

AUS DEM OSCAR LANGENDORFF INSTITUT FÜR PHYSIOLOGIE DER
UNIVERSITÄT ROSTOCK

DIREKTOR: PROF. DR. RÜDIGER KÖHLING

**Untersuchung der Wirkung des Moringa oleifera-Extraktes auf den Tonus
der glatten Muskulatur**

**Universität
Rostock**



Traditio et Innovatio

INAUGURALDISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES

„DOKTOR DER MEDIZIN“

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT ROSTOCK

VORGELEGT VON

JOHANNA KRÜGER

AUS DORTMUND

ROSTOCK, 2016

DEKAN: PROF. DR. MED. EMIL REISINGER

1. GUTACHTER: PROF. DR. MED. THOMAS NOACK, OSCAR LANGENDORFF
INSTITUT FÜR PHYSIOLOGIE, UNIVERSITÄT ROSTOCK

2. GUTACHTER: PROF. DR. MED. BRIGITTE VOLLMAR, RUDOLF-ZENKER-
INSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE CHIRURGIE, UNIVERSITÄT
ROSTOCK

3. GUTACHTER: PROF. DR. MED. ANDREAS PATZAK, INSTITUT FÜR
VEGETATIVE PHYSIOLOGIE, CHARITÉ BERLIN

DATUM DER EINREICHUNG: 14. NOVEMBER 2016

DATUM DER VERTEIDIGUNG: 27. SEPTEMBER 2017

Für meine Familie und Freunde

Inhaltsverzeichnis

<u>1.</u>	<u>Einleitung und Fragestellung</u>	<u>1</u>
<u>1.1.</u>	<u>Durchblutungsregulation der Gefäße</u>	<u>1</u>
1.1.1.	Nerval vermittelte Tonusmodulation	3
1.1.2.	Das Endothel	5
1.1.2.1.	Aufbau, Vorkommen und Funktion	5
1.1.2.2.	Endothelabhängige vasoaktive Substanzen	6
1.1.3.	Gewebemetabolite und Hormone	8
1.1.3.1.	Adenosin	8
1.1.3.2.	Histamin	9
1.1.3.3.	Eikosanoide	9
1.1.3.4.	Serotonin	9
1.1.4.	Endothelabhängige Pathogenese verschiedener vaskulärer Krankheitsbilder	11
1.1.4.1.	Hypertonie	11
1.1.4.2.	Arteriosklerose	12
<u>1.2.</u>	<u>Angiogenese</u>	<u>13</u>
1.2.1.	Physiologische Angiogenese	13
1.2.2.	Pathologische Angiogenese	14
<u>1.3.</u>	<u>Moringa oleifera</u>	<u>14</u>
<u>1.4.</u>	<u>Fragestellung</u>	<u>16</u>
<u>2.</u>	<u>Material und Methoden</u>	<u>17</u>
<u>2.1.</u>	<u>Lösungen</u>	<u>17</u>
2.1.1.	Präparierlösung	17
2.1.2.	Krebs-Henseleit-Puffer	17
2.1.3.	Langendorff-Perfusionslösung	18
2.1.4.	Kardioplege Lösung nach Buckberg	18
2.1.5.	Testsubstanzen	19
2.1.5.1.	Moringa-Auszug	19
2.1.5.2.	Weitere Substanzen	19
2.1.5.2.1.	Acetylcholin	19
2.1.5.2.2.	Atropin	19
2.1.5.2.3.	Cimetidin	20

2.1.5.2.4.	Indometacin	20
2.1.5.2.5.	N-Nitro-L-arginine methyl ester	20
2.1.5.2.6.	MRS2179	20
2.1.5.2.7.	Noradrenalin	20
2.1.5.2.8.	ODQ	21
2.1.5.2.9.	Propranolol	21
2.1.5.2.10.	Urapidil	21
<u>2.2.</u>	<u>Material</u>	<u>21</u>
2.2.1.	Geräte	21
<u>2.3.</u>	<u>Präparationen</u>	<u>22</u>
2.3.1.	Präparation der Aorta und des Magenfundus	22
2.3.2.	Herzpräparation	23
<u>2.4.</u>	<u>Versuchsaufbau</u>	<u>23</u>
2.4.1.	Langendorff-Apparatur	23
2.4.1.1.	Kalibrierung des Messgerätes	24
2.4.2.	Organbadexperimente	24
2.4.2.1.	Kalibrierung des Messgerätes	25
<u>2.5.</u>	<u>Versuchsdurchführung</u>	<u>25</u>
2.5.1.	Organbadexperimente an Magenfunduspräparaten	25
2.5.2.	Experimente am perfundierten Herzen nach Langendorff	26
2.5.3.	Organbadexperimente an Aortenpräparaten	27
<u>2.6.</u>	<u>Methode der Statistik</u>	<u>29</u>
<u>3.</u>	<u>Ergebnisse</u>	<u>31</u>
<u>3.1.</u>	<u>Organbadexperimente</u>	<u>31</u>
3.1.1.	Experimentelle Ausgangssituation und Versuchsplanung	31
3.1.2.	Orientierende Studien am Magenfundus	31
<u>3.2.</u>	<u>Langendorff-Experimente</u>	<u>33</u>
<u>3.3.</u>	<u>Untersuchung der adrenergen Signalkaskade an der Aorta</u>	<u>34</u>
<u>3.4.</u>	<u>Weiterführende Organbadexperimente an der Aorta</u>	<u>36</u>
3.4.1.	Untersuchung der endothelvermittelten Tonusmodulation	46
3.4.2.	Untersuchung der NO vermittelten Signalkaskade	47
3.4.3.	Wirkung von Moringa an endothelialen Rezeptoren	49
3.4.3.1.	Muscarinerge Rezeptoren	49
3.4.3.2.	Der non-adrenerge non-muscarinerge Signalweg	51

<u>4.</u>	<u>Diskussion</u>	<u>56</u>
4.1.	Orientierende Experimente am perfundiertem Herzen nach Langendorff	56
4.2.	Endothelunabhängiger Signalweg	60
4.3.	Moringa induzierte Relaxation an der thorakalen Aorta	62
4.4.	Irreversible Rezeptorblockade durch Moringa	63
4.5.	Vergleich zwischen Moringa und anderen natürlich vorkommenden vasoaktiven Substanzen	65
<u>5.</u>	<u>Zusammenfassung</u>	<u>68</u>
<u>6.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	<u>70</u>
<u>7.</u>	<u>Anhang</u>	<u>76</u>
7.1.	Lebenslauf	76
7.2.	Selbstständigkeitserklärung/ eidesstattliche Erklärung nach § 4 ABS. 2.5	77
7.3.	Danksagung	78
<u>8.</u>	<u>Thesen</u>	<u>79</u>

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

Abbildung 1	Adrenerg vermittelte Tonusmodulation	4
Abbildung 2	Zusammenspiel zwischen Endothelzelle und Muskelzelle	10
Abbildung 3	Reaktion eines mit KCl aktivierten Aortenpräparates auf Moringa	27
Abbildung 4	Schematischer Ablauf der Testung der Funktionsfähigkeit des Endothels	28
Abbildung 5	Originalregistrierung der Testung der Funktionsfähigkeit des Endothels	28
Abbildung 6	Reaktion eines Magenfunduspräparates auf ACh, NA und Moringa	32
Abbildung 7	Reaktion eines Magenfunduspräparates auf Moringa unter Urapidil	33
Abbildung 8	Beeinflussung des Druckes in den Koronararterien durch KCl und Moringa	34
Abbildung 9	Reaktion eines Aortenpräparates auf Moringa unter Urapidil	36
Abbildung 10	Dosisabhängige Wirkung von Moringa auf ein mit KCl vorstimuliertes Aortenpräparat	37
Abbildung 11	Moringa-Konzentrationswirkungskurve	38
Abbildung 12	DMSO Kontrolle	39
Abbildung 13	Vergleich zwischen erster und zweiter Applikation von Moringa	41
Abbildung 14	Reaktion eines Aortenpräparates auf ACh 10^{-6} mol/l	42
Abbildung 15	Vergleich der Reaktionen auf Moringa und ACh	43
Abbildung 16	Reaktion der Präparate ohne Endothel auf ACh und Moringa	45
Abbildung 17	Vergleich der Reaktion der Präparate mit und ohne Endothel auf Moringa	45
Abbildung 18	Reaktion von Präparaten auf Moringa und ACh unter L-NAME	47
Abbildung 19	Reaktion von Präparaten auf Moringa unter Vorbehandlung mit ODQ	48
Abbildung 20	Reaktion von Präparaten auf Moringa unter anschließender ODQ Gabe	49
Abbildung 21	Reaktion der Präparate auf Moringa unter Atropin	50
Abbildung 22	Reaktion der Präparate unter der Einwirkung von Cimetidin	52
Abbildung 23	Reaktion der Präparate unter der Einwirkung von MRS2179	53
Abbildung 24	Reaktion der Präparate auf Moringa unter Indometacin	55
Abbildung 25	Biphasische Reaktion der Koronararterien auf Moringa	58

Abbildung 26	Foto des Rattenherzens nach den Experimenten unter einem Mikroskop	58
Abbildung 27	Reaktion der Koronarien auf ACh	59
Abbildung 28	Einfluss der additiven Wirkung verschiedener Rezeptorantagonisten auf die Wirkung von Moringa im Vergleich zur Wirkung des reinen Moringas	63
Abbildung 29	Vergleich der gemessenen Werte unter Einfluss von MRS2179 und der auf Grund der gemessenen Reaktion auf ACh berechneten Werte ohne MRS2179	64

Tabellen

Tabelle 1	Zusammensetzung der Präparierlösung	17
Tabelle 2	Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Puffers	17
Tabelle 3	Zusammensetzung der Langendorff-Perfusionslösung	18
Tabelle 4	Zusammensetzung der kardioplegen Lösung	18
Tabelle 5	Beispiele natürlich vorkommender vasoaktiver Substanzen	65

Abkürzungsverzeichnis

A	Adrenalin
AC	Adenylatcyclase
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ASS	Acetylsalicylsäure
AT II	Angiotensin II
ATP	Adenosintriphosphat
Ca ²⁺	Calcium
Ca ²⁺ -CAM	Calcium-Calmodulin
CaCl ₂	Calciumchlorid
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
COX	Cyclooxygenase
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECE	Endothelin Converting Enzyme
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ET	Endothelin
GMP	Guanosinmonophosphat
GP	Gap junction
GTP	Guanosintriphosphat
HIF	Hypoxie induzierter Faktor
iNOS	induzierbare NO-Synthase
IP ₃	Inositoltriphosphat
K ⁺	Kalium
K _{CA}	Kalium Kanal
KCl	Kaliumchlorid
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat

L-NAME	N-Nitro-L-arginine methyl ester
L-Typ Ca^{2+}	spannungsabhängiger long-lasting Calcium Kanal
M_3	Muscarin-3-Rezeptor
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
MgCl_2	Magnesiumchlorid
MLCP	Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase
mRNA	messenger ribonucleic acid
NA	Noradrenalin
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO_3	Natriumhydrogencarbonat
NaH_2PO_4	Natriumhydrogenphosphat
Na_2SO_4	Natriumsulfat
nNOS	neuronale NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid Synthase
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drug
NSCC	nicht-selektiver Kationenkanal
ODQ	1-H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one
PDGF	Platelet-derived growth factor
PLC	Phospholipase C
PrPrET	PreProEndothelin
sGC	soluble Guanylatcyclase
SK_{CA}	small conductance Ca^{2+} - sensitiver Kalium Kanal
SR	sarkoplasmatisches Retikulum
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGF-R	Vascular Endothelial Growth Factor- Rezeptor
5-HT-R	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor

1. Einleitung und Fragestellung

In nahezu allen Bereichen der klinischen Medizin besitzt die Gefäßversorgung der Organsysteme und deren Regulation eine große Bedeutung. Aus diesem Grund ist es wichtig die endogenen und exogenen Einflussfaktoren auf den Gefäßtonus zu kennen. Da eine geordnete, bedarfsgerechte Durchblutung und damit Sauerstoffversorgung der Gewebe im Vordergrund der Kreislaufregulation steht, können bereits kleine Tonusveränderungen im vaskulären System zu massiver Beeinträchtigung der Organe führen. Diese Einflussfaktoren sind vielfältig und durch verschiedene Mechanismen modulierbar. Eine wichtige Rolle spielt dabei auch das individuelle Gesundheitsbewusstsein, welches z.B. durch Ernährung und Sport auch Einfluss auf den Gefäßtonus nehmen kann.

Einerseits spielt heutzutage die sogenannte „Naturmedizin“ und die individuelle Ernährung eine große Rolle in der Bevölkerung der westlichen Welt, andererseits wird in Teilen Afrikas und Asiens versucht, mit Nahrungsergänzungsmitteln das Nährstoffangebot zu erweitern.

Daher ist es sinnvoll eine systematische Analyse der Wirkung von Nahrungsergänzungsmitteln auf das vaskuläre System zu untersuchen. Es können mit Hilfe derartiger Untersuchungen nicht nur mögliche schädliche Effekte belegt werden, sondern es können auch eventuell positive Eigenschaften einer biologischen Substanz nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Studie wurde die motorische Antwort glatter Muskulatur auf Extrakte des *Moringa oleifera* Baumes systematisch untersucht. Diese Extrakte genießen als Nahrungsergänzungsmittel in Afrika und mittlerweile auch in Europa, große Popularität.

1.1. Durchblutungsregulation der Gefäße

Es gibt verschiedene Wege, über welche die Zirkulation des Blutes im Körper reguliert wird. Die Regulation des Blutflusses ist vor allem für die Versorgung der Organe mit Sauerstoff und den Abtransport von Abbauprodukten und CO₂ entscheidend (Logsdon et al. 2014). Blutdruck, Blutfluss und Blutverteilung stehen dabei im Vordergrund. Diese werden durch den Vasotonus stark beeinflusst.

Es stehen sich Vasokonstriktion und Vasodilatation gegenüber. Ob Gefäße konstringiert oder dilatiert werden, hängt von vielfältigen, auf die Gefäße wirkenden Einflüssen ab. Die

Tonusmodulation wird sowohl neural als auch lokal gesteuert und reguliert. Die lokale Regulation umfasst dabei lokale Metabolite und Hormone.

Für das Verständnis der Durchblutungsregulation ist es wichtig zu wissen, dass der Blutfluss, also die Versorgung der jeweiligen Organe, an die aktuelle Anforderung angepasst werden muss. Auch wenn Gefäße im Sinne einer myogenen Antwort autoreguliert sind, dominieren die lokalen metabolischen Einflüsse die autoregulatorisch eingestellte Vasokonstriktion (Muller et al. 1996).

Zum Beispiel führt eine durch NA induzierte Vasokonstriktion zu einer Steigerung der NO-Produktion aufgrund von vermehrter Schubspannung in den Gefäßen. Dies hat zur Folge, dass NO der Vasokonstriktion entgegenwirkt und die sympathisch vermittelten Einflüsse überlagert (Chilian et al. 1993).

Sowohl die Vasokonstriktion als auch die Dilatation des Gefäßmuskels sind stark von der intrazellulären Calciumkonzentration abhängig. Kommt es intrazellulär zu einem Calciumanstieg führt dieses zur Konstriktion, eine intrazelluläre Reduktion des Calciums führt zu einer Dilatation. Es gibt verschiedene Wege, über die die intrazelluläre Calciumkonzentration verändert werden kann. Einerseits kann die Konzentration durch einen Einstrom der Ionen von extrazellulär ansteigen, andererseits kann Calcium aus intrazellulären Speichern, dem sogenannten sarkoplasmatischen Retikulum, freigesetzt werden.

Der initiale Anstieg des intrazellulären Calciums basiert auf der Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern. Dies führt zu einer initialen phasischen Kontraktion. Über den Einstrom des Calciums von extrazellulär wird die tonische Kontraktion gehalten.

Das arterielle Netzwerk umfasst verschieden große und in ihrer Beschaffenheit unterschiedliche Gefäße: große Arterien, kleine Arterien, Arteriolen und Kapillaren (Kanaris et al. 2012). Da der Gesamtquerschnitt der Gefäße in den kleinen Arterien und Arteriolen am größten ist, haben diese über eine Veränderung ihres Lumendurchmessers den größten Einfluss auf den Gesamtwiderstand (Fronck und Zweifach 1975).

Das bedeutet, dass diese kleinen sogenannten Widerstandsgefäße den größten physiologischen Einfluss auf die Einstellung der Durchblutung der einzelnen Organe haben (Lang et al. 1995). Außerdem hat der Druck in den Gefäßen laut der Starling- Gleichung einen Einfluss auf den Stoffaustausch und die Mikrozirkulation über die Gefäßmembran. Ein erhöhter Druck in den Kapillaren geht mit einer Filtration, ein erniedrigter Druck mit

einer Absorption einher (Fronek und Zweifach 1975). Dies ist bei der Entstehung von Ödemen ein entscheidender Faktor.

Die einzelnen Gefäßabschnitte unterscheiden sich nicht nur in ihrem Lumendurchmesser, sondern sie unterscheiden sich auch in ihrer Sensitivität gegenüber der auf sie wirkenden Einflüsse.

Kleine Arterien und Arteriolen reagieren vorwiegend auf Schubspannung. Terminale Arteriolen sind besonders empfindlich gegenüber Metaboliten und Agonisten.

Sollte die Substanz des Moringa oleifera Baumes als Agonist wirksam sein, könnte man davon ausgehen, dass sie ihre Wirkung vor allem an den terminalen Arteriolen entfaltet und dass der Effekt der Substanz einen Einfluss auf die genannten Faktoren Durchblutung, Blutdruck und Filtration haben könnte.

1.1.1. Nerval vermittelte Tonusmodulation

Für die nerval vermittelte Vasokonstriktion ist vor allem das sympathische Nervensystem mit seinen Transmittern verantwortlich. Hier ist vorwiegend NA ausschlaggebend (Bevan und Su 1973, S. 270). Die sympathischen Fasern laufen zwischen der Adventitia und der Media der Gefäßwand (Sancesario et al. 1982).

Das NA wird aus Varikositäten der Nervenfasern freigesetzt. An der Muskelzelle wirkt es vorwiegend über α_1 - Adrenorezeptoren vasokonstriktorisch; α_2 - und β -Adrenorezeptoren wirken modulierend. An den Varikositäten selbst befinden sich ebenfalls α_2 -Adrenorezeptoren, über die NA seine eigene Freisetzung hemmt. Über einen Re-up-take wird ein Großteil des NA wieder in die Varikosität aufgenommen (Berg 2015).

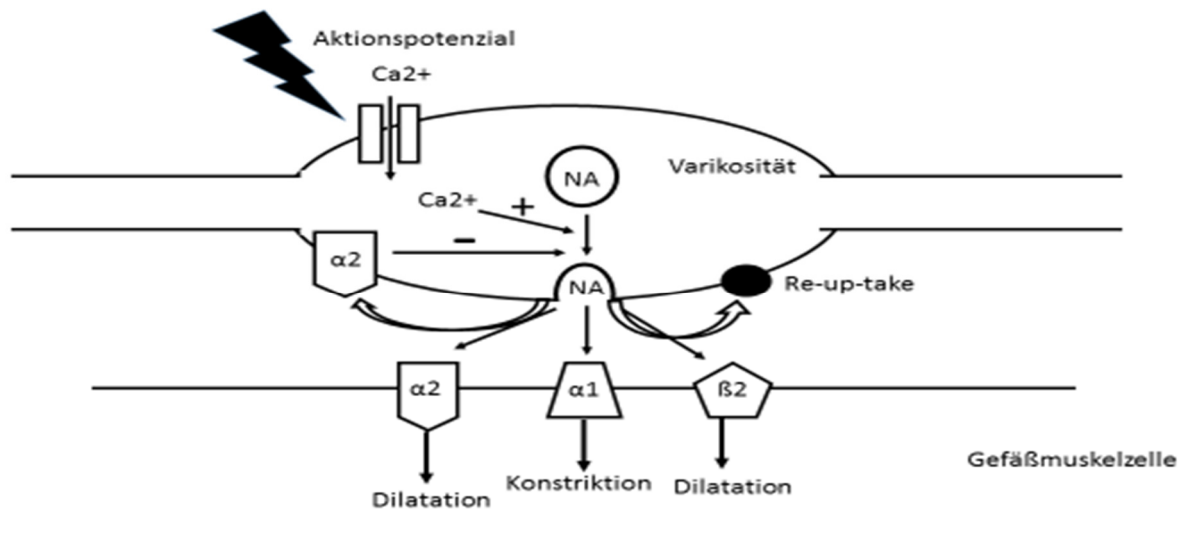


Abbildung 1: Adrenerg vermittelte Tonusmodulation. Ca^{2+} (Calcium), NA (Noradrenalin), α_1 (Alpha-1-Adrenorezeptor), α_2 (Alpha-2-Adrenorezeptor), β_2 (Beta-2-Adrenorezeptor), + (Förderung), - (Hemmung)

Der Parasympathikus spielt bei der Innervation der Gefäßmuskelzellen eine untergeordnete Rolle. Parasympathisch innerviert sind die Gefäße der Genitalregion, die Piaarterien und die Koronararterien.

Das heißt es ist vor allen Dingen, bezogen auf den gesamten Kreislauf, die Sympathikusaktivität über eine Vasokonstriktion der Gefäße für die Grundeinstellung des Vasotonus und somit für die Blutverteilung zuständig. Diese Grundeinstellung kann über die metabolische Regulation angepasst werden. Dies bedeutet, dass die Gefäße der Organe, die einen erhöhten Bedarf an Blut und Sauerstoff haben, über die metabolische Regulation so eingestellt werden, dass sie stärker durchblutet werden, wohingegen die Durchblutung der Organe, die in dem Moment einen geringeren Blut- und Sauerstoffbedarf haben, weiterhin über die Sympathikusaktivität niedrig gehalten wird.

1.1.2. Das Endothel

1.1.2.1. Aufbau, Vorkommen und Funktion

Das Gefäßendothel besteht aus Endothelzellen, welche das Lumen der Blutgefäße auskleiden. Abhängig von der Organart besitzt das Endothel der versorgenden Gefäße unterschiedliche Formen und Eigenschaften und kann in kontinuierliches, fenestriertes und diskontinuierliches Endothel unterteilt werden.

Das kontinuierliche Endothel ist durch eine Diffusionsbarriere zwischen Blut und Gewebe charakterisiert. Es besitzt tight junctions mit einem Porenradius von ca. 4-5 nm. Diese Art Endothel findet sich vor allem in Gefäßen der Lunge, der Skelettmuskulatur, des Nervensystems (Blut-Hirn-Schranke) und des Herzens.

Das fenestrierte Endothel ist auf den Austausch von Flüssigkeiten ausgelegt und befindet sich beispielsweise in den Nieren, den exokrinen Drüsen und der Darmschleimhaut. Die intrazellulären Poren sind ca. 50-60 nm groß.

Das diskontinuierliche Endothel kommt in den Sinusoiden von Leber, Milz und Knochenmark vor. Es hat inter- und intrazelluläre Lücken von 0,1- 1 µm Größe.

Neben der Barrierefunktion besitzt das Endothel eine Vielzahl weiterer Aufgaben, so ist es z.B. an der Regulation des vaskulären Tonus beteiligt. Verschiedene Stimuli führen dazu, dass das Endothel vasoaktive Substanzen sezerniert. Diese Reaktion kann durch von Nerven freigesetzte Substanzen (z.B. ACh), durch im Blut frei zirkulierende Hormone (z.B. Insulin) oder durch Autakoide (z.B. ADP/ATP, Endothelin), die von dem Endothel und dem glatten Muskel selbst gebildet werden, hervorgerufen werden (Mombouli und Vanhoutte 1999, S. 61). Diese vom Endothel sezernierten Substanzen wirken dann an der darunterliegenden Muskelzelle (Furchgott und Zawadzki 1980, S. 375) und sorgen so dafür, dass die Gefäße sich an die regionalen Besonderheiten und Anforderungen anpassen können.

1.1.2.2. Endothelabhängige vasoaktive Substanzen

Besonders gut charakterisiert wurden die Substanzen EDRF und EDHF.

In verschiedenen Studien wurde EDRF, was NO entspricht, als eine der wichtigsten endothelialen vasodilatatorischen Komponenten identifiziert. Endothelzellen exprimieren ein Enzym, das aus L-Arginin unter Abspaltung von L-Citrullin NO bildet. Dieses Enzym ist die NO-Synthase (NOS) (Mombouli und Vanhoutte 1999, S. 62). Es gibt drei verschiedene Typen der NOS. Typ I ist die neuronale (nNOS), Typ II die induzierbare (iNOS) und Typ III die endotheliale (eNOS) NO Synthase. Typ I und III werden als inaktive Apoenzyme gebildet. Über die Bindung an einen Ca^{2+} -CAM-Komplex werden sie funktionsfähig (Hellermann 1997, S. 12030). Über muscarinerge Rezeptoren wird die NOS Signalkaskade aktiviert (Waid et al. 2000, S. 37). So konnte u. a. in den großen Gefäßen der Ratte die Bedeutung der M3 Rezeptoren, über die die eNOS aktiviert wird, gezeigt werden (McCormack et al. 1988, S. 296).

Neben den muscarinergen Rezeptoren haben Studien gezeigt, dass die Gruppe der Purin-Rezeptoren ebenfalls vom Endothel exprimiert werden. Purinrezeptoren werden in P2X- und P2Y-Rezeptoren unterteilt. Für die NO-Freisetzung interessiert vor allem die Gruppe der P2Y-Rezeptoren. Vom Endothel exprimiert werden P2Y₁- und P2Y₂- Rezeptoren, die über die Bindung von ATP oder ADP zum Anstieg des intrazellulären Calciums in der Endothelzelle durch Freisetzung aus intrazellulären Speichern führt (Kaiser und Buxton 2002). Dieser intrazelluläre Calciumanstieg hat eine Aktivierung der eNOS zur Folge. ADP ist ein P2Y₁ Agonist und ATP ein P2Y₂ Agonist (Guns et al., S. 572).

Das im Endothel gebildete NO aktiviert in der Muskelzelle die lösliche Guanylatcyclyase, welche GTP zu cGMP umwandelt (Arnold et al. 1977, S. 3203). Durch den intrazellulären Anstieg von cGMP werden Proteinkinasen aktiviert, die über die Aktivierung der Myosion-leichte-Ketten- Phosphatase und die Absenkung des intrazellulären Calciums zu einer Relaxation führen.

Neben NO wird EDHF aus dem Endothel freigesetzt. Diese Freisetzung wird ebenfalls durch ACh induziert (Chen et al. 1988, S. 1171). In Studien wurde gezeigt, dass EDHF resistent gegenüber einer Blockade der eNOS ist; was bedeutet, dass EDHF von der eNOS unabhängig agiert. Es ruft eine Hyperpolarisation der glatten Muskulatur hervor (Félétou und Vanhoutte 1996, S. 1082). EDHF führt zur Öffnung von Kalium-Kanälen, was einen Ausstrom von Kalium aus der Zelle zur Folge hat. Ein Ausstrom von Kalium aus der Zelle

bedeutet, dass das Membranpotenzial herabgesetzt wird (Hyperpolarisation). Zusätzlich führt diese Hyperpolarisation zur Schließung spannungsabhängiger Calcium-Kanäle. Die dadurch herabgesetzte intrazelluläre Calciumkonzentration mündet in einer Vasodilatation (Nagao und Vanhoutte 1993).

Neben NO und EDHF hat auch das im Endothel gebildete Prostazyklin eine Wirkung auf den Vasotonus. Prostazyklin zählt zu den Eikosanoiden. Es wird von der Cyclooxygenase aus Arachidonsäure gebildet (Campbell et al. 1996) und wirkt über einen Anstieg des intrazellulären cAMPs vasodilatatorisch (Dinerman und Mehta 1990). Die Vasodilatation wird, ähnlich dem cGMP, durch eine Förderung der Aufnahme von Calcium in das sarkoplasmatische Retikulum und zusätzlich über einen Ausstrom von Calcium aus der Zelle vermittelt (Sperelakis 1989). Neben seinem Effekt auf den Vasotonus hemmt Prostazyklin die Thrombozytenaggregation (O'Grady et al. 1980, S. 322).

Wie eingangs erwähnt, kann eine Vasodilatation auch durch Scherkräfte hervorgerufen werden (Vanhoutte et al. 1986; Lüscher und Barton 1997). Die Scherkräfte sind umgekehrt proportional zum Gefäßradius. Das bedeutet, je kleiner der Gefäßradius, desto höher ist die auf die Endothelzelle wirkende Schubspannung. Eine Erhöhung der Scherkräfte führt zur Aktivierung der Phosphorylase C und somit zu einer Freisetzung von Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol der Endothelzelle. Durch eine erhöhte intrazelluläre Calciumkonzentration wird die eNOS aktiviert und NO produziert (Shen et al. 1992).

Zusätzlich zu den genannten vasodilatatorischen Substanzen werden im Endothel auch potente Vasokonstriktoren synthetisiert.

Ein potenter Vasokonstriktor ist Endothelin. Endotheline sind eine Gruppe von Peptiden (Yanagisawa et al. 1988, S. 189). Drei Unterformen des Endothelins wurden identifiziert: ET-1, ET-2 und ET-3. ET-1 scheint dabei den größten Einfluss auf den vaskulären Tonus zu haben (Webb und Vallance 2000, S. 31). Obwohl sich die Peptide in ihrer Struktur ähneln, ist ET-1 das hauptsächlich vom vaskulären Endothel gebildete Peptid (Vane 1990, S. 673). Die Synthese des ET-1 wird z.B. durch Thrombin (Yokokawa et al. 1993, S. 2081) und Angiotensin induziert (Boulanger und Lüscher 1990).

Endothelin vermittelt seine Wirkung über zwei Rezeptortypen: ET_A und ET_B (Masuda et al. 1989, S. 210). Beide Rezeptoren werden vom glatten Gefäßmuskel exprimiert (Vaněčková et al. 2015, S. 161). Über die Bindung an den ET_A Rezeptor kommt es zum

Anstieg des intrazellulären Calciums: einerseits über die Aktivierung der Phosphorylase C, welche über IP₃ zu einer Freisetzung des intrazellulären Calciums führt (Vaněčková et al. 2015, S. 162), und andererseits über den langanhaltenden Einstrom von extrazellulärem Calcium über nicht selektive Kationenkanäle (Miwa et al. 1999, S. 285). Der intrazelluläre Calciumanstieg vermittelt die Vasokonstriktion.

Gehemmt wird die ET-1 Freisetzung durch cGMP (aus der NO Signalkaskade), (Boulanger und Lüscher 1990) cAMP und Prostazyklin (Yokokawa et al. 1991).

Weitere endothelabhängige Vasokonstriktoren sind Thromboxan A₂, Prostaglandin H₂ und Angiotensin II. Das Angiotensin converting Enzym (ACE) wird u.a. vom Endothel exprimiert und spaltet Angiotensin I in das vasokonstriktorisch wirkende Angiotensin II (Vaughan et al. 1995).

1.1.3. Gewebemetabolite und Hormone

Neben den schon beschriebenen Substanzen NO (EDHF), EDRF, Prostazyklin und Endothelin haben noch weitere nicht vom Endothel gebildete Hormone und Metabolite einen Einfluss auf den Vasotonus.

