

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Bioaktivität eines neu synthetisierten Pyrazol-Derivats
(MGpy1) an isolierten Organen von Meerschweinchen“

verfasst von

Menat Fadar

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie

Betreut von: Ao.Univ.-Prof.Dr. Christian Studenik

IM NAMEN DES BARMHERZIGEN UND

GNÄDIGEN GOTTES

DANKSAGUNG UND WIDMUNG

In erster Linie möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir sowohl moralisch als auch finanziell tatkräftig zur Seite gestanden sind. Ein besonderer Dank gilt auch meiner Schwester und meinem Schwager, die beide viele Unklarheiten bezüglich des Arbeitens am Computer beseitigt haben.

Ein weiter Dank geht an meine Freunde und Kollegen die ich während meiner Studienzeit an der Universität kennengelernt habe und die mich durch die Höhen und Tiefen des Studiums begleitet haben.

An dieser Stelle möchte ich mich besonders bei Ao. Univ. Prof. Dr. Christian Studenik bedanken, der überaus freundlich und professionell war und mir dadurch ein sehr angenehmes Arbeitsklima ermöglichte.

Anschließend bedanke ich mich bei der Arbeitsgruppe des Departments für Medizinische-Pharmazeutische Chemie für die Bereitstellung der Testsubstanzen.

Inhaltsverzeichnis

1. ZIELSETZUNG	1
2. Einleitung	2
2.1. Hypertonie	2
2.2. Hypertonieformen	2
2.3. Ursachen	3
2.4. Therapeutische Maßnahmen.....	4
2.4.1. Diuretika.....	4
2.4.2. ACE-Hemmer(Konversionsenzymhemmer)	4
2.4.3. Calciumkanalblocker	5
2.4.4. Vasopeptidase-Hemmer	5
2.4.5. Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten (AT ₁ -Blocker, Sartane)	5
2.4.6. Am Sympathikus angreifende Stoffe	5
2.4.7. Nitrate (Nitro-Verbindung)	6
2.5. Hypertoniefolgen	6
3. Material und Methoden	8
3.1. Versuchstiere	8
3.2. Physiologische Elektrolytlösung	9
3.3. Präparate.....	11
3.3.1. Verwendete Materialien	11
3.3.2. Isolierung des rechten Vorhofs (Atrium cordis dexter)	12
3.3.3. Isolierung der Papillarmuskeln(Musculus papillaris)	13
3.3.4. Isolierung des Dünndarm(terminalen Ileums)	13
3.3.5. Isolierung der Aorta (Aorta descendens)	15
3.3.6. Isolierung der Lungenarterie (Arteria pulmonalis)	15
3.4. Versuchsanordnung	17
3.4.1. Versuchsassparatur A.....	18
3.4.2. Versuchsassparatur B.....	19
3.3.4. Kraftwandler, Verstärker, Reizgerät,Schreiber	21
3.5.3. Versorgung mit Oxymix.....	22
4. Versuchsablauf.....	23
4.1. Die Testsubstanz – MGpy1.....	23
4.2. Bereitung der Stammlösungen	24
4.2.1. Stammlösung der Testsubstanz	25

4.3. Versuchsablauf bei Arteria pulmonalis	26
4.4. Versuchsablauf bei Aorta	27
4.5. Versuchsablauf bei Ileum terminales.....	27
4.6. Versuchsablauf beim rechten Vorhof	28
4.7. Versuchsablauf bei Papillarmuskel	29
4.8. Statistik	30
5. Ergebnisse	31
5.1. Ergebnisse der Testsubstanz MGpy1	31
5.1.1. Wirkung von MGpy1 auf das terminale Ileum	31
5.1.2. Wirkung von MGpy1 auf die Aorta	35
5.1.3. Wirkung von MGpy1 auf die Arteria pulmonalis	38
5.1.4. Wirkung von MGpy1 auf den Papillarmuskel	42
5.1.5 Wirkung von MGpy1 auf den Vorhof	45
5.1.6. Resultate der Untersuchung mit Nitro- L-Arginin	48
6. Diskussion	52
6.1. Versuchsreihen am quergestreiften Herzmuskel	52
6.2. Versuchsreihen an glattmuskulären Organen	53
6.3. Versuchsreihen mit MGpy1 in Kombination mit Nitro-L-Arginin	54
6.3.1. Versuch mit MGpy1 in Kombination mit 100 µl Nitro-L-Arginin.....	54
7. Zusammenfassung	55
8. Literaturverzeichnis	56
9. Curriculum Vitae	58

1. ZIELSETZUNG

Die Aufgabenstellung dieser Diplomarbeit war es die Wirkung des neu synthetisierten Wirkstoffs MGpy1, auf isolierte Meerschweinchenorgane zu testen.

Diese Substanz wurde am Department für Medizinische/ Pharmazeutische Chemie der Universität Wien entwickelt.

Es wurden fünf verschiedene Organe für die Untersuchung verwendet. Dabei handelte es sich um Artium dexter, Musculus papillaris, Aorta descendens, Arterie pulmonalis und terminales Ileum.

Ein Veränderung der Chronotropie zu (Schlagfrequenz), als auch der Inotropie (Schlagkraft) wurde an der quergestreiften Muskulatur gemessen.

Zusätzlich wurde eine dilatierende bzw. spasmolytische Wirkung an der glatten Muskulatur untersucht.

Um auswertbare und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten musste zu Beginn die richtige Präpariertechnik und die richtige Einstellung der Messgeräte erlernt werden.

Bei Erreichen einer signifikanten Wirkung wurden zusätzliche Versuche vorgenommen. Der eigentliche Wirkmechanismus wurde mithilfe des Nitro-L-Arginins am terminalen Ileum untersucht.

2. Einleitung

2.1. Hypertonie

Hypertonie ist die Steigerung des arteriellen Blutdrucks. Der arterielle Blutdruck ist ein diskontinuierlicher Blutausschuss in die Aorta, der sowohl zu einer Volumenänderung als auch zu einer Druckschwankung führt, die sich als Druckpulsquelle über das arterielle Gefäßsystem fortpflanzt.

Die Druckänderung ermöglicht die Bestimmung der arteriellen Blutdruckwerte, die besonders wichtige Kreislaufparameter darstellen. Das Maximum der Druckpulskurve während der Systole wird als Systolischer Blutdruck, das Minimum während der Diastole als Diastolischer Blutdruck. Die Differenz zwischen diastolischem und systolischem Druck wird als Blutdruckamplitude bezeichnet.

Der Systolische Druck gemessen am Oberarm- beträgt beim gesunden Erwachsenen 110-130 mm Hg, der diastolische Druck 70-85 mm Hg (Mutschler et al. 2008).

2.2. Hypertonieformen

Nach klinischen und organpathogenetischen Gesichtspunkten werden folgende Hypertonieformen unterschieden:

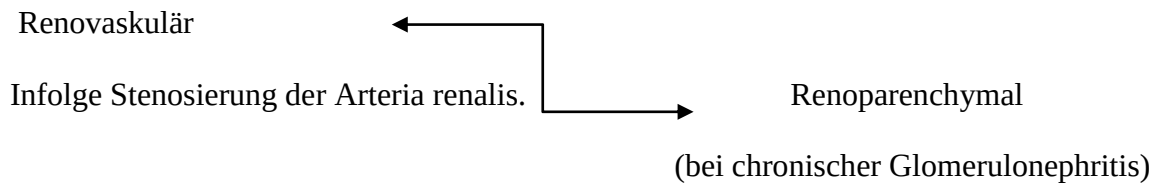
A. Primäre Hypertonie (idiopathische bzw. Hypertonie):

mit unbekannter Ursache

B. Sekundäre Hypertonie :

als Folge pathologischer Organveränderungen

1.renal :



2.endokin :

Bei Cushing- Syndrom, Conn-Syndrom , Akromegalie, Hyperthyreose.

3.kardiovaskulär:

Bei Aortensklerose, totalem Herzblock, hyperkinetischem Herzsyndrom.

4. neurogen :

Infolge organischer Erkrankungen des Nervensystems (z.B. Tumoren, Meningitis, Enzephalitis) (Mutschler et al. 2008).

2.3.Ursachen

Die Ursache und die Entstehung der zahlenmäßig bedeutsamsten Hypertonieformen, der essentiellen oder genuinen Hypertonie, sind noch weitgehend unbekannt. Eine Vielzahl von auslösenden Faktoren wird diskutiert, z.B. familiäre Belastung, Bewegungsarmut, häufige Stress-Situationen, Überernährung.

Der familiären Belastung liegt möglicherweise ein genetischer Defekt zugrunde, der eine verminderte Ausscheidung von Natriumionen durch die Niere zur Folge hat. Um dem entgegenzuwirken, wird aus dem Hypothalamus das sog. natriuretische Hormon freigesetzt, das durch Hemmung der renalen Na^+/K^+ -ATPase die Natriumionenausscheidung und die extrazelluläre Natriumionenbilanz normalisiert.

Weiterhin ist eine Veränderung zentralnervöser Funktionen, insbesondere ein erhöhter Sympathikustonus, für die Entwicklung und Aufrechterhaltung der essentiellen Hypertonie bedeutsam. Außerdem wird eine verminderte Bildung körpereigener vasodilatierender Substanzen mit der Hochdruckpathogenese in Verbindung gebracht.

Bei Übergewichtigen entwickelt sich signifikant häufiger eine Hypertonie als bei Normalgewichtigen, besonders wenn eine Insulinresistenz und dadurch bedingt eine Hyperinsulinämie vorliegt (Mutschler et al. 2008).

2.4. Therapeutische Maßnahmen

Mittel der ersten Wahl sind derzeit β -Adrenozeptorenblocker, ACE-Hemmer, Diuretika, Calciumantagonisten und Nitrate.

Zusätzlich kann man auch Maßnahmen wie Einschränkung der Kochsalzzufuhr, Gewichtsreduktion bei Übergewichtigen, Einstellen des Rauchens, und Senkung des Alkoholkonsums auf <30g/Tag vornehmen (Mutschler et al. 2008).

2.4.1. Diuretika

Diuretika werden bei älteren Hypertonikern als Monotherapeutika indiziert. Sie könnten auch mit Thiaziden kombiniert werden.

Die initiale Blutdrucksenkung ist die Folge der gesteigerten Natriumionenausscheidung. Durch die Erniedrigung der Natriumionenkonzentration sinkt das Plasma- und Herzzeitvolumen, der periphere Widerstand nimmt dagegen etwas zu (Mutschler et al. 2008).

2.4.2. ACE-Hemmer (Konversionsenzymhemmer)

Hier handelt es sich um Antihypertensiva, deren Wirkung vorwiegend auf einer Hemmung des Angiotensin-Konversions-Enzyms beruht, das Angiotensin I in Angiotensin II überführt.

Dadurch wird die Bildung von Angiotensin II (einer der stärksten blutdrucksteigernden Substanzen) unterdrückt, und als Folge davon der periphere Widerstand gesenkt.

Nebenwirkung von ACE-Hemmer sind vor allem Reizhusten, Geschmacksstörung, Kopfschmerzen und Übelkeit. Es besteht auch die Gefahr eines akuten Nierenversagens (Mutschler et al. 2008).

2.4.3. Calciumkanalblocker

Da wird der Einstrom von Calciumionen durch die sog. langsamen spannungsabhängigen Calciumkanäle in die Muskelzellen gehemmt, es kommt zur Vasodilation und in der Folge zur Blutdrucksenkung.

Calciumkanalblocker sind bei älteren Patienten besonders gut wirksam (Mutschler et al. 2008).

2.4.4. Vasopeptidase-Hemmer

Das ist eine neue Wirkstoffgruppe, sie hemmt neben das Angiotensin-Konversions-Enzym die neutrale Endopeptidase.

Da alle natriuretischen Peptide stark vasodilatierend wirken, wird durch Blockade ihres Abbaus der Blutdruck gesenkt (Mutschler et al. 2008).

2.4.5. Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten (AT₁-Blocker, Sartane)

Da werden selektiv AT₁-Rezeptoren blockiert, diese Gruppe der Antihypertensiva ist bei essentieller Hypertonie indiziert. Zusätzlich sind Sartane auch zur Behandlung der Herzinsuffizienz in Kombination mit Diuretika und Herzglykosiden zugelassen (Mutschler et al. 2008).

2.4.6. Am Sympathikus angreifende Stoffe

1. α -Adrenozeptorenblocker :

der blutdrucksenkende Effekt beruht auf der Vasodilation infolge der Blockade von α -Rezeptoren.

2. β -Adrenozeptorenblocker :

sind sehr gut verträglich, und werden laut Studienergebnisse und sehr häufig eingesetzt.

3. Antisymphotonika :

α_2 -Sympathomimetika werden allein oder in Kombination mit anderen blutdrucksenkenden eingesetzt (Mutschler et al. 2008).

2.4.7.Nitrate (Nitro-Verbindung)

Durch Angriff an der Venenmuskulatur führen sie zu einer Venenerweiterung und damit zu einer vermehrten Blutaufnahme im venösen Teil des Gefäßsystems. Als Folge davon wird die diastolische Wandspannung erniedrigt und die systolische Wandspannung nehmen ab.

Nitrat werden im Organismus durch reduzierende Biotransformation in Stickstoffmonoxid (NO) überführt. NO stimuliert die cytosolische Guanylatcylase welche die Bildung von cGMP aus Guanosintriphsphat katalysiert CGMP bewirkt wiederum eine Abnahme der interzellulären Calciumionen -Konzentration und dadurch eine Erniedrigung des Gefäßtonus,zusätzlich werden Thrombozytenadhäsion- und aggregation herabgesetzt.

Die Nebenwirkung sind weitgehend die Folge der gefäßerweiternden Wirkung, wie zum Beispiel: Kopfschmerzen, Schwächegefühl und Übelkeit. Eine höhere Dosierung kann sogar zu einem stärkeren Blutdruckabfall führen (Mutschler et al. 2008).

2.5.Hypertoniefolgen

Ein länger andauernder erhöhter Gefäßwiderstand führt durch Freisetzung von Wachstumsfaktoren,wie PDGF zu einer Intima- und Mediaverdickung und damit zu einer zusätzlichen Widerstandserhöhung (Circulus vitiosus). Hypertonie ist ferner eine der wichtigsten Ursachen der Arteriosklerose.

Arteriosklerose kann wiederum einer der wichtigsten Risikofaktoren für Koronare Herzerkrankungen sein. Mit diesem Begriff wird eine chronische Erkrankung der Herzkranzgefäße bezeichnet. Die Verkalkung der Gefäße beeinträchtigt dann in der Folge die Durchblutung und damit die Sauerstoffversorgung der Herzmuskulatur.

Ein Leitsymptom dieser Erkrankung ist Angina pectoris. Mit zunehmendem Fortschreiten der Erkrankung erhöht sich dann auch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Herzrhythmusstörungen, Herzinsuffizienz oder sogar plötzlichem Herztod (Mutschler et al. 2008).

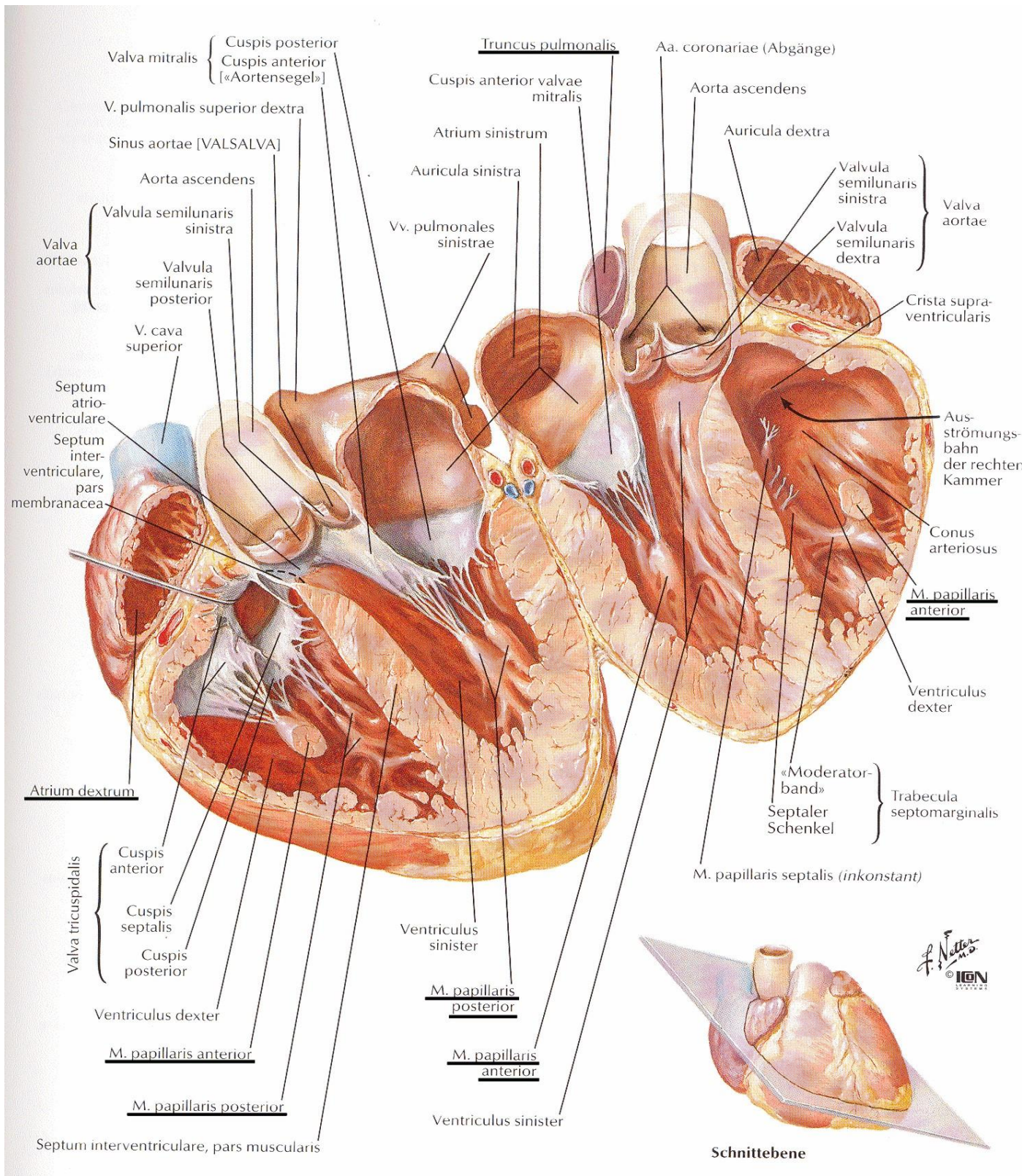


Abbildung 1: Anatomie des Herzens

3.Material und Methoden

3.1.Versuchstiere

Für die Versuche wurden isolierte Organe weiblicher und männlicher Meeresschweinchen (HIM-DH) aus Auszuchtstämmen der Gattung TRIK, mit einem Körpergewicht von 250-600g und einem Alter von 4-6 Wochen herangezogen.

