



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Pharmakologisches Screening zweier neuer Substanzen
(WHG73T und SWS2) an isolierten Organen von
Meerschweinchen

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasser:	Felix Lerch
Matrikelnummer:	0205278
Studienrichtung:	Pharmazie (A449)
Begutachter:	ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik

Wien, im September 2010

Mein herzlichstes Dankeschön gilt all jenen, die mich auf meinem
bisherigen Weg begleitet und unterstützt haben.
Besonders bedanke ich mich bei ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik, der mir diese
Arbeit ermöglicht hat und mir dabei stets hilfreich zur Seite gestanden ist.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Zielsetzung	5
3	Material und Methodik	6
3.1	Versuchstiere	6
3.2	Physiologische Nährstofflösung	6
3.3	Entnahme und Präparation der Organe	8
3.3.1	Isolierung und Präparation des Atrium cordis dextrum (Rechter Vorhof)	8
3.3.2	Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis (Lungenarterie)	8
3.3.3	Isolierung und Präparation des Musculus papillaris (Papillarmuskel)	9
3.3.4	Isolierung und Präparation des terminalen Ileums (Dünndarm)	9
3.3.5	Isolierung und Präparation der Aorta descendens	10
3.4	Versuchsanordnung	11
3.4.1	Apparatur A	11
3.4.2	Apparatur B	12
3.4.3	Kraftwandler	14
3.4.4	Verstärker und Schreiber	14
3.4.5	Carbogenversorgung	14
3.5	Ablauf der Versuche	15
3.5.1	Versuchsdurchführung an der Aorta	15
3.5.2	Versuchsdurchführung an der Arteria pulmonalis	16
3.5.3	Versuchsdurchführung am Ileum terminale	16
3.5.4	Versuchsdurchführung am Atrium cordis dextrum	17
3.5.5	Versuchsdurchführung am Musculus papillaris	17
3.6	Untersuchte Substanzen	19
3.6.1	Testsubstanz SWS2	20
3.6.2	Testsubstanz WHG73T	20
3.6.3	Pipettierschema	21
3.7	Datenauswertung und Statistik	22
3.7.1	Terminales Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis	22
3.7.2	Atrium Dexter	22
3.7.3	Musculus papillaris	23
3.7.4	Statistik	23
4	Ergebnisse	24
4.1	Ergebnisse der Testsubstanz WHG73T	25
4.1.1	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Aorta	25
4.1.2	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Arteria pulmonalis	28
4.1.3	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf das terminale Ileum	31
4.1.4	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf das Atrium cordis dextrum	34
4.1.5	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf den Musculus papillaris	37
4.2	Ergebnisse der Testsubstanz SWS2	40
4.2.1	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Aorta	40
4.2.2	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Arteria pulmonalis	47
4.2.3	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf das terminale Ileum	51
4.2.4	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf das Atrium cordis dextrum	55
4.2.5	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf den Musculus papillaris	58
4.3	Ergebnisse des Lösungsmittels Dimethylsulfoxid (DMSO)	61
4.3.1	Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Aorta	61
4.3.2	Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis	62
4.3.3	Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft das terminale Ileums	62

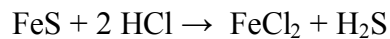
4.3.4	Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels	63
5	Diskussion	64
5.1	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf isolierte Organe	64
5.1.1	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf isolierte glattmuskuläre Organe.....	64
5.1.2	Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Herzmuskulatur	65
5.2	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf isolierte Organe	66
5.2.1	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf isolierte glattmuskuläre Organe	66
5.2.2	Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Herzmuskulatur	67
5.3	Vergleich der Testsubstanzen WHG73T und SWS2 mit H ₂ S	67
6	Zusammenfassung	70
7	Literaturverzeichnis	71
8	Lebenslauf	74

1 Einleitung

Schwefelwasserstoff ist bereits seit vielen Jahren als giftiges Gas bekannt (Winder und Winder 1933, Smith und Gosselin 1979).

Das farblose, mäßig wasserlösliche und intensiv nach fauligen Eiern riechende Gas ist eine Verbindung aus Schwefel und Wasserstoff mit der Summenformel H_2S und einem Molekulargewicht von 34,08 g/mol (Hunnius, 2004).

Schon ab der extrem geringen Konzentrationen von 0,002 – 0,15 ppm wird das in der Natur meist bei der Zersetzung von schwefelhaltigen Proteinen durch Fäulnisbakterien freigesetzte Gas wahrgenommen. Die Herstellung von Schwefelwasserstoff im Labormaßstab erfolgt aus Eisen(II)-sulfid und Salzsäure:



Bereits ab einer Konzentration von 100 ppm bildet Schwefelwasserstoff bei Kontakt mit Schleimhäuten der Augen, der Nase und der Lunge stark reizend wirkende Alkalisulfide.

In Konzentrationen über 200 ppm bewirkt das Gas über die Zerstörung des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin eine Lähmung der intrazellulären Atmung. Die Folgen sind Kopfschmerzen, Kraftlosigkeit, Schwindel, Brechreiz bis hin zu Krämpfen, Bewusstlosigkeit und Atemlähmung.

In niedrigen Konzentrationen warnt der unangenehme Geruch und die reizende Wirkung des Schwefelwasserstoffs vor Vergiftungen. In Konzentrationen über 200 ppm betäubt Schwefelwasserstoff jedoch die Geruchsrezeptoren, wodurch eine Erhöhung der Konzentration nicht mehr über den Geruch wahrgenommen werden kann.

H_2S -Konzentrationen über 1000 ppm sind innerhalb weniger Minuten tödlich, über 2000 ppm innerhalb von Sekunden.

Die vordringliche Maßnahme bei einer stattgefundenen oder vermuteten Schwefelwasserstoffvergiftung ist die Beatmung mit 100-prozentigem Sauerstoff (BASF Medizinische Leitlinien 2010).

Schwefelwasserstoff hat jedoch auch eine physiologische Bedeutung. Es ist ein biologisches Gas, das im Körper endogen aus der Aminosäure L-Cystein synthetisiert wird. Diese Synthese wird durch die Pyridoxal-5'-Phosphate abhängigen Enzyme Cystathionin- β -Synthase (CBS) und Cystathionin- γ -Lyase (CSE) katalysiert (Moore et al. 2003, Wang 2003).

Die Expression der beiden Enzyme CBS und CSE, in weiterer Folge damit auch die Synthese von H_2S , wurde im Gehirn (CBS) sowie in den glatten Muskelzellen des Darms, der Aorta, der Portalvene aber auch im Gewebe von Leber und Niere (CSE) nachgewiesen (Hosoki et al. 1997).

Es wurde von H_2S -Konzentrationen von 50 bis 160 μM im Hirngewebe (Hosoki et al. 1997, Abe et al. 1996) und 46 μM im Rattenserum berichtet (Zhao et al. 2001).

Die Bedeutung von Schwefelwasserstoff im kardiovaskulären System wurde in zahlreichen Studien untersucht:

Wang et al. erkannte, dass Schwefelwasserstoff eine wichtige regulatorische Rolle im kardiovaskulären System besitzt und bezeichnete das Gas neben Stickstoffmonoxid (NO) und Kohlenmonoxid (CO) als so genannten dritten endogenen Gasotransmitter (Wang et al. 2002).

In Untersuchungen zum Wirkmechanismus wurde bekannt, dass endogen gebildeter Schwefelwasserstoff an der glatten Gefäßmuskulatur die Öffnung von K_{ATP} -Kanälen verursacht, wodurch es zu einem Auswärtsstrom von Kalium aus der Zelle kommt und dadurch eine Hyperpolarisation der Zellmembran bewirkt wird. Durch die Hyperpolarisation werden spannungsabhängigen Calciumkanälen deaktiviert was wiederum die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur und somit eine Vasodilatation zur Folge hat (Zhao et Wang 2002).

Als Nachweis des gefäßerweiternden Effekts von Schwefelwasserstoff dient die Tatsache, dass ein selektiver Antagonisten (Glibenclamid) des ATP-abhängigen Kalium-Kanals (K_{ATP}) die Wirkung vermindert. (Zhao et al. 2001, Zhao and Wang 2002, Cheng et al. 2004).

Ob der Schwefelwasserstoff alleine über den K_{ATP} -Kanal die vaskuläre Regulation steuert oder auch andere Mechanismen wie zum Beispiel ein Eingriff in den Adenylatcyclase/cAMP Weg (Lim et al. 2008) oder die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren (Abe and Kimura 1996) beteiligt sind ist bisher noch nicht vollständig geklärt.

Der Beteiligung von Schwefelwasserstoff an der Regulation zellulärer Funktionen im kardiovaskulären System wurde in den letzten Jahren vermehrt Interesse beigemessen.

Chen et al. entdeckten einen proliferationshemmenden Effekt von Schwefelwasserstoff auf die glatten Muskelzellen vaskulärer Gefäße (Chen et al. 2003).

Yang et al. fanden sogar einen proapoptotischen Effekt auf die glatten Muskelzellen der menschlichen Aorta, der sowohl durch endogenen als auch durch exogenen Schwefelwasserstoff ausgelöst wurde (Yang et al. 2006).

In den Versuchen wurde durch Gentransfer das Enzym Cystathionin- γ -Lyase (CSE) in Muskelzellen der Aorta verstärkt exprimiert und dadurch vermehrt Schwefelwasserstoff gebildet. Die anschließend festgestellte verstärkte Expression von Caspase-3, dem wichtigsten Enzym des programmierten Zelltodes, lässt auf eine verstärkte apoptotische Aktivität schließen (Yang et al. 2006).

Die Ergebnisse dieser Studien legen den Schluss nahe, dass H_2S im Zuge der Behandlung von Herzinsuffizienz (Remodelling) eine bedeutende Rolle haben könnte.

Nachdem die grundlegende Bedeutung von Stickstoffmonoxid in der Regulation des Blutdruckes bereits in den letzten zwei Jahrzehnten erkannt und erforscht wurde, schenkte man der Rolle von Schwefelwasserstoff im Hinblick auf die Blutdruckregulation erst in den letzten Jahren zunehmend Beachtung.

Bei Mäusen deren CSE-Enzym genetisch abgeschaltet war („CSE Knockout-Mäuse“) sank der H_2S -Spiegel im Serum, Herz, Aorta und anderem Gewebe um bis zu 80 Prozent. In der Folge entwickelten die Mäuse eine altersabhängige ausgeprägte Hypertonie. Der Blutdruck der 12 Wochen alten Knockout-Mäusen lag 30 Prozent über dem der Mäuse in der Kontrollgruppe. Dieser Zusammenhang liefert einen wichtigen Hinweis auf die Bedeutung von H_2S als gefäßerweiternder Regulator des Blutdrucks. Damit könnte Schwefelwasserstoff in einigen Organen mindestens ebenso wichtig für die Regulation der Gefäßweite sein wie Stickstoffmonoxid (Yang et al. 2008).

Eine beliebte oft in der Selbstmedikation eingesetzte Maßnahme aus dem Pflanzenreich, die als Schutz vor kardiovaskulären Erkrankungen dienen soll, ist Knoblauch. Auch hier dürfte die Wirkung auf den Effekt von Schwefelwasserstoff zurückzuführen sein.

In einer Studie wurde erforscht, dass die im Knoblauch enthaltenen organischen Polysulfide in menschlichen roten Blutkörperchen, besonders in deren Membranen, zu dem gefäßregulierenden Schwefelwasserstoff umgewandelt werden, was wiederum den positiven Effekt auf das Herzkreislaufsystem erklärt (Benavides 2007).

Somit ist die therapeutische Verwendung von Schwefelwasserstoff in der Behandlung der arteriellen Hypertonie nahe liegend. Allerdings sind die Forschungsergebnisse noch nicht

ausgereift genug, sodass ein klinischer Einsatz noch in weiter Ferne liegt. Es werden noch einige Untersuchungen notwendig sein, bevor Schwefelwasserstoff standardmäßig in der Therapie eingesetzt werden kann.

Bisher stehen für die pharmakologische Behandlung der arteriellen Hypertonie im Wesentlichen fünf Substanzklassen zur Verfügung. Diuretika, Beta-Rezeptoren-Antagonisten, ACE-Hemmer, AT1-Rezeptorantagonisten bzw. Kalziumkanalblocker werden sowohl als Monotherapie als auch - bei unzureichendem Erfolg - als Kombinationstherapie eingesetzt. Die Kombination ist letztlich auch daher sinnvoll, weil durch den gemeinsamen Einsatz unterschiedlicher Wirkstoffe die Wirksamkeit verbessert, die Nebenwirkungsrate aber durch die vergleichsweise geringeren therapeutischen Dosen niedrig gehalten werden kann (Forth et al. 2009).

Was keinesfalls außer Acht gelassen werden darf ist die Tatsache, dass neben der pharmakologischen Therapie der Hypertonie diverse so genannte Lifestyle-Maßnahmen unumgänglich sind und als wesentlicher Bestandteil der Therapie angesehen werden müssen. So bewirkt etwa eine Gewichtsabnahme von zehn Kilogramm in etwa eine Blutdrucksenkung von 10 mmHg, was man mit der Potenz eines Blutdruckmedikaments vergleichen kann (Stevens 1993).

Über die potenzielle Rolle von H_2S bei Entzündung gibt es reichlich Literatur, wobei es sich hier vielfach um sehr kontroversielle Postulate handelt. Dadurch ist die Rolle von H_2S hinsichtlich des Entzündungsgeschehens nicht eindeutig einzuordnen.

Einige Studien deuten darauf hin, dass endogenes H_2S entzündungshemmend wirkt, während in anderen Studien eine pro-inflammatorische Wirkung von H_2S postuliert wird.

Ein entzündungshemmender Effekte von H_2S -Donoren zeigt sich dadurch, dass die Bindung von Leukozyten an das Endothel gehemmt wird (Distrutti et al. 2006) und ein vermindertes Auftreten von Colitis Ulcerosa bei Ratten (Fiorucci et al. 2007).

Im Gegensatz dazu wurde auch erkannt, dass erhöhte H_2S und CSE Konzentrationen Ausdruck von Entzündungen ist (Mok et al. 2004, Li et al. 2005). Überdies soll Schwefelwasserstoff die Bildung von proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen induzieren (Zhi et al. 2007).

Der klinische Einsatz von Schwefelwasserstoff im Hinblick auf inflammatorische Prozesse ist daher noch in weiter Ferne. Es bedarf noch einiger Forschungsarbeit bevor man mit eindeutigen Ergebnissen und Therapievorschlügen rechnen darf.

2 Zielsetzung

In dieser Diplomarbeit wurde die pharmakologische Wirkung von WHG73T und SWS2 auf isolierte Organe des Meerschweinchens untersucht. Die beiden Substanzen wurden am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie der Universität Wien neu synthetisiert.

Es galt im Speziellen herauszufinden, wie sich WHG73T und SWS2 am Herzen hinsichtlich Inotropie und Chronotropie auswirkten sowie den etwaigen spasmolytischen Effekt auf die glatten Muskelzellen festzuhalten.

Zu diesem Zweck sollten Versuche an Vorhöfen, Papillarmuskeln, Aorten, Lungenarterien und Dünndarmteilen durchgeführt werden, die für diese Untersuchungen speziell präpariert werden mussten. Da um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten die genaue Vorgehensweise sehr wichtig war, kam der Aufbereitung der Präparate ein großer Stellenwert zu.

3 Material und Methodik

3.1 Versuchstiere

Für die praktische Durchführung der vorliegenden Diplomarbeit wurden isolierte Organe von Meerschweinchen verwendet. Die dort befindlichen Ionenkanäle zeigen sich in ihrer Charakteristik den menschlichen Ionenkanälen sehr ähnlich. Die Meerschweinchen stammten aus dem Department für Toxikologie und Labortierzucht der Universität Bratislava in Dobra Voda. Von den Versuchstieren, die sowohl männlichen als auch weiblichen Geschlechtes waren und zwischen 300 und 600 Gramm wogen, wurden die Stämme „DH“ (Innzucht) und „TRIK“ (Auszucht) verwendet. Die zwischen vier und acht Wochen alten Tiere wurden durch einen gezielten Genickschlag getötet. Durch diese Methode wird ein schneller schmerz- und stressarmer Tod gewährleistet. Bereits einen Tag vor der Durchführung des Versuches wurden die Meerschweinchen in Futterkarenz gestellt. Dies war notwendig um einen möglichst konstanten Tonus der Dünndarmmuskulatur und somit gleiche Voraussetzungen für jeden Versuch zu erreichen.

Direkt nach dem Exitus des Tieres wurde der Bauchraum mit Hilfe einer Schere geöffnet. Daraufhin wurde zunächst das Herz mit der Arterie pulmonalis, dann ein Stück vom Ileum terminalis und zuletzt die Aorta entnommen. Nachdem die Organe entnommen wurden mussten diese in einer Oxymix (95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid) begasten Nährlösung eingelegt werden. Dadurch kann die durch mangelnde Sauerstoffversorgung hervorgerufene Hypoxie verhindert werden.

3.2 Physiologische Nährstofflösung

Die bereits erwähnte Nährstofflösung, nach dem Pharmakologen Maurice Vejux Tyrode auch als Tyrode-Lösung bezeichnet, simulierte möglichst physiologische Bedingungen. Um auch eine optimale Sauerstoffversorgung der entnommenen Organe zu erhalten wurde in die Tyrode-Lösung ein Gasgemisch eingeleitet. Dieses Gemisch bezeichnet man als Oxymix und besteht zu 95 % aus Sauerstoff und 5 % aus Kohlendioxid.

Die Herstellung der Nährlösung erfolgte nach der Vorschrift von Reiter und entsprach damit einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung.

Tabelle 1: Zusammensetzung der physiologischen Nährstofflösung

Substanz	ml Stocklösung/ L Tyrode	mmol/L	Stocklösung	Molare Masse (g/mol)
MgSO ₄	1,18	0,29	147,02 g/5 l	120,37
KH ₂ PO ₄	1,18	2,15	62,00 g/250 ml	136,09
Glucose	1,98	-	Reinsubstanz	180,16
CaCl ₂	3,20	3,92	34 g/250 ml	110,98
NaCl	33,60	114,90	1000,25 g/5 l	58,442
KCl	35	4,73	50,33 g/5 l	74,55
NaHCO ₃	83,70	24,91	125,00 g/5 l	84,01

Durch eine am Versuchstag frisch zubereitete Nährlösung wurden die besten Bedingungen für einen erfolgreichen Versuchsablauf ermöglicht.

Bei der Zubereitung der Lösung wird zunächst die entsprechende Menge MgSO₄, KH₂PO₄, NaHCO₃, NaCl und KCl in Form einer Stammlösung in einem 2 Liter fassenden Messkolben gefüllt. Anschließend wurde die eingewogene Glucose zugefügt und der Messkolben zu 2/3 mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Nachdem die klare Lösung nun rund 20 Minuten mit Oxymix (95 % O₂ und 5 % CO₂) begast wurde, konnte die CaCl₂-Lösung zugetropft werden.

Um dabei eine Trübung der Lösung durch schwerlösliche Calciumsalze zu verhindern, musste dieser Zubereitungsschritt sehr langsam durchgeführt werden. Zur Fertigstellung der Nährlösung wurde der Messkolben mit destilliertem Wasser bis zur 2 Liter Markierung aufgefüllt und zur Homogenisierung mehrmals kräftig geschwenkt.

3.3 *Entnahme und Präparation der Organe*

Die Überprüfung der Wirksamkeit der Substanzen wurde an der isolierten Aorta, dem terminalen Ileum, der Arteria pulmonalis, am rechten Vorhof und am Papillarmuskel durchgeführt.

3.3.1 Isolierung und Präparation des Atrium cordis dextrum (Rechter Vorhof)

Unmittelbar nach der Tötung des Meerschweinchens wird der Bauchraum des Tieres geöffnet, das pulsierende Herz entnommen und in eine mit Kork belegte und mit Nährmedium befüllte Petrischale transferiert. Ab diesem Zeitpunkt muss das entnommene Herz stets von dem begasten Nährstoffmedium umgeben sein. Zunächst wurde unter dem Mikroskop das Herz vom umgebenden Lungen- und Fettgewebe befreit. Nun wurde das Herz an deren oberen und unteren Ende mittels 2 Präpariernadeln an der Korkunterlage fixiert. Die Trennung des Vorhofes, mit darauf befindlichen Sinusknoten von den Ventrikeln erfolgte entlang des Succus coronarius. An den mittels Präpariernadeln fixierten Punkten wurde sorgsam ein Silberdrahthaken angebracht. Dies erfolgte durch zwei verschiedenfarbige Fäden, welche eine, bei der Einspannung in die Versuchsanordnung relevante, Unterscheidung des oberen und des unteren Ende des Vorhofes ermöglichten. Nach erfolgter Präparation wurde der Vorhof wieder in ein mit begaster Tyrode gefülltes Becherglas übergeführt.

Bei der Präparation des Herzens musste sehr vorsichtig gearbeitet werden, da schon eine leichte Verletzung oder Überdehnung des Vorhofes zu einem Ausfall des Sinusknoten führen konnte.

3.3.2 Isolierung und Präparation der Arteria pulmonalis (Lungenarterie)

Die Isolierung der Arteria pulmonalis erfolgte über das bereits explantierte Herz, das noch mit Teilen von Lunge u Fettgewebe verbunden war. Der Präparation der Arteria pulmonalis musste daher eine vollständige Reinigung des Herzens vorausgehen. Erst dann wurde die Arteria pulmonalis möglichst knapp an der rechten Herzkammer abgetrennt. Für die Versuche wurde nur der maximal 10 mm lange Teil des Lungenstammes herangezogen. Unter dem Mikroskop wurde die Pulmonalarterie in der mit Tyrode befüllten Petrischale fixiert und von noch anhaftendem Muskel- und Fettgewebe befreit. Zuletzt wurde die Arteria pulmonalis mit Hilfe einer Federschere in mehrere etwa drei Millimeter breite Ringe geschnitten. Diese wurden bis zum Versuchsbeginn wiederum in begaster Tyrode aufbewahrt.

3.3.3 Isolierung und Präparation des Musculus papillaris (Papillarmuskel)

Bevor die Isolierung der Papillarmuskeln aus der Herzkammer erfolgen konnte, musste zunächst der rechte Ventrikel, von der Arteria pulmonalis ausgehend, entlang des Septums (Scheidewand) in Richtung Herzspitze geöffnet werden. Nun konnte das aufgeklappte Herz mit Präpariernadeln auf einer Korkplatte fixiert werden. Um einen einwandfreien Versuchsablauf zu ermöglichen wurden die selbst spontanaktiven und somit ins Erregungsleitungssystem eingreifenden Purkinje-Fasern entfernt. Nach der Lokalisierung der Papillarmuskeln wurde an jedem Muskelansatz mit Hilfe eines Bindefadens ein Silberdrahthaken befestigt. Anschließend wurde die Sehne zur Herzwand getrennt und die präparierten Papillarmuskeln in eine begaste Nährstofflösung im Becherglas übergeführt. Damit eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Papillarmuskeln sichergestellt war, wurden für die Versuchsreihe möglichst kleine Papillarmuskeln ausgewählt.

3.3.4 Isolierung und Präparation des terminalen Ileums (Dünndarm)

Nach der Entnahme des Herzens wurde das Abdomen weiter aufgeschnitten und ein etwa zwanzig Zentimeter langer Teil des terminalen Ileums entnommen. Dabei handelt es sich um jenen Teil des Dünndarmes, der dem Jejunum (Leerdarm) folgt und schließlich in den Caecum (Blinddarm) übergeht. Bei der Entnahme wird zunächst der Ileum im Bereich des Überganges vom Jejunum mit einem Faden abgebunden. Der Bindefade diente in weiterer Folge der Markierung des oberen Endes des Ileums. Um die glatte Muskulatur des Ileums nicht zu verletzen musste auch bei der Isolierung des Darmes äußerst vorsichtig vorgegangen werden. Da der Darm besonders empfindlich auf Sauerstoffmangel reagierte musste dieser unmittelbar nach der Entnahme aus dem Meerschweinchen wieder in einer begasten Nährstofflösung aufbewahrt werden.

