

### 3. Ergebnisse

Für die Experimente wurden die männlichen Lewis-1a-Ratten durch einen Schlag auf den Kopf betäubt und die Aorta durchtrennt. Die Aorten/Tracheen wurden in Krebs-Henseleit-Lösung getaucht und unter mikroskopischer Kontrolle vom umgebenden Gewebe befreit. Anschließend wurden sie in gleich große Trachealringe (2 Knorpelspangen) oder Aortenringe (2-3 mm lang) zerteilt. Die Aorten- bzw. Trachealringpräparationen wurden zwischen zwei Metallhaken gespannt, wobei der untere befestigt war und als Fixpunkt diente.

Der obere Haken war an einen isometrischen Transducer angeschlossen und eine Änderung der Spannung am Aorten- bzw. Tracheamuskel wurde verstärkt und von einem Multikanalschreiber registriert. Die Aorten- bzw. Trachealringpräparationen an den Metallhaken befanden sich in einem doppelwandigen Organbad, welches innen mit Krebs-Henseleit-Lösung (25 ml) gefüllt war. Unten im Organbad mündete eine Zuleitung über die ständig Sauerstoff und Kohlendioxid zugeführt wurden, die eine gute Verteilung der verwendeten Substanzen ermöglichten.

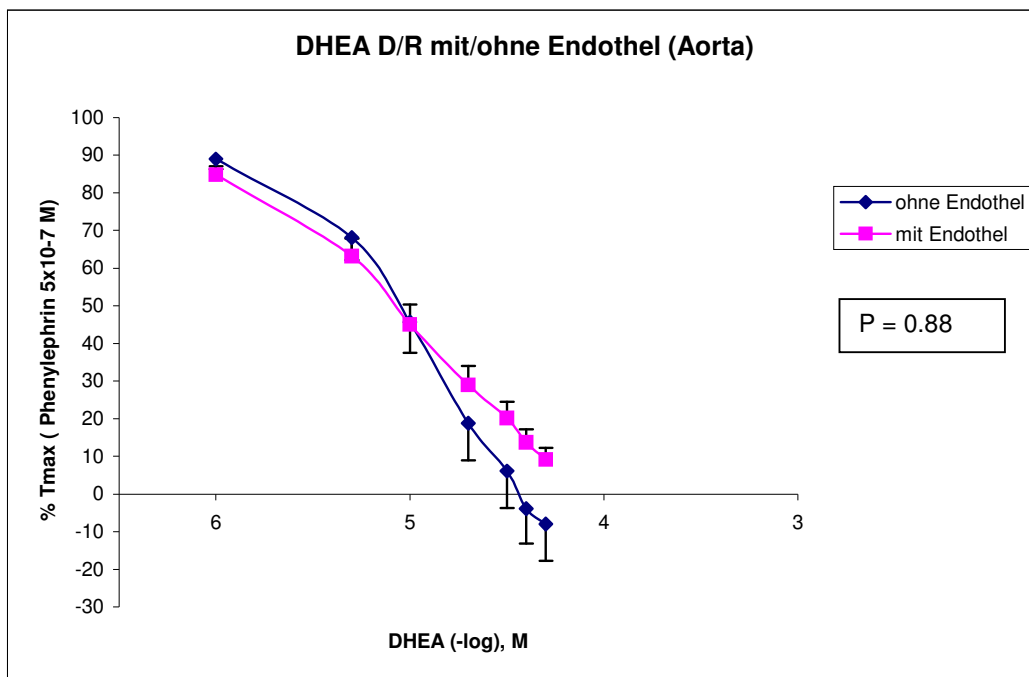
Nach einer Phase der Stabilisierung wurde der glatte Muskel stufenweise auf seine optimale Länge vorgespannt (Gegengewicht von ungefähr 1.5 g). Dann folgte eine Testkontraktion mit Carbachol (Trachea) oder Phenylephrin (Aorta), welches anschließend ausgewaschen wurde.

