
2. Material

2.1. Material und Chemikalien

Weibliche Wistar Ratten, Gewicht 140 bis 180g: Charles River Deutschland GmbH, Sulzfeld, Deutschland. Aktenzeichen und Datum der Behördlichen Genehmigung: T0423/98, 1998

Biolumat LB 9500: Firma Berthold, Wildbach, Deutschland

Fura-2-AM, PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Azetat), DMSO (Dimethylsulfoxid), SOD (Superoxiddismutase), Katalase, Luminol (5-Amino-2,3-Dihydro-1,4-Phtalazinedion), Isoproterenol, BDM (2,3-Butanedione-Monoxime): Firma Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Polymorphprep: Firma Nycomed Pharma AS, Oslo, Norwegen

2.2. Lösungen

Modifiziertes Krebs-Henseleit-Perfusat (KH)

118,0 mM	NaCl
4,0 mM	KCl
1,2 mM	MgSO ₄
1,19 mM	KH ₂ PO ₄
24,9 mM	NaHCO ₃
1,25 mM	CaCl ₂
5,0 mM	Glucose
2,0 mM	Pyruvat
PH	7,4

Phosphatpuffer (PBS)

136,9 mM	NaCl
2,8 mM	KCl
8,1 mM	Na ₂ HPO ₄

1,5 mM	KH ₂ PO ₄
0,2 mM	MgCl ₂ 6H ₂ O

Fura-2 AM-Lösung

1 mg Fura-2 AM wurde in 100 µl DMSO gelöst, mit 9,9 ml KH-Perfusat aufgefüllt, zu je 1 ml aliquotiert und lichtgeschützt bei -20° C eingefroren. Die für die Rezirkulation verwendete Lösung von 11 ml zur Beladung des Herzens mit Fura-2 setzte sich aus 2 Fura-Aliquots und 9 ml KH-Perfusat zusammen mit einer Fura-2 AM Konzentration von 18 µM. Die Endkonzentration von DMSO lag unter 0.2 %. Somit konnte der in höheren Konzentrationen permeabilitätssteigernde Effekt auf biologische Membranen von DMSO ausgeschlossen werden.

PMA-Lösung

5 mg PMA wurden in 1 ml DMSO gelöst, wovon 0,5 ml abpipettiert und mit 2 ml PBS aufgefüllt wurden. Davon wurde 1 ml mit 7,1 ml PBS verdünnt, erneut 3 ml abpipettiert und mit 57 ml PBS verdünnt. Dies ergab eine 10 µM PMA-Lösung, die zu je 10 µl aliquotiert und bei -20° C lichtgeschützt eingefroren wurde.

Luminol-Lösung

200 mg Luminol wurden in 2 ml DMSO gelöst, wovon 100 µl abpipettiert und mit 49900 µl PBS-Puffer aufgefüllt wurden. Die 1 mM Luminol-Lösung wurde zu je 5 µl aliquotiert und bei -20° C lichtgeschützt eingefroren.

Suspension zur Chemilumineszenz-Messung

Die Endkonzentration von Luminol im zur CL-Messung verwendeten Messröhrchen mit 500 µl Volumen betrug 0,01 mM. Die Suspension setzte sich wie folgt zusammen

1. 5 µl Luminol-Aliquot [1 mM]
2. 235 µl PBS-Puffer
3. 235 µl KH mit 2,5 mM Kalzium und 1,6 mM Magnesium
4. 5 µl PMN-PBS-KH-Lösung mit einer Zellzahl von 5×10^7 / ml
5. 10 µl PMA-Aliquot [10 µM]