Die Versuchstiere wurden im nüchternen Zustand – dadurch wurde ein Ruhetonus der glatten Muskulatur des terminalen Ileums bezweckt- durch einen Genickschlag an der Tischkante getötet. In Folge dessen kam es unverzüglich zu einem schmerzlosen Tod.

Anschließend erfolgte eine rasche Explantation des Herzens, seiner Gefäße und des Darms. Das isolierte Herz wurde unmittelbar danach in eine zuvor bereitgestellte physiologische Nährlösung transferiert. Dadurch wurden Hypoxie und Koagulation des Blutes verhindert.

In einem weiteren Schritt wurde das Abdomen mit einer Schere geöffnet. Nachdem das Caecum identifiziert wurde, wurden vorsichtig und ohne Ausübung von Traktion und Kompression ca.10 cm des terminalen Ileums entnommen. Am Ende wurde mit einem Bindefaden markiert und ebenfalls bis zur weiteren Präparation in physiologischer Nährlösung aufbewahrt.

Die Präparation von Papillarmuskel und Arteria pulmonalis erfolgte unter dem Mikroskop.

Danach wurden alle isolierten Organe bis zum Versuchsbeginn in einer mit Oxymix (95% Sauerstoff, 5% Kohlendioxid) perfundierten Nährlösung (Tyrode) aufbewahrt.

3.2. Physiologische Elektrolytlösung

Die physiologische Elektrolytlösung (Tyrode) wurde, zur Aufbewahrung der Organe vor beziehungsweise während und nach der Präparation benutzt. Die Tyrode-Lösung wurde nach dem Pharmakologen Maurice Vejux Tyrode benannt. Sie stellt eine modifizierte Lösung von Krebs-Henseleit-Lösung dar, die nach der Vorschrift von Reiter (1967) hergestellt wurde.

Substanz	Stocklösung	ml Stocklösung/l Tyrode	mmol/l
NaCl	1000,25g/5l	33,60ml	114,90mmol/l
KCl	50,33g/5l	35,00ml	4,73mmol/l
NaHCO ₃	125,00g/5l	83,70ml	24,90mmol/l
CaCl ₂	147,02g/5l	3,2ml	3,20mmol/l
MgSO ₄	62,00g/250ml	1,18ml	1,18mmol/l
KH ₂ PO ₄	34,00g/250ml	1,18ml	1,18mmol/l
Glucose	Reinsubstanz	1,98g	10,00mmol/l

Tabelle 1: Zusammensetzung der Physiologischen Elektrolytlösung (Tyrode)

Substanz	Stocklösung
NaCl	67,2ml
KCl	70ml
NaHCO ₃	167,4ml
MgSO ₄	2,36ml
KH ₂ PO ₄	2,36ml
CaCl ₂	6,4ml
Glucose	3,96 g

Tabelle 2: Umgerechnet für 2 Liter ergibt sich folgende Zusammensetzung

Diese 2- Liter Tyrode wurde jeden Morgen frisch hergestellt, um erfolgreiche Versuche durchführen zu können.

Die aufgelisteten Bestandteile von Tabelle 2 wurden aus den jeweiligen Stammlösungen zusammengefügt und auf ca. 1500ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Nach 20 minütiger Begasung, um eine optimale Gassättigung zu erreichen, wurde tropfenweise CaCl₂ dazugegeben. Zum Abschluss wurde die Tyrode bis zur 2000ml- Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Gemeinsam mit einem Gasgemisch aus 95% Sauerstoff und 5 % Kohlenstoffdioxid, das Oxy mix oder Carbogen-Gemisch genannt wird , welches durch einen Gasschlauch direkt in

die Tyrode eingeführt wurde , diente die gesättigte Lösung neben der ausreichenden Versorgung von Sauerstoff auch zur Aufrechterhaltung des physiologischen pH-Wertes. Somit wurden optimale physiologische Bedingungen für die isolierten Organe geschaffen.

3.3. Präparate

3.3.1 Verwendete Materialien

Die isolierten Organe wurden in eine mit Tyrode befüllten Petrischale gelegt, um die Präparate zu schonen. Die Petrischale wurde zuerst mit einer Korkplatte ausgelegt, welche durch einen kurzen Gummischlauch befestigt wurde, um das Fixieren der Organe mit Hilfe von Präpariernadeln zu ermöglichen.

Zusätzlich kamen diverse Pinzetten, Federgriffscheren, Pipetten und OP-Scheren zur Anwendung.

Für eine präzise Arbeit stand ein Auflichtmikroskop zur Verfügung.



Abbildung2: Arbeitsplatz

3.3.2 Isolierung des rechten Vorhofs (Atrium cordis dexter)

Nach der Entfernung des Perikards wurde das Herz an Basis und Spitze mittels Präpariernadeln fixiert. Der Grund, weshalb der rechte und nicht der linke Vorhof verwendet wurde ist, dass der Rechte spontan aktiv schlägt. Der rechte Vorhof wurde entlang des Sulcus coronarius von den Ventrikeln abgesetzt, wobei der Sinusknoten unverletzt bleiben sollte. Der Sinusknoten selbst befindet sich in der Nähe der Einmündung der Vena cava superior. Da aber die genaue Lage unter dem Mikroskop nicht zu erkennen war, musste man bei der Entfernung des Fettes in Sinusknotennähe darauf achten um das zarte Gewebe nicht zu verletzen.

Am rechten Herzohr (am Übergang des rechten und linken Vorhofs und an der gegenüberliegenden Stelle) wurde ein Häkchen aus Silberdraht angebracht, um das Präparat in die Versuchsapparatur einspannen zu können. Für den Versuch wurde die Apparatur mit 25 ml physiologischer Nährlösung gefüllt und anschließend begast.



Abbildung 3 : Versuchsapparatur mit fertig isoliertem und eingespanntem Vorhof

3.3.3. Isolierung der Papillarmuskeln(Musculus papillaris)

Der Musculus papillaris war das dritte aus dem Herz stammende Präparat. Der rechte Ventrikel wurde von der Arteria pulmonalis entlang des Septums bis zur Herzspitze geöffnet und anschließend aufgeklappt. Da im Herzen meist noch viel Blut vorhanden war, musste man, um im Auflichtmikroskop klare Sicht zu erhalten, mehrmals die Tyrode wechseln und dann wurden Präpariernadeln angebracht. Da die vorhandenen Purkinjefasern durch ihre Spontanaktivität den Versuchsablauf beeinflussen würden, wurden diese entfernt.

Die Silberdrahthäkchen wurden samt einem Bindefaden am Ansatz der Muskelsehne angebracht, dann die Sehne durchtrennt und mit großer Vorsicht der Muskel herausgeschnitten.

Aufbewahrt wurden die Präparate, in der begasten Tyrode.

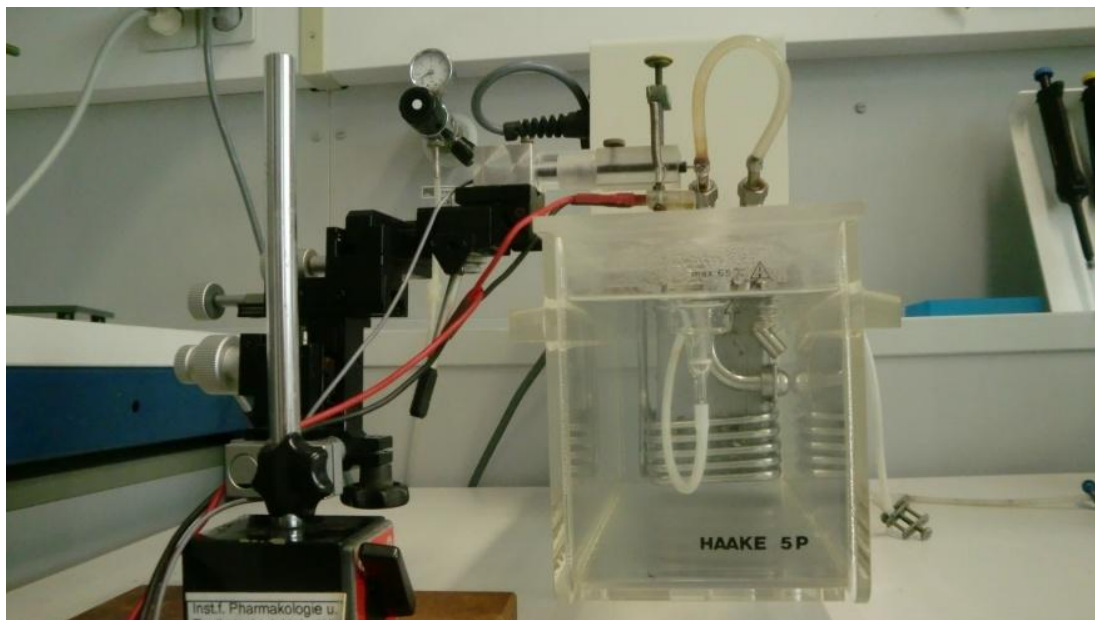


Abbildung 4: Apparatur mit eingespanntem Papillarmuskel

3.3.4. Isolierung des Dünndarm(terminalen Ileums)

Anatomisch wird der Darm in den folgenden drei Abschnitten gegliedert: Duodenum (Zwölffingerdarm), Jejunum (Leerdarm) und Ileum (Dünndarm). In unseren Versuchen wurde das terminale Ileum verwendet.

Nach der Isolierung des Herzens wurde ein ca. 0,5-1 cm langes Stück vom Darm abgeschnitten, und in einer mit Kork ausgelegten und mit Nährlösung gefüllten Petrischale mit Präpariernadeln fixiert. Wichtig dabei war es, das Darmstück bei der Fixierung nicht zu

überdehnen. Gegebenenfalls musste manchmal auch der Darm mittels Pasteurpipette durchspült werden, um es vom Chymus zu reinigen. An die beiden Enden des Ileumstücks wurden je ein Drahthäkchen mit Bindefaden angebracht, wobei man darauf Acht geben sollte, dass die Darmöffnung an beiden Enden frei lag, also unverschlossen, um das Einwirken der Testsubstanz von allen Seiten der Schleimhaut zu gewährleisten.

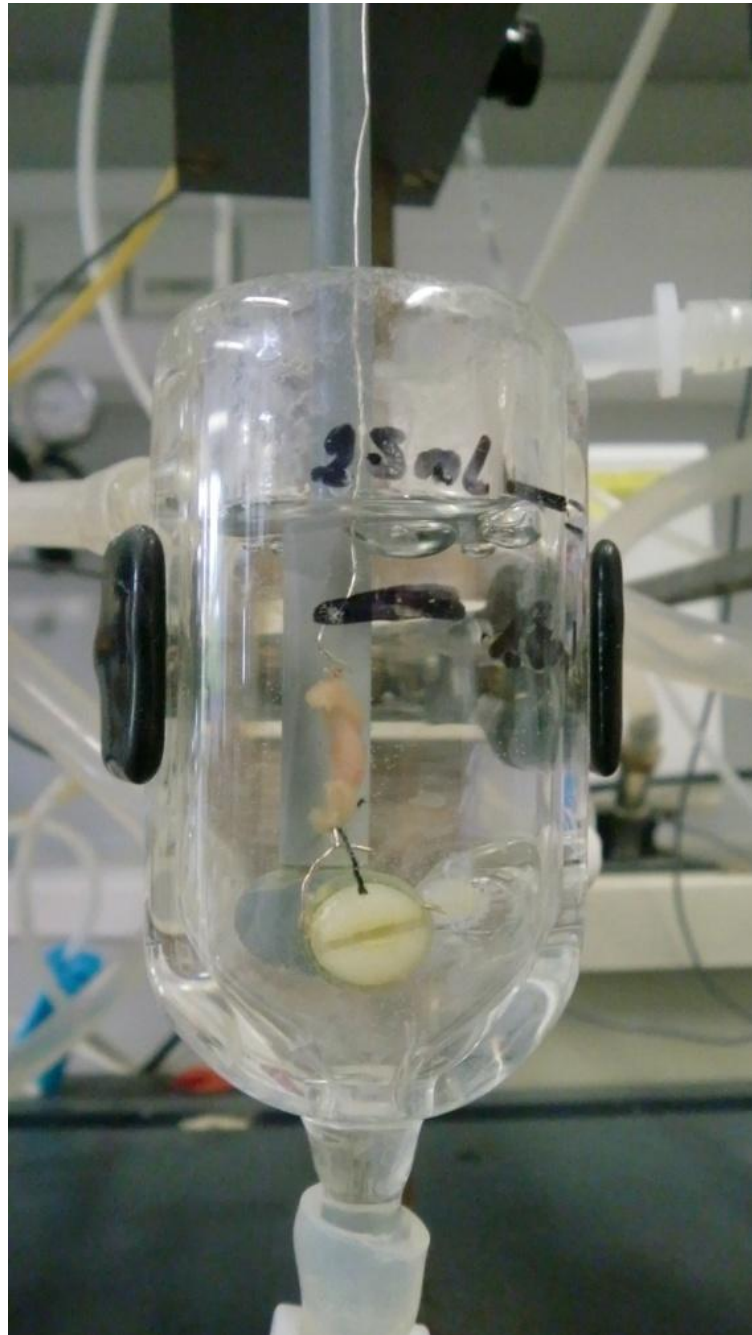


Abbildung 5: Versuchsanordnung mit fertig präpariertem Ileum

3.3.5. Isolierung der Aorta (Aorta descendens)

Nach der Explantation des Herzens wurde entlang der Wirbelsäule ein 2- 3 cm langes Stück der thorakalen Aorta mittels Schere und Pinzette entnommen und anschließend in einem mit Tyrode gefülltem Becherglas aufbewahrt.

Für die weitere Präparation wurde die Aorta in eine mit physiologischer Nährlösung gefüllten Petrischale übertragen und mit Präpariernadeln fixiert. Danach wurden Muskel – und Fettgewebe vorsichtig entfernt, ohne dabei die Aorta zu verletzen. Anschließend wurde die Aorta in 2- 3 mm große ringförmige Stücke geteilt. Die fertig präparierten Aortastücke mussten dann sofort in einem Becherglas mit Tyrode unter Sauerstoffzufuhr bis zum Versuchsbeginn aufbewahrt werden.



Abbildung 6 : 2-3 mm große Aortenringe

3.3.6. Isolierung der Lungenarterie (Arteria pulmonalis)

Verwendet wurde der Lungenstamm, das ist jener Teil der aus der rechten Herzkammer entspringt.

Das Perikarp sowie Teile der Lunge und Fettreste wurden unter dem Mikroskop mit Hilfe einer Federschere entfernt. Die Arteria pulmonalis wurde so nahe wie möglich am Herzen entnommen. Für den Versuch wird das vom Herzen wegführende 5- 10 mm lange Stück verwendet. Das Präparat wurde dann in der Folge wieder in einer Petrischale mittels Präpariernadeln fixiert, um das anhaftende Muskel – und Fettgewebe zu entfernen. Schließlich wurden 2-3 mm breite ringförmige Stücke von der Arteria pulmonalis

abgeschnitten. Dann wurden die Stücke in einem Becherglas, gefüllt mit Tyrode unter ständiger Begasung aufbewahrt.