Die Aorten- oder Trachealringe mit oder ohne Endothel/Epithel wurden mit verschiedenen Substanzen in vitro prekontrahiert und mit kumulativen Konzentrationen von DHEA relaxiert. In einer anderen Serie von Experimenten wurde durch Präinkubation mit unterschiedlichen blockierenden Agenzien versucht, die Effekte von DHEA zu blockieren.

### 3.1. Versuchsgruppen mit Aorta der Ratte

#### 3.1.1. Wirkung des Endothels auf die Relaxation durch DHEA an Aortenringen

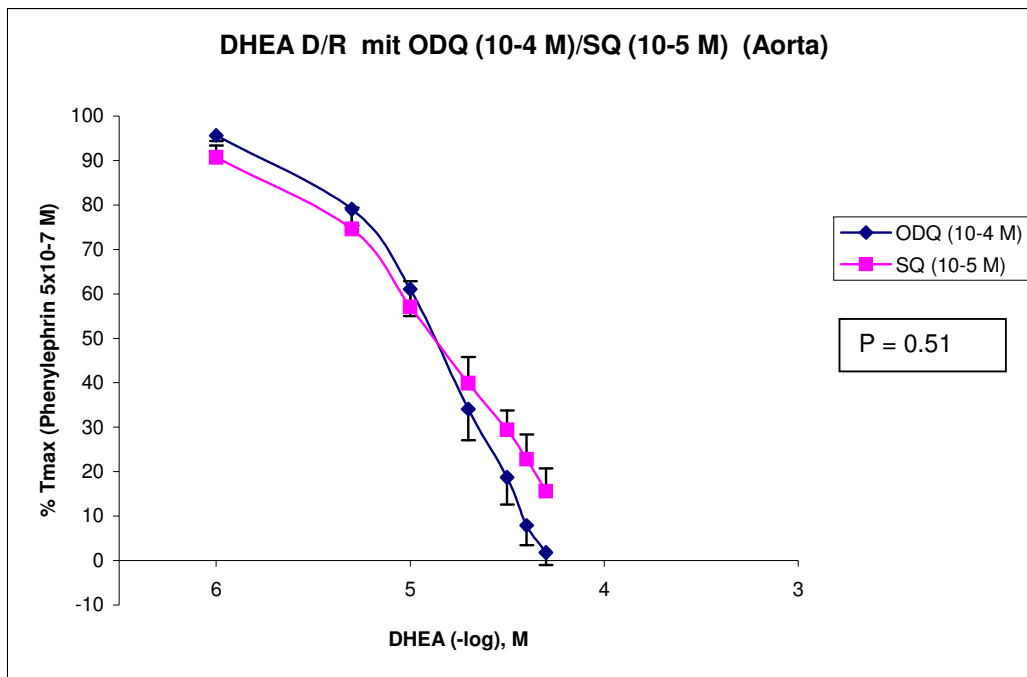
Bei einem Teil der Aortenringe wurde das Endothel mit einem Wattestäbchen entfernt, bei den anderen Aortenringen wurde das Endothel intakt gelassen. Die Reaktion auf DHEA nach Kontraktion mit Phenylephrin ( $5 \times 10^{-7}$  M) war in beiden Versuchsgruppen annähernd gleich ( $ED_{50}$  +Endothel vs -Endothel:  $5.15 \pm 0.08$  vs  $5.13 \pm 0.11$ ; n: 9 vs 6). Die Aortenringe mit Endothel relaxierten sich um etwa 90% und die Aortenringe ohne Endothel zeigten eine vollständige Relaxation (108%, Abbildung 6). Beim Vergleich der beiden  $ED_{50}$ -Werte war kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ( $P = 0.88$ ).



