Universität Rostock Traditio et Innovatio

Universitätsmedizin Rostock

Oscar Langendorff Institut für Physiologie der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. R. Köhling

Untersuchungen zum Wirkspektrum des Gemüsespargels (Asparagus officinalis) am glatten Muskel

Modellsysteme: Magenantrum, Aorta und Portalvene der Ratte

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der

Universitätsmedizin Rostock

Vorgelegt von

Simon Johannes Looks | geb. am 08.05.1996 | in Kiel

aus Husum

Eingereicht | 06/2022

Rigorosum | 04/2023

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00004311

Doktorarbeit

Universitätsmedizin Rostock

Jahr der Einreichung: 2022

Jahr der Verteidigung: 2023

Gutachter_innen:

Thomas Noack	Oscar Langendorff Institut für Physiologie, Universitätsmedizin Rostock
Andreas Patzak	Institut für Translationale Physiologie, CharitéCentrum für Grundlagenmedizin
Karin Kraft	Naturheilkunde Zentrum für Innere Medizin, Universitätsmedizin Rostock

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
1.1 Der Gemüsespargel (Asparagus officinalis) 2
1.1.1 Biologische Einordnung 3
1.1.2 Aktuelle Studienlage zum Spargel 3
1.2 Die glatte Gefäßmuskulatur 4
1.2.1 Anatomie des glatten Muskels 4
1.2.3 Physiologie des glatten Muskels 8
2 Materialien 11
2.1 Verwendete Lösungen 11
2.2 Spargelextraktgewinnung 11
2.3 Spargelvergleich aus zwei verschiedenen Jahrgängen 12
3 Methoden 13
3.1 Organentnahme 13
3.2 Organpräparation 14
3.3 Versuchsaufbau 14
3.4 Funktionstest und Muskelkrafteichung 16
4 Versuche und Ergebnisse 19
4.1 Die Wirkung von Spargel 19
4.1.1 Aorta 20
4.1.2 Portalvene 23
4.1.3 Magenantrum 25
4.1.4 Schlussfolgerungen und weitere Experimente 27
4.2 Die konzentrationsabhängige Wirkung von Spargelextrakt bei blockiertem L-Typ Calciumkanal 29
4.2.1 Versuchsdurchführung 29
4.2.2 Nifedipin mit Spargeltreppe 29
4.3 Die konzentrationsabhängige Wirkung von Spargelextrakt bei geöffnetem K_{ATP}-Kanal 32
4.3.1 Levcromakalim und Glibenclamid Vorversuch 32
4.3.2 Levcromakalim mit Spargeltreppe 34
4.3.3 Spargel und Glibenclamid im Vergleich 35

5 Diskussion 38
5.1 Wirkung von Spargelextrakt am glatten Muskel 38
5.2 Wirkung von Spargelextrakt bei blockiertem L-Typ Calciumkanal 38
5.3 Wirkung von Spargelextrakt bei geöffnetem K_{ATP}-Kanal 40
5.4 Wirkung von Glibenclamid bei durch Levcromakalim geöffneten Kaliumkanälen und durch Spargelextrakt voraktivierter glatter Muskulatur 41
5.5 Überblick der Hauptdiskussionspunkte 43
6 Zusammenfassung 45
7 Literaturverzeichnis 47
8 Anlagen 51
8.1 Veröffentlichungen 51
8.2 Lebenslauf 52
8.3 Eidesstattliche Erklärung 53
8.4 Danksagung 54
9 Thesen 55

Gutachter*innen:

Prof. Dr. rer. physiol. habil. Thomas Noack
Oscar Langendorff Institut für Physiologie/ Universitätsmedizin Rostock

Prof. Dr. med. Andreas Patzak
Institut für Translationale Physiologie/ CharitéCentrum für Grundlagenmedizin

Prof. Dr. med. Karin Kraft
Professur für Naturheilkunde/ Zentrum für Innere Medizin Universitätsmedizin Rostock

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Modell des Versuchsaufbaus 15

Abbildung 2: Kontraktion der Aorta durch 20 mmol KCl mit anschließender Relaxation durch EDRF 17

Abbildung 3: Kontraktion eines Portalvenenpräparats durch 20 mmol KCl und 1 µmol ACh mit anschließender Rückkehr zur periodischen Ruheaktivität nach Spülen 17

Abbildung 4: Kontraktion eines Magenantrumpräparats durch 20 mmol KCl und 1 µmol ACh mit anschließender Rückkehr zur periodischen Ruheaktivität nach Spülen 17

Abbildung 5: Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an der Aorta 20

Abbildung 6: Aktivierung der Aorta mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe 22

Abbildung 7: Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an der Portalvene 23

Abbildung 8: Aktivierung der Portalvene mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe 24

Abbildung 9: Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt am Magenantrum 25

Abbildung 10: Aktivierung des Magenantrums mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe 26

Abbildung 11: Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an allen Organpräparaten im Vergleich 28

Abbildung 12: Applikation von Spargelextrakt nach Zugabe von 0,6 µmol Nifedipin auf ein Aortenpräparat 30

Abbildung 13: Applikation von Spargelextrakt nach vorheriger Hemmung der Spontanaktivität eines Portalvenenpräparates durch 0,6 µmol Nifedipin 30

Abbildung 14: Applikation von Spargelextrakt nach vorheriger Hemmung der Spontanaktivität eines Magenantrumpräparats durch 0,6 µmol Nifedipin 31

Abbildung 15: Inhibition der Spontanaktivität eines Portalvenenpräparates durch Levcromakalim mit anschließender Reaktivierung durch Glibenclamid 33

Abbildung 16: Inhibition der Spontanaktivität eines Magenantrumpräparats durch Levcromakalim mit anschließender Reaktivierung durch Glibenclamid 33

Abbildung 17: Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim vorbehandeltes Aortenpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid 35

Abbildung 18: Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim inhibiertes Portalvenenpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid 36

Abbildung 19: Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim inhibiertes Magenantrumpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid 37

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Ca^{2+}	Calciumion
cGMP	zyclisches Guanosinmonophosphat
DAG	Diacylglycerin
EDRF	Endothelium-derived relaxing Factor
F	Kraft
G-Rezeptor	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GTP	Guanosintriphosphat
GTPase RhoA	Ras homolog family member A
HL-60	human leukemia cell line
IP_3	Inositol-1,4,5-triphosphat
K	Kalium
K_{ATP}-Kanal	ATP sensitiver Kaliumkanal
KCl	Kaliumchlorid
L-Typ Calciumkanal	„Longlasting“-Typ Calciumkanäle
M_3-Rezeptor	Muskarinrezeptor 3
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
MLCK	Myosin-leichte-Ketten-Kinase
MLCP	Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase
mmol	Millimol
mN	Millinewton
NO	Stickstoffmonoxid
PIP_2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PV	Portalvene
Rho-Kinase	Rho assoziierte Protein Kinase
s	Sekunde
SpE	Spargelextrakt
U/min	Umdrehungen/Minute

1 Einleitung

Phytotherapie ist der Gebrauch von pflanzlichen Wirkstoffen zur Therapie von Krankheiten und gehört somit dem Bereich der Naturheilmedizin an. Diese wird oft zu Unrecht mit der komplementären Medizin gleichgesetzt, die im Gegensatz zu den Verfahren der rationalen Naturheilmedizin keine medizinische Evidenz besitzt und sich auch selbst als Alternative zur evidenzbasierten Medizin versteht. Ein weiteres Missverständnis über Phytopharmaka ist der Wirkstoffgehalt, der sie ebenfalls von den Mitteln der Homöopathie unterscheidet. Während homöopathische Mittel aufgrund von Verdünnung kaum bis keinen Wirkstoff mehr enthalten, müssen Phytopharmaka als ein Stoffgemisch vieler verschiedener pharmakologisch wirksamer Komponenten mit vergleichsweise hohem Wirkstoffgehalt verstanden werden.

Viele heute verwendete Medikamente basieren in ihrer Urform auf aus Pflanzen extrahierten Wirkstoffen (1). Des Weiteren finden sogenannte rationale Phytopharmaka (1) auch in ihrer extrahierten Form Anwendung in der Medizin. Ebenso wie herkömmliche Medikamente wurde ihre Wirksamkeit in doppelblinden, kontrollierten und randomisierten Studien eingehend wissenschaftlich untersucht. Traditionelle Phytopharmaka begründen ihre Anwendung auf Erfahrungswerten.

Spargel gehört zu dieser Gruppe der traditionellen Phytopharmaka. Eine Stichwortsuche nach Asparagus officinalis auf der Datenbank Pubmed weist eine steigende Anzahl von Forschungen den Spargel betreffend, vor allem in den letzten 30 Jahren, auf. Die dort gesammelten medizinischen Forschungsarbeiten zeigen ein wachsendes Interesse an der Validierung der Erfahrungswerte.

Dass Spargel als Heilpflanze angesehen wurde und zu den traditionellen Phytopharmaka gehört, geht schon aus seiner Namensgebung Asparagus officinalis hervor. Als Officinalis/e werden Pflanzen bezeichnet, denen eine heilende Wirkung nachgesagt wird. Spargel sollte als „Allheilmittel“ gegen Rheuma, Gicht, Milz- und Leberleiden aller Art wirksam sein. Außerdem war die Annahme, dass Spargel einen Einfluss auf die Potenz habe, schon viele Jahrhunderte lang weit verbreitet (2). Bei Frauen sollte Spargel zu einer „Schwächung der gebärenden Natur“ führen (3), was eine empfängnisverhütende bzw. eine empfängnisschwächende Wirkung beschreibt.

Nicht nur in der Forschung zum pharmakologischen Potential verschiedener traditioneller Phytopharmaka steigt das Interesse an Spargel (4). Auch im Hinblick auf Ernährung

rückt Spargel als Gemüse immer mehr in den Blick der Forschung und wird sogar mit Aussagen wie „the king of vegetables“ assoziiert (4). Mikronährstoffe, zu denen vor allem Vitamine und Mineralien zählen, aber auch weitere physiologisch und biochemisch wirksame Komponenten, wie beispielsweise die im Spargel enthaltenen physiologisch und biochemisch wirksamen Saponine oder Polyphenole, rücken immer mehr ins Zentrum ernährungsmedizinischen Interesses. In den vergangenen Jahren erfolgte im Hinblick auf gesunde Ernährung ein Perspektivwechsel. Weg von einer rein kalorischen Kost, hin zu einer Ernährung, die Wert auf die einzelnen Nährstoffe legt und physiologisch wirksame Komponenten in den Mittelpunkt rückt und durch diese einer Prädisposition von Erkrankungen entgegenwirken soll. (5)

Heutige Forschungen nehmen dies zum Anlass, den Spargel hinsichtlich seiner tatsächlichen Wirksamkeit auf verschiedene Organsysteme und Leiden des Körpers zu untersuchen. Die Vielzahl an medizinisch wirksamen Inhaltsstoffen (1) (4) sowie seine Geschichte als traditionelles Phytopharmakon und „Allheilmittel“ lassen zusätzlich zu schon untersuchten und erwiesenen Wirkungen von Spargel auf andere Organsysteme (1) (4) (6) (7) (8) (9) auch eine Wirkung auf die glatte Muskulatur vermuten. Ausgehend von dieser These soll sich diese Arbeit mit den folgenden Forschungsfragen beschäftigen:

1. Hat Spargelextrakt eine Wirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur?

2. Wie kann die mögliche Wirkung von Spargelextrakt auf die glatte Gefäßmuskulatur in Ansätzen näher charakterisiert werden?

1.1 Der Gemüsespargel (Asparagus officinalis)

Die Spargelpflanze ist den Menschen schon seit über 2000 Jahren bekannt. Verschiedene Arten wurden schon in einigen der ersten Werke über Pflanzenkunde, Ackerbau und Heilpflanzen beschrieben, wie in dem „de re rustica“ von Columella aus dem 1. Jahrhundert n. Chr. Auch in dem noch älteren „神農本草經 – Shennong ben cao jing“, das von dem mythischen Urkaiser Shennong 2800 v. Chr. geschrieben worden sein soll, wahrscheinlicher aber aus der Zeit 200-300 v. Chr. stammt, wird Spargel bereits erwähnt. Heute ist Spargel in unseren Breiten hauptsächlich noch als Gemüse bekannt und beliebt.

1.1.1 Biologische Einordnung

Der Gemüsespargel (Asparagus officinalis) gehört zur Gattung der Spargel (Asparagus), der sich wiederum in die Familie der Spargelgewächse (Asparagaceae) einordnet. Er zählt zur Ordnung der Spargelartigen (Asparagales), die innerhalb der Klasse der Bedecktsamer (Magnoliopsida) zur großen Gruppe der Einkeimblättrigen Pflanzen (Monokotyledonen) gehört.

Der Gattung der Spargel (Asparagus) gehören etwa 235 anerkannte Arten an (10), die überwiegend auf dem eurasischen und dem afrikanischen Kontinent beheimatet sind.

Gegenwärtig existieren ganz verschiedene Züchtungen, wodurch die heutigen Sorten nicht nur geschmackvoller, sondern auch ertragreicher sind. Sie gehören alle zur Art des Gemüsespargels und können je nach Anbau und Ernte in weißem, grünem oder violettem Zustand geerntet werden. Die verschiedenen Züchtungen sind dabei häufig für eine der drei angewendeten Ernteformen besser geeignet als andere.

Weißer Spargel wird in Erdwällen und unter Planen gezogen. Abgeschirmt von der Sonne finden keine photosynthetischen Prozesse statt, wodurch der Spargel weiß bleibt. Violetter Spargel wächst ebenso wie weißer Spargel in Erdwällen heran, wird aber erst, nachdem der Spargelkopf einige Zentimeter aus der Erde ragt, geerntet und bildet die violette Farbe als Schutz vor der Sonne. Grüner Spargel wächst komplett oberirdisch. Dadurch bildet er, der Sonneneinstrahlung ausgesetzt, den für die Photosynthese wichtigen Pflanzenfarbstoff Chlorophyll, weshalb er sich grün färbt.

Die verschiedenen Ernteformen unterscheiden sich sowohl in ihrer Beliebtheit bei den Konsumenten als auch in der Nährstoffzusammensetzung. Weißer Spargel enthält mehr Flüssigkeit und schmeckt besonders mild. Grüner Spargel ist reicher an Mineralstoffen und Proteinen (4).

1.1.2 Aktuelle Studienlage zum Spargel

Spargel ist ein Gemüse, das reich an biochemisch aktiven Substanzen ist. Er enthält Polysaccharide, Flavonoide und Saponine (1) (11). Diese und noch viele weitere Wirkstoffe und Substanzgruppen stehen häufig in Verbindung mit pharmakologischen Wirkungsweisen verschiedener Naturheilstoffe (1). Sowohl die Vielzahl an medizinisch wirksamen Bestandteilen als auch seine historische Bedeutung als Heilpflanze sind dafür verantwortlich, dass das Interesse an den wissenschaftlich nachweisbaren Effekten dieses „Superfoods“ gestiegen ist. Verschiedene Studien, vorrangig aus den letzten

zwei Jahrzehnten, beschäftigen sich mit der Wirkung von Spargel auf die verschiedenen Organsysteme des Körpers.

In diesen Studien konnten einige der dem Spargel nachgesagten Wirkungen bereits nachgewiesen und noch weitere entdeckt werden. Aktuelle Studien zeigen, dass Spargel sowohl eine den Blutdruck und Cholesterolspiegel senkende als auch eine den Glucosehaushalt verbessernde Wirkung besitzt (6). Des Weiteren konnten in einer In vivo-Studie an Ratten anabolische, reproduktive und das Sexualverhalten betreffende Wirkungsweisen von Spargel nachgewiesen werden (7).

In einer weiteren Studie konnte sowohl ein antioxidativer als auch ein Tyrosinase inhibierender Effekt von Spargelextrakt, gewonnen aus grünem Spargel, gezeigt werden (8). Des Weiteren konnte bei aus rohem Spargel gewonnenen Saponinen eine das Zellwachstum hemmende und ab größeren Konzentrationen sogar zytotoxische Wirkung auf HL60-Zellen festgestellt werden (12). Zusätzlich konnte eine immunmodulierende Wirkung von Polysacchariden aus der Spargelschale des weißen Spargels gezeigt werden (9).

Bei dieser multifaktoriellen Wirkungsweise des Spargels ist eine Wirkung an weiteren Organsystemen naheliegend. Besonders die klinische Studie von Nishimura zur Blutdrucksenkung und die dem Spargel historisch nachgesagte potenzsteigernde Wirkung lassen einen Effekt von Spargel auf die glatte Gefäßmuskulatur vermuten.

Davon ausgehend beschäftigt sich diese Arbeit im Folgenden mit der Wirkung von Spargel als Naturheilmittel auf die glatte Gefäßmuskulatur.

Dazu sollen in vitro eine Wirkung von Spargelextrakt auf die glatte Gefäßmuskulatur belegt und im Anschluss Ansätze zum biochemischen Wirkmechanismus gefunden werden.

1.2 Die glatte Gefäßmuskulatur

1.2.1 Anatomie des glatten Muskels

Der glatte Muskel ist eine der drei im menschlichen Körper vorkommenden großen Muskelgruppen. Es wird unterschieden zwischen der quergestreiften Skelettmuskulatur, der Herzmuskulatur und der glatten Muskulatur.

Glatte Muskeln sind unter anderem in unseren Atemwegen, dem Gastrointestinaltrakt und dem Gefäßsystem angesiedelt. Als wichtiger struktureller Bestandteil dieser Hohlorgane erfüllt die glatte Muskulatur hier die Aufgaben der Volumen- und Widerstandskontrolle sowie der peristaltischen Bewegung.

