

1. EINLEITUNG

1.1 In vitro-Studien zur Relaxation glatter Muskulatur als Versuchsmodelle und physiologische Grundlagen

Versuche zum Kontraktionsverhalten und zur Relaxation glatter Muskulatur sind in nahezu allen medizinischen Fachbereichen von Bedeutung und reichen von der Testung von Muskelrelaxantien in der Anästhesie bis zur Erforschung neuer Medikamente in der Therapie von Koliken, Asthma, arterieller Hypertonie und dem Atemnotsyndrom des Neugeborenen (Infant respiratory distress syndrome, IRDS) in der Pädiatrie.

Die Fähigkeit der glatten Muskulatur zur spontanen Eigenaktivität ohne nervalen Einfluß war die Voraussetzung für die vorliegenden Versuche. Diese Eigenaktivität wird gewährleistet und aufrechterhalten durch autonome Schrittmacherzellen (hier: im Myometrium), die spontane Aktionspotentiale ausbilden, welche sich über gap junctions ausbreiten und über diese zu einem Synzytium verknüpft sind (Kilarski et al., 2001). Gap junctions sind interzelluläre Verbindungsstellen ohne Membranverschmelzung, sie schließen Nachbarzellen zu größeren Funktionseinheiten zusammen und ermöglichen den Austausch niedermolekularer Stoffe sowie die Übertragung elektrischer Signale in Herzmuskulatur und glatter Muskulatur. Im Myometrium liegen hochspezialisierte Schrittmacherzellen in der subendometrischen Junktionszone (Brosens et al., 1998). Die Myozyten der Junktionszone sind histologisch charakterisiert durch eine höhere zelluläre Dunkelheit und eine kleinere Cytoplasma-Kern-Relation. Vaginosonographische Studien haben gezeigt, dass myometrische Kontraktionen im nicht-schwangeren Uterus lediglich von dieser Junktionszone ausgehen (Brosens et al., 1998). Das Kontraktionsverhalten der glatten Muskulatur bezeichnet man als „phasisch“, da sich die einzelnen Kontraktionsvorgänge mit Relaxationsphasen abwechseln. Diese Phasen sind essentiell für einen komplikationslosen Geburtsablauf, in Tierversuchen kam es z.B. durch tonische Kontraktionsvorgänge ohne Relaxationsperioden zum fetalen Tod (Larcombe-McDouall et al., 1999).

Das Dehnungsverhalten der glatten Muskulatur weist im Vergleich zur Skelettmuskulatur ebenfalls Besonderheiten auf. Man bezeichnet es als „plastisch“ bzw. „viskoelastisch“, da das Gewebe im Anschluß an eine elastische Phase nachgibt und wieder relaxiert. Glatte Muskulatur kann daher sowohl im verkürzten als auch im gedehnten Zustand entspannt sein. Eine stärkere Dehnung löst reaktiv eine vermehrte Aktivität der Schrittmacherzellen und damit Spontankontraktionen aus.

Diese Eigenschaft war auch in den Versuchen zu beobachten und begründet die Vordehnung auf einen Wert von 2000×10^{-5} N in Anlehnung an Untersuchungen von Lechner et al. (1993). Die durch akute Dehnung ausgelöste erhöhte Kontraktilität glatter Muskulatur interpretieren einige Autoren mit dem Vorhandensein dehnungsaktivierter Kationenkanäle (Kasai et al., 1995) und mit einem verstärkten Calciumeinstrom (Zou et al., 1995). Die durch chronische Dehnung erhöhte Uteruskontraktilität in der Schwangerschaft ist mit einer verstärkten Expression von gap junctions (Wathes et al., 1982), Oxytocinrezeptoren (Ou et al., 1998), Connexin-43 (Ou et al., 2002) und Änderungen der Ionenkanalexpression von Na^+ -, K^+ -, und Ca^{2+} -Kanälen assoziiert.

Den Kontraktionsvorgang der glatten Muskulatur erklärt man sich wie bei der Skelettmuskulatur nach dem Gleitfilamentmodell. Der einzelne Schlag eines Myosinköpfchens läuft jedoch 100 bis 1000 mal langsamer ab, schnelle Bewegungen sind daher nicht möglich. Nach dieser Theorie kommt es durch den Zug der Aktinfilamente zwischen die Myosinfilamente zur Muskelverkürzung. Die Verknüpfung erfolgt über Querfortsätze, die von den Myosinköpfen gebildet werden, sich am Aktin anheften und eine Kippbewegung ausführen. Für die darauffolgende Lösung des Myosinkopfes vom Aktin wird pro Kopf ein Molekül ATP zu ADP und organischem Phosphor hydrolysiert, ATP hat beim Kontraktionsvorgang also eine sogenannte „Weichmacherfunktion“. Nach der Ablösung wird das Myosinköpfchen für die nächste Kippbewegung vorgespannt, um einen erneuten Ruderschlag ausführen zu können. Bei einer maximalen Muskelverkürzung werden ungefähr 50 dieser Ruderschläge durchgeführt. Eine bestehende Kontraktion dauert in der glatten Muskulatur länger an, da der Rückpumpvorgang der Calciumionen mehr Zeit benötigt im Vergleich zur Skelettmuskulatur.

Die elektromechanische Kopplung weist bei der glatten Muskulatur ebenfalls eine Besonderheit auf: im Vergleich zur Skelettmuskulatur findet man hier ein spärlich ausgebildetes sarkoplasmatisches Retikulum mit longitudinalen Anteilen (L-System) zur Calciumspeicherung, das transversale System (T-System) fehlt hingegen. Eine Ausnahme bildet das humane Myometriumphgewebe, in dem T-Typ- Ca^{2+} -Kanäle identifiziert wurden (Young et al., 1993). L-Typ- und T-Typ- Ca^{2+} -Kanäle agieren spannungsgesteuert, d.h. das Membranpotential der Myozyten bestimmt das Ausmaß des Ca^{2+} -Einstroms. T-Typ- Ca^{2+} -Kanäle werden mit Schrittmacheraktivität und Aktionspotentialübertragung assoziiert und öffnen bereits bei einem Membranpotential von -60 mV (mit einer Aktionspitze bei -30 mV), L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle öffnen hingegen erst bei -40 mV und entfalten eine Spitze bei $+10$ mV (Sanborn, 2000).

