis. J. Immunol. 1979. *122:* 296.

23 Louis, J. A., Lambert, P. H., Kobayakawa, T., and Izui, S. Relevance of polyclonal antibody formation to the development of autoimmunity: The model of African trypanosomiasis. *In:* Function and Structure of the immune system, W. Muller-Ruchholtz and H. K. Muller-Hermelink, Eds., Plenum Press, New York, 1979, 667.

24 Izui, S., Kobayakawa, T., Louis, J. A., and Lambert, P.-H. Induction of thymocytotoxic autoantibodies after injection of bacterial lipoposaccharides in mice. Eur. J. Immunol. 1979. *9:* 338.

25 Dent, P. B., Louis, J. A., McCulloch, P. B., Dunnett, C. W., and Cerottini, J.-C. Correlation of elevated C1q binding activity and carcinoembryonic antigen levels with clinical features and prognosis in bronchogenic carcinoma. Cancer, 1980, *45:* 130.

26 Dent, P. B., Louis, J. A., McCulloch, P. B., Bunnett, P. B., and Cerottini, J.-C. Application of tumor marker analysis to patients with lung cancer. Schweiz. Med. Wschr. 1979. *109:* 827.

27 Cerottini, J.-C., Chapuis, B., Mach, J. P., and Louis, J. A. Aspects immunologiques du cancer bronchique. Therapeutische Umschau, Basel, 1978. *35:* 988.

28 Lambert, P.-H., Louis, J. A., Izui, S., and Kobayakawa, T. Relevance of polyclonal antibody formation to the development of autoimmunity in particular relation to murine lupus. *In:* Proceeding VI. Int. Cong. Immunology, Karger, Basel, 1979.

29 Lambert, P.-H., Fournié, G., Izui, S., and Louis, J. A. Role of polyclonal B-cell activator in the triggering of Lupus-like renal diseases. *In:* Renal pathophysiology-recent advances, A. Leaf, G. Giebisch, L. Bolis and S. Gorini, Eds. Raven Press, 1980, p.l.

30 Louis, J., Moedder, E., Behin, R., and Engers, H. Recognition of protozoan parasite antigens by murine T lymphocytes I. Induction of specific T lymphocyte-dependent proliferative response to *Leishmania tropica*. Eur. J. Immunol. 1979. *9:* 841.

31 Wegmuller, E., Louis, J., and Hödler, J. Complement components, degradation products and immune complexes after kidney transplantation. *In:* Proceedings Europ. Dialysis and Transpl. Assoc. 1978, p. 289.

32 Louis, J., and Lambert, P.-H. LPS. From immunostimulation to autoimmunity, Springer seminars in immunopathol. 1979. *2:* 215.

33 Carpentier, N. A., Louis, J. A., Lambert, P.-H., and Cerottini, J.-C. Immune complexes in leukemia and adult malignancies. *In:* Human Cancer Immunology, B. Serrou and C. Rosenfeld, Eds. Elsevier/North-Holland. 1981, p. 111.

34 Engers, H., and Louis, J. Dissociation of the humoral and cell-mediated responses to alloantigens in mice by sublethal whole body irradiation. Scand. J. Immunol. 1979. *10:* 509.

35 Ishiyama, H., Louis, J. A., and Cerottini, J.-C. Polyclonal antibody synthesis and autoantibody formation in mice inoculated with murine Sarcoma virus. Clin. Immunol. and Immunopathol. 1980. *15:* 456.

36 Gasbarre, L. C., Hug, K., and Louis, J. A. Murine T lymphocyte specificity for African Trypanosomes: I. Induction of a T lymphocyte-dependent proliferative response to *Trypanosoma brucei*. Clin. and Experimental. Immunol. 1980. *41:* 97.

37 Belchu, A., Louis, J. A., Pugin, P., and Miescher, P. A. Immunopathological aspects of Leishmaniasis. Springer seminars in Immunopathol. 1980 *2:* 399.

38 Mauel, J., Behin, R., and Louis, J. A. Mechanisms of protective immunity in experimental Leishmaniasis. IV. Activation and destruction of infected macrophages by immune lymphocytes. Exp. Parasitol. 1981. *52:* 331.

39 Chapuis, B., Louis, J. A., Barrelet, L., Dialdas, J., Dragon, V., and Cerottini, J.-C. Complexes antigène anticorps circulants et cancer. Schweiz. med. Wschr. 1980. *110:* 796.

40 Martin-Achard, A., de Tribolet, N., Louis, J. A., and Zander, E. Immune complexes associated with brain tumors: Correlation with prognosis Surg. Neurol. 1980. *13:* 161.

41 Louis, J. A., Gasbarre, L. C., and Engers, H. Recognition of protozoan parasites by immune lymphocytes: Leishmania and African Trypanosomes. *In:* Immunological recognition and effector mechanisms in infectious diseases. G. Torrigiani and R. Bel, Eds. Swabe, Basel, 1981.

42 Gasbarre, L. C., Finerthy, J. F., and Louis, J. A. Non-specific immune responses in CBA/N mice infected with *Trypanosoma brucei*. Parasite Immunology. 1981. *4:* 273.

43 Louis, J. A., Moedder, E., MacDonald, H.R., and Engers, H. D. Recognition of protozoan parasites by murine T lymphocytes II. Role of H-2 gene complex interactions between antigen-presenting macrophages and Leishmania-immune T lymphocytes. J. Immunol. 1981. *126:* 1661.

44 Gasbarre, L. C., Hug, K., and Louis, J. A. Murine T lymphocyte specificity for African Trypanosomes II. Suppression of the T lymphocyte proliferative response to *Trypanosoma brucei* by systemic trypanosoma infection. Clin. exp. Immunol. 1981. *45:* 165.

45 Zubler, R. H., and Louis, J. A. Clonal assay for the helper-cells ($T_h$) and conditions for H-2 restricted linked cooperation between $T_h$ and hapten-primed B-cells. Application to the quantitation of hemocyanin or *Leishmania tropica*-specific $T_h$ in primed mice. J. Ummunol. 1981. *127:* 1924.

46 Engers, H. D., Louis, J. A., Zubler, R. H., and Hirt, B. Inhibition of T-cell mediated functions by MVM (i), a parvovirus closely related to minute virus of mice. J. Immunol. 1981. *127:* 2280.

47 Louis, J. A., Zubler, R. H., Coutinho, S. G., Lima, G., Behin, R., Mauel, J., and Engers, H.D. The *in vitro* generation and functional analysis of murine T-cell populations and clones specific for a protozoan parasite, *Leishmania tropica*. Immunological Reviews. 1982. *61:* 215.

48 Kanagawa, O., Louis, J. A., and Cerottini, J.-C. Elicitation of cytolytic T lymphocyte responses to the male (H-Y) antigen in non-responder CBA mice. *In:* Mechanisms of Lymphocyte Activation. K. Resch and H. Kirchner Eds. Elsevier/North Holland Biomedical Prom. Amsterdam. 1981, p. 404.

49 Kanagawa, O., Louis, J., and Cerottini, J.-C. Frequency and cross-reactivity of cytolytic T lymphocyte precursors reacting against male alloantigens. J. Immunol. 1982. *128:* 2362.

50 Engers, H. D., Coutinho, S. G., de Araujo Lima, G., and Louis, J. A. Functional analysis of the murine T lymphocyte immune response to a protozoan parasite, *Leishmania tropica*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1983, *78:* 105.

51 Louis, J. A., and Torrigiani, G. Parasite immunology within the scope of WHO activities. *In:* Immune Reactions to Parasites, W. Frank, Ed. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 1982, p.l.

52 Louis, J. A., Coutinho, S. G., Lima, G., and Engers, H. D. Analysis of T-cell immunity to *Leishmania tropica* in mice: an example of research activities conducted in a WHO immunology research and training centre. W. Frank. Ed. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 1982, p. 5.

53 Louis, J. A., Lima, G., Engers, H. D. Murine T lymphocyte responses specific for the protozoan parasites *Leishmania tropica* and *Trypanosoma brucei*. *In:* Clinics in Immunology and Allergy. A. Capron. Ed. W. B. Saunders, Louden, 1982. *2:* 597.

54 Kanagawa, O., Louis, J. A., Engers, H. D., and Cerottini, J.-C. Effect of sublethal whole-body irradiation on subsequent secondary cytolytic T-cell responses *in vitro*. J. Immunol. 1983. *130:* 24.

55 Goldman, M., Feng, H. M., Engers, H. D., Hochmann, A., Louis, J. A., and Lambert, P.-H. Autoimmunity and immune complex disease after neonatal induction of transplantation tolerance in mice. J. Immunol. 1983. *131:* 251.

56 Louis, J. A., Lima, G., Pestel, J., Titus, R., and Engers, H. D. Murine T-cell responses to protozoan and metazoan parasites: Functional analysis of T-cell lines and clones specific for *Leishmania tropica* and *Shistosoma mansoni*. Contemporary Topics in Immunobiology. 1984. *12:* 201.

57 Behin, R., and Louis, J. A. Immune response to Leishmania. Critical Review of Tropical Medicine. 1984. *2:* 141.

58 Finley, R., Weintraub, J., Louis, J. A., Engers, H. D., Zubler, R., and Lambert, P.-H. Prevention of cerebral malaria by adoptive transfer of malaria-specific cultured T-cells into mice infected with *Plasmodium berghei*. J. Immunol. 1983. *131:* 1522.

59 Feng, H., Glacebrook, A., Engers, H. D., and Louis, J. A. Clonal analysis of T-cell unresponsiveness to alloantigens induced by neonatal injection of $F_1$ spleen cells into parental mice. J. Immunol. 1983. *131:* 2165.

60 Haregewoin, A., and Louis, J. A. Characterization and functional studies of the murine T-lymphocyte response to *Mycobacterium leprae* antigen. Scand. J. Immunol. 1983. *18:* 225.

61 Titus, R. G., Kelso, A., and Louis, J. A. Intracellular destruction of *Leishmania tropica* by macrophages activated with macrophages activating factor/interferon. Clin. Exp. Immunol. 1984. *55:* 157.

62 Countinho, S. G., Louis J. A., Mauel, J., and Engers, H. D. Induction by specific T lymphocytes of intracellular destruction of *Leishmania major* in infected murine macrophages. Parasite Immunology. 1984. *6:* 157.

63 Engers, H. D., Lahaye, T., Brunner, K. T., Titus, R. G., and Louis, J. A. Functional activities of murine T-cell clones *in vivo*. *In:* T-cell clones, H. von Boehmer and W. Hass, Eds. Elsevier Science Publishers B.V., 1985, p. 209.

64 Lima, G., Engers, H. D., and Louis, J. A. Adoptive transfer of delayed-type hypersensitivity reactions specific for *Leishmania major* antigens to norma mice using murine T-cell populations and clones generated *in vitro*. Clin. exp. Immunol. 1984. *57:* 130.

65 Louis, J. A., Feng, H. M., and Engers, H. D. Models of experimentally induced immunological tolerance which serve as probes to analyse the cellular basis of autoimmunity. *In:* Recent advances in SLE, Lambert, P. H., Perrin, L. and Izui, S., Eds. Academic Press. 1984. p. 25.