Die Aktin- und Myosinfilamente sind in der glatten Muskulatur charakteristisch über sogenannte dense bodies miteinander verbunden und in Minisarkomeren organisiert. Dies unterscheidet den kontraktilen Apparat der glatten Muskulatur auch histologisch von den anderen beiden Muskelgruppen.

Die Gefäßmuskulatur gehört zu der Gruppe der glatten Muskeln. Die Gefäße werden unterteilt in Arterien und Venen. Sie sind grundsätzlich ähnlich aufgebaut und bestehen von innen nach außen aus den Schichten Intima, Media und Adventitia. Die Intima besteht aus einer Endothelzellschicht, dem Stratum subendotheliale und der Membrana elastica interna. Die Media setzt sich zusammen aus der glatten Muskelschicht und, wenn vorhanden, der Membrana elastica externa. Die Adventitia wird nicht weiter unterteilt und besteht hauptsächlich aus Bindegewebe, das sich wiederum aus elastischen sowie kollagenen Fasern zusammensetzt.

Man unterscheidet Arterien vom muskulären und vom elastischen Typ. Arterien des muskulären Typs besitzen zwischen Intima und Media eine Membrana elastica interna sowie zwischen Media und Adventitia eine Membrana elastica externa, die aber nur bei den größeren Arterien deutlich zu erkennen ist. Bei Arterien des elastischen Typs, zu denen auch die Aorta gehört, befindet sich unter der Intima eine verhältnismäßig stark ausgeprägte subendotheliale Schicht, die longitudinal ausgerichtete glatte Muskelzellen enthält. Die Anteile der glatten Muskulatur in der Media verlaufen schräg zu den konzentrisch angeordneten elastischen Fasern. Die Membrana elastica interna und -externa lassen sich nicht genau von den anderen elastischen Fasern trennen. Die Adventitia ist besonders reich an Vasa vasorum, die bis in die äußeren Anteile der Media eindringen.

Im Gegensatz zu den Arterien sind die Schichten in den Venen nicht so deutlich voneinander zu trennen. Außerdem sind sie in der Regel dünner als ihre arteriellen Äquivalente. Die Membrana elastica interna kann ausgebildet sein, ansonsten unterscheidet sich die Intima kaum in ihrem Aufbau. Die Media ist im Vergleich deutlich dünner als die der Arterien. Auch die Adventitia kann longitudinale glatte Muskelzellen enthalten.

In den großen Venen des Bauchraums, wozu auch die Portalvene gehört, ist die Adventitia sogar die dickste Schicht von allen.

Aufgrund teils großer Unterschiede der verschiedenen glatten Muskeln in Bezug auf ihre Kontraktion und Reaktion auf Reize wurde schon früh ein Modell entwickelt, das die glatte Muskulatur in Single-Unit- und Multi-Unit-Typen unterteilt. Diese Einteilung beruht auf der unterschiedlichen Kopplung der glatten Muskelzellen untereinander.

Glatte Muskelzellen vom Single-Unit-Typ sind über Gap-Junctions miteinander verbunden und dadurch elektrisch gekoppelt. Die über Gap-Junctions verbundenen Muskelzellen bilden ein funktionelles Synzytium. Muskelzellen dieses Typs können sich sowohl rhythmisch kontrahieren als auch eine statische Kontraktion halten.

Die rhythmischen Kontraktionen gehen von Schrittmacherzellen aus (13), die eine zyklische Veränderung der Membranpotentiale in den Zellen der glatten Muskulatur bewirken. Jeder Kontraktion in den Muskelzellen liegt eine Depolarisation der Muskelzellmembranen zu Grunde. Die langsame Frequenz und Dauer dieser zyklischen Membranpotentialänderungen ist namensgebend, weshalb diese Potentialänderungen als slow wave bezeichnet werden (14) (15).

Sobald das Schwellenpotential überschritten wird, kommt es zur Auslösung eines Aktionspotentials, was zu einer Kontraktion der Muskulatur führt. Kontraktionsdauer und -kraft sind abhängig von der Interaktion exzitatorisch und inhibitorisch wirksamer Komponenten. Hierzu zählen Motoneurone des enterischen Nervensystems, Hormone wie Gastrin oder Sekretin, parakrine Substanzen wie zum Beispiel NO oder auch verschiedene Entzündungsmediatoren wie Prostaglandin E (16) (17). Eine Überschreitung des Schwellenpotentials im Rahmen der slow waves oder durch zusätzliche exzitatorische Reize führt in diesem Zusammenhang zur Auslösung eines Aktionspotentials. Dieses setzt sich über die Gap-Junctions fort und führt in den Zellen der glatten Muskulatur zum Einstrom von Ca^{2+} von außen oder einer Freisetzung von intrazellulärem Ca^{2+}.

Letztlich spielt die Zu- und Abnahme des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels die entscheidende Rolle bei der Abwicklung des Kontraktionsmechanismus in den glatten Muskelzellen (18).

Der Tonus der glatten Muskelzellen des Multi-Unit-Typs wird nicht über Schrittmacherzellen und Gap-Junctions reguliert, sondern durch eine feine Innervation, die fast jede

Zelle erreicht. Dadurch zeigt die glatte Muskulatur des Multi-Unit-Typs keine Spontanaktivität, sondern behält einen sehr fein beeinflussbaren Muskeltonus.

Obwohl die Einteilung in Single-Unit- und Multi-Unit-Typen weitestgehend überholt ist, findet man sie noch in aktuellen Lehrbüchern.

Bei der Einteilung in Single-Unit- und Multi-Unit-Typen ergeben sich vor allem bei der Betrachtung von glatter Gefäßmuskulatur Schwierigkeiten. Denn obwohl die Gefäße eine starke Innervation von perivaskulären Nervenfasern vorweisen, zeigen die Nerven selbst keine phasisch-rhythmische Spontanaktivität. Trotzdem weisen verschiedene Gefäße ein dem Gastrointestinaltrakt sehr ähnliches Aktivitätsmuster auf. Zu diesen Gefäßen gehört auch die Portalvene, die trotz der sie innervierenden Nerven eine eigene Spontanaktivität besitzt.

Spontanaktivität konnte des Weiteren auch an verschiedenen kleinen Arterien und Venen sowie Lymphgefäßen beobachtet werden. Deshalb berücksichtigen neuere Beschreibungen der glatten Muskulatur nicht mehr ausschließlich die Erregungsausbreitung im glatten Muskel, sondern vordergründig die Art der Kontraktion. So kann eine Einteilung in die Gruppen anhaltend-tonische und phasisch-rhythmische glatte Muskeln erfolgen. Spontanaktive glatte Muskeln unterscheiden sich von den anhaltend-tonischen glatten Muskeln durch das Vorkommen von Schrittmacherzellen. Die Ausprägung und Aktivität der Schrittmacherzellen kann zusätzlich zur genaueren Einteilung herangezogen werden.

Bei diesen Schrittmacherzellen handelt es sich um die sowohl in den Hohlorganen (19) als auch an Gefäßen nachgewiesenen Cajal-Zellen (20) (21). Nachdem zuerst angenommen wurde, dass der Ursprung der spontanen Aktivität im Muskelgewebe selbst liegt (22) (23), stellte sich später heraus, dass spezialisierte Zellen, die zwischen der longitudinalen und zirkulären Schicht der glatten Muskulatur verlaufen, vermutlich Ursache der spontanen Aktivität sind (19). 1889 beschrieb der spanische Wissenschaftler Ramón y Cajal diese Zellen, die heute seinen Namen tragen (24). Cajal-Zellen kommunizieren sowohl mit Zellen der glatten Muskulatur als auch mit den Nervenzellen (15). Sie sind somit nicht nur verantwortlich für die Spontanaktivität der glatten Muskelzellen, sondern übernehmen zusätzlich eine Vermittlungsposition. Während die Rolle als Erzeuger für die Spontanaktivität in der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltrakts allgemein anerkannt ist, gilt das für ihre Rolle am Gefäßmuskel nicht uneingeschränkt. Trotzdem legen die vergleichbaren Beobachtungen bei Darmmotilität und bei

der Spontanaktivität der Gefäße sowie die Nachweisbarkeit eines für die Cajal-Zellen im Darm und Magenantrum typischen Protoonkogens c-kit (13), das auch an der Portalvene und Mesenterialarterie nachgewiesen werden konnte (20) (21), eine zumindest sehr ähnliche Funktion nahe.

1.2.3 Physiologie des glatten Muskels

Die Grundlage der Längenänderung in allen Muskeltypen besteht im Gleitfilamentmechanismus, bei dem es zu einem Entlanggleiten der Aktinfilamente an den Myosinfilamenten kommt.

Das Prinzip der Kontraktion des glatten Muskels folgt dem sogenannten Querbrückenzyklus und wird ebenso wie im Skelettmuskel über eine Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels initiiert. Im glatten Muskel bindet Calcium zuerst an Calmodulin und bildet so einen $(Ca^{2+})4$-Calmodulin-Komplex, der wiederum durch Aktivierung der Myosin-leichte-Ketten-Kinase (MLCK) zu einer Phosphorylierung der regulatorischen leichten Myosinketten führt. Dadurch wird der Querbrückenzyklus eingeleitet. Während des Querbrückenzyklus bindet der Myosinkopf an das Aktinfilament und gleitet dann an diesem durch eine Abknickbewegung des Köpfchens unter ATP-Verbrauch entlang. Die Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase (MLCP) dephosphoryliert die regulatorische leichte Myosinkette wieder und beendet so den Querbrückenzyklus.

Der glatte Muskel erhält einen parallel ablaufenden Zustand der ständigen Phosphorylierung und Dephosphorylierung am Myosinkopf aufrecht. Da der Kontraktionsgrad der glatten Muskulatur sowohl vom Grad der Myosinphosphorylierung als auch vom intrazellulären Ca^{2+}-Spiegel abhängt, beeinflusst eine reine Modulation der MLCK und MLCP bei konstantem intrazellulären Ca^{2+}-Spiegel bereits den Kontraktionsgrad der glatten Muskulatur.

Aufgrund einer deutlich höheren ADP-Affinität des Myosin-Kopfes in der glatten Muskulatur läuft die Kraftentwicklung 100- bis 1000-fach langsamer ab als im quergestreiften Skelettmuskel. So kann die glatte Muskulatur eine Kontraktion länger halten bei kleinerem ATP-Verbrauch. Dadurch ist die Halteökonomie des glatten Muskels sehr hoch und er ist besonders gut in der Lage, einen bestimmten Tonus über lange Zeit aufrechtzuerhalten.

Die Erregung glatter Muskelzellen kann elektromechanisch, rein mechanisch oder pharmakomechanisch initiiert werden.

Bei der elektromechanischen Kopplung führen verschiedene Ionenkanäle und Ionentauscher zu Membranpotentialen, die beim Überschreiten bestimmter Schwellenpotentiale Aktionspotentiale auslösen. Diese wiederum führen zur spannungsabhängigen Öffnung von Calciumkanälen, die eine Kontraktion in der glatten Muskulatur bewirken. Verschiedene Pharmazeutika, wie die Gruppen der Calciumkanal- und Kaliumkanalblocker, greifen hier an und beeinflussen über eine Modulation der Calcium- oder Kaliumkanäle den Erregungs- und Kontraktionszustand der glatten Muskulatur.

Bei der mechanischen Kopplung kommt es zu einer dehnungsbedingten Öffnung von Calciumkanälen, die zu einer reflektorischen Kontraktion der glatten Muskulatur führt. Dieser sogenannte Bayliss-Effekt ist für eine konstante Durchblutung bei wechselndem Blutdruck von Bedeutung.

Die pharmakomechanische Kopplung lässt sich zusammenfassend als Botenstoff vermittelte Kontraktion beschreiben. Neurotransmitter und Hormone wirken auf in der Zellmembran verankerte oder auf intrazelluläre Rezeptoren ein. Gq-Rezeptoren beispielsweise aktivieren den Effektor Phospholipase C, der Phosphatidylinositolbisphosphat (PIP_2) in die second messenger Moleküle Inositoltriphosphat (IP_3) und Diacylglycerin (DAG) spaltet. Das IP_3 wiederum setzt über IP_3-Rezeptoren Ca^{2+} aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum frei, was zu einer Kontraktion des glatten Muskels führt. Eine andere Möglichkeit zur Beeinflussung der Kontraktion ist die oben angesprochene Modulation der MLCK und MLCP. Die GTPase RhoA ist in diesem Zusammenhang indirekt über eine weitere Rho-Kinase für eine Phosphorylierung der MLCP verantwortlich und sorgt so bei einer bestehenden Grundaktivität der MLCK für eine Kontraktion der glatten Muskulatur.

Zusätzlich zu diesen Effekten direkt an der glatten Muskulatur spielt auch das Endothel eine entscheidende Rolle bei der Erregung der glatten Gefäßmuskelzellen. So regulieren verschiedene von den Endothelzellen ausgeschüttete Botenstoffe den Kontraktionszustand der Zelle. NO bewirkt dabei über eine Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase eine Bildung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP), was in der glatten Muskelzelle zu einer Relaxation führt. Endothelin, das ebenfalls in Endothelzellen gebildet wird, sorgt wiederum für eine Kontraktion der glatten Muskulatur. Die in vivo bekannte vasodilatative Wirkung von Acetylcholin hängt ebenfalls entscheidend mit einem funktionsfähigen Endothel zusammen (25) (26).

Die oben beschriebenen Möglichkeiten der Einflussnahme auf die Kontraktilität des glatten Muskels erlauben es, sowohl unserem Körper als auch verschiedenen Pharmazeutika über die genannten Startpunkte Einfluss auf den Muskeltonus der glatten Muskulatur auszuüben.

2 Materialien

2.1 Verwendete Lösungen

Insgesamt wurden zwei verschiedene Lösungen während der Vorbereitung und während der Versuche selbst verwendet. Zur Vorbereitung der Organe auf die Versuchsreihe wurde Präparationslösung auf Basis von destilliertem Wasser verwendet, in der wie folgt verschiedene Salze gelöst sind:

Substanzen	NaCl	KCl	$CaCl_2 + 2H_2O$
mmol/l	143	5,9	3,7

Während der Versuchsdurchführung wurde Krebslösung verwendet. Diese wurde vor jedem Versuch frisch aus den Stammlösungen angesetzt. Während der Versuche wurde die Lösung mit Carbogen begast. $CaCl_2$ und Glucose wurden erst vor Beginn der Versuchsreihen zu der bereits begasten Lösung hinzugefügt. (Substanzen der Firma SERVA)

Substanzen	NaCl	$NaHCO_3$	KH_3PO_4	KCl	$MgCl_2 + H_2O$	$CaCl_2 + H_2O$	Glucose
mmol/l	112	25	1,2	4,7	1,2	2,5	11,5

2.2 Spargelextraktgewinnung

Zur Herstellung des Extrakts wurde weißer Spargel aus dem Beelitzer Umland verwendet. Dieser wurde 25 Minuten in destilliertem Wasser im Verhältnis 1:2, also 500 g Spargel auf 1 kg destilliertes Wasser, gekocht und anschließend püriert. Das gewonnene Gemisch wurde bei 5000 U/min zentrifugiert und bis zur Verwendung bei -20°C eingefroren. Das Extrakt enthielt nach dieser Prozedur etwa 300 mg Spargel auf 1 ml Extrakt.

2.3 Spargelvergleich aus verschiedenen Jahrgängen

Als im Frühjahr 2019 frischer Spargel aus der Region wieder käuflich erworben werden konnte, stellte sich die Frage nach der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse mit Spargel aus diesem Jahr. Grund dafür waren unter anderem die abnehmenden Vorräte aus dem Frühjahr 2018. Es wurden also im Folgenden sowohl Einzelversuche mit Spargel aus dem Jahr 2018 als auch mit Spargel aus dem Jahr 2019 direkt miteinander verglichen. Dazu wurde am gleichen Versuchstag zunächst ein Versuch mit Spargel aus dem Jahr 2019 durchgeführt und im Anschluss ein weiterer Versuch mit dem älteren Extrakt von 2018. Durch die Herkunft des Spargels aus der gleichen Anbauregion sollten Faktoren wie die Bodenbeschaffenheit und Mineralstoffgehalt des Bodens eliminiert werden.

Es stellte sich heraus, dass sich die gemessenen Daten von Jahrgang zu Jahrgang nicht signifikant voneinander unterschieden und so im Folgenden mit Extrakt, hergestellt mit Spargel aus dem Jahr 2019, weitergearbeitet werden konnte.

3 Methoden

Die experimentellen Untersuchungen zum Wirkungsspektrum des Gemüsespargels am glatten Muskel wurden in einem Labor für glattmuskuläre Motorik im Oscar Langendorff Institut für Physiologie der Universitätsmedizin Rostock im Bereich Vegetative Physiologie unter der Leitung von Prof. Dr. Thomas Noack durchgeführt.

Um eine Wirksamkeit von Spargelextrakt an der Gefäßmuskulatur nachzuweisen, wurde das Organbad als Versuchsmedium gewählt. Es bietet durch eine kontinuierliche Messung die Möglichkeit, eine Dosis-Wirkungs-Beziehung einfach und direkt zu visualisieren. Die verschiedenen Organpräparate wurden exemplarisch für unterschiedliche Typen von glatter Muskulatur ausgewählt. Das Magenantrumpräparat wurde für die spontanaktive, phasisch-rhythmische, glatte Muskulatur des Gastrointestinaltrakts eingesetzt. Anders als in vielen früheren Studien, in welchen die Aorta auf Grund ihrer einfachen Präparation stellvertretend für die gesamte glatte Gefäßmuskulatur stand, soll sie in dieser Arbeit ein Beispiel für die glatte Muskulatur vom anhaltend-tonischen Typ sein. Die Aorta verfügt nach aktuellem Kenntnisstand nämlich weder über Spontanaktivität noch über die vermutlich dafür notwendigen Cajal-Zellen. Repräsentativ für den spontanaktiven Anteil der Blut- und Lymphgefäße wurden Präparate der Portalvene verwendet. Diese Auswahl der Organpräparate soll also einen umfassenderen Überblick über die verschiedenen Typen glatter Muskulatur im Körper liefern und so eine treffendere Aussage zur allgemeinen Wirkung von Spargelextrakt ermöglichen.