Die weitere Präparation des Ileums erfolgte in einer mit Kork ausgelegten Petrischale unter dem Mikroskop. Dabei wurde der Darm zunächst in etwa ein Zentimeter große Stücke geschnitten. Dabei wurde der Darm stets schräg durchgeschnitten, wobei spitz zulaufende Enden entstanden, die mittels Präpariernadeln am Kork befestigt wurden. Nun konnte der Darm mit einer Pipette durchspült und somit von etwaigen Chymusresten befreit werden. Bei der anschließenden Befestigung der Silberdrahthaken an den Enden des Darmstückes wurden zwei unterschiedlich gefärbte Bindefäden verwendet. Dies diente dazu, das jejunale Ende des Darmstückes vom caecalen Ende des Stückes zu unterscheiden. Die Silberdrahthaken wurden so angebracht, dass die Öffnungen des Darmstückes möglichst groß erhalten blieben und somit während des

Versuches die zu untersuchende Substanz sowohl von Innen- als auch von der Außenseite auf die Darmschleimhaut einwirken konnte.

3.3.5 Isolierung und Präparation der Aorta descendens

Die Isolierung der Aorta erfolgte nachdem bereits das Herz und das Darmstück aus dem toten Meerschweinchen entnommen wurden. Um an die am Rückgrat des Meerschweinchens befindliche Aorta zu gelangen musste der Thorax weit geöffnet und die Wirbelsäule bauchseits durchgebogen werden. Anschließend wurde die Aorta am oberen Ende durchtrennt. An dieser Stelle wurde nun Aorta durch einen leichten Zug mit der Pinzette vom Rückgrat abgehoben und gleichzeitig das die Aorta mit dem Rückgrat verbindende Bindegewebe entlang der Wirbelsäule durchgeschnitten. Keinesfalls durfte die Aorta durch die Schere verletzt oder durch zu starken Zug mit der Pinzette überdehnt werden, da dies die Aussagekraft der Versuchsergebnisse beeinträchtigen würde. Das nun herausgeschnittene etwa drei Zentimeter lange Stück der Aorta wurde wiederum in einer mit begaster Nährstofflösung befüllter Petrischale am Korkboden fixiert. Die weiteren Präparationsschritte erfolgten unter dem Mikroskop. Zunächst wurde noch an der Aorta anhaftendes Fett- und Muskelgewebe vorsichtig entfernt, um das Teilstück schließlich in mehrere etwa drei Millimeter breite Ringe zu schneiden. Beschädigte und von der gewünschten Breite abweichende Aortenringe wurden aussortiert. Die restlichen Aortastücke wurden bis zur Einspannung in die Versuchsapparatur in einer mit Oxymix begasten Nährstofflösung aufbewahrt.

3.4 Versuchsanordnung

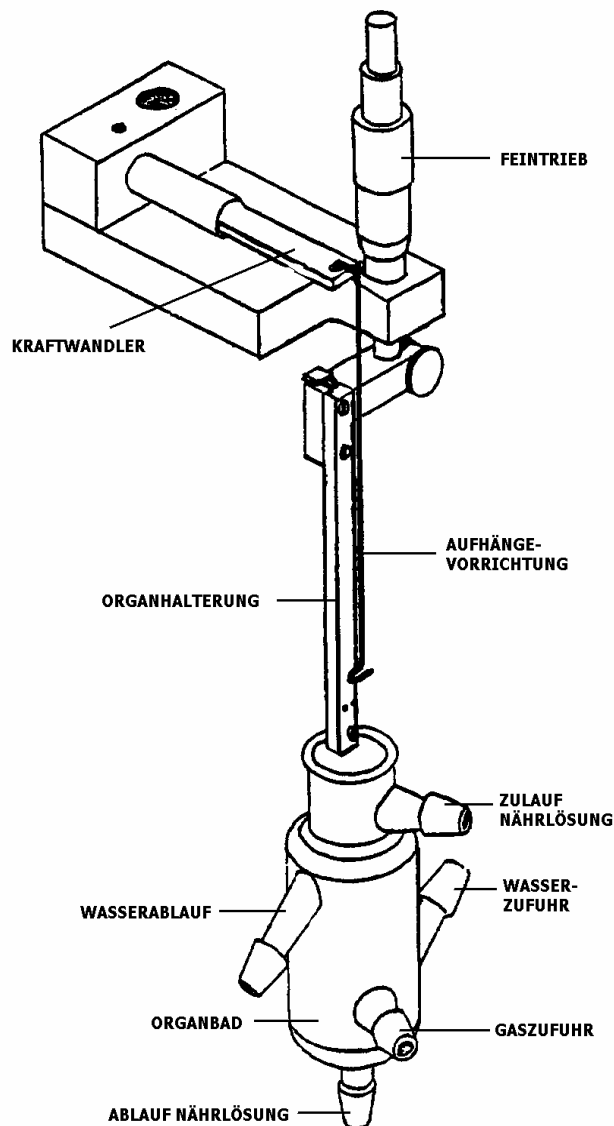
Für die Durchführung der Organversuche dieser Diplomarbeit standen zwei unterschiedliche Apparaturen zu Verfügung. Je nach Anforderung des präparierten Organs wurde Apparatur A oder Apparatur B ausgewählt. Die Versuche am Musculus papillaris wurden an der Apparatur A, die Versuche an der Aorta, der Arteria pulmonalis, dem Atrium dexter und am terminalen Ileum an der Versuchsapparatur B durchgeführt.

3.4.1 Apparatur A

Die Bestimmung der Kontraktionskraft des elektrisch stimulierten Papillarmuskels konnte ausschließlich an dieser Apparatur durchgeführt werden.

Das Behältnis des Wasserbades bestand aus Acrylglas und war mit destilliertem Wasser gefüllt. Über eine im Wasserbad befestigte und an einen Thermostaten gekoppelte Heizspirale wurde die Wassertemperatur konstant bei $35(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ gehalten. Im Wasserbad war eine ebenfalls aus Acrylglas bestehende und siebenundzwanzig Milliliter fassende Muskelkammer platziert. Um rechtzeitig eine den physiologischen Bedingungen entsprechende Temperatur zu erreichen, musste die Kammer bereits zehn Minuten vor Versuchsbeginn mit fünfundzwanzig Milliliter Nährstofflösung gefüllt werden. Während des gesamten Versuchsablaufes wurde die Nährstofflösung über eine Glasfritte begast. Dadurch konnte eine permanente Sauerstoffversorgung des Papillarmuskels und ein konstanter pH-Wert der Tyrode (7,2 bis 7,4) erreicht werden. Der wie bereits anfänglich beschrieben präparierte Papillarmuskel wurde über den befestigten Silberdrahthacken an der Aufhängevorrichtung befestigt. Diese war wiederum über einen Silberdraht mit einem Kraftwandler verbunden. Das nun nach unten zeigende freie Ende des Papillarmuskels wurde mittels einer Plexiglasscheibe an eine Kathode gedrückt. Durch den Stativschlitten wurde nun der an der Organhalterung befestigte Muskel bis zu vollständigen Umspülung in die Nährstofflösung herabgesenkt. Mit Hilfe des Feintriebes wurde die Vorspannung für eine maximale Kontraktionskraft eingestellt. Da der Papillarmuskel nicht spontan schlug, wurde er durch einen Accupulser Stimulator über die angelegte Kathode elektrisch gereizt. Die dadurch entstandene isometrische Kontraktion des Muskels wurde über den Silberdraht zum Kraftwandler übergeleitet, dort in einen Stromimpuls umgewandelt und schließlich durch einen Amplifier (Transbridge TM 4-Channel Transducer Amplifier, World Precision Instruments, Sarasota, USA) verstärkt. Die nun als Amplitude dargestellte Muskelkontraktion wurde mit einem Schreiber (Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel, Firma Kipp & Zonen, Niederlande) auf Millimeterpapier aufgezeichnet.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung A



3.4.2 Apparatur B

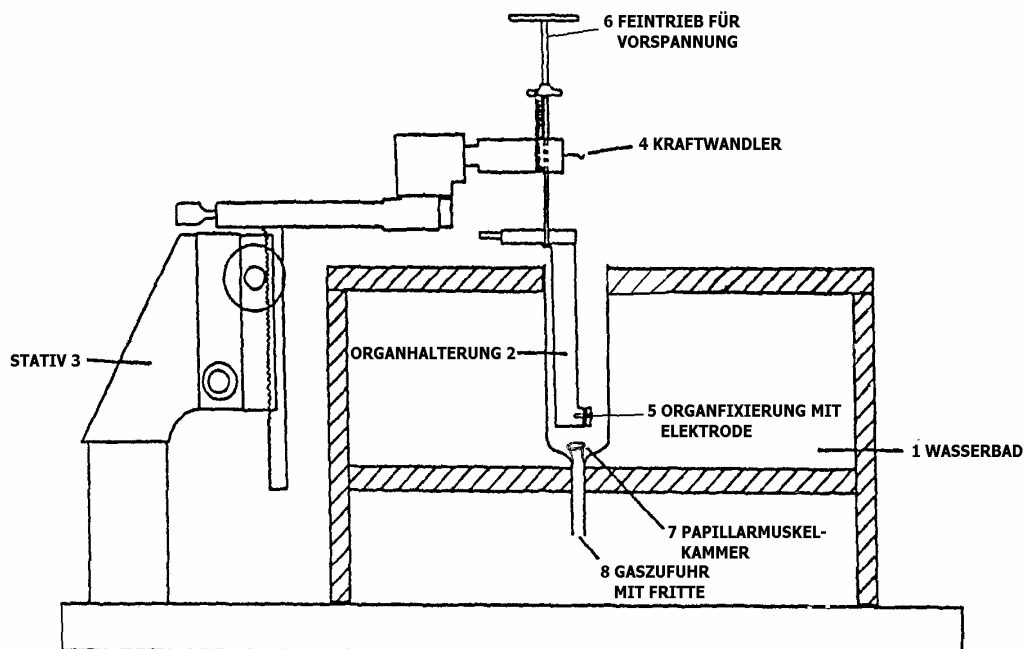
An dieser Apparatur wurden die Versuche am Atrium cordis dextrum, der Arteria pulmonalis, dem Ileum terminale und der Aorta durchgeführt. Der Aufbau der Versuchsanordnung B ist dem der Versuchsanordnung A in vielen Teilen ähnlich.

Das Organbad wurde bei dieser Apparatur durch ein doppelwandiges mit destilliertem Wasser gefülltes Acrylglasgefäß gebildet. Das destillierte Wasser wurde in einem externen Behälter mittels Heizspirale und Thermostat auf physiologische Verhältnisse simulierende $37(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ erwärmt und über den Wasserzu- bzw. Wasserablauf durch das Doppelwandige Gefäß geschleust.

Die nun optimal temperierte Nährstofflösung wurde über einen mit einer Klemme regulierbaren Schlauch mit Fritte mit einer Sauerstoff/Kohlendioxid-Mischung begast.

Auf Grund ihrer Form konnten die Aorta und die Arteria pulmonalis direkt zwischen die am Steg und an der Aufhängevorrichtung des Kraftwandlers befestigten Silberdrähte gehängt werden. Beim Atrium cordis dextrum und beim Ileum terminale erfolgte das Einspannen über die am Organ angebrachten Silberdrahthaken. Die Organe mussten vorsichtig aber rasch eingespannt und in die physiologischen Bedingungen der Nährstofflösung getaucht werden. Die Vorspannung wurde, wie auch in Apparatur A, über einen Feintrieb eingestellt. Ebenfalls analog zu Apparatur A wurden die Kontraktionsänderung der Organe über einen Kraftwandler zu einem Verstärker (Transbridge TM 4-Channel Transducer Amplifier, World Precision Instruments, Sarasota, USA) geleitet um diese schließlich mit einem Schreiber (Flatbed Recorder BD 112 Dual Channel, Firma Kipp & Zonen, Niederlande) aufzuzeichnen.

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung B



3.4.3 Kraftwandler

Der Kraftwandler wandelte die durch eine Kontraktionsänderung des Organs entstandene mechanische Kraft (Kontraktionskraft) in ein elektrisches Signal um. Zentraler Bauteil des Kraftwandlers ist ein Dehnungsstreifen in Wheatstone'scher Brückenschaltung. Die auf den Dehnungsstreifen übertragene Kontraktionsänderung bewirkte eine Änderung des elektrischen Widerstandes, was wiederum eine Änderung des Stromflusses zu Folge hatte. Letztere verhielt sich proportional zur Kontraktionsänderung.

3.4.4 Verstärker und Schreiber

Das vom Kraftwandler produzierte elektrische Signals wurde zur deutlicheren Registrierung zu einem Verstärker (4-Channel Transducer Amplifier, Firma WPI, USA) geleitet und dort verstärkt. Die Aufzeichnung der Impulse erfolgte über einen Flachbettschreiber der Firma Kipp & Zonen, Modell BD 112, auf Millimeterpapier.

3.4.5 Carbogenversorgung

Von einer zentral gelagerten und mit komprimierten Oxy mix (95 % Sauerstoff, 5 % Kohlendioxid) gefüllten Stahlflasche wurde das Gasgemisch ins Labor geleitet. Dort wurde es über Schlauchsystem von den an der Wand angebrachten Gasventilen bis zu den entsprechenden Versuchsaapparaturen geleitet. Für eine feine Zerstäubung des Gases im Organbad sorgte eine am Ende des Schlauches angebrachte Glasfritte. Die Regulation der Gasmenge erfolgte über die an der Wand angebrachten Gasventile und über die am Schlauch befestigten Schraubklemmen. Durch die konstante Begasung des Organbades wurde neben der ausreichenden Sauerstoffversorgung der Organe auch ein anhaltend physiologischer pH-Wert ermöglicht. Des Weiteren wurde durch die Begasung die zu testende Substanz in der Nährstofflösung des Organbades gleichmäßig verteilt.

3.5 Ablauf der Versuche

3.5.1 Versuchsdurchführung an der Aorta

Vor Versuchsbeginn wurden das Organbad, der Stativschlitten und die Organhalterung mittels einer Bürste und destilliertem Wasser von möglichen Verunreinigungen und Rückständen des Vorversuches gereinigt. Nachdem mit Tyrode nachgespült wurde konnte das Organbad mit 25 Milliliter Nährstofflösung gefüllt werden.

Nun wurden der wie bereits vorher beschrieben isolierte und präparierte Aortenring in die Organhalterung eingespannt. Dabei stellte der zu dem Kraftwandler nach oben verlaufende Silberdraht die bewegliche und der am Steg befestigte Silberdraht die fixe Aufhängung dar. Keinesfalls durfte der Aortenring bei der Einspannung durch die Silberdrahtenden oder übermäßige Dehnung verletzt werden. Über den Stativschlitten wurde das befestigte Präparat in das begaste und mit $37(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ erwärmten Tyrode befüllten Organbad herabgesenkt.

Nachdem der Schreiber eingeschaltet und mittels Stellschraube auf die Nulllinie eingestellt war, konnte auch der Verstärker in Betrieb genommen werden. Dabei entstandene Verschiebungen der Schreiberposition wurden wiederum mit der Stellschraube auf die Nulllinie korrigiert. Anschließend wurde die Aorta mittels Grob- und Feintrieb bei 10 mV um 19,6 mN, das bedeutete eine Verschiebung der Schreiberposition um 10 Zentimeter, vorgespannt. Durch das Vorspannen erreichte man, analog zu den Versuchen der weiteren Organe, eine einheitlich eingestellte Ausgangsspannung. Als nächster Schritt wurde die Verschiebung des Schreibers über den Verstärker auf den Nullpunkt justiert. Nun wurden dem Organ 20 Minuten zur Anpassung an die veränderten Bedingungen gewährt. Dann korrigierte man etwaige Positionsverschiebungen des Schreibers durch die Mikrometerschraube, am Schreiber wurde von 10 mV auf 5 mV umgestellt und die den Aortenring umgebende Nährstofflösung abgelassen und rasch durch 25 Milliliter einer 90 mM Kaliumchloridlösung ersetzt. Diese Lösung war durch Lösen von 670 Milligramm KCl in 100 Milliliter Nährstofflösung hergestellt worden.

Zu Beginn der nun stattfindenden Kontraktion wurde der Schreibstift auf das Millimeterpapier abgesenkt und mit der Aufzeichnung des Versuches begonnen. Zunächst lief die Kontraktion des Organs, wie an der Steilheit der Kurve zu erkennen, sehr rasch ab. Schon nach wenigen Sekunden verringerte sich der Kontraktionsanstieg. Eine konstante Kontraktionskraft wurde dennoch erst nach etwa 60 Minuten erreicht. Dies war am Millimeterpapier an der nun konstant geraden Linie, dem Plateau, zu erkennen.

Nun konnten die Versuche zur Abnahme der Kontraktionskraft begonnen werden. Dabei wurde die in DMSO (Dimethylsulfoxid) gelöste Versuchssubstanz im Abstand von 45 Minuten mit Hilfe einer Kolbenhubpipette der Tyrode kumulativ zugesetzt und die Abweichung von dem als

100 % definierten Plateau festgestellt. Beim zusetzen der Testsubstanz musste sehr vorsichtig vorgegangen werden, da jede Berührung des Silberdrahtes oder der Organhalterung die Ergebnisse verfälscht hätte.

3.5.2 Versuchsdurchführung an der Arteria pulmonalis

Der Versuchsablauf bei der Arteria pulmonalis war mit jenem bei der Aorta beinahe ident. Einzig die Vorspannung unterschied sich. Diese wurde auf 9,81 mN eingestellt und konstant bei 5 mV belassen.

3.5.3 Versuchsdurchführung am Ileum terminale

Über die an den beiden Enden des Darmstückes angebrachten Silberhaken wurde das Versuchsorgan in die dafür vorgesehene Einspannvorrichtung gehängt. Dabei war auf die richtige Lage des Organs zu achten: das jejunale Ende musste nach Oben, das caecale Ende nach Unten ausgerichtet sein. Die zur Orientierung notwendige Markierung der Teile wurde bereits im vorangegangenen Kapitel erläutert. Nach diesem sehr behutsam durchgeführten Schritt wurde der Darm in die begaste Tyrode abgesenkt. Nachdem der Schreiber und der Verstärker eingeschaltet waren konnte eine Vorspannung von 4,92 mN bei 5 mV eingestellt werden. Nun folgte analog zu den Versuchsabläufen der anderen Organe eine 20-minütige Phase zur Gewöhnung an die Bedingungen. Die in dieser Zeit durch Anpassung an das Milieu zu beobachtende Verschiebung der Schreiberposition musste über die Mikrometerschraube korrigiert werden. Nach der Anpassungsphase wurde die Tyrode abgelassen und durch 25 ml einer 60 mM Kaliumchloridlösung ersetzt. Diese wurde täglich frisch durch Lösen von 0,45 g Kaliumchlorid in 100 ml Nährstofflösung zubereitet. Unmittelbar nachdem der Darm von der KCl-Lösung umspült war, fand eine starke Kontraktion des Organs statt. In dieser Phase unterschied sich die mit Hilfe des Schreibers aufgezeichnete Kurve deutlich von jener der Aorta und Arteria pulmonalis. Nach der nur wenige Sekunden anhaltenden starken Kontraktion sank die Kontraktion und damit auch die aufgezeichnete Kurve auf ungefähr 60 Prozent des zu Beginn erreichten Wertes ab. Mindestens 45 Minuten dauerte es nun bis sich eine konstante Kontraktion, die am Millimeterpapier als konstantes Plateau zu erkennen war, einstellte. Kam es während der 45-minütigen Stabilisierungsphase auch nur zu einer leichten Abnahme der Kontraktion, wurde das Präparat verworfen. Die Zugabe der Testsubstanz in das Organbad erfolgte in der entsprechenden Konzentration im Abstand von 45 Minuten.

3.5.4 Versuchsdurchführung am Atrium cordis dextrum

Dieser Versuch wurde an der Apparatur B durchgeführt. Die für die Versuchsdurchführung notwendige Isolierung und Präparierung des Vorhofes wurde anfänglich bereits beschrieben.

Über die am rechten Vorhof angebrachten Silberhaken wurde das Präparat in die Organhängevorrichtung der Apparatur eingehängt. Für die Spontanaktivität des Vorhofes zeigt sich der darauf befindliche Sinusknoten verantwortlich. Um dessen Aktivität nicht zu gefährden musste bei der Versuchsvorbereitung besonders vorsichtig vorgegangen werden. Die Unterbrechung der Sauerstoffversorgung wurde durch rasches Einspannen kurz gehalten. Eine starke Dehnung des Vorhofes wurde zu jeder Zeit vermieden.

Nun wurden die für die Versuchsdurchführung benötigten Geräte in Funktion genommen. Der Flachbettscanner wurde auf 5 mV und Speed 5 mm/Sekunde eingestellt. Abweichungen des Schreibers von der Nulllinie wurden über ein Stellrad korrigiert. Auch die nach dem Zuschalten des Verstärkers erfolgte Verschiebung des Schreibers wird über einen Regler am Amplifier abgeglichen. Anschließend wurde mittels Feintrieb das Organ mit 10,4 mN vorgespannt. Anschließend folgte eine dreißigminütige Gewöhnungsphase des Vorhofes an die gegebenen Bedingungen. Währenddessen wurde alle fünf Minuten der Schreiber abgesenkt und für zwölf Sekunden die Schlagfrequenz aufgezeichnet. Dies stellte sich am Millimeterpapier des Schreibers als eine über sechs Kästchen bzw. sechs Zentimeter laufende Sinuskurve dar. Durch Multiplikation der Schläge innerhalb zwölf Sekunden mal 5, erhielt man die Schlaganzahl pro Minute. Die Amplitude war für diesen Versuchsablauf von geringerer Bedeutung. Als sich die Schlagfrequenz über vier aufeinander folgende Messungen nicht änderte, wurde das Organbad mit der zu testenden Substanz versetzt. Die Zugabe erfolgte alle 45 Minuten nach einem fixen Pipettierschema, das im Kapitel 3.6.3 beschrieben wird. Im Gegensatz zu den Versuchen an der Aorta, der Arteria pulmonalis und dem Ileum wurde der Schreiber auch während der Testsubstanzüberprüfung nur alle fünf Minuten für zwölf Sekunden abgesenkt. Die Schlagfrequenz pro Minute wurde wiederum durch Multiplikation ermittelt.

3.5.5 Versuchsdurchführung am Musculus papillaris

Die Präparierung des Papillarmuskels erfolgte wie bereits beschrieben. Nachdem der Papillarmuskel in der Apparatur B fixiert war, wurde der Muskel mit Hilfe eines Stativschlittens in die begaste und auf $35(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ temperierte Tyrode getaucht. Nach einer Gewöhnungsphase wurden der Verstärker und der Schreiber in Betrieb genommen. Über den Feintrieb wurde eine Vorspannung von 3,92 mN angelegt. Da eine Verringerung der Ausgangsspannung des Muskels eine unerwünschte Abnahme der Kontraktionskraft bewirkt hätte, musste während des

Versuches die Vorspannung immer wieder nachgestellt werden (Reiter 1967). Da die spontan schlagenden Purkinjefasern am Papillarmuskel bereits entfernt wurden, musste der Muskel über eine elektrische Stimulierung zur Kontraktion gebracht werden. Diese Stimulierung erfolgte über das Reizgerät Accupulser A310, Firma World Precision Instruments, USA das über eine Silberchloridelektrode mit dem Muskel verbunden war. Nach einer Adaptionzeit von zehn Minuten wurden der Muskel durch Rechteckimpulse mit einer Frequenz von einem Hertz über drei Millisekunden stimuliert. Beim Vorhof war diese externe elektrische Reizung nicht notwendig, da die Stimulation über den darauf befindlichen Sinusknoten erfolgte. Zeigte der eingespannte Papillarmuskel durch noch verbliebene Purkinjefasern auch ohne elektrische Reizung eine Kontraktion, konnte der Versuch erst nach deren Entfernung fortgesetzt werden. Die zur Stimulierung notwendige Stromstärke musste sehr vorsichtig gewählt werden. Sie durfte nur etwa 10 % über der minimalen Reizschwelle liegen. Eine darüber hinaus gehende Stimulation hätte eine rasche Entleerung der Catecholaminspeicher des Muskels, eine inkonstante Papillarmuskelkontraktion und dadurch verfälschte Versuchsergebnisse zur Folge (Furchgott et al. 1959). Während der ca. 45 Minuten langen Kontrollphasen wurde im Abstand von fünf Minuten eine Überprüfung der Amplitude durchgeführt. Dazu wurde der Schreiber für die Anzahl von fünf Amplituden am Millimeterpapier abgesetzt und auf Konstanz vermessen. Als eine konstante Amplitudenlänge erreicht war konnte mit der Injektion der Testsubstanz begonnen werden. Dabei wurde alle 45 Minuten die im Pipettierschema festgelegte Menge an Testsubstanz in das begaste und mit Tyrode befüllte Organbad injiziert. Die Aufzeichnung der Amplitude erfolgte weiterhin alle fünf Minuten, wobei jeweils die letzte Aufzeichnung einer Konzentration bei einer erhöhten Durchlaufgeschwindigkeit des Millimeterpapiers (20 mm/Sekunde) erfolgte. Dies ermöglichte eine genauere Vermessung der Amplitudenlänge.