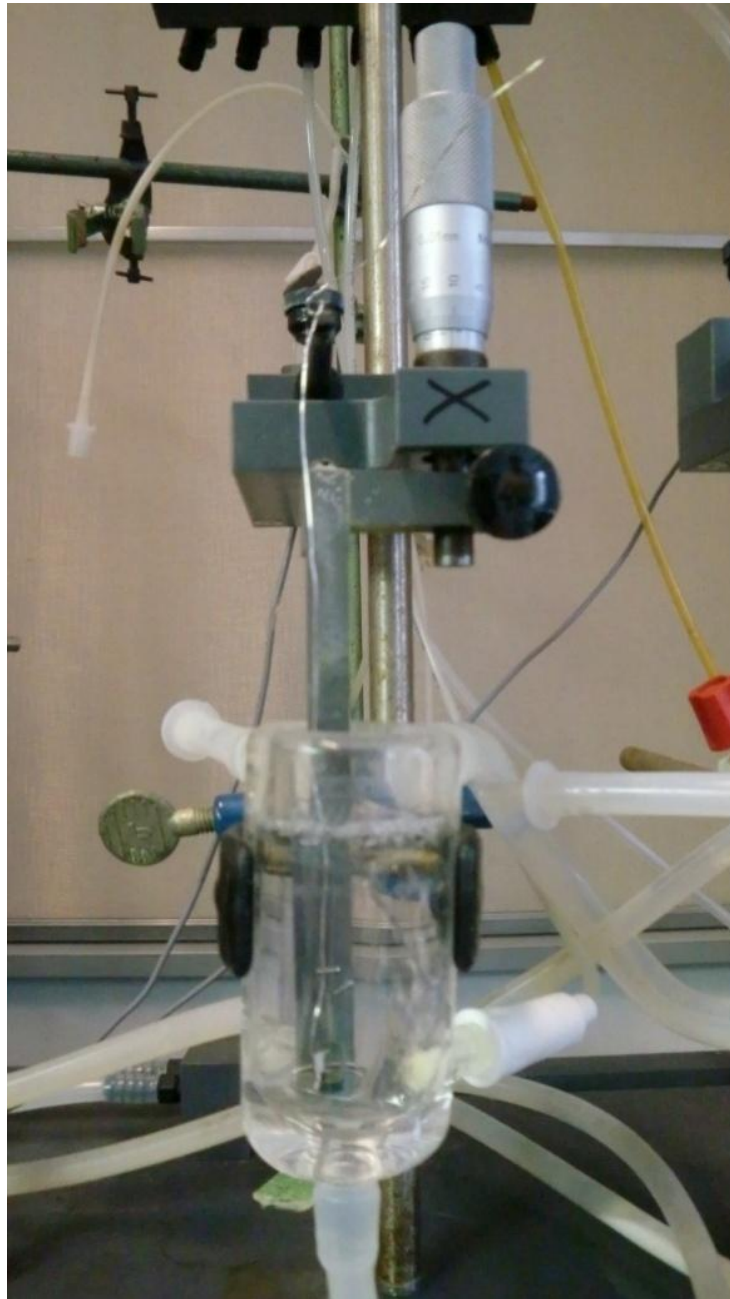


Abbildung 7: eingespannte Arteria pulmonalis

3.4. Versuchsanordnung

Für den Erfolg und die Sicherung der Versuche wurden den isolierten Organen sehr gute physiologische Umstände geschaffen und zwar bezüglich des pH-Wertes, der Sauerstoffversorgung und der Temperatur.

Für die Durchführung der Versuche wurden zwei Apparaturen verwendet (A und B).Apparatur A wurde für Papillarmuskel verwendet, während Apparatur B für die Versuche an den restlichen Organen herangezogen wurde.

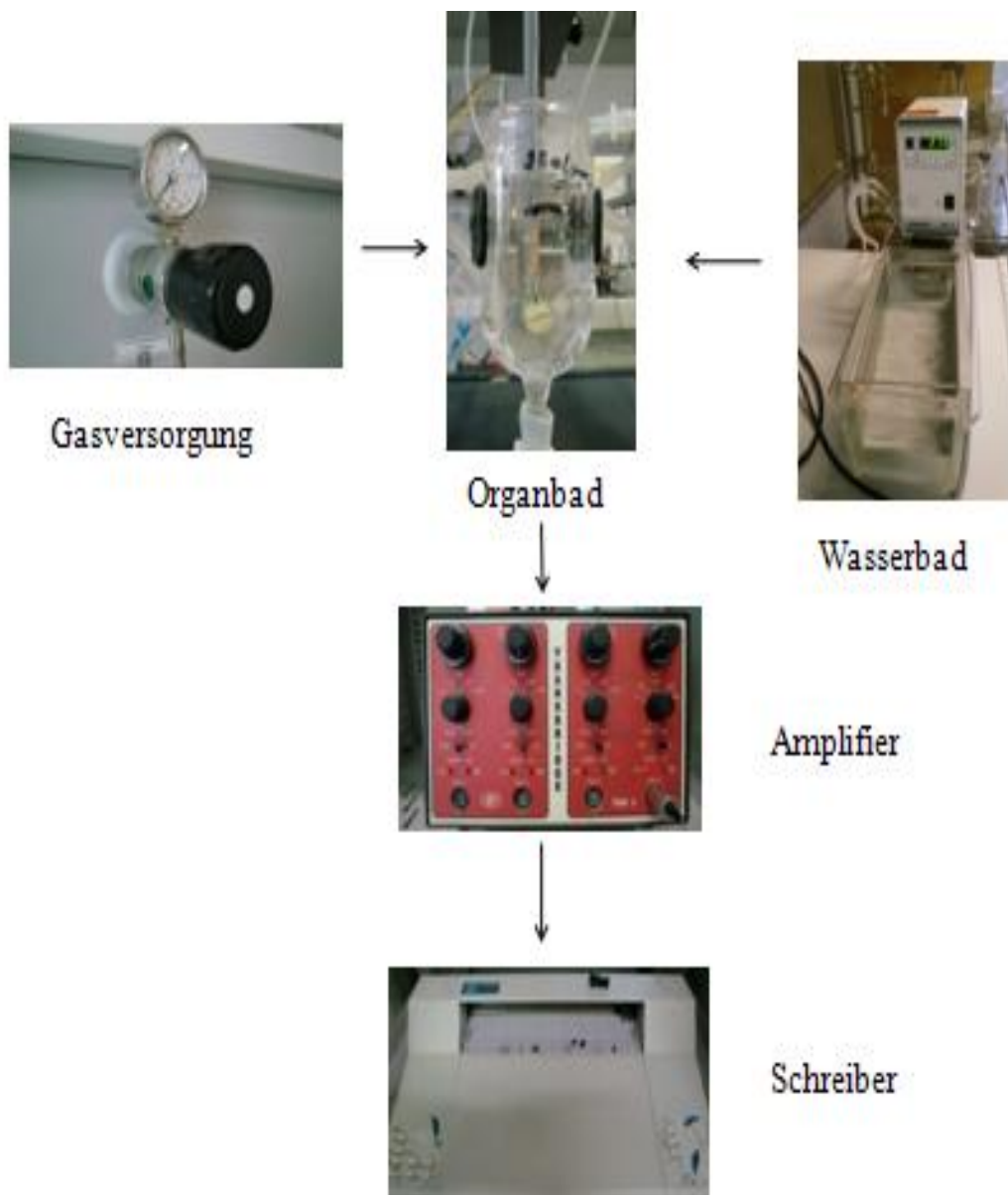


Abbildung 8: Aufbau der Apparaturen

3.4.1. Versuchsapparatur A

Die Apparatur A besteht aus einem Wasserbad, dessen Temperatur mittels einer Heizspirale und eines Thermostats kontrolliert wird. Für die Versuche musste die Temperatur des Wasserbads bei ungefähr 35 Grad Celsius liegen.

Mithilfe einer Kunststoffspritze wurde das Organbad gereinigt, was bedeutet, dass die Nährlösung des Bades ausgetauscht worden ist.

Die Organhalterung aus Kunststoff war auf einem Stativ mit einem Stativschlitten befestigt.

Das eigentliche Messinstrument war der „Kraftwandler“, der sich auch am Stativ befand. (siehe Abbildung 8)

Für die Durchführung des Versuches wurde der isolierte Papillarmuskel mit dem davor angebrachten Silberhäkchen an einen Silberdraht gehängt. Der Draht war die Verbindung zum Kraftwandler. Das freie Ende wurde danach durch ein kleines Metallplättchen mit einer Silber-Silberchloriddraht-Kathode verbunden und zwar durch einen Schraubmechanismus. Bei diesem Schritt war es sehr wichtig schnell zu arbeiten, dass bei einer Minderversorgung mit Sauerstoff die Organe absterben würden.

Dazu musste noch darauf geachtet werden, dass der Papillarmuskel beim Einspannen nicht überdehnt wurde, da sonst die Resultate verfälscht werden konnten.

Danach konnte die ganze Apparatur ins Organbad abgelassen werden. Hierbei musste man darauf schauen, dass das gesamte Organ in die Nährlösung eingetaucht wurde.

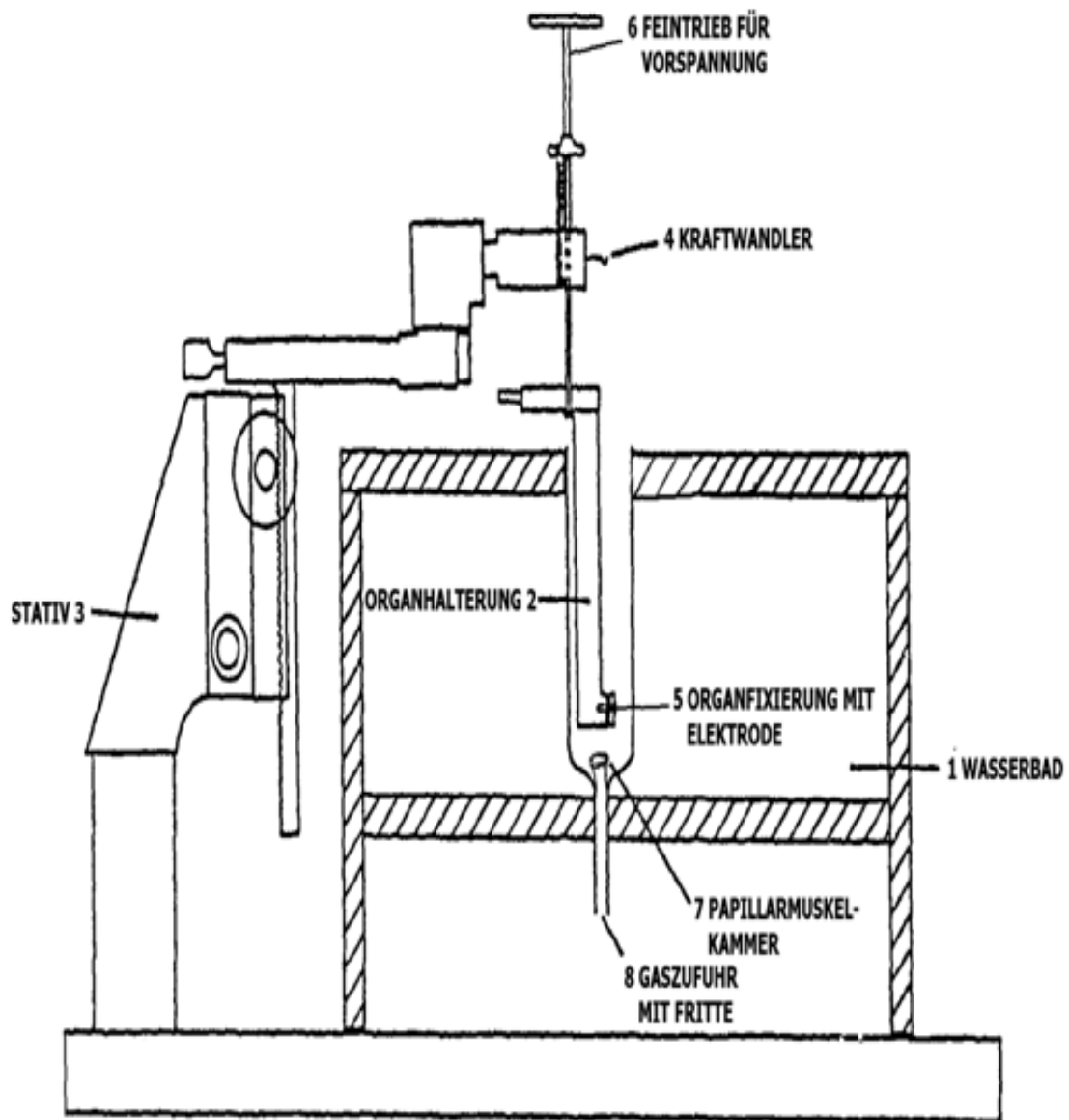


Abbildung 9: Versuchsapparatur A schematisch

3.4.2. Versuchsapparatur B

Diese Apparatur besteht auch aus einem Organbad, welches aus einem doppelwandigen Glaskörper besteht. Der Glaskörper dient der Temperaturregulation. Die Versuchsapparatur B unterscheidet sich außerdem durch die Fixierungsmöglichkeit des Organs an der Organhalterung. Zur Befestigung wurden zwei Silberdrähte verwendet. Ein Draht befand sich am Steg und ein zweiter an der Aufhängevorrichtung des Kraftwandlers.

Zur Reinigung des Organbades, bzw. zum Ablassen der Nährlösung befand sich am Boden des Glaskörpers ein Abwasserschlauch.

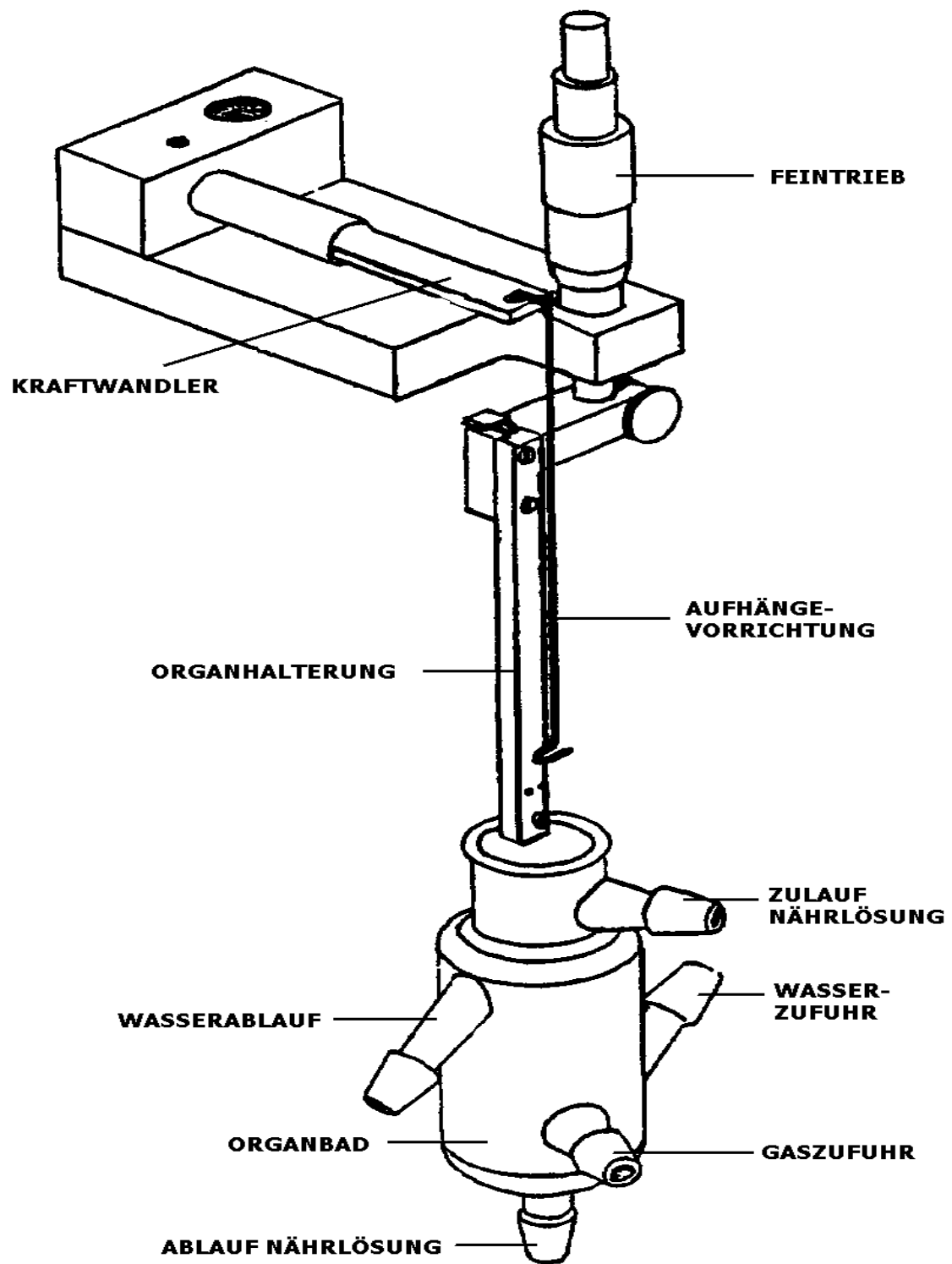


Abbildung 10: Apparatur

3.3.4. Kraftwandler, Verstärker, Reizgerät, Schreiber

Der Kraftwandler (Transducer), welcher durch Gewichte geeicht ist, ermöglicht die Umwandlung mechanischer Kontraktion in elektrische Impulse. Dies war nötig, weil ja Inotropie eine rein mechanische Größe ist und als solche so nicht aufgezeichnet werden konnte. Der Transducer bestand aus einem Dehnungsstreifen, der bei Dehnung seinen Widerstand änderte. Beruhend auf dem Ohm'schen Gesetz ($I = U/R$), ändert sich bei gleichbleibender Spannung die Stromstärke proportional zum Widerstand.

Mithilfe des Verstärkers, auch Amplifier (4-Channel Transducer Amplifier; World Precisions Instruments, USA) genannt, wurde das elektrische Signal verstärkt.