1.1.3.1. Adenosin

Adenosin ist ein Nucleosid. Es ist Bestandteil der energiereichen Verbindungen ATP, ADP und AMP und entsteht als Abbauprodukt bei deren Verbrauch. Aufgrund des ubiquitären Energieverbrauchs von Zellen kann theoretisch jede Zelle Adenosin herstellen. Adenosin wirkt in den allermeisten Gefäßen vasodilatatorisch. Über den A₂-Rezeptor am Gefäß wird die Adenylatcyclase aktiviert (Shryock und Belardinelli 1997), was zu einem intrazellulären Anstieg von cAMP führt, das seinerseits eine Abnahme des intrazellulären Calciums bewirkt und eine Vasodilatation hervorruft. In den Koronararterien ist Adenosin der potenteste Vasodilatator. Bei verstärkter Herzarbeit und dem daraus resultierenden gesteigerten ATP Umsatz kommt es zu einem vermehrten Anfall von Abbauprodukten wie Adenosin, welches zu einer Vasodilatation der Koronararterien führt und damit zu einer verstärkten Durchblutung.

1.1.3.2. Histamin

Bei Gewebeschädigung oder auch bei allergischen Reaktionen wird Histamin aus Mastzellen und basophilen Granulozyten freigesetzt. Histamin produziert eine dosis- und endothelabhängige Vasodilatation (Yousif et al. 2002) hauptsächlich über H1-Rezeptoren. Zusätzlich konnte eine endothelunabhängige vasodilatatorische Komponente gezeigt werden. Diese wird über H2-Rezeptoren vermittelt. Diese H2-Rezeptoren befinden sich auf der Gefäßmuskelzelle und bewirken über calciumabhängige Kaliumkanäle geringer Leitfähigkeit (SK_{Ca}-Kanäle) eine Hyperpolarisation, die durch Schließen von spannungsabhängigen Calcium-Kanälen zu einer Dilatation führt (Kyselá und Török 1996).

1.1.3.3. Eikosanoide

Die in Abschnitt 1.1.2.2. bereits erwähnten Eikosanoide Thromboxan A₂ und Prostaglandin H₂ haben ebenfalls eine direkt vasokonstriktorische Wirkung am glatten Muskel. Dort aktivieren sie den Thromboxanrezeptor und wirken so auf die NO vermittelten Vasodilatation modulierend (Lüscher und Barton 1997).

1.1.3.4. Serotonin

Serotonin kommt vor allem in den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes vor. Darüber hinaus wird es bei der Aktivierung von Thrombozyten von diesen freigesetzt. Die Wirkungsweise auf die Durchblutungsregulation ist wie auch bei anderen schon beschriebenen Stoffen davon abhängig, ob Serotonin an seinem Rezeptor am Endothel oder direkt an der glatten Muskelzelle wirkt.

Über seinen 5-HT-Rezeptor am Endothel initiiert Serotonin die Aktivierung der eNOS (s. 1.1.2.2.) und somit eine Vasodilatation (Martin et al. 1992). Am Gefäßmuskel direkt wirkt Serotonin über den 5-HT-Rezeptor als Vasokonstriktor (Edvinsson et al. 1978).

Abbildung 2 zeigt eine Übersicht des Zusammenspiels zwischen Muskel- und Endothelzelle.

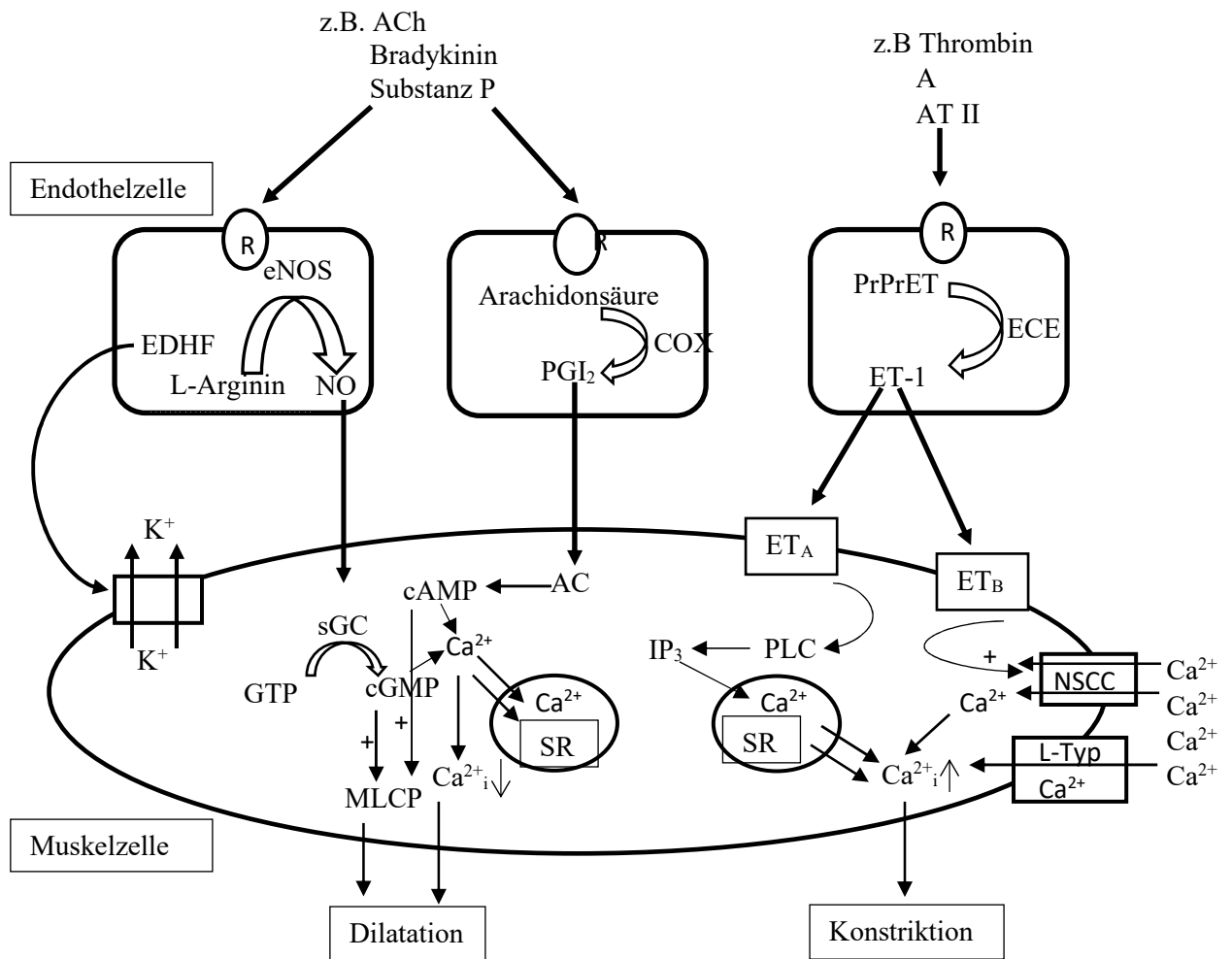


Abbildung 2: Zusammenspiel zwischen Endothelzelle und Muskelzelle. R (Rezeptor), ACh (Acetylcholin), A (Adrenalin), AT II (Angiotensin II), EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor), eNOS (endotheliale NO Synthase), PGI₂ (Prostazyklin), COX (Cyclooxygenase), ET-1 (Endothelin 1), ECE (Endothelin converting Enzym), PrPrET (PrePro Endothelin), sGC (soluble Guanylylcyclase), GTP (Guanosintriphosphat), cGMP (zyklisches Guanosinmonophosphat), MLCP (Mysion-leichte-Ketten-Phosphatase), SR (sarkoplasmatisches Retikulum), L-Typ Ca²⁺ (spannungsabhängiger long-lasting Calcium-Kanal), AC (Adenylatcyclase), cAMP (zyklisches Adenosinmonophosphat), IP₃ (Inositoltriphosphat), PLC (Phospholipase C), ET_A/ET_B (Endothelin Rezeptor A/B), NSCC (nicht selektiver Kationen Kanal). Es werden die verschiedenen Wege der Regulation des Calciumhaushaltes, im Zusammenspiel mit der Endothelzelle, in der glatten Muskelzelle gezeigt. Ein Anstieg des intrazellulären Calciums führt zu einer Konstriktion, ein Abfall zu einer Dilatation.

1.1.4. Endothelabhängige Pathogenese verschiedener vaskulärer Krankheitsbilder

Ist die Funktion oder Beschaffenheit des Endothels verändert, führt dies zu einer Einschränkung in der Regulation der Mikrozirkulation und es können eine Vielzahl vaskulärer Erkrankungen resultieren (Mombouli und Vanhoutte 1999, S. 61). Allgemein kann man sagen, dass eine Einschränkung in der Funktion des Endothels darin mündet, dass die Synthese der vasodilatatorisch wirkenden Substanzen ab- und die der vasokonstriktorisch wirkenden Substanzen zunimmt (Mombouli und Vanhoutte 1999, S. 65). Endothelschäden können sowohl Folge von Erkrankungen wie Hyperlipidämie, Hypertonie und Diabetes mellitus sein, können jedoch auch den Ursprung weiterer Gefäßerkrankungen wie Arteriosklerose darstellen (Nabel 1991).

Schon ziemlich zu Beginn der Untersuchung der endothelabhängigen Krankheitsbilder hat man in Tierversuchen einen Zusammenhang zwischen der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen und Dysfunktionen am Endothel gesehen (Vanhoutte et al. 1986). Dieser Zusammenhang konnte im weiteren Verlauf auch am Menschen festgestellt werden (Kubo et al. 1991).

Neben der Regulation des Vasotonus hat das Endothel auch eine positive Wirkung auf den Blutfluss. Durch seine antithrombotische Oberfläche werden die Thrombozytenaggregation und somit auch die Gerinnung verhindert (Cines et al. 1998). Aus einer Störung dieser Funktion, können ebenfalls Krankheitsbilder resultieren. Dazu zählen arteriosklerotische und thrombotische Ereignisse.

Insgesamt kommt dem Endothel somit eine wichtige Funktion in der Feinregulation und Umsetzung hormoneller und metabolischer Einflussfaktoren auf den glatten Muskel zu.

1.1.4.1. Hypertonie

Hypertonie stellt sowohl in Deutschland als auch weltweit ein weit verbreitetes Krankheitsbild dar. Laut der Leitlinien für das Management der arteriellen Hypertonie ist eine Hypertonie Grad 1 ab einem in der Praxis gemessenen systolischen Blutdruck von 140-159 mmHg oder einem diastolischen Blutdruck von 90-99 mmHg definiert (Leitlinien für das Management der arteriellen Hypertonie 2013, S. 7).

Hypertonie ist weltweit der führende Risikofaktor bezüglich vermeidbarer Todesfälle (Prugger et al. 2006, S. 289). Beobachtende Studien haben einen Zusammenhang zwischen der Höhe des Blutdrucks und dem Risiko, einen Schlaganfall oder andere kardiovaskuläre Erkrankungen zu erleiden, gezeigt (Macmahon et al. 1990, S. 772). Bei einem Großteil der Fälle handelt es sich um eine primäre, idiopathische Hypertonie, d. h. es lassen sich keine definierbaren Ursachen finden (Schaller und Wolzt 2006, S. 489). Dem gegenüber steht die sekundäre Hypertonie. Dies bedeutet, dass eine organische Ursache für die Hypertonie vorliegt und diese potenziell reversibel ist. Wie bereits erwähnt kann ein Überwiegen der vasokonstriktorischen Substanzen zu einer Engstellung der Gefäße führen. Dies hat einen gesteigerten peripheren Widerstand und somit eine Erhöhung des intravasalen Druckes, was eine Hypertonie darstellt, zur Folge. Studien haben gezeigt, dass die endothelabhängige Vasodilatation bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen herabgesetzt ist (Kubo et al. 1991). Im Umkehrschluss würde also eine Gefäßerweiterung zu einer Druckabnahme führen und der Hypertonie entgegenwirken. Demnach kommt der Verhinderung einer Hypertonie oder dem Herabsetzen des bereits erhöhten mittleren arteriellen Blutdrucks eine besondere Bedeutung zu.

1.1.4.2. Arteriosklerose

Unter physiologischen Umständen wirken das im Endothel gebildete NO und Prostazyklin der Thrombozytenaggregation entgegen (Radomski et al. 1987). Kommt es zur Schädigung der Endothelzellen kann dies dazu führen, dass das subendotheliale Gewebe freigelegt wird (Ross 1979, S. 436). Ist dieses Ereignis kein Einzelfall, sondern ein immer wiederkehrender Reiz, kann dieser Zustand Folgen haben: Es kommt zur Adhäsion, Aggregation und Degranulation von Thrombozyten an dem subendothelialen Gewebe (Stemerman 1972). Glatte Muskelzellen der Gefäßwand werden aktiviert was wiederum eine Intimahyperplasie zur Folge haben kann (Lüscher und Barton 1997). Zusätzlich kann es zur Durchdringung der Endothelzellschicht mit Makrophagen kommen. Die Makrophagen lagern Fett ein und werden zu Schaumzellen (Ross 1993). Im weiteren Verlauf kommt es durch die genannten Einflüsse zum Umbau der Arterienwand, der in dem bekannten Bild der Arteriosklerose, nämlich der „Arterienverkalkung“, münden kann. Zusätzlich werden, bedingt durch den Einfluss von Thrombozyten und Makrophagen

Wachstumsfaktoren wie PDGF und M-CSF von Endothelzellen produziert, was den Verlauf der Krankheit unterstützt (Ross 1993).

Dieser Vorgang kann auch in den Koronararterien stattfinden. Dies führt zur Entstehung der koronaren Herzkrankheit, die im Endstadium einen Myokardinfarkt als Folge haben kann. Ein funktionsfähiges Endothel ist demnach nicht nur in den peripheren Gefäßen von großer Bedeutung, sondern auch in den kleinen Koronararterien für eine regelhafte Funktion essentiell.

1.2. Angiogenese

Die Angiogenese beschreibt die Neuentstehung von Blutgefäßen aus bereits bestehenden Blutgefäßen. Davon abzugrenzen ist die Vaskulogenese, bei der es zu einer Neubildung von Blutgefäßen aus Vorläuferzellen des Gefäßendothels kommt. Die Angiogenese kann sowohl physiologischer als auch pathologischer Genese sein.

1.2.1. Physiologische Angiogenese

Zur Neubildung von Gefäßen kommt es unter physiologischen Umständen im Zuge der Wundheilung oder wenn Gewebe unzureichend mit Sauerstoff versorgt werden (Shweiki et al. 1992). Letzteres führt dazu, dass es zur Expression des hypoxieinduzierbaren Transkriptionsfaktors (HIF) kommt. HIF wiederum induziert die Expression endothelialer Wachstumsfaktoren wie dem Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (Forsythe et al. 1996). Die Rezeptoren für VEGF, VEGFR-1 und VEGFR-2 wurden bislang fast ausschließlich auf Endothelzellen nachgewiesen. Es wurde gezeigt, dass VEGF als Stimulus zur Ausbildung von Kollateralgefäßen führt (Ferrara und Alitalo 1999). Die Wichtigkeit dieses Faktors konnte damit unterstrichen werden, dass es zum embryonalen Tod in utero kommt, wenn nur ein für den VEGF zuständiges Allel fehlt (Ferrara et al. 1996).

1.2.2. Pathologische Angiogenese

Die Angiogenese kann auch bei der Entstehung von Krankheitsbildern eine Rolle spielen. Unkontrollierte Angiogenese kann beispielsweise zu Rheumatoider Arthritis, Psoriasis (Koch 1998) und zur diabetischen Retinopathie führen (Patz 1980). Auch in der Versorgung von Tumoren und Tumormetastasen ist die Angiogenese ein entscheidender Faktor und ist daher ein Angriffspunkt der Therapie (Ferrara und Alitalo 1999). Es konnte eine verstärkte Expression von VEGF mRNA in Tumorzellen nachgewiesen werden (Ferrara 1997). Bei der Betrachtung der von den Gefäßen ausgehenden Krankheitsbilder darf die Angiogenese demnach nicht außer Acht gelassen werden.

1.3. Moringa oleifera

Der Moringa oleifera Baum, auch Meerrettichbaum oder „Wunderbaum“ genannt, gehört zur Familie der Moringaceae. Er stammt ursprünglich aus der Himalayaregion in Nord-West Indien. Mittlerweile wird er jedoch auf Grund seiner Vielseitigkeit in vielen tropischen und subtropischen Ländern kultiviert. Der Baum ist sehr schnellwüchsig und wächst im ersten Jahr bis zu 8 Metern. Trotzdem verträgt er trockenen, nährstoffarmen, sandigen Boden. Den Namen Wunderbaum hat er auf Grund seiner vielseitigen Eigenschaften und Anwendungsgebiete erhalten. In Asien und Afrika ist Moringa schon lange fester Bestandteil der traditionellen Medizin und wird als Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt. Man fand heraus, dass alle Teile des Baumes wie Blätter, Rinde, Samen, Wurzeln und Früchte reich an Proteinen, Vitaminen und Mineralien sind. Es ist Kalium, Calcium, Folsäure, Eisen, Phosphor und β -Carotin enthalten. Die Blätter können roh oder gekocht gegessen werden. In Pulverform können die Blätter lange gelagert werden, ohne an Nährstoffen zu verlieren (Pandey 2012).

Den einzelnen Bestandteilen des Baumes werden verschiedene gesundheitliche Benefits zugeschrieben. Beispielsweise sollen die Samen eine antipyretische Wirkung haben (Oliveira et al. 1999), Blätter und Samen antibakteriell wirken (Caceres et al. 1991) und die Blätter radioprotektiv und antioxidativ wirksam sein (Rao et al. 2001).

Faizi et al. haben außerdem in mehreren Studien eine hypotensive Wirkung verschiedener Bestandteile des Baumes (wie z.B. Blätter und Wurzel) herausstellen können. Es wurden

sowohl reine Bestandteile des Baumes als auch verschiedene Extrakte (z.B. wässrige und alkoholische Extrakte) aus den Bestandteilen des Baumes hergestellt und die Wirkung auf den mittleren arteriellen Blutdruck (MABP) von normotensiven anaesthetisierten Ratten in verschiedenen Dosen untersucht. Dabei konnte eine Senkung des MABP um 41% durch das alkoholische Extrakt der Schoten und eine Senkung um 43% durch das alkoholische Extrakt der Samen bei einer Dosis von 30 mg/kg gemessen werden (Faizi et al. 1998).

Wie auch von Kreuzblütlern, beispielsweise von Brokkoli bekannt ist, enthält Moringa gesundheitsfördernde Isothiocyanate, die aus den glykosylierten Vorläufern Glucosinolat durch Myrosinasen gebildet werden. Ein Vorteil der Moringa Isothiocyanaten gegenüber denen der Kreuzblütler ist eine höhere chemische Stabilität (Waterman et al. 2014).

Studien haben ergeben, dass Moringa oleifera auch in der Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 eine Rolle spielen könnte. In Tierversuchen hat der Inhaltsstoff Moringa Isothiocyanat aus den Blättern die Gewichtszunahme und die Leberverfettung signifikant reduziert. Außerdem wurden die Insulin-Sensitivität und die Lipolyse gefördert (Waterman et al. 2015).

Neben den genannten diätetischen Vorteilen können die Samen des Baumes zur Klärung von Grundwasser verwendet werden (Senthil Kumar et al. 2015).

Zu dem Thema dieser Arbeit, nämlich der Wirkung von Moringa oleifera auf den glatten Muskel, gibt es bisher nur wenige Daten. Es konnten hypotensive Effekte der Bestandteile des Baumes Moringa stenopetala in-vivo und in-vitro an Meerschweinchen (Mengistu et al. 2013) und des Moringa oleifera an Ratten (Gilani et al. 1994) beobachtet werden. Genauere Angaben über die pharmakologische Wirkung, involvierte Rezeptoren und Signalkaskaden fehlen jedoch bisher.

1.4. Fragestellung

Ausgehend von der vorgestellten Vielfältigkeit der Wirkung von *Moringa oleifera* und der weiten Verbreitung von Gefäßerkrankungen sollten in dieser Arbeit die Fragestellungen untersucht werden:

- Wirkt das getrocknete Pulver der Blätter, Wurzeln und Äste des *Moringa oleifera* Baumes auf den glatten Muskel?
- Ist eine mögliche Wirkung der Substanz auf die glatte Muskulatur organspezifisch?

Oben genannte mögliche Wirkung vorausgesetzt:

- Über welche Mechanismen vermittelt die Substanz ihre Wirkung an der Gefäßmuskulatur und hat diese Wirkung eine Bedeutung für die Durchblutungsregulation?

Diese Fragestellungen sind vor allem unter dem Gesichtspunkt interessant, dass das getrocknete Pulver der Blätter, Wurzeln und Äste als ein sogenanntes „superfood“ freiverkäuflich ist und sich einer zunehmenden Konsumbeliebtheit erfreut, ohne dass der genaue Wirkmechanismus bekannt ist.

Als Modell für glatte Muskulatur außerhalb des Gefäßsystems wurden orientierende Studien an Magenfunduspräparaten der Ratte im Organbad durchgeführt.

Um den Einfluss von *Moringa* auf das zentrale Organ des Herz-Kreislauf-Systems und den Druck und Fluss in den Koronararterien zu untersuchen, wurde das isolierte perfundierte Herz der Ratte nach Langendorff gewählt.

Als Modell für die Gefäße wurde die Aorta der Ratte gewählt. Die Aorta stellt im Organismus der Ratte zwar kein kleines Gefäß dar, hat sich allerdings in der Geschichte der Forschung als sehr gutes Modell erwiesen, um NO- und somit endothelabhängige Signalwege zu erforschen. Diese Besonderheit der Rattenaorta wurde schon in den 1970er Jahren von V.A.W. Kreye et al. publiziert (Kreye et al. 1975) und erreichte ein Maximum an Interesse zwischen 1990-2000.

Das Hauptaugenmerk der Arbeit liegt auf den Experimenten an der Rattenaorta im Organbad.

2. Material und Methoden

2.1. Lösungen

2.1.1. Präparierlösung

Zur Präparation, zum Transport und zur Aufbewahrung der Präparate wurde eine Präparierlösung mit folgender Zusammensetzung verwendet:

Tabelle 1: Zusammensetzung der Präparierlösung

Substanzen	NaCl	KCl	CaCl ₂
mmol/l	143	5,9	3,6

2.1.2. Krebs-Henseleit-Puffer

Zur Versorgung der Aorten- und Magenfunduspräparate während der Experimente im Organbad wurde Krebs-Henseleit-Puffer mit der folgenden Zusammensetzung verwendet:

Tabelle 2: Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Puffers

Substanzen	NaCl	KCl	NaHCO ₃	MgCl ₂	CaCl ₂	KH ₂ PO ₄	Glucose
mmol/l	112	4,7	25	1,2	2,5	1,2	11,5

Vor jedem Experiment wurde diese Lösung neu angesetzt und bei 7°C aufbewahrt. Erst kurz vor Beginn des Experiments wurde das Calciumchlorid zugesetzt. Zusätzlich wurde die Lösung während des gesamten Experiments mit Carbogengas (95% O₂ und 5% CO₂) begast, um das Gewebe mit Sauerstoff zu versorgen, den Bikarbonatpuffer zu stabilisieren und so den pH-Wert bei 7,4 zu halten. Zur Aktivierung der Präparate wurde das Kalium in der Lösung erhöht, so dass eine extrazelluläre Kaliumkonzentration von 20 mM vorlag. Die Erhöhung des Kaliums fand als äquimolarer Austausch von Natrium gegen Kalium statt.

2.1.3. Langendorff-Perfusionslösung

Zur Versorgung des Herzens während der Experimente in der Langendorffapparatur wurde eine Lösung mit der folgenden Zusammensetzung verwendet:

Tabelle 3: Zusammensetzung der Langendorff-Perfusionslösung

Substanzen	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	Na ₂ SO ₄	NaH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	Glucose
mmol/l	127	5	2,6	2,6	1,2	2,6	20	10

Vor jedem Experiment wurde diese Lösung neu angesetzt und bei 7°C aufbewahrt. Erst kurz vor Beginn des Experiments wurde die Glucose zugesetzt. Zusätzlich wurde die Lösung während des gesamten Experiments mit Carbogengas (95% O₂ und 5% CO₂) begast, um das Gewebe mit Sauerstoff zu versorgen, den Bikarbonatpuffer zu stabilisieren und so den pH-Wert bei 7,4 zu halten.

2.1.4. Kardioplege Lösung nach Buckberg

Zum Transport und zur Präparation wurde das Herz nach Entnahme in kardioplege Lösung gelegt.

Tabelle 4: Zusammensetzung der kardioplegen Lösung

Substanzen	NaCl	KCl	CaCl ₂	Mannitol	Glucose
mmol/l	83	30	5	55	30

Kardioplege Lösung ist eine kaliumreiche Lösung, deren Kaliumkonzentration höher als die normale extrazelluläre Konzentration [3,5-4,5 mmol/l] liegt. Aufgrund des veränderten Membranpotentials kommt es zum Herzstillstand. Mit Hilfe der Kardioplegie wird der Sauerstoff- und Energieverbrauch des Herzens stark herabgesetzt (Döring et al., S. 449).

2.1.5. Testsubstanzen

2.1.5.1. Moringa-Auszug

Zur Herstellung der Testsubstanz wurde getrocknetes Pulver der Blätter, Wurzeln und Äste des Moringa oleifera Baumes der Firma Hirundo Products verwendet. Hiervon wurden 450 mg Pulver mit 6 ml DMSO der Firma Carl Roth GmbH gemischt. Nach Vermischung des Pulvers mit DMSO mithilfe eines Magnetrührers wurde das Gemisch in 1,5 ml große Eppendorfgläser umgefüllt und mittels eines Vortex nochmals gemischt. Danach wurde das Gemisch für 5 Minuten bei 8944 G zentrifugiert. Es wurde davon ausgegangen, dass der Wirkstoff in dem entstandenen Überstand enthalten ist. Der Überstand wurde abpipettiert und anschließend mithilfe einer Spritze durch einen Filter mit 0,2 µm Porengröße filtriert und erneut in braune, vor Licht schützende Eppendorfgläser abgefüllt. Geht man davon aus, dass der gesamte Wirkstoffgehalt der 450 mg Pulver in dem Überstand enthalten ist, erhält man den löslichen Anteil des Wirkstoffgehaltes von 75 mg/ml der Trockenmasse im Auszug. Aufgrund der Beschaffenheit und Unreinheit des Moringanaturstoffes ist dies keine reale Größe, wird aber im Folgenden als Mengenangabe verwendet und bezieht sich immer auf die beschriebene Herstellungsweise.

2.1.5.2. Weitere Substanzen

Die Substanzen wurden gemäß ihrer allgemein bekannten Wirkungen als Agonisten oder Antagonisten eingesetzt.

2.1.5.2.1. Acetylcholin

Acetylcholin ist ein Muscarinrezeptor Agonist. Zur Herstellung einer Acetylcholin Stammlösung [10^{-3} mol/l] wurde das Pulver Acetylcholin chlorid (MW 181,66 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10^{-6} mol/l verwendet.

2.1.5.2.2. Atropin

Atropin ist ein nicht selektiver Muscarinrezeptor Antagonist. Es wurde eine Atropin Stammlösung [10^{-3} mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Atropins (MW 289,37 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10^{-6} mol/l verwendet.

2.1.5.2.3. Cimetidin

Cimetidin ist ein H₂-Rezeptor Antagonist. Es wurde eine Cimetidin Stammlösung [10⁻² mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Cimetidins (MW 252,3 g/mol) der Firma Sigma Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10⁻⁵ mol/l verwendet.

2.1.5.2.4. Indometacin

Indometacin ist ein Cyclooxygenase 1 und 2 Hemmer. Durch Hemmung der Cyclooxygenase wird die Prostaglandinsynthese gehemmt. Es wurde eine Indometacin Stammlösung [10⁻² mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Indometacins (MW 357,79 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in Ethanol gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10⁻⁵ mol/l verwendet.

2.1.5.2.5. N_ω-Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)

L-NAME hemmt die endotheliale NO-Synthase. Es wurde eine L-NAME Stammlösung [10⁻¹ mol/l] hergestellt. Dazu wurde die gefrorene pulverisierte Form des L-NAMEs (MW 269,69 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10⁻⁴ mol/l verwendet.

2.1.5.2.6. MRS2179

MRS2179 ist ein selektiver P2Y1- Rezeptorantagonist (Guns et al., S. 573). Es wurde eine MRS2179 Stammlösung [10⁻² mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des MRS2179 ammonium salt hydrate (MW 425,23 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10⁻⁵ mol/l verwendet.

2.1.5.2.7. Noradrenalin

Noradrenalin gehört zu der Gruppe der Katecholamine und ist ein Adrenorezeptor Agonist mit einer besonders hohen Affinität zu α₁-Rezeptoren. Es wurde eine Noradrenalin Stammlösung [10⁻³ mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Noradrenalins (MW 169,18 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10⁻⁶ mol/l verwendet.

2.1.5.2.8. ODQ

ODQ hemmt die lösliche Guanylatzyklase. Die lösliche Guanylatzyklase führt über eine Steigerung der Konversionsrate von GTP zu cGMP zu einer Vasodilatation. Es wurde eine ODQ Stammlösung [10^{-2} mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des ODQ (MW 187,2 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in DMSO gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10^{-5} mol/l verwendet.

2.1.5.2.9. Propranolol

Propranolol ist ein unselektiver β -Rezeptorblocker. Es wurde eine Propranolol Stammlösung [10^{-3} mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Propranolol hydrochlorids (MW 295,8 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10^{-6} mol/l verwendet.

2.1.5.2.10. Urapidil

Urapidil ist ein selektiver α_1 -Rezeptorblocker. Es wurde eine Urapidil Stammlösung [10^{-2} mol/l] hergestellt. Dazu wurde die pulverisierte Form des Urapidil hydrochlorids (MW 423,94 g/mol) der Firma Sigma-Aldrich in aqua dest. gelöst. Im Organbad wurde die Konzentration 10^{-5} mol/l verwendet.

2.2. Materialien

2.2.1. Geräte

Absaugpumpe, KNF LAB Laboport

Analog- Digital- Wandler, ADInstruments

Filter Filtropur, SARSTEDT

Langendorff- Apparatur, ADInstruments, Deutschland

Magnetrührer IKA RH basic 2

Messverstärker, ADInstruments

Mikroskop, Olympus SZ

Organbad, EXPERIMETRIA LTD., BIOMEDICAL RESEARCH, MANUFACTURER,
Hungary

Pipetten, Eppendorf AG

Pipettenspitzen, Eppendorf AG

PowerLab, ADInstruments

Vortex Genie, JANKE & KUNKEL IKA Labortechnik

Waage, Sartorius

Centrifuge 5415, Eppendorf AG

2.3. Präparationen

2.3.1. Präparation der Aorta und des Magenfundus

Wistar und CD Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Alter von 200-250 Tagen und einem Gewicht zwischen 300-500 g werden gemäß Tierschutzgesetz (§4 TierSchG) getötet. Dazu werden sie mit Äther narkotisiert und anschließend mittels Dekapitierung durch eine Guillotine getötet.