L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle werden moduliert durch eine Vielfalt von second-messenger-Systemen, z.B. Proteinkinase A, C und G (PKA, PKC und PKG), die durch Bindung von Agonisten an die Rezeptoren der Myozytenmembran gebildet werden (Keef et al., 2001).

So führt z.B. die Bindung von β -Agonisten an β -Rezeptoren über eine Stimulation der Adenylatcyclase zu erhöhten cAMP-Konzentrationen und zur Bildung von Proteinkinase A. PKA bewirkt wiederum eine Phosphorylierung von Ca^{2+} -Kanal-Untereinheiten und aktiviert damit diesen Kanaltyp. Im Gegensatz zur Herzmuskulatur wird Adenylatcyclase an der glatten Muskulatur mit Relaxation assoziiert. Durch einen kurzen Ca^{2+} -Anstieg in den Zellen werden hier womöglich Ca^{2+} -abhängige K^+ -Kanäle aktiviert, deren Öffnung letztendlich zur Relaxation führt (Keef et al., 2001). Proteinkinase G wird durch Aktivierung der Guanylcyclase, z.B. durch Stickstoffmonoxid (NO), gebildet. PKG inhibiert wiederum Ca^{2+} -Kanäle durch Phosphorylierung der α_1 -Untereinheit und stellt vor allem einen in der glatten Gefäßmuskulatur vertretenen Mechanismus zur Relaxation dar (Carvajal et al., 2000).

Die Zellmembran enthält zusätzlich aktionspotentialgesteuerte Calciumkanäle, die einen Einstrom extrazellulärer Calciumionen ermöglichen.

Beim Kontraktionsvorgang sind Regulatorproteine wie Calmodulin, Caldesmon und Calponin beteiligt. Calmodulin ist ein Ca^{2+} -bindendes ubiquitäres Protein, Caldesmon und Calponin sind dagegen Aktin-bindende Proteine, die reversibel die Myosin-ATPase inhibieren und auf diesem Weg zur Relaxation führen (Morgan et al., 2001). Word et al. stellten im schwangeren Myometrium erhöhte Konzentrationen an Caldesmon fest, die hier zur Aufrechterhaltung der uterinen Ruhe beitragen könnten (1993).

Durch zahlreiche in vitro-Studien wurden in der Vergangenheit bereits umfangreiche Erkenntnisse zum Kontraktions- und Relaxationsverhalten von Myometrium gewonnen. Im Vergleich zu der glatten Muskulatur anderer Organe ist das Wissen über die kontraktile Regulation im Myometrium lückenhaft und weist einige Besonderheiten auf. So wird z.B. die Relaxation der glatten Muskulatur des Uterus durch Stickstoffmonoxid (NO) im Gegensatz zu anderen Organen nicht über einen Anstieg von cGMP vermittelt (Tichenor et al., 2003).

Der Kontraktionsvorgang läuft in folgenden Schritten ab:

Zunächst kommt es zur Formation des Ca^{2+} -Calmodulin-Komplexes. Im nächsten Schritt wird die Myosin-Leichte-Ketten-Kinase (MLCK) durch Phosphorylierung der leichten Ketten von Myosin aktiviert, wodurch die Interaktion mit Aktin ermöglicht wird. ATP-Hydrolyse bewirkt die Ablösung der Myosinköpfe vom Aktin und bereitet die Filamente auf einen erneuten Gleitzyklus vor.

Kontraktionsauslösend wirkten in verschiedenen in vitro- und in vivo-Studien Oxytocin, Vasopressin, Prostaglandin $\text{F}_2\alpha$, Kalium- und Calciumionen, Noradrenalin, Thrombin und Blut (Elovitz et al., 2000), Polychlorierte Biphenyle (=PCB) (Bae et al., 1999), Östrogene und Cloprostenol (Langendijk et al., 2002), Omeprazol als H^+ - K^+ -ATPase Inhibitor (Yildirim et al., 2001), Bradykinin (Wassdal et al., 1998), Kokain (Hurd et al., 1998), Endothelin-1 (Word et al., 1992), Prostaglandin E_2 und Carbachol (Kim, 1998), Nikotin, Acetylcholin, Histamin und 5-Hydroxytryptamin (Bakheet et al., 1999), Tetraethylammonium (blockiert Ca^{2+} -abhängige K^+ -Kanäle) und Glibenclamid (blockiert ATP-abhängige K^+ -Kanäle) als Kalium-Kanal-Blocker (Kafali et al., 2002).

Der Gleitfilamentmechanismus kann durch unterschiedliche Faktoren unterbrochen werden und so letztendlich zur Muskelrelaxation führen. Zum einen kann der Ca^{2+} -Einstrom unterbrochen werden. Dies kann entweder durch Entzug von Ca^{2+} -Ionen aus dem Extrazellulärraum oder durch Blockade von Ca^{2+} -Kanälen erreicht werden.

Zum anderen kommt es mit Hilfe der Myosin-Leichte-Ketten-Phosphatase (MLCP) zur Dephosphorylierung und somit zur Inaktivierung der MLCK. Eine erhöhte MLCP-Aktivität führt dementsprechend zur Muskelrelaxation.

Zusätzlich wird der Ca^{2+} -Einstrom durch spannungsgesteuerte L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle von dem Membranpotential bestimmt, so dass dieser Kanaltyp im Laufe der Membranrepolarisation schließt und es im Gegenzug zur Aktivierung Ca^{2+} -abhängiger K^+ -Kanäle und damit zur Relaxation kommt.

Relaxierend wirkten in diversen in vitro- und in vivo-Studien z.B. Magnesium (Phillippe et al., 1998), Heparin und Hirudin (Litorowicz et al., 1998 und Elovitz et al., 2000), Tamoxifen (Kostrzewska et al., 1997), Clenbuterol (Langendijk et al., 2002), Melatonin (Ayar et al., 2001), PTH (Pitera et al., 1998), CGRP= calcitonin gene-related peptide (Anouar et al., 1998), Phospholipase-C-Inhibitoren (Wassdal et al., 1998), erniedrigte pH-Werte (Parratt et al., 1994), erhöhte pH-Werte (Taggart et al., 1997), Phosphodiesterase-4-hemmer,

β_2 Agonisten, β_3 Agonisten (Bardou et al., 2001), L-Cystein und Natriumhydrosulfat (Sidhu et al., 2001), Lindan (=Gammahexachlorcyclohexan, Criswell et al., 1999), Sevofluran als Kalium-Kanal-Öffner (Khan et al., 1998) und Hypoxie (Bugg et al., 2006).

