

Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
(Direktor Univ.–Prof. Dr. Michael Wendt)
der medizinischen Fakultät der Ernst–Moritz–Arndt–Universität Greifswald

**Der Einfluss von Akrinor® auf den Tonus von Koronararterien
des Schweins in vitro und der zugrunde liegende Mechanismus**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des akademischen
Grades
Doktor der Medizin
(Dr. med.)
der
medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt Universität
Greifswald
2008

Vorgelegt von:
Sebastian Föllner
geboren am 8.11.1977
in Brandenburg an der
Havel

Dekan:

1. Gutachter: Prof. Dr. M. Wendt

2. Gutachter: Prof. Dr. F. König

Ort, Raum: Klinik für Innere Medizin B, Seminarraum

Tag der Disputation: 12.1.09

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	5
1.1. VERGLEICHENDE ANATOMIE DER MENSCHLICHEN KORONARARTERIEN UND DENEN DES SCHWEINS	6
1.2. PHYSIOLOGIE DER KARDIALEN BLUTVERSORGUNG	7
1.3. HISTOLOGISCHER AUFBAU DER GEFÄßWAND	10
1.4. DIE KONTRAKTION DER GLATTEN MUSKELZELLE	12
1.5. SIGNALKASKADEN DER GLATTEN MUSKELZELLE BEGINNEND MIT DER TRANSMEMBRANÖSEN SIGNALTRANSDUKTION	14
1.6. DIFFERENZIERUNG DER TRANSMEMBRANÖSEN K ⁺ -KANÄLE	16
1.7. CHARAKTERISIERUNG DER CALCIUMKANÄLE GLATTER MUSKELZELLEN	18
1.8. ROLLE DER INTRAZELLULÄREN SIGNALTRANSDUKTIONSWEGE	20
1.9. RELAXATION DER GLATTEN MUSKULATUR DURCH ZYKLISCHE NUKLEOTIDE	22
1.10. WIRKUNGSWEISE VON AKRINOR [®]	23
1.11. ZIELSTELLUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT	27
2. MATERIALIEN UND METHODEN	28
2.1. METHODE	28
2.2. MATERIAL	31
2.3. EXPERIMENTELLES PROTOKOLL	33
3. ERGEBNISSE	35
4. DISKUSSION	41
4.1. AKRINOR [®] RELAXIERT DIE KORONARARTERIEN VOM SCHWEIN	43
4.2. AKRINOR [®] FÜHRT NACH PRÄINKUBATION MIT PROPRANOLOL ZU EINER TRANSIENTEN KONTRAKTION DER KORONARARTERIEN DES SCHWEINS.	44
4.3. WEITERFÜHRENDE UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS DER RELAXATION KORONARER ARTERIEN IN VITRO DURCH AKRINOR [®]	48
4.4. VERGLEICHENDE EXPERIMENTE MIT EPHEDRIN	50
4.5. ÜBERTRAGUNG DER EXPERIMENTELLEN DATEN AUF DIE HUMANE MEDIZIN	52
5. ZUSAMMENFASSUNG	55
6. VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN	57
7. LITERATURVERZEICHNIS	58

8. ANHANG	70
8.1. GRAPHISCHE AUSWERTUNG DER WEITEREN EXPERIMENTE	70
8.3. LEBENSLAUF	74
8.2. VERÖFFENTLICHUNGEN	75
<i>8.2.1. Abstracts</i>	75
<i>8.2.2. Artikel</i>	76
EIDESTÄTLICHE ERKLÄRUNG.....	77

1. Einleitung

Das Medikament Akrinor[®] erhielt 1963 als Antihypotonikum seine Zulassung und befindet sich seit 1964 im Handel. Dieses Medikament ist die Kombination zweier Konjugate sympathomimetisch aktiver Substanzen. Es handelt sich dabei zum einen um Cafedrin ([1 R, 2S]-7-[2-(1-Methyl-2-hydroxy-2-phenylethylamino)-ethyl]-theophyllin HCl) und zum anderen um Theodrenalin (7-{2-[2-Hydroxy-2-(3,4 dihydroxyphenyl)-ethyl]-theophyllin HCl). Cafedrin ist eine Verbindung von Norephedrin und Theophyllin. Theodrenalin entspricht einer Veresterung von Theophyllin mit Noradrenalin. Die Kombination von diesen Wirkstoffen findet eine breite Verwendung innerhalb der Anästhesie sowie in der Inneren Medizin bei der Therapie transienter Hypotonien.

Obwohl tierexperimentell unter Akrinor[®] eine Zunahme der koronaren Durchblutung am Hund nachgewiesen wurde (17, 31), liegen seltene klinische Berichte von cerebralem und myokardialem Infarktgeschehen nach der Anwendung von Akrinor[®] vor (35, 36, 51). In einem Fallbericht von Kulka et al. (10) erleidet eine 31 Jahre alte Patientin im Rahmen einer Periduralanästhesie bei Sectio caesarea einen Myokardinfarkt nach Therapie einer Hypotonie mit Akrinor[®]. Des Weiteren liegt eine klinische Studie von Schleusing und Bartsch (51) mit Hinweisen auf kardiale Ischämie unter Akrinor[®]gabe vor. Es werden Angina pectoris typische Symptome, begleitet von einer kardialen Arrhythmie nach intravenöser Applikation von Theodrenalin, bei Patienten mit koronaren Gefäßerkrankungen und arterieller Hypertonie beschrieben. Diese Beobachtungen lassen auf eine durch Akrinor[®] verursachte Konstriktion der Koronararterien schließen. Derzeit liegen keine umfassenden Untersuchungen zur lokalen Wirkung von Akrinor[®] auf Koronararterien vor.

Es wurde in einem ersten Schritt die Wirkung von Akrinor[®] in einem in vitro Modell der Koronararterien vom Schwein bei zwei unterschiedlichen Zuständen der Kontraktion untersucht. Da in der Literatur ein adrenerges Wirkprinzip breite Akzeptanz gefunden hat (7, 8, 17, 24, 29), wurde der Effekt von Akrinor[®] mit und ohne Blockade der adrenergen β -Rezeptoren untersucht. Zur weiteren Klärung möglicher, beteiligter Mechanismen wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit

Experimente nach Blockade dopaminerger und Stimulation von Adenosinrezeptoren durchgeführt. Um Aufschluss über die Rolle von Stickstoffmonoxid (NO) zu erhalten, zerstörten wir in einer experimentellen Reihe mechanisch das Endothel der Koronararterien. Wie bereits oben angeführt, besteht das Medikament Akrinor[®] aus zwei Wirkstoffen. Daher wurden für die vorliegende Arbeit Cafedrin und Theodrenalin getrennt untersucht.

Aufgrund auslaufender Sonderregelungen für die Zulassung war der Vertrieb des Medikamentes Akrinor[®] zeitweise eingestellt worden. Es entwickelte sich die Diskussion über ein Alternativpräparat (57). Derzeit wird Akrinor[®] nur in Deutschland, Österreich, Südafrika und in den Ländern der ehemaligen UdSSR verwendet. Die übrigen europäischen Länder, USA und Kanada verwenden bei vergleichbarer Indikation den sympathomimetischen Wirkstoff Ephedrin. Im Zusammenhang mit der Verwendung von Ephedrin sowohl bei medizinischer Indikation als auch bei nicht medizinischer Verwendung liegen Fallberichte über kardiales ischämisches Geschehen vor (60, 61, 68, 69). Mit dem Ziel, für beide Medikamente direkt vergleichbare Daten zu entwickeln, führten wir ergänzende Untersuchungen mit dem Wirkstoff Ephedrin durch.

1.1. Vergleichende Anatomie der menschlichen Koronararterien und denen des Schweins

Der Herzmuskel wird durch die Arteriae coronariae cordis mit den notwendigen Nährstoffen und Sauerstoff versorgt. Diese sind paarig angelegt und entspringen aus dem Sinus aortae oberhalb der Aortenklappe. Die Arteria coronaria sinistra verläuft zwischen dem Truncus pulmonalis und dem linken Herzohr und teilt sich im Sulcus coronarius sinister in den Ramus circumflexus und den Ramus interventrikulare anterior im Sulcus interventricularis anterior. Die Arteria coronaria dexter verläuft unter dem rechten Herzohr durch den Sulcus coronarius dexter in den Sulcus interventricularis posterior. Von dort an wird sie als Ramus interventricularis posterior bezeichnet und reicht bis zur Herzspitze (12). Eine orientierende Darstellung des Verlaufs beider Koronararterien findet sich in Fig. 1.1. Ein besonderes Augenmerk verdient die Tatsache, dass bei nur neun Prozent der Menschen funktionsfähige und klinisch relevante Anastomosen zwischen den

beiden Koronararterien existieren. Daher sind die Koronararterien prinzipiell als funktionelle Endarterien anzusehen.

Die Anatomie der Koronararterien des Schweins ist, hinsichtlich der vaskulären Versorgung, der humanen identisch. Zu diesem Ergebnis kommen die Studien von Crick et al. (81) sowie Weaver et al. (84). Im Rahmen dieser Studien wurden kardiale Gefäßsysteme präpariert.

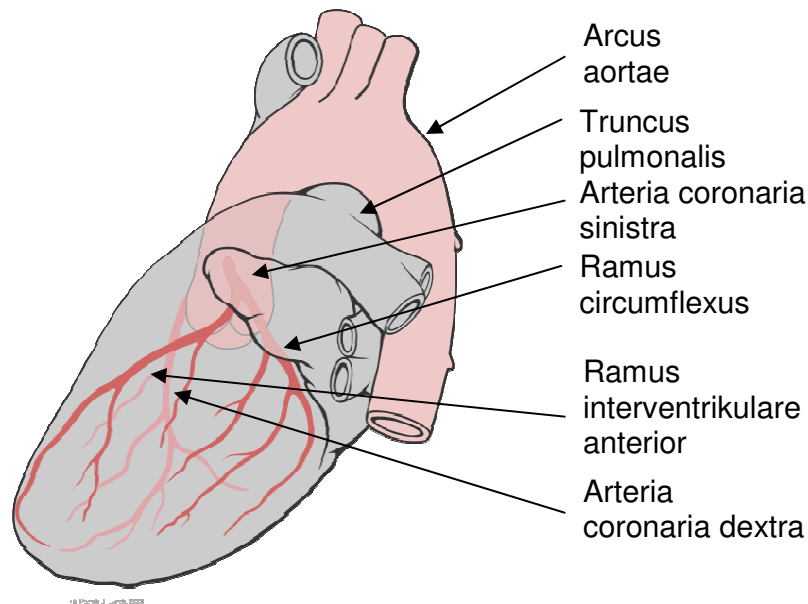


Fig. 1.1: Stark vereinfachte Darstellung der Anatomie der humanen Koronararterien von lateral (95)

1.2. Physiologie der kardialen Blutversorgung

Im Unterschied zu anderen Organen, bei denen eine Mangelsituation als erstes in der nutritive Versorgung auftritt, besteht der Schwachpunkt der kardialen Versorgung im Sauerstoffbedarf. Die Sauerstoffausschöpfung ist wesentlich höher. Ausgehend davon, dass ein Liter Blut nach der pulmonalen Oxygenierung ca. 0,2 l Sauerstoff enthält, werden im Herzmuskel rund 0,14 l Sauerstoff extrahiert (11). Eine Steigerung dieser Sauerstoffaufnahme aus dem Blut ist nicht möglich. Der erhöhte Sauerstoffbedarf bei einer Mehrbelastung ist daher nur durch eine verstärkte Durchblutung des Herzmuskelgewebes zu sichern. Im Zustand der relativen Ruhe erhält der Herzmuskel über die Koronararterien ca. 5 % des Herzminutenvolumens. Dies entspricht 0,8-0,9 ml/g/min der

Herzmuskelmasse. Es muss also davon ausgegangen werden, dass im Zustand der relativen Ruhe bei einem Herzminutenvolumen von 5 l/min rund 0,25 ml/min Blut durch die beiden Koronararterien fließen. Eine Steigerung dieses Volumens um das Vierfache ist bei einem gesunden Menschen möglich. Diese Anpassungsbreite in der O₂-Versorgung des Herzens wird als Koronarreserve bezeichnet.

Die Durchblutung des Myokards findet paradox zum restlichen Körper statt. Während der Systole drainiert sich der Herzmuskel sich selbst, ähnlich einem Schwamm, in das venöse System. Wenn die Durchblutung also nicht vom systolischen Blutdruck abhängig ist, so bleibt als alleiniger regulierender Faktor der Gefäßradius der Koronararterien übrig. Dieser wird durch den Gefäßtonus gesteuert. Die Bedeutung der Veränderung des Durchmessers kann durch zwei physikalische Gesetze verdeutlicht werden, wenn man die Koronararterien zu starren Röhren idealisiert. Betrachtet man die Koronararterien als starre Röhren, in denen eine laminare Strömung herrscht, so kann die Bedeutung des Gefäßradius an dem Hagen-Poiseulle-Gesetz und an dem Ohm-Gesetz verdeutlicht werden. Das Hagen-Poiseulle-Gesetz beschreibt die Abhängigkeiten der intravaskulären Stromstärke:

$$I = r^4 \pi \Delta p / 8 \eta l$$

(I= intravaskuläre Stromstärke; η = Viskosität; r= Gefäßradius; Δp = Druckgradient; l= Gefäßlänge)

Neben einer Reihe von Konstanten gehen als Variablen der Druckgradient, die Länge des Gefäßes und an erster Stelle der Radius in der vierten Potenz in die Stromstärke ein. Das bedeutet, die Stromstärke ist direkt proportional von der vierten Potenz des Gefäßradius abhängig. Im Ohm-Gesetz spiegelt sich der starke Einfluss des Gefäßradius ebenfalls wider:

$$R = 8 \eta l / r^4 \pi$$

(R= Widerstand; η = Viskosität; r= Gefäßradius, l= Gefäßlänge)

Der Widerstand einer laminaren Strömung in einem starren Rohr ist also indirekt proportional zur vierten Potenz des Gefäßradius. Anhand dieser Gleichungen wird

bestätigt, dass ein Blutgefäß mit einer Vasodilatation bzw. einer Konstriktion einen wirkungsvollen Mechanismus besitzt, die Durchblutung des betreffenden Organs zu regulieren. Diese beiden Gleichungen beschreiben ein mathematisches Modell. Zum einen wird bei der mathematischen Darstellung von einer homogenen Flüssigkeit ausgegangen. Eine Eigenschaft, die dem Blut nur bedingt zukommt. Zum anderen ist hier eine laminare Strömung beschrieben, die keinesfalls in den Koronararterien herrscht. In Abhängigkeiten, deren Verhältnis in die Reynold-Zahl eingehen, geht das Strömungsverhalten des Blutes in eine turbulente Strömung über. Die dabei auftretenden Wirbel in der Flüssigkeit führen zu großen Energieverlusten bzw. erhöhen den Gefäßwiderstand. Aber auch hier spielt der Gefäßinnendurchmesser eine Rolle:

$$R_e = 2r_i v \zeta / \eta$$

(R_e = Reynold-Zahl; r_i = Gefäßinnendurchmesser; v = Flussgeschwindigkeit; η = Viskosität)

Übersteigt die Reynold-Zahl einen kritischen Wert, welcher zwischen 2000-2200 liegt, so ist von einer turbulenten Strömung auszugehen. Da die Strömungsgeschwindigkeit in diese Berechnung mit eingeht, spielen Gefäßstenosen ebenfalls eine bedeutende Rolle. An diesen Stellen nimmt die Strömungsgeschwindigkeit stark zu. Aus den angeführten Zusammenhängen geht hervor, wie stark die Durchblutung im menschlichen Körper von dem Gefäßdurchmesser abhängig ist. Die physiologischen Mechanismen des menschlichen Körpers sind darauf ausgerichtet, die Durchblutung einzelner Organe über Vasokonstriktion bzw. Vasodilatation zu regeln. Die Möglichkeiten, den Gefäßdurchmesser zu regulieren, sind dementsprechend zahlreich. Eine zentrale Rolle spielen hierbei die glatten Muskelzellen der Gefäßmedia, welche funktionell eng an das Gefäßendothel geknüpft sind.

1.3. Histologischer Aufbau der Gefäßwand

Zur histologisch und funktionellen Einteilung werden die arteriellen Gefäße des menschlichen Körpers in einen elastischen und einen muskulären Bautyp unterteilt. Zu den Arterien des muskulären Typs zählen die mittleren und kleinen Arterien, also auch die Koronararterien. Neben der Einteilung anhand des histologischen Wandaufbaus der Arterien werden die menschlichen Arterien auch nach dem Innendurchmesser unterteilt. Hierbei spricht man von kleinen Arterien bei einem Durchmesser zwischen 1mm bis 100 µm. Arterien mit einem noch geringeren Durchmesser werden unter der Bezeichnung Arteriolen zusammengefasst. Koronararterien mit einem Durchmesser größer als 250 µm heißen große Koronararterien. Ein Aufbau aus drei Schichten ist allen Blutgefäßen des menschlichen Körpers gemeinsam. Die Tunica intima umfasst dabei das Gefäßendothel und eine Membrana elastica interna, welche gleichzeitig die Abgrenzung zur Tunica media darstellt. Bereits in der Tunica interna kommen Längsmuskelzüge bestehend aus glatter Muskulatur vor. Durch eine adaptive Verdickung der Intima unterscheiden sich Koronararterien von den restlichen kleinen Arterien im Körper. Am Übergang der Tunica intima zur media findet sich eine diffuse und exzentrische Ansammlung von Endothelzellen und Zellen glatter Muskulatur. Zudem finden sich extrazellulär vermehrt Proteoglykane, Kollagene, Laminine und Fibronectin, welche einen deutlichen Anteil an der Verdickung haben. Die physiologische Rolle dieser Besonderheit ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Vermutet wird eine adaptive Veränderung bei hohem Scherstress des Gefäßes (32).

Der großen Druckbelastung Rechnung tragend befindet sich eine stark ausgeprägte Zellschicht glatter Muskulatur in der Tunica media. Diese spiralförmig angeordneten Zellen stellen eine Besonderheit der mittleren Arterien dar. In der Gefäßmuskulatur wird zwischen k-Myocyten und m-Myocyten unterschieden. Erstere bilden das kontraktile Element. Die m-Myocyten stellen einen Übergang zum Myofibroblasten dar. Sie sind befähigt, in die Gefäßintima einzuwandern sowie zur Phagozytose. Bei der Gefäßkontraktion spielen sie nur eine untergeordnete bzw. keine Rolle. Untereinander sind die Zellen der glatten Muskulatur durch niederohmige Kontakte verbunden. Diese, auch als Nexus

bezeichnete, Gap-Junction stellt unter den einzelnen Zellen eine funktionelle Einheit her, da sich über diese Verbindungen die Erregungspotentiale auf alle beteiligten Zellen ausbreiten können. Die zentrale Bedeutung der muskulären Schicht wird durch die Tatsache untermauert, dass myoendotheliale bzw. endothelomyocytäre Kontakte über entsprechende Zellfortsätze nachgewiesen werden konnten (14). Die Integration in das umgebende Gewebe ist die Hauptaufgabe der Tunica externa. Sie besteht vor allem aus kollagenem Bindegewebe und einem Netzwerk aus elastischen Fasern. Glatte Muskulatur kommt hier nicht vor.

Die glatte Muskulatur stellt neben der quergestreiften Skelettmuskulatur und der Herzmuskulatur eine eigene Untergruppe des menschlichen Muskelgewebes dar. Die an den Enden meist spitz zulaufenden Zellkörper haben je nach Zustand der Kontraktion eine Größe zwischen 50 und 200 μm bei einem Durchmesser von 5-10 μm . Größere Zellen kommen im menschlichen Uterus vor. Im Endokard und in der Gefäßmuskulatur können verzweigte Muskelzellen vorkommen. Histologisch unterscheidet sich die glatte Muskelzelle von der Skelettmuskulatur durch einen zentral gelegenen Zellkern und die unregelmäßige Anordnung der Myofibrillen von der Skelettmuskelzelle. Aufgrund der uneinheitlichen Anordnung der dicken Myosinfilamente und der dünneren Aktinfilamente entsteht nicht der optische Eindruck einer Querstreifung der Muskulatur. Die Möglichkeit zur Kontraktion wird ähnlich wie bei der Skelettmuskulatur durch das „Sliding-Filament-Modell“ erklärt. Neben den kontraktilen Aktin- und Myosinfilamenten beinhaltet die Zelle eine Reihe von Intermediärfilamenten vom Desmin- und Vimentintyp, deren Aufgabe zurzeit noch nicht vollständig aufgeklärt ist.

So genannte dichte Körperchen bzw. *Areae densae* befinden sich zwischen den Filamenten verstreut, aber auch auf der Innenseite der Zellmembran. Diese können als Verbundpunkte unter den Filamenten bzw. dieser mit der Zellmembran angesehen werden. Umgeben sind die einzelnen Muskelzellen von einer PAS-positiven Grundsubstanz, welche ein Äquivalent der Basalamina der Epithelzellen entspricht. Wiederum in dieser Grundsubstanz finden sich scheringitterartig angeordnete elastische Faserbündel, welche in ihrer Gesamtheit

die Möglichkeit zur Kraftübertragung von den glatten Muskelzellen auf das Erfolgsorgan darstellen (32).

1.4. Die Kontraktion der glatten Muskelzelle

Wie oben bereits erwähnt, liegt auch der Kontraktion der glatten Muskulatur das „Sliding-Filament-Modell“ zugrunde. Durch Aktivierung der Myosin-ATPase erfolgt das Ineinandergleiten der einzelnen Aktin- und Myosinfilamenten, so dass es zu einer Verkürzung der Zelle kommt. Im Unterschied zur Skelettmuskulatur geschieht diese Interaktion wesentlich langsamer. In der Literatur wird beschrieben, dass die Kontraktion mit einem $1/100$ bis zu $1/1000$ der Geschwindigkeit der Skelettmuskulatur erfolgt (11, 32). Als Ursache werden eine wesentlich geringere Aktivität der ATPase des Myosins sowie der geringe Anteil an Myosinfilamenten gesehen. Die Proteine Kalponin und Kaldesmon sowie das Kalzium bindende Kalmodulin werden dabei als regulative Proteine angesehen. Troponin wurde im Gegensatz zur Skelettmuskulatur und zum Herzmuskel in der glatten Muskulatur nicht nachgewiesen.

