

2014-01-18

SimHeart

Physiologie und Pharmakologie der Herzmuskulatur im virtuellen Labor

Inhaltsübersicht:

1. Die virtuellen Labore	2
1.1 Eingangsbildschirm	2
1.2 Ansetzen der Wirksubstanzen („ Drugs “)	3
1.3. Experimente am Langendorff-Herz („ Experiments “)	4
1.4 Auswertung der Daten („ Analysis “)	6
2. Praktikumsversuche	8
2.1 Ansetzen der Verdünnungsreihen	8
2.2. Experimente (s. a. Protokollvordruck)	10
2.2.1 Herz-Kontraktionen unter Wirkung von Adrenalin und Acetylcholin	
2.2.2 Die Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Adrenalin	
2.2.3 Die Wirkung des β -Blockers Propanolol (kompetitive Hemmung)	
2.2.4 Die Wirkung des Ca^{++} -Kanal Blockers Verapamil	
2.2.5 Die Effekte des Herzglykosids g-Strophanthin	
3. Physiologische und pharmakologische Grundlagen	11
Lernziele, klinische Bezüge, Grundwissen, Fragen	11
3.1 Automatie des Herzens	12
3.2. Beeinflussung der Herzaktivität	12
3.3. Rolle des autonomen Nervensystems - Funktioneller Antagonismus	13
3.4. Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten: Kompetitive Hemmung	13
3.5. Calcium-Kanal Blocker	14
3.6. Herzglykoside	14

1. Die virtuellen Labore

SimHeart ist ein realitätsnahes Simulationsprogramm zur Untersuchung der Herzaktivität unter dem Einfluß der physiologisch wichtigsten Transmitter und verschiedener herzwirksamen Pharmaka. Das Programm bietet den Studenten der Medizin, Biologie, Zoologie und verwandter Fachgebiete die Möglichkeit, auch ohne Präparation eines Tieres (i.A. Ratte oder Meerschweinchen), einige der klassischen Versuche am isolierten, perfundierten Herz in der nach Langendorff benannten Anordnung durchzuführen und durch eigenes Experimentieren das theoretische Wissen zu diesem medizinisch sehr wichtigen Gebiet zu vertiefen.

Sie können im Hauptteil des Programms (Experiments) dem isolierten Herz über ein Perfusorsystem verschiedene herzwirksame Substanzen zuführen und die Veränderungen der Herzkontraktionen aufzeichnen. Sie können zwischendurch in die „Analyse“ wechseln, und aus diesen Aufzeichnungen bestimmte Ausschnitte selektieren. Diese können Sie dann als jpg File auf Ihrer Festplatte abspeichern und gegebenenfalls direkt in Ihr Versuchsprotokoll übernehmen.

In dieser Version werden die Substanzen in der zum Experimentieren passenden Verdünnung zur Verfügung gestellt. Darüber hinaus gibt es ein Chemie Labor („Drugs“), in dem versucht werden sollte, die entsprechenden Verdünnungen selbst aus handelsüblichen Ampullen herzustellen.

1.1. Eingangsbildschirm

Beim Starten des Programms kommen Sie auf den Eingangsbildschirm (s. Abb. 1). Dort können sie wählen, ob Sie zunächst in das Chemie Labor (**Drugs**) zum Ansetzen der Verdünnungsreihen gehen wollen oder gleich ins Labor zum Experimentieren mit dem isolierten Herzen (**Experiments**).

Bitte beachten Sie, dass in der aktuellen Version diese beiden Programmteile noch nicht miteinander verknüpft sind. Wenn Sie später von einem Programmteil in den anderen wechseln wollen, gehen Ihnen die Daten verloren. Sie erhalten einen Warmhinweis.

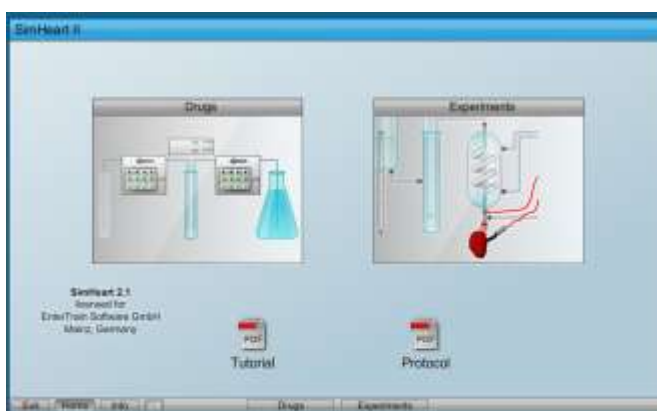


Abb. 1: SimHeart Startbildschirm (Home)

Sie können auch erst mal die PDF Files der Praktikumsanleitung (**Tutorials**) oder der Protokollvorgaben (**Protocol**) öffnen. Diese Files liegen auf Ihrer Festplatte in dem Unterordner „files“ des „Simheart“ Ordners – gegebenenfalls zusammen mit den DOC Versionen. In dem Ordner „videos“ finden Sie das Präparationsvideo in deutscher und englischer Sprache.

Der links unten eingeblendete Text kennzeichnet die **Lizensierung**. Hier wird entweder auf eine nicht-lizenzierte Demo Version verwiesen oder es ist das lizenzierte Institut eingetragen. In diesem Beispiel ist es der Name der Produktionsfirma. Dieser

Lizenzierungstext wird in jedem Programmteil, an unterschiedlicher Stelle, wieder erscheinen.

Ganz unten befindet sich die Leiste mit den **Kontrollschaltern**, die sie ebenfalls in allen Programmteilen wieder finden werden – in „Experiments“ mit einem zusätzlichen Schalter zu „Analysis“ (s. dort). Sie können die Programmteile „**Drugs**“ und „**Experiments**“ auch über diese Schalter in der Kontrollleiste aufrufen.

Links in der Leiste liegt der Schalter „**Exit**“, über den Sie das Programm SimHeart schließen. Daneben ist der „**Home**“ Schalter, über den Sie später wieder auf diese Startseite zurück kommen. Bei Klick auf den Schalter „**Info**“ erhalten einige weitere Hintergrundinformationen zum Programm und den Entwicklern.

Der Schalter rechts davon mit den beiden Rechtecken ist für die Einstellung der **Bildschirmdarstellung**. Das Programm wird in Vollbilddarstellung geöffnet, allerdings mit einer Auflösung, die im Hinblick auf möglichst flimmerfreie Darstellung der Aufzeichnungen in „Experiments“ optimiert ist. Daher wird, je nach Bildschirmauflösung, das SimHeart Fenster selbst auf einem mehr oder weniger großen blauen Hintergrund erscheinen. Durch Klick auf diesen Größenschalter kommt man in eine Vollbilddarstellung, in der das SimHeart Fenster bis zur vollen Bildschirmgröße weiter aufgezoogen wird. Über denselben Schalter kann man auch wieder zurück wechseln. Über die **Esc** Taste können Sie, wie üblich, den Vollbildmodus verlassen und in die klassische Windows-Darstellung wechseln.