3.6 *Untersuchte Substanzen*

Die verwendeten Testsubstanzen SWS2 und WHG73T wurden durch die Forschungsgruppe um ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Thomas Erker am Department für Medizinische / Pharmazeutische Chemie der Universität Wien neu synthetisiert und für die Durchführung der Versuche im Rahmen der Diplomarbeit zur Verfügung gestellt.

Auf Grund der schlechten Wasserlöslichkeit der Testsubstanzen wurde zur Herstellung der Stammlösungen Dimethylsulfoxid (DMSO) als Lösungsmittel gewählt. Dieses Lösungsmittel ermöglichte durch seine aprotisch dipolaren Eigenschaften sowohl das Lösen der lipophilen Versuchssubstanz als auch deren homogene Vermischung in der Nährstofflösung.

Bei der Herstellung der 100 µl Stammlösung wurde das Fassungsvermögen des beim Versuch verwendeten Organbades berücksichtigt. Die Einwaage wurde so berechnet, dass sich unabhängig vom Volumen des Organbades (8 ml oder 25 ml) nach vollständiger Zugabe der 100 µl Stammlösung eine Konzentration von 100 µmol/l erreicht war.

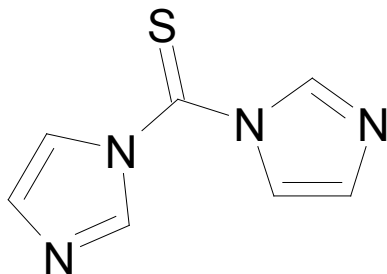
Für die Herstellung der Stammlösungen der Substanzen SWS2 und WHG73T wurden folgende Einwaagen berechnet:

Tabelle 2: Stammlösungen

Testsubstanz	Organbadvolumen (ml)	Molare Masse	Einwaage Testsubstanz für 100 µmol/Liter Tyrode
SWS2	8	178,22	0,14
	25	178,22	0,45
WHG73T	8	384,48	0,97
	25	384,48	0,31

3.6.1 Testsubstanz SWS2

Strukturformel:

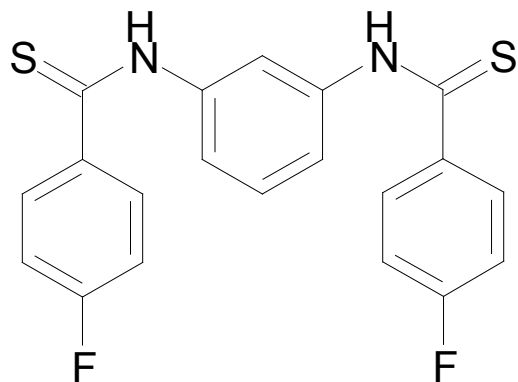


Nomenklatur: 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol

Molekulargewicht: 178,22

3.6.2 Testsubstanz WHG73T

Strukturformel:



Nomenklatur: *N,N'*-(1,3-Phenylene)bis(4-fluorbenzothioamid)

Molekulargewicht: 384,48

3.6.3 Pipettierschema

Mit Hilfe einer Finnmikropipette wurde die 100 µl Stammlösung schrittweise in das Organbad injiziert. Bei den Versuchsreihen der Substanz WHG73T wurde nach Ablauf der Kontrollphase im Abstand von 45 Minuten 1, 2, 7, 20 und 70 µl Stammlösung eingespritzt.

Dadurch wurde im Organbad eine Substanzkonzentration von 1, 3, 10, 30 und 100 µmol/l erreicht. Dieses Pipettierschema wurde auch bei den Versuchen der Substanz SWS2 an der Aorta angewendet. Zusätzlich wurden an allen Organen Versuche mit der Substanz SWS2 mit den Substanzkonzentrationen 30 µmol/l und 100 µmol/l durchgeführt. Die Injektion der Substanz erfolgte ebenfalls im von 45 Minuten.

Tabelle 3: Pipettierschema für WHG73T an allen Organen und SWS2 an der Aorta

Zugegebene Menge	Konzentration im Organbad
1 µl	1 µmol/l
2 µl	3 µmol/l
7 µl	10 µmol/l
20 µl	30 µmol/l
70 µl	100 µmol/l

Tabelle 4: Pipettierschema für SWS2 an allen Organen

Zugegebene Menge	Konzentration im Organbad
30 µl	30 µmol/l
70 µl	100 µmol/l

3.7 Datenauswertung und Statistik

3.7.1 Terminales Ileum, Aorta und Arteria pulmonalis

Für die Feststellung der dilatierenden Wirkung der Testsubstanzen auf die jeweiligen Organe wurde die Kontraktionskraft (f_c) in mN bestimmt. Dabei wurde die durch Zugabe von Kaliumchloridlösung erreichte maximale Kontraktion des Organs als Referenzwert für die durch die Testsubstanzen danach folgenden Dilatationen festgelegt. Dieser Referenzwert, auch als Kontrollwert bezeichnet, war die unmittelbar vor der ersten Substanzzugabe in der Aufzeichnung des Schreibers gemessene Distanz von der Nulllinie bis zum Plateau. Um den endgültigen Bezugswert in mN zu erhalten, wurde die mittels Lineal gemessene Distanz mit dem entsprechenden Eichfaktor der Versuchsanordnung, bei 5 mV entsprach 1 cm 0,98 mN, multipliziert. Stets 45 Minuten nach der Substanzzugabe, also unmittelbar vor einer neuen Konzentrationsstufe, wurde die Kontraktionskraft des Organs wieder ermittelt. Dabei wurde die zu diesem Zeitpunkt in der Kontraktionskurve gemessene Distanz wiederum mit dem Eichfaktor 0,98 multipliziert, allerdings musste hier zusätzlich noch die dilatierende Eigenwirkung des Lösungsmittels berücksichtigt werden. Durch den Vergleich der ermittelten Kontraktionskräfte vor und nach der Testsubstanzzugabe konnte die Dilatation der Organe auch prozentual dargestellt werden.

3.7.2 Atrium Dexter

Das Ziel der durchgeführten Versuche war es, eine durch Zugabe der Testsubstanz eventuell hervorgerufene Änderung der Schlagfrequenz (f) des rechten Vorhofes zu bestimmen. Um die Anzahl der Schläge pro Minute zu ermitteln wurden die über zwölf Sekunden, dies entsprach am Millimeterpapier sechs Kästchen, aufgezeichneten Peaks gezählt und mit dem Faktor fünf multipliziert. Nach diesem Schema wurde die Schlagfrequenz jeder Konzentrationsstufe der Testsubstanz bestimmt. Durch Vergleich der Schlagfrequenzen konnten mögliche positiv oder negativ chronotrope Effekte der Versuchssubstanz auch prozentual erfasst werden.

3.7.3 Musculus papillaris

Die Ermittlung einer möglichen positiven oder negativen inotropen Wirkung der Testsubstanz auf den Papillarmuskel erfolgte über die Kontraktionskraft (fc). Dazu wurden, wie bei der Versuchsdurchführung am Papillarmuskel beschrieben, die aufgezeichneten Amplituden mittels Lineal vermessen. Durch Multiplikation des Amplitudenmittelwertes mit dem Eichwert der Versuchsanordnung wurde die Kontraktionskraft in mN berechnet. Auch bei dieser Auswertung musste die Wirkung des Lösungsmittels DMSO auf die Kontraktion des Papillarmuskels berücksichtigt werden. Ausgehend von der Kontraktionskraft vor Beginn der Substanzzugabe (Kontrollwert) wurde die weitere Entwicklung der Kontraktion nach Einwirken der Testsubstanz in Prozent dargestellt.

3.7.4 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse beruhte auf dem arithmetischen Mittelwert der Messwerte und deren Standardfehler (SEM, standard error of mean) aus der Anzahl von „n“ Versuchen. Über den „Student-t-Test“ für gepaarte Beobachtungen wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit (P) berechnet und damit die Signifikanz der Ergebnisse überprüft. Die Irrtumswahrscheinlichkeit beziffert die Wahrscheinlichkeit, dass das Testergebnis nicht mit dem wahren Ergebnis übereinstimmt. Der Zusammenhang zwischen der Irrtumswahrscheinlichkeiten und der Signifikanz der Werte wird in der Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5:

Irrtumswahrscheinlichkeit P	Irrtumswahrscheinlichkeit in %	Signifikanz
$\leq 0,05$	5	signifikant
$\leq 0,01$	1	sehr signifikant
$\leq 0,001$	0,1	höchst signifikant

4 Ergebnisse

Die folgenden Ergebnisse zeigen die Wirkungen der Testsubstanzen SWS2 und WHG73T an der Aorta, der Arteria pulmonalis, dem Ileum, am rechten Vorhof und am Papillarmuskel des Meerschweinchens. Die den Ergebnissen zu Grunde liegenden Daten erlangte man, wie bereits im vorigen Kapitel „Datenauswertung und Statistik“ beschrieben, durch die Auswertung der aufgezeichneten Kurven. Mit Hilfe des Programms „Sigma Plot 9.0“ wurde der Standardfehler und die Irrtumswahrscheinlichkeit der Daten berechnet und in einem Graphen als Konzentrations-Wirkungskurve dargestellt. In dieser Kurve wurde auf der x-Achse die Konzentration der Versuchssubstanz im Organbad in $\mu\text{mol/l}$ dargestellt, während auf der y-Achse der zu diesen Konzentrationen berechnete arithmetische Mittelwert der Änderung der Schlagfrequenz bzw. der Kontraktionskraft (in %) abzulesen war. Der für diese Daten berechnete Standardfehler wurde als vom Mittelwert ausgehender horizontaler Balken dargestellt. Sank die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz auf die Hälfte des Kontrollwertes ab, bezeichnete man die dafür verantwortliche Testsubstanzkonzentration als EC_{50} . Die Ergebnisse der Substanz SWS2 wurden teilweise in Balkendiagrammen dargestellt.

4.1 Ergebnisse der Testsubstanz WHG73T

4.1.1 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Aorta

Zur Überprüfung einer möglichen dilatierenden Wirkung der Substanz WHG73T wurden sechs Versuche an isolierten Aorten durchgeführt. Dabei wurde, wie bereits geschildert, mit Hilfe einer Kaliumchloridlösung eine maximale Kontraktion erzielt und nach einer etwa 45-minütigen Gewöhnungsphase die Zugabe der Testsubstanz im Intervall von wiederum 45 Minuten durchgeführt.

Als arithmetisches Mittel der sechs Kontrollwerte wurde eine Kontraktionskraft (f_c) von $9,18 \pm 0,55$ berechnet und als hundert Prozent festgelegt. Die durch die Substanzzugabe nachlassende Kontraktionskraft wurde mit dem Kontrollwert verglichen und die Abnahme in Millinewton und in Prozent dargestellt.

In dieser Versuchsreihe wurde bei einer Substanzkonzentration von $41,7 \mu\text{mol/l}$ eine EC_{50} erreicht.

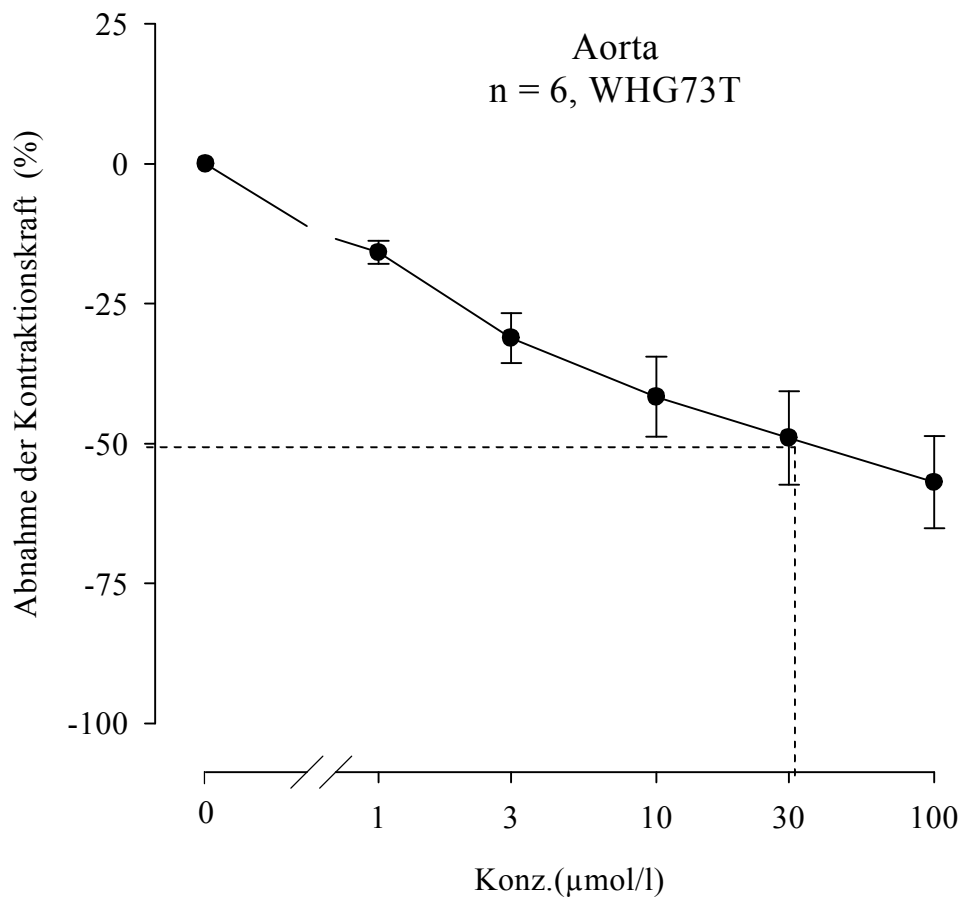
Tabelle 6: Wirkung der Substanz WHG73T auf die Aorta

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$9,18 \pm 0,55$	0 ± 0	6	-
1	$7,77 \pm 0,64$	$-15,86 \pm 2,07$	6	0,05
3	$6,43 \pm 0,76$	$-31,1 \pm 4,48$	6	0,01
10	$5,52 \pm 0,93$	$-41,63 \pm 7,15$	6	0,001
30	$4,86 \pm 1$	$-48,96 \pm 8,37$	6	0,001
100	$4,125 \pm 0,96$	$-56,88 \pm 8,24$	6	0,001

Legende zu Tabelle 6:

Die Tabelle zeigt die aus sechs Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) und deren Standardfehler (SEM) unter Einwirkung der jeweiligen Substanzkonzentration von WHG73T. Weiters wird die Abnahme der Kontraktion im Bezug zum Kontrollwert in Prozent dargestellt.

Diagramm 1: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz WHG73T an der Aorta



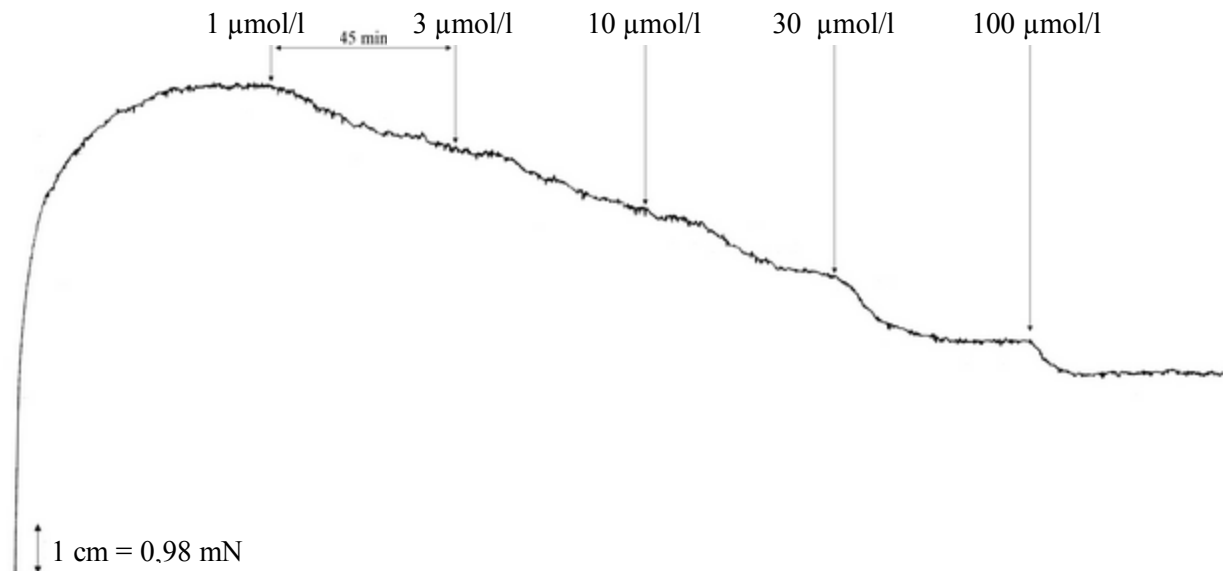
Legende zu Diagramm 1:

In diesem Diagramm ist die Abnahme der Aortenkontraktion während der kumulativen Substanzzugabe von WHG73T dargestellt.

Auf der x-Achse sind die Konzentrationen der Testsubstanz in µmol/l, auf der y-Achse die Abnahme der Aortenkontraktion in Prozent angegeben. Die arithmetischen Mittelwerte werden als Punkte dargestellt, ihre Standardabweichungen als Balken.

Aus der Grafik lässt sich die mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) ablesen, die in diesem Fall 41,7 µmol/l betrug.

Abbildung 3: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Aorta unter dem Einfluss der Testsubstanz WHG73T



Legende zu Abbildung 3:

Nach dem Erreichen des konstanten Plateaus wurden im Abstand von 45 Minuten die im Pipettierschema (Kapitel 3.6.3, Tabelle 3) festgelegte Substanzmenge injiziert. Die Pfeile markieren das Erreichen der jeweiligen Substanzkonzentration im Organbad.

In der abgebildeten Kurve ist eine konstante Abnahme der Kontraktionskraft zu erkennen.

4.1.2 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Arteria pulmonalis

In fünf Versuchen wurden die Wirkung der Substanz WHG73T auf die Arteria pulmonalis überprüft. Die maximale Kontraktion der Lungenarterie wurde durch eine 90 mmolare Kaliumchloridlösung erreicht. Blieb die herbeigeführte Kontraktion für etwa 30 Minuten konstant, wurden im Abstand von 45 Minuten jene Menge an Substanz injiziert, die zum Erreichen der Konzentrationsstufen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ notwendig waren.

Aus den fünf Versuchen ergab sich ein mittlerer Kontrollwert von $16,58 \pm 2,88$ mN der wiederum als 100 % festgelegt wurde. Der Substanz WHG73T konnte in den Versuchen mit der Arteria pulmonalis nur eine schwache spasmolytische Wirkung nachgewiesen werden. Selbst bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ wurde nur eine Entspannung um 28 % erreicht.

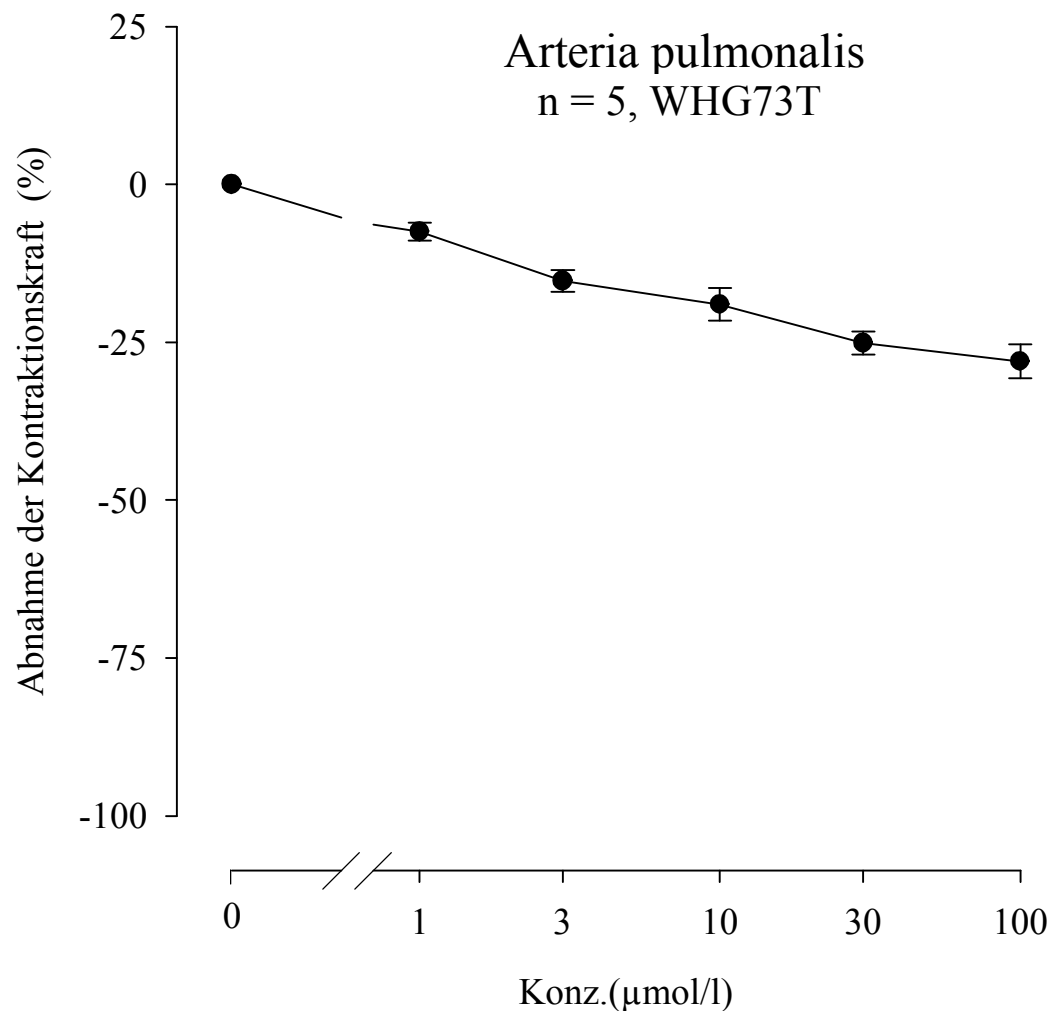
Tabelle 7: Wirkung der Substanz WHG73T auf die Arteria pulmonalis

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$16,58 \pm 2,88$	0 ± 0	5	-
1	$15,31 \pm 2,62$	$-7,51 \pm 1,43$	5	n.s.
3	$13,98 \pm 2,35$	$-15,29 \pm 1,75$	5	n.s.
10	$13,33 \pm 2,23$	$-19,00 \pm 2,60$	5	0,05
30	$12,32 \pm 1,99$	$-25,1 \pm 1,84$	5	0,05
100	$11,83 \pm 1,92$	$-28,03 \pm 2,68$	5	0,05

Legende zu Tabelle 7:

In dieser Tabelle ist für jede Konzentrationsstufe der aus fünf Versuchen berechnete Mittelwert der Kontraktionskraft samt Standardfehler angegeben. Die Abnahme der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert wird in Prozent angegeben.