3.1 Organentnahme

Die Versuche wurden an Organpräparaten von Ratten durchgeführt. Nach Äthernarkose wurden Ratten beiderlei Geschlechts durch Dekapitation getötet. Nach Eröffnung des Abdomens wurde zunächst die Portalvene unter Vermeidung zu starker Zugbelastung freipräpariert. Unter größtmöglicher Schonung wurde das Gefäß zunächst entnommen und dann direkt in gekühlte Präparierlösung überführt. Im Anschluss wurde dann der Magen präpariert. Nach Durchtrennung von distalem Oesophagus und proximalem Duodenum wurde der Magen, zunächst noch im Ganzen, ebenfalls in gekühlte Präparierlösung gelegt.

Für die Entnahme der Aorta descendens wurde zusätzlich der Thorax eröffnet und die Aorta dann als an der Wirbelsäule verlaufende Struktur dargestellt. Nachdem umliegendes Fett entfernt wurde, konnten, wieder unter Vermeidung von zu starker Zug- und

Druckbelastung an der Aorta, die Seitenäste durchtrennt und die Aorta descendens auf einer Länge von 15-20 mm entnommen werden. Auch das Aortenpräparat wurde sofort nach Entnahme in gekühlte Präparierlösung überführt.

3.2 Organpräparation

In der gekühlten Präparationslösung wurden die Präparate mit feinen Nadeln unter einem Auflichtmikroskop fixiert (Olympus SZ40). Unter Sicht wurden nun kleine Fett- und Bindegewebsreste entfernt. Die weitere Präparation ist organpräparatspezifisch.

Aus der Tunica muscularis des Magenantrums wurden etwa 1 mm breite und 6-8 mm lange Streifen des Stratum longitudinale mittels Präparationsscheren herausgetrennt und bis zum Einhängen ins Organbad wieder zurück in die gekühlte Präparierlösung transferiert.

Die Portalvene wurde der Länge nach inzidiert, schonend von Blutresten und Koageln gereinigt und ebenfalls in Präparierlösung bis zum Versuchsbeginn belassen.

Die Aorta wurde mit dem Unterschied einer spiralförmigen Schnittführung bei der Gefäßeröffnung ebenso auf die Versuchsdurchführung vorbereitet wie die Portalvene. Nach der Öffnung und Bereinigung der Aorta wurde diese in zwei Präparate zerteilt und in Präparierlösung bis zum Versuchsbeginn belassen.

3.3 Versuchsaufbau

Die Organpräparate wurden in auf 37°C temperierter Krebslösung untersucht (Landa Thermostat Eco E4). Hierzu wurden die Präparate an zwei Fäden frei zwischen einem Glasträger und einem Kraftmesser aufgespannt, sodass die Präparate von allen Seiten von Krebslösung umspült waren. Nun konnten alle Reaktionen der Organpräparate auf die Zugabe der verschiedenen Wirkstoffe sowie des Spargelextrakts direkt gemessen und aufgezeichnet werden. Hierzu wurden die mit dem Kraftmesser gemessenen Daten an einen Computer weitergeleitet (Transfuser von Swema und Brücke von WPI), auf welchem dann mit dem Programm LabChart der Firma ADInstruments die Messdaten kontinuierlich aufgezeichnet wurden. Es wurde immer parallel an mindestens einem Präparat der Aorta, einem der Portalvene und einem Präparat des Magenantrums gearbeitet. Im Regelfall wurde entweder an vier Organpräparaten (zwei Aortenpräparate, ein Portalvenen- und ein Magenantrumpräparat) oder an fünf Organpräparaten (zwei Aortenpräparate, ein Portalvenenpräparat und zwei Magenantrumpräparate) gleichzei-

tig geforscht. Die Kraftmesser wurden zu Beginn eines jeden Versuchstages mittels eines durch eine Federwaage geeichten Gewichts auf 20 mN geeicht.

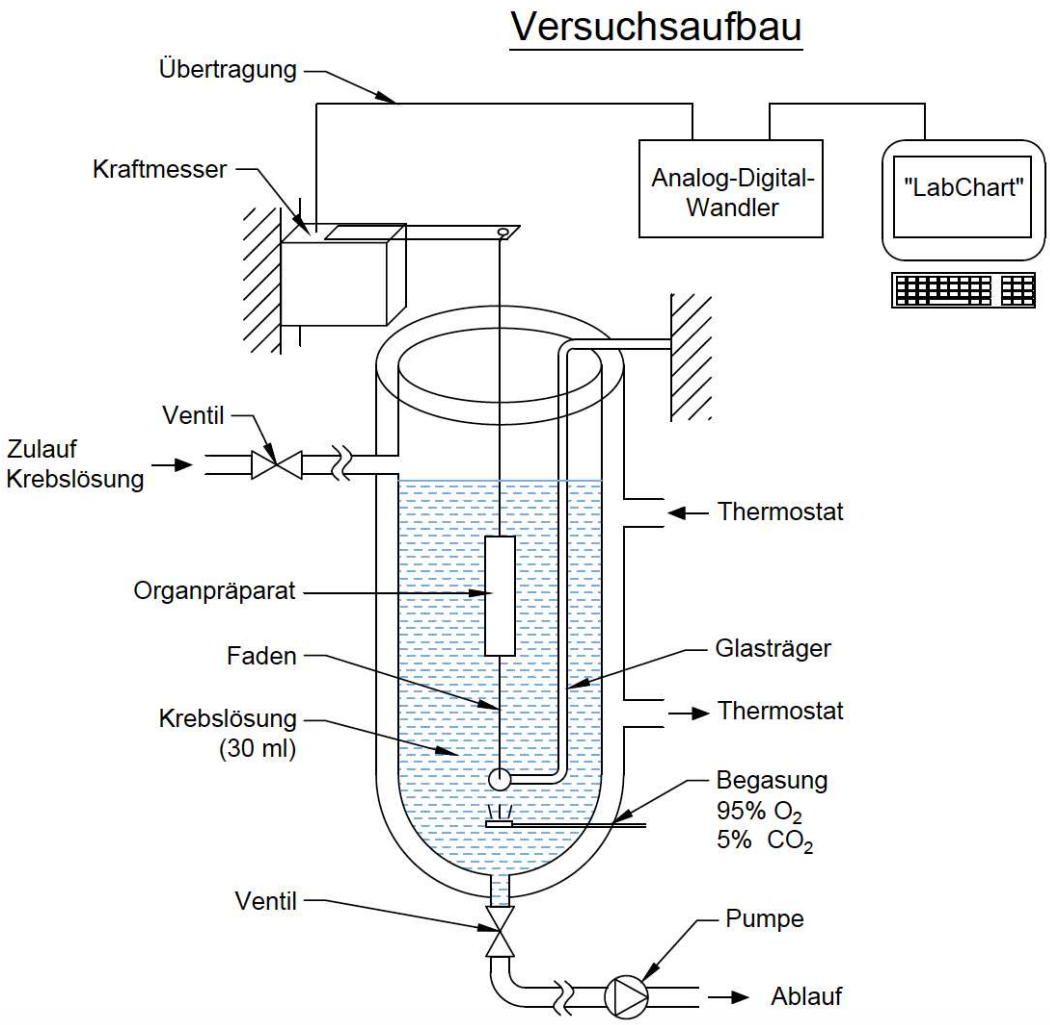

Abbildung 1 *Modell des Versuchsaufbaus*

Das Organpräparat wird an zwei Fäden aufgehängt, auf der einen Seite mit einem Glasträger und auf der anderen Seite mit einem Kraftmesser verbunden, sodass das Organpräparat frei in 30 ml Krebslösung hängt. Die übermittelten Kraftveränderungen werden von dem Kraftmesser gemessen und über einen Analog-Digital-Umwandler an einen Computer übermittelt, wo die Daten kontinuierlich mit dem Programm LabChart aufgezeichnet werden. Die für die Untersuchungen benötigten Substanzen können dem Organbad so frei hinzugefügt werden. Über ein Ventil kann die gesamte Flüssigkeit des Organbads abgelassen und durch ein anderes Ventil durch frische Krebslösung ersetzt werden. Die Temperatur des Organbads wird konstant durch ein Thermostat, welches das Organbad mit Flüssigkeit umspült, auf 37°C gehalten. Außerdem wird das Organbad kontinuierlich mit Carbogen begast.

3.4 Funktionstest und Muskelkrafteichung

Zur besseren Vergleichbarkeit der Versuchsreihe hinsichtlich ihrer Kraft wird zu Beginn jeder Versuchsreihe eine Kontraktion der Organpräparate durch eine Konzentrationserhöhung des KCl im Organbad um 20 mmol ausgelöst. Diese Konzentrationserhöhung sorgt für eine Veränderung im Membranpotential, was in den glatten Muskelzellen des Organpräparates zu einer Kontraktion führt. Der hierdurch erreichte maximale Kontraktionswert wird aufgezeichnet und für die weiteren Versuche gleich 100 % gesetzt. Mit diesem so festgelegten Referenzwert können die folgenden Versuchsergebnisse jeweils verglichen und ausgewertet werden (27).

Um eine mögliche Wirkung des Spargelextrakts auf das Endothel erforschen zu können, muss zunächst überprüft werden, ob dieses nach der Organpräparation noch funktionstüchtig ist. Hierzu wird auf das noch durch die 20 mmol KCl kontrahierte Muskelgewebe 1 µmol Acetylcholin (ACh) appliziert.

Bei intaktem Endothel wird aus den Endothelzellen bei Aktivierung durch ACh der Endothelium-derived relaxing Faktor (EDRF) freigesetzt. Dieser diffundiert in die Zellen der glatten Muskulatur und sorgt hier über eine Aktivierung der zytosolischen Guanylatzyklase für eine Bildung von cGMP, das die MLCP aktiviert und über eine Dephosphorylierung des Myosins zu einer Vasodilatation führt. Dieser Effekt zeigt sich besonders deutlich an der Aorta, die über ein ausgeprägtes Endothel verfügt.

Am Magen und der Portalvene hingegen überwiegt der parasympathische Effekt, den Acetylcholin direkt auf die glatte Muskulatur ausübt. Über M_3-Rezeptoren wird hier PIP_2 in IP_3 und DAG gespalten. Das IP_3 setzt Ca^{2+} aus den intrazellulären Speichern frei, welche sich in der glatten Muskulatur im Sarkoplasmatischen Retikulum befinden, was eine zusätzliche Kontraktion des glatten Muskels bewirkt.

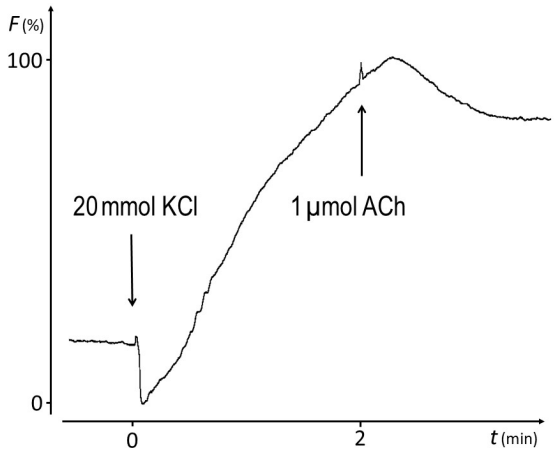

Abbildung 2 *Kontraktion der Aorta durch 20 mmol KCl mit anschließender Relaxation durch EDRF*

Die Abbildung zeigt die Aktivierung der Aorta durch 20 mmol KCl, welche über die Veränderung des Membranpotentials zu der hier sichtbaren isometrischen Kontraktion, also einer Vasokonstriktion der Aorta, führt. Nach 2 Minuten wurde ACh appliziert, das die Endothelzellen zur Bildung und Ausschüttung von EDRF anregt und so die oben sichtbare Vasorelaxation mit leichter Verzögerung initiiert.

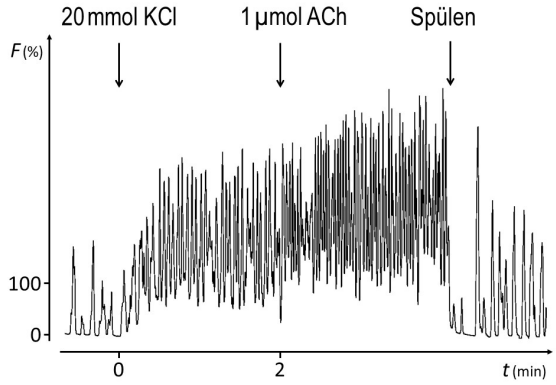

Abbildung 3 *Kontraktion eines Portalvenenpräparats durch 20 mmol KCl und 1 µmol ACh mit anschließender Rückkehr zur periodischen Ruheaktivität nach Spülen*

Die Abbildung zeigt die Kontraktion eines Portalvenenpräparats als Reaktion auf die Applikation von zunächst 20 mmol KCl und im Anschluss 1 µmol ACh. Man kann unter dem Einfluss von 20 mmol KCl einen Frequenzanstieg und eine Tonussteigerung als direkte Reaktion auf die Applikation beobachten. Bei der weiteren Zugabe von ACh steigen beide Faktoren noch weiter an. Nach dem Spülen zum Versuchsende stellt sich wieder ein normaler Grundtonus mit der auch schon zuvor beobachteten Spontanaktivität in Ruhe ein.

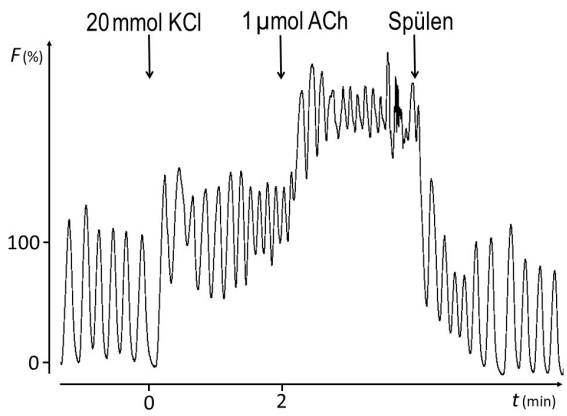

Abbildung 4 *Kontraktion eines Magenantrumpräparats durch 20 mmol KCl und 1 µmol ACh mit anschließender Rückkehr zur periodischen Ruheaktivität nach Spülen*

Auf dieser Abbildung ist die Reaktion eines Magenantrumpräparats auf die Applikation von 20 mmol KCl und im Anschluss 1 µmol ACh zu sehen. Deutlich zu beobachten ist die Tonussteigerung durch die Zugabe von 20 mmol KCl, die durch die weitere Zugabe von 1 µmol ACh noch weiter erhöht wird. Zusätzlich ist über diese beiden Gaben eine Amplitudenabnahme sowie eine leichte Frequenzsteigerung zu beobachten. Durch das Spülen stellt sich wieder ein normaler Grundrhythmus im Magenantrumpräparat ein.

4 Versuche und Ergebnisse

4.1 Die Wirkung von Spargel

Um eine Wirkung von Spargel an der glatten Muskulatur der Organpräparate zu untersuchen, wird eine Auftitrierung vorgenommen. Nach einem Vorversuch, bei dem eine exzitatorische Reaktion der Präparate durch das Hinzugeben von 1 ml Spargelextrakt (entspricht 3,2%iger Konzentration in Lösung) gezeigt werden konnte, wird für den weiteren Versuchsverlauf eine kontinuierliche Auftitrierung in einem gleichbleibenden Zwei-Minuten-Turnus von 0,3%iger bis 9,1%iger Konzentration des Spargelextrakts in vier Schritten vorgenommen. Diese Auftitrierung wird im Folgenden als Spargeltreppe bezeichnet.

Die Anfangsmenge der Krebslösung im Organbad beträgt 30 ml. Nun werden zunächst 100 µl Spargelextrakt hinzugegeben. Nach 2 Minuten werden auf die bereits mit 100 µl Spargelextrakt versetzte Krebslösung weitere 200 µl gegeben, sodass insgesamt 300 µl in Lösung sind. Nach weiteren 2 Minuten werden im dritten Schritt 700 µl Spargelextrakt dazugegeben, sodass wie im Vorversuch 1 ml Spargelextrakt im Organbad gelöst ist. Zuletzt werden im selben Zeitabstand nochmal 2 ml dazutitriert auf insgesamt 3 ml Spargelextrakt in 30 ml Krebslösung.