**Abbildung 6.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattenaortenringen entweder mit Endothel (n = 9) oder ohne (n = 6). Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Phenylephrin ( $5 \times 10^{-7}$  M) erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.1.2. Effekte von cGMP-/cAMP-Blockern auf die Relaxation durch DHEA an Aortenringen

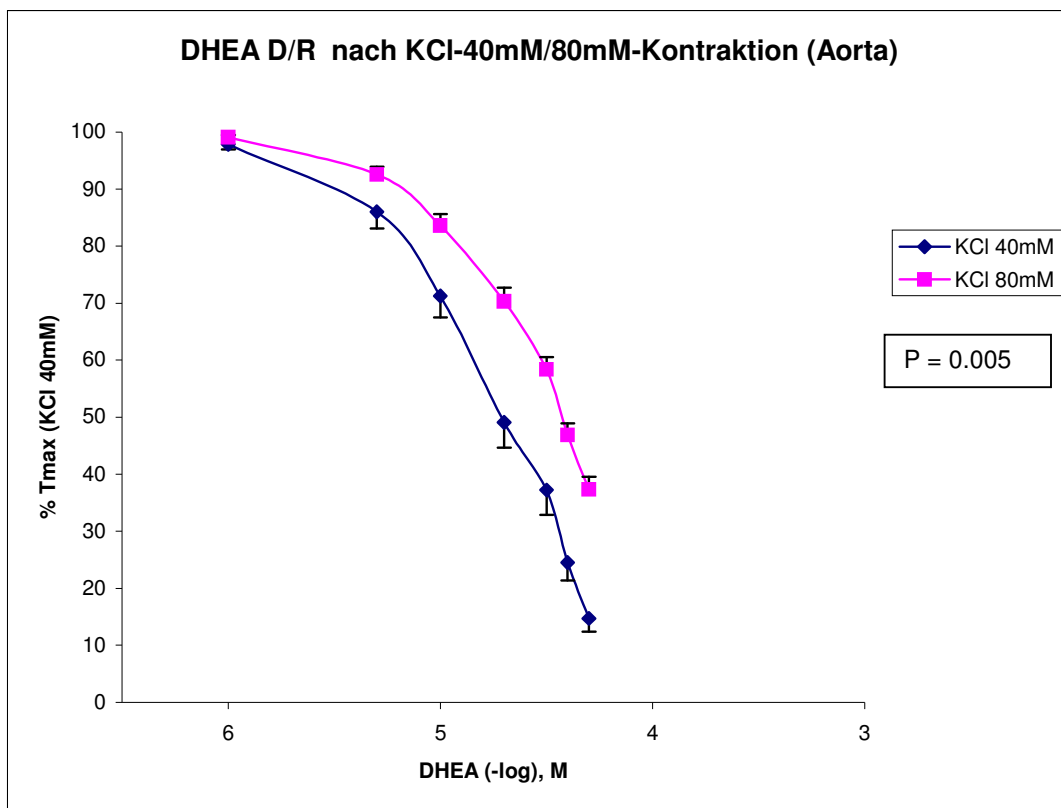
Die Aortenringpräparationen, die nach Kontraktion mit Phenylephrin ( $5 \times 10^{-7}$  M) 30 Minuten lang entweder mit ODQ ( $10^{-4}$  M) oder mit SQ 22536 ( $10^{-5}$  M) präinkubiert wurden, relaxierten sich stufenweise bei Verabreichung von DHEA, wie in Abbildung 7 zu sehen. Dabei relaxierten sich die Aortenringe mit ODQ nahezu vollständig (98%) und die mit SQ 22536 um etwa 85% ( $ED_{50}$  ODQ vs SQ:  $4.99 \pm 0.08$  vs  $4.90 \pm 0.09$ ; n: 7 vs 5). Wenn man die beiden  $ED_{50}$ -Werte miteinander vergleicht, findet sich kein signifikanter Unterschied ( $P = 0.51$ ).