Das sogenannte Reizgerät Accupulser A 310 (World Precision Instruments, Hamden, USA) war deshalb von Bedeutung, da der Papillarmuskel im Vergleich zum Vorhof keine Spontanaktivität aufweist, und deshalb durch elektrische Reize zur Kontraktion angeregt werden musste. Das isolierte Organ wurde mit Rechteckimpulsen für 3 ms bei Frequenz von 1 Hz gereizt. Um die richtige Reizstärke herauszufinden, wurde sie so lange erhöht, bis das eingespannte Präparat anfang eine Kontraktion zu zeigen. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten musste der Muskel eine Kontraktion pro Sekunde durchführen.

Den letzten Schritt im Versuchsablauf, stellt der Schreiber (Flatbed Recorder BD- 112 Dual Channel; Firma Kipp & Zonen, NL) dar, hierbei wurde das verstärkte Signal in Form von Kurven auf Millimeterpapier aufgezeichnet.

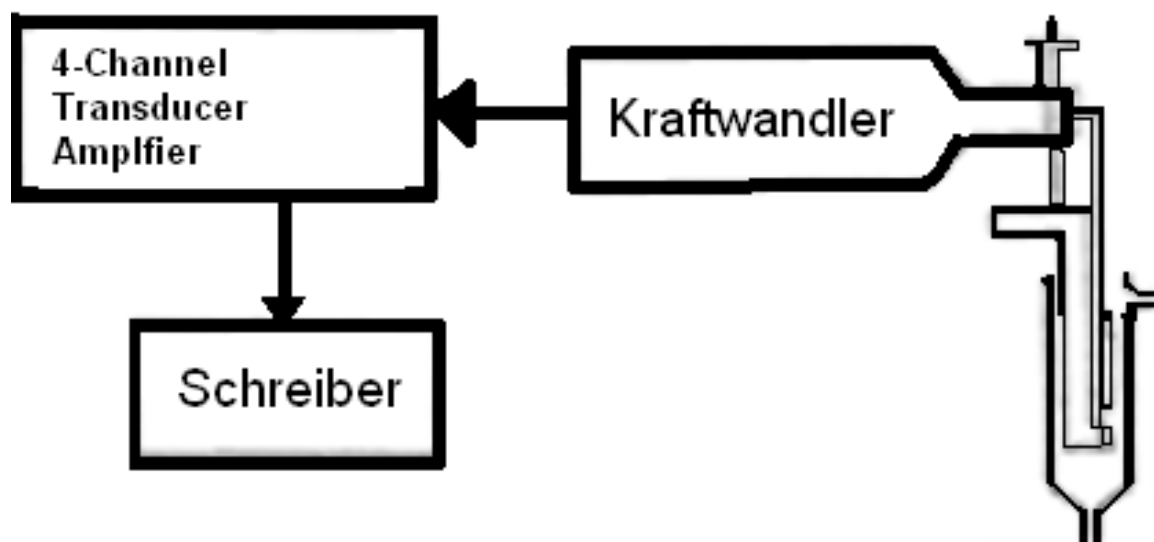


Abbildung 11: Kraftwandlers

3.5.3. Versorgung mit Oxymix

Die Gasversorgung der Apparaturen wurde anhand einer Gasflasche gewährleistet. Die einzelnen Ventile sind mittels Schläuche mit den Geräten verbunden. Diese Verbindungsschläuche mündeten in einer Fritte, um eine feine Gasverteilung in der Nährlösung zu gewährleisten. Die Gaszufuhr selbst wurde mittels Schraubklemmen, welche sich den Schläuchen befand, reguliert.

Bei dem verwendeten Gas, handelte es sich um ein Gasgemisch, zusammengesetzt aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid. Das Gas wird auch Oxymix genannt. Während des gesamten Versuches musste man darauf achten, dass die Gasversorgung gewährleistet war, denn sie diente:

- der ausreichenden Sauerstoffversorgung der isolierten Organe
- der Aufrechterhaltung des physiologischen pH- Werts (7,2-7,4) im Organbad
- und der homogenen Verteilung der Testsubstanz in der Tyrode



Abbildung 12: Gashahn

4. Versuchsablauf

Dieses Kapitel beschreibt die Versuchsabläufe dieser Diplomarbeit.

Am Vortag war es immer wichtig nach dem Beenden der Versuche bzw. nach jedem durchgeführten Versuch die Apparaturen zu reinigen. Dazu wurde zunächst eine 2% -ige Salzsäurelösung verwendet, um auskristallisierte Salze der Nährlösung zu entfernen. Danach wurde die Apparatur zweimal mit Aqua bidestillata gründlich durchgespült. Am Anfang eines Versuchstages wurde dann noch einmal mit frisch hergestellter Tyrodelösung und mit Aqua bidestillata gespült.

Das Organbad wurde mit der entsprechenden Menge an modifizierten Krebs-Henseleidlösung befüllt-abhängig von der Größe des Organbades entweder mit 8 oder 25 ml. Die Gaszufuhr wurde mithilfe einer Schraube geregelt.

Die Testsubstanz wurde anschließend in folgenden Konzentrationsstufen 3; 10;30; 100 $\mu\text{mol/l}$ kumulativ hinzugefügt.

4.1. Die Testsubstanz – MGpy1

Die Substanz MGpy1 wurde von der Fakultät Lebenswissenschaften der Universität Wien Department für Medizinische / Pharmazeutische Chemie hergestellt.

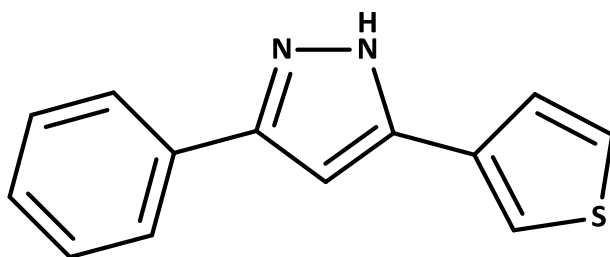


Abbildung 13a: 3-Phenyl-5-(3-thienyl)-1H-pyrazol. MG:226,30g/mol

Im zweiten Teil der Diplomarbeit sollte der Wirkmechanismus von MGpy1 mit Hilfe von Nitro-L-Arginin untersucht werden.

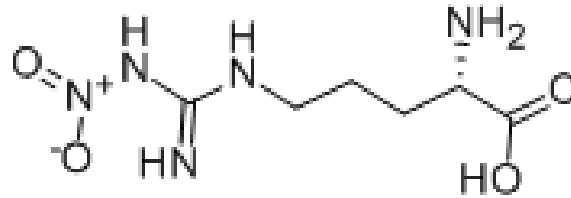


Abbildung 13b: Nitro-L-Arginin, MG:219.20g/mol

Nitro-L-Arginin ist ein Nitroderivat der Aminosäure Arginin. Es ist ein Inhibitor der Stickstoffmonoxid Oxidase und daher ein Vaso- und Koronarkonstriktor.

NO wird von dem Endothel freigesetzt und es wirkt relaxierend auf die Gefäßmuskulatur.

Stickstoffmonoxid aktiviert die Bildung vom cytosolischen Guanosinmonophosphat über die cytosolische Guanylatcyclase es kommt zum Absinken des Ca- Spiegels, was wiederum eine Relaxierung der Gefäße verursacht.

Wenn nun die NO- Synthese durch Stickstoffmonoxid inhibiert wird, sinkt die NO-Konzentration und dabei wird die ganze Kaskade, über die Guanylatcyclase gestoppt.

Anhand der durchgeführten Versuche konnte somit nachgewiesen werden, dass die Kontraktilität des Darms mit dem Zusetzen von Nitro-L-Arginin gesteigert wird.

4.2. Bereitung der Stammlösungen

Die Untersuchungssubstanz ist unlöslich in Wasser, deswegen wurde sie in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. DMSO ist ein organisches Lösungsmittel, es dient in pharmazeutischen Zubereitungen einerseits als Lösungsmittel und andererseits der Verbesserung der topischen Resorption. Weiter hin es wirkt als lokalanästhetisch, schwach fungistatisch und bakteriostatisch.

Da es auch eine gewisse Wirkung an den isolierten Organen besaß, welche die Versuchsergebnisse beeinträchtigen könnte, wurde das bei der Ergebnisauswertung berücksichtigt.

Der rechte Vorhof bildete eine Ausnahme, da hier nämlich die Eigenwirkung von DMSO keine Auswirkung auf die Schlagfrequenz hatte. Somit konnte die Wirkung des organischen Lösungsmittels ohne Bedenken ignoriert werden.

Um die Eigenwirkung von DMSO bestimmen zu können, mussten Versuchsreihen erstellt werden, mit DMSO als Wirkstoff. Die gemessenen DMSO- Werte wurden schließlich als gemittelte Prozentsätze bei dem jeweiligen Organ entweder addiert oder subtrahiert.

4.2.1. Stammlösung der Testsubstanz

Die Stammlösung, besteht aus DMSO und der Testsubstanz (MGpy1), diese wurde täglich frisch hergestellt.

Außerdem musste beim Einwiegen der Substanz darauf geachtet werden, ob der Versuch in einem 8 ml oder 25 ml Organbad durchgeführt wurde.

Stammlösung	Organbad	Einwaage der Substanz
MGpy1	25ml	0,57mg
MGpy1	8ml	0,181mg

Tabelle3 : Stammlösungen

Das genaue Gewicht der Testsubstanz wurde über die molare Masse ermittelt. Die abgewogene Menge wurde in 100 µl DMSO gelöst.

Während der Versuche wurde die Stammlösung in unterschiedlichen Konzentrationen mit Hilfe einer Kolbenhubpipette hinzugefügt (siehe Pipettierschema).

Das Kumulative Einspritzen der Testsubstanz geschah immer nach Erreichen des „steady state“ (Plateauphase) im Abstand von 45 Minuten. Beim Einspritzen war es sehr wichtig den Kraftwandler nicht zu berühren.

Zugeführtes Volumen	Gesamtkonzentration im Organbad
3µl	3 µmol/l
7µl	10 µmol/l
20µl	30 µmol/l
70µl	100 µmol/l

Tabelle 4: Pipettierschema

4.3. Versuchsablauf bei *Arteria pulmonalis*

Das Präparat wurde zunächst eingehängt und sofort ins Organbad gebracht, welches mit Nährlösung (Tyrode) aufgefüllt und mit Oxymix begast wurde. Die eingehängte *Arteria pulmonalis* sollte so tief in der Nährlösung eingetaucht sein, sodass das Präparat komplett mit Nährlösung bedeckt war. (hier wurde Apparatur B verwendet)

Der Schreiber wurde eingeschaltet und dessen Stiftspitze auf die Nulllinie gestellt. Anschließend wurde der Verstärker aktiviert, was den Schreiber wiederum ein bisschen verstellte, deshalb musste man das Gerät wieder auf Null gestellt werden. Nun wurde mittels Feintrieb auf 9,81 mV vorgespannt um eine stärkere Kontraktion zu erhalten. Durch das Vorspannen wurde der Stift des Schreibers wieder verstellt, sodass man erneut mittels Regelknopf des Amplifiers auf die Nulllinie korrigieren musste. Nach einer Anpassungsphase von 20 Minuten korrigierte man etwaige Abweichungen vom Nullpunkt mittels Mikrometer nach. Der nächste Schritt war es nun die Änderung der Kontraktionskraft zu messen, das erfolgte durch Vorkontraktion mit KCL- Lösung, deren Konzentration 90 mmol/l betrug. Dies entsprach einer Einwaage von 0,67 g KCL in 100 ml Tyrodelösung. Nach 20 Minuten wurde die im Organbad vorhandene Nährlösung abgelassen, und dann wurde das Organbad, entweder mit exakt 8 oder 25 ml KCL-Lösung aufgefüllt. Die Kontraktion wurde vom Schreiber erfasst und aufgezeichnet. Die Testlösung wurde erst nach dem Erreichen der Plateauphase hinzugefügt, das heißt die Konzentrationskurve durfte sich ab diesem Zeitpunkt nicht mehr verändern.

Die Zugabe der Testlösung erfolgte mittels Finnpipetten (Fa. Labsystems, Finnland). Bei der Zugabe von der Testlösung musste man jedoch vorsichtig vorgehen, um die Organhalterung nicht zu berühren, weil dadurch der Stift verstellt wurde. Falls man aber trotz größter Vorsicht, mit der Halterung in Berührung kam, so musste man wieder mit dem Stift in Ausgangsposition zurückgehen. Die jeweiligen Volumina der Testlösung wurden kumulativ jeweils nach einer Zeitspanne von 45 Minuten zugegeben. Die dadurch sich veränderte Kontraktion wurde anschließend vom Schreiber erfasst und aufgezeichnet. Der Zeitpunkt der jeweiligen Substanzzugabe wurde manuell am Millimeterpapier gekennzeichnet.

4.4. Versuchsablauf bei Aorta

Der fertig präparierte Aortenring wurde direkt in Apparatur B eingehängt und dann in das mit Tyrode aufgefüllte Organbad eingetaucht. (Die Aorta durfte dabei nicht überdehnt werden).

Der nächste Schritt bestand darin den Schreiber einzuschalten und auf 10 mV vorzuspannen. Danach wurde der Schreiber auf den Nullpunkt gedreht und durch den Feintrieb auf 19.4 mN vorgespannt.

Nach einer Anpassungsphase von 20 min wurde auf 5 mV umgeschaltet und der Schreiber wieder auf den Nullpunkt gestellt. Nun wurde am Schreiber mittels „Pen down“ und „Record on“ mit den Aufzeichnungen angefangen. Daraufhin wurde sofort die Nährlösung abgelassen und eine 90 mmolare Kaliumchlorid-Lösung (EW= 0.67 g KCl/ 100 ml Tyrode) zugefügt für die maximale Kontraktion. Auch hier wurde nach Erreichen der Plateauphase die Testlösung alle 45 Minuten gespritzt.

Die dilatierende Wirkung der Testsubstanz wurde durch das kontinuierliche Aufzeichnen der Kontraktionskurve festgehalten.

4.5. Versuchsablauf bei Ileum terminales

Das bereits präparierte Darmstück wurde mit den Silberdrahthäkchen an die Apparatur B angebracht und anschließend in Tyrodelösung eingetaucht.

Der Schreiber und Amplifier wurden wie schon zuvor beschreiben eingeschaltet und auf Nullpunkt gedreht. Dieser Versuch wurde bei einer Stromstärke von 5 mV und einer Vorspannung von 4,9 mN durchgeführt.

Nach einer Anpassungsphase von 20 Minuten, wurde bei einer leichten Veränderung der Nulllinie wieder nachgestellt. Es wurde die Nährlösung abgelassen und durch Kaliumchlorid-Lösung ersetzt. Diesmal wurde aber eine 60 mmolare EW=0.44 g KCl/100 ml Tyrode) Kaliumchloridlösung verwendet. Es kam sofort zum Ausschlag der Kontraktionskurve, die sich aber nach kurzer Zeit wieder langsam einpendelte.

Nach ungefähr einer Stunde kam es zur konstanten Plateauphase der Kontraktionskurve, dann erfolgte die kumulative Injektion von der Testlösung.

4.6. Versuchsablauf beim rechten Vorhof

Der fertig präparierte Vorhof wurde mit den 2 angebrachten Silberdrahthäkchen in die Versuchsassatur B eingehängt und dann in das Organbad eingetaucht. Das Organ durfte nicht zu fest gedehnt sein, weil es ja durch den Feintrieb nochmals nachgespannt wurde. Außerdem musste beachtet werden, dass der Silberdraht den Glaskörper nicht berührte, da dies sonst zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen konnte.

Der Schreiber wurde eingeschaltet und wieder auf die Nulllinie gestellt. Anschließend wurde der Amplifier aktiviert, wodurch sich der Stift verstellte und man erneut auf die Nulllinie korrigieren musste. Nun wurde wieder mittels Feintrieb auf 10,4 mN vorgespannt. Dies erfolgte bei einer Stromstärke von 5 mV. Durch das Vorspannen verrückte der Schreiberstift und wurde aber dann wieder mit dem Regelknopf des Amplifiers auf die Nulllinie korrigiert. Da diese Vorspannung während des ganzen Versuchsablaufs aufrechterhalten bleiben sollte, musste wegen der hohen Elastizität des Organs, laufend mittels Feintrieb nachjustiert werden.

Nach einer Anpassungszeit von ca. 30 min beobachtete man die Schlagfrequenz, indem man alle 5 min die Ausschläge über eine Länge von 6 cm aufzeichnete. Der Papiervorschub wurde dabei auf eine Geschwindigkeit von 5mm/s eingestellt. Sobald die Anzahl der Schläge konstant war, also eine konstante Chronotropie herrschte (± 1 Schlag), konnte mit der kumulativen Zugabe von der Testsubstanz, die alle 45 min erfolgte, begonnen werden. Mit dem Einspritzen begann die Kontrollphase, nun musste bis zum Ende des Versuchs alle 5 min eine Messung durchgeführt werden, indem man wieder die Ausschläge über eine Länge von 6 cm aufzeichnete.