66 Titus, R. G., Lima, G. C., Engers, H. D., and Louis, J. A. Exacerbation of murine cutaneous leishmaniasis by adoptive transfer of parasite-specific helper T-cell populations capable of mediating *Leishmania major*-specific delayed-type hypersensitivity. J. Immunol. 1984. *133:* 1594.

67 Titus, R. G., Marchand, M., Boon, Th., and Louis, J. A. A limiting dilution assay for quantifying *Leishmania major* in tissues of infected mice. Parasite Immunology. 1985. *7:* 545.

68 Pestel, J., Dissous, C., Dessaint, J. P., Louis, J. A., Capron, A., and Engers, H. D. Specific *Shistosoma mansoni* rat T-cell clones. I. Generation and functional analysis *in vitro* and *in vivo*. J. Immunol. 1985. *134:* 4132.

69 Titus, R. G., Ceredig, R., Cerottini, J.-C., and Louis, J. A. Therapeutic effect of anti-L3T4 monoclonal antibody GK 15 on cutaneous leishmaniasis in genetically-susceptible BALB/c mice. J. Immunol. 1985. *135:* 2108.

70 Pedrazzini, Th., and Louis, J. A. Functional analysis *in vitro* and *in vivo* of *mycobacterium bovis* strain BCG-specific T-cell clones. J. Immunol. 1986. *136:* 1828.

71 Milon, G., Titus, R. G., Cerottini, J.-C., Marchal, G., and Louis, J. A. Higher frequency of *Leishmania major*-specific $L3T4^+$ T-cells in susceptible BALB/c as compared to resistant CBA mice. J. Immunol. 1986. *136:* 1467.

72 Louis, J. A., Titus, R. G., Marchal, G., Milon, G., Cerottini, J.-C. Excessive number of L3T4$^+$ parasite-specific T lymphocytes capable of mediating specific delayed-type hypersensitivity in lymphoid tissues of genetically-susceptible (BALB/c) mice infected with *Leishmania major*. *In:* Progress toward better vaccines, G. Torrigiani, Ed., Oxford University Press, Oxford, 1986, p. 26.

73 Louis, J. A., and Lambert, P. H. Making the immune system work. Immunology today. 1985. *9:* 251.

74 Louis, J. A. Analysis of specific T-cell responses in murine cutaneous leishmaniasis. *In:* Proceedings IXth International Congress of infectious and parasitic Diseases, W. Morget, W. Lang and E. Gabler-Sandberger, Eds., Medizin Verlag München 1986, p. 56.

75 Grau, G. E., Piguet, P. F., Engers, H. D., Louis, J. A., Vassalli, P., and Lambert, P. H. L3T4$^+$ lymphocytes play a major role in the pathogenesis of murine cerebral malaria. J. Immunol. 1986. *137:* 2348.

76 Louis, J. A., Mendonça, S., Titus, R. G., Cerottini, J.-C., Cerny, A., Zinkernagel, R., Milon, G., and Marchal, G. The role of specific T-cell subpopulation in murine cutaneous leishmaniasis. *In:* Progress in Immunology No. 6. Cinader and Miller, Eds., Academic Press, 1987, p. 762.

77 Louis, J. A., Titus, R. G., Mendonça, S., Marchal, G. and Milon, G., Attempts to assess the contribution of T lymphocytes from the L3T4$^+$ and Lyt 2$^+$ subsets in the immunological control of cutaneous leishmaniasis. Leprosy Review, 1986. *57:* 255.

78 Marchand, M., Daoud, S., Titus, R. G., Louis, J. A., and Boom, Th. Variants with reduced virulence derived from *Leishmania major* after mutagen treatment. Parasite Immunology, 1987. *9:* 81.

79 Titus, R. G., Milon, G., Marchal, G., Vassalli, P., Cerottini, J.-C., and Louis, J. A. Involvement of specific Lyt-2$^+$ T-cells in the Immunological Control of experimentally induced Murine cutaneous Leishmaniasis. Eur. J. Immunol. 1987. In press.

80 Pedrazzini, Th., and Louis J. A. Assessment of the importance of L3T4$^+$ and Lyt-2$^+$ cells in the immunological control of infection with Mycobacterium bovis strain BCG in mice. J. Immunol. 1987. In press.

81 Louis, J., and Cerottini, J.-C. Reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T et B. Ann. Biol. Clin. 1987. In press.

1 Louis, J. A., Chiller, J. M. and Weigle, W. O. Quantitation of antigen binding cells to HGG in normal, immune and unresponsive mice. Fed. Proc., 1972. *31:* 635.

2 Louis, J. A., Chiller, J. M. and Weigle, W. O. Cellular studies of the capacity of bacterial endotoxin to modulate the induction of unresponsiveness to a state of immunity. Fed. Proc., 1973. *32:* 1001.

3 Louis, J. A., Chiller, J. M. and Weigle, W. O. Effect of bacterial lipopolysaccharide on tolerance induction. Fed. Proc., 1974. *33:* 723.

4 Louis, J. A., and Engers, H. Effect of irradiation on the immune response induced by allogeneic spleen cells in mice. *In:* Proceedings of the 4th European Immunology Meeting, 1978. 77.

5 Louis, J. A., Kobayakawa, T. and Lambert, P. H. Polyclonal antibody synthesis and autoantibody formation during murine experimental trypanosomiasis. Z. Immuno. Forsch. 1978. *154:* 383.

6 Louis, J. A., Moedder, E., Behin, R. and Engers, H. Induction of specific T cell-dependent proliferative response *in vitro* to Leishmania parasites. J. of supramol. struct. 1979. *9:* 298.

7 Moedder, E., Engers, H., and Louis, J. A. Protozoan parasite-induced proliferative response of primed T lymphocytes. Immunobiol. 1979. *156:* 205.

8 Kanagawa, O., Louis, J. A., and Engers, H. Effect of whole-body irradiation on the 2D CTL response induced *in vitro* by particulate alloantigen preparations. Proceedings of the 4th International Congress of Immunology, 1980.

9 Gasbarre, L. C., and Louis, J. A. Specific T lymphocyte response to *trypanosome brucei* in mice. Proceedings of the 4th International Congress of Immunology, 1980.

10 Moedder, E., Engers, E., and Louis, J. A. Role of H-2 gene complex in the interactions between Leishmania-immune T cells and macrophages. Proceedings of the 4th International Congress of Immunology, 1980.

11 Zubler, R. H., and Louis, J. A. B cell responses *in vitro* against haptenated Leishmania tropica require both non specific helper factors and linked, syngeneic T-B cooperation. Fed. Proc. 1981, *40:* 958.

12 Kanagawa, O., Louis, J. A. and Cerottini, J.-C. Generation of cytotoxic T lymphocytes to the male specific antigen (H-Y) in non-responder CBA mice. Immunobiol. 1981. *159:* 57.

13 Titus, R. G., Kelso, A., and Louis, J. A. Specific T cell responses during *Leishmania tropica* infection. Fed. Proc. 1983. *42:* 856.

14 Titus, R. G., Engers, H., and Louis, J. A. Exacerbation of *Leishmania major* infection by T cell populations mediating specific delayed type hypersensitivity. Fed. Proc. 1984, *43:* 1420.

15 Louis, J. A., Titus, R. G., Engers, H., Marchal, G., and Milon, G. Effect of *Leishmania major*-specific T cell populations and clones in the course of infection in susceptible BALB/c mice. Immunobiology. 1984, *167:* 213.

16 Titus, R. G., Engers, H., and Louis, J. A. Modulation of murine cutaneous leishmaniasis by adoptive transfer of parasite-specific T cell populations and clones propagated *in vitro*. Proceedings of the 6th European Immunology Meeting. 1984, p. 437.

17 Titus, R. G., and Louis, J. A. Therapeutic effect of anti-L3T4 antibody on cutaneous leishmaniasis in susceptible BALB/c mice. Fed. Proc. 1985, *44*: 1173.

18 Louis, J. A., Titus, R., Marchal, G., and Milon, G. Excessive number of L3T4$^+$ parasite-specific T cells capable of mediating DTH reactions in lymphoid tissues of genetically susceptible (BALB/c) mice infected with *L. major*. *In:* Proceedings of the 7th European Immunology Meeting, 1985, p. 65.

19 Grau, G. E., Piguet, P. F., Engers, H. D., Louis, J. A., Vassali, P., and Lambert, P. H. Involvement of L3T4$^+$ Lymphocyte subset in the pathogenesis of murine cerebral malaria. *In:* Proceedings of the 6th International Congress of Immunology, Toronto, 1986, p. 640.

20 Titus, R. G., and Louis, J. A. Exacerbation of murine cutaneous leishmaniasis by adoptive transfer of Leishmania-major specific T cells: Possible mechanisms. *In:* Proceedings of the 6th International Congress of Immunology, Toronto, 1986, p. 644.

21 Pedrazzini, Th., and Louis, J. A. Study of the role of T cell subpopulations on mycobacteria bovis strain BCG infection in mice. *In:* Proceedings of the 6th International Congress of Immunology, Toronto, 1986, p. 644.

# LAUDATIO AUF HERRN PROFESSOR DR. JOACHIM H. SEELIG

*Prof. Dr. Kurt Wüthrich*

Die magnetische Resonanzspektroskopie von Atomkernen und Elektronen wurde vor über 40 Jahren erstmals beobachtet und hat in der Folge rasch wichtige Anwendungsgebiete in der Physik und Chemie gefunden. Forschungsbeiträge aus der Schweiz haben in diesen frühen Jahren eine bedeutende Rolle gespielt und auch dazu geführt, dass sich in unserem Land eine leistungsfähige Industrie auf dem Gebiet der Herstellung von magnetischen Resonanzgeräten entwickelt hat. Im Gefolge von bedeutenden instrumentellen und methodischen Fortschritten ergaben sich seit etwa 1970 neue attraktive Anwendungen der magnetischen Resonanzspektroskopie in der biologischen und medizinischen Forschung und der medizinischen Diagnostik. Joachim Seelig hat ganz wesentlich dazu beigetragen, dass die Schweiz auch in dieser neuen Ära der Elektronen- und Kernspinresonanz von Anfang an mithalten konnte und heute eine auch international bedeutende Stellung einnimmt.

Seine wissenschaftliche Ausbildung führte Joachim Seelig vom Studium der Chemie und Physik an der Universität Köln über ein einjähriges Ergänzungsstudium in Mathematik und Physik zur Dissertation im von Professor M. Eigen geleiteten Max-Planck-Institut für Physikalische Chemie in Göttingen und zur Promotion an der Technischen Universität Braunschweig. Nach einem Forschungsaufenthalt bei Professor H. M. McConnell an der Stanford University kam 1970 der Arbeitsbeginn an der Universität Basel in der Gruppe von Professor G. Schwarz, dem in der Folge die Habilitation und die Ernennung zum Extraordinarius und zum Ordinarius folgten.