Diagramm 2: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz WHG73T an der Arteria pulmonalis

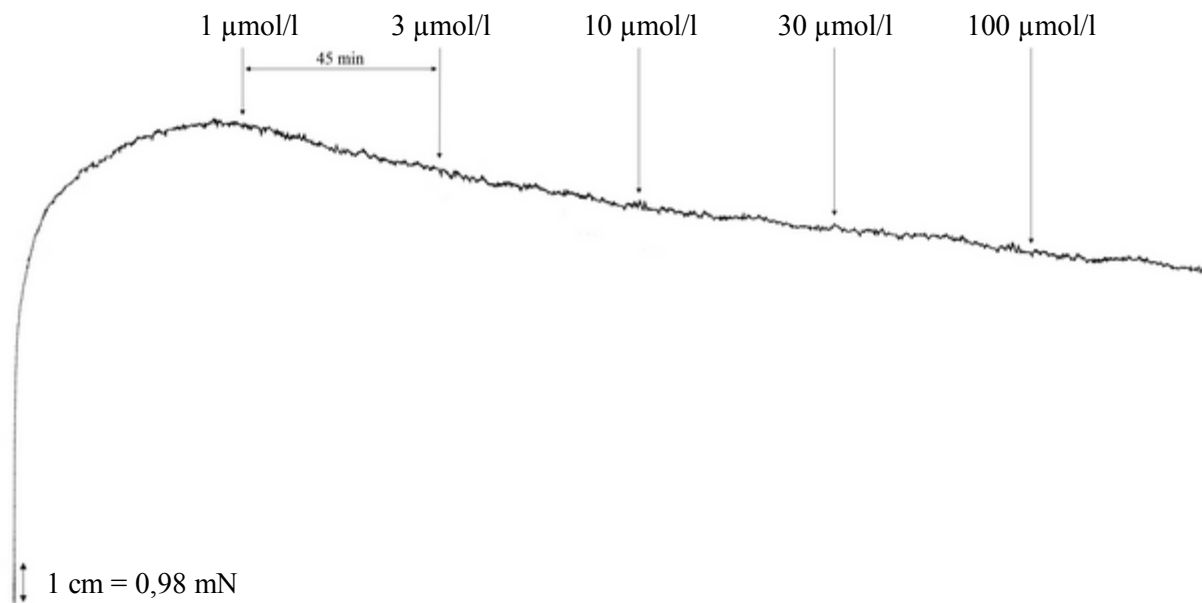


Legende zu Diagramm 2:

In dieser Kurve wird der Zusammenhang zwischen Substanzkonzentration von WHG73T und deren Einfluss auf die Kontraktionskraft graphisch dargestellt.

Auf der Abszisse sind die Substanzkonzentrationen in µmol/l aufgetragen, während auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft abzulesen ist. Die Punkte markieren die arithmetischen Mittelwerte aus fünf Versuchen, die Balken stellen deren Standardfehler dar.

Abbildung 4: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Arteria pulmonalis unter dem Einfluss der Testsubstanz WHG73T



Legende zu Abbildung 4:

Diese Originalaufzeichnung zeigt die Wirkung von WHG73T auf die Lungenarterie. Erst nach der Stabilisierung der Kontraktion, in der Kurve als konstantes Plateau zu erkennen, wurde mit der Substanzzugabe begonnen. Die Zeitpunkte der Injizierungen sind mit Pfeilen markiert. Nachdem jede Substanzkonzentration 45 Minuten auf das isolierte Organ eingewirkt hat wurde die verbliebene Kontraktionskraft bestimmt. Der dilatierende Effekt von WHG73T auf die Arteria pulmonalis ist nur schwach ausgeprägt. Die EC_{50} wird nicht erreicht.

4.1.3 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf das terminale Ileum

In fünf Versuchen wurde die Wirkung der Substanz WHG73T an der glatten Muskulatur des terminalen Ileums überprüft. Dazu wurde das präparierte Organ wie bereits beschrieben in die Versuchsanordnung A eingespannt und auf den Versuch vorbereitet. Auf die 45-minütige Gewöhnung des Organs an physiologische Nährstofflösung folgte die durch eine 60 mmolare Kaliumchloridlösung herbeigeführte Kontraktion. Blieb die Kontraktion für etwa 45 Minuten stabil, wurde die Testsubstanz kumulativ zugesetzt.

Das arithmetische Mittel der fünf Kontrollwerte lag bei $15,03 \pm 1,74$ mN.

Bereits bei $3 \mu\text{mol/l}$ bewirkte die Substanz WHG73T eine Abnahme der Kontraktion um 32,76 %. Die mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) wurde bei $12,7 \mu\text{mol/l}$ erreicht. Höhere Substanzkonzentrationen bewirkten allerdings keine weitere Dilatation mehr.

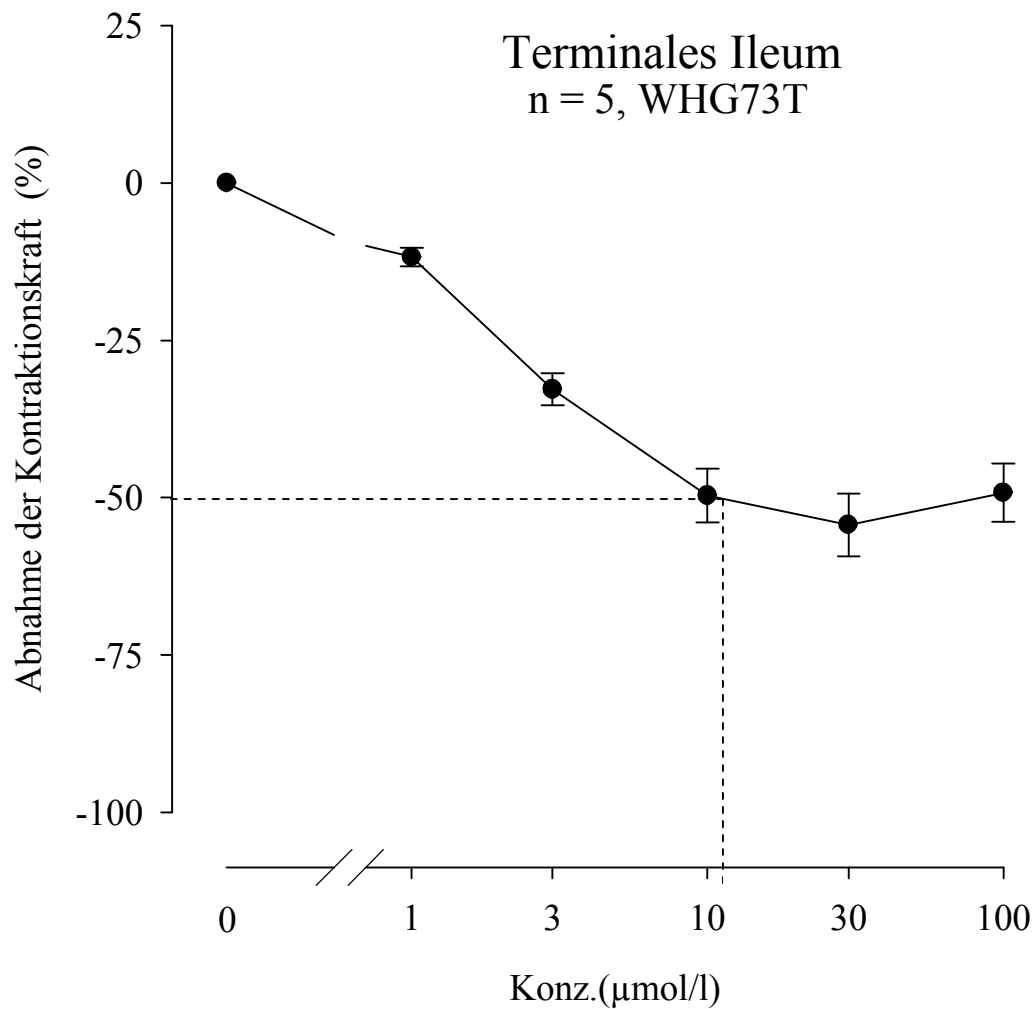
Tabelle 8: Wirkung der Substanz WHG73T auf das terminale Ileum

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$15,03 \pm 1,74$	0 ± 0	5	-
1	$13,32 \pm 1,66$	$-11,75 \pm 1,48$	5	n.s.
3	$10,22 \pm 1,48$	$-32,76 \pm 2,58$	5	0,01
10	$7,71 \pm 1,33$	$-49,67 \pm 4,26$	5	0,001
30	$7,01 \pm 1,25$	$-54,30 \pm 4,98$	5	0,001
100	$7,77 \pm 1,29$	$-49,22 \pm 4,63$	5	0,001

Legende zu Tabelle 8:

In dieser Tabelle sind die arithmetischen Mittelwerte samt Standardabweichung von fünf Versuchen abzulesen. Die Kontraktionskraft (f_c) wird in Millinewton angegeben, die Abnahme der Kontraktion in Prozent. SEM steht für den Standardfehler.

Diagramm 3: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz WHG73T am terminalen Ileum

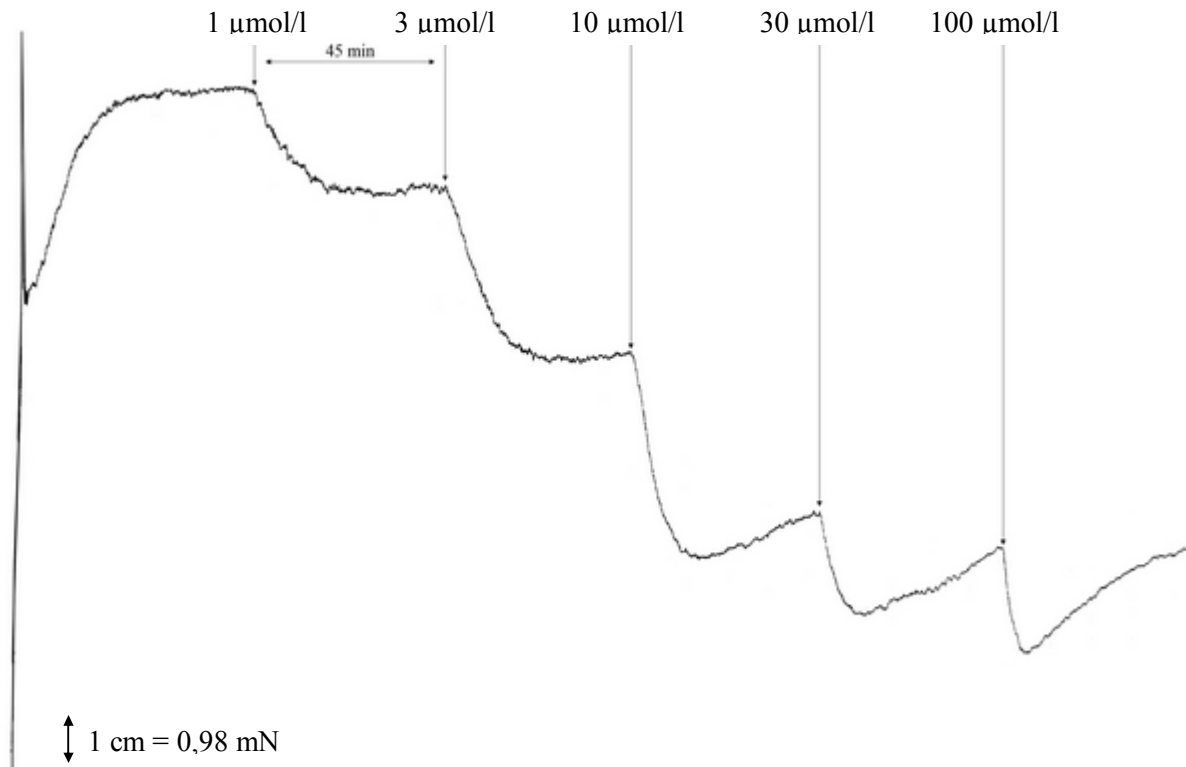


Legende zu Diagramm 3:

In diesem Koordinatensystem sind auf der x-Achse die Substanzkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und auf der y-Achse die Abnahme der Kontraktionskraft aufgetragen. Die aus fünf Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskräfte sind als Punkte dargestellt.

Das Erreichen der EC_{50} ist durch eine Linie gekennzeichnet. An der Abszisse kann die EC_{50} von $12,7 \mu\text{mol/l}$ abgelesen werden.

Abbildung 5: Originalabbildung einer Kontraktionskurve des terminalen Ileums unter dem Einfluss der Testsubstanz WHG73T



Legende zu Abbildung 5:

Die Kontraktionskurve zeigt die spasmolytische Wirkung von WHG73T auf das terminale Ileum.

Die Plateaubildung wurde abgewartet und anschließend die entsprechende Substanzmenge injiziert. Die Zeitpunkte der Injektion sind mit Pfeilen markiert. Neben den Pfeilen ist die einwirkende Substanzkonzentration abzulesen. Der Kurvenverlauf zeigt eine rasche Kontraktionsabnahme bis zum Erreichen der EC_{50} bei einer Substanzkonzentration von 12,7 µmol/l. Durch die weitere kumulative Substanzzugabe wird allerdings kein weiterer Effekt erreicht.

4.1.4 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf das Atrium cordis dextrum

Die Wirkung der Substanz WHG73T auf den rechten Vorhof wurde in fünf Versuchen getestet. Der darüber Auskunft gebende Parameter war die Änderung der Schlagfrequenz des Vorhofes nach Substanzzugabe.

Zur Versuchsdurchführung wurde der Vorhof in Versuchsapparatur A eingespannt. Auf das Vorspannen folgte eine 30-minütige Kontrollphase in der sich die Schlagfrequenz stabilisierte. Der Effekt von WHG73T auf die Schlagfrequenz des Vorhofes wurde in den Konzentrationen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$, nach einer Einwirkzeit von je 45 Minuten, bestimmt.

Der berechnete Kontrollwert betrug 210 Schläge/Minute. Durch die Substanzeinwirkung wurde die Frequenz unwesentlich um maximal 16 Schläge/Minute bzw. 12 Prozent (bei 12 $\mu\text{mol/l}$) gesenkt

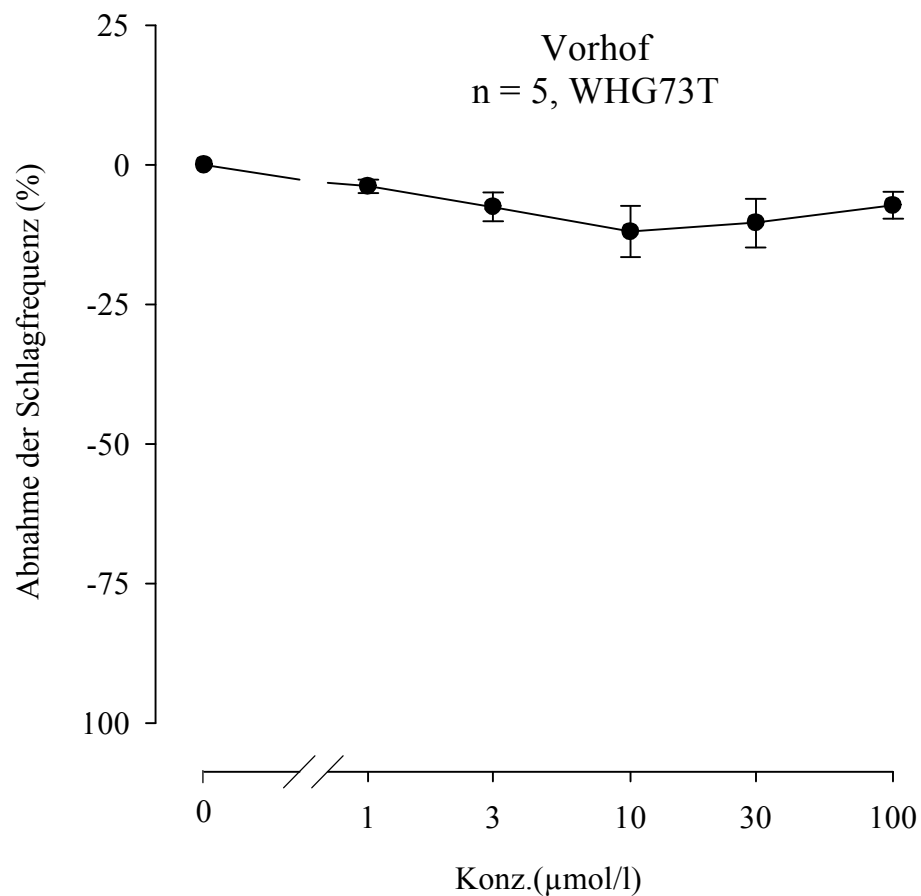
Tabelle 9: Wirkung der Substanz WHG73T auf das Atrium cordis dextrum

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (Schläge/min)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$210 \pm 17,7$	0 ± 0	5	-
1	$202 \pm 8,0$	$-3,83 \pm 1,2$	5	n.s.
3	$194 \pm 7,5$	$-7,53 \pm 2,57$	5	n.s.
10	$184 \pm 8,3$	$-11,97 \pm 4,58$	5	n.s.
30	$187 \pm 8,3$	$-10,42 \pm 4,37$	5	n.s.
100	194 ± 4	$-7,30 \pm 2,39$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 9:

In dieser Tabelle ist sowohl der arithmetische Mittelwert der Schlaganzahl pro Minute, als auch die im Verhältnis zum Kontrollwert festgestellte Abnahme der Schlagfrequenz angegeben. Die mit dem Standardfehler aus fünf Versuchen ergänzten Werte sind für jede Konzentrationsstufe ablesbar.

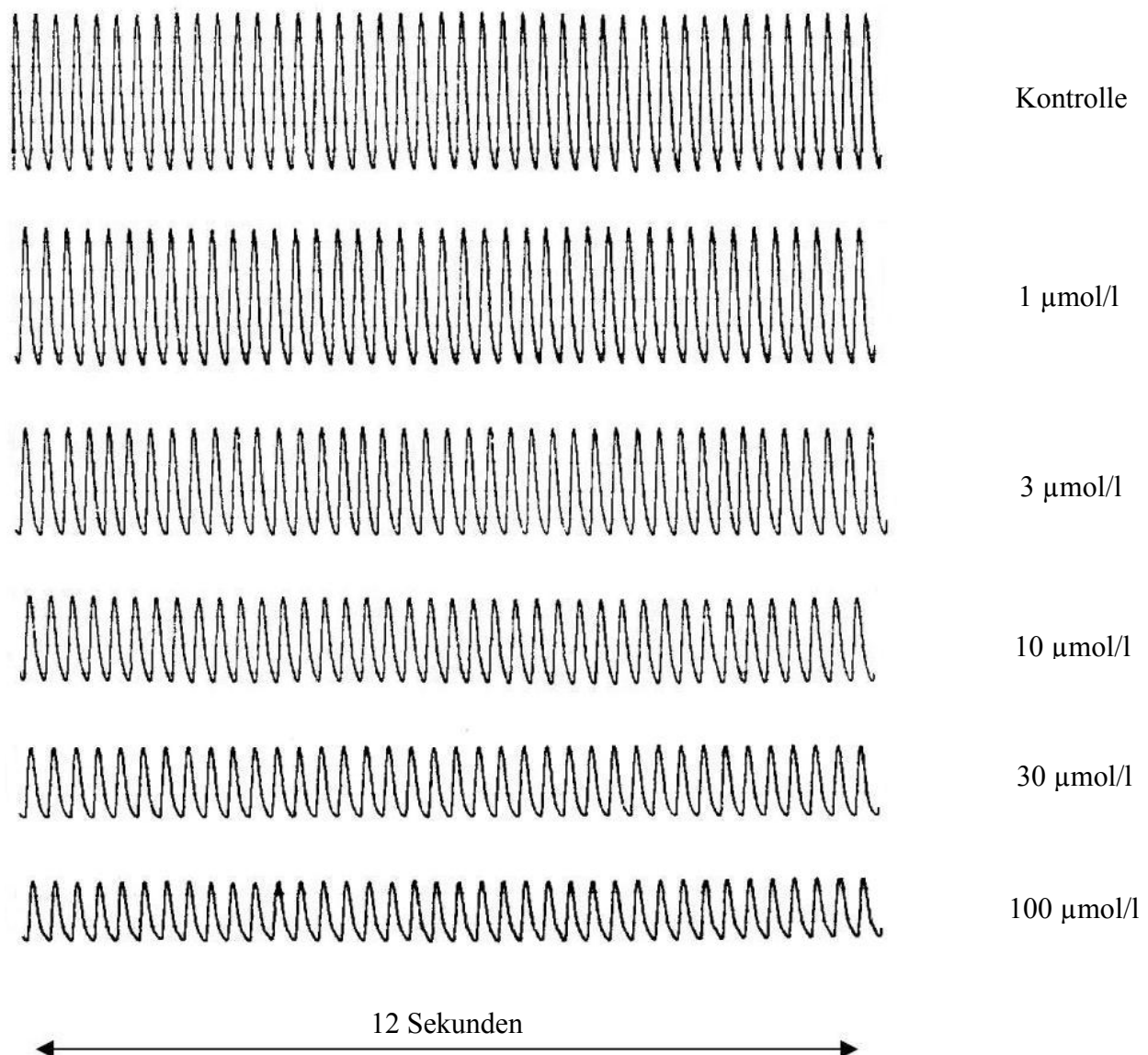
Diagramm 4: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz WHG73T am rechten Vorhof



Legende zu Diagramm 4:

Dieses Koordinatensystem zeigt den Zusammenhang zwischen Substanzkonzentration von WHG73T im Organbad und deren Einfluss auf die Schlagfrequenz dar. Während auf der x-Achse die Substanzkonzentrationen aufgetragen werden, ist an der y-Achse die Abnahme der Schlagfrequenz in % angegeben. Die im Graphen eingezeichneten Punkte markieren die für jede Konzentration berechneten Mittelwerte der Schlagfrequenz. Die senkrecht durch die Punkte laufenden Balken zeigen die Standardabweichung der Ergebnisse.

Abbildung 6: Originalaufzeichnung der Schlagfrequenz des Atrium cordis dexter unter der Einwirkung der Testsubstanz WHG73T



Legende zu Abbildung 6:

Die Aufzeichnungen zeigen die isometrischen Kontraktionen des Vorhofes nachdem die Substanz 45 Minuten in der nebenstehenden Konzentration auf den Muskel einwirkte. Die Anzahl der Amplituden entspricht der Anzahl der Vorhofkontraktionen in 12 Sekunden. Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten wurde mit fünf multipliziert.

4.1.5 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf den Musculus papillaris

Der Einfluss der Testsubstanz WHG73T auf die Kontraktionsfähigkeit des Papillarmuskels wurde in fünf Versuchen getestet. Da zur Kontraktion des Muskels eine elektrische Reizung notwendig war wurden die Versuche an der Versuchsanordnung A durchgeführt. Nachdem sich in der 45-minütigen Anpassungsphase die Kontraktionskraft stabilisiert hatte wurde mit der Substanzzugabe begonnen. Dabei wurde die Konzentration der Testsubstanz im Organbad im Abstand von 45 Minuten stufenweise auf 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ erhöht.

Der aus fünf Versuchen berechnete mittlere Kontrollwert der Muskelkontraktionskraft betrug $1,27 \pm 0,3$ mN und wurde als 100 % definiert. Bei einer Substanzkonzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ wurde die Kontraktionskraft um 14,14 %, bei 3 $\mu\text{mol/l}$ um 25,28 % gemindert. Durch die Erhöhung der Substanzkonzentration auf 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ wurde keine weitere Steigerung des negativ inotropen Effektes festgestellt.

