

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II

Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand Prof. Dr. med. Julia Mayerle

**Die pflanzlichen Extrakte aus Myrrhe, Kamille und Kaffeekohle modulieren
die intestinale Neurotransmission und Motilität in einem
tierexperimentellen Modell.**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von

Teodora Pumnea

aus

Sibiu, Rumänien

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Martin Storr

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Andreas Eigler,
Prof. Dr. Simon Rothenfuß

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Andrei Sibaev

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der
mündlichen Prüfung: 20.01.2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis.....	6
2	Einleitung	15
2.1	Hintergrund	15
2.2	Hypothese	17
2.3	Zielsetzung.....	18
2.4	Material und Methoden.....	18
2.4.1	Pflanzenextrakte	18
2.4.2	Versuchstiere	19
2.4.3	Gewebspräparation für Organbad-Versuche	20
2.4.4	Aufzeichnung der durch elektrischen Feldstimulation induzierten Kontraktionen.....	20
2.4.5	Gewebspräparation für die elektrophysiologischen Versuche.....	21
2.4.6	Aufzeichnung des intrazellulären Membranpotentials	22
2.4.7	Auswertung	24
2.4.8	Statistik	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Untersuchung der Wirkung einzelner pflanzlicher Extrakte	26
3.1.1	Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.....	26
3.1.2	Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.....	28
3.1.3	Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktionen unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.....	30
3.1.4	Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.....	33

Inhaltsverzeichnis

3.1.5 Einfluss eines Kamille-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus	34
3.1.6 Einfluss eines Kamille-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus	36
3.1.7 Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus	38
3.1.8 Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus	41
3.2 Untersuchung der Wirkung kombinierter pflanzlicher Extrakte	44
3.2.1 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und dem Kaffeekohlenextrakt auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus	44
3.2.2 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille-Extrakt auf dem Basaltonus und auf der Spannungs-induzierten Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus	46
3.2.3 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kaffeekohle-Extrakt auf dem Basaltonus und auf der spannungsinduzierten Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus	48
4 Diskussion.....	51
4.1 Allgemeine Diskussion	51
4.1.1 Funktionelle gastrointestinale Erkrankungen	51
4.1.2 Reizdarmsyndrom (<i>irritable bowel syndrome</i> , IBS)	51
4.1.3 Das enterische Nervensystem	53
4.1.4 Neuromuskuläre Interaktionen im Gastrointestinaltrakt.....	54
4.2 Spezielle Diskussion	56

Inhaltsverzeichnis

4.2.1	Wirkmechanismen eines pflanzlichen Arzneimittels bestehend aus Myrrhe, Kamillenblüten und Kaffeekohle	56
4.2.2	Wirkung einzelner pflanzlicher Extrakte auf unbehandelte Darmsegmente im Mausmodell	58
4.2.3	Wirkung kombinierter pflanzlicher Extrakte auf unbehandelte Darmsegmente im Mausmodell	63
5	Fazit und Beantwortung der Hypothesen	66
6	Literaturverzeichnis.....	68
	Danksagung	73
	Affidavit	74
	Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
	Publikationsliste	75

Zusammenfassung

Was ist bekannt:
<ol style="list-style-type: none">1. Phytopharmaka werden in die supportive Behandlung der CED und des RDS eingesetzt.2. Das Kombinationspräparat aus Myrrhe-, Kamille- und Kaffeekohlentrockenextrakte ist der Therapie mit Mesalazin bei Colitis ulcerosa nicht unterlegen.3. Der genaue Wirkmechanismus der Trockenextrakte aus Myrrhe, Kamille und Kaffeekohle ist nicht bekannt, könnte allerdings auf einer Hemmung der TNFα-Genexpression und der cAMP-Phosphodiesterase beruhen.
Was ist neu:
<ol style="list-style-type: none">1. Myrrhe- und Kamilletrockenextrakte zeigen jeweils eine signifikante Verminderung des Basaltonus und der Spannungs-induzierten Kontraktion der glatten Darmmuskulatur in einem tierexperimentellen Organbadmodell.2. Die phytopharmazeutischen Extrakte beeinflussen auch die neuronale Transmission des murinen Dünndarmes.3. Die Amplitudenverminderung der Kontraktion der glatten Muskelzellen des Dünndarmes zeigt einen konzentrationsabhängigen Verlauf.
Was könnte das bedeuten:
<ol style="list-style-type: none">1. Das Kombinationspräparat aus Myrrhe-, Kamille- und Kaffeekohlentrockenextrakte unterstützt die Symptomkontrolle der CED und des RDS durch die Verminderung der Amplitude der basalen und der Spannungs-induzierten Kontraktion glatter Darmmuskulatur.2. Phytopharmaka können als supportive Maßnahme in der Behandlung der CED und des RDS in Erwägung gezogen werden.3. Weitere Grundlagenforschung, sowie randomisierte und kontrollierte Studien mit größeren Patientenkollektive sind zur Entschlüsselung der Wirkung von Phytopharmaka und zur Etablierung deren Stellung in die Behandlung gastrointestinaler Beschwerden entzündlicher Ursache essentiell.

Abstract

Abstract

A combination of myrrh, chamomile flower and coffee charcoal has been used for decades in the treatment of functional gastrointestinal disorders and inflammatory bowel disease. However, the mechanism of action of neither the combination nor the individual components has been completely characterized.

The present study aims to investigate whether the herbal extracts have an effect on electrophysiological properties and muscular function of the smooth muscle cells of murine intestine.

Small intestinal muscular activity was elicited using electrical field stimulation (EFS). The effects of diluted herbal extracts on basal activity and EFS-induced contractility were tested in concentrations from 0.002 mg/ml - 2 mg/ml (10 mg/ml for Coffee charcoal). Intracellular electrical recordings from smooth muscular cells were performed to characterize possible effects on excitatory junction potentials (EJP) and on inhibitory junction potentials (IJP).

Myrrh, Chamomile and Coffee charcoal significantly reduced the amplitudes of spontaneous contractile activity: Myrrh-ethanolic extract: 0.2 mg/mL: $-50.6\% \pm 3.5$; Myrrh-water-soluble extract: 0,1 mg/mL: $-67.7\% \pm 3.6$ Chamomile: 0.2 mg/mL: $-70.3\% \pm 2.7$; and significantly reduced EFS-induced contractile responses: Myrrh-ethanolic extract: 0.2 mg/mL: $-62.9\% \pm 4.8$; Myrrh- water-soluble extract: 2 mg/mL: $-87.9\% \pm 2.6$; Chamomile: 1 mg/mL: $-53.4\% \pm 4.7$; Coffee charcoal: 0.1 mg/mL: $-89.1\% \pm 2.0$. Chamomile: 1 mg/mL: significantly reduced sIJP ($-4,4\% \pm 0.8$), Coffee charcoal: 2 mg/mL: reduced the fIJP ($-7.0\% \pm 1.8$).

Myrrh, chamomile flower and coffee charcoal extracts reduce spontaneous contractility and EFS-induced contractility in the mouse small intestine in a dose-dependent manner. They also have a reducing effect on the underlying neurotransmission. Thus, the combination of myrrh, chamomile and coffee charcoal is of therapeutic use for conditions that involve intestinal hyperactivity.

Abbildungsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Experimenteller Aufbau der Kontraktionsmessung.	21
Abbildung 2: Elektrophysiologische intrazelluläre Aufzeichnung des Membranpotentials	23
Abbildung 3: Originalaufzeichnung der EJP und der darauffolgenden, biphasischen inhibitorischen Junctionspotentiale (fIJP, sIJP), die mittels EFS des myenterischen Plexus induziert worden sind (A). Junctionspotentiale sind durch TTX ($3 \times 10^{-6}M$) vollständig geblockt (B), während der cholinerge Blocker Atropin ($10^{-6}M$) selektiv die EJP (C) und die Stickstoffmonoxidsynthase - Inhibitor L-NNA ($10^{-4}M$) die sIJP (D) blockieren.	24
Abbildung 4: Originalregistrarat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL).....	26
Abbildung 5: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf den Basaltonus unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	27
Abbildung 6: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	28
Abbildung 7: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.	29
Abbildung 8: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrege inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.....	30

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 9: Originalregistrarat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL).....	31
Abbildung 10: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL) auf dem Basaltonus unbehaunder Dünndarmpräparate der Maus.....	31
Abbildung 11: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehaunder Dünndarmpräparate der Maus.	32
Abbildung 12: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.	33
Abbildung 13: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrege inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.....	34
Abbildung 14: Originalregistrarat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL)	35
Abbildung 15: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf dem Basaltonus unbehaunder Dünndarmpräparate der Maus.	35
Abbildung 16: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehaunder Dünndarmpräparate der Maus.	36
Abbildung 17: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des Kamille-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.	37

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 18: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,1-1,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrierte inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.	38
Abbildung 19: Originalregistrar der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes (0,002-1 mg/mL) ..	39
Abbildung 20: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	40
Abbildung 21: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	40
Abbildung 22: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt von Kaffeekohle-Extrakt auf EJP und IJP im Kolon der Maus darstellt.	42
Abbildung 23: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrierte inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.....	43
Abbildung 24: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und Kaffeekohle-Extrakt in steigender Konzentration (1:10000 - 1:100) auf dem Basaltonus unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	44
Abbildung 25: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und Kaffeekohle-Extrakt in steigender Konzentration (1:10000 - 1:100) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.	45
Abbildung 26: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) und steigenden Konzentrationen des Kamille-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL)	

Abbildungsverzeichnis

auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kamillenblütenextraktes.	46
Abbildung 27: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kamille-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kamillenblütenextraktes.	47
Abbildung 28: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kaffeekohle-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kaffeekohlenextraktes.	49
Abbildung 29: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kaffeekohle-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die spannungsinduzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kaffeekohlenextraktes.	50
Abbildung 30: Zusammenfassung der Wirkung des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.	59
Abbildung 31 Zusammenfassung der Wirkung des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.	60
Abbildung 32: Zusammenfassung der Wirkung des Kamillen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.	60

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 33: Zusammenfassung der Wirkung des Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.61
- Abbildung 34: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanolischen Myrrhe-, Kamillen- und Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.63
- Abbildung 35: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanolischen Myrrhe-Extrakt mit aufsteigenden Konzentrationen eines Kamillen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.....64
- Abbildung 36: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanolischen Myrrhe-Extrakt mit aufsteigenden Konzentrationen eines Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.65

Tabellenverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Therapie des Reizdarmsyndroms entsprechend der aktuellen Leitlinie^{14,34}53

Tabelle 2: Graphische Zusammenfassung der Wirkung einzelner Trockenextrakte auf die spontane und elektrisch-induzierte Kontraktion glatter Muskelzellen und auf die exzitatorischen und inhibitorischen Junctionspotenzialen62

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

Ach	Acetylcholin
CaCl ₂	Calciumchlorid
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CU	Colitis ulcerosa
EFS	Elektrische Feldstimulation
EJP	Exzitatorisches Junktionspotenzial
ENS	Enterisches Nervensystem
FGD	Funktionelle gastrointestinale Erkrankungen
IBS	<i>Irritable bowel syndrome</i> (Reizdarmsyndrom)
IJP	Inhibitorisches Junktionspotenzial
KCl	Kaliumchlorid
KRP	Krebs-Ringer-Puffer
LNNA	NG-Nitro-L-Arginin (Stickstoffmonoxidsynthase-Inhibitor)
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
N	Stückzahl
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaHPO ₄	Natriumpermanganat
RDS	Reizdarmsyndrom
TNBS	Trinitrobenzolsulfonsäure

Einleitung

Einleitung

1.1 Hintergrund

Phytopharmazeutische Präparate werden als supportive Therapie im Rahmen multipler gastrointestinaler Erkrankungen eingesetzt. Darunter fallen die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED), die funktionellen Darmbeschwerden, sowie das Reizdarmsyndrom (RDS). Diese kommen mit einer vielseitigen Symptomenpalette einher: Schmerzen, Meteorismus, Stuhlnunregelmäßigkeiten, Durchfall, Verstopfung. Bei einer Befragung einer Stichprobe der deutschen Bevölkerung berichteten 13 % von 2 050 Personen über Blähungen und 11 % über Bauchschmerzen in den letzten 7 Tagen ¹, dabei konnten bei 50% der Patienten mit mehr als 3 Monate anhaltenden Beschwerden in der Routinediagnostik keine symptomerklärenden Befunde nachgewiesen werden ².