Zur Organentnahme werden Abdomen und Thorax vorsichtig eröffnet. Durch Beseitigung der Rippen, des Zwerchfells und der Lunge wird die thorakale Aorta freigelegt und anschließend unter traumaarmen Bedingungen entnommen. Zur Herstellung der Spiralschnitte, an denen die isometrische Kontraktionskraft gemessen werden soll, wird die Aorta in einer Präparierschale mittels zweier Stecknadeln, die am Rand ins Lumen eingeführt werden, fixiert. Dies erfolgte ebenfalls traumaarm und ohne Spannung. Zum Schneiden wird eine feine Pinzettenschere verwendet. Die Präparation wird unter einem Kaltlichtmikroskop bei angemessener Vergrößerung durchgeführt. Dabei ist das Organ stetig von Präparierlösung umgeben und bedeckt. Bevor die Spiralschnitte angefertigt werden, wird das Gewebe von Fett- und Bindegewebe befreit. Während der kompletten Präparation wird eine Beschädigung des Endothels vermieden. Hierzu wird die Berührung des Präparationsbestecks mit dem Endothel weitestgehend vermieden.

Das entstandene Aortenstück wird anschließend in 2 x 10 mm große Streifen geschnitten und auf einer Silikonplatte in der Präparierschale festgepinnt. Das Endothel zeigt dabei nach oben, um es schonend zu behandeln.

Der Magen der Tiere wird, ohne diesen zu beschädigen, aus dem eröffneten Abdomen entnommen. Anschließend wird er ebenfalls in einer Präparierschale festgepinnt und mit Präparierlösung bedeckt. Unter einem Kaltlichtmikroskop in angemessener Vergrößerung werden 2 x 10 mm große Streifen des Magenfundus von außen bis auf die Submucosa abpräpariert. Um die Gewebe der Aorta und des Magens an den dafür vorgesehenen Organhaltern befestigen zu können, wird jeweils an die kurzen Enden ein langer und ein

kurzer Garnfaden geknüpft. Der kurze Faden wird am Organhalter fixiert und dann das Präparat samt Organhalter direkt in ein 37°C warmes, mit Krebslösung gefülltes Organbad überführt. Der lange Faden wird mit einem Kraft-Spannungswandler verbunden. Im letzten Schritt werden die Präparate einer leichten Vorspannung von 5 mN unterzogen.

Die Registrierung von mechanischer und elektrischer Aktivität beginnt direkt nach Einbringung der Präparate in die Organbäder. Die Testung jeglicher Substanzen wird frühestens nach 30 minütiger Equilibrierung durchgeführt.

2.3.2. Herzpräparation

Wistar und CD Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Alter von 100-150 Tagen und einem Gewicht von 200-300 g werden mit Rompun 2% 0,44 ml/100 g Körpergewicht und Ketanest 0,06 ml/100 g Körpergewicht narkotisiert. Der Thorax der Ratten wird eröffnet und das Herz freigelegt. In die Herzspitze des noch schlagenden Herzens wird 1 ml 25.000 IE Heparin (ratiopharm) gespritzt. Anschließend wird das Herz samt Aortenbogen aus der Ratte entnommen und in kardioplege Lösung gelegt. Unter einem Kaltlichtmikroskop bei einer angemessenen Vergrößerung wird überschüssiges Fett- und Bindegewebe entfernt. Der Aortenbogen wird freipräpariert und der linke Vorhof entfernt. Anschließend wird der Aortenstumpf über eine Kanüle der Langendorff-Apparatur gezogen und festgebunden. In den linken Ventrikel wird über den entfernten linken Vorhof ein mit destilliertem Wasser gefüllter Latexballonkatheter eingeführt.

2.4. Versuchsaufbau

2.4.1. Langendorff-Apparatur

Die Experimente an den entnommenen Herzen werden mit der Langendorff-Apparatur durchgeführt. Über eine Rollerpumpe wird Perfusat aus zwei Vorratsbehältern zum Herzen transportiert. Das Perfusat wird über einen Parallelkreislauf mittels Zirkulationsthermostat auf 37°C (+/- 0,5) erwärmt und über eine am Boden der Vorratsbehälter mündenden Fritte mit Carbogengas versorgt. Ein zusätzlicher Wärmemantel um das Herz ermöglicht eine kontinuierliche Kontrolle der Temperatur des Herzens. Das erwärmte und begaste Perfusat wird über die im Aortenstumpf befindliche Kanüle in das Herz geleitet. Da dies einer retrograden Perfusion der Aorta entspricht, kommt es zum Verschluss der Aortenklappen

und die Lösung wird in die Koronararterien geleitet. Dies entspricht der physiologischen Versorgungsrichtung des Herzens über das Koronargefäßbett. Die Herzvorhöfe und die Ventrikel sind während der gesamten Versuche leer. Kurz über der Aortenkanüle befindet sich ein Abzweig zu einem Druckmesssystem (Combitrans Transducer), welches die Registrierung des koronaren Perfusionsdruckes ermöglicht. Das Signal wird über einen Brückenverstärker verstärkt und in einem PC verarbeitet. Die Perfusion wird über Einstellung der Rollerpumpe konstant gehalten und ermöglicht so, den koronaren Perfusionsdruck als Maß für den koronaren Gefäßwiderstand zu registrieren.

Der Latexballon im linken Ventrikel ist ebenfalls über einen Schlauch mit einem Druckmesssystem gekoppelt und ermöglicht so die Registrierung des linksventrikulären systolischen und diastolischen Druckes. Dies kann als Maß der Kontraktilität gewertet werden. Auch hier werden die gemessenen Signale über einen Brückenverstärker verstärkt und von einem PC verarbeitet. Aus diesen Daten kann zusätzlich die Herzfrequenz ermittelt und aufgezeichnet werden. Über zwei Einstichelektroden unterhalb des rechten Vorhofs und an der Herzspitze kann zusätzlich ein EKG abgeleitet werden. Die Speicherung der Messungen erfolgt über einen PC. Die Verarbeitung und Auswertung der Daten erfolgt über die Software Chart5 for Windows von ADInstruments. Bevor das Herz in die Langendorff-Apparatur überführt wird, muss das gesamte Schlauchsystem mit der Langendorff-Perfusionslösung luftblasenfrei befüllt werden. Danach wird das Herz über die Kanüle im Aortenstumpf in die Apparatur eingehängt. Die Rollerpumpe wird auf einen konstanten Fluss von 6 ml/min eingestellt.

2.4.1.1. Kalibrierung des Messgerätes

Druckkalibriert wird das Messgerät mittels einer Zweipunktkalibrierung über eine 21 cm hohe Wassersäule, welche einen hydrostatischen Druck von 14,7 mmHg erzeugt. Das durch den Druck der Wassersäule entstehende Signal wird am PC auf 14,7 mmHg eingestellt. Lastet der Druck der Wassersäule nicht mehr auf dem Messfühler, entspricht dieser Druck 0 mmHg und wird ebenfalls im Messprogramm eingestellt.

2.4.2. Organbadexperimente

Die Experimente an den Aortenstücken und den Magenpräparaten werden im Organbad durchgeführt. Dieses besteht aus einer Aufnahme für fünf temperierte Organbehälter mit einem Fassungsvermögen von je 30 ml, welche über einen getrennten Kreislauf mittels

Zirkulationsthermostat auf einer Temperatur von 37°C (+/- 0,5°C) gehalten werden. Oberhalb der Organbehälter befinden sich Vorratsbehälter für frische Krebslösung. Diese werden ebenfalls durch den Parallelkreislauf auf 37°C vorgewärmt und stehen mit den Organbehältern über ein Schlauchsystem in Verbindung. Über ein Pumpsystem kann die verwendete Krebslösung aus den Organbehältern abgesaugt und durch die Vorratsbehälter neu befüllt werden. Im unteren Teil der Organbehälter mündet die Fritte, über die das Carbogengas in die Lösung entweicht. Die Kontraktionen und Dilatationen der Aortenpräparate werden mit einem Kraft- Spannungswandler gemessen. Dieser befindet sich knapp über dem Organbehälter und ist vertikal einstellbar. Das transduzierte mechanische Signal wird mittels Messverstärker verarbeitet. Der Messverstärker ist mit einem Analog-Digital-Wandler verbunden. Die Speicherung der Messungen erfolgt über einen PC. Die Verarbeitung und Auswertung der Daten erfolgt mit der Software Chart5 for Windows von ADInstruments.

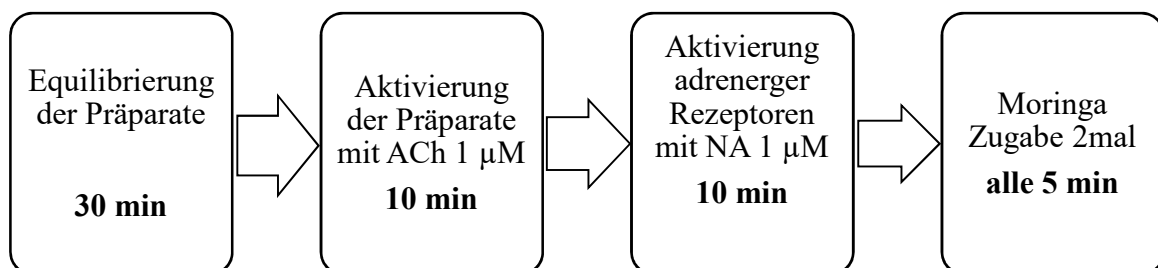
2.4.2.1. Kalibrierung des Messgerätes

Kalibriert wird das Messgerät mittels einer Zweipunktkalibrierung mit einer Kraft von 10,7 mN. Das Gewicht wird für jeweils 20 Sekunden an den Kraft-Spannungswandler angehängt. Der Kraftausschlag, den der Computer anzeigt, wird auf 10,7 mN eingestellt. Das Signal des unbelasteten Kraftwandlers entspricht 0 mN.

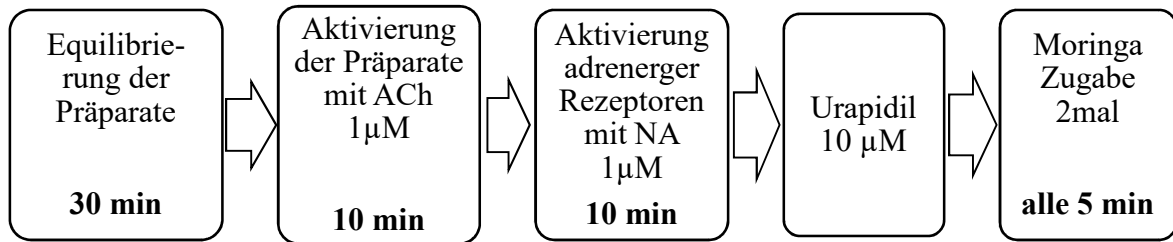
2.5. Versuchsdurchführung

2.5.1. Organbadexperimente an Magenfunduspräparaten

Als orientierende Studien werden Organbadexperimente an Magenfunduspräparaten durchgeführt. Dies soll den Einfluss des Moringas auf glatte Muskulatur außerhalb des Gefäßsystems aufzeigen. Der Versuchsaufbau stellt sich folgendermaßen dar:

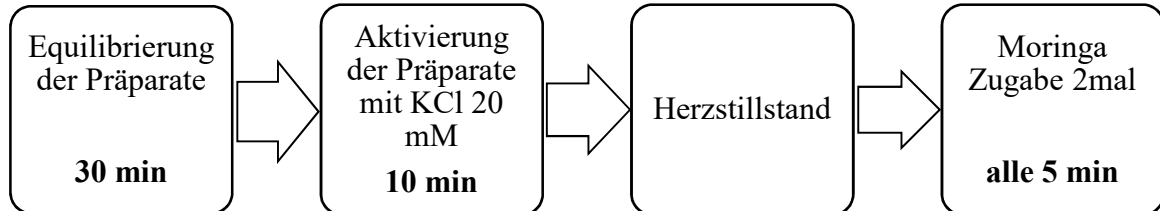


Um den Einfluss der α_1 -Rezeptoren auf die Moringawirkung zu testen, wird das Versuchsschema erweitert und Urapidil [10 μM] vor der Moringagabe hinzupipettiert:



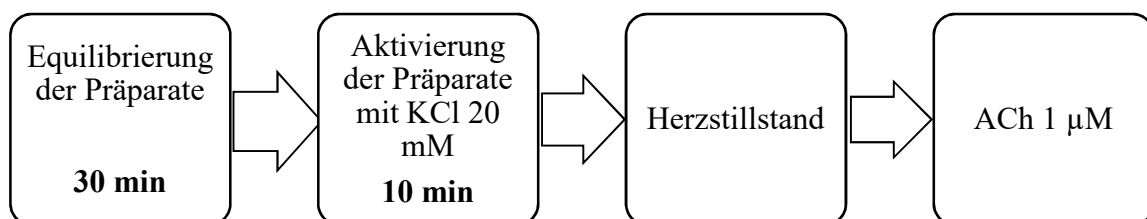
2.5.2. Experimente am perfundierten Herzen nach Langendorff

Um den Einfluss des Moringas auf die Herzversorgung, also auf die koronare Perfusion zu untersuchen, wurden Studien am perfundierten Herzen nach Langendorff durchgeführt. Nach Einbringung der Herzen in die Langendorff-Apparatur wurden diese einer 30 minütigen Equilibrierungsphase unterzogen. Der weitere Verlauf stellte sich folgendermaßen dar:



Nach Erhöhung der Kaliumkonzentration in der Perfusionslösung kam es zum Herzstillstand. Da die Perfusion der Koronarien über die Rollerpumpe konstant gehalten wurde, konnten trotz Herzstillstand die durch Moringa hervorgerufenen Veränderungen der Koronarienperfusion gemessen werden.

In einem weiteren Schritt wurde als Kontrolle der Einfluss von ACh auf die koronare Perfusion gemessen:

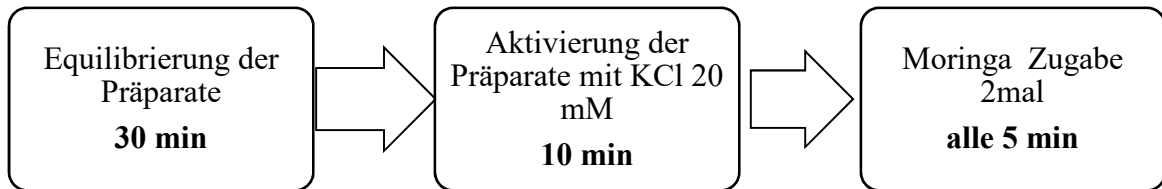


Die Reaktionen wurden miteinander verglichen.

2.5.3. Organbadexperimente an Aortenpräparaten

Die Experimente umfassten vier verschiedene Schemata.

Das Ausgangsexperiment an den Aortenpräparaten stellte sich folgendermaßen dar:



Die Präparate werden auf eine Vorspannung von 5 mN vorgedehnt. Nach einer 30 minütigen Equilibrierungsphase wird die extrazelluläre Kaliumkonzentration auf 20 mM erhöht und die Präparate so aktiviert. Nachdem die gemessene Kontraktion nach ca. 10 Minuten ihr Maximum erreicht hat, wird Moringa in den Konzentrationen 112,5 µg/ml und 225 µg/ml in einem Abstand von 5 Minuten hinzupipettiert. Die Reaktion wird gemessen. Abbildung 4 zeigt den typischen Verlauf der Reaktion auf Moringa nach KCl Stimulation.

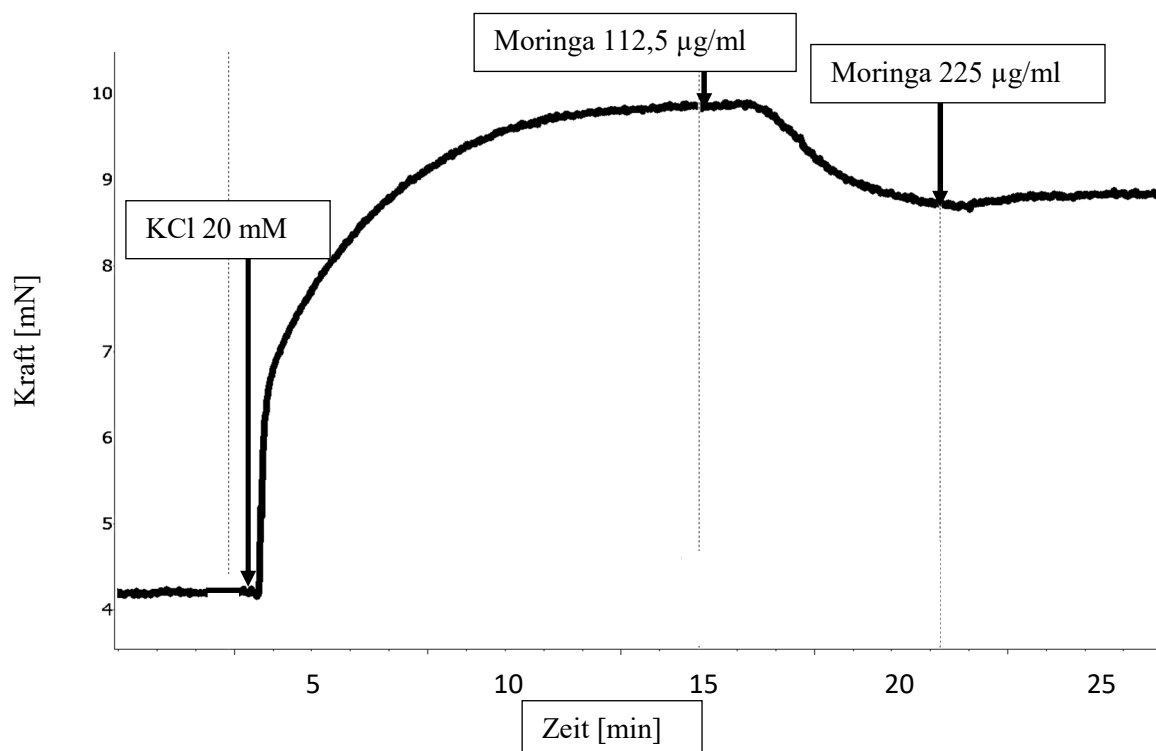


Abbildung 3: Reaktion eines mit KCl aktivierten Aortenpräparates auf Moringa. Beispiel einer Originalregistrierung.

Um die Präparate auf die Funktionalität ihres Endothels zu testen, wird das Schema erweitert:

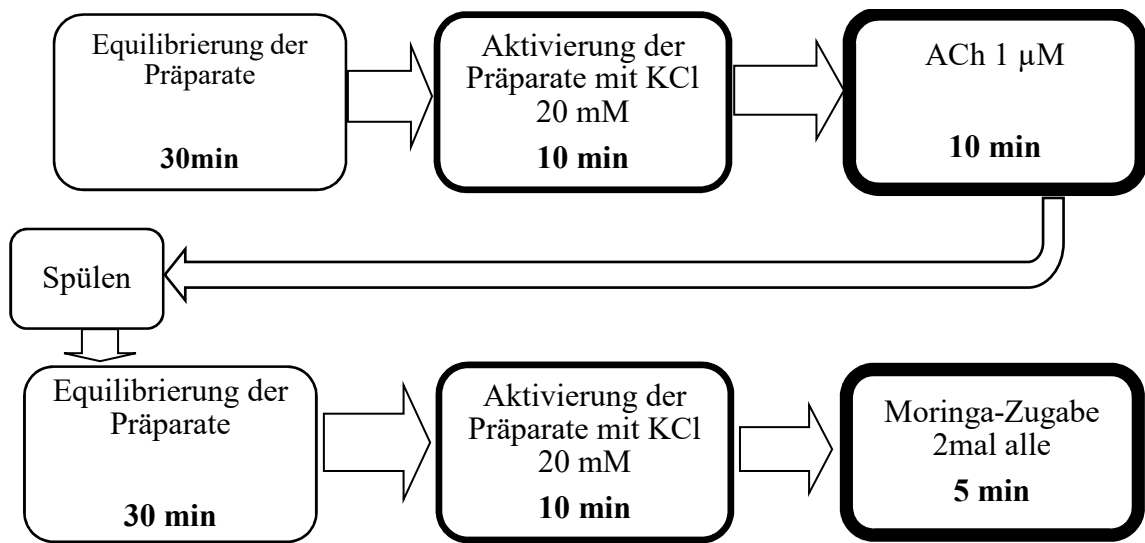


Abbildung 4: Erweiterung des Schemas A. Durch die Zugabe von ACh 10^{-6} mol/l werden die Präparate auf die Funktionstüchtigkeit ihres Endothels hin getestet.

Durch Zugabe von ACh [$1 \mu\text{M}$] wird das Endothel auf seine Funktionalität getestet. Abbildung 5 zeigt die typische Reaktion auf eine Endotheltestung.

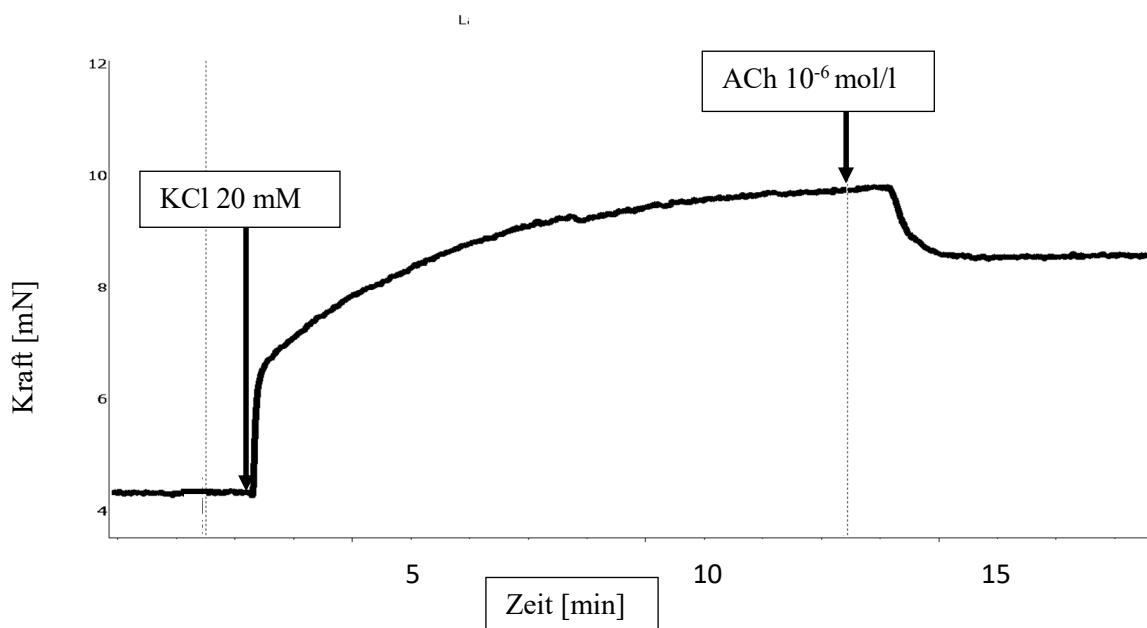
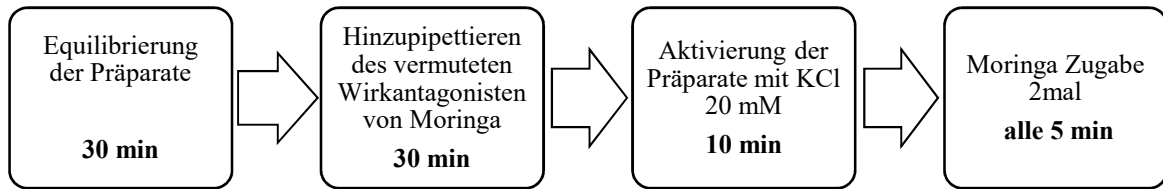


Abbildung 5: Testung der Funktionsfähigkeit des Endothels mit ACh $1 \mu\text{M}$. Beispiel einer Originalregistrierung.

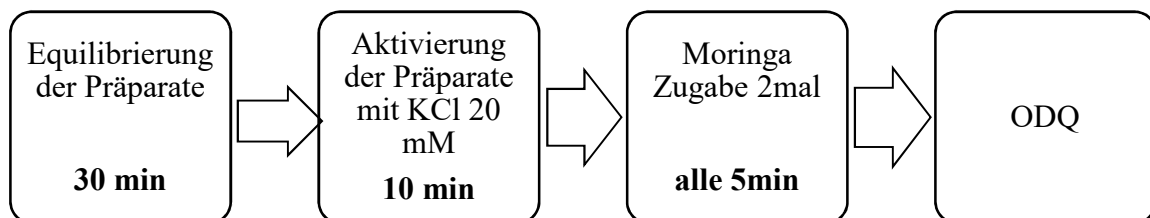
Zur Messung des Einflusses verschiedener Substanzen auf die durch Moringa hervorgerufene Reaktion wird folgendes Versuchsschema durchgeführt:



Vor jedem Experiment werden die Präparate wie in Abbildung 4 beschrieben auf die Funktionalität ihres Endothels getestet.

Die vermuteten Wirkantagonisten von Moringa sind Atropin [1 μM], Cimetidin [10 μM], Indometacin [10 μM], L-NAME [100 μM], MRS2179 [10 μM], Noradrenalin [1 μM], ODQ [10 μM], Propranolol [1 μM] und Urapidil [10 μM].

Um die Wirkung des ODQ zu sichern, wird ein weiteres Versuchsschema angewandt:



ODQ [10 μM] wird nach der Moringagabe hinzupipettiert, um die Wirkung des ODQ auf die bereits erfolgte Reaktion durch Moringa zu testen.

2.6. Methode der Statistik

Zur Darstellung der Ergebnisse der Organbadversuche wurden Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) in Prozent berechnet und in Bezug auf die jeweilige Kaliumkontraktion, die als Vergleichsparameter mit 100% gleichgesetzt wurde, angegeben. Zur Darstellung der Ergebnisse der Langendorff-Experimente wurden Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) in Prozent berechnet und in Bezug auf

den jeweiligen Grundtonus, der als Vergleichsparameter mit 100% gleichgesetzt wurde, angegeben.

Die statistische Auswertung wurde unter Annahme einer Normalverteilung der Messwerte vorgenommen.

Für die Kontraktionsmessungen der Einzelnextrakte erfolgte ein Vergleich der Mittelwerte für abhängige Stichproben durch zweiseitigen t-Test in IBM SPSS Statistics Version 22. Das Signifikanzniveau wurde auf $*p < 0,05$ festgelegt, in Einzelfällen konnte noch $**p < 0,01$ angegeben werden (vgl. Ergebnisteil). Für Tests mit einer geringen Stichprobenzahl weisen die statistischen Verfahren nur eine geringe Power auf und es müssen vorallem die Resultate jener Tests mit geringer Stichprobenzahl, die keine Signifikanz erreichen, kritisch interpretiert werden. Trotzdem ist es möglich auch bei einer geringen Stichprobenzahl den t-Test anzuwenden (de Winter 2013).

3. Ergebnisse

3.1. Organbadexperimente

3.1.1. Experimentelle Ausgangssituation und Versuchsplanung

Aus früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe war bekannt, dass Moringa am glatten Muskel und am Gefäßmuskel motorische Reaktionen auslöst. An der glatten Muskulatur des Magens wurden bisweilen exzitatorische Reaktionen beobachtet, wohingegen an Gefäßen anscheinend eine relaxierende Komponente überwog. Bisher konnten diese gemessenen Reaktionen keinem System zugeordnet werden. Zunächst sollten diese Ergebnisse reproduziert werden, um darauf aufbauend diese Effekte genauer zu untersuchen und systematisch zu entschlüsseln.

3.1.2. Orientierende Studien an Magenfunduspräparaten

Um den Einfluss von Moringa auf die glatte Muskulatur zu untersuchen, wurden Magenfunduspräparate mit ACh 2×10^{-6} mol/l aktiviert. Nach Aktivierung des cholinergen Systems wurde das adrenerge System mittels NA 10^{-6} mol/l aktiviert. Dies erzeugte regelhaft eine partielle Relaxation. Durch die Aktivierung des cholinergen und adrenergen Systems lässt sich jedwede Interaktion mit Moringa detektieren. Auf das so voraktivierte Gewebe wurde Moringa in den Konzentrationen 112,5 µg/ml und 225 µg/ml hinzupipettiert. Abbildung 6 zeigt die Reaktion eines Magenfunduspräparates auf die verschiedenen Reize. Wie man sieht, wird durch die Moringagabe eine exzitatorische Reaktion hervorgerufen. Setzt man den verbliebenen Tonus nach NA-Gabe mit 100% gleich, so erzeugt Moringa im Mittel (n=3) eine Tonuszunahme um 38,11% ($\pm 15,7\%$ SEM). Diese Tonuszunahme ist statistisch nicht signifikant.

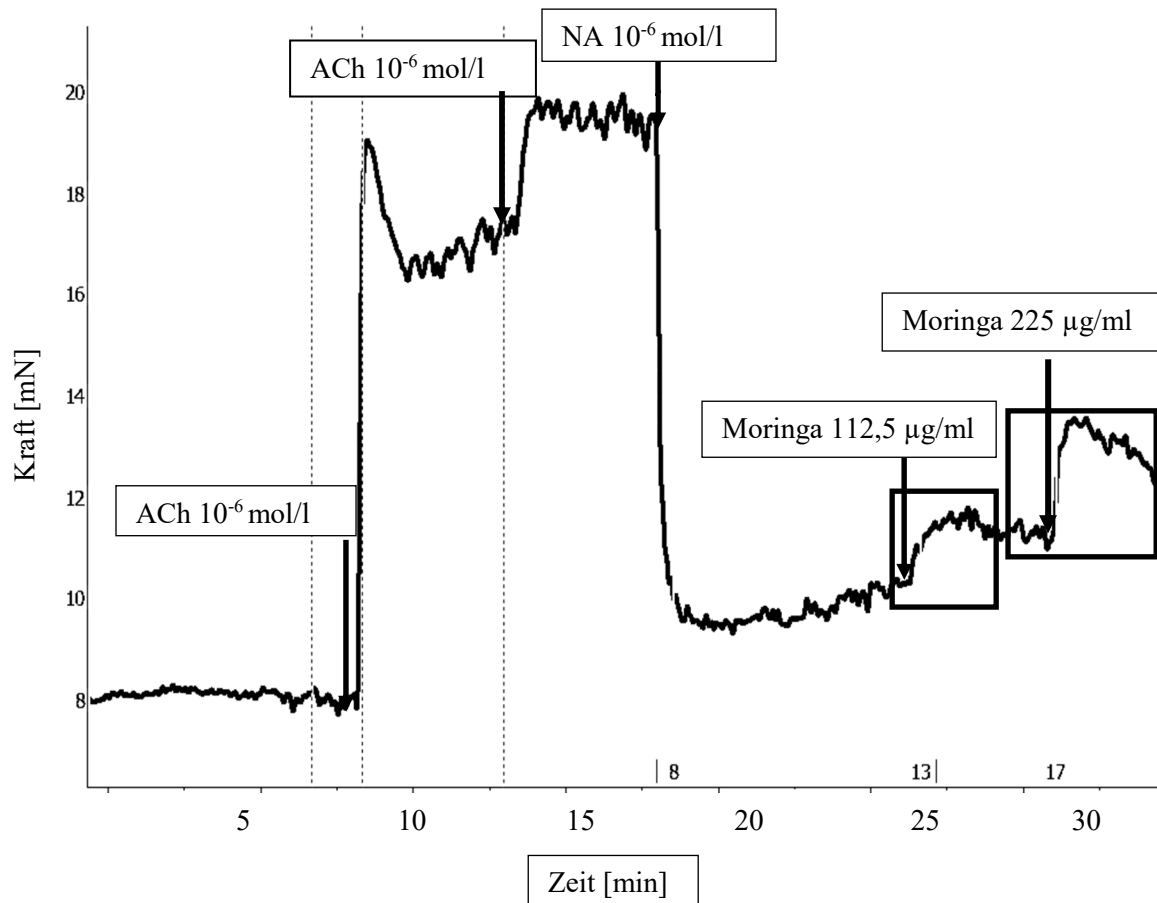


Abbildung 6: Reaktion eines Magenfunduspräparates auf ACh, NA und Moringa. Die markierten Bereiche zeigen die durch Moringa hervorgerufenen exzitatorischen Reaktionen. Beispiel einer Originalregistrierung.