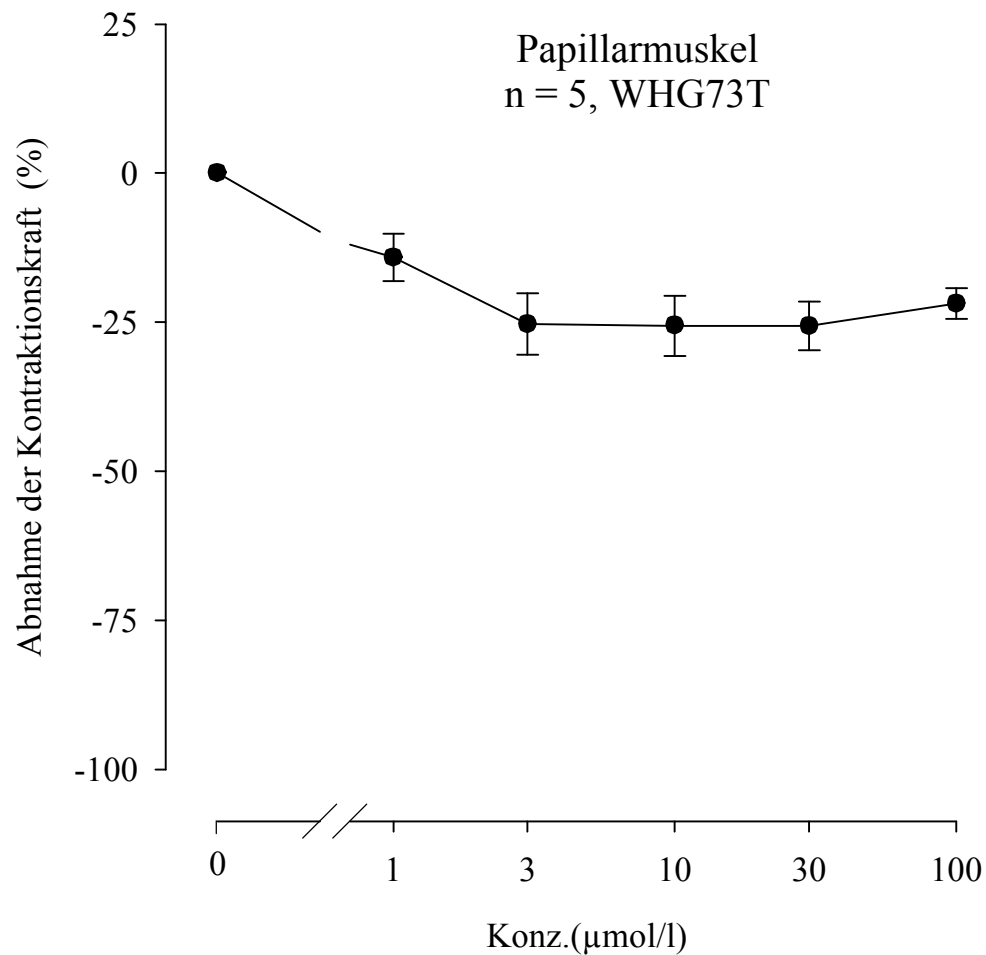
Tabelle 10: Wirkung der Substanz WHG73T auf den Musculus papillaris

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$1,27 \pm 0,3$	0 ± 0	5	-
1	$1,10 \pm 0,26$	$-14,14 \pm 3,96$	5	n.s.
3	$0,94 \pm 0,20$	$-25,28 \pm 5,18$	5	0,05
10	$0,91 \pm 0,17$	$-25,58 \pm 5,04$	5	0,05
30	$0,91 \pm 0,18$	$-25,642 \pm 4,08$	5	0,05
100	$0,98 \pm 0,27$	$-21,84 \pm 2,59$	5	0,05

Legende zu Tabelle 10:

In dieser Tabelle ist der arithmetische Mittelwert der Kontraktionskraft samt Standardfehler für jede Konzentrationsstufe angegeben. In der dritten Spalte ist die Abnahme der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent abzulesen.

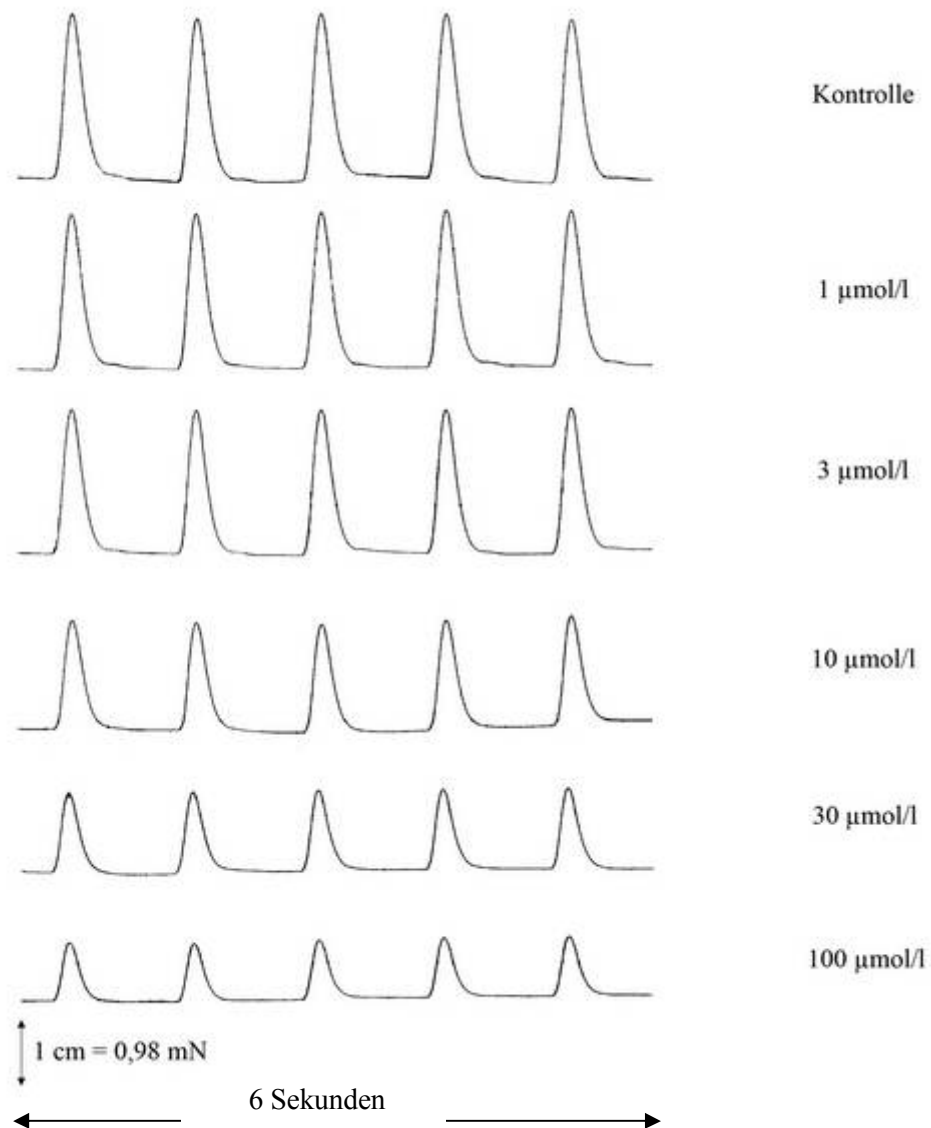
Diagramm 5: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz WHG73T am Papillarmuskel



Legende zu Diagramm 5:

In diesem Graphen wird die Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Inotropie des Papillarmuskels graphisch dargestellt. Auf der x-Achse sind die Konzentrationen in µmol/l aufgetragen, an der der y-Achse kann die dazugehörige Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent abgelesen werden. Die als arithmetische Mittelwerte aufbereiteten Testergebnisse werden als Punkt dargestellt. Die Standardabweichungen der Versuche sind als vertikale Balken dargestellt.

Abbildung 7: Originalaufzeichnung der isometrischen Kontraktion eines Papillarmuskels unter der Einwirkung der Testsubstanz WHG73T



Legende zu Abbildung 7:

Nach der Kontrollphase wurde im Abstand von 45 Minuten die Substanzkonzentration von WHG73T erhöht. Die abgebildeten Kontraktionsamplituden wurden stets nach einer Substanzeinwirkzeit von 45 Minuten mit dem Schreiber aufgezeichnet. Durch Vermessen der Amplituden wurde eine Änderung der Kontraktionskraft festgestellt.

4.2 Ergebnisse der Testsubstanz SWS2

4.2.1 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Aorta

Eine mögliche dilatierende Wirkung der Substanz SWS2 auf die Aorta wurde in fünf Versuche geprüft. Damit eine dilatierende Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Aorta festgestellt werden konnte, musste die Aorta zunächst durch eine 90 mmolare Kaliumchloridlösung vollständig kontrahiert werden. Nach einer etwa 45-minütigen Gewöhnungsphase, in der sich die Kontraktionskraft der Aorta stabilisierte, wurde im Intervall von 45 Minuten die Testsubstanzkonzentration im Organbad auf 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ kumulierend erhöht.

Der aus fünf Versuchen berechnete Mittelwert der Kontraktionskraft vor Substanzzugabe betrug $14,33 \pm 0,55$ mN. Indem die Mittelwerte der Kontraktionskräfte bei den unterschiedlichen Substanzkonzentrationen mit der Kontroll-Kontraktionskraft verglichen wurden, konnte die Dilatation in Prozent berechnet werden.

In dieser Versuchsreihe nahm die Kontraktionskraft der Aorta kontinuierlich bis auf 76,45 % bei 100 $\mu\text{mol/l}$ ab.

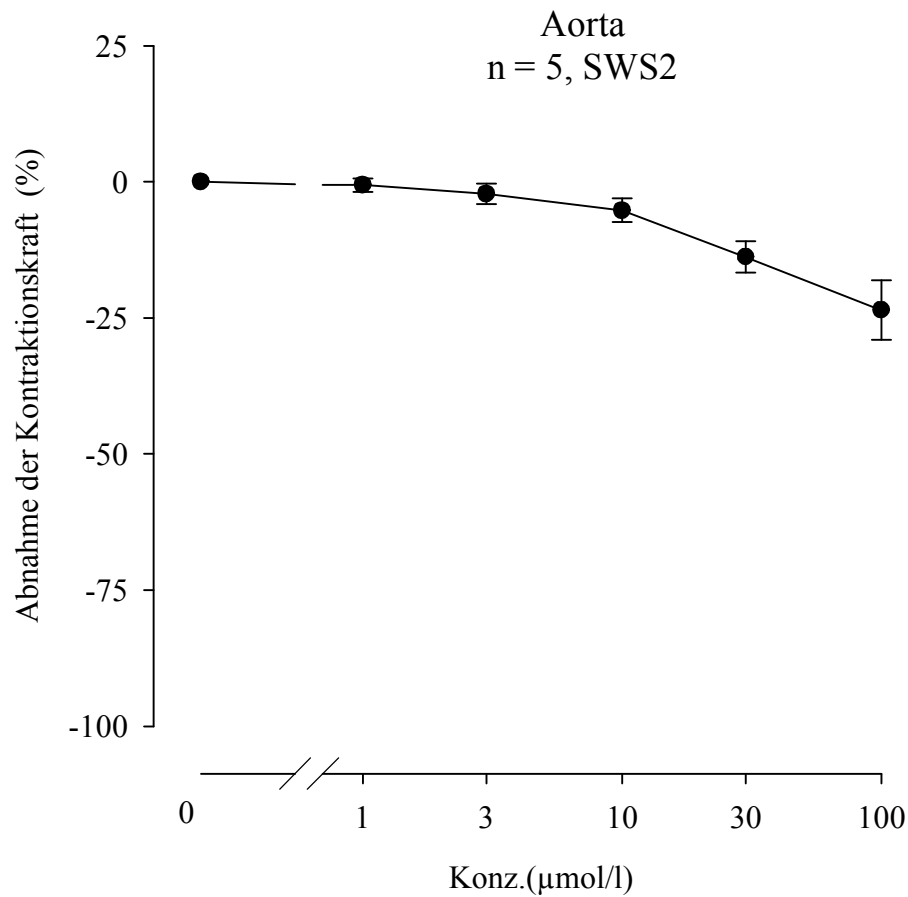
Tabelle 11: Wirkung der Substanz SWS2 auf die Aorta

WHG73T ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$14,33 \pm 0,749$	0 ± 0	5	-
1	$14,22 \pm 0,6$	$-0,57 \pm 1,25$	5	n.s.
3	$13,98 \pm 0,56$	$-2,18 \pm 1,88$	5	n.s.
10	$13,52 \pm 0,48$	$-5,25 \pm 2,17$	5	n.s.
30	$12,37 \pm 0,83$	$-13,82 \pm 2,91$	5	0,05
100	$11,01 \pm 1,14$	$-23,55 \pm 5,42$	5	0,05

Legende zu Tabelle 11:

F_c beschreibt den arithmetischen Mittelwert der Kontraktionskraft, SEM deren Standardfehler. Zusätzlich sind die Änderung der Kontraktionskraft und deren Standardabweichung in Prozent angegeben.

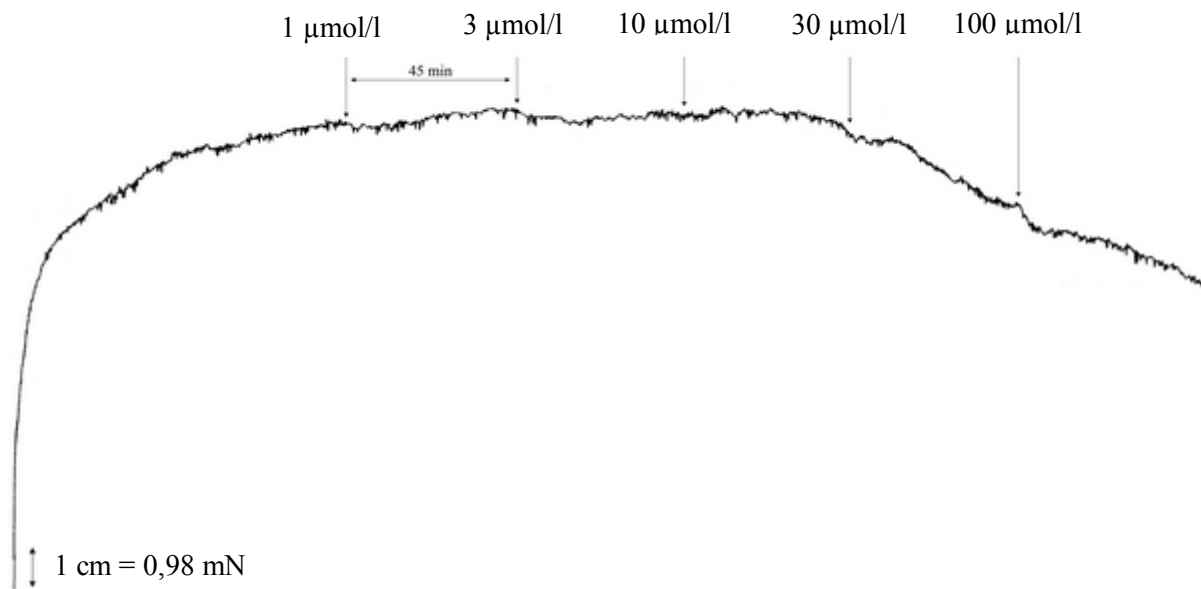
Diagramm 6: Konzentrations-Wirkungskurve der Substanz SWS2 an der Aorta



Legende zu Diagramm 6:

Die Kurve zeigt den Effekt der Testsubstanz SWS2 auf die Kontraktionskraft der Aorta. Dabei ist die Konzentration der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ an der Abszisse und die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent an der Ordinate angegeben. Die Punkte markieren die aus fünf Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskräfte bei den Konzentrationen 0, 1, 3, 10, 30, 100 $\mu\text{mol/l}$. Die Balken zeigen die Standardabweichungen der Mittelwerte.

Abbildung 8: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Aorta unter dem Einfluss der Testsubstanz SWS2



Legende zu Abbildung 8:

Nachdem sich die Kontraktionskraft in der Kontrollphase auf einem konstanten Niveau stabilisierte, wurden im Abstand von 45 Minuten die festgelegten Substanzmengen injiziert. Die Pfeile markieren das Erreichen der jeweiligen Substanzkonzentration im Organbad.

In der abgebildeten Kurve ist eine stetige Abnahme der Kontraktionskraft erkennbar.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Effekt der Substanz SWS2 in den Konzentrationen 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ auf die Kontraktionskraft der Aorta überprüft. Im Unterschied zu den zuvor beschriebenen Versuchsabläufen wurde bei diesen Versuchen die Substanzkonzentration nicht auf 100 $\mu\text{mol/l}$ kumuliert, sondern jede Substanzkonzentration an einer frischen Aorta getestet. Dabei wurde nach der Aortenkontraktion und der folgenden Kontrollphase die Substanz SWS2 in der entsprechenden Menge in das Organbad injiziert und die Kontraktionskurve für weitere 90 Minuten aufgezeichnet.

Für beide Konzentrationsstufen wurde der arithmetische Mittelwert der Kontraktionskraft nach 45 und 90 Minuten Aorteneinwirkzeit berechnet.

Im Vergleich der beiden Versuchsabläufe kann beim unmittelbaren Einwirken der 100 $\mu\text{mol/l}$ Substanzkonzentration nach 45 Minuten ein etwas stärker dilatierender Effekt (-32,31 %) als bei 100 $\mu\text{mol/l}$ bei der kumulativen Substanzzugabe (-23,55 %) festgestellt werden.

Bei der Substanzkonzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ war der dilatierende Effekt bei beiden Versuchsabläufen beinahe gleich ausgeprägt (-13,03 % zu -13,82 %).

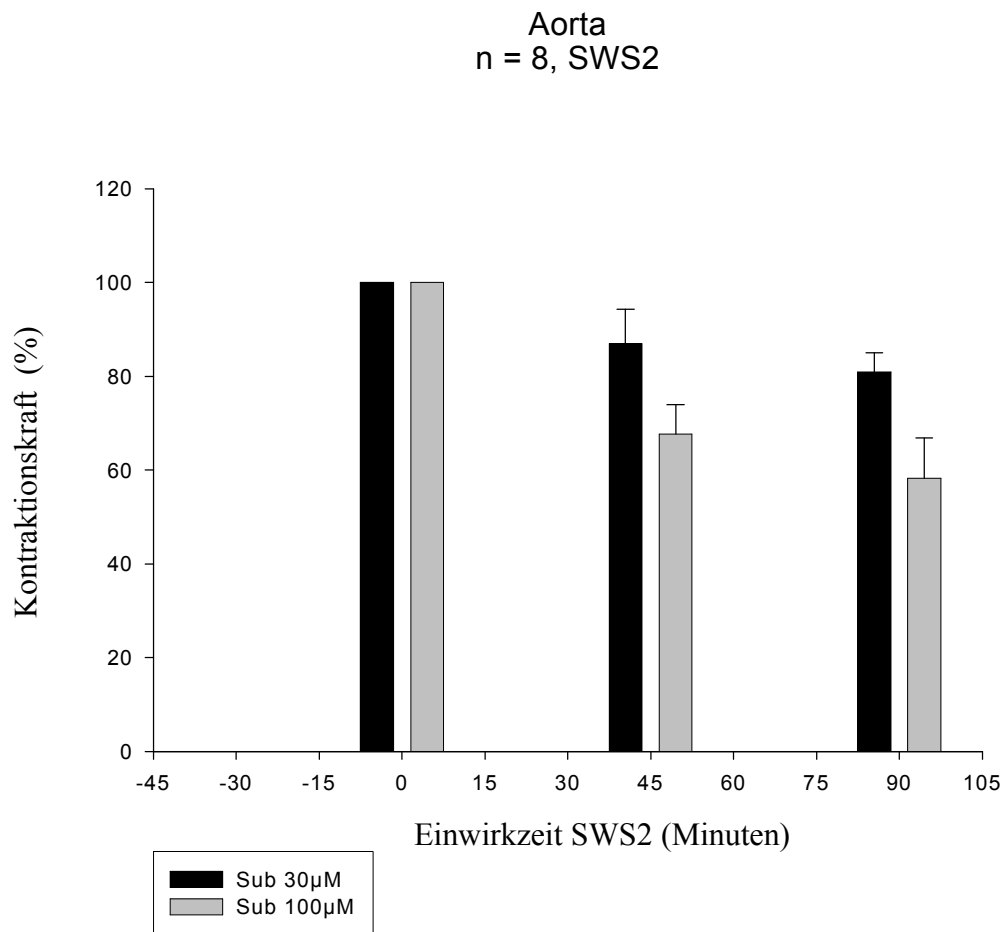
Tabelle 12: Wirkung der Substanz SWS2 in der Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ auf die Aorta

Einwirkdauer (Minuten)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	$16,5 \pm 5,75$	0 ± 0	3	-
45	$14,07 \pm 3,62$	$-13,03 \pm 7,62$	3	0,05
90	$13,20 \pm 3,86$	$-19,07 \pm 4,05$	3	0,05

Tabelle 13: Wirkung der Substanz SWS2 in der Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ auf die Aorta

Einwirkdauer (Minuten)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	$15,54 \pm 2,94$	0 ± 0	5	-
45	$10,93 \pm 2,62$	$-32,31 \pm 6,27$	5	0,01
90	$9,45 \pm 2,65$	$-41,78 \pm 8,57$	5	0,01

Diagramm 7: Darstellung der Kontraktionskraft der Aorta nach Einwirken von SWS2

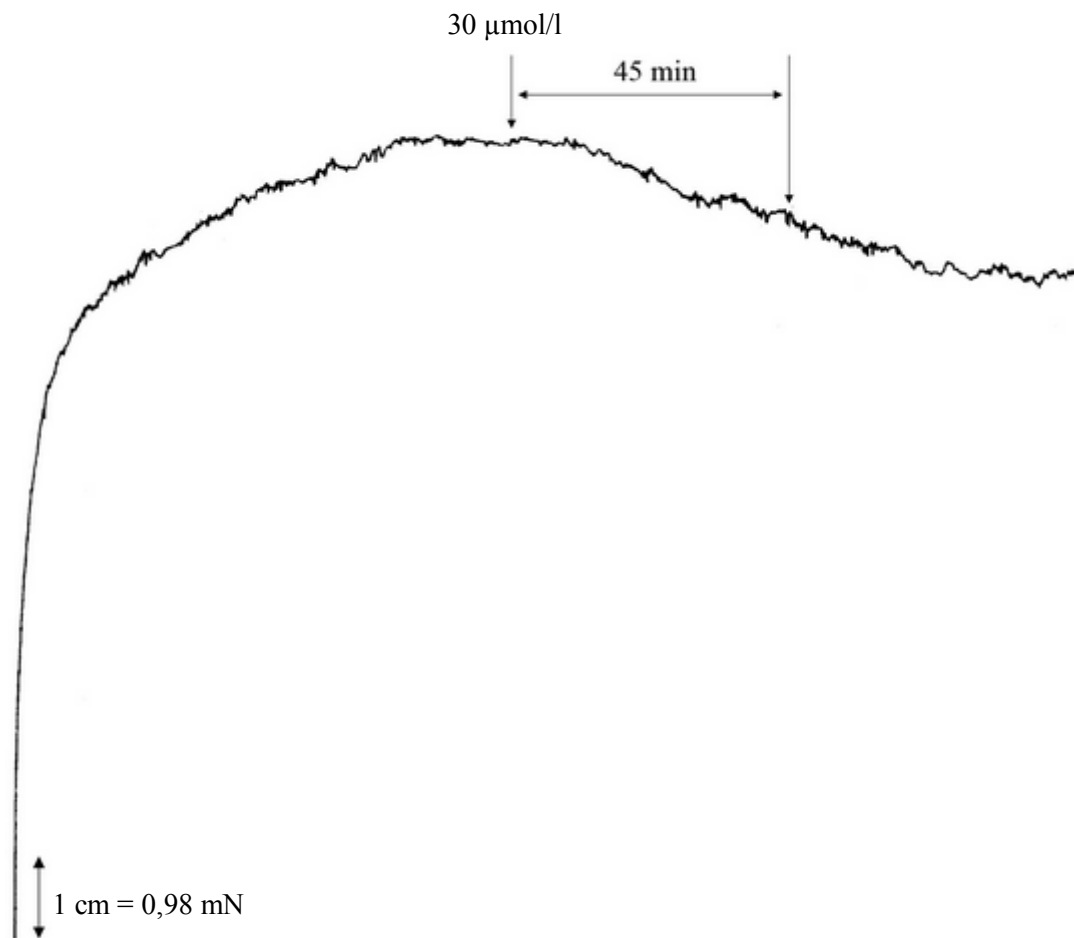


Legende zu Diagramm 7:

In diesem Balkendiagramm wird der Effekt von SWS2 in den Konzentrationen 30 und 100 µmol/l auf die Aorta dargestellt.