Ähnliche Symptome können aber auch auf organische Störungen hindeuten, wie bei Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa (CU). Die hohe Inzidenz und Prävalenz dieser Erkrankungen weltweit wurde u.a. in einer systematischen Überprüfung der Literatur bestätigt und zeigte Höchstwerte von 505 Fälle per 100 000 Einwohner in Norwegen für Colitis ulcerosa und von 322 Fälle per 100 000 Einwohner in Deutschland für Morbus Crohn ³. Die Stufentherapie dieser Erkrankungen richtet sich nach Klinik und kann sich bei komplizierten Verläufen als komplex und kostenintensiv gestalten ⁴.

Funktionelle Darmerkrankungen sind mit mehreren komplexen Prozesse und Interaktionen zwischen dem Genom ⁵, der Umwelt, dem Mikrobiom ⁶, dem Immunsystem ^{7,8} und der Psyche ⁹ assoziiert. Es existieren vielseitige physiopathologische Aspekte, unter anderem auch die Störung der Darmmotilität, eine unausgewogene Säureproduktion, Störungen der Darmbarriere, eine Hypersensibilität des Darmes, Mikroinflammationen oder die Dysfunktion des enterischen Nervensystems ¹⁰. Obwohl noch kein typisches Motilitätsmuster

Einleitung

nachgewiesen werden konnte, zeigen Patienten mit Reizdarmsyndrom (RDS) sowohl eine Beschleunigung, als auch eine Verlangsamung der Kolontransitzeit, entsprechend des Subtypes der Erkrankung: bei RDS-D (Diarrhöprädominanz) eine beschleunigte, bei RDS-O (Obstipationspredominanz) eine verlangsamte Kolontransitzeit ¹¹. Zudem wurden auch Veränderungen des Ruhetonus nachweisen. Bei Patienten mit RDS-D war dieser geringer als bei Patienten mit RDS-O. Die Motilitätsstörung führt auch zu einem erschwerten Transit der intestinalen Gasansammlung ¹².

Aufgrund der Heterogenität des Reizdarmsyndromes gibt es zurzeit keine Standardtherapie. Die medikamentöse Therapie ist symptomorientiert und sollte sich auch an der subjektiven Einschätzung der Patienten bezüglich der Schwere der Symptomatik richten ¹³. Hierzu werden unterschiedliche Präparate eingesetzt, wie zum Beispiel: Ballaststoffe, Probiotika, Phytopharmaka, Spasmolytika und unter Umständen, auch trizyklische Antidepressiva ¹⁴.

Eines der ältesten Heilmittel, die Myrrhe (*Commiphora myrrha*), ist für ihre entzündungshemmende, pilzhemmende und adstringierende Wirkung bekannt. Die Myrrhe, bestehend aus dem an der Luft gehärteten Gummiharz, das vor allem aus der *Commiphora molmol* Art gewonnen wird, wird erfolgreich in der medizinischen Praxis eingesetzt¹⁵⁻¹⁸. Kombiniert mit Kaffeebohle und Kamille, wird Myrrhe in Tablettenform (*Myrrhinil-Intest*[®] [Myrrhe pulv. 100 mg, Kaffeebohle 50 mg, Trockenextrakt aus Kamillenblüten 70 mg (DER:4-6:1); Auszugsmittel Ethanol 60% (m/m)]) schon seit mehr als fünfzig Jahren zur Linderung unspezifischer, inflammatorischer Störungen des Magen-Darm-Traktes eingesetzt ¹⁶. Obwohl der genaue Wirkmechanismus der Myrrhe noch nicht vollständig entschlüsselt ist, werden mehrere Hypothesen diskutiert. Zum einen sollte eine Calcium-antagonistische Wirkung der Myrrhe zu einer Spasmolyse des glatten Muskelgewebes des Darmes führen¹⁷. Weitere Untersuchungen zeigten, dass Myrrhe die TNF α -Genexpression im Rahmen eines inflammatorischen Modells hemmen konnte ¹⁹.

Einleitung

Kamille-Extrakte (*Chamomilla recutita*) werden auch in der medizinischen Praxis eingesetzt und sind für ihre antiinflammatorischen und spasmolytischen Wirkung in der supportiven Behandlung vielseitiger Erkrankungen, wie Muskelspasmen, Dysmenorrhoe, Ulzera, Magen-Darm-Störungen, rheumatische Erkrankungen weit verbreitet ²⁰. Die spasmolytische Wirkung ereignet sich unter anderem durch Hemmung der humanen cAMP-Phosphodiesterase ²¹.

Klinische Studien bestätigten die gegenüber der Therapie mit Mesalazin nicht minderwertige Wirkung des Phytopharmakons in der Remissionserhaltung bei Colitis ulcerosa ²². Aufgrund dieser Erkenntnisse sind Myrrhe-enthaltende Präparate, so wie *Myrrhinil-Intest*[®], wichtige Elemente in der supportiven Therapie unspezifischer Magen-Darm Störungen, die im Rahmen des Reizdarmsyndromes und der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen auftreten können ²³.

Die Untersuchungen der Einzelkomponenten von *Myrrhinil-Intest*[®] am enterischen Nervensystem und an der glatten Darmmuskulatur der Maus können neue Erkenntnisse bezüglich des Wirkmechanismus des pflanzlichen Arzneimittels *Myrrhinil-Intest*[®] im gesunden Darm hervorbringen. Kombinationen der Einzelkomponenten dienen der weiteren Charakterisierung des synergistischen oder summierenden Effektes der Komponenten des obengenannten Heilmittels.

1.2 Hypothese

Myrrhe, Kamille und Kaffeekohle, die Einzelkomponenten von *Myrrhinil-Intest*[®] könnten singulär und synergistisch die Motilität, Kontraktilität und die Neurotransmission des Magen-Darm-Traktes beeinflussen. Erkenntnisse bezüglich der Beeinflussung der Aktivität glatter Muskelzellen und des enterischen Nervensystems könnten das antiinflammatorische und spasmolytische Potenzial des Arzneimittels und der Einzelkomponenten erfassen.

Einleitung

1.3 Zielsetzung

Diese Arbeit setzte sich die Erweiterung der bisher gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Wirkung des obengenannten Phytopharmakons zum Ziel. In diesem Rahmen wurde der Einfluss der Einzelkomponenten von *Myrrhinil-Intest*[®] auf die Motilität und Neurotransmission des Gastrointestinaltraktes gesunder Mäuse analysiert. Hierfür wurden Untersuchungen der Amplitudenänderung des basalen Muskeltonus und der spannungsinduzierten Darmkontraktionen durchgeführt. Zudem wurden auch die Änderungen im Bereich der Neurotransmission gemessen, um etwaige Auswirkungen auf dem enterischen Nervensystem erfassen zu können.

Zur Vervollständigung dieser Grundlagenuntersuchungen erfolgten Untersuchungen mit Kombinationen einzelner pflanzlicher Extrakte. Dabei wurden paarweise ethanolischer Myrrhe-Extrakt mit Kamille- und Kaffekohle-Extrakte kombiniert. In einem weiteren Ansatz wurden alle drei Komponenten des *Myrrhinil-Intest*[®] gemeinsam untersucht. Ziel dieses Versuchs war die Beobachtung einer Synergie oder Summierung der Effekte pflanzlicher Extrakte auf die Amplitude des Muskeltonus und der spannungsinduzierten Darmkontraktion, sowie auch im Bereich der elektrophysiologischen Prozesse im enterischen Nervensystem.

1.4 Material und Methoden

1.4.1 Pflanzenextrakte

Die analysierten Trockenextrakte aus Myrrhe (*Commiphora myrrha*, Lotnummer 20772), Kamille (*Matricaria chamomilla*, Lotnummer 20935) und Kaffeekohle (*Carbo coffeae*, Lotnummer 14790/20265) wurden von der Firma REPHA GmbH Biologische Arzneimittel, Langenhagen, Germany bereitgestellt. In unserem Labor wurden die Extrakte in Ethanol oder DMSO (Dimethylsulfoxid) gelöst und in Krebs-Lösung (NaCl 120.35 mM; KCl 5.9 mM; MgCl₂ 2.5 mM;

Einleitung

Na₂HPO₄ 1.2 mM; NaHCO₃ 15.5 mM; CaCl₂ 2.5 mM; Glucose 11.5 mM, pH 7.4) verdünnt.

Die Qualität und Reinheit der Myrrhe, das Gummiharz, das durch Einschnitt des Stammes von *Commiphora myrrha* (Synonym *Commiphora molmol Engler*) erhalten wurde, stand in Übereinstimmung mit allen Spezifikationen der Europäischen Arzneibuchmonographie. Der ethanolische Myrrhe-Extrakt wurde nach existierender Anleitung vorbereitet [15]. Myrrhe-Pulver wurde unter Reflux mit Ethanol (96% v/v) bei 60° C für 60 Minuten extrahiert. Unter Verdampfung wurde der Extrakt zum Trocknen gebracht und der Rückstand wurde in Wasser resuspendiert. Im Anschluss wurde eine Wasserdampfdestillation durchgeführt. Der wasserlösliche Myrrhe-Extrakt wurde nach dem Standard der Europäischen Arzneibuchmonographie 6.0 hergestellt. Als Erstes wurde Myrrhe mit Ethanol (96% v/v) extrahiert. Danach wurde der Rückstand mit Wasser extrahiert. Der wasserlösliche Myrrhe-Extrakt wurde bis zum Trocknen eingedampft und bei Raumtemperatur gelagert.

Der Kamillenblütentrockenextrakt wurde mit Ethanol 60% m/m, DER: 4-6:1 als Auszugsmedium bereitgestellt, das Ergebnis war äquivalent zu dem Wirkstoff des Phytopharmakons *Myrrhinil-Intest*[®].

Der Kaffeebohle-Extrakt wurde aus Kaffeebohnen der Art *Coffea arabica L.* gewonnen. Die Kaffeebohnen wurden stark gebraten und im Anschluss fein gemahlen. Kaffeebohle wurde mit kochendem Wasser für 15 Minuten extrahiert, der Extrakt wurde filtriert und bis zum Trocknen eingedampft. Alle Trockenextrakte wurden bei Raumtemperatur gelagert.

1.4.2 Versuchstiere

Zur Versuchsdurchführung bezog man männliche *Swiss* Mäuse im Alter von 8-10 Wochen. Diese waren bei künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus artgerecht unter standardisierten Bedingungen gehalten. Vom Vorabend des Versuchstages bis zum Versuch waren die Mäuse durch freien Zugang zu Wasser nüchtern gesetzt.