Das nach der Erregung der Zelle einströmende Calcium wird zu einem Calcium-Kalmodulin-Komplex (Ca^{2+} -CaM) gebunden, welcher seinerseits die Interaktion mit der Myosinkinase (MLCK) initiiert. Daraufhin beginnt das phosphorylierte Myosin unter Spaltung von ATP die vom Skelettmuskel bekannte zyklische Interaktion mit dem Aktinfilament, wie sie in Abbildung 1.2 schematisiert dargestellt ist. Da diese Interaktion wesentlich langsamer abläuft, ist der Energieverbrauch in der Zelle um den Faktor 100-500 geringer als in der Skelettmuskulatur. Die so entstehenden Kontraktionen sind lang anhaltend, dieser Zustand wird als Latch bezeichnet und führen praktisch zu keiner Ermüdung der Zellen. Eine zentrale Rolle bei der Kontraktion spielt die intrazelluläre Calciumkonzentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) und somit intrazelluläre und extrazelluläre Calciumspeicher. Das Volumen des Calcium speichernden sarkoplasmatischen Retikulums schwankt in der glatten Muskulatur sehr stark.

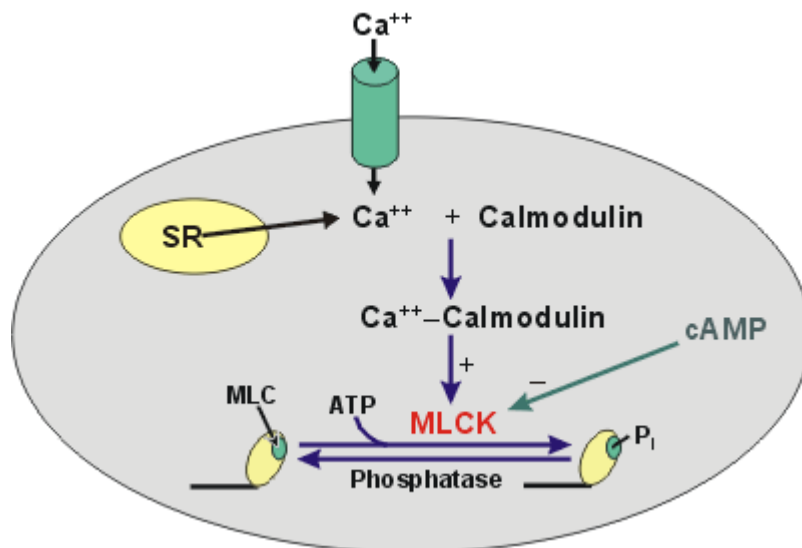


Fig.1.2: Aktivierung der Myosinleichtkettenkinase (93)

Bei der Erregung der Zelle hängt die Stärke der Kontraktion neben der intrazellulären Calciumkonzentration auch von der Calcium-Sensitivierung der kontraktilen Filamente ab. Die hierfür verantwortlichen Prozesse innerhalb der Zelle werden in Figur 1.2 dargestellt. Zur Kontraktion befähigt sind nur die phosphorylierten Anteile der Myosinfilamente. In der Zelle befinden sich die Phosphorylierungsvorgänge und die Dephosphorylierungsvorgänge durch Proteinphosphatasen in einem dynamischen Gleichgewicht. Man geht davon aus, dass diese Vorgänge unabhängig von Calcium reguliert werden können. Dieses dynamische Gleichgewicht kann in eine jeweils bestimmte Richtung verschoben werden. Bei einer Steigerung des phosphorylierten Myosingehaltes in der Zelle reicht eine wesentlich geringere Calciumkonzentration aus, um eine Kontraktion zu verursachen. Bei einer gegenteiligen Verschiebung muss eine entsprechend höhere Calciumkonzentration erreicht werden. Die Relaxation der Zelle wird durch ein Absenken der intrazellulären Calciumkonzentration erreicht. Aktive Transportmechanismen, wie zum Beispiel die sarkoplasmatische Retikulum- Ca^{2+} ATPase (SERCA), entfernen das Calcium aus dem Zellplasma in das sarkoplasmatische Retikulum und die Plasma Membran Ca^{2+} ATPase in das extrazelluläre Kompartiment.

1.5. Signalkaskaden der glatten Muskelzelle beginnend mit der transmembranösen Signaltransduktion

Im klinischen Alltag spielt bei einer ganzen Reihe von Erkrankungen die pharmakologische Beeinflussung der glatten Muskulatur eine große Rolle in der Therapie. In erster Linie ist in dem Zusammenhang der vorliegenden Arbeit an kardiale Ischämien zu denken, sei es durch Vasospasmen wie die Prinz-Metal-Angina oder die klassische Angina pectoris. In der Vergangenheit wurden hier mehrere hochwirksame Vasodilatoren wie zum Beispiel Stickstoffmonoxid (NO) gefunden. Die Entwicklung neuerer wirksamerer Medikamente oder Wirkstoffe, welche sich durch eine höhere Selektivität auszeichnen, verlangt nach einem eingehenden Verständnis der zellulären Mechanismen in Bezug auf die Kontraktion und Relaxation der glatten Muskulatur. Eine große Zahl von Angriffspunkten bietet die Zellmembran mit den strukturell integrierten Rezeptoren, Ionenkanälen und verschiedenen Transportmechanismen. Eine Vielzahl endogener Agenzien reguliert den Tonus der glatten Muskulatur über eine Interaktion mit den Rezeptoren, um eine mechanische Reaktion auszulösen. Dieser Vorgang wird mit dem Begriff der pharmakomechanischen Koppelung beschrieben. Relevanz für die vorliegende Arbeit besitzen vor allem die adrenergen und dopaminergen Rezeptorengruppen als Effektor für Noradrenalin und Norephedrin. Im Hinblick auf Theophyllin sind sowohl der Adenosinrezeptor als membranständiger Rezeptor als auch intrazellulär die Phosphodiesterase von Interesse (91). Adrenozeptoren, Adenosin- und Dopamin-Rezeptoren sind Proteine mit sieben transmembranösen Segmenten und gehören zu den an ein G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Das G-Protein wiederum besteht aus drei Untereinheiten mit der Eigenschaft, Guanyltriphosphat zu binden. Das G-Protein stellt über die Adenylyl-Cyclase die Verbindung zum intrazellulären Second-Messenger her.

Sowohl auf der Ebene der transmembranösen Rezeptoren als auch auf dem Niveau der G-Proteine sind bereits mehrere Subtypen klassifiziert worden. In der Gruppe der Adrenozeptoren werden dabei grundlegend in α_1 , α_2 sowie β_1 , β_2 und β_3 unterteilt. Tiefere Subtypisierungen in den genannten Gruppen liegen vor. An dieser Stelle soll nur darauf verwiesen werden, dass β_2 -Rezeptoren mit

einem die Adenylatcyclase stimulierenden G-Protein (G_s) verbunden sind. Dem steht das Adenylatcyclase hemmende G-Protein (G_i) der α_2 -Rezeptoren gegenüber. Der α_1 -Rezeptor wiederum verfügt über ein G-Protein, welches die Phospholipase C (PLC) stimuliert (G_p) und Inositoltrisphosphat (IP_3) als Second-Messenger verwendet. Zusätzlich stehen die genannten Rezeptoren über weitere G-Protein Unterarten mit Ionenkanälen der Zellmembran in Verbindung, zum Beispiel durch G_K -Protein mit K^+ -Kanälen oder durch G_Z -Protein mit Ca^{2+} -Kanälen (37). Parallel dazu sind fünf Unterarten dopaminergere Rezeptoren bekannt, hier verfügen die Rezeptoren D_1 - sowie D_5 - über ein G_s -Protein und D_2 bis D_4 über ein G_i -Protein. Die genannten Signalwege sind in der Figur 2 zusammengefasst dargestellt. Bedingt durch die Lokalisation der einzelnen Rezeptorunterarten variiert die zelluläre Antwort bei einem Rezeptoragonisten in den unterschiedlichen Gefäßarten. Im Bereich der Koronargefäße überwiegen die β_2 -Rezeptoren (94). In Bezug auf die Wirkung von Akrinor werden die adrenergen, dopaminergen Signalwege sowie die Interaktion der Adenosinrezeptoren in der Diskussion weiter ausgeführt.

Der Signaltransduktionsweg für Theophyllin ist nicht vollständig aufgeklärt. Bekannt ist, dass Theophyllin antagonistisch an Adenosinrezeptoren wirkt. Auch hier sind vier Subtypen klassifiziert worden, welche an G-Proteine gekoppelt sind. Auf diesem Weg und durch die direkte intrazelluläre Inhibition der Phosphodiesterase wird der Abbau von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) verzögert und mit hoher Wahrscheinlichkeit die relaxierende Wirkung vermittelt (91).

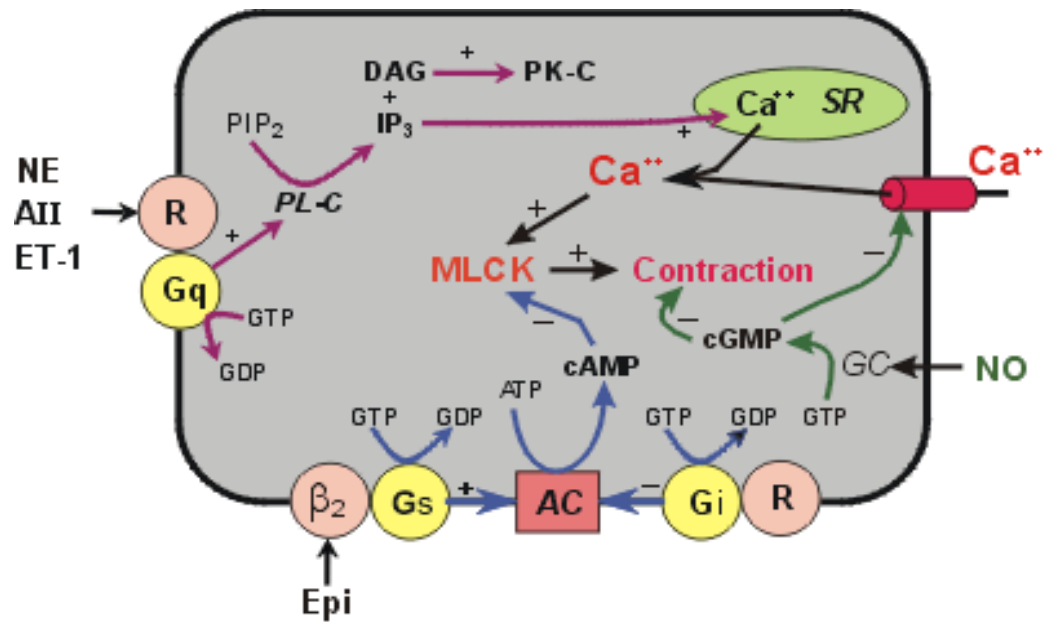


Fig. 2.: Aktivierung der Myosinleichtkettenkinase unter Einbeziehung der intrazellulären Signalkaskade (93)

1.6. Differenzierung der transmembranösen K⁺-Kanäle

Vergleichend in Bezug auf die Erregung der kontraktiven Elemente im Skelettmuskel ist bekannt, dass eine neurogene Depolarisation zu einem Einstrom von Calciumionen (Ca²⁺) führt und es zur Aktivierung der bereits besprochenen kontraktiven Mechanismen kommt. Die Depolarisation entsteht durch eine koordinierte Öffnung und Schließung unterschiedlicher transmembranöser Ionenkanäle, bei denen vor allem die K⁺-Kanäle, Ca²⁺-Kanäle sowie Na⁺-Kanäle eine Schlüsselrolle spielen. Im Vergleich zu den anderen Muskelgeweben treten die Veränderungen langsamer und lang anhaltender ein. Eine vordergründige Rolle spielen dabei K⁺-Kanäle und Ca²⁺-Kanäle. Na⁺-Kanäle konnten in glatter Muskulatur nur sehr vereinzelt nachgewiesen werden. Eine genügend starke Depolarisation in Verbindung mit einem Kaliumausstrom auf ca. -20 mV der Zelle führt immer zu einer Kontraktion der glatten Muskelzelle. Aber nicht jede Kontraktion wird durch eine Depolarisation ausgelöst. Noradrenalin kann einen direkten Calciumeinstrom in die Zelle ohne die Notwendigkeit einer Zellmembrandepolarisation verursachen (37).

Das Ruhepotential von -60 bis -70 mV der glatten Muskelzelle wird im Wesentlichen vom Diffusionsgleichgewicht des Kaliums bestimmt. Bisher wurden dazu drei unterschiedliche K^+ spezifische Ionenkanäle charakterisiert, welche dieses Gleichgewicht durch einen Kaliumausstrom beeinflussen können.

Der **K_{Ca} -Kanal** ist stark in die Modulation des Membranpotentials, auch des Ruhepotentials, involviert. Sie fungieren als negatives Feedback, um den myogenen Tonus arterieller Gefäße zu regulieren. Die Offenwahrscheinlichkeit wird zum einen durch eine Hyperpolarisation der Zellmembran erhöht, zum anderen aber auch durch die intrazelluläre Calciumkonzentration $[Ca^{2+}]_i$ beeinflusst. Wie bereits erwähnt, kann ein Calciumeinstrom auch unabhängig von einer Depolarisation stattfinden, was dann ebenfalls zu einer Öffnung dieses Kanals führt. Tetraethylammoniumchlorid hat sich neben anderen Substanzen in experimentellen Studien als selektiver Blocker dieses Kanaltyps erwiesen.

Der **K_{ATP} -Kanal** wird durch einen erhöhten intrazellulären Adenosintriphosphat Spiegel gehemmt. Eine vollständige Blockierung von ATP führte zu einem persistierenden Kaliumeinstrom. Im Gegensatz dazu führte eine intrazelluläre Applikation von 1 mM ATP zu einer Blockierung des Kanals. Bei der Regulation dieses Kanals wurde auch eine Beteiligung von Guanin Nukleotiden sowie für andere Vasodilatoren durch den Second-Messenger cAMP nachgewiesen. Die physiologische Bedeutung dieses Kanals wird in der Aufrechterhaltung des Ruhepotentials gesehen. Als selektive Blocker werden Phentolamin, Sulfonylharnstoff und Bariumionen genannt. Miyoshi et al. (35) fanden diesen Kanal in picornen Koronararterien und wiesen eine Sensibilität gegenüber extrazellulären Calciumionen nach.

Eine Gruppe von Kanälen wird unter der Bezeichnung „**delayed rectifiers**“ (**K_{DR} -Kanal**) als verzögerte Ausgleicher zusammengefasst. In verschiedenen Experimenten zeigte sich eine Verstärkung des Kaliumausstroms, wenn das Membranpotential Werte zwischen -30 bis -40 mV überstieg. Es wurde eine Öffnung weiterer Kaliumkanäle nachgewiesen. Ihnen gemeinsam ist die Sensibilität gegenüber dem Kaliumkanalblocker 4-Aminopyridin und Phencyclidin. In weiteren Studien wurde aber eine starke Divergenz sowohl in

Bezug auf die Stromstärke als auch bei verschiedenen anderen Charakteristika auf der Zellebene beobachtet. Es wird daher von einer Gruppe verschiedener Kanäle ausgegangen, welche noch näher differenziert werden müssen. Neben dieser allgemeinen Einteilung stehen zahlreiche weitere Versuche der Klassifizierung und Zuordnung der Kaliumkanäle, zum Beispiel unter dem Gesichtspunkt der elektrischen Aktivität von Kanälen.

Der Kaliumausstrom durch die drei genannten Kanäle kann durch 4-Aminopyridin effektiv geblockt werden. Diese gemeinsame Eigenschaft definiert den verursachten Kaliumausstrom als „A-current“ bzw. „A-like-current“. In weiteren Studien wurde ein verzögerter Kaliumeinstrom an isolierten Zellen cerebraler Arterien als auch Arteriolen nachgewiesen. Des Weiteren liegen Hinweise auf einen $[Ca^{2+}]_i$ sensitiven Kaliumausstrom ohne Beteiligung der K_{Ca} -Kanäle vor.

1.7. Charakterisierung der Calciumkanäle glatter Muskelzellen

Im Gegensatz zur kardialen und skelettalen Muskulatur kann eine Kontraktion der glatten Muskulatur auch ohne Depolarisation der glatten Muskelzelle erfolgen. Bereits bei einem Membranpotential größer -50 bis -45 mV kann ein zur Kontraktion führender Calciumeinstrom durch Ca^{2+} -Kanäle und somit eine Kontraktion stattfinden. Für die glatte Muskulatur der kardiovaskulären Widerstandsgefäße wird ein höherer Wert von -20 mV angegeben. Dabei von zentraler Bedeutung ist der „Long lasting current“ **L-Typ bzw. „high threshold activated“ Ca^{2+} -Kanal**. Charakteristisch ist die Blockade durch Dihydropyridin und Verapamil. Dieser Kanaltyp ist praktisch ubiquitär auf glatten Muskelzellen nachweisbar. Er ist charakterisiert durch eine höhere Permeabilität von Bariumionen als Ca^{2+} und eine verzögerte Inaktivierung bei einem geringeren Membranpotential als zur Aktivierung nötig ist. Der Calciumeinstrom, welcher in dieser Überlappung erfolgt, wird als „window-current“ bezeichnet. Calciumkanäle dieser Klassen werden außerdem durch eine erhöhte $[Ca^{2+}]_i$ reguliert. Dieses negative Feedback ist Calcium spezifisch, da es bei Ersetzen des Calciums durch Bariumionen nicht beobachtet werden konnte. Es wurde bereits erwähnt, dass ein

Calciumstrom nicht obligatorisch an eine Zelldepolarisation geknüpft ist. Bestätigt wird diese Beobachtung durch den Nachweis eines Calciumstroms, welcher bereits bei Anliegen des Ruhepotentials vorhanden ist (37). Es wird angenommen, dass der physiologische Calciumstrom bei einem Membranpotential von -50 mV bereits ausreicht, um einen signifikanten Anstieg von $[Ca^{2+}]_i$ zu verursachen. Eine Veränderung des Membranpotentials führt zu einer signifikanten Änderung des Calciumstroms. Dieser Zusammenhang zwischen dem Membranpotential und dem permanent vorhandenen Calciumstrom lässt Rückschlüsse auf die Bedeutung der Kaliumionenkanäle in Bezug auf Depolarisation, aber auch auf die Hyperpolarisation durch endogene Agonisten zu.

Als zweite Klasse von Calciumkanälen wird der „transient current“ oder **T-Typ Kanal** genannt. Eine spezifische Blockade dieser Gruppe ist durch Nickelionen möglich. Die physiologische Bedeutung dieser Gruppe wird als sehr gering eingeschätzt. Vermutet wird eine Rolle bei der Zellteilung und bei der Spontanaktivität venöser und arterieller glatter Muskulatur. Jedoch wurde eine Inaktivierung bei Anliegen des Ruhepotentials sowie bei der Depolarisation beobachtet. Neben den beiden hier besprochenen Calciumkanalarten werden im Rahmen dieser Unterteilung ein N-Typ und ein R-Typ angeführt, welche im Rahmen dieser Untersuchung nur eine untergeordnete Rolle spielen.

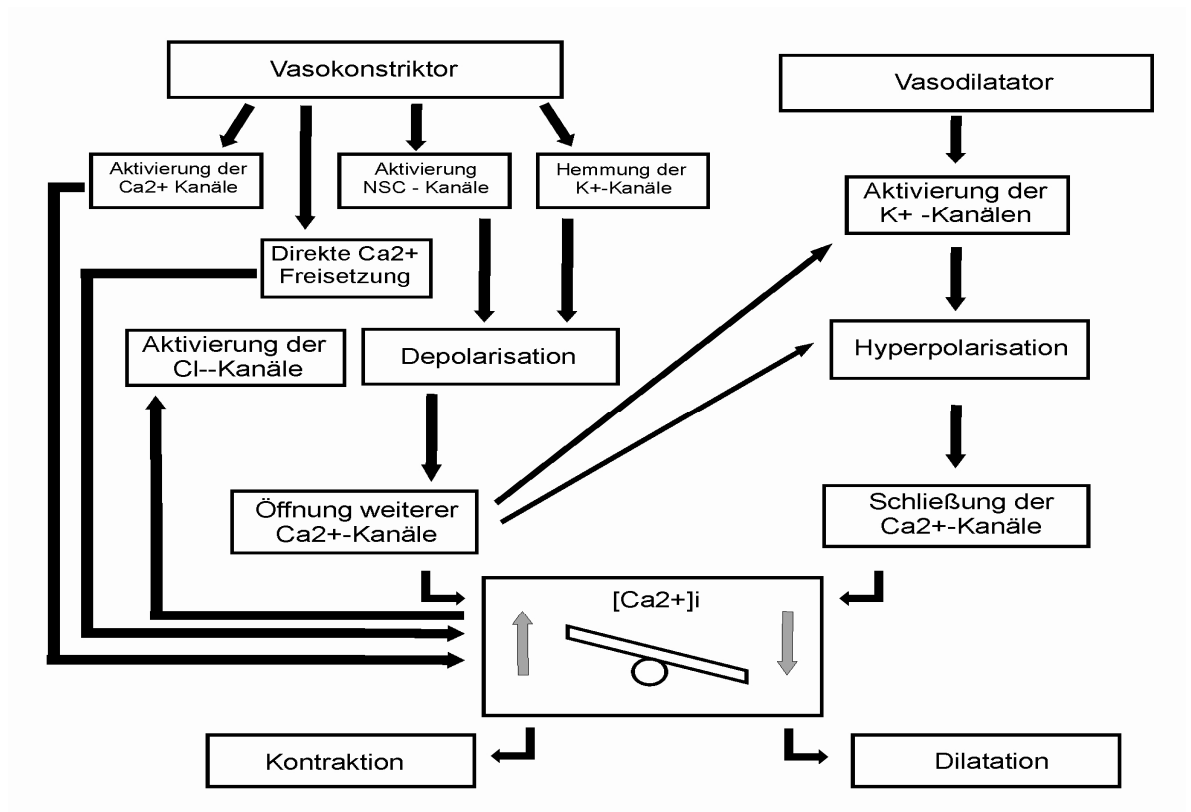


Fig. 3: Schematisierung intrazellulärer Leitungsvorgänge in Bezug auf die intrazelluläre Calciumkonzentration (modifiziert nach 37)

1.8. Rolle der intrazellulären Signaltransduktionswege

Die Komplexität der Interaktionen, welche im vorhergehenden Abschnitt und in Figur 3 in Bezug auf die zellulären Ionenkanäle dargestellt wurde, findet bei den intrazellulären Signalkaskaden seine Fortsetzung. Hier spielt zum einen die Kaskade über Inositoltrisphosphat (IP₃) und zum anderen die über zyklische Nukleotide, zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und zyklisches Guaninmonophosphat (cGMP) eine Schlüsselrolle. Die genannten Systeme haben gegensätzliche Effekte. So ist der zuerst genannte Botenstoff IP₃ für die Steigerung von [Ca²⁺]_i aus intrazellulären Calciumspeichern verantwortlich. Die initiale Aktivierung erfolgt durch endogene Vasopressoren wie zum Beispiel Vasopressin, Angiotensin II sowie Endothelin, aber auch durch Catecholamine wie Noradrenalin (40). Die Umsetzung von zellmembranständigem Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat zu IP₃ erfolgt durch die Phospholipase C. Es

wurden bereits mehrere Isoformen dieses Enzyms isoliert. Jedoch wurde die Bedeutung der Isoformen in glatter Muskulatur noch nicht geklärt. Außerdem wurden IP₃-insensible intrazelluläre Calciumspeicher nachgewiesen (41). Das sarkoplasmatische Retikulum besitzt IP₃-spezifische Rezeptoren, bei deren Aktivierung eine Freisetzung von Calcium erfolgt. Eine Reihe von Studien weist aber auch eine Abhängigkeit dieses Prozesses von extrazellulärem Calcium nach (37). Andererseits verursacht die Öffnung der intrazellulären Speicher auch einen Calciumeinstrom aus dem extrazellulären und intrazellulären Kompartiment, ein als „Calcium induced calcium release“ (CICR) bezeichneter Effekt. Der resultierende Calciumeinstrom zeigt in Abhängigkeit vom Zustand der Zelle sowohl die Effekte einer negativen als auch einer positiven Rückkoppelung (42). Das intrazelluläre Calcium moduliert die Affinität von IP₃ zu seinen sensiblen Speichern. Diese Reihe von Fakten impliziert die Annahme, dass interzelluläre Unterschiede in den Komponenten der IP₃-Signalkaskade bestehen.