Auf der x-Achse sind die Einwirkzeiten der Testsubstanz in Minuten angegeben, während auf der y-Achse die zu diesem Zeitpunkt festgestellte Kontraktionskraft in Prozent abzulesen ist. Die schwarzen Balken stellen die Ergebnisse bei einer Substanzkonzentration von 30 µmol/l, die grauen Balken bei einer Konzentration von 100 µmol/l dar. Die Markierung am Ende der Balken zeigt den Standardfehler der Mittelwerte.

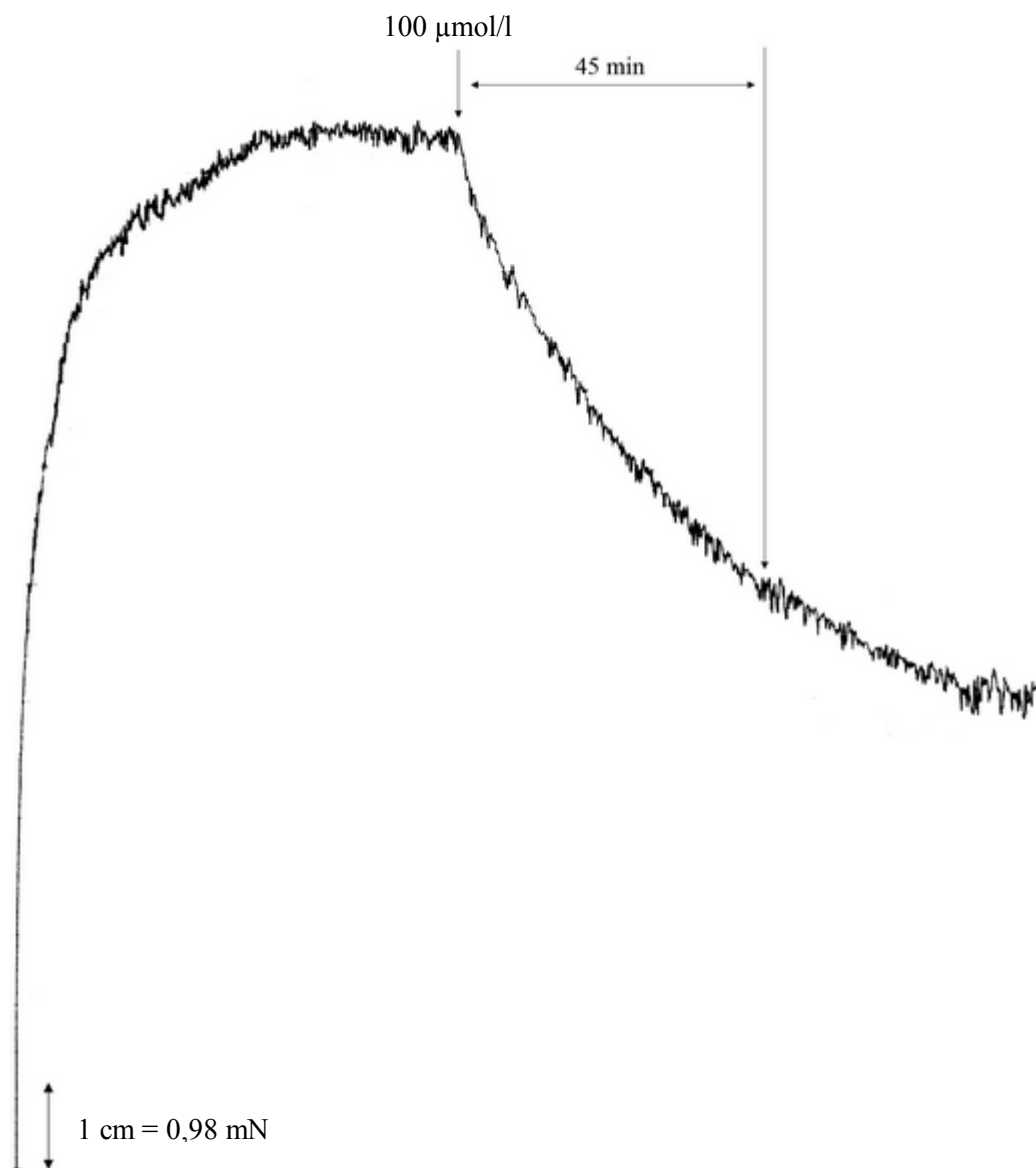
Abbildung 9: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Aorta unter Einwirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 9:

Nach der Stabilisierung der Kontraktionskraft, in der Aufzeichnung als Plateau zu erkennen, wurde die entsprechende Substanzmenge zum Erreichen einer Substanzkonzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ in das Organbad injiziert. Nach 45 und 90 Minuten wurde die Abnahme der Kontraktionskraft bestimmt.

Abbildung 10: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Aorta unter Einwirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 10:

Die Aufzeichnung des Schreibers zeigt die Entwicklung der Kontraktionskraft unter der Einwirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ SWS2.

4.2.2 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Arteria pulmonalis

In sechs Versuchen wurde die Wirkung der Substanz SWS2 auf die Arteria pulmonalis getestet. Um den Effekt der Testsubstanz auf die Aorta zu überprüfen wurde mit Hilfe einer 90 mM Kaliumchloridlösung eine maximale Kontraktion der Lungenarterie herbeigeführt. Blieb die Kontraktionskraft für etwa 30 Minuten konstant, wurde jene Menge an Substanz injiziert, die zum Erreichen der Konzentrationsstufen 30 bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$ notwendig war. Weitere 45 Minuten später wurde die Kontraktionskraft der Lungenarterie durch Vermessen der aufgezeichneten Kurve bestimmt. Für jede Konzentrationsstufe wurde eine eigenständige Versuchsreihe durchgeführt.

Die spasmolytische Wirkung der Substanz SWS2 war an der Arteria pulmonalis nur schwach ausgeprägt. Bei der Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ SWS2 nahm die Kontraktionskraft bezogen auf den Kontrollwert um nur $10,5 \pm 1,55 \%$ ab. Bei der Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ SWS2 wurde sogar eine leichte Erhöhung der Kontraktionskraft ($+1,47 \pm 0,38 \%$) festgestellt.

Tabelle 14: Wirkung von SWS2 in der Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ auf die Lungenarterie

Einwirkdauer (Minuten)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	$22,34 \pm 3,92$	0 ± 0	3	-
45	$22,61 \pm 3,896$	$1,47 \pm 0,38$	3	n.s.

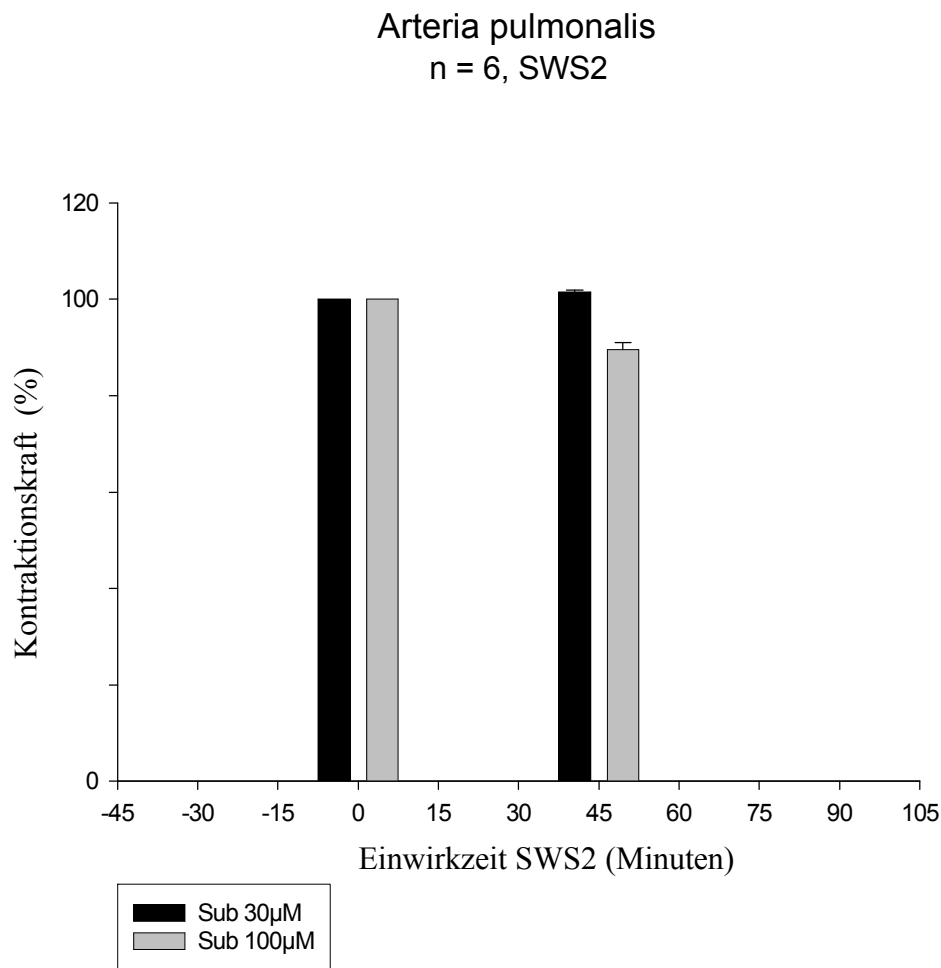
Tabelle 15: Wirkung von SWS2 in der Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ auf die Lungenarterie

Einwirkdauer (Minuten)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	$17,8 \pm 2,69$	0 ± 0	3	-
45	$15,87 \pm 2,2$	$-10,5 \pm 1,55$	3	0,05

Legende zu Tabelle 14 und 15:

SEM bezeichnet den Standardfehler, f_c die Kontraktionskraft und n gibt die Anzahl der Versuche an. Die Kontraktionskraft f_c wird stets als arithmetischer Mittelwert aus allen Versuchen berechnet.

Diagramm 8: Darstellung der Kontraktionskräfte der Lungenarterie nach Einwirken von SWS2

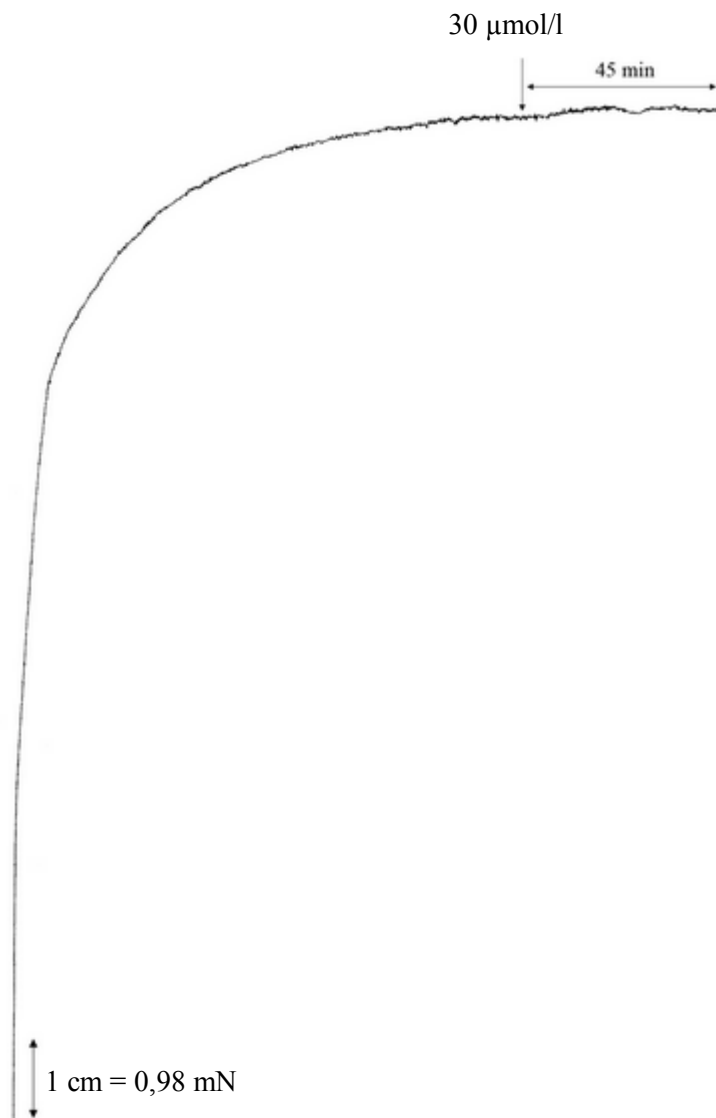


Legende zu Diagramm 8:

In diesem Diagramm ist die Kontraktionskraft der Lungenarterie als Balken dargestellt. Die schwarzen Balken repräsentieren die Ergebnisse bei 30 µmol/l, die grauen Balken jene bei 100 µmol/l.

Auf der Abszisse sind die Einwirkzeiten der Testsubstanz in Minuten abzulesen, während auf der Ordinate die zu diesem Zeitpunkt festgestellte Kontraktionskraft in Prozent angegeben ist.

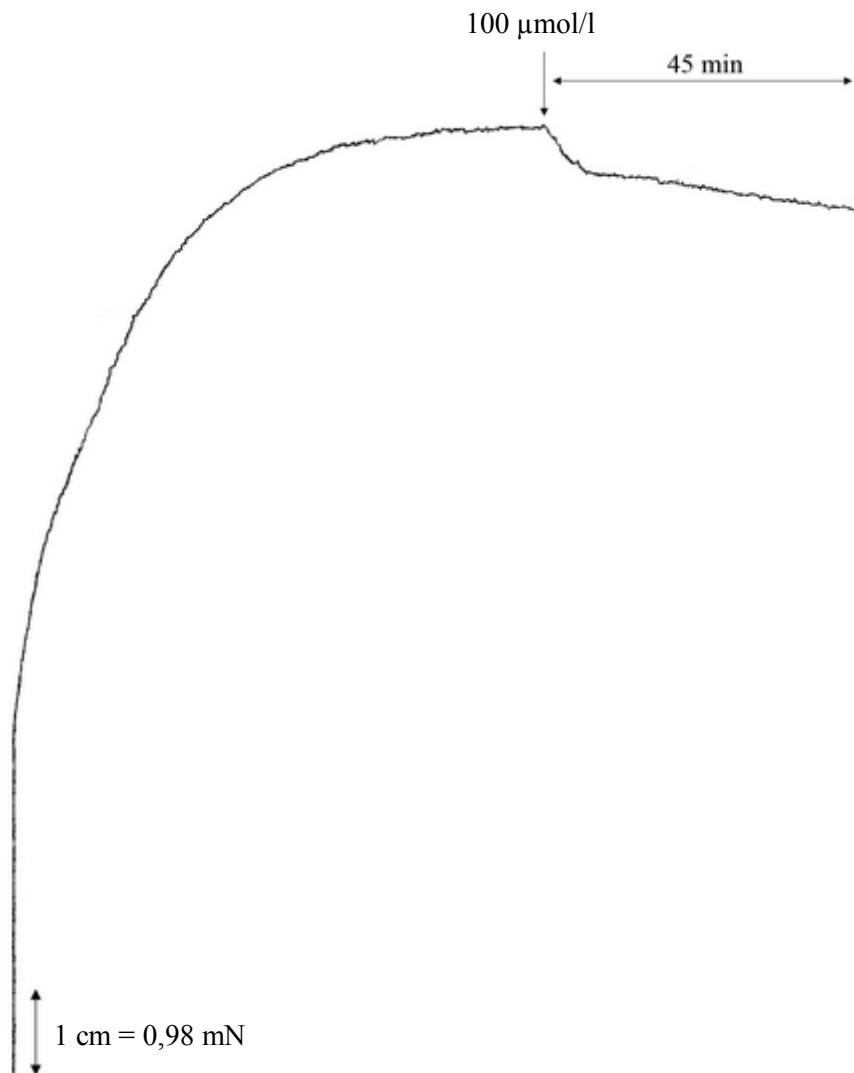
Abbildung 11: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Lungenarterie unter der Einwirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 11:

Der Einfluss der Testsubstanz SWS2 wurde mit Hilfe eines Schreibers dokumentiert. Die Testsubstanz wurde in das Organbad injiziert. Dabei wurde in Abbildung 11 eine Substanzkonzentration von $30\text{ }\mu\text{mol/l}$ erreicht. Der Zeitpunkt der Substanzzugabe ist mit einem Pfeil markiert. Nach 45 Minuten Substanzeinwirkung wurde die Kontraktionskraft bestimmt.

Abbildung 12: Originalabbildung einer Kontraktionskurve der Lungenarterie unter der Einwirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 12:

Der Einfluss der Testsubstanz SWS2 wurde mit Hilfe eines Schreibers dokumentiert. Nach Ausbildung eines konstanten Plateaus wurde die Testsubstanz in das Organbad injiziert. Dabei wurde eine Substanzkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ erreicht. Der Zeitpunkt der Substanzzugabe ist mit einem Pfeil markiert. Nach 45 Minuten Substanzeinwirkung wurde die Kontraktionskraft bestimmt.

4.2.3 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf das terminale Ileum

An der glatten Muskulatur des terminalen Ileum wurden mit der Substanz SWS2 sieben Versuche durchgeführt. Dazu wurde das präparierte und eingespannte Organ zunächst 45 Minuten in einer physiologischen Nährlösung auf den Versuch vorbereitet. Dann wurde das Organ durch eine 60 mmolare Kaliumchloridlösung maximal kontrahiert. Blieb die Kontraktion für etwa 30 Minuten stabil, wurde die Testsubstanz zugesetzt.

Bei einer Substanzkonzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ wurde die Kontraktionskraft im Durchschnitt um 16,11 % reduziert, bei 100 $\mu\text{mol/l}$ war der spasmolytische Effekt nur geringfügig stärker ausgeprägt (-21,85 %).

Tabelle 16:

Wirkung der Testsubstanz SWS2 in der Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ auf das terminale Ileum

Einwirkdauer (Minuten)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	15,06 $\pm$ 3,84	0 $\pm$ 0	3	-
45	12,96 $\pm$ 3,66	-16,11 $\pm$ 4,37	3	n.s.

Tabelle 17:

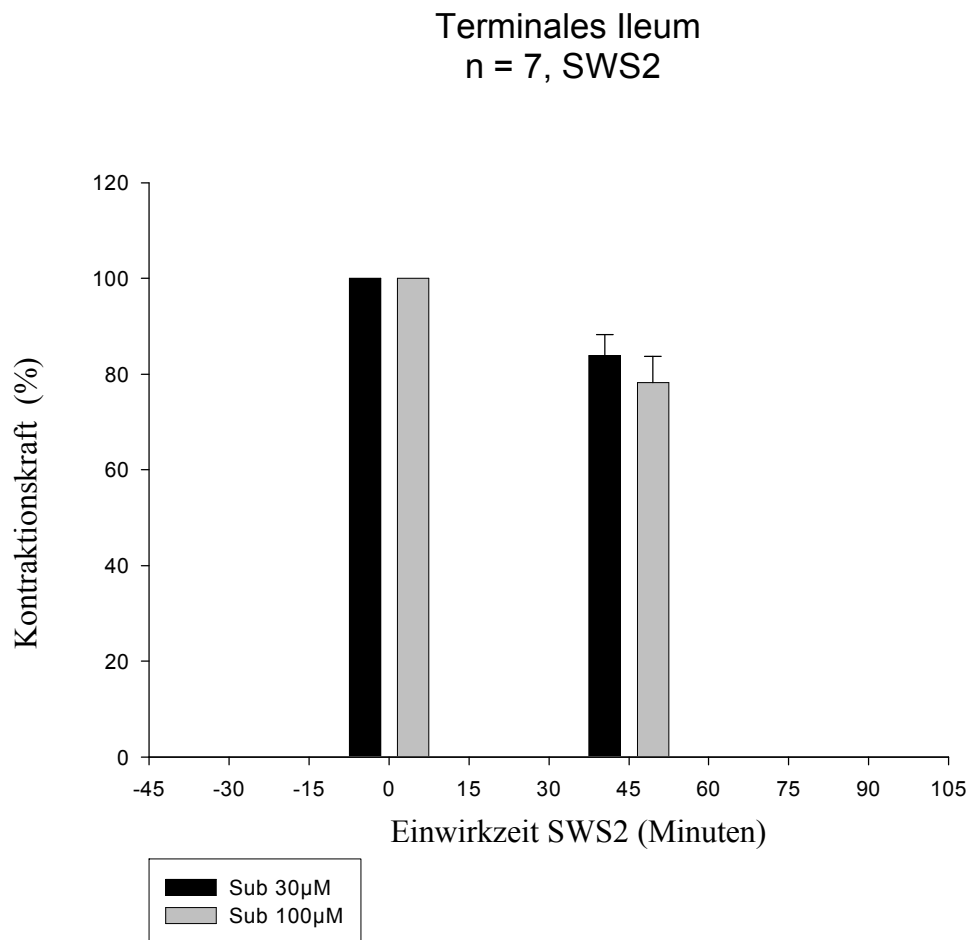
Wirkung der Testsubstanz SWS2 in der Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ auf das terminale Ileum

Einwirkdauer (Minuten)	$F_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$F_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit
0 (Kontrolle)	9,13 $\pm$ 0,59	0 $\pm$ 0	4	-
45	7,18 $\pm$ 0,82	-21,85 $\pm$ 5,51	4	0,05

Legende zu Tabelle 16 und 17:

In diesen Tabellen sind die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskräfte (in Millinewton) und deren Entwicklung nach 45 Minuten Substanzeinwirkung (30 bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$) in Prozent angegeben. Die Standardfehler sind neben den berechneten Mittelwerten angeführt.

Diagramm 9: Darstellung der Kontraktionskräfte des terminalen Ileums nach Einwirken von SWS2

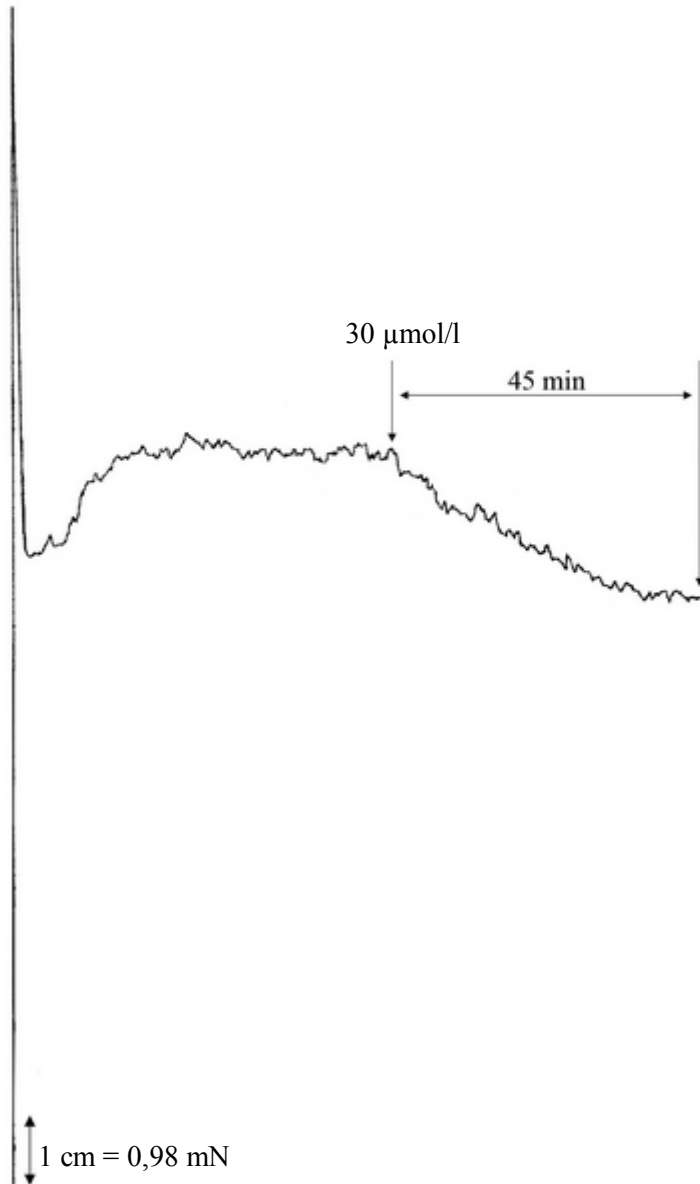


Legende zu Diagramm 9:

In diesem Diagramm ist die Abnahme der Kontraktionskraft des terminalen Ileums bei Substanzzugabe graphisch dargestellt.