In weiteren Experimenten wurde das Ziel verfolgt, den Rezeptor, über den Moringa seine scheinbar exzitatorische Wirkung am Magen vermittelt, zu identifizieren. Dazu wurde Urapidil 10^{-5} mol/l als selektiver α_1 -Rezeptorantagonist vor der Moringagabe hinzupipettiert. Abbildung 7 zeigt die Reaktion eines Magenfunduspräparates auf die Konditionierung mit ACh, NA und Urapidil. Der Tonus wird durch die Urapidilgabe stark gehemmt, woraus man schließen kann, dass an diesem Präparat viele α_1 -Rezeptoren vorhanden sind, die durch Urapidil effektiv blockiert werden. In diesem Szenario wirkt Moringa nur sehr schwach exzitatorisch, was als Interaktion zwischen Moringa und α_1 -Rezeptor interpretiert wird.

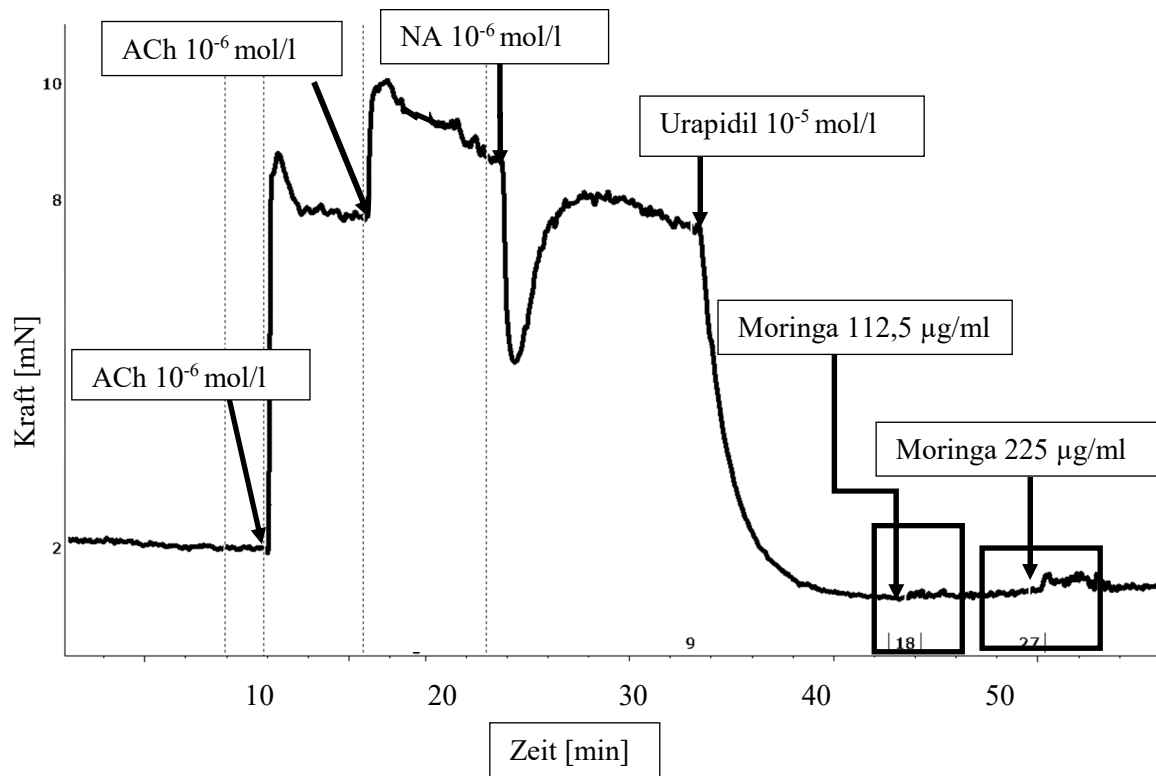


Abbildung 7: Reaktion eines Magenfunduspräparates auf Moringa unter Blockade der α_1 -Rezeptoren mittels Urapidil. Die markierten Bereiche zeigen eine stark abgeschwächte exzitatorische Reaktion auf Moringa.

Auf diese orientierenden Ergebnisse wird in der Diskussion genauer eingegangen.

3.2. Langendorff- Experimente

Um den Effekt des Moringas auf das Koronarbett zu testen wurden Experimente am Langendorff- Herzen durchgeführt. Nachdem sich die Herzen mindestens 30 Minuten equilibriert haben, wurden die glatten Gefäßmuskelzellen der Koronararterien mit KCl 20 mM aktiviert. Anschließend wurde Moringa in den Konzentrationen 112,5 $\mu\text{g/ml}$ und 225 $\mu\text{g/ml}$ hinzupipettiert (Abb. 8). Wie man in Abbildung 8 erkennen kann, zeigte sich auf den Moringa-Reiz keine Abnahme des Druckes in den Koronarien, was auf eine Dilatation der Gefäße schließen lassen würde. Im Gegenteil, der Druck nahm unter Moringa signifikant zu. Diese Druckzunahme betrug durch Moringa 225% ($\pm 24,43\%$ SEM) ($n=3$) des Grundtonus nach KCl Gabe (100%).

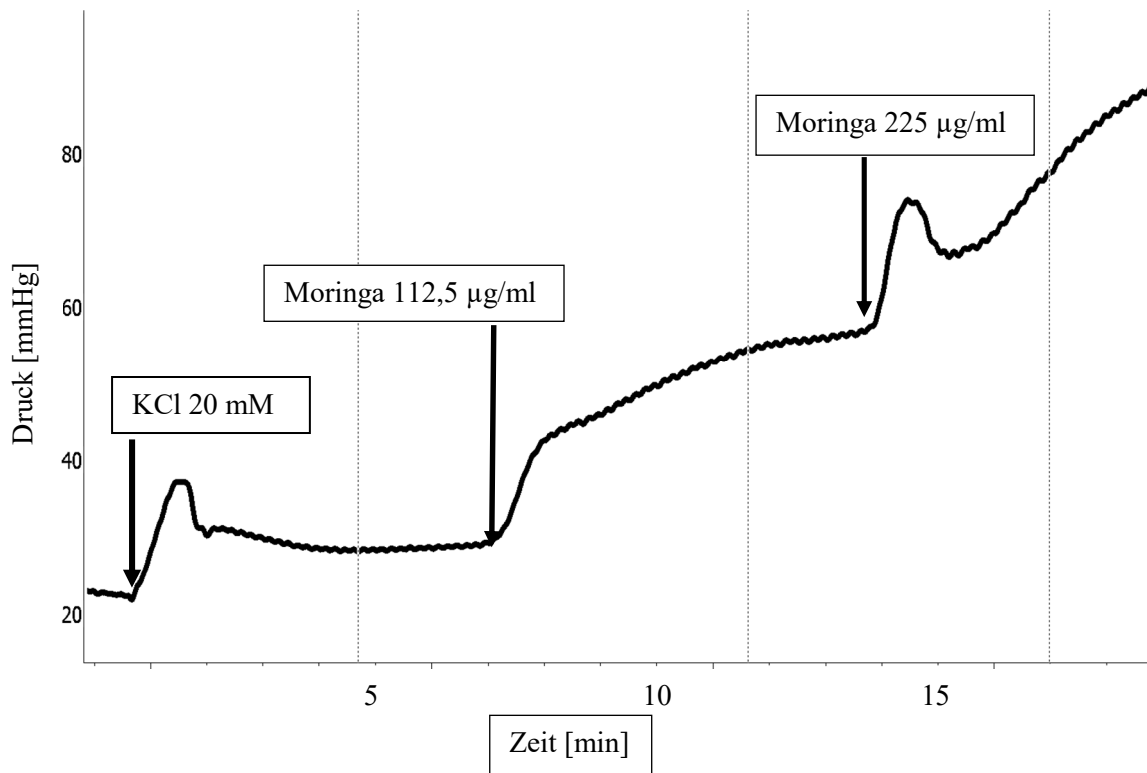


Abbildung 8: Beeinflussung des Druckes in den Koronararterien durch KCl und Moringa. Gezeigt wird der Anstieg des Druckes in den Koronararterien auf die Zugabe von Moringa. Beispiel einer Originalregistrierung.

Die Ergebnisse der gezeigten Experimente an Magenfunduspräparaten und an dem perfundierten Herzen nach Langendorff zeigen in erster Linie exzitatorische Reaktionen, die auf eine Beteiligung von α_1 -Rezeptoren hindeuten. Am perfundierten Herzen nach Langendorff konnten jedoch zum Teil auch biphasische Reaktionen gemessen werden, d.h. es waren nach einer starken exzitatorischen Antwort durch Moringa-Applikation auch inhibitorische Reaktionen zu beobachten. Hinzu kommt, dass neben dem Druckanstieg, der der direkten Moringa-Applikation zuzuordnen war, es auch zu einer kontinuierlichen Zunahme des Drucks über der Zeit kam. Insbesondere Mehrfachapplikationen sind so schwer zu interpretieren. Deshalb wurde die Strategie der weiteren Experimente geändert und Experimente an der thorakalen Aorta der Ratte durchgeführt, um zu erarbeiten, ob an diesem Modell eindeutige Ergebnisse erzielt werden können.

3.3. Untersuchung der adrenergen Signalkaskade an Aortenpräparaten

Aufgrund der Ergebnisse der Experimente an Magenfunduspräparaten, musste angenommen werden, dass Moringa seine Wirkung über die adrenerge Signalkaskade vermittelt. Um das Vorhandensein adrenerger Rezeptoren zu belegen, wurde nach der Aktivierung mittels KCl NA 10^{-6} mol/l hinzupipettiert. Der Tonus stieg daraufhin an (Abb. 9a), wodurch in diesen Experimenten die maximale Kontraktion nach NA Gabe, die die 100% der KCl Kontraktion überschreitet, als Vergleichsparameter gesehen werden.

Wie schon in den Experimenten an den Magenfunduspräparaten, wurde Urapidil 10^{-5} mol/l verwendet. Abbildung 9 zeigt die Reaktion der Präparate (n=6) auf die beschriebene Vorgehensweise. Nach Urapidilgabe nimmt der Tonus im Mittel um 37,74% ($\pm 16,74\%$ SEM) (verglichen mit dem Tonus nach NA-Gabe =100%) ab. Unter Moringa sinkt der nach Urapidil-Gabe verbliebene Tonus weiter signifikant um im Mittel 18,53% ($\pm 4,29\%$ SEM). Dieses Ergebnis wurde als Hinweis gewertet, dass Moringa neben der exzitatorischen Komponente auch eine inhibitorische Reaktion erzeugt.

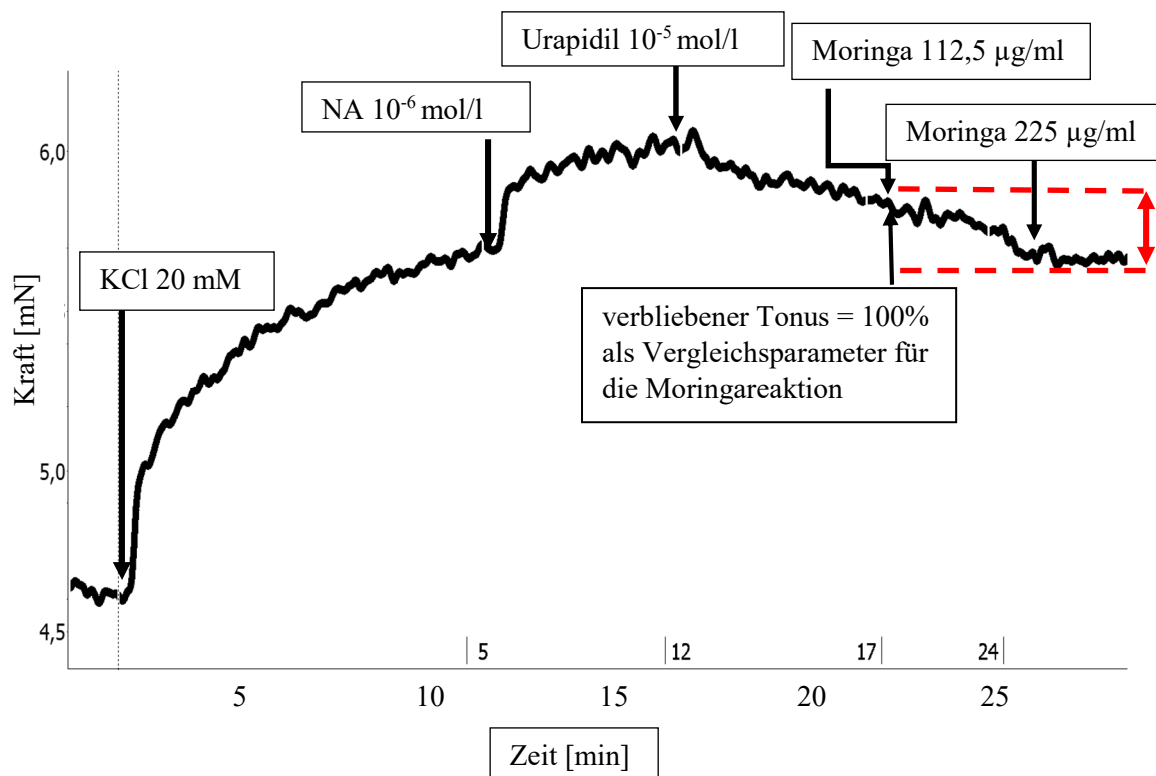


Abbildung 9a

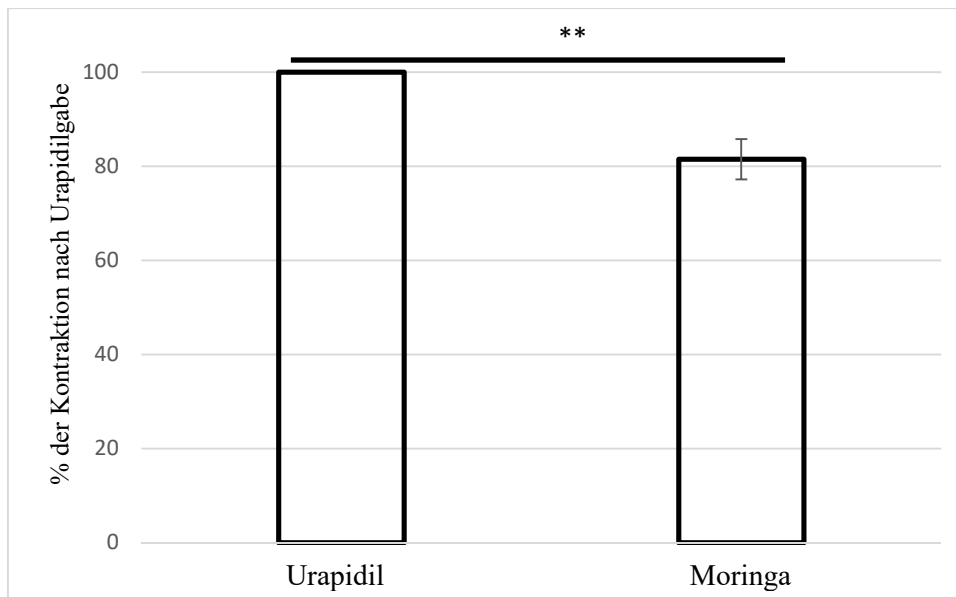


Abbildung 9b)

Abbildung 9: Wirkung von Urapidil an Gefäßstreifen (n=6)

Abbildung 9a) zeigt das Beispiel einer Originalregistrierung.

Abbildung 9b) zeigt die signifikante Tonusabnahme unter Moringa trotz Blockade der α_1 -Rezeptoren. Der nach Urapidilgabe verbliebene Tonus wurde als Vergleichsparameter mit 100% gleichgesetzt. Unter Moringa sinkt der Tonus um weitere 18,53% (\pm 4,29% SEM) $**p < 0,01$

Unter Blockade der β -Rezeptoren mittels Propranolol 10^{-6} mol/l ergab sich ein ähnliches Bild (hier nicht gezeigt) wie unter Urapidil.

3.4. Weiterführende Organbadexperimente an der thorakalen Aorta der Ratte

In den folgenden Experimenten wurden Aortenpräparate, wie auf Seite 27 unter 2.5.3. beschrieben, mit KCl aktiviert und die Wirkung von Moringa in steigenden Konzentrationen getestet.

In diesen und in allen weiteren Experimenten wurde die durch KCl hervorgerufene Kontraktion als Vergleichsparameter mit 100% gleichgesetzt. Abbildung 10 und 11 zeigen die Reaktionen der Aortenpräparate auf die Zugabe von Moringa in steigenden Konzentrationen.

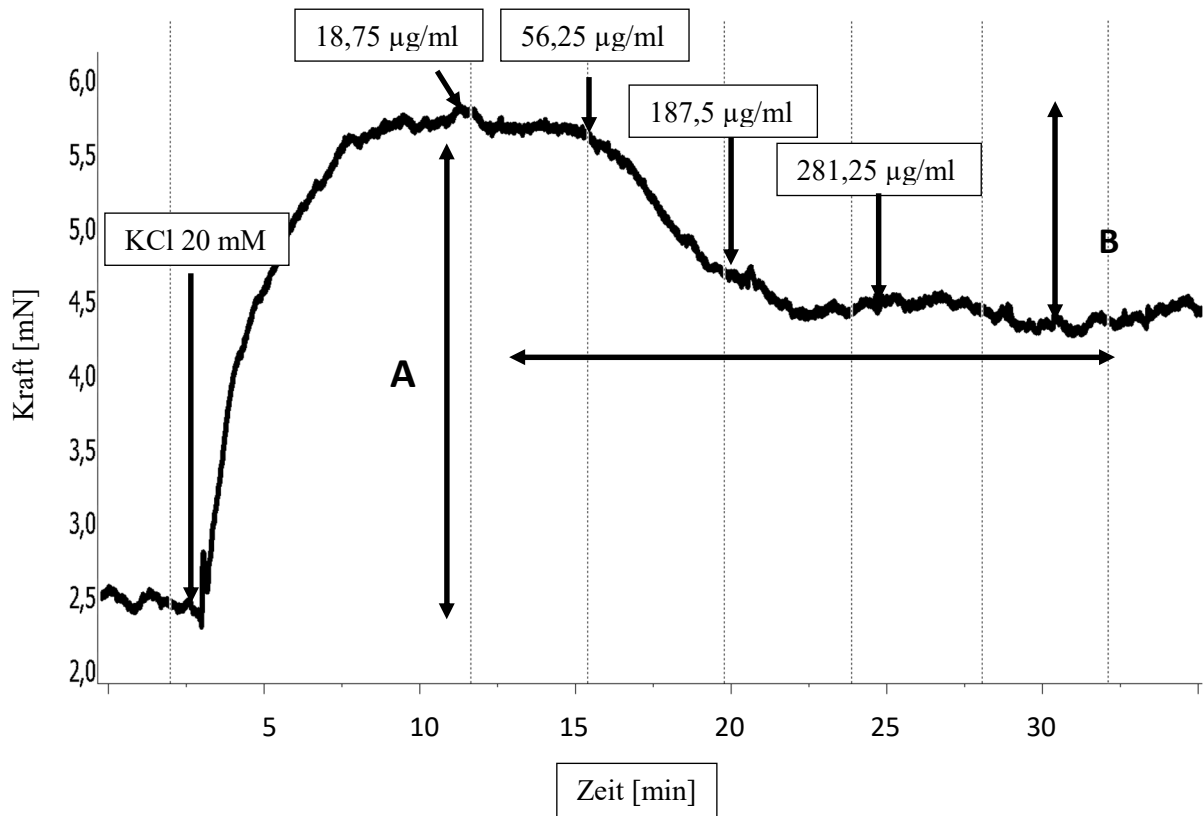


Abbildung 10: Dosisabhängige Wirkung von Moringa auf ein mit KCl vorstimuliertes Aortenpräparat. Ausgewertet wurde die durch KCl hervorgerufene Kontraktion A und die durch die ansteigenden Moringakonzentrationen hervorgerufene Relaxation B. Beispiel einer Originalregistrierung.

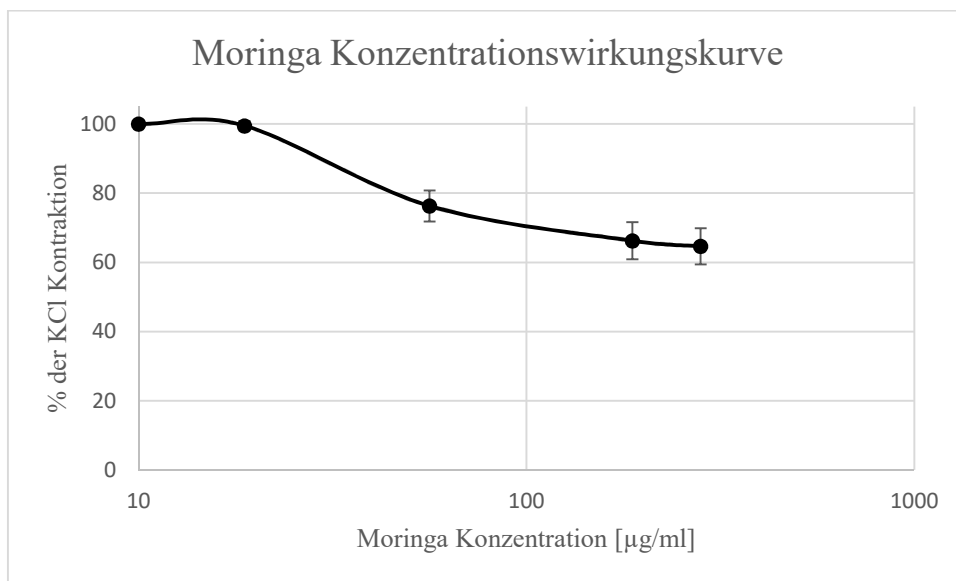


Abbildung 11a

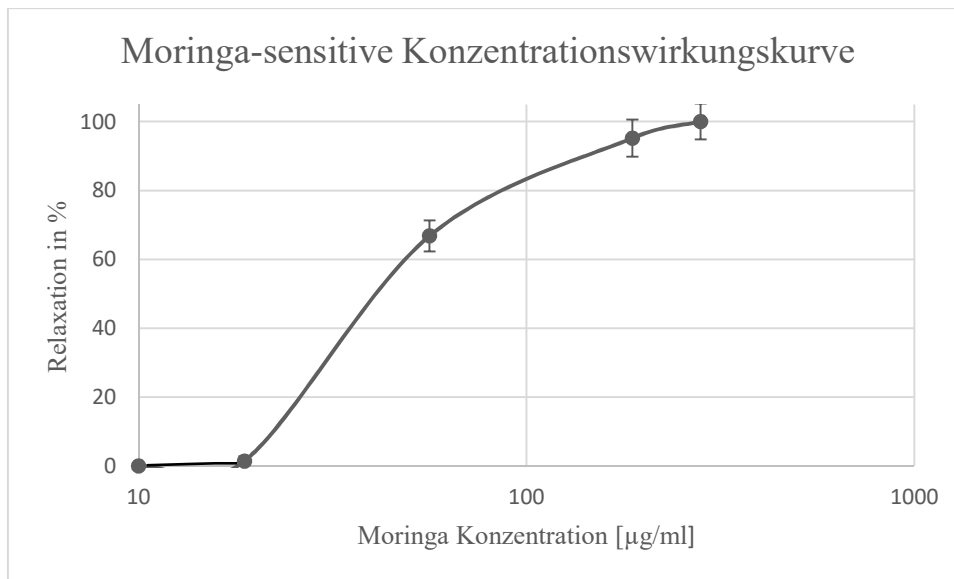


Abbildung 11b

Abbildung 11: Moringa Konzentrationswirkungskurve. Die Abbildung zeigt die Reaktion der mit KCl 20 mM aktivierten Aortenpräparate auf die Zugabe von Moringa in steigenden Konzentrationen. In Abbildung 11a wird die KCl Kontraktion als 100% gesetzt und die Abnahme der Kontraktion unter Moringa gezeigt. In Abbildung 11b wird der Moringa-sensitive Anteil aus 11a als steigende Relaxation dargestellt.

Es wurde eine Konzentrations-Wirkungskurve für Moringa erstellt. Anschließend wurden für die weiteren Experimente die Konzentrationen 112,5 µg/ml und 225 µg/ml gewählt, sodass sich eine kumulative Konzentration von 337,5 µg/ml im Organbad ergibt. Mit diesen Konzentrationen konnte man, wie sich aus der Konzentrations-Wirkungskurve entnehmen lässt, mit einer beinahe 100 prozentigen Wirkungsstärke von Moringa rechnen. Durch die Zugabe dieser Konzentrationen wurde im Mittelwert eine signifikante (**p<0,01) Relaxation um 39,31% (± 7,92% SEM) der vorher mit KCl aktivierten Aortenpräparate erzeugt (n= 10) (Abb.13). Außerdem konnte man bei dieser Konzentration davon ausgehen, dass das Lösungsmittel des Moringawirkstoffes DMSO keine eigene Wirkung entfaltet. Dieses wurde in Kontrollversuchen bestätigt (Abb.12).

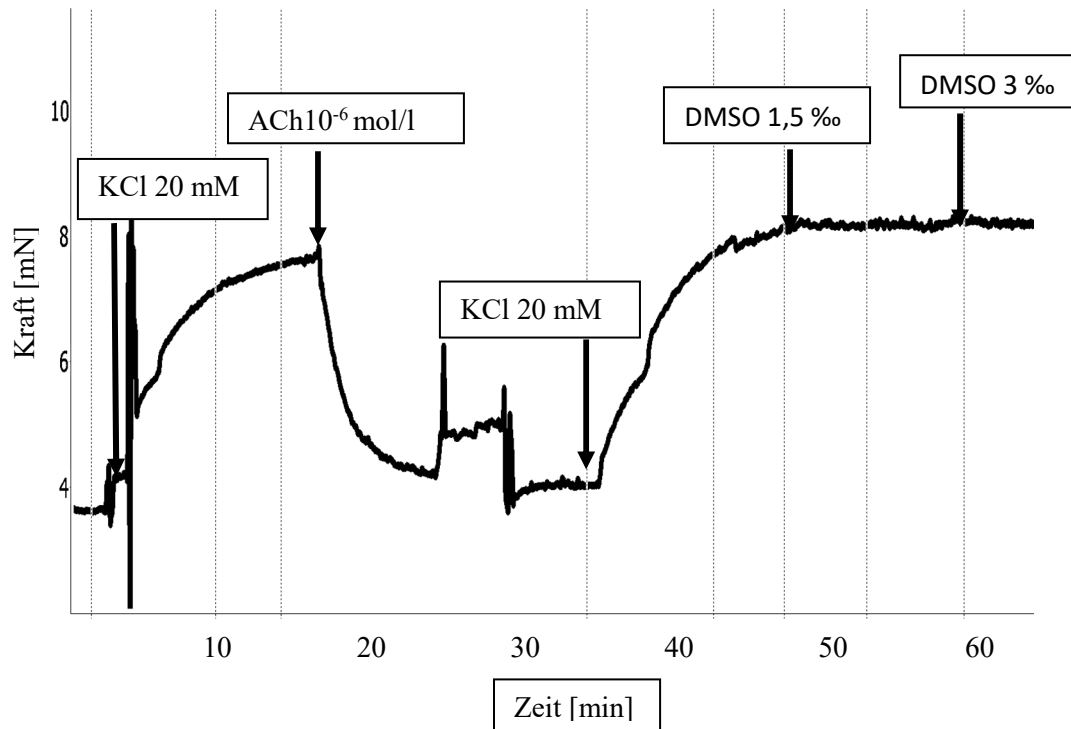
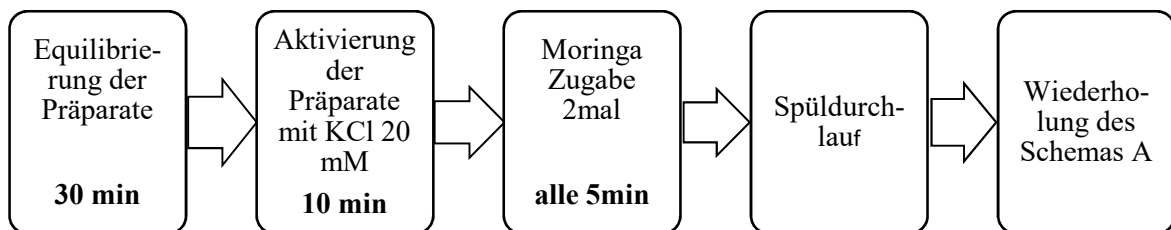
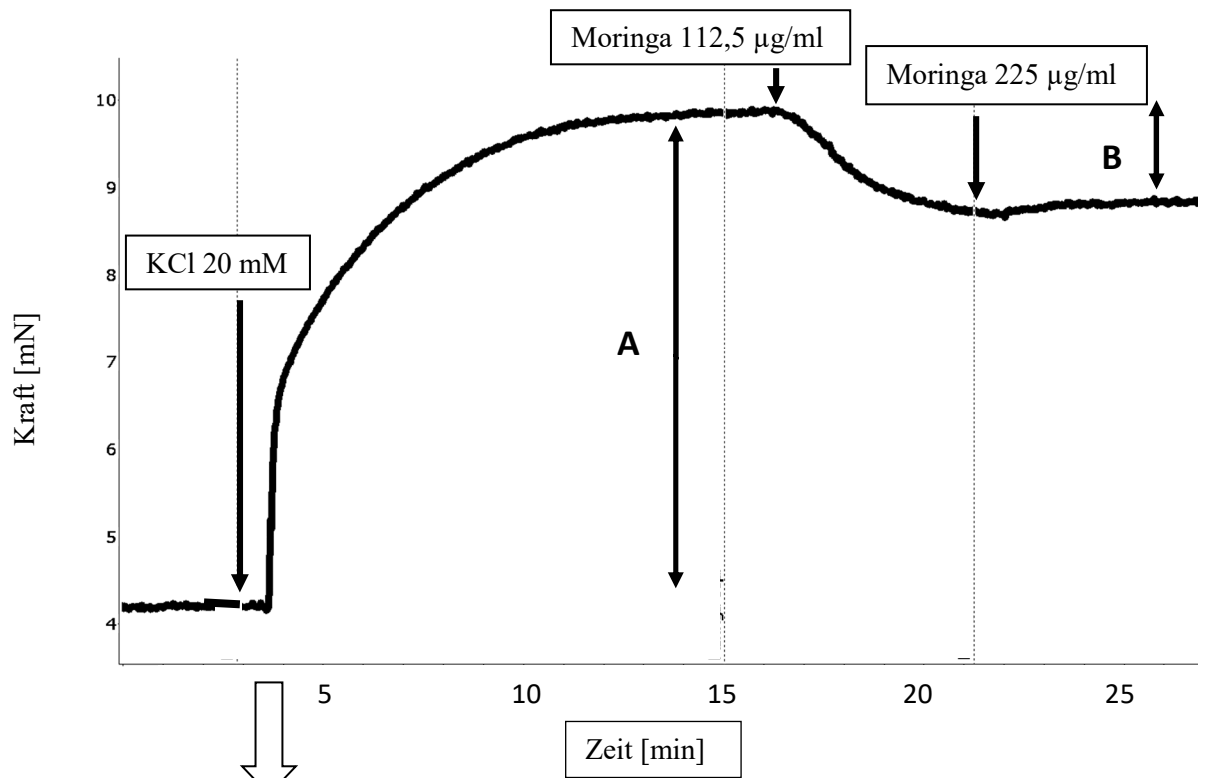


Abbildung 12: Reaktion eines Aortenpräparates auf ACh und DMSO.