In seiner Diplomarbeit beschäftigte sich Joachim Seelig mit der Herstellung und den elektrischen Eigenschaften von Bipolarmembranen. Diese erste Forschungsarbeit hat eine langjährige wissenschaftliche Tätigkeit mit biologischen Membranen eingeleitet, die auch heute noch einen wesentlichen Teil der Tätigkeit der Arbeitsgruppe Seelig darstellt. In sorgfältiger und origineller Weise wurden verschiedene Elektronenspinresonanz- und Kernspinresonanzmethoden für Untersuchungen von Membranen herangezogen. Ein besonders wichti-

ger Beitrag, der weltweit die Arbeiten auf diesem Gebiet beeinflusste, war die Herstellung von selektiv deuterierten Lipidmolekülen und die Anwendung der Deuterium-Resonanzspektroskopie für Untersuchungen der Struktur von Lipidmembranen. Diese Methode erlaubt einen besonders direkten Einblick in die Art und Weise, wie die einzelnen Bausteine beim Aufbau der multimolekularen Membranstruktur eingeordnet werden. Von besonderem Interesse und für eine Vielzahl von physiologischen Prozessen wohl von entscheidender Bedeutung sind dabei die dynamischen Eigenschaften dieser hochgeordneten Strukturen. Die magnetische Kernresonanzspektroskopie hat den gewichtigen Vorteil gegenüber anderen Methoden, dass für Studien der statischen und dynamischen Struktureigenschaften keine störenden Fremdmoleküle in die Membran eingeführt werden müssen. Sie ist deshalb auch erfolgreich eingesetzt worden, um den Einfluss solcher Fremdmoleküle auf die mit anderen spektroskopischen Methoden erhaltenen Strukturparameter zu überprüfen. Nachdem diese Arbeiten anfänglich bevorzugt an synthetischen Lipidmembranmodellen durchgeführt wurden, konzentrierten sich die Untersuchungen in den letzten Jahren vor allem auf Lipid-Protein-Wechselwirkungen in biologischen Membranen, die als Steuerungsmechanismen eine Vielzahl von Lebensvorgängen mitbeeinflussen.
Seit mehreren Jahren hat Joachim Seelig ein zweites umfangreiches Forschungsprogramm in Angriff genommen auf dem Gebiete der *Invivo*-Kernresonanzspektroskopie für Studien von Stoffwechselfragen. Neben der Anwendung in der Grundlagenforschung ist diese Methodik auch von Interesse für die medizinische Diagnostik. Auch diese neue Arbeitsrichtung zeitigte sehr bald schöne Erfolge. Insbesondere sind die Entwicklungsarbeiten über volumenselektive Radiofrequenzanregung zu erwähnen. Diese neue Methodik wurde bereits in einer Vielzahl von Tierversuchen erprobt, und seit 1985 folgten auch Publikationen über Anwendungen mit menschlichen Patienten. Die Initiative und der Weitblick von Joachim Seelig haben entscheidend dazu beigetragen, dass die Universität Basel an der weltweit stürmischen Entwicklung der Magnetresonanzanwendungen in der Medizin mitbeteiligt ist. Neben dem rein wissenschaftlichen Interesse gereicht dies ohne Zweifel auch zum Vorteil einer grossen Zahl von erkrankten Mitmenschen, zu denen auch Sie und ich eines Tages gehören könnten.

Der heutige Tag bildet naturgemäss einen Anlass zur Rückschau. Den Glückwünschen zu den Erfolgen der vergangenen Jahre möchte ich aber auch den Wunsch nach vielen weiteren Jahren der befriedigenden und erfolgreichen wissenschaftlichen Arbeit anschliessen.

DER GLOETTA-PREIS 1997
WIRD

HERRN PROFESSOR

# JOACHIM HEINRICH SEELIG

GEBOREN 1941 IN KÖLN
PROFESSOR AM BIOZENTRUM DER UNIVERSITÄT BASEL
ABTEILUNG FÜR BIOPHYSIKALISCHE CHEMIE
IN ANERKENNUNG SEINER RICHTUNGWEISENDEN UNTERSUCHUNGEN
ÜBER ANWENDUNG DER KERNRESONANZSPEKTROSKOPIE
IM BEREICH BIOLOGISCHER MEMBRANEN
UND DER KLINISCHEN MEDIZIN VERLIEHEN

ZÜRICH, 27. NOVEMBER 1997

FÜR DEN STIFTUNGSRAT:

DER PRÄSIDENT: DER VIZEPRÄSIDENT:

DER AKTUAR:

Professor Dr. Joachim H. Seelig

## CURRICULUM VITAE

*Seelig, Joachim Heinrich, Dr. rer. nat., Dipl. Chemiker*
*Geboren am 29. März 1942 in Köln*
*Verheiratet mit Dr. phil. Anna Seelig, geb. Löffler; 3 Kinder*

| | |
|---|---|
| 1948–1961 | Primarschule und Naturwissenschaftliches Gymnasium in Köln |
| 1961–1966 | Studium der Chemie und Physik an der Universität Köln, Dipl. Chemiker |
| 1966–1967 | Ergänzungsstudium in Mathematik und theoretischer Physik, Stipendiat der Stiftung Volkswagenwerk |
| 1966–1968 | Dissertation im Max-Planck-Institut für physikalische Chemie, Göttingen, und im Institut für Molekularbiologie, Braunschweig, mit Promotion zum Dr. rer. nat. an der TU Braunschweig |
| 1968–1970 | Research Associate, Stanford University, Cal., USA |
| 1970–1972 | Wissenschaftlicher Assistent, Physikalisch-Chemisches Institut, Universität Basel |
| 1972 | Habilitation in Biophysikalischer Chemie |
| 1974 | Ernennung zum Extraordinarius und Forschungsgruppenleiter am Biozentrum der Universität Basel |
| 1982 | Ernennung zum Ordinarius für Strukturbiologie am Biozentrum |
| Arbeitsgebiete: | 1 Struktur biologischer Membranen<br>2 Entwicklung von Magnetischer Resonanz als medizinische Diagnostikmethode |

# MAGNETISCHE RESONANZ – EIN «MAGNETISCHES AUGE» ZUR UNTERSUCHUNG DER LEBENSVORGÄNGE IN VIVO

*Prof. Dr. Joachim Seelig*

Zeitungsanzeigen haben darauf aufmerksam gemacht: «Der Mensch wird durchsichtig». Gemeint ist ein neues Verfahren der diagnostischen Medizin, das gegenwärtig seinen Einzug in den klinischen Alltag hält. Diese neue Methode, Magnetische Resonanz (MR) genannt, erlaubt die Abbildung der inneren Organe des Körpers ohne Verwendung von Röntgenstrahlen und mit einer Qualität, die derjenigen des Röntgenbildes zumindest gleichwertig und in vielen Fällen sogar überlegen ist. Als Beispiel zeigt Abbildung 1 ein MR-Bild vom Kopf des Autors. Schwarz erscheinen Knochen und Lufthöhlen; die Gewebe dagegen werden je nach ihrem Wasser- und Fettgehalt als helle Strukturen abgebildet. Die MR-Bildgebung eignet sich daher besonders zur Abbildung von wasserhaltigen Geweben jeglicher Zusammensetzung, und die neue Methodik hat heute bereits eine grosse technologische Reife erreicht.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Magnetischen Resonanz steckt dagegen noch in den Kinderschuhen und soll im folgenden ausführlicher diskutiert werden. Als Zukunftsperspektive deutet sich nämlich an, dass bestimmte chemische Substanzen und biochemische Vorgänge in den Körperzellen ohne chirurgischen Eingriff direkt gemessen werden können. Man spricht in diesem Fall von Magnetischer Resonanz-Spektroskopie (MRS).

## *1. Was ist Magnetische Resonanz?*

Physikalisch korrekt sollte man von Kernmagnetischer Resonanz sprechen, da es sich um die magnetischen Eigenschaften der Atom*kerne* handelt. Seit vielen Jahren ist daher in der Physik der Ausdruck *N*uclear *M*agnetic *R*esonance = NMR gebräuchlich. Erst die medizinischen Anwendungen der NMR-Methode haben dazu geführt, den Vorspann «Nuclear» fallen zu lassen, um fälschliche Assoziationen mit strahlenden Nukliden oder Nuklearreaktionen zu vermeiden.

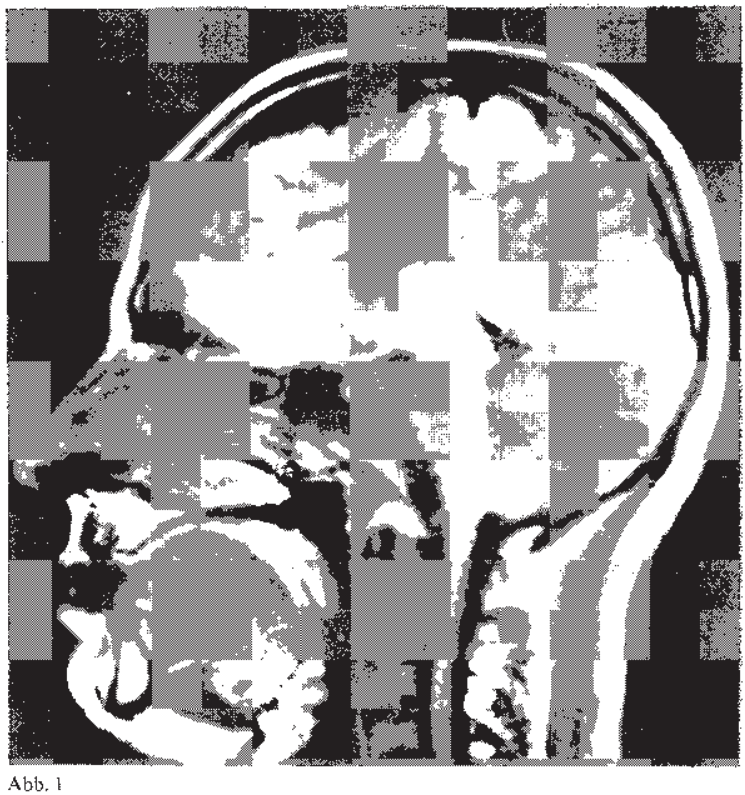


Abb. 1
Magnetisches Resonanzbild. Die Schichtdicke beträgt 1 cm; Aufnahmezeit 4 min.

Die ersten erfolgreichen kernmagnetischen Resonanzexperimente wurden einerseits von Bloch, Hansen und Packard (1946) in Stanford und andererseits von Purcell, Torrey und Pound im selben Jahr in Harvard durchgeführt. Bloch und Purcell wurden für diese Leistung 1952 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet. Felix Bloch stammte übrigens aus Zürich und wanderte 1934 nach den USA aus.