Unserem Labor für perinatale Medizin steht seit 1998 eine spezielle Versuchsanordnung zur Verfügung, mit der das Ausmaß der isometrischen Kraftentwicklung von Muskelstreifen in vitro aufgezeichnet werden kann. Dabei werden durch Begasung und Beheizung der Organbäder physiologische Umgebungsbedingungen imitiert. Ausgewertet wird eine individuelle Kontraktionskurve des betreffenden Muskelstreifens, indem eine Grundlinie (Baseline) festgelegt wird und die Fläche unter der Kurve (Area under the curve, AUC) als Maß für die Kraftentwicklung errechnet wird.

Dieses Gerät eröffnete uns zahlreiche Möglichkeiten für in vitro-Untersuchungen zum Kontraktionsverhalten von Myometrium, und schnell rückten pharmakologische Testungen verschiedener Tokolytika in den Vordergrund des Interesses.

Im Vorfeld entstanden mit der genannten Methode in den vergangenen 7 Jahren in unserer Arbeitsgruppe Studien zur kontraktionshemmenden Wirkung verschiedener Substanzen an Myometrium in vitro, auf denen die Auswahl des Themas der vorliegenden Arbeit basiert. Sie werden daher im folgenden rekapituliert (gerundete Medianwerte).

C. Hamann aus unserer Arbeitsgruppe untersuchte 1999 den Relaxationseffekt von Fenoterol versus Glyceroltrinitrat an Myometriumpräparaten 20 schwangerer und 15 nicht-schwangerer Patientinnen. Es zeigte sich eine deutliche, dosisabhängige Hemmung der Kontraktilität unter GTN-Konzentrationen von $1,7 \times 10^{-8}$ bis $5,8 \times 10^{-4}$ mol/l in beiden Versuchsgruppen, wobei sogar eine völlige Aufhebung der Spontankontraktionen beobachtet werden konnte. In der Gruppe der schwangeren Probandinnen waren zur kompletten Hemmung der Kontraktilität höhere Konzentrationen an GTN nötig als in der nicht-schwangeren Gruppe ($5,8 \times 10^{-4}$ mol/l gegenüber $1,7 \times 10^{-4}$ mol/l). Fenoterol konnte in Konzentrationen von 3×10^{-8} bis 10^{-5} mol/l ebenfalls eine dosisabhängige Relaxation bewirken, diese war jedoch im Vergleich zu den Messungen mit GTN schwächer ausgeprägt und es konnte hier keine vollständige Aufhebung der Kontraktionen erreicht werden. Die Wirkung von Fenoterol war besser an Präparaten von nicht-schwangeren Patientinnen. Unterschiede in der Wirksamkeit von Fenoterol und GTN in Abhängigkeit vom Gestationsalter konnten nicht festgestellt werden. Nach wiederholten Applikationen von GTN über einen Zeitraum von einer Stunde trat keine signifikante Veränderung in der Relaxationswirkung auf.

E. Riesenkampff (ebenfalls aus unserer Arbeitsgruppe) untersuchte 2001 den Relaxationseffekt von Atosiban in Konzentrationen zwischen 100 und 50.000 ng/ml an Myometriumpräparaten von 20 schwangeren Patientinnen nach Verstärkung der Spontankontraktionen mit Oxytocin. Als Maß für die Kontraktilität diente ebenfalls die AUC. Atosiban zeigte dosisabhängige signifikante inhibitorische Wirkungen, wobei die Hemmung der oxytocinverstärkten Kontraktionen zwischen 54% und 83% lag. Dabei war der Relaxationseffekt in der ersten von zwei Messungen ausnahmslos stärker als bei der zweiten Messung. In Einzelfällen war die Hemmung bei Gewebe von Patientinnen aus frühen SSW stärker als bei Gewebe von Frauen nahe dem Geburtstermin.

D. von Dehn testete die Relaxationswirkung von Atosiban und Ritodrine am Myometrium schwangerer Patientinnen nach Stimulation mit Oxytocin. Ab einer Konzentration von 200 ng/ml kam es zu einer statistisch signifikanten, dosisabhängigen Hemmwirkung von Atosiban. Die Hemmung lag zwischen 42% bei einer Atosibankonzentration von 100 ng/ml und 68% bei einer Konzentration von 1000 ng/ml. Bei wiederholter Applikation von Atosiban wurde in der zweiten Messung eine geringe Wirksamkeitseinbuße verzeichnet, diese war jedoch statistisch nicht signifikant. Ritodrine zeigte eine deutlich schwächere Hemmwirkung als Atosiban, die stärkste Hemmung wurde mit 15% in einer Konzentration von 100 ng/ml erreicht (Bereich der therapeutischen Plasmakonzentration). Oxytocin und in Analogie hierzu auch Atosiban waren mit zunehmendem Gestationsalter verstärkt wirksam, es wurde ein Wirksamkeitsmaximum um die 39. SSW beobachtet. In späteren SSW fiel die Sensitivität des Myometriums für Oxytocin und Atosiban wieder ab, was sich sowohl in einer verminderten Kontraktionsverstärkung durch Oxytocin als auch in einer schwächeren Hemmwirkung von Atosiban widerspiegelte.

C. Zacharias untersuchte den kontraktionshemmenden Effekt von Atosiban, Nifedipin und Fenoterol auf Spontankontraktionen und auf oxytocinstimulierte Kontraktionen von schwangerem Myometrium. Hierbei zeigte sich, dass Atosiban mit einer medianen Restaktivität von ca. 30% unter den verwendeten Substanzen die beste Hemmwirkung auf die oxytocinstimulierten Kontraktionen hatte. Bei Spontankontraktionen war hingegen Nifedipin mit medianen Restaktivitäten zwischen 2% und 32% eindeutig den anderen Substanzen in der Wirksamkeit überlegen, durch Atosiban wurden hier mediane Restaktivitäten um die 70% verzeichnet. Fenoterol war in der Versuchsreihe das Medikament mit der schwächsten Relaxationspotenz, Unterschiede in der Wirkung auf spontane und oxytocinstimulierte Kontraktionen wurden nicht beobachtet. In Form einer Abnahme der Kontraktionskraft von etwa 65% stellte sich in den Versuchen eine „Ermüdung“ der Myometriumstreifen nach

Oxytocinstimulation dar. Die Reagibilität des Gewebes gegenüber Oxytocin war am ersten Versuchstag mit einer oxytocininduzierten Kontraktilitätssteigerung um den Faktor 3,3 höher als am zweiten Versuchstag (Faktor 1,8).