Auf die Rolle von Diacylglycerol (DAG) soll nur kurz eingegangen werden. Die Tatsache, dass die Synthese nicht zwingend mit der vom IP₃ zusammenhängt, wurden von Griedling et al. (73) und Sunako et al. (74) nachgewiesen. Die Synthese erfolgt über die Phospholipase A und weitere Phospholipase Isoformen. Die Regulation dieser Kaskade ist unklar. Der physiologische Angriffspunkt von DAG ist eine Gruppe von Enzymen, welche unter dem Begriff der Proteinkinasen C (PKC) zusammengefasst wird. Für sie ist eine zentrale Rolle bei der Regulation der kontraktilen Mechanismen glatter Muskulatur nachgewiesen. Durch Nishizuka et al. (75) sind bereits zehn Isoformen isoliert worden. Eine Einteilung in Untergruppen ist möglich, da nur eine Reihe der Isoformen eine Abhängigkeit von DAG zeigten. Eine zweite Gruppe wird in Abhängigkeit zu Ca²⁺ aktiviert. Diese Abhängigkeit ist auch in Kombination möglich, aber auch in völliger Unabhängigkeit. In Experimenten an Aortae von Frettchen stimulierte Noradrenalin die PKC-Isoform ε unabhängig von Calcium (43). Die Kontraktion glatter Muskulatur ist daher nicht direkt proportional zu [Ca²⁺ⁱ]. Die PKC phosphoryliert eine ganze Reihe von Proteinen, welche bei der Kontraktion glatter Muskulatur eine zentrale Rolle spielen. Hierzu zählen die Myosinleichtketten, die Myosinleichtkettenkinase, Myosinleichtkettenphosphatasen, spannungsabhängige Calciumkanäle, Phospholipase A₂ und D sowie der Natrium-Calcium-Antiporter.

Die PKC spielt daher sowohl eine Rolle bei der raschen Kontraktion der glatten Muskelzelle als auch bei der lang anhaltenden Kraftentwicklung. Zusätzlich dazu liegen auch Hinweise auf eine Phosphorylierung von Caldesmon durch PKC in vitro vor. Ein Vorgang der die Affinität des Proteins zu Aktin vermindert und die Myosin-ATP-ase hemmt. Furukawa et al. (44) wiesen außerdem eine Steigerung des Calciumaustroms aus der glatten Muskelzelle durch PKC nach. Die PKC spielt also auch eine Rolle bei der Relaxation glatter Muskulatur.

1.9. Relaxation der glatten Muskulatur durch zyklische Nukleotide

Die zellulären Signalkaskaden der zyklischen Nukleotide cAMP und cGMP weisen ähnliche Effekte auf und werden generell als Antagonisten zur IP₃ Kaskade gesehen. Ihre Bedeutung besteht in einer zentralen Rolle bei der Relaxation der glatten Muskelzelle. Daher dienen sie Vasodilatoren, wie zum Beispiel Prostacyclin, Catecholaminen und Isoprenalin, als Second-Messenger.

Die Adenylatcyclase wurde bereits in sechs Isoformen nachgewiesen und bildet den ersten Angriffspunkt für regulative Prozesse (76). Für die Typen I und III wurde eine Beeinflussung durch den Calcium-Kalmodulin-Komplex nachgewiesen. Die bereits erwähnte PKC moduliert die Aktivitäten der Isoformen II und IV. Von diesen wird die Expression in glatter Muskulatur angenommen. Derzeit liegen jedoch keine Daten über die Isoformen der Adenylatcyclase in glatter Muskulatur vor. Abhängig vom intrazellulären cAMP-Spiegel ist die Aktivität der Proteinkinase A. Dieses Enzym hemmt die Myosinleichtkettenkinase durch Phosphorylierung und erhöht den Calciumbedarf für die Phosphorylierung der Myosinleichtkette. Weiterhin wird von einer Blockierung der IP₃-Rezeptoren ausgegangen und von einer Hemmung der Hydrolyse von Phosphoinositol. Auf diesen Wegen führt die Stimulation der cAMP-Synthese zur Relaxation der glatten Muskulatur. Aber es liegen auch hier widersprüchliche Befunde vor. In mesenterialen Rattenaorten wiesen Ito et al. (45) nach, dass weder Dibutyryl-cAMP noch Forskolin die Stimulation der IP₃-Kaskade durch Noradrenalin beeinflusste, obwohl [Ca²⁺]_i sank und es zu einer Relaxation der glatten Muskelzelle kam.

Die Synthese des Nukleotids cGMP wird unter anderem durch Tyrosinkinaserzeptoren aktiviert. Es existieren spezifische Rezeptoren für das natriuretische Peptid der kardialen Vorhöfe und ähnliche Peptide. Unabhängig davon kann das stabile Gas Stickstoffmonoxid (NO), welches in den Endothelzellen der Gefäßwand synthetisiert wird, in die glatte Muskelzelle hinein diffundieren. Im Zytoplasma stimuliert NO direkt die Guanylatcyclase. Diese liegt in wenigstens drei Isoformen vor. Im Zellplasma gelöste Isoformen besitzen eine katalytische Einheit zur Interaktion mit NO. cGMP interagiert mit der Proteinkinase G (PKG), welche mit der Proteinkinase A (PKA) vergleichbare Substrate hat. Außerdem führt PKG zu einer Steigerung der Aktivität der Ca²⁺-ATPase, was zu einem verstärkten Calciumausstrom führt. cGMP führt so über die PKG ebenfalls zu Relaxation der glatten Muskelzelle. PKG kann auch zu einer Verringerung des [Ca²⁺]_i führen, wenn PKA keine Wirkung zeigt.

1.10. Wirkungsweise von Akrinor[®]

Auch in der Vergangenheit fand die Kombination der Wirkstoffe Theodrenalin und Cafedrin breites Interesse, so dass vergleichende Studien sowohl zu den Einzelsubstanzen als auch zur Kombination Akrinor[®] vorliegen. Eine vollständige Klärung des Wirkmechanismus von Akrinor[®] bzw. seinen Teilsubstanzen liegt derzeit nicht vor. Auf Grund der bisher vorliegenden Studien wird Akrinor[®] als β -Rezeptoren stimulierendes Sympathomimetikum angesehen (7, 8, 17, 24, 29). Grundlegende Erkenntnisse zur unterschiedlichen Wirkungsweise der Einzelsubstanzen gewannen Sakai und Hashimoto (20) an einem Hundmodell. Hier wurde eine zeitlich versetzte Wirkung der beiden Teilsubstanzen Cafedrin und Theodrenalin beobachtet. Die Theodrenalin-hydrochlorid-Komponente besitzt eine dem Adrenalin ähnliche Wirkung auf den Kreislauf. Diese ist durch sofortigen Eintritt der Wirkung bei nur kurzer Wirkdauer gekennzeichnet. Darunter zeigt sich eine signifikante Steigerung des systemischen Blutdruckes sowie der Herzfrequenz.

Ein positiv chronotroper und inotroper Effekt von Theodrenalinhydrochlorid wurde am isolierten Herz-Lungen-Präparat nachgewiesen. Verbunden damit ist eine gesteigerte Durchblutung der Koronargefäße, jedoch eine Reduzierung der Durchblutung in den peripheren Anteilen des Kreislaufes. Letzteres wurde im arteriellen Schenkel mesenterial, renal und femoral gemessen. Initial wurde eine kurzzeitige Steigerung des femoralen Blutflusses registriert, welche sich in einen signifikanten Abfall der Durchblutung umwandelte. Da diese Wirkung am isolierten Herz-Lungen-Präparat nicht jedoch nach zentraler Applikation in die Cisterna magna (20) oder der Arteria vertebralis (49) nachgewiesen werden konnte, wird bei Theodrenalinhydrochlorid von einer Rezeptorinteraktion am Erfolgsorgan ausgegangen.

Grundsätzlich wurde bei Cafedrin eine dem Theodrenalinhydrochlorid gleichgerichtete Wirkung beobachtet, aber in deutlich verminderter Ausprägung. Im Gegensatz dazu beobachtete man nach Gabe von Cafedrinhydrochlorid einen verzögerten Wirkungseintritt, jedoch ein wesentlich längeres Anhalten der Wirkung. In den Untersuchungen am Herz-Lungen-Präparat und an adrektomierten Hunden zeigte Cafedrinhydrochlorid keine Wirkung. Da die zentrale Applikation in die Cisterna magna zu einem Wirkungseintritt führte, wird von einer zentralen Stimulation durch Cafedrinhydrochlorid ausgegangen. Diese Ergebnisse werden durch eine von Sternitzke, Schiefer et al. (29) durchgeführten Untersuchung an gesunden Probanden untermauert. Auch hier wurden die Einzelsubstanzen zunächst getrennt betrachtet. Es wird herausgestellt, dass bei der Wirkung von Theodrenalin eine direkte symphatomimetische Stimulation der β_1 - und β_2 -Rezeptoren im Vordergrund steht und eine α_1 -Gefäßrezeptoreninteraktion nur eine verminderte Rolle spielt. Demnach erfolgt die Blutdrucksteigerung über eine Zunahme des Schlagvolumens und nicht durch eine Erhöhung des peripheren Widerstandes. Die Steigerung des pulmonalarteriellen Druckes wird auf den vermehrten venösen Rückstrom zurückgeführt. Cafedrin lässt sowohl den pulmonalarteriellen Druck als auch den peripheren Gefäßwiderstand unbeeinflusst. Sternitzke et al. (6) führen seine Wirkung ebenfalls auf eine indirekte Betarezeptorenstimulation zurück. Der Einfluss von Cafedrinhydrochlorid auf die Hemmung der Phosphodiesterase sowie die

Wirkung von Theophyllin kann auf Grund der niedrigen Dosierung vernachlässigt werden (7, 29).

Nach Abschluss der Untersuchungen, welche die einzelnen Wirkkomponenten klassifizieren, wird eine Eigenwirkung von Akrinor[®] postuliert. Die Wirkungsweise von Akrinor[®] ist demnach nicht allein durch Kombination der Wirkprofile der Einzelsubstanzen in einer zeitlichen Versetzung zu erklären. Vielmehr ist von einer Interaktion beider Wirkstoffe im menschlichen Körper nach Applikation auszugehen. Die α -adrenerge mimetische Affinität von Theodrenalin wird durch einen α -sympatholytischen Effekt des Cafedrin überlagert. Sternitzke (6) stellt fest, dass eine α -Rezeptor abhängige Reaktion im arteriellen Bereich des menschlichen Kreislaufs funktionell ohne Bedeutung ist. Die Rolle der β -adrenergen Wirkung von Akrinor[®] wird unter besonderer Berücksichtigung der kardialen Funktion vor und nach Blockade der Rezeptoren ebenfalls von Sternitzke, Schiefer et al. (7) an gesunden Probanden quantifiziert. In dieser Untersuchung wurde eine Steigerung des Schlagvolumens um 60 % und einer daraus resultierenden Zunahme des Herzminutenvolumens um 36 %, bei einer Abnahme der Herzfrequenz (7, 28) beobachtet. So kommt es zu der erwünschten Steigerung des Blutdruckes, welcher in dieser Untersuchung systolisch um 22% des Ausgangswertes steigt. Es wird, wie auch in anderen Untersuchungen (17), herausgestellt, dass die Steigerung des Blutdruckes ohne eine Erhöhung des peripheren Widerstandes stattfindet. Dieses Ergebnis wird kontrovers diskutiert. In einer klinischen Studie über Vasopressiva bei Periduralanästhesie (24) sowie einer klinischen Studie an Patienten mit Infarkt vorgeschädigtem Herz (3), wurde eine Steigerung des peripheren Widerstandes durch Akrinor[®] nachgewiesen.

Ebenfalls mit widersprechenden Befunden behaftet ist die Behauptung, dass Akrinor[®] zu einer Tonisierung der venösen Kapazitätsgefäße führt (3, 17, 24, 30). Alle genannten Studien sehen die oben genannte Steigerung der kardialen Leistung über das Schlagvolumen als Grund für die Blutdruckerhöhung von Akrinor[®] an. Eine gesteigerte Leistung bedarf natürlich auch vermehrter Stoffwechselsubstrate. In diesem Zusammenhang wurde bereits auf die Limitierung der kardialen Leistung durch die koronare Sauerstoffausschöpfung

hingewiesen. In den vorliegenden Studien (17, 28, 31) findet sich auch der Hinweis auf eine Verbesserung der Koronardurchblutung. Hierbei sind die Untersuchungen von Schlepper und Witzleb (31), welche an einem Hundemodell die Steigerung der koronaren Durchblutung durch Akrinor[®] nachwiesen, wegweisend. Jedoch liegt keine ausschöpfende Untersuchung zur direkten Wirkung und Wirkungsweise von Akrinor[®] auf Koronararterien vor.

1.11. Zielstellung der vorliegenden Arbeit

Derzeit existieren keine experimentellen Daten zur Wirkung von Akrinor[®] in Bezug auf Koronararterien. Die vorliegende Arbeit untersucht daher die direkte Wirkung von Akrinor[®] auf Koronararterien des Schweins unter Verwendung des in vitro Modells der isometrischen Kontraktion von Gefäßringpräparationen. In einem zweiten Abschnitt werden mögliche pharmakologische Mechanismen sowie die Teilsubstanzen von Akrinor[®] isoliert betrachtet. Abschließend sollen vergleichende Untersuchungen mit dem Wirkstoff Ephedrin erfolgen.

Folgende Fragestellungen sollen erörtert werden:

1. Verringert die direkte Applikation von Akrinor[®] den Gefäßtonus in der isometrischen Messanordnung unter Verwendung von Koronararterien des Schweins? Wird die Wirkung von Akrinor[®] auf die untersuchten Koronararterien durch Blockade von adrenergen β -Rezeptoren aufgehoben? Welche Rolle spielt das Endothel?
2. Haben die einzelnen Teilsubstanzen von Akrinor[®], Theodrenalin und Cafedrin, einen unterschiedlichen Einfluss auf den koronaren Gefäßtonus? Inwieweit wird ein vorhandener Effekt durch die Blockade der adrenergen β -Rezeptoren modifiziert?
3. Welchen direkten Einfluss hat Ephedrin auf den Gefäßtonus Koronararterien des Schweins? Wird dieser Effekt durch die Blockade adrenergen β -Rezeptoren beeinflusst? Ist das Gefäßendothel an der Signalkaskade dieses Effektes beteiligt?

2. Materialien und Methoden

2.1. Methode

Für alle Experimente wurde das mittlere Segment des Ramus anterior der linken Koronararterien von Zuchtschweinen verschiedener Rassen mit einem Alter von maximal 12 Monaten verwendet. Die Schweineherzen wurden unmittelbar aus dem Arbeitsprozess eines lokalen Schlachtbetriebes bezogen. Zwischen dem Zeitpunkt der Entnahme und dem Individualtod des Tieres lagen maximal 20 Minuten, wobei darauf geachtet wurde, dass keine unnötigen mechanischen Manipulationen an den Arterien durchgeführt wurden. Die Arterie wurde mit ihrer Fettloge aus dem umgebenden Muskelgewebe unter Verwendung eines sterilen Instrumentariums herausgelöst. Für die Dauer des Transportes vom Schlachtbetrieb zum Labor, welcher nicht länger als 1 h 15 min dauerte, wurde die Arterie in einem Gefäß mit Krebs-Henseleitlösung (KH-Lösung) konserviert. Dieses wiederum wurde in Eiswasser gekühlt. Unter Lupenvergrößerung wurden die Arterien mit einem Durchmesser von 1-2 mm aus der Fettloge herauspräpariert und in Ringsegmente geschnitten. Jedes Segment hatte eine Länge von ca. 2 mm. Während der Präparation wurde die KH-Lösung alle 5 min ersetzt.

Im Anschluss an die Präparation wurden die Gefäßringe über zwei Haken aus rostfreiem Stahl gebracht, wobei der untere Haken feststehend und der obere über eine Mikrometerschraube an einen isometrischen Kraftwandler gekoppelt war. Eine schematisiert ist das Gefäßbad in Figur 4 dargestellt. Das Einbringen der Gefäßringe in das Hakensystem geschah ebenfalls unter Vermeidung aller mechanischen Irritationen. Der Gefäßring wurde mit Hilfe einer Lupenbrille an einem für diesen Zweck belassenen Fettrest des abpräparierten Gewebes gefasst und eingehängt. Ebenso wurde auf zügiges Arbeiten geachtet. Durch leichtes Spannen des Gefäßringes mit einer Belastung entsprechend 0,5g wurde verhindert, dass der Gefäßring im bereits belüfteten Gefäßbad von den Haken rutschte. Bei experimentellen Untersuchungen ohne Gefäßendothel wurde dies zuvor mechanisch zerstört. Hierzu diente eine mit einer Baumwollfaser umhüllte Kanüle. Der präparierte Gefäßring wurde vor Einbringen in das Gefäßbad mehrmals vorsichtig mit seiner Innenseite über diese Kanüle gestreift. Das

Hakensystem wurde anschließend in das Gefäßbad eingebracht, welches bereits Umgebungstemperatur besaß. Das Gefäßbad beinhaltete 20 ml KH-Lösung und wurde von unten gleichmäßig von einem Gasgemisch durchströmt. Dies verursachte eine geringe Fluktuation der Lösung und stellte eine gleichmäßige Verteilung aller zugefügten Substanzen sicher. Der Gefäßtonus wurde isometrisch durch den oberen Haken gemessen. Das Signal des isometrischen Kraftwandlers wurde über einen Verstärker auf einem Papierrecorder registriert.

Nach Einbringung des Gefäßringes in das Gefäßbad wurde das System durch eine Umwälzpumpe mit integriertem Thermostat auf 37° Celsius erwärmt. In das beheizte System eingeschlossen waren zwei Reservoirbehälter, welche KH-Lösung enthielten. Diese dienten zur zügigen Befüllung des Gefäßbades bei Erneuerung der Lösung. Somit war eine gleich bleibende Temperatur sichergestellt. Der Erwärmung des beheizten Systems wurde eine Stunde Zeit gegeben. Im Anschluss wurde schrittweise ein mechanischer Grundtonus über die Mikrometerschraube des beweglichen Hakens von 2 g angelegt. Hierbei erfolgte maximal eine Tonuserhöhung von 0,5g. Zwischen den einzelnen Schritten wurde gewartet, bis der konstriktive Reflex des Gefäßes nachließ und ein gleichmäßiger Tonus registriert wurde. Wenn dies der Fall war, erfolgte die erneute Tonuserhöhung. Dieser Vorgang wurde fortgesetzt, bis ein gleichmäßiger Gefäßtonus von 2g registrieren war. Dieser mechanische Grundtonus wird im weiteren Text als Basisspannung bezeichnet. Ausgehend von der Basisspannung wurden zwei Experimente mit alleiniger Inkubation von Akrinor[®] und Ephedrin durchgeführt.

In den übrigen Experimenten erfolgte in einem weiteren Schritt die Erzeugung der chemisch induzierten Kontraktion durch Zugabe von 20 mmol Kaliumchlorid (KCl) in das Gefäßbad. Die extrazellulär gesteigerte Kaliumkonzentration bewirkt eine Verminderung des physiologischen Kaliumaustroms aus der glatten Muskelzelle und bei weiterer Steigerung eine Depolarisation des Membranpotentials. Es kommt zu einer andauernden Kontraktion der glatten Muskelzelle. Der so weiter gesteigerte Gefäßringtonus wird im Folgenden als Vorspannung bezeichnet. Das Ausmaß der bei gleicher Kaliumchloridkonzentration erzeugten Spannung variiert zwischen den

verwendeten Arterien. Zur Auswertung wurde die Basisspannung als Nullpunkt definiert und der durch KCl erzeugte maximale Tonus als 100 %. Eine Inkubation mit weiteren Substanzen steigerte den Tonus darüber hinaus. Dadurch entstehen Werte über 100 %.