Im nächsten Schritt wurde das gezeigte Versuchsschema insofern erweitert, dass Schema A nach einem Spüldurchlauf erneut wiederholt wurde.



Hierbei zeigte sich, dass bei erneuter Applikation von Moringa kein relaxierender Effekt im zweiten Durchlauf erzeugt werden konnte (Abb. 13). Der Tonus nahm im Mittel ($n=9$) um 5,9% ($\pm 3,95\%$ SEM) zu. Diese Tonuszunahme war statistisch nicht signifikant. In einem Kontrollexperiment wurde getestet, ob ACh 10^{-6} mol/l nach Moringagabe erneut zu einer Relaxation aktivierter Aortenpräparate führt. Hierbei konnte qualitativ eine erneute Relaxation gemessen werden.



Spüldurchlauf

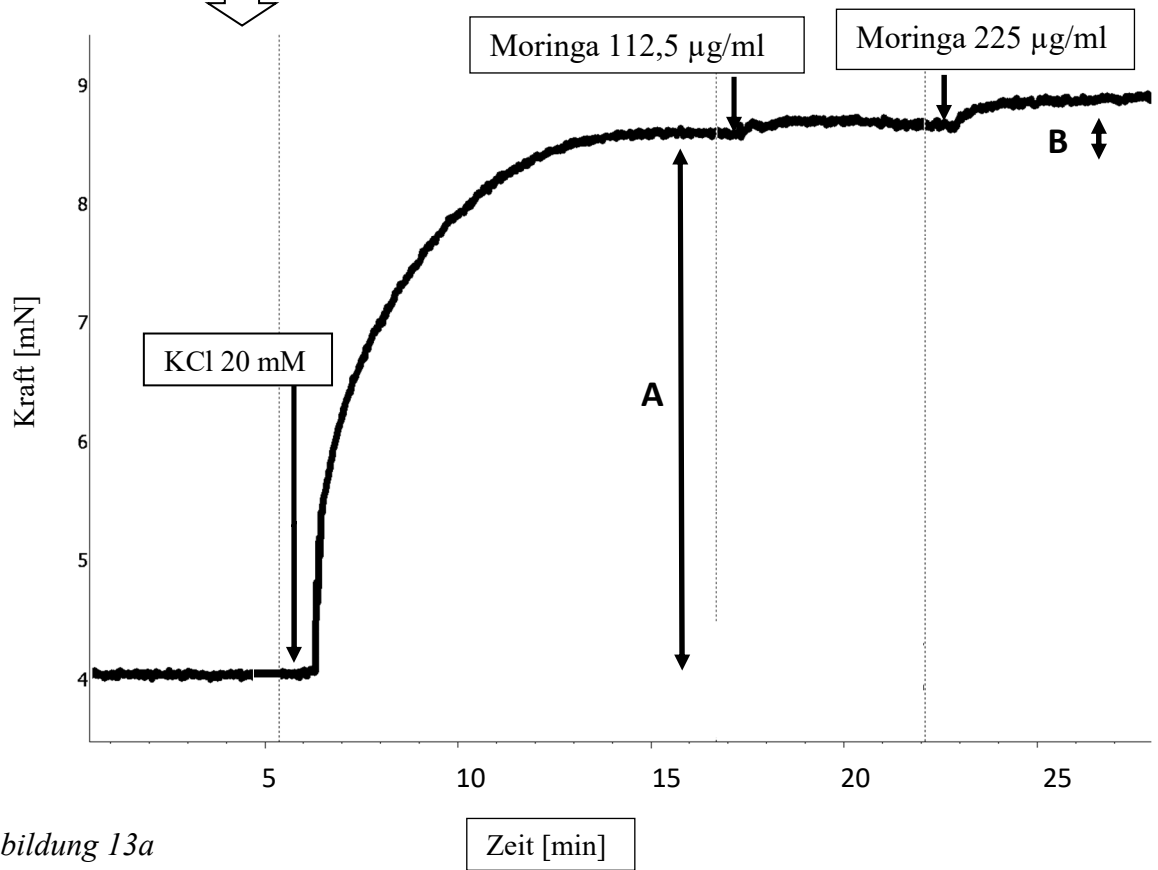


Abbildung 13a

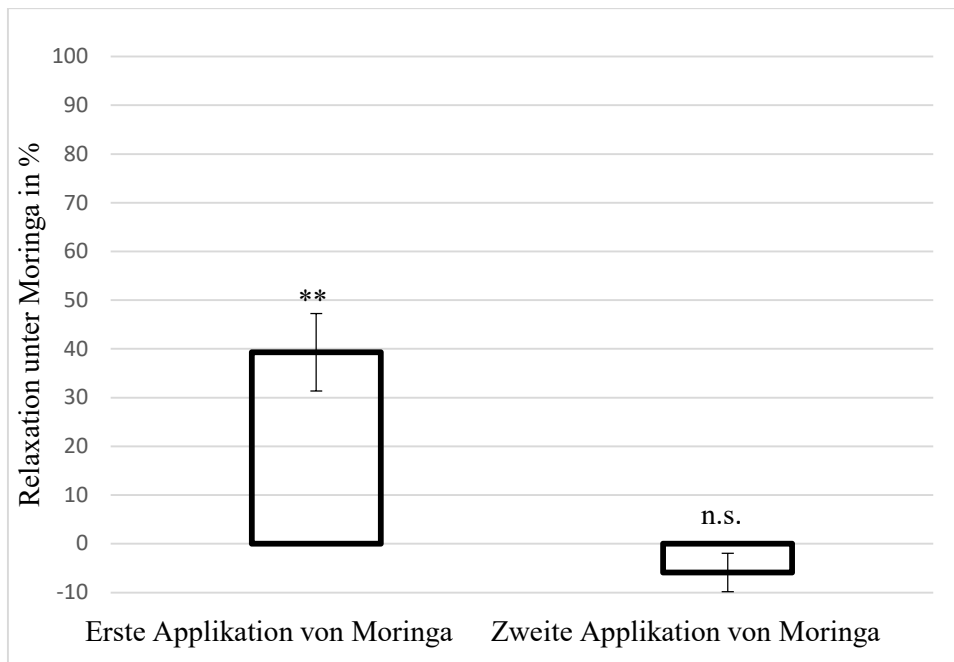


Abbildung 13b

Abbildung 13:

13a) Wirkung von Moringa auf ein mit KCl aktiviertes Aortenpräparat im ersten Versuchsdurchgang und bei erneuter Applikation zu demselben Präparat. Gemessen wird die durch KCl hervorgerufene Kontraktion A und die Wirkung von Moringa B. Beispiel einer Originalregistrierung.

13b) Zusammenfassung der Ergebnisse an Aortenstreifen bei wiederholter Moringa Applikation zu demselben Präparat als gepaarte Stichprobe (n=9). Die erste Applikation von Moringa erzeugt eine signifikante Relaxation $**p < 0,01$, bei erneuter Aktivierung und anschließender Applikation von Moringa kann keine Relaxation gemessen werden.

In weiteren Experimenten zeigte sich, dass die sorgfältige und umsichtige Präparation der Aortenpräparate von essentieller Bedeutung für den Versuchsablauf ist. Ein wesentlicher Faktor der Dilatation an Blutgefäßen ist das Endothel. Dieses kann bei der Präparation zu Schaden kommen. Um eine möglichst identische experimentelle Ausgangssituation vorzufinden, musste ausgeschlossen werden, dass das Endothel bei der Präparation beschädigt wurde. Dafür wurden die Präparate mit KCl 20 mM aktiviert und anschließend ACh in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l hinzupipettiert (Abb. 4, S.28). ACh führt über endotheliale muscarinerge Rezeptoren zur Produktion von NO, welches seinerseits zu einer Relaxierung der glatten Muskulatur führt.

In Abbildung 14 sieht man die Reaktion eines Aortenpräparates auf ACh 10^{-6} mol/l. Durch die Reaktion auf ACh konnte davon ausgegangen werden, dass das Endothel der Präparate intakt ist.

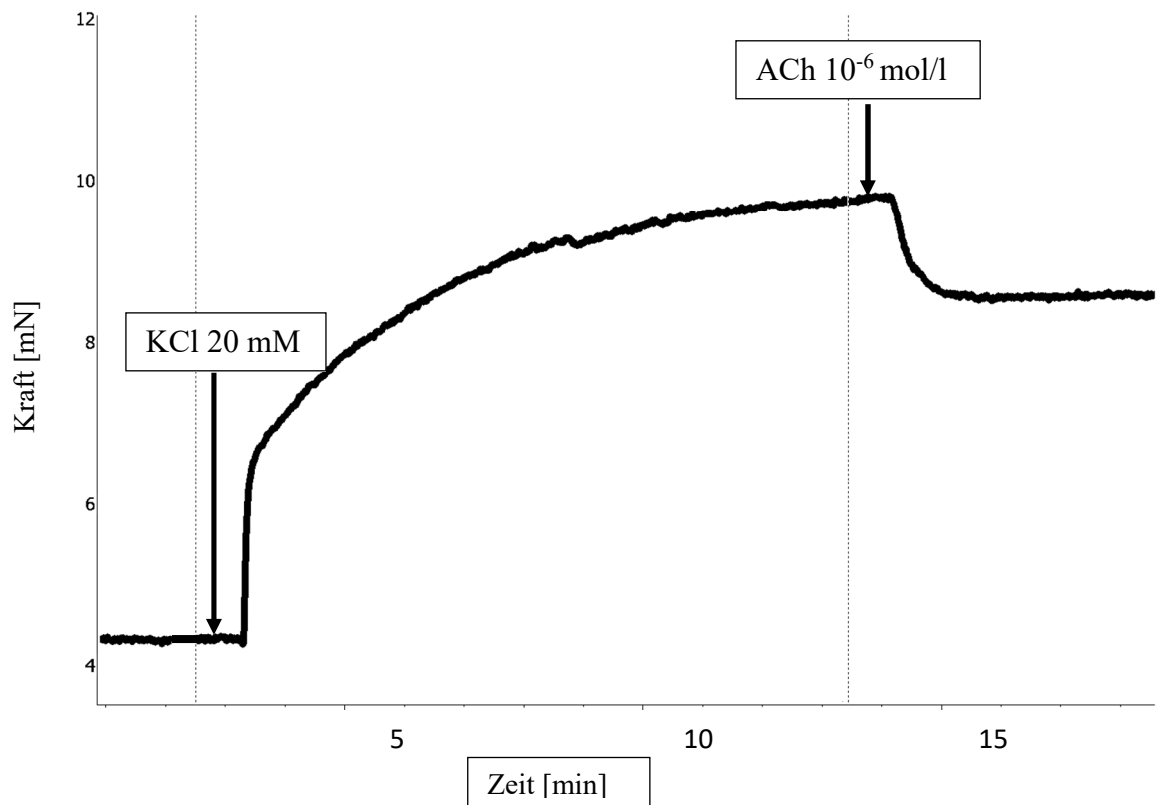


Abbildung 14: Reaktion eines Aortenpräparates auf ACh 10^{-6} mol/l. Beispiel einer Originalregistrierung.

Im Folgenden wurden die Präparate im ersten Durchgang immer mittels ACh auf die Funktionalität ihres Endothels getestet und im Weiteren ihre Reaktion auf Moringa gemessen. Die Reaktionen der Präparate auf ACh 10^{-6} mol/l waren vergleichbar mit den gemessenen Reaktionen derselben Präparate auf Moringa. Im Mittel wurde eine Relaxation um 28,36% ($\pm 3,74\%$ SEM) durch ACh gemessen ($n=16$) (** $p<0,01$). Die Beobachtung der Abhängigkeiten der Reaktion zwischen Moringa und ACh wurde statistisch ausgewertet: Abbildung 15 zeigt den Vergleich zwischen den Reaktionen auf Moringa und ACh.

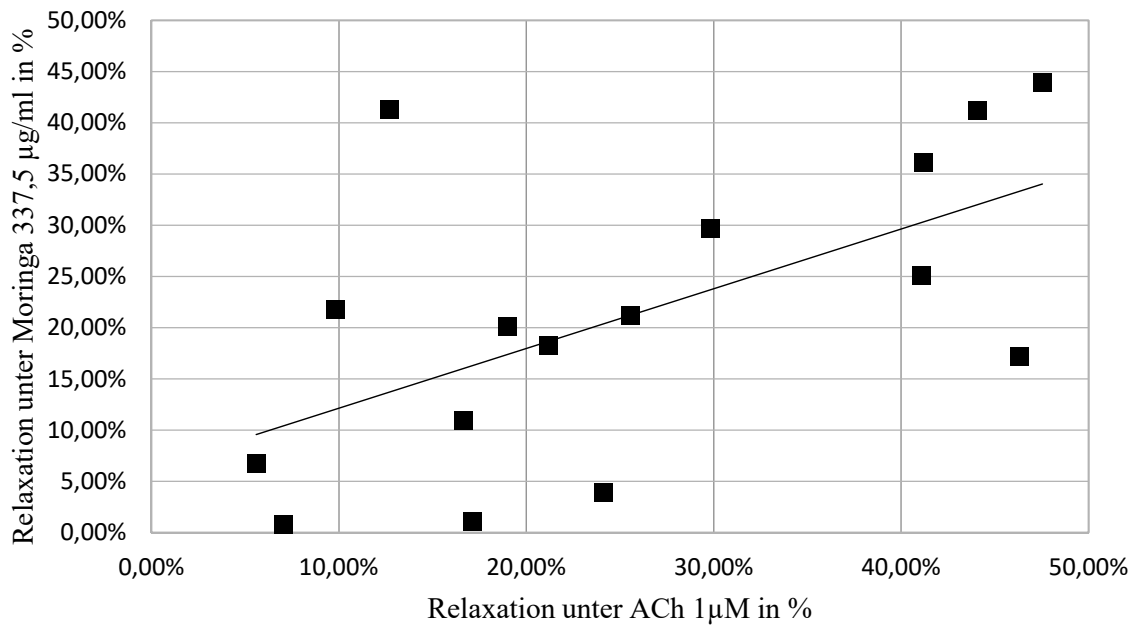


Abbildung 15a

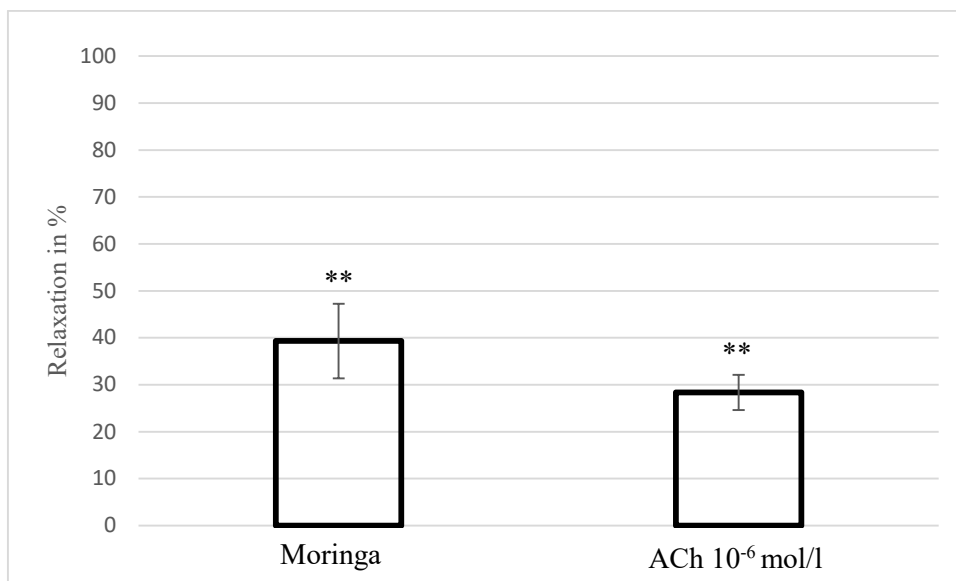


Abbildung 15b

Abbildung 15:

15a: Korrelation der dilatatorischen Reaktion der Präparate auf Moringa und ACh nach Stimulation mit KCl. Trendlinie linear berechnet: $y=0,583x + 0,0633$; $R^2= 0,3437$.

15b: Vergleich der Reaktionen auf Moringa und ACh (n=16); beide Substanzen erzeugen eine signifikante Tonusabnahme der aktivierten Präparate $**p<0,01$

Um die Abhängigkeit der Reaktionen vom Endothel zu beweisen, wurde im nächsten Versuchsschritt das Endothel von einigen Präparaten entfernt. An diesen Präparaten wurde das in Abbildung 4 auf Seite 28 abgebildete Versuchsschema durchgeführt. Abbildung 16 zeigt die Reaktion eines Aortenpräparates ohne Endothel auf ACh und Moringa.

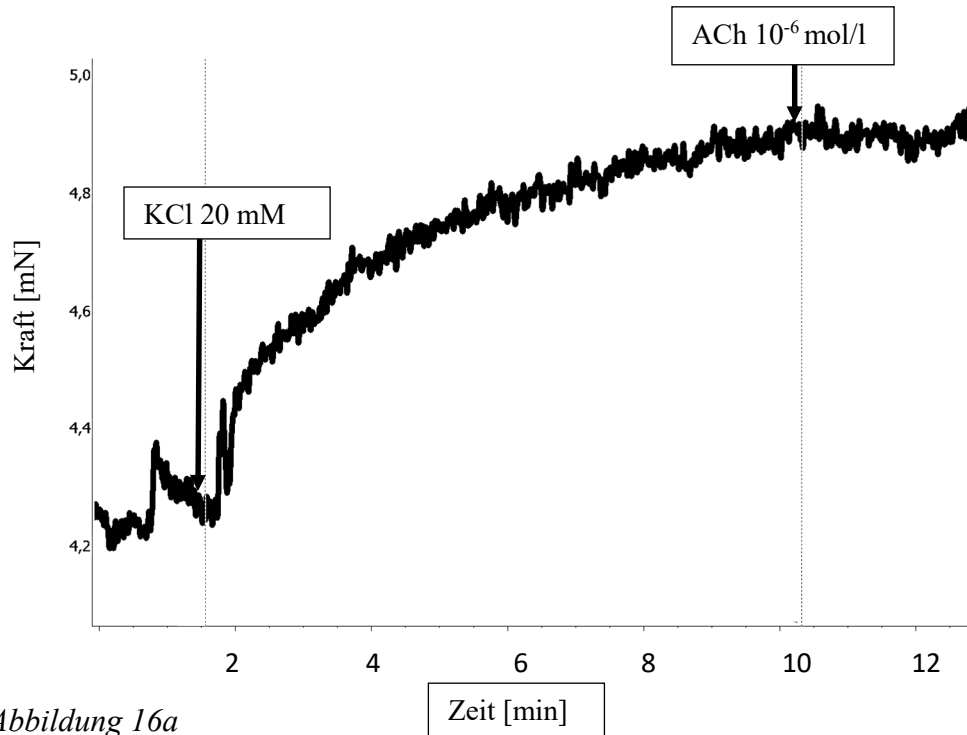


Abbildung 16a

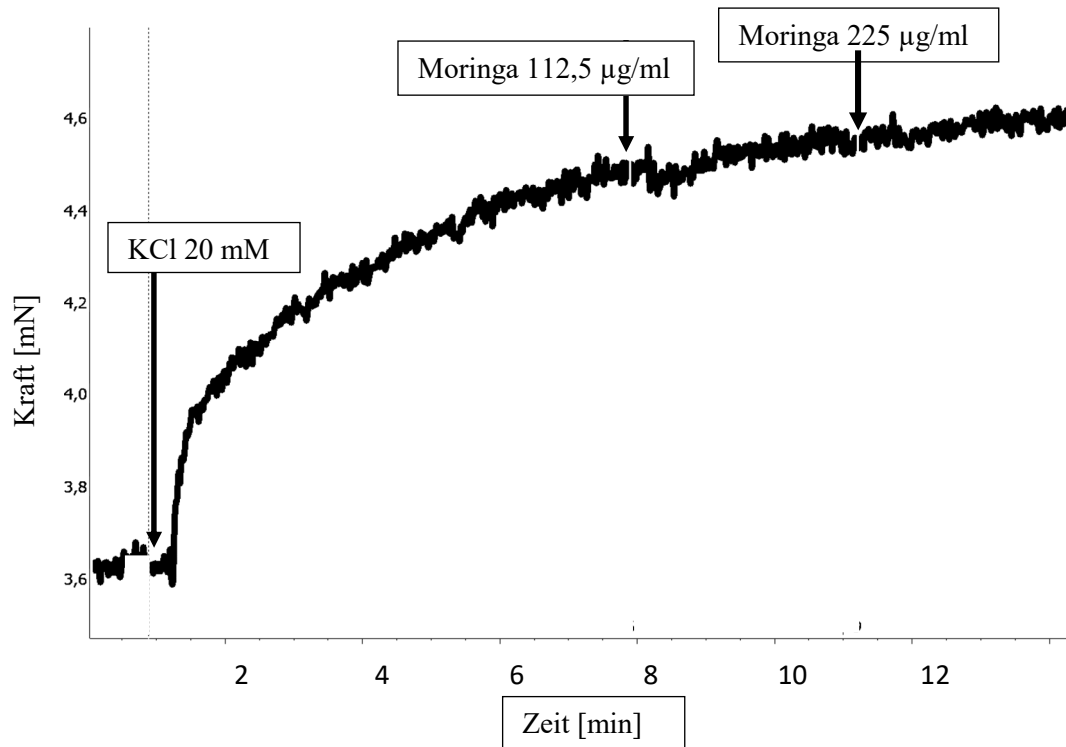


Abbildung 16b

Abbildung 16: Reaktion von Präparaten ohne Endothel auf a) ACh und b) Moringa. Beispiele einer Originalregistrierung.

An Präparaten ohne Endothel zeigten sowohl ACh als auch Moringa keine relaxierende Wirkung (n=3) (Abb. 17). Die Tonuszunahme war statistisch nicht signifikant.

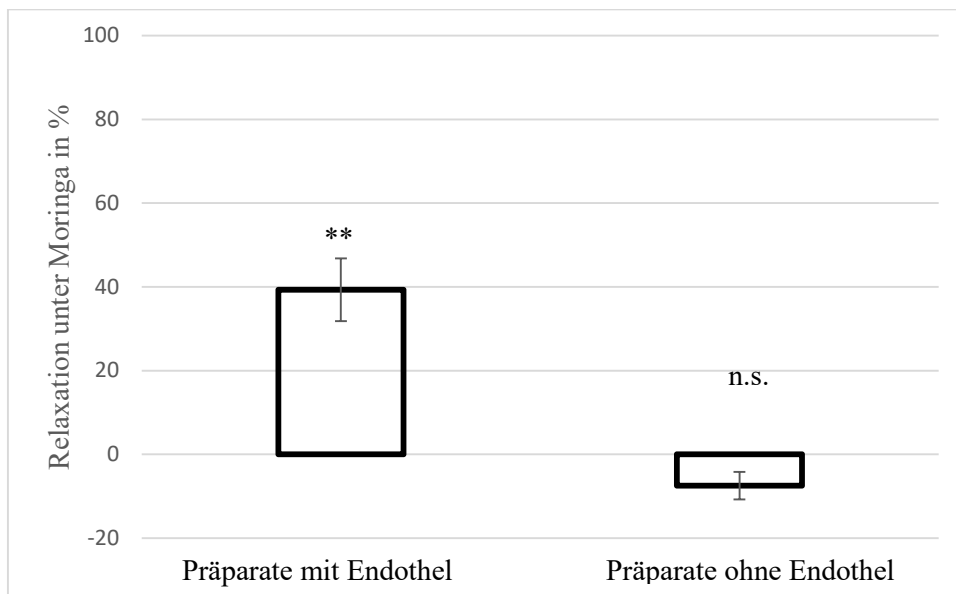


Abbildung 17: Vergleich der Reaktion der Präparate mit und ohne Endothel (n=3) auf Moringa. Die Präparate mit intaktem Endothel reagierten auf Moringa mit einer signifikanten Tonusabnahme. Präparate ohne Endothel zeigten diesen Effekt nicht; ** $p < 0,01$

3.4.1. Untersuchung der endothelvermittelten Tonusmodulation

Da die Reaktion der Präparate auf ACh als guter Indikator für die Funktionsfähigkeit des Endothels der Präparate gilt, wurde in den weiteren Versuchen vor jedem Versuch die Intaktheit des Endothels mittels ACh getestet.

Aufgrund der festgestellten Ähnlichkeit der Reaktionen auf ACh und Moringa wurde die Signalkaskade, die durch ACh aktiviert wird, genauer verfolgt. ACh aktiviert über endotheliale Rezeptoren die eNOS. Wird die eNOS über L-NAME gehemmt, zeigten sowohl ACh (n=4) als auch Moringa (n=7) keinen relaxierenden Effekt an den Aortenpräparaten. Präparate (n=7) unter L-NAME Einfluss zeigten eine signifikante (*p<0,05) Zunahme der gemessenen Kraft im Mittel um 26,85% ($\pm 10,67\%$ SEM) auf die Moringagabe (Abb. 18).

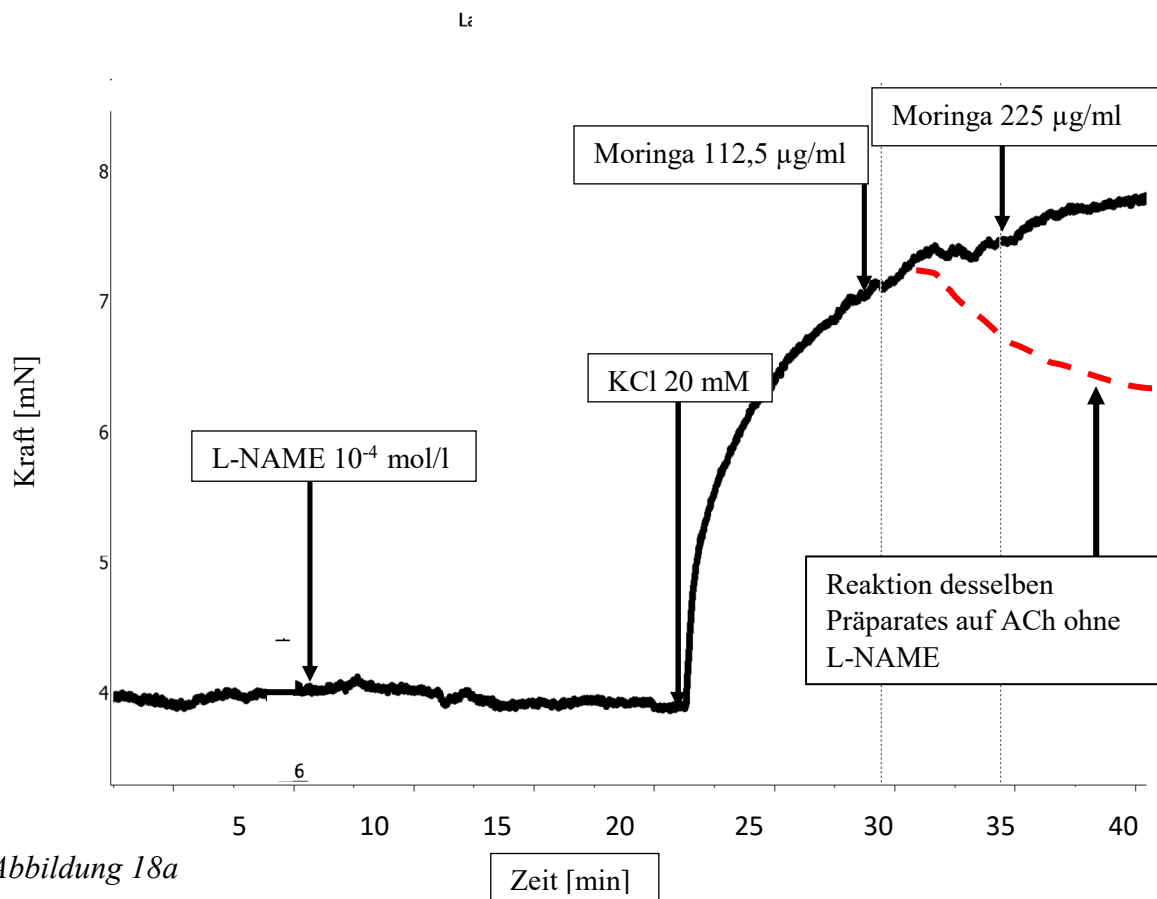


Abbildung 18a

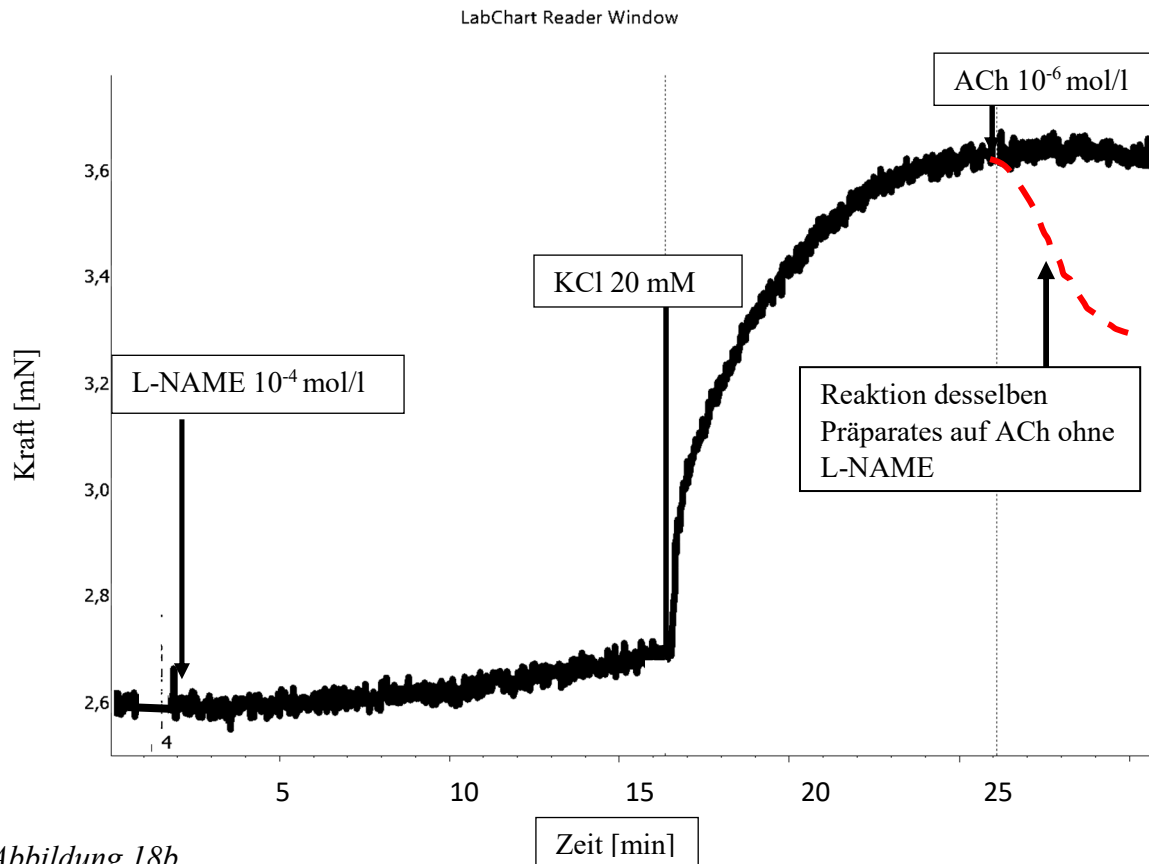


Abbildung 18b

Abbildung 18: Reaktion von Präparaten auf a) Moringa und b) ACh, die mit L-NAME vorbehandelt wurden. Moringa und ACh zeigen nicht den bekannten relaxierenden Effekt.