J. Machinek prüfte die Wirkung von Atosiban und Magnesium auf Spontankontraktionen und oxytocinstimulierte Kontraktionen von Myometrium schwangerer Probandinnen. Atosiban hemmte ab einer Konzentration von 250 ng/ml die oxytocinstimulierten Kontraktionen besser als Magnesium, wobei Magnesium eine signifikant stärkere Relaxationswirkung auf die Spontankontraktionen erwies. Eine Wirkungssteigerung durch Kombination beider Medikamente zeigte sich weder bei den Spontankontraktionen noch bei den durch Oxytocin verstärkten Kontraktionen. Die Sensitivität des Gewebes gegenüber Oxytocin war am ersten Versuchstag höher als am Zweiten.

Insgesamt zeigten Atosiban, Glyceroltrinitrat und Nifedipin in den Vorversuchen die stärkste Relaxationspotenz an Myometrium in vitro, wobei lediglich GTN und Fenoterol auch an Gewebe nicht-schwangerer Probandinnen untersucht wurden. Eine unterschiedliche Verteilung der Rezeptortypen an schwangerem und nicht-schwangerem Myometrium legt eine unterschiedliche Wirksamkeit der Pharmaka nahe.

Ein direkter Vergleich der wirksamsten Substanzen sollte durch die vorliegende Arbeit ermöglicht werden. Da bisher wenig Datenmaterial zu der Relaxationswirkung an nicht-schwangerem Myometrium aus unserer Arbeitsgruppe hervorging, wurde in den vorliegenden Versuchen ausschließlich Myometrium nicht-schwangerer Probandinnen verwendet.

Zur Berechnung der angewandten Organbadkonzentrationen wurden die therapeutischen Plasmakonzentrationsspiegel von Atosiban, Glyceroltrinitrat und Nifedipin in vivo herangezogen. Auf diese Weise ist ein Vergleich bezüglich Wirksamkeitsunterschieden der verschiedenen Substanzen untereinander im therapeutischen Bereich gegeben. Vom therapeutischen Plasmaspiegel ausgehend wurden jeweils höhere und niedrigere Medikamentenkonzentrationen getestet.

In Analogie zu den Vorversuchen an schwangerem Myometrium als in vitro-Modell zur Wehenentstehung- bzw. Tokolyse sollte diese Studie einen klinischen Bezug zur Pathophysiologie und Therapie der Dysmenorrhoe ermöglichen. Im Folgenden werden daher zur besseren Verständlichkeit die pathophysiologischen Grundlagen erläutert.

1.2 Dysmenorrhoe

Die primäre Dysmenorrhoe ist definiert als Menstruation mit kolikartigen Schmerzen im unteren Abdomen, die unabhängig sind von der Blutungsstärke und häufig auch mit Allgemeinbeschwerden und Rückenschmerzen einhergehen kann. Während für die primäre Dysmenorrhoe keine zugrundeliegende Erkrankung vorliegt, ist die sekundäre Dysmenorrhoe Ausdruck einer anderen bestehenden Erkrankung.

Avant beschrieb 1988 die Dysmenorrhoe als eine der weitverbreitetesten gynäkologischen Beschwerden junger Frauen, betroffen sind ca. die Hälfte aller menstruierenden Frauen, bei den meisten handelt es sich dabei um eine primäre Dysmenorrhoe. Trotz der Häufigkeit der Dysmenorrhoe (für Frauen besteht insgesamt ein life-time-risk von 90%) wird sie meist unterdiagnostiziert bzw. mangelhaft therapiert (Coco, 1999).

In den letzten Jahren wiesen Forscher einige Parallelen in der Pathogenese der Dysmenorrhoe zur Pathogenese der Wehen nach, welche neue therapeutische Ansätze aus dem Gebiet der Geburtshilfe bzw. der Tokolyse nach sich zogen.

1.2.1 Physiologie und Pathophysiologie in Analogie zur Wehenentstehung

In der Pathogenese der primären Dysmenorrhoe spielen verschiedene Faktoren zusammen, die letztendlich gemeinsam zu einer gesteigerten Uteruskontraktilität führen.

Hyperaktivität des Myometriums ist assoziiert mit primärer oder sekundärer Dysmenorrhoe (Akerlund, 1998). Bei betroffenen Frauen lassen sich objektivierend durch intrauterine Druckmessungen asynchrone pathologische Uteruskontraktionen und extrem hohe Basisdrücke feststellen (Lumsden et al., 1985). Lokale Blutflussmessungen am Uterus konnten eine Drosselung der Durchblutung nachweisen, die am stärksten in der intensiven Schmerzphase ausgeprägt war. Die durch Vasokonstriktion der kleinen Arterien entstehende Gewebsischämie dürfte wesentlich an der Schmerzentstehung beteiligt sein (Ludwig, 1996). Zusätzlich wurde bei Patientinnen mit primärer Dysmenorrhoe eine Überproduktion von Prostaglandinen, Leukotrienen und Vasopressin festgestellt (Dawood, 1990).

Brosens et al. teilen das humane nicht-schwangere Myometriumgewebe nach ihren Untersuchungen im Jahr 1998 in verschiedene Ebenen ein, die unterschiedlich auf Ovarsterioide reagieren. Sie unterscheiden eine subendometrische Zone bzw. Junktionszone

von einer äußeren myometrischen Zone. Die Myozyten der Junktionszone sind charakterisiert durch eine höhere zelluläre Dunkelheit und eine kleinere Cytoplasma-Kern-Relation.

In vivo können die beiden Zonen mit T2-gewichteter MRT abgegrenzt werden. Nicht nur strukturell, auch funktionell unterscheiden sich die beiden Ebenen: vaginosonographische Studien haben gezeigt, dass myometrische Kontraktionen im nicht-schwangeren Uterus lediglich von der Junktionszone ihren Ausgang nehmen und die Frequenz und Amplitude abhängig ist von der Phase des Menstruationszyklus. Hyperplasie von Myozyten der Junktionszone wird gehäuft bei Frauen mit menstrueller Dysfunktion beobachtet (Brosens et al., 1998).