Wie sieht nun das NMR-Experiment aus? Die meisten Atomkerne haben ein magnetisches Moment, und sie besitzen daher ähnliche Eigenschaften wie Kompassnadeln. Aus der Alltagserfahrung wissen

wir, dass sich eine Kompassnadel immer entlang der Nord-Süd-Achse ausrichtet, d. h. parallel zur Richtung des Magnetfelds der Erde. Gleiches gilt auch für die atomaren Magnete in einem Magnetfeld. Bringen wir sie in ein starkes Magnetfeld, so werden sie durch dieses Feld ausgerichtet. Leider endet aber hier bereits der Vergleich zur Kompassnadel. Für die Kompassnadel gibt es nur *eine* stabile Orientierungsmöglichkeit, die Nord-Süd-Richtung; für die atomaren Elementarmagnete gelten dagegen die Gesetze der Quantenmechanik. Im einfachsten Fall, z. B. für die Wasserstoffatome im Wassermolekül, bedeutet das, dass immerhin zwei Orientierungen möglich sind: Die Kompassnadel des Atomkerns kann sich entweder parallel oder antiparallel zum äusseren Magnetfeld einstellen. Diese beiden Orientierungsmöglichkeiten besitzen leicht verschiedene Energien: Die antiparallele Orientierung hat eine grössere Energie als die parallele Orientierung. Im MR-Experiment wird nun eine elektromagnetische Welle eingestrahlt, die der Energiedifferenz zwischen den beiden Orientierungen der Kernmagnete entspricht. Durch diese sogenannte «Resonanzfrequenz» werden die atomaren Kerne «umgeklappt», und die dazu notwendige Arbeit wird elektronisch registriert.

Entscheidend für das Gelingen des NMR-Experiments ist also die genaue Einhaltung der Resonanzbedingung. Praktisch geht man so vor, dass man die Probe in ein konstantes Magnetfeld bringt und dann die Frequenz der eingestrahlten Wellen kontinuierlich variiert. Gleichzeitig misst man die Energieabsorption. Solange die Resonanzbedingung nicht erfüllt ist, bleibt der Schreiber auf der Nullinie, trifft man dagegen eine Resonanzstelle, so zeigt der Schreiber einen Ausschlag, und man erhält eine NMR-Resonanzlinie.

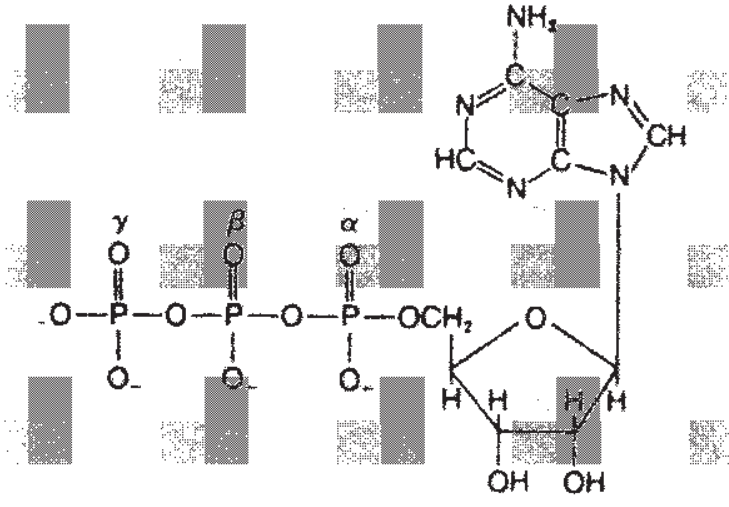
Die atomaren magnetischen Momente sind sehr klein, und entsprechend klein sind auch die Energiedifferenzen zwischen den Orientierungszuständen. Es ist intuitiv einsichtlich, dass die Abstände zwischen den Niveaus grösser werden müssen, wenn man das Magnetfeld vergrössert. Um überhaupt einen guten Messeffekt zu erhalten, arbeitet man üblicherweise mit Magnetfeldern in der Grössenordnung von 2 Tesla. Zum Vergleich dazu: In unseren Breiten hat das erdmagnetische Feld eine Vertikalkomponente von 0,02 mT, ist also fast 100 000mal schwächer als unser Elektromagnet. Aber auch bei einem Feld von 2,35 Tesla, das häufig für *In-vivo*-Experimente ver-

wendet wird, ist die Energiedifferenz sehr klein und entspricht für die Wasserstoffatome im Wasser einer Resonanzfrequenz von 100 MHz. Das ist ziemlich genau die Frequenz der Ultrakurzwellen unserer Radios und zeigt die Ungefährlichkeit der verwendeten elektromatischen Wellen. Häufig wird die Energie in Einheiten von Elektronen-Volt (eV) oder in Kalorien (cal) gemessen. Es gilt hier, dass 100 MHz ungefähr $4 \times 10^{-7}$ eV oder 0,01 cal/Mol entsprechen. Die Energie der Brownschen Molekularbewegung bei Zimmertemperatur ist im Vergleich dazu viel grösser, nämlich etwa 600 cal/Mol. Die Energien der Röntgenstrahlen liegen in der Grössenordnung von einigen eV. Für die Anwendung der NMR-Methode auf Untersuchungen *in vivo*, sei es am Tier oder am Menschen, ist daher festzuhalten, dass die verwendete elektromagnetische Strahlung *weder schmerzhaft noch schädigend ist*. Negative Auswirkung der verwendeten Magnetfelder auf biologische Systeme sind ebenfalls nicht bekannt [1].

*2. Magnetische Resonanz misst biochemische Substanzen im lebenden Gewebe*

Alle Atomkerne haben zumindest *ein* Isotop mit einem magnetischen Moment. Als wichtigste Atomkerne für medizinische Fragestellungen sind zu nennen Wasserstoff ($^{1}$H), Kohlenstoff-13 ($^{13}$C) und Phosphor ($^{31}$P). Die magnetischen Momente dieser 3 Atome sind ganz verschieden, so dass man für jedes Isotop eine andere Resonanzfrequenz findet. Bei einem Feld von 2,35 Tesla ergeben sich als Resonanzfrequenz für Wasserstoff 100 MHz, für Kohlenstoff 25 MHz und für Phosphor 40,5 MHz. Aufgrund dieser physikalischen Gegebenheiten ist daher eine *Verwechslung* oder Überlagerung der verschiedenen Isotope *ausgeschlossen*.

Beschränken wir uns also auf einen einzelnen Atomkern und fragen, welchen analytischen Nutzen wir aus einem NMR-Experiment ziehen können. Der wichtigste analytische Effekt ist die sogenannte *chemische Verschiebung*. Experimentell findet man, dass die Resonanzfrequenz für ein und denselben Kern deutlich vom chemischen Bindungszustand des Kerns abhängt. Betrachten wir zum Beispiel das Phosphor-NMR-Spektrum von Adenosintriphosphat (ATP), einer Verbindung, die eine zentrale Rolle im Energiehaushalt aller lebenden Systeme spielt. Das NMR-Spektrum in Abbildung 2 zeigt für ATP drei Resonanzlinien, die je einem der Phosphorkerne zugeord-




Strukturformel von Adenosintriphosphat (ATP)

net werden können. Alle drei Linien haben die gleiche Intensität, wie das aufgrund der chemischen Strukturformel zu erwarten ist.

Ähnlich wie ATP haben auch andere phosphorhaltige Verbindungen ein ganz charakteristisches NMR-Spektrum. Zwei der wichtigsten Resonanzlinien sollen das vorliegende Spektrum ergänzen. Es handelt sich um das Kreatinphosphat (PCr) und anorganisches Phosphat ($P_i$). Die Resonanzlinie des Kreatinphosphats ist weitgehend unabhängig von äusseren Einflüssen wie pH-Wert, Ionenkonzentrationen usw. und wird daher häufig als Referenzlinie benützt. Ebenfalls gut getrennt von den anderen Linien ist die Absorption des anorganischen Phosphats.

Das diskutierte Spektrum ist nun in der Tat bereits eine erste Anwendung von NMR auf ein biologisches System. Es handelt sich nämlich um das Phosphor-MR-Spektrum eines menschlichen Unterarms, genauer um das Spektrum derjenigen Muskeln, die die Fingerbewegung kontrollieren. Auch wenn man hier noch keine Absolutkonzentrationen angeben kann, so sieht man doch sofort, dass die Resonanzlinie des Kreatinphosphats um etwa den Faktor 5 intensiver ist als die des ATP; d. h. diese Messung am intakten Muskel gibt

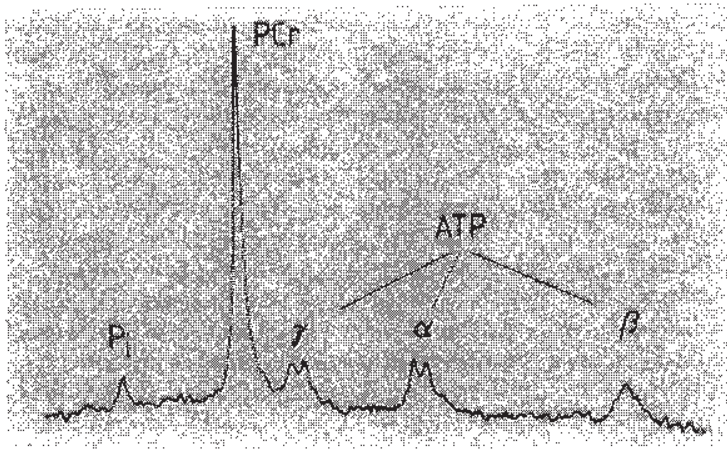
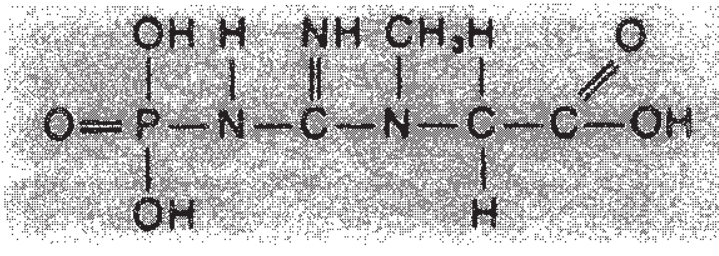



Abb. 2
NMR-Spektrum eines Unterarms in Ruhe. Die Signale können anorganischem Phosphat ($P_i$), Kreatinphosphat (PCr) und den Phosphoratomen des Adenosintriphosphats (ATP) zugeordnet werden [2].

uns sofort die *Konzentrationsverhältnisse* der beteiligten Metaboliten. Die Konzentration des ATP im gesunden, unbelasteten Muskel ist also ungefähr um den Faktor 5 kleiner als die des PCr. Um mit den Methoden der klassischen Biochemie dieses Ergebnis zu erhalten, müsste man zunächst ein Stück Muskel herausschneiden und dann die einzelnen Komponenten in zeitraubenden Arbeitsgängen isolieren. Die Aufnahme des Phosphorspektrums dauert dagegen nur ein bis zwei Minuten [3].
Die NMR-Methode erlaubt die Beantwortung von biologischen Fra-