1.2. Ansetzen der Wirksubstanzen („Drugs“)

Zu den wichtigsten Versuchsvorbereitungen gehört das Ansetzen der Verdünnungsreihen der für die Experimente benötigten Pharmaka (drugs). In dem Programmteil „Drugs“ können sie versuchen, die Verdünnungsreihen selbst herzustellen.

Dort finden Sie Reagenzglashalter mit Reagenzgläsern, die schon entsprechend der geforderten Verdünnung beschriftet sind – in Verdünnungsreihen von 10^{-2} bis 10^{-5} mol/l (s. Abb. 2). Bei den meisten Substanzen sind allerdings weniger Reagenzgläser im Halter – hier drei, z.T. sogar nur eines.

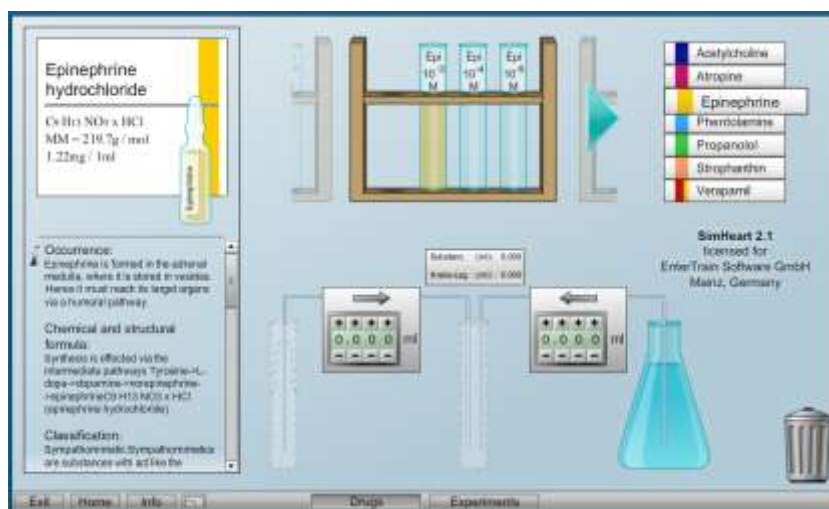


Abb. 2: Ansetzen der Verdünnungsreihen im Labor „Drugs“

Die gewünschte Substanz lässt sich aus der Liste recht daneben auswählen (hier Epinephrin = Adrenalin). Sie können auch mit Klick links oder rechts dem Reagenzglashalter (hier Pfeil nach rechts) durch die Substanzen scrollen. Entsprechend der rechts selektierten Verdünnungsreihe wird links die jeweilige Substanz in handelsüblicher Form in Ampullen zur Verfügung gestellt. Auf der Verpackung ist angegeben, in welcher Verbindung und in welcher Konzentration die Wirksubstanz in der Ampulle vorliegt und wie groß ihr Molekulargewicht ist. Dies sind die Informationen, die Sie brauchen um die notwendige Verdünnung zu berechnen. Einige weitere Informationen finden Sie in dem Text darunter.

Zum Ansetzen der gewünschten Konzentration verdünnen Sie die den Ampulleninhalt in Krebs-Lösung (physiologische Salzlösung). Dazu müssen Sie ein Reagenzglaschen aus dem Halter auf den zum Mischen vorgesehenen Platz darunter ziehen - zwischen die beiden Vorwahlschalter zum Einfüllen der gewünschten Menge. Rechts von den Vorwahlschaltern finden Sie den Vorratsbehälter der Krebslösung. Wenn Sie die Ampulle auf der Ampullenschachtel anklicken lässt sich diese in die „Halterung“ links der Vorwahlschalter ziehen.

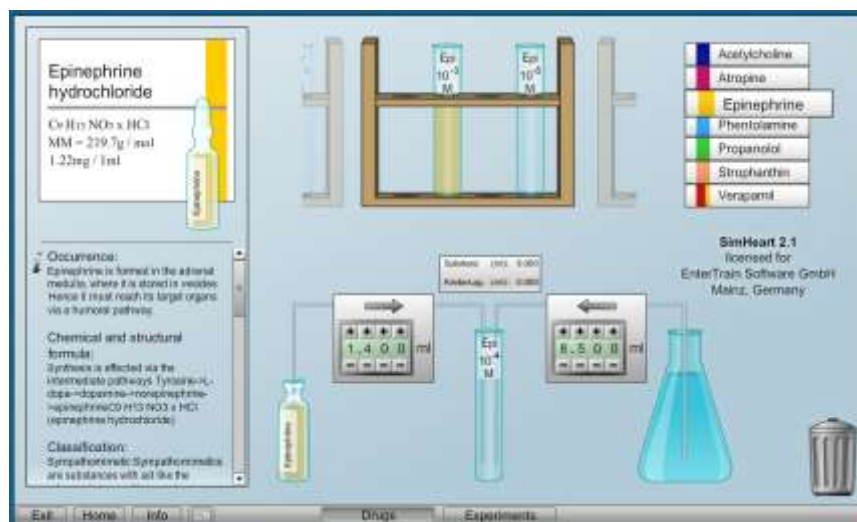


Abb. 3: Verdünnung des Ampullenlösung mit Krebs-Lösung im Labor „Drugs“

An den Vorwahlschaltern können Sie einstellen, in welcher Menge (ml) der Ampulleninhalt und die Krebslösung dem Reagenzglaschen zugeführt werden sollen um die geforderte Verdünnung, entsprechend der Aufschrift auf dem Reagenzglaschen, zu erhalten. Die Zufuhr erfolgt durch Klick auf die Pfeile oberhalb der Vorwahlschalter. Oberhalb des Reagenzglaschens wird angezeigt, welche Mengen Substanz und Krebslösung schon eingefüllt wurden.

Das mit der richtigen Verdünnung gefüllte Reagenzglaschen können Sie in den Reagenzglashalter zurück stellen. Stimmt die Verdünnung nicht, erhalten Sie eine Fehlermeldung. Werfen Sie dann dieses Reagenzglaschen in den Mülleimer (recht unten). Sie kriegen für einen weiteren Versuch ein neues Reagenzglaschen zur Verfügung gestellt.

Es bietet sich an, mit dem Reagenzglaschen höchster Konzentration zu beginnen. Dann können Sie für die weitere Verdünnung das schon gefüllte Reagenzglaschen aus dem Halter nehmen und auf den für die Ampulle vorgesehen Platz ziehen, das dann nur noch mal um das zehnfache, hundertfache etc. verdünnt werden muss.