Abbildung 14: Dokumentation der Schlagfrequenz vom Vorhof durch den Schreiber

4. 7. Versuchsablauf bei Papillarmuskel

Der isolierte und fertig präparierte Papillarmuskel wurde an die Versuchsanordnung angebracht und in das auf 35°C warme Organbad eingetaucht. Bei einer Stromstärke von 5 mV (bei Bedarf 2 oder 1 mV) und einer Geschwindigkeit von 5mm/sec, wurde er bei 3.92 mN durch Feintrieb vorgespannt. Da der Papillarmuskel im Vergleich zum Vorhof keine Spontanaktivität besitzt, wurde der Papillarmuskel mittels elektrischer Reizung zur Kontraktion angeregt. Auch hier war das Nachjustieren der Vorspannung während des

ganzen Versuchsablaufs aufgrund der Plastizität des Organs nötig. Eine Abnahme der Kontraktionskraft wurde somit durch die Verringerung der Ausgangsspannung verhindert(Reiter 1967).

Hier war das Nachstellen des Schreibstiftes genauso notwendig wie oben beschrieben. Nach der Anpassungsphase begann man mit der Kontrolle, hierfür wurden alle 5 Minuten mindestens 6 Kontraktionsamplituden mit dem Schreiber aufgezeichnet. Sobald diese konstant waren, konnte wieder mit der kumulativen Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Auch hier erfolgte wieder die Substanzzugabe alle 45 min. Auch hier musste alle 5 Minuten eine Messung gemacht und dokumentiert werden.

4.8.Statistik

Für die genaue Berechnung wurde das Sigma Plot 9.0 –Programm verwendet um Standardfehler, Mittelwert berechnen zu können.

Die Werte wurden als Graph dargestellt mithilfe von Konzentration –Wirkungskurven, wobei nur bei den stark wirksamen Substanzen ein EC_{50} Wert ermittelt wurde.

Als letztes wurde für gepaarte Beobachtungen ein Signifikanztest („Student-t-Test“) durchgeführt. Die Messergebnisse wurden dann als signifikant bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ($P < 0,05$) oder sogar kleiner als 1% ($P < 0,01$) betrug. Die Ergebnisse, die eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,1% ($P < 0,001$) hatten, wurden als hochsignifikant angegeben.

5. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Versuchsergebnisse der jeweiligen Testsubstanz an den isolierten Organen der Meerschweinchen ausgewertet mit Hilfe von Tabellen und Konzentration-Wirkungskurven.

Pro Organ wurden mindestens 4 Versuche durchgeführt um ein repräsentatives und reproduzierbares Ergebnis zu erhalten.

Für die Überprüfung des Wirkmechanismus (mit Nitro-L-Arginin) mussten mindestens 3 Versuche an einem ausgewählten Organ durchgeführt werden.

5.1. Ergebnisse der Testsubstanz MGpy1

5.1.1. Wirkung von MGyp1 auf das terminale Ileum

Der genaue Versuchsablauf wurde bereits erwähnt. Insgesamt wurde 4 Versuche, mit der kumulativen Zugabe der Testlösung von 3,7,20 und 100 $\mu\text{mol/l}$ durchgeführt.

Bei diesem Organe wurde die spasmolytische Wirkung von der Testsubstanz getestet und in der Folge dann genauer untersucht.

MGpy1	fc ± SEM (mN)	fc ± SE M (%)	Anzahl d.Versuche (N)	Irrtumswahr- scheinlichkeit (P)
0 (Kontrolle)	8,62±0,82	0 ± 0	4	-
3	6,71±1	-23,72±5,31	4	0,05
10	4,24±0,94	-52,97±7,20	4	0,01
30	1,88±0,60	-79,29±5,54	4	0,001
100	1,67±0,16	-80,65±0	4	0,001

Tabelle 5 : Wirkung von MGpy1 auf das terminale Ileum

Diese Tabelle soll die Mittelwerte der Kontraktionskraft (fc) und deren Standardfehler (SEM) wiedergeben, wobei der Standardfehler sowohl in mN als auch in Prozent angegeben wurde.

Außerdem werden die Anzahl der Versuche und die Irrtumswahrscheinlichkeit dokumentiert.

Nach Zugabe der ersten Konzentration der Testsubstanz, lag der Mittelwert der Kontraktion bei 8,62±0,82 mN und dieser Wert entsprach 100%.

Durch die Zugabe von der Testlösung vermerkt man eine Abnahme der Kontraktionskraft.

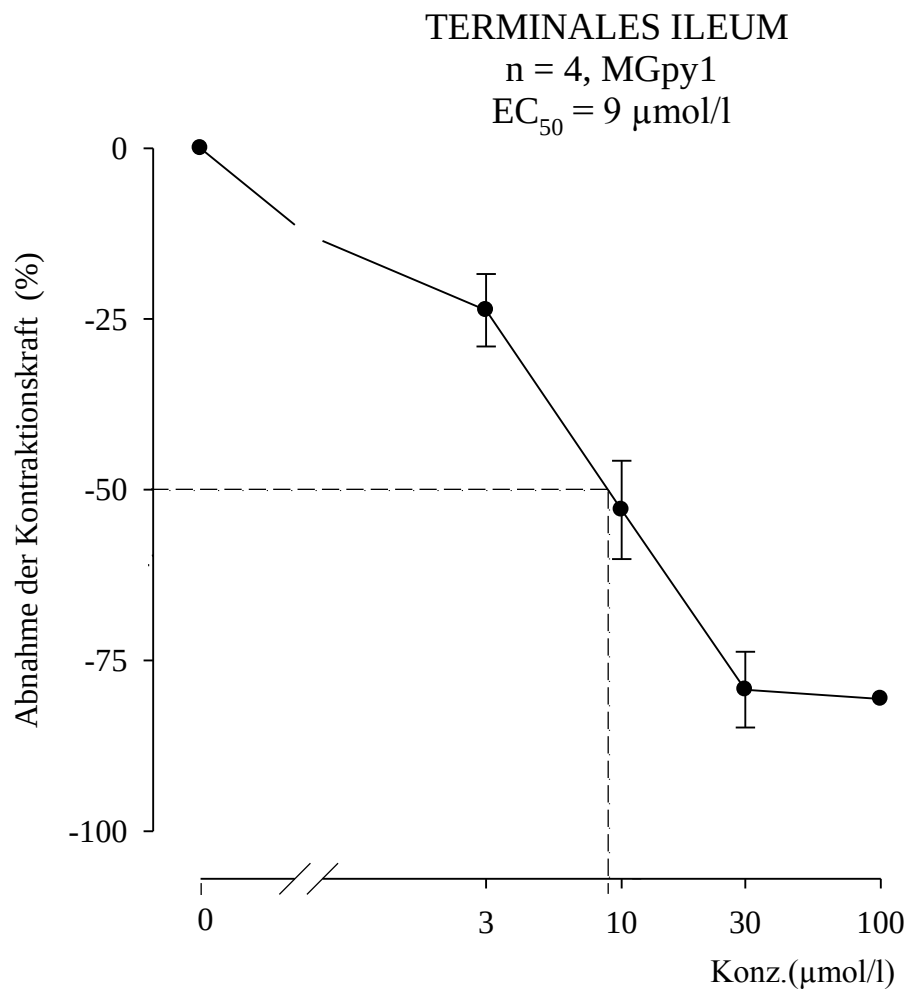


Diagramm1 : Konzentrations-Wirkungskurve von MGpy1 am terminalen Ileum

Anhand dieser Kurve soll die Abnahme der Kontraktionskraft bei unterschiedlichen Konzentrationen von MGpy1 veranschaulicht werden. Auf der Ordinate wird die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent angezeigt. Auf der Abszisse steht die jeweilige Konzentration in µmol/l. Die Abnahme der Kontraktionskraft ist besonders gut ersichtlich.

Bei diesem Versuch liegt der EC₅₀-Wert bei 9 µmol/l. Der Standardfehler wird durch die Länge der senkrechten Balken wiedergegeben.

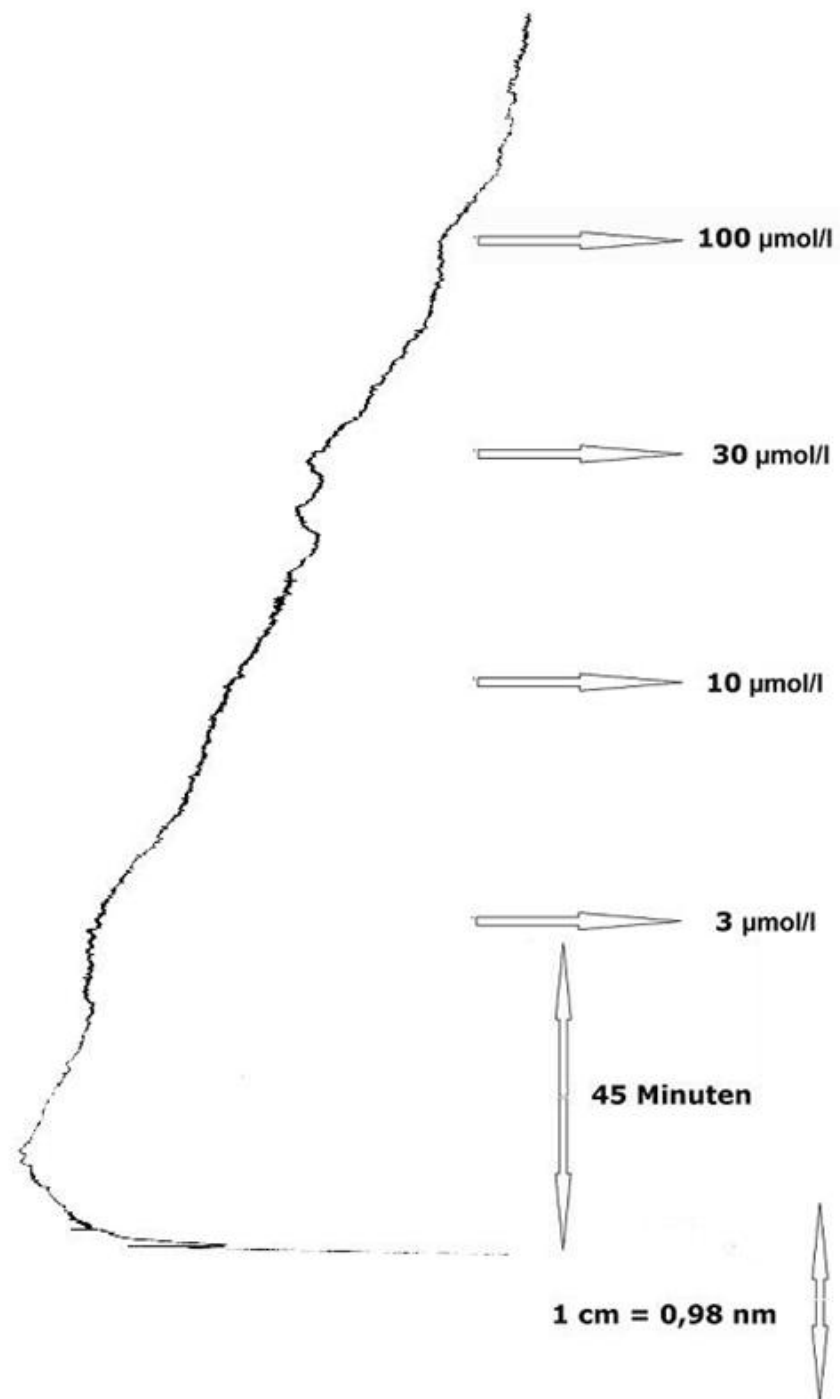


Abbildung 15 : Originalaufzeichnung von MGpy1 am terminalen Ileum

Anhand der Abbildung wird erklärt wie durch die Zugabe der verschiedenen Konzentration Kontraktionskraft abnimmt. Die stärkste Abnahme ist bei 10 $\mu\text{mol/l}$ Konzentration zu sehen ist.

5.1.2. Wirkung von MGpy1 auf die Aorta

Zur Untersuchung der Auswirkung von MGpy1 auf die Kontraktionskraft der Aorta, wurden 4 Versuche durchgeführt. Das isoliert Organ wurde mit KCL-Lösung versetzt, um eine maximale Vorkontraktion zu erreichen .

Die Lösung wurde in den jeweiligen Konzentration, in einem 45 Minütigem Intervall zugesetzt, hier wurde auch die Eigenwirkung vom Lösungsmittel DMSO berücksichtigt bei der Berechnung.

Zu Beginn der Versuche, betrug die Kontraktionskraft $11,00 \pm 2,03$ mN. Bei der Zugabe von MGpy1 kam es zur einer geringen Veränderung der Kontraktionskraft .Erst ab der Zugabe von von $30 \mu\text{mol/l}$ kam es zur ersten bemerkbaren Veränderung der Kontraktionskraft.

MGpy1	fc $\pm$SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl d. Versuche	Irrtumswahr- scheinlichkeit (P)
0(Kontrolle)	11,00 $\pm$ 2,03	0 $\pm$ 0	4	-
3	10,79 $\pm$ 1,74	-3,38 $\pm$ 7,60	4	n.s
10	10,16 $\pm$ 1,83	-5,87 $\pm$ 5,12	4	n.s
30	9,31 $\pm$ 1,84	-14,77 $\pm$ 4,65	4	0,05
100	8,22 $\pm$ 1,75	-25,45 $\pm$ 4,11	4	0,05

Tabelle 6 : Wirkung von MGpy1 auf die Aorta

In der Tabelle findet man die verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz(MGpy1) und die Änderung der Kontraktionskraft (in Prozent und mN). Zusätzlich sind auch Irrtumswahrscheinlichkeit sowie die Anzahl der Versuche angeführt.

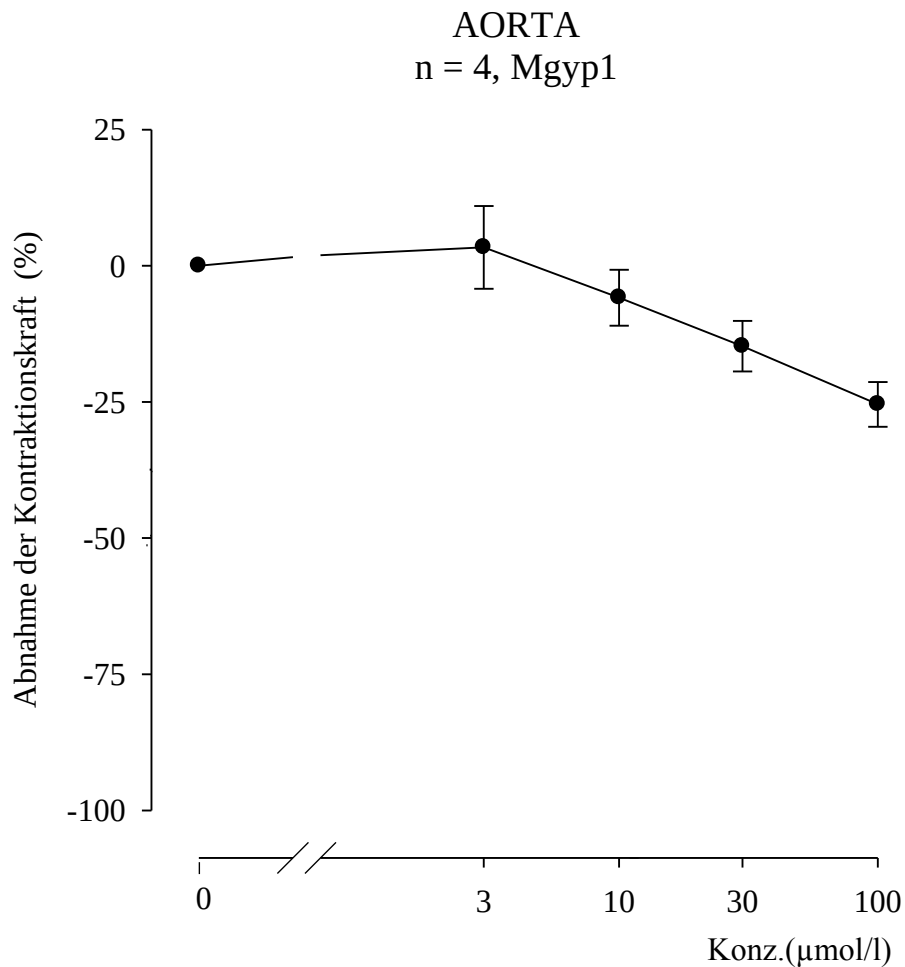


Diagramm2 : Konzentrations-Wirkungskurve von MGpy1 an der Aorta

Dieser Graph zeigt deutlich am Anfang der Versuche keine signifikante Abnahme der Kontraktionskraft. Eine signifikante Abnahme der Kontraktionskraft wird erst ab einer ab einer Konzentration von 3 µmol/l ersichtlich.

Es konnte bei diesem Organ kein EC_{50} -Wert ermittelt werden.