4.1.1 Aorta

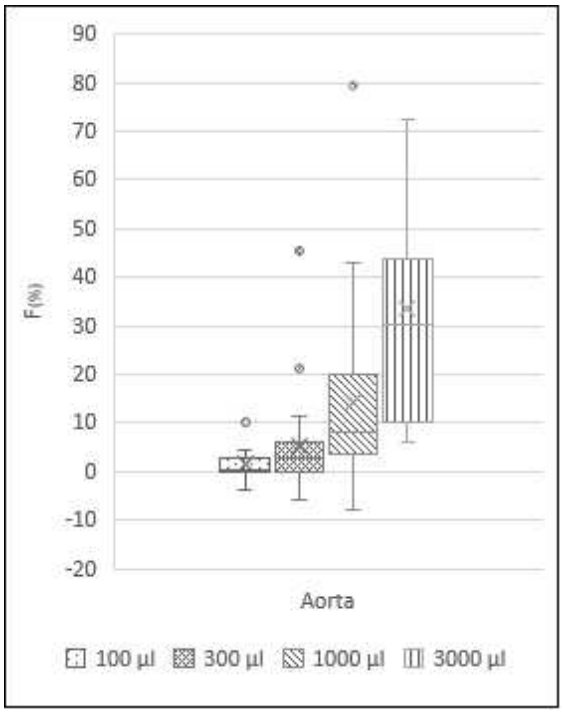

Abbildung 5 *Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an der Aorta*

Zu sehen ist die Tonussteigerung an der Aorta, ausgelöst durch die Zugabe von Spargelextrakt. Die Tonussteigerung ist ins Verhältnis gesetzt zu der durch 20 mmol KCl ausgelösten Tonussteigerung am selben Präparat und in Prozent ausgedrückt.

Bei 0,3%iger Konzentration des Extrakts im Organbad zeigt sich noch keinerlei oder nur kaum wahrnehmbare Wirkung auf die Gefäßmuskulatur der Aorta. Bemessen am Durchschnitt der Daten wird ein Anstieg des Tonus um 1,4 % im Vergleich zur Tonussteigerung durch 20 mmol KCl erreicht. Erst bei einer Konzentration von 1 % ist eine deutliche Kontraktion der Gefäßmuskulatur registrierbar, etwa 5 % der Kontraktion, die durch 20 mmol KCl am selben Gefäß ausgelöst werden kann. Die Kontraktion lässt sich durch weitere Zugabe von Spargelextrakt noch verstärken. Durch eine Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts im Organbad auf 3,2 % kann eine Tonussteigerung des Aortenpräparats auf im Mittel 14,2 % der durch 20 mmol KCl erreichten Tonussteigerung erreicht werden. Durch eine weitere Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts auf 9,1 % kann dieser Wert sogar auf durchschnittlich 33,5 % angehoben werden.

Der Boxplot veranschaulicht den Zusammenhang von erhöhter Spargelextraktkonzentration und Tonusanstieg. Er zeigt jeweils die Tonusmaxima des ersten Spargelextraktversuchs vom jeweiligen Versuchstag.

Die zu beobachtenden Tonuserhöhungen der Aortenpräparate unterscheiden sich voneinander, sodass einige Präparate in dem Zeitraum von 2 Minuten ein Tonusplateau erreichen, das durch erneute Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts auch weiter angehoben werden kann. Bei anderen Präparaten kommt es während dieses Zeitraums nach einer anfänglichen Tonussteigerung zu einem erneuten Tonusabfall, bevor durch eine erneute Spargelextraktzugabe der Tonus wieder, entsprechend der

höheren Konzentration, über das vorherige Tonusniveau hinaus angehoben werden kann.

Die beschriebene Plateauform kann bei den durchgeführten Versuchen an der Aorta häufiger beobachtet werden als andere vasokonstriktive und vasodilatative Effekte, die in anderen Versuchen an der Aorta auch zu beobachten sind. In Zahlen ausgedrückt kann bei 56 Versuchen eine Plateauform als Antwortreaktion auf die Zugabe von Spargelextrakt beobachtet werden, während bei 44 Versuchen andere nicht der Plateauform entsprechende Reaktionen zu sehen sind. Diese insgesamt 100 Versuche wurden unabhängig von ihrer Relaxierbarkeit durch ACh im Vorversuch in die Auswertung übernommen, da sowohl die Plateauform als auch die anderen Kontraktionsformen unabhängig von der Relaxierbarkeit durch ACH an den Aortenpräparaten beobachtet werden konnten.

Die endothelgesteuerte Relaxation über ACh lässt sich anschließend trotz geringerer Kontraktion ähnlich stark wie beim Funktionstest mit 1 µmol ACh auslösen.

Die beobachtete Kontraktion des Aortenpräparats ist eindeutig konzentrationsabhängig und zeigt einen annähernd linearen Anstieg der Kraft in Abhängigkeit von der Spargelextraktkonzentration.

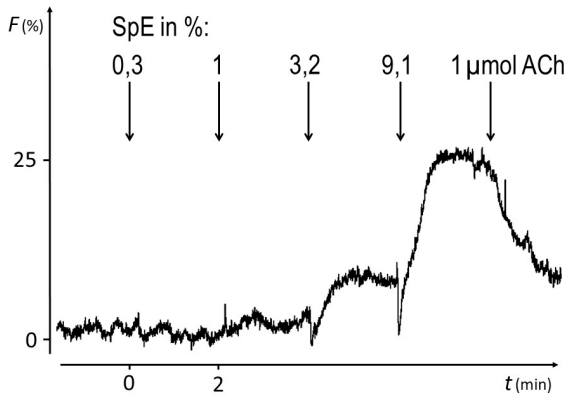

Abbildung 6 *Aktivierung der Aorta mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe*

Die Abbildung zeigt die typische konzentrationsabhängige Kontraktionszunahme an einem Aortenpräparat. Bei einer Spargelextraktkonzentration von 0,3 % ist noch keine Reaktion am Aortenpräparat zu beobachten. Eine 1%ige Konzentration führt in diesem Beispiel schon zu einer kleinen Tonussteigerung von ca. 4 % im Vergleich zu der durch 20 mmol KCl herbeigeführten Kontraktion. Bei einer Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts auf 3,2 % zeigt sich dann eine deutliche Kontraktion des Aortenpräparats mit dem Erreichen eines Plateaus etwa 45 Sekunden nach Applikation des Spargelextrakts. Die prozentuale Tonussteigerung in Abhängigkeit von der durch 20 mmol KCl ausgelösten Kontraktion beträgt hier etwa 10 %. Bei einer Steigerung der Spargelextraktkonzentration im Organbad auf 9,1 % sieht man deutlich die aufgezeichnete isometrische Kontraktion des Aortenpräparats auf etwa 26 % der durch KCl zu Beginn ausgelösten Vasokonstriktion. Die im Anschluss erfolgte Applikation von ACh sorgt für eine Vasodilatation um 63 % der durch ACh im Vorversuch herbeigeführten Relaxation.

4.1.2 Portalvene

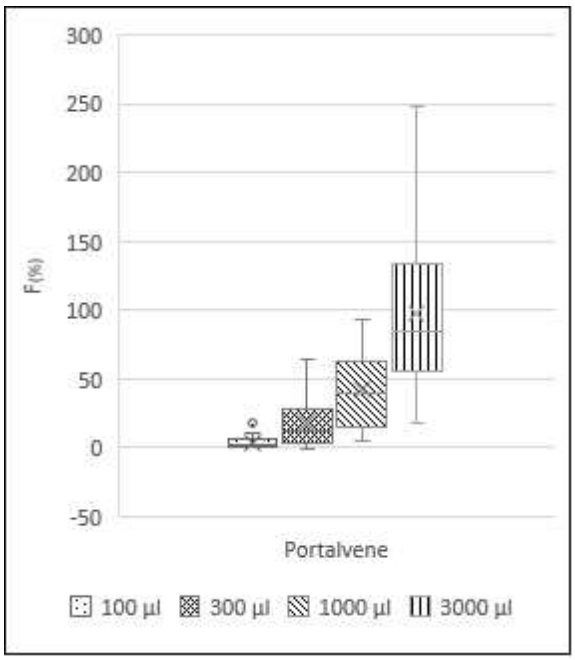

Abbildung 7 *Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an der Portalvene*

Zu sehen ist die Tonussteigerung an der Portalvene, ausgelöst durch die Zugabe von Spargelextrakt. Die Tonussteigerung ist ins Verhältnis gesetzt zu der durch 20 mmol KCl ausgelösten Tonussteigerung am selben Präparat und in Prozent ausgedrückt. Die maximale Tonussteigerung wurde auf Grund der Spontanaktivität am höchsten Amplitudenminimum nach Extraktzugabe gemessen.

Die Portalvene reagiert auf die Zugabe von Spargelextrakt mit einer Kontraktion, die in Bezug auf die Eichung mit 20 mmol KCl stärker ausfällt als an der Aorta. Bei 0,3%iger Spargelextraktlösung entspricht hier die Kontraktion 3,7 % der KCl Wirkung, bei 1%iger Lösung bereits 17,4 %. Deutlich sichtbar wird der Unterschied zwischen Portalvene und Aorta bei 3,2%iger Spargelextraktlösung. Bei dieser Konzentration werden Kontraktionskräfte von durchschnittlich 43,2 % erreicht und bei 9,1%iger Lösung sind es sogar Kontraktionen von durchschnittlich 98,2 % im Vergleich zur Kontraktion mit KCl. Die im Boxplot dargestellten Tonusmaxima an der Portalvene werden am höchsten Amplitudenminimum nach Spargelextraktzugabe abgelesen und zeigen die Gesamttonussteigerung, ohne die überlagernde Amplitude der Spontanaktivität zu berücksichtigen.

Bei den Portalvenenpräparaten ist nach Spargelextraktzugabe zunächst eine Tonussteigerung zu beobachten, gefolgt von einem erneuten Tonusabfall innerhalb des festgelegten Zwei-Minuten-Turnus. Dieser Effekt ähnelt der zweiten auch schon an der Aorta beschriebenen Antwortreaktion. Mit Konzentrationserhöhung werden dann ebenso wie an der Aorta kontinuierlich höhere Tonusmaxima für die Präparate der Portalvene erreicht.

Durch die vorhandene Spontanaktivität an der PV können zusätzlich Veränderungen in der Frequenz und Amplitude beobachtet werden. Im Fall der Portalvene kommt es zu einer konzentrationsabhängigen Frequenzsteigerung und einer Abnahme in der

Amplitude. Die ACh-Gabe führt zu einer weiteren Kontraktion des Gefäßes sowie einer weiteren Frequenzerhöhung und Amplitudenabnahme.

Der Effekt auf die Portalvenenpräparate zeigt sich häufig schon bei geringen Konzentrationen in einer erhöhten Frequenz der Spontanaktivität. Erst bei höheren Konzentrationen kann auch die an der Aorta gemessene Tonuserhöhung beobachtet werden. Die Amplitude wird kleiner, je stärker die Tonuserhöhung ausfällt.

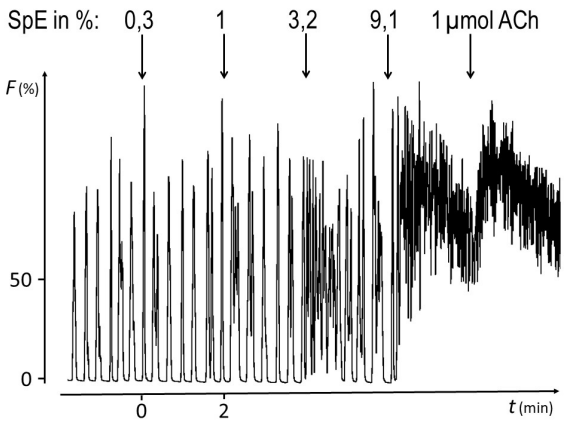

Abbildung 8 *Aktivierung der Portalvene mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe*

In diesem Beispiel der Wirkung von Spargelextrakt auf ein Portalvenenpräparat sind bei 0,3 % und 1 % Spargelextraktkonzentration im Organbad zunächst noch keine Reaktionen zu beobachten. Ab der Spargelextraktkonzentration von 3,2 % kann in diesem ausgewählten Versuch die anfängliche Tonuszunahme, gefolgt von der erneuten –abnahme auf das Ausgangsniveau vor Versuchsbeginn, beobachtet werden. Parallel ist eine Frequenzzunahme zu sehen. Die maximale Tonuszunahme im Vergleich zu der durch 20 mmol KCl erreichten Kontraktion beträgt in diesem Beispiel 51 %. Bei einer 9,1%igen Spargelextraktkonzentration im Organbad ist eine deutliche Tonuszunahme zu erkennen, die begleitet wird von einer weiteren Frequenzzunahme bei gleichzeitiger Amplitudenabnahme. Die Tonuszunahme beträgt hier 99 %.

4.1.3 Magenantrum

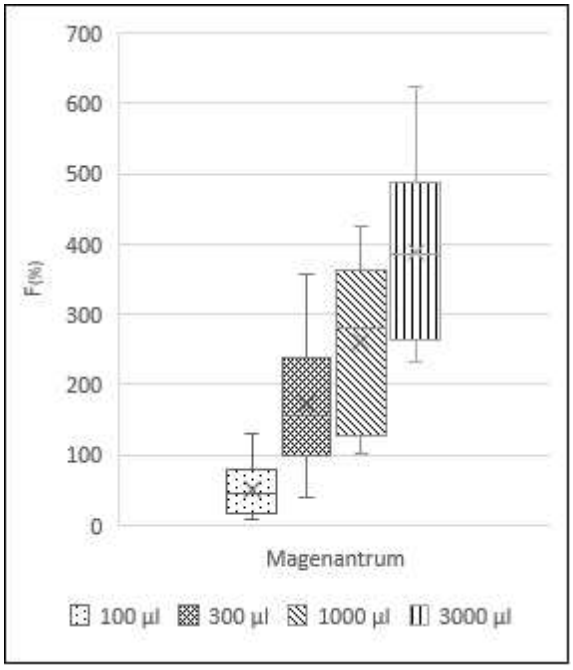

Abbildung 9 *Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt am Magenantrum*

Zu sehen ist die Tonussteigerung am Magenantrumpräparat, ausgelöst durch die Zugabe von Spargelextrakt. Die Tonussteigerung ist ins Verhältnis gesetzt zu der durch 20 mmol KCl ausgelösten Tonussteigerung am selben Präparat und in Prozent ausgedrückt. Die maximale Tonussteigerung wurde auf Grund der Spontanaktivität am höchsten Amplitudenminimum nach Extraktzugabe gemessen.

Die Wirkung des Spargelextrakts auf das Magenantrum ist im Verhältnis zur KCl-Kontraktion noch deutlicher zu beobachten als an Aorta und Portalvene.
Hier entspricht die Kontraktion bei 0,3%iger Lösung bereits einer durchschnittlichen Kontraktion von 52,2 % im Vergleich mit 20 mmol KCl. Eine 1%ige Lösung verursacht eine Kontraktion von durchschnittlich 166,3 % und eine 3,2%ige Lösung erreicht Kontraktionsniveaus von im Schnitt 261 %. Bei einer 9,1%igen Lösung erreicht der Kontraktionsanstieg durchschnittlich Werte um 387,8 %. So wie an der Portalvene werden die Tonusmaxima am höchsten Punkt der Amplitudenminima abgelesen, ohne die überlagernden Amplitudenmaxima zu berücksichtigen. Am Magenantrum zeichnet sich eine Sättigung der durch Spargelextrakt auslösbaren Muskelantwort bei 9,1 % Spargelextrakt in Lösung ab.

Bei den Versuchen am Magenantrum wurden nicht alle Versuche in die Auswertung mit einbezogen, da zunächst mit einer Vorkontraktion mit ACh gearbeitet wurde, die erst in späteren Versuchen zur besseren Vergleichbarkeit ausgelassen wurde.

Die Tonussteigerung folgt auch hier demselben Muster wie an der Portalvene. Nach Zugabe des Extrakts wird zunächst eine Tonuszunahme beobachtet, der innerhalb des Zwei-Minuten-Turnus eine Kraftabnahme folgt. Auch hier werden die Tonuswerte am Maximum der Tonussteigerung jeweils an den Amplitudenminima zu diesem Zeitpunkt abgelesen.

Im Unterschied zur PV wirkt das Spargelextrakt auf das Magenantrumpräparat kaum frequenzsteigernd. Jedoch ist hier eine Zunahme der Amplitude zu beobachten.

Amplitudensteigerung und Tonussteigerung scheinen eng miteinander verknüpft zu sein, da in Magenantrumpräparaten, die eine deutliche Tonuszunahme zeigen, kaum eine bis fast keine Zunahme in der Amplitude zu beobachten ist. Wie auch an der Portalvene ist durch ACh eine weitere Kontraktion der Magenantrummuskulatur zu beobachten.

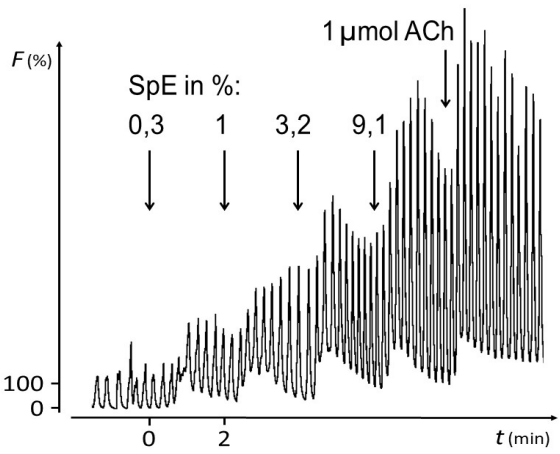

Abbildung 10 *Aktivierung des Magenantrums mit Spargelextrakt in Form einer Spargeltreppe*

Die Abbildung zeigt beispielhaft die Reaktion eines Magenantrumpräparats auf die Zugabe von Spargelextrakt. Es wird deutlich, dass Spargelextrakt an diesem Magenantrumpräparat schon bei einer Konzentration von nur 0,3 % im Organbad zu einer Kontraktion der glatten Muskulatur um 79 % führt. Auf die Dosiserhöhung des Spargelextrakts folgt im ersten Drittel der Zwei-Minuten-Zeitabstände ein Anstieg des Muskeltonus. Danach erfolgt eine Relaxation bis zur erneuten Dosiserhöhung. Durch eine Dosiserhöhung des Spargelextrakts auf 1 % steigt der Tonus an seinem Maximum auf 162 % der durch 20 mmol KCl ausgelösten Kontraktion und bei 3,2 % sogar auf 247 %. In diesem Beispiel kann durch eine Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts auf 9,1 % im Organbad eine Kontraktion von 263 % erreicht werden, was im Vergleich mit anderen Magenantrumpräparaten eher im unteren Spektrum der gemessenen Kontraktionswerte ist. In diesem Beispiel ist der Anstieg der Amplitude besonders gut zu erkennen. Diese steigt bei einer Spargelextraktkonzentration von 9,1 % auf mehr als das Vierfache im Vergleich zur Amplitude vor der Zugabe von Spargelextrakt.