Auf der x-Koordinate ist die Einwirkzeit von SWS2 auf das terminale Ileum angegeben, während auf der y-Koordinate die Kontraktionskraft in Prozent aufgetragen ist. Die schwarzen Balken ergeben sich aus den Ergebnissen der Versuchsreihe bei 30 µmol/l, die grauen Balken aus der Versuchsreihe bei 100 µmol/l. Die T-förmige Verlängerung der Balken gibt den Standardfehler der Messergebnisse an.

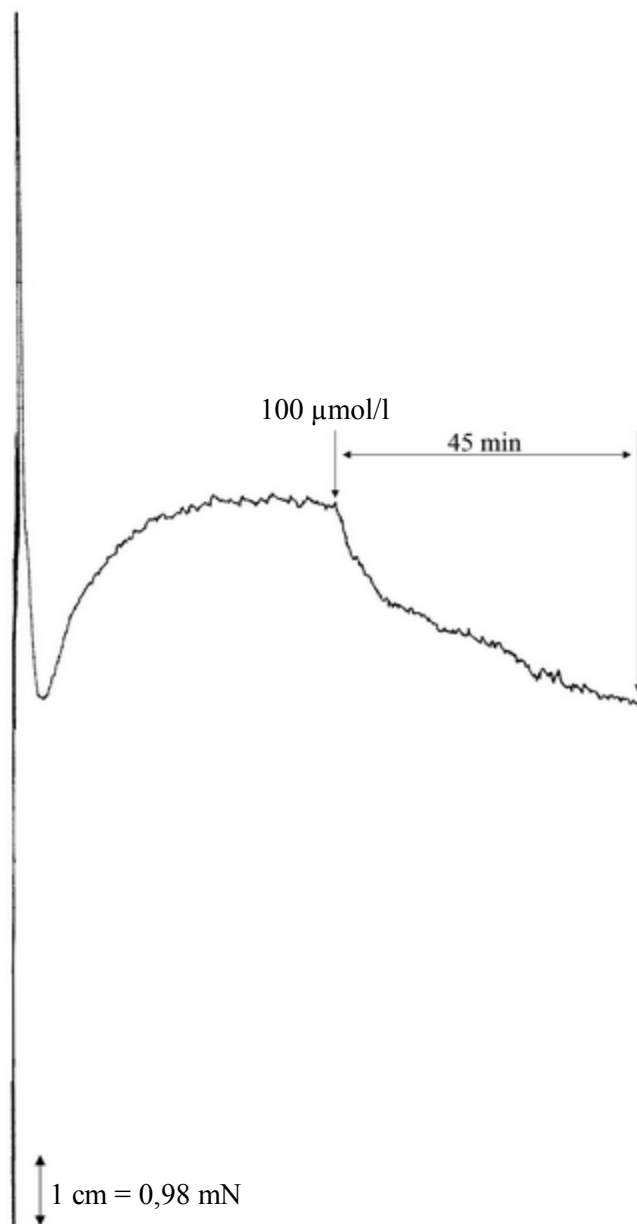
Abbildung 13: Originalabbildung einer Kontraktionskurve des terminalen Ileums unter der Einwirkung von 30 $\mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 13:

Die Originalkurven zeigen die Abnahme der Kontraktionskraft unter dem Substanzeinfluss von 30 $\mu\text{mol/l}$ SWS2. Sowohl der Zeitpunkt der Substanzzugabe als auch jener der Wirkungsbestimmung ist durch Pfeile markiert. Durch das Vergleichen der Kurvenhöhe an den markierten Stellen kann die Wirkung von SWS2 berechnet werden.

Abbildung 14: Originalabbildung einer Kontraktionskurve des terminalen Ileums unter der Einwirkung von $100\ \mu\text{mol/l}$ SWS2



Legende zu Abbildung 14:

Die Originalkurven zeigen die Abnahme der Kontraktionskraft unter dem Substanzeinfluss von $100\ \mu\text{mol/l}$ SWS2. Die Zeitpunkte der Wirkungsbestimmung sind durch Pfeile markiert. Durch das Vergleichen der Kurvenhöhe an den markierten Stellen kann die Wirkung von SWS2 berechnet werden.

4.2.4 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf das Atrium cordis dextrum

Die Wirkung von SWS2 am rechten Vorhof wurde in fünf Versuchen überprüft. Dabei wurde die Änderung der Schlagfrequenz des Vorhofes nach Substanzzugabe untersucht.

Zur Versuchsdurchführung wurde der Vorhof in Versuchsassaparatur A eingespannt. Auf das Vorspannen folgte eine 30-minütige Kontrollphase in der sich die Schlagfrequenz stabilisierte. Der Effekt von SWS2 auf die Schlagfrequenz des Vorhofes wurde bei Konzentrationen von 30 und 100 µmol/l bestimmt. Die Substanz wurde kumulativ im Abstand von 45 Minuten in das Organbad injiziert.

Der berechnete Kontrollwert betrug $206 \pm 11,1$ Schläge/Minute. Die Substanzeinwirkung änderte die Frequenz nur minimal. Bei einer Substanzkonzentration von 30 µmol/l wurde eine Frequenzsteigerung um 0,49 % und bei 100 µmol/l um 2,25 % festgestellt.

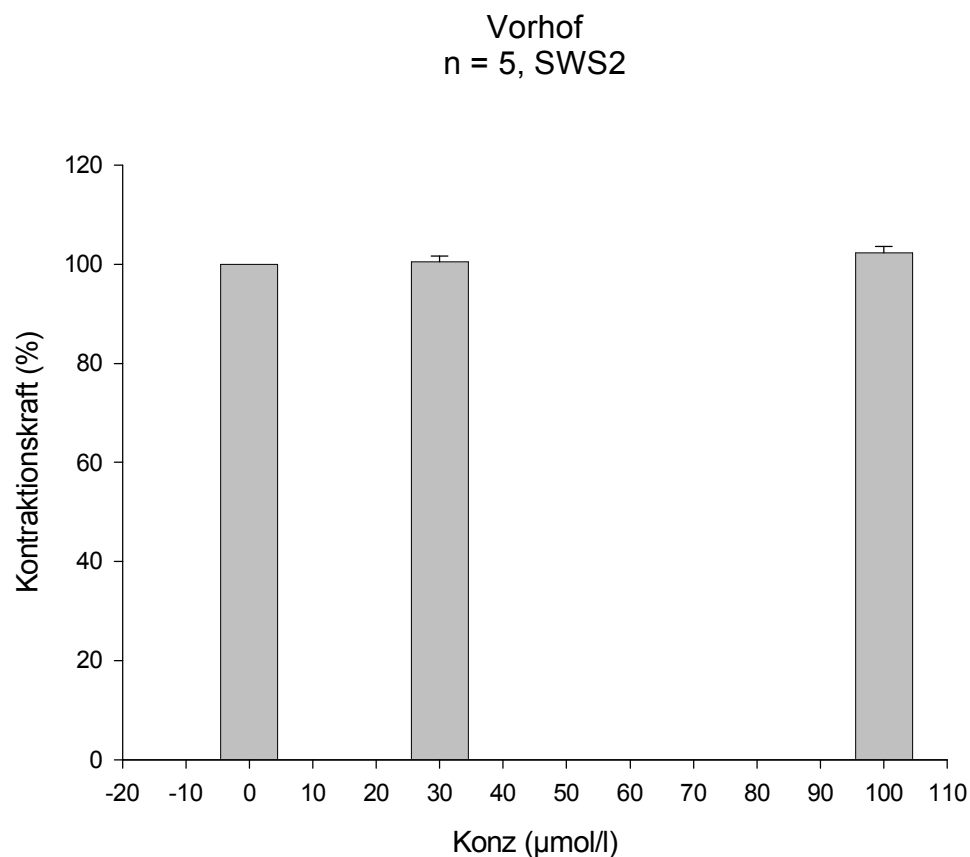
Tabelle 18: Wirkung der Substanz SWS2 auf das Atrium cordis dextrum

SWS2 (µmol/L)	$f \pm \text{SEM}$ (mN)	$f \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$206 \pm 11,10$	0 ± 0	5	-
30	$207 \pm 11,25$	$0,49 \pm 1,15$	5	n.s.
100	$210 \pm 11,95$	$2,25 \pm 1,31$	5	n.s.

Legende zu Tabelle 18:

In dieser Tabelle ist für jede Konzentrationsstufe sowohl die durchschnittliche Schlaganzahl pro Minute, als auch die im Verhältnis zum Kontrollwert festgestellte Abnahme der Schlagfrequenz in Prozent angegeben. Neben den aus fünf Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerten ist stets deren Standardabweichung angegeben.

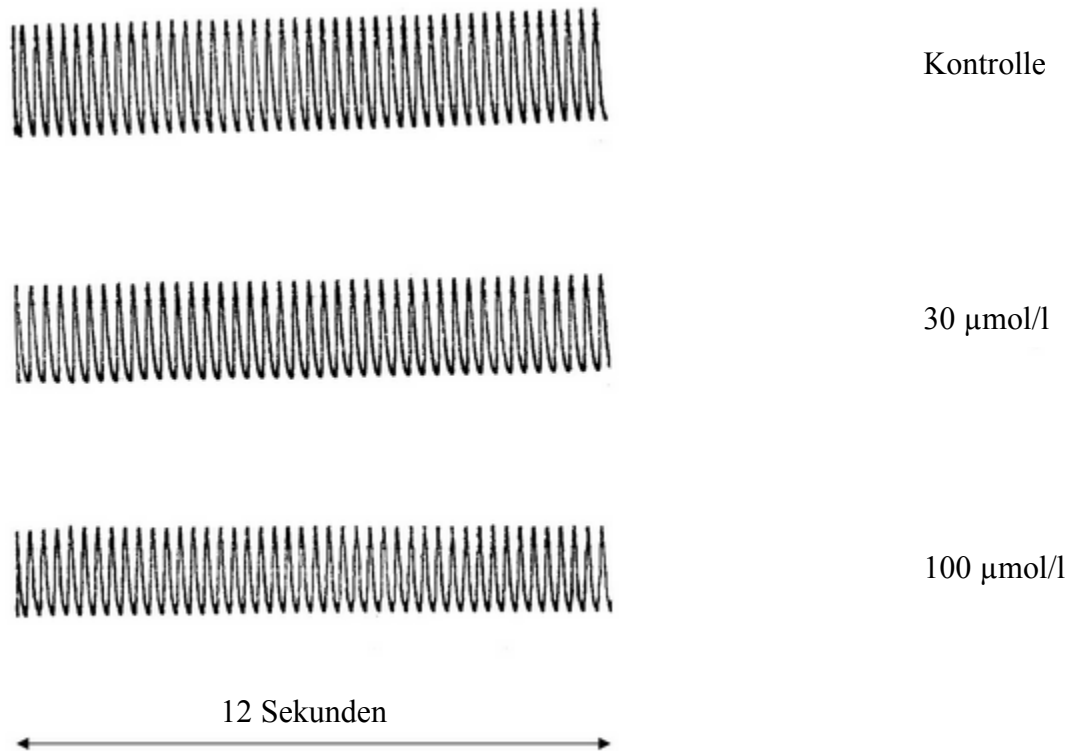
Diagramm 10: Darstellung der Schlagfrequenz des rechten Vorhofes unter Einwirkung von SWS2



Legende zu Diagramm 10:

Das Balkendiagramm zeigt die Effekte der jeweiligen Substanzkonzentrationen auf die Schlagfrequenz des rechten Vorhofes. Auf der x-Achse ist die Substanzkonzentration in µmol/l angeführt, während an der y-Achse der für die jeweilige Substanzkonzentration berechnete Mittelwert der Schlagfrequenz angegeben ist. Die Schlagfrequenz vor Substanzzugabe wird als 100 % festgelegt und alle weiteren Messungen auf diesen Ausgangswert bezogen. Die T-förmige Markierung am Ende des Balkens gibt die berechnete Standardabweichung an.

Abbildung 15: Originalaufzeichnung der Schlagfrequenz des Atrium cordis dexter unter der Einwirkung der Testsubstanz SWS2



Legende zu Abbildung 15:

Die Aufzeichnungen zeigen die isometrischen Kontraktionen des Vorhofes am Ende der Kontrollphase und nach 45-minütiger Einwirkung von 30 und 100 µmol/l SWS2. Die Erhöhung der Substanzkonzentration erfolgte kumulativ. Die Anzahl abgebildeten Amplituden entspricht der Anzahl der Vorhofkontraktionen in 12 Sekunden. Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten wurde mit fünf multipliziert.

4.2.5 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf den Musculus papillaris

Der Effekt der Testsubstanz SWS2 auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde in vier Versuchen getestet. Die Präparierung des Muskels erfolgte wie im eingangs beschrieben, die weitere Versuchsvorbereitung wurde ebenfalls wie bereits erklärt durchgeführt. Da zur Kontraktion des Muskels eine elektrische Reizung notwendig war, wurden die Versuche an der Versuchsanordnung A durchgeführt. Nach einer etwa 45-minütigen Anpassungsphase stabilisierte sich die Kontraktionskraft des Muskels und es konnte mit der Substanzzugabe begonnen werden. Dabei wurde die Konzentration der Testsubstanz im Organbad im Abstand von 45 Minuten stufenweise auf 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ erhöht.

Am Ende der Kontrollphase betrug die durchschnittliche Kontraktionskraft $1,39 \pm 0,6 \text{ mN}$. Dieser aus vier Versuchen berechnete Wert wurde als 100 % definiert. Bei der Substanzkonzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ wurde die Kontraktionskraft um 20,03 %, bei 100 $\mu\text{mol/l}$ um 30,44 % vermindert. Ein halbmaximaler Effekt wurde somit nicht erreicht.

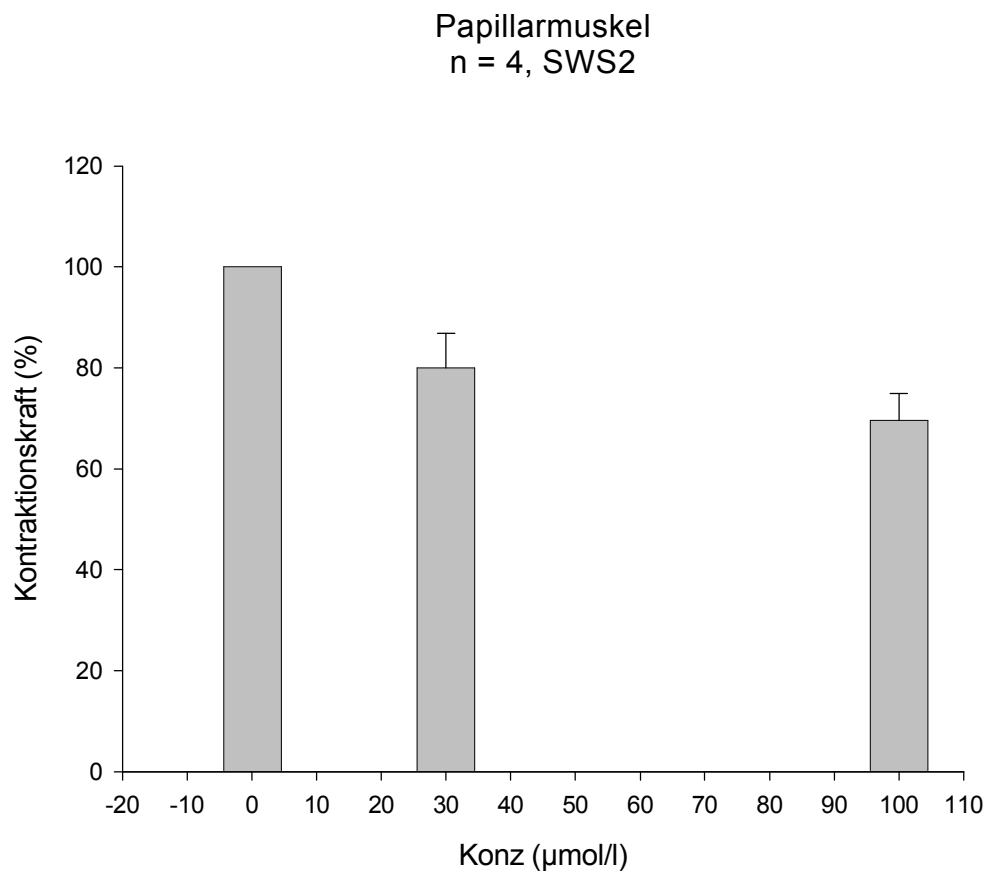
Tabelle 19: Wirkung der Substanz SWS2 auf den Musculus papillaris

SWS2 ($\mu\text{mol/L}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche n	Irrtumswahr- scheinlichkeit P
Kontrolle	$1,39 \pm 0,60$	0 ± 0	4	-
30	$0,99 \pm 0,31$	$-20,03 \pm 6,93$	4	0,05
100	$0,89 \pm 0,30$	$-30,44 \pm 5,36$	4	0,05

Legende zu Tabelle 19:

In dieser Tabelle ist die durchschnittliche Kontraktionskraft (f_c) samt Standardfehler (SEM), berechnet aus vier Versuchen, für jede Konzentrationsstufe angegeben. In der dritten Spalte ist die Abnahme der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent abzulesen.

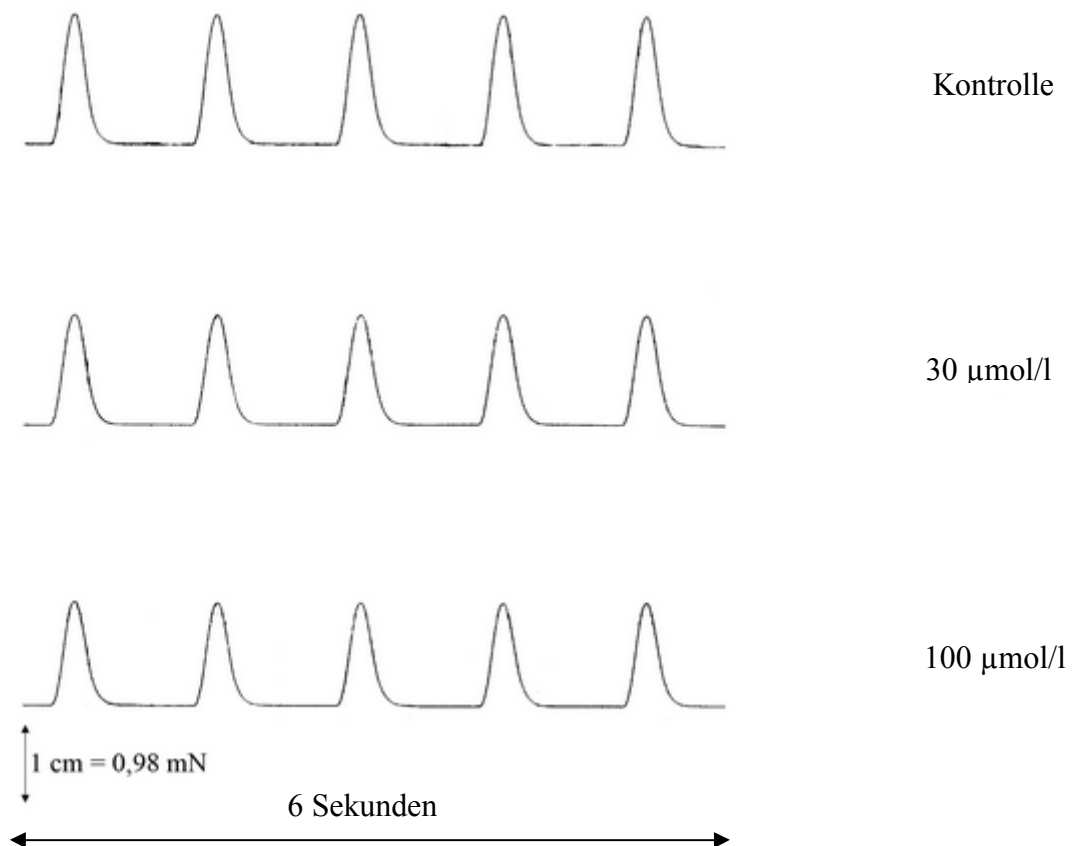
Diagramm 11: Darstellung der Kontraktionskräfte des Papillarmuskels nach Einwirken von SWS2



Legende zu Diagramm 11:

In diesem Säulendiagramm wird der Effekt der Testsubstanz SWS2 auf die Inotropie des Papillarmuskels graphisch dargestellt. Auf der x-Achse sind die Konzentrationen in µmol/l aufgetragen, an der der y-Achse kann die Kontraktionskraft in Prozent abgelesen werden. Der arithmetische Mittelwert der Kontraktionskraft bei der jeweiligen Konzentrationsstufe wird mit dem Kontrollwert verglichen und in % dargestellt. Die T-förmigen Markierungen am oberen Ende der Säulen geben die Standardabweichungen an.

Abbildung 16: Originalaufzeichnung der isometrischen Kontraktion eines Papillarmuskels unter der Einwirkung der Testsubstanz SWS2



Legende zu Abbildung 16:

Diese Aufzeichnungen zeigen die Kontraktionskurven eines elektrisch stimulierten Papillarmuskels unter der Substanzeinwirkung von SWS2. Nach der Kontrollphase wurde im Abstand von 45 Minuten die Substanzkonzentration zunächst auf 30 µmol/l, dann kumulativ auf 100 µmol/l erhöht. Die abgebildeten Kontraktionsamplituden wurden jeweils nach einer 45-minütigen Substanzeinwirkung aufgezeichnet. Durch Vermessen und Vergleichen der Amplituden wurde die Änderung der Kontraktionskraft festgestellt.

4.3 Ergebnisse des Lösungsmittels Dimethylsulfoxid (DMSO)

In den Versuchsreihen mit der Testsubstanzen WHG73T wurde Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel verwendet. Diese Flüssigkeit ermöglichte durch seine aprotisch dipolaren Eigenschaften sowohl das Lösen der lipophilen Versuchssubstanz als auch deren homogene Vermischung in der Nährstofflösung.

Allerdings besitzt DMSO auf die isolierten Organe eine Eigenwirkung, die zunächst bestimmt und schließlich in den Auswertungen der Testsubstanzen berücksichtigt werden musste.

Die Bestimmung des Eigeneffektes von DMSO auf das jeweilige Organ erfolgte analog der Wirkungsüberprüfung der Testsubstanzen. Die DMSO-Wirkung wurde somit in den Konzentrationsstufen 1, 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$, nach einer Einwirkzeit von 45 Minuten, getestet. Die Untersuchungen ergaben einen Dimethylsulfoxideinfluss auf die Kontraktilität der Aorta, der Arteria pulmonalis, das Ileum und auf den Papillarmuskel. Auf die Schlagfrequenz des Vorhofes wurde kein Effekt festgestellt.

4.3.1 Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Aorta

Die Tabelle 20 zeigt die aus drei Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) und deren Standardfehler (SEM) unter der Einwirkung der jeweiligen Substanzkonzentration von DMSO. Zusätzlich ist die Veränderung der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent angeben.

Bei der Überprüfung wurde bei jeder Konzentrationsstufe eine schwach kontrahierende Wirkung festgestellt, die bei der Auswertung der Testergebnisse von WHG73T berücksichtigt wurde.

Tabelle 20: Wirkung von DMSO auf die Aorta

DMSO	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche
Kontrolle	$9,78 \pm 2,14$	0 ± 0	3
1	$10,00 \pm 2,23$	$1,84 \pm 0,95$	3
3	$10,00 \pm 2,21$	$1,93 \pm 0,91$	3
10	$9,95 \pm 2,20$	$1,51 \pm 1,38$	3
30	$9,92 \pm 2,20$	$1,09 \pm 2,46$	3
100	$9,83 \pm 2,15$	$0,34 \pm 2,57$	3

4.3.2 Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis

Die Tabelle 21 zeigt die aus vier Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) und deren Standardfehler (SEM) unter der Einwirkung der jeweiligen Substanzkonzentration von DMSO. Zusätzlich ist die Veränderung der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent angegeben.

Der kontrahierende Effekt von DMSO auf die Arteria pulmonalis schwankte zwischen 2,72 % und 4,01 % und wurde bei den Ergebnissen der Testsubstanz WHG73T berücksichtigt.