**Abbildung 7.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattenaortenringen, die entweder mit ODQ  $10^{-4}$  M (n = 7) oder mit SQ  $10^{-5}$  M (n = 5) 30 min präinkubiert wurden. Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Phenylephrin ( $5 \times 10^{-7}$  M) erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.1.3. Einfluss von Kaliumchlorid auf die Relaxation durch DHEA an Aortenringen

Die mit 40 mM Kaliumchlorid (KCl) kontrahierten Aortenringe relaxierten sich bei der Gabe von DHEA besser, als die mit 80 mM KCl kontrahierten (Abbildung 8). Die Relaxation nach Kontraktion mit 40 mM KCl erfolgte um ungefähr 85% der ursprünglich entwickelten Kraft, während die mit 80 mM KCl kontrahierten Aortenringe nur um etwa 63% erschlafften ( $ED_{50}$  40 mM KCl vs 80 mM KCl:  $4.76 \pm 0.06$  vs  $4.45 \pm 0.02$ ; n: 6 vs 6). Eine Kontraktion mit 80 mM Kaliumchlorid verschiebt die DHEA-Konzentrations-Wirkungs-Kurve nach rechts ( $P = 0.005$ ).

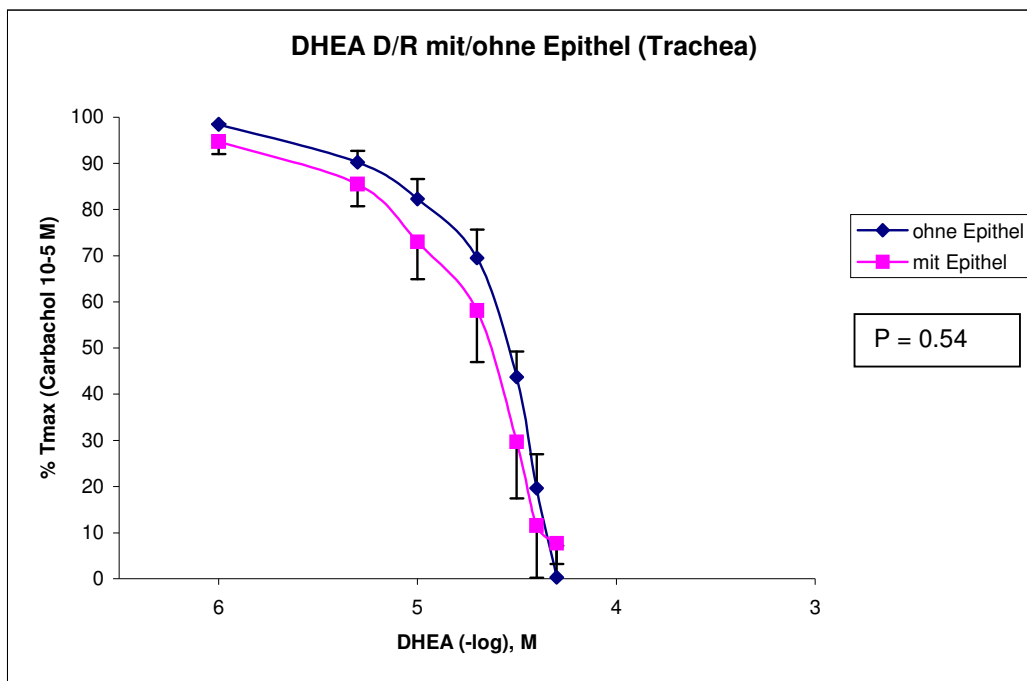


**Abbildung 8.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattenaortenringen, die entweder mit KCl 40 mM (n = 6) oder mit KCl 80 mM (n = 6) kontrahiert wurden. Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Kaliumchlorid erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.2. Versuchsgruppen mit Trachea der Ratte