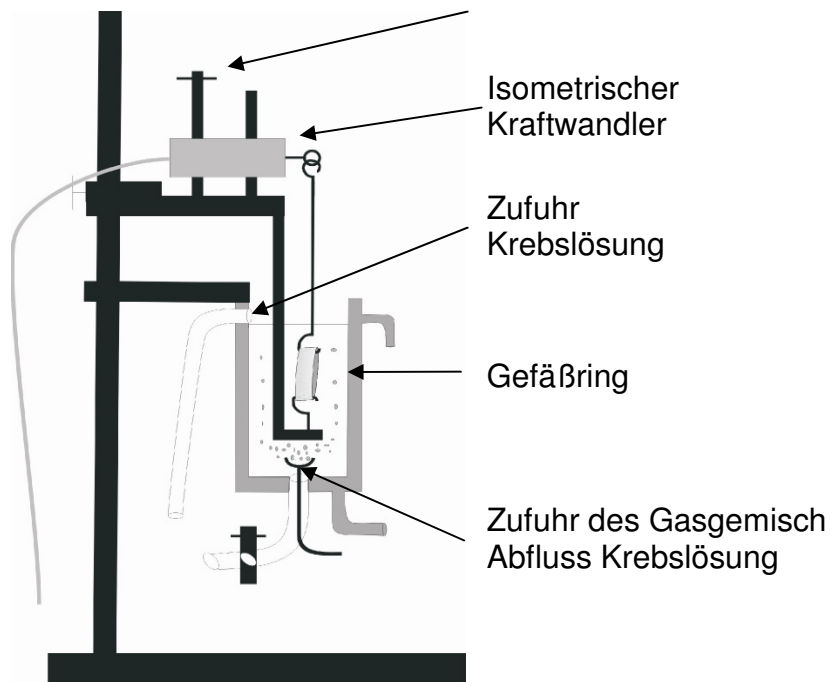


Fig. 4: Schematische Darstellung des Aufbaus des Gefäßbades zur isometrischen Messung des Gefäßtonus, zur Verfügung gestellt von Dr. D. Pavlovic.

2.2. Material

2.2.1. Substanzen

Die folgenden Reinsubstanzen wurden bei Sigma–Aldrich GmbH, Sternheim, Deutschland geordert:

- Krebs–Henseleit–Lösung: in mmol/l: NaCl 113, KCl 4,8, MgCl₂·6H₂O 1,3, KH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25,0, CaCl₂ 2,5, Glucose 5,7
- Antagonisierung der Dopaminrezeptoren
SCH -23390
R(+)-SCH-23390 hydrochloride (R(+)-7-Chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepine hydrochloride)
- Agonisierung der Adenosinrezeptoren
CGS-21680 hydrochloride ((2-*p*-(2-Carboxyethyl)phenethylamino-5'-N-ethylcarboxamido)adenosine hydrochlorid)
- Prazosin zur Antagonisierung der adrenergen α–Rezeptoren
- Propranolol zur Antagonisierung der adrenergen β–Rezeptoren

Des Weiteren wurden die folgenden Substanzen von den jeweiligen mit angegebenen Herstellern verwendet:

- Akrinor[®] 2 ml Ampulle Injektionslösung bestehend aus
Cafedrinhydrochlorid ([1R,2S]-7-[2-(-Hydroxy-1-methyl-2-phenylethylamino)ethyl]-theophyllin-monohydrochlorid) 200mg
Theodrenalinhydrochlorid 10mg
der Firma AWD.pharma GmbH & Co. KG, Dresden
- Theodrenalinhydrochlorid der Firma AWD.pharma GmbH & Co. KG, Dresden
- Cafedrinhydrochlorid der Firma AWD.pharma GmbH & Co. KG, Dresden
- Gasgemisch: 95% O₂/ 5% CO₂ Linde, technische Gase, Deutschland

2.2.2 Verwendete Geräte

- Isometrischer Kraftwandler: ENTRan, ELJ-S045C-35g, EMKA Technologies, Paris, France
- Verstärker: STA 2808, EMKA Technologies, Paris, France
- Papierrekorder: Rikadenki multipen recorder, R-50 series, Hugo Sachs Elektronik, March.Hugstetten, Germany

2.3. Datenanalyse

Alle Werte werden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt, soweit nicht anders gekennzeichnet. In Bezug auf das Signifikanzniveau wurde $P < 0,05$ festgelegt. Die Angabe der Konzentrationen der verwendeten Wirkstoffe erfolgt als negativer dekadischer Logarithmus einer Einmolaren Lösung. Da es sich bei Akrinor[®] um ein Kombinationspräparat handelt, wird hier die Konzentrationsangabe als negativer dekadischer Logarithmus der originalen Lösung 105 mg/ml angegeben. Für die statistische Analyse sowie die Darstellung der Ergebnisse wurde Microsoft[®] Excel 2002 verwendet. Zunächst wurde ein primärer Datensatz in Gramm erstellt. Anschließend wurden die absoluten Werte in eine prozentuale Relation zur Vorkontraktion durch KCl gesetzt. Aus diesen relativen Werten wurde eine deskriptive Statistik mit Darstellung des Mittelwertes, Standardabweichung und des Standardfehlers erstellt.

Zur Ermittlung der mittleren Wirkkonzentration, mit der die halb-maximale Kontraktion (EC_{50}) erreicht wurde, verwendete der Autor non-lineare Regression (Hill slope), erstellt mit dem Statistikpaket GraphPad Prism 3 (GraphPad Software, San Diego, Cal. USA). Der Mittelwertvergleich unter Berücksichtigung mehrfaktorieller Bedingtheit erfolgte unter Verwendung des ANOVA und post hoc t-Tests für gepaarte Proben mit anschließender Anpassung für mehrfache Vergleiche nach Bonferroni.

2.3. Experimentelles Protokoll

Da für die Experimente vier Gefäßbäder parallel zur Verfügung standen, erfolgte die gleichzeitige Durchführung von vier unterschiedlichen Experimenten an vier Ringen der Arterie eines Individuums. Der Begriff der chemischen Vorkontraktion umfasst eine Gefäßringtonuserhöhung durch KCl. Die endgültige Dosis von 20 mmol KCl wurde in vorbereitenden Experimenten ermittelt. Die Steigerung der Akrinor-Konzentrationen erfolgte in 0.5 – 1.0 log Schritten. Nach jeder Gabe wurde ein gleichmäßiger Tonus des arteriellen Ringes abgewartet. In Abhängigkeit von dem experimentellen Ansatz erfolgte im Anschluss eine Inkubation über 30 Minuten mit den vorgesehenen spezifischen Rezeptorblockern, welche zuvor ebenfalls auf 37°C erwärmt wurden.

In der ersten Versuchsreihe wurde der grundlegende Nachweis der Wirkung von Akrinor[®] auf die Koronararterien vom Schwein geführt. Im ersten Organbad erfolgte eine Untersuchung der Wirkung von Akrinor[®] auf den Gefäßring nach Erzeugung des mechanischen Basistonus von 2g. Im Vergleich dazu wurde der Effekt nach zusätzlicher chemischer Vorkontraktion durch 20 mmol Kaliumchlorid im zweiten Organbad geprüft. Zur Klärung der Rolle β -adrenerger Rezeptoren wurde der Gefäßring im dritten Organbad vor der Akrinor[®] Applikation mit 1.3 μ M Propranolol nach der chemischen Kontraktion inkubiert. Um eine Aussage über die Bedeutung des Endothels zu erhalten, wurde dieses vor dem Experiment im vierten Organbad mechanisch zerstört. In allen vier Experimenten erfolgte eine Steigerung der Akrinor[®]konzentration von 10^{-8} auf 10^{-2} der Orginallösung.

In einem zweiten Arbeitsschritt wurden die beteiligten Rezeptoreninteraktionen, aufbauend auf den Erkenntnissen der ersten Experimentalreihe, näher spezifiziert. Es wurde der Gefäßring im ersten Organbad sowohl mit 1,3 μ M Propranolol als auch mit dem α -Rezeptorenblocker Prazosin 10 μ M präinkubiert.

Des Weiteren wurde eine Beteiligung von dopaminergen Rezeptoren an der Relaxation durch Akrinor[®] bzw. an der Propranolol induzierten Kontraktion studiert. Zu diesem Zweck erfolgten eine Inkubation mit dem Dopaminrezeptorantagonisten SCH-23390 (10^{-6} M) im zweiten Organbad und eine

kombinierte Inkubation mit SCH-23390 und Propranolol 1,3 μ M im dritten Organbad. In dem vierten Organbad wurden Adenosinrezeptoren mit dem spezifischen Adenosinagonisten CGS-21680 (10⁻⁶M) stimuliert, um eine anschließende Veränderung des Tonus unter Akrinor[®]gabe zu beobachten. Auch hier wurde in allen Experimenten die Akrinor[®]konzentration von 10⁻⁸ auf 10⁻² der Organallösung gesteigert.

Um eine Differenzierung zwischen den Einzeleffekten beider Teilsubstanzen von Akrinor[®] zu ermöglichen, wurden die Schlüsselexperimente der ersten beiden Experimentalreihen mit den einzelnen Komponenten getrennt wiederholt. In den ersten beiden Organbädern erfolgte die Applikation von Theodrenalin, wobei im zweiten Organbad mit 1,3 μ M Propranolol präinkubiert wurde. Parallel dazu wurden die Experimente in Organbad drei und in Organbad vier mit Cafedrin durchgeführt. Hier wurde wiederum in Organbad vier mit 1,3 μ M Propranolol die Wirkung auf adrenerge β -Rezeptoren spezifiziert.

Abschließend wurden die vorbereitenden Experimente der drei vorangegangenen Experimentalanordnungen mit der Substanz Ephedrin wiederholt. In Organbad eins wurde der Effekt einer steigenden Ephedrinkonzentration auf den Gefäßring ohne chemische Vorkontraktion und in Organbad zwei mit chemischer Vorkontraktion durch 20 mM Kaliumchlorid untersucht. Des Weiteren wurde in Organbad drei der Effekt einer β -Rezeptorenblockade auf die Wirkung von Ephedrin untersucht.

3. Ergebnisse

Akrinor[®] ohne Präinkubation bewirkt ausgehend von der Basisspannung eine Relaxation von 10 % unter das Niveau der mechanischen Basisspannung, dargestellt in Figur 8 im Anhang. Diese erfolgt im Verlauf der Konzentrationsteigerung. Ausgehend von einer Vorkontraktion mit KCl ohne weitere Präinkubation führt die Akrinor[®]konzentration $4 \cdot 10^{-7}$ zu einer Kontraktion des Gefäßringes von 10 %. Ab einer Akrinor[®]konzentration von $4 \cdot 10^{-4}$ beobachtet man eine Relaxation des Gefäßringes bis auf 5 % der Vorkontraktion. Bei zusätzlicher Präinkubation mit Propranolol, ausgehend von einer Vorkontraktion mit KCl, kontrahiert sich der Gefäßring bis auf 160 % der Vorkontraktion, beginnend bei einer Akrinor[®]konzentration von $2 \cdot 10^{-5}$ mol. Diese Kontraktion ging bei der Akrinor[®]konzentration $4 \cdot 10^{-4}$ mol in eine Relaxation bis auf 5 % der Vorkontraktion über, vergleichbar mit der Relaxation in dem Experiment ohne Propranolol. Eine vergleichende Darstellung der Experimente mit und ohne Inkubation Propranolol (1.3 μ M) sowie Prazosin (10 μ M) ist die Figur 5. Des Weiteren werden in Tabelle 1 die EC₅₀ aller Experimente angegeben, bei denen es zu einer Relaxation des Gefäßringtonus kam. Bei bestehender Vorkontraktion mit Kaliumchlorid und unter Verwendung eines Gefäßringes ohne Endothel beobachtet man eine kontinuierliche Relaxation des Gefäßringes, beginnend bei einer Akrinor[®]konzentration $4 \cdot 10^{-5}$ mol. Das Minimum des Gefäßringtonus beträgt - 50 % der Vorkontraktion, was aus der Figur 7 im Anhang hervorgeht. Die Relaxation ist somit wesentlich stärker als bei Gefäßringen, bei denen das Endothel erhalten ist.

Tabelle 1: Effektivdosis₅₀ der Dosis Wirkungskurven von Akrinor, Theodrenalin und Cafedrin sowie unterschiedlicher Präinkubation.

No.	Verwendete Agenzien	EC ₅₀ -Log	N
1	Akrinor mit Endothel	2,96 ±0,34	7
2	Akrinor ohne Endothel	4,58 ±0,34	8
3	Akrinor/ SCH	3,04 ±0,43	7
4	Akrinor/ CGS	3,22 ±0,56	6
5	Akrinor/ Propranolol	2,79 ±0,23	10
6	Akrinor/Propranolol/ Prazosin	2,9 ±0,17	8
7	Theodrenalin	4,09 ±0,39	6
8	Theodrenalin/ Propranolol	3,84 ±0,36	6
9	Cafedrin	3,79 ±0,34	7
10	Cafedrin/ Propranolol	3,3 ±0,08	6

Ein signifikanter Unterschied wurde im Vergleich von Experiment 1 vs. 2 (p=0,003) und 6 vs. 5 (p<0,001) gefunden. -Log der Akrinor[®]originallösung bzw. einer 1 Molaren Lösung der Substanz

Akrinor[®] nach einer Präinkubation mit Propranolol und Prazosin, ausgehend von einer Vorkontraktion mit KCl, führt zu einer Relaxation des Gefäßringes um 25 % der Vorkontraktion. Diese beginnt bereits bei der Akrinor[®]konzentration 10⁻⁶ mol. Der Tonus sinkt weiter bei einer Akrinor[®]konzentration 10⁻⁴ mol auf 50 % der Vorkontraktion. Anschließend führt die Akrinor[®]konzentration 10⁻⁴ mol zu einer Kontraktion auf das Ausgangsniveau der Akrinor[®]konzentration 10⁻⁶mol. Diese Kontraktion unterscheidet sich deutlich von der Tonuserhöhung unter Propranolol, da sie nicht das Ausgangsniveau der Vorkontraktion mit Kaliumchlorid erreicht, sondern lediglich 75% von dieser. Die transiente Kontraktion unter Propranolol konnte mit Prazosin nivelliert werden, wie in Figur 5 dargestellt. Die bei der Akrinor[®]konzentration 10⁻³ mol hervorgerufene Relaxation des Gefäßringes erreicht ihr Maximum von 20% der Vorkontraktion bei der Akrinor[®]konzentration 4*10⁻³ mol. Unter Fortführung der Konzentrationssteigerung erhöht sich der Tonus erneut auf etwas 40% der Vorkontraktion durch Kaliumchlorid.

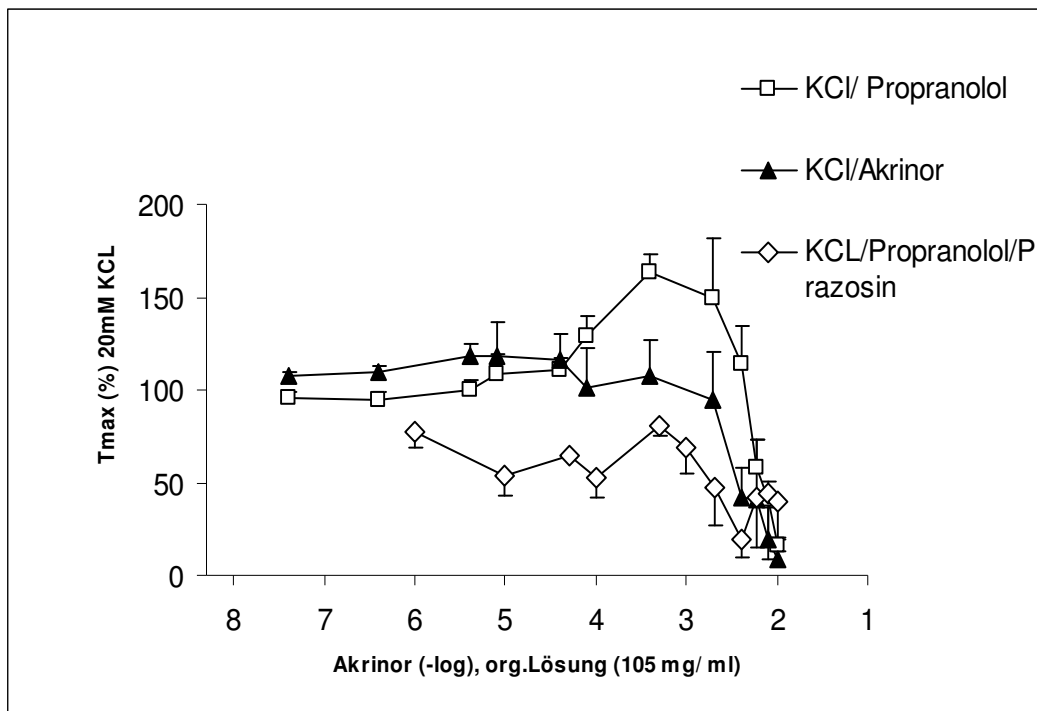


Abb. 5: Dosiswirkungskurve von Akrinor[®] (Koronarart. vom Schwein), KCl-Vorkontraktion und Präinkubation mit Propranolol sowie mit Prazosin (Mittelwert mit Standardfehler, n=8)

Bei einer Präinkubation mit SCH-23390 (D₁-Dopaminrezeptorantagonist), ausgehend von einer Vorkontraktion mit Kaliumchlorid, steigert sich der Gefäßtonus um 50 % der Vorkontraktion schon im Verlauf der Präinkubation. Beginnend bei der Akrinor[®]konzentration $2 \cdot 10^{-3}$ mol relaxiert der Gefäßring auf 10% der Vorkontraktion, verdeutlicht in Figur 10 im Anhang. Ein wesentlicher Unterschied zum Experiment Akrinor[®] nach Vorkontraktion mit KCl ist nicht zu erkennen. Eine zusätzliche Inkubation mit Propranolol zu SCH-23390, ausgehend von einer Vorkontraktion mit KCl, beeinflusst nicht die unter adrenerger β -Rezeptoren beobachtete transiente Kontraktion, siehe Figur 7 im Anhang. Wie in der experimentellen Anordnung „Akrinor[®] nach Vorkontraktion durch KCl und Präinkubation mit SCH-23390“ steigert sich auch in diesem Experiment der Gefäßtonus während der Präinkubation um 50 % der Vorkontraktion. Eine weitere Steigerung des Tonus verursacht die Akrinor[®]konzentration $5 \cdot 10^{-4}$ mol mit einem Maximum von 200 % der Vorkontraktion. Die Akrinor[®]konzentration $4 \cdot 10^{-3}$ mol ruft jedoch wieder eine Relaxation des Gefäßringes hervor, wie im Experiment nach Präinkubation mit SCH-23390 ohne Propranolol. Die Kombination aus

SCH-23390 und Propranolol nimmt keinen Einfluss auf die Relaxation, was in der Figur 8 im Anhang deutlich wird.

Die Präinkubation mit CGS-21680, ausgehend von einer Vorkontraktion mit Kaliumchlorid, hat keinen Einfluss auf den Gefäßringtonus in der vorbereitenden Phase. Wiederum ruft Akrinor[®] eine Relaxation des Gefäßringes ab der Akrinor[®]konzentration 10^{-4} mol auf ein Minimum von -10 % der Vorkontraktion hervor, dargestellt in Figur 11 im Anhang.

Die Konzentration 10^{-6} mol von Theodrenalin im Gefäßbad führt zu einer Kontraktion des Gefäßringes um 20 % der Vorkontraktion mit KCl. Eine weitere Steigerung der Konzentration verursacht im weiteren Verlauf eine kontinuierliche Relaxation des Gefäßringes bis auf -25 % der Vorkontraktion. Theodrenalin nach einer Präinkubation mit Propranolol, ausgehend von einer Vorkontraktion mit KCl, verursacht eine Kontraktion von 20 % der Vorkontraktion. Der Gefäßtonus nimmt hier jedoch weiter bis auf ein Maximum von 180 % der Vorkontraktion bei der TheodrenalinKonzentration $5 \cdot 10^{-5}$ mol zu. Diese Kontraktion entspricht der Beobachtung im Experiment „Akrinor[®] nach Vorkontraktion mit KCl und Präinkubation mit Propranolol“. Die Konzentration 10^{-3} mol von Theodrenalin im Gefäßbad bewirkt eine maximale Relaxation von 25 % der Vorkontraktion. Dieses Experiment ist ein Beleg dafür, dass Theodrenalin die vorübergehende Kontraktion verursacht, ersichtlich aus der vergleichenden Darstellung in Figur 6.

Ausgehend von einer Vorkontraktion mit Kaliumchlorid bewirkt die steigende Konzentration von Cafedrin im Gefäßbad eine Relaxation des Gefäßringes bis auf 10% der Vorkontraktion, vgl. Figur 12 des Anhanges. Zusätzlich inkubiert mit Propranolol, Fig. 13, bei anliegender KCl induzierten Vorspannung verursacht die Konzentration 10^{-6} mol eine geringe Tonuserhöhung des Gefäßringes von 5%. Beginnend bei einer Cafedrinkonzentration 10^{-5} mol vermindert sich der Gefäßtonus bis auf 0 % der Vorkontraktion bei 10^{-3} mol Cafedrin. Cafedrin spielt also keine Rolle in Bezug auf die Kontraktion unter adrenerger β -Blockade bei Akrinor[®].