Aufzeichnungen des intrauterinen Drucks bei nicht-schwangeren Frauen haben gezeigt, dass das Muster der Uteruskontraktionen zusätzlich mit der Zyklusphase variiert (Akerlund, 1998). Zu diesen Variationen kommt es größtenteils durch die Effekte der Ovarsterioide. Erhöhte Sekretion von Vasopressin und $\text{PGF2}\alpha$ könnte ein ätiologisch wichtiger Faktor für die Hyperaktivität sein, die mit der primären Dysmenorrhoe assoziiert wird. Die Vasopressinwirkung wird am Uterus vermittelt über den V1a -Rezeptor.

Die Menstruation findet während der östrogendominierenden Follikelphase des Zyklus statt. Um den Einfluß der Sexualhormone auf die Kontraktilität des Myometriums genauer zu untersuchen, gewannen Tchirikov et al. im Jahr 2000 Myometriumpuben von Frauen während der folliculären (Östrogeneinfluß) und der lutealen (Progesteroneinfluß) Phase des Zyklus und während der Schwangerschaft zum Geburtstermin. Die Frequenz der Spontankontraktionen war in vitro am höchsten in der folliculären Phase. Diese Beobachtung wird unterstützt von de Ziegler et al., die in der Follikelphase ebenfalls eine erhöhte Kontraktilität nachwiesen (2001). Auch in Tierversuchen mit Schweinen herrschte während der Brunftzeit eine allgemein erhöhte spontane Uterusaktivität (Langendijk et al., 2002), Östrogene erhöhten in vitro vorwiegend die Frequenz der Kontraktionen. Diese Ergebnisse sprechen für einen möglichen Östrogeneinfluß bei der Dysmenorrhoe.

Bei Frauen mit primärer Dysmenorrhoe wurde außerdem eine Dysbalance der unterschiedlichen Prostaglandin-Subtypen (viel $\text{PGF2}\alpha$, wenig PGI2) festgestellt, die letztendlich in einem erhöhtem Uterustonius und stärkeren, häufigeren Uteruskontraktionen resultierte (Coco, 1999). Als Ursache der fehlerhaften Prostaglandinbildung im Endometrium wird von einigen Forschern ein Missverhältnis von Östradiol zu Progesteron angenommen (Zahradnik et al., 1984). Der Prostaglandinspiegel im Blut variiert ebenfalls mit dem Zyklus und ist abhängig von den ovariellen Steroidhormonen (Jensen et al., 1987).

$\text{PGF2}\alpha$ führt zur Vasokonstriktion der Gefäße im Endometrium während der Menstruation und zu Kontraktionen der glatten Uterusmuskulatur und wird auch bei entzündlichen

Prozessen, nach Gewebstraumatisierung und bei Endometriose verstärkt gebildet (Lamb, 1981). PGE₂ führt zur Vasodilatation, PGI₂ relaxiert die glatte Muskulatur und führt zu Vasodilatation und Hemmung der Thrombozytenaggregation. Zusätzlich führen Prostaglandine zu einer verstärkten Sensibilisierung der Schmerzleitung.

Prostaglandine vermitteln ihre Wirkung indirekt über die Produktion spezifischer Zytokine. PGE wirkt z.B. nicht direkt proinflammatorisch, sondern stimuliert die Synthese von IL-10 und inhibiert die Synthese von IL-12 der Leukozyten (Kelly et al., 2001). Dies ist zum Beispiel auch im Hinblick auf alternative Therapieansätze zur Behandlung der Dysmenorrhoe von Interesse (siehe unter 4.6).

Es wurde gezeigt, dass auch eine verminderte endogene Synthese von NO Myometriumkontraktionen induzieren kann und die exogene Zufuhr zur Myometriumrelaxation führt und erfolgreich eingesetzt werden kann bei einigen gynäkologischen Beschwerden (Moya et al., 2000).

Hormonelle Faktoren und vasoaktive Substanzen beeinflussen die Innervation von den Uterusarterien (cholinerg, adrenerg, peptidisch) und regulieren die spontane Kontraktilität der glatten Muskulatur der Gefäßwände (Akerlund, 1994). Die kleineren Arterien scheinen eine große Rolle bei der Uterusdurchblutung zu spielen, da sie am stärksten innerviert sind. Zudem bewirken die potentesten Vasokonstriktoren in vitro (Vasopressin, Endothelin, Oxytocin, und Noradrenalin) einen stärkeren Effekt auf die kleinen Gefäße als auf mittlere und größere Gefäße. Zusätzlich können die Gefäße durch Veränderungen der myometrischen Aktivität komprimiert werden. Eine hormonelle Störung kann durch Veränderung des Gefäßkalibers genauso eine dysfunktionelle Blutung auslösen wie eine Aktivitätsänderung der glatten Uterusmuskulatur.

Wie bereits 1984 von Stromberg et al. postuliert, nimmt Vasopressin eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der primären Dysmenorrhoe ein, bei betroffenen Frauen ist die Plasmakonzentration mehrfach erhöht im Vergleich zu nicht Betroffenen (Akerlund, 2002). Der in vivo-Effekt des Peptids auf die Uterusaktivität ist bei nicht-schwangeren Frauen ca. 5x stärker als der von Oxytocin, zusätzlich verstärkt er sich vor der Menstruation.

Vasopressin (ADH=AVP=antidiuretisches Hormon) ist ein zyklisches Nonapeptid-Hormon, welches einige physiologische Effekte verursacht, z.B. die Antidiurese, Vasokonstriktion, zelluläre Proliferation, ACTH-Sekretion und Kontraktion glatter Muskulatur in Darm, Gallenblase und Uterus, und ist verantwortlich für die Homöostase der Blutosmolalität und des Blutvolumens. ADH entfaltet seine Wirkung über Stimulation der Adenylatcyclase und damit cAMP-Erhöhung und wird vermehrt gebildet bei Hyperosmolarität und Volumenmangel.

ADH und Oxytocin unterscheiden sich in ihrer Struktur in zwei Aminosäuren und werden im Hypothalamus gebildet und im Hypophysenhinterlappen gespeichert. Sie gelangen durch Neurosekretion ins Blut, d.h. auf Nervenreize hin.