#### 3.2.1. Wirkung des Epithels auf die Relaxation durch DHEA an Trachealringen

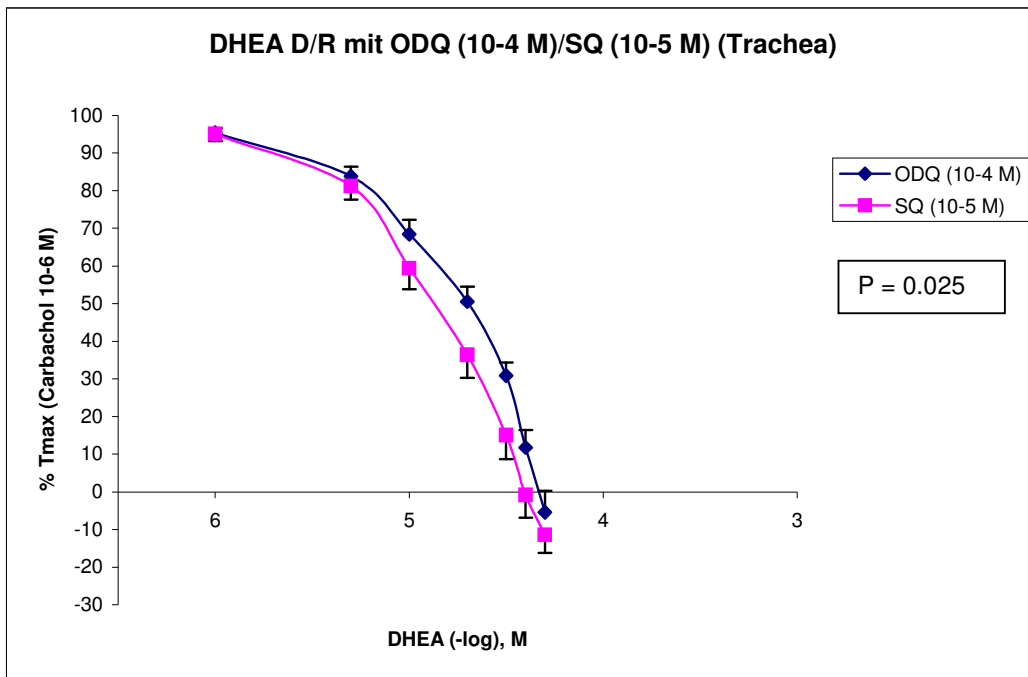
Die DHEA-Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die Trachealringpräparationen mit oder ohne Epithel nach Kontraktion mit Carbachol ( $10^{-5}$  M) sind annähernd gleich. Wie auch in Abbildung 9 zu sehen ist, relaxierten sich beide Versuchsgruppen fast vollständig. Die Kurve ohne Epithel liegt dabei etwas weiter rechts als die mit Epithel ( $ED_{50}$  +Epithel vs - Epithel:  $4.72 \pm 0.11$ ; vs  $4.82 \pm 0.11$ ;  $n = 6$  vs  $6$ ), d.h. die Trachealringe ohne Epithel relaxierten sich nach Verabreichung von DHEA minimal schlechter. Dieser Unterschied der beiden  $ED_{50}$ -Werte mit und ohne Epithel ist nicht signifikant ( $P = 0.54$ ).



**Abbildung 9.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattentrachealringen entweder mit Epithel ( $n = 6$ ) oder ohne ( $n = 6$ ). Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Carbachol ( $10^{-5}$  M) erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.2.2. Effekte von cGMP-/cAMP-Blockern auf die Relaxation durch DHEA an Trachealringen