1.3. Experimente am Langendorff-Herz („Experiments“)

Der Langendorff-Anordnung entsprechend (Abb. 4) hängt das isolierte Herz mit der Aorta an einem Perfusor-System, welches die Herzkranzgefäße retrograd (und damit geschlossenen Aortenklappen) kontinuierlich mit oxigenierter und temperierter Krebs-Lösung durchspült, welche aus den abgetrennten Gefäßen des venösem Systems wieder heraus tropft.

Über einen Wärmeaustauscher, von einem Thermostaten kontrolliert (das Gerät links auf der Ablage), wird die gewünschte Temperatur von 37°C eingestellt. Ein mittlerer Durchfluss von **10 ml/min**, gemessen am Flow Meter, wird über den hydrostatischen Druck des Vorratsgefäßes eingestellt (links im Bild). Die isovolumetrischen Druckänderungen im linken Ventrikel werden über einen durch die V. pulmonalis eingeführten Ballonkatheder mit mechonelektrischem Wandler gemessen und über einen STATHAM Amplifier mit fester Einstellung von **1mV/ 2mmHg** verstärkt und auf dem Schreiber aufgezeichnet.

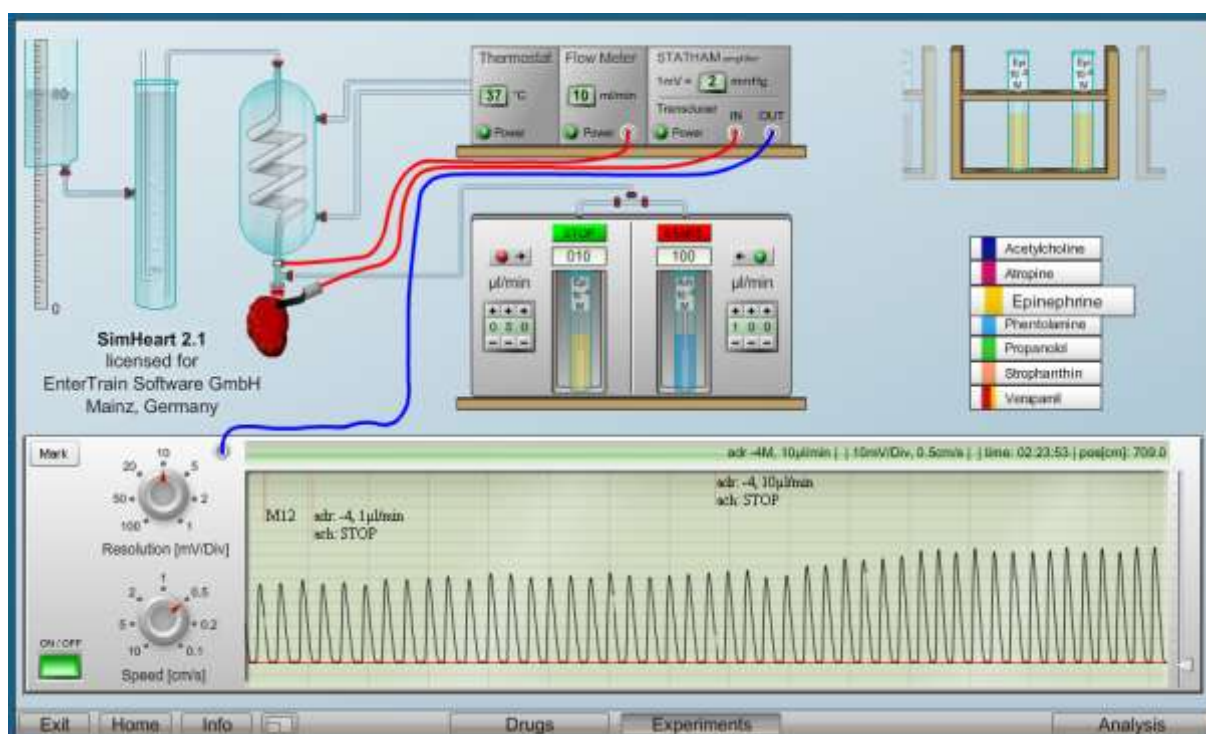


Abb. 4: Experimentieren in der Langendorff Anordnung im Labor „Experiments“

Zur **Zufuhr der Wirksubstanzen** zum Perfusat müssen Sie eines der Reagenzgläschen im Reagenzglashalter mit der Maus "greifen" und in eine der beiden **Injektionspumpen** oberhalb des Schreiber ziehen. Das Umschalten zwischen verschiedenen Reagenzglashaltern erfolgt auf dieselbe Weise wie im Programmteil „Drug“ zum Ansetzen der Verdünnungen: Sie klicken auf die Substanzliste oder scrollen durch die Halter. Sie haben zwei Injektionspumpen wodurch gleichzeitig zwei unterschiedliche Substanzen appliziert werden können. Zum Auswechseln eines Reagenzgläschens ziehen sie dieses einfach mit der Maus der Injektionspumpe heraus.

An den Vorwahlschalter stellen Sie die gewünschte **Zuflussmenge** ein. Der Wert wird erst durch Betätigen der Taste mit dem Pfeil übernommen. Damit wird verhindert, dass jede Veränderung am Vorwahlschalter sofort wirksam wird. Außerdem können Sie schon während eines laufenden Experiments die nächsten Werte einstellen und diese dann durch Aktivierung der Pfeil Taste übernehmen.

Die Substanzzufuhr ist natürlich nur dann wirksam wenn auch der anfänglich rote START Knopf betätigt ist. Dieser schaltet dann um auf Grün. Über denselben Schalter, der nun „STOP“ zeigt, können Sie die Substanzzufuhr wieder anhalten.

Bitte beachten Sie, dass die Menge der applizierten Lösung in µl/min eingestellt wird, während die Krebslösung mit 10 ml/min zugeführt wird.

Am **Schreiber** lässt sich über die Drehschalter „Resolution“ und „Speed“ die Auflösung bzw., die Überlaufgeschwindigkeit verändern. Die Werte beziehen sich die Unterteilungen (Div) des Schreiberpapiers. Der Schreiber kann über den Schalter **On/Off** vorübergehend angehalten und wieder gestartet werden, womit sich verhindern lässt, dass während eines mehrere Stunden dauernden Experiments sehr große Datenmengen und zu lange und unübersichtliche Schreiber Aufzeichnungen anfallen. Über den Schalter „Mark“ lassen sich auf dem Schreiberpapier Markierungen setzen, deren Position im Analyseteil (s. unten) wieder abgerufen werden kann. Über den Cursor am rechten Ende des Schreiber lässt sich die Nulllinie verschieben.