Einleitung

1.4.3 Gewebspräparation für Organbad-Versuche

Die männlichen Mäuse wurden mit *Isofluran*[®] narkotisiert und anschließend gemäß den Empfehlungen des Ethikausschusses der Universität München euthanasiert. Der Dünndarm wurde *in-situ* mit Krebs-Ringer-Puffer gereinigt. Dieser wurde aus NaCl 120.35 mM; KCl 5.9 mM; MgCl₂ 2.5 mM; NaH₂PO₄ 1.2 mM; NaHCO₃ 15.5 mM; CaCl₂ 2.5 mM; Glucose 11.5 mM, pH 7.4 hergestellt, bei 8°C gelagert und andauernd mit Carbogen (95% Sauerstoff, 5% CO₂) begast. Der Darminhalt wurde durch Durchtrennung des Ileums kurz vor dem Zökum abgeleitet. Nach gründlicher Reinigung des Dünndarms wurde dieser entnommen und in Krebs-Ringer-Puffer eingelegt.

Nach vorsichtiger Abtrennung des Darmgekröses wurden mehrere 0.8-1 cm lange Darmstücke in einzelne Organbäder eingespannt. Die doppelwandigen Organbäder wurden mit Krebs-Ringer-Puffer gefüllt. Durch Umspülung wurde der Inhalt der Organbäder auf einer konstanten Temperatur von 37° C gehalten. Nach einer 90-minütigen Äquilibrationsphase wurde das Darmstück elektrisch stimuliert. Nach einer weiteren 20-minütigen Äquilibrationsphase und dem Auftreten von mindestens drei gleichen Reaktionen wurde der Versuch durch Zugabe der Testsubstanzen in kumulativ aufsteigenden Konzentrationen gestartet. Die pharmakologischen Untersuchungen waren als Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen konzipiert, entsprechende Kontrollexperimente (Lösungsmittelleffekte) waren vorgesehen²⁴.

1.4.4 Aufzeichnung der durch elektrischen Feldstimulation induzierten Kontraktionen

Die isometrischen Kontraktionen wurden durch elektrische Feldstimulation bei 40 Volt mit einer Stimulationsdauer von 10 Sekunden bei 10 Hz in Intervallen von 5 Minuten induziert und durch einen Verstärker in elektrische Signale umgewandelt, digitalisiert und auf dem PC aufgezeichnet. Bei den Kraftwandlern war eine Vorspannung von 500 mg gewählt. In die Datenauswertung gingen dabei folgende

Einleitung

Messgrößen ein: maximale Amplitude der spontanen Kontraktionen (Basaltonus) sowie derjenigen, die bei der Stimulation entstanden (spannungsinduzierte Kontraktion). Hierbei analysierte man Veränderungen der Spontanaktivität, des Basaltonus und der neuromuskulären Übertragung (Abbildung 1).

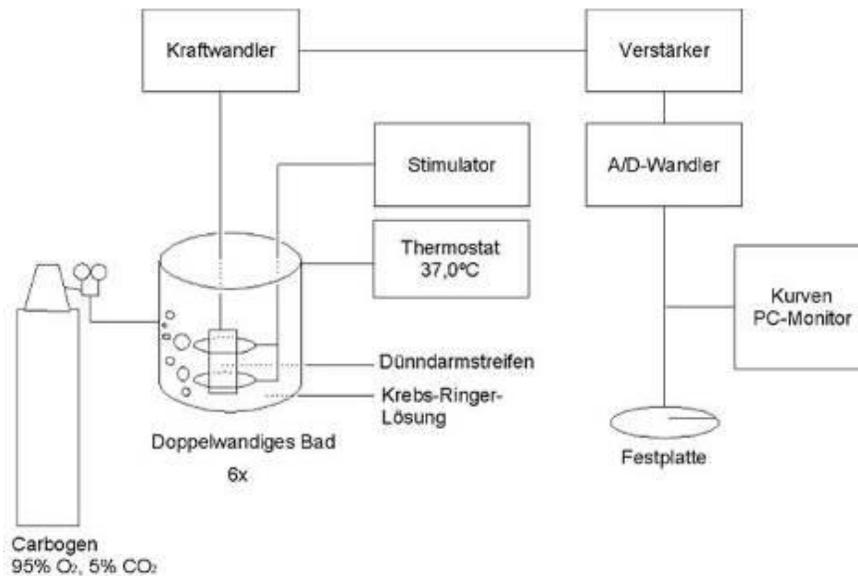


Abbildung 1: Experimenteller Aufbau der Kontraktionsmessung.

1.4.5 Gewebspräparation für die elektrophysiologischen Versuche

Die männlichen Mäuse wurden mit *Isofluran*[®] narkotisiert, nach Empfehlungen des Ethikausschusses der Universität München. Anschließend erfolgte die Präparation. Das Kolon wurde über eine mediane abdominale Inzision entnommen und zunächst in einer mit Carbogen begasten Krebs-Ringer-Lösung inkubiert.

In einem weiteren Schritt erfolgte die Eröffnung des Kolons entlang der Mesenterialwurzel, darin enthaltene Stuhlreste wurden ausgewaschen. Anschließend wurde das Gewebestück in einer *Sylgard*[®]-beschichteten Präparationskammer (Puffer-gefüllt) platziert. Das proximale Kolon war präpariert, *Mukosa*, *Submukosa* und *Serosa* waren durch scharfe Dissektionen abgetrennt, so dass ein Gewebspräparat bestehend aus dem myenterischen *Plexus*, dem

Einleitung

darin enthaltenen neuronalen Netzwerk, den umgebenden zirkulären und longitudinalen Muskelschichten verblieb²⁴.

1.4.6 Aufzeichnung des intrazellulären Membranpotentials

Mit ungefähr 150-200 Mikropins (Wolframdraht; 15 - 25 µm dick) wurde das oben erwähnte Kolonpräparat (0,5x1 cm) am Boden einer Sylgard®-beschichteten Elektrophysiologie-Organkeimkammer fixiert. Die Ausrichtung war so gewählt, dass die zirkuläre Muskelschicht oben zum Liegen kam.

Das Organbad (5 ml/min⁻¹; *Kwik* Pumpe, *World Precision Instruments*) war mit vorgewärmten (37°C) und oxygeniertem (95% O₂-5% CO₂) Krebs-Ringer-Puffer perfundiert. Die Gewebestücke wurden nun vor dem eigentlichen Versuchsbeginn 90–120 min inkubiert. *Nifedipin* (1µM) war während des gesamten Experiments in der Perfusionslösung anwesend, um muskuläre Kontraktionen zu vermeiden. Diese hätten ein Dislozieren der Glaskapillaren verursachen können. Kapilläre Glas-Mikroelektroden (*Borosilicate glass capillaries*, 1.0 mm äußerer Durchmesser x 0.58 mm innerer Durchmesser, *Clark Electromedical Instruments*, USA) waren mit Hilfe eines Mikroelektrodenpullers (*Model P-97*, 3 mm; *Sutter Instrument*, Novato, California, USA) erzeugt, mit KCl (3 M) angefüllt und zeigten eine Resistenz im Bereich von 80–120 MΩ. Die myenterischen Neurone wurden über Platin-Elektroden elektrisch stimuliert. Diese verliefen parallel zur zirkulären Muskulatur und waren mit einem *Grass S11* Stimulator verbunden (*Grass SIU59*; *Grass Instruments*, Quincy, Massachusetts, USA). Die muskulären Membranpotentialveränderungen waren gegen eine Ag-AgCl Elektrode, die im Organbad platziert wurde, abgeleitet. Die induzierten Potentiale wurden verstärkt (*DUO 733* Mikroelektroden Verstärker; *World Precision Instruments*, Sarasota, Florida, USA) und mit einem Analog-Digitalwandler (*SCB 68 interface*; *National Instruments*, Austin, Texas, USA) digitalisiert. Die kontinuierliche Aufzeichnung des Membranpotentials erfolgte auf einem PC mit Hilfe der Software *LABVIEW 5.0* (*National Instruments*, USA) (Abbildung 2).²⁴

Einleitung

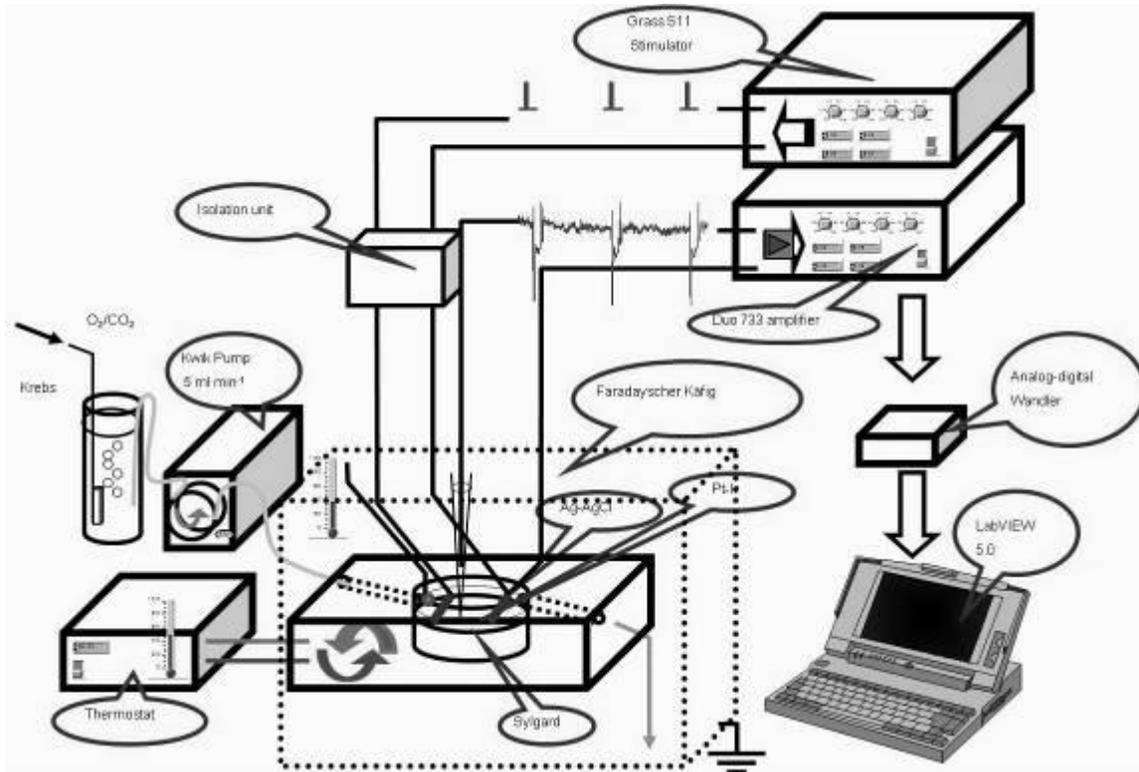


Abbildung 2: Elektrophysiologische intrazelluläre Aufzeichnung des Membranpotentials

Intrazelluläre Ableitungen ermöglichten die Charakterisierung elektrischer und synaptischer Eigenschaften der Verschaltungen innerhalb des ENS. Elektrophysiologisch unterschieden sich mehrere Zellpopulationen. Als besonders bemerkenswerter Befund zeigte sich, dass das ENS über eine breite Palette an hemmenden und aktivierenden synaptischen Mechanismen verfügte, um interneuronale und neuromuskuläre Interaktionen aufrechtzuerhalten. Die elektrophysiologischen Untersuchungen ermöglichten eine detailliertere Beschreibung der Einflüsse von Pharmaka auf die cholinerge exzitatorische Neurotransmission (EJP- exzitatorische Junctionspotentiale), auf die peptiderge inhibitorische Neurotransmission (schnelle inhibitorische Junctionspotentiale - fIJP) und auf die nitric oxide inhibitorische Neurotransmission (langsame inhibitorische Junctionspotentiale - sIJP)²⁵.