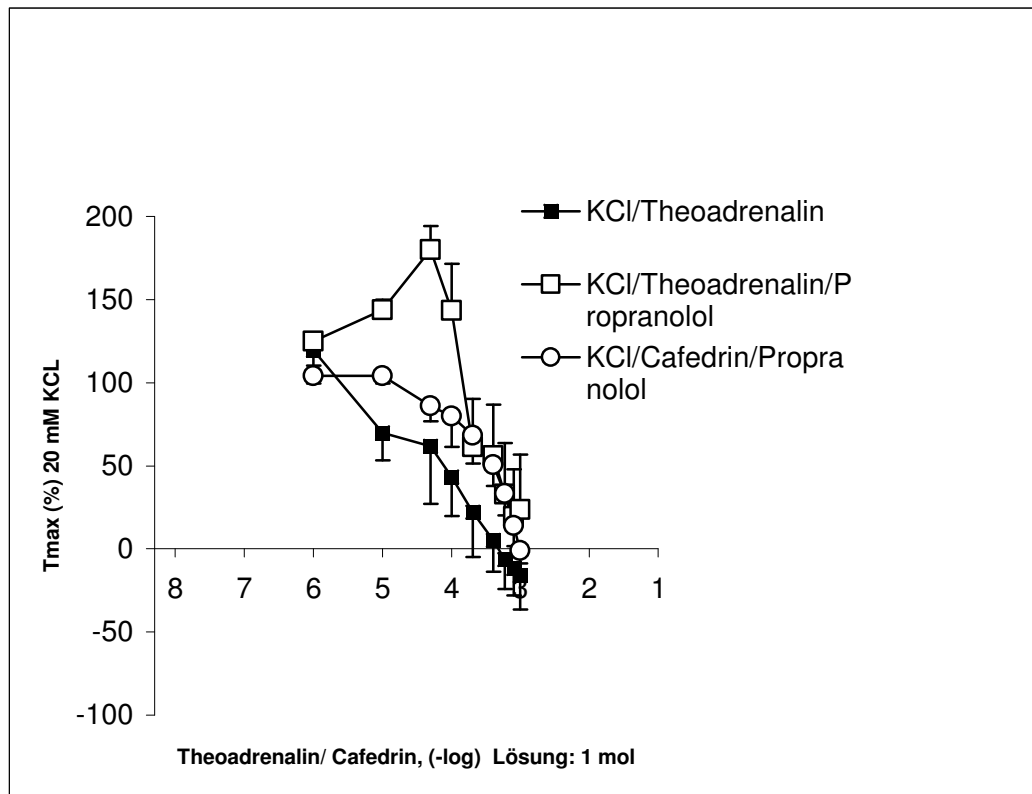


Abb. 6: Dosiswirkungskurve von Theoadrenalin (Koronarart. vom Schwein), KCl-Vorkontraktion und Präinkubation mit Propranolol sowie von Cafedrin, Vorkontraktion mit KCL und Präinkubation mit Propranolol (Mittelwert mit Standardfehler, n=6)

Die Experimentalreihe mit Ephedrin, durchgeführt ohne Vorkontraktion, zeigte keine Auswirkungen auf den Tonus des Gefäßringes. Die entsprechende graphische Darstellung ist die Figur 14 des Anhangs. Kontrahiert man den Gefäßring zuvor mit KCl, beobachtet man eine Kontraktion von 20 % der Vorkontraktion bei einer Ephedrinkonzentration von 10^{-7} mol, welche im weiteren Verlauf auf 125 % ansteigt. Nach zusätzlicher Präinkubation mit Propranolol, ausgehend von einer Vorkontraktion mit Kaliumchlorid, führt die Ephedrinkonzentration 10^{-7} mol zu einer Kontraktion von 20 % der Vorkontraktion, welche im weiteren Verlauf auf 125 % ansteigt, eine signifikante Differenz zu der experimentellen Anordnung ohne Propranolol. Im direkten Vergleich mit dem Experiment Akrinor[®] nach Vorkontraktion mit KCL ist dies in der Figur 7 verdeutlicht.

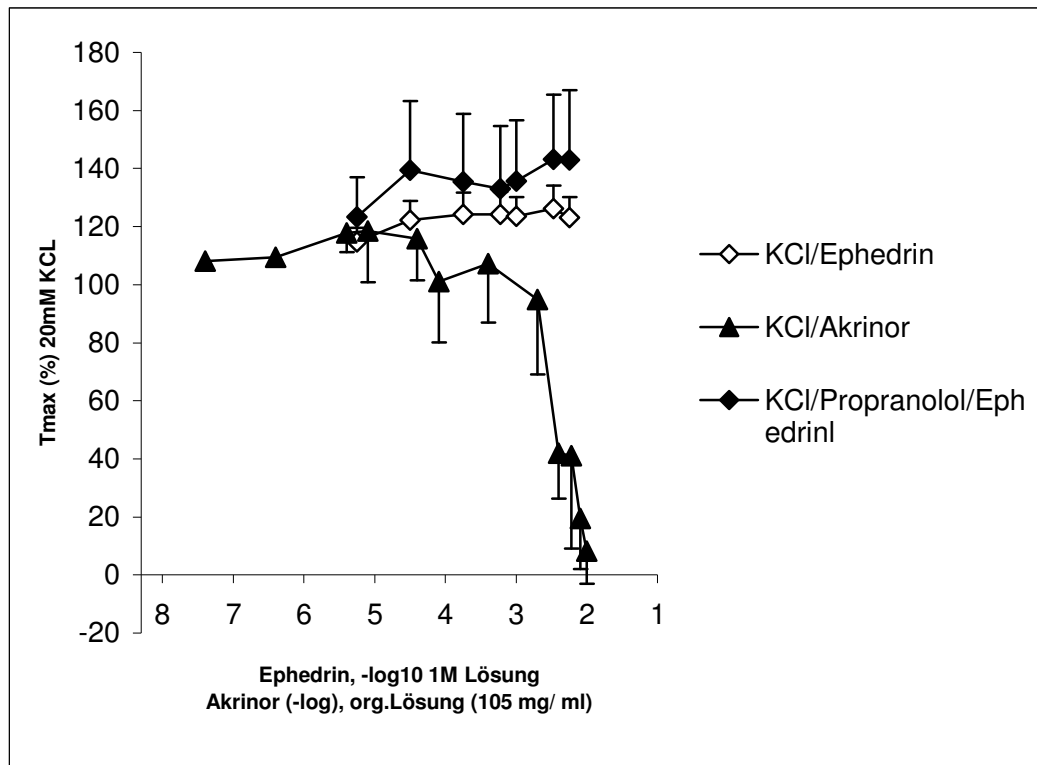


Abb. 7: Dosiswirkungskurve von Ephedrin (Koronarart. vom Schwein), KCl-Vorkontraktion mit und ohne Präinkubation Propranolol im Vergleich mit Akrinor®, Vorkontraktion mit KCL (Mittelwert mit Standardfehler, n=6)

Aus Gründen der Übersicht sind die experimentellen Protokolle, welche zu keiner relevanten Aussage führten, im Anhang der Arbeit graphisch dargestellt.

4. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass Akrinor[®], bestehend aus den Teilsubstanzen Theodrenalin und Cafedrin, die Koronararterien des Schweins relaxieren. Dies wurde in einem in vitro Modell der Koronararterien bei intaktem und zerstörtem Endothel gezeigt. Nach zusätzlicher Präinkubation mit dem β -Rezeptorenblocker Propranolol verursachten geringe Konzentrationen von Akrinor[®] eine transiente Kontraktion anschließender Relaxation, welche mit einer zusätzlichen Gabe des α_1 -Rezeptorenblocker Prazosin nivelliert werden konnte. In den weiterführenden Untersuchungen wurde demonstriert, dass sowohl Theodrenalin als auch Cafedrin für die Relaxation verantwortlich sind. Die transiente Kontraktion unter adrenerger β -Rezeptorenblockade mit Propranolol konnte nur für die Teilsubstanz Theodrenalin gezeigt werden.

Die Entwicklung von Akrinor[®] in den fünfziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts geht auf das Problem zurück, eine transiente symptomatische Hypotonie adäquat therapieren zu können. Besonders eindringlich bestand dieses Problem in den operativen Fächern der Medizin (23). Neben dem akuten Kreislaufversagen durch starke Blutungen führen narkotisierende Medikamente zu einem Blutdruckabfall. In der Inneren Medizin besteht dasselbe Problem bei stark Volumen entziehenden Verfahren, wie es zum Beispiel durch die Dialyse und Immunabsorptionsverfahren geschieht. Durch alleinige Volumensubstitution ist dies häufig nicht effizient zu kompensieren, sodass die Gabe von antihypotonen Medikamenten notwendig ist. Hierbei können im Wesentlichen zwei Mechanismen beeinflusst werden. Eine Möglichkeit ist die Steigerung des peripheren Widerstandes zum Beispiel durch Noradrenalin. Als unerwünschte Wirkung entsteht eine Minderperfusion von Endstromgebieten, was schwere Organschäden hervorruft. Die zweite Möglichkeit ist es, die Herzleistung medikamentös zu steigern. Eine Steigerung der Volumenarbeit des Herzens ist gegenüber einer vermehrten Druckarbeit des Herzens von Vorteil (70). Da bei gesteigerter Druckarbeit ein wesentlich höherer Energiebedarf des Myokards besteht als bei erhöhtem Schlagvolumen. Aber auch bei verstärkter Volumenarbeit ist der Bedarf nutritiver Substrate des Myokards erhöht. Auf die Stoffwechselbedingungen und die sich daraus ergebenden Limitierungen wurde

bereits in der Einführung eingegangen. Unter Punkt 1.5. wurde herausgestellt, dass zur suffizienten Sauerstoffversorgung des Herzens eine Koronardilatation notwendig ist. Daher besteht also die Forderung an ein Medikament zur Therapie einer Hypotonie, zunächst die Herzleistung über das Schlagvolumen zu steigern, aber auch eine ausreichende Versorgung des Herzmuskels mit Sauerstoff über eine Dilatation der Koronargefäße sicherzustellen, um Komplikationen im Sinne einer kardialen Ischämie zu verhindern.

Dass Theophyllin eine vasodilatierende Eigenschaft besitzt, war zum Zeitpunkt der Entwicklung von Akrinor[®] bekannt. Durch eine Zunahme des intrazellulären cAMP-Spiegels führt Theophyllin zu einer Relaxation der glatten Muskelzellen. Da dieser Mechanismus einen relativen Volumenmangel hervorruft, führt Theophyllin zu einer reflektorischen Zunahme der Herzfrequenz. Zudem sei die positive Beeinflussung der Diurese durch den genannten Wirkstoff genannt. Es war daher das Bestreben der pharmakologischen Forschung, die koronardilatierende Wirkung von Theophyllin mit antihypotonen Präparaten zu kombinieren. Dem Interesse der experimentellen Untersuchungen stand eine ganze Reihe von Aminoalkylderivaten des Theophyllins zur Verfügung, von denen alle eine positive inotrope Wirkung besaßen (49). In vergleichenden Experimenten stellte sich heraus, dass 7-[β -(β -Pehnyl-ethyl)amino-ethyl]-theophyllin-hydrochlorid die stärkste koronarerweiternde Wirkung besitzt. Diese Substanz entspricht dem Theodrenalin. Zum Nachteil der Substanz ist die Auslösung cerebraler Krampfanfälle bei Theodrenalin gegenüber den untersuchten anderen Derivaten am stärksten ausgeprägt. Das dem Cafedrin entsprechende Derivat 1-Phenyl-2-(7-theophylino-ethyl)-nor-ephedrin-hydrochlorid zeichnete sich durch eine lang anhaltende Wirkung bei verzögertem Wirkungseintritt aus. Im Ergebnis dieser Untersuchungen kombinierte man die Wirkung der Derivate, um sowohl eine schnell einsetzende als auch anhaltende Wirkung zu erzielen.

Es wurde bereits ausgeführt, dass Rückschlüsse von dem Wirkprofil der Einzelsubstanzen auf das Kombinationspräparat nur schwer möglich sind. Im Wirkprofil des Kombinatonspräparates steht die positive inotrope Wirkung neben einer kontrovers diskutierten Beeinflussung des peripheren Widerstandes (24, 29).

Neben der Einflussnahme auf den kardiovaskulären Kreislauf wurden bereits Veränderungen der Lipolyse, des cAMP-Spiegels und eine Diuresesteigerung untersucht (25, 27). Diese Effekte stehen bei dem Akutgeschehen jedoch im Hintergrund. Des Weiteren wurde in einer klinischen Studie eine Zunahme der pulmonalen Ventilation und somit der Sauerstoffaufnahme nachgewiesen (7, 50). Im Vergleich zur Einzelsubstanz Theophyllin ist diese stärker ausgeprägt (50, 51). Eine verstärkte Oxygenierung zählt sicherlich zu den gewünschten Wirkungen im Rahmen einer hypotonen Kreislaufsituation.

4.1. Akrinor[®] relaxiert die Koronararterien vom Schwein

In einer umfassenden Anzahl von sowohl experimentellen als auch klinischen Studien wurde übereinstimmend festgestellt, dass die gewünschte Blutdrucksteigerung durch Akrinor[®] über vermehrte kardiale Volumenarbeit erzeugt wird (3, 7, 17, 20, 22, 24, 29, 30, 58, 59). Es wurde bereits die grundlegende Anforderung formuliert, dass parallel zur Herzleistung eine ausreichende kardiale Eigenversorgung gewährleistet sein muss. Entsprechend dieser Fragestellung fand in einigen Studien gleichzeitig eine Evaluierung des koronaren Blutflusses statt. Die Koronardilatation gehört zu dem Wirkprofil von Theophyllin. Auch für die untersuchten Theophyllinderivate Theodrenalin und Cafedrin konnte diese Wirkung nachvollzogen werden. Schlepper und Witzleb (31) wiesen dies in einem in vivo Modell am Hund nach. Ein Befund, der durch zahlreiche weitere Studien untermauert werden konnte (17, 49, 20). Ebenfalls bestätigt wird dies durch die vorliegende Untersuchung. Es kann eine deutliche Reduzierung des Gefäßringtonus an einem in vitro Modell der Koronararterien des Schweins durch Akrinor[®] nachgewiesen werden. Da ein isoliertes Gefäßpräparat verwendet wurde, muss von einer direkten Wirkung von Akrinor[®] auf zellulärer Rezeptorebene ausgegangen werden. Die Relaxation blieb zudem unbeeinflusst durch die mechanische Zerstörung des Endothels. Somit kann eine Interaktion von Akrinor[®] direkt mit den Zellen der glatten Muskulatur der Gefäßmedia postuliert werden. Die direkte Einflussnahme auf den muskulären Anteil der Gefäßmedia ist auch bei intaktem Gefäßendothel möglich, denn es wird, wie in Abschnitt 1.7. erläutert, das Gefäßendothel durch Zellfortsätze der

glatten Muskelzellen durchsetzt. Innerhalb der Zellverbände wird die Weiterleitung des Signals durch Gap-Junctions gewährleistet. So kann das unmittelbare Einsetzen der Wirkung von Akrinor[®] zum Zeitpunkt der Applikation in das Gefäßbad erklärt werden.

Diese unverzüglich einsetzende Reaktion auf Akrinor[®] wird auch im klinischen Alltag beobachtet und ist auch experimentell untersucht worden (20, 49,58). In vivo Studien an Hunden und Meerschweinchen zeigen, dass Theodrenalin vorrangig für diese Eigenschaft von Akrinor[®] verantwortlich ist. Somit sollte die Wirkung von Theodrenalin zeitlich im Vordergrund stehen, während Cafedrin zumindest einen verzögerten Wirkungseintritt aufzeigen müsste. Dies wird zu einem späteren Zeitpunkt weiter ausgeführt. Im Zusammenhang mit der Vasodilatation durch Theodrenalin wird eine direkte β -adrenerge sympathomimetische Wirkung der Noradrenalin-Komponente diskutiert (17, 58). Daher erfolgte in einem nächsten Schritt eine pharmakologische Blockierung der koronaren β -Rezeptoren.

4.2. Akrinor[®] führt nach Präinkubation mit Propranolol zu einer transienten Kontraktion der Koronararterien des Schweins.

Im Vordergrund der Diskussion über den Mechanismus der nachgewiesenen Steigerung der Herzleistung (7) und der Dilatation der Atemwege durch Akrinor[®] steht die adrenerge Komponente des Medikamentes. Eine eventuell vorhandene periphere Wirkung von Theophyllin kann vernachlässigt werden (25, 29, 71). Die direkte sympathomimetische Wirkung des Theodrenalin kann als grundlegender Wirkmechanismus, welcher zur koronaren Dilatation führt, angesehen werden (17, 20, 31). In den Argumentationen wird ausgeführt, dass die zeitnah zur Applikation einsetzende Wirkung von Theodrenalin auf einer direkten Interaktion mit kardialen β -Rezeptoren beruht (20, 58). Zusätzlich wird Cafedrin eine periphere Blockade der adrenergen α -Rezeptoren zugeschrieben, wodurch die β -mimetische Wirkung verstärkt wird. Unterstützt wird diese These durch Studien der Wirkung von Akrinor[®] mit und ohne Blockade der β -Rezeptoren durch Propranolol. Sternitzke et al. (7) zeigen im Hinblick auf den gesamten Organismus an gesunden Probanden in einer klinischen Studie, dass Propranolol

die Blutdruck steigernde Wirkung von Akrinor[®] nivelliert. Mehmel et al. (58) untersuchen die Teilsubstanzen getrennt und beobachteten nach Gabe von Propranolol eine zeitliche Verzögerung der Wirkung von Theodrenalin. Daraufhin schließen sie auf einen kompetitiven Mechanismus am adrenergen β -Rezeptor. Im Zusammenhang mit Cafedrin beobachten sie eine negative Inotropie, welche bei Akrinor[®] durch Theodrenalin überlagert wird. Diese negative Inotropie bleibt von Propranolol unbeeinflusst. Jedoch tritt eine Kammerarrhythmie auf. Dies wird durch eine den Sympathikus indirekt stimulierende Wirkung von Cafedrin erklärt.

Die bisher vorliegenden Untersuchungen treffen jedoch keine Aussage zur lokalen Interaktion an Koronararterien. Die bereits von uns nachgewiesene Dilatation der Koronararterien des Schweins könnte demnach durch Stimulation adrenerger β -Rezeptoren hervorgerufen werden, voraussetzend, dass in diesen Koronararterien genauso wie in humanen Koronararterien β_2 -Rezeptoren die vorherrschende Unterart der adrenergen Rezeptoren darstellen.

In den vorliegenden Experimenten zeigte sich, dass die Relaxation der Koronararterie nicht vollständig durch eine β -Rezeptoreninteraktion erklärt werden kann. Akrinor[®] besaß in allen von uns durchgeführten Experimenten eine relaxierende Wirkung auf den Tonus des Gefäßringes, auch nach erfolgter Präinkubation mit Propranolol. Vor Beginn dieser Relaxation stellt sich in den von uns durchgeführten Experimenten aber zusätzlich eine Kontraktion dar. Ließe sich die relaxierende Wirkung von Akrinor[®] vollständig durch eine Interaktion mit adrenergen β -Rezeptoren erklären, dürfte es zu keiner Relaxation kommen. Entsprechend dem kompetitiven Modell stimuliert die Noradrenalin-Komponente von Akrinor[®] nach Blockade der β -Rezeptoren die wenigen, aber vorhandenen α -Rezeptoren. Diese These konnte in Experiment 2.1. verifiziert werden. Durch zusätzliche Blockade der adrenergen α -Rezeptoren konnte diese transiente Kontraktion nivelliert werden. Des Weiteren haben wir durch Experimente mit den Teilsubstanzen nachweisen können, dass die konstriktive Wirkung nur durch Theodrenalin hervorgerufen wird. Dieses steht im Einklang mit der bisherigen Studienlage entsprechend einer adrenergen Wirkung von Theodrenalin.

Die klinische Bedeutung dieser Kontraktion ist zu diskutieren. Nach klinischen Angaben wird Akrinor[®] aus der 2 ml Ampulle zunächst auf 10 ml Natriumchlorid (NaCl) verdünnt. Bei i.v.-Applikation und einer Annahme von ca. 8 l intravasaler Flüssigkeit kann eine maximale Konzentration von ca. $1,3 \cdot 10^4$ der originalen Lösung abgeschätzt werden. Zumeist erfolgt die Gabe nur in Teilen der in der Ampulle enthaltenen Dosis, so dass die klinische Konzentration eher niedriger liegt. Zudem muss gemäß den Fachinformationen (26) ein First-Pass-Effekt des Medikamentes einkalkuliert werden. In Bezugnahme auf das Experiment mit erfolgter β -Rezeptorenblockade kann demnach nicht von einer durch Akrinor[®] verursachten koronaren Konstriktion bei bestehender Vormedikation mit einem β -Rezeptorenblocker ausgegangen werden.

Kritisch angemerkt werden muss hier jedoch, dass die Größe der verwendeten arteriellen Gefäßpräparate von ca. 1 mm Durchmesser nicht primär für den koronaren Gefäßwiderstand verantwortlich ist. Vielmehr wird davon ausgegangen, dass Arteriolen mit einem Durchmesser kleiner 300 μ m die Größe des Gefäßwiderstandes am gesunden Herzen determinieren (48). Aber es wurden sowohl experimentell (56) als auch klinisch (48) unterschiedliche Untergruppen α -adrenerge Rezeptoren in Arterien und Arteriolen am Herzen nachgewiesen.

Entsprechend den genannten experimentellen Studien (48) muss davon ausgegangen werden, dass in den von uns verwendeten Arterien α_1 -Rezeptoren vorherrschen. Am gesunden Herzen spielt der durch diese Rezeptorenuntergruppe vermittelte sympathikogene Ruhetonus nur eine untergeordnete Rolle. Die Bedeutung nimmt jedoch im Zusammenhang mit Gefäßerkrankungen zum Beispiel koronarer Herzerkrankungen, endothelialer Dysfunktion oder hämodynamisch relevanten Gefäßstenosen bei Koronarsklerose stark zu. Klinische Effekte wurden durch Schleusing und Bartsch (51) beobachtet. Unter Einschluss von Patienten mit kardiovaskulären Vorerkrankungen, darunter 2 Infarkte, wiesen sie ein unterschiedliches Verhalten kreislaufgesunder Probanden und kreislaufkranker Probanden nach. Noch unter Injektion von Theodrenalin gaben kreislaufkranke und kreislaufgesunde Patienten Angina pectoris typische Symptomatik an. Außerdem reagierten sie mit einem wesentlich stärkeren Anstieg des systolischen Blutdruckes im Vergleich zu gesunden Probanden. Mit dem

Abklingen der Wirkung sistierte die kardiale Symptomatik. Inwiefern eine Vorschädigung der von uns verwendeten Koronararterien bestand, lässt sich nur schwer abschätzen. Bei den von uns verwendeten Gefäßen gab es makroskopisch hier für keinen Anhalt, des Weiteren spricht das Alter von maximal 12 Monaten und die reguläre industrielle Ernährung der Tiere gegen eine relevante arteriosklerotische Vorschädigung der Arterien. Atherosklerotische Veränderungen der Gefäße lassen sich diätisch bei Schweinen induzieren. Turk et al. (78) wiesen an 38 Schweinen pathologische Veränderungen durch einen erhöhten Fettanteil in der Nahrung in Gefäßen des Schweins nach. Abhängig von der Gefäßlokalisierung, brachial oder abdominell, fand sich eine verringerte endotheliale Funktion. Im Schwein können vaskuläre Pathomechanismen simuliert und erforscht werden, müssen aber wiederum bei anderen Fragestellungen berücksichtigt werden.