Jeder Eingriff ins Experiment, sei es eine Veränderung der Schreibereinstellung oder eine Veränderung in der Applikation der Substanzen, wird automatisch auf dem Schreiberpapier **protokolliert**. Außerdem erscheinen in der **Dokumentationsleiste** oben am Schreiber nicht nur die aktuellen Schreibereinstellungen und Substanzapplikationen sondern auch die seit Beginn des Experiments vergangene Zeit (time) und aktuelle Position der Aufzeichnung auf dem Schreiberpapier in cm (pos[cm]).

Bei der Berechnung der Konzentration der am Herz wirksamen Substanz ist zu beachten, dass auf dem Schreiberpapier nur die Potenz der Molarität der Substanz im Reagenzgläschen angegeben ist und deren Zufluss in $\mu\text{l}/\text{min}$. In diesem Beispiel (Abb. 4), wird $10\mu\text{l}/\text{min}$ einem Reagenzgläschen mit 10^{-3} molarer Adrenalin Konzentration entnommen und der mit $10\text{ml}/\text{min}$ fließenden Krebslösung zugeführt. Dies bedeutet eine zusätzliche Verdünnung um 3 Zehnerpotenzen: $(10\mu\text{l}/\text{min}/10\text{ml}/\text{min})$ womit eine am Herz wirksame Adrenalin Konzentration von $10^{-6}\text{mol}/\text{l}$ bliebe.

1.4 Auswertung der Daten („Analysis“)

Über den Analysis-Button gelangt man in den **Auswerteteil** des Physiologie-Labors von wo aus man über den Schalter „Experiments“ wieder zurück kommt. Man kann somit beliebig hin und her wechseln. Der Versuch wird durch das Wechseln in den Auswerteteil nicht unterbrochen. Ein Ausschnitt des Schreibers bleibt sichtbar, so dass man auch während der Auswertung die aktuellen Veränderungen der Herzkontraktionen weiter verfolgen kann.

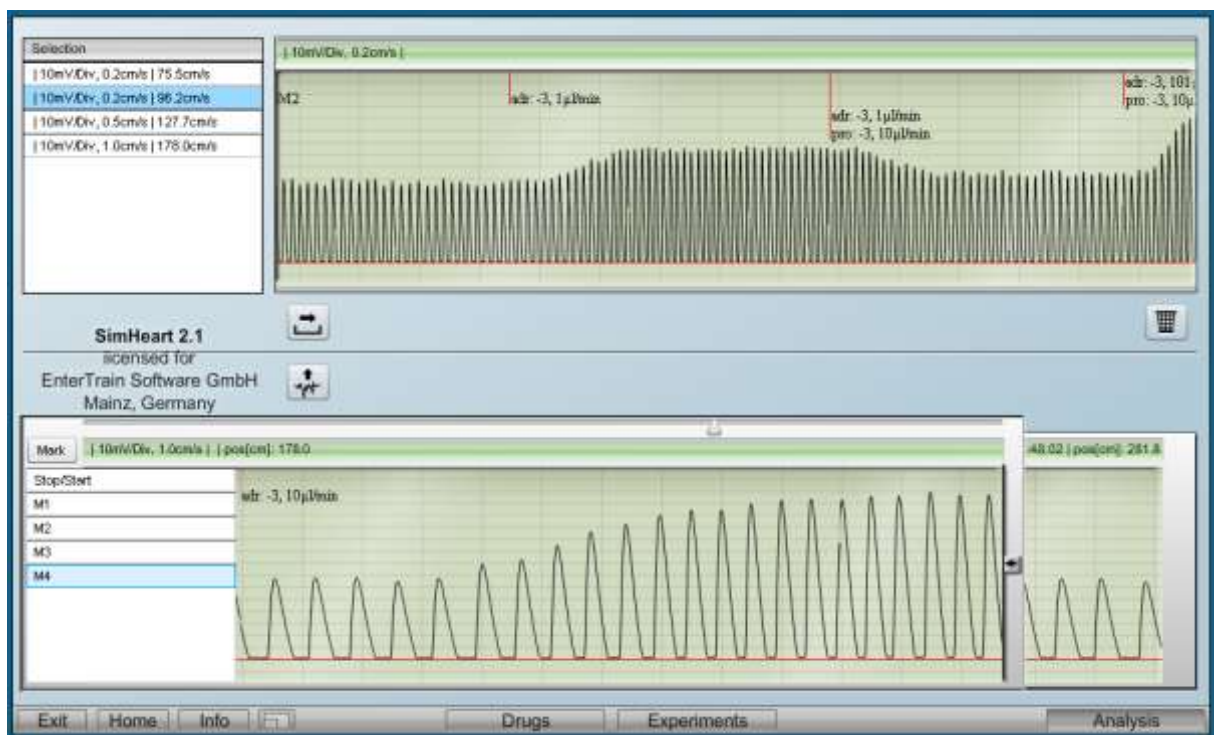


Abb. 5: Durchsicht und Abspeichern der Registrierungen im Programmteil „Analysis“

Im unteren Teil finden Sie das **Schreiberpapier** und rechts daneben den Ausschnitt aus der aktuell laufenden Registrierung. Sie gelangen beim Wechsel in „Analysis“ immer an das Ende des Schreiberpapiers. Mit dem oben angebrachten Cursor können Sie das Schreiberpapier durchblättern. Sie können es auch bei gedrückter Maustaste auf dem Papier verschieben.

Durch Klick auf den Schalter „**Mark**“ am linken oberen Rand gelangen Sie zu den in „Experiments“ gesetzten Markierungen oder zu den Punkten, an denen Sie den Schreiber gestoppt und wieder gestartet haben. In der Leiste oberhalb des Schreiberpapiers finden Sie alle notwendigen Informationen zu Schreibergeschwindigkeit und Auflösung sowie zur Substanzapplikation, nun bezogen auf den Anfang des gerade sichtbaren Ausschnitts. Damit haben Sie, zusammen mit den Markierungen auf dem Schreiberpapier, eine vollständige Dokumentation.

Sie können so ausgewählte Ausschnitte durch Klick auf den Button mit Pfeil nach oben in einem **Zwischenspeicher** (oben) ablegen. Falls Sie nicht den gesamten unteren Schreiberausschnitt übernehmen wollen, können Sie diesen über den am rechten Schreiberrand angebrachten Cursor eingrenzen.

Sie können die im Zwischenspeicher gesammelten Ausschnitte durchsehen und auch wieder löschen (Mülleimer Button). Über den Button mit dem Pfeil nach rechts könnten Sie ausgewählte Aufzeichnungen aus dem Zwischenspeicher als **Graphiken** (.jpg) auf Ihrer Festplatte ablegen, um Sie dann auch in Ihr Protokoll zu übernehmen.