3.4.2. Untersuchung der NO vermittelten Signalkaskade

Das im Endothel gebildete NO führt in der glatten Muskelzelle über eine Bindung an eine Untereinheit der löslichen Guanylatzyklase zu einer Konformationsänderung des benachbarten katalytischen Zentrums. Dies führt zur Steigerung der Konversionsrate von GTP zu cGMP. Durch den intrazellulären Anstieg von cGMP werden Proteinkinasen aktiviert, die zu einer Relaxation führen. Die Substanz ODQ hemmt diese lösliche Guanylatzyklase. Aortenpräparate, die mit ODQ vorbehandelt wurden, zeigten im Vergleich zu nicht vorbehandelten Präparaten keine Relaxation als Antwort auf den Moringareiz. Der Tonus der Präparate (n=4) nahm im Mittel um 14,63% (\pm 3,65% SEM) über die 100% der KCl Kontraktion zu (Abb. 19). Um den Effekt von ODQ zu sichern, wurde an einer Gruppe Präparate (n=3) zuerst eine durch Moringa hervorgerufene Reduzierung des durch KCl ausgelösten Tonus um im Mittel 39,31% (\pm 7,92 SEM) erzeugt. Dieselben Präparate erhielten nach Erreichen eines stabilen Minimums nach Moringagabe ODQ. Auf diesen Reiz reagierten alle Präparate mit einer Tonuszunahme.

Die Wirkung von Moringa wurde durch ODQ komplett aufgehoben und der Tonus stieg über das Ausgangsniveau der Kaliumkontraktion auf 124,91% ($\pm 11,18\%$ SEM) (Abb.20). Die Tonuszunahme über die 100% der KCl Kontraktion durch die ODQ Gabe im Anschluss an Moringa ist statistisch nicht signifikant.

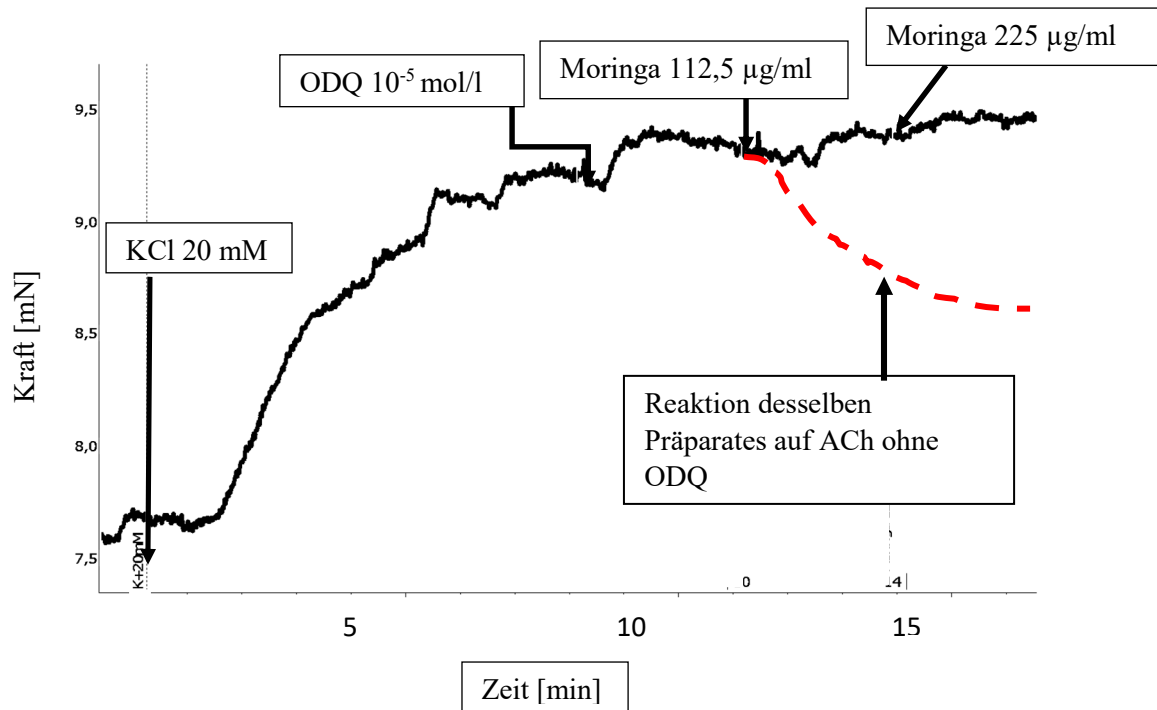


Abbildung 19: Reaktion von Präparaten auf Moringa, die mit ODQ vorbehandelt wurden. Beispiel einer Originalregistrierung.

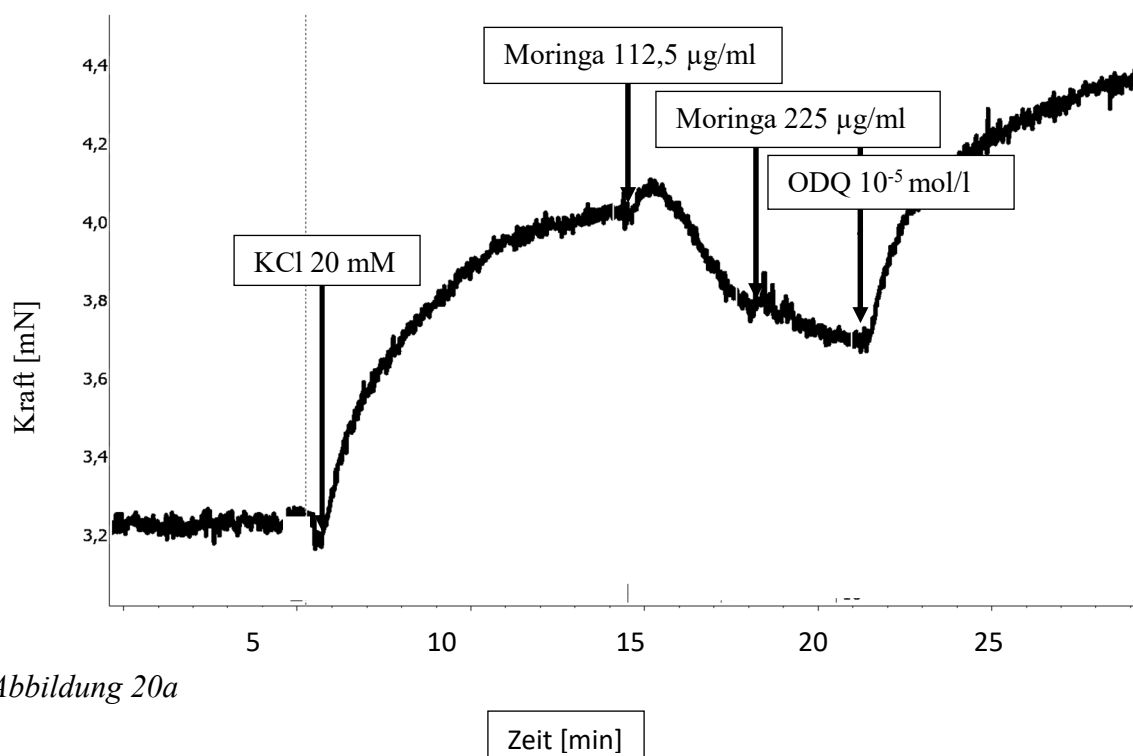


Abbildung 20a

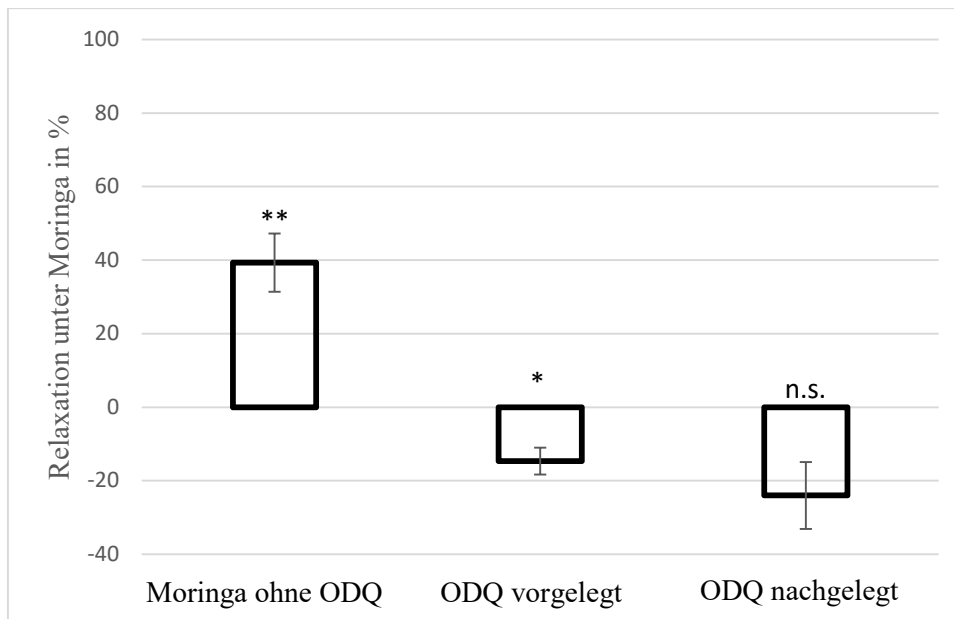


Abbildung 20b

Abbildung 20: Reaktion von Präparaten, zu denen nach der Moringagabe ODQ appliziert wurde. Abbildung 20a zeigt eine Originalregistrierung. Abbildung 20b zeigt den Vergleich zwischen Präparaten, zu denen nur Moringa gegeben ($n=10$) wurde und Präparaten, zu denen ODQ vor ($n=4$) oder nach ($n=3$) der Moringagabe appliziert wurde (** $p<0,01$; * $p<0,05$)

3.4.3. Untersuchung der Wirkung von Moringa an endothelialen Rezeptoren

Durch die vorangegangenen Experimente schien die Dependenz der Moringareaktion vom Endothel gesichert. Um herauszufinden, über welchen endothelialen Rezeptor Moringa seine Wirkung vermittelt, wurden verschiedene Antagonisten wichtiger endothelialer Rezeptoren in den Versuchsablauf eingebaut.

3.4.3.1. Muscarinerge Rezeptoren

Wie in Abbildung 15 zu erkennen ist, gab es deutliche Parallelen zwischen den Reaktionen der Präparate auf Moringa und ACh. Daher lag es nahe, den Rezeptor, über den ACh seine Wirkung erzeugt, genauer zu untersuchen. ACh wirkt über muscarinerge Rezeptoren. Um diese Rezeptoren zu blockieren, wurde vor der Moringaapplikation Atropin als nicht selektiver Muscarinrezeptorantagonist hinzugegeben. Abbildung 21a zeigt die Wirkung von Moringa unter Atropin. Trotz der Blockade der muscarinergen Rezeptoren durch Atropin erzeugte Moringa eine signifikante (** $p<0,01$) Relaxation um 28,7%

($\pm 6,53\%$ SEM) ($n= 8$). Abbildung 21b zeigt den Vergleich der Reaktionen auf Moringa mit und ohne Zusatz von Atropin.

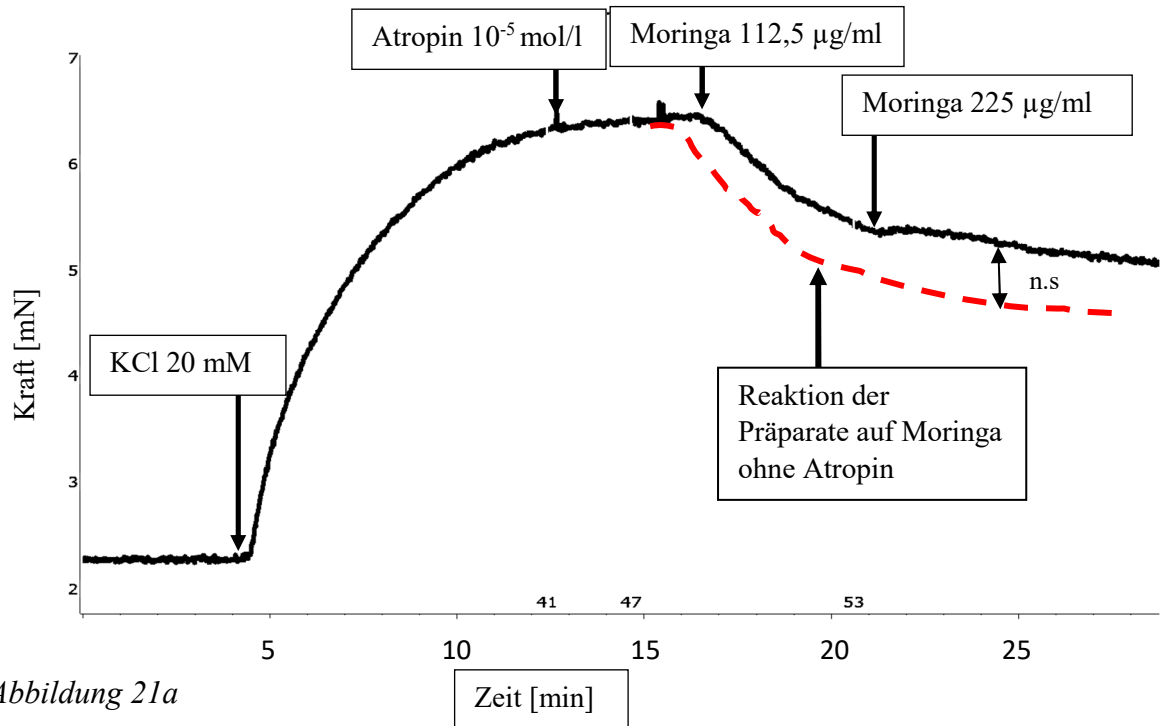


Abbildung 21a

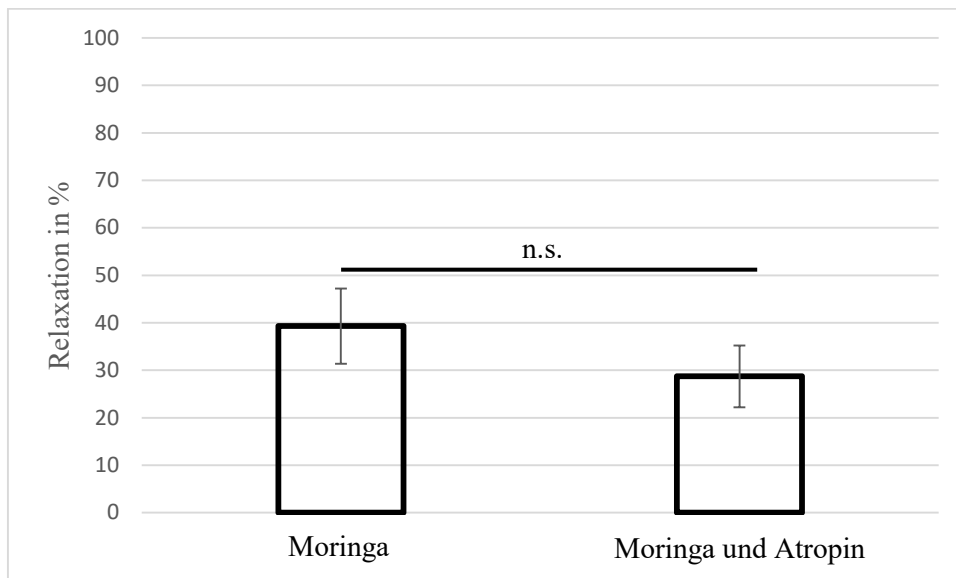


Abbildung 21b

Abbildung 21: Reaktion der Präparate auf Moringa unter Atropin. Abbildung 21a zeigt eine Originalregistrierung. Abbildung 21b zeigt den Vergleich der Reaktionen verschiedener Präparate auf Moringa ohne ($n=10$) und mit ($n= 8$) Atropin. Es wurde kein signifikanter Unterschied in den Reaktionen der Präparate auf Moringa gemessen. Trotz Blockade der muscarinergen Rezeptoren erzeugte Moringa eine signifikante Relaxation.

3.4.3.2. Der non-adrenerge non-muscarinerge Signalweg

Sowohl in eigenen orientierenden Studien (s. 3.1.2.) als auch in anderen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass Moringa eine exzitatorische Wirkung auf die glatte intestinale Muskulatur besitzt (Kupke et al. 2014, S. 196). Da am Magen Histaminrezeptoren eine große Bedeutung haben, wurden auch die durch Histamin hervorgerufenen Signalwege für die durch Moringa ausgelöste Reaktion in Betracht gezogen. Um diese Signalkaskade genauer zu untersuchen wurde Cimetidin gewählt. Cimetidin ist ein selektiver H₂-Rezeptorantagonist (Aktories et al. 2010, S. 123) und würde eine Wechselwirkung zwischen Moringa und H₂-Rezeptoren detektieren. Aortenpräparate, die mit Cimetidin 10⁻⁵ mol/l vorbehandelt wurden, zeigten keinen signifikanten Unterschied in ihrer Reaktion auf Moringa zu Präparaten, die ohne Cimetidin Moringa erhalten haben. Der Tonus sank trotz des Cimetidins im Mittel (n=9) um 23,57% (+/- 5,04% SEM) (Abb.22).

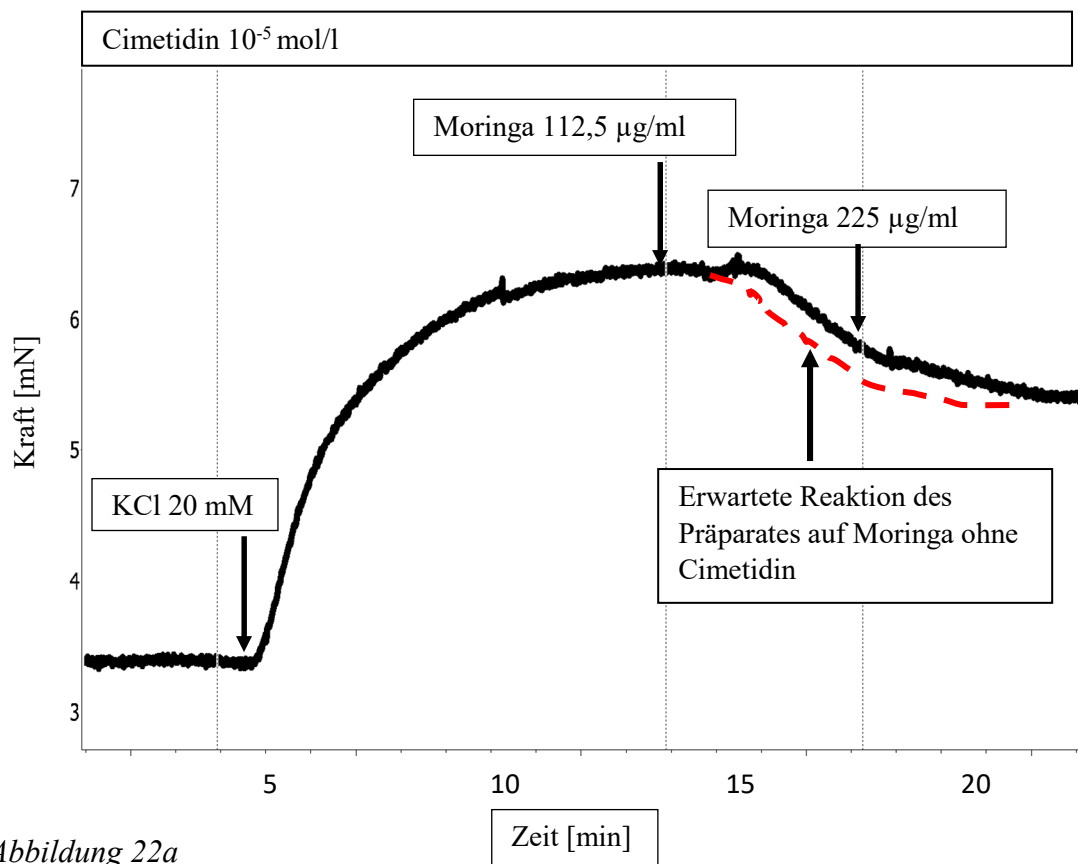


Abbildung 22a

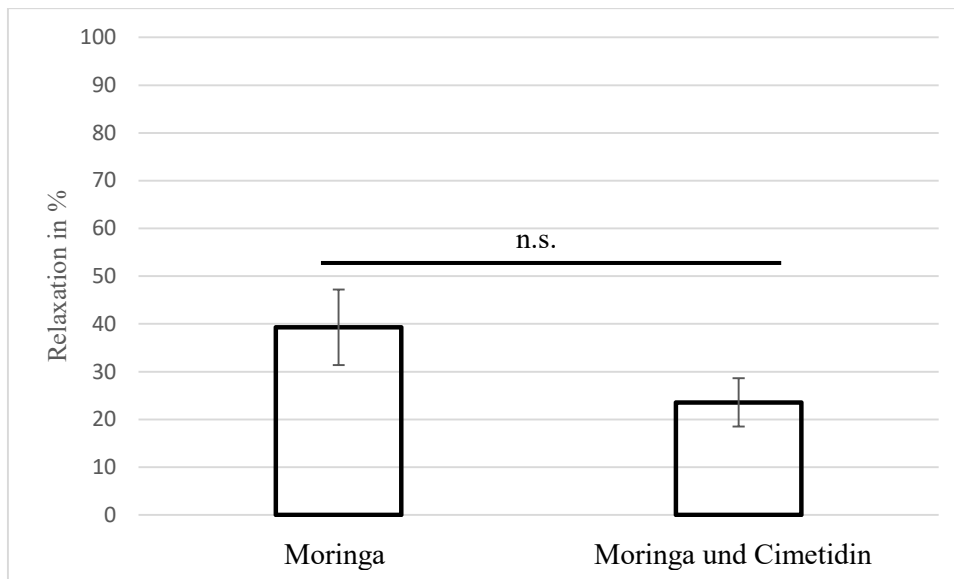


Abbildung 22b

Abbildung 22: Reaktion der Präparate unter der Einwirkung von Cimetidin. Cimetidin wurde 30 Minuten vor der Aktivierung mit KCl hinzugegeben. Abbildung 22a zeigt eine Originalregistrierung. Abbildung 22b zeigt den Vergleich der Reaktionen auf Moringa ohne ($n=10$) und mit ($n=9$) Cimetidin; es konnte kein signifikanter Unterschied gemessen werden.

Ein weiterer wichtiger Vasodilatator, der seinen Effekt ebenfalls über einen endothelialen Rezeptor vermittelt, ist Adenosin. Adenin und Uridin rufen über vier P2Y-Rezeptorsubtypen ein Ca^{2+} Signal in der glatten Muskulatur der Aorta hervor (Govindan und Taylor 2012, S. 763). P2Y-Rezeptoren werden vom Endothel exprimiert. Um auszuschließen, dass Moringa seine Wirkung über diese Rezeptoren vermittelt, wurde der Antagonist MRS2179 verwendet. Trotz der Vorbehandlung einer Gruppe von Präparaten ($n=12$) mit MRS 2179 10^{-5} mol/l sank der Tonus unter dem Einfluss von Moringa signifikant (** $p<0,01$) um 35,07% (5,34% SEM) (Abb. 23).

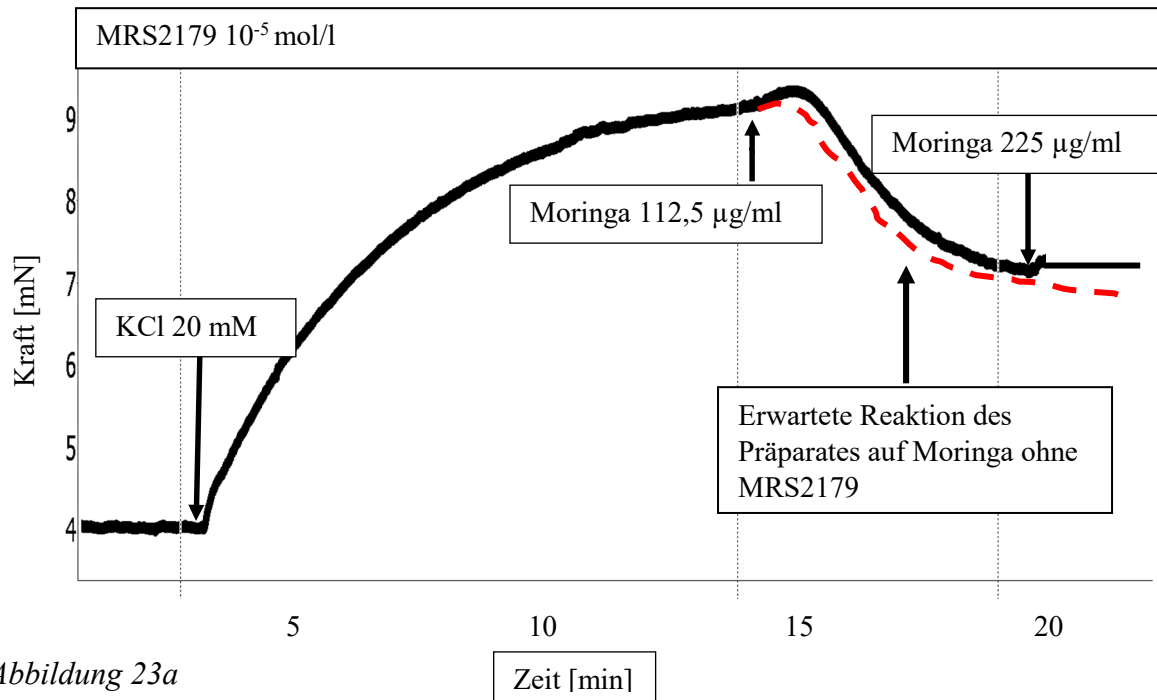


Abbildung 23a

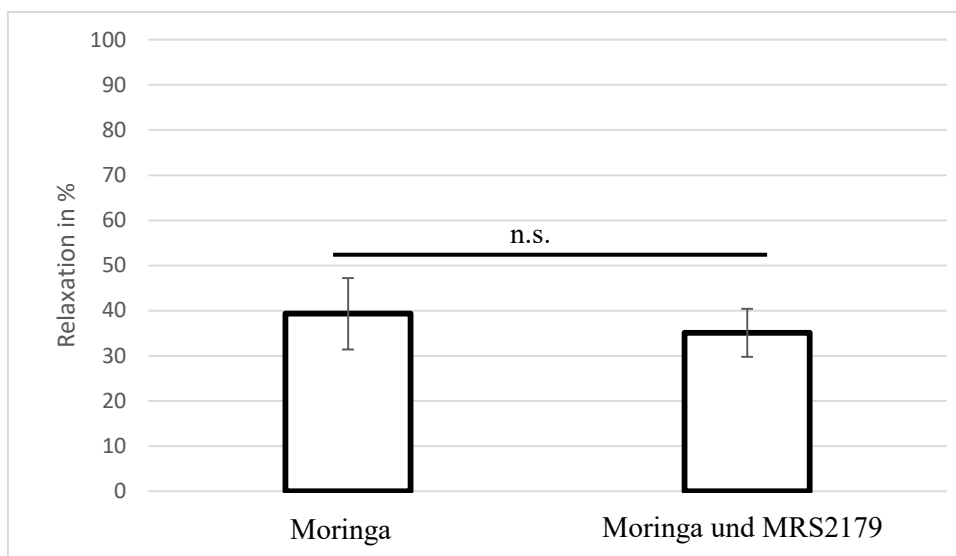


Abbildung 23b

Abbildung 23: Reaktion der Präparate unter der Einwirkung von MRS2179. MRS2179 wurde 30 Minuten vor der Aktivierung mit KCl hinzugegeben. Abbildung 23a zeigt eine Originalregistrierung. Abbildung 23b zeigt den Vergleich der Reaktionen auf Moringa ohne ($n=10$) und mit ($n=13$) MRS2179; es konnte kein signifikanter Unterschied in der Reaktion der Präparate auf Moringa gemessen werden.

Um zu testen, ob Moringa seine Wirkung über die Aktivierung der Cyclooxygenase und somit über die endogene Herstellung von PGI_2 vermittelt, wurde die Cyclooxygenase mit

Indometacin gehemmt. Abbildung 24a zeigt die Reaktion eines Aortenpräparates auf Moringa unter Hemmung der Cyclooxygenase. Trotz der Vorbehandlung einer Gruppe der Präparate (n=7) mit Indometacin, sank der Tonus unter dem Einfluss von Moringa signifikant (*p<0,05) um im Mittel 29,16% ($\pm 9,36\%$ SEM) (Abb.24b).

Die Messungen ergaben, dass unter Hemmung der muscarinergen, der Histamin- und der P2Y-Rezeptoren, sowie unter der Hemmung der Cyclooxygenase 1 und 2 Moringa weiterhin eine signifikante Tonusreduktion erzeugt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Reaktionen der Präparate auf Moringa ohne und mit einem Antagonisten gemessenen werden.