Einleitung

1.4.7 Auswertung

Die Kontraktionsamplitude nach Zugabe der jeweiligen Substanz war in Prozent auf eine als Kontrolle angenommene Kontraktion dargestellt. Die Kontrollkontraktion wurde nach einer 20-minütigen Äquilibrationsphase und nach dem Auftreten von mindestens drei gleichen Reaktionen gemessen.

Die elektrophysiologischen Untersuchungen, die im Vergleich zu den Organbaduntersuchungen eine präzise Aufklärung der Neurotransmission (EJP/fIJP/sIJP) erlaubten, zeigten welche Anteile durch die eingesetzten Pharmaka beeinflusst waren (Abbildung 3).

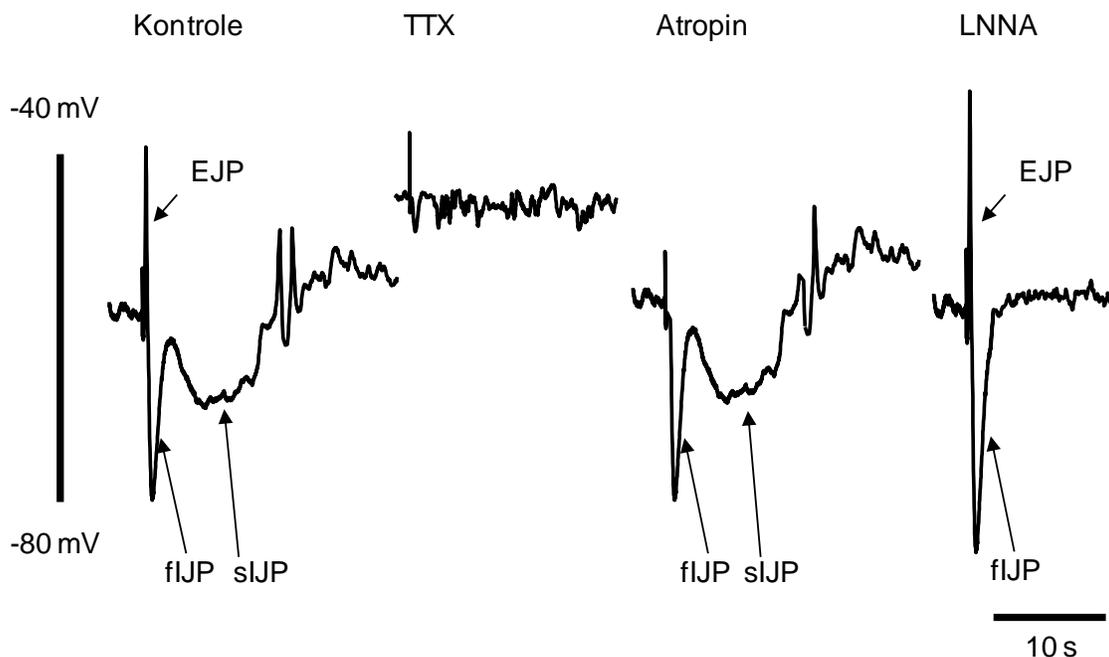


Abbildung 3: Originalaufzeichnung der EJP und der darauffolgenden, biphasischen inhibitorischen Junctionspotentiale (fIJP, sIJP), die mittels EFS des myenterischen Plexus induziert worden sind (A).

Junctionspotentiale sind durch TTX ($3 \times 10^{-6}M$) vollständig geblockt (B), während der cholinerge Blocker Atropin ($10^{-6}M$) selektiv die EJP (C) und die Stickstoffmonoxidsynthase - Inhibitor L-NNA ($10^{-4}M$) die sIJP (D) blockieren.

Einleitung

1.4.8 Statistik

Die Werte waren als Mittelwerte \pm SEM dargestellt, wobei n die Zahl der verwendeten Versuchstiere repräsentierte.

Die Datenauswertung erfolgte durch *GraphPad, Prism Software* (Version 5.00, *GraphPad Software Inc.*, San Diego, CA, USA). Die Erstellung und der Vergleich der Konzentrations-Wirkungskurven wurden mit nicht-linearer Regression durchgeführt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

Ergebnisse

Ergebnisse

1.5 Untersuchung der Wirkung einzelner pflanzlicher Extrakte

Die in diesem Abschnitt vorgestellten Ergebnissen sind teilweise bereits publiziert.^{26,27}

1.5.1 Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Der ethanolische Myrrhe-Extrakt wurde in aufsteigenden Konzentrationen hinzugefügt, nach jeweils zwei aufeinanderfolgenden Spannungs-induzierten Kontraktionen. Abbildung 4 stellt den Einfluss des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die Spannungs-induzierte Kontraktion dar.

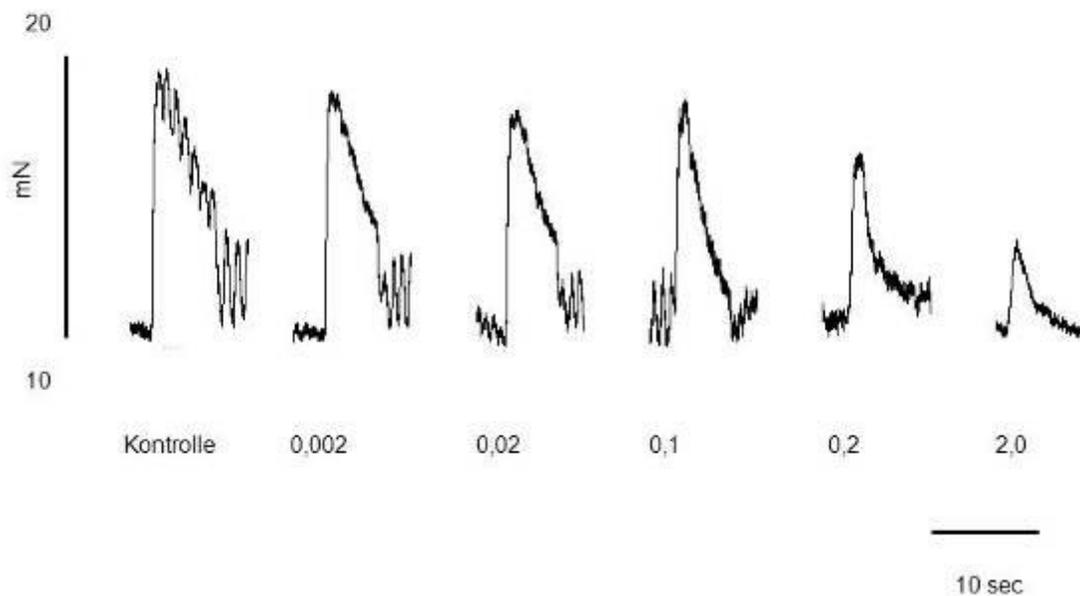


Abbildung 4: Originalregistrat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL)

Ergebnisse

Der ethanolische Myrrhe-Extrakt (0,002-2 mg/mL) führte zu einer Verminderung der Amplituden, sowohl der Spontankontraktionen, als auch der durch Spannung ausgelösten Kontraktionen. Die genannte Verminderung war konzentrationsabhängig.

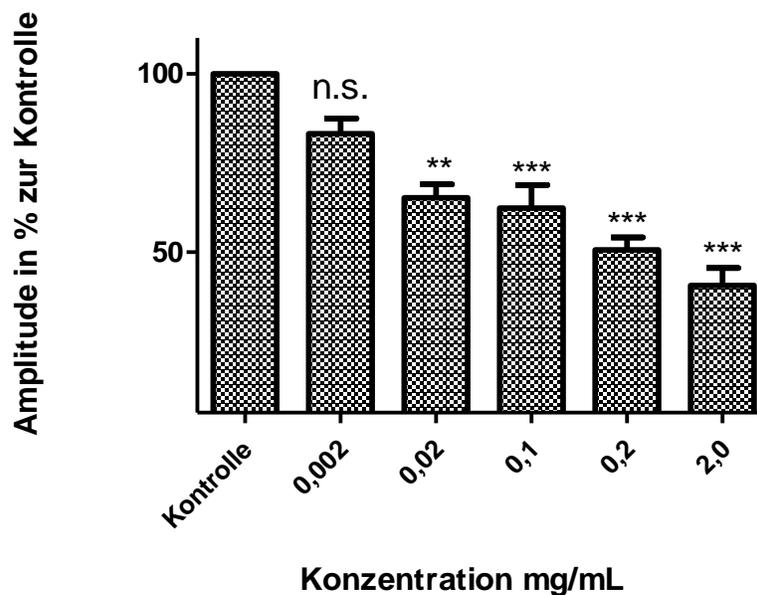


Abbildung 5: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf den Basaltonus un behandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Abbildung 5 stellt die Amplituden der Spontankontraktionen unter dem Einfluss ethanolischer Myrrhe-Extrakte bezogen auf die Kontrollkontraktion dar. Bei 0,002 mg/mL: 83,1%±4,2; bei 0,02 mg/mL: 65,2%±3,7; bei 0,1mg/mL: 62,4%±6,4; bei 0,2 mg/mL: 50,6%±3,5; bei 2 mg/mL: 40,6%±4,9.

Ergebnisse

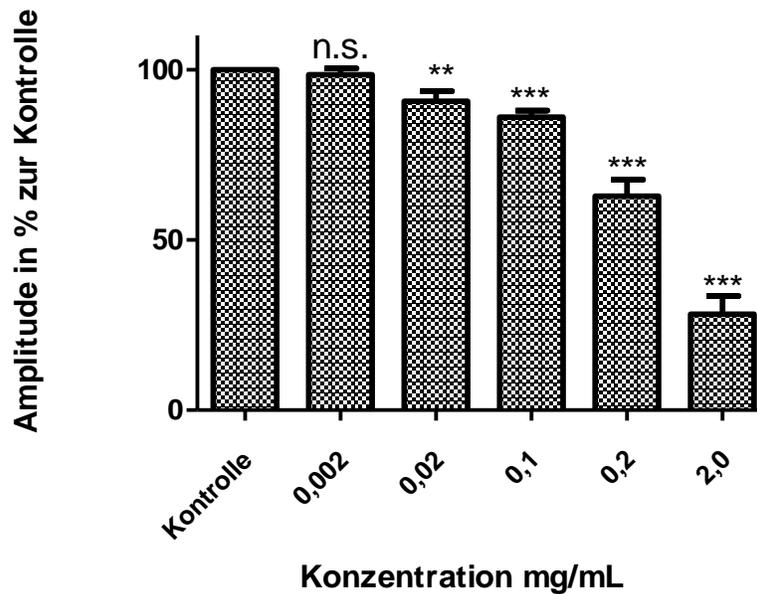


Abbildung 6: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Die aufsteigenden Konzentrationen an Myrrhe-Extrakt hatten auch auf der Ebene der Spannungs-induzierten Kontraktionen eine hemmende Wirkung. Abbildung 6 verdeutlicht die Verminderung der Amplitude dieser Kontraktionen unter dem Einfluss des ethanolischen Myrrhe-Extraktes. Bei 0,002 mg/mL: 98,5%±1,9; bei 0,02 mg/mL: 90,7%±2,9; bei 0,1mg/mL: 86%±1,9; bei 0,2 mg/mL: 62,9%±4,8; bei 2 mg/mL: 28,2%±5,2.