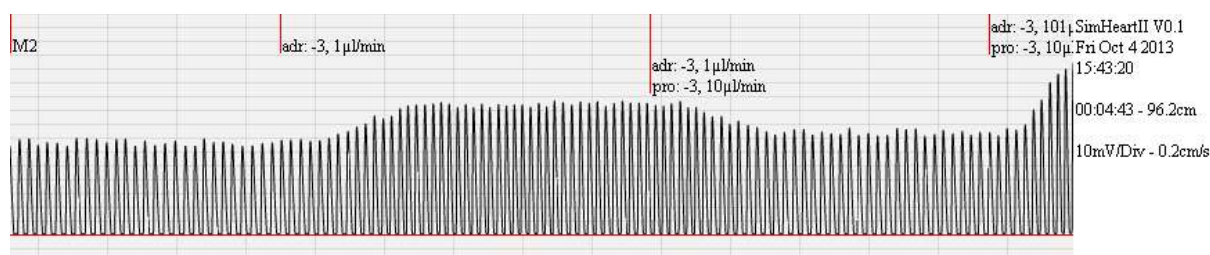


Abb. 6: Das Beispiel einer als Graphikdatei gespeicherten Schreiberausschnitts mit Dokumentation

2. Praktikumsversuche

2.1 Ansetzen der Verdünnungsreihen („Drugs“)

Zum Ansetzen der vorgegebenen Verdünnungsreihen im Labor „Drugs“ müssen Sie ausrechnen in welchem Mengenverhältnis die jeweilige Substanz in den Ampullen mit der Krebslösung gemischt werden muss. Sie finden alle hierzu notwendigen Angaben auf den Ampullenschachteln im Labor. Sie sind in nachfolgender Tabelle noch einmal aufgelistet, damit Sie diese Berechnung schon in Vorbereitung auf das Praktikum durchführen können.

Tragen Sie Ihre Berechnung in den vorgesehenen Abschnitt im **Protokoll** ein (am Beginn). Ob die Berechnung stimmt, wird zu Beginn des Praktikums überprüft – als Bestandteil der Eingangsklausur.

Informationen zu den Wirksubstanzen in den Ampullen:

Substanz	Strukturformel	Molekulargewicht (g/mol)	Massenkonzentration (mg/mL)	geforderte Verdünnung (mol/L)
Acetylcholin -chlorid	$C_7H_{16}NO_2.Cl$	181.7	10	10^{-2} to 10^{-5} M
Atropin -sulphat	$(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4$	676.8	0.5	10^{-4} and 10^{-5} M
Adrenalin -hydrochloride	$C_9H_{13}NO_3.HCl$	219.7	1.22	10^{-3} to 10^{-5} M
Phentolamin -methansulfonat	$C_{17}H_{19}N_3O.CH_3HSO_3$	377.5	10.0	10^{-3} M
Propranolol -hydrochlorid	$C_{16}H_{21}NO_2.HCl$	295.8	1.0	10^{-3} M
Verapamil -hydrochloride	$C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$	491.1	2.5	10^{-3} M
g-Strophantin (Ouabain)	$C_{29}H_{44}O_{12}$	584.7	2.5	10^{-5}

Berechnungshinweise zum Ansetzen von Verdünnungsreihen

Auf den Ampullenpackungen wie auch in obiger Tabelle finden Sie neben der Strukturformel der jeweiligen Wirksubstanz und der Angabe zur Konzentration des Ampulleninhalts auch die für Ihre Berechnung wichtigen Wert des Molekulargewichts. In der Tabelle ist ebenfalls angegeben, welche Verdünnungsreihen für Ihre Experimente anzusetzen sind, entsprechend der Aufschriften auf den im Labor vorhandenen Reagenzgläsern.

Auf den Ampullenschachteln ist die **Massenkonzentration** (mg/ml) angegeben. Wichtig für die Wirkung einer Substanz ist aber die Anzahl der vorhandenen Moleküle. Diese kann für unterschiedliche Substanzen bei gleicher Massekonzentration sehr unterschiedlich sein, abhängig von dem Gewicht der Moleküle. Dieses wird als **Molekulargewicht** (g/mol), angegeben, was dem Gewicht von etwa $6 \cdot 10^{23}$ Molekülen (Avogadro Konstante) entspricht.

Der entscheidende Wert für die Wirkung am Herzen ist die **Stoffmengenkonzentration**, also die Konzentration der Moleküle in der Perfusionslösung, Diese wird meist als **molare Konzentration** in mol/L angegeben, auch kurz als **Molarität** (M) bezeichnet.

Um also eine Lösung einer bestimmten Molarität anzusetzen, sollte man zunächst die Molarität der Ampullenlösung bestimmen. Dann braucht man nur noch berechnen, in welchem Verhältnis diese mit Krebslösung verdünnt werden muss, um die gewünschte Molarität zu erhalten, die am Reagenzgläschen angegeben ist.

Nachfolgend wird die Berechnung der Verdünnung exemplarisch für Acetylcholin durchgeführt. Zur Vorbereitung auf das Praktikum sollten Sie selbst die Berechnung für eine der anderen angegebenen Substanzen durchführen – deren Richtigkeit dann im Versuch überprüft werden kann (s. unten).

- 1) Man berechnet zunächst aus dem in der Substanzliste angegebenen Molekulargewicht (g/mol) und der darunter angegebenen Massenkonzentration (mg/mL) die Molarität der Substanz in der Ampulle (mol/L).

$$\frac{\text{Massenkonzentration (mg/mL = g/L)}}{\text{Molekulargewicht (g/mol)}} = \text{Ampullenmolarität (mol/l)}$$

für Acetylcholinchlorid: $\frac{10 \text{ g/L}}{181.7 \text{ g/mol}} = 5.5 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$

- 2) Nun braucht man nur noch das Verhältnis gewünschten Molarität zu dieser Ampullenmolarität zu bestimmen.

$$\frac{\text{Gewünscht Molarität (mol/L)}}{\text{AmpullenMolarität (mol/L)}} = \text{Verdünnungsverhältnis}$$

Bei einer 10^{-2} molaren Acetylcholinkonzentration wäre dies:

$$\frac{10^{-2} \text{ mol/L}}{5.5 \times 10^{-2} \text{ mol/L}} = 0.182 \quad \Rightarrow \quad \frac{0.182}{1 - 0.182} = \frac{0.182}{0.818}$$

Ein bestimmtes Volumen einer 10^{-2} molaren Acetylcholinchlorid-Lösung müsste daher 0.182 Teile der Ampullenlösung enthalten. Der restliche Anteil, $(1 - 0.182 = 0.818)$ wäre mit Krebslösung aufzufüllen. Für 5 mL Perfusionslösung bräuchte man also $5 \times 0.182 = 0.91 \text{ mL}$ Ampullenlösung in 4.91 mL Krebslösung verdünnen.