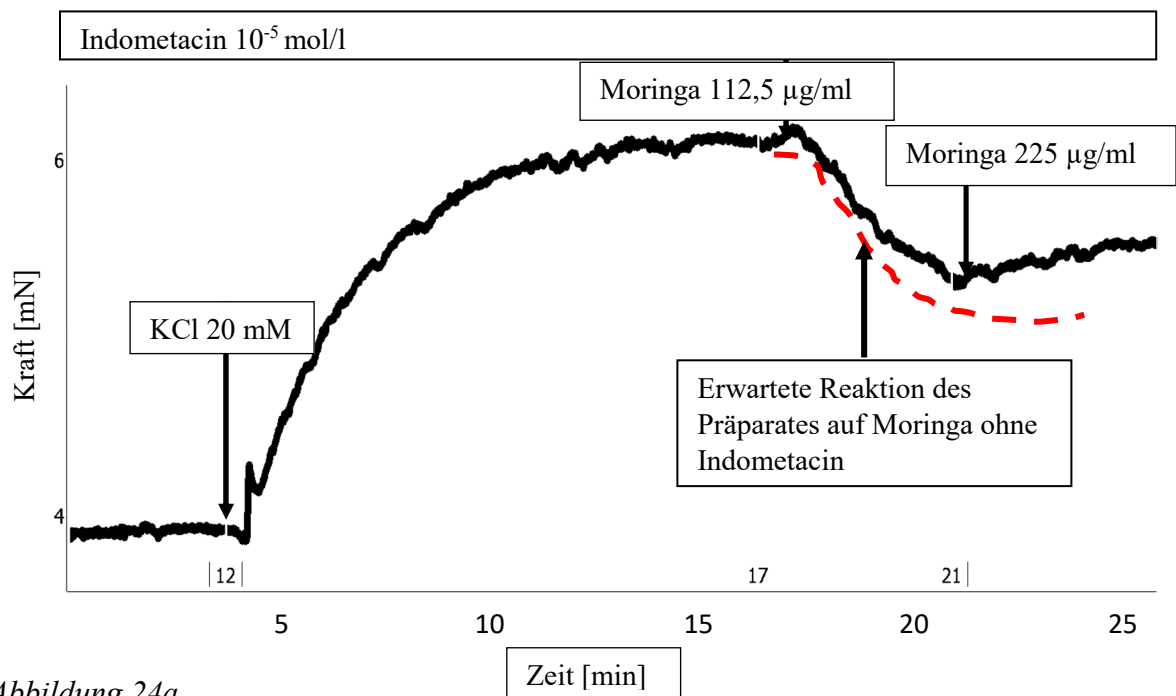


Abbildung 24a

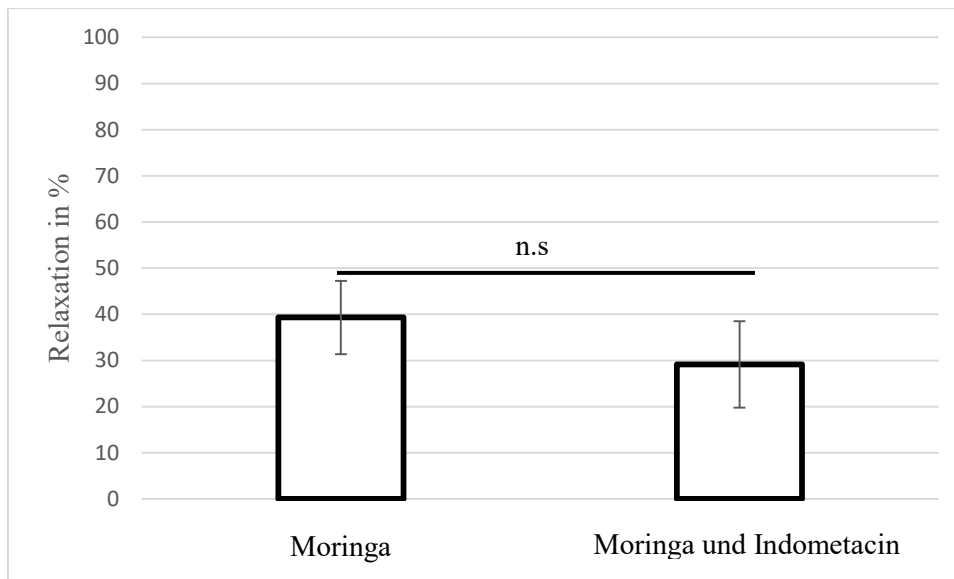


Abbildung 24b

Abbildung 24: Reaktion eines Aortenpräparates auf Moringa unter der Hemmung der Cyclooxygenase mittels Indometacin.

Abbildung 24a zeigt eine Originalregistrierung, 30 Minuten vor Aktivierung mittels KCl wurde Indometacin hinzugegeben.

Abbildung 24b zeigt den Vergleich der Reaktionen auf Moringa zwischen Präparaten, an denen die Cyclooxygenase gehemmt wurde ($n=7$) und Präparaten, zu denen nur Moringa hinzugegeben wurden ($n=10$), es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Reaktionen der Präparate auf Moringa gemessen werden.

4. Diskussion

Die in dieser Studie durchgeführten Experimente sollten die Auswirkung der Substanz des *Moringa oleifera* Baumes auf die glatte Muskulatur zeigen. Die Wirkung wurde an dem perfundierten Herzen nach Langendorff, dem Magenfundus und der thorakalen Aorta der Ratte untersucht. Dabei erwies sich das perfundierte Herz nach Langendorff als eine nicht adäquate Methode und es konnten nur schwer zu interpretierende Ergebnisse dokumentiert werden. Die Experimente an der thorakalen Aorta im Organbad erwiesen sich als aussagekräftig und haben es ermöglicht, den Einfluss der Substanz auf die Gefäße unter verschiedenen Ausgangssituationen in-vitro zu testen. Zuerst wurde der alleinige Effekt der Substanz getestet. Im weiteren Vorgehen wurde versucht, Rezeptoren und weitere Faktoren, die für den beobachteten Effekt verantwortlich sind, zu identifizieren.

4.1. Orientierende Experimente am perfundierten Herzen nach Langendorff

Um den Einfluss des Moringas einerseits auf kleinste Gefäße und andererseits auf das zentrale Organ des Herz-Kreislauf-Systems zu testen, wurden Versuche am perfundierten Herzen nach Langendorff durchgeführt.

In den Experimenten an der thorakalen Ratten Aorta konnte gezeigt werden, dass *Moringa* am glatten Gefäßmuskel eine endothelabhängige Relaxation hervorruft. Da auch die kleinen Koronararterien mit Endothel ausgekleidet sind und das vom Endothel freigesetzte NO eine wichtige Funktion in der Durchblutungsregulation hat (Couto et al. 2015) wurde demnach auch eine Dilatation der Koronararterien erwartet.

Da die Perfusionslösung frei von Blutbestandteilen ist und somit keine Erythrozyten zur Sauerstoffbindung und zum Sauerstofftransport zur Verfügung stehen, kann der Sauerstoff nur physikalisch in der Perfusionslösung gelöst werden. Dies hat eine schlechtere Sauerstoffversorgung des Herzens zur Folge. Daher kann man davon ausgehen, dass die Koronarien keinen basalen Tonus besitzen und maximal dilatiert sind. Um einen Effekt von *Moringa* messen zu können, musste diese maximale Dilatation der Koronarien aufgehoben werden. Dies geschah über die Aktivierung der glatten Gefäßmuskulatur mittels Kalium.

Unter Hinzugabe von *Moringa* wurde aufgrund der Beobachtungen am Magen und an der Aorta demnach eine Dilatation der zuvor aktivierten Koronararterien erwartet. Unerwarteter Weise konnte keine Dilatation gemessen werden. *Moringa* führte zu einer

Konstriktion der Koronararterien. Es ergaben sich zwei Erklärungsmöglichkeiten, warum es zu einer Konstriktion der Koronarien kommen konnte, die allerdings keine „echte“ Reaktion der Präparate auf die Substanz darstellen würden:

Einerseits ist es denkbar, dass der hergestellte Auszug der Substanz Schwebstoffe enthält, die die Koronararterien verstopfen. Dies wurde im Vorhinein der Experimente für unwahrscheinlich gehalten, da der Auszug durch einen Filter mit 0,2 µm Porengröße filtrierte wurde. Diese Porengröße ist in ihrem Durchmesser kleiner als bisher beschriebene Koronargefäße der Ratte (Sakamoto et al. 2015).

Andererseits ist das Herz in der Langendorff-Apparatur nicht gegen äußere Einflüsse geschützt. Trotz der Bemühungen ein annähernd ähnliches Milieu, wie es im Körper besteht, herzustellen, ist es möglich, dass es auf Grund dieser äußeren Einflüsse und einem Fehlen von kolloidosmotisch wirksamen Bestandteilen in der Perfusionslösung zu einer kontinuierlichen Auswärtsfiltration in das umliegende Gewebe kommt. Diese Auswärtsfiltration würde zu Ödemen im umliegenden Gewebe führen. Da das Herz vor der Testung der Substanzen einer 30 minütigen Equilibrierungsphase unterzogen werden musste und sich die Experimente insgesamt über einen Zeitraum von ca. zwei Stunden hinzogen, ist es möglich, dass die in dieser Zeit entstandenen Ödeme die Koronarien von außen komprimieren. Diese Ödementwicklung und die damit entstandene Komprimierung der Koronarien konnte auch tatsächlich beobachtet werden, war jedoch bei genauer Betrachtung der Messkurve klar von der eigentlichen Reaktion auf Moringa abzugrenzen. Neben einem an die Moringa-Gabe gekoppelten sprunghaften Anstieg des Druckes ist eine kontinuierliche Druckzunahme über die Zeit zu beobachten (Abb. 25).

Die These der Ödementstehung konnte dadurch unterstützt werden, dass bei Betrachtung des Herzens (nach Versuchsdurchführung) unter dem Mikroskop Ablagerungen der Substanz im Gewebe festgestellt wurden (Abb. 26). Dies spricht dafür, dass der Stoff durch Auswärtsfiltration in das extravasale Gewebe gepresst wurde. Es ist zu vermuten, dass die Langendorff-Methode für solche Stoffe wie Moringa nicht geeignet ist, da sich die Substanz aufgrund der Druckverhältnisse laut der Starlingschen-Filtrationstheorie im Interstitium ablagert und nicht genügend extravasaler Druck vorhanden ist, um die Substanz im Gefäß zu halten oder zurück in die Gefäße zu transportieren.

Neben der eindeutigen Konstriktion der KoronargefäÙe konnten teilweise auch biphasische Reaktionen gemessen werden: In Folge einer überschießenden Konstriktion war eine geringgradige Dilatation zu beobachten (Abb.25).

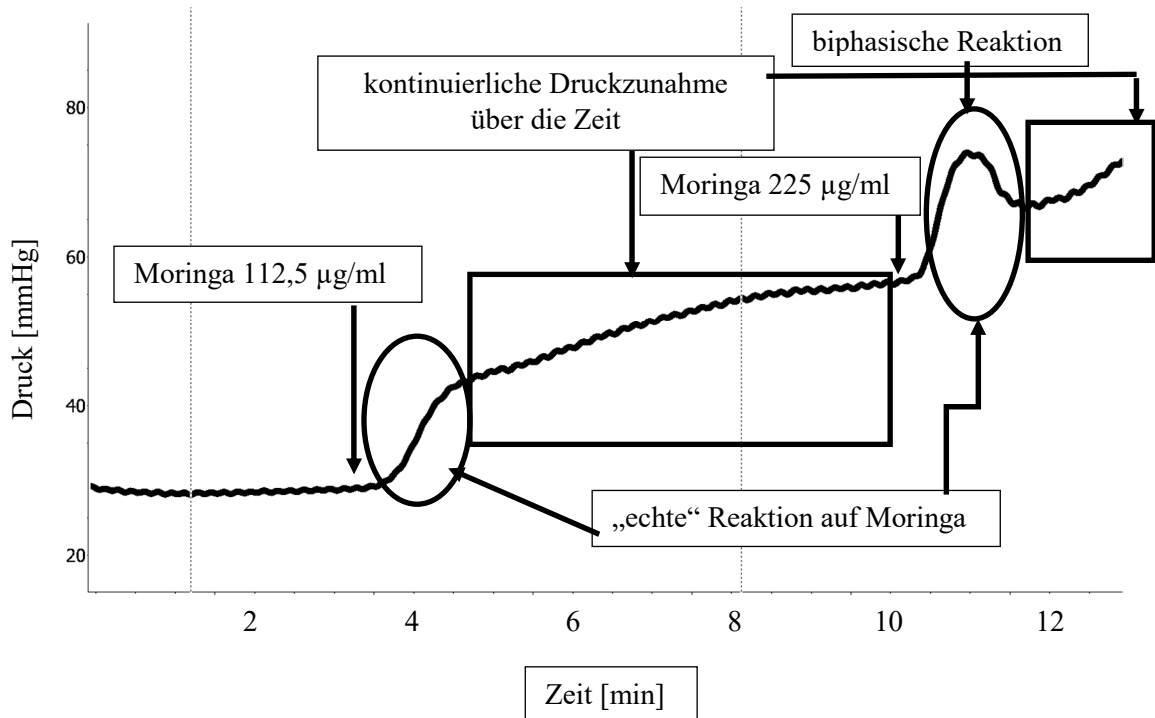


Abbildung 25: Unterscheidung zwischen der kontinuierlichen Zunahme des Druckes in den Koronarien des Herzens über die Zeit und der „echten“ Reaktion auf die Zugabe von Moringa. Beispiel einer Originalregistrierung.

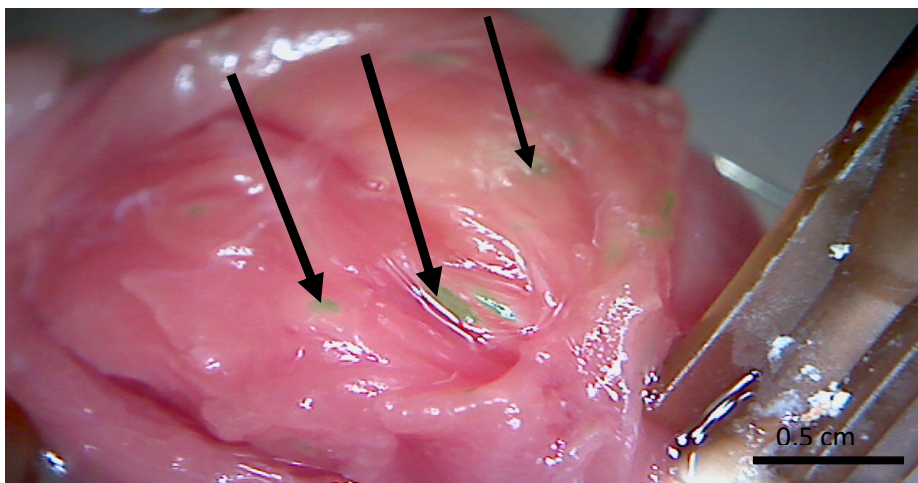


Abbildung 26: Foto des Rattenherzens nach den Versuchen unter einem Mikroskop. Die schwarzen Pfeile markieren grünliche Ablagerungen des Moringas im Gewebe.

Da in den Organbadexperimenten an der Rattenaorta sowohl ACh als auch Moringa eine Relaxation hervorgerufen haben, ist man davon ausgegangen, dass dies auch in Experimenten am Herzen der Fall sein müsste. Daher wurde im Vergleich des Einflusses von ACh und Moringa auf die Durchblutung der Koronararterien eine Möglichkeit gesehen, zu überprüfen, ob es nur durch extravasale Ablagerungen und Ödementstehung zu der gemessenen Druckzunahme kommt oder auf Grund einer „echten“ Reaktion. Wie in der Literatur beschrieben, sollte ACh auch in den Koronarien zu einer endothelabhängigen Vasodilatation führen (Komaru et al. 1991).

Es wurde eine biphasische Reaktion gemessen (Abb. 27). Auf eine starke Druckzunahme in den Koronararterien durch ACh folgt eine schwächere Dilatation.

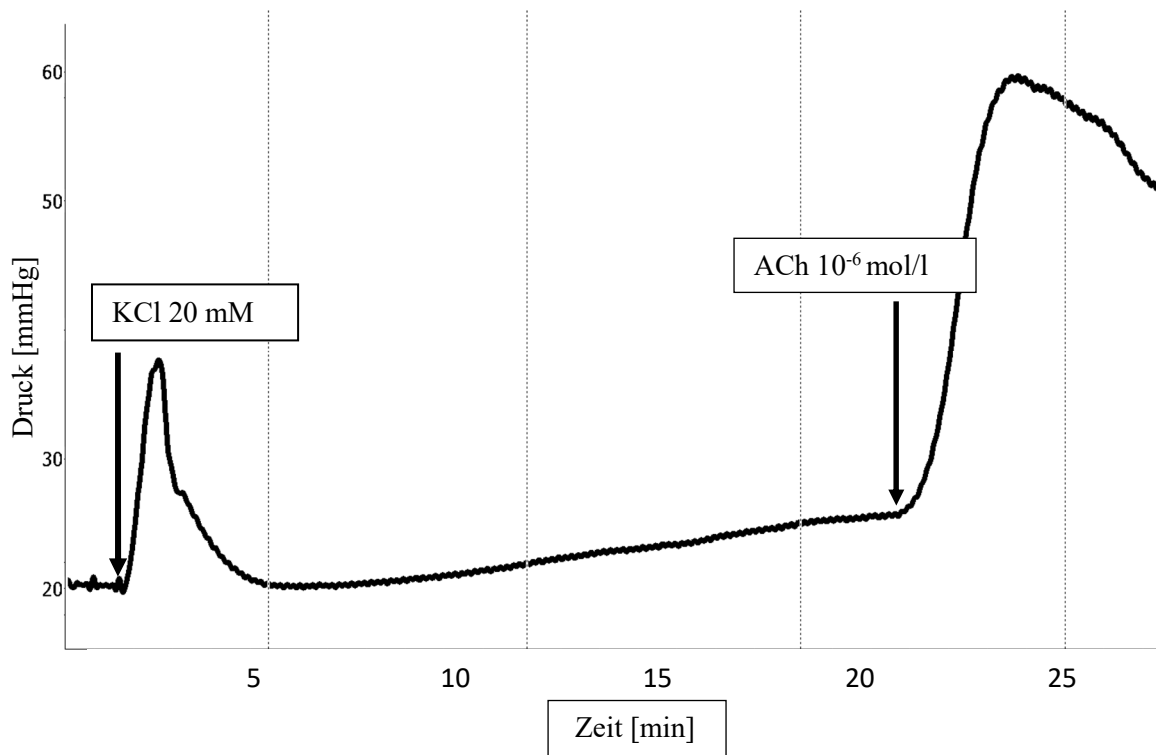


Abbildung 27: Reaktion der Koronararterien auf ACh. Es konnte eine Konstriktion gemessen werden. Beispiel einer Originalregistrierung.

Eine Aktivierung über m_3 -Rezeptoren der glatten Muskulatur der Koronarien ist offenbar der endothelabhängigen Relaxation überlegen.

Um bei diesen Messungen sicher zu gehen, dass es nicht auf Grund von zu hoch gewählten Konzentrationen zu dieser Reaktion gekommen ist, wurde ACh auch in niedrigeren (0,01-0,1 μM) Konzentrationen als der von uns gewählten Standardkonzentration (1 μM)

getestet. Trotzdem wurde eine Konstriktion gemessen. In Studien konnte gezeigt werden, dass es bei Herzen von fettleibigen Ratten zu einer Beeinträchtigung der durch ACh ausgelösten Vasodilatation der Herzkranzgefäße kommt. Allerdings war bei diesen fettleibigen Ratten auch die endothelabhängige Vasodilatation der Aorta reduziert (Kagota et al. 2010); diese Parallele konnte in der beschriebenen Versuchsreihe nicht gezogen werden und ist daher keine Erklärung für die gemessene Konstriktion der Koronararterien auf ACh- und Moringa-Gabe. So ist eher anzunehmen, dass die gemessene Reaktion durch die gleichzeitige Wirkung von ACh am Endothel und am glatten Muskel zustande kommt und dabei die konstriktorische Wirkung am glatten Muskel die endotheliale Dilatation überwiegt. Dieser Effekt konnte bereits in früheren Studien herausgearbeitet werden (Su et al. 1993).

Es ist eher unwahrscheinlich, dass es bei der Präparation des Herzens und bei der Einbringung des Herzens in die Langendorff-Apparatur zu einer Schädigung des Endothels der Herzkranzgefäße in ihrer Funktion gekommen ist.

Es ist wahrscheinlicher, dass ACh einen starken konstriktorischen Einfluss auf die Koronararterien der Ratte hat, welche stärker, als die dilatatorische Komponente ist.

Es ist davon auszugehen, dass in-vivo bei verstärkter Herzarbeit die anfallenden Metabolite wie Adenosin autoregulatorisch wirken und deswegen eine Vasodilatation in-vivo überwiegen würde.

Das perfundierte Herz nach Langendorff hat sich als eine ungünstig gewählte Methode herausgestellt, da es zu viele mögliche Störfaktoren bietet, die eine sichere Untersuchung der Substanz behindern. Diese Gegebenheit wird durch die schwer zu interpretierenden Ergebnisse unterstrichen. Aus diesem Grund wurden orientierende Studien an Magenfunduspräparaten und der thorakalen Aorta der Ratte durchgeführt. Das Hauptaugenmerk der Studie konzentriert sich auf die Wirkung an der thorakalen Rattenaorta.

4.2. Endothelunabhängiger Signalweg

Wie zuvor in der Arbeit beschrieben, wurden orientierende Studien an Magenfunduspräparaten der Ratte durchgeführt. In dieser Versuchsreihe konnte ein exzitatorischer Einfluss des Moringas gemessen werden. Diese leicht exzitatorische

Wirkung konnte auch an Aortenpräparaten, an denen das Endothel entfernt wurde, und an Präparaten, an denen der NO-Signalweg gehemmt wurde, gemessen werden. Diese Ergebnisse waren in der statistischen Auswertung nicht signifikant, was sich jedoch eventuell mit der geringen Stichprobenzahl erklären lässt und an größeren Populationen genauer untersucht werden müsste. Aus den in dieser Studie gemessenen Ergebnissen könnte man daher trotzdem vermuten, dass die Wirkung von Moringa davon abhängig ist, ob es am Endothel oder am glatten Muskel direkt wirkt. Dies würde für eine organspezifische Wirkung der Substanz sprechen.

In der Literatur werden auch andere Agonisten/Metabolite beschrieben, deren Wirkung davon abhängig ist, ob die Substanz am Endothel oder am Gefäßmuskel direkt wirkt bzw. ob Endothel vorhanden ist oder entfernt wurde.

Sowohl ACh als auch Substanz P bewirken über das Endothel eine Relaxation von vorstimulierten Gefäßpräparaten. Ist das Endothel vorher entfernt worden, kann keine oder nur eine sehr schwache Relaxation gemessen werden (Furchgott und Zawadzki 1980).

Eine weitere Substanz mit unterschiedlichem Wirkungsmuster am Endothel und am glatten Muskel ist Serotonin. Über seinen 5-HT-Rezeptor am Endothel initiiert Serotonin die Aktivierung der eNOS und somit eine Vasodilatation (Martin et al. 1992). Am Gefäßmuskel direkt wirkt Serotonin über den 5-HT-Rezeptor als Vasokonstriktor (Edvinsson et al. 1978).

Da Moringa ein Naturstoff und somit ein Gemisch verschiedener Stoffe ist, ist es möglich, dass diese verschiedenen Inhaltsstoffe über unterschiedliche Rezeptoren wirken und daher auch ein endothelunabhängiger Signalweg gemessen werden kann.

An der glatten Muskulatur des Magenfundus konnten Hinweise darauf gesammelt werden, dass Moringa eine aktivierende Wirkung über α -Rezeptoren hat (s. Ergebnissteil). Daher muss auch die adrenerge Signalkaskade in Betracht gezogen werden.

Es finden sich auch andere Stoffe, deren Wirkung über verschiedene Rezeptoren vermittelt wird, wobei entweder die relaxierende oder die aktivierende Komponente überwiegt, je nach Konzentration des Stoffes und der Dichte der Rezeptoren an dem jeweiligen Organ.

So wirkt Adrenalin über α 1-adrenerge Rezeptoren konstringierend, über β -adrenerge Rezeptoren bewirkt es jedoch eine Erschlaffung der glatten Muskulatur (Whelan und De La Lande, I S 1963; Glover et al. 1962).

Auch die Wirkung von NA ist abhängig davon, über welchen Rezeptor es wirkt. NA hat eine hohe Affinität zu α -adrenergen Rezeptoren und führt über diese zu einer Konstriktion

der Widerstands- und Kapazitätsgefäße. Über β -Rezeptoren an den Koronargefäßen vermittelt NA jedoch eine Dilatation (Abdelrahman et al. 1990).

Diese Dilatation kann auch an peripheren Gefäßen gezeigt werden, wenn die α -Rezeptoren blockiert werden (Whelan und De La Lande, I S 1963).

Dies bestätigt die Annahme, dass verschiedene Substanzen ihre Wirkung über ein Gleichgewicht bzw. ein Ungleichgewicht der vorherrschenden Rezeptoren und Affinitäten zu diesen Rezeptoren vermitteln, was auch bei Moringa der Fall sein könnte.

4.3. Moringa induzierte Relaxation an der thorakalen Aorta der Ratte

In ersten Experimenten konnte eine durch Moringa induzierte Relaxation der zuvor aktivierten Aortenpräparate nachgewiesen werden. Im anschließenden Versuchsverlauf zeigte sich, dass eine sorgfältige und umsichtige Präparation der thorakalen Aortenpräparate wesentlich für den weiteren Erfolg der durchgeführten Experimente ist. In der Literatur wird beschrieben, dass es während der Präparation der Gefäße zur Beschädigung des Endothels kommen kann (Furchgott und Zawadzki 1980). Diese Tatsache hat demnach zur Folge, dass endothelabhängige Reaktionen nicht mehr stattfinden. So wurde deutlich, dass die durch Moringa hervorgerufene Relaxation endothelabhängig ist. Diese Annahme wurde in weiteren Versuchen bestätigt: Wurde das Endothel absichtlich entfernt, konnte Moringa keine Relaxation erzeugen.

Außerdem konnte durch die Hemmung verschiedener wichtiger in Frage kommender Signalkaskaden herausgestellt werden, dass diese endothelabhängige Reaktion über eine Produktion von NO hervorgerufen wird.

Um den Rezeptor und die Signalkaskade, über die die Relaxation vermittelt wird, zu identifizieren, wurde im Weiteren der Einfluss verschiedener endothelialer Rezeptorantagonisten auf Moringa getestet. Hierbei konnten wichtige Rezeptoren ausgeschlossen werden (Abb. 28). Sowohl muscarinerge Rezeptoren als auch Histamin- und Purinrezeptoren sowie die endogene Prostaglandinsynthese spielen in der Signalkaskade des Moringas keine Rolle.

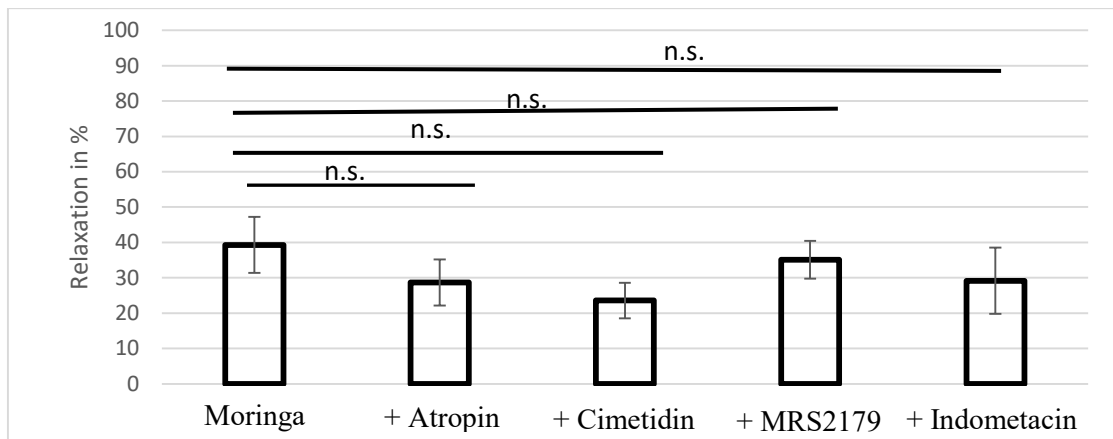


Abbildung 28: Einfluss der additiven Wirkung verschiedener Rezeptorantagonisten auf die Wirkung von Moringa im Vergleich zur Wirkung des reinen Moringas ohne Antagonisten. Trotz Einflusses der verschiedenen Antagonisten konnte eine signifikante Relaxation durch Moringa gemessen werden. Es konnte kein signifikanter ($p > 0,05$) Unterschied zwischen der gemessenen Relaxation unter dem Einfluss des reinen Moringas und unter additiver Wirkung der Antagonisten gemessen werden.

4.4. Irreversible Rezeptorbesetzung durch Moringa

Wie sowohl in der Versuchsdurchführung als auch im Ergebnisteil beschrieben, konnte die durch Moringa ausgelöste Relaxation nur bei erstmaliger Gabe gemessen werden. Bei erneuter Gabe der Substanz zu demselben Präparat wurde in einem zweiten Versuchsdurchlauf keine Relaxation gemessen. Es konnte also nicht in einem ersten Versuchsdurchlauf die Wirkung des reinen Moringas und in einem zweiten Versuchsdurchlauf die additive Wirkung eines Antagonisten auf die Moringareaktion an ein und demselben Präparat getestet werden.

Um trotzdem mögliche Wechselwirkungen zwischen Moringa und einer zweiten Substanz zu untersuchen, wurde die Versuchssequenz an einer großen Population durchgeführt und die gemessenen Daten statistisch aufgearbeitet. So wurde eine Korrelation zwischen der Wirkung von ACh und Moringa festgestellt. ACh war reversibel und konnte von seinen Rezeptoren gelöst werden. Aus der jeweils gemessenen Reaktion auf ACh konnte ein Schätzwert für die jeweilige Reaktion desselben Präparates auf Moringa erhoben werden. So konnte durch ACh eine Vorhersage getroffen werden, wie Moringa auf dieses Präparat ohne Antagonist gewirkt hätte (Abb.15).

Über diese Methode konnte sichergestellt werden, dass die durch Moringa ausgelöste Reaktion tatsächlich nicht durch die Antagonisten beeinflusst wurde. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der vorhergesagten Reaktion auf Moringa ohne Antagonisten und der gemessenen Reaktion auf Moringa unter Einfluss des Antagonisten. Abbildung 29 zeigt den Vergleich der Werte am Beispiel des Antagonisten MRS2179.

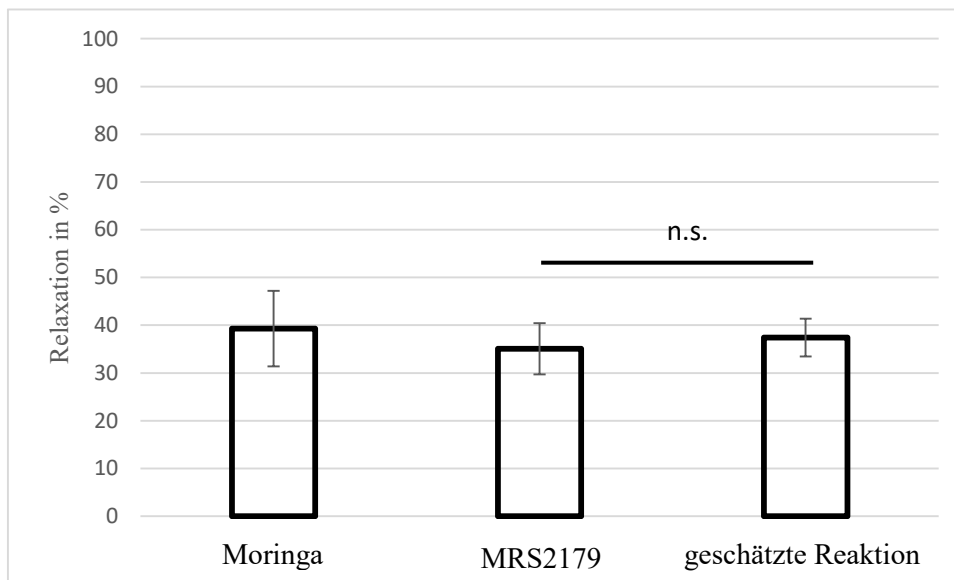


Abbildung 29: Vergleich der gemessenen Werte als Reaktion auf Moringa unter Einfluss von MRS2179 und der auf Grund der gemessenen Reaktion auf ACh berechneten Werte ohne MRS2179 (n=12). Es besteht kein signifikanter Unterschied in der Reaktion auf Moringa unter dem Einfluss von MRS2179.

Aus der beschriebenen Situation ergibt sich die Frage, warum Moringa nur in dem ersten Versuchsdurchlauf eine Wirkung hat und warum es nicht über Erneuern der Lösung reversibel ist.

Das Auswaschen von Moringa aus der Lösung bzw. von den Rezeptoren war auch in einem 24-stündigen Zyklus nicht möglich. Nach 24 Stunden in frischer Lösung im Organbad waren die Präparate noch funktionsfähig und reagierten adäquat auf eine erhöhte Kaliumkonzentration mit einer Konstriktion. Auf Moringa war jedoch keine Reaktion in Form einer Relaxation messbar (Daten nicht gezeigt).