Abgesehen von der klinischen Bedeutung konnte von uns gezeigt werden, dass Akrinor[®] und insbesondere Theodrenalin eine Interaktion mit adrenergen Rezeptoren verursachen. Die Interaktion erfolgt entsprechend dem kompetitiven Modell im Rahmen der beobachteten transienten Kontraktion. Dass jedoch die Steigerung der Koronardurchblutung allein auf einer β -adrenerge Rezeptorstimulation zurückzuführen ist, konnte nicht bewiesen werden. Weder die Stärke der Relaxation noch der Bedarf einer signifikant höheren Akrinor[®]konzentration für die Relaxation konnten beobachtet werden. Ausgehend von diesem Befund wurden weitere Experimente durchgeführt, in denen weitere mögliche Mechanismen selektiv pharmakologisch blockiert wurden. Unsere Vorgehensweise legt der beobachteten Wirkung ausschließlich das theoretische Modell eines kompetitiven Rezeptorenmechanismus zu Grunde. Dem entgegen haben Mistry et al. (46) in einer Studie die Wirkungsweise von β -Rezeptorenblockern an isolierten Herzvorhöfen, trachealem Gewebe von Meerschweinen und an Ratten untersucht. Bei der Kombination von Propranolol und Labetalol wurde ein supraadditiver Effekt beobachtet, aber auch ein infraadditiver Effekt bei der Kombination von Sotalol mit Labetalol bzw. Metoprolol festgestellt. Das Ergebnis dieser Experimente ist durch das „kompetitive Modell“ nicht erklärt. Es muss also das metaaffinide Modell bei der Wirkungsweise adrenerger β -Rezeptoren mit in Betracht gezogen werden. Es ist

also möglich, dass Propranolol lediglich die Affinität des β -Rezeptors verändert, ohne tatsächlich eine Blockade zu bewirken.

4.3. Weiterführende Untersuchungen zum Mechanismus der Relaxation koronarer Arterien in vitro durch Akrinor®

Aufgrund des angewandten experimentellen in vitro Modells der isometrischen Kontraktion beschränken sich die Untersuchungen auf Mechanismen der zellulären Ebene. Es konnte lediglich die Rolle weiterer interzellulärer Botenstoffe geklärt werden, um einen Hinweis auf den grundlegenden Mechanismus der Relaxation durch Akrinor® zu erhalten. Eine zentrale Rolle bei der Vasodilatation im Allgemeinen spielt Nitrit (NO), dessen Ort der Synthese das Gefäßendothel ist. Wir zerstörten daher in den Experimenten 1.4. das Endothel mechanisch. Daraufhin stellten wir eine signifikant höhere EC50, bedingt möglicherweise durch die Entfernung des Endothelium Derived Contracting Factor (EDCF), fest. Da die Relaxation in einem unverminderten Maß stattfand, kann nicht von einer entscheidenden Rolle des Gefäßendothels im Hinblick auf NO und cGMP pathway ausgegangen werden. Die weiterführenden Untersuchungen erfolgten daher bei intaktem Endothel.

Es erfolgte die pharmakologische Blockade der dopaminergen Rezeptoren allein und in Kombination mit β -Rezeptorenblockade. Neben β -adrenergen und dopaminergen Rezeptoren liegen Studien über eine dilatierende Wirkung von Adenosinrezeptoragonisten vor. Auch dieser Rezeptorenmechanismus agiert intrazellulär über eine Akkumulation des Second-Messengers cAMP (87). Goa et al. (87) haben kurzwirksame Adenosinagonisten unter anderem an Schweinen untersucht. Hier wird ein Zusammenhang von NO, Bradykinin und Adenosin durch Goa et al. angenommen. Im Rahmen einer Dilatation führt jeder dieser drei genannten Botenstoffe zu einer Vasodilatation. Durch sie erfolgt eine Modulation des vaskulären Ruhetonus, getriggert unter anderem durch Hypoxie, im Sinne einer Vasodilatation. Aus diesem Grund untersuchten wir die Wirkung von Akrinor® bei unzureichender Erklärung durch das β -Rezeptorenmodell nach pharmakologischer Stimulierung der Adenosinrezeptoren. Eine wegweisende

Veränderung des Verhaltens der Gefäßringpräparate konnte in diesen Experimenten ebenfalls nicht beobachtet werden. Eine abschließende Klärung der koronaren Vasodilatation auf zellulärer Ebene durch Akrinor® konnte somit nicht erreicht werden.

Weitere rezeptorspezifische Untersuchungen erscheinen uns aufgrund der vorliegenden experimentellen Ergebnisse nicht als sinnvoll. In einem weiterführenden Schritt müssen zunächst die intrazellulär beteiligten Signalwege identifiziert werden. Hierbei sollte die Veränderung des zellplasmatischen Calciumspiegels sowie die Second-Messenger cAMP und cGMP im Vordergrund stehen. Nach erfolgter Klärung der Rolle der genannten Botenstoffe können Rückschlüsse auf die zelluläre Ebene gezogen werden. Erst dann kann eine zielgerichtete und so auch effizientere Analyse von Rezeptorinteraktionen durch Akrinor® erfolgen. Diese Herangehensweise auf intrazellulärer Ebene gewinnt zusätzlich an Bedeutung, da die bisherige Grundlagenforschung nicht in der Lage ist, die Relaxation der glatten Muskulatur lückenlos zu erklären. So verweist Angnus (37) auf die Möglichkeit einer direkten Ca^{2+} Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum ohne Depolarisation der Zellmembran. Dabei wird ein Rezeptor mit extrazellulärer Ligandeneinheit und Verbindung mit dem endoplasmatischen Retikulum angenommen ohne den Second-Messenger cAMP. Die Komplexität der möglichen Interaktionen fasst Angus in Kapitel 6 „Membrane ion channels in vascular smooth muscle excitation-contraction coupling“ zusammen. „Erstens: Die Ionenkanal vermittelten Effekte interagieren auf eine sehr komplexe Art und Weise über die Veränderung der $[\text{Ca}^{2+}]_i$, verschiedene Second-Messenger-Kaskaden und die Aktivität von Ionenpumpen. Zweitens: Die Bedeutung der einzelnen Systeme ist von Agonist zu Agonist, von Blutgefäß zu Blutgefäß und mit hoher Wahrscheinlichkeit innerhalb eines Blutgefäßes an unterschiedlichen Stellen unterschiedlich. Drittens: Das Verständnis der einzelnen Mechanismen ist derzeit unvollständig und wird kontrovers diskutiert.“ (37) Zudem ist eine strikte Trennung der zur Kontraktion bzw. Relaxation führenden Signalwege nicht zielführend. So führt zum Beispiel Noradrenalin in anderen nicht kardialen Endstrombahnen zu einer Vasokonstriktion. Diskutiert wird in diesem Zusammenhang eine Interaktion von Noradrenalin mit L-Typ- Ca^{2+} - Kanälen und eine Reduzierung des

Kaliumeinstroms via Phosphokinase A durch Inaktivierung der IP₃-Rezeptoren (37). Diese und weitere Hypothesen ergeben ein äußerst komplexes Bild der intrazellulären Tonusregulation. Gleiche Botenstoffe rufen unterschiedliche zelluläre Reaktionen auch in ein und derselben Zelle bei unterschiedlicher zellulärer Ausgangssituation hervor. Um den Myokardinfarkt an dieser Stelle als klinisch relevantes Beispiel anzuführen, konstatiert Mallet (64), dass reaktive Sauerstoffradikale (reactive oxygen radicals species, ROS) im Rahmen eines hypoxischen Geschehens die β -adrenerge Aktivierung der L-Typ-Ca²⁺-Kanäle verstärken.

Die Darlegung dieser durchaus komplexen Signalwege impliziert die Schlussfolgerung, dass nicht etwa die Aktivierung bzw. Deaktivierung einzelner Prozesse im Vordergrund steht. Vielmehr muss von einer Reihe von Reaktionsgleichgewichten ausgegangen werden, deren Verlagerung wiederum zu einer Veränderung des Tonus der glatten Muskelzelle führt. Aus diesem Grund muss neben der experimentellen Betrachtung der relaxierenden Vorgänge ebenfalls eine Berücksichtigung der gehemmten kontrahierenden Mechanismen erfolgen. Zumal in den vorliegenden Experimenten in der Mehrzahl von einer kaliuminduzierten Kontraktion ausgegangen wurde. Die dabei ausgeprägte Relaxation durch Akrinor[®] kann also auch über eine Hemmung kontrahierender Prozesse zustande kommen. Da bei fehlender chemischer Vorkontraktion eine Relaxation nur in einem stark verminderten Maß stattfindet, kann die beobachtete Relaxation durchaus in der Hemmung Kalium getriggelter Reaktionen begründet sein.

4.4. Vergleichende Experimente mit Ephedrin

Mit dem Hinweis auf rechtliche Einschränkungen der Zulassung von Akrinor[®] in Deutschland hatte AWD-Pharma, welche Akrinor[®] monopolistisch deutschlandweit vertreibt, die Produktion von Akrinor[®] zum Jahresende 2005 eingestellt. Das Geschehen gibt den Überlegungen über eine pharmakologische Alternative zu Akrinor[®] eine neue Schwere, auch wenn Akrinor[®] bereits wieder zugelassen ist und aktuell im Handel befindet. Auf den relativ engen

geographischen Verbreitungsraum von Akrinor[®] wurde bereits in der Einleitung hingewiesen. Darüber hinaus kommt vor allem die Substanz Ephedrin bei vergleichbarer Indikation zum Einsatz (57). Bei Ephedrin handelt es sich um ein indirektes Sympathomimetikum, dessen Wirkung ähnlich der Akrinor[®] auf einer Steigerung der Herzleistung und nicht auf einer peripheren Vasokonstriktion zurückgeführt wird. Die medizinische Indikation des Medikamentes umfasst die transiente Hypotonie bei rückenmarksnaher Leitungsanästhesie. Zusätzlich wird Ephedrin bzw. das Alkaloid der Pflanze Ephedra Sinica als Nahrungsergänzungsmittel eingenommen. Mit zentralstimulierender Wirkung wird Ephedra vor allem in Kombination mit Koffein verwendet. Die positiven Effekte, welche in einer Gewichtsreduktion und einer Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit bestehen, führen zu einer Verwendung als Dopingmittel und „Life–Style–Drug“.

Aus verschiedenen Ländern wie der Schweiz, Polen und Kanada liegen Fallberichte über unerwünschte Wirkungen von Ephedrin vor. So berichten Gedevanshvili et al. (69) sowohl als auch Wahl et al. (68) von Patientinnen, welche im Rahmen einer rückenmarksnahen Leitungsanästhesie Koronarspasmen erlitten. Bei Wahl wurden anamnestisch keine, bei Gedevanshvili einzig das Rauchen als Risikofaktor eruiert. Zeitnah zu einer intravenösen Applikation von Ephedrin klagten die Patientinnen über retrosternalen Brustschmerz. Im EKG stellten sich diffuse ST–Streckenveränderungen dar. Wahl konnte zusätzlich eine Reduktion der linksventrikulären Ejektionsfraktion auf 40 % echokardiographisch nachweisen. Während Gedevanshvili kausal eine Beteiligung einer beginnenden Arteriosklerose diskutiert, schloss Wahl eine hämodynamisch relevante Koronarsklerose am Folgetag durch eine Koronarangiographie aus. Beide Autoren führen die akute Symptomatik auf Ephedrin zurück. Den gleichen Sachverhalt schildern Grešk et al. (67) im Falle eines 19–Jährigen, welcher eine dem Ephedrin verwandte Substanz Pseudoephedrin zur Therapie eines Atemwegsinfektes einnahm. In tierexperimentellen Studien ist aber bisher keine Evidenz für eine Kardiotoxizität von Ephedrin erbracht worden. Dies steht im Einklang mit den klinischen Beobachtungen der prompten Regredienz der pathologischen Befunde. In den durch uns erbrachten Daten zeigte sich als pathophysiologisches Korrelat ausgehend von der chemischen Vorkontraktion eine Vasokonstriktion. Diese blieb

bei steigender Dosis konstant. Hierdurch ist eine transiente Ischämie mit entsprechenden klinischen Zeichen erklärbar.

Eine deutliche Steigerung der Konstriktion, welche wir unter Blockade der adrenergen β_2 -Rezeptoren bei Akrinor[®] beobachteten, unterstützt die These von Nurminen (74), dass Ephedrin eine agonistische Wirkung sowohl auf β -Rezeptoren als auch auf α -Rezeptoren besitzt. Es überwiegt klar die α -agonistische Wirkung. Dieser Befund der Vasokonstriktion führt zu einer negativen Beurteilung gegenüber dem zu vergleichenden Akrinor[®]. Die klinische Relevanz spiegelt sich in der relativ höheren Zahl der Fallberichte wider. Langfristige Schädigungen sind vor allem bei Kombination mit anderen Vasokonstriktoren zum Beispiel mit Koffein nachgewiesen, dies jedoch bei Einsatz in Kombination mit anderen Wirkstoffen als Nahrungsergänzungsmittel. Sowohl Howden et al. (61) als auch Nyska et al. (60) wiesen an Fischer-314-Ratten eine multilokuläre Muskelzellnekrose bei Ischämie nach. Ephedrin bei alleiniger Medikation stellt daher in der klinischen Verwendung eine sichere Alternative zu Akrinor[®] dar. Bei entsprechenden Vorerkrankungen des Patienten und bestehenden kardiovaskulären Risikofaktoren in der Anamnese können kardiale Ischämien auftreten. Wie Wahl et. al. (66) zeigen, können diese hämodynamisch relevant werden. Erklärt werden kann diese Symptomatik durch die von uns beobachtete Vasokonstriktion.

4.5. Übertragung der experimentellen Daten auf die humane Medizin

Ein grundlegendes Problem bei Tierexperimenten in einem medizinischen Kontext ist die Frage nach der Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen. Douglas (83) stellt in einem Review zu dieser Fragestellung in Bezug auf das Schwein die Ähnlichkeit zum Menschen heraus. Er bezeichnet sie als „almost human“. Generell sieht er im Vergleich beispielsweise zur Ratte einen wesentlich kleineren Größenunterschied. Ebenso sind die Lebensdauer, die metabolische Gesamtleistung sowie die Ernährung und auch die notwendigen Grundnahrungstoffe vergleichbar. Dies hat zu einer weit verbreiteten Nutzung des

Schweins für experimentelle Untersuchungen *in vitro* sowohl als auch *in vivo* geführt.

Die Forschung unter dem kardiovaskulären Aspekt bildet hierbei einen Schwerpunkt. Unter diesem Schwerpunkt finden sich Studien sowohl zu makroskopischen als auch biochemischen Aspekten am Modell Schwein. Im Rahmen pathophysiologischer Untersuchungen verwendeten Miyoshi et al. (85) und Fujino K. (82) isolierte glatte Muskelzellen porciner Koronararterien. Hier wurde versucht, intrazelluläre Mechanismen der Depolarisation nachzuvollziehen. Im Sinne eines Übergangs zu makroskopischen Betrachtungen steht zum Beispiel die Studie von Gu et al. (88), welche einen Versuchsaufbau verwendeten, der unserem stark ähnelte. Präparierte Gefäßringe Koronararterien des Schweins wurden zur Klärung pharmakologischer Prozesse verwendet. Der klare Vorteil für diese Experimente liegt in der relativen Größe der Koronararterien gegenüber zum Beispiel denen von Ratten, Meerschweinchen oder Hunden. Zu dem sind sie wesentlich einfacher verfügbar. Zumeist fallen sie als Nebenprodukt in Schlachtbetrieben an. Dies birgt den Nachteil einer nicht vollständig normierten Tierhaltung und Ernährung. Im Gegenzug entstehen interindividuelle Unterschiede, die bei geeigneter Kohortengröße die humanmedizinischen Gegebenheiten widerspiegeln. Die erwähnten makroskopischen Aspekte finden sich in aktuellen Studien zur kardialen Stentimplantation. Gyöngyösi et al. (39) skizzieren die Bedeutung präklinischer Tests von intrakoronaren Stents. Sie weisen auf die zeitliche Differenz des neointimalen Heilungsprozesses hin. In etwa entspricht ein Monat des Schweins sechs Monaten der humanen Proliferationszeit. Sie schränken die Übertragbarkeit der experimentellen Daten auf den Menschen daraufhin ein. Die Notwendigkeit präklinischer Tests an einem tierischen Modell zur Vermeidung akuter, subakuter, schwerer, unerwarteter und chronischer Nebenwirkungen ist jedoch unumstößlich. Schließlich führt Stein (24) in seiner Dissertation makroskopische und biochemische Aspekte zusammen. Bei der Langzeituntersuchung biodegradierbarer und wirkstoffbeladener Intrakoronarstents wird sowohl die In-Stent-Stenose begutachtet als auch die Nebenwirkung des aufgetragenen Chemotherapeutikums.

In der durch uns vorgelegten Studie an isolierten Gefäßringen Koronararterien des Schweins kommen nur lokal stark begrenzte Interaktionen zum Tragen. Alle endokrinen und vegetativen Mechanismen des Gesamtorganismus werden vernachlässigt. Dies grenzt die klinische Übertragbarkeit ein, ermöglicht es jedoch, die Interpretation der Ergebnisse auf zelluläre Rezeptormechanismen zu spezifizieren. Die Isolierung einzelner Signalwege und die anschließende Zusammenführung der Ergebnisse schafft langfristig ein detailliertes Bild, was im Sinne der Grundlagenforschung ist. Eine zweifelsfreie Übertragung der Erkenntnisse kann nur über eine Wiederholung der Experimente mit humanen Koronararterien gewährleistet werden. Aus ethischen Gründen sollte vorher jedoch eine umfassende Hypothese der Wirkung von Akrinor[®] entwickelt werden, da nur so eine konsequente Abfolge von notwendigen Untersuchungen festgelegt werden kann.

Zusammenfassend wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass Akrinor[®] eine vom Endothelium unabhängige Relaxation Koronararterien des Schweins nach Präkontraktion mit KCl verursacht. Am Wirkmechanismus sind β -adrenerge Rezeptoren beteiligt, da eine nicht selektive β -Rezeptorenblockade eine transiente Kontraktion verursacht, welche α - adrenerge Rezeptoren entsprechend dem kompetitiven Modell demaskiert. Hinsichtlich der vollständigen Klärung der beteiligten Mechanismen sind weitere Experimente mit Koronararterien des Schweins und humanen Koronararterien sowohl in vitro als auch in vivo notwendig.

In Anbetracht der vorliegenden Studienergebnisse sollte bei Patienten mit β -Rezeptorenblockern mit Vorsicht appliziert werden. Da sich die Wirkungen der Teilsbstanz Theodrenalin und Cafedrin teilweise antagonisieren (26), sollte die Verwendung, in der Ära der umfassenden Medikation mit β -Blockern (32, 33, 34), eingehend diskutiert werden.

5. Zusammenfassung

Insbesondere bei der Periduralanästhesie führen narkotisierende Medikamente zu einem Blutdruckabfall. In der Inneren Medizin besteht das Problem transienter Hypotonien bei stark Volumen entziehenden Verfahren. Eine alleinige Volumensubstitution ist häufig keine ausreichende Therapie. Daher wurde Akrinor[®] zur Therapie der transienten symptomatischen Hypotonie entwickelt und findet im deutschsprachigen Raum breite Verwendung. Das Konjugat, bestehend aus zwei Aminoalkylderivaten des Theophyllins, führt zu einer Blutdrucksteigerung durch Steigerung der Herzleistung ohne wesentliche Erhöhung des systemischen vaskulären Widerstandes. Verwendet werden die Substanzen Noradrenalintheophyllin und Cafedrin in einem Mischungsverhältnis 200: 1. Da im Verlauf der letzten Jahrzehnte wiederholt über Zeichen einer akuten kardialen Ischämie im Zusammenhang mit der Verwendung von Akrinor[®] berichtet wurde, untersuchten wir im ersten Teil der vorliegenden Arbeit die Wirkung von Akrinor[®] am in vitro Modell der isometrischen Kontraktion einer Koronararterie des Schweins. Zusätzlich wurden weiterführende Experimente zu relevanten Rezeptormechanismen und mit den getrennten Teilsubstanzen durchgeführt.

Unsere Experimente ergaben eine relaxierende Wirkung von Akrinor[®] auf die Koronararterien vom Schwein. In der Literatur wird dies durch eine agonistische Interaktion am adrenergen β -Rezeptor erklärt. Dies konnten wir nicht vollständig bestätigen. Wir beobachteten nach Inkubation mit dem selektiven Rezeptorenblocker Propranolol eine transiente Konstriktion mit anschließender Relaxation der Arterie. Diese konnte wiederum durch zusätzliche α -Rezeptorenblockade nivelliert werden. Die von Akrinor[®] verursachte Koronardilatation kann daher nicht nur durch eine Aktivierung der adrenergen β -Rezeptoren erklärt werden. Auch durch Blockade dopaminerger Rezeptoren und Stimulation von Adenosinrezeptoren sowie Untersuchungen bei zerstörtem Endothel konnte keine wegweisende Erkenntnis zum Mechanismus der Relaxation gewonnen werden. Im zweiten Schritt der experimentellen Untersuchungen mit den getrennten Teilsubstanzen zeigte sich Theodrenalin

allein für diese transiente Konstriktion verantwortlich. Die relaxierende Wirkung konnten wir sowohl für Theodrenalin als auch für Cafedrin nachweisen.