4.1.4 Schlussfolgerungen und weitere Experimente

Die durch das Spargelextrakt induzierten Reaktionen an der glatten Muskulatur lassen sich grundsätzlich als exzitatorisch charakterisieren. Zu nennen sind an allen Präparaten die Tonussteigerung, an Magenantrum und Portalvene die Frequenzsteigerung und am Magenantrum die Amplitudensteigerung. Im Folgenden sollen die Gedankengänge, die zu den Folgeexperimenten geführt haben, dargelegt werden.

Maßgeblich verantwortlich für die Spontanaktivität und Kontraktion in der glatten Muskulatur sind der Calcium- und der Kalium-Haushalt in den Muskelzellen.

Ein intrazellulärer Calciumüberschuss führt zur Kontraktion, während ein Kaliumausstrom durch eine Hyperpolarisation der Zellmembranen die Kontraktion beendet.

Da Spargel sowohl eine tonussteigernde als auch eine frequenzsteigernde Wirkung auf die glatten Muskelzellen aufweist, könnte eine Manipulation dieser beiden Parameter weiteren Aufschluss über die Wirkungsweisen der im Spargelextrakt enthaltenen phytochemisch aktiven Substanzen an der glatten Muskulatur liefern.

L-Typ Calciumkanäle nehmen eine zentrale Rolle bei der Regulation der phasischen und tonischen Kontraktion glatter Muskulatur ein (27). Durch Nifedipin kann dieser L-Typ Calciumkanal selektiv blockiert werden, was in der glatten Muskulatur zu einem vollständigen Ausbleiben der Spontanaktivität an Portalvene und Magenantrum führt (28). Eine Wirkung von Spargel unter Hemmung der L-Typ Calciumkanäle würde bedeuten, dass Spargel eine Wirkung auf den intrazellulären Calciumspiegel zuzuschreiben ist. Dies könnte einen Erklärungsansatz für die Tonuserhöhung unter dem Einfluss von Spargelextrakt liefern. Außerdem wird durch die Blockade der L-Typ Calciumkanäle der Zustrom von Calcium aus dem Extrazellularraum deutlich begrenzt, sodass ein Einfluss des im Spargelextrakt enthaltenen Calciums (29) als Hauptursache der Tonussteigerung ausgeschlossen werden kann.

Mit einem Kaliumkanalöffner wie Levcromakalim könnte ein ähnlicher Effekt wie durch Nifedipin erzielt werden, doch hier kommt es durch den ständigen Kaliumausstrom zu einer dauerhaften Hyperpolarisation der Zellen, sodass eine Spontanaktivität ausbleibt. Glibenclamid schließt antagonistisch zum Levcromakalim diesen Kanal wieder und sorgt so für eine Rückkehr der Periodizität der Spontanaktivität (30) (31). Eine Erregungsrückkehr würde darauf schließen lassen, dass Spargelextrakt einen Einfluss auf die Kaliumretention in der glatten Muskelzelle hat.

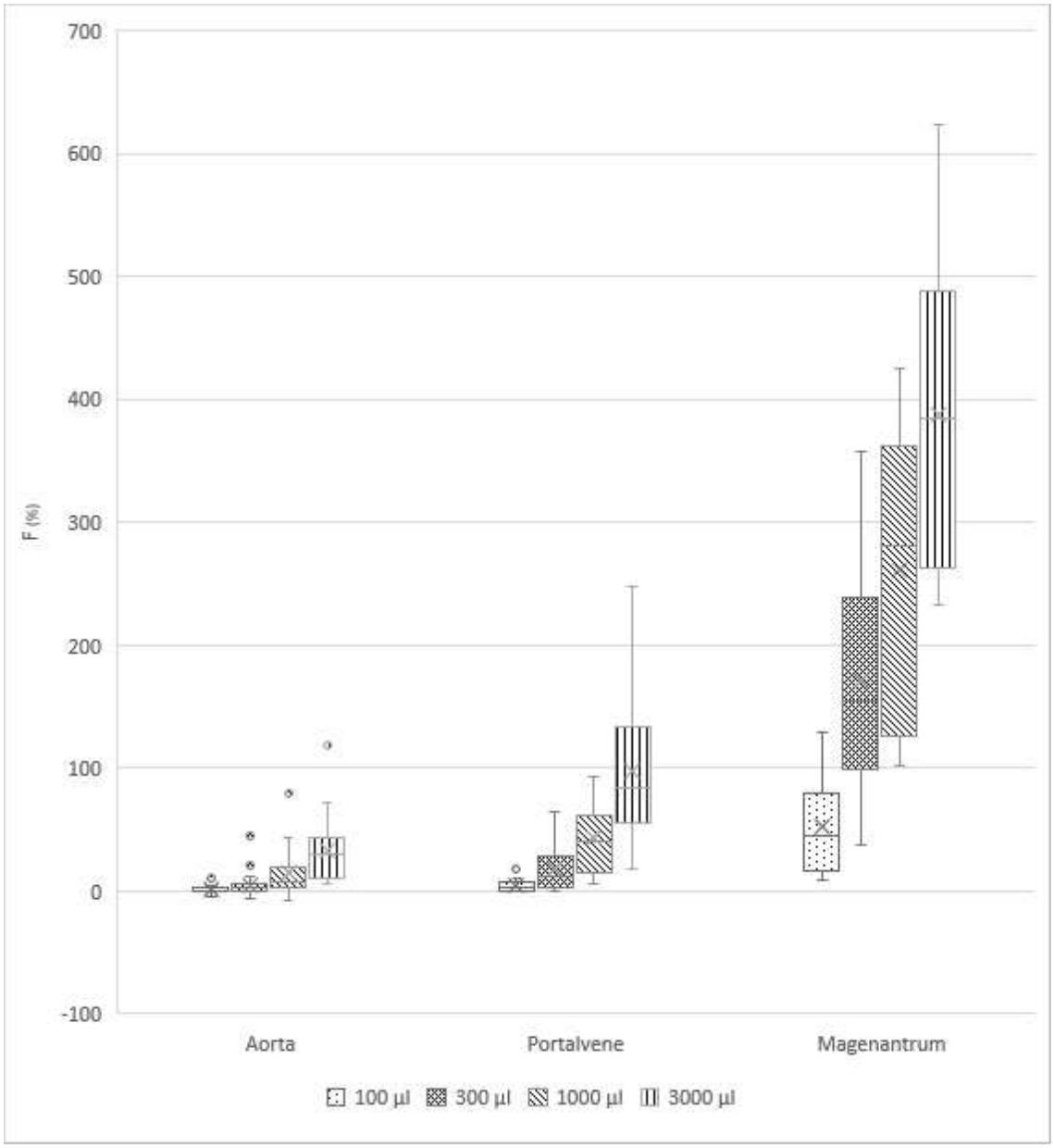

Abbildung 11 *Dosis-Wirkung Beziehung von Spargelextrakt an allen Organpräparaten im Vergleich*

Zu sehen ist die Tonussteigerung an den drei verwendeten Organpräparaten ausgelöst durch die Zugabe von Spargelextrakt. Die Tonussteigerung ist ins Verhältnis gesetzt zu der durch 20 mmol KCl ausgelösten Tonussteigerung an eben jenen Präparaten und in Prozent ausgedrückt.

Es lassen sich die großen Unterschiede der Tonussteigerungen an den Organpräparaten beobachten. Des Weiteren zeigt sich eine klare Dosis-Wirkung Beziehung zwischen der steigenden Spargelextrakt-menge und der Tonussteigerung an den glattmuskulären Organen.

.

4.2 Die konzentrationsabhängige Wirkung von Spargelextrakt bei blockiertem L-Typ Calciumkanal

4.2.1 Versuchsdurchführung

Aufgrund der geringen Lichtstabilität des Nifedipins werden die Versuche in einem abgedunkelten Labor durchgeführt. Als Lichtquelle dient eine Natriumdampflampe.

Zu Beginn der Versuchsreihe wird 0,1 µmol Nifedipin in das Organbad appliziert und dann in gleichbleibender Schrittgröße aufdosiert bis zum kompletten Verlust der Spontanaktivität an dem Portalvenen- und Magenantrumpräparat. Die Aorta wird mit derselben Dosis vorbehandelt, jedoch ohne dass hier eine wesentliche Veränderung im Kontraktionsverhalten beobachtet werden kann. Später wird direkt eine Dosis von 0,6 µmol Nifedipin appliziert, da sich in den vorherigen Versuchen dieser Versuchsreihe mit insgesamt zehn Versuchen herausgestellt hat, dass diese Dosis zuverlässig zu einem Verlust der Spontanaktivität an Portalvene und Magen führt.

Nach Ausbleiben der Spontanaktivität wird nun das Spargelextrakt in Form der oben beschriebenen Spargeltreppe appliziert.

4.2.2 Nifedipin mit Spargeltreppe

Unter dem Einfluss von Spargelextrakt kann bei den Konzentrationsstufen von 0,3 % und 1 % noch keine Wirkung an den Präparaten beobachtet werden.

Ab einer 3,2%igen Konzentration des Spargelextrakts ist häufig eine Tonussteigerung an den Präparaten der Portalvene und des Magenantrums zu beobachten. Trotzdem bleibt die erzielte Tonuszunahme weit hinter den Ergebnissen einer rein durch Spargelextrakt erzielten Muskeltonussteigerung zurück.

Zuverlässig kann bei einer 9,1%igen Konzentration des Spargelextrakts eine Kontraktion der glatten Muskulatur von Portalvene und Magenantrum herbeigeführt werden. Auch bei dieser Konzentrationsstufe bleibt die Tonussteigerung weit hinter den nur mit Spargelextrakt erzielten Ergebnissen zurück. An den Präparaten der Aorta kann jeweils kaum eine weitere Veränderung der Kontraktilität während der Einwirkung von Nifedipin beobachtet werden. Nur bei maximaler Spargelextraktkonzentration zeigt sich eine leichte Tonussteigerung, die ebenso wie an Portalvene und Magenantrumpräparat hinsichtlich ihrer Kraft hinter den Spargelreinversuchen zurückbleibt.

Nifedipin blockiert als Calciumkanalblocker L-Typ Calciumkanäle, die maßgeblich für die Tonussteigerung in der glatten Muskulatur verantwortlich sind und trotz dieser Blockade kann Spargelextrakt eine erneute Kontraktion in der glatten Muskulatur auslösen, ohne dabei Einfluss auf die Spontanaktivität zu haben.

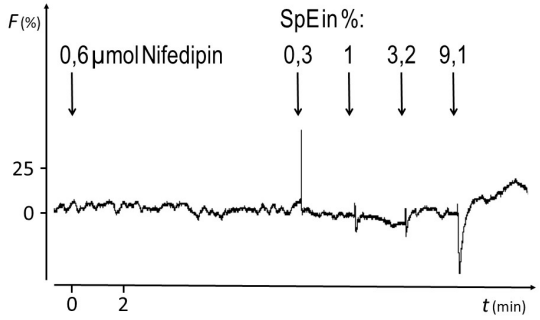

Abbildung 12 *Applikation von Spargelextrakt nach Zugabe von 0,6 µmol Nifedipin auf ein Aortenpräparat*

Nach Zugabe des Nifedipins wurde mit dem Versuchsbeginn auf die Hemmung der Spontanaktivität der anderen Organpräparate gewartet, da die Aorta selbst keinen vergleichbaren Anhalt für den Wirkungseintritt des Nifedipins liefert. Die Applikationen des Spargelextrakts folgen dem bereits zuvor verwendeten Zwei-Minuten-Turnus. Die dabei zu beobachtenden Tonusausschläge sind als Artefakte zu werten.

Nach Applikation des Spargelextrakts lässt sich zunächst nicht die aus den vorangegangenen Versuchen ohne Nifedipin bekannte tonussteigernde Wirkung am Aortenpräparat beobachten. So mutet in diesem Beispiel sogar eine leichte Tonussenkung an. Ab einer Konzentrationserhöhung auf 3,2 % des Spargelextrakts in Lösung lässt sich der bekannte, wenn auch schwache tonussteigernde Effekt des Spargelextrakts beobachten. Bei 9,1 % Spargelextrakt wird dieser Effekt eindeutig sichtbar. Hier führt die Zugabe des Spargelextrakts zu einer Tonussteigerung von ca. 17 % der durch 20 mmol KCl herbeigeführten Kontraktion.

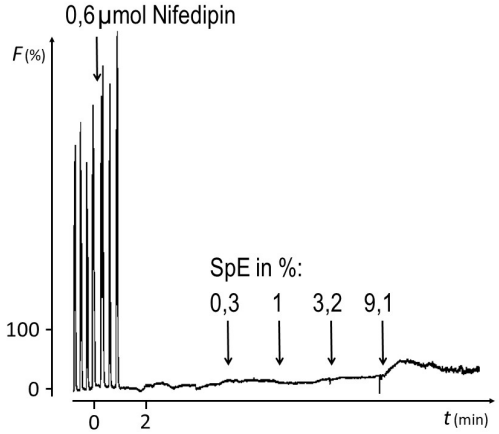

Abbildung 13 *Applikation von Spargelextrakt nach vorheriger Hemmung der Spontanaktivität eines Portalvenenpräparates durch 0,6 µmol Nifedipin*

Zunächst wird die Spontanaktivität durch die Zugabe von 0,6 µmol Nifedipin komplett gehemmt. Anschließend wird die Konzentration des Spargelextrakts im Organbad in gleichbleibenden Schritten stetig erhöht. Bei den beiden geringen Spargelextraktkonzentrationen sind bei diesem Portalvenenpräparat keine Tonussteigerungen zu erkennen. Erst bei 3,2 % Spargelextraktkonzentrationen kann eine geringe Tonussteigerung von etwa 5 % herbeigeführt werden. Durch einen vorher erfolgten kontinuierlichen Anstieg des Tonus liegt der aufgezeichnete Wert nach der Zugabe von insgesamt 1000 µl Spargelextrakt in diesem Beispiel bei etwa 25 % der durch 20 mmol KCl ausgelösten Kontraktion. Bei 9,1%iger Spargelextraktkonzentration im Organbad ist an diesem Portalvenenpräparat eine Tonussteigerung von 25 % als direkte Reaktion auf die Zugabe der erhöhten Spargelextraktkonzentration zu beobachten. Durch die vorangegangene Kontraktion wird hier am Kontraktionsmaximum eine Gesamttonussteigerung von knapp 50 % erreicht.

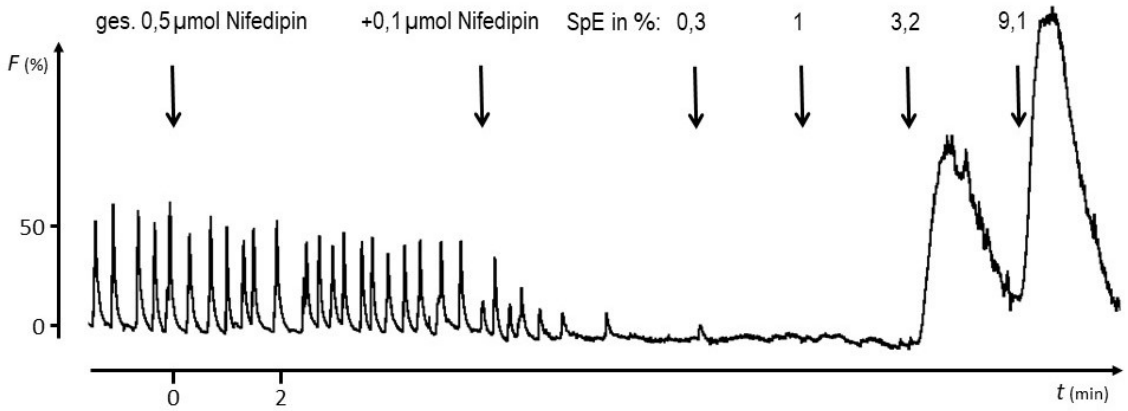

Abbildung 14 *Applikation von Spargelextrakt nach vorheriger Hemmung der Spontanaktivität eines Magenantrumpräparats durch 0,6 µmol Nifedipin*

In der Abbildung ist die Abnahme der Spontanaktivität, ausgelöst durch den L-Typ Calciumkanalblocker Nifedipin, zu beobachten. Nach der Zugabe von insgesamt 0,6 µmol Nifedipin ist die Spontanaktivität vollständig inhibiert. Während der Applikation von Spargelextrakt kann eine erneute Kontraktion der glatten Muskulatur beobachtet werden. 0,3 % und 1 % Spargelextraktkonzentration im Organbad lösen noch keinerlei beobachtbare Kontraktion an der glatten Muskulatur des Magenantrums aus. Eine Konzentration von 3,2 % Spargelextrakt löst in diesem Beispiel eine 170%ige Kontraktion aus. Bei 9,1 % Spargelextrakt im Organbad wird in diesem Beispiel eine Kontraktion von 265 % im Vergleich zur durch 20 mmol KCl ausgelösten Kontraktion erreicht.