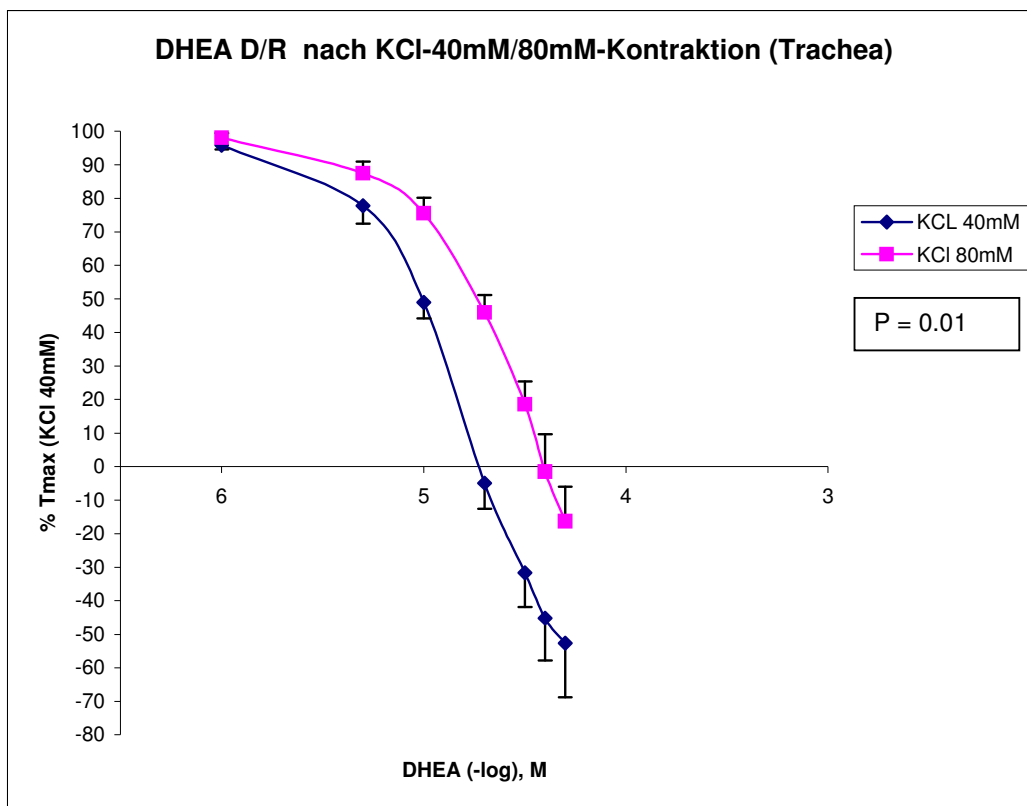
Die Trachealringpräparationen wurden zuerst mit Carbachol ( $10^{-6}$  M) kontrahiert und anschließend mit ODQ ( $10^{-4}$  M) oder SQ 22536 ( $10^{-5}$  M) präinkubiert. Dabei erfolgte die Relaxation mit DHEA in beiden Versuchsgruppen vollständig (ODQ: 105%; SQ: 111%), (Abbildung 10). Die Trachealringe, die mit ODQ präinkubiert wurden, relaxierten sich bei Gabe von DHEA besser als die mit SQ 22536 präinkubierten Trachealringe ( $ED_{50}$  ODQ vs SQ:  $4.83 \pm 0.03$  vs  $5.0 \pm 0.07$ ;  $n: 9$  vs  $6$ ). Die Kurve liegt demzufolge etwas weiter links im Diagramm ( $P = 0.025$ ).



**Abbildung 10.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattentrachealringen, entweder mit ODQ  $10^{-4}$  M ( $n = 9$ ) oder mit SQ  $10^{-5}$  M ( $n = 6$ ) 30 min präinkubiert. Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Carbachol ( $10^{-6}$  M) erzielt wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.2.3. Einfluss von Kaliumchlorid auf die Relaxation durch DHEA an Trachealringen