Wenn Sie eine Verdünnungsreihe über mehrere Zehnerpotenzen anzusetzen haben (wie für Acetylcholin), können Sie sich die Arbeit vereinfachen, indem Sie nach dem üblichen Verfahren zunächst die höchst-konzentrierte Lösung ansetzen und diese dann immer weiter im Verhältnis 1:9 verdünnen.

2.2. Experimente (s. a. Protokollvordruck)

2.2.1 Herz-Kontraktionen unter Wirkung von Adrenalin und Acetylcholin

Sie sollten sich zunächst mit den Experimenten im Langendorff-Labor, vor allem hinsichtlich Substanzapplikation und Schreiber-Einstellungen, vertraut machen. Dazu registrieren Sie die Veränderungen der Herzkraft und Herzfrequenz bei Zufuhr von Adrenalin und Acetylcholin in jeweils zwei unterschiedlichen Konzentrationen (nähere Angaben im Protokoll).

2.2.2 Die Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Adrenalin

Auf der Grundlage systematischer, quantitativer Messungen der Herzkraft (Maximaldruck) bei unterschiedlichen Adrenalin-Konzentrationen erstellen Sie nun die **Konzentrations-Wirkungs-Kurve**. In ihrer üblichen Form wird dazu die Zunahme der Herzkraft gegen die Zehner-Potenzen der Adrenalin Konzentration aufgetragen

2.2.3 Die Wirkung des β -Blockers Propanolol (kompetitive Hemmung)

Um die Merkmale kompetitiver Hemmung zu erfassen, applizieren Sie nun den β -Blocker Propanolol und wiederholen Ihre Messungen mit zunehmenden Adrenalinkonzentrationen. Wenn sie diese Kurve in dasselbe Diagramm eintragen wie die unter 2.2.2 gemessene Dosis Wirkungs-Kurve für Adrenalin können Sie die wesentlichen **Veränderungen der Konzentrations-Wirkungs-Kurve bei kompetitiver Hemmung** leicht erkennen.

2.2.4 Die Wirkung des Ca^{++} -Kanal Blockers Verapamil (nicht-kompetitive Hemmung)

Die Wirkung des Ca^{++} -Kanal Blockers Verapamil erfassen Sie zunächst unter Kontrollbedingungen und dann auch bei der maximalen Adrenalin-Konzentrationen aus den vorhergegangenen Versuchen. Schon daran sollten Sie, im Vergleich mit den in 2.2.3 gemessenen Propranolol Effekten, die wesentlichen **Unterschiede kompetitiver und nicht-kompetitiver Hemmung** erkennen

Versuchen Sie aus den Messungen der Verapamileffekte unter Kontrollbedingungen und bei maximaler Adrenalinkonzentration den möglichen Gesamtverlauf der Dosis-Wirkungs-Kurve für Adrenalin unter dem Einfluß von Verapamil aufzuzeichnen. Beschreiben Sie die wesentlichen Unterschiede zwischen kompetitiver und nicht kompetitiver Hemmung und versuchen Sie diese anhand der unterschiedlichen Angriffspunkte und Wirkungsweise der Substanzen zu erklären.

2.2.5 Die Effekte des Herzglykosids g-Strophanthin

Die **Steigerung der Herzkraft** durch das Herzglykosid g-Strophanthin sehen Sie am besten, am geschwächten Herzen, was Sie in diesem Versuch durch vorherige Applikation von Verapamil erreichen können. Bei normal schlagendem Herzen und insbesondere bei schon stärker erregtem Herz, wozu Sie Adrenalin applizieren können, ist der herzkraftsteigernde Effekt von g-Strophanthin weniger stark und es kann zu **Arrhythmien** kommen, eventuell bis zum Herzstillstand in der Systole.

3. Physiologische und pharmakologische Grundlagen

Lernziele: Durch eigenes Experimentieren in einem virtuellen Labor sollen Sie lernen, wie sich die Herzaktivität unter dem Einfluss der physiologisch wichtigsten Signalsubstanzen verändert und wie sie sich pharmakologisch beeinflussen lässt. Sie sollten in der Lage sein, die im virtuellen Versuch beobachteten Effekte auf der Grundlage zellulärer Prozesse zu erklären (Aktivierung bzw. Blockierung/Hemmung von Membran-Rezeptoren, Ionenkanälen, Ionenpumpen und Ionen-Austauschern).

Klinische Bezüge: Die Behandlung von Herzerkrankungen gehört zu den häufigsten Tätigkeiten im ärztlichen Alltag. Die Krankheitsbilder können sehr unterschiedlich sein und verschiedenste Ursachen haben. Um die Wirkungsweise von Herzmedikamenten zu verstehen, sollten Sie wissen, über welche physiologischen Prozesse die Herzaktivität gesteuert wird und wie diese durch die verschiedenen Pharmaka beeinflusst werden. Sie werden mit den physiologisch wichtigsten Transmittern arbeiten und Wirksubstanzen weit verbreiteter Herzmedikamente testen. Das virtuelle Labor ist eine Nachbildung des klassischen Versuchs mit dem sog. Langendorff-Herz. Diese Versuche am isolierten Herzen gehören nach wie vor zum Standardrepertoire bei der Entwicklung von Herzmedikamenten.

Erforderliches Grundwissen (in Stichworten): Automatie des Herzens und Steuerung über das vegetative Nervensystem. Autonome Erregungsbildung, Erregungsleitungssystem, Kontrolle von Herzfrequenz und Herzkraft (Ca-Effekte), Wirkung von Sympathikus und Parasympathikus, Adrenalin, Noradrenalin, Acetylcholin, α -, β -Adrenozeptoren, cholinerge Rezeptoren. Wirkung von Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten, Ca^{++} -Kanal Blocker, Herzglykoside, funktioneller Antagonismus, kompetitive und nicht-kompetitive Hemmung.

Fragen zur Vorbereitung:

1. Zeichnen Sie ein Aktionspotential des Kammermyokards und die damit einhergehenden Änderungen der zytosolische Ca^{2+} -Konzentration sowie den Kontraktionsverlauf (Zeitverlauf und Druck, mit ungefähren Zahlenwerten).
2. Wodurch kann die zytosolische Ca^{2+} -Konzentration im Myokard erhöht bzw. erniedrigt werden?
3. Wie wirkt das sympathische und parasympathische Nervensystem auf die Herztätigkeit?
4. Mittels welcher Transmitter wird die Herzaktivität kontrolliert?
5. Welche Membran-Rezeptoren, second-messenger und Ionenkanäle sind an der Steuerung der Herzaktivität beteiligt?
6. Über welche Mechanismen wirken die in diesem Versuch verwendeten Substanzen?
7. Gibt es in Bezug auf die Substanzwirkung relevante Unterschiede zwischen einem Herz *in vivo* und dem isolierten Herz *in vitro*?
8. Welchen Verlauf hat eine typische Konzentrations-Wirkungskurve und wie kommt dieser zustande?
9. Was ist mit dem Begriff „kompetitive Hemmung“ gemeint? Nennen Sie ein Beispiel.