Strukturformel des Kreatinphosphats

gestellungen, die anderen Methoden bisher nicht zugänglich waren:
(1) Welche Metaboliten sind *frei in Lösung*, welche sind *gebunden?* Im Muskelspektrum mag überraschen, dass keine Resonanzlinien für Adenosindiphosphat (ADP), das Hydrolyseprodukt des ATP, beobachtet werden. Das liegt daran, dass die Konzentration des freien ADP sehr klein ist ($\simeq$ 20 µM). Dagegen betragen die freien Konzentrationen von ATP $\simeq$ 4 mM (pro kg Nassmaterial) und anorganischem Phosphat $\simeq$ 2 mM. Mit anderen analytischen Methoden, z. B. dem «freeze-clamping», hat man deutlich höhere ADP-Werte bestimmt. Beim «freeze-clamping» wird das Gewebestück mittels Nadelbiopsie herausgenommen, sehr schnell eingefroren, extrahiert und dann mit konventionellen chemischen Methoden analysiert. Die Diskrepanz kann erklärt werden durch zwei Effekte. Im Phosphor-MR-Experiment bestimmt man nur das freie ADP; das meiste ADP ist aber an das Muskel-Myosin gebunden. Die Phosphor-Resonanzen dieses gebundenen ADP sind aber zu breit, um beobachtet werden zu können. Zweitens wird bei der Biopsie ein Teil des ATP zu ADP hydrolysiert und führt zu einer Verfälschung des ADP-Wertes *in vivo*.
(2) Welches sind die Eigenschaften des zellulären Milieus? Im speziellen: Wie gross ist der pH-Wert *in vivo?* pH-Wert-Messungen werden möglich, weil die Resonanzlinie des anorganischen Phosphats vom pH-Wert abhängig ist. Anorganisches Phosphat kommt als $HPO_4^{2-}$ und $H_2PO_4^-$ (pK $\simeq$ 6,8) vor. Der Unterschied in der chemischen Verschiebung der beiden Spezies beträgt 2,4 ppm. Das erlaubt eine Messung des pH-Werts *in vivo* mit einer absoluten Genauigkeit von besser als 0,1 pH-Einheiten und einer relativen Genauigkeit von besser als 0,05 pH-Einheiten.
(3) Wie ändert sich die Metabolitenkonzentration? Wenn der Muskel arbeitet, werden ATP und Kreatinphosphat verbraucht. Man kann diesen Prozess *in vivo* verfolgen und im NMR-Gerät differenzieren, ob das Muskelgewebe an der betreffenden Stelle normal durchblutet ist oder ob eine Stenose besteht. Das Prozedere ist einfach: Die Testperson steckt das Bein in den Magneten, man bindet den Blutfluss kurz ab, und durch Niederdrücken eines Fusspedals wird Muskelarbeit geleistet. Nach zwei bis drei Minuten wird die Binde wieder gelockert. Wenn man nun alle 10 sec das Phosphorspektrum aufnimmt, so sieht man, dass während der Ischämie die

Konzentration an Kreatinphosphat stark abnimmt. Nach Lösen der Binde wird jedoch im gesunden Bein das Kreatinphosphat auch rasch wieder aufgebaut; die Erholzeit beträgt etwa 50 sec. Anders bei Patienten mit Gefässverschluss: Die Neusynthese von Kreatinphosphat verläuft wesentlich langsamer. An Patienten mit Femoralis-Stenosen beobachteten wir Relaxationszeiten von bis zu mehreren Minuten, die mit der Schwere der Krankheit korreliert werden konnten [4].
Dieses Beispiel zeigt auch die potentiellen Möglichkeiten von NMR in der medikamentösen Behandlung. Der Erfolg oder Misserfolg eines Präparats kann unmittelbar und in kurzer Zeit im NMR-Spektrometer kontrolliert werden. Die Untersuchung ist rasch beendet und für den Patienten weder mühsam noch schmerzhaft.

*3. Warum erst heute magnetische Resonanz in vivo?*
Die NMR-Methode ist schon seit mehr als 30 Jahren ein wichtiges Hilfsmittel des Chemikers. Eine Strukturaufklärung chemischer Verbindungen ohne entsprechende NMR-Spektren ist heute fast nicht mehr denkbar. Warum haben dann *In-vivo*-Anwendungen so lange auf sich warten lassen? Es wurde eingangs darauf hingewiesen, dass mit den verschiedenen Kernorientierungen nur geringfügige Energiedifferenzen verbunden sind. Um genügend grosse Messeffekte zu erzielen, muss man beträchtliche Magnetfelder anwenden. An dieses Magnetfeld muss weiterhin die Anforderung gestellt werden, dass es über das gesamte zu vermessende Volumen *homogen* ist, andernfalls würde man eine Verbreiterung der Resonanzlinien, verbunden mit einem deutlichen Intensitätsverlust, beobachten. Erst durch den Bau und die kommerzielle Verbreitung von supraleitenden Magnetspulen ist es vor wenigen Jahren gelungen, Magneten zu entwickeln, die die Anforderungen von genügend hohem Feld, genügender Homogenität und genügend grosser Arbeitsöffnung (30 cm bis 1 m) erfüllen. Ein Magnetdurchmesser von 30 cm genügt, um kleinere Tiere oder einen menschlichen Arm oder ein menschliches Bein aufzunehmen, wie Abbildung 3 zeigt. Ganzkörperuntersuchungen verlangen dagegen einen Magneten mit einer 1-m-Öffnung.
Ein grosser Magnet reicht alleine aber noch nicht aus. Da man gezielt einzelne Organe oder sogar nur kleine Regionen innerhalb desselben Organs untersuchen möchte, benötigt man geeignete Selek-

Abb. 3
Experimentalgerät im Biozentrum der Universität Basel für MR-Untersuchungen *in vivo*. Das Bein der Testperson befindet sich im Magneten. Die Elektronik im Hintergrund dient zur Aufnahme und Verarbeitung der Messsignale.

tionsverfahren. Idealerweise sollte eine MR-spektroskopische Untersuchung wie folgt verlaufen. Zunächst wird vom Patienten ein Magnetbild hergestellt, um so die kranke Region zu erkennen. Mit einem elektronischen Schreibstift wird auf dem Bildschirm dieses Gebiet abgegrenzt und davon anschliessend ein NMR-Spektrum aufgenommen. Aus den beobachteten Resonanzlinien lassen sich Rückschlüsse über die biochemische Natur der krankhaften Veränderungen ziehen, und auf dem gleichen Weg ist auch eine Therapiekontrolle möglich.

Ein zentrales Problem der *In-vivo*-MR-Spektroskopie ist daher die Entwicklung geeigneter Selektionsverfahren. Die einfachste Methode ist die Verwendung von Oberflächenspulen. Bringt man auf die Haut des Patienten eine kleine Spule als Sonde auf, so kann man damit ein Volumen unterhalb der Spule anregen, das ungefähr einer Halbkugel

mit dem Durchmesser der Spule entspricht. Dieses Verfahren genügt, um Muskelgewebe, das nicht zu weit von der Oberfläche entfernt liegt, einigermassen genau auszumessen. Für die meisten Organe reicht die Eindringtiefe einer kleinen Oberflächenspule nicht aus; geht man dann zu einer grossen Oberflächenspule über, so vergrössert man zwar die Eindringtiefe, gleichzeitig regt man aber den gesamten Zylinder unterhalb der Spule an. Um eine bessere Selektion zu erreichen, muss man zusätzlich ähnliche elektronische Hilfsmittel anwenden, wie sie in der MR-Bilderzeugung zum Einsatz kommen. Durch Kombination von zeitlich variierenden Magnetfeldern und gepulsten Radiowellen erreicht man eine «Fokussierung» des Magnetfelds auf einen kleinen Volumenbereich. Verschiedene Selektionsverfahren sind heute in Erprobung, und Abbildung 4 zeigt ein von uns kürzlich aufgenommenes Phosphor-31-MR-Spektrum vom menschlichen Herzmuskel. Man erkennt die Resonanzlinien des Adenosintriphosphats (ATP), des Kreatinphosphats (PCr) und des 2,3-Diphosphoglyzerats (DPG). Die Aufnahme der MR-Spektren

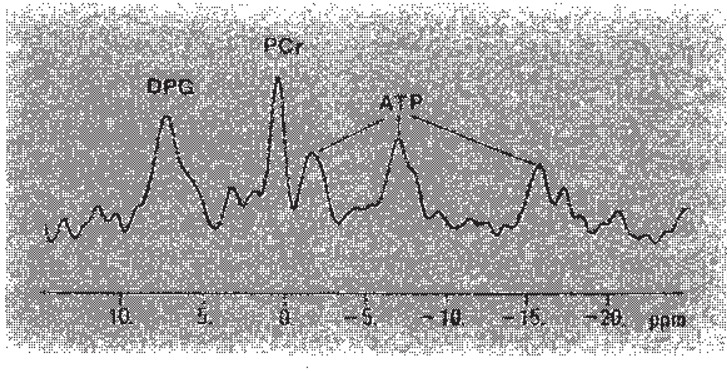



Abb. 4
EKG-geschaltetes Phosphor-MR-Spektrum des menschlichen Herzens [5]

wurde mit dem Herzrhythmus gekoppelt, so dass das Phosphorspektrum einer ganz bestimmten Phase der Herzkontraktion entspricht. Volumen-Selektions-Verfahren erreichen heute bereits eine räumliche Auflösung von wenigen $cm^3$, und eine Überleitung dieser Methoden in die klinische Praxis wird in wenigen Jahren möglich sein.

*4. Untersuchung von Stoffwechselvorgängen mittels Kohlenstoff-13-MR-Spektroskopie*

Das normale Isotop des Kohlenstoffs, $^{12}C$, hat eine natürliche Häufigkeit von 98,9% und ist nicht magnetisch. Es kann daher im NMR-Experiment nicht beobachtet werden. Glücklicherweise ist sein Zwilling, das Isotop $^{13}C$, das den Rest des natürlichen Kohlenstoffs ausmacht, wieder magnetisch und liefert Magnet-Resonanz-Signale. Der Vorteil von $^{13}C$-NMR liegt darin, dass im Prinzip eine viel grössere Anzahl von Metaboliten beobachtet werden kann als mit $^{31}P$-NMR. Fast alle im lebenden Organismus synthetisierten und metabolisierten Verbindungen enthalten Kohlenstoffatome, während die Zahl der $^{31}P$-Metaboliten doch sehr begrenzt ist. Weiterhin hat $^{13}C$-NMR den Vorzug, dass verschiedene Positionen im gleichen Molekül untersucht werden können. Leider verlangen diese Vorteile auch ihren Preis. Da die natürliche Häufigkeit von $^{13}C$ nur 1,1% beträgt, ist die Messempfindlichkeit um den Faktor 100 kleiner als für die oben

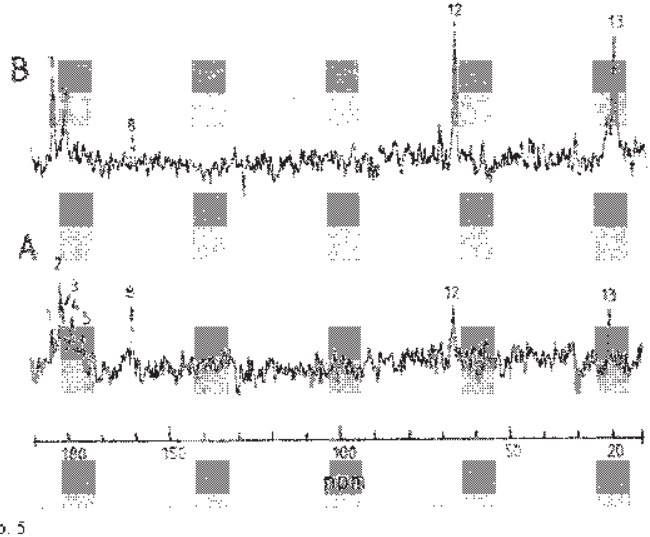



Abb. 5
Kohlenstoff-13-MR-Spektren der Leber einer gefasteten (A) und einer diabetischen (B) Ratte *in vivo* nach Infusion von C-13-markierten Fettsäuren. Die Unterschiede in Intensität und Zahl der Resonanzlinien lassen Rückschlüsse auf die hormonale Kontrolle des Fettsäureabbaus zu [6].

beschriebene Phosphor-MR-Spektroskopie. Weiterhin sind Kohlenstoff-13-MR-Spektren durch eine grössere Komplexität gekennzeichnet.