Die senkrechten Balken sollen den Standardfehler zeigen

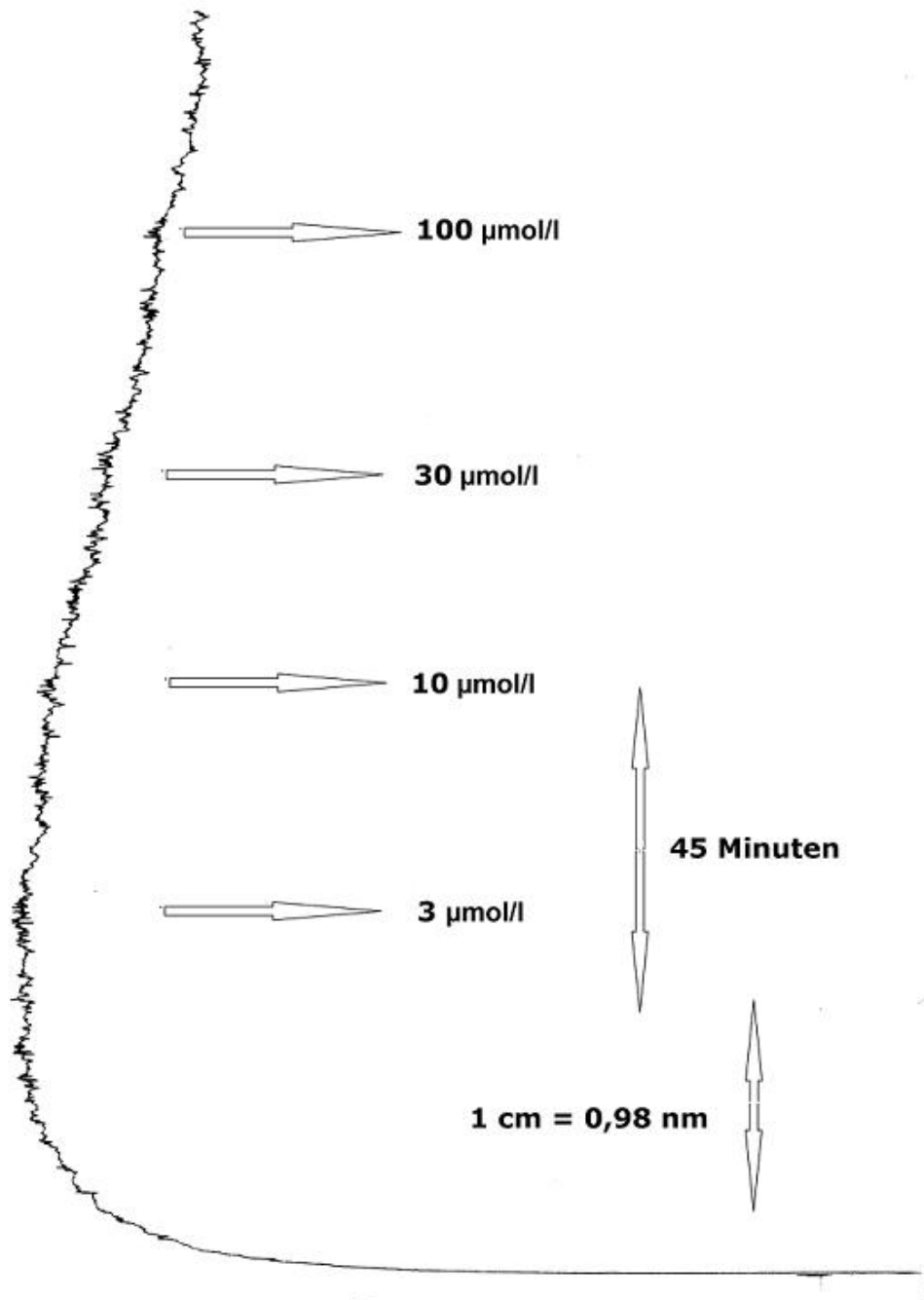


Abbildung 16 : Originalaufzeichnung von MGpy1 an der Aorta

Die Aufzeichnung zeigt, kaum eine Veränderung der Kontraktionskraft zu Beginn des Versuches. Erst nach der Zugabe von 30 $\mu\text{mol/l}$ Testsubstanz trat die erste signifikante Abnahme der Kontraktionskraft.

5.1.3. Wirkung von MGpy1 auf die Arteria pulmonalis

Auch hier wurde zur Untersuchung der Wirkung von der Testsubstanz, das isolierte Organ mit einer Kaliumchloridlösung versetzt. KCL -Lösung wurde verwendet um eine Vorkontraktion der Arteria Pulmonalis zu erreichen.

Nach dem Erreichen der Plateuphase wurde die Testlösung in den Konzentration 3; 10; 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$ in einem Abstand von 45 Minuten zugesetzt. Da wurde auch die Eigenwirkung von DMSO bei der Berechnung berücksichtigt.

Zu Beginn nahm die Kontraktionskraft kaum ab, erst bei 30 $\mu\text{mol/l}$ kam es zur einer signifikanten Änderung. Die stärkste Abnahme der Kontraktionskraft wurde bei der letzten Konzentration registriert. Die Kontraktionskraft betrug $5,64 \pm 1,12 \text{ mN}$ bzw. $-44,30 \pm 7.23\%$.

MGpy1	fc ±SEM (mN)	fc ±SEM (%)	Anzahl d.Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit P
0(Kontrolle)	10,23 ±1,31	0±0	4	-
3	9,31±1,19	-8,80±1,76	4	n.s
10	8,34 ±1,02	-17,90±3,03	4	0,05
30	6,86 ±0,92	-32,21±4,46	4	0,01
100	5,64 ±1,12	-44,30±7,23	4	0,01

Tabelle 7 : Wirkung von MGpy1 auf die Arteria pulmonalis

In der Tabelle sind die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz, die Mittelwerte der Kontraktionskraft zu sehen. Dazu sind noch die Versuchsanzahl und Irrtumswahrscheinlichkeit angeführt.

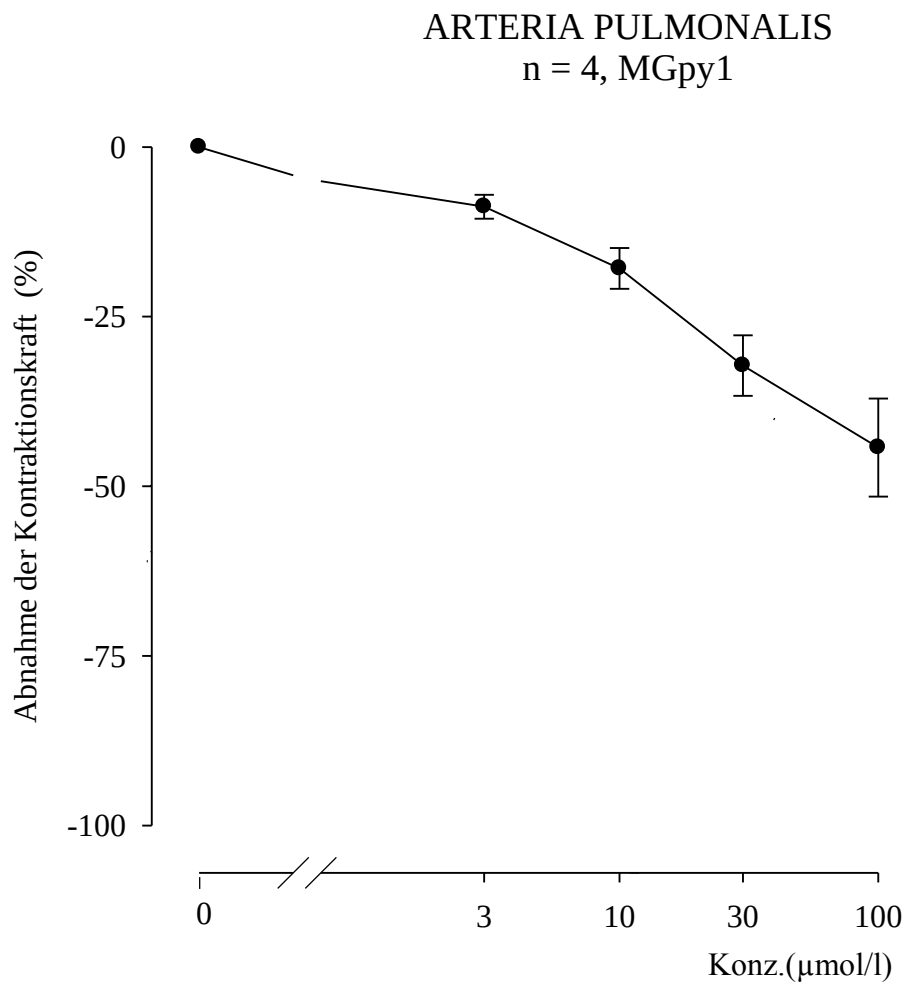


Diagramm 3: Konzentrations-Wirkungs- Kurve von der isolierten Arteria pulmonalis

In der Abbildung soll die Abnahme der Kontraktionskraft dargestellt werden. Auf der Ordinate (y-Achse) sieht man die Kontraktionskraft in Prozent und auf der Abszisse (x-Achse) sind die unterschiedlichen Konzentrationen in µmol/l eingetragen.

Es konnte bei diesem Organ kein EC_{50} - Wert ermittelt werden.

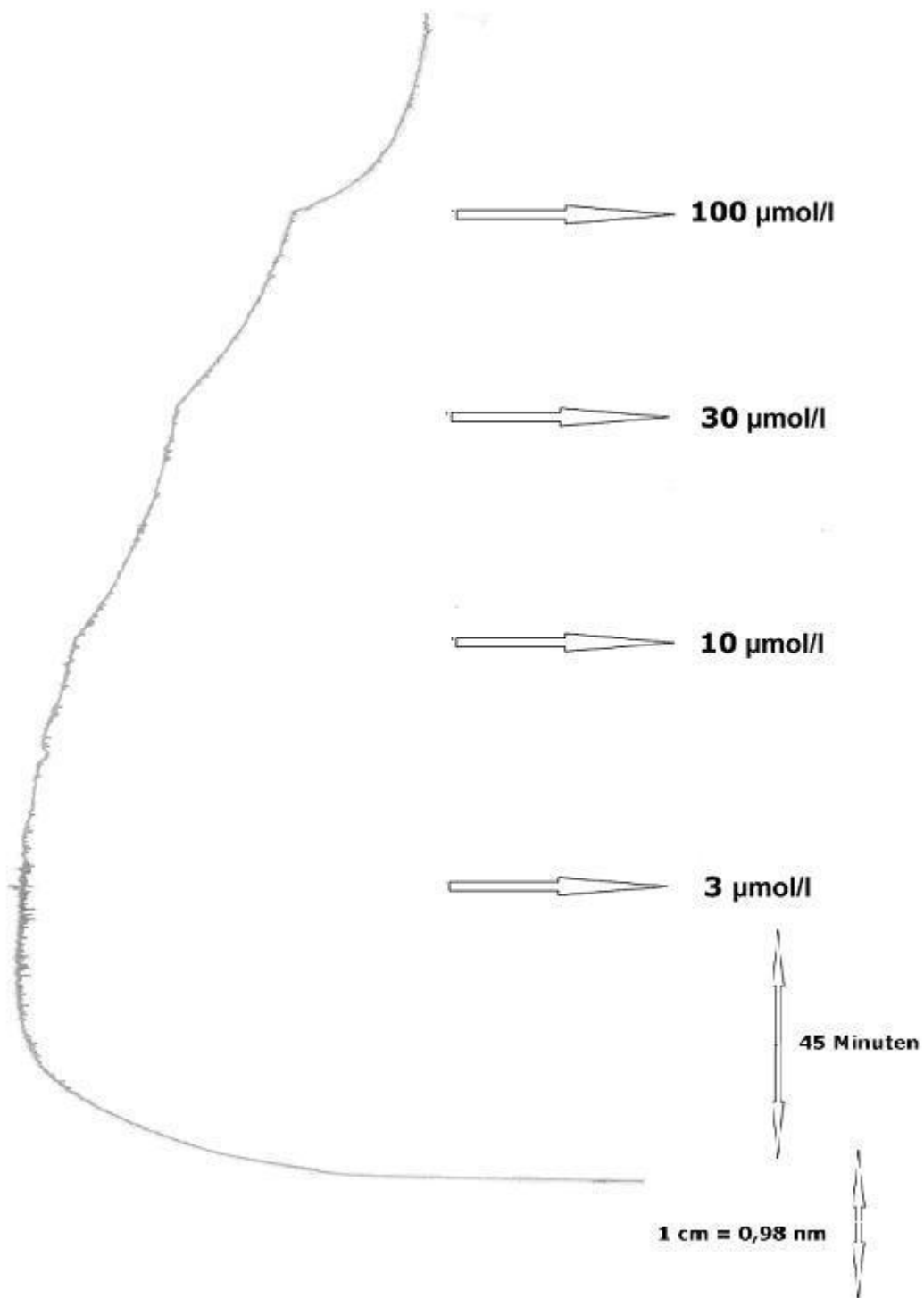


Abbildung 17: Zeichnung Von MGpy1 an der Arteria pulmonalis

Die Aufzeichnung des Versuches zeigt anfangs einen steilen Anstieg der Kontraktionskraft und dieser Anstieg kam durch die Vorkontraktion mit KCL-Lösung. Erst bei einer Konzentration von 30 µmol/l und 100 µmol/l kam es zu einem deutlichen Anstieg.

5.1.4. Wirkung von MGpy1 auf den Papillarmuskel

Die genaue Versuchsdurchführung wurde in den vorangegangenen Kapiteln bereits erklärt. Für die Untersuchung der Testsubstanz MGpy1 wurden 4 Versuche durchgeführt. Hier erfolgte die Kontraktion durch eine elektrische Reizung.

Das Organbad wurde mit der jeweiligen Konzentration in einem Intervall von 45 Minuten versetzt. Auch hier wurden die Auswirkungen vom DMSO berücksichtigt.

Während der Kontrollphase betrug die Kontraktionskraft $1,18 \pm 0,12$ mN. Die danach zugegebene Konzentration führten zu einer Abnahme der Inotropie. Ab einer Zugabe von $10 \mu\text{mol/l}$ ersichtlich, dass die Inotropie wieder langsam zunahm, bis sie am Ende des Versuches $0,93 \pm 0,11$ mN bzw. $-45,95 \pm 4,26\%$ betrug.

MGpy1	fc $\pm$ SEM (mN)	fc $\pm$ SEM (%)	Anzahl d. Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
0(Kontrolle)	$1,18 \pm 0,12$	0 ± 0	4	-
3	$1,13 \pm 0,14$	$-4,94 \pm 3,99$	4	n.s
10	$1,05 \pm 0,12$	$-9,61 \pm 7,14$	4	0,05
30	$0,95 \pm 0,12$	$-18,82 \pm 7,29$	4	0,01
100	$0,93 \pm 0,11$	$-20,58 \pm 4,26$	4	0,01

Tabelle 8: Wirkung von MGpy1 auf isolierte Papillarmuskel

Dieser Tabelle kann man die unterschiedlich Konzentrationen der Testsubstanz, sowie die Änderung der Inotropie(in mN bzw. Prozent) entnehmen. Außerdem findet man die Anzahl der Versuche sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit.

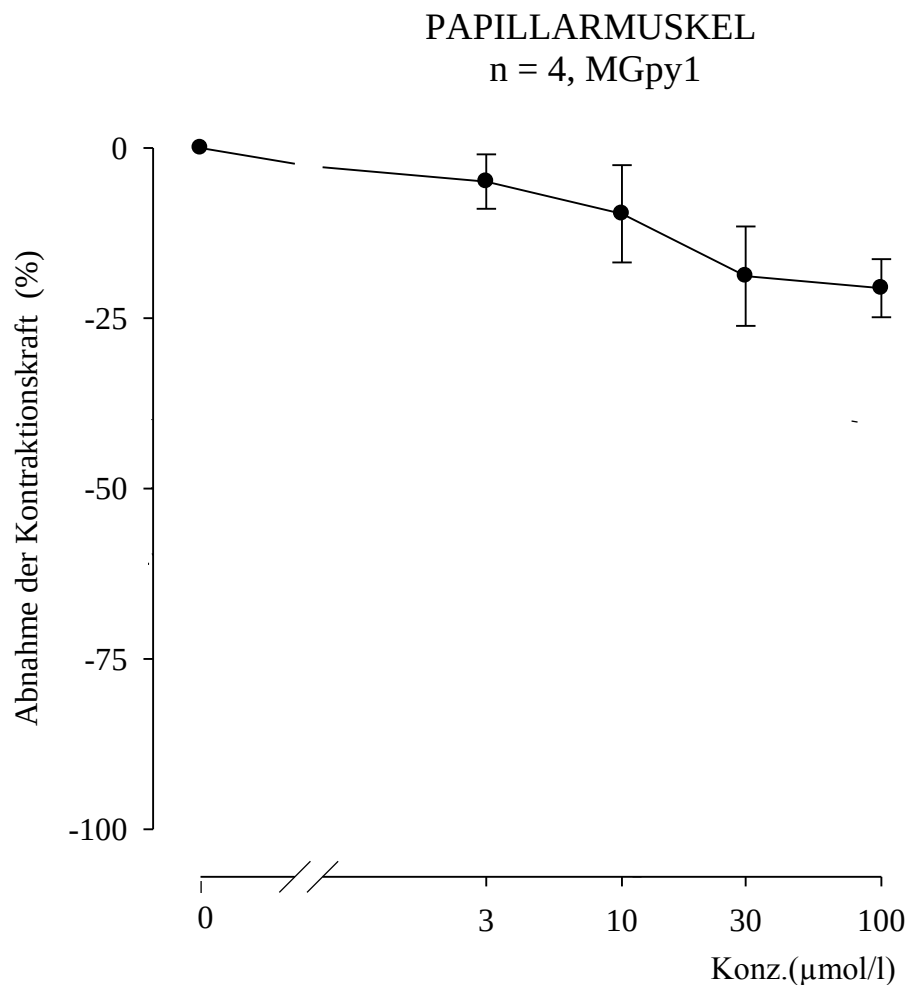


Diagramm4 : Konzentrations-Wirkungskurve von dem isolierten Papillarmuskel

Der Graph zeigt die Zunahme der Kontraktionskraft (Intropie).