4.3 Die konzentrationsabhängige Wirkung von Spargelextrakt bei geöffnetem K_{ATP}-Kanal

4.3.1 Levcromakalim und Glibenclamid Vorversuch

In einem Vorversuch soll die bereits bekannte antagonistische Wirkung von Levcromakalim und Glibenclamid am K_{ATP}-Kanal (30) untersucht werden, um beobachten zu können, wie sich dieser Antagonismus im Organbadversuch an den zu untersuchenden Organpräparaten darstellt.

Hierzu wird zunächst 1 µmol Levcromakalim ins Organbad gegeben und dann wie in der Versuchsreihe mit Nifedipin gewartet, bis die für die Präparate der Portalvene und des Magenantrums typische Spontanaktivität zum Erliegen kommt. Dann wird dem Organbad 1 µmol Glibenclamid zugefügt.

Durch das Levcromakalim werden K_{ATP}-Kanäle geöffnet, wodurch es zu einem Kaliumausstrom und dadurch zu einer Hyperpolarisation der Zellen kommt (33). Durch diesen Vorgang werden die periodischen Aktionspotenziale der Zellen, die die Muskelkontraktion anstoßen, nicht mehr ausgelöst und die Spontanaktivität kommt zum Erliegen. Glibenclamid schließt diesen Kanal wieder und sorgt für eine Rückkehr der Spontanaktivität.

Der zuvor beschriebene Prozess bei der Zugabe von Levcromakalim und Glibenclamid kann an dem Portalvenen- sowie am Magenantrumpräparat beobachtet werden. Die folgenden Abbildungen zeigen diesen Versuch an einem Portalvenen- sowie einem Magenantrumpräparat. Zu beobachten sind hier die Wirkung von Levcromakalim auf die Spontanaktivität und die dann antagonisierende Wirkung von Glibenclamid, das die Spontanaktivität allmählich zurückkehren lässt.

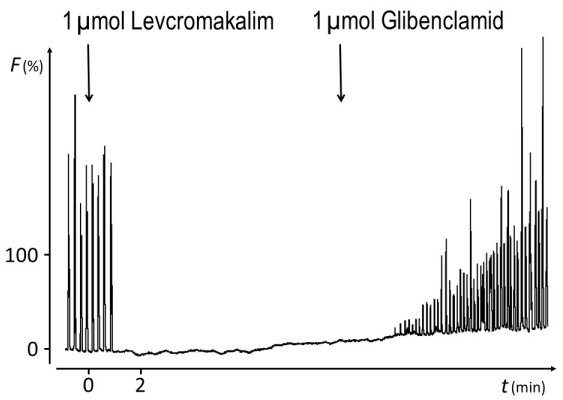

Abbildung 15 *Inhibition der Spontanaktivität eines Portalvenenpräparates durch Levcromakalim mit anschließender Reaktivierung durch Glibenclamid*

Zunächst ist nach Zugabe von 1 µmol Levcromakalim ein Verschwinden der Spontanaktivität und ein Anstieg des Grundtonus am Portalvenenpräparat zu beobachten. Nach der Zugabe von Glibenclamid ist eine allmähliche Rückkehr der Spontanaktivität bei dann stabilem Grundtonus, aber erhöhter Frequenz zu erkennen.

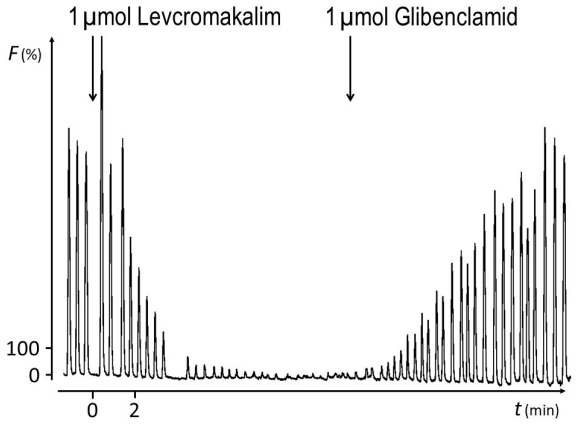

Abbildung 16 *Inhibition der Spontanaktivität eines Magenantrumpräparats durch Levcromakalim mit anschließender Reaktivierung durch Glibenclamid*

Nach der Zugabe von Levcromakalim ist ein Verschwinden der Spontanaktivität zu beobachten, wohingegen nach der Gabe von 1 µmol Glibenclamid die Amplitudenhöhe der Spontanaktivität wieder auf das Ausgangsniveau bei leicht erhöhter Frequenz steigt.

4.3.2 Levcromakalim mit Spargeltreppe

Ebenso wie im Vorversuch wird zunächst 1 µmol Levcromakalim ins Organbad appliziert, was die im Portalvenen- und Magenantrumpräparat vorhandene Spontanaktivität hemmen soll. Das Ziel ist es, einen möglichen Effekt von Spargelextrakt auf hyperpolarisierte Zellen zu erfassen. Dazu wird nach Abklingen der Spontanaktivität Spargelextrakt in Form der schon in den Reinversuchen verwendeten Spargeltreppe (s. 4.1) zu den durch Levcromakalim hyperpolarisierten und in ihrer Spontanaktivität gehemmten Organpräparaten gegeben.

An den Portalvenenpräparaten kann bei den Spargelextraktkonzentrationen von 0,3 % und 1 % noch keine Veränderung in der Kontraktilität der Organpräparate beobachtet werden.

Ab einer Konzentration von 3,2 % kann zunächst eine Rückkehr der Spontanaktivität an den Portalvenenpräparaten beobachtet werden. Noch ausgeprägter ist dieser Effekt bei einer Spargelextraktkonzentration von 9,1 %, wo ein weiterer Anstieg der Amplituden bis hin zur Ausgangssituation zu beobachten ist. Zusätzlich können ein kurzzeitiger Tonusanstieg und eine Frequenzzunahme um ein Vielfaches in der Spontanaktivität beobachtet werden. Der Tonusanstieg beträgt im unten gezeigten Beispiel, einem Portalvenenpräparat (vgl. Abb. 18), max. 25 % der durch KCl herbeigeführten Kontraktion und fällt danach im gleichen Zwei-Minuten-Zeitintervall zurück auf das Ausgangsniveau.

Am Magenantrum können ähnliche Beobachtungen wie an dem Portalvenenpräparat angestellt werden. (vgl. Abb. 19) Nachdem durch Levcromakalim die Spontanaktivität des Organpräparats unterdrückt wurde, kann durch die Konzentrationserhöhung auf die größte Dosis von 9,1 % eine vollständige Rückkehr der spontanen Erregung beobachtet werden. Zusätzlich zu dieser Spontanaktivitätsrückkehr kann am Magenantrum, ebenso wie schon an der Portalvene beobachtet, eine Zunahme des Tonus sowie eine Steigerung der Frequenz gemessen werden.

An den Präparaten der Aorta lässt sich unter Levcromakalimeinfluss nur noch eine kaum wahrnehmbare Reaktion auf Spargelextrakt bei der Höchstkonzentration beobachten.

4.3.3 Spargel und Glibenclamid im Vergleich

Nachdem eine Auftitrierung mit Spargelextrakt in Form der Spargeltreppe unter dem Einfluss von Levcromakalim erfolgt ist, wird in konstant bleibendem Zeitabstand von 2 Minuten 1 µmol Glibenclamid dem Lösungsgemisch im Organbad hinzugefügt.

Unabhängig von der Zeit nach Applikation der Glibenclamiddosis auf die mit 1 µmol Levcromakalim und 3 ml Spargelextrakt (9,1 %) vorbehandelten Präparate ist keine weitere Veränderung des spontanen Kontraktionsverhaltens an Portalvene und Magenantrum zu beobachten.

Der Tonus der Aorta zeigt ebenfalls keine weitere Veränderung nach der Glibenclamidgabe.

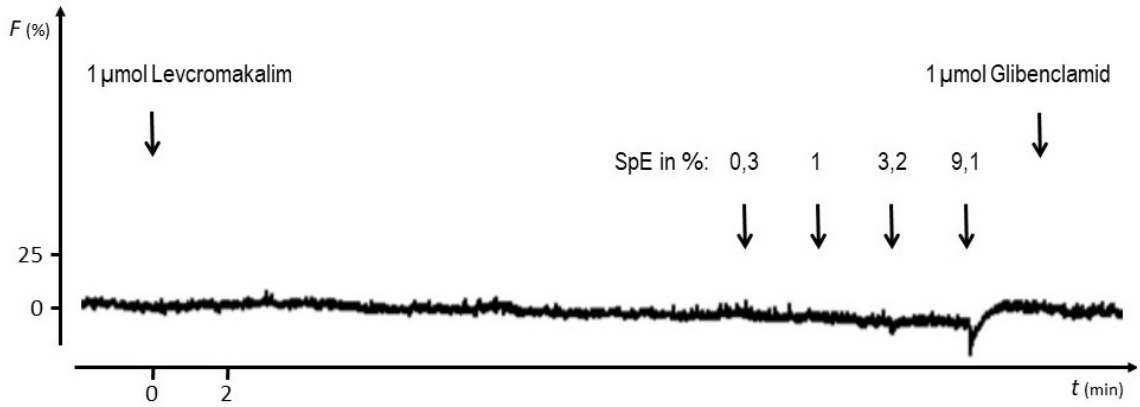

Abbildung 17 *Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim vorbehandeltes Aortenpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid*

Nach der Zugabe des Levcromakalims wird mit der Spargelextraktzugabe solange gewartet, bis die Organpräparate der Portalvene und des Magenantrums in ihrer Spontanaktivität gehemmt sind. Nach Zugabe des Levcromakalims kommt es zu einem steten leichten Tonusabfall. Die Zugabe des Spargelextrakts bewirkt bis einschließlich der Konzentration von 3,2 % keinen Effekt am Aortenpräparat. Erst bei der höchsten Konzentration von 9,1 % Spargelextrakt in Lösung lässt sich eine Tonussteigerung um ca. 10 % im Vergleich zu der durch 20 mmol KCl herbeigeführten Tonussteigerung beobachten. Der Tonus der Aorta zeigt nach der Zugabe von Glibenclamid keine weitere Veränderung.

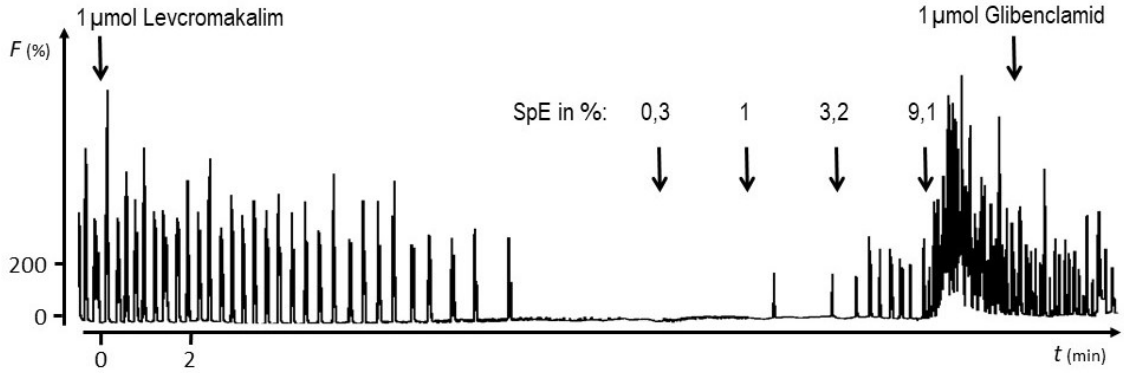

Abbildung 18 *Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim inhibiertes Portalvenenpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid*

Nach der Zugabe von 1 µmol Levcromakalim kommt es zu einer Abnahme der Spontanaktivität, bis diese komplett ausbleibt. Dann wird mit einer Spargeltreppe begonnen. Zunächst sind keine Veränderungen in der Aktivität des Portalvenenpräparats zu beobachten. Bei einer Konzentration des Spargelextrakts von 3,2 % im Organbad kann eine erste Rückkehr der Spontanaktivität beobachtet werden. Bei einer Konzentration von 9,1 % Spargelextrakt prägt sich diese Rückkehr der Spontanaktivität weiter aus und eine Tonuserhöhung, begleitet von einer im Vergleich zu Beginn gesteigerten Frequenz der Spontanaktivität, wird sichtbar. Die Zugabe von Glibenclamid scheint keine weitere Wirkung auf das Portalvenenpräparat zu haben.

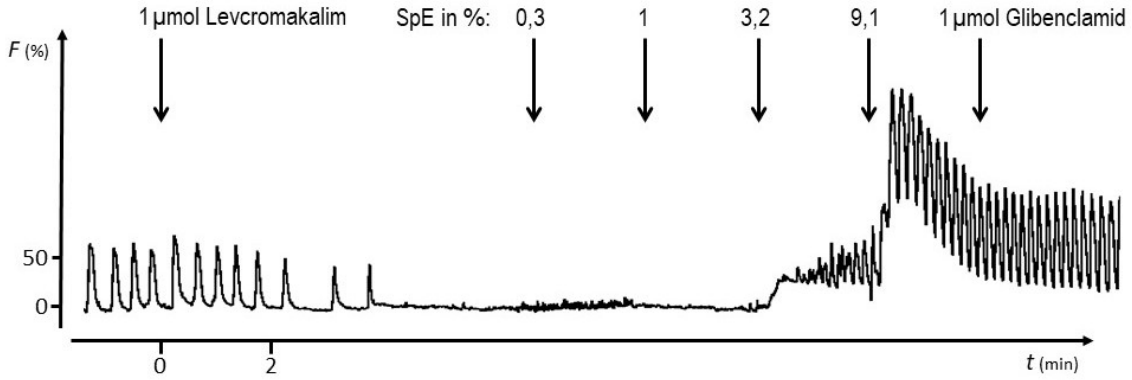

Abbildung 19 *Wirkung von Spargelextrakt auf ein mit Levcromakalim inhibiertes Magenantrumpräparat mit anschließender Zugabe von Glibenclamid*

Zunächst ist nach der Zugabe von Levcromakalim eine Abnahme der Spontanaktivität zu beobachten. Dann wird mit der kontinuierlichen Aufdosierung mit Spargelextrakt begonnen. In diesem Beispiel kann bei den beiden geringeren Konzentrationen noch keine Veränderung im Kontraktionsverhalten des Magenantrumpräparats beobachtet werden. Bei einer Konzentration des Spargelextrakts von 3,2 % können sowohl ein Anstieg des Tonus als auch eine Rückkehr der Spontanaktivität mit erhöhter Frequenz verzeichnet werden. Eine weitere Erhöhung der Konzentration des Spargelextrakts im Organbad auf 9,1 % führt zu einem weiteren Tonusanstieg, der im Verlauf wieder abfällt. Außerdem kommt es zu einer Amplitudenzunahme bei gleichbleibend höherer Frequenz im Vergleich zur Ruhefrequenz vor Zugabe von Levcromakalim. Es ist zu sehen, dass nach der Zugabe von Glibenclamid keine weitere Normalisierung der Spontanaktivität im Vergleich zu 9,1 % Spargelextraktkonzentration zu beobachten ist. Glibenclamid hat keine weitere erkennbare Wirkung auf das Magenantrumpräparat.

5 Diskussion

5.1 Wirkung von Spargelextrakt am glatten Muskel

Die in 4.1 beschriebene Wirkung von Spargelextrakt auf die Organpräparate von Aorta, Portalvene und Magenantrum lässt sich als dosisabhängig und überwiegend exzitatorisch charakterisieren.

Die Wirkung verschiedener Kanalöffner und -blocker auf das Kontraktionsverhalten und den Elektrolythaushalt in der glatten Muskelzelle wurde in der Forschung bereits eingehend untersucht. Die jetzt unter Spargelextrakteinfluss beobachtete Tonussteigerung in Verbindung mit einer Frequenzsteigerung legt ebenfalls eine Wirkung desselben auf den Elektrolythaushalt der glatten Muskelzellen nahe.

Durch die dosisabhängige Amplitudenabnahme an der Portalvene lässt sich eine inhibitorische Komponente des Spargelextrakts nicht endgültig ausschließen.

Bei Spargel als Phytotherapeutikum und der erwiesenen Wirksamkeit in mehreren Organsystemen ist von einer multifaktoriellen Wirkungsweise des Spargelextrakts auch am Gefäßmuskel auszugehen.

5.2 Wirkung von Spargelextrakt bei blockiertem L-Typ Calciumkanal

Wie eingangs bereits beschrieben, wird die Kontraktion des glatten Muskels ausgelöst durch eine Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels. Die Calciumionen für diese Kontraktion können sowohl aus dem Extrazellularraum stammen als auch aus intrazellulären Speichern, genauer dem Sarkoplasmatischen Retikulum. Die L-Typ Calciumkanäle sind im glatten Muskel maßgeblich an der Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels beteiligt.

Nifedipin wirkt über eine Blockade des L-Typ Calciumkanals. L-Typ Calciumkanäle gehören zu den spannungsabhängigen Calciumkanälen und öffnen bei Depolarisation der Zelle. In glatten Muskelzellen ist hauptsächlich der Einstrom von extrazellulärem Calcium für die Kontraktion verantwortlich. Der L-Typ Calciumkanal nimmt hier also eine entscheidende Rolle ein.

Als Calciumantagonist der ersten Generation ist die Wirkung von Nifedipin auf die glatte Gefäßmuskulatur über L-Typ Calciumkanäle bereits seit langem bekannt und nachgewiesen (32). Aufgrund der vasodilatativen Effekte auf die Gefäßmuskulatur ist Nifedipin medikamentös für die Therapie der Hypertonie und eine Entlastung des Herzmuskels geeignet. Aktuell wird es zur Behandlung des hypertensiven Notfalls bei Angina pectoris und dem Raynaud Syndrom verwendet.

