

Aus dem Institut für Pharmakologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. K. Schrör

**Die Wirkung organischer Nitrate auf den Tonus
isolierter Zerebralf Gefäße**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Achim Fette

2001

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dieter Häussinger

Referent: Priv.-Doz. Dr. Georg Kojda

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Schlack

Als elektronische Dissertation der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf veröffentlicht:

URL: <http://www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/med/2001/fette.html>

Krefeld, Mai 2001

Danksagung:

Ich danke allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Georg Kojda für die wissenschaftliche Betreuung und wertvollen Anregungen zum Gelingen.

Meinen Eltern und meiner Frau für ihre Geduld und Motivation.

Ferner möchte ich allen Mitarbeitern des Labors für Ihre Hilfsbereitschaft danken.

Gedenken möchte ich Herrn Prof. Dr. E. Noack, meinem ursprünglichen Doktorvater, der während der Erstellung dieser Dissertation leider verstarb.

Achim Fette

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Nitrovasodilatoren	7
1.1.1	Historischer Rückblick	7
1.1.2	Endogene Nitrovasodilatoren	8
1.1.3	Exogene Nitrovasodilatoren	9
1.1.4	Wirkungsmechanismus der Nitrovasodilatoren	10
1.2	Nitrate und zerebrale Zirkulation	12
1.2.1	Zerebraler Blutfluss	12
1.2.2	Vaskuläre Kopfschmerzen	14
1.3	Fragestellung	16
1.3.1	Wirkung von Nitrovasodilatoren	16
1.3.2	Einfluss von L-Cystein und Etacrynsäure	16
1.3.3	Pathogenese vaskulärer Kopfschmerzen	16
2	Material und Methoden	17
2.1	Material	17
2.1.1	Apparatur	17
2.2	Chemikalien	24
2.2.1	Pufferlösung	24
2.2.2	Pharmaka	25
2.3	Biologisches Material	27
2.3.1	Versuchstiere	27
2.3.2	Präparation	27
2.4	Versuchsdurchführung	28
2.4.1	Äquillibrierung	28
2.4.2	Überprüfung des Endothelstatus	28
2.4.3	Dosiswirkungskurven	29
2.5	Auswertung	34
2.6	Statistik	34

3	Ergebnisse.....	35
3.1	Myogenic tone.....	35
3.1.1	Arteria basilaris.....	35
3.1.2	Arteria cerebri anterior	35
3.2	Vasomotion	35
3.2.1	Arteria basilaris.....	35
3.2.2	Arteria cerebri anterior	36
3.3	Nachweis des Endothels.....	36
3.3.1	Arteria basilaris.....	36
3.3.2	Arteria cerebri anterior	36
3.4	Wirkungen der Untersuchungssubstanzen an den isolierten Gefäßen	37
3.4.1	Arteria basilaris.....	37
3.4.2	Arteria cerebri anterior	45
4	Diskussion.....	49
4.1	Perfusionsmodell und Ultraschallmesstechnik.....	49
4.2	Gefäßanatomie und Physiologie der zerebralen Gefäße des Schweins	49
4.3	Myogenic tone.....	50
4.4	Vasomotion	50
4.5	Wirkung von Vasokonstriktoren	51
4.5.1	Kaliumchlorid (KCl).....	51
4.5.2	Prostaglandin F _{2α} (PGF _{2α}).....	52
4.6	Wirkung von Vasodilatoren.....	54
4.6.1	Norepinephrin (NE)	54
4.6.2	Substance P	55
4.7	Glyceroltrinitrat (GTN).....	56
4.8	SNAP und DEA/NO	58
4.9	Einfluss von L-Cystein auf die Wirkung von GTN und NA	59
4.10	Einfluss von Etacrynsäure auf die Wirkung von GTN.....	61
4.11	Klinische Relevanz	61
5	Zusammenfassung	66
6	Literaturverzeichnis	68

Abkürzungsverzeichnis

cGMP	zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat
CGRP	calcitonin gene related peptide
DEA/NO	Natrium (Z)-1-(N,N-Diethylamino)diazen-1-ium-1,2-diolat
EDRF	endothelium derived relaxing factor
eNOS	endotheliale NO Synthase
GTN	Glyceroltrinitrat
KCl	Kaliumchlorid
NA	Noradrenalin
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
SNAP	S-Nitroso-N-acetyl-D,L-penicillamin

1 Einleitung

1.1 Nitrovasodilatoren

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der pharmakologischen Wirkung von exogenen, organischen Nitraten (GTN) und spontanen NO-Liberatoren (SNAP, DEA/NO) auf verschiedene Zerebralarterien (A. basilaris, A. cerebri anterior).

1.1.1 Historischer Rückblick

Ausgehend von der ersten empirischen medizinischen Anwendung der pharmakologischen NO-Substitution bis zur Entschlüsselung des Wirkprinzips sind fast 150 Jahre vergangen. Bald nach der Erstsynthese von Nitroglycerin durch den Italiener Sobrero im Jahr 1846 wurde eine biologische Wirksamkeit festgestellt und beschrieben. Der homöopathische Arzt Hering berichtete bereits 1851 über Kopfschmerzen und Herzklopfen. 1858 publizierte Field eine „spasmolytische Wirkung“, die man heute als typisch antianginös einstufen würde. Zehn Jahre später setzte Brunton (Brunton, 1867) Amylnitrit zur Therapie der Angina pectoris ein. Bereits 1879 veröffentlichte Murrell (Murrell, 1879) eine Studie zur Wirksamkeit von Nitroglycerin bei 45 Angina pectoris-Patienten im Lancet. Seit dieser Zeit hat sich die Anwendung von Amylnitrit und später zunehmend von Nitroglycerin als Standardverfahren zur Kupierung von Angina pectoris-Anfällen etabliert. Erst nach dem 2. Weltkrieg ist mit der Entwicklung langwirksamer Nitrate (PETN, ISDN) ein Fortschritt hin zur Dauertherapie erzielt worden. Ein Ansatz zur Vermeidung der „Nitrat-Toleranz“ wurde 1970 durch die Entwicklung und spätere Einführung des Sydnominins Molsidomin geschaffen.

Das pharmakologische Wirkprinzip aller genannten Substanzen wurde erst auf der Basis der Entdeckung von Furchgott und Zawadzki aus dem Jahr 1980 erklärbar. Sie beobachteten, dass Gefäße unter Azetylcholin nur dann dilatieren, wenn das Endothel intakt ist. Der von ihnen postulierte „Endothelium derived relaxing factor (EDRF)“ wurde 1987 von der Arbeitsgruppe um Moncada (Palmer et al., 1987) als Stickstoffmonoxid (NO) identifiziert.

1.1.2 Endogene Nitrovasodilatoren

Das kurzlebige Radikal Stickstoffmonoxid ist in praktisch allen Organsystemen des Körpers für eine Vielzahl biologischer Wirkungen verantwortlich. So ist es an der Regulation des Vasotonus, des Atemwegswiderstandes, des Tonus der glatten Muskulatur im Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt, der Immunabwehr, neuronalen Erregungsübertragung und der Thrombozytenaggregation beteiligt (Kojda, 1997). Das Substrat für die zelluläre Produktion des NO ist die Aminosäure L-Arginin (Palmer et al., 1988). Die Bildung von Citrullin unter Abspaltung von NO wird durch ein Enzym, die NO-Synthase (NOS) katalysiert (Schmidt, 1994; Moncada und Higgs, 1993). NO besitzt eine sehr kurze Halbwertszeit und wird im Sekundenbereich zu Nitrit und Nitrat oxidiert, die über den Harn ausgeschieden werden. Der Organismus verfügt über mindestens drei NO-Synthase-Isoenzyme (Schmidt, 1994). Konstitutiv, d.h. normalerweise vorhanden, sind die Synthesen I und III, die im Nervengewebe (nNOS) bzw. im Endothel (eNOS) vorwiegend zu finden sind. Die induzierbare Synthase II (iNOS) wird bei Entzündungsprozessen unter Einfluss von Zytokinen (Interleukin 1 und 2, Tumornekrosefaktor α) z.B. in Makrophagen, Gefäßmyozyten und Hepatozyten exprimiert (Moncada und Higgs, 1993). Größtenteils werden die Wirkungen von NO über eine Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase und dem damit verbundenen Anstieg des cGMP vermittelt (s.u.).

Für die Untersuchungen in dieser Arbeit von besonderem Interesse ist die eNOS. NO ist ein zentraler Mediator für die vielfältigen Aufgaben des Endothels (Vasotonus, thrombogenes/-lytisches System, Wachstums- und Entzündungsprozesse). Einer der wesentlichen Stimuli für die basale NO-Bildung ist die blutströmungsabhängige Aktivierung der eNOS. Durch die Blutbewegung werden Makromoleküle an der luminalen Oberfläche der Endothelzellen (Glykokalyx) mechanisch ausgelenkt (shear-stress). Die Veränderung des Cytoskeletts führt über verschiedene Mechanismen zu einer Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels (Ballermann et al., 1998). Dieser Mechanismus sorgt mit für eine bedarfsgerechte Dilatation bzw. Kontraktion. Experimentelle Studien haben gezeigt, dass es infolge einer arteriosklerotischen Veränderung der Gefäße zu einer verminderten Expressierung der eNOS und damit des NO kommt (Moncada und Higgs, 1993). Daraus resultiert ein erhöhter Vasotonus.

1.1.3 Exogene Nitrovasodilatoren

1.1.3.1 Organische Nitrate

Zu den organischen Nitraten gehören einige wichtige Arzneistoffe, die heute sowohl bei der Akutbehandlung der Myokardischämie und der Herzinsuffizienz als auch in der Prävention der koronaren Herzerkrankung eingesetzt werden. Hierzu zählen Glyceroltrinitrat (GTN), Isosorbidmonobitrat (ISMN), Isosorbiddinitrat (ISDN) und Pentaerythritoltetranitrat (PETN). Sie sind allesamt Ester der Salpetersäure mit ein- oder mehrwertigen Alkoholen. Zu den organischen Nitraten gehören auch noch Amylnitrit, Nitroprussid-Natrium und Nitrosothiole.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von **Glyceroltrinitrat** auf zwei verschiedene große Zerebralgefäße untersucht. GTN wirkt von allen Nitraten am schnellsten, aber auch nur sehr kurz (10-30 min). Die Substanz ist als Spray oder Zerbeißkapsel im Handel und wird im Mund- bzw. Rachenraum resorbiert. Sie ist nach wie vor Mittel der ersten Wahl in der Akuttherapie der Angina pectoris, da die Wirkung nach Sekunden bis Minuten einsetzt. Eine orale Therapie zur Anfallsprophylaxe ist nicht sinnvoll, da GTN einem hohen First-Pass-Effekt unterliegt und somit die verzögerte Freisetzung der Substanz unsicher ist. Zur Prophylaxe bewährt hat sich hingegen die transdermale Applikation, da hierbei die Substanz unter Umgehung der Leber direkt in den Blutkreislauf gelangt.

1.1.3.2 spontane NO-Donatoren

Ebenfalls untersucht wurde die Wirkung zweier spontaner NO-Donatoren: S-Nitroso-N-acetyl-D, L-penicillamin (SNAP) und Natrium (Z)-1-(N, N-Dimethylamino)diazen-1-ium-1, 2-diolat (DEA/NO).

SNAP ist eine Substanz, die Stickstoffmonoxid spontan in großen Mengen freisetzt (Noack und Feelisch, 1991). Gleiches gilt für DEA/NO (Kojda, 1997). Beide Substanzen werden nicht im klinischen Alltag, sondern lediglich zu Versuchszwecken eingesetzt. Sie wirken sehr stark gefäßdilatierend. Die Endstrecke der dafür verantwortlichen Reaktionskaskade entspricht dabei den organischen Nitraten. Im

Gegensatz zu diesen benötigen SNAP und DEA/NO jedoch *keine Bioaktivierung*, um NO freizusetzen. Der genaue Wirkmechanismus wird im folgenden Kapitel beschrieben.

1.1.4 Wirkungsmechanismus der Nitrovasodilatoren

Organische Nitrate haben eine gefäßdilatorische Wirkung. Diese wird durch Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) vermittelt (Ignarro et al., 1981). Organische Nitrate können in Gegenwart hoher Dosen von Thiolen enzymunabhängig NO bilden (Feelisch und Noack, 1987). Im Bereich physiologischer SH-Gruppen-Konzentrationen sind wahrscheinlich enzymatische Prozesse für die NO-Freisetzung verantwortlich. Im Gewebe kommt es zu einer enzymatischen Abspaltung von Nitroestern. Dabei wird der Nitrato-Stickstoff zu NO reduziert (Chung und Fung 1990, 1992). Vermutlich sind mehrere Enzymsysteme an dieser Bioaktivierung beteiligt. Kontrovers diskutiert wird eine Beteiligung der Glutathion-S-transferase (Hill et al., 1992; Kenkare et al., 1994; Haefeli et al., 1993) und des Cytochrom-P-450-Systems (Bennet et al., 1992; Schröder, 1992; Liu et al. 1993). NO führt zu einer Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase, welche die Bildung von zyklischem Guanosin-Monophosphat (cGMP) aus Guanosin-Triphosphat (GTP) katalysiert. Es ließ sich nachweisen, dass organische Nitrate nur in Gegenwart bestimmter Thiolverbindungen in der Lage sind die isolierte lösliche Guanylatzyklase zu stimulieren (Schröder und Noack, 1986). cGMP ist ein wichtiger zellulärer "second messenger".

Der erhöhte cGMP-Spiegel bewirkt eine verringerte Calcium-Konzentration in der glatten Gefäßmuskelzelle. Eine Übersicht der hierfür ursächlichen Mechanismen findet man bei Rand (1991) oder Rembold (1992).

1. Inhibierung der Bildung von Inositoltriphosphat (IP₃, führt zu einer Freisetzung von Kalzium aus dem endoplasmatischen Retikulum)
2. Verminderung des Kalzium-Influx in die Zelle
3. Stimulation der membranständigen Ca²⁺-ATPase der Plasmamembran durch Aktivierung von Proteinkinasen
4. Stimulation der membranständigen Ca²⁺-ATPase des Sarkoplasmatischen Retikulums durch Phosphorylierung von Phospholamban

5. Öffnen von Kalzium-aktivierten-K⁺-Kanälen und konsekutiver Hyperpolarisation (verm. Ca²⁺-Influx)
6. Inhibierung der cAMP-Phosphodiesterase

Eine erniedrigte intrazelluläre Kalzium-Konzentration führt zur Relaxation der glatten Gefäßmuskelzelle (Rapaport und Murad, 1983) durch Hemmung der Aktin-Myosin Interaktion.

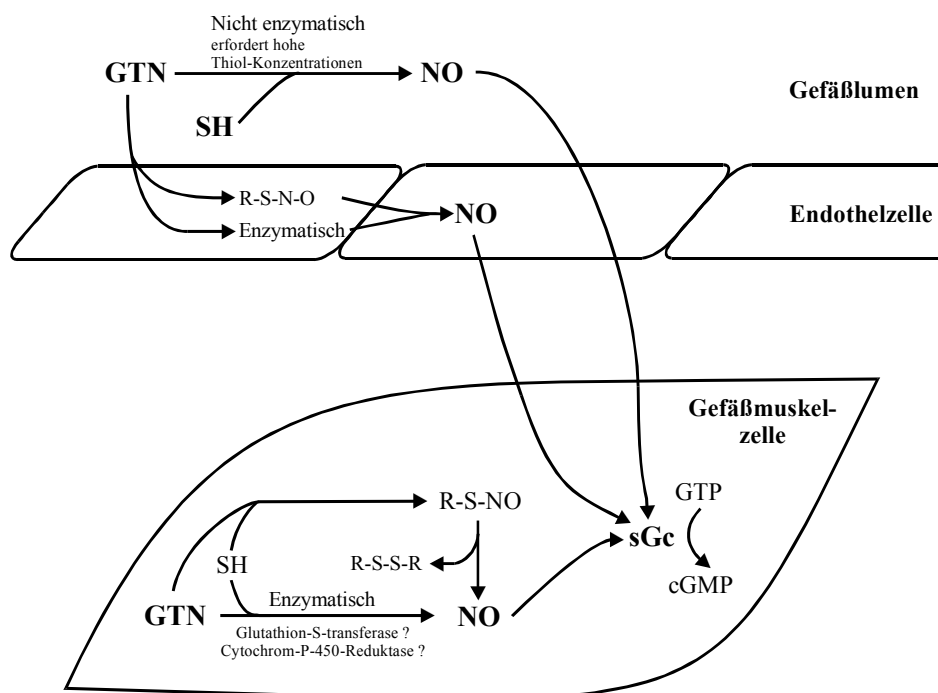


Abb. 1-1: Mechanismus der Nitratmetabolisierung und Wirkung von exogenem NO (modifiziert nach Boesgaard, 1995; Kojda et al., 1991)

Organische Nitrate gehören seit mehr als hundert Jahren zur Therapie der Angina pectoris, des wichtigsten Symptoms der koronaren Herzkrankheit. Sie bewirken eine Vasodilatation, die vor allem das venöse System und die Lungengefäße betrifft. Dadurch „versackt“ ein Teil des Blutes in den Gefäßen des Niederdrucksystems (venöses Pooling), d.h. es fließt weniger Blut zum Herzen (Vorlastreduktion). Dementsprechend nimmt der Füllungsdruck der Ventrikel ab. Dies hat eine Abnahme der systolischen Wandspannung der Ventrikel zur Folge, da sowohl die Kontraktionskraft

(Frank-Starling-Mechanismus), als auch das Ventrikelvolumen (Laplace-Gesetz) abnehmen. Mit der Wandspannung senken die Nitrate eine wesentliche Determinante des myokardialen Sauerstoffverbrauches und vermindern somit das Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -verbrauch. Die Abnahme der ventrikulären Wandspannung ermöglicht ferner einen vermehrten Blutfluss vom epikardialen zum besonders ischämiegefährdeten subendokardialen Anteil des Myokards. Der arterielle Blutdruck sinkt infolge der Abnahme des Schlagvolumens und einer mäßigen arteriellen Dilatation ab. Zusätzlich haben die organischen Nitrate noch einen dilatatorischen Effekt auf die Koronargefäße, der jedoch auf die großen Gefäßabschnitte beschränkt ist. Die koronaren Widerstandsgefäße sprechen nur in deutlich geringerem Maße auf die Wirkung organischer Nitrate an (Selke et al., 1990). Es kommt folglich nicht zu einer nennenswerten Steigerung der Koronarperfusion. Anders verhält es sich bei durch Arteriosklerose pathologisch veränderten Koronarien. Die poststenotischen Arteriolen sind wegen der Hypoxie autoregulatorisch maximal dilatiert. Tritt nun die relaxierende Wirkung der organischen Nitrate an den großen Koronarien auf setzt dieser maximal dilatierte Teil des Gefäßsystems dem gesteigerten Blutangebot den geringsten Widerstand entgegen. Folglich erfolgt eine Umverteilung des Blutes zugunsten ischämischer Myokardareale (positiver steal Effekt).

Die häufigste Nebenwirkung bei der Therapie mit Nitraten ist der Kopfschmerz. Des weiteren kommt es zu orthostatischen Dysregulationen und Reflextachykardien.

1.2 Nitrate und zerebrale Zirkulation

In dieser Arbeit soll die Wirkung von Nitraten auf isolierte Zerebralf Gefäße untersucht werden, um einen Beitrag zur Erklärung des Mechanismus zu liefern, der zum sog. Nitratkopfschmerz führt.

1.2.1 Zerebraler Blutfluss

Die Hirndurchblutung ist in einem breiten physiologischen Bereich, etwa zwischen arteriellen Mitteldruckwerten von 50-100 mmHg, durch die Autoregulation

blutdruckunabhängig (Poeck, 1998). Bei steigendem Blutdruck kontrahieren, bei fallendem dilatieren sich die Zerebralgefäße und halten so die Hirndurchblutung konstant. Man bezeichnet dies als Bayliss-Effekt.

Unabhängig vom Blutdruck verändert sich der Tonus der Zerebralarterien unter dem Einfluss des $p\text{CO}_2$ bzw. $p\text{O}_2$ und des pH. Eine Erhöhung des $p\text{CO}_2$ bzw. eine Erniedrigung des pH (Azidose) führen zu einer Vasodilatation. Dieser Effekt kann bei zerebralen Ischämien beobachtet werden. Im Ischämieareal sind die Gefäße maximal relaxiert.

Die Beteiligung von NO an beiden Mechanismen wird kontrovers diskutiert (Toda und Okamura, 1996, Faraci und Brian, 1994). Als Quelle des Stickstoffmonoxids werden das Gefäßendothel und NO freisetzende Nerven postuliert (Tod und Okamura 1996).

Die in dieser Studie verwandten Gefäße (A. cerebri anterior und A. basilaris) gehören zu den großen arteriellen Blutgefäßen der zerebralen Zirkulation.

Die **A. cerebri anterior** entspringt aus dem Circulus arteriosus Willisii und versorgt die vorderen Hirnanteile.

Die **A. basilaris** geht aus der Vereinigung der beiden Aa. vertebrales hervor und ist ebenfalls mit dem Circulus arteriosus Willisii verbunden. Sie gehört neben den Aa. carotides zu den Hauptversorgungsgefäßen des Gehirns.

Anders als in anderen Regionen des Körpers gehören die großen Arterien des Hirn ebenso wie die Arteriolen zu den Widerstandsgefäßen (Faraci und Heistad, 1990). Eine weitere Besonderheit intrazerebraler Arterien ist die Ausbildung eines gefäßeigenen Tonus, dem sog. „myogenic tone“ (Winqvist et al., 1982). Der Tonus der Gefäße entspricht in-vitro nicht der maximal möglichen Relaxation, sie können durch verschiedene Substanzen maximal dilatiert werden. Als drittes Phänomen kann an Zerebralarterien eine Vasomotion, d.h. eine rhythmische Kontraktion und Dilatation beobachtet werden, die je nach Gefäß und Blutdruck in Frequenz und Stärke unterschiedlich ist (Meyerson et al., 1991).