Auf Grund rechtlicher Zulassungsbeschränkungen des Medikamentes Akrinor[®] wurde der Vertrieb zu Beginn des Jahres 2005 vorübergehend eingestellt. Es rückt als Folge daraus die Frage in den Mittelpunkt, welches alternative Präparat verwendet werden kann. Im englischsprachigen Raum wird bei vergleichbarer Indikation Ephedrin zur Therapie der transienten Hypotonie genutzt. Auch in Bezug auf Ephedrin liegen Fallberichte zur kardialen Ischämie nach Applikation des Medikamentes vor. Korrelierend dazu beobachteten wir in unseren Experimenten eine Steigerung des Tonus des isolierten Gefäßringes. Eine Abhängigkeit von adrenergen β -Rezeptoren konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

6. Verzeichnis der Abkürzungen

A II	Angiotensin II
AC	Adenyltacyclase
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
$[Ca^{2+}]_i$	Intrazelluläre Calciumkonzentration
Ca^{2+}	Kalzium
Ca^{2+} -CaM	Calcium-Kalmodulin-Komplex
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	Zyklisches Guaninmonophosphat
DAG	Diacylglycerol
EKG	Elektrokardiographie
EPI	Epinephrin
ET-1	Endothelin 1
Fig.	Figur
GC	Guanylcyclase
GDP	Guanyldiphosphat
G_i	G – Protein, inhibierend
G_q	G – Protein q
G_s	G – Protein stimulierend
GTP	Guanyltriphosphat
IP_3	Inositoltriphosphat
K^+	Kalium
KCl	Kaliumchlorid
KH-Lösung	Krebs-Henseleitlösung
MLC	Myosinleichtkette
MLCK	Myosinleichtkettenkinase ,
Na^+	Natrium
NaCl	Natriumhydrochlorid
NE	Norepherin
NO	Stickstoffmonoxid
P_i	Phosphation
PIP2	Phosphatidylinositoldiphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
PLC	Phospholipase C
R	Retikulum
SERCA	sarkoplasmatische Retikulum- Ca^{2+} ATPase
SR	sarkoplasmatische Retikulum

7. Literaturverzeichnis

1. Böhmer D.; Stroman F.:
Kreislaufversuche an Katzen zur Akrinor[®]-Wirkung in tiefer
Halothan-Narkose. Der Anesthesist, 19. Bd., Heft 7, 1970
2. Reichelt W.; Piepenbrock; Hempelmann G.; Oelert H.:
Die Wirkung von Akrinor[®] auf die extrathorakalen Kapazitätsgefäße
während extrakorporaler Zirkulation und die ventrikuläre
Hämodynamik am Menschen unter Narkosebedingungen
Anaesthesist 29: 481-486, 1980
3. Heller A.; Grosser K.D.:
Hämodynamische Untersuchungen an Infarktkranken nach
intravenöser Applikation von Akrinor[®]
Medizinische Welt 25/ Heft 45, 1974
4. Hoffmann W.; Sternitzke N.:
Die Beeinflussung der orthostatischen Kreislaufregulationsstörungen im
Kindesalter durch das Kombinationspräparat: Norephedrin-
Theophyllin und Noradrenalin Theophyllin
Klinische Pädiatrie, 189: 131-136; 1977
5. Rettig G; Sternitzke N.; Schieffer H.; Hoffmann W.; Bette L.:
Einfluss einer blutdruckwirksamen Substanz auf die
Stoffwechselsubstrate im Blut bzw. Serum
Arzneimittel-Forschung, 26, 1976
6. Sternitzke N.; Schieffer H.; Rettig G; Bette L.:
Die Beeinflussung der Herz-Kreislauf-Dynamik durch die
Theophyllin-Verbindungen Cafedrin und Theodrenalin sowie durch
ihre Kombination
Herz/Kreislauf 8/84: 401, 1984
7. Sternitzke N.; Schieffer H.; Bette L.:
Der Einfluß von Akrinor[®] auf die Herz-Kreislauf-Dynamik vor und
nach der Blockade der adrenergen Betarezeptoren durch Propranolol
Zeitschrift für Kardiologie, Band 64, Heft 5: 419-430; 1975
8. Müller H.; Brähler A.; Börner U; Boldt J; Stoyanov M.; Hempelmann
G.:

- Hämodynamische Veränderungen nach der Bolusgabe verschiedener Vasopressiva zur Blutdruckstabilisierung bei Periduralanästhesie
Regional-Anästhesie 8: 43-49, 1985
9. Schieffer H.; Heinz H.; Sternitzke N.; Bette L.:
Die Wirkung von Akrinor[®] auf die Herz- und Kreislaufdynamik sowie auf den Lungenkreislauf bei Patienten mit und ohne Herzerkrankung
Verhandlung der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 77.
Kongress 1971
 10. Kulka P. J.; Scheu C.; Tryba M.; Oberheiden R.; Zenz M.:
Coronary artery plaque disruption as cause of acute myocardial infarction during Cesarean Section with spinal anesthesia
Journal of Clinical Anesthesia 12:335-338, 2000
 11. Schmidt R. F.; Thews G.:
Physiologie des Menschen
Springer Verlag, 27. Auflage, 1997
 12. Waldeyer A.; Mayet A.:
Anatomie des Menschen
Walter de Gruyter Verlag Berlin 1993; 16. Auflage
 13. Karow T.; Lang-Roth R.:
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Dr. med. T. Karow Am Römerpfad 25 50259 Pulheim; 2003; 11. Auflage
 14. Schiebler T. H.; Schmidt W.:
Anatomie, Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen
Springer Verlag; 7. Auflage; 1997
 15. Gesundheitsbericht 2004/2005
Land Mecklenburg–Vorpommern
 16. Gogarten W.; Strümper D.; Van Aken H.; Brodner G.; Marcus M.:
Einfluss von Akrinor[®], Ephedrin und Etilefrin auf den uterinen Blutfluss des trächtigen Schafes
Anästhesie und Intensivmedizin, 45: 550-557; 2004
 17. Hahn N.; Sternitzke N.; Malotki D.; Raque B.; Eichelkraut W.; Forneck G.:

- Der Einfluss von Akrinor® auf die Hämodynamik und die Myokarddurchblutung bei partiell ischämiegeschädigtem Herzen (kardiogener Schock). Akute Versuche am narkotisierten Hund Herz/Kreislauf; 9: 462-469; 1985
18. Pfenninger E.; Himmelseher S.:
Sofortmaßnahmen bei Apoplexien
Zeitung für Allgemein Medizin; 68: 33-37; 1992
 19. Schaffler K.; Wauschkuhn C.:
Orthostatische Hypotonie
Zeitung für Allgemeinmedizin; 68: 1211-1215; 1992
 20. Sakai K.; Hashimoto K.:
Studies on the Pressor Response to Aminoalkyl Derivates of Theophylline, Noradrenalinetheophylline and Norephedrintheophylline
Arzneimittel Forschung (Drug Research); 22: 693-697; 1972
 21. Boldt J.; Müller H.; Börner U.; Kling D.; Moosdorf R.; Hempelmann G.:
Untersuchungen zur isolierten Beeinflussung des Gefäßsystems durch verschiedene blutdrucksteigernde Medikamente (Akrinor®, Etilefrin, Ephedrin, Norfenefri, Amezinium) während der extrakorporalen Zirkulation beim Menschen
Der Anaesthetist; 35: 93-98; 1986
 22. Elbrecht H.; Buhr G.:
Über den Einfluß von Akrinor® auf die orthostatische Frühregulation (unter besonderer Berücksichtigung des Niederdrucksystems)
Zeitschrift für Kardiologie und Angiologie; 6: 328-332; 1974
 23. Klein O.; Begemann H.; Koeppe H.-W.:
Zur Behandlung des akuten Kreislaufversagens in der operativen Medizin
Medizinische Klinik; Nr. 47: 1879-1882; 1964
 24. Stein A.:
Langzeituntersuchungen zur In-Stent Restenose eines neuen biodegradierbaren, wirkstoffbeladenen, intravaskulären Polyaktidstents nach Implantation in porcine Koronararterien

- Dissertation, Rheinisch–Westfälische technischen Hochschule Aachen,
2006
25. Nencini P.:
Differences in the Lipolytic and Cyclic AMP Accumulative Action of
Noradrenaline-Theophylline and Norephedrine-Theophylline
Drug Research; 30: 1080-1082; 1980
 26. Fachinformation.
Akrinor[®], Injektionslösung
Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V.; Juli 2001
 27. Sakai K.; Shioya A.; Hasimoto K.:
Effect of Combining Noradrenalinetheophylline and
Norephedrintheophylline in Various Ratios on Renal Circulation
Drug Research; 22: 698-701; 1972
 28. Seitz W.; Fritz K.; Lübke N.; Kirchner E.:
Therapie hypotensiver Zustände bei rückenmarksnahen
Leitungsanästhesien mit Ameziniummetilsulfat und Akrinor[®]
Intensivbehandlung; 10: 31-36; 1985
 29. Sternitzke N.; Schieffer H.; Rettig G.; Bette L.:
Die Beeinflussung der Herz-Kreislauf-Dynamik durch die Theophyllin
– Verbindungen Cafedrin und Theodrenalin sowie durch ihre
Kombination
Herz/Kreislauf; 8; 401-412; 1984
 30. Böhmer D.; Stroman F.:
Kreislaufversuche an Katzen zur Akrinor[®]–Wirkung in tiefer
Halothan-Narkose
Der Anaesthesist, 19. Band, Heft 7: 258-260; 1970
 31. Schlepper N. Witzleb E.:
Coronardurchblutung und O₂-Verbrauch des Warmblüterherzens unter
dem Einfluss eines Kreislaufanaleptikums mit neuartigem
Wirkungscharakter
Arzneimittel-Forschung; 12: 841; 1962
 32. Bucher O.; Wartenberg H.:
Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen
Verlag Hans Huber, 12. Auflage, 1997

33. Golenhofen K.:
Die myogene Basis der glattmuskulären Motorik
Klinische Wochenschrift, 56: 211-244; 1978
34. Pfitzer G.; Rüegg JC.:
Smooth muscle activation. In: Sugi H. Muscle contraction and cell motility—molecular and cellular aspects
Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 63-86, 1992
35. Miyoshi Y.; Nakaya Y; Wakatsuki T.; Nakaya ; Fujino K; Saito; et al.:
Endothelin blocks ATP-sensitive K⁺ channels and depolarizes smooth muscle cells of porcine coronary artery
Circulation Research; 70: 612–616; 1992
36. Conde Lopez VJ.; Ballestros Alcalde MC.; Blanco Garrote JA.; Marco Llorente J.:
Cerebral infarction in an adolescent girl following an overdose of paroxetine and cafedrin combined with theodrenaline
Actas LusoEsp. Neurol. Psiquiatr Cienc. Afines.; 26: 333-338; 1998
37. Angnus J.A. ; Garland C. J.:
Pharmacology of Vascular Smooth Muscle
Oxford University Press, 1. Auflage , 1996
38. Stryer Lubert:
Biochemistry
Stanford University, 4. Auflage 1999
39. Gyöngyösi M.; Fröhlich G.; et al.:
Intrakoronare Stents: der Weg von der Farbig bis in die menschlichen Koronarien—präklinische Evaluierung der Koronarstents
Journal Kardiologie Österreich; 12: 515–512; 2004
40. Löffler G.; Petrides R. E.:
Biochemie und Pathobiochemie
Springer-Verlag Berlin, 6. Auflage, 1997
41. Wong, A. Y. K.; Klassen G. A.:
A mode of calcium regulation regulation in smooth muscle
Cell Calcium, 14: 227-243, 1993
42. Iino M.:
Biphase Ca²⁺ dependence of inositol-1,4,5-trisphosphate-induced

- Ca²⁺ release in smooth muscle cells of guinea pig taeni caeci
Journal Gen. Physiology; 95: 1103-1122; 1990
43. Khalil R. A.; Lajoie C. ; Resnick M. S. ; Morgan K.G.:
Ca²⁺ independent isoforms of protein kinase C differentially translocate
in smooth muscle
American Journal of Physiology; 263: 714-719; 1992
44. Furukawa K.-I.; Tawada Y.; Shigekawa M.:
Protein kinase C activation stimulates plasma membrane Ca²⁺ pump
in cultured vascular smooth muscle cells.
Journal of American Chemistry; 264: 4844-4849; 1989
45. Van Chaldorp K.; Van Zwieten P.A.:
Comparison of the muscarinic receptors in the coronary artery, cerebral
artery and atrium of pig
Archives of Pharmacology; 339: 403-408; 1989
46. Mistry D.; Desai K.; Tripathi C. B.; Bhavsar V.H.; Kelkar V.V.:
Are all Beta-adrenoceptor blockers really competitive antagonists to
beta-adrenoceptors ?
Indian Journal of Pharmacology; 24: 18-24; 1992
47. Cowan A. L.; Cohen R. A.:
Two mechanisms mediate relaxation by bradykinin of pig coronary
artery: NO-dependent and -independent responses
American Physiological Society; 91: 830-835; 1991
48. Heusch G.; Baumgart D.; Camici P.; Chilian W.; Gregorini L.; Hess
O.; Indolfi C.; Rimoldi O.:
alpha-Adrenergic Coronary Vasoconstriction and Myocardial Ischemia
in Humans
Circulation; 15: 689-694; 2000
49. Daweke H.; Obersdorf A.:
Neue Aminoalkyl-Derivate des Theophyllins
Arzneimittel-Forschung; 8: 190-196, 1958
50. Wagenmann, U.; Taugner, R.; Zitzmann-Weth, H.; Kaufmann, U.;
Loose, W.; von Egidy, H.; Taugner G.:
Zur Pharmakologie von Theophyllin-Äthylnorephedrin
Arzneimittel-Forschung; 9: 311-313; 1959

51. Schleusing G.; Bartsch Ch.:
Die Wirkung von synthetischen Theophyllin-Derivaten mit
kreislaufwirksamen Molekülgruppen auf das Verhalten von Blutdruck
und Pulsfrequenz sowie auf das Elektrokardiogramm bei
Kreislaufgesunden und Kreislaufkranken
Arzneimittel-Forschung; 6: 470-474; 1962
52. Sakai K.; Sugano ; Shiraki Y.; Shioya A.:
Studies on Noradrenalinetheophylline und Norephedrinetheophylline as
Peroral Pressor Agents in Unanesthetized Animals
Arzneimittel-Forschung; 22: 702-706; 1972
53. Grund F.; Sommerschild T.; Lyberg T.; Kirkebøen K. A.; Ilebekk A.:
Microembolization in pigs: effects on coronary blood flow and
myocardial ischemic tolerance
American Journal of Physiology; 277: 533-542, 1999
54. Knapp J.; Boknik P.; et al.:
On the contractile function of protein phosphatases in isolated human
coronary arteries
Schmiedebergs Archive of Pharmacology; 360: 464-472; 1999
55. Aptekar E.; et al.:
sympathetic stimulation overrides flow-mediated endothelium-
dependent epicardial coronary vasodilation in transplant patients
Circulation; 94: 2542-2550; 1996
56. Chilian W. M.:
Functional distribution of alpha1- and alpha2-Adrenergic Receptors in
the coronary microcirculation
Circulation; 84: 2108–2122 ; 1991
57. Aniset L.; Konrad C.; Schley M.:
Ephedrin als Alternative zu Akrinor® in der geburtshilflichen
Regionalanästhesie
Der Anaesthesist; Springer Medizin Verlag, 2006
58. Mehmel H.; Schmidt H. D.; Schmier J.:
Die Wirkung von zwei Theophyllin-Derivaten und ihrer Kombination
am Herz-Lungen-Präparat des Hundes vor und nach Blockade der β -

- Rezeptoren und nach Katecholamin–Entspeicherung
Arzneimittel–Forschung; 11: 1407–1411 ; 1967
59. Thomas D. G.; Robson C.; Redfern N.; Hughes D.; Boys R. J.:
Randomized trial of bolus phenylephrine or ephedrine for maintenance of
arterial pressure during spinal anaesthesia for Caesarean section
Journal of Anaesthesia; 76: 61–65 ;1996
 60. Nyska A.; Murphy E.; Foley J. F.; Collins B.; Petranka J.; et al.:
Acute Hemorrhagic Myocardial Necrosis and Sudden Death of Rats
exposed to a Combination of Ephedrine and Caffeine
Toxicological Sciences; 83: 388–396; 2005
 61. Howden R.; Hanlon P. R.; Petranka J.; Nyska A.; et al.:
Ephedrine plus caffeine causes age–dependent cardiovascular
responses in Fischer 344 rats
American Journal of Physiology; 288: 2219–2224; 2005
 62. Dillon P. F.; Root–Bernstein R. S.; Lieder C. M.:
Antioxidant–independent ascorbate enhancement of catecholamine–
induced contractions of vascular smooth muscle
American Journal of Physiology, 286: 2353–2360; 2004
 63. Dong sun; An Huang; Seema Mital; Kichuk M.; Marboe C.; et al.:
Norephedrine Elicits β_2 –Receptor–Mediated Dilatation of Isolated
Human Coronary Arterioles
Circulation; 106: 550–555; 2002
 64. Mallet R. T.:
Hypoxic modulation of cardiac L–type Ca^{2+} current: Interaction of
reactive oxygen species and β –adrenergic signaling
Cardiovascular Research; 67: 578–580; 2005
 65. Hool L.; Maria C.; Viola H.; Arthur P.:
Role of NADH oxidase in the regulation of cardiac L–type Ca^{2+}
channel funktion during acute hypoxia
Cardiovascular Research; 67: 624–635; 2005
 66. Cantu C.; Arauz A.; Murillo–Bonilla L., et al.:
Stroke Associated with Sympathomimetics contained in Over–the–
Counter Cough and Cold drugs
Stroke; 34: 1667–1672; 2003

67. Grześk G.; Polak G.; Grąbczewska Z.; Kubica J.:
Myocardial infarction with normal coronary arteriogram: the role of ephedrin-like alkaloids
Med. Sci. Monit.; 10 (4): 15–21, 2004
68. Wahl A.; Eberli F.; Thomson D.; Luginbühl M.:
Coronary artery spasm and non-Q-wave myocardial infarction following intravenous ephedrin in two healthy women under spinal anaesthesia
British Journal of Anaesthesia; 89: 519–523, 2002
69. Gedevanishvili A.; Chamoun A.; Uretsky:
Acute coronary syndrome induced by intravenous Ephedrine in pregnant woman with normal coronaries
Canadian Journal of clinical pharmacology; 11 (2): 194-198; 2004
70. Hochrein H.; Döring J.:
Pharmakologische Beeinflussung der kardialen Leistung durch Katecholamine und Derivate
Pflügers Archiv der Physiologie; 273: 48; 1960
71. Kukovetz W.:
Bericht über die Untersuchungen zum Wirkmechanismus der positiv inotropen und glattmuskulär relaxierenden Wirkung von NAT und NET
Chemiewerk Homburg, Frankfurt/ Main, 1974
72. Dubova MN.:
Correction of cardiovascular hypodynamics in the early postoperative period with adrenergic β -receptor-agonist-Akrinor®
Anesteziology Reanimatol.; 5: 21–24; 1981
73. Griendling K.K.; Rittenhouse E.; Brock T. A.; Ekstein L.S.; Gimbrone M. A. Jr.; Alexander R. W.:
Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells
Journal of biological chemistry, 261: 5901–5906; 1986
74. Sunako M.; Kawahara Y.; Hirata H.-I.; Tsuda T; Yokoyama M.; Fukuzaki M.; et al.:
Mass analysis of 1,2-diacalgllycerol in cultered rabbit vascular smooth

- muscle cells
Hypertension, 15: 84–88; 1990
75. Nishizuka Y.:
The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications
for cellular regulation
Nature; 334: 661–665
76. Yoshimura M.; Cooper D.M.:
Type-specific stimulation of adenylyl cyclase by protein kinase C
Journal of biological chemistry, 268: 4604–4607; 1993
77. Ito ; Suzuki ; Itoh T.:
Effects of a water-soluble forskolin derivate (NKH477) an a
membrane permeable cyclic AMP analogue on noradrenaline-induced
Ca²⁺ mobilization in smooth muscle of rabbit medenteric artery
British Journal of Pharmacology; 110: 1117–25; 1993
78. Turk J. R.; Henderson K. K.; Vanvickle G.; Watkins J.; Laughlin H.:
Arterial endothelial function in a porcine model of early stage
atherosclerotic vascular disease
International Journal of experimental Pathology; 86: 335–345; 2005
79. Merkus D.; Duncker D.; Chillian W.:
Metabolic regulation of coronary vascular tone: role of endothelin-1
American Journal of Physiology–Heart Circ. Pysiology; 283: H1915–
H1921; 2002
80. Gao Z.; Li Z.; Baker ; Lasley R.; Meyer ; Elzein E.; Palle V.; Zablocki
J.; et al.:
Novel Short –acting A_{2A} Adenosine receptor agonists for coronary
vasodilation: Inverse Relationship between affinity and duration of
action of A_{2A} Agonists
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics; 298:
209–218; 2001
81. Crick; Sheppard M.; Siew Yen Ho; Gebstein L; Anderson R.:
Anatomy of pig heart: comparisons with normal human cardiac
structure
Journal of Anatomy; 193: 105–119; 1998

82. Fujino K.; Nakaya S.; Wakatsuki T.; Miyoshi Y.; Nakaya Y.; Mori H.; Inoue I.:
Effects of Nitroglycerin on ATP-induced Ca^{++} mobilization, Ca^{++} -activated K channels and contraction of cultured smooth muscle cells of porcine coronary artery
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics; 256: 371–377; 1990
83. Dougas W. R.;
Of pigs and men and research, a review of applications and analogies of the Pig, *sus scrofa*, in human medical research
Space Life Sciences; 3: 226–234; 1972
84. Weaver D.; Wallwork J.:
A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man.
Cardiovascular Research; 20: 907–917; 1986
85. Miyoshi Y.; Nakaya Y.; Wakatsuki T.; Nakaya ; Fujino K.; Saito K.; Inoue I.:
Endothelin Blocs ATP-sensitive K^+ channels and depolarizes smooth muscle cells of porcine coronary artery
Circulation Research; 70: 612–616; 1992
86. You–Tang Shen; Wiedmann R.; Lynch J.; Gould R. and Jr.:
Platelet Glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitor preserves coronary flow reserve during progressive coronary arteriostenosis in swine
Journal of the American Heart Association; 20: 2309–2315; 2000
87. Olanrewaju H; Quin W.; Feoktistov I.; Scemana J.–L.; Mustafa:
Adenosine A2A and A2B receptors in cultured human and porcine coronary artery endothelial cells
American Journal Physiology Heart and Circulation Physiology; 279: H650–H656; 2000
88. Min Gu Thorne G.; Wardle R.; Ishida Y.; Paul R.:
 Ca^{2+} -independent hypoxic vasorelaxation in porcine coronary artery
Journal of Physiology; 562.3: 839 -846; 2005
89. Bradley C.; Morgan K.:
Alterations in cytoplasmic calcium sensitivity during porcine