Die geringe natürliche Häufigkeit des Isotops $^{13}C$ eröffnet aber auch neue Untersuchungsmöglichkeiten. Markiert man biologische Vorstufen auf chemischem Weg mit magnetischem Kohlenstoff $^{13}C$ und schleust sie dann in den Stoffwechselzyklus ein, so kann man die Umsetzung dieser Verbindungen im Organismus als Funktion der Zeit verfolgen. Das letzte Beispiel (Abbildung 5) zeigt solche Experimente mit lebenden Ratten, deren Leberstoffwechsel mittels Kohlenstoff-13-MR-Spektroskopie untersucht wurden. Unser Interesse galt vor allem hormonal bedingten Unterschieden im Fettstoffwechsel, wie sie etwa im gefasteten und im diabetischen Zustand auftreten können. Voraussetzung für unsere Versuche war die Synthese von natürlichen Fettsäuren mit erhöhtem Gehalt an «magnetischem» Kohlenstoff C-13. Die C-13-markierten Fettsäuren wurden dann durch Infusion in den Blutkreislauf eingebracht und anschliessend der oxidative Abbau in der Leber der anästhetisierten Ratte mittels Oberflächenspule beobachtet. Abbildung 5A zeigt Messungen an einer gefasteten Ratte, 5B solche an einer diabetischen Ratte, wobei in beiden Fällen die gleiche Fettsäure verwendet wurde. Man erkennt deutliche Unterschiede sowohl in der Intensität der Resonanzen als auch in deren Zahl. Jede Resonanz kann einem bestimmten Stoffwechselprodukt zugeordnet und die zeitliche Veränderung der Stoffwechselprodukte, d.h. ihr Aufbau und Abbau, konnte im gleichen Experiment mitverfolgt werden. Gegenüber den klassischen Biochemie-Versuchen führt die Verwendung der C-13-NMR-Spektroskopie daher zu einer drastischen Einschränkung in der Zahl der Versuchstiere. Eine Ausdehnung der $^{13}C$-Experimente auf die Humandiagnostik ist in Vorbereitung.

Danksagung. Durch die grosszügige Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds und der Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung konnte 1983 das in Abbildung 3 gezeigte NMR-Spektrometer im Biozentrum installiert werden. Die hier berichteten Ergebnisse entstanden in enger Zusammenarbeit mit folgenden Mitarbeitern und Kollegen: W. P. Aue, T. Cross, P. Ganz, U. Keller, S. Müller, R. Oberhänsli und C. Pahl. Ihnen allen sei an dieser Stelle herzlichst gedankt.

# LITERATUR ZUM VORTRAG


[1] D. G. Gadian, *Nuclear magnetic resonance and its application to living systems*, Oxford, 1982 Clarendon Press.

[2] Seelig, J. (1986) Fresenius Z. Anal. Chem. *314*, 767–770 NMR imaging and spectroscopy in vivo.

[3] Hoult, D. I., Busby, S. J. W., Gadian, D. G., Radda, G. K., Richards, R. E., and Seeley, P. J. (1974) Nature *252*, 285–287 Observation of tissue metabolites using $^{31}P$ nuclear magnetic resonance.

[4] Keller, U., Oberhänsli, R., Huber, P., Widmer, L. K., Aue, W. P., Hassink, R. I., Müller, S., and Seelig, J. (1985) Eur. J. Clin. Invest. *15*, 382–388.
Phosphocreatine content and intracellular pH of calf-muscle measured by phosphorus NMR spectroscopy in occlusive arterial disease of the legs.

[5] Müller, S., Sauter, R., Weber, H., and Seelig, J. (1987) J. Magn. Reson., in press.
Multivolume selective spectroscopy.

[6] Pahl-Wostl, C., and Seelig, J. (1986) Biochemistry *25*, 6799–6807.
Metabolic pathways for ketone body production. $^{13}C$-NMR spectroscopy of rat liver in vivo using $^{13}C$-multilabeled fatty acids.

# LISTE DER VERÖFFENTLICHUNGEN J. SEELIG

1 J. Seelig
Herstellung und elektrische Eigenschaften von Bipolarmembranen.
Diplomarbeit, Universität Köln, 1966

2 J. Seelig
Dielektrische Relaxation als Folge der Helix-Knäuel Umwandlung von Poly-γ-Benzyl-L-Glutamat.
Dissertation, TU Braunschweig, 1968

3 G. Schwarz and J. Seelig
Kinetic properties and the electric field effect of the helix-coil transition of poly-(γ-benzyl-L-glutamate) determined form dielectric relaxation measurements.
Biopolymers *6*, 1263–1277 (1968)

4 J. Seelig and G. Schwarz
Concentration dependence of dielectric relaxation due to the helix-coil transition of poly(γ-benzyl-L-glutamate).
Biopolymers *8*, 429–431 (1969)

5 J. Seelig
Spin-label studies of oriented smectic liquid crystals (A model system for bilayer membranes).
J. Amer. Chem. Soc. *92*, 3881–3887 (1970)

6 J. Seelig
On the flexibility of hydrocarbon chains in lipid bilayers.
J. Amer. Chem. Soc. *93*, 5017–5022 (1971)

7 J. Seelig and W. Hasselbach
Spin label study of sarcoplasmic vesicles.
Eur. J. Biochem. *21*, 17–21 (1971)

8 J. Seelig
Motion of spin labeled fatty acids in membrane structures.
«Biomembranes 3», p. 267–279, L. A. Manson ed., Plenum Press, New York 1972

9 H. Huber and J. Seelig
On the complex formation of Tris-(dipivalomethanato)-europium with pyridine.
Helv. Chim. Acta *55*, 135–138 (1972)

10 J. Seelig, H. Limacher, and P. Bader
Molecular architecture of liquid crystalline bilayers.
J. Amer. Chem. Soc. *94*, 6364–6371 (1972)

11 H. Limacher and J. Seelig
Faltung von Fettsäuren in flüssig-kristallinen Doppelschichten.
Angew. Chem. *84*, 950–952 (1972), Angew. Chem. internat. Edit. *11*, 920–922 (1972)

12 J. Seelig, F. Axel and H. Limacher
Molecular architecture of bilayer membranes.
Ann. N.Y. Acad. Sci. *222*, 588–596 (1973)

13 J. Seelig
Magnetic resonance methods in membrane research.
Experientia *29*, 509–516 (1973)

14 H. Schindler and J. Seelig
EPR spectra of spin labels in lipid bilayers.
J. Chem. Phys. *59*, 1841–1850 (1973)

15 J. Seelig and H. Limacher
Lipid molecules in lyotropic liquid crystals with cylindrical structure.
Molec. Cryst. Liquid Cryst. *25*, 105–112 (1974)

16 F. Axel and J. Seelig
Cis-double bonds in liquid crystalline bilayers.
J. Amer. Chem. Soc. *95*, 7972–7977 (1973)

17 J. Seelig and W. Niederberger
Deuterium labeled lipids as structural probes in liquid crystalline bilayers.
J. Amer. Chem. Soc. *96*, 2069–2072 (1974)

18 J. Seelig and W. Niederberger
Two pictures of a lipid bilayer. A comparison between deuterium label and spin label experiments.
Biochemistry *13*, 1585–1588 (1974)

19 J. Seelig and A. Seelig
Deuterium magnetic resonance studies of phospholipid bilayers.
Biochem. Biophys. Res. Comm. *57*, 406–411 (1974)

20 J. Seelig
Anisotropic motion in liquid crystalline structures in «Spin Labeling – Theory and Application», L. Berliner, ed.
Academic Press, New York 1976, pp. 373–409

21 H. Schindler and J. Seelig
Epr spectra of spin labels in lipid bilayers. II. Rotation of steroid spin probes.
J. Chem. Phys. *61*, 2946–2949 (1974)

22 W. Niederberger und J. Seelig
Deuterium magnetische Resonanzspektroskopie an spezifisch deuterierten flüssigen Kristallen.
Ber. Bunsenges. physik. Chem. *78*, 947–949 (1974)

23 H. Schindler und J. Seelig
EPR-Spektren von Spin Labeln in Modell-Membranen.
Ber. Bunsenges. physik. Chem. *78*, 941–946 (1974)

24 C. J. Scandella, H. Schindler, R. M. Franklin, and J. Seelig
Structure and synthesis of a lipid-containing bacteriophage. XVI. Acyl chain motion in the PM2 virus membrane.
Eur. J. Biochem. *50*, 29–32 (1974)

25 A. Seelig and J. Seelig
The dynamic structure of fatty acyl chains in a phospholipid bilayer measured by deuterium magnetic resonance.
Biochemistry *13*, 4839–4845 (1974)

26 J. Seelig
Struktur und Dynamik von Membranen. Anwendung von kernmagnetischer Reso-

nanz und Elektronenspinresonanz.
Path. Microbiol. *41*, 151–163 (1974)

27 H. Schindler and J. Seelig
Deuterium order parameters in relation to thermodynamic properties of a phospholipid bilayer. A statistical mechanical interpretation.
Biochemistry *14*, 2283–2287 (1975)

28 F. Wunderlich, A. Ronai, V. Speth, J. Seelig, and A. Blume
Thermotropic lipid clustering in Tetrahymena membranes.
Biochemistry *14*, 3730–3735 (1975)

29 H. Gally, W. Niederberger, and J. Seelig
Conformation and motion of the choline head group in bilayers of dipalmitoyl-3-*sn*-phosphatidylcholine.
Biochemistry *14*, 3647–3652 (1975)

30 R. Schäfer, U. Huber, R. M. Franklin, and J. Seelig
Structure and synthesis of a lipid-containing bacteriophage. Chemical modifications of bacteriophage PM2 and the resulting alterations in acyl-chain motion in the PM2 membrane.
Eur. J. Biochem. *58*, 291–296 (1975)

31 A. Seelig and J. Seelig
Bilayers of dipalmitoyl-3-*sn*-phosphatidylcholine. Conformational differences between the fatty acyl chains.
Biochim. Biophys. Acta *406*, 1–5 (1975)