Die Zerebralarterien sind von dichtem perivaskulären Gewebe und leptomeningealen Häuten umgeben. Sie enthalten Nervenfasern, die Verbindungen zum N. trigeminus haben und so, im Gegensatz zum Gehirn, nozizeptive Reize weiterleiten können. Diese Verbindungen haben zum Begriff des trigeminovaskulären Systems geführt

(Moskowitz, 1991). Dieses soll an der Pathogenese vaskulär bedingter Kopfschmerzen beteiligt sein.

1.2.2 Vaskuläre Kopfschmerzen

Die häufigste Nebenwirkung (20-50 % aller Patienten) bei der Anwendung organischer Nitrate zur antianginösen Therapie ist der Kopfschmerz. Dieser tritt meist unmittelbar nach Anwendung des Nitratpräparates auf, ist bifrontal bzw. -temporal lokalisiert, von pulsierendem Charakter und wird durch Anstrengung verstärkt (Kohl, 1983).

Erstmalig um die Jahrhundertwende wurde bei Arbeitern in Munitionsfabriken der „Dynamit-Kopfschmerz“ beschrieben (Laws, 1910; Rabinowitch, 1944; Schwartz, 1946), als dessen Ursache das Nitroglycerin identifiziert wurde. Die Beschwerden traten zu Beginn der Woche auf, verschwanden aber nach kurzer Zeit. Erst nach einem freien Wochenende rezidierten die Beschwerden. Zur Prophylaxe gingen die Arbeiter dazu über, sich die Haut an den freien Wochenendtagen mit Nitroglycerin einzureiben und so einem Toleranzverlust vorzubeugen.

Seit dieser Zeit wurde die Pathogenese des Kopfschmerzes immer weiter aufgeklärt. Verschiedene Autoren erkannten in den dreißiger und vierziger Jahren die Bedeutung der weichen und harten Hirnhäute als schmerzsensibles, perivaskuläres Gewebe. Mayberg et al. (1981) identifizierten Verbindungen von schmerzsensiblen Fasern des N. trigeminus zu den zerebralen Gefäßen. Jahre später wurde dann der Zusammenhang zwischen Kopfschmerzen und zerebraler Vasodilatation entdeckt.

Nitrate werden zur Erforschung anderer vaskulärer Kopfschmerzen eingesetzt. Die häufigste Form ist die Migräne, deren Symptomatik in vielen Punkten mit dem Nitratkopfschmerz übereinstimmt.

Die Migräne ist ein periodisch rezidivierender, überwiegend einseitiger, Kopfschmerz, der mit Nausea und Erbrechen, oft auch mit einer Aura fokaler neurologischer Symptome einhergeht. Charakteristisch sind weiterhin eine Photo- und Phonophobie, sowie eine Verstärkung der Beschwerden unter körperlicher Belastung.

Unmittelbar vor einem Migräneanfall kommt es häufig zur sogenannten Aura, die z.B. durch Flimmerskotome, Dysarthrien oder Lähmungen charakterisiert ist. Sie wird auf eine Funktionsstörung kortikaler Areale zurückgeführt, die von den Trigemuskernen aus über Hirnstammkerne in Gang gesetzt wird und sich nach Art einer Depolarisationswelle („cortical spreading depression“) mit einer Geschwindigkeit von 2-3 mm/min von okzipital nach rostral ausbreitet (Poeck, 1998; Moskowitz, 1984). Diese Depolarisationswelle geht mit einer Verschiebung der extra-/intrazellulären Ionenverteilung sowie einer Verminderung des regionalen zerebralen Blutflusses einher. Ob die regionale Minderdurchblutung Ursache oder Folge der „cortical spreading depression“ ist, ist unklar (Lauritzen, 1994).

Als Ursache für die anschließend auftretenden Kopfschmerzen und die Vasodilatation werden verschiedene Mechanismen diskutiert:

Die Kopfschmerzen werden auf eine neurogen vermittelte, sterile, perivaskuläre Entzündung zurückgeführt, welche über Stimulation afferenter C-Fasern des N. trigeminus die Schmerzen auslöst (Poeck, 1998).

Durch eine Stimulation des trigeminovaskulären Systems werden verschiedene Mediatoren aus den perivaskulären Nervenfasern freigesetzt. Dazu gehören die Neuropeptide Substance P, Neurokinin A und CGRP (Moskowitz, 1991). Diese verursachen die angesprochene sterile, perivaskuläre Entzündung, eine Vasodilatation, eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität und eine Degranulation von Mastzellen mit konsekutiver Freisetzung von Histamin (Buzzi et al., 1995). Histamin stimuliert über Bindung an den endothelialen H1-Rezeptor die eNOS zur NO-Produktion. Diese bewirkt, wie oben beschrieben, eine Dilatation. Das freigesetzte Stickstoffmonoxid könnte ebenfalls durch direkte nozizeptive Wirkung ein wichtiges Molekül in der Genese der Migräne sein (Olesen, 1994).

Anhand der beschriebenen Mechanismen ist zu entnehmen, dass der Kopfschmerz nicht durch die Gefäßerweiterung verursacht wird, sondern die Dilatation Folge oder Begleitreaktion des Schmerzes ist.

GTN stimuliert über NO das trigeminovaskuläre System (Wei et al., 1992) ohne vorher eine Dilatation an den Zerebralarterien ausgelöst zu haben. Dieser Mechanismus oder

die direkte schmerzauslösende Wirkung von NO könnten dem Pathomechanismus des Nitratkopfschmerzes zu Grunde liegen.

1.3 Fragestellung

1.3.1 Wirkung von Nitrovasodilatoren

Die Wirkung verschiedener Nitrovasodilatoren sollte auf verschiedenen Zerebralgefäße des Schweins untersucht werden. Als Nitrovasodilatoren wurden ein organisches Nitrat (GTN) und zwei spontane NO-Liberatoren (SNAP, DEA/NO) verwandt, die sich hinsichtlich des Mechanismus der Freisetzung von Stickstoffmonoxid unterscheiden. Die A. basilaris und die A. cerebri anterior fungierten als Repräsentativgefäße für die großen Zerebralarterien.

1.3.2 Einfluss von L-Cystein und Etacrynsäure

GTN wirkt über eine Interaktion mit Thiolgruppen relaxierend auf arterielle Gefäße. Es wurden Versuche durchgeführt, um festzustellen, welchen Einfluss ein Mehrangebot von Thiolgruppen (L-Cystein) auf die dilatative Wirkung von GTN an Zerebralarterien haben. In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde der Effekt einer simultanen Gabe von Etacrynsäure, welches SH-Gruppen alkyliert, untersucht.

1.3.3 Pathogenese vaskulärer Kopfschmerzen

Aus den erhobenen Ergebnissen wurden Rückschlüsse auf die zerebrale Zirkulation abgeleitet. Des weiteren wurde die Pathogenese vaskulärer Kopfschmerzen, insbesondere des Nitratkopfschmerzes und der Migräne, diskutiert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Apparatur

Die verwendete Apparatur setzte sich aus folgenden Geräten zusammen:

- zwei doppelwandige begaste **Vorratsgefäße** (1 Liter) aus Plexiglas

Eines des Gefäße enthielt während der Versuche die Pufferlösung, das andere die wechselnd zugesetzten Pharmakalösungen. Um eine Durchmischung der zur Pufferlösung zugegebenen Pharmaka zu gewährleisten, stand letzteres auf einem Magnetrührer (Corning Stirrer PC 353).

- eine **Rollerpumpe** (Miniplus 2)

Die Rollerpumpe diente dazu in dem die einzelnen Teilgeräte verbindenden Schlauchsystem eine in regelmäßigen Abständen kontrollierte Flussgeschwindigkeit von 10 [ml/min] herzustellen. Die Pufferlösung bzw. die Pharmaka wurden so bei maximal eingestellter Rotationsgeschwindigkeit von 25 Umdrehungen pro Minute [U/min] in 80 Sekunden [sec] von den Vorratsgefäßen zur Perfusionshalterung transportiert.

- ein metallverarbeitetes **Organbad** (80 [ml])

Das Organbad wurde während des Versuches mit Pufferlösung gefüllt, die über zwei im Boden des Organbades befindliche Fritten kontinuierlich mit Carbogas begast wurde. In der Mitte des Bodens befand sich ein regulierbarer Abfluss. Durch undichte Stellen gelangte aus dem in der Perfusionshalterung fixiertem Gefäß ebenfalls Flüssigkeit in das Organbad.

- eine metallverarbeitete **Perfusionshalterung**

Auf der metallverarbeiteten Perfusionshalterung wurde das Gefäß fixiert (s. Abb. W). Sie bestand aus einem zu- und einem abführenden Schenkel, deren Länge jeweils 5

[cm] betrug. Diese beiden waren durch einen Querbalken miteinander verbunden, der sich in seiner Länge um 1 [cm] verstellen ließ. Hierdurch ließ sich der Abstand der beiden Schenkel zwischen 0,7 [cm] und 1,7 [cm] variieren, so dass unterschiedliche Gefäßlängen berücksichtigt werden konnten. Zwischen den beiden Schenkeln wurde das Gefäß fixiert. Das Lumen der Perfusionshalterung verjüngte sich in diesem Bereich auf einen Innendurchmesser von 0,5 [mm]. Dadurch konnte ein Flüssigkeitsstrom vom zuführendem Schenkel durch das Gefäß zum abführenden Schenkel hergestellt werden.

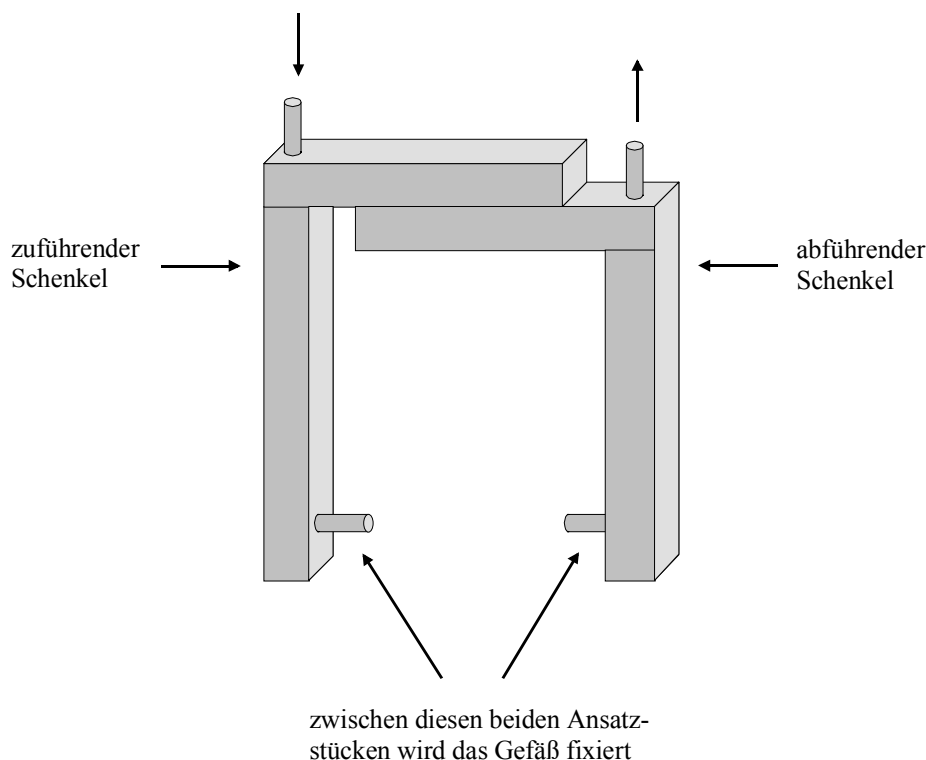


Abb. 2-1: Perfusionshalterung

- ein Schlauchsystem

Das Schlauchsystem stellte die Verbindung zwischen den Vorratsgefäßen und der Perfusionshalterung her. Es wurden Tygonschläuche mit einem Innendurchmesser von 3 [mm] verwendet. In jedem der beiden Vorratsgefäße befand sich je ein 33 [cm] langes Schlauchstück, die über einen Dreiwegehahn miteinander verbunden waren. Hierdurch war es möglich reibungslos zwischen den beiden Vorratsgefäßen umzuschalten und entweder Pufferlösung oder die verschiedenen Pharmaka

anzusaugen. Ein 45 [cm] langes Schlauchstück führte zur Rollerpumpe. 10 [cm] hinter der Rollerpumpe befanden sich zwei Perfusionsdämpfer, die über Y-Abzweigungen mit dem Hauptschlauch verbunden waren. Eine Wärmeschlange schloss sich weitere 10 [cm] hinter dem zweiten Perfusionsdämpfer an. Sie sollte die sie durchströmende Flüssigkeit auf 37° C zu erwärmen. Zwischen Wärmeschlange und zuführendem Schenkel der Perfusionshalterung folgte ein 26 [cm] langes Schlauchstück, in welchem sich ein Y-Abzweig zum Druckmesskopf befand. Nach Durchströmen des Gefäßes erreichte die Flüssigkeit den abführenden Schenkel der Perfusionshalterung, an dem ein Schlauchstück von 73 [cm] Länge befestigt war, das zur Einstellung verschiedener Drücke einen Höhenänderung von 30 - 50 [cm] gestattete. Am Ende des Schlauchsystems diente ein Messbecher zum Auffangen der Flüssigkeiten.

- **ein Druckmesskopf mit Registriergerät** (HSE-Elektro-Manometer)

Der Druckmesskopf diente der Registrierung des Gefäßdruckes. Er war mit einem 30 [cm] langen Schlauchstück und dazwischengeschaltetem Perfusionsdämpfer über eine Abzweigung (Y-Stück), die sich zwischen Wärmeschlange und Perfusionshalterung befand, mit dem Schlauchsystem verbunden. Der Druckmesskopf musste vor Versuchsbeginn luftblasenfrei mit Flüssigkeit gefüllt werden.

Auf einer Skala des Registriergerätes konnten während des Versuches die jeweiligen Gefäßdrücke abgelesen werden. Das Registriergerät war mit einem Schreiber (s.u.) verbunden, der die entstehenden Druckwerte als Druckkurve in roter Farbe aufzeichnete.

Vor jedem Versuch erfolgte synchron die Eichung von Registriergerät und Schreiber. Hierzu diente ein Manometer (Quecksilber), das an den Druckmesskopf angeschlossen wurde. Es wurden Drücke zwischen 0 und 70 [mmHg] eingestellt, die mittels Brückenabgleich mit der Registriergerätskala und dem Druckschreiber in Übereinstimmung gebracht wurden. Dabei entsprachen 2,5 [mm] auf dem Schreiberprotokoll einer Druckänderung von 1 [mmHg].

- **ein Thermostat** (KYRO-Thermostat WKS)

Um die Versuchsbedingungen den physiologischen Verhältnissen weitestgehend anzupassen, sollten die, während des gesamten Versuches eingesetzten, das Gefäß

umgebenden und perfundierenden Flüssigkeiten, eine konstante Temperatur von 37 °C haben. Hierzu wurde ein geschlossener Wasserkreislauf benutzt. In einem beheizten Wassertank befand sich ein Thermostat, das die Temperatur des Wassers stets bei 37 °C hielt. Vom Wassertank aus zirkulierte das Wasser nun über ein Schlauchsystem von der Wärmeschlange zum Organbad und von dort über die beiden doppelwandigen Vorratsgefäße wieder zurück zum Wassertank. Die Temperatur der umgebenden und perfundierenden Flüssigkeiten wurde regelmäßig kontrolliert.

- zwei Ultraschallmessvorrichtungen

Zur Messung der Kontraktion bzw. Dilatation des untersuchten Gefäßes dienten zwei Ultraschallmessvorrichtungen (s. Abb. X). Sie bestanden jeweils aus einem Ultraschallsender und -empfänger. Der Ultraschallsender war an einem Metallgestell befestigt und über einen dünnen Draht mit einer Stromquelle verbunden. Der Ultraschallempfänger war über einen elastischen Halterungsdraht mit dem Metallgestell verbunden. Zur Signalweiterleitung dienten Elektrodrähte, die um den elastischen Halterungsdraht gewunden waren.

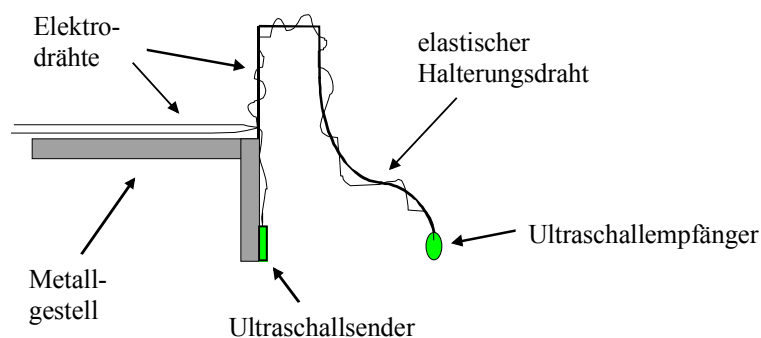


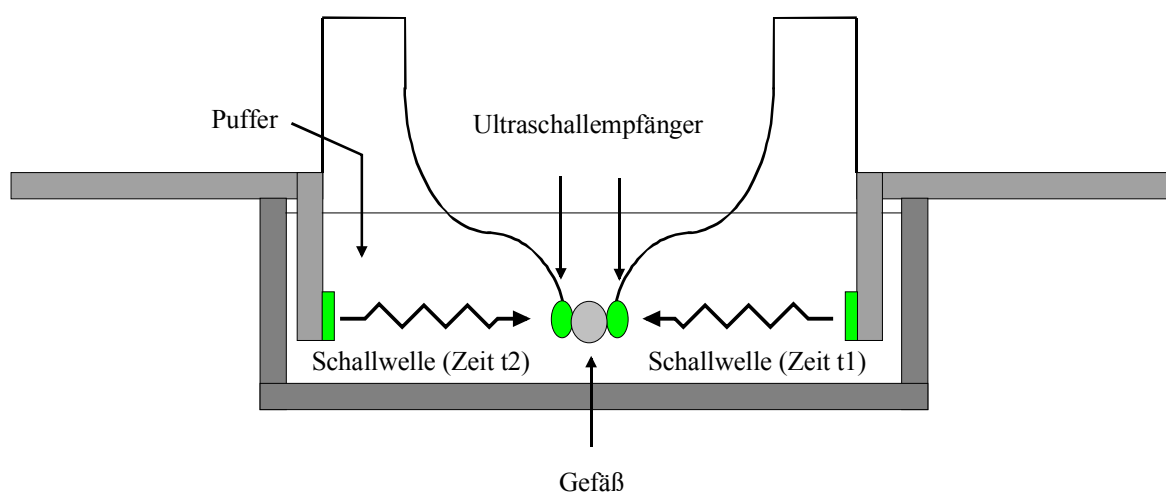
Abb. 2-2: Ultraschallmessvorrichtung

Die Ultraschallmessvorrichtungen wurden einander gegenüber am Organbad so fixiert, dass die beiden Ultraschallempfänger dem untersuchten Gefäß auflagen (Abb. X)

Die Messung erfolgte nun in folgender Weise:

Die beiden Sender sandten Ultraschallwellen durch die Pufferlösung in Richtung der Empfänger, die von diesem in ein elektrisches Signal umgewandelt wurden. Über

dieses wurde nun die Laufzeit der Schallwelle registriert, die sich proportional zur Entfernung von Sender und Empfänger zueinander verhielt. Tonusänderungen der Gefäßwand bewirkten eine Positionsänderung der elastisch am Gefäß fixierten Empfänger, also eine Veränderung der Entfernung zwischen Sender und Empfänger und somit eine Laufzeitverkürzung oder -verlängerung. Eine Laufzeitverkürzung entsprach dabei einer Dilatation, eine Laufzeitverlängerung einer Kontraktion. Als Ausgangswert X wurden die Laufzeiten t_1 und t_2 (s. Abb. Y) addiert ($t_1 + t_2 = X$), d.h. die addierten Zeiten, die die Signale von den beiden Sendern zu den Empfängern benötigten.



$$t_1 + t_2 = X$$

$$t_1 + t_2 < X \Rightarrow \text{Dilatation}$$

$$t_1 + t_2 > X \Rightarrow \text{Kontraktion}$$

Abb. 2-3: Versuchsanordnung der beiden Ultraschallmessvorrichtungen

Im dilatierten Zustand war $t_1 + t_2 < X$, im kontrahierten Zustand war $t_1 + t_2 > X$. Bei dieser Methode wurden also keine Änderungen von Absolutwerten erfasst, sondern immer nur die Tonusänderungen des jeweils untersuchten Gefäßes als Relativwerte wiedergegeben.

- eine Steuerungs- und Verstärkereinheit

Die beiden Ultraschallmessvorrichtungen waren über Elektrokabel mit der Steuerungs- und Verstärkereinheit verbunden. Über die Steuerungseinheit konnten die von den Ultraschallempfängern ausgesandten Signale so eingestellt werden, dass man stabile, auswertbare Signale erhielt. Zur Kontrolle der Einstellung diente ein Oszilloskopbildschirm.

Im Einzelnen ließen sich folgende Einstellungen vornehmen:

1. Die Breiteneinstellung

Sie diente zur Erfassung des Signals in seinem gesamten Umfang

2. Die Fenstereinstellung

Sie ermöglichte es das Signal in der Mitte des Oszilloskopbildschirms zu positionieren

3. Die Triggereinstellung

Mit ihr konnten störende Einflüsse eliminiert werden, so dass ein konstantes und stabiles Signal entstand.

Die so veränderten Signale wurden addiert und halbiert und über die Verstärkereinheit zum Schreiber gesandt.

- **ein Schreiber** (SE 120, BBC Goetz Metrawatt)

Der Schreiber erfasste kontinuierlich die Messwerte des zu untersuchenden Gefäßes. Er verfügte über zwei Kanäle. Kanal 1 (blauer Schreiber) zeichnete die Tonusveränderungen des Gefäßes auf, Kanal 2 (roter Schreiber) erfasste die Druckveränderungen. Die Spannung von Kanal 1 betrug 1 [V], die von Kanal 2 10 [V]. Der Papiervortrieb war auf 0,5 [cm]/[min] eingestellt.