Cys- Tyr- Phe- Glu- Asn- Cys- Pro- Arg- Gly- NH₂ Vasopressin

Cys- Tyr- Ile- Glu- Asn- Cys- Pro- Orn- Gly- NH₂ Oxytocin

Abbildung 1: Formeln von Oxytocin und Vasopressin

Oxytocin wird physiologischerweise gegen Ende der Schwangerschaft (Wehenbeginn) bei Zervixdehnung, Dehnung der Vagina und Saugreiz an den Mamillen sezerniert. Die Halbwertszeit beträgt nur 8-10 min, der steady state wird nach 20 min erreicht. Oxytocin bewirkt rhythmische Uteruskontraktionen bis hin zum Tetanus uteri und die Kontraktion myoepithelialer Zellen der Milchdrüse.

Die Uterussensitivität für Oxytocin wird durch Östrogene erhöht, durch Gestagene erniedrigt. Es existieren drei verschiedene Rezeptortypen für Vasopressin. V₁-Rezeptoren sind vor allem vaskulär lokalisiert und spielen eine Rolle in der Pathogenese der primären Dysmenorrhoe und Gefäßerkrankungen (arterielle Hypertonie, Morbus Raynaud, PAVK). V₂-Rezeptoren sind vorwiegend renal lokalisiert und sind von Bedeutung bei Erkrankungen wie SIADH, Lebercirrhose und nephrotischem Syndrom. V₃-Rezeptoren sind in der Hypophyse lokalisiert und können in der Genese und Therapie ACTH-sezernierender Tumoren angegangen werden (Paranjape et al., 2001).

Vermittelt über V₁-Rezeptoren im Uterus, kann Vasopressin myometrische Hyperaktivität und Vasokonstriktion verursachen - mit dem Resultat einer Uterusischämie und einem damit verbundenen Schmerz (Kostrzewska et al., 1998). Durch Vasopressininfusionen (1pmol/kg Körpergewicht/ min) bei 10 nicht-schwangeren Frauen vor und während der Menstruation konnte durch Messung des intrauterinen Drucks und der lokalen Durchblutung sein uterotischer Effekt in vivo bewiesen werden (Hauksson et al., 1988). Die Infusion verminderte in den Versuchen die lokale Durchblutung, stimulierte die Uterusaktivität und verursachte bei den Frauen einen leichten bis mittleren dysmenorrhoeähnlichen Schmerz. Diese Beobachtungen konnten vor allem in der frühen (Tag 28 bis 2) verglichen mit der späteren (Tag 3 bis 5) Menstruationsphase gemacht werden. Ein Oxytocinanalogen konnte diese Wirkungen komplett antagonisieren.

Unterschiede in der Wirkung von Vasopressin und Oxytocin untersuchten Bossmar et al. 1995 durch Studien mit 28 nicht-schwangeren Frauen in vivo und in vitro:

In vivo wurde durch Infusionen mit 10 pmol/kg KG Vasopressin bzw. Oxytocin und Messung des intrauterinen Drucks eine vierfach stärkere Wirksamkeit von Vasopressin im Vergleich zu Oxytocin festgestellt (als Maß für die Kontraktilität diente die Fläche unter der Kurve, AUC). Die Vasopressinwirkung war dabei vor allem prämenstruell verstärkt, zeigte jedoch keine Korrelation mit der V1a-Rezeptorkonzentration. Dagegen war die Oxytocinwirkung unabhängig vom Hormonstatus, korrelierte jedoch signifikant mit der Oxytocin-Rezeptorkonzentration. Vasopressin beeinflusst sowohl V1a- als auch Oxytocinrezeptoren im Uterus, während Oxytocin spezifisch ist für seinen Rezeptor.

Die hohe Potenz von Vasopressin vor allem im prämenstruellen nicht-schwangeren Myometrium spricht für die ätiologische Bedeutung dieses Peptids bei der uterinen Hyperaktivität der primären Dysmenorrhoe. Oxytocin scheint hierbei eine untergeordnete Rolle zu spielen.

In vitro wurde ebenfalls der Vasopressineffekt auf die Muskulatur kleiner und mittlerer Uterusarterien untersucht (Kostrzewska et al., 1998). Nach Inkubation mit Pufferlösung oder SR 49059 (synthetischer V1a-Rezeptorantagonist) wurde eine dosisabhängige kontraktile Wirkung von Vasopressin, vorwiegend auf kleine Arterien, bewiesen. Endothelin-1, Noradrenalin und PGF2 α -induzierte Kontraktionen waren weniger stark ausgeprägt und blieben unbeeinflusst von einer vorherigen Inkubation mit SR 49059. ADH scheint also eine wichtige Rolle zu spielen bei der Uterusdurchblutung unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen. SR 49059 ist ein potenter selektiver V1a-Rezeptorantagonist in der glatten Muskulatur von Uterusarterien. Zusätzlich ist die Dichte der V1a-Rezeptoren zyklischen Schwankungen unterworfen, sie erreicht ein Maximum zum Zeitpunkt der Menstruation (Akerlund, 2004).

Auf die Expression der Oxytocinrezeptoren scheinen Sexualhormone Einfluß zu nehmen (Richter et al., 2003). Bei Versuchen mit nicht-schwangerem Myometrium konnte nach Stimulation mit 17- β -Estradiol eine signifikant verstärkte Expression des Oxytocinrezeptors erreicht werden (Immunhistochemie: 40% positiv gefärbter Zellen, $p < 0.01$), erreichte jedoch nicht Konzentrationen, die mit dem 3. Trimenon vergleichbar waren.

Der therapeutische Effekt von Vasopressin-V1a-Antagonisten und Oxytocinantagonisten (in Abhängigkeit von der Rezeptordichte) bei Dysmenorrhoe ist ein Beweis für die Bedeutung von Oxytocin und Vasopressin in der Pathophysiologie (Akerlund et al., 1995 und Valentin et al., 2000).

Zur Erklärung des Wehenbeginns existieren ebenfalls verschiedene Theorien, die teilweise den Erklärungsansätzen zur Pathogenese der Dysmenorrhoe ähneln. Heute geht man von einer Kombination verschiedener Faktoren aus, die letztendlich zur verstärkten Uteruskontraktilität führen.

Die Kontraktilität von schwangerem Rattenmyometrium ist im Vergleich zu nicht-schwangerem Gewebe z.B. um das 2-3fache erhöht (Kim et al., 1998), wenn man mit K⁺, Oxytocin, PGE₂, PGF₂ α und Carbachol Kontraktionen induziert.