Tabelle 21: Wirkung von DMSO auf die Arteria pulmonalis

DMSO	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche
Kontrolle	$8,43 \pm 1,03$	0 ± 0	4
1	$8,62 \pm 0,93$	$2,72 \pm 1,72$	4
3	$8,71 \pm 0,85$	$4,01 \pm 3,05$	4
10	$8,69 \pm 0,96$	$3,39 \pm 1,38$	4
30	$8,72 \pm 0,96$	$3,74 \pm 1,24$	4
100	$8,66 \pm 1,00$	$2,91 \pm 1,03$	4

4.3.3 Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des terminale Ileums

Die Tabelle 22 zeigt die aus drei Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) und deren Standardfehler (SEM) unter der Einwirkung der jeweiligen Substanzkonzentration von DMSO. Zusätzlich ist die Veränderung der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent angegeben.

Auf das terminale Ileum zeigte DMSO eine deutliche dilatierende Wirkung. Dieser Effekt steigerte sich kontinuierlich von 1,51 % bei 1 $\mu\text{mol/l}$ auf 19,35 % bei 100 $\mu\text{mol/l}$.

Tabelle 22: Wirkung von DMSO auf das terminale Ileum

DMSO	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche
0	$20,73 \pm 3,56$	0 ± 0	3
1	$20,48 \pm 3,65$	$-1,51 \pm 0,64$	3
3	$19,99 \pm 3,88$	$-4,65 \pm 2,41$	3
10	$19,31 \pm 4,08$	$-8,66 \pm 4,03$	3
30	$18,74 \pm 4,11$	$-11,59 \pm 4,21$	3
100	$17,18 \pm 3,92$	$-19,35 \pm 4,32$	3

4.3.4 Wirkung von DMSO auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels

Die Tabelle 23 zeigt die aus drei Versuchen berechneten arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) und deren Standardfehler (SEM) unter der Einwirkung der jeweiligen Substanzkonzentration von DMSO. Zusätzlich ist die Veränderung der Kontraktionskraft in Relation zum Kontrollwert in Prozent angegeben.

Das Lösungsmittel DMSO zeigte am Papillarmuskel eine starke dilatierende Wirkung. Bei 10 $\mu\text{mol/l}$ wurde bereits eine Dilatation um 23,76 %, bezogen auf den Kontrollwert, festgestellt. Mit einer Kontraktionskraftabnahme des Papillarmuskels um 45,95 % bei 100 $\mu\text{mol/l}$ wurde nur durch das Lösungsmittel DMSO beinahe ein halbmaximaler Effekt erreicht.

Tabelle 23: Wirkung von DMSO auf den Papillarmuskel

DMSO	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Anzahl der Versuche
Kontrolle	$0,47 \pm 0,06$	0 ± 0	4
1	$0,46 \pm 0,08$	$-3,70 \pm 3,70$	4
3	$0,43 \pm 0,07$	$-10,42 \pm 3,84$	4
10	$0,36 \pm 0,05$	$-23,76 \pm 0,82$	4
30	$0,29 \pm 0,03$	$-37,40 \pm 2,32$	4
100	$0,25 \pm 0,03$	$-45,95 \pm 2,99$	4

5 Diskussion

Im vorigen Kapitel wurden die im Rahmen der Diplomarbeit ermittelten Ergebnisse über die Wirkung der neu synthetisierten Substanzen WHG73T und SWS2 auf isolierte Organe des Meerschweinchens angegeben. In diesem Kapitel werden die Versuchsergebnisse der beiden Testsubstanzen zunächst bewertet und anschließend mit Studienergebnissen verglichen.

Bei den Versuchen an der Aorta, der Pulmonalarterie und dem Ileum terminale wurde die Wirkung der Testsubstanz an der glatte Muskulatur getestet, während bei den Versuchen am Vorhof und am Papillarmuskel der Effekt auf die Herzmuskulatur überprüft wurde.

5.1 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf isolierte Organe

5.1.1 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf isolierte glattmuskuläre Organe

Tabelle 24: Wirkung von WHG73T auf die glatte Muskulatur

Organpräparat	Kontraktionskraftänderung bei 100 µmol/l WHG73T f_c (%) $\pm$ SEM	EC ₅₀ (µmol/l)
Aorta	-56,88 $\pm$ 8,24	41,7
Arteria pulmonalis	-28,03 $\pm$ 2,68	≥ 100
Terminales Ileum	-49,22 $\pm$ 4,63	12,7

In der Tabelle 24 werden die Effekte auf alle Versuchspräparate mit glatter Muskulatur bei einer Testsubstanzkonzentration von 100 µmol/l WHG73T angegeben.

An allen drei Organen konnte bei der Substanzkonzentration von 100 µmol/l eine deutliche spasmolytische Wirkung festgestellt werden, wobei allerdings nur an der Aorta und am terminalen Ileum ein halbmaximaler Effekt erreicht wurde.

Am Versuchspräparat der Aorta war der Effekt mit minus 56,88 $\pm$ 8,24 Prozent bei 100 µmol/l WHG73T am stärksten ausgeprägt. Nach der Substanzzugabe nahm die Kontraktionskraft der Aorta kontinuierlich ab, wobei bei 41,7 µmol/l die mittlere effektive Konzentration erreicht wurde.

Auch die Muskulatur des terminalen Ileums wurde bei den Versuchen mit WHG73T so stark dilatiert, dass ein halbmaximaler Effekt beobachtet werden konnte. Die mittlere effektive Konzentration betrug am terminalen Ileum $12,7 \mu\text{mol/l}$, wobei durch die weitere Konzentrationserhöhung kein nennenswerter weiterer Effekt erreicht wurde. Die maximale spasmolytische Wirkung (minus $54,3 \pm 4,98$ Prozent) wurde bei etwa $30 \mu\text{mol/l}$ WHG73T erzielt und war bei höherer Konzentration sogar wieder rückläufig.

Die Kontraktionskraft der Pulmonalarterie wurde durch die höchste Konzentrationsstufe der Testsubstanz ($100 \mu\text{mol/l}$) WHG73T von $16,58 \text{ mN}$ ausgehend um $28,03 \pm 2,68$ Prozent auf $11,83 \pm 1,92 \text{ mN}$ reduziert. Die Kontraktion nahm bis zum Versuchende konstant ab, ein halbmaximaler Effekt wurde allerdings bis zu der Substanzkonzentration von $100 \mu\text{mol/l}$ nicht erreicht.

5.1.2 Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Herzmuskulatur

Tabelle 25: Wirkung von WHG73T auf die Herzmuskulatur

Organpräparat	Änderung der Schlagfrequenz bzw. Kontraktionskraft in % bei $100 \mu\text{mol/l}$ WHG73T $\pm \text{SEM}$	EC_{50} ($\mu\text{mol/l}$)
Rechter Vorhof	$-7,3 \pm 2,39$	≥ 100
Papillarmuskel	$-21,84 \pm 2,60$	≥ 100

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich war die Wirkung der Testsubstanz WHG73T auf die Herzmuskulatur deutlich schwächer als jene auf die glatte Muskulatur.

Die Schlagfrequenz des rechten Vorhofes wurde durch die Substanz WHG73T nur unwesentlich beeinflusst. Die maximale Substanzwirkung wurde bei einer Konzentration von $30 \mu\text{mol/l}$ WHG73T erreicht. Die Schlagfrequenz sank zu diesem Zeitpunkt auf 184 Schläge pro Minute (bzw. um 12 ± 5 Prozent), stieg allerdings bis zu der maximalen Substanzkonzentration von $100 \mu\text{mol/l}$ wieder auf 194 Schläge pro Minute an.

Am Papillarmuskel wurde durch den Einfluss der Testsubstanz WHG73T ein negativ inotroper Effekt festgestellt. Da sich die negativ inotrope Wirkung ab der Substanzkonzentration von $3 \mu\text{mol/l}$, hier betrug der Effekt bereits minus $25,28 \pm 5,18$ Prozent, nicht mehr verstärkte, wurde kein halbmaximaler Effekt erreicht

5.2 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf isolierte Organe

5.2.1 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf isolierte glattmuskuläre Organe

Tabelle 26: Wirkung von SWS2 auf die glatte Muskulatur

Organpräparat	Kontraktionskraftänderung bei 100 µmol/l SWS2 $f_c (\%) \pm \text{SEM}$	EC_{50} (µmol/l)
Aorta	$-23,55 \pm 5,42$	≥ 100
Arteria pulmonalis	$-10,5 \pm 1,55$	≥ 100
Terminales Ileum	$-21,85 \pm 5,51$	≥ 100

In der Tabelle 26 werden die Effekte auf alle Versuchspräparate mit glatter Muskulatur bei einer Testsubstanzkonzentration von 100 µmol/l SWS2 angegeben.

An allen hier angeführten Präparaten wurde durch den Substanzeinfluss von SWS2 nur eine eher schwache dilatierende Wirkung festgestellt. An keinem Organ konnte ein halbmaximaler Effekt erreicht werden

Der verhältnismäßig stärkste dilatierende Effekt wurde an der Aorta erreicht. Hier verminderte sich die Kontraktionskraft konstant aber nur langsam ab der ersten Substanzzugabe. Schließlich wurde bei der höchsten getesteten Substanzkonzentration (100 µmol/l) eine Abnahme der Kontraktionskraft um $23,55 \pm 5,42$ Prozent festgestellt.

An dem glattmuskulären Präparat der Pulmonalarterie wurde bei einer Konzentration von 100 µmol/l gar nur eine Reduktion der Kontraktionskraft um $10,5 \pm 1,55$ Prozent beobachtet. Bei einer Testsubstanzkonzentration von 30 µmol/l war überhaupt noch kein Effekt bemerkbar.

Die Entwicklung der Kontraktionskraft nach Substanzzugabe verlief am terminalen Ileum ähnlich wie an der Aorta. Der maximale dilatierende Effekt wurde bei der Substanzkonzentration von 100 µmol/l gemessen und betrug minus $21,85 \pm 5,51$ Prozent. Die mittlere effektive Konzentration wurde somit auch in dieser Versuchsreihe nicht erreicht.

5.2.2 Wirkung der Testsubstanz SWS2 auf die Herzmuskulatur

Tabelle 27: Wirkung von SWS2 auf die Herzmuskulatur

Organpräparat	Änderung der Schlagfrequenz bzw. Kontraktionskraft in % bei 100 µmol/l SWS2 ± SEM	EC ₅₀ (µmol/l)
Rechter Vorhof	-2,25 ± 1,31	≥ 100
Papillarmuskel	-30,44 ± 5,36	≥ 100

Die Ergebnisse von SWS2 an dem sowohl Eigenschaften der glatten als auch der quergestreiften Muskulatur aufweisenden Herzmuskel sind jenen der Testsubstanz WHG73T sehr ähnlich.

Die Veränderung der Chronotropie des rechten Vorhofes war selbst bei 100 µmol/l SWS2 mit einer Erhöhung um 4 Schläge pro Minute vernachlässigbar gering.

Die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde durch die Testsubstanz SWS2, ohne einen halbmaximalen Effekt zu erzielen, deutlich reduziert. Nach einer Reduktion der Inotropie um $20,03 \pm 6,93$ Prozent bei 30 µmol/l nahm die Kontraktionskraft bei 100 µmol um weitere 10,41 Prozent auf 69,56 Prozent ab.

5.3 Vergleich der Testsubstanzen WHG73T und SWS2 mit H₂S

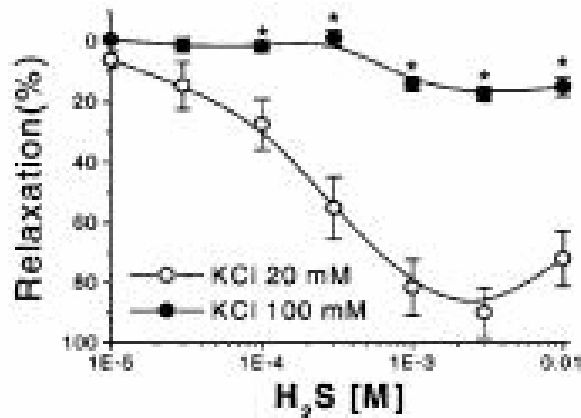
Zhao et al. (2001) publizierten im Jahr 2001 ausführlich Untersuchungen über den Effekt von Schwefelwasserstoff an der glatten vaskulären Muskulatur von Ratten.

Da die beiden Testsubstanzen dieser Diplomarbeit auf Grund ihrer Struktur ebenfalls Schwefelwasserstoff freisetzen, liegt ein Vergleich mit der Studie von Zhao et al. (2001) nahe.

In dieser Studie wurde unter anderem die Wirkung von Schwefelwasserstoff auf mit 20 mmol und 100 mmol KCl vorkontrahierte Aorten überprüft (Abbildung 17). Dabei stellte sich heraus, dass bei den mit 20 mmol KCl vorkontrahierten Aorten bereits bei einer Konzentration von 18 µmol/l Schwefelwasserstoff die Schwelle zur Aortenrelaxierung erreicht wurde, während bei der Vorkontraktion mit 100 mmol KCl eine erste Dilatation erst bei etwa 300 µmol/l Schwefelwasserstoff festgestellt wurde. Die in diesen Versuchen erreichte maximale Relaxation betrug bei den mit 100 mmol KCl vorkontrahierten Aorten $19 \pm 3,9$ Prozent, bei den mit 20 mmol KCl kontrahierten Aorten wurde eine maximale Abnahme um $90 \pm 3,9$ Prozent, bei

einer Schwefelwasserstoffkonzentration von 1100 $\mu\text{mol/l}$ festgestellt. Die EC_{50} wurde in der Versuchsreihe mit 20mmol KCl Vorkontraktion bei etwa 200 $\mu\text{mol/l}$ erreicht (Zhao et al. 2001).

Abbildung 17: Die H_2S -induzierte Relaxierung der Aorta aus “The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener” (Zhao et al. 2001)



Die Testsubstanzen dieser Diplomarbeit, WHG73T und SWS2, zeigten an der Aorta im Vergleich zu der oben genannten Ergebnissen von H_2S eine deutlich stärkere relaxierende Wirkung. Bei der Testsubstanz WHG73T wurde, obwohl mit 90 mM Kaliumchloridlösung vorkontrahiert, bereits bei 41,7 $\mu\text{mol/l}$ die mittlere effektive Konzentration erreicht. Auch bei der Testsubstanz SWS2 wurde bereits rasch nach der Substanzzugabe ein dilatierender Effekt erzielt, während bei den Versuchen in der Studie von Zhao et al. (2001) erst bei etwa 300 $\mu\text{mol/l}$ H_2S eine erste Relaxation beobachtet wurde. Um die Gründe für die im direkten Vergleich zu H_2S verstärkte relaxierende Wirkung der Testsubstanzen WHG73T und SWS2 zu erfahren müssten weitere Untersuchungen über den Wirkmechanismus der Testsubstanzen durchgeführt werden. Weiters wird angemerkt, dass die Versuche in der Studie von Zhao et al. (2001) an Aorten von Ratten durchgeführt wurden, während in dieser Diplomarbeit Aorten von Meerschweinchen verwendet wurden.

Informationen über den Zusammenhang zwischen strukturellen Eigenschaften der H_2S freisetzenden Testsubstanzen WHG73T und SWS2 und deren unterschiedlich starke Wirkung auf die glattmuskulären Organe der Meerschweinchen könnten ebenfalls über die Prüfung des Wirkmechanismus erlangt werden.

Im Gegensatz zu Gewebe von Koronararterien, Aorten, Lungenarterie und Pfortader wurden im Gewebe des tierischen Vorhofes auch nicht die an der Herstellung von H_2S beteiligten Enzyme Cystathionin β -Synthase (CBS) und Cystathionin γ -lyase (CSE) gefunden (Chen et al. 1999, Bao et al 1998, Hosoki et al. 1997) .

Betreffend die gefäßerweiternde Wirkung von H_2S wurden auch in-vivo Studien durchgeführt. Die intravenöse Injektion von H_2S provoziert auch hier eine vorübergehende, aber signifikante Abnahme des mittleren arteriellen Blutdrucks.

Als pharmakologische Angriffspunkte der H_2S -Wirkung werden in mehreren Studien sowohl die ATP-abhängigen Kaliumkanäle in den vaskulären glatten Muskelzellen als auch die Erhöhung der Kalium-Leitfähigkeit im Endothel genannt. Ob der Schwefelwasserstoff alleine über diese Angriffspunkte die vaskuläre Regulation steuert oder auch andere Mechanismen wie zum Beispiel ein Eingriff in den Adenylatcyclase/cAMP Weg (Lim et al. 2008) oder die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren (Abe 1996) beteiligt sind wurde bisher noch nicht vollständig geklärt.

Jedenfalls konnte in der Studie von Zhao et al. (2001) festgestellt werden, dass der hypotensive Effekt von H_2S durch den K_{ATP} -Kanalöffner Pinacidil imitiert und durch den K_{ATP} -Kanalblocker Glibenclamid antagonisiert wird. Ergebnisse betreffend den Einfluss von Schwefelwasserstoff auf die Herzfrequenz von Ratten stimmten mit jenen dieser Diplomarbeit überein. Die Herzfrequenz änderte sich durch Einwirkung der H_2S -freisetzenden Testsubstanzen nicht.

6 Zusammenfassung

In dieser Diplomarbeit wurde die pharmakologische Wirkung der am Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie der Universität Wien neu synthetisierte Substanzen WHG73T und SWS2 auf isolierte Organe des Meerschweinchens untersucht.

Dabei wurde an der glatten Muskulatur der Aorta, der Arteria pulmonalis und des terminalen Ileums ein möglicher vasodilatierender Effekt der Testsubstanzen untersucht, während am Vorhof und am Papillarmuskel eine chronotrope bzw. inotrope Wirkung auf die Herzmuskulatur überprüft wurde.

Zur Versuchsdurchführung wurden die Präparate in geeignete Apparaturen eingespannt, in denen durch begaste Nährlösungen physiologische Verhältnisse imitiert wurden.

Indem die Testsubstanz der Nährlösung kumulativ zugesetzt wurde, konnte die Wirkung der Substanz auf das jeweilige Organ festgestellt werden. Über einen Schreiber, der über einen Verstärker mit der Versuchsanordnung verbunden war, wurde jede Kontraktionsänderung des Organs auf Millimeterpapier aufgezeichnet. Diese Aufzeichnungen stellten die Grundlage für die Datenauswertung dieser Diplomarbeit dar.

Die Testsubstanz WHG73T zeigte an den glattemuskulären Organen eine deutliche spasmolytische Wirkung. Sowohl an der Aorta, bei 41,7 $\mu\text{mol/l}$, als auch am terminalen Ileum, bei 12,7 $\mu\text{mol/l}$, wurde eine EC_{50} erreicht. Die Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis nahm bei der maximalen Testsubstanzkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ um $28,03 \pm 2,68$ Prozent ab.

Die Schlagfrequenz des rechten Vorhofes wurde durch die Substanz WHG73T nur unwesentlich beeinflusst. Am Papillarmuskel wurde mit minus $21,84 \pm 2,60$ Prozent ein mittelstarker negativ inotroper Effekt festgestellt.

Die Testsubstanz SWS2 erreichte an keinem der isolierten glattemuskulären Organe eine EC_{50} . Während sich an der Aorta und am terminalen Ileum bei einer Testsubstanzkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ die Kontraktionskraft immerhin um knapp über 20 Prozent verminderte, wurde die Arteria pulmonalis in dieser Konzentrationsstufe nur um $10,5 \pm 1,55$ Prozent dilatiert.

Die Ergebnisse der Testsubstanz SWS2 an der Herzmuskulatur sind mit jenen der Testsubstanz WHG73T vergleichbar. Die Schlagfrequenz des rechten Vorhofes wurde durch die Substanz SWS2 nur gering verändert, die Kontraktionskraft des Papillarmuskels jedoch um maximal $30,44 \pm 5,36$ Prozent reduziert.

7 Literaturverzeichnis

Abe K, Kimura H (1996) The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 16:1066–1071.

Bao L, Vlcek C, Paces V, and Kraus JP (1998) Identification and tissue distribution of human cystathionine beta-synthase mRNA isoforms. *Arch Biochem Biophys* 350: 95–103.

BASF Medizinische Leitlinien bei akuten Einwirkungen von chemischen Substanzen 2010

Benavides GA, Squadrito GL, Mills RW, Patel HD, Isbell TS, Patel RP, Darley-USmar VM, Doeller JE, Kraus DW (2007) Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *PNAS* 104:17907-17908.

Chen XB, Du JB, Geng B, Jiang HF, Tang CS (2003) Inhibitory effect of hydrogen sulfide (H₂S) on cultured rat aortic smooth muscle cells. *Chin J Pathophys* 19:1009-1011.

Cheng Y, Ndisang JF, Tang G, Cao K, Wang R (2004) Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287:H2316-2323.

Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, Renga B, Orlandi S, Antonelli E et al. (2006) Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. *J Pharmacol Exp Ther* 316:325–335.

Fiorucci S, Orlandi S, Mencarelli A, Caliendo G, Santagada V, Distrutti E, Santucci L, Cirino G, Wallace JL (2007) Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis. *Br J Pharmacol* 150:996-1002.

Forth W, Henschler D, Rummel W (2009) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 10. Auflage, Elsevier München

Furchgott RF, De Gubareff T, Grossman A (1959) Release of automatic mediators in cardiac tissue by suprathreshold stimulation. *Science* 129:328-329.

Hosoki R, Matsuki N and Kimura H (1997) The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Comm* 237:527-531.

Abe K, Kimura H (1996) The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 16:1066–1071.

Li L, Bhatia M, Zhu YZ, Zhu YC, Ramnath RD, Wang ZJ, Anuar FBM, Whiteman M, Salto-Tellez M, Moore PK (2005) Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *FASEB J* 19:1196-1198.

Lim JJ, Liu YH, Khin ES, Bian JS (2008) Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 295:C1261-C1270.

Mok YY, Atan MS, Yoke Ping C, Zhong Jing W, Bhatia M, Mochhala S, Moore PK (2004) Role of hydrogen sulphide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulphide biosynthesis. *Br J Pharmacol* 143:881-889.

Moore PK, Bhatia M and Mochhala S (2003) Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future? *TRENDS in Pharmacol Sci* 24:609-611.

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Kortnig M (2008) Mutschler Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

Reiter M (1967) Die Wertbestimmung inotrop wirkender Arzneimittel am isolierten Papillarmuskel. *Arzneim Forsch* 17:1249-1253.

Smith RP, Gosselin RE (1979) Hydrogensulfide poisoning. *J Occup Med* 21:93-97.

Stevens VJ, Corrigan SA (1993) Weight Loss Intervention in Phase 1 of the Trials of Hypertension Prevention. *Arch Intern Med* 153:849-858.

Wang R (2002) Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J* 16:1792-1798.

Winder CV, Winder HO (1933) The Seat of action of Sulfide on pulmonary ventilation. *Am J Physiol* 105:337-352.

Yang G, Sun X, Wang R (2006) Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. *FASB J* 14:1782-1784.

Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, Meng Q, Mustafa AK, Mu W, Zhang S, Snyder SH, Wang R (2008) H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science* 322:587-90.

Zhao W, Wang R (2002) H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283:474-480.

Zhao W, Zhang J, Lu Y and Wang R (2001) The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J* 20:6008-6016.

Zhi L, Ang AD, Zhang H, Moore PK, Bhatia M (2007) Hydrogen sulfide induces the synthesis of proinflammatory cytokines in human monocyte cell line U937 via the ERK-NF-kappaB pathway. *J Leukoc Biol* 81:1322-32.

8 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Felix Lerch
Geburtsdatum: 16.04.1983
Geburtsort: Wien

Ausbildung:

1989 – 1993 Volksschule St. Elisabeth 1040 Wien
1993 – 2001 Akademisches Gymnasium 1010 Wien
Juni 2001 Matura mit ausgezeichnetem Erfolg

2001 – 2002 Wehrdienst
2002 – 2010 Diplomstudium Pharmazie – Universität Wien

Berufserfahrung:

2003 – 2010 Tutor am Department für Pharmakologie und Toxikologie – Universität Wien
seit 2003 Stern-Apotheke 1040 Wien