3.1. *Automatie*

Im Sinus- und AV-Knoten des Herzens befinden sich spezielle Zellen, in denen das Membranpotential nicht konstant ist. Nach einer Repolarisation kommt es in diesen **Automatiezentren** zu einer spontanen diastolischen Depolarisation und zur Auslösung eines Aktionspotentials. Dieses wird über das **Erregungsleitungssystem** weitergeleitet und breitet sich, da die Myokardzellen nicht gegeneinander isoliert sind (**gap junctions, funktionelles Synzytium**), fächerförmig auch über die gesamte Arbeitsmuskulatur aus, was schließlich zu einer synchronisierten Kontraktion des gesamten Herzmuskels führt. In diesem Versuch sollen Sie untersuchen, wie sich die Kontraktionen unter dem Einfluß wichtiger herzwirksamer Substanzen verändern.

3.2. *Beeinflussung der Herzaktivität*

Das Herz muß sich wechselnden Anforderungen an den Kreislauf, beispielsweise bei körperlicher Belastung, durch Änderung der Pumpleistung anpassen. Dabei können fünf Qualitäten der Herzaktivität modifiziert werden: Die Stärke der Kontraktionskraft (**Inotropie**), die Geschwindigkeit der Erregungsbildung in den Automatiezentren (**Chronotropie**), die Erregungsleitung im Herzen (**Dromotropie**), die Erregbarkeit der Herzmuskulatur (**Bathmotropie**) und die Relaxationsgeschwindigkeit (**Lusitropie**). In diesen Versuchen werden Sie hauptsächlich die inotropen und chronotropen Wirkungen verschiedener Wirksubstanzen messen.

Unter physiologischen Bedingungen wird die Herzaktivität im Wesentlichen über das autonome Nervensystem gesteuert. Dabei wird die Aktivierung des Sympathikus i.a. mit einer sog. ergotropen Reaktionslage (Bereitschaftsreaktionen, verstärkte Herzaktivität) in Verbindung gebracht während bei sog. trophotroper Reaktionslage (Erholungsphase, geringere Anforderungen an die Herzaktivität) der Parasympathikus überwiegt.

3.3. *Rolle des autonomen Nervensystems - Funktioneller Antagonismus*

Das Herz ist gut mit sympathischen und parasympathischen (vagalen) Nerven versorgt. Die wichtigsten Neurotransmitter sind **Acetylcholin** (ACh) und **Noradrenalin** (NA). Hinzu kommt das indirekt über das Nierenmark freigesetzte **Adrenalin** (Adr). Diese Substanzen binden an Membranrezeptoren der Herzmuskelzellen und steuern dadurch Frequenz, Erregungsleitung, Kontraktionskraft und Erregbarkeit des Herzens.

Wie bei vielen glattmuskulären Organen existiert auch am Herzen ein funktioneller Antagonismus zwischen catecholaminerger und cholinерger Innervation, d.h. wo NA und Adr eine bestimmte Wirkung haben, ist oft auch ACh mit gerade entgegengesetzter Wirkung vertreten.

Die **ACh-Rezeptoren** sind vom **muscarinergen** Typ. Sie finden sich vornehmlich an den Erregungsbildungszentren im Vorhof. Sie sind daher im Wesentlichen an der Kontrolle der Herzfrequenz beteiligt. Eine Steigerung der parasympathischen Aktivität führt zur Erniedrigung der Herzfrequenz während eine Steigerung der Sympathikusaktivität die Herzfrequenz erhöht (negativ beziehungsweise positiv chronotrope Effekte).

Entsprechend der am häufigsten durchgeführten Langendorff-Experimente wird in diesem virtuellen Versuch das isolierte Herz einer Ratte simuliert. Hierbei ist zu beachten, dass bei der Ratte oder beim Meerschweinchen durch ACh auch zu einer moderaten Abschwächung der Herzkraft kommt, wohingegen beim Menschen keine direkte negative Inotropie über muskarinerge Stimulation am Ventrikelmuskulatur zu beobachten ist. Die positive Steuerung der Herzkraft erfolgt hauptsächlich über die Aktivierung **β_1 -adrenerger Rezeptoren**.

Im Herzen existieren also ganz spezifische Rezeptoren mit unterschiedlicher, funktionell wichtiger Verteilung. Auch die unterschiedliche Verteilung und Wirkung der α - und β -Rezeptoren am Herzen und der glatten Muskulatur der Blutgefäße hat

Konsequenzen, indem eine mehr oder weniger selektive Beeinflussung des Herzens und peripherer Gefäße ermöglicht.

Sie sollten sich verdeutlichen, dass die gleiche Signalsubstanz an unterschiedlichen Rezeptoren über unterschiedliche **second-messenger** Wege recht unterschiedliche Wirkung entfalten kann. Zum Beispiel wird durch den Sympathikus die Kontraktionskraft des Herzens über die Aktivierung von β_1 -adrenergen Rezeptoren gesteigert während die Kontraktionen glatter Eingeweidemusculatur über α_1 -adrenerge Rezeptoren gehemmt werden (vergleiche hierzu SimHeart und SimVessel).

Bei der Durchführung der Versuche sollten Sie sich des Weiteren bewusst sein, dass ein Herz *in vivo* einem andauernden Einfluss des autonomen Nervensystems unterliegt, während die Innervation über den Sympathikus und Parasympathikus bei *in vitro* Versuchen mit einem isolierten Herz selbstverständlich nicht vorhanden ist.

3.4. Rezeptor-Agonisten und -Antagonisten: Kompetitive Hemmung

Für rezeptorvermittelte Effekte gilt, dass außer den physiologisch wirksamen Substanzen meist auch noch andere Substanzen zu finden sind, die ebenfalls an den Rezeptoren binden und dadurch **kompetitiv** mit den funktionellen Transmittern um den Platz am Rezeptor konkurrieren. Zu welchem Prozentsatz die Rezeptoren von dem einem oder anderen Molekül besetzt sind, wird von der **Affinität** des Rezeptors zum jeweiligen Molekül bestimmt.

Wenn diese Moleküle dieselbe Wirkung haben wie die physiologische Signalsubstanz spricht man von **Agonisten**. Wenn die Moleküle einfach nur den Platz für den physiologischen Transmitter blockieren, aber keine weitere Wirkung entfalten, spricht man von **Antagonisten**.

Oft lassen sich Agonisten und Antagonisten finden, die hinsichtlich ihrer Affinität zu den verschiedenen Rezeptortypen viel spezifischer sind als der physiologische Transmitter. So haben die **nicotinergen** und **muscarinergen** Ach-Rezeptoren ihren Namen vom jeweiligen, rezeptor-spezifischen Agonisten Nikotin und Muscarin.