Zusätzlich ist schwangeres Myometrium durch eine erhöhte Exzitabilität charakterisiert, z.B. wird das Ruhepotential der Myozyten während des dritten Trimenons von -70mV auf -55mV geändert, so dass der Schwellenwert zur Auslösung eines Aktionspotentials schneller erreicht wird (Parkington et al., 2001).

Nach wie vor ist man sich einig über eine zentrale Bedeutung von Oxytocin und Vasopressin, wobei als Produktionsquellen neben dem supraoptischen und paraventriculären Kern im Gehirn der Fetus selbst oder das Endometrium und die Dezidua in Frage kommen (Akerlund, 2002). Da bisher kein Anstieg dieser Substanzen im Plasma der Mütter nachgewiesen werden konnte, geht man von einer lokalen Produktion aus. Eine optimale Kraftentwicklung bei den Wehen wird durch eine pulsatile Ausschüttung von Oxytocin erzielt (Dawood, 1995).

Die Freisetzung von Oxytocin und Vasopressin steht dabei unter dem Einfluß von Ovarsteroiden. Beide Peptide stimulieren Uteruskontraktionen sowohl im schwangeren als auch im nicht-schwangeren Myometrium über Bindung an Oxytocin- und Vasopressin-V1a-Rezeptoren. Vasopressin ist *in vitro* potenter im Hinblick auf die Uteruskontraktilität von schwangerem Gewebe am Geburtstermin (Sectio), obwohl beide Rezeptortypen zu gleichen Anteilen vorliegen. Die Rezeptordichte der Oxytocinrezeptoren scheint bei der Wehenentstehung von Bedeutung zu sein, da sie im Myometrium vor und bei Beginn der Wehen (auch bei vorzeitigen) deutlich erhöht ist (Bossmar, 1998 und Akerlund, 2004), jedoch bei fortgeschrittenen Wehen und nach Oxytocininfusion deutlich abnimmt (Downregulation).

Die Rezeptor-RNA des Oxytocinrezeptors ist bei der Geburt zum Beispiel 300fach erhöht im Vergleich zu nicht-schwangerem Gewebe (Kimura et al., 1996). Vasopressin-V1a-Rezeptor-RNA-Konzentrationen sind dagegen sowohl in schwangerem als auch in nicht-schwangerem Gewebe vertreten, sie bleiben jedoch während der Schwangerschaft unverändert (Helmer et al., 1998).

Grundsätzlich korreliert die Dichte der Oxytocinrezeptoren mit der Kontraktilität im schwangeren und nicht-schwangeren Myometrium, für Vasopressin und seinen Rezeptor ist die Korrelation weniger stark ausgeprägt (Akerlund et al., 1995).

Ein weiterer Faktor ist die Produktion von endogenem Stickstoffmonoxid (NO), das an der Regulation endometrischer Funktionen wie Rezeptorstatus, Implantation und Menstruation mitwirkt (Maul et al., 2003). Zusätzlich werden myometrische Funktionen wie die Kontraktibilität und der Tonus des Uterus und der Cervix von NO beeinflusst. Während der Schwangerschaft ist die Uteruskontraktibilität durch erhöhte myometrische NO-Produktion abgeschwächt, zum Geburtstermin hin nimmt die NO-Produktion dagegen ab und ermöglicht die Entstehung von Wehen. An der Cervix ist die Regulation durch NO in der Schwangerschaft gegenteilig, hier nimmt die NO-Produktion zum Geburtstermin hin zu und ist verantwortlich für die Cervixdehnung. Eine mangelhafte Produktion von NO in der Schwangerschaft kann eine schwangerschaftsinduzierte Hypertonie und Präeklampsie verursachen (Jones et al., 1997).

Bei schwangeren und nicht-schwangeren Frauen wurden verschiedene Subtypen der Myosin-leichte-Ketten-Kinase (=MLCK) klassifiziert (Moore et al., 2001). MLCK ist essentiell für durch Calciummobilisation induzierte myometrische Kontraktionen. In schwangerem Myometrium wurde die 19 kDa-MLCK, in nicht-schwangerem Myometrium ausschließlich die 60 kDa-MLCK nachgewiesen. Bei Frauen mit vorzeitigen Wehen wurde hingegen auch das 60 kDa-MLCK Immunogen entdeckt, welches für die verstärkte Kontraktibilität verantwortlich sein könnte.

Andere Autoren sehen auch im Fetus selbst die Fähigkeit zur Einleitung des Geburtsvorgangs, indem eine erhöhte Cortisolsekretion aus der fetalen Nebennierenrinde zu einer verstärkten Prostaglandinsynthese- und -aktivität führt (Challis et al., 2000).

Kürzlich wurde eine erhöhte Dichte von Mastzellen im Myometrium schwangerer Frauen entdeckt, die die Uteruskontraktibilität während der Schwangerschaft beeinflussen könnte (Garfield et al., 2006).

1.2.2 Therapie der Dysmenorrhoe

Ausgehend von den pathogenetischen Erklärungsmodellen werden verschiedene Ansätze bei der Therapie verfolgt. Zum einen kann die bei der Dysmenorrhoe pathologisch gesteigerte Prostaglandinsynthese im Uterus beeinflusst werden, womit letztendlich die gesteigerte Uteruskontraktibilität und die lokale Vasokonstriktion vermindert wird. Hierzu können verschiedene Medikamente eingesetzt werden:

Nicht-steroidale Antirheumatika als Hemmstoffe der uterinen Prostaglandinsynthese sind bis heute die hauptsächlich verwendeten Schmerzmittel für endometrische Dysfunktionen wie die Dysmenorrhoe (Kelly et al., 2001). So sind z.B. Naproxen, Ibuprofen, Flufenaminsäure und

Mefenaminsäure in 90-100% der Fälle wirksam (Wenzloff et al., 1984). Fenamate hemmen zusätzlich die Prostaglandinwirkung am Myometrium durch kompetitive Rezeptorhemmung (Chan, 1981), Acetylsalicylsäure und Indometacin sind dagegen weniger erfolgreich (Chan, 1983). Ibuprofen scheint das beste Risiko-Wirkungsprofil zu haben. Paracetamol scheint weniger effektiv zu sein als die nicht steroidalen Antirheumatika = NSAR (Zhang et al., 1998). Zusätzlich kann die uterine Prostaglandinbildung durch exogene Gestagenzufuhr (systemisch in Form oraler Kontrazeptiva oder auch lokal) vermindert werden (Zahradnik et al., 1984 u. 1988). Dabei ist vor allem die Senkung des Anteils an $\text{PGF}_2\alpha$ von Bedeutung. Hormonale Kontrazeptiva sind ca. bei >90% der betroffenen Frauen erfolgreich einsetzbar, sie vermindern die Sensitivität des Myometriums gegenüber Prostaglandinen (Dawood, 1983 und 2006) und führen bei primärer Dysmenorrhoe zu einer verminderten Uterusaktivität (Ekstrom et al., 1989).