Nifedipin soll durch eine selektive Blockade des L-Typ Calciumkanals eine Wirkung des Spargelextrakts rein über die dem Extrakt vermutlich eigene Ionenkonzentration ausschließen und so Rückschlüsse auf die dem Spargel eigenen pflanzlichen Wirkstoffe ermöglichen.

Eine Veränderung im Kontraktionsverhalten der glatten Muskulatur unter Einfluss von Nifedipin und Spargelextrakt würde sowohl eine Wirkung von Spargelextrakt außerhalb der dem Spargel eigenen Ionen beweisen als auch eine Wirkung des Spargels auf den intrazellulären Calciumhaushalt der glatten Muskulatur nahelegen.

Durch das Nifedipin bleibt der Ca^{2+}-Einstrom in die glatten Muskelzellen aus, wodurch die periodischen Kontraktionen der Organpräparate gehemmt werden und die Spontanaktivität zurückgeht.

Spargelextrakt zeigt auch an mit Nifedipin vorbehandelten Organpräparaten eine exzitatorische Wirkung. Diese fällt allerdings Schwächer aus und ist erst bei höherer Spargelextraktkonzentration gut zu beobachten. Während bei den Präparaten der Portalvene und des Magenantrums in der Regel bereits bei 3,2 % Spargelextrakt in Lösung ein tonussteigernder Effekt beobachtet werden kann, ist dieser an den Präparaten der Aorta erst sicher bei der höchsten Spargelextraktkonzentration nachweisbar.

Die Zugabe des Spargelextrakts zeigt bei durch Nifedipin gehemmten Präparaten nur eine tonussteigernde Wirkung. Die durch das Nifedipin gehemmte Spontanaktivität bleibt durch die Zugabe des Spargelextrakts unbeeinflusst, so dass die frequenz- und amplitudensteigernden Effekte des Spargelextrakts in dieser Versuchsreihe nicht mehr zu beobachten sind. Außerdem fällt die Tonussteigerung im prozentualen Vergleich kleiner aus, als die an den Versuchstagen entsprechenden Versuche nur mit Spargelextrakt. Innerhalb des Zwei-Minuten-Turnus zeigt sich nach jeder Tonuszunahme ein erneuter Tonusrückgang.

Verantwortlich für die beobachtbare Tonussteigerung ist eine Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration, deren genaue Herkunft in dieser Arbeit nicht weiter erforscht wird. Als Ursache kann die erneute Öffnung der durch Nifedipin blockierten Calciumkanäle wegen des Ausbleibens der Spontanaktivität ausgeschlossen werden. Auch eine Blockade der für den Calciumausstrom verantwortlichen Kanäle wegen des zunächst ansteigenden und dann wieder absinkenden Muskeltonus kommt als Ursache für die Tonuszunahme eher nicht in Frage. Hier wäre bei einer Calciumretention ein Plateau zu erwarten.

Eine mögliche Ursache für die tonussteigernde Wirkung des Spargelextrakts könnte mit einer Aktivierung der Phospholipase C zusammenhängen, die Ca^{2+} aus den intrazellulären Speichern freisetzt. Die Wiederaufnahme des Ca^{2+} in die intrazellulären Speicher würde dann auch den Tonusrückgang nach der anfänglichen Tonussteigerung erklären.

5.3 Wirkung von Spargelextrakt bei geöffnetem K_{ATP}-Kanal

Der Kaliumkanalöffner Levcromakalim ist bereits seit langem in der medizinischen Forschung als Wirkstoff bekannt. An den Zellen der glatten Muskulatur führt die Kaliumkanalöffnung zu einer Veränderung der spontanen Erregbarkeit, zu einer Amplitudenabnahme der Spontanaktivität bis hin zum vollständigen Ausbleiben der Amplitude (33) sowie einer Vasodilatation (31).

Diese Effekte resultieren aus der durch die Kaliumkanalöffnung herbeigeführten Hyperpolarisation der glatten Muskelzellen und somit einem weiter vom Schwellenpotential entfernt liegenden Membranpotential.

Die Zugabe von Spargelextrakt bewirkt an den Portalvenenpräparaten zuverlässig schon ab einer 3,2%igen Konzentration eine Rückkehr der Spontanaktivität. Zusätzlich lässt sich hier eine Tonussteigerung sowie eine Frequenzsteigerung beobachten.

Die Rückkehr der Spontanaktivität spricht für eine stattfindende Depolarisation, die ein erneutes Erreichen des Schwellenpotentials und so die Ausbildung eines Aktionspotentials sowie die darauffolgende Muskelkontraktion ermöglicht.

Es konnte in der Versuchsreihe gezeigt werden, dass Spargelextrakt nicht nur eine Auswirkung auf den intrazellulären Ca^{2+}-Spiegel, sondern auch eine Auswirkung auf

die Polarisierbarkeit der glatten Muskelzellen hat. Wenn Spargelextrakt nur den intrazellulären Ca^{2+}-Spiegel beeinflussen würde, könnte dadurch nur der Tonusanstieg erklärt werden. Da durch die Zugabe des Spargelextrakts aber auch eine Rückkehr der Spontanaktivität ausgelöst wird, muss Spargelextrakt noch weitere Effekte an den Zellen des glatten Muskels haben.

Spargelextrakt muss also gegenüber Levcromakalim eine antagonistische Wirkungskomponente besitzen, die zu einer Repolarisation der Muskelzellmembranen führt. Eine Blockade des durch Levcromakalim herbeigeführten Kaliumausstroms ist wahrscheinlich.

5.4 Wirkung von Glibenclamid bei durch Levcromakalim geöffneten Kaliumkanälen und durch Spargelextrakt voraktivierter glatter Muskulatur

Glibenclamid und Levcromakalim wirken antagonistisch am K_{ATP}-Kanal (30). Während Levcromakalim K_{ATP}-Kanäle öffnet und so die Membranen hyperpolarisiert, sorgt Glibenclamid für eine Blockade eben dieser K_{ATP}-Kanäle und repolarisiert die Zellmembranen wieder.

Auf die untersuchten Organpräparate, bei denen erst ein Ausbleiben der Spontanaktivität durch Levcromakalim, später dann eine Rückkehr der Erregung und periodischen Kontraktion durch Spargelextrakt beobachtet werden kann, wird anschließend Glibenclamid gegeben.

Frühere Forschungen haben bereits gezeigt, dass sich die Wirkung von Levcromakalim durch Glibenclamid komplett antagonisieren lässt (30). Abhängig von der Wirkung, die Glibenclamid auf durch Levcromakalim und Spargelextrakt vorbehandelte Organpräparate entfaltet, lassen sich also Rückschlüsse auf mögliche Wirkungsorte von Spargelextrakt bei der Repolarisation ziehen.

Nachdem im Organbad zunächst die Spontanaktivität der Präparate durch 1 µmol Levcromakalim zurückgeht und bei der Zugabe von Spargelextrakt eine Rückkehr dieser beobachtet wird, ergibt die folgende Zugabe von 1 µmol Glibenclamid keine weiteren Veränderungen an der Aktivität des glatten Muskels. Dies zeigt, dass eine 9,1%ige Konzentration des Spargelextrakts im Organbad die Wirkung von Levcromakalim bereits soweit antagonisiert, dass Glibenclamid keine weitere Wirksamkeit auf die Fähig-

keit der glatten Muskulatur zur Kontraktion hat. Ein Angriffspunkt des Wirkstoffgemischs „Spargelextrakt“ ist also eine Blockade des K_{ATP}-Kanals, die der blockierenden Wirkung durch Glibenclamid in nichts nachsteht.

Diese Interaktion am K_{ATP}-Kanal besitzt eine besondere Relevanz, da dieser Kanal maßgeblich an der Insulinfreisetzung aus den Beta-Zellen des Pankreas verantwortlich ist (34) (35) (36) (37). Bei dem auf die Nahrungsaufnahme folgenden Blutzuckeranstieg steht den Beta-Zellen vermehrt Glucose zur Verfügung, die zur Energiegewinnung in der Zelle verwendet wird. Durch den relativen Anstieg von ATP im Verhältnis zu ADP kommt es zu einer vermehrten Blockade der K_{ATP}-Kanäle, was im Verlauf zu einer Depolarisation der Zelle führt. Diese Depolarisation sorgt für einen Anstieg des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels durch Aktivierung spannungsabhängiger Ca^{2+}-Kanäle. Die erhöhte intrazelluläre Ca^{2+}-Konzentration sorgt für eine Freisetzung der mit Insulin beladenen Vesikel über Exozytose. Über diesen Mechanismus kann ein direkter Zusammenhang zwischen geöffneten und geschlossenen K_{ATP}-Kanälen sowie der daraus resultierenden Ausschüttung von Insulin abgeleitet werden (37).

Die Wirkung von Glibenclamid nutzt man bei der pharmakologischen Therapie von Diabetikern des Typs 2. Glibenclamid lässt sich der Wirkstoffgruppe der Sulfonylharnstoffe zuordnen (38). Diese binden an den Sulfonylharnstoffrezeptor (SUR1), der als eine Untereinheit des K_{ATP}-Kanals fungiert, und sorgen so für eine Blockade dieses Kanals (39). K_{ATP}-Kanäle kommen nicht nur an den Betazellen des Pankreas vor, sondern an vielen verschiedenen Organen des menschlichen Körpers, wie z. B. dem Herzen oder den Zellen der glatten Muskulatur (39). Die Sulfonylharnstoffrezeptor-Untereinheit der K_{ATP}-Kanäle unterscheidet sich jeweils an den genannten Orten. Sie weisen u. a. unterschiedliche Affinitäten zu den Sulfonylharnstoffen auf. So bindet das in diesen Versuchen verwendete Glibenclamid mit vergleichbarer Affinität an die Sulfonylharnstoffrezeptoren des Pankreas (SUR1), des Herzens (SUR2A) und der glatten Muskulatur (SUR2B), während andere Sulfonylharnstoffe wie Gliclazid und Tolbutamid die höchste Affinität zu SUR1 besitzen und nur geringere Affinität zu SUR2A und SUR2B haben. Deshalb blockieren sie, im Unterschied zu Glibenclamid, die K_{ATP}-Kanäle des Herzens und der glatten Muskeln nicht (39).

Dass Spargelextrakt ebenfalls zu einer Rückkehr der Spontanaktivität am glatten Muskel führt, zeigt, dass es eine den K_{ATP}-Kanal blockierende Komponente enthält. Diese Erkenntnis in Zusammenhang mit dem Wissen, dass Studien bereits einen Effekt von Asparagus racemosus auf die Insulinfreisetzung (40) nachgewiesen haben und Aspa-

ragus officinalis eine den „Fasting blood sugar“ senkende Wirkung besitzt (6), legt eine Wirkung des Spargelextrakts direkt an diesem K_{ATP}-Kanal nahe. Die Wirkung von Spargelextrakt auf K_{ATP}-Kanäle im glatten Muskel lässt auf Grundlage dieser zwei anderen Studien den Schluss zu, dass eine Wirkung von Spargelextrakt auf die Insulinsekretion aus Beta-Zellen des Pankreas existiert, und liefert so einen Erklärungsansatz für die Ergebnisse der oben genannten Studien.

Dieser Zusammenhang bietet außerdem Ansatzpunkte für weitere Forschung. Zum einen könnte es interessant sein, den für die Blockade des K_{ATP}-Kanals verantwortlichen Wirkstoff aus dem Spargelextrakt zu identifizieren und zu isolieren. Zum anderen könnte sich auch eine weitere klinische Studie zur Erforschung der therapeutischen Möglichkeiten von Diabetes mellitus Typ 2 mit aus Asparagus officinalis gewonnenem Extrakt anbieten. Spargelextrakt könnte so zu einem für diese Diagnose zugelassenen rationalen Phytopharmakon etabliert werden.

Bemerkenswert sind auch die unterschiedlich stark ausgeprägten Reaktionen der unterschiedlichen Organpräparate auf das Spargelextrakt. An der Aorta sind nur geringfügige Effekte zu beobachten. Das Portalvenenpräparat und das Präparat der Längsmuskulatur des Magenantrums hingegen zeigen eine starke Reaktion auf die Zugabe von Spargelextrakt, wobei das Magenantrumpräparat deutlich heftiger reagiert. Hierfür kommen verschiedene Ursachen in Frage. In diesem Zusammenhang sind die eingangs genannten Unterschiede der Muskelpräparate zu berücksichtigen, die sich hinsichtlich ihrer Kommunikation und elektrischen Kopplung der Zellverbände untereinander, ihres Kontraktionsverhaltens sowie der Dichte ihrer vegetativen Innervation unterscheiden.

Cajal-Zellen könnten ebenfalls eine Rolle bei der Wirkung des Spargelextrakts spielen, da durch das Spargelextrakt nicht nur eine Tonussteigerung an der glatten Muskulatur bewirkt wird, sondern auch eine Frequenzsteigerung zu beobachten ist. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass Wirkstoffe aus dem Spargelextrakt zusätzlich zu ihrer direkten Wirkung auf den glatten Muskel auch eine Wirkung auf die Schrittmacherzellen der entsprechenden Präparate ausüben.

5.5 Überblick der Hauptdiskussionspunkte

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Spargelextrakt eine exzitatorische Wirkung auf die glatte Muskulatur besitzt. Bereits in sehr geringen Konzentrationen von nur 0,3 % Spargelextrakt, konnte eine Wirkung auf die glatte Muskulatur beobachtet

werden. Außerdem konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen steigender Konzentration des Spargelextrakts und der Wirkung auf die glatte Muskulatur gezeigt werden.

Durch die Tonussteigerung in den Präparaten, bei denen zuvor die L-Typ Calciumkanäle mit Nifedipin blockiert wurden, konnte ein Einfluss des Spargelextrakts auf die Entleerung von intrazellulären Calciumspeichern gezeigt werden. Außerdem zeigt die Rückkehr der Spontanaktivität unter Einfluss des Kaliumkanalöffners Levcromakalim, die nicht weiter durch eine anschließende Gabe von Glibenclamid beeinflusst wird, dass Spargelextrakt eine direkte Wirkung am K_{ATP}-Kanal besitzen muss.

Das Spargelextrakt aus den Versuchen enthielt etwa 300 mg Spargel auf 1 ml des Extrakts. Wenn man eine Menge von 6 l Blut und einen Übergang der Wirkstoffe ohne Verlust voraussetzt, könnte also bereits eine Spargelmenge von knapp 60 g einen vergleichbaren Effekt auf die glatten Muskeln der Gefäße im menschlichen Körper haben. Eine Gemüsebeilage von Spargel hätte also bereits eine messbare physiologische Wirkung im menschlichen Körper.

6 Zusammenfassung

Spargel findet schon seit Jahrhunderten Anwendung als Heilpflanze. Ursprünglich vom eurasischen und afrikanischen Kontinent stammend wurde die Wildpflanze als Medikament verwendet. Später wurde Spargel als „König der Gemüse“ eine Kulturpflanze, die hauptsächlich den Reichen als Genussmittel zur Verfügung stand. Heute ist China mit Abstand der größte Spargelproduzent. Besonders in diesem sehr von traditioneller Medizin geprägten Land wächst das Interesse an der Erforschung der nachweisbaren medizinischen Wirkungen dieser Pflanze. Aber auch überall sonst auf der Welt, wo Spargel vor allem als Gemüse beliebt ist, wächst das wissenschaftliche Interesse am Spargel.

Verschiedene dem Spargel historisch zugeschriebene Wirkungen sind bereits erforscht und verifiziert oder falsifiziert worden. In dieser Arbeit sollte die Wirkung von Spargelextrakt am glatten Muskel untersucht werden. Die historisch beschriebene potenzsteigernde Wirkung, die bereits belegten den Blutdruck senkenden Eigenschaften sowie die multifaktorielle Wirkungsweise an verschiedenen Organsystemen des Körpers lassen eine Wirkung von Spargelextrakt auf die glatte Muskulatur wahrscheinlich erscheinen.

Das für die Untersuchungen benötigte Pflanzenextrakt wurde in Anlehnung an die klassische Spargelzubereitung zum Verzehr selbst hergestellt.

Im Organbadversuch kann an Organpräparaten der Aorta, der Portalvene und des Magenantrums von Ratten eine Wirkung von Spargelextrakt gezeigt werden. Hierzu wird Spargelextrakt in regelmäßigen Abständen und ansteigender Menge ins Organbad appliziert und die entsprechende Wirkung mit einem Kraftmesser kontinuierlich aufgezeichnet. Spargelextrakt wirkt an Portalvene und Magenantrum dosisabhängig sowohl tonus- und frequenzsteigernd, am Magenantrum zusätzlich amplitudensteigernd. Am deutlichsten ist der Effekt der Tonussteigerung durch Spargelextrakt an den Präparaten des Magenantrums. Am geringsten ist die Auswirkung auf den Aortentonus. Für die geringeren Konzentrationen des Spargelextrakts in Lösung kann häufig nur ein geringer Effekt, manchmal sogar gar kein Effekt, beobachtet werden. Bei den zwei höheren Konzentrationsstufen ist jedoch konstant an allen Organpräparaten ein deutlicher exzitatorischer Effekt nachweisbar.