- coronary artery contractions as detected by Aequoron
Journal of Physiology; 385: 437–448; 1987
90. Anderson R.H.; Becker A.E.:
The Heart: Structure in Health and Disease
Raven press New York; 1–40; 1992
 91. Mutschler E.; Geisslinger G.; Kroemer H.; Schäfer-Korting M.:
Arzneimittelwirkungen; Lehrbuch für Pharmakologie und Toxikologie
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; 8. Auflage; 2001
 92. Dhein S.; Salameh A.; Klaus W.:
A new endothelium–dependent vasoconstricting factor (EDCF)
Eur Heart J; 10 Suppl. F: 82–5; 1989
 93. Klabunde E. R.:
Cardiovascular Physiology Concepts
Lippincott Williams & Wilkins, 2005
 94. Klinke R.; Silbernagel S.:
Lehrbuch der Physiologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage, 1996
 95. Patrick J. Lynch
Instructional Media Medical Illustrations by Patrick Lynch
Yale University School of Medicine, Center for Advanced
Instructional Media, 1987-2000

8. Anhang

8.1. Graphische Auswertung der weiteren Experimente

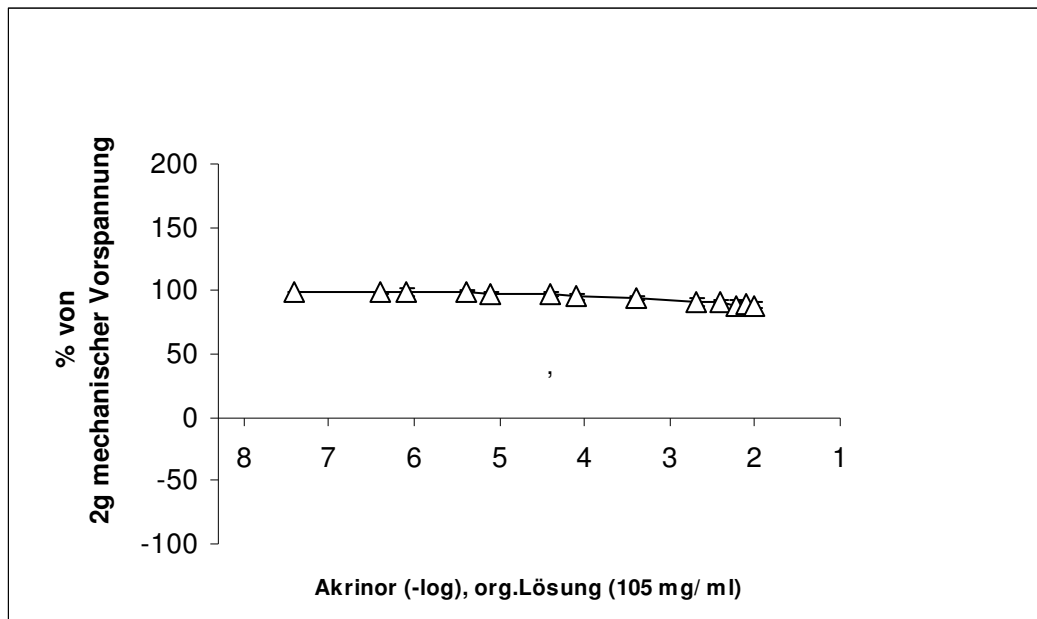


Fig. 8: Dosiswirkungskurve von Akrinor® mit Basisspannung, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=8)

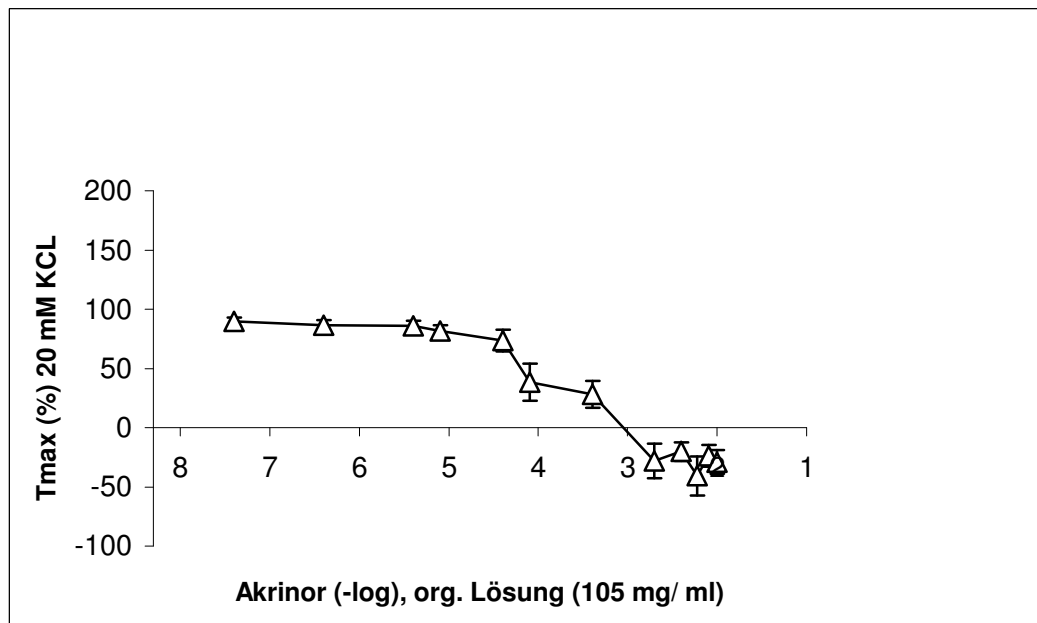


Fig. 9: Dosiswirkungskurve von Akrinor® mit chemischer Vorkontraktion durch KCL nach Entfernung des Endothels, Koronararterien vom Schwein

Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes;
n=8)

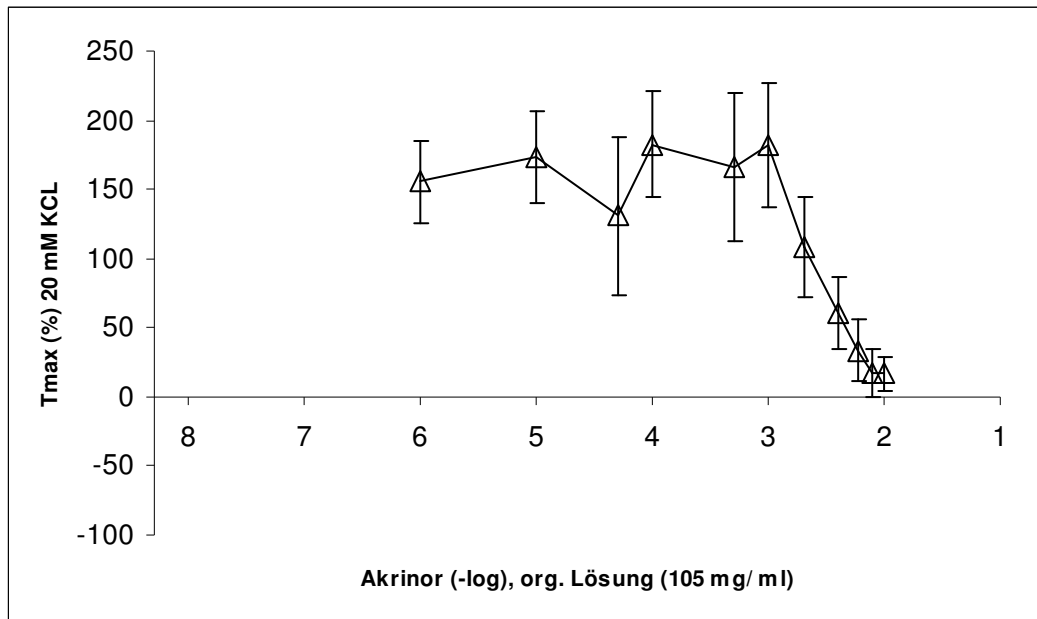


Fig. 10: Dosiswirkungskurve von Akrinor® mit chemischer Vorkontraktion durch KCL und Präinkubation mit SCH, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=7)

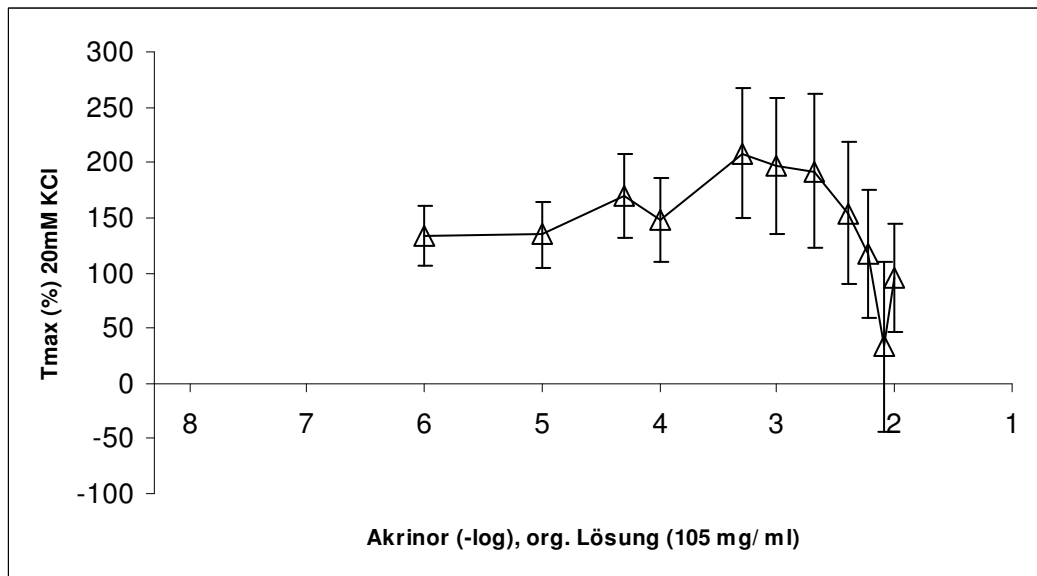


Fig. 11: Dosiswirkungskurve von Akrinor® mit chemischer Vorkontraktion durch KCL und Präinkubation mit Propranolol und SCH, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=7)

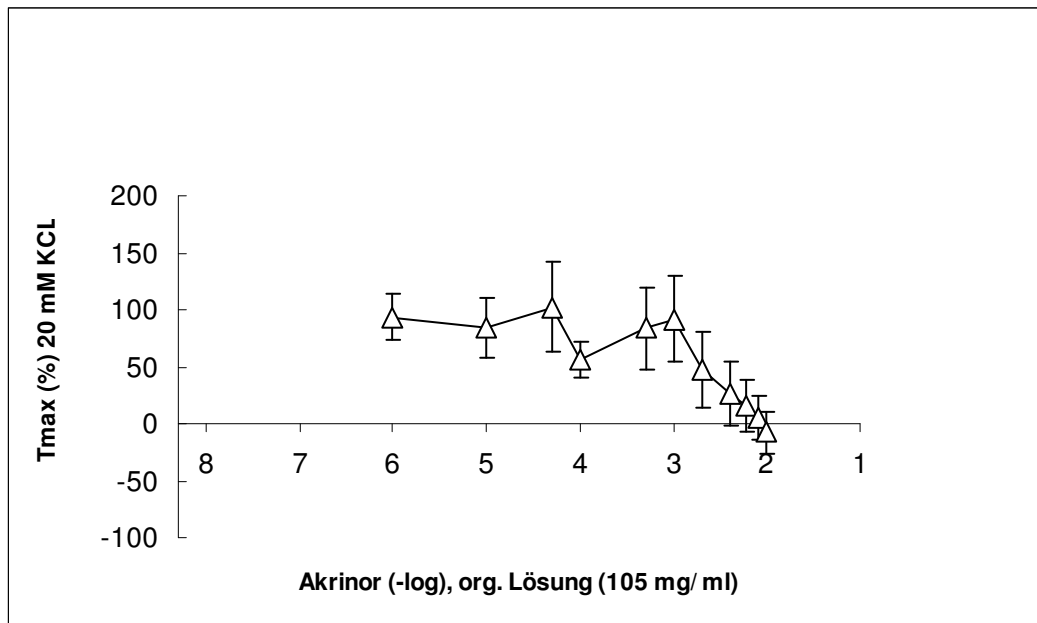


Fig. 12: Dosiswirkungskurve von Akrinor® mit chemischer Vorkontraktion durch KCL und Präinkubation mit CGS, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=7)

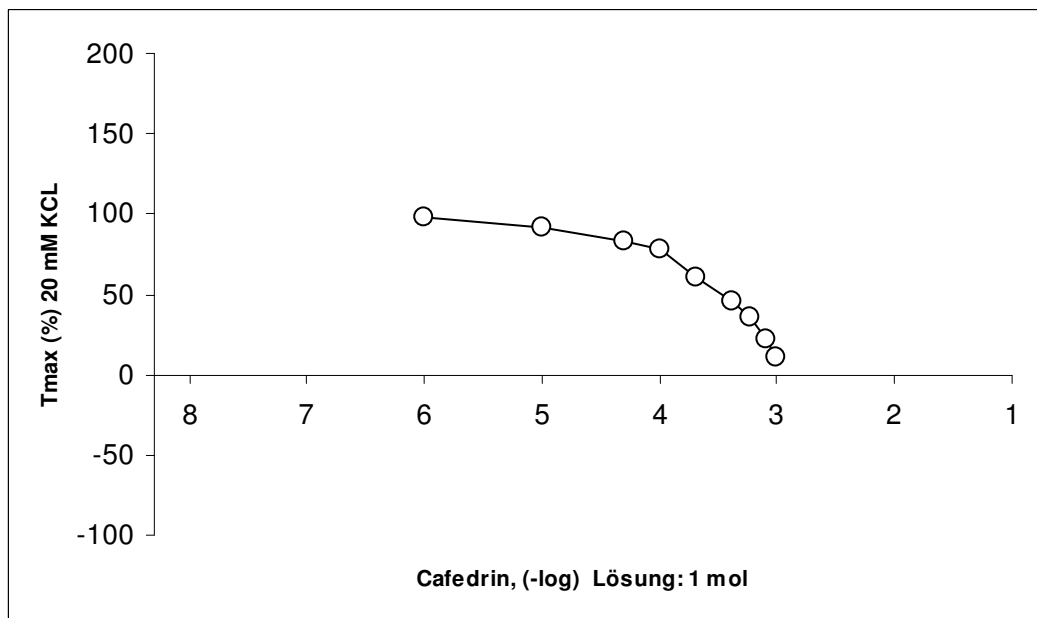


Fig. 13: Dosiswirkungskurve von Cafedrinhydrochlorid mit chemischer Vorkontraktion durch KCL, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=7)

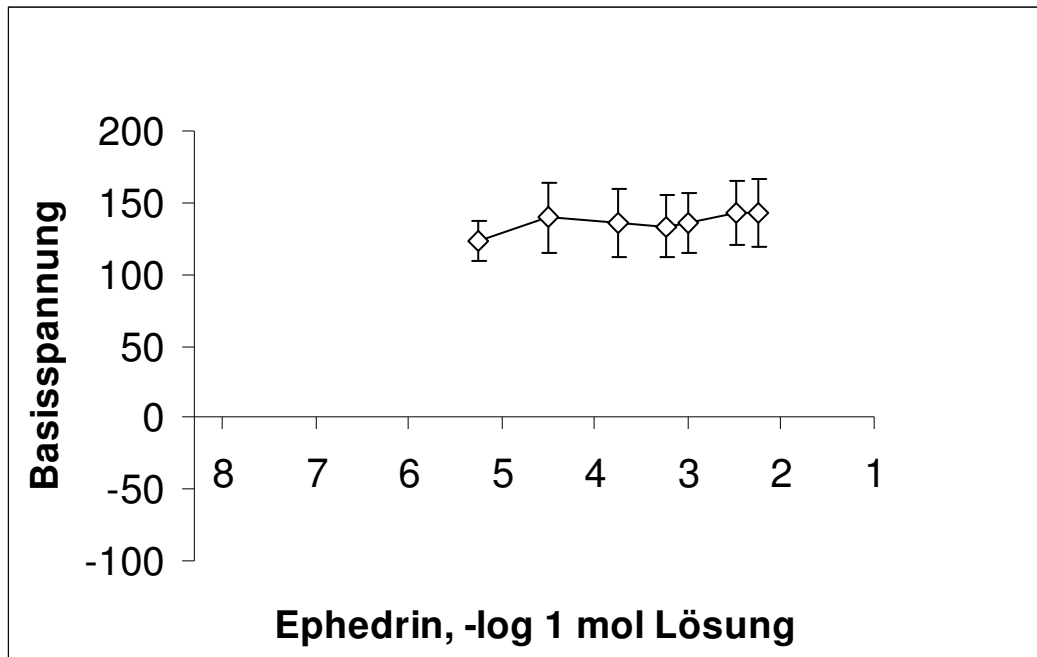


Fig. 14: Dosiswirkungskurve von Ephedrin mit Basisspannung, Koronararterien vom Schwein (Mittelwert mit Standardabweichung des Mittelwertes; n=6)

8.3. Lebenslauf

Schule

1994-1995 Besuch des ST. Andrews College Dublin
1995-1997 Abitur am Gymnasium „Bertolt-Brecht“

Hochschulstudium

1998-2000 Studium der Medizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
2000-2001 Studium der Medizin im Rahmen des Sokrates/Erasmus-Programmes an der Karl-Franzens-Universität Graz/Österreich
2001-2005 Studium der Medizin an der EMAU Greifswald
2004-2005 Praktisches Jahr

Assistenzarzt Ausbildung

2005-2007 Zentrum für Innere Medizin
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin B
Pneumologisch Thorax Chirurgisches Zentrum (11 Monate)
Intensivmedizin (4 Monate)
Kreiskrankenhaus Wolgast (7 Monate)
2007 Assistenzarzt, Klinik für Innere Medizin II des Südharzkllinikum Nordhausen

Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfskraft

1999-2000 u. 2001 Tutor im Rahmen des Ausbildungsganges Community Medicin
WS 2001 Tutor am Institut für Anatomie
SS 2002-SS 2003 Gründung und Leitung der Anamnesegruppe Greifswald zusammen mit Grit Händel; Studentin der Psychologie
SS 2003-WS 2003/04 Studentische Hilfskraft am Institut für Anästhesie und Intensivmedizin Greifswald

8.2. Veröffentlichungen

8.2.1. Abstracts

Foellner S.; Usichenko T. I.; Lehmann C.; Wendt; M. Pavlovic D.:

“Akrinor[®] produces transitory contraction of pig coronary arteries that have been pre-treated with propranolol”

Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung, **2** (10), 41, 2003

Foellner S.; Usichenko T. I.; Lehmann C.; Wendt; M. Pavlovic D.:

“ΤΟ Αkrinor[®] ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΠΑΣΜΟΤΗΣΧΟΙΡΕΙΑΣ ΣΤΦΑΝΙΑΙΑΣ ΥΠΟ ΤΗΝ ΠΙΔΡΑΣΗ ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗΣ“

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ, **10**, 23, 2003

Foellner S, Usichenko TI, Lehmann Ch, Wendt M, Pavlovic D.

“Akrinor produces transitory contraction of pig coronary artery pre-treated with propranolol.”

Eur J Anaesth 2003;20(Suppl.30):134.

Usichenko TI, Pavlovic D, Foellner S, Wendt M.

“Reducing venipuncture pain by a “cough-trick”: a randomized cross-over study.”

Eur J Anaesth 2003;20(Suppl.30):180.

Usichenko TI, Foellner S, Lehmann Ch, Wendt M, Pavlovic D.

“Theodrenalin but not cafedrine nor ephedrine produces transitory contraction of pig coronary artery pre-treated with propranolol.”

Eur J Anaesthesiol 2005;22(Suppl.34):135.

Usichenko TI, Foellner S, Gruending M, Feyerherd F, Lehmann Ch, Wendt M, Pavlovic D.

“Akrinor[®]-induced relaxation of pig coronary artery *in vitro* is transformed into α_1 -adrenoreceptor-mediated contraction by the pre-treatment with propranolol.”

DAC 2006 Abstract CD

8.2.2. Artikel

Usichenko T. I. MD; Pavlovic D.; Foellner S.; Wendt M.:

“Reducing Venipuncture Pain by a Cough Trick: A Randomized Crossover Volunteer Study”

Anesthesia Analgesie, **98**; 343–345, 2004

Usichenko T. I.; Foellner S.; Gruending M.; Feyerherd F.; Lehmann C.; Wendt M.; Pavlovic D.;

“Akrinor[®]-induced relaxation of pig coronary artery in vitro is transformed into alpha1-adrenoreceptor-mediated contraction by pretreatment with propranolol.”

Journal of Cardiovascular Pharmacology. **47**(3), 450–5, 2006

Eidstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Nordhausen, den 15.2.2008

Danksagung

Ohne breite Unterstützung und die Hilfe von vielen Seiten wäre die vorliegende Dissertation nicht zustande gekommen.

An erster Stelle richtet sich mein Dank an Herr Prof. Dr. Wendt für die Bereitstellung der notwendigen Rahmenbedingungen, ohne die eine Promotion nicht möglich ist.

Herrn Dr. Usichenko danke ich für die Bereitstellung des Themas und die Begleitung der experimentellen Arbeit. Nicht möglich wäre die gesamte Arbeit ohne die unermüdliche Betreuung durch Herrn Dr. Dragan Pavlovic, welcher als Laborleiter auch für unkonventionelle Lösungen ein offenes Ohr hatte.

Frau Dr. Kerlikowski gewährleistete die prompte und zuverlässige Bereitstellung der Schweineherzen, an dieser Stelle sei auch ihr gedankt.

Ebenfalls musste Henry Dramsch große Geduld bei der graphischen Bearbeitung und Layoutgestaltung der Arbeit für mich aufbringen, dem Graphic Fish mein besonderen Dank auch dafür.

Mit am besten kennt die Arbeit Frau Dr. Ursula Föllner, erneut bewährte sie sich als treue Lektorin.

Meinen Eltern und meiner eigenen Familie danke ich für die Motivation und moralische Unterstützung.