32 J. Seelig
Deuterium magnetic resonance and spin label epr studies of lipid bilayers.
in «Lipids, Vol. 2: Technology», R. Paoletti, G. Jacini, and R. Porcellati, eds., Raven Press, New York 1976, pp. 351–354

33 N. Tsukagoshi, M. H. Petersen, U. Huber, R. M. Franklin, and J. Seelig
Phase transitions in the membrane of a marine bacterium, Pseudomonas BAL-31.
Eur. J. Biochem. *62*, 257–262 (1976)

34 W. Niederberger and J. Seelig
Phosphorus-31 chemical shift anisotropy in unsonicated phospholipid bilayers.
J. Amer. Chem. Soc. *98*, 3704–3706 (1976)

35 J. Seelig and H. Gally
Investigation of phosphatidylethanolamine bilayers by deuterium and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance.
Biochemistry *15*, 5199–5204 (1976)

36 J. Seelig
Deuterium magnetic resonance. Theory and application to lipid membranes.
Quart. Rev. Biophys. *10*, 353–418 (1977)

37 G. Büldt, A. Seelig, J. Seelig, and G. Zaccai
Neutron scattering from specifically deuterated lipid membranes.
Proc. of the Conf. on Neutron Scattering, Gatlinsburg, Tennessee, USA, 1976; R. M. Moon, ed., Vol. 1, pp. 109–115

38 A. Seelig and J. Seelig
The effect of a single cis-double bond on the structure of a phospholipid bilayer.
Biochemistry *16*, 45–50 (1977)

39 H. U. Gally, A. Seelig, and J. Seelig
Cholesterol induced rod-like motion of fatty acyl chains in lipid bilayers. A deuterium magnetic resonance study.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. *357*, 1447–1450 (1976)

40 J. Seelig, H. Gally, and R. Wohlgemuth
Orientation and flexibility of the choline head group in lecithin bilayers.
Biochim. Biophys. Acta *467*, 109–119 (1977)

41 M. F. Brown and J. Seelig
Ion induced changes in the head group conformation of lecithin bilayers.
Nature *269*, 721–723 (1977)

42 G. Büldt, H. U. Gally, A. Seelig, J. Seelig, and G. Zaccai
Head group orientation and hydrocarbon chain conformation in phosphatidylcholine membranes from neutron diffraction studies of selectively deuterated bilayers.
Nature *271*, 182–184 (1978)

43 M. F. Brown and J. Seelig
Influence of cholesterol on the polar region of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine bilayers.
Biochemistry *17*, 381–384 (1978)

44 J. Seelig
Deuterium and phosphorus-31 nmr and neutron diffraction studies of membranes.
Biochemical Society Transactions *6*, 40–42 (1978)

45 J. Seelig
Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance and the headgroup structure of phospholipid membranes.
Biochim. Biophys. Acta (Reviews in Biomembranes) *515*, 105–140 (1978)

46 J. Seelig
The organization of lipids in membranes. Nuclear magnetic resonance and neutron diffraction studies.
Progr. Colloid and Polymer Sci. *65*, 172–179 (1978)

47 J. Seelig and N. Waespe-Šarčević
Molecular order in cis and trans unsaturated phospholipid bilayers.
Biochemistry *17*, 3310–3315 (1978)

48 J. Seelig and J. L. Browning
General features of phospholipid conformation in membranes.
FEBS Lett. *92*, 41–44 (1978)

49 A. Seelig and J. Seelig
Lipid-protein interaction in reconstituted cytochrome *c* oxidase/phospholipid membranes.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. *359*, 1747–1756 (1978)

50 J. Browning and J. Seelig
Synthesis of specifically deuterated saturated and unsaturated phosphatidylserines.
Chem. Phys. Lipids *24*, 103–118 (1979)

51 M. F. Brown, J. Seelig, und U. Häberlen
Structural dynamics in phospholipid bilayers from deuterium spin-lattice relaxation time measurements.
J. Chem. Phys. *70,* 5045-5053 (1979)

52 G. Büldt, H. U. Gally, J. Seelig, and G. Zaccai
I. Neutron diffraction studies on the head group conformation of phosphatidylcholine in membranes.
J. Mol. Biol. *134,* 673–691 (1979)

53 G. Zaccai, G. Büldt, A. Seelig, and J. Seelig
II. Neutron diffraction studies on the chain conformations of phosphatidylcholine in membranes.
J. Mol. Biol. *134,* 693–706 (1979)

54 H. U. Gally, G. Pluschke, P. Overath, and J. Seelig
Structure of Escherichia coli membranes. Phospholipid conformation in model membranes and cells as studied by deuterium magnetic resonance.
Biochemistry *18,* 5605–5610 (1979)

55 H. U. Gally, G. Pluschke, P. Overath, and J. Seelig
Structure of Escherichia coli membranes. Fatty acyl chain order parameters of inner and outer membrane and derived liposomes.
Biochemistry *19,* 1638–1648 (1980)

56 J. Seelig, R. Dijkman, and G. H. de Haas
Thermodynamic and conformational studies on 2-*sn*-phosphatidylcholines in monolayers and bilayers.
Biochemistry *19,* 2215-2219 (1980)

57 J. L. Browning and J. Seelig
Bilayers of phosphatidylserine, A deuterium and phosphorus nmr study.
Biochemistry *19,* 1262–1270 (1980)

58 J. Seelig
Physical properties of model membranes and biological membranes in «Membranes and Intercellular Communications».
R. Balian et al., ed., 1981, p. 17–77; North-Holland

59 R. Wohlgemuth, N. Waespe-Šarčević, and J. Seelig
Bilayers of phosphatidylglycerol. A deuterium and phosphorus nmr study of the headgroup region.
Biochemistry *19,* 3315–3321 (1980)

60 G. Büldt and J. Seelig
The conformation of phosphatidylethanolamine in the gelphase as seen by neutron diffraction.
Biochemistry *19,* 6170–6175 (1980)

61 J. Seelig and A. Seelig
Lipid conformation in model membranes and biological membranes.
Quart. Rev. Biophysics *13,* 19–61 (1980)

62 H. U. Gally, G. Pluschke, P. Overath, and J. Seelig
Structure of *Escherichia coli* membranes. Glycerol auxotrophs as a tool for the analysis of the phospholipid headgroup region by deuterium magnetic resonance.
Biochemistry *20,* 1826–1831 (1981)

63 J. Seelig, L. Tamm, L. Hymel and S. Fleischer
Deuterium and phosphorus nmr and fluorescence depolarization studies of functional reconstituted sarcoplasmic reticulum membrane vesicles.
Biochemistry *20*, 3922–3932 (1981)

64 J. Seelig, A. Seelig, and L. Tamm
Nuclear magnetic resonance and lipid-protein interactions (a review) in «Lipid-Protein Interactions». Vol. 2, p. 127–148.
P. Jost and O. H. Griffin ed., Academic Press, N.Y. (1982)

65 A. Seelig, B. Ludwig, J. Seelig, and G. Schatz
Copper and manganese electron spin resonance studies of cytochrome *c* oxidase from *Paracoccus denitrificans*.
Biochim. Biophys. Acta, *636*, 162–167 (1981)

66 H. Akutsu and J. Seelig
The interaction of metal ions with phosphatidylcholine bilayer membranes.
Biochemistry *20*, 7366–7373 (1981)

67 L. J. Banaszak and J. Seelig
The lipid domains in the crystalline lipovitellin: phosvitin complex – $A^{31}P$ and $^{2}H$ NMR study.
Biochemistry *21*, 2436–2443 (1982)

68 G. B. Birrell, P. B. Anderson, P. C. Jost, O. H. Griffith, L. J. Banaszak, and J. Seelig
Lipid environments in the yolk lipoprotein system. A spin labeling study of the lipovitellin: phosvitin complex from *Xenopus Laevis*.
Biochemistry *21*, 2444–2452 (1982)

69 R. Ghosh and J. Seelig
The interaction of cholesterol with bilayers of phosphatidylethanolamine.
Biochim. Biophys. Acta, *691*, 151–160 (1982)

70 L. Tamm and J. Seelig
Lipid solvation of cytochrome *c* oxidase. $^{2}H$-, $^{14}N$-, and $^{31}P$-NMR studies on the phosphocholine headgroup and on *cis*-unsaturated fatty acyl chains.
Biochemistry *22*, 1474–1483 (1983)

71 J. Seelig
Basic principles of deuterium and phosphorus-31 magnetic resonance.
in «Physical Methods on Biological Membranes and their Model Systems» (Conti et al., ed.) Plenum Press, New York, p. 27–38 (1985)

72 J. Seelig
Lipid-protein interactions: From crystalline lipoproteins to intact membranes.
in «Physical Methods on Biological Membranes and their Model Systems» (Conti et al., ed.) Plenum Press, New York, p. 163–178 (1985)

73 P. R. Allegrini, G. v. Scharrenburg, G. H. de Haas, and J. Seelig
$^{2}H$- and $^{31}P$-NMR studies of bilayers composed of 1-acyl-lysophosphatidylcholine and fatty acids.
Biochim. Biophys. Acta *731*, 448–455 (1983)

74 J. Seelig
Lipid polymorphism, reverse micelles and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance.

in «Biological and Technological Relevance of Reverse Micelles» (Luisi, P. L. & Straub, B. E.; eds.) Plenum Press, New York, p. 209–220 (1984)

75 F. Borle and J. Seelig
Structure of Escherichia coli membranes. Deuterium magnetic resonance studies of the phosphoglycerol head group in intact cells and model membranes.
Biochemistry *22*, 5536–5544 (1983)

76 F. Borle and J. Seelig
Hydration of E. coli lipids. Deuterium $T_1$ relaxation time studies of phosphatidylglycerol, -ethanolamine and -choline.
Biochim. Biophys. Acta *735*, 131–136 (1983)

77 W. P. Aue, S. Müller, T. A. Cross, and J. Seelig
Volume selective excitation. A novel approach to topical NMR.
J. Magn. Res. *56*, 350–354 (1984)

78 Ch. Altenbach and J. Seelig
$Ca^{2+}$ binding to phosphatidylcholine bilayers as studied by deuterium magnetic resonance. Evidence for the formation of a $Ca^{2+}$ complex with two phospholipid molecules.
Biochemistry *23*, 3913–3920 (1984)

79 J. Seelig
Kernmagnetische Resonanz. Ein magnetisches Auge.
Medita *1984*, Heft 3, 33–36

80 P. R. Allegrini, G. Pluschke, and J. Seelig
Cardiolipin conformation and dynamics in bilayer membranes as seen by deuterium magnetic resonance.
Biochemistry *23*, 6452–6458 (1984)

81 T. A. Cross, C. Pahl, R. Oberhänsli, W. P. Aue, U. Keller, and J. Seelig
Ketogenesis in the living rat followed by $^{13}C$ NMR Spectroscopy.
Biochemistry *23*, 6398–6402 (1984)