Eine Veränderung des Prostaglandinsynthesemusters kann außerdem durch Diät erreicht werden: die Zufuhr von mehrfach ungesättigten Fettsäuren hatte in einigen Studien einen günstigen Effekt (Horrobin, 1983 und Pashby, 1981). Deutch konnte zeigen, dass eine mangelhafte Zufuhr mehrfach ungesättigter Fettsäuren mit der Intensität von Menstruationsschmerzen korreliert (Deutch, 1995).

Konventionelle Therapiemethoden wie NSAR und orale Kontrazeptiva haben noch immer Versagerquoten um die 10% (Coco, 1999), so dass das Finden von alternativen Substanzen in der Forschung von großem Interesse ist. Dabei wurde in den letzten Jahren auch auf Präparate zurückgegriffen, die in der Geburtshilfe zur Tokolyse eingesetzt werden.

Muskelrelaxantien wie die Gruppe der Calciumantagonisten sind in der Lage, uterine Kontraktionen und somit den Schmerz bei der Dysmenorrhoe zu unterbinden, so wirkt z.B. Nifedipin in einer Dosierung von 20-40 mg p.o. innerhalb von 10-30 min analgetisch (Ulmsten et al., 1985). Magnesium ist als natürlicher Calciumantagonist (Quaas et al., 1985) ebenfalls eine Alternative in der Therapie der Dysmenorrhoe.

Auch GTN wurde in Studien bezüglich der Wirksamkeit bei Dysmenorrhoe getestet.

Verschiedene Studiengruppen (Moya et al., 2000 und Facchinetti et al., 2002) berichten zwar von einer guten Effektivität, die Nebenwirkung Kopfschmerz ist jedoch häufig (20-30%).

Brouard et al. konnten 2000 als erste Studiengruppe einen therapeutischen Effekt eines V_1a -Rezeptorantagonisten (in den Studien SR 49059 genannt) in der Prävention der Dysmenorrhoe beweisen. 100 bzw. 300 mg SR 49059, 4h bis 3 Tage vor Blutungsbeginn p.o. verabreicht, erzielte einen dosisabhängigen Effekt auf die subjektiv empfundene Schmerzintensität und war signifikant effektiver als das Placebo.

1.3 Atosiban

Tractocile® Ferring Arzneimittel Kiel, Deutschland (verfügbar seit Herbst 2000)

2-[trans-4-(4-Chlorphenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphtochinon

Therapeutischer Blutspiegelbereich: 500 ng/ml

HWZ 1,7h

Atosiban ist ein kompetitiver Oxytocin-Antagonist, der an Oxytocinrezeptoren und V1a-Rezeptoren (Vasopressinrezeptoren) in Myometrium und Dezidua bindet (Akerlund, 2006), wobei die Affinität von Atosiban geringer ist als die von Oxytocin. Atosiban wurde erstmals Mitte der 80er Jahre beschrieben (Melin et al., 1986).

1.4 Glyceroltrinitrat (GTN)

Trinitrosan® Merck Arzneimittel Darmstadt, Deutschland

Therapeutischer Blutspiegelbereich: 0,1-5 ng/ml

enthält 77,0 Vol.-% Alkohol

GTN wirkt direkt relaxierend auf die glatte Muskulatur an Gefäßen, Bronchien, ableitenden Harnwegen, Gastrointestinaltrakt, Sphinkteren und Uterus.

An den Gefäßen kommt es so zu einer Vasodilatation, von der die postkapillären Kapazitätsgefäße und die großen Arterien stärker betroffen sind als die Widerstandsgefäße.

Auf molekularer Ebene wirken die Nitrate über die Bildung von Stickoxid (NO) und zyklischem Guanosylmonophosphat (cGMP), das als Mediator der Relaxation gilt.

1.5 Nifedipin

Adalat® pro infusione Bayer Arzneimittel Leverkusen, Deutschland

1,4-Dihydropyridin-Derivat; enthält 18,0 Vol.-% Alkohol

Therapeutischer Blutspiegelbereich: 10 ng/ml

Calciumantagonist; über eine Blockade von L-Typ-Calciumkanälen kommt es zu einer Hemmung des Calciumeinstroms in Myozyten und zu einer Blockade der Freisetzung von Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, so dass eine verminderte calciumabhängige MLCK-Phosphorylierung mit einer erschwerten Interaktion von Aktin und Myosin und damit verbunden eine verminderte Kontraktilität der Muskulatur resultiert.

Da Nifedipin unter UV-Exposition zerfällt, wurde diese Substanz nur in lichtundurchlässigen Gefäßen aufbewahrt, bei den Versuchen wurden Pipetten und Organbäder konsequent mit Aluminiumfolie umwickelt.

1.6 Arbeitshypothesen

- Glyceroltrinitrat ist eine geeignete Substanz zur Hemmung der Spontankontraktionen von humanen nicht-schwangeren Myometriumstreifen in vitro.
- Atosiban wirkt in vitro auch am nicht-schwangeren Myometrium relaxierend.
- Nifedipin wirkt in vitro auch am nicht-schwangeren Myometrium relaxierend.
- Die Wirksamkeit der verschiedenen Substanzen ist dosisabhängig.

1.7 Fragestellung

- Inwieweit bestehen Unterschiede in der Relaxationspotenz von Atosiban, Glyceroltrinitrat und Nifedipin?
- Gibt es Wirkungsunterschiede nach wiederholter Substanzapplikation?
- Inwieweit zeigt das Myometrium ohne Substanzzugabe im Versuchsablauf eine Kontraktilitätsabnahme bzw. eine Ermüdungstendenz?
- Bestehen im Vergleich zu den Studien unserer Arbeitsgruppe an schwangerem Myometrium Unterschiede in der Wirksamkeit der Substanzen?
- Welche Unterschiede bestehen bei der Wirkung der Pharmaka in vivo und in vitro?
- Inwieweit kann man die Ergebnisse auf die Klinik übertragen?