Die Kontraktionskraft wird in Prozent auf der Ordinate angegeben, während auf der Abszisse die unterschiedlichen Konzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) der verwendeten Testsubstanz eingetragen wurden.

Es ist anhand der Kurve ersichtlich, dass die Inotropie stetig abnimmt. Der EC_{50} Wert konnte nicht ermittelt werden.

Die senkrechten Balken repräsentieren den Standardfehler.

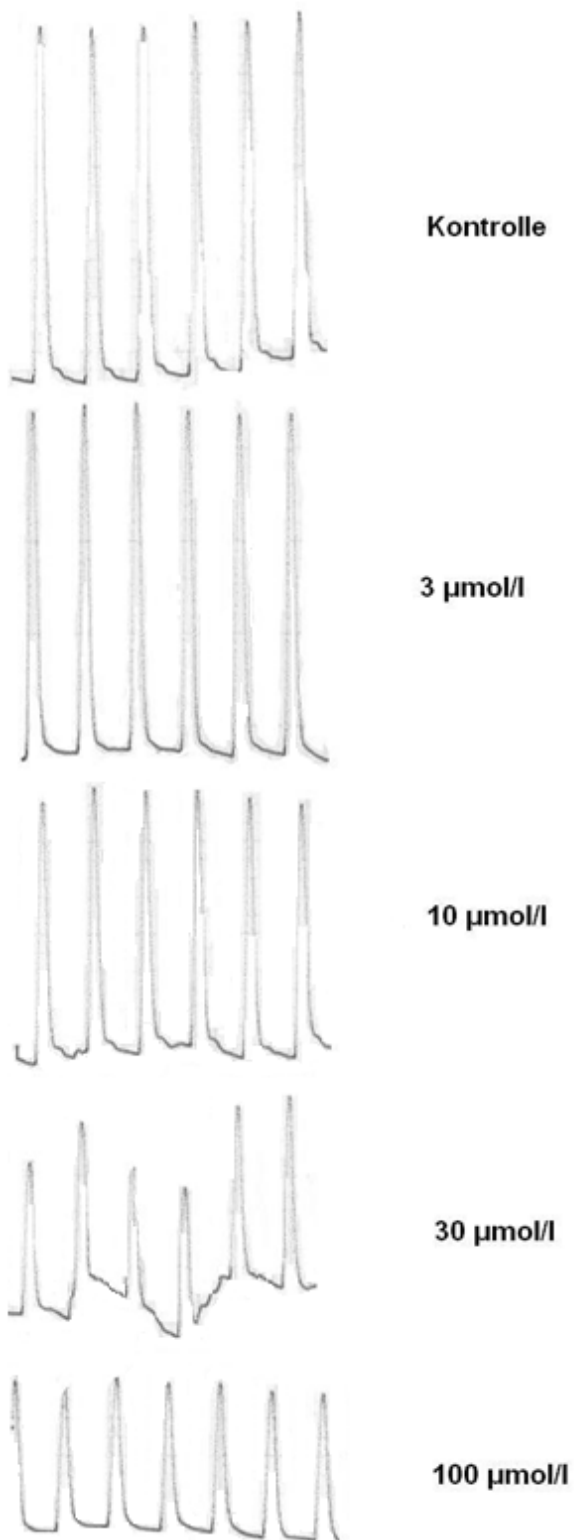


Abbildung 18: Originalaufzeichnung von MGpy1 am Papillarmuskel

Diese Abbildung zeigt wie sich die Injektion der Testsubstanz mit verschiedenen Konzentration auf die Intropie auswirkt.

Die einzelnen Amplituden stellen die Kontraktionskraft dar. Je größer die Amplitude ist, umso stärker die Inotropie. Die Aufnahmen erfolgten alle 5 Minuten.

5.1.5 Wirkung von MGpy1 auf den Vorhof

Für die Untersuchung der Wirkung von der Testsubstanz wurden 4 Präparate verwendet. Hier sollte die Veränderung der Schlagfrequenz beobachtet werden. Die Testsubstanz wurde in den Konzentration 1; 3; 10; 30 und 100 µmol/l in einem Abstand von 45 Minuten zugesetzt (die Auswirkung von MDSO wurde berücksichtigt).

Während der Kontrollphase betrug die Schlagfrequenz $225 \pm 11,73$ Schläge/Minute.

Die stärkste Abnahme der Frequenz war nach dem Zusetzen von 10 µmol/l zu sehen.

Bei 3 µmol/l kam es zur leichten Abnahme der Schlagfrequenz. Erst bei 10 µmol/l sieht man eine deutliche Abnahme. Bei der Konzentration von 30 µmol/l starb mein Präparat ab und der Wert lag bei null Schläge/Minute.

MGpy1	fc ± SEM (mN)	fc ±SEM (%)	Anzahl d. Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit
0(Kontrolle)	225±11,73	0±0	4	-
1	225 ±11,73	0±0	4	n.s.
3	222,5±11,27	98,94±1,06	4	n.s.
10	211,25±11,43	94,06±3,24	4	n.s.
30	0±0	0±0	4	0,001

Tabelle 9: Wirkung von MGpy1 auf rechte Vorhöfe

Dieser Tabelle kann man die verwendeten Konzentrationen der Testsubstanz, die Änderungen der Schlagfrequenz in mN sowie in Prozent entnehmen. Weiters sind auch Irrtumswahrscheinlichkeit und die Anzahl der durchgeführten Versuche angeführt.

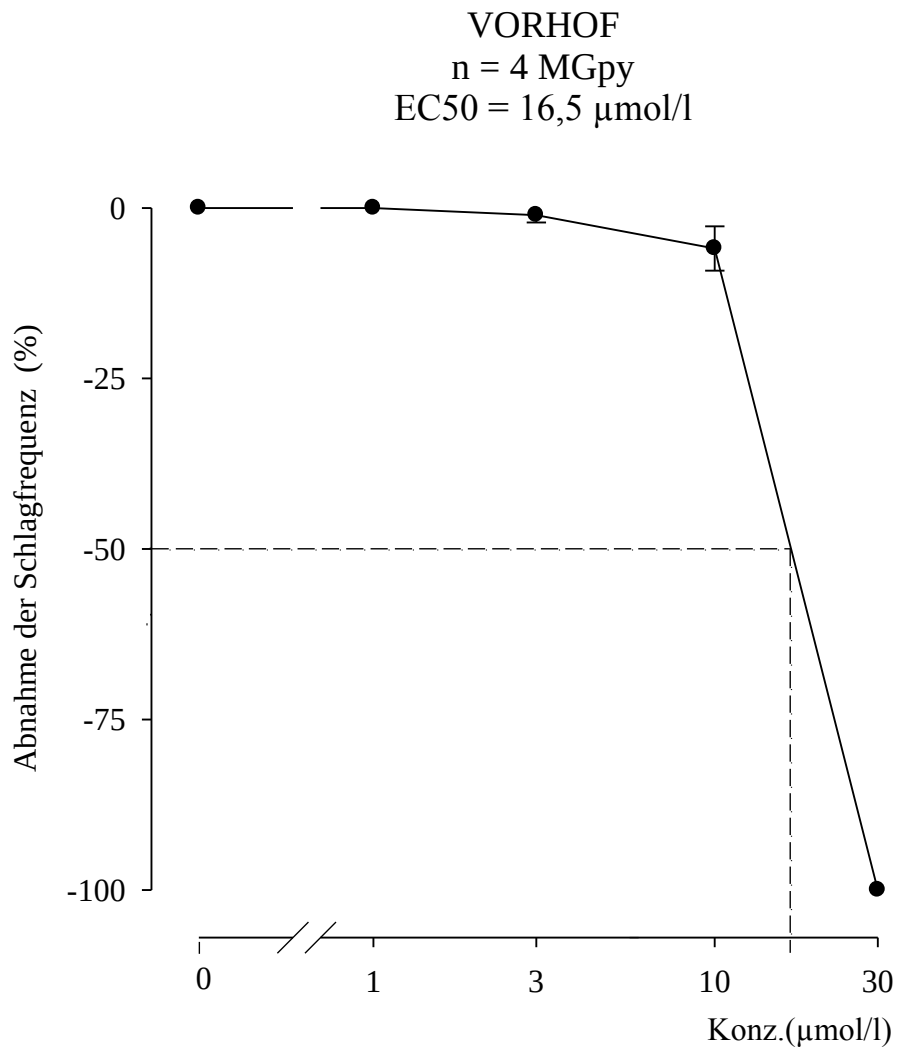


Diagramm 5 : Konzentrations- Wirkungskurve der Wirkung der Wirkung von MGpy1 an isolierten Vorhöfen

Die Kurve verdeutlicht die Abnahme der Schlagfrequenz. Auf der Ordinate (y-Achse) ist die Abnahme der Schlagfrequenz in Prozent und auf der Abszisse (x-Achse) die Konzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ angegeben. Die senkrechten Balken sollen den Standardfehler darstellen.

Der EC₅₀-Wert lag bei 16,5 $\mu\text{mol/l}$.

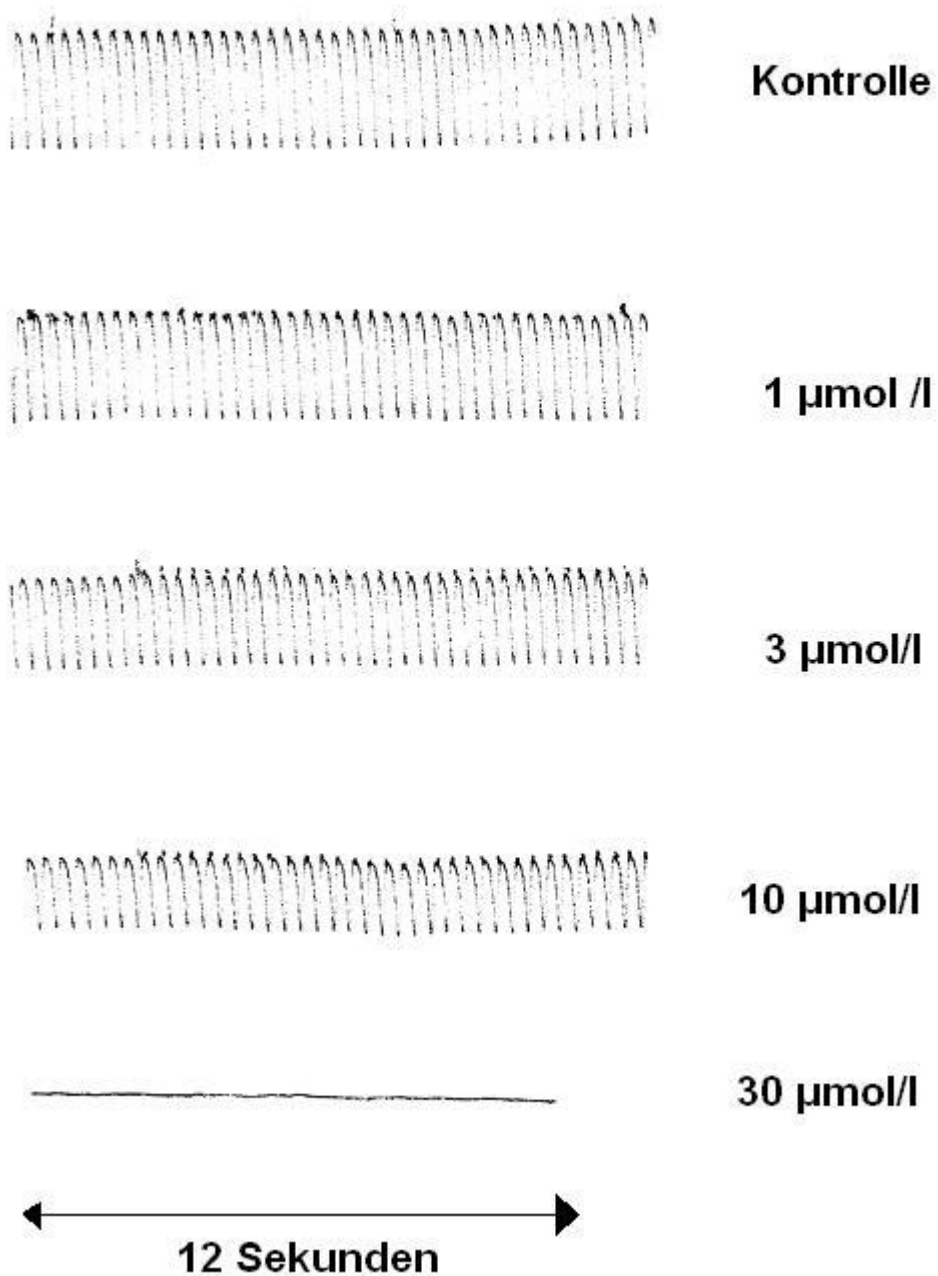


Abbildung 19: Originalaufzeichnung von MGpy1 an rechten Vorhöfen

Diese Abbildung soll die Schlagfrequenz genauer darstellen, welche anhand der Ausschläge des Schreibers pro Minute berechnet wurde.

Um die Schlagfrequenz pro Minute zu erhalten wurde für eine Dauer von 12 Sekunden aufgezeichnet und dann anschließend mit dem Korrekturfaktor 5 multipliziert. Die kumulative Zugabe von Testsubstanz erfolgte in einem Intervall von 45 Minuten.

5.1.6. Resultate der Untersuchung mit Nitro- L-Arginin

Für die Untersuchung des Wirkmechanismus auf dem terminalen Ileum mit Hilfe von Nitro-L-Arginin, wurden 3 Versuche durchgeführt.

Für die Versuche verwendete man 100 µl Nitro-L-Arginin und 10 µl von der Testlösung.

Die Präparierung des Organs erfolgte auf derselben Art und Weise, wie bei den vorangegangenen Versuchen. Das fertig präparierte Organ wurde an der Versuchsanordnung angebracht. Bei einer Stromstärke von 5 mV erfolgte die Vorspannung.

Nach der Anpassungsphase wurde die Tyrode-Lösung abgelassen und mit KCL –Lösung vorkontrahiert. Nach dem Erreichen der Plateauphase wurde Nitro-L-Arginin in den Organbad gegeben und nach 45 Minuten 10 µl von der Testlösung nach weiteren 45 Minuten wurde der Versuch beendet.

In der Kontrollphase betrug die Kontraktionskraft im Mittel $7,82 \pm 0,88$ mN. Nach dem Zusetzen von 100µl Nitro-L-Arginin kam es zu einer geringfügigen Abnahme der Kontraktionskraft. Eine signifikante Änderung wurde erst nach der Zugabe von MGpy1 sichtbar. Die Kontraktionskraft betrug nun $4,49 \pm 1,28$ mN.

Nitro-L-Arginin(100µl)	fc ± SEM(mN)	Anzahl der Versuche	Irrtumswahrscheinlichkeit(P)
0(Kontrolle)	7,82± 0,88	3	-
100	7,06± 0,98	3	-
+ 10µl	4,49± 1,28	3	0,05

Tabelle 10 : MGpy1-Wirkung an mit 100 µl Nitro-L-Arginin vorbehandelten terminalen Ilea

In der Tabelle sind die verwendeten Substanzkonzentrationen und die Mittelwerte der Kontraktionskraft ablesbar. Außerdem sind Irrtumswahrscheinlichkeit und die Anzahl der Versuche ersichtlich.

**Terminales Ileum, Nitro-L-arginin
MGpy1, 10 $\mu\text{mol/l}$
n=3**

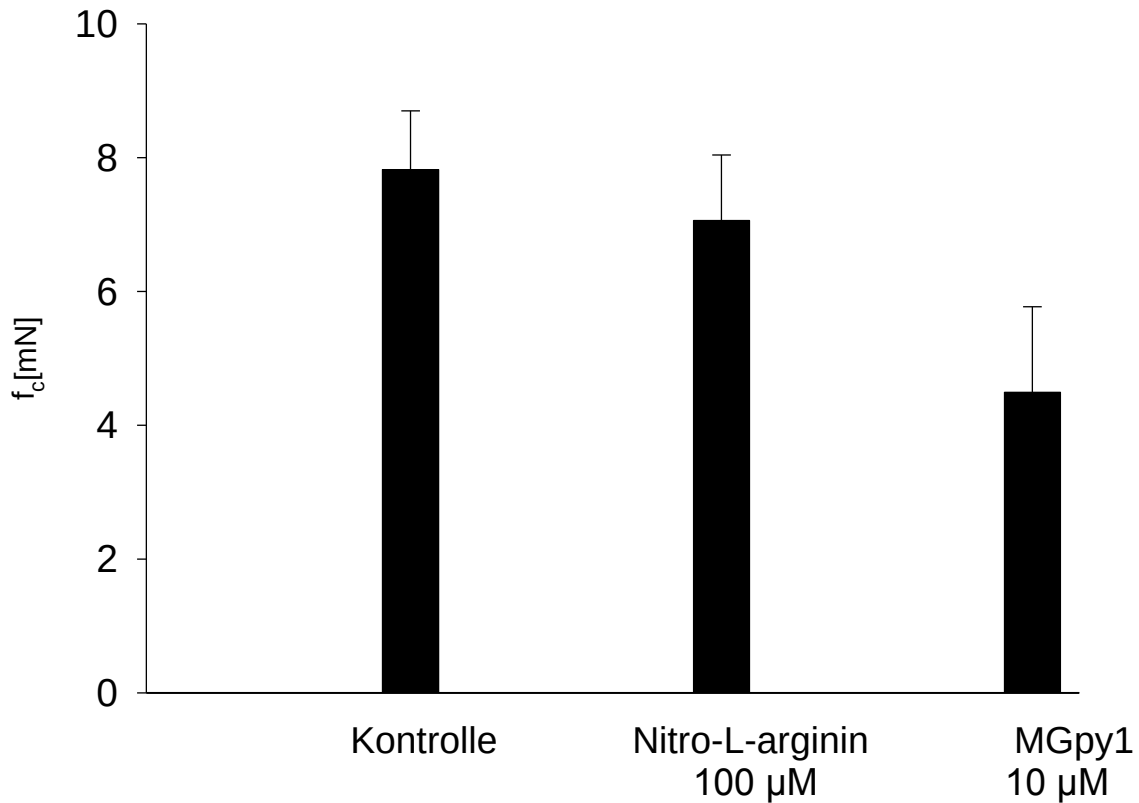


Diagramm 6 : Balkendiagramm von MGpy1 am terminalen Ileum unter Einfluss von Nitro-L-Arginin

Anhand des Diagramms erkennt man, dass durch das Hinzufügen von Nitro-L-Arginin die Kontraktionskraft nicht ausschlaggebend verändert wird. Zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft kommt es erst nach der Zugabe der Testsubstanz MGpy1.