Es gibt bekannte Substanzen, die Rezeptoren oder Enzyme irreversibel blockieren. Dazu zählen beispielsweise ASS (González-Bello 2016), Penicillin, Cephalosporine (Kluge und

Petter 2010) und Omeprazol (Lindberg et al. 1990). All diese Substanzen werden im klinischen Alltag häufig eingesetzt.

Eine der am besten untersuchten Substanzen ist dabei ASS (González-Bello 2016). ASS ist ein NSAID. Über eine Hemmung der COX-1 und -2 wird die Synthese von Prostaglandinen gehemmt (Warner und Mitchell 2002). Es müssen neue Enzyme synthetisiert werden, damit wieder Prostaglandine gebildet werden können. Hier könnte eine Parallele zu Moringa bestehen.

In manchen Fällen müssen sich erst neue Rezeptoren bilden, da diese durch ihren Agonisten z.B. internalisiert und abgebaut wurden. Es könnte also möglich sein, dass Moringa zu diesen Stoffen gehört und erst neue Enzyme oder Rezeptoren gebildet werden müssten, die von Moringa wieder neu aktiviert oder besetzt werden können, um eine erneute Reaktion hervorzurufen.

4.5. Vergleich zwischen Moringa oleifera und anderen natürlich vorkommenden vasoaktiven Substanzen

Es gibt eine Vielzahl von natürlich vorkommenden Stoffen, die einen gesundheitlichen Nutzen mit sich bringen sollen und beispielsweise hypotensive Effekte haben.

Tabelle 5: Beispiele natürlich vorkommender Substanzen, die einen gesundheitlichen Nutzen haben

Substanz	Effekt	Quelle
S-allyl cysteine sulphoxide (enthalten in frischem Knoblauch)	Hypotensive Wirkung, antithrombotisch	(Asdaq und Inamdar 2010)
Polyphenole (enthalten in z.B. dunkler Schokolade, grünem Tee und Wein)	Hypotensiv, antithrombotisch, antikarzinogen	(Almeida Rezende et al. 2015), (Heiss et al. 2005)
Isothiocyante (enthalten in Kreuzblütlern wie z.B. Brokkoli)	antikarzinogen	(Hecht 2000)
Cucurmin (enthalten in Kurkuma)	Antiinflammatorisch, antikarzinogen	(Agrawal und Mishra 2010)

In zurückliegenden Untersuchungen wurde Moringa mit solchen Substanzen verglichen. Dazu zählen z.B. die Kreuzblütler und die Flavonoide.

Die natürlichen Polyphenole, die Flavonoide, sind in verschiedenen Nahrungsmitteln wie dunkler Schokolade, Wein und grünem Tee enthalten (Almeida Rezende et al. 2015). Ihnen wird eine ähnlich gesundheitsfördernde Wirkung wie Moringa nachgesagt. Auch die Flavonoide wirken über eine Freisetzung von NO aus dem Endothel (Heiss et al. 2005). Neben der hypotensiven und antithrombotischen Wirkung sollen Flavonoide auch antikarzinogen sein. Aufgrund der festgestellten Ähnlichkeit zwischen der Wirkung von Moringa und der von Flavonoiden sollte darüber diskutiert werden, ob auch Moringa solch eine antikarzinogene Wirkung haben könnte.

Dieser Aspekt kann, rein auf die Motorik der Gefäße bezogen, unter zwei Gesichtspunkten betrachtet werden:

Einerseits konnte gezeigt werden, dass Moringa an Gefäßen, die mit Endothel ausgekleidet sind, einen hypotensiven Effekt hat und zu einer Weitstellung der Gefäße führt. Daraus könnte geschlussfolgert werden, dass Moringa einen positiven Effekt auf die Angiogenese hat und so zu einer besseren Versorgung von Tumoren und Metastasen führt. Wie in der Literatur beschrieben, ist einerseits das Tumorwachstum von der Versorgung, also von der Neovaskularisation des Tumors abhängig und andererseits werden Tumorzellen über den Blutfluss im Körper verstreut (Ferrara 1997). Wäre dies der Fall, so könnte man annehmen, dass Moringa eher eine fördernde Wirkung auf bereits bestehende Tumore hat.

Andererseits wird das Gewebe durch die gesteigerte Blutversorgung besser für das Immunsystem zugänglich. Dies ist notwendig, um den Tumor zu bekämpfen und Abfallprodukte abzutransportieren (Ferrara 1997). Das würde dafür sprechen, dass Moringa die Entstehung von Tumoren erschwert. Dies würde allerdings ein intaktes Immunsystem voraussetzen. Ist das Immunsystem bereits geschwächt, könnte eine Verwendung von Moringa kontraindiziert sein.

Außerdem wurde eine konstriktorische Wirkung von Moringa an Gefäßen ohne oder mit beschädigtem Endothel gezeigt. Dies könnte demnach bedeuten, dass wenn Moringa an pathologisch veränderten Gefäßen wirkt, die Blutversorgung des Tumors über eine Gefäßkonstriktion gehemmt wird.

Für eine antikarzinogene Wirkung von Moringa spricht weiterhin der Vergleich mit den Kreuzblütlern wie z.B. Brokkoli. Die in Moringa enthaltenen Isothiocyanate haben

pharmakologische Ähnlichkeit zu den gut untersuchten Isothiocyanaten der Kreuzblütler (Waterman et al. 2014). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass Isothiocyanate das Tumorwachstum hemmen können (Hecht 2000). Bestimmte Bestandteile der Isothiocyanate von Moringa sollen sogar eine stärkere Hemmung der NF- κ B Expression und des Myelomwachstums haben als die Sulforaphane des Brokkolis (Brunelli et al. 2010).

Mit den durchgeführten Experimenten kann die Frage nach der Wirkung von Moringa auf die Karzinogenese nicht genau beantwortet werden. Für die Beantwortung dieser Frage müssen andere experimentelle Settings geschaffen werden. Diese Frage war jedoch kein Teil der durchgeführten Studien.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung des *Moringa oleifera*-Extraktes auf die glatte Muskulatur getestet. Bisher war aus vorherigen Studien bekannt, dass sowohl *Moringa oleifera*, als auch die Gattung *Moringa stenopetala* hypotensive Effekte haben soll. In unserer Studie konnten diese Beobachtungen bestätigt werden.

Des Weiteren wurden Experimente an der glatten Muskulatur des Magens und am Herzen der Ratte durchgeführt.

Am Magen entfaltet *Moringa* eher eine exzitatorische Reaktion, die über α -Rezeptoren vermittelt werden könnte.

Die Messung der Wirkung auf die Herzkranzgefäße ergab schwer zu interpretierende Ergebnisse. Es wurden zum Teil biphasische aber auch konstriktorische Reaktionen gemessen. Es ist zu diskutieren, in wie weit die gemessenen Effekte des *Moringa* auf das Herz und die Koronarien einen negativen Einfluss in-vivo haben. Es ist anzunehmen, dass *Moringa* an den Koronararterien einerseits über das Endothel eine Dilatation hervorruft und andererseits am glatten Muskel der Gefäße eine Vasokonstriktion vermittelt, welche die dilatatorische Komponente übersteigt. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass in-vivo die lokal dilatatorisch wirksamen Metaboliten einer Konstriktion entgegen wirken würden. Dies könnte in weiteren Experimenten und z.B. in-vivo Studien getestet werden.

An der Regulation des Vasotonus und des Herz-Kreislauf-Systems sind viele verschiedene Einflüsse beteiligt. Für eine komplikationslose und regelrechte Funktion müssen diese verschiedenen Einflüsse in einem stetigen Gleichgewicht stehen. Kommt es zu einem Ungleichgewicht, können daraus Krankheitsbilder entstehen.

Eine wichtige Rolle spielt dabei das Endothel. Die Funktion des Endothels ist vielfältig und umfasst neben der Regulation des Vasotonus auch den Schutz der Gefäße und ermöglicht einen regelrechten Blutfluss.

In den beschriebenen Experimenten an der thorakalen Rattenaorta konnte gezeigt werden, dass *Moringa* als vorrangige Wirkung eine Vasodilatation hervorruft. Die Vasodilatation ist von der Funktionsfähigkeit des Endothels abhängig. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Reaktion über die Produktion und den Signalweg des NOs vermittelt wird. Des Weiteren wurde herausgearbeitet, dass die endothelabhängige Wirkung von *Moringa* über keine der wichtigsten endothelialen Rezeptoren hervorgerufen wird. Dazu zählen

muscarinerge Rezeptoren, Histamin- und Purinrezeptoren. Außerdem konnte ausgeschlossen werden, dass Moringa seinen vasodilatatorischen Effekt über die endogene Prostaglandinsynthese erzeugt.

Über die Hemmung der NO-Signalkaskade konnten, wie schon am Magen, auch an der Aorta zum Teil exzitatorische Reaktionen gemessen werden. Dies hat zur Annahme geführt, dass Moringa neben der Wirkung am Endothel auch eine direkte Wirkung am glatten Muskel hat. Demnach scheint die Wirkung von Moringa organspezifisch zu sein.

6. Literaturverzeichnis

- Abdelrahman, A.; Tabrizchi, R.; Pang, C. C. Y. (1990): Effects of β_1 and β_2 -Adrenoceptor Stimulation on Hemodynamics in the Anesthetized Rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 15 (5), S. 720–728
- Agrawal, D. K.; Mishra, P. K. (2010): Curcumin and its analogues: potential anticancer agents. *Medicinal research reviews* 30 (5), S. 818–860
- Aktories, K.; Forth, W.; Allgaier, C.; Aktories-Förstermann-Hofmann-Starke (2010): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie und Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker 10. überarb. Aufl., [Nachdr.]. München: Elsevier Urban & Fischer.
- Almeida Rezende, B.; Pereira, A.; Cortes, S.; Lemos, V. (2015): Vascular effects of flavonoids. *CMC* 23 (1), S. 87–102.
- Arnold, W. P.; Mittal, C. K.; Katsuki, S.; Murad, F. (1977): Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3'. 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 74 (8), S. 3203–3207
- Asdaq, S. M.; Inamdar, M. N. (2010): Potential of garlic and its active constituent, S-allyl cysteine, as antihypertensive and cardioprotective in presence of captopril. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology* 17 (13), S. 1016–1026
- Berg, T. (2015): Altered β_1 – β_3 -adrenoceptor influence on α_2 -adrenoceptor-mediated control of catecholamine release and vascular tension in hypertensive rats. *Front. Physiol.* 6
- Bevan, J. A.; Su, C. (1973): Sympathetic Mechanisms in Blood Vessels. Nerve and Muscle Relationships. *Annu. Rev. Pharmacol.* 13 (1), S. 269–285.
- Boulanger, C.; Lüscher, T. F. (1990): Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J. Clin. Invest.* 85 (2), S. 587–590.
- Brunelli, D.; Tavecchio, M.; Falcioni, C.; Frapolli, R.; Erba, E.; Iori, R. et al. (2010): The isothiocyanate produced from glucomoringin inhibits NF-kB and reduces myeloma growth in nude mice in vivo. *Biochemical pharmacology* 79 (8), S. 1141–1148
- Caceres, A.; Cabrera, O.; Morales, O.; Mollinedo, P.; Mendia, P. (1991): Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1. Preliminary screening for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 33 (3), S. 213–216.
- Campbell, W. B.; Gebremedhin, D.; Pratt, P. F.; Harder, D. R. (1996): Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circulation research* 78 (3), S. 415–423.
- Chen, G.; Suzuki, H.; Weston, A. H. (1988): Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *British Journal of Pharmacology* 95 (4), S. 1165–1174.
- Chilian, W. M.; Kuo, L.; DeFily, D. V.; Jones, C. J.; Davis, M. J. (1993): Endothelial regulation of coronary microvascular tone under physiological and pathophysiological conditions. *European Heart Journal* 14 Suppl I, S. 55–59.
- Cines, D. B.; Pollak, E. S.; Buck, C. A.; Loscalzo, J.; Zimmerman, G. A.; McEver, R. P. et al. (1998): Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 91 (10), S. 3527–3561.

- Couto, G. K.; Britto, L. R. G.; Mill, J. G.; Rossoni, L. V. (2015): Enhanced nitric oxide bioavailability in coronary arteries prevents the onset of heart failure in rats with myocardial infarction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 86, S. 110–120
- Dinerman, J. L.; Mehta, J. L. (1990): Endothelial, platelet and leukocyte interactions in ischemic heart disease: insights into potential mechanisms and their clinical relevance. *Journal of the American College of Cardiology* 16 (1), S. 207–222.
- Döring, V.; Bleese, N., Lierse, W.; Pokar, H.: Biochemische und morphologische Untersuchungen am menschlichen Herzen in Kardioplegie und tiefer Myokard-Hypothermie. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, S. 449.
- Edvinsson, L.; Hardebo, J. E.; Owman, C. (1978): Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine receptors in isolated intracranial and extracranial vessels of cat and man. *Circulation Research* 42 (1), S. 143–151
- Faizi, S.; Siddiqui, B.; Saleem, R.; Aftab, K.; Shaheen, F.; Gilani, Anawr-ul-Hassan (1998): Hypotensive Constituents from the Pods of *Moringa oleifera*. *Planta Med* 64 (03), S. 225–228
- Félétou, M.; Vanhoutte, P. M. (1996): Endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23 (12), S. 1082–1090.
- Ferrara, N. (1997): The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor. *Endocrine Reviews* 18 (1), S. 4–25
- Ferrara, Napoleone; Alitalo, Kari (1999): Clinical applications of angiogenic growth factors and their inhibitors. *Nat. Med.* 5 (12), S. 1359–1364
- Ferrara, N.; Carver-Moore, K.; Chen, H.; Dowd, M.; Lu, L.; O'Shea, K. S. et al. (1996): Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 380 (6573), S. 439–442
- Forsythe, J. A.; Jiang, B. H.; Iyer, N. V.; Agani, F.; Leung, S. W.; Koos, R. D.; Semenza, G. L. (1996): Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Molecular and Cellular Biology* 16 (9), S. 4604–4613.
- Fronek, K.; Zweifach, B. W. (1975): Microvascular pressure distribution in skeletal muscle and the effect of vasodilation. *The American Journal of Physiology* 228 (3), S. 791–796.
- Furchgott, R. F.; Zawadzki, J.V. (1980): The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 (5789), S. 373–376.
- Gilani, A. H.; Aftab, K.; Suria, A.; Siddiqui, S.; Salem, R.; Siddiqui, B. S.; Faizi, S. (1994): Pharmacological studies on hypotensive and spasmolytic activities of pure compounds from *Moringa oleifera*. *Phytother. Res.* 8 (2), S. 87–91
- Glover, W. E.; Shanks, R. G.; Stanford, C. F. (1962): Peripheral Vascular Effects of Mixtures of Isopropylnoradrenaline and Noradrenaline in Man. *Nature* 196 (4858), S. 999
- González-Bello, C. (2016): Designing Irreversible Inhibitors-Worth the Effort? *ChemMedChem* 11 (1), S. 22–30
- Govindan, S.; Taylor, C. W. (2012): P2Y receptor subtypes evoke different Ca²⁺ signals in cultured aortic smooth muscle cells. *Purinergic Signalling*, S. 763–777.
- Guns, P.-J. D. F.; van Assche, T.; Franssen, P.; Robaye, B.; Boeynaems, J.-M.; Bult, H.: Endothelium-dependent relaxation evoked by ATP and UTP in the aorta of P2Y₂-deficient mice. *British Journal of Pharmacology* 2006 (147), S. 569–574.

- Hecht, S. S. (2000): Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates*. *Drug Metabolism Reviews* 32 (3-4), S. 395–411.
- Heiss, C.; Kleinbongard, P.; Dejam, A.; Perré, S.; Schroeter, H.; Sies, H.; Kelm, M. (2005): Acute Consumption of Flavanol-Rich Cocoa and the Reversal of Endothelial Dysfunction in Smokers. *Journal of the American College of Cardiology* 46 (7), S. 1276–1283
- Hellermann, G. R. (1997): Calmodulin Promotes Dimerization of the Oxygenase Domain of Human Endothelial Nitric-oxide Synthase. *Journal of Biological Chemistry* 272 (18), S. 12030–12034
- Kagota, S.; Fukushima, K.; Umetani, K.; Tada, Y.; Nejime, N.; Nakamura, K. et al. (2010): Coronary vascular dysfunction promoted by oxidative-nitrative stress in Shrsfp.Z-Leprfa/IzmDmcr rats with metabolic syndrome. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 37 (11), S. 1035–1043
- Kaiser, R. A.; Buxton, I. L.O. (2002): Nucleotide-mediated relaxation in guinea-pig aorta: selective inhibition by MRS2179. *British Journal of Pharmacology* 135, S. 537–545.
- Kanaris, A. G.; Anastasiou, A. D.; Paras, S. V. (2012): Modeling the effect of blood viscosity on hemodynamic factors in a small bifurcated artery. *Chemical Engineering Science* 71, S. 202–211
- Kluge, A. F.; Petter, R. C. (2010): Acylating drugs. Redesigning natural covalent inhibitors. *Current Opinion in Chemical Biology* 14 (3), S. 421–427.
- Koch, A. E. (1998): Review: angiogenesis: implications for rheumatoid arthritis. In: *Arthritis and Rheumatism* 41 (6), S. 951–962.
- Komaru, T.; Lamping, K. G.; Eastham, C. L.; Harrison, D. G.; Marcus, M. L.; Dellsperger, K. C. (1991): Effect of an arginine analogue on acetylcholine-induced coronary microvascular dilatation in dogs. *The American Journal of Physiology* 261 (6 Pt 2), S. H2001-7.
- Kreye, V. A. W.; Baron, G. D.; Lfith, J. B.; Schmidt-Gayk, H. (1975): Mode of action of sodium nitroprusside on vascular smooth muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 288 (4), S. 381–402.
- Kubo, S. H.; Rector, T. S.; Bank, A. J.; Williams, R. E.; Heifetz, S. M. (1991): Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation* 84 (4), S. 1589–1596
- Kupke, C.; Steyer, A.; Todt, J.; Werner, M.; Patejdl, R.; Noack, T. (2014): The extract of leafs of the Moringa tree is a modulator of smooth muscle tone. *Acta Physiologica*, S. 196.
- Kyselá, S.; Török, J. (1996): Histamine H1-receptor antagonists do not prevent the appearance of endothelium-dependent relaxation to acetylcholine in rat pulmonary artery. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 45 (4), S. 345–350.
- Lang, M. G.; Noll, G.; Lüscher, T. F. (1995): Effect of aging and hypertension on contractility of resistance arteries: modulation by endothelial factors. *The American Journal of Physiology* 269 (3 Pt 2), S. H837-44.
- Grünwald: Börm Bruckmeier. Leitlinien für das Management der arteriellen Hypertonie (2013).

- Lindberg, P.; Brändström, A.; Wallmark, B.; Mattsson, H.; Rikner, L.; Hoffmann, K.-Jürgen (1990): Omeprazole. The first proton pump inhibitor. *Med. Res. Rev.* 10 (1), S. 1–54
- Logsdon, E. A.; Finley, S. D.; Popel, A. S.; Gabhann, F. M. (2014): A systems biology view of blood vessel growth and remodelling. *J. Cell. Mol. Med.* 18 (8), S. 1491–1508.
- Lüscher, T. F.; Barton, M. (1997): Biology of the endothelium. *Clinical Cardiology Supplement* 20, S. 3–10.
- Macmahon, S.; Petro, R.; Cutler, J.; Collins, R.; Sorlie, P.; Neaton, J. et al. (1990): Blood pressure, stroke, and coronary heart disease *1Part 1, prolonged differences in blood pressure. Prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *The Lancet* 335 (8692), S. 765–774
- Martin, G. R.; Bolof, M. L.; Giles, H. (1992): Inhibition of endothelium-dependent vasorelaxation by arginine analogues: a pharmacological analysis of agonist and tissue dependence. *British Journal of Pharmacology* 105 (3), S. 643–652.
- Masuda, Y.; Miyazaki, H.; Kondoh, M.; Watanabe, H.; Yanagisawa, M.; Masaki, T.; Murakami, K. (1989): Two different forms of endothelin receptors in rat lung. *FEBS Letters* 257 (2), S. 208–210.
- McCormack, D. G.; Mak, J.C.; Minette, P.; Barnes, P. J. (1988): Muscarinic receptor subtypes mediating vasodilation in the pulmonary artery. *European Journal of Pharmacology* 158 (3), S. 293–297
- Mengistu, M.; Abebe, Y.; Mekonnen, Y.; Tolessa, T. (2013): In vivo and in vitro hypotensive effect of aqueous extract of *Moringa stenopetala*. *Af Hlth Sci* 12 (4).
- Miwa, S.; Iwamuro, Y.; Zhang, X. F.; Inoki, T.; Okamoto, Y.; Okazawa, M.; Masaki, T. (1999): Ca²⁺ entry channels in rat thoracic aortic smooth muscle cells activated by endothelin-1. *Japanese Journal of Pharmacology* 80 (4), S. 281–288.
- Mombouli, J. V.; Vanhoutte, P. M. (1999): Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 31 (1), S. 61–74.
- Muller, J. M.; Davis, M. J.; Chilian, W. M. (1996): Integrated regulation of pressure and flow in the coronary microcirculation. *Cardiovascular Research* 32 (4), S. 668–678
- Nabel, E. G. (1991): Biology of the impaired endothelium. *The American Journal of Cardiology* 68 (12), S. 6C–8C.
- Nagao, T.; Vanhoutte, P. M. (1993): Endothelium-derived hyperpolarizing factor and endothelium-dependent relaxations. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 8 (1), S. 1–6
- O'Grady, J.; Warrington, S.; Moti, M. J.; Bunting, S.; Flower, R.; Fowle, A.S.E. et al. (1980): Effects of intravenous infusion of prostacyclin (PGI₂) in man. *Prostaglandins* 19 (2), S. 319–332
- Oliveira, J. T. A.; Silveira, S. B.; Vasconcelos, I. M.; Cavada, B. S.; Moreira, R. A. (1999): Compositional and nutritional attributes of seeds from the multiple purpose tree *Moringa oleifera* Lamarck. *J. Sci. Food Agric.* 79 (6), S. 815–820.
- Pandey, A. (2012): *Moringa Oleifera* Lam. (Sahijan) - A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits. An Updated Retrospection. *Medicinal Aromatic Plants* 01 (01)

- Patz, A. (1980): Studies on retinal neovascularization. Friedenwald Lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 19 (10), S. 1133–1138.
- Prugger, C.; Heuschmann, P. U.; Keil, U. (2006): Epidemiologie der Hypertonie in Deutschland und weltweit. *Herz* 31, S. 287–293.
- Radomski, M. W.; Palmer, R. M.; Moncada, S. (1987): The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *British Journal of Pharmacology* 92 (3), S. 639–646.
- Rao, A. V.; Devi, P. U.; Kamath, R. (2001): In vivo radioprotective effect of *Moringa oleifera* leaves. *Indian Journal of Experimental Biology* 39 (9), S. 858–863.
- Ross, R. (1979): The pathogenesis of atherosclerosis. *Mechanisms of Ageing and Development* 9 (5-6), S. 435–440
- Ross, Russell (1993): The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature* 362 (6423), S. 801–809
- Sakamoto, H.; Matsushita, S.; Hyodo, K.; Tokunaga, C.; Sato, F.; Hiramatsu, Y. (2015): A new technique of in vivo synchrotron radiation coronary microangiography in the rat. *Acta Radiologica* 56 (9), S. 1105–1107.
- Sancesario, G.; Cavallotti, C.; Amenta, F. (1982): The autonomic innervation of rat jugular vein. *Cell and Tissue Research* 222 (3), S. 691–693.
- Schaller, Georg; Wolzt, Michael (2006): Maligne und therapierefraktäre Hypertonie. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)* 156 (17-18), S. 488–493
- Senthil Kumar, P.; Centhil, V. M.; Kameshwari, R.; Palaniyappan, M.; Kalaivani, V. Durga; Pavithra, K. Grace (2015): Experimental study on parameter estimation and mechanism for the removal of turbidity from groundwater and synthetic water using *Moringa oleifera* seed powder. *Desalination and Water Treatment* 57 (12), S. 5488–5497.
- Shen, J.; Lusinskas, F. W.; Connolly, A.; Dewey, C. F.; Gimbrone, M. A. (1992): Fluid shear stress modulates cytosolic free calcium in vascular endothelial cells. *The American Journal of Physiology* 262 (2 Pt 1), S. C384-90.
- Shryock, J.C.; Belardinelli, L. (1997): Adenosine and Adenosine Receptors in the Cardiovascular System. Biochemistry, Physiology, and Pharmacology. *The American Journal of Cardiology* 79 (12), S. 2–10.
- Shweiki, D.; Itin, A.; Soffer, D.; Keshet, E. (1992): Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 359 (6398), S. 843–845
- Sperelakis, N. (Hg.) (1989): Physiology and Pathophysiology of the Heart. Boston, MA: Springer US (Developments in Cardiovascular Medicine).
- Stemerman, M. B. (1972): Experimental arteriosclerosis. I. Fibrous plaque formation in primates, an electron microscope study. *Journal of Experimental Medicine* 136 (4), S. 769–789
- Su, N.; Narayanan, N. (1993): Age related alteration in cholinergic but not adrenergic response of rat coronary vasculature. *Cardiovascular Research* 27 (2), S. 284-290
- Vane, J. (1990): Endothelins come home to roost. *Nature* 348 (6303), S. 673.
- Vaněčková, I.; Dobešová, Z.; Kuneš, J.; Vernerová, Z.; Zicha, J. (2015): Endothelin A receptor blocker atrasentan lowers blood pressure by the reduction of nifedipine-sensitive

- calcium influx in Ren-2 transgenic rats fed a high-salt diet. *Journal of Hypertension* 33 (1), S. 161–169
- Vanhoutte, P. M.; Rubanyi, G. M.; Miller, V. M.; Houston, D. S. (1986): Modulation of Vascular Smooth Muscle Contraction by the Endothelium. *Annu. Rev. Physiol.* 48 (1), S. 307–320
- Vaughan, D. E.; Lazos, S. A.; Tong, K. (1995): Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J. Clin. Invest.* 95 (3), S. 995–1001
- Waid, D. K.; Chell, M.; El-Fakahany, E. E. (2000): M2 and M4 Muscarinic Receptor Subtypes Couple to Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Pharmacology* 61 (1), S. 37–42
- Warner, T. D.; Mitchell, J. A. (2002): Cyclooxygenase-3 (COX-3). Filling in the gaps toward a COX continuum? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (21), S. 13371–13373
- Waterman, C.; Cheng, D. M.; Rojas-Silva, P.; Poulev, A.; Dreifus, J.; Lila, M. A.; Raskin, I. (2014): Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochemistry* 103, S. 114–122. DOI: 10.1016/j.phytochem.2014.03.028.
- Waterman, C.; Rojas-Silva, P.; Tumer, T. B.; Kuhn, P.; Richard, A.J.; Wicks, S. et al. (2015): Isothiocyanate-rich *Moringa oleifera* extract reduces weight gain, insulin resistance, and hepatic gluconeogenesis in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 59 (6), S. 1013–1024
- Webb, D.; Vallance, P. (Hg.) (2000): Vascular endothelium in human physiology and pathophysiology. Australia, Canada: Harwood Academic (Endothelial cell research series, v. 7).
- Whelan, R. F.; De La Lande, I S (1963): Action of adrenaline on limb blood vessels. *British Medical Bulletin* 19, S. 125–131.
- Winter, J.C.F. de (2013): Using the Student's t-test with extremely small sample sizes. *Practical Assessment, Research & Evaluation* 18 (10)
- Yanagisawa, M.; Kurihara, H.; Kimura, S.; Goto, K.; Masaki, T. (1988): A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *Journal of Hypertension. Supplement : official journal of the International Society of Hypertension* 6 (4), S. S188-91.
- Yokokawa, K.; Kohno, M.; Yasunari, K.; Murakawa, K.; Takeda, T. (1991): Endothelin-3 regulates endothelin-1 production in cultured human endothelial cells. *Hypertension* 18 (3), S. 304–315.
- Yokokawa, K.; Tahara, H.; Kohno, M.; Mandal, A. K.; Yanagisawa, M.; Takeda, T. (1993): Heparin regulates endothelin production through endothelium-derived nitric oxide in human endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 92 (4), S. 2080–2085
- Yousif, Mariam H.M; Oriowo, M.A; Cherian, A.; Adeagbo, A.S (2002): Histamine-induced vasodilatation in the perfused mesenteric arterial bed of diabetic rats. *Vascular Pharmacology* 39 (6), S. 287–292

7.2. Selbstständigkeitserklärung/ Eidesstattliche Erklärung nach § 4 Abs. 2.5

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die, den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommen Stellen, als solche kenntlich gemacht habe.

Rostock, 07.11.2016

Johanna Krüger

7.3. Danksagung

Mein herzlichster Dank gilt vor allem meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Thomas Noack, für das Vertrauen bei der Überlassung des Themas meiner Dissertation und die ausgezeichnete fachliche Betreuung sowohl während der Forschung, als auch während der Zusammenschrift der Arbeit. Mit viel Geduld wurde mir Wissen vermittelt und meine wissenschaftliche Arbeits- und Denkweise geschult.

Des Weiteren möchte ich mich herzlich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes bedanken, namentlich besonders bei Frau Porath, Frau Sellmann und Herrn Dr. Patejdl, die mir bei jeglichen Fragen zur Seite standen. An dieser Stelle möchte ich mich auch bei meinen Doktoranden-Kolleginnen und Kollegen bedanken, für eine schöne Zeit im Labor, für Interesse an meiner Arbeit und ermutigende und motivierende Worte: Vielen Dank vor allem an Carolin Adams und Hannes Bastian Heinrich.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt mein ganz besonderer Dank für ihre Unterstützung und ihren Zuspruch während des gesamten Studiums und der Fertigstellung dieser Arbeit. Ich danke meinen Eltern, die mir all dieses bedingungslos ermöglicht haben.

8. Thesen

1. Das Extrakt aus dem Pulver der getrockneten Blätter, Wurzeln und Äste des Moringa oleifera Baumes hat eine Wirkung auf die glatte Muskulatur. Die Art der Wirkung ist organspezifisch.
2. Auf die glatte Gefäßmuskulatur wirkt das Pulver endothelabhängig relaxierend. Die endothelabhängige Relaxation wird über eine Produktion von NO vermittelt.
3. Unter Hemmung der endothelabhängigen Signalkaskade wirkt das Extrakt auf die glatte Gefäßmuskulatur nicht relaxierend sondern exzitatorisch.
4. Die Wirkung des Extraktes ist davon abhängig, ob es an der glatten Muskulatur direkt oder über das Gefäßendothel wirkt.
5. Das Extrakt des Moringa oleifera Baumes hat Ähnlichkeit mit der Wirkung von ACh auf die Gefäßmuskulatur.
6. Das Extrakt wirkt nicht wie ACh über muscarinerge Rezeptoren. Auch wirkt es nicht über Histamin- und Purinrezeptoren.
7. Das Extrakt vermittelt seine Wirkung nicht über die endogene Produktion von Prostaglandinen.
8. Auf die Koronararterien wirkt das Extrakt des Moringa oleifera Baumes überwiegend vasokonstriktorisches und führt zu einer Druckerhöhung in den Koronararterien. Es werden biphasische Reaktionen gemessen.