Interessanter sind meist aber die Antagonisten, weil sich damit die Wirkung des physiologischen Transmitters gezielt hemmen lässt. Für die nicotinergen Rezeptoren ist dies das **Curare**, auch als indianisches Pfeilgift bekannt. Curare Derivate sind im täglichen klinischen Einsatz als Muskelrelaxantien wegen ihrer kompetitiven Hemmung der der Acetylcholinwirkung an der motorischen Endplatte.

Eine die muscarinergen Rezeptoren der Herzzellen kompetitiv hemmende Substanz ist Atropin. Auch **Atropin**, das Gift der Tollkirsche, ist lange, schon seit dem klassischen Altertum, bekannt. Diesen Bekanntheitsgrad und die Bezeichnung „**Belladonna**“ verdankt es allerdings eher dem Pupillen erweiternden Effekt. Auch bei der Steuerung der Pupillenweite gibt es den Antagonismus Sympathikus-Parasympathikus, wobei die verengende Wirkung des Parasympathikus durch Atropin blockiert wird.

Den cholinergen Rezeptoren entsprechendes gilt für die **catecholaminergen** Rezeptoren. Das in diesem Versuch bereitgestellte **Phentolamin** bindet an adrenerge α -**Rezeptoren**, die beim Herzen praktisch keine Rolle spielen. Phentolamin wirkt an der glatten Muskulatur von Blutgefäßen und an der Eingeweidemusculatur, allerdings in entgegengesetzter Richtung, was sich beispielsweise in „SimVessel“ untersuchen lässt.

Dahingegen gehört **Propranolol** zu den therapeutisch sehr wichtigen Substanzen bei Herz-Kreislauf Erkrankungen mit direkter Wirkung auf die Herzkraft. Es blockiert die NA- und Adr-Wirkung durch Bindung an β -**Rezeptoren** und ist somit in der Lage, den Blutdruck zu senken sowie Tachykardien und die Gefahr von Arrhythmien zu vermindern. Mit Propranolol wurde erst 1965 der erste sog. „ **β -Blocker**“ in die Therapie eingeführt. Heutzutage gehören die β -Blocker zu den am meisten verschriebenen Herzmedikamenten.

3.5. Calcium-Kanal Blocker

Calcium spielt nicht nur als second-messenger zur Vermittlung der Adrenalin- und Acetylcholin-Effekte eine wichtige Rolle sondern ist vor allem für die elektromechanische Kopplung von entscheidender Bedeutung. Dabei wird bei den Herzmuskelzellen auch das aus intrazellulären Speichern freigesetzte Calcium durch den extrazellulären Einstrom von Calcium-Ionen gesteuert. D.h. die Höhe des Calciumeinstroms bestimmt letztlich die zytosolische Ca^{++} -Konzentration und damit die Kontraktionskraft des Herzmuskels.

Calcium-Kanal Blocker oder **Calcium-Antagonisten**, wie beispielsweise **Verapamil**, finden ebenfalls breiten therapeutischen Einsatz bei Herzkrankheiten. Entsprechend der β -Blocker verringern sie die Herzkraft (und damit den Blutdruck) und können auch eine erhöhte Herzfrequenz normalisieren. Die unterschiedliche Wirkungsweise von β -Blockern und Ca^{++} -Kanal Blockern kann allerdings, abhängig von der Ausgangssituation zu unterschiedlichen Effekten führen. Während β -Blocker die Wirkung sympathisch stimulierter NA und Adr Freisetzung verringert, entfalten Ca^{++} -Kanal Blocker ihre hemmende Wirkung unabhängig von der Sympathikus-Innervation und daher **nicht-kompetitiv** zu den physiologischen Transmittern NA und Adr.

Insbesondere ist zu berücksichtigen, dass Ca^{++} -Kanal Blocker nicht selektiv an den Herzmuskelzellen wirken. Es sind letztlich in allen Muskelzellen Ca^{++} -Ionen welche, wenn auch über teilweise unterschiedliche Mechanismen, die Kontraktionskraft steuern. Damit verringern Ca^{++} -Kanal Blocker nicht nur die Herzkraft. Sie haben vor allem auch vasodilatorische Effekt auf die glatte Muskulatur der Blutgefäße, einschließlich der Koronararterien. Dementsprechend werden sie häufig zur Blutdrucksenkung bei erhöhtem peripheren Widerstand eingesetzt.

3.6. Herzglykoside

Eine weitere wichtige Gruppe herzwirksamer Pharmaka bilden die **Herzglykoside** oder **Digitalisglykoside**, zu denen beispielsweise **Strophantin** gehört. Sie sind deswegen besonders wichtig, weil sie zu den wenigen Medikamenten gehören, mit denen sich, z.B. bei Herzinsuffizienz, die Herzkraft steigern lässt.

Herzglykoside wirken aber prinzipiell an jeder Membran, da sie primär die überall vorhandenen **Na^+ - K^+ -Pumpe** hemmen. Trotzdem gibt es eine therapeutische Dosis, mit der man die Herzkraft steigern kann, ohne alle anderen Zellen, insbesondere die Nervenzellen, in ihre Aktivität zu stören. Dies erklärt man sich mit der Existenz bestimmter Rezeptorproteine für Digitalisglykoside an der Herzmuskelzellmembran.

Allerdings ist bei der Behandlung mit Herzglykosiden Vorsicht angebracht. Ihre **therapeutische Breite** ist sehr gering. Vorteilhafte Wirkung entfalten die Herzglykoside nur bei entsprechender Herzschwäche. Andernfalls wirken sie sehr leicht toxisch mit Gefahr von Arrhythmien.

Dies ist angesichts ihrer Wirkungsweise verständlich. Die **herzkraftsteigernde Wirkung** erklärt man sich durch eine Strophantin induzierte Hemmung der Na^+ - K^+ -Pumpe, welche den Na^+ -Gradienten vermindert, damit indirekt den Na^+ - Ca^{++} -Austausch verringert, womit letztlich mehr Ca^{++} in der Herzmuskelzelle verbleibt.

Die Gefährlichkeit dieser Medikamente mit ihrer geringen **therapeutischen Breite** ergibt sich nun aber keineswegs aus der herzkraftsteigernden Akkumulation von Calcium sondern aus ihrem primären Effekt, der Hemmung der Na^+ - K^+ -Pumpe. Aufgrund des Austauschverhältnisses von 3 Na^+ - zu 2 K^+ -Ionen ist diese Ionenpumpe elektrogen, d.h. sie dient nicht nur der Aufrechterhaltung der Ionenkonzentrationen sondern leistet auch einen Beitrag zum Membranpotential. Bei Hemmung der Pumpe depolarisiert die Membran, woraus sich auch erklärt, dass es leicht zu unkontrollierten Erregungen und Herz-Arrhythmien kommen kann.