Die Balken im Diagramm sollen die Mittelwerte der 3 Versuche darstellen. Auf der y-Achse wird die Kontraktionskraft in mN eingetragen. Während auf der x-Achse die Substanzkonzentrationen angegeben werden.

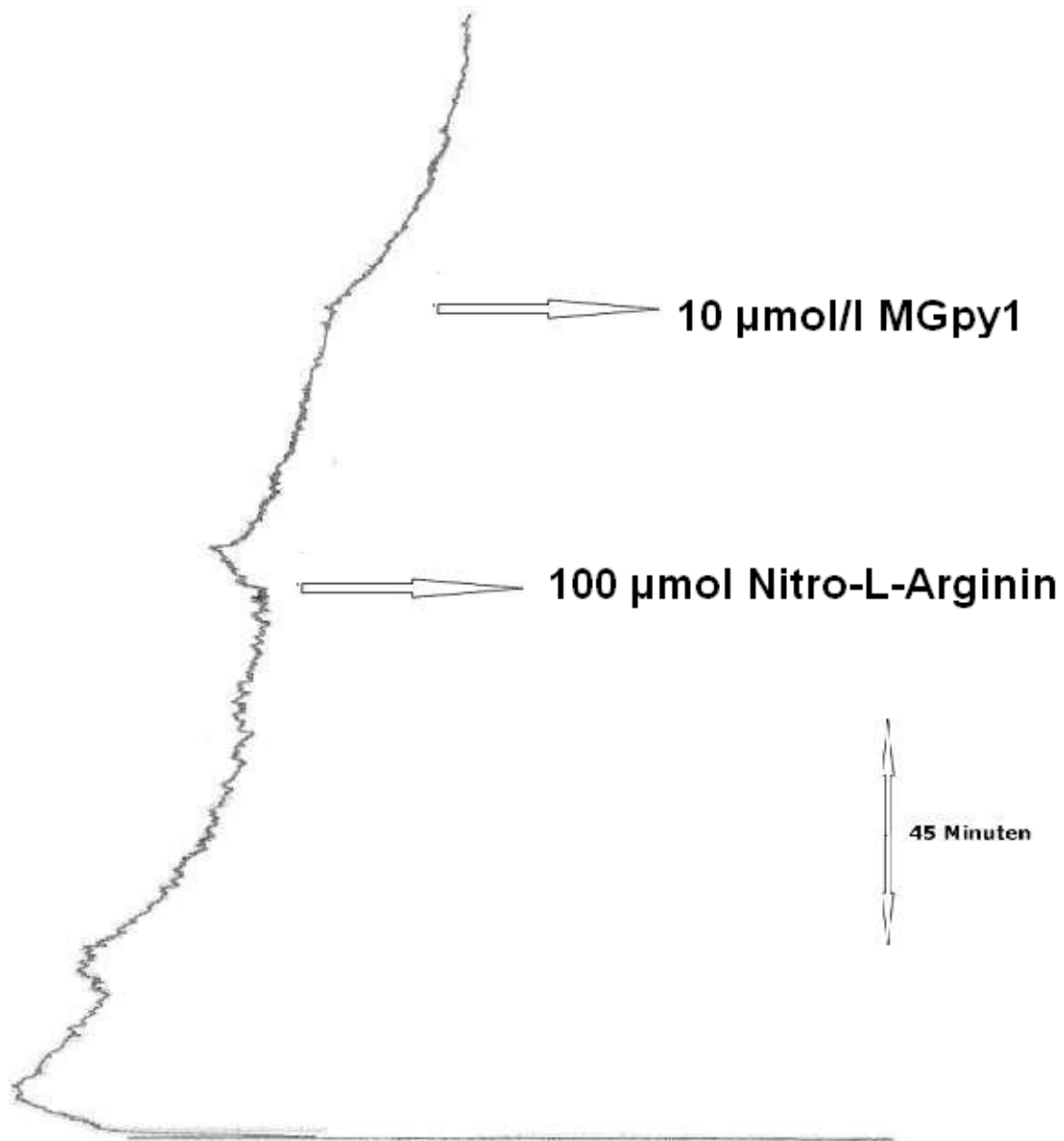


Abbildung 20: Aufzeichnung von MGpy1 –Wirkung am terminalen Ileum unter Einfluss von Nitro-L-Arginin (100µl)

Die Kurve lässt deutlich erkennen, dass durch Zusatz von 100 µl Nitro-L-Arginin zu einer Abnahme der Kontraktionskraft kam, und durch dem Zusetzen Von 10 µl MGpy1 kam es zu einer signifikanten Abnahme der Kontraktionskraft .

6. Diskussion

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden die Wirkung und der Wirkmechanismus von MGpy1 untersucht.

Für diese Untersuchungen wurden fünf isolierte Organe (Atrium dextrum, Aorta, Musculus papillaris, terminales Ileum und Arteria pulmonalis) von Meerschweinchen verwendet.

Der genaue Versuchsablauf und die verwendeten Apparaturen wurden bereits in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben.

In diesem Teil der Diplomarbeit soll nun näher auf die Wirkung vom MGpy1 eingegangen werden, die Ergebnisse der Versuche wurden zuvor in den bisherigen Kapiteln beschrieben.

6.1. Versuchsreihen am quergestreiften Herzmuskel

Durch der Versuche am Musculus papillaris und am Atrium dextrum sollten Inotropie bzw. Chronotropie untersucht werden. Am Musculus papillaris wurden positiv oder negativ inotrope Wirkungen beobachtet, während hingegen am Atrium dextrum eine positiv oder negativ chronotrope Wirkung getestet werden sollte. Zur Überprüfung dieses Effekts am Papillarmuskel musste das Organ zunächst mit Hilfe einer Elektrode gereizt werden.

Beim rechten Vorhof war das, aufgrund der autonomen Spontanaktivität des Sinusknotens, nicht notwendig.

Organ	MGpy1 fc $\pm$ SEM (%) bei 100 μ mol/l Endkonzentration	EC ₅₀ (μ mol/l)
Atrium dextrum	0 $\pm$ 0	16,5
Musculuspapillaris	79,42 $\pm$ 4,26	>100

Tabelle 11: Wirkung von MGpy1 auf die Herzmuskulatur

Anhand der Tabelle wird ersichtlich, dass MGpy1 eine starke Wirkung auf den rechten Vorhof hatte. Der Kontrollwert lag bei 225 $\pm$ 11,73 Schlägen pro Minute. Bei einer Konzentration von 10 μ mol/l lag der Wert dann bei 211,25 $\pm$ 11,43 Schlägen pro Minute. Es kam danach zur einer signifikanten Abnahme der Chronotropie („negative Chronotropie“).

Beim Papillarmuskel kam es zu keiner starken Änderung der Kontraktionskraft, der Kontrollwert betrug $1,18 \text{ m} \pm 0,12 \text{ N}$, während der Wert nach der Zugabe von $100 \text{ } \mu\text{mol/l}$ der Testsubstanz (MGpy1) bei $0,93 \pm 0,11 \text{ mN}$ ($= 79,42 \pm 4,26\%$) lag. Daran erkennt man die starke Abnahme der Inotropie („negative Inotropie“).

Bei beiden Organen konnte kein EC_{50} -Wert ermittelt werden.

Es ist gut ersichtlich, dass die Testsubstanz MGpy1 eine signifikante Wirkung auf die isolierten Herzmuskelpräparate erfüllt hat.

6.2. Versuchsreihen an glattemuskulären Organen

Mit Hilfe einer Kaliumchlorid-Lösung wurde die glatte Muskulatur von Aorta, Arteria pulmonalis und terminalem Ileum chemisch vorkontrahiert.

Dadurch entwickelte sich ein konstanter Kontraktionstonus, der es ermöglichte eine dilatierende bzw. spasmolytische Wirkung untersuchen zu können.

Für die Versuche an Aorta und an der Arteria pulmonalis wurde eine $90 \text{ } \mu\text{mol/l}$ KCL-Lösung bzw. für Darmversuche eine $60 \text{ } \mu\text{mol/l}$ KCL-Lösung verwendet.

Organ	MGpy1 fc $\pm$ SEM (%) bei $100 \text{ } \mu\text{mol/l}$ Endkonzentration	EC_{50} ($\mu\text{mol/l}$)
Aorta	$-25,45 \pm 4,11$	>100
Arteria pulmonalis	$-44,30 \pm 7,23$	>100
terminales Ileum	$-80,65 \pm 0,0$	9

Tabelle 12: Wirkung von MGpy1 auf glatte Muskulatur

Die Tabelle zeigt, dass MGpy1 eine starke Wirkung auf glattemuskuläre Organe hat. Der Kontrollwert beim terminalen Ileum betrug $8,62 \pm 0,82 \text{ mN}$. Bei der kumulativen Zugabe von MGpy1 kam es zu einer stetigen Abnahme der Kontraktionskraft. Eine signifikante Änderung trat erst nach dem Zusatz von $30 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ein. Der tiefste Wert wurde bei $100 \text{ } \mu\text{mol/l}$ erreicht. Der EC_{50} -Wert betrug dabei $9 \text{ } \mu\text{mol/l}$.

Bei der Aorta betrug die Kontraktionskraft in der Kontrollphase $11,00 \pm 2,03 \text{ mN}$. Im Laufe des Versuches kam es im Vergleich zum terminalen Ileum zu einer geringeren Abnahme der

Kontraktionskraft. Die erste signifikante Abnahme wurde nach dem Zusatz von 30 $\mu\text{mol/l}$ registriert ($8,22 \pm 1,75\text{mN}$). Die Endkonzentration betrug $9,31 \pm 1,84\text{mN}$. Durch den Vergleich des Kontrollwerts mit dem Endwert erkennt man die signifikante Abnahme der Kontraktionskraft.

Bei der Arteria pulmonalis wird die Abnahme der Kontraktionskraft bei der Endkonzentration von $5,64 \pm 1,12\text{mN}$ verglichen mit dem Kontrollwert ($10,23 \pm 1,31\text{mN}$) deutlich erkennbar. Auch hier verringerte sich die Kontraktionskraft während des Versuchsablaufs geringfügig. Eine deutliche Änderung trat erst durch den Zusatz von 30 $\mu\text{mol/l}$ von MGPY1 ein. Der EC_{50} -Wert konnte ermittelt werden. Nur beim Darm lag dieser bei 9 $\mu\text{mol/l}$.

6.3. Versuchsreihen mit MGpy1 in Kombination mit Nitro-L-Arginin

Insgesamt wurden drei Versuche am terminalen Ileum mit 100 μl Nitro-L-Arginin und 10 μl Testsubstanz durchgeführt.

In den Versuchen wurde festgestellt, ob unter Einfluss von Nitro-L-Arginin, das ein NO-Antagonist ist, NO endothelial freigesetzt wird und damit eine Relaxation entsteht.

6.3.1. Versuch mit MGpy1 in Kombination mit 100 μl Nitro-L-Arginin

Bei diesem Versuch wurden 100 μl Nitro-L-Arginin verwendet, welches mittels Pipette dem Organbad beigemischt wurde. Nach dem Erreichen der Plateauphase und nach 45 Minuten wurden 10 $\mu\text{mol/l}$ MGpy1 hinzugefügt.

Der Kontrollphase betrug $7,82 \pm 0,88\text{mN}$ und erreichte gegen Ende des Versuches $4,49 \pm 1,28\text{mN}$.

An den Werten ist ersichtlich, dass durch NO-Freisetzung zu einer spasmolytischen Wirkung kam.

7. Zusammenfassung

Das Ziel dieser wissenschaftlichen Arbeit war die in-vitro-Untersuchung der an der Abteilung für Medizinische/Pharmazeutische Chemie der Universität Wien synthetisierten Testsubstanz MGpy1.

Die verwendete Testsubstanz MGpy1 wurde an fünf verschiedenen Organen (Arteria pulmonalis, Atrium dextrum, Aorta, Musculus papillaris und terminales Ileum) mit den Konzentrationen 1 $\mu\text{mol/l}$, 3 $\mu\text{mol/l}$, 10 $\mu\text{mol/l}$, 30 $\mu\text{mol/l}$ und 100 $\mu\text{mol/l}$ an Meerschweinchen getestet.

Die negative bzw. positive Inotropie wurde am Musculus papillaris überprüft, beim Atrium dextrum wurde der Einfluss der Testsubstanz auf die Chronotropie getestet. Bei den übrigen Präparaten, den glattmuskulären Organen, wurde die Wirkung von MGpy1 (Testsubstanz) auf die Kontraktionskraft genauer untersucht.

Für eine repräsentative Aussage war es wichtig vier Versuchsreihen pro Organ durchzuführen.

Am Papillarmuskel kam es durch den Zusatz der Testsubstanz MGpy1 zu einer geringeren Inotropie-Abnahme. Beim Vorhof wurden die Schläge pro Minute gezählt.

Beim Papillarmuskel konnte kein EC_{50} -Wert ermittelt werden, während beim Vorhof der EC_{50} -Wert bei 16,5 $\mu\text{mol/l}$ lag.

Bei Aorta und Pulmonalarterie kam es zu einer schwachen vasodilatierenden Wirkung und es konnte kein EC_{50} -Wert ermittelt werden.

Beim terminalen Ileum konnte eine sehr starke spasmolytische Wirkung festgestellt werden.

Während des gesamten Versuches kam es zur Reduktion der Kontraktionskraft, eine signifikante Abnahme lag erst ab einer Konzentration von 30 $\mu\text{mol/l}$ vor. Hier lag der EC_{50} -Wert bei 9 $\mu\text{mol/l}$.

Aufgrund der stärkeren Abnahme der Kontraktionskraft beim terminalen Ileum wurde der Wirkmechanismus der Testsubstanz herangezogen. Dabei wurde Nitro-L-Arginin verwendet.

Somit könnte die spasmolytische Wirkung von MGpy1 teilweise durch NO-Freisetzung verursacht werden.

8. Literaturverzeichnis

Aktoris K, Förstermann u, Hofmann F, Starke K(2005) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 9. Auflage, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag München.

Ammon PTH(2004) Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch, 9. Auflage, GmbH und Co.KG, Berlin.

Campbell Neil A, Jane B.Reece(2003)Biologie, 6. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin.

Ehlers Eberhard (2003) Chemie 1 Kurzlehrbuch Allgemeine und Anorganische Chemie, 8. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart.

Estler CJ, Schmidt H (2007) Pharmakologie und Toxikologie : Für Studium und Praxis 6. Auflage, F.K. Verlag GmbH.

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

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

Netter FH (2003) Atlas Anatomie des Menschen. 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Oberdisse E, Hackenthal E, Kuschinsky K (2001) Pharmakologie und Toxikologie. 3. Auflage, Springer Berlin.

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

9. Curriculum Vitae

Persönliche Daten :

Geburtsdatum: 30. 04. 1986

Geburtsort: Kuwait- City

Familienstand: Ledig

Staatsbürgerschaft: Österreich

Eltern: Dr. Hassan Makky, Mag. Nagwa El-Amroussy

Geschwister: Mag.pharm. Mae Fadar

Ausbildung:

Schulausbildung und Studium:

- 1992 -1996 Grundschule: Om al Qura Schule in Kuwait City, Kuwait
- 1996 – 2000 Mittelschule: International School in Kuwait City, Kuwait
- 2000 – 2003 Arabische Schule in Wien 16; abgeschlossen mit Matura, Juni 2003
- März – Juni 2004 Vorstudiumlehrgang an der Universität Wien
- Seit Okt. 2004 Studium der Pharmazie an der Universität Wien

Berufserfahrung:

- Mai - Aug. 2004 McDonald's Johannesgasse 1010 Wien; Kassiererin
- Mai - Nov. 2006 MANGO, Kärntnerstrasse, 1010 Wien, Kassiererin
- Mai - Sep.2007 Mohren Apotheke, Wipplinger Strasse, 1010 Wien, studentische Aushilfe
- Jan. 2009 – heute Vindobona Apotheke, Bauernfeldplatz, 1090 Wien; studentische Aushilfe
- Nov. 2011 Koordinationsstelle für Frauenförderung und Gender Studies an der

TU Wien, 1040 Wien: Praktikantin

Kenntnisse & Sprachen:

- EDV Kenntnisse: MS Word, MS Powerpoint, Internet Explorer

Sprachen: Arabisch Muttersprache, Deutsch fließend, Englisch fließend