1.5.2 Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus

Die aufsteigenden Konzentrationen des ethanolischen Myrrhe-Extraktes hatten auch auf der Ebene der Neurotransmission eine hemmende Wirkung. Abbildung 7 verdeutlicht die Verminderung der Amplitude des EJP, ohne signifikante Wirkung auf das fIJP und sIJP unter dem Einfluss des ethanolischen Myrrhe-Extraktes im proximalen Kolon der Maus.

Ergebnisse

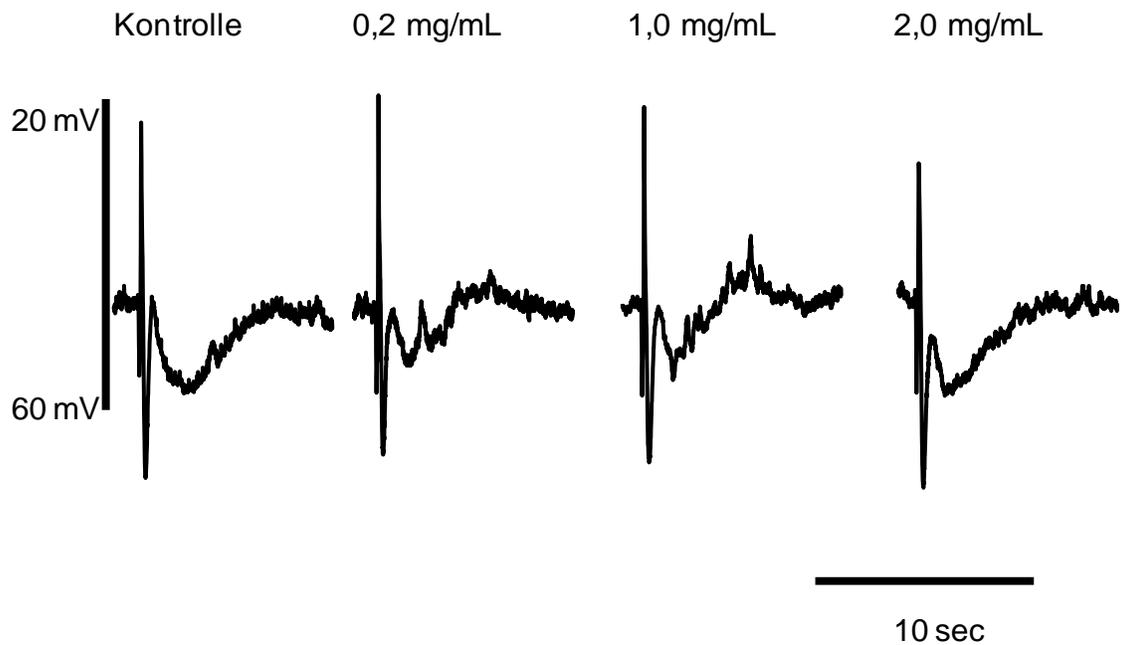
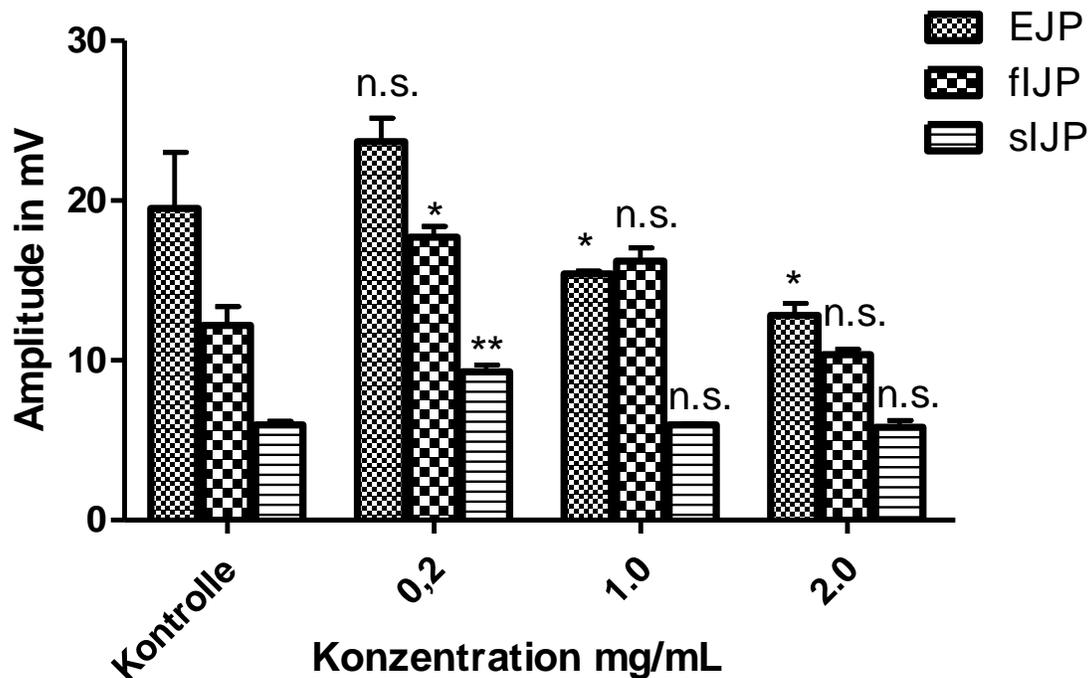


Abbildung 7: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.

Die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen, sowie der Einfluss des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus, sind graphisch und tabellarisch in Abbildung 8 dargestellt.

Ergebnisse



	EJP		fIJP		sIJP	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Kontrolle	19,5	3,5	12,2	1,2	6,0	0,2
0,2	23,7	1,5	17,7*	0,7	9,3**	0,4
1,0	15,4*	0,2	16,2	0,8	6,0	0,0
2,0	12,8*	0,7	10,4	0,3	5,8	0,4

Abbildung 8: Einfluss eines ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrege inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.

1.5.3 Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktionen unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Der wasserlösliche Myrrhe-Extrakt wurde in aufsteigenden Konzentrationen hinzugefügt, angefangen mit 0,002 mg/mL bis zu 10 mg/mL. Die Amplituden der Spannungs-induzierten Kontraktionen verminderten sich, jedoch in einem

Ergebnisse

kleineren Ausmaß als im Falle des ethanolischen Myrrhe-Extraktes. Abbildung 9 stellt eine Originalmessung der isometrischen Kontraktionsmessung dar.

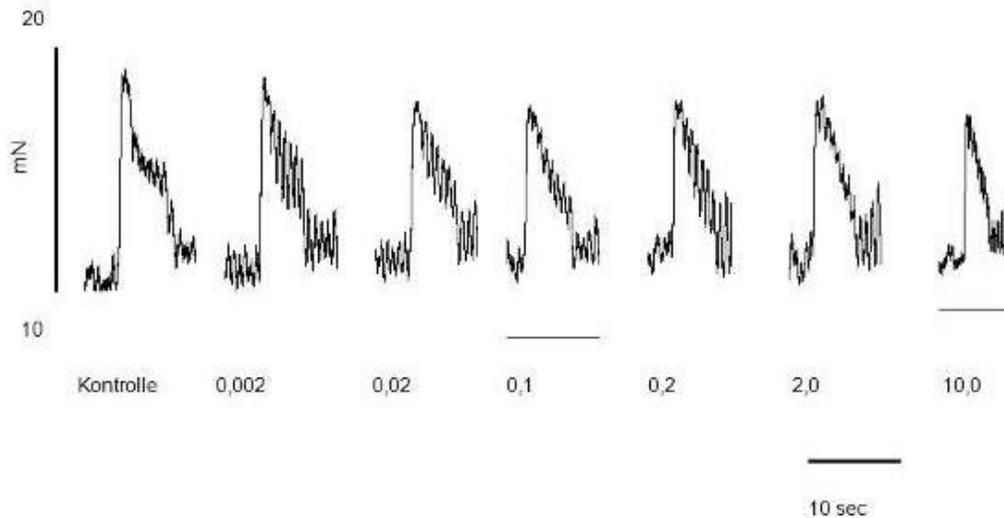


Abbildung 9: Originalregirat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL)

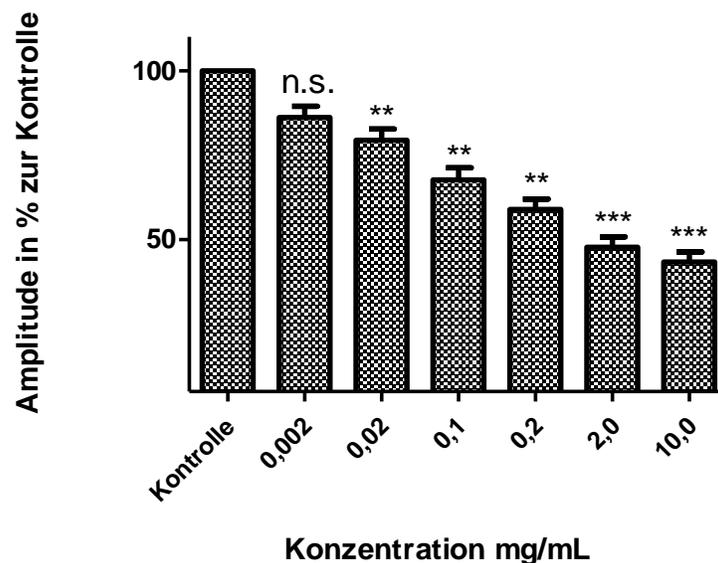


Abbildung 10: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL) auf dem Basaltonus unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Ergebnisse

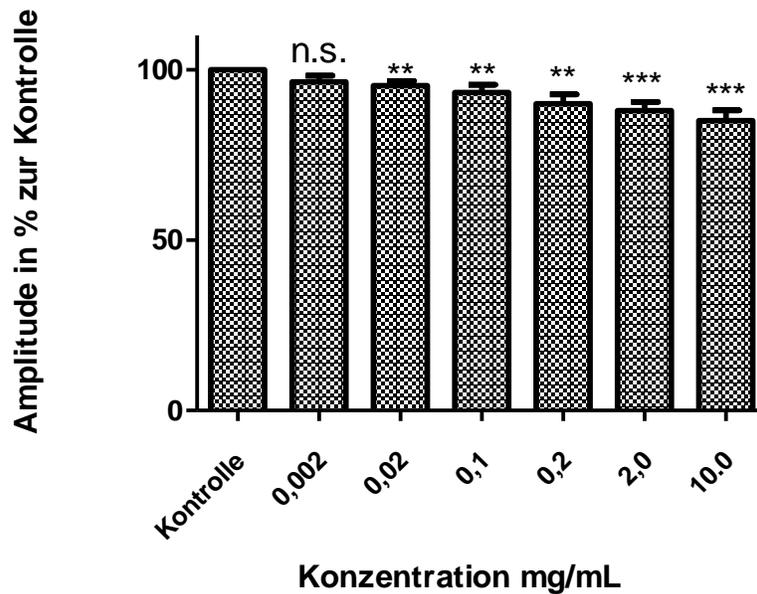


Abbildung 11: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,002-10 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

In Abbildung 10 sind die Spontankontraktionsamplituden unter dem Einfluss wasserlöslicher Myrrhe-Extrakte dargestellt, bezogen auf die Kontrollkontraktionen bei 0,002 mg/mL: $86,1\% \pm 3,3$; bei 0,02 mg/mL: $79,4\% \pm 3,3$; bei 0,1 mg/mL: $67,7\% \pm 3,6$; bei 0,2 mg/mL: $58,9\% \pm 3$; bei 2 mg/mL: $47,7\% \pm 3,1$; bei 10 mg/mL: $43,3\% \pm 2,9$.

Der Effekt auf den Basaltonus zeigt sich im Falle des wasserlöslichen Extraktes sogar signifikanter als der Einfluss desselben Extraktes auf die Spannungs-induzierten Kontraktionen. Abbildung 11 bestätigt das oben erwähnte. Bei 0,002 mg/mL: $96,4\% \pm 1,8$; bei 0,02 mg/mL: $95,3\% \pm 1,4$; bei 0,1 mg/mL: $93,3\% \pm 2,3$; bei 0,2 mg/mL: $89,9\% \pm 2,7$; bei 2 mg/mL: $87,9\% \pm 2,6$; bei 10 mg/mL: $85\% \pm 3$.

Ergebnisse

1.5.4 Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus

Die aufsteigenden Konzentrationen von wasserlöslichen Myrrhe-Extrakten haben auch auf der Ebene der Neurotransmission eine hemmende Wirkung. Die Abbildungen Abbildung 12 und Abbildung 13 verdeutlichen die Verminderung der Amplitude des EJP und IJP unter dem Einfluss des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes.

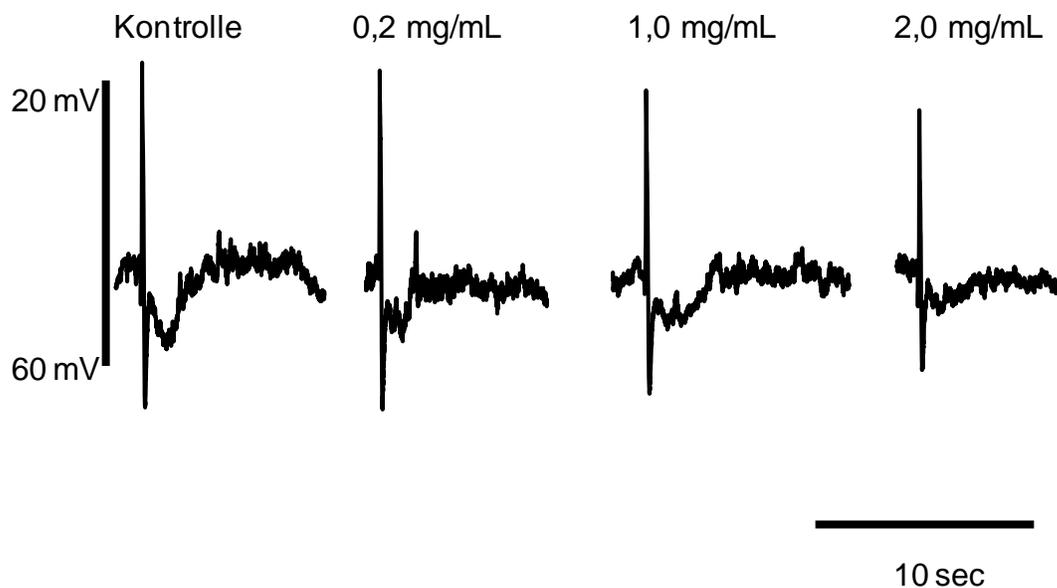
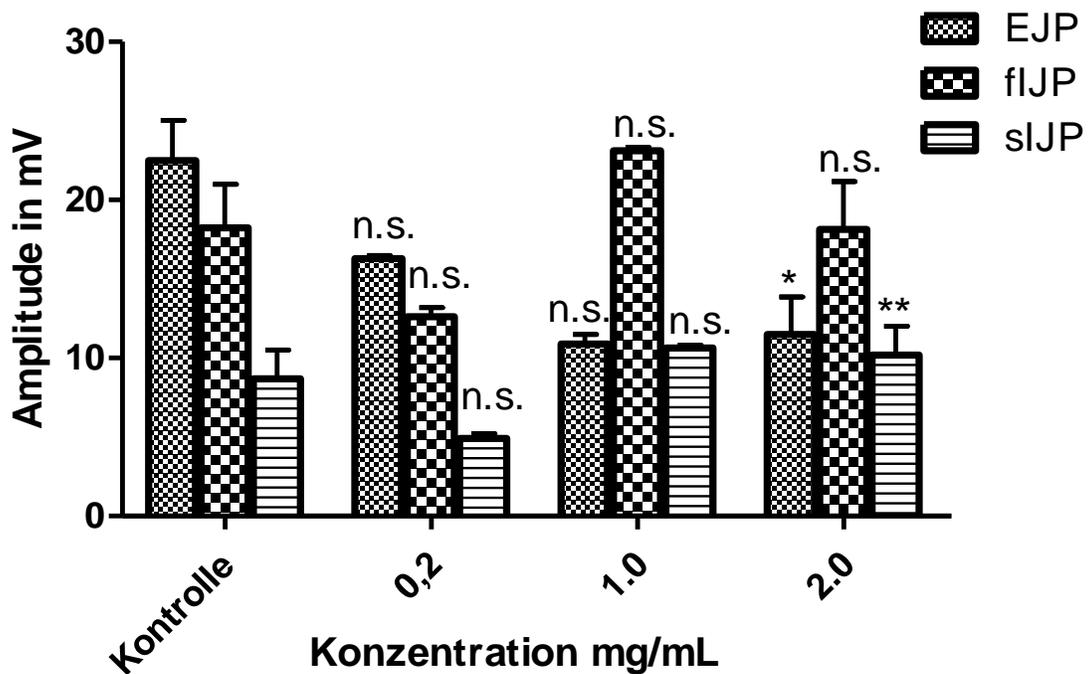


Abbildung 12: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.

Der Einfluss des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus ist graphisch und tabellarisch in Abbildung 13 dargestellt.

Ergebnisse



	EJP		fIJP		sIJP	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Kontrolle	22,5	2,5	18,2	2,7	8,7	1,8
0,2	16,3	0,2	12,6	0,6	4,9	0,3
1,0	10,9	0,6	23,1	0,2	10,6	0,2
2,0	11,5*	2,4	18,2	3,0	10,2*	1,8

Abbildung 13: Einfluss eines wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrergerge inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.

1.5.5 Einfluss eines Kamille-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Der Kamille-Extrakt wurde ebenfalls kumulativ (0,002 mg/mL-2 mg/mL) in den Organbäder verabreicht. Dabei beobachtete man eine deutliche Verminderung der Kontraktionsamplituden, so wie die Originalregistrare in Abbildung 14 zu sehen lassen.

Ergebnisse

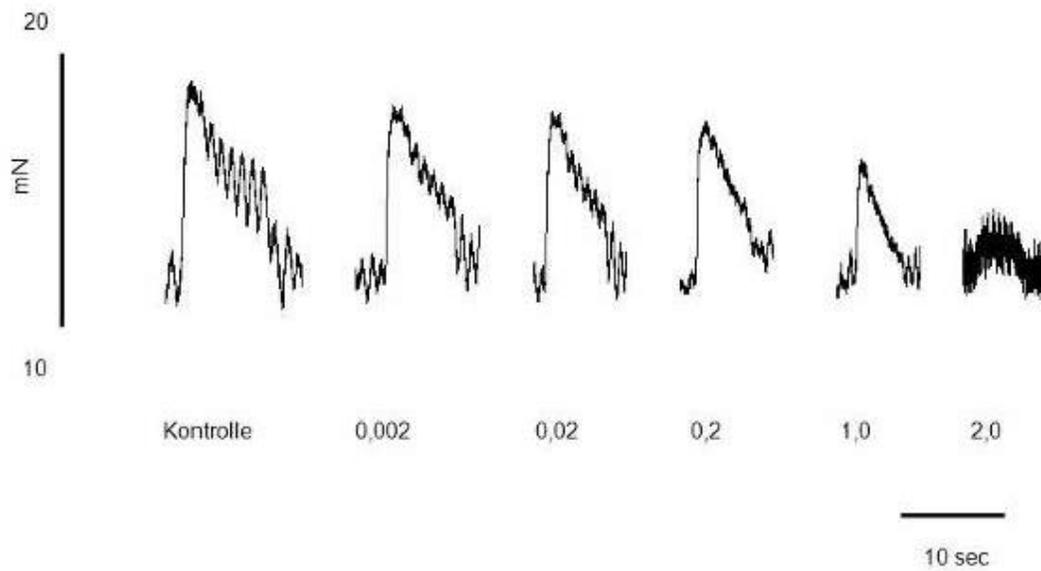


Abbildung 14: Originalregisrat der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL)

Die Konzentrationsabhängigkeit der Amplitudenverminderung ist in Abbildung 15 verdeutlicht.

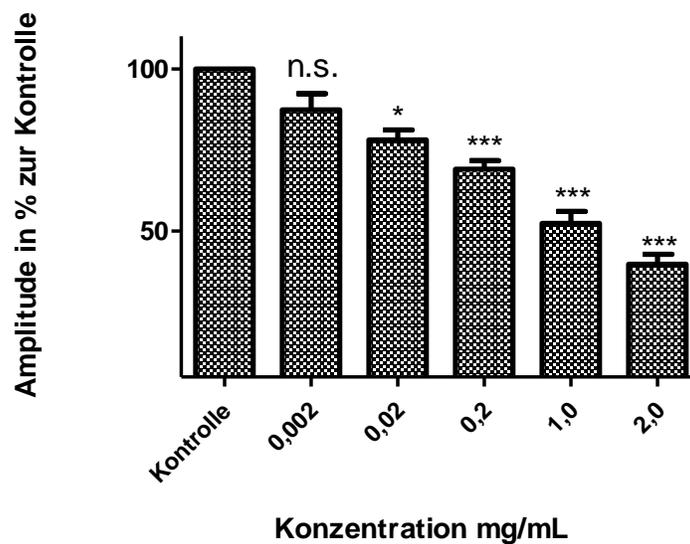


Abbildung 15: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf dem Basaltonus unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Ergebnisse

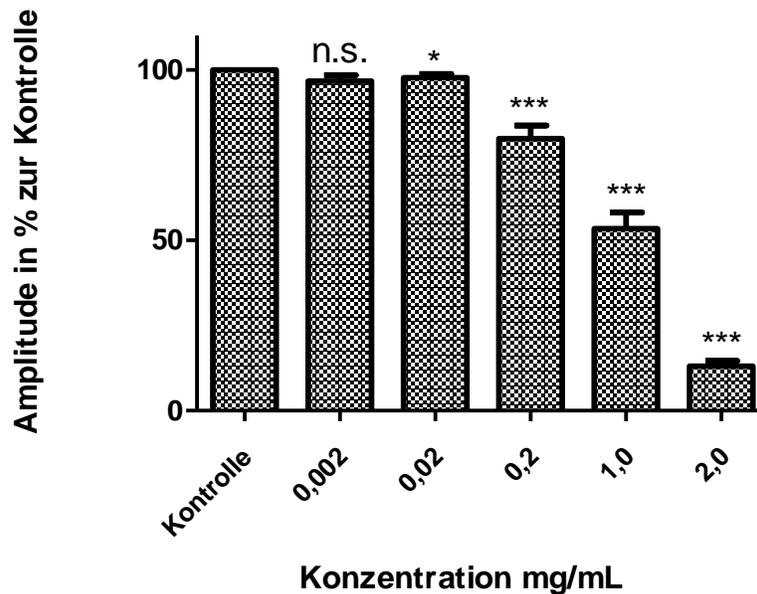


Abbildung 16: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Abbildung 15 stellt den Einfluss des Kamille-Extraktes auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate dar. Bei 0,002 mg/mL: $86,1\% \pm 3,3$; bei 0,02 mg/mL: $79,1\% \pm 3,1$; bei 0,2 mg/mL: $70,3\% \pm 2,7$; bei 1 mg/mL: $58,9\% \pm 3,9$; bei 2 mg/mL: $44,5\% \pm 3,6$.

Die Kamille-Trockenextrakte haben ebenfalls einen hemmenden Effekt bezüglich der Spannungs-induzierten Kontraktionen. Abbildung 16 stellt die deutliche Verminderung des Basaltonus unter Einfluss des Kamille-Extraktes dar. Bei 0,002 mg/mL: $96,7\% \pm 1,7$; bei 0,02 mg/mL: $97,7\% \pm 1,1$; bei 0,2 mg/mL: $79,7\% \pm 3,8$; bei 1 mg/mL: $53,4\% \pm 4,7$; bei 2 mg/mL: $13\% \pm 1,6$

1.5.6 Einfluss eines Kamille-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus

Die aufsteigenden Konzentrationen von Kamille-Extrakte haben auf der Ebene der Neurotransmission eine signifikante Wirkung auf dem sIJP in der höchsten

Ergebnisse

Konzentration. Abbildung 17 verdeutlicht die Verminderung der Amplitude der EJP und die nicht-signifikante Wirkung auf dem IJP im proximalen Kolon der Maus.

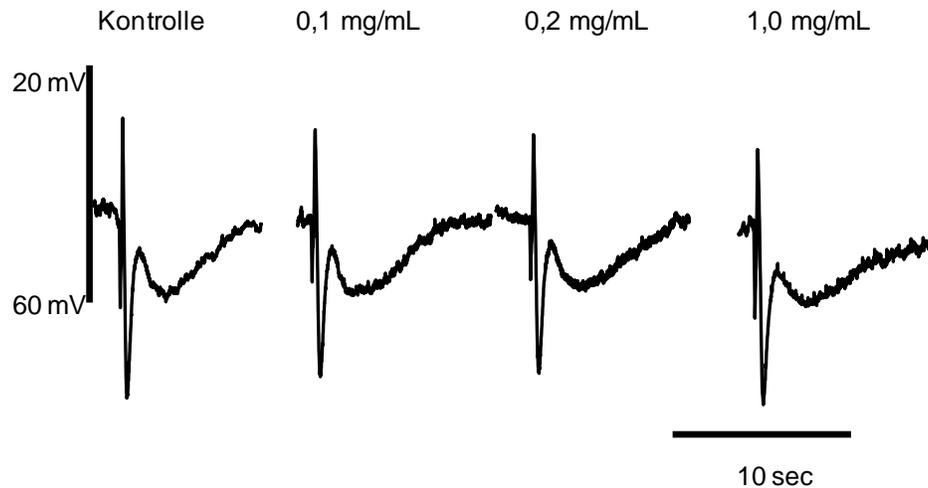
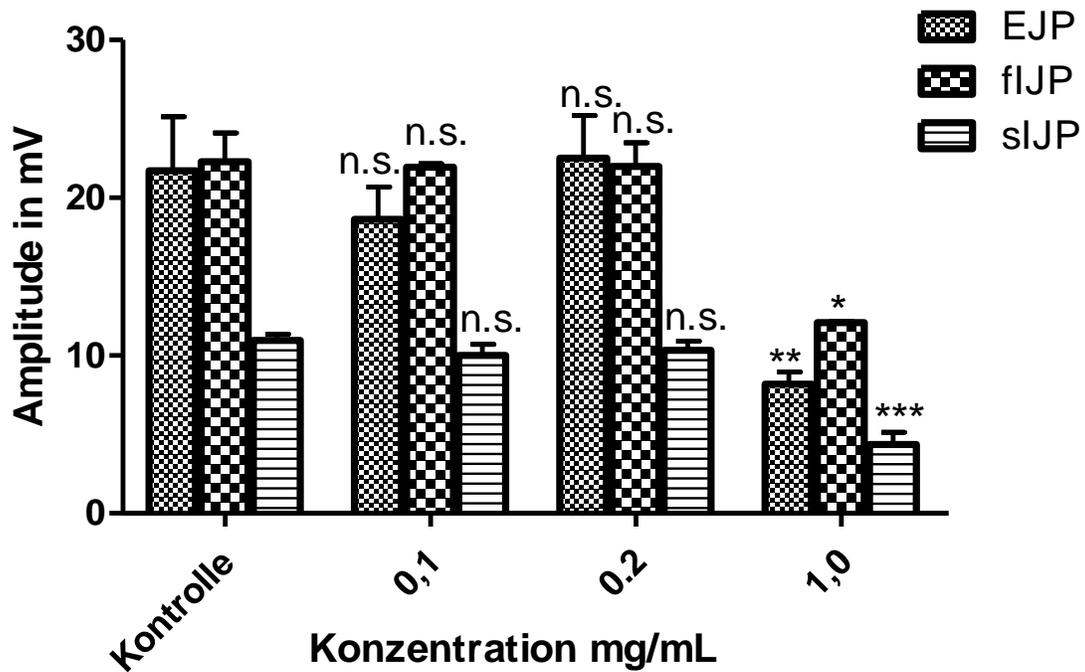


Abbildung 17: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt des Kamille-Extraktes auf dem EJP und dem IJP im Kolon der Maus darstellt.

Die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen und der Einfluss des Kamille-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus sind graphisch und tabellarisch in Abbildung 18 dargestellt.

Ergebnisse



	EJP		fIJP		sIJP	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Kontrolle	21,7	3,4	22,3	1,8	11,0	0,4
0,1	18,6	2,0	21,9	0,2	10,0	0,7
0,2	22,5	2,7	22,0	1,5	10,3	0,6
1	8,2**	0,8	12,1*	0,1	4,4***	0,8

Abbildung 18: Einfluss des Kamille-Extraktes (0,1-1,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitridge inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.

1.5.7 Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Im Vergleich zu den anderen untersuchten Pflanzenextrakten zeigte der Kaffeekohle-Extrakt einen etwas verlangsamten Effekt bezüglich der Verminderung der Kontraktionsamplituden. Mit steigender Konzentration trat aber eine Reduktion der Amplituden auf. Ab 1 mg/mL wurde der Abfall der

Ergebnisse

Kontraktionsamplitude deutlich, außerdem erschien eine starke Schaumbildung in den Organbädern. Abbildung 19 verdeutlicht die mittels Verstärker aufgenommenen Kontraktionsamplituden.

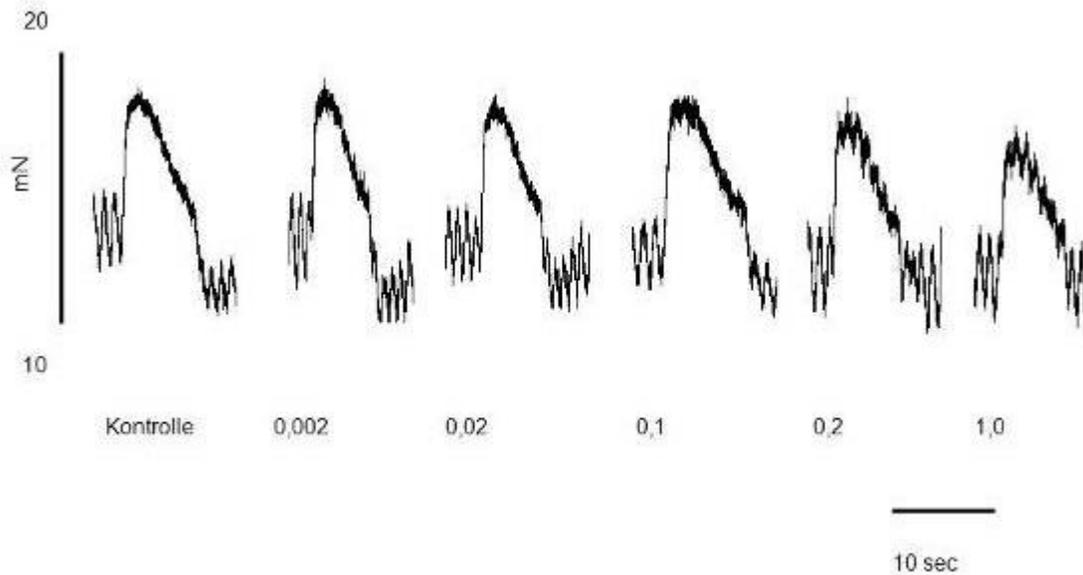


Abbildung 19: Originalregistrar der isometrischen Spannungs-induzierten Kontraktion unter dem Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes (0,002-1 mg/mL)

Ergebnisse

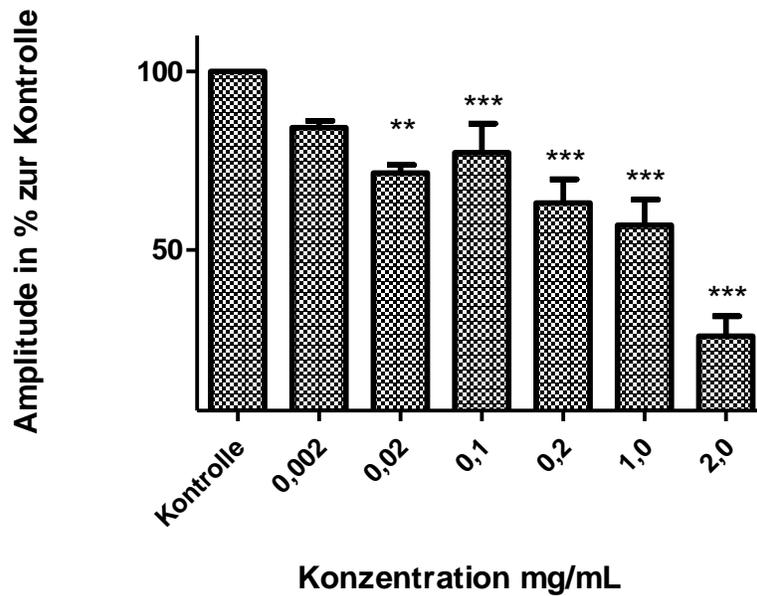


Abbildung 20: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

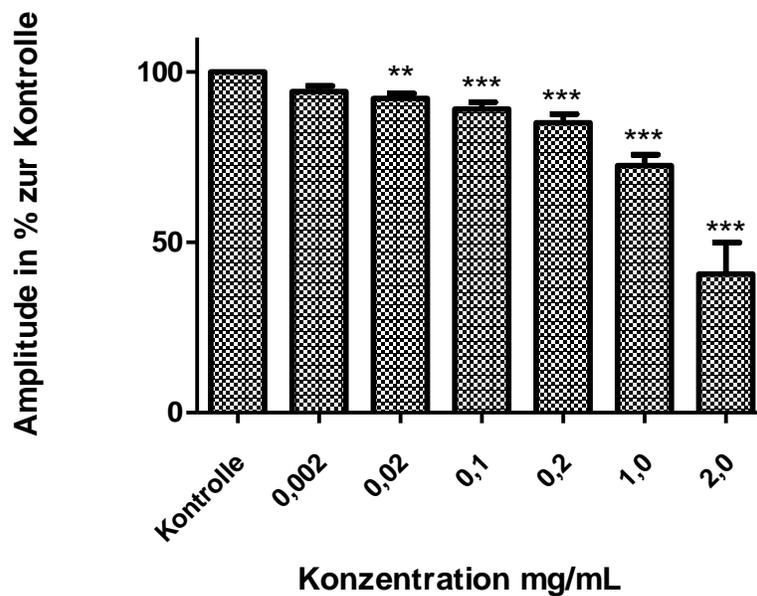


Abbildung 21: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,002-2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Ergebnisse

Abbildung 20 stellt die Spontankontraktionsamplituden in Prozent dar, bezogen auf die ausgewählte Kontrollkontraktion. Ein Abfall der Spontankontraktionen trat mit steigenden Konzentrationen des pflanzlichen Extraktes ein, wurde aber erst ab 1 mg/mL signifikant. Bei: 0,002 mg/mL: $84,2\% \pm 1,9$; bei 0,02 mg/mL: $71,5\% \pm 2,3$; bei 0,1 mg/mL: $77,2\% \pm 8,1$; bei 0,2 mg/mL: $63,1\% \pm 6,6$; bei 1 mg/mL: $56,9\% \pm 7,1$; bei 2 mg/mL: $25,8\% \pm 5,6$. Zudem fand bei hoher Konzentration auch eine starke Schaumbildung in den Organbäder statt.

Entsprechend der Abbildung 21 war es deutlich, dass Kaffeekohle einen größeren hemmenden Einfluss auf dem Basaltonus hat, im Vergleich zur Amplitude der Spannungs-induzierten Kontraktion. So wie oben erwähnt, trat im Falle des Kaffeekohle-Extraktes eine etwas verlangsamte Verminderung der Spannungs-induzierten Kontraktionsamplitude auf. Bei 0,002 mg/mL: $94,2\% \pm 1,6$; bei 0,02 mg/mL: $92,1\% \pm 1,5$; bei 0,1 mg/mL: $89,1\% \pm 2$; bei 0,2 mg/mL: $85\% \pm 2,5$; bei 1 mg/mL: $72\% \pm 3,1$; bei 2 mg/mL: $40,6\% \pm 9,2$.

1.5.8 Einfluss eines Kaffeekohle-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Veränderungen in der neuromuskulären Übertragung, zeigte der Kaffeekohle-Extrakt in steigender Konzentration eine hemmende Wirkung auf das fIJP (Abbildung 22). Die Amplitude des EJP und sIJP blieben unbeeinflusst von Kaffeekohle-Extrakten.

Ergebnisse

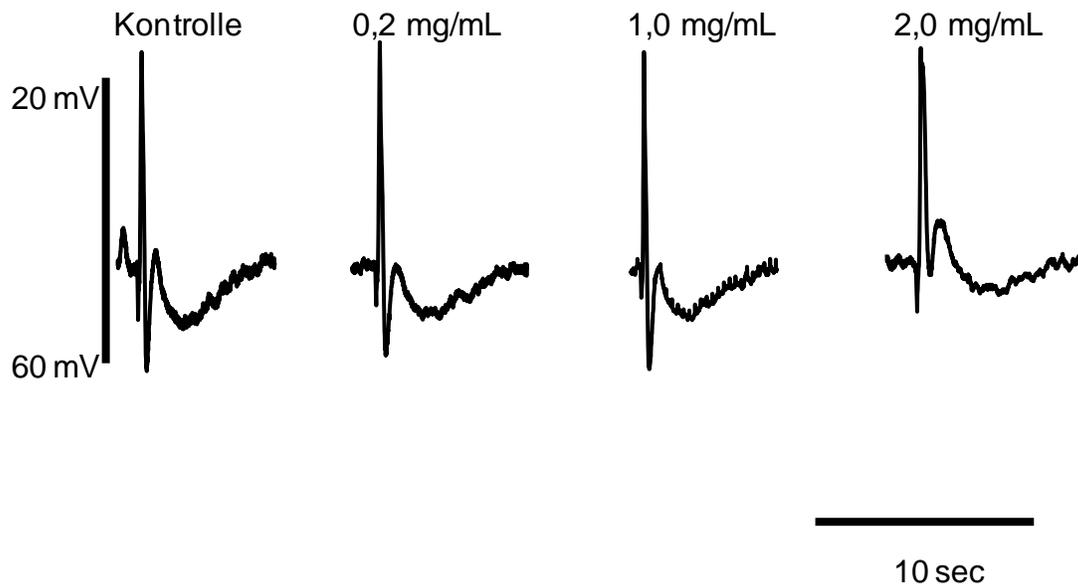
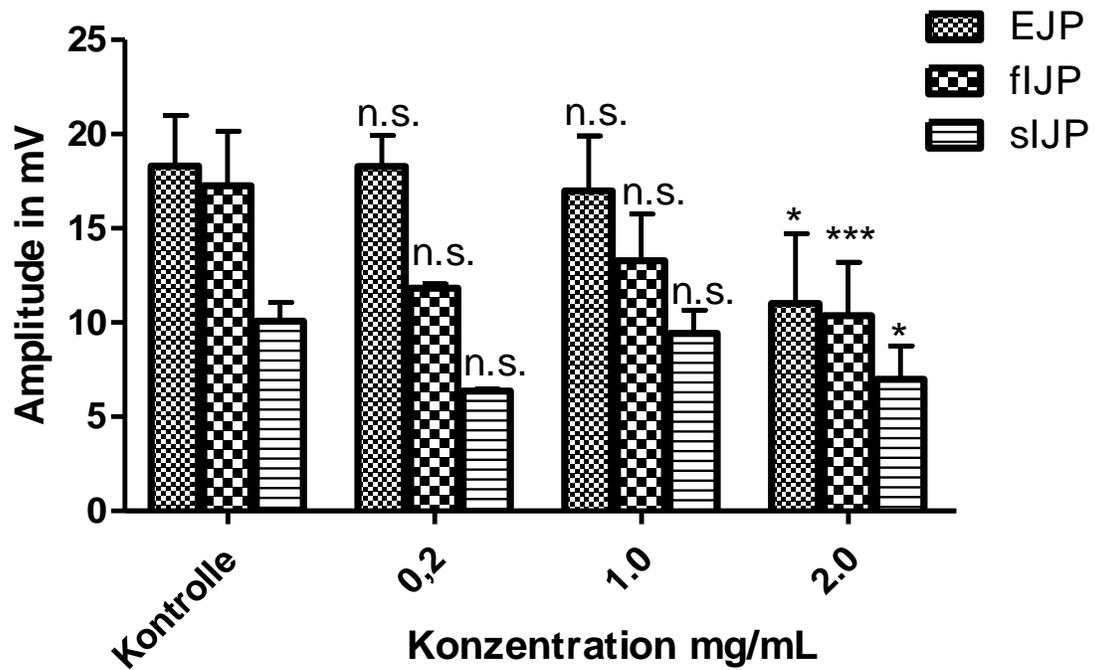


Abbildung 22: Exemplarische Aufzeichnung, die den konzentrationsabhängigen inhibitorischen Effekt von Kaffeekohle-Extrakt auf EJP und IJP im Kolon der Maus darstellt.

Die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen und der Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes auf die Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus sind graphisch und tabellarisch in Abbildung 23 dargestellt.

Ergebnisse



	EJP		fIJP		sIJP	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Kontrolle	18,3	2,7	17,3	2,9	10,1	1,0
0,2	18,3	1,7	11,8	0,2	6,4	0,1
1,0	17,0	2,9	13,3	2,5	9,4	1,2
2,0	11,0*	3,7	10,4***	2,8	7,0*	1,8

Abbildung 23: Einfluss des Kaffeekohle-Extraktes (0,2-2,0 mg/mL) auf die cholinerge exzitatorische, peptiderge und nitrege inhibitorische Neurotransmission im proximalen Kolon der Maus.

Ergebnisse

1.6 Untersuchung der Wirkung kombinierter pflanzlicher Extrakte

1.6.1 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und dem Kaffeekohlenextrakt auf dem Basaltonus und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Die Kombination dieser drei Extrakte entsprach der Zusammensetzung des Phytopharmakons *Myrrhinil Intest*[®]. Somit konnte man einen besseren Einblick bezüglich der Wirkung dieses Präparates erzielen. Abbildung 24 verdeutlicht die Wirkung des Phytopharmakons in der Senkung der basalen Kontraktion, Abbildung 25 stellt die graphische Darstellung der Wirkung dieser Kombination bei der Senkung der EFS-induzierten Kontraktion dar.

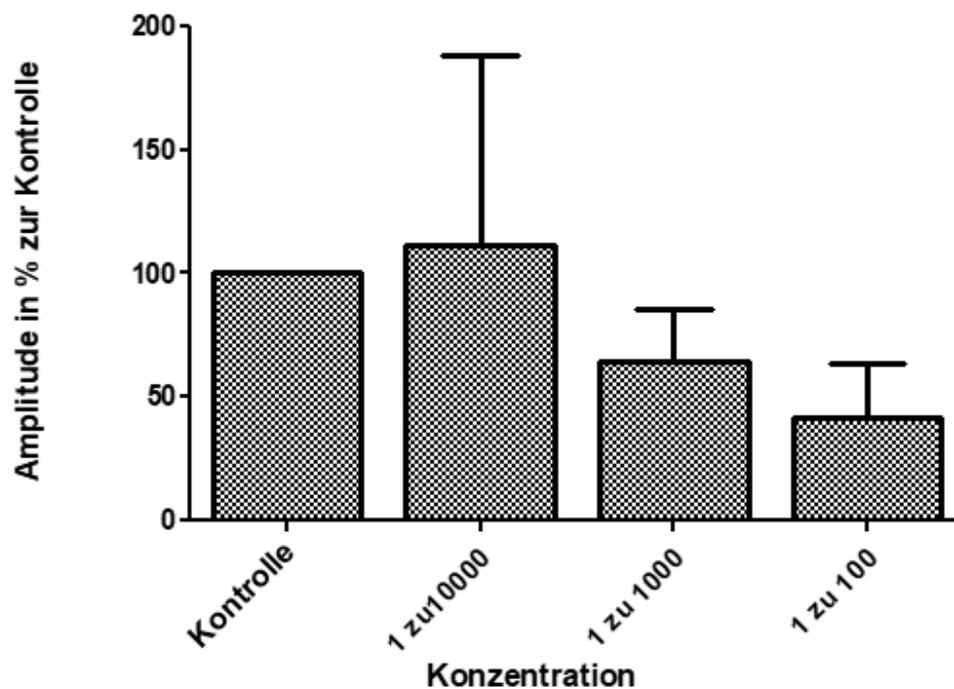


Abbildung 24: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und Kaffeekohle-Extrakt in steigender Konzentration (1:10000 - 1:100) auf dem Basaltonus unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Ergebnisse