Zu Beginn wurde der rote Schreiber, wie oben beschrieben, geeicht. Dabei entsprachen 10 Einheiten des Registrierpapiers einer Druckänderung von 10 [mmHg]. Danach wurde der blaue Schreiber durch Änderung der Verstärkerleistung in der Mitte des Registrierpapiers positioniert. Ausschläge nach oben zeigten definitionsgemäß eine Kontraktion des Gefäßes an, Ausschläge nach unten eine Dilatation.

- **eine Begasung**

Die Pufferlösungen in den Vorratsgefäßen und im Organbad wurden kontinuierlich mit Carbogengas (O₂/CO₂ - 95%/5%) begast.

2.2 Chemikalien

2.2.1 Pufferlösung

Als physiologisches Nährmedium diente eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung mit folgender Zusammensetzung:

Na ⁺	123,07 [mmol]/[l]
K ⁺	5,87 [mmol]/[l]
Ca ²⁺	1,60 [mmol]/[l]
Mg ²⁺	1,18 [mmol]/[l]
Cl ⁻	124,78 [mmol]/[l]
HCO ₃ ⁻	5,00 [mmol]/[l]
H ₂ PO ₄ ²⁻	1,18 [mmol]/[l]
SO ₄ ⁻	1,18 [mmol]/[l]
Glucose	5,05 [mmol]/[l]

Diese wurde täglich unter Verwendung folgender selbsthergestellter Elektrolytlösungen hergestellt.

Stamm I

KH ₂ PO ₄	MG: 136,09 [g]/[mol]	0,235 [mol]/[l]
---------------------------------	----------------------	-----------------

Stamm II

KCl	MG: 74,56 [g]/[mol]	0,939 [mol]/[l]
-----	---------------------	-----------------

Stamm III

MgSO ₄ x 7 H ₂ O	MG: 246,48 [g]/[mol]	0,235 [mol]/[l]
--	----------------------	-----------------

Stamm IV

CaCl ₂	MG: 147,02 [g]/[mol]	0,320 [mol]/[l]
-------------------	----------------------	-----------------

Für 1 [l] der Nährlösung benötigte man jeweils 5 [ml] der Stammlösungen sowie 6,9 [g] NaCl, 2,1 [g] NaHCO₃, 1,099 [g] Glucose-Monohydrat und Aqua bidestillata (ad 1 [l]).

Der pH-Wert der Lösung wurde mit Hilfe einer zuvor auf pH 7,0 geeichten KCl-Elektrode durch Zugabe von 25%iger HCl-Lösung auf 7,15 eingestellt. Unter Versuchsbedingungen, d.h. bei einer Temperatur von 37 °C und Begasung mit Carbogen (O₂/CO₂, 95%/5%), lag der pH-Wert zwischen 7,35 und 7,45. Alle verwendeten Substanzen wurden von der Firma Merck, Darmstadt bezogen.

2.2.2 Pharmaka

- **Kaliumchlorid** (KCl), reinst, Merck, MG: 74,56 [g]/[mol]

Die Stammlösung wurde in einer Konzentration von 4 [mol]/[l] hergestellt, das entspricht 298,24 [g]/[l].

- **Prostaglandin F_{2α}** (PGF_{2α}), Minprostin F_{2α}[®] Ampulle (Upjohn, Heppenheim)

Zur Herstellung der Stammlösung (10 [mmol]/[l]) wurde die Ampullenflüssigkeit durch Zugabe von 441 [μl] Aqua bidestillata verdünnt. Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C.

- **Substance P**, Sigma, Deisenhofen

Eine wässrige Lösung (10 [μmol]/[l]) wurde bei -80 °C gelagert und täglich mit Aqua bidestillata zu der verwendeten Stammlösung (1 [μmol]/[l]) verdünnt.

- **Noradrenalin (NA)**, Arterenol[®] (Zusatz von Ascorbinsäure), Sigma, MG: 205,6 [g]/[l]

Die Stammlösung wurde in einer Konzentration von 10 [mmol]/[l] hergestellt.

- **Glyceroltrinitrat (GTN)**, Perlinganit[®], Schwarz Pharma, (1 [mg]/[ml] entspricht 4,404 [mmol])

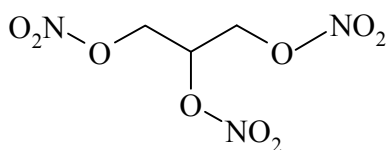


Abb. 2-2-4: **Strukturformel Glyceroltrinitrat**

Zur Herstellung der Stammlösung (1 [mmol]/[l]) wurden 227,1 [μl] Perlingat mit 772,9 [μl] verdünnt.

- **L-Cystein**, Sigma, Deisenhofen, MG: 121,1 [g]/[l]

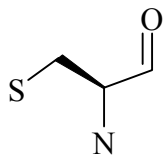


Abb. 2-5: Strukturformel L-Cystein

Die Stammlösung wurde in der Konzentration 100 [mmol]/[l] hergestellt.

- **S-Nitroso-N-acetyl-D, L-penicillamin (SNAP)**, kristallin, laboreigene Herstellung, MG: 220,2 [g]/[mol]

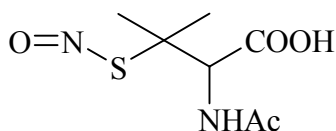


Abb. 2-6: Strukturformel SNAP

Zur Herstellung der Stammlösung (10 [mmol]/[l]) wurde die abgewogene Menge SNAP zunächst in 5 Vol% Dimethylsulfoxid (DMSO, Merck Darmstadt) aufgelöst und dann mit Aqua bidestillata aufgefüllt. Die Lagerung erfolgte bei 4 °C.

- **Natrium (Z)-1-(N,N-Diethylamino)diazen-1-ium-1,2-diolat (DEA/NO)**, kristallin, Dr. Larry Keefer, NCI Frederick Cancer Research & Development Center, Maryland, U.S.A.
MG: 155,0 [g]/[mol]

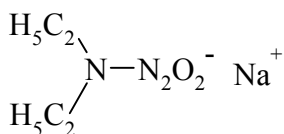


Abb. 2-7: Strukturformel DEA/NO

Zur Herstellung der Stammlösung (10 [mmol]/[l]) wurde DEA/NO in 0,01 [m] NaOH (Merck, Darmstadt) aufgelöst. Die Lagerung erfolgte bei 4 °C.

- **Etacrynsäure**, Sigma Chemical Company, St. Louis, U.S.A., MG 303,1
Die Konzentration der Stammlösung betrug 10 [mmol]/[l].

2.3 Biologisches Material

2.3.1 Versuchstiere

Bei den aufgezeichneten Versuchen handelte es sich um In-vitro Untersuchungen an isolierten zerebralen Arterien des Hausschweins, der Arteria basilaris und der Arteria cerebri anterior. Die benötigten Gefäße stammten aus Gehirnhälften von Schlachtschweinen, die ca. 15 Minuten nach dem Tod der Tiere entnommen und in einem mit gekühltem Krebs-Henseleit-Puffer gefüllten Dewar-Transportbehälter aufbewahrt wurden. Noch im Schlachthof erfolgte die Abpräparation der Arterien. Der Transport der Blutgefäße in einem mit KHP gefüllten Wheatonfläschchen vom Düsseldorfer Schlachthof (Rather Straße) zum Institut für Pharmakologie der Universität Düsseldorf (Moorenstr. 5) dauerte ca. 20-25 Minuten. Die vollständig präparierten Gefäße lagerten bei 4 °C im Kühlschrank. Sie wurden am Schlachttag und dem darauffolgenden Tag für die Versuche verwendet.

2.3.2 Präparation

2.3.2.1 Arteria basilaris

Noch im Schlachthof wurden die entnommenen Gehirnhälften auf Vorhandensein der A. basilaris an der Vorderseite des Hirnstammes überprüft. Meist fanden sich die Gefäße auf der größeren Hälfte paramedian durchtrennter Gehirne. Die Arterien wurden aus ihrer leptomeningealen Fixierung gelöst. Die Durchtrennung der A. basilaris erfolgte proximal des Zusammenflusses der beiden Aa. vertebrales und distal des Abganges der Aa. sup. cerebelli. Nach dem Transport schloss sich die weitere Präparation im Institut für Pharmakologie an. Durch luminale Spülung mit KHP ließen sich kleinere Blutreste problemlos entfernen. Die Gefäßstücke wurden unter Erhalt der Gefäßabgänge von anhängendem meningealen Gewebe befreit. Das Abbinden größerer Abgänge sowie die Fixation an den beiden Ansatzstücken der Perfusionshalterung erfolgte mit Baumwollfäden. Am Ende stand ein 1-2 [cm] langes Gefäßstück für die Versuche zur Verfügung.

2.3.2.2 Arteria cerebri anterior

Das für die Versuche verwendete Teilstück der A. cerebri anterior erstreckte sich vom Circulus arteriosus Willisi bis zum Abgang kleinerer Frontalhirnäste. Die übrige Präparation erfolgte analog zur A. basilaris.

2.4 Versuchsdurchführung

2.4.1 Äquillibrierung

Nach dem Einspannen der Gefäße wurde zunächst abgewartet, bis sich ein gleichmäßiger Äquillibrierungstonus einstellte. Dieser Tonus entsprach bei den verwendeten Gefäßen nicht der maximal möglichen Dilatation. Er wurde als „Myogenic tone“ bezeichnet (Winqvist et al., 1982).

2.4.2 Überprüfung des Endothelstatus

2.4.2.1 A. basilaris

Der Endothelstatus der verwendeten Gefäßstücke wurde mit dem ausschließlich endothel-abhängigen Vasodilatator Substance P ermittelt. Der Versuchsablauf stellte sich wie folgt dar:

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10 [$\mu\text{mol/l}$])
10	Substance P (3 [$\mu\text{mol/l}$])
15	Arterenol (10 [$\mu\text{mol/l}$])
20	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

Die Inkubation mit 10 [$\mu\text{mol/l}$] $\text{PGF}_{2\alpha}$ bewirkte eine maximale Kontraktion, mit 10 [$\mu\text{mol/l}$] Arterenol eine maximale Dilatation der Gefäße.

2.4.2.2 A. cerebri anterior

Zum Nachweis vorhandenen Endothels diente ebenfalls Substance P, das nach Erreichen eines stabilen Äquillibrierungstonus zugegeben wurde. Es erfolgte keine Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$, da es hierbei zu keiner Dilatation des Gefäßes, auch auf Gabe höherer Dosen Substance P, kam.

Zeit t in [min]	Aktion
-----------------	--------

0	Substance P (3 [$\mu\text{mol/l}$])
---	---------------------------------------

6	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung
---	---------------------------------------

2.4.3 Dosiswirkungskurven

Bei allen Versuchen wurden sämtliche Substanzen kumulativ zugegeben. Im Anschluss an den Endotheltest erfolgte bei der A. basilaris erneut eine Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10 [$\mu\text{mol/l}$]). Die Versuche an der A. cerebri anterior wurden ohne Vorkontraktion durchgeführt, d.h. die kumulative Zugabe der Substanzen erfolgte nach Einstellen eines stabilen Äquillibrierungstonus. Die Substanzen blieben während der gesamten Versuchszeit in den Vorratsgefäßen. Für die einzelnen Substanzen ergaben sich damit folgende Versuchsprotokolle:

2.4.3.1 Dosiswirkungskurve Glyceroltrinitrat

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	GTN (0,01 [μmol/l])
12	GTN (0,1 [μmol/l])
14	GTN (1 [μmol/l])
16	GTN (5 [μmol/l])
18	GTN (10 [μmol/l])
20	GTN (50 [μmol/l])
22	GTN (100 [μmol/l])
25	Arterenol (10 [μmol/l])
30	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.2 Dosiswirkungskurve GTN nach Inkubation mit L-Cystein

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	L-Cystein (100 oder 500 [μmol/l])
15	GTN (0,01 [μmol/l])
17	GTN (0,1 [μmol/l])
19	GTN (1 [μmol/l])
21	GTN (5 [μmol/l])
23	GTN (10 [μmol/l])
25	GTN (50 [μmol/l])
27	GTN (100 [μmol/l])
30	Arterenol (10 [μmol/l])
35	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.3 Dosiswirkungskurve GTN nach Inkubation mit Etacrynsäure

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	Etacrynsäure (10, 20, 50 und 100 [μmol/l])
15	GTN (0,01 [μmol/l])
17	GTN (0,1 [μmol/l])
19	GTN (1 [μmol/l])
21	GTN (5 [μmol/l])
23	GTN (10 [μmol/l])
25	GTN (50 [μmol/l])
27	GTN (100 [μmol/l])
30	Arterenol (10 [μmol/l])
35	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.4 Dosiswirkungskurve Arterenol

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	NA (0,01 [μmol/l])
12	NA (0,05 [μmol/l])
14	NA (0,1 [μmol/l])
16	NA (0,5 [μmol/l])
18	NA (1 [μmol/l])
20	NA (5 [μmol/l])
22	NA (10 [μmol/l])
24	NA (100 [μmol/l])
30	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.5 Dosiswirkungskurve Arterenol nach Inkubation mit L-Cystein

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	L-Cystein (500 [μmol/l])
15	NA (0,01 [μmol/l])
17	NA (0,05 [μmol/l])
19	NA (0,1 [μmol/l])
21	NA (0,5 [μmol/l])
23	NA (1 [μmol/l])
25	NA (5 [μmol/l])
27	NA (10 [μmol/l])
29	NA (100 [μmol/l])
32	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.6 Dosiswirkungskurve SNAP

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	SNAP(0,001 [μmol/l])
12	SNAP(0,01 [μmol/l])
14	SNAP(0,05 [μmol/l])
16	SNAP(0,1 [μmol/l])
18	SNAP(0,5 [μmol/l])
20	SNAP(1 [μmol/l])
22	SNAP(5 [μmol/l])
24	SNAP(10 [μmol/l])
26	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.4.3.7 Dosiswirkungskurve DEA/NO

Zeit t in [min]	Aktion
0	Vorkontraktion mit PGF _{2α} (10 [μmol/l])
10	DEA/NO (0,001 [μmol/l])
12	DEA/NO (0,01 [μmol/l])
14	DEA/NO (0,05 [μmol/l])
16	DEA/NO (0,1 [μmol/l])
18	DEA/NO (0,5 [μmol/l])
20	DEA/NO (1 [μmol/l])
22	DEA/NO (5 [μmol/l])
24	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

Bei einigen Versuchen an der A. basilaris wurde zusätzlich eine kumulative Dosis von 0,25 [μmol/l] DEA/NO zugegeben.

2.4.3.8 Dosiswirkungskurve L-Cystein (exemplarisch)

Zeit t in [min]	Aktion
0	L-Cystein (10 [μmol/l])
7	L-Cystein (50 [μmol/l])
14	L-Cystein (100 [μmol/l])
21	L-Cystein (500 [μmol/l])
28	L-Cystein (1000 [μmol/l])
35	Auswaschen mit Krebs-Henseleit-Lösung

2.5 Auswertung

Die Änderungen des Gefäßdurchmessers wurden wie oben beschrieben kontinuierlich vom Schreiber erfasst. Als Bezugspunkte zur Auswertung des Endotheltests und des Äquillibrierungstonus dienten die Kontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ und die Relaxation mit Arterenol. Die Amplituden wurden in [mm] ausgemessen und addiert, die Relaxation durch Substance P und der Myogenic tone dazu prozentual ins Verhältnis gesetzt. Bei der Auswertung der Versuche mit den verschiedenen Vasodilatoren wurde auf der Schreiberfahne der Äquillibrierungstonus und der Tonus am Versuchsende durch eine gerade Linie verbunden. Die Berechnung der Tonusänderung erfolgte hier ebenfalls durch Ausmessen der jeweiligen Amplituden der Schreiberregistrierung in mm und deren prozentuale Umrechnung.

2.6 Statistik

Die Mittelwerte (\bar{x}) und die Standardabweichungen der Mittelwerte (SEM) von (n) Versuchen wurden nach Standardmethoden (Sachs, 1978) berechnet.

Aus den Messwerten der Dosiswirkungskurven wurden die Konzentrationen für halbmaximale Wirkungen (IC_{50}) durch Logit-Transformation (Haffner et al., 1977) ermittelt. Die Berechnung erfolgte unter besonderer Berücksichtigung des steilen Kurventeils der erstellten Dosiswirkungskurven. Alle Daten wurden durch eine ANOVA bzw. einen t-Test analysiert. Die Erstellung aller Berechnungen und Grafiken erfolgte mithilfe des Tabellenkalkulationsprogramms MS-Excel 5.0 (Microsoft, U.S.A.) und GraphPad Prism 2.01 (GraphPad Software Inc., U.S.A.)

3 Ergebnisse

3.1 Myogenic tone

3.1.1 Arteria basilaris

Die A. basilaris lässt sich durch Inkubation mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($10\mu\text{mol/l}$) im Vergleich zur Kontraktion mit KCl ($60\mu\text{mol/l}$) nicht vollständig kontrahieren. Die Kontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ erreichte im Mittel $76,97\% \pm 1,79$ ($n=25$) des mit KCl erreichten Tonus.

Der Äquillibrierungstonus (myogenic tone) betrug bezogen auf die mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ erreichte Kontraktion $53,05\% \pm 2,55$ ($n=41$), die dabei erreichten Druckwerte lagen bei $56,46 \pm 0,84$ [mmHg].

3.1.2 Arteria cerebri anterior

Auch die A. cerebri anterior konnte mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ nicht maximal im Vergleich zu KCl kontrahiert werden. Die Kontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ erreichte im Mittel $83,20 \pm 4,35$ ($n=4$) des mit KCl erreichten Tonus.

Der Äquillibrierungstonus der A. cerebri anterior bezogen auf die mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ erreichte Kontraktion betrug $71,53\% \pm 1,78$ ($n=25$), die dabei erreichten Druckwerte lagen bei $57,90 \pm 0,90$ [mmHg].

3.2 Vasomotion

3.2.1 Arteria basilaris

Bei 50 % ($n=52$) der durchgeführten Versuche konnte eine spontane Vasomotion der A. basilaris, entweder während der Äquillibrierung oder nach Kontraktion, festgestellt werden. Die Frequenz betrug $2,60 \pm 0,11$ Zyklen/min. Bei maximaler Relaxation zeigte sich in keinem Versuch eine Vasomotion.

3.2.2 Arteria cerebri anterior

Im Gegensatz dazu zeigten nur 20 % (n=30) der Aa. cerebri anteriores eine Vasomotion. Die Zyklusfrequenz lag hier bei $4,92 \pm 0,24$ Zyklen/min. Wie bei der A. basilaris zeigte sich die Vasomotion nur während der Äquillibrierung oder einer Kontraktion.

3.3 Nachweis des Endothels

3.3.1 Arteria basilaris

Der Endotheltest ergab eine Substance P induzierte Vasorelaxation von $47,91 \% \pm 2,77$ (n=44) in Bezug auf die maximale Relaxation mit Arterenol. Dabei hielt die erreichte Relaxation nur kurz an. Eine typische Registrierung des Endotheltests der A. basilaris ist in Abb. 3.1. dargestellt.

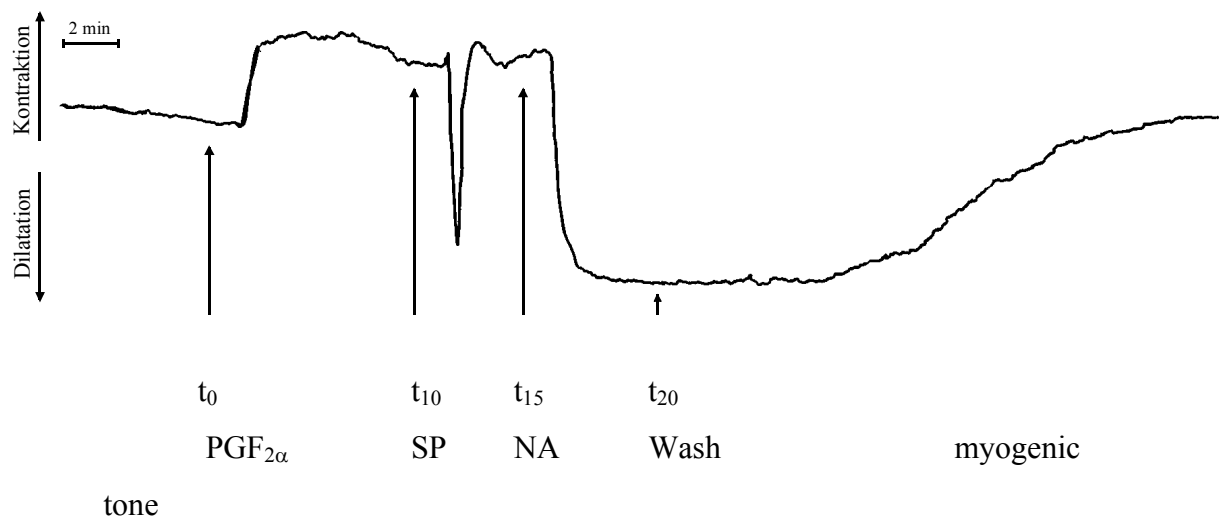


Abb. 3-1: Endotheltest A. basilaris, t in Minuten

3.3.2 Arteria cerebri anterior

Die durch Inkubation mit Substance P erreichte Relaxation bezog sich auf den Myogenic tone, da sich bei Gabe von Substance P nach Vorkontraktion mit PGF_{2α} keine Dilatation feststellen ließ. Die Relaxation betrug $27,06 \% \pm 1,80$ (n=24) in Bezug auf

die maximale Dilatation mit Arterenol. Abb.3.2. zeigt einen typischen Verlauf des Endotheltests der A. cerebri anterior.