Bei den Versuchen zur Erforschung möglicher Wirkungsmechanismen des Spargelextrakts am glatten Muskel konnte unter Nifedipineinfluss ein Effekt von Spargelextrakt auf den Muskeltonus trotz Blockade der spannungsabhängigen L-Typ Calciumkanäle gezeigt werden. Hier wird, nachdem durch Nifedipin ein Verlust der Spontanaktivität an den entsprechenden Organen erfolgt ist, wieder Spargelextrakt in denselben vier Schritten ins Organbad appliziert. Bei der höchsten Konzentration des Spargelextrakts in Lösung kann eine erneute Kontraktion vor allem an den Präparaten der Portalvene und des Magenantrums ohne Rückkehr der Spontanaktivität beobachtet werden. Diese Beobachtung spricht für eine Freisetzung von Speichercalcium durch im Spargelextrakt enthaltene phytochemische Wirkstoffe in der glatten Muskulatur.

Unter Einfluss des Kaliumkanalöffners Levcromakalim kann eine erneute Blockade des Kaliumausstroms durch Spargelextrakt beobachtet werden. Nachdem durch Levcromakalim ähnlich wie durch Nifedipin ein Ausbleiben der Spontanaktivität beobachtet wird, kann durch die Konzentrationserhöhung des Spargelextrakts im Organbad eine Rückkehr der Spontanaktivität beobachtet werden. Diese Wirkung von Spargel auf die glatte Muskulatur gleicht dem antagonisierenden Effekt, den Glibenclamid auf von Levcromakalim beeinflusste glatte Muskeln hat.

Eine direkte Wirkung von Spargelextrakt an dem durch Levcromakalim und Glibenclamid beeinflussbaren K_{ATP}-Kanal liegt nahe. Diese Wirkung von Spargel könnte einen Erklärungsansatz für die bereits durch Spargel beobachtete Wirkung auf den Zuckerhaushalt liefern, da der K_{ATP}-Kanal an den β-Zellen des Pankreas an der Insulinausschüttung beteiligt ist.

Insgesamt wirkt Spargel also nicht nur multifaktoriell an verschiedenen Organsystemen, sondern zeigt auch gleich mehrere Wirkungen direkt am glatten Muskel. Generell bietet die Spargelpflanze sowohl in ihrer Reinform als auch in ihren verschiedenen isolierbaren Bestandteilen vielfältige pharmakologische Optionen.

7 Literaturverzeichnis

1. **van Wyk, B.-E., Wink, C., Wink, M.** *Handbuch der Arzneipflanzen.* 3. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart 2015.

2. **Butlan, Abdul ibn.** [Übers.] Franz Unterkircher (Graz 2004). *Tacuinum sanitatis in medicina.* 13. Jh. S. 66.

3. **Bock, H.** *New Kreütter Buch : von Underscheydt, Würckung und Namen der Kreütter so in teütschen Landen wachsen ; auch der selbigen eygentlichem und wolgegründtem Gebrauch in der Artznei, zu behalten und zu fürdern Leibs Gesuntheyt fast nutz und tröstlichen, vorab gemeynem Verstand.* 1539. Regensburg Staatsliche Bibliothek. http://mdz-nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bvb:12-bsb11069345-9.

4. **Guo, Q., Wang, N., Liu, H., Li, Z., Lu, L., Wang, C.** *The bioactive compounds and biological functions of Asparagus officinalis L. - A review.* Journal of Functional Foods 2020. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103727.

5. **Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M. J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., Watzl, B.** *Gemüse und Obst in der Prävention ausgewählter chronischer Krankheiten.* Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. 2012.

6. **Nishimura, M., Ohkawara, T., Kagami-Katsuyama, H., Sato, H., Nishihira, J.** *Improvement of blood pressure, glucose metabolism, and lipid profile by the intake of powdered asparagus (蘆筍 Lú Sǔn) bottom-stems and cladophylls.* Journal of Traditional and Complementary Medicin 2013. https://doi.org/10.4103/2225-4110.119728.

7. **Bansode, F. W., Arya, K. R., Singh, R. K., Narender, T.** *Dose-dependent effects of Asparagus adscendens root (AARR) extract on the anabolic, reproductive and sexual behavioral activity in rats.* Biology Pharmaceutical 2014. https://doi.org/10.3109/13880209.2014.913295.

8. **Wang, B. S., Chang, L. W., Wu, H. C., Huang, S. L., Chu, H. L., Huang, M. H.** *Antioxidant and antityrosinase activity of aqueous extracts of green asparagus.* Food Chemistry 2012. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.102.

9. **Wang, N., Zhang, X., Wang, S., Guo, Q., Li, Z., Liu, H., Wang, C.** *Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin.* Carbohydrate Polymers 2020. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115314.

10. **WCSP.** *'World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet.* http://wcsp.science.kew.org/, 2022. Retrieved Mai 1.

11. **Jiménez-Sánchez, C., Lozano-Sánchez, J., Rodríguez-Pérez, C., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A.** *Comprehensive, untargeted, and qualitative RP-HPLC-ESI-QTOF/MS2 metabolite profiling of green asparagus (Asparagus officinalis).* Journal of Food Composition and Analysis 2016. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.11.004.

12. **Shao, Y., Chin, C.-K., Ho, C.-T., Ma, W., Garrison, S. A., Huang, M.-T.** *Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from asparagus.* Cancer Letters 1996. https://doi.org/10.1016/0304-3835(96)04233-4.

13. **Sander, K.** *A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract.* Gastroenterology 1996. https://doi.org/10.1053/gast.1996.v111.pm8690216.

14. **Tomita, T., Brading, A. F., Jones, A. W.** *Smooth Muscle: An Assessment of Current Knowledge.* Edward Arnold 1981.

15. **Hirst, G., Ward, S.** *Interstitial cells: involvement in rhythmicity and neural control of gut smooth muscle.* The Journal of Physiology 2003. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.043299.

16. **Koh, S. D., Kim, T. W.,Jun, J. Y.,Glasgow, N. J.,Ward, S. M., Sanders, K. M.** *Regulation of pacemaker currents in interstitial cells of Cajal from murine small intestine by cyclic nucletides.* Journal of Physiology 2000. https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00149.x.

17. **Kim, T. W., Beckett, E. A., Hanna, R., Koh, S. D., Ordog, T., Ward, S. M., Sanders, K. M.** *Regulation of pacemaker frequency in the murine gastric antrum.* Journal of Physiology 2002. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.012765.

18. **Webb, R. C.** *Smooth muscle contraction and relaxation.* Advances in Physiology Education 2003. https://doi.org/10.1152/advan.00025.2003.

19. **Thuneberg, L.** *Interstitial cells of Cajal: intestinal pacemaker cells?* Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology 1982. PMID: 7090872.

20. **Pucovsky, V., Moss, R., Bolton, T.** *Non-contractile cells with thin processes resembling interstitial cells of Cajal found in the wall of guinea-pig mesenteric arteries.* The Journal of Physiology 2003. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.046243.

21. **Povstyan, O., Gordienko, D., Harhun, M., Bolton, T.** *Identification of interstitial cells of Cajal in the rabbit portal vein.* Cell Calcium 2003. https://doi.org/10.1016/S0143-4160(02)00197-5.

22. **Johansson, B., Ljung, B.** *Spread of excitation in the smooth muscle of the rat portal vein.* Acta Physiologica Scandinavica 1967. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1967.tb03631.x.

23. **Tomita, T., Watanabe, H.** *Factors controlling myogenic activity in smooth muscle.* Philosophical Transactions of the Royal Society Series B: Biological Sciences 1973. https://doi.org/10.1098/rstb.1973.0010.

24. **Cajal, S. R.** *Nuevas aplicaciones del metodo de coloracion de Golgi.* Gaceta Medica Catalana 1889.

25. **Furchgott, R. F., Zawadski, J. V.** *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.* Nature 1980. https://doi.org/10.1038/288373a0.

26. **Bassenge, E., Busse, R.** *Endothelial modulation of coroary tone.* Progress in Cardiovascular Diseases 1988. https://doi.org/10.1016/0033-0620(88)90003-5.

27. **Patejdl, R., Gromann, A., Bänsch, D., Noack, T.** *Effects of ajmaline on contraction patterns of isolated rat gastric antrum and portal vein smooth muscle strips and on neurogenic relaxations of gastric fundus.* Pflugers Arch. 2019. https://doi.org/10.1007/s00424-019-02279-y.

28. **Höppner, C. K., Stief, C. G., Jonas, U., Mandrek, K., Noack, T., Golenhofen, K.** *Electrical and chemical control of smooth muscle activity of rabbit corpus cavernosum in vitro .* Urology 1996. https://doi.org/10.1016/S0090-4295(96)00218-X .

29. **Godfraind, T.** *Discovery and Development of Calcium Channel Blockers.* Front. Pharmacol. 2017. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00286.

30. **Zhang, S. H., Xia, Y. Q., Zhu, Q.** *Study on nutrient composition analysis and processing quality improvement of asparagus.* Science and Technology of Food Industry 2002. Abbildung aus Quelle 4, Guo, Q. 2020.

31. **Mellemkjær, S., Nielsen-Kudsk, J. E.** *Effects of levcromakalim and glibenclamide on paced guinea-pig atrial strips exposed to hypoxia.* European Journal of Pharmacology 1995. https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00061-O.

32. **Standen, N. B., Quayle, J. M., Davies, N. W., Brayden, J. E., Huang, Y., Nelson, M. T.** *Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K+ channels in arterial smooth muscle.* Science 1989. https://doi.org/10.1126/science.2501869.

33. **Daut, J., Klieber, H. G., Cyrys, S., Noack, T.** *KATP channels and basal coronary vascular tone .* Cardiovasc Res. 1994. https://doi.org/10.1093/cvr/28.6.811 .

34. **Fleckenstein, A., Frey, M., Fleckenstein-Grün, G.** *Antihypertensive and arterial anticalcinotic effects of calcium antagonists.* Am J Cardiol 1986. https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90798-8.

35. **Noack, T., Deitmer, P., Edwards, G., Weston, A. H.** *Characterization of potassium currents modulated by BRL 38227 in rat portal vein .* Br J Pharmacol. 1992. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb14400.x .

36. **Henquin, J. C.** *Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose.* Diabetes 2000. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.11.1751.

37. **Rorsman, P.** *The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint.* Diabetologia 1997. https://doi.org/10.1007/s001250050706.

38. **Wollheim, C.** *Beta-cell mitochondria in the regulation of insulin secretion: a new culprit in Type II diabetes.* Diabetologia 2000. 43. https://doi.org/10.1007/s001250050044.

39. **Schwanstecher, C., Schwanstecher, M.** *Nucleotide sensitivity of pancreatic ATP-sensitive potassium channels and type 2 diabetes.* Diabetes 2002. https://doi.org/10.2337/diabetes.51.2007.s358.

40. **Editorial, Adis.** *Glibenclamid: A Review.* Drugs 1971. https://doi.org/10.2165/00003495-197101020-00002.

41. **Ashcroft, F. M., Gribble, F. M.** *Tissue-specific effects of sulfonylureas: lessons from studies of cloned K(ATP) channels.* Journal of diabetes and its complications 2000. https://doi.org/10.1016/S1056-8727(00)00081-7 .

42. **Hannan, J. M. A., Marenah, L., Ali, L., Rokeya, B., Flatt, P. R., Abdel-Wahab, Y. H.** *Insulin secretory actions of extracts of Asparagus recemosus root in perfused pancreas, isolated islets and clonal pancreatic beta-cells.* Journal of Endocrinology 2007. https://doi.org/10.1677/joe.1.07084.

43. **Ashcroft F. M., Rorsman P.** *Electrophysiology of the pancreatic beta-cell.* Progress in Biophysics and Molecular Biology 1989. https://doi.org/10.1016/0079-6107(89)90013-8.

44. **Sanders, K. M.** *Spontaneous Electrical Activity and Rhythmicity in Gastrointestinal Smooth Muscles.* Advances in experimental medicin and biology 2019. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5895-1_1.

45. **Golenhofen, K.** *Die myogene Basis der glattmuskulären Motorik.* Klinische Wochenschrift 1978. https://doi.org/10.1007/BF01477827 .

46. **Lüllman-Rauch, R.** *Taschenlehrbuch Histologie.* 5. Auflage. Thieme 2015.

47. **Pape, H.-P., Kurtz, A., Silbernagel, S.** *Physiologie.* 7. Auflage. Thieme 2014.

8 Anlagen

8.1 Veröffentlichungen

Posterpräsentationen

Looks, S., Patejdl, R., Noack, T. *Die in vitro Wirkung von Spargelextrakt (Asparagus officinalis) auf die Gefäßmuskulatur.* Hypertonietagung 2018 in Rostock

Looks, S., Patejdl, R., Noack, T. *Ein Update zu: Die in vitro Wirkung von Spargelextrakt (Asparagus officinalis) auf die Gefäßmuskulatur.* Hypertonietagung 2020 in Rostock

8.2 Lebenslauf

Daten zur Person

Name:	Simon Johannes Looks
Anschrift:	Ludwig-Nissen-Str. 77, 25813 Husum
Geburtsdatum:	08.05.1996
Geburtsort:	Kiel

Ausbildung:

2002 - 2006	Grundschule Risum
2006 - 2015	Friedrich-Paulsen-Schule Niebüll Abschluss mit Allgemeiner Hochschulreife
2015 - 2018	Studium der Humanmedizin, Universität Rostock Abschluss der ersten ärztlichen Prüfung
2018 - 2021	Studium der Humanmedizin, Universität Rostock Abschluss der zweiten ärztlichen Prüfung

Dissertation:

2018 - 2022	Experimentelle Untersuchungen am Institut für Physiologie der Universität Rostock, Lehrstuhl für Physiologie, Arbeitsgruppe vegetative Physiologie unter der Leitung von Professor Dr. Thomas Noack

8.3 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Rostock _____ _____

(Abgabedatum) (Vollständige Unterschrift)

8.4 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Thomas Noack für seine ausgezeichnete Betreuung und Geduld bei der Durchführung und Umsetzung der gesamten Arbeit sowie Dr. Robert Patejdl für seine praktische Unterstützung.

Meinen Eltern und meiner Schwester möchte ich danken für ihre Zusprüche während der ganzen Zeit.

Außerdem gilt mein Dank meiner Frau, die mich immer wieder mit lieben Worten ermutigt hat.

9 Thesen

1. Der Gemüsespargel Asparagus officinalis gehört als Heilpflanze zu den traditionellen Phytopharmaka. Die Inhaltsstoffe der Spargelpflanze besitzen multifaktorielle Wirkungen in verschiedenen Organsystemen.

2. Aorta, Portalvene und Magenantrum stehen repräsentativ für verschiedene funktionelle Strukturunterschiede in der glatten Muskulatur und ermöglichen so eine Aussage über die allgemeine Wirksamkeit von Spargelextrakt auf glatte Muskelzellen.

3. Das Organbad ist eine geeignete Methode zur Messung der Kontraktionsabläufe der verschiedenen Muskelgruppen und eröffnet eine Reihe von experimentellen Möglichkeiten.

4. Aus frischem Spargel hergestelltes Spargelextrakt hat eine exzitatorische Wirkung auf alle verwendeten Organpräparate.
Diese äußert sich in einer Tonussteigerung an allen drei Präparaten sowie zusätzlich einer Frequenzsteigerung an den spontanaktiven Präparaten und einer Amplitudensteigerung am Magenantrum. Die durch Spargelextrakt herbeigeführte Tonussteigerung ist nicht an allen Organpräparaten gleich stark. Den größten Effekt hat Spargelextrakt auf das Magenantrum. Die Reaktion der Portalvene ist schwächer ausgeprägt. Die geringste messbare Tonusveränderung zeigt sich an den Präparaten der Aorta.

5. Die Wirkung von Spargelextrakt auf glatte Muskulatur ist dosisabhängig.

6. Im Spargelextrakt enthaltene physiologisch wirksame Substanzen beeinflussen den intrazellulären Calciumspiegel in Zellen der glatten Muskulatur.
Nifedipin ist ein an der glatten Muskulatur wirksamer L-Typ Calciumkanalblocker. Die Blockade der L-Typ Calciumkanäle führt zu einer Abnahme der Spontanaktivität. Spargelextrakt sorgt trotz blockierter Kanäle für eine Tonussteigerung an allen Versuchsorgangen. Dieser Umstand beweist, dass die Tonussteigerung nicht auf den hohen Calciumgehalt des Spargels, sondern eine andere Komponente zurückzuführen ist.

7. Spargelextrakt enthält eine den K_{ATP}-Kanal blockierende Komponente, die die Wirkung von Levcromakalim antagonisiert.
Levcromakalim und Glibenclamid sind zwei antagonistisch am K_{ATP}-Kanal wirksame Pharmazeutika. Eine Öffnung des K_{ATP}-Kanals durch Levcromakalim führt zu einer Ab-

nahme der Spontanaktivität. Spargelextrakt sorgt an mit Levcromakalim vorbehandelten Organpräparaten nicht nur für eine Tonussteigerung, sondern auch für eine Rückkehr der Spontanaktivität an den dazu fähigen Organen. Die Zugabe von Glibenclamid hat keinen weiteren Einfluss.

8. Eine Blockade des K_{ATP}-Kanals durch Spargelextrakt liefert eine Erklärung für die in anderen Forschungen nachgewiesene den Blutzucker senkende Wirkung des Spargels.
K_{ATP}-Kanäle spielen eine entscheidende Rolle in verschiedenen Organsystemen. Glibenclamid findet Anwendung in der Behandlung von Typ 2 Diabetes mellitus und sorgt über seine Blockade am K_{ATP}-Kanal für eine Insulinfreisetzung aus den Beta-Zellen des Pankreas.

9. Spargel ist bereits in den bei einer normalen Mahlzeit zu sich genommenen Mengen und in der herkömmlichen Zubereitungsmethode des Kochens relevant physiologisch wirksam.