82 F. Borle and J. Seelig
$Ca^{2+}$ binding to phosphatidylglycerol bilayers as studied by differential scanning calorimetry and $^{2}H$- and $^{31}P$-nuclear magnetic resonance.
Chem. Phys. Lipids *36*, 263–283 (1985)

83 P. R. Allegrini, G. J. H. van Scharrenburg, A. J. Slotboom, G. H. de Haas, and J. Seelig
Sidechain dynamics of two aromatic amino acids in pancreatic phospholipase $A_2$ as studied by deuterium magnetic resonance.
Biochemistry *24*, 3268–3273 (1985)

84 W. P. Aue, S. Müller, and J. Seelig
Localized $^{13}C$-NMR spectra with enhanced sensitivity obtained by volume selective excitation.
J. Magn. Res. *61*, 392–395 (1985)

85 J. Seelig, F. Borle, and T. A. Cross
Magnetic ordering of phospholipid membranes.
Biochim. Biophys. Acta *814*, 195–198 (1985)

86 A. Seelig and J. Seelig
Phospholipid composition and organization of cytochrome *c* oxidase preparations

as determined by $^{31}$P-nuclear magnetic resonance.
Biochim. Biophys. Acta *815*, 153–158 (1985)

87 J. Seelig
Magnetic resonance of membranes in micelles.
in «Modern Trends of Colloid Science in Chemistry and Biology» (F. Eicke ed.) Birkhäuser Basel 1985, p. 261–273

88 U. Keller, R. Oberhänsli, P. Huber, L. K. Widmer, W. P. Aue, R. I. Hassink, S. Müller, and J. Seelig
Phosphocreatine content and intracellular pH of calf muscle measured by phosphorus NMR spectroscopy in patients with occlusive arterial disease of the legs.
Europ. Clin. J. Invest. *15*, 382–388 (1985)

89 A. C. Nidecker, S. Müller, W. P. Aue, J. Seelig, R. Fridrich, W. Remagen, and H. Hartweg
Extremity bone tumors: evaluation by P-31 MR spectroscopy.
Radiology *157*, 167–174 (1985)

90 S. Müller, W. P. Aue, and J. Seelig
NMR imaging and volume selective spectroscopy with a single surface coil.
J. Magn. Res. *63*, 530–543 (1985)

91 S. Müller, W. P. Aue, and J. Seelig
Practical aspects of volume selective excitation (VSE). Compensation sequences.
J. Magn. Res. *65*, 332–338 (1985)

92 Ch. Altenbach and J. Seelig
Binding of the lipophilic cation tetraphenylphosphonium to phosphatidylcholine membranes.
Biochim. Biophys. Acta *818*, 410–415 (1985)

93 J. A. Killian, F. Borle, B. de Kruijff, and J. Seelig
Comparative $^{2}$H- and $^{31}$P-NMR study on the properties of palmitoyllysophosphatidylcholine in bilayers with gramicidin, cholesterol and dipalmitoylphosphatidylcholine.
Biochim. Biophys. Acta *854*, 133–142 (1986)

94 F. Stocker, N. Herschkowitz, E. Bossi, M. Stoller, T. A. Cross, W. P. Aue, and J. Seelig
Cerebral metabolic studies in situ by $^{31}$P-NMR after hypothermic circulatory arrest.
Pediatric Research *20*, 867–871 (1986)

95 J. Seelig
NMR Imaging and spectroscopy *in vivo*.
Fresenius Z. Anal. Chem. *324*, 767–770 (1986)

96 C. Pahl-Wostl and J. Seelig
Metabolic pathways for ketone body production. $^{13}$C-NMR spectroscopy of rat liver in vivo using $^{13}$C-multilabeled fatty acids.
Biochemistry *25*, 6799–6807 (1986)

97 P. M. Macdonald and J. Seelig
Calcium binding to mixed phosphatidylglycerol-phosphatidylcholine bilayers as studied by deuterium nuclear magnetic resonance.
Biochemistry *26*, 1231–1240 (1987)

98 K. Nicolay, W. P. Aue, J. Seelig, C. J. A. van Echteld, T. J. C. Ruigrok, and B. de Kruijff
Effects of the anti-cancer drug adriamycin on the energy metabolism of rat heart as measured by in vivo $^{31}$P-NMR. Implications for adriamycin induced cardiotoxicity.
Biochim. Biophys. Acta *929*, 5–13 (1987)

99 M. Mischel, J. Seelig, L. F. Braganza, and G. Büldt
A neutron diffraction study of the head group structure of phosphatidylglycerol from Escherichia coli membranes.
Chem. Phys. Lipids *43*, 237–246 (1987)

100 S. Müller and J. Seelig
In vivo NMR imaging of deuterium.
J. Magn. Res. *72*, 456–466 (1987)

101 J. Seelig
In vivo NMR spectroscopy.
Enrico Fermi Lecture Series, in press

102 J. Seelig and P. M. Macdonald
Phospholipids and proteins in biological membranes. $^{2}$H-NMR as a method to study structure, dynamics, and interactions.
Accounts Chem. Res. *20*, 221–228 (1987)

103 C. Pahl-Wostl and J. Seelig
Ketogenesis in the living rat followed by $^{13}$C-NMR spectroscopy. Infusion of [1,3-$^{13}$C]octanoate.
Biol. Chem. Hoppe-Seyler *368*, 205–214 (1987)

104 M. Malthaner, J. Seelig, N. C. Johnston, and H. Goldfine
Deuterium NMR studies on the plasmalogens and the glycerol acetals of plasmalogens of *Clostridium butyricum* and *Clostridium beijerinckii*.
Biochemistry 26, 5826–5833 (1987)

105 N. C. Johnston, H. Goldfine, M. Malthaner, and J. Seelig
Deuterium NMR studies on ether-rich bacterial membranes: Deuterium order profile of *Clostridium butyricum*.
Biochim. Biophys. Acta *899*, 302–306 (1987)

106 M. Malthaner, A. Hermetter, F. Paltauf, and J. Seelig
Structure and dynamics of plasmalogen model membranes containing cholesterol: A deuterium NMR study.
Biochim. Biophys. Acta *900*, 191–197 (1987)

107 P. Macdonald and J. Seelig
Calcium binding to mixed cardiolipin-phosphatidylcholine bilayers as studied by deuterium nuclear magnetic resonance.
Biochemistry *26*, 6292–6298 (1987)

108 P. G. Scherer and J. Seelig
Structure and dynamics of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine head groups in L-M fibroblasts studied by deuterium nuclear magnetic resonance.
EMBO J. *6*, 2915–2922 (1987)

109 P. M. Macdonald and J. Seelig
Dynamic properties of Gramicidin A in phospholipid membranes.
Biochemistry, submitted

110 S. Müller, R. Sauter, H. Weber, and J. Seelig
Multivolume selective spectroscopy.
J. Magn. Res., in press

111 J. Seelig, P. M. Macdonald, and P. G. Scherer
«Perspectives in Biochemistry»
Phospholipid head groups as sensors of electric charge in membranes.
Biochemistry, in press

112 W. Koehne, C. v. Weymarn, F. J. Schnier, W. P. Aue, and J. Seelig
$^{31}P$- and $^{23}Na$ nuclear magnetic resonance spectroscopy in acute cat stroke.
Annals of Neurology, submitted

*Übersicht über die bisher erschienenen Publikationen der Schriftenreihe Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta*

Heft Nr. 1 (2. Auflage 1981):
Vorwort von Bundesrat Dr. Hans Hürlimann
Biographie von Professor Dr. Max Cloëtta
Biographie von Dr. Antoine Cloëtta
Übersicht über die Stiftung Professor Dr. Max Cloëtta
Ehrentafel der Preisträger

Heft Nr. 2:
Preisverleihung 1974
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Urs A. Meyer:
«Klinische Pharmakologie – eine Herausforderung für interdisziplinäre Zusammenarbeit»

Heft Nr. 3:
Preisverleihung 1975
Festvortrag des Preisträgers Dr. med. Hans Bürgi:
«Die Bekämpfung des Kropfes in der Schweiz. Ein Beispiel der Zusammenarbeit zwischen Grundlagenwissenschaftern, Klinikern und Behörden»

Heft Nr. 4:
Cérémonie de remise du prix 1976
Exposé du Dr. Rui. C. de Sousa, sur le thème:
«La membrane cellulaire: une frontière entre deux mondes»

Heft Nr. 5:
Preisverleihung 1977
Festvortrag des Preisträgers Professor Dr. Franz Oesch:
«Chemisch ausgelöste Krebsentstehung»

Heft Nr. 6:
Preisverleihung 1978
Festvortrag des Preisträgers Dr. Susumu Tonegawa:
«Cloning of Immunoglobulin Genes»

Heft Nr. 7:
Preisverleihung 1979
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Theodor Koller:
«Die strukturelle Organisation des genetischen Apparates höherer Organismen»
Professor Dr. Jean-Pierre Kraehenbuehl:
«Hormonal Control of the Differentiation of the Mammary Gland»

Heft Nr. 8:
Preisverleihung 1980
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Edward W. Flückiger:
«Neuere Aspekte der Mutterkorn-Pharmakologie»
PD Dr. Albert Burger:
«Ein Vierteljahrhundert nach Entdeckung des aktivsten Schilddrüsenhormons (Trijodothyronin)»

Heft Nr. 9:
Preisverleihung 1981
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Rolf Zinkernagel:
«„Selbst"-Erkennung in der Immunologie»
Professor Dr. Peter A. Cerutti:
«A role for active oxygen species in human carcinogenesis?»

Heft Nr. 10:
Preisverleihung 1982
Festvorträge der beiden Preisträger
PD Dr. Jürgen Zapf:
«Wachstum und Wachstumsstörungen: ein gemeinsames Forschungsziel der klinischen und experimentellen Endokrinologie»
PD Dr. Jean-Michel Dayer:
«Le monocyte-macrophage: un pivot entre le système immun et le tissu conjonctif dans le processus inflammatoire de l'arthrite rhumatoïde»

Heft Nr. 11:
Preisverleihung 1983
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Peter Böhlen:
«Peptides and Proteins as messengers in the communication between cells and organs»
PD Dr. Claes B. Wollheim:
«Regulation of insulin release by intracellular calcium»

Heft Nr. 12:
Preisverleihung 1984
Festvorträge der beiden Preisträger
Frau Professor Dr. Heidi Diggelmann:
«Beitrag der Retroviren zur Aufklärung grundlegender biologischer Prozesse»
Professor Dr. Jean-François Borel:
«Entwicklung und Bedeutung des Ciclosporins»

Heft Nr. 13:
Preisverleihung 1985
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Hans Thoenen:
«Entwicklungsneurobiologie; von der deskriptiven Analyse zum molekularen Verständnis»
Dr. Roberto Montesano:
«Cell-Extracellular Matrix Interactions in Organogenesis»

Heft Nr. 14:

Preisverleihung 1986
Festvorträge der beiden Preisträger
Professor Dr. Ueli Schibler:
«Mechanismen der gewebespezifischen Regulation von Genen»
Professor Dr. Walter Schaffner:
«Enhancer-Sequenzen und die Regulation der Gen-Transkription»