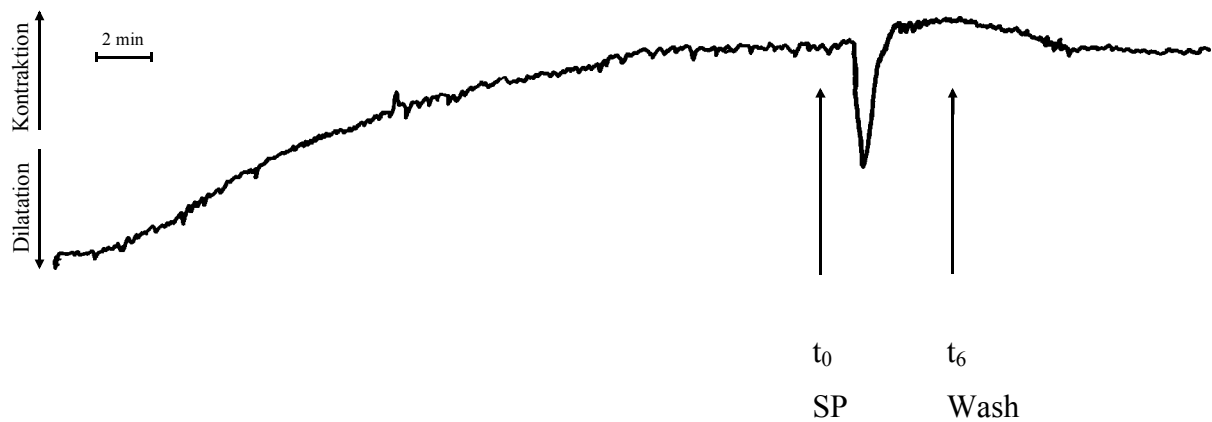


Abb. 3-2.: Endotheltest der A. cerebri anterior

3.4 Wirkungen der Untersuchungssubstanzen an den isolierten Gefäßen

3.4.1 Arteria basilaris

3.4.1.1 Dosiswirkungskurven Glyceroltrinitrat

Die mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ vorkontrahierten Gefäße lassen sich auch durch hohe Dosen von GTN nicht vollständig dilatieren. Die maximal erreichte Relaxation beträgt im Mittel $42,0\% \pm 3,7$ der maximal möglichen Dilatation (Tab. 3-2 und Abb. 3-3).

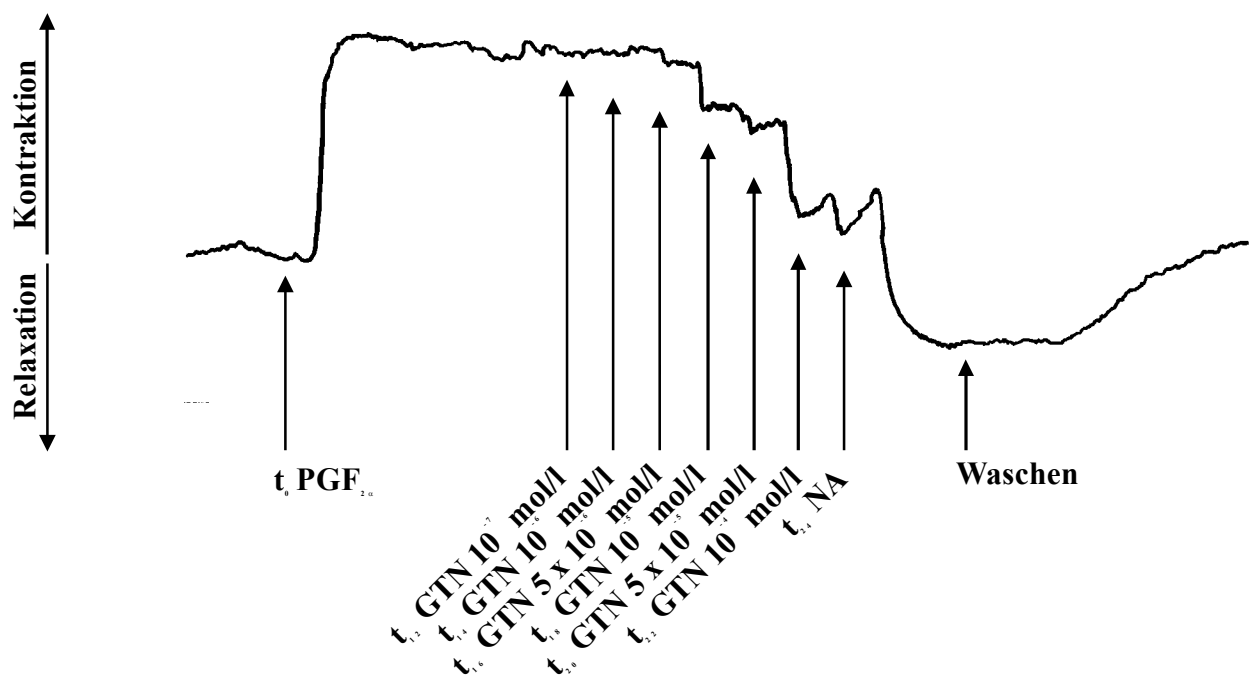


Abb. 3-3.: Typischer Kurvenverlauf eines Versuches mit akkumulierten Gaben von GTN an der A. basilaris des Schweins

Bei der Vorinkubation mit L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$) zeigt sich eine kurzfristige Kontraktion der A. basilaris. Der Gefäßtonus erreicht nach ca. 10 Minuten wieder das Ausgangsniveau. Eine Dosiswirkungsbeziehung kann nicht signifikant gesichert werden, es zeigen sich zu hohe Abweichungen zwischen den einzelnen Versuchen. Die Abb. 3.4. zeigt jedoch einen Kurvenverlauf.

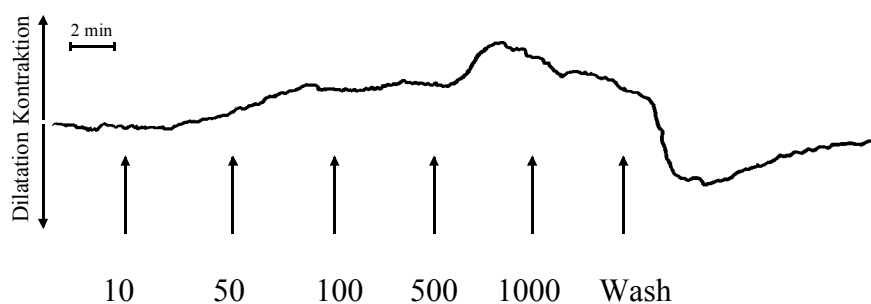


Abb. 3-4.: Dosiswirkungskurve L-Cystein (Zahlen entsprechen $\mu\text{mol/l}$ L-Cystein)

Tabelle 3-1: Gefäßtonus in % auf die kumulative Gabe von L-Cystein

Konzentration L-Cystein (in $\mu\text{mol/l}$)	Gefäßtonus in % (0 % Myogenic tone, 100% Kontraktion mit KCl)
10	$9,53 \pm 1,42$
20	$19,82 \pm 2,19$
100	$35,94 \pm 1,42$
500	$47,17 \pm 3,74$
1000	$40,92 \pm 5,79$

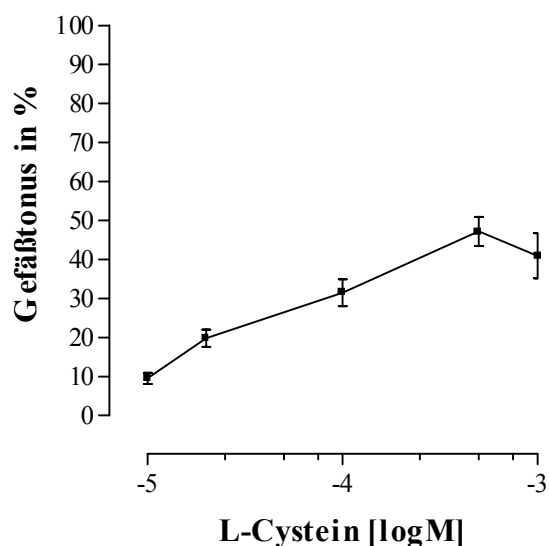


Abb. 3-5: A. basilaris Dosiswirkungskurve L-Cystein

Durch eine Vorinkubation mit L-Cystein ($500 \mu\text{mol/l}$) verringert sich der pD_2 -Wert (IC_{50}) für die halbmaximale vasodilatatorische Wirkung von GTN um den Faktor 2,21, (Tabelle 3-2), somit ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Die maximal erreichte Dilatation beträgt hier $30,3\% \pm 2,2\%$.

Durch die vorherige Zugabe von Etacrynsäure ($20 \mu\text{mol/l}$) lässt sich die durch GTN hervorgerufene Dilatation einschränken (IC_{50} Faktor 4,26), die maximale Relaxation beträgt $70,0\% \pm 3,6\%$ (Tabelle 3-2). Somit lässt sich eine signifikante Abschwächung nachweisen ($p < 0,001$). Exemplarische Versuche mit Etacrynsäure 50 und $100 \mu\text{mol/l}$ zeigen eine fast vollständig unterdrückte dilatative Wirkung von GTN. Lediglich bei 50

bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$ GTN zeigt sich noch eine sehr geringe Relaxation. Versuche mit Etacrynsäure 10 $\mu\text{mol/l}$ zeigten eine zur nicht vorinkubierten Dosiswirkungskurve fast gleichen Kurven-verlauf.

Tabelle 3-2: Gefäßtonus der mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ vorkontrahierten und NA maximal dilatierten A. basilaris des Schweins auf die kumulative Gabe von Glyceroltrinitrat (GTN) alleine, in Anwesenheit von L-Cystein und Etacrynsäure (*, $P < 0,05$, gegenüber den Werten für GTN alleine; ***, $P < 0,001$)

Konzentration GTN (logM)	Gefäßtonus in % (100% = vollständige Kontraktion, 0% = vollständige Relaxation)		
	GTN alleine (n=13)	GTN (n=7) + L-Cystein 500 $\mu\text{mol/l}$	GTN + EA 20 $\mu\text{mol/l}$ (n=6)
0,01	100,0 \pm 0,0	98,0 \pm 1,0	100,0 \pm 0,0
0,1	100,0 \pm 0,0	96,4 \pm 1,8	100,0 \pm 0,0
1	96,4 \pm 1,1	89,7 \pm 2,9	100,0 \pm 0,0
5	82,6 \pm 2,2	75,5 \pm 3,7	97,0 \pm 0,5
10	76,7 \pm 3,3	66,8 \pm 3,5	94,9 \pm 0,6
50	47,3 \pm 3,5	33,8 \pm 2,0	75,1 \pm 2,1
100	42,0 \pm 3,7	30,3 \pm 2,2	70,0 \pm 3,6
pD₂ (IC₅₀)	4,28 \pm 0,09	4,62 \pm 0,08*	3,65 \pm 0,05***

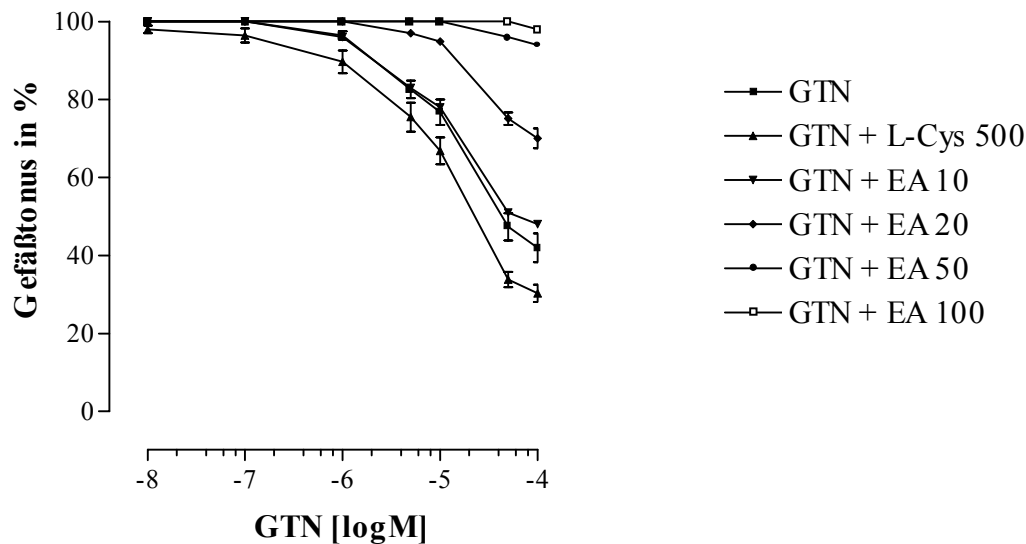


Abb. 3-6: GTN Dosiswirkungskurven ohne und nach Vorinkubation mit L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$), sowie Etacrynsäure (10, 20, 50 und 100 $\mu\text{mol/l}$) an der A. basilaris des Hausschweins. 100% entsprechen der Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$, 0 % entsprechen der maximalen Dilatation durch NA.

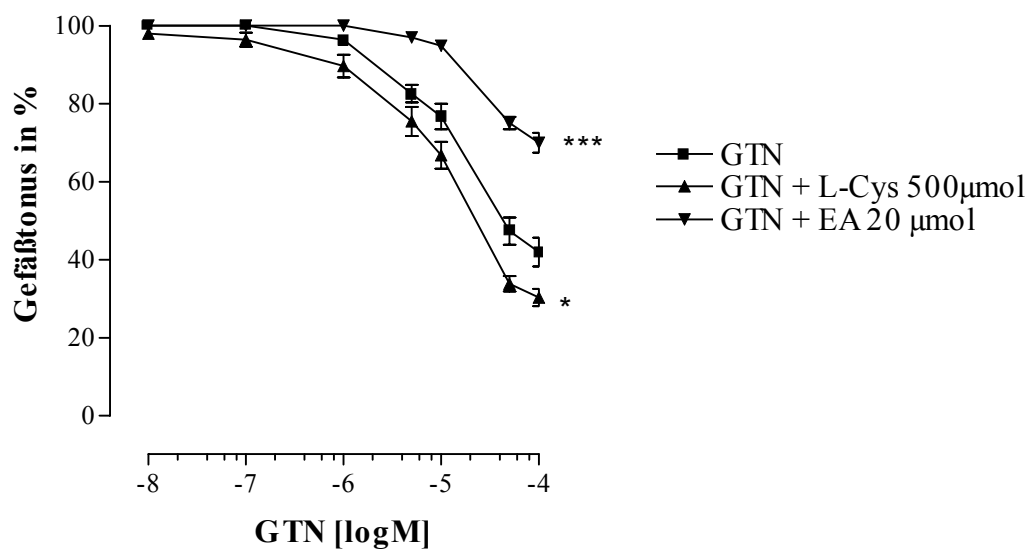


Abb. 3-7: GTN Dosiswirkungskurven ohne und nach Vorinkubation mit L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$), sowie Etacrynsäure (20 $\mu\text{mol/l}$) an der A. basilaris des Hausschweins. 100% entsprechen der Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$, 0 % entsprechen der mit GTN maximal erreichten Dilatation (*, $P < 0,05$; ***, $P < 0,0001$ gegenüber den Werten für GTN alleine).

3.4.1.2 Dosiswirkungskurven Arterenol (NA)

Die Basilararterie lässt sich durch die Gabe von Noradrenalin vollständig dilatieren. Dabei liegt der Wert für die halbmaximale vasodilatatorische Wirkung (PD_2) bei $5,66 \pm 0,05$. Durch vorherige Inkubation mit L-Cystein ($500 \mu\text{mol/l}$) verringert sich der PD_2 -Wert um den Faktor 2,14 (siehe Tabelle 3-4). Dies entspricht keiner signifikanten Veränderung. Die Dosiswirkungskurve können der Abb. 3-10 entnommen werden.

Tabelle 3-3: Gefäßtonus der mit $PGF_{2\alpha}$ vokontrahierten A. basilaris des Schweins auf die kumulative Gabe von Arterenol (*, $P < 0,01$, gegenüber den Werten für NA alleine)

Konzentration NA (in μmol)	Gefäßtonus in %	
	NA alleine (n=6)	NA (n=6) + L-Cystein 500 $\mu\text{mol/l}$
0,01	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$
0,05	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$
0,1	$100,0 \pm 0,0$	$97,2 \pm 1,7$
0,5	$91,0 \pm 1,4$	$77,3 \pm 5,2$
1	$79,3 \pm 4,0$	$52,5 \pm 6,9$
5	$21,2 \pm 4,7$	$4,9 \pm 2,4$
10	$2,0 \pm 2,0$	$0,0 \pm 0,0$
100	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$
pD_2	$5,66 \pm 0,05$	$5,99 \pm 0,06^{**}$

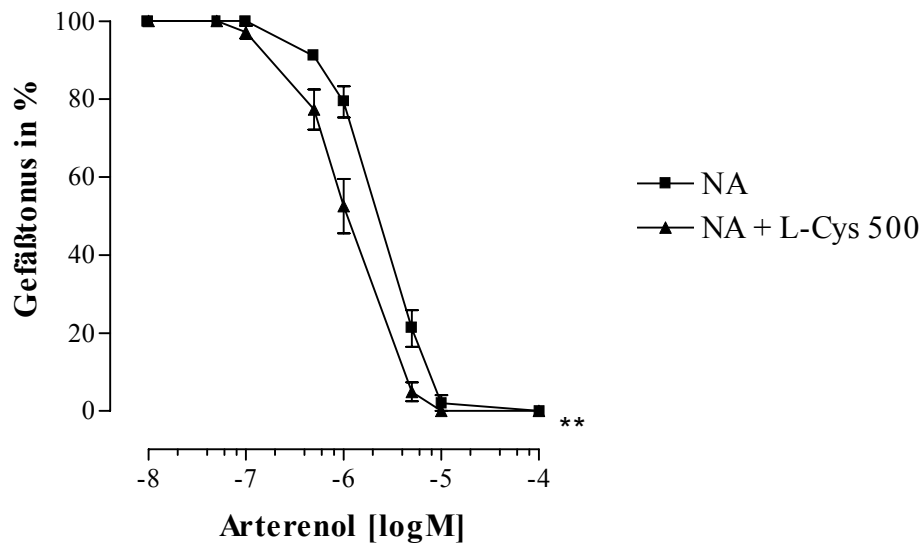


Abb. 3-8: Arterenol (NA) Dosiswirkungskurven ohne und nach Vorinkubation mit L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$) an der A. basilaris des Hausschweins (**, $P < 0,01$, gegenüber den Werten für NA alleine)

3.4.1.3 Dosiswirkungskurven DEA/NO

Der direkte NO-Donor DEA/NO bewirkt auf das vorkontrahierte Gefäß eine vollständige Relaxation bei einer Dosis von 5 $\mu\text{mol/l}$. Der PD_2 -Wert liegt bei $6,70 \pm 0,08$ (siehe Tab. 3-5). Dies entspricht gegenüber dem PD_2 -Wert von GTN einer 245-fach stärkeren Wirkung. Der Verlauf der Dosiswirkungskurve ist der Abb. 3-11 zu entnehmen.

Tabelle 3-4: Gefäßtonus in % A. basilaris (100 % entsprechen der Vorkontraktion mit PGF 2α , 0 % der maximalen Dilatation)

Konzentration DEA/NO (in μmol)	Gefäßtonus in % DEA/NO (n=6)
0,01	$99,5 \pm 0,3$
0,05	$90,6 \pm 2,7$
0,1	$80,2 \pm 5,2$
0,25	$48,9 \pm 13,9$
0,5	$14,7 \pm 5,0$
1	$2,1 \pm 1,0$
5	$0,0 \pm 0,0$
pD_2	$6,70 \pm 0,08$

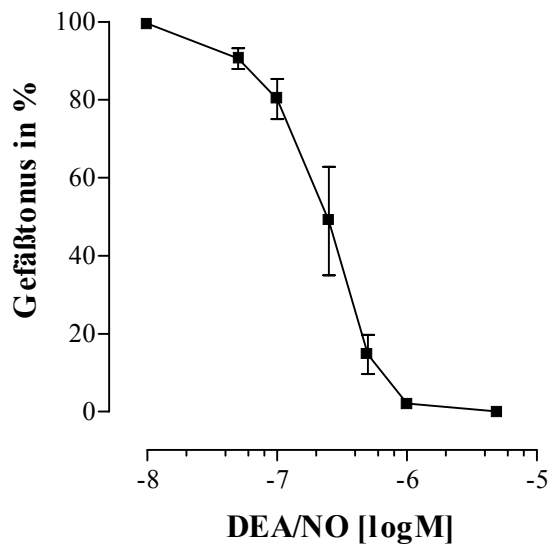


Abb. 3-9: Dosiswirkungskurve DEA/NO an der A. basilaris des Hausschweins.

3.4.2 Arteria cerebri anterior

3.4.2.1 Dosiswirkungskurven Glyceroltrinitrat

Die A. cerebri lässt sich ebenso wie die Basilararterie nicht durch hohe Gaben Glyceroltrinitrat vollständig relaxieren. Die maximale Dilatation bei einer kumulativen Dosis von 100 $\mu\text{mol/l}$ GTN beträgt $41,4\% \pm 3,0\%$. Der pD_2 -Wert (IC_{50}) für die halbmaximale vasodilatatorische Wirkung ist $4,25 \pm 0,06$, der pD_2 -Wert (EC_{50}) beträgt $4,92 \pm 0,03$.

Nach Zugabe von L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$) kann, wie schon bei der A. basilaris beschrieben, eine kurzzeitige Kontraktion des Gefäßes beobachtet werden. Die Vorinkubation mit 500 $\mu\text{mol/l}$ L-Cystein hat im Gegensatz zur A. basilaris keinen signifikant verstärkenden Effekt auf die relaxierende Wirkung von GTN (IC_{50} Faktor 1,23). Die A. cerebri anterior wird auf bis zu $37,7\% \pm 1,2\%$ dilatiert, der pD_2 -Wert (IC_{50}) beträgt $4,34 \pm 0,05$.

Etacrynsäure (20 $\mu\text{mol/l}$) beeinträchtigt die Dilatation der A. cerebri anterior auf die Gabe von GTN (IC_{50} Faktor 2,63) nicht so stark wie die A. basilaris, jedoch ebenfalls

signifikant ($p < 0,001$). Die maximale Relaxation beträgt $59,5\% \pm 2,3\%$, der pD_2 -Wert (IC_{50}) liegt bei $3,83 \pm 0,06$.

Die Dosiswirkungskurven sowie die dazugehörigen Werte sind den Abbildungen 3-12 bis 3-15 bzw. den Tabellen 3-6 und 3-7 zu entnehmen.

Tabelle 3-5: Gefäßtonus der mit $PGF_{2\alpha}$ vorkontrahierten und NA maximal dilatierten **A. cerebri anterior** des Schweins auf die kumulative Gabe von Glyceroltrinitrat (GTN) alleine, in Anwesenheit von L-Cystein und Etacrynsäure (*, $P < 0,001$, gegenüber den Werten für GTN alleine)

Konzentration GTN (in μmol)	Gefäßtonus in %		
	GTN alleine (n=6)	GTN (n=6) + L-Cystein 500 $\mu\text{mol/l}$	GTN + EA 20 $\mu\text{mol/l}$ (n=5)
0,01	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$
0,1	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$	$100,0 \pm 0,0$
1	$96,8 \pm 0,4$	$95,7 \pm 1,4$	$100,0 \pm 0,0$
5	$83,4 \pm 0,7$	$82,5 \pm 2,4$	$92,9 \pm 0,8$
10	$75,6 \pm 1,2$	$74,1 \pm 2,4$	$89,0 \pm 1,1$
50	$50,4 \pm 2,4$	$48,4 \pm 2,3$	$66,3 \pm 1,7$
100	$41,4 \pm 3,0$	$37,7 \pm 1,2$	$59,5 \pm 2,3$
pD_2 (IC_{50})	$4,25 \pm 0,06$	$4,34 \pm 0,05$	$3,83 \pm 0,06^{***}$

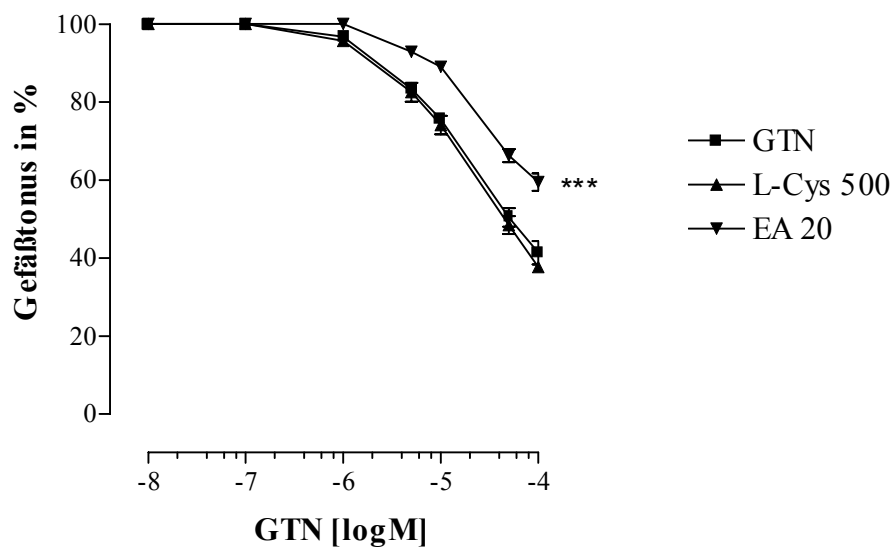


Abb. 3-10: GTN Dosiswirkungskurven ohne und nach Vorinkubation mit L-Cystein (500 $\mu\text{mol/l}$) sowie Etacrynsäure (20 $\mu\text{mol/l}$) an der **A. cerebri anterior** des Hausschweins. 100% entsprechen der Vorkontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$, 0 % entsprechen der maximalen Dilatation durch NA (*, $P < 0,05$, gegenüber den Werten für GTN alleine)

3.4.2.2 Dosiswirkungskurven SNAP und DEA/NO

Die beiden NO-Donoren SNAP und DEA/NO relaxieren die A. cerebri anterior bei 5 $\mu\text{mol/l}$ vollständig. Die PD_2 -Werte können der Tab. 3-6 entnommen werden. Sie liegen um den Faktor 891 (SNAP) bzw. 575 (DEA/NO) niedriger als der PD_2 -Wert der Dosiswirkungskurve mit GTN. In der relaxierenden Wirkung der beiden Substanzen gibt es keinen signifikanten Unterschied. Die Kurvenverläufe zeigt Abb. 3-11

Tabelle 3-6: Gefäßtonus in % A. cerebri anterior (100 % entsprechen der Vorkontraktion mit $\text{PGF } 2\alpha$, 0 % der maximalen Dilatation)

Konzentration (in μmol)	Gefäßtonus in %	
	SNAP (n=5)	DEA/NO (n=6)
0,001	100,0 \pm 0,0	
0,01	89,2 \pm 1,0	94,3 \pm 1,9
0,05	50,3 \pm 3,7	69,3 \pm 7,1
0,1	34,6 \pm 4,0	43,5 \pm 5,9
0,5	17,8 \pm 1,8	17,3 \pm 1,9
1	8,3 \pm 1,0	10,8 \pm 2,6
5	0,0	0,0
10	0,0	
pD_2	7,20 \pm 0,05	7,01 \pm 0,08

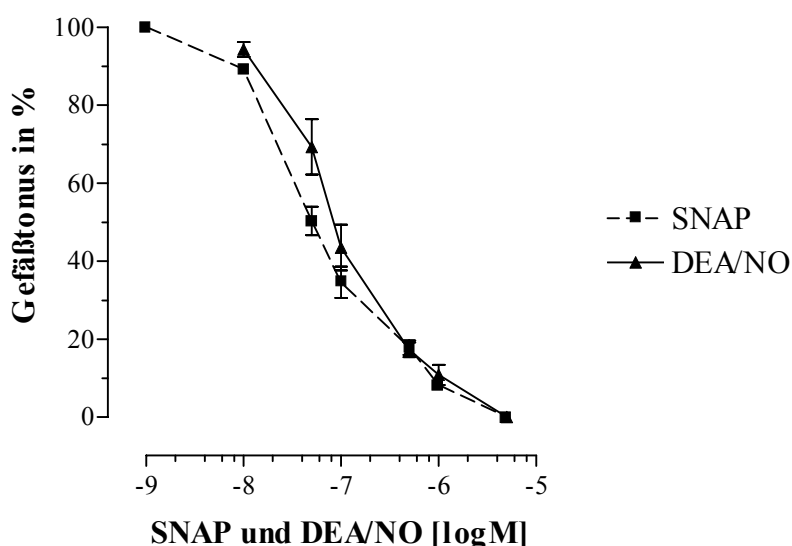


Abb. 3-11: SNAP- und DEA/NO-Dosiswirkungskurven an der A. cerebri anterior des Hausschweins.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Nitraten auf isolierte zerebrale Gefäße des Schweins untersucht. Durch die Applikation therapeutischer Dosen GTN kommt es zu keiner nennenswerten Dilatation sowohl der A. cerebri anterior, als auch der A. basilaris. Folglich wird die in vivo zu beobachtende Dilatation zerebraler Gefäße über andere Mechanismen vermittelt, als dies in anderen Körperregionen der Fall ist. Ein möglicher Faktor ist eine direkte Wirkung von Stickstoffmonoxid auf neuro-humerale und nozizeptive Strukturen.

4.1 Perfusionsmodell und Ultraschallmesstechnik

Ein Ziel war es die Vasomotion - Kontraktion und Relaxation - der Zerebralarterien in-vitro möglichst unter physiologischen Bedingungen zu untersuchen. Hierzu wurde das Perfusionsmodell eingesetzt, bei dem ein zerebrales Gefäßsegment durchströmt wird. Im Gegensatz zu den meisten anderen Methoden werden hierbei keine Gefäßringe künstlich vorkontrahiert. Ein zusätzlicher wichtiger Vorteil ist die Trennung von Extra- und Intravasalraum.

Zur Messung der Gefäßweite wurde die Ultraschalltechnik eingesetzt. Diese erlaubt eine nahezu berührungslose Messung der Vasomotion. Eine ähnlich schonende Vorgehensweise ist die technisch viel aufwendigere und störanfälligere Methode der quantitativen Registrierung des aus einer Lichtquelle einfallenden Lichtes auf ein Gefäß.

Die mit dieser Methode im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse waren gut reproduzierbar.

4.2 Gefäßanatomie und Physiologie der zerebralen Gefäße des Schweins

Die Gefäße des Schweins wurden schon vielfach zu Versuchszwecken verwendet, da ihre vaskuläre Physiologie gut mit der des menschlichen Organismus übereinstimmt (Beglinger et al., 1975; Dodds 1982). Es gibt jedoch auch einige Unterschiede im

Vergleich zu den am Menschen beobachteten Effekten auf die verschiedenen eingesetzten Substanzen. Dennoch eignet sich das verwandte Versuchsmodell gut zur Charakterisierung des Verhaltens zerebraler Gefäße gegenüber den untersuchten Agenzien.

4.3 Myogenic tone

Als „myogenic tone“ bezeichneten Winquist et al. (1982) den in in-vitro Versuchen mit Zerebralarterien des Schweins sich nach durchschnittlich 40 Minuten einstellenden Äquillibrierungstonus, welcher auch an menschlichen Zerebralarterien beobachtet wurde (Whalley et al., 1987). Dieses stimmt mit den in dieser Arbeit erhobenen Ergebnissen gut überein. Der Äquillibrierungstonus betrug, wie oben angegeben, bei der A. basilaris $53,05 \% \pm 2,55$ im Bezug auf die mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ erreichte Kontraktion und $71,53 \% \pm 1,78$ bei der A. cerebri anterior. Ähnliche Werte ($43,77 \%$) für den Äquillibrierungstonus wurden in-vitro an der Basilararterie des Affen erhoben (Sipkema et al., 1996). Dabei hängt der erreichte Tonus vom extrazellularen Kalziumgehalt und vom Membranpotential ab und wird durch die Gabe von Kalziumantagonisten aufgehoben (Quayle et al., 1993). Langton und Standen (1993) machen eine höhere „open-state“-Wahrscheinlichkeit der L-Typ-Kanäle bei Spannungen im Bereich des Ruhemembranpotentials und den damit verbundenen ständigen Ca^{2+} -Influx für den arteriellen Tonus der Zerebralarterien verantwortlich.

4.4 Vasomotion

Beide Arterien, die A. basilaris mehr als die A. cerebri anterior, zeigten eine spontane Vasomotion mit jedoch unterschiedlichen Frequenzen, welche bei maximaler Dilatation des Gefäßes nicht auftrat. Ähnliche rhythmische Oszillationen wurden sowohl beim Menschen (Meyerson et al., 1991) als auch an anderen Tieren und Gefäßen beschrieben (Lamb et al. 1985; Mulvany, 1988; Osol und Halpern, 1988). Fujii et al. (1990 I) zeigten Vasomotion bei in-vivo Versuchen mit Basilararterien der Ratte. Durch Vasorelaxation wurde die Vasomotion beendet. Sowohl Frequenz, als auch Amplitude waren vom Druck abhängig. Eine Abnahme des Blutdruckes führte zu einer Zunahme

der Amplitude und Abnahme der Frequenz (Morita et al., 1993). Die in einer weiteren Arbeit von Fujii et al. (1990 II) erhobenen Befunde lassen den Schluss zu, dass die kontraktile Phase der Vasomotion von der extrazellulären Ca^{2+} Konzentration und die dilatative Phase vom extrazellulären K^+ Gehalt abhängig sind. Diese Theorie wird durch eine weitere Studie (McPherson et al. 1995) unterstützt, in der rhythmische Oszillationen im Membranpotential der A. cerebri media der Ratte festgestellt wurden. Hierbei konnte die depolarisierende Phase der Oszillation durch Blockade der spannungsabhängigen Kalzium-Kanäle mittels Nifedipin und die hyperpolarisierende Phase durch Blockade von K^+ -Kanälen durch 4-AP unterbrochen werden.

4.5 Wirkung von Vasokonstriktoren

4.5.1 Kaliumchlorid (KCl)

Die konstriktorische Wirkung von Kaliumchlorid auf glatte Muskelzellen arterieller Gefäße wird durch eine auf dem Ausgleich des Kalium-Konzentrationsgradienten beruhende Abnahme des Membranpotentials (Depolarisation) induziert, die zu einem Einstrom extrazellulären Kalziums durch spannungsabhängige Kalziumkanäle (VOCs) in den Intrazellularraum führt (Bolton, 1979). Kojda et al. (1992) haben eine signifikant höhere Empfindlichkeit der A. basilaris des Schweins auf die Gabe von KCl gegenüber koronaren und ulnaren Arterien beschrieben. Diesem Ergebnis können verschiedene Ursachen zu Grunde liegen. Zum Einen könnten sich die VOCs vaskulärer glatter Muskelzellen in den verschiedenen arteriellen Stromgebieten unterscheiden. Selbst wenn es sich in beiden Fällen ausschließlich um L-Typ-Kanäle handelt, so besteht die Möglichkeit, dass es verschiedene Subtypen gibt (Alborch et al., 1995).

Ein weiterer Erklärungsansatz könnte eine unterschiedliche Gewebsempfindlichkeit oder Kalziumleitfähigkeit sein. Eine Kalziumfreisetzung ist Voraussetzung für die Aktivierung der Myosinleichtkettenkinase (Meininger und Davis, 1992). KCl könnte neben dem depolarisationsbedingtem KalziumEinstrom durch VOCs auch den Grad der Phosphorylierung von Myosin beeinflussen. Rembold (1992) beobachtete diesen als „ $[\text{Ca}^{2+}]_i$ sensitivity of phosphorylation“ bezeichneten Mechanismus an der A. carotis des Schweins. Somit könnte die Sensibilität der Zerebralarterien auf KCl-Gaben höher sein, als in anderen arteriellen Stromgebieten. Die Leitfähigkeit von spannungsabhän-

gigen Kalziumkanälen vom L-Typ in glatten Muskelzellen kann durch Phosphorylierung der α_1 -Untereinheit des Kanalproteins reguliert werden (Hofmann et al., 1987). Daher wäre es möglich, dass eine unterschiedliche Regulation von L-Typ-Kalziumkanälen für die vergleichsweise größere KCl-Empfindlichkeit der Basilararterien des Schweins verantwortlich ist. Ein Beleg für diese Annahme lässt sich möglicherweise anhand des bereits oben erwähnten Äquilibrierungstonus entnehmen. Wie allgemein anerkannt hängt die muskuläre Kontraktilität vom cytoplasmatischen ATP-Gehalt ab. Der im Vergleich höhere Muskeltonus der Basilararterie könnte mit einem höheren cytoplasmatischen ATP-Umsatz im Cytoplasma der glatten Muskelzelle einhergehen und somit zu einer erhöhten Leitfähigkeit der spannungsabhängigen Kalziumkanäle führen.

Das Membranpotential in Ruhe betrug ca. -60 mV, bei maximaler Kontraktion ca. -35 mV (McPherson et al., 1995) und unterscheidet sich damit kaum von dem anderer Arterien.

Die in der vorliegenden Arbeit zur Kontraktion verwendete Konzentration von 60 mmol/l KCl führte in anderen in-vitro Studien an der Basilararterie des Schweins (Kojda et al., 1992), der Basilararterie des Kaninchens (Pettersson et al., 1993; Chulia et al., 1995), der Zerebralarterien der Ratte (Hempelmann und Ziegler, 1993; McPherson et al., 1995; Högestätt und Anderson, 1984) und an der Schwanzarterie der Ratte (Neild und Kocheta, 1987) zu einer starken Kontraktion. Dieses stimmt gut mit den an menschlichen Basilararterien durchgeführten in-vitro Untersuchungen überein (Rose et al., 1979; White, 1987; White und Robertson, 1987; Iwanov und Moulds, 1990; Schrör und Verheggen, 1988).

4.5.2 Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$)

Aus der großen Familie der genuinen Prostaglandine werden verschiedene Substanzen therapeutisch genutzt. Der Einsatz von $PGF_{2\alpha}$ beruht auf den stark unteruskontrahierenden Eigenschaften dieses Prostaglandins. Darüber hinaus besitzen einige Prostaglandine aber auch eine ausgeprägte vasokonstriktorische Wirkung auf arterielle Gefäße verschiedener Spezies (Mensch, Katze, Schwein, Hund, Affe, Ratte) und Körperregionen (Femoralarterie, Fingerarterien, Mesenterialarterien, Koronararterien, renale Arterien, Zerebrale Arterien) (Kawai und Ohhashi, 1990; Uski et al.,

1984; Rose et al., 1979; Nakajima und Ueda, 1990; Kojda et al., 1992; Toda und Onoue, 1988; Sipkema et al., 1996; Högstätt und Uski, 1987). Die in der vorliegenden Arbeit an der Basilararterie des Schweins erhobenen Ergebnisse fügen sich nahtlos ein. In vergleichenden Untersuchungen mit verschiedenen Prostaglandinen an isolierten menschlichen Arterien der Pia mater und der A. basilaris der Katze konnten unterschiedliche Wirkstärken und maximale Effekte gezeigt werden (Uski und Andersson, 1984, Uski et al., 1984). Dabei wird die von $\text{PGF}_{2\alpha}$ vermittelte Kontraktion vermutlich über zwei verschiedene Rezeptoren vermittelt. Einer dieser Rezeptoren ist wahrscheinlich der Thromboxan A_2 -sensitive (TXA_2) Rezeptor (Uski, 1988). In dieser Studie wurde durch Zugabe des TXA_2 -Antagonisten AH 23848 die Wirkung von U46619 (ein stabiles Thromboxan A_2 -Analogon) kompetitiv gehemmt, ohne den maximalen Effekt zu beeinflussen. Im Gegensatz dazu wurde die durch $\text{PGF}_{2\alpha}$ induzierte Kontraktion durch Gabe höherer Konzentrationen von AH 23848 nicht kompetitiv gehemmt, was die Vermutung nahe legt, dass ein weiterer Rezeptor die Wirkung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ vermittelt. Ähnliche Ergebnisse konnten in einer anderen Untersuchung mit dem TXA_2 -Rezeptorantagonisten S-145 erhoben werden (Nakajima et Ueda, 1990). Letztendlich ist es jedoch unklar, ob es sich bei dem zweiten Rezeptor um einen sog. $\text{PGF}_{2\alpha}$ sensitiven (FP)-Rezeptor oder um einen Subtyp des TXA_2 -Rezeptors handelt. Die Stimulation dieser Rezeptoren führt zum Einen zu einem Ca^{2+} -Influx und zum Anderen zu einer Freisetzung intrazellulärer Ca^{2+} -Speicher (Alborch et al., 1995).

Die durch $\text{PGF}_{2\alpha}$ ausgelöste Kontraktion ist in verschiedenen Spezies unterschiedlich stark ausgeprägt. So kontrahieren KCl und $\text{PGF}_{2\alpha}$ die Basilararterien des Rhesusaffen annähernd gleich (Sipkema et al., 1996), während beim Menschen die maximale Kontraktion mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ zwei- dreimal so stark ausgeprägt ist, wie mit KCl (Rose et al., 1979). Trotzdem eignet sich dieser Vasokonstriktor, wie schon in vielen Arbeiten vorher, als Mediator für die vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Zerebralarterien des Schweins.

Darüber hinaus spielte auch die Vorstellung, dass die in-vitro durch $\text{PGF}_{2\alpha}$ erzeugten Kontraktionen der Gefäße möglicherweise ein Modell für pathologisch ausgelöste Vasospasmen sein könnten. So ist schon sehr lange bekannt, dass Prostaglandine eine

wichtige Rolle bei der Entstehung zerebraler Vasospasmen nach einer Subarachnoidalblutung spielen (Yokata et al., 1991; White und Hagen, 1982, Pickard, 1981).

4.6 Wirkung von Vasodilatoren

4.6.1 Norepinephrin (NE)

Die Wirkungen von Noradrenalin werden über Adrenorezeptoren vermittelt, die sich in α_1 , α_2 , β_1 und β_2 Subtypen unterteilen lassen. Nach einer Stimulation postsynaptischer α_1 - bzw. α_2 -Rezeptoren kommt es durch eine Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration zur Kontraktion der glatten Muskelzellen. Die Freisetzung des Kalziums aus dem endoplasmatischen Retikulum wird durch das Phosphatinositolsystem gesteuert (Schmidt und Thews, Springer 1996). Sowohl ROCs (rezeptorgesteuerte Kalziumkanäle) als auch VOCs (spannungsabhängige Kalziumkanäle) sind am Kalziumeinstrom durch die Muskelzellmembran beteiligt (Bolton, 1979). NA erhöht die Offenwahrscheinlichkeit von spannungsabhängigen Kalziumkanälen, so dass es schon bei nahezu physiologischem Membranpotential zu einem Kalziumeinstrom kommen kann (Nelson et al., 1990). Die Existenz eines catecholamingesteuerten ROCs ist noch nicht gesichert.

Im Gegensatz zu den α -Rezeptoren bewirkt eine Stimulation der β -Rezeptoren am glatten Gefäßmuskel einen hemmenden Effekt (Wang und Lee, 1986). Die Bindung von Noradrenalin an einen β_1 -Rezeptor führt wahrscheinlich über eine Aktivierung der Adenylatzyklase via G-Protein und einem damit verbundenem Konzentrationsanstieg von cAMP zu einer Dilatation (Rembold, 1992; Song und Simard, 1995). Dabei wird ein Teil der Vasorelaxation über ATP-sensitive K^+ -Kanäle (Kitazono et al., 1993; Faraci und Sobey, 1996, siehe Abbildung), ein anderer über Ca^{2+} -abhängige- K^+ -Kanäle (Faraci und Sobey, 1996; Song und Simard, 1995; Kitazono et al., 1995). Die Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels führt zu einem erhöhten Ausstrom von K^+ durch diese Kanäle. Dadurch kommt es zu einer Hyperpolarisation der Zelle, was zu einem Verschluss der VOCs und schließlich über eine Verminderung des intrazellulären Kalziums zu einer Dilatation führt.

Der L-Arginin/NO-Mechanismus trägt zur β -Adrenorezeptor vermittelte Vasorelaxation Zerebraler Arterien bei (Hempelmann und Ziegler, 1993). In Ihren Versuchen wurde in Anwesenheit von N^o-nitro-L-Arginin (L-NOARG), einem Inhibitor der NO-Synthase, die durch NA verursachte Dilatation der Basilararterie von Ratten deutlich abgeschwächt. Das freigesetzte NO stamme aus dem Endothel und nicht aus der vaskulären glatten Muskelzelle. Zum gleichen Ergebnis gelangen Arribas et al. (1997), die als NO-Synthase Hemmer N^G-nitro-l-arginin Methyl Esther verwandten. Dem widersprechen Kitazono et al. (1993), die bei Ihren Versuchen ebenfalls mit N^G-nitro-L-Arginin Methyl Esther keine Abschwächung der durch NA verursachten Relaxation beobachten konnten.

Im Gegensatz zum Menschen (Toda, 1974; Iwamov und Moulds, 1986; Schrör und Verheggen, 1988) und Hunden (Toda et al., 1986) führte NA bei den in dieser Arbeit verwendeten Zerebralarterien des Schweins zu einer Vasorelaxation. Dieser Effekt ist auch von vielen anderen Autoren auch an anderen Spezies beobachtet worden (Schwein: Wang und Lee, 1986; Ratte: Kitazono et al., 1993; Hempelmann und Ziegler, 1993; Arribas et al., 1997; Rind: Cheng und Shibata, 1978; Ayajiki und Toda, 1990; Katze: Edvinsson und Owman, 1974). Dies wird in den genannten Arbeiten mit einem Überwiegen der β_1 -Rezeptoren in den Zerebralarterien der untersuchten Tiere erklärt. Dieser Effekt wird überwiegend in den hinteren Regionen der Zerebralen Gefäßversorgung beobachtet (Hempelmann und Ziegler, 1993).

4.6.2 Substance P

Substance P wurde zum Nachweis eines intakten Endothels bei jedem einzelnen Versuch eingesetzt. Es handelt sich hierbei um ein Peptid, welches ausschließlich zu einer kurzandauernden, endothelabhängigen Vasodilatation führt (Furchgott, 1983). Dieser Effekt wurde an den Zerebralarterien verschiedener Spezies beobachtet (Mensch: Onoue et al., 1993; Schwein: Fiscus et al., 1992; Hund: Stubbs et al., 1992; Tsuji und Cook, 1992). Substance P wird zusammen mit dem Calcitonin-gene-related Peptid in sensorischen Nervenfasern, welche die Adventitia-Media-Lücke der meisten muskulären Arterien versorgen, gefunden (Fiscus et al., 1992). Die Vasodilatation wird wahrscheinlich über einen Subtyp der Neurokinin-Rezeptoren (NK₁) vermittelt (Escott et al., 1995; Stubbs et al., 1992). Dadurch kommt es durch eine Aktivierung der NO-

Synthese zur Freisetzung von NO aus dem Endothel und somit zur Relaxation (Petersson et al., 1995; Onoue et al., 1988).

Substance P setzt PGI₂, ein vasodilatierendes Prostaglandin, in Endothelzellen frei und führt so ebenfalls zu einer Vasorelaxation (Onoue et al., 1988).

Möglicherweise ist ein dritter Mechanismus an der durch Substance P vermittelten Vasorelaxation beteiligt. Substance P könnte durch eine Membranhyperpolarisation zu einer Dilatation der Gefäße führen (Petersson et al., 1995). Ob an diesem Mechanismus ATP-sensitive-K⁺-Kanäle beteiligt sind, ist unklar (Brayden, 1990; Petersson et al. 1995).

4.7 Glyceroltrinitrat (GTN)

Organische Nitrate haben eine gefäßdilatierende Wirkung. Als wichtigstes Ergebnis dieser Arbeit zeigte sich, dass es an den zerebralen Gefäßen des Schweins zu keiner nennenswerten Relaxation nach Perfusion mit therapeutischen Dosen des Nitrovasodilatators Nitroglycerin kam. Es konnte weder bei der A. basilaris noch bei A. cerebri anterior eine maximale Dilatation erreicht werden. Die maximale GTN-Dosis lag bei 100 µmol/l.

Im Gegensatz dazu relaxieren die spontanen NO-Donatoren SNAP und DEA/NO die untersuchten Gefäße vollständig.

Eine ebenfalls nicht vollständige Relaxation auf die Gabe von 100 µmol/l Nitroglycerin ließ sich bei in-vitro Versuchen an der Basilararterie des Schafes (Pearce et al., 1994), des Meerschweinchens (Olesen et al., 1990) und des Kaninchens (Ohta et al., 1993) beobachten.

Dies steht im Widerspruch zu von anderen Autoren erhobenen Ergebnissen. Onoue et al. (1993) erreichten bei **in-vitro** Versuchen an Ästen der A. cerebri media des Menschen eine fast vollständige Relaxation auf Gabe von 1 µmol/l Nitroglycerin. Zu ähnlichen Resultaten kamen Toda et al. (1991) bei Versuchen an Zerebralarterien des Affen. Bei den o.g. Versuchen wurden jedoch ausschließlich arterielle Ringe, die in einer Apparatur künstlich vorgespannt wurden verwandt. Bei den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuchen wurde die in Abschnitt 2 erläuterte Perfusionsmethode benutzt, die bis auf die fehlende Pulsatilität den physiologischen Bedingungen eher entspricht.

Bei **in-vivo** Versuchen an verschiedenen Spezies mit verschiedenen Methoden konnte ebenfalls die relaxierende Wirkung von Nitroglycerin auf die Hirngefäße nachgewiesen werden. Fujii et al. (1991) zeigten dies durch direkte Beobachtung der A. basilaris der Ratte durch ein kraniales Fenster. Kistler et al. (1979, 1982) erhoben ähnliche Ergebnisse mittels Angiographie an der A. basilaris des Hundes, bzw. der A. cerebri media des Affen. Auch beim Menschen kann die dilatierende Wirkung von Nitroglycerin auf Hirnarterien beobachtet werden. Die Bestimmung der Gefäßweite erfolgte über direkte oder indirekte Methoden. Hannerz und Greitz (1992) maßen den Gefäßdurchmesser der A. basilaris anhand von Bildern, die mit einem Kernspintomographen erstellt wurden. Andere Autoren bestimmten das Gefäßlumen indirekt über eine Flussgeschwindigkeitsmessung durch transkraniale Doppler Messung, d. h. eine Reduktion der Flussgeschwindigkeit repräsentiert eine Dilatation des Gefäßes (Dahl et al., 1989; Zanette et al., 1991; Iversen et al., 1989; Iversen, 1995). In-vivo Versuche unterliegen jedoch vollkommen anderen Voraussetzungen als in-vitro Versuche, da bei in-vitro Versuchen perivaskuläre Strukturen und neurohumorale Einflüsse (z.B. CGRP) nicht mit untersucht werden können.

Der Mechanismus, über den Nitrovasodilatoren zu einer Relaxation an Zerebralarterien führen, ist möglicherweise verschieden gegenüber dem in anderen Gefäßgebieten. Als Ursache hierfür scheidet eine mangelnde Wirkung von NO aus, da die untersuchten Zerebralarterien auf die Gabe direkter NO-Donatoren (SNAP, DEA-NO) mit einer maximalen Dilatation reagierten.

Zu diskutieren ist eine „**neurogene**“ **Dilatation**, die bedingt durch die in-vitro-Präparation und der damit verbundenen weitgehenden Zerstörung perivaskulärer Nerven bei den Versuchen in dieser Arbeit nicht miterfasst wurden. Wei et al. (1992) zeigten in-vivo an der Katze, dass Nitroglycerin zu einer Freisetzung von calcitonin gene-related peptide (CGRP) aus sensorischen Nervenfasern des Trigemini führt. CGRP relaxiert die Blutgefäße endothelunabhängig über eine Stimulation der Adenylatcyclase (Edwards et al., 1991; Nilsson et al., 1992; Ikegaki et al., 1989). Eine Ganglionektomie (Trigemini) führte zu einer deutlichen Abschwächung der relaxierenden Wirkung von Nitroglycerin. Das gleiche Ergebnis wurde durch einen CGRP-Antagonisten erzielt. Diese Theorie wird durch Ergebnisse von Alessandri et al. (1993) unterstützt. Sie maßen erhöhte CGRP-Spiegel nach Provokation von Cluster-Kopfschmerz-Attacken durch GTN in der Jugularvene beim Menschen. Zu einem anderen Ergebnis am

Menschen kamen andere Autoren, die zeigten, dass CGRP nicht an der durch GTN verursachten Relaxation großer Zerebralarterien beteiligt ist (Iversen et al., 1993). Somit ist denkbar, dass ein Teil der durch GTN verursachten Relaxation durch Neuropeptide verursacht wird.

Eine möglicher weiterer Grund für die schwache Dilatation ist ein Mangel an Thiolgruppen. Dies wird in Kapitel 4.8 erläutert.

Als Ursache für diese unterschiedlichen Resultate könnten mehrere Gründe in Frage kommen. Die Wirkungen von GTN könnten von der Spezies oder der untersuchten zerebralen Gefäßregion abhängig sein.

Der dilatierende Effekt scheint in den proximalen Anteilen intrakranieller Gefäße stärker ausgeprägt zu sein als in den distalen (Toda und Miyazaki, 1984). Möglicherweise kommt eine unterschiedliche Verteilung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) in den verschiedenen Regionen der Gehirns als Ursache für die Abschwächung der relaxierenden Wirkung von GTN auf die Basilararterie des Schweins in Frage. Es konnte nachgewiesen werden, dass die eNOS in stärkerer Konzentration in den posterioren Abschnitten des zerebralen Gefäßsystem, d.h. in der A. basilaris, vorliegt (Kajita et al, 1995). Zusätzlich wurde gezeigt, dass sie spontane Freisetzung von EDRF in zerebralen Arterien stärker ist, als in extrazerebralen (Hongo et al., 1993). Endogenes, endotheliales NO schwächt die vasorelaxierende Wirkung von GTN ab. In in-vitro Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass nach Entfernung des Endothels GTN stärker dilatierend wirkt (Dinerman et al., 1991; Kojda et al., 1992). Zu gleichen Ergebnissen kamen Ohta et al. (1993) durch Blockierung der endothelialen NO Freisetzung mit N^G-nitro-L-arginin an der Basilararterie des Kaninchens. Als Ursache konnte eine Verminderung der vaskulären Bioaktivierung von GTN nachgewiesen werden (Kojda, 1998).

Durch Versuche mit L-NMMA, welches die eNOS und die nNOS hemmt, konnte ausgeschlossen werden, dass endogenes NO für die schlechte Wirksamkeit von GTN verantwortlich gemacht werden kann (Martens, 1999).

4.8 SNAP und DEA/NO

Im Gegensatz zu GTN setzen SNAP und DEA/NO spontan, d. h. ohne enzymatische Katalyse NO frei (Harrison und Bates, 1993; Morley et al., 1993). Beide NO-Donatoren

führten an den verwendeten Gefäßen zu einer maximalen Relaxation. Bei in-vitro Versuchen an der Basilararterie des Schafes wurden ähnliche Ergebnisse erzielt (Pearce et al., 1994). Die gefäßdilatierende Wirkung erzielen sowohl GTN als auch SNAP und DEA/NO über die Bildung bzw. Freisetzung von NO. Jedoch bestehen hinsichtlich des Mechanismus grundlegende Unterschiede, die die Wirkunterschiede erklären könnten. Organische Nitrate können in Gegenwart hoher Dosen von Thiolen enzymunabhängig NO bilden (Feelisch und Noack, 1987). Im Bereich physiologischer SH-Gruppenkonzentrationen sind wahrscheinlich **enzymatische** Prozesse für die NO-Freisetzung verantwortlich. Im Gewebe kommt es zu einer enzymatischen Abspaltung von Nitroestern. Dabei wird der Nitro-Stickstoff zu NO reduziert (Chung und Fung 1990, 1992). Vermutlich sind die Glutathion-S-transferase (Hill et al., 1992; Kenkare et al., 1994; Haefeli et al., 1993) und das Cytochrom-P-450-Systems (Bennet et al., 1992; Schröder, 1992; Liu et al. 1993), hier insbesondere die Isoform CYP3A4-NADPH-Cytochrom P450 Reduktase (Minamiyama et al., 1999), an der Katalyse von NO aus organischen Nitraten beteiligt.

Im Gegensatz dazu setzt SNAP Stickstoffmonoxid spontan frei, wobei der Mechanismus bislang nicht vollständig geklärt ist (Übersicht bei Kojda, 1997). Grundlegend muss eine Oxidation des Stickstoffatoms im SNAP stattfinden, da sich die Oxidationszahl des Stickstoffs von +1 (SNAP) auf +2 (NO) ändert. Eine Möglichkeit besteht in einer Selbstauflösung unter Bildung von NO und dem korrespondierenden Thioradikal (Barnett et al., 1994). Eine intrazelluläre Abspaltung von NO wäre ebenfalls möglich, jedoch unwahrscheinlich, da SNAP die Zellmembran kaum penetriert (Kowaluk und Fung, 1990). McAninly et al. (1993) zeigten, dass es nur nach katalytischer Einwirkung von Schwermetallionen, die sich in jedem physiologischen Puffer befinden, zu einer spontanen Bildung von NO kommt.

Folglich kann die unterschiedliche Wirkung zwischen GTN und den spontanen NO-Donatoren nur im Bereich der unterschiedlichen Bioaktivierung vermutet werden.

4.9 Einfluss von L-Cystein auf die Wirkung von GTN und NA

Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen kam es bei der A. basilaris zu einer signifikant gesteigerten, relaxierenden Wirkung von Glyceroltrinitrat unter Einfluss von L-Cystein, nicht jedoch bei der A. cerebri anterior. Diese Wirkungssteigerung könnte

auf verschiedenen Effekten beruhen. Zum Einen könnte eine gesteigerte spontane Freisetzung von NO aus GTN ursächlich sein. Zum Anderen könnten Thiole auch noch Effekte, wie z. B. die Beeinflussung der Stabilität und Aktivität von NO oder die Förderung des Nitratmetabolismus durch Aufrechterhaltung der zellulären Reduktionskapazität (Myers et al., 1990; Mülsch et al., 1991). Der zuletzt beschriebene Mechanismus könnte auch für die nicht signifikant gesteigerte dilatative Wirkung von NA verantwortlich sein.

Zurückliegende Studien haben gezeigt, dass Nitroglycerin vasorelaxierend auf arterielle Gefäße durch Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase über Interaktion mit Sulfhydryl-Gruppen-haltigen Substanzen wirkt (Needleman und Johnson, 1973; Ignarro et al., 1981). Es konnte nachgewiesen werden, dass Nitrate in Gegenwart von freien Thiolverbindungen, wie z.B. L-Cystein, in der Lage sind, NO über einen enzymunabhängigen Mechanismus freizusetzen (Feelisch und Noack, 1987; Chong und Fung, 1991). Thiole sind aber auch an der enzymatischen Freisetzung von NO aus GTN beteiligt (Chong und Fung, 1991; Newman et al., 1990). Eine mögliche Ursache für die nicht vollständige Relaxation der Zerebralarterien des Schweins könnte also eine verringerte Freisetzung von NO durch eine verminderte Bioaktivierung von Nitraten sein. Ursächlich hierfür ist möglicherweise ein Mangel an cytosolischen freien Thiolen (Needleman und Johnson, 1973; Fung et al., 1992). So konnte nachgewiesen werden, dass die Zugabe von N-Acetyl-L-cystein die relaxierende Wirkung von Glyceroltrinitrat auf Temporalarterien des Menschen signifikant steigert (Iversen, 1992). Gleiche Beobachtungen konnten bei in-vitro Versuchen an kleinsten Koronargefäßen des Schweins gemacht werden. L-Cystein erhöhte die dilatierende Wirkung von Nitroglycerin (Sellke et al., 1991). Organische Nitrate und NO-Donatoren verringern den Gehalt an freien Thiolen im glatten Gefäßmuskel (Grutter und Lemke, 1985; Kojda et al., 1994). Es wurde daher diskutiert, ob ein Mangel an freien Thiolen auch als Ursache für die seit langem bekannte Toleranzentwicklung, die bei einer kontinuierlichen Behandlung mit Nitraten auftritt, in Betracht kommt. Verschiedene Arbeitsgruppen kamen bei in-vitro und in vivo Studien, in denen Nitrate und freie Thiole gleichzeitig verabreicht wurden, zu den unterschiedlichsten Ergebnissen (Übersicht bei Kojda et al., 1993). Neuere Ergebnisse sprechen jedoch eher gegen diese Hypothese (Kojda et al., 1993; Boesgaard et al., 1994).

Ein weiterer Erklärungsansatz für die Toleranzentwicklung gegenüber Nitraten wird von Muenzel und Harrison (1997) beschrieben. Die durch GTN induzierte Vasorelaxation führt zu einer kompensatorischen Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Dadurch kommt es zu einer verstärkten Bildung Sauerstoff-Radikalen (O_2^{\cdot}), die Stickstoffmonoxid inaktivieren. Zusätzlich scheint es zu einer Aktivierung der Proteinkinase C zu kommen, die die Gefäße empfindlicher für zirkulierende Neurohormone wie Katecholamine, Angiotensin II oder Serotonin macht. All diese Neurohormone wirken dem dilatierenden Effekt von GTN entgegen.

4.10 Einfluss von Etacrynsäure auf die Wirkung von GTN

Etacrynsäure, ein Abkömmling der Phenoxyessigsäure, wird in der Medizin als hoch wirksames Schleifendiuretikum angewendet. Sie alkyliert Sulfhydryl-Gruppen. Als Folge dieses Effektes vermindert die Zugabe von Etacrynsäure die relaxierende Wirkung von GTN (Sellke et al., 1991). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Etacrynsäure dosisabhängig bis zur fast vollständigen Inhibierung die dilatierende Wirkung von GTN auf die Basilararterie und die A. cerebri anterior des Schweins reduziert. Folglich sind freie SH-Gruppen für die Bioaktivierung von GTN und zur Freisetzung von NO notwendig und auch in den Zerebralgefäßen des Schweins vorhanden.

4.11 Klinische Relevanz

Die häufigste Nebenwirkung bei der Anwendung von Nitropräparaten in der Inneren Medizin sind Kopfschmerzen. Sie kommen bei 20-50 % aller Patienten vor. Es werden drei verschiedene Arten beschrieben (Iversen, 1995):

- ein sofort nach Gabe von GTN einsetzender, pulsierender, bifrontal oder bitemporal lokalisierter Kopfschmerz, der ca. 20-60 Minuten anhält.
- ein nach der Gabe von GTN nur verzögert einsetzender Kopfschmerz, der vor allem bei Patienten beobachtet werden kann, die an Migräne leiden oder eine familiäre Disposition für Migräne besitzen.
- Cluster-Kopfschmerzen, jedoch ausschließlich während sog. Cluster-Perioden.

Die kontinuierliche, intravenöse Gabe von Nitroglycerin wird daher als experimentelles Model zur Erforschung anderer, vaskulär bedingter Arten von Kopfschmerzen, allen voran der Migräne, benutzt (Iversen et al., 1989; Iversen, 1995).

Als Ursache dieser Symptomatik wurde früher allgemein der vasodilatierende Effekt der Nitropräparate genannt. So konnte bei in-vivo Experimenten gezeigt werden, dass die großen arteriellen, intrakraniellen Gefäße auf die Gabe von GTN (intravenös, sublingual) dilatiert werden, der gesamte Gehirn-Blutfluß in Folge eines unveränderten Tonus der Arteriolen (Widerstandsgefäße) aber konstant bleibt (Dahl et al., 1989; Iversen et al., 1989). Gleichzeitig treten bei vielen Patienten Kopfschmerzen auf, die kurze Zeit nach Abklingen der GTN-Wirkung verschwanden. Dieser Effekt ist bei Patienten, die unter Migräne leiden, stärker ausgeprägt. Thomsen (Thomsen et al., 1993) zeigte dies mittels transkranieller Doppleruntersuchungen der A. cerebri media.

Wie jedoch kommt es zu Kopfschmerzen infolge einer Vasodilatation, wenn die zur Kupierung von Angina pectoris Anfällen eingesetzte Dosis GTN zu keiner nennenswerten direkten Relaxation der Zerebralf Gefäße führt? Möglicherweise tritt die Vasodilatation erst als Folge oder Begleitreaktion der Schmerzstimulation auf.

Über die Ursache dieser Kopfschmerzen und auch anderer vaskulärer Cephalgien gibt es verschiedene Ansichten.

Moskowitz (Moskowitz, 1993) hält eine perivaskuläre neurogene Entzündung (neurogenic inflammation) um die duralen und meningealen Gefäße für den vaskulären Kopfschmerz für verantwortlich. Verbindungen zwischen Fasern des N. trigeminus und den zerebralen Gefäßen haben zum Konzept eines trigeminovaskulären Systems geführt (Goadsby und Edvinsson, 1993). Zusätzlich übertragen sensorische Neuronen des N. trigeminus nozizeptive Informationen in den Hirnstamm (Fanciulacci et al., 1997). Eine Aktivierung des Ganglion trigeminale setzt verschiedene vasoaktiver Peptide (z.B. CGRP und Substance P) frei, die zu einer Vasodilatation und einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und damit neurogenen Entzündung führen (Goadsby und Edvinsson, 1994; Moskowitz, 1991). Patienten, deren Ganglion trigeminale zur Behandlung einer Trigeminusneuralgie thermokoaguliert wurde, wiesen einen erhöhten lokalen Spiegel an CGRP und Substance P auf (Goadsby et al., 1988). Es konnte ein Anstieg des Neuropeptids CGRP in der Vena jugularis externa während durch GTN induzierter

Cluster- und Migränekopfschmerz-Attacken nachgewiesen werden (Fanciullacci et al., 1995; Goadsby et al., 1990; Alessandri et al., 1993). In der Latenzphase zwischen Verabreichung des GTN und Beginn der Kopfschmerzen oder bei Patienten die sich in der Remissionsphase des Clusterkopfschmerzes befanden kam es nicht zu einem erhöhten CGRP-Spiegel (Fanciullacci et al., 1997).

Wie erwähnt beginnt der Clusterkopfschmerz oder auch der Migräneanfall erst nach einer gewissen Latenzphase. Dahl et al. (1990) zeigten mittels transkraniellem Dopplerultraschall, dass die dilatatorische Wirkung von GTN bereits deutlich nachließ, als die Kopfschmerzen einsetzten. Somit kann die Gefäßdilatation alleine nicht die Ursache der Beschwerden sein. Wenn die Dilatation Ursache der Kopfschmerzen wäre, würde man erwarten, dass andere vasorelaxierende Substanzen ebenfalls in der Lage sind Cephalgien auszulösen. Aber weder Papaverine (Olesen und Paulson, 1971) noch CGRP (Shekar et al., 1991), zwei endotheliumunabhängige Vasodilatoren, verursachen Beschwerden. Ebenso erzeugte eine durch Ballonangioplastie verursachte Vasodilatation keine Kopfschmerzen (Nichols et al., 1990). Diese Ergebnisse und die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit legen den Schluss nahe, dass die durch GTN hervorgerufene Dilatation nicht Ursache, sondern Folge oder Begleitreaktion der Kopfschmerzen ist.

Tierexperimentell wurde nachgewiesen, dass Nitrovasodilatoren sensorische Fasern zur Freisetzung von CGRP aktivieren (Wei et al., 1992; Hughes und Brain, 1994). Möglicherweise läuft dieser Mechanismus langsam ab und erklärt damit die Latenzzeit zwischen Gabe von GTN und dem Beginn der Kopfschmerzen, bzw. dem Anstieg des CGRP-Gehaltes im Blut.

Olesen et al. (1994, 1995) sehen die vasoaktiven Peptide nicht als verantwortlich für die Entwicklung vaskulärer Kopfschmerzen. So verursacht eine intravenöse Gabe von CGRP zwar eine zerebrale Vasodilatation, jedoch keine Kopfschmerzen (Shekar et al., 1991). In-vivo und in-vitro Studien an menschlichen und tierischen Objekten (Jansen et al., 1990; Iversen et al., 1993) unterstützen nicht die von Wei et al. (1992) erhobenen Ergebnisse, dass GTN via CGRP vasorelaxierend wirke. Zwar ist während einer Migräneattacke der Blutspiegel von CGRP in der V. jugularis externa nicht jedoch in der V. jugularis interna erhöht (Friberg et al., 1994). Die Autoren räumen jedoch die

Möglichkeit ein, dass eine Erhöhung der lokalen Konzentration der Peptide für die Genese der Beschwerden wichtig sein könnte. Olesen et al. favorisieren Stickstoffmonoxid als verursachendes Molekül für die Entwicklung vaskulärer Kopfschmerzen (Olesen et al, 1994, 1995; 1993). Sie stellen folgende Hypothesen auf:

- Eine Aktivierung des NO-cGMP Stoffwechsels führt zu den oben beschriebenen drei Arten von Kopfschmerzen
- Antimigränemittel (z.B. Sumatriptan) wirken über eine Inhibierung des NO-cGMP Stoffwechsels oder durch eine Antagonisierung seiner Endprodukte

Histamin (Krabbe und Olesen, 1980 und 1982; Horton 1956, Clark et al., 1936) und GTN (Iversen et al. 1989) verursachen sowohl in gesunden Probanden, als auch in Migräne-patienten Kopfschmerzen und führen zu einer Dilatation zerebraler Gefäße. Dabei ist der Verlauf und die Qualität der Beschwerden nahezu identisch. Nach Infusion einer der beiden Substanzen kommt es zu einem Migräneanfall, der die Kriterien der IHS (International Headache Society) erfüllt. Das heißt, mäßige bis schwere, pulsierende Kopfschmerzen, die zwischen 4 und 72 Stunden anhalten, häufig einseitig auftretend und bei körperlicher Aktivität zunehmend. Es liegt also die Vermutung nahe, dass die beiden völlig verschiedenen Substanzen Histamin und GTN über einen gemeinsamen Mechanismus zu Cephalgien führen. GTN wirkt, wie oben ausführlich beschrieben, als exogener NO-Donor. Durch Interaktion von Histamin mit dem endothelialen H₁-Rezeptor kommt es über eine Aktivierung der endothelialen konstitutiven NO-Synthase (ecNOS) ebenfalls zur Freisetzung von NO (Toda, 1990). Als weitere Beweise für diese Hypothese werden die Verstärkung des relaxierenden Effekts von GTN und der Kopfschmerzen nach Vorbehandlung mit N-Acetylcystein (Iversen, 1992) und die länger anhaltende Vasorelaxation und Kopfschmerzen nach Gabe des NO-Donors Isosorbidmononitrat (Iversen et al., 1992) angeführt. Den Wirkort von GTN zur Induktion von Kopfschmerzen sehen Olesen et al. (1995) in den großen intrakraniellen Zerebralarterien, wie in verschiedenen Untersuchungen mit nichtinvasiven, bildgebenden, z.T. indirekten Verfahren nachgewiesen wurde (Dahl et al., 1989; Olesen, 1991; Iversen et al. 1989).

Die Auslösung einer Cluster-Attacke oder eines Migräne-Anfalls mit Nitrovasodilatoren gelingt nur bei Personen, die sich entweder in einer aktiven Phase befinden oder bekanntermaßen unter Migräne leiden. Dieser pathophysiologische Zustand wird als Supersensitivität gegenüber NO bezeichnet (Olesen et al., 1993). So

wurde gezeigt, dass es bei Migräne-Patienten nach Gabe von GTN zu einer signifikant erhöhten Dilatation der A. cerebri media und stärkeren Kopfschmerzen kommt, als in der Kontrollgruppe. Da sowohl endogenes als auch exogenes NO eine Migräne auslösen, ist anzunehmen, dass die Supersensitivität in einer erhöhten Aktivität der Guanylatcyclase oder einem anderen Faktor der Reaktionskaskade begründet liegt (Olesen, 1994).

Andere symptomatisch auftretende vaskuläre Kopfschmerzen lassen sich auch mit der o.g. Hypothese in Übereinstimmung bringen. Meningitiden und Encephalitiden stimulieren über eine Formation von Cytokinen Makrophagen zur Produktion von NO (Hibbs et al., 1988).

Über welchen Mechanismus NO dann letztendlich zur Entwicklung von Kopfschmerzen führt ist noch unklar. NO findet sich in perivaskulären Nerven (Nozaki et al., 1993) und könnte direkt auf benachbarte sensorische Nerven wirken, spielt eine wichtige Rolle in der Verarbeitung schmerzhafter Stimuli (Meller und Gebhart, 1993) und fördert die Impulstransmission von der Peripherie zum Thalamus und Neocortex.

Sumatriptan wird als spezifisches Mittel gegen Migräne eingesetzt. Es kontrahiert große zerebrale Arterien in gesunden Probanden (Caekebeke et al., 1992). Friberg et al. (1991) berichten über eine ausschließliche Wirkung auf die einseitig dilatierte A. cerebri media von Patienten, die gerade eine Migräne-Attacke erleiden. In in-vitro Studien vermag Sumatriptan ebenfalls durale und meningeale Gefäße zu kontrahieren (Humphrey und Feniuk, 1991).

Zusammenfassend lässt sich die Aussage machen, dass in-vivo neben der direkten Wirkung der organischen Nitrate den Neuropeptiden (CGRP, Substance P) eine große Rolle bei der Vasodilatation zerebraler Gefäße zukommt. Die Dilatation ist dabei wahrscheinlich nicht Voraussetzung, sondern Folge oder Begleitreaktion des auftretenden Kopfschmerzes. Vielmehr ist vermutlich die schmerzauslösende Komponente des NO von entscheidender Bedeutung.

5 Zusammenfassung

Glyceroltrinitrat ist eine in der Kardiologie häufig eingesetzte Substanz, die selektiv zu einer verbesserten Perfusion in ischämischen Myokardarealen und einem verminderten myokardialen Sauerstoffverbrauch führt. Als häufigste Nebenwirkung tritt dabei der typische Nitratkopfschmerz auf. Älteren Hypothesen zufolge beruht er auf einer zerebralen Vasodilatation. Nach neueren Erkenntnissen sind eine Aktivierung des trigeminovaskulären Systems in Verbindung mit einer Freisetzung von Neuropeptiden und eine direkte nozizeptive Wirkung des NO ursächlich für die Cephalgien. In dieser Arbeit wurde die Wirkung von Glyceroltrinitrat und spontanen NO-Donoren (SNAP und DEA/NO) auf zwei verschiedenen Zerebralarterien (A. basilaris und A. cerebri media) des Schweins mit der Wirkung auf andere Gefäßregionen verglichen. Darüber hinaus wurde die Abhängigkeit der GTN-Wirkung von Thiolen durch Vorinkubation mit L-Cystein oder Etacrynsäure untersucht.

Die Wirkung von GTN zeigte sich an beiden Zerebralarterien als schwach ausgeprägt. Therapeutische Dosen vermochten keine nennenswerte Relaxation zu induzieren. Hingegen relaxierten die beiden spontanen NO-Donoren beide Gefäße vollständig und im Vergleich zu anderen Gefäßen anderer Regionen ähnlich, so dass die Ursache nicht in einer mangelnden NO-Wirkung auf die Zerebralarterien zu sehen ist.

Als Erklärungsansatz wurde die Hypothese einer „neurogenen Dilatation“ diskutiert. Neuronale Faktoren, die unter in-vitro Bedingungen entfallen, beeinflussen möglicherweise die Bioaktivierung von GTN. Da DEA/NO und SNAP keiner Aktivierung bedürfen, zeigen sie identische Wirkungen an allen Gefäßtypen.

Die Vorinkubation mit L-Cystein führte lediglich an der A. basilaris zu einer signifikant besseren Wirkung des GTN, beiden Gefäßen gemein ist jedoch eine starke Wirkungsabschwächung durch Etacrynsäure, was die Wichtigkeit von Thiolen für die GTN-induzierte Vasorelaxation beweist.

Die nur mäßige relaxierende Wirkung von GTN widerspricht der Hypothese, dass Nitratkopfschmerz nur durch eine Vasodilatation ausgelöst wird. Stickstoffmonoxid

aktiviert das trigeminovaskuläre System und führt zu einer Schmerzauslösung. Die daraufhin einsetzende Vasorelaxation, ausgelöst durch NO, CGRP und andere Neuropeptide, ist wahrscheinlich eher als Begleitreaktion des Schmerzes anzusehen.

6 Literaturverzeichnis

1. Abrams-J:
Nitrate tolerance and dependence.
Am-Heart-J. 1980; 99: 113-123
2. Alborch-E; Salom-JB; Torregrosa-G:
Calcium channels in cerebral arteries.
Pharmac-Ther. 1995; 68 (1): 1-34
3. Alessandri-M; Bandini-EB; Figini-M; Geppetti-P; Michelacci-S;
Fanciullacci-M:
Increase of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in external jugular blood during nitroglycerin (NTG)-induced attack of cluster headache (CH).
Cephalalgia. 1993; 13 (Suppl.13): 31
4. Arribas-SM; Vila-E; McGrath-JC:
Impairment of vasodilator function in basilar arteries from aged rats.
Stroke. 1997 Sep; 28(9): 1812-20
5. Ayajiki-K; Toda-N:
Isolated bovine cerebral arteries from rostral and caudal regions: distinct responses to adrenoceptor agonists.
Eur-J-Pharmacol. 1990 Dec 4; 191(3): 417-25
6. Ballermann-BJ; Dardik-A; Eng-E; Liu-A:
Shear stress and the endothelium.
Kidney Int Suppl. 1998; 67: S100-S108
7. Barnett-DJ; McAninly-J; Williams-DLH:
Transnitrosation between nitrosothiols and thiols.
J-Chem-Soc. 1994; 2: 1131-1133

-
8. Beglinger-R; Becker-M; Eggengerger-R; Combard-C:
Das Goettinger Miniaturschwein als Versuchstier.
Res-Exp-Med. 1975; 165: 251-263
 9. Bennet-BM; McDonald-BJ; St. James-MJ:
Hepatic cytochrome P-450-mediated activation of rat aortic guanylyl cyclase
by glyceryl trinitrate.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1992; 261:716-723
 10. Boesgaard-S:
Thiol compounds and organic nitrates.
Dan-Med-Bull. 1995 Nov; 42(5): 473-84
 11. Bolton-TB:
Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth muscle.
Physiol-Rev. 1979; 59: 606-718
 12. Brayden-JE; Nelson-MT:
Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium
channels.
Science. 1992;256: 532-5
 13. Buzzi-MG; Bonamini-M; Moskowitz-MA:
Neurogenic model of migraine.
Cephalalgia. 1995; 15(4): 277-80
 14. Caekebeke-JFV; Ferrari-MD; Zwetsloot-CP; Jansen-J; Saena-PR:
Antimigraine drug sumatriptan increases blood flow velocity in large cerebral
arteries during migraine attacks.
Neurology. 1992; 42: 1522-6

-
15. Cheng-JB; Shibata-S:
Reactivity of isolated bovine cerebral arteries to biogenic amines.
Gen-Pharmacol. 1978; 9: 189-193
 16. Chulia-T; Gonzalez-P; Del-Rio-M; Tejerina-T:
Comparative study of elgodipine and nisoldipine on the contractile responses of various isolated blood vessels.
Eur-J-Pharmacol. 1995 Oct 16; 285(2): 115-22
 17. Chung-SJ; Fung-HL:
A common enzyme may be responsible for the conversion of organic nitrates to nitric oxide in vascular microsomes.
Biochem-Biophys-Res-Commun. 1992; 185: 932-937
 18. Chung-SJ; Fung-HL:
Identification of the subcellular site for nitroglycerin metabolism to nitric oxide in bovine coronary smooth muscle cells.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1990; 253:614-619
 19. Clark-D; Hough-H; Wolf-HG:
Experimental studies on headache. Observations on headache produced by histamine.
Arch-Neurol-Psychiatry. 1936; 35: 1054-69
 20. Dahl-A; Russel-D; Nyberg-Hansen-R; Rootwelt-K:
Effect of Nitroglycerin on cerebral circulation measured by transcranial doppler and SPECT.
Stroke. 1989; 20(12): 1733-6
 21. Dinerman-JL; Lawson-DL; Mehta-JL:
Interactions between nitroglycerin and endothelium in vascular smooth muscle relaxation.
Am-J-Physiol. 1991; 260: H698-H701

-
22. Dodds-WJ:
The pig model for biomedical research.
Fed-Proc. 1982; 41: 247-256
 23. Edvinsson-L; Owman-C:
Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating the vasomotor response of cerebral arteries in vivo.
Circ-Res. 1974; 35: 835-849
 24. Edwards-RM; Stack-EJ; Trizna-W:
Calcitonin gene-related peptide stimulates adenylate cyclase and relaxes intracerebral arterioles.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1991; 257(3): 1020-4
 25. Escott-KJ; Connor-HE; Brain-SD; Beattie-DT:
The involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in feline pial artery diameter responses evoked by capsaicin.
Neuropeptides. 1995 Sep; 29(3): 129-35
 26. Fanciullacci-M; Alessandri-M; Figini-M; Geppetti-P; Michelacci-S:
Increase in plasma calcitonin gene-related peptide from the extracerebral circulation during nitroglycerin-induced cluster headache attack.
Pain. 1995; 60: 119-23
 27. Faraci-FM; Heistad-DD:
Regulation of large cerebral arteries and cerebral microvascular pressure.
Circ-Res. 1990; 66: 8-17
 28. Faraci-FM; Sobey-CG:
Potassium channels and the cerebral circulation.
Clin-Exp-Pharmacol-Physiol. 1996 Dec; 23(12): 1091-5

-
29. Feelisch-M; Noack-E:
Correlation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase.
Eur-J-Pharmacol. 1987, 139: 19-30
 30. Fiscus-RR; Gross-DR; Hao-H; Wang-X; Arden-WA; Maley-RH; Salley-RK:
Nw-Nitro-L-Arginine blocks the second phase but not the first phase of the endothelium-dependent relaxations induced by Substance P in isolated rings of the pig carotid artery.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1992; 20 Suppl. 12: S105-108
 31. Friberg-L; Olesen-J; Olsen-TS; Karle-A; Ekman-R; Fahrenkrug-J:
Absence of vasoactive peptide release from brain to cerebral circulation during onset of migraine with aura.
Cephalalgia. 1994 Feb; 14(1): 47-54
 32. Fujii-K; Heistad-DD; Faraci-FM:
Vasomotion of basilar arteries in vivo.
Am-J-Physiol. 1990 Jun; 258(6 Pt 2): H1829-34
 33. Fujii-K; Heistad-DD; Faraci-FM:
Role of the basilar artery in regulation of blood flow to the brain stem in rats.
Stroke. 1991 Jun; 22(6): 763-7
 34. Fujii-K; Heistad-DD; Faraci-FM:
Ionic mechanisms in spontaneous vasomotion of the rat basilar artery in vivo.
J-Physiol-Lond. 1990 Nov; 430: 389-98
 35. Fung-LF; Chung-SJ; Bauer-JA; Chong-S; Kowaluk-EA:
Biochemical Mechanism of Organic Nitrate Action.
Am-J-Cardiol. 1992 Sep; 70: 4B-10B

-
36. Furchgott-RF:
Role of Endothelium in Response of Vascular Smooth Muscle.
Circ-Res. 1983; 53(5); 557-73
37. Goadsby-PJ; Edvinsson-L; Ekman-R:
Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during
migraine headache.
Ann-Neurol. 1990 Aug; 28(2): 183-7
38. Haefeli-WE; Srivastava-N; Kelsey-KT; Wiencke-JK; Hoffman-BB;
Blaschke-TF:
Glutathione S-transferase m polymorphism does not explain variation in
nitroglycerin responsiveness.
Clin-Pharmacol-Ther. 1993; 53:463-468
39. Hafner-D; Heinen-E; Noack-E:
Mathematical analysis of concentration-response relationships.
Drug-Res. 1977; 27: 1871-3
40. Hannerz-J; Greitz-D:
MRI of Intracranial Arteries in Nitroglycerin Induced Cluster Headache
Attacks.
Headache. 1992 Nov; 32: 485-8
41. Harrison-DG; Bates-JN:
The nitrovasodilators: New ideas about old drugs.
Circulation. 1993; 87: 1461-1467
42. Hempelmann-RG; Ziegler-A:
Endothelium-dependent noradrenaline-induced relaxation of rat isolated
cerebral arteries: pharmacological characterization of receptor subtypes
involved.
Br-J-Pharmacol. 1993 Dec; 110(4): 1321-8

-
43. Hibbs-JB; Faintor-RR; Vavrin-Z:
Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule.
Biophys-Res-Commun. 1988; 157: 87-94
44. Hill-KE; Hunt-RW; Jones-R; Hoover-RL; Burk-RF:
Metabolism of nitroglycerin by smooth muscle cells. Involvement of
glutathione and glutathione S-transferase.
Biochem-Pharmacol. 1992; 43: 561-6
45. Hoegestaett-ED; Andersson-KE:
Mechanisms behind the biphasic contractile response to potassium
depolarization in isolated rat cerebral arteries.
J-Pharmac-Exp-Ther. 1984; 228: 187-195
46. Hoegestaett-ED; Uski-TK:
Actions of some prostaglandins and leukotrienes on rat cerebral and
mesenteric arteries.
Gen-Pharmacol. 1987; 18(2): 111-7
47. Hofman-F; Nastainczyk-W; Roehrkasten-A; Schneider-T:
Regulation of the L-type calcium channel.
Trends-Pharmacol-Sci. 1987; 8: 393-8
48. Hongo-K; Tsukahara-T; Kassell-NF; Kobayashi-S:
Comparison of spontaneously released endothelium-derived relaxing factor in
cerebral and extracerebral arteries in rabbits.
Neurol-Res. 1993 Oct; 15(5): 327-32
49. Horton-BT:
Histaminic cephalgia: differential diagnosis and treatment.
Proc-Staff-Meet-Mayo-Clin. 1956; 31:325-33

-
50. Horwitz-LD; Herman-MV; Gorlin-R:
Clinical response to nitroglycerin as a diagnostic test for coronary artery disease.
Amer-J-Cardiol. 1972; 29: 149
51. Hughes-SR; Brain-SD:
Nitric oxide dependent release of vasodilator quantities of calcitonin gene-related peptide from capsaicin-sensitive nerves in rabbit skin.
Br-J-Pharmacol. 1994; 111: 425-30
52. Humphrey-PPA; Feniuk-W:
Mode of action of the anti-migraine drug sumatriptan.
Trends-Pharmacol-Sci. 1991; 12: 444-6
53. Ignarro-LJ; Lippton-H; Edwards-JC; Baricos-WH; Hyman-AL; Kadowitz-PJ; Gruetter-CA:
Mechanism of Vascular Smooth Muscle Relaxation by Organic Nitrates, Nitrites, Nitroprusside and Nitric Oxide: Evidence for the Involvement of S-Nitrosothiols as Active Intermediates.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1981; 218(3): 739-49
54. Ikegaki-I; Suzuki-Y; Satoh-S; Asano-T; Shibuya-M; Sogita-K:
Effects of calcitonin gene-related peptide on canine cerebral artery strips and the in-vivo vertebral blood flow in dogs.
Naunyn-Schmiedebergs-Arch-Pharmacol. 1989; 340: 431-6
55. Iversen-HK:
Experimental headache in humans.
Cephalalgia. 1995; 15(4): 281-7
56. Iversen-HK; Holm-S; Friberg-L:
Intracranial hemodynamics during intravenous nitroglycerin infusion.
Cephalalgia. 1989; 9 (Suppl.10): 84-5

-
57. Iversen-HK; Olesen-J:
The effect of sumatriptan on nitroglycerin-(NTG)-induced headache and vascular responses.
Cephalalgia. 1993; 13 (Suppl. 13): 186
58. Iversen-HK; Olesen-J; Tfelt-Hansen-P:
Intravenous nitroglycerin as an experimental model of vascular headache. Basic characteristics.
Pain. 1989 Jul; 38(1): 17-24
59. Iwanov-V; Moulds-RF:
Differing calcium sensitivities of human cerebral and digital arteries, human metatarsal veins, and rat aorta.
Br-J-Clin-Pharmacol. 1991 Jan; 31(1): 47-54
60. Kawai-Y; Ohhashi-T:
Prostaglandin F_{2α}-induced endothelium-dependent relaxation in isolated monkey cerebral arteries.
Am-J-Physiol. 1991; 260(H29): H1538-H1543
61. Kenkare-SR; Han-C; Benet-LZ:
Correlation of the response to nitroglycerin in rabbit aorta with the activity of the mu class glutathione S-transferase.
Biochem-Pharmacol. 1994; 48: 2231-2235
62. Kistler-JP; Lees-RS; Andia-G; Zervas-NT; Crowell-RM; Ojemann-RG:
Intravenous nitroglycerin in experimental cerebral vasospasm: A preliminary report.
Stroke. 1979; 10: 26-9

-
63. Kistler-JP; Vielma-JD; Davis-KR:
Effects of nitroglycerin on the diameter of intracranial and extracranial arteries in monkeys.
Arch-Neurol. 1982; 39: 631-4
64. Kitazono-T; Faraci-FM; Heistad-DD:
Effect of norepinephrine on rat basilar artery in vivo.
Am-J-Physiol. 1993; 264: H178-H182
65. Kitazono-T; Faraci-FM; Taguchi-H; Heistad-DD:
Role of potassium channels in cerebral blood vessels.
Stroke. 1995 Sep; 26(9): 1713-23
66. Kohl-FV:
[Drug-induced headache].
Med-Welt. 1983 Nov 18; 34(46): 1294-7
67. Kojda-G:
Vasoprotektive, inotrope und hämodynamische Wirkungen von Stickstoffmonoxid.
Darmstadt: Steinkopff, 1997
68. Kojda-G; Beck-JK; Meyer-W; Noack-E:
Nitrovasodilator-induced relaxation and tolerance development in porcine vena cordis magna: dependence on intact endothelium.
Br-J-Pharmacol. 1994 Jun; 112(2): 533-40
69. Kojda-G; Noack-E:
Nitric oxide liberating, soluble guanylate cyclase stimulating and vasorelaxing properties of the new nitrate-compound SPM 3672.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1993 Jul; 22(1): 103-11

-
70. Kowaluk-A; Fung-HL:
Spontaneous liberation of nitric oxide cannot account for in vitro vascular relaxation by S-nitrosothiols.
J-Pharmacol-Exp-Ther., 1990; 255: 1256-1264
71. Krabbe-AA; Olesen-J:
Effect of histamine on regional cerebral blood flow in man.
Cephalalgia. 1982; 2: 15-8
72. Krabbe-AA; Olesen-J:
Headache provocation by continuous intravenous infusion of histamine.
Clinical results and receptor mechanisms.
Pain. 1980; 8: 253-9
73. Lamb-FD; Myers-JH; Hamlin-MH; Webb-RC:
Oscillatory contractions in tail arteries from genetically hypertensive rats.
Hypertension. 1985; 7 (Suppl. I): 125-30
74. Laws-GC:
The effects of nitroglycerine upon those who manufacture it.
Amer-Med-Assoc. 1898; 31: 793
75. Liu-Z; Brien-JF; Marks-GS; McLaughlin-BE; Nakatsu-K:
Lack of evidence for the involvement of Cytochrome P-450 or other hemoproteins in metabolic activation of glyceryl trinitrate in rabbit aorta.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1993; 264: 1432-1439
76. Maninly-J; Williams-DLH; Askew-SC; Butler-AR; Russel-C:
Metal ion catalysis in nitrosothiol (RSNO) decomposition.
J-Chem-Soc., Chem. Commun. 1993: 1759

-
77. Marks-GS; McLaughlin-BE; Jimmo-SL; Poklewska-Koziell-M; Brien-JF; Nakatsu-K:
Time-dependent increase in nitric oxide formation concurrent with vasodilation induced by sodium nitroprusside, 3-morpholinopyridone, and S-nitroso-N-acetylpenicillamine but not glyceryl trinitrate.
Drug-Metab-Dispos. 1995 Nov; 23(11): 1248-52
78. Martens-D:
Die Wirkung organischer Nitrate auf den Tonus isolierter Zerebralgefäße.
Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany, 1999
79. Mayberg-MR; Langer-RS; Zervas-NT; Moskowitz-MA:
Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headache in man.
Science. 1981; 213: 228-230
80. McPherson-GA; Keily-SG:
Electrophysiological properties of the rat middle cerebral artery at different levels of passive wall tension.
Clin-Exp-Pharmacol-Physiol. 1995 Oct; 22(10): 724-31
81. Meininger-GA; Davis-MJ:
Cellular mechanisms involved in the vascular myogenic response.
Am-J-Physiol. 1992; 263: H647-H659
82. Meller-ST; Gebhart-GF:
Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord.
Pain. 1993; 52: 127-36
83. Meyerson-BA; Gunasekera-L; Linderoth-B; Gazelius-B:
Bedside monitoring of regional cortical blood flow in comatose patients using laser Doppler flowmetry.
Neurosurgery. 1991; 29: 750-755

-
84. Minamiyima-Y; Takemura-S; Akiyama-T; Imaoka-S; Inoue-M; Funae-Y; Okada-S:
Isoforms of cytochrome P 450 on organic nitrate-derived nitric oxide release in human heart vessels.
FEBS. 1999; 452: 165-169
85. Moncada-S; Higgs-A:
The L-Arginine-nitric oxide pathway.
N-Engl-J-Med. 1993; 329: 2002-12
86. Morley-D; Maragos-CM; Zhang-XY; Boignon-M; Wink-DA; Keefer-LK:
Mechanism of vascular relaxation induced by the nitric oxide (NO)/nucleophile complexes, a new class of NO-based vasodilators.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1993; 21: 670-676
87. Moskowitz-MA:
Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine.
Neurology. 1993; 43; 6 (Suppl. 3): S16-20
88. Moskowitz-MA:
The visceral organ brain: implications for the pathophysiology of vascular head pain.
Neurology. 1991 Feb; 41(2 (Pt 1)): 182-6
89. Muenzel-T; Harrison-DG:
Evidence for a role of oxygen-derived free radicals and protein kinase C in nitrate tolerance.
J-Mol-Med. 1997; 75;11-12: 891-900
90. Mulvany-MJ:
Possible role of vascular oscillatory activity in the development of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1985; 12 (Suppl. 6): S16-2

-
91. Murrel-W:
Nitro-glycerine as a remedy for angina pectoris.
Lancet. 1879; 1:80-81

 92. Nakajima-M; Ueda-M:
Regional differences in prostanoid receptors mediating prostaglandin F_{2α}-
induced contractions of cat isolated arteries.
Eur-J-Pharmacol. 1990; 191: 359-68

 93. Needleman-P; Johnson-EM:
Mechanism of tolerance development to organic nitrates.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1973; 184:709-713

 94. Neild-TO; Kotecha-N:
Relation between membrane potential and contractile force in smooth muscle
of the rat tail artery during stimulation by norepinephrine, 5-
hydroxytryptamine and potassium.
Circ-Res. 1987; 60: 791-5

 95. Nelson-MT; Patlak-JB; Worley-JF; Standen-NB:
Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial
smooth muscle tone.
Am-J-Physiol. 1990; 259: C3-C18

 96. Nichols-FT; Mawad-M; Mohr-JP; Stein-B; Hilal-S; Michelsen-WJ:
Focal headache during balloon inflation in the internal carotid and middle
cerebral arteries.
Stroke. 1990 Apr; 21(4): 555-9

 97. Nilsson-L; Edvinsson-L; Jansen-I:
Mechanisms of action of the dilatory response to calcitonin gene-related
peptide in guinea pig basilar artery.
Ann-N-Y-Acad-Sci. 1992; 657: 510-2

-
98. Noack-E; Feelisch-M:
Molecular mechanism of nitrovasodilator bioactivation.
In: Endothelial mechanism of vasomotor control, ed. Drexler-H; Zeiher-AM;
Bassenge-E; Just-H; Steinkopff Verlag, Darmstadt, Germany, 1991: 37-50
99. Nozak- K; Moskowitz-MA; Maynard-KI; Koketsu-N; Dawson-TM; Bredt-
DS; Snyder-SH:
Possible origins and distribution of immunoreactive nitric oxide synthase-
containing nerve fibers in cerebral arteries.
J-Cereb-Blood-Flow-Metab. 1993; 13: 70-9
100. Ohta-F; Kobayashi-Y; Shinozuka-K; Shimoura-K; Hattori-K; Moritake-K:
Effects of nitro-L-arginine on endothelium-dependent relaxation of canine
cerebral arteries.
Clin-Exp-Pharmacol-Physiol. 1993 Jun; 20(6): 413-9
101. Olesen-J; Paulson-OB:
The Effect of intra-arterial Papaverine on the Regional Cerebral Blood Flow
in Patients with Stroke or Intracranial Tumor.
Stroke. 1971; 2: 148-59
102. Onoue-H; Kaito-N; Tokudome-S; Abe-T; Tashibu-K; Nagashima-H;
Nakamura-N:
Investigation of postmortem functional changes in human cerebral arteries.
J-Cereb-Blood-Flow-Metab. 1993; 13: 346-9
103. Onoue-H; Nakamura-N; Toda-N:
Endothelium-dependent and -independent responses to vasodilators of
isolated dog cerebral arteries.
Stroke. 1988 Nov; 19(11): 1388-94

-
104. Osol-G; Halpern-W:
Spontaneous vasomotion in pressurized cerebral arteries from genetically hypertensive rats.
Am-J-Physiol. 1988; 254: H28-33
105. Palmer-RJM; Ashton-D; Moncada-S:
Vascular endothelium cells synthesize nitric oxide from L-arginine.
Nature. 1988; 333: 664-666
106. Palmer-RMJ; Ferrige-AG; Moncada-S:
Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived-relaxing factor.
Nature. 1987; 327: 524-526
107. Pearce-WJ; Hull-AD; Long-DM; White-CR:
Effects of maturation on cyclic GMP-dependent vasodilation in ovine basilar and carotid arteries.
Pediatr-Res. 1994 Jul; 36(1 Pt 1): 25-33
108. Petersson-J; Ryman-T; Hoegstaett-ED:
Enhancement of depolarization-induced contractions after endothelium denudation is not related to an impaired production of nitric oxide or prostacyclin in the rabbit basilar artery.
Acta-Physiol-Scand. 1993; 149: 467-74
109. Petersson-J; Zygmunt-PM; Brandt-L; Hogestatt-ED:
Substance P-induced relaxation and hyperpolarization in human cerebral arteries.
Br-J-Pharmacol. 1995 Jul; 115(6): 889-94

-
110. Pickard-JD:
Role of prostaglandins and arachidonic acid derivatives in the coupling of cerebral blood flow to cerebral metabolism.
J-Cereb-Blood-Flow-Metab. 1981; 1: 361-384
111. Poeck-K:
Neurologie.
Springer Verlag; Berlin-Heidelberg-New York, 10. Auflage, 1998, S. 189-192; 420-421
112. Quayle-JM; McCarron-JG; Asbury-JR; Nelson-MT:
Single calcium channels in resistance-sized cerebral arteries from rats.
Am-J-Physiol. 1993 Feb; 264(2 Pt 2): H470-H478
113. Rabinovich-IM:
Acute Nitroglycerine poisoning.
Can-Med-Ass-J. 1944; 50: 199
114. Rand-MJ:
Nitrogenic transmission: nitric oxide as a mediator of non-adrenergic, non-cholinergic neuro-effector transmission.
Clin-Exp-Pharmacol-Physiol. 1992 Mar; 19(3): 147-69
115. Rapoport-RM; Murdad-F:
Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP.
Circ-Res. 1983; 52: 352-357
116. Rembold-CM:
Regulation of contraction and relaxation in arterial smooth muscle.
Hypertension. 1992; 20: 129-37

-
117. Rose-GA; Hons-BS; Moulds-RFW:
Pharmacological Comparison of Isolated Human Cerebral and Digital Arteries.
Stroke. 1979; 10: 736-41
118. Schmidt-HHHW:
NO, endogener Botenstoff und Zellgift.
Med-Monatsschr-Pharm. 1994; 6: 168-185
119. Schroeder-H:
Cytochrome P-450 mediates bioactivation of organic nitrates.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1992; 262: 298-302
120. Schroeder-H; Noack-E:
[Thiol-dependent activation of guanylate cyclase by organic nitrates].
Z-Kardiol. 1986; 75 Suppl 3: 20-4
121. Schroer-K; Verheggen-R:
Use of human post-mortem cerebral blood vessels to study vasospasm.
Trends-Pharmacol-Sci. 1988; 9: 71-4
122. Schwartz-AM:
The cause, relief and prevention of headaches arising from contact with dynamite.
N-Engl-J-Med. 1946; 235: 541
123. Shekhar-YC; Anand-IS; Sarma-R; Ferrari-R; Wahi-PL; Poole-Wilson-PA:
Effects of prolonged infusion of human alpha calcitonin gene-related peptide on haemodynamics, renal blood flow and hormone levels in congestive heart failure.
Am-J-Cardiol. 1991; 67: 732-6

-
124. Sipkema-P; van-der-Linden-PJ; Fanton-J; Latham-RD:
Responses to mechanical stimuli of isolated basilar and femoral arteries of the Rhesus monkey are different.
Heart-Vessels. 1996; 11(1): 18-26
125. Song-Y; Simard-JM:
 β -Adrenoreceptor stimulation activates large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} -channels in smooth muscle cells from basilar artery of guinea pig.
Pflügers-Arch. 1995; 430: 984-93
126. Stubbs-CM; Waldron-GJ; Connor-HE; Feniuk-W:
Characterization of the receptor mediating relaxation to substance P in the canine middle cerebral artery: no evidence for involvement of substance P in neurogenically mediated relaxation.
Br-J-Pharmacol. 1992; 105: 875-880
127. Toda-N:
Mechanism underlying responses to histamine of isolated monkey and human cerebral arteries.
Am-J-Physiol. 1990 Feb; 258(2 Pt 2): H311-7
128. Toda-N:
The action of vasodilating drugs on isolated basilar, coronary and mesenteric arteries of the dog.
J-Pharmacol-Exp-Ther. 1974; 191(1): 139-46
129. Toda-N; Kawakami-M; Yamazaki-M; Okamura-T:
Comparison of endothelium-dependent responses of monkey cerebral and temporal arteries.
Br-J-Pharmacol. 1991; 102: 805-10

-
130. Toda-N; Miyazaki-M:
Heterogenous responses to vasodilators of dog proximal and distal middle cerebral arteries.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1984; 6: 1230-7
131. Toda-N; Okamura-T:
Nitroxidergic nerve: regulation of vascular tone and blood flow in the brain.
J-Hypertens. 1996 Apr; 14(4): 423-34
132. Toda-N; Onoue-H:
Prostaglandin F2 alpha-induced contraction in isolated dog cerebral, coronary and mesenteric arteries soaked in excess potassium.
Jpn-J-Pharmacol. 1988 Jun; 47(2): 204-7
133. Toda-N; Shimizu-I; Okamura-T; Miyazaki-M:
Age dependent change in the response of isolated beagle cerebral arteries to vasoactive agents.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1986; 8: 681-8
134. Tsuji-T; Cook-DA:
Biphasic response to substance P in canine basilar arteries.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1992; 20 Suppl 12: S109-13
135. Uski-TK:
Further characterization of the contraction-mediating prostanoid receptors in feline cerebral arteries. Effects of the thromboxane-receptor antagonist AH 23848.
Acta-Physiol-Scand. 1988 Aug; 133(4): 519-24
136. Uski-TK; Andersson-KE:
Effects of prostanoids on isolated cerebral arteries. II. Roles of extra- and intracellular calcium for the prostaglandin F2a-induced contraction.
Acta-Physiol-Scand. 1984; 120: 197-205

-
137. Uski-TK; Andersson-KE; Brandt-L; Ljunggren-B:
Characterization of the prostanoid receptors and the contractile effects of prostaglandin F_{2α} in human pial arteries.
Acta-Physiol-Scand. 1984; 121: 369-78
138. Wang-JY; Lee-TJ:
Beta-receptor-mediated vasodilation in cerebral arteries of the pig.
Acta-Physiol-Scand-Suppl. 1986; 552: 41-4
139. Wei-EP; Moskowitz-MA; Boccalini-P; Kontos-HA:
Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles.
Circ-Res. 1992 Jun; 70(6): 1313-9
140. Whalley-ET; Amure-YO; Lye-RH:
Analysis of the mechanism of action of bradykinin on human basilar artery in vitro.
Naunyn-Schmiedeberg's-Arch-Pharmacol. 1987; 335:433-7
141. White-RP:
Comparison of the inhibitory effects of antithrombin III, α₂-macroglobulin and thrombin in human basilar arteries: relevance to cerebral vasospasm.
J-Cereb-Blood-Flow-Metab. 1987; 7: 68-73
142. White-RP; Hagen-AA:
Cerebrovascular actions of prostaglandins.
Pharmacol-Ther. 1982; 18: 313-331
143. White-RP; Robertson-JT:
Pharmacodynamic evaluation of human cerebral arteries in the genesis of vasospasm.
Neurosurgery. 1987; 21: 523-31

-
144. Winqvist-RJ; Webb-RC; Bohr-DF:
Relaxation to transmural nerve stimulation and exogenously added norepinephrine in porcine cerebral vessels.
Circ-Res. 1982 Dec; 51(6): 769-75
145. Yokota-M; Tani-E; Fukumori-T; Maeda-Y; Yamaura-I:
Effects of subarachnid hemorrhage and a thromboxane A2 synthetase inhibitor on intracranial prostaglandins.
Surg-Neurol. 1991 May; 35 (5): 345-349
146. Zanette-EM; Agnoli-A; Cerbo-R; Chiarotti-F; Roberti-C; Buzzi-MG; Fieschi-C:
Transcranial Doppler (TCD) after nitroglycerin in migraine without aura.
Headache. 1991 Oct; 31(9): 596-8

Lebenslauf:

01.08.1967 Geboren in Krefeld

Familienstand verheiratet

Schulbildung:

1974 – 1978 Grundschule Bismarckstraße, Krefeld

1978 – 1987 Gymnasium am Molkteplatz

Schulabschluß Allgemeine Hochschulreife

Wehrdienst

1987 – 1988 Grundwehrdienst in Dülmen, Westfalen

Berufsausbildung:

1988 – 1990 Ausbildung zum Bankkaufmann an der Deutschen Bank Krefeld

Abschluß: Bankkaufmann

Studium: Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Praktisches Jahr: Klinikum Krefeld

Wahlfach: Pädiatrie

1995 Promotionsarbeit am Pharmakologischen Institut der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf bei Herrn Prof. Dr. E. Noack
Thema: Die Wirkung organischer Nitrate auf den Tonus isolierter Zerebralgefäße

Berufstätigkeit:

Assistenzarzt
Medizinische Klinik I des Klinikums Krefeld

Titel: Die Wirkung organischer Nitrate auf den Tonus von Zerebralgefäßen des Hausschweins

vorgelegt von: Achim Fette

In der vorliegenden Arbeit wurde die vasodilatierende Wirkung von Glyceroltrinitrat (GTN) und den spontanen NO-Donoren S-Nitroso-N-acetyl-D, L-penicillamin (SNAP) und Natrium (Z)-1-(N,N-Diethylamino)diazen-1-ium-1,2-diolat (DEA/NO) an zwei verschiedenen Zerebralgefäßen (A. basilaris und A. cerebri anterior) des Hausschweins untersucht. Es wurde geprüft, welchen Einfluss die simultane Gabe von L-Cystein und Etacrynsäure auf die Dilatation haben. Die wichtigste Nebenwirkung bei der antianginösen Therapie mit organischen Nitraten ist der Kopfschmerz, der früheren Auffassungen zufolge auf einer Vasodilatation intrakranieller Gefäße beruhen soll.

Die Vasomotion der Gefäße wurde quantitativ mit einer Ultraschallmessvorrichtung erfasst. Zwei Ultraschallkristalle wurden mit niedrigem Druck der Adventitia des zu untersuchenden Gefäßes angelagert und die Konstriktion bzw. Dilatation als Funktion der Zeit, die das Ultraschallsignal braucht bis es das Sendekristall wieder erreicht hat, bestimmt. Die Arterien wurde mit physiologischem Puffer (37 °C, pH 7,4) mit konstanter Flussgeschwindigkeit (10 ml/min) und Druck (60 mmHg) perfundiert.

Den eigentlichen Versuchen ging eine Äquilibrationsphase voraus, in der die Zerebralgefäße einen eigenen Tonus (myogenic tone) entwickelten.

Beide Zerebralarterien zeigten auf die Gabe therapeutischer Dosen GTN nur eine geringere Dilatation, als dies in anderen Gefäßregionen beobachtet werden kann. Die simultane Gabe von freien Thiolen (L-Cystein) steigerte lediglich an der A. basilaris nicht jedoch an der A. cerebri anterior signifikant die Relaxation, so dass ein Mangel an SH-Gruppen nicht die Ursache des schlechten Ansprechens auf GTN sein kann. Vielmehr scheinen unter in-vitro Bedingungen wichtige neurohumorale Einflüsse auf die Bioaktivierung organischer Nitrate zu fehlen. Die keiner Bioaktivierung bedürftigen, direkten NO-Donoren SNAP und DEA/NO relaxieren beide Arterien vollständig.

Die Befunde widersprechen der älteren Hypothese, dass der Nitratkopfschmerz allein durch eine Vasodilatation ausgelöst wird. GTN aktiviert über Stickstoffmonoxid das trigeminovaskuläre System. Es kommt zur Aktivierung schmerzsensibler Fasern und Freisetzung vasoaktiver Neuropeptide wie Substance P und calcitonin-gene-related peptide, die so einer perivaskulären, sterilen Entzündung führen. Die Vasorelaxation, die durch diese Substanzen und NO ausgelöst wird, ist somit eher Folge oder Begleitreaktion der neurohumoralen Reaktion und konnte bei in-vitro Versuchen nicht in vollem Umfang mit erfasst werden.