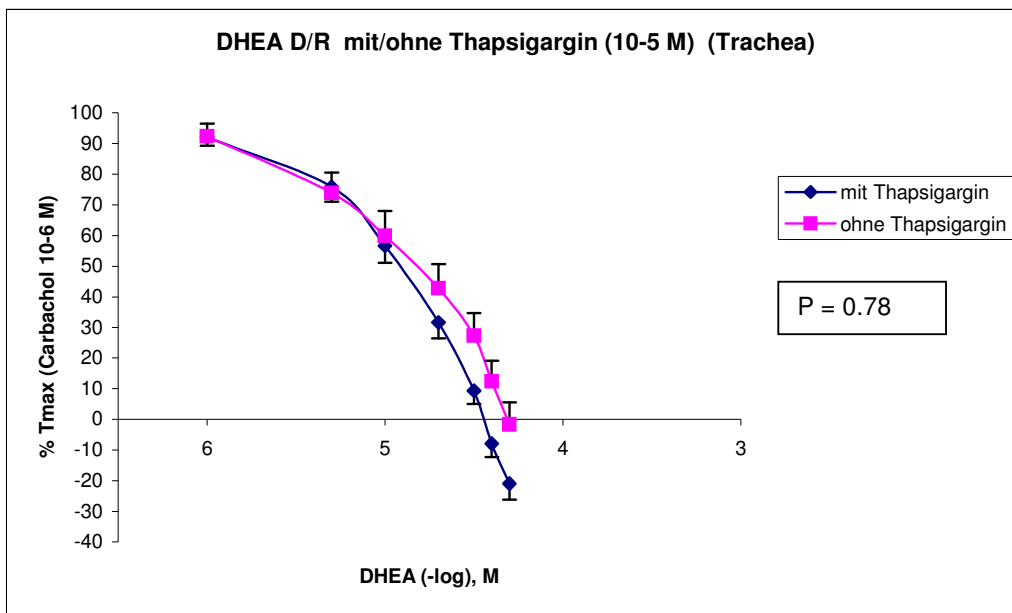
Die mit Kaliumchlorid (KCl) 80 mM kontrahierten Trachealringe erschlafften deutlich schlechter als die mit KCl 40 mM kontrahierten. Wie in Abbildung 11 zu sehen ist, erfolgte die Relaxation der mit KCl 40 mM behandelten Trachealringe um 153% der ursprünglich entwickelten Kraft und der mit KCl 80 mM kontrahierten um 116% (ED<sub>50</sub> KCl 40 mM vs KCl 80 mM:  $5.1 \pm 0.07$  vs  $4.79 \pm 0.07$ ; n: 6 vs 6). Die Kontraktion mit Kaliumchlorid 80 mM verschiebt folglich die DHEA-Konzentrations-Wirkungs-Kurve nach rechts (P = 0.01).



**Abbildung 11.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattentrachealringen, die entweder mit KCl 40 mM (n = 6) oder mit KCl 80 mM (n = 6) kontrahiert wurden. Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Kaliumchlorid erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.

### 3.2.4. Wirkung von Kalzium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum auf die Relaxation durch DHEA an Trachealringen

Die Trachealringpräparationen, die nach der Kontraktion mit Carbachol ( $10^{-6}$  M) mit Thapsigargin ( $10^{-5}$  M) behandelt wurden, relaxierten sich nach Gabe von DHEA um 120%. Die Kontrollgruppe, die auch mit Carbachol ( $10^{-6}$  M) kontrahiert wurde, relaxierte sich um 102% ( $ED_{50}$  TG vs Kontrolle:  $5.01 \pm 0.08$  vs  $4.96 \pm 0.12$ ; n: 3 vs 5). Die beiden Kurven haben einen sehr ähnlichen Verlauf (Abbildung 12). Beim Vergleich der  $ED_{50}$ -Werte ist kein signifikanter Unterschied festzustellen ( $P = 0.78$ ).



**Abbildung 12.** Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die mit DHEA induzierte Relaxation an Rattentrachealringen nach Behandlung mit Thapsigargin ( $10^{-5}$  M), (n = 3) bzw. für die Kontrolle (n = 5). Die Spannung wird ausgedrückt als Prozentsatz der maximalen Spannung, die mit Carbachol ( $10^{-6}$  M) erreicht wurde. Die Konzentrationen von DHEA sind dargestellt als negative Logarithmen der Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler.