

Studienabstract

Medizin Heel Deutschland

E-Mail MedizinDE@heel.de

Stand: 11.09.2018

Aktivierung der zyklischen Nukleotidsignalwege und Stimulation der Vasorelaxation durch Vertigoheel®

Heinle H, Tober C, Zhang D, Jäggi R, Kuebler WM. The low-dose combination preparation Vertigoheel activates cyclic nucleotide pathways and stimulates vasorelaxation. Clinical Hemorheology and Microcirculation 2010; 46:23-35

Studiendesign

- In-vitro-Studie

Zielsetzung

- In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung der in Vertigoheel® enthaltenen wirksamen Bestandteile (Anamirta cocculus, Conium maculatum, Ambra grisea und Petroleum rectificatum) auf die Aktivität der Adenylatcyclase (AC) und der Phosphodiesterase 5 (PDE 5) in Zellkulturen.
- Myographische Untersuchungen an isolierten arteriellen Gefäßen von Ratten (Arteria carotis) zur Klärung des Wirkungsmechanismus von Vertigoheel®.

Methodik

- Testsubstanzen:
 - Urtinkturen von Conium maculatum, Anamirta cocculus, Ambra grisea und Petroleum rectificatum in verschiedenen Verdünnungen
 - Vertigoheel® -Lösung zur Injektion
 - Rekonstituiertes Vertigoheel®
- Auswertung
 - Adenylate cyclase (AC) activity assay
Die Bestimmung der AC-Aktivität in Zellmembranen aus CHO-Zellen (chinese hamster ovary cells) erfolgte nach Jakobs et al., 1976: Inkubation von Membranen mit einem ungefähren Proteingehalt von 70 µg für 20 Minuten bei 30 °C mit 500 000 cpm [α -³²P] ATP in 100 µL Inkubationspuffer und der Testsubstanz in der angegebenen Konzentration. Nach Abstoppen der Reaktion wurden die Proben zentrifugiert und die Überstände gereinigt. Als Maß der AC-Aktivität wurde die Radioaktivität der gesammelten Eluate im β -Counter bestimmt.

- Phosphodiesterase 5 (PDE 5) activity assay
Zur Bestimmung der PDE-5-Aktivität wurden Proben von *Conium maculatum* in der Enzymlösung bei Raumtemperatur für 10 Minuten inkubiert. Die PDE-5-Endkonzentration betrug 64 µg Protein/ml. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Substrat (³H]cGMP) gestartet, als Kontrolle diente ein Ansatz ohne Zugabe von Enzym. Nach 30 Minuten bei 30 °C erfolgte der Nachweis von GMP durch einen Scintillation Proximity Assay (SPA).
- Myographische Untersuchungen an isolierten arteriolen Gefäßen von Ratten
Zur Bestimmung der vaskulären Reaktivität von isolierten arteriolen Gefäßen der Ratte wurde Vertigoheel® in Verdünnungen von 0,01, 0,02, 0,05 und 0,1 der Ursprungskonzentration eingesetzt. Durch die Zugabe von Phenylephrin (PHE) wurde zunächst eine stabile Gefäßverengung induziert. Anschließend erfolgte die Zugabe definierter Konzentrationen von Vertigoheel® (oder Procaterol) für 10-15 Minuten. Die durch Vertigoheel® induzierte Relaxation der Gefäßwand wurde als absolute Änderung der Spannung gemessen und als Prozentangabe zur PHE-induzierten Spannung dargestellt.

Ergebnisse

- Rekonstituiertes Vertigoheel® stimuliert dosisabhängig die In-vitro-Aktivität der Adenylatcyclase (AC), einem membrangebundenen Enzym, das nach entsprechender Aktivierung aus ATP das cAMP bildet.
- Untersuchungen der wirksamen Bestandteile Vertigoheels® zeigten, dass Anamirta cocculus dosisabhängig die In-vitro-Aktivität der Adenylatcyclase (AC) erhöht.
- *Conium maculatum* hemmt dosisabhängig die In-vitro-Aktivität des Enzyms Phosphodiesterase 5 (PDE 5), eines Enzyms, das Phosphodiesterbindungen spaltet und cGMP zu GMP abbaut.
- Vertigoheel®-Konzentrationen von 0,02 und höher bewirken in isolierten arteriellen Gefäßen (Arteria carotis) eine signifikante konzentrationsabhängige Relaxation der Gefäßwand.

Zusammenfassung

- Die vorliegenden In-vitro-Studien belegen die vasorelaxierenden Eigenschaften von Vertigoheel®.
- Die Abnahme der Gefäßspannung ist auf die durch Vertigoheel® induzierte Stimulation des Adenylatcyclase-/cAMP-Second-Messenger-Systems und Hemmung der PDE-5-Aktivität zurückzuführen, die in einer Erhöhung der cGMP-Konzentration resultieren.
- Die Second-Messenger-vermittelte Gefäßdilatation der glatten Muskelzellen durch Vertigoheel® führt zu einer verbesserten Durchblutung der kleinen Gefäße (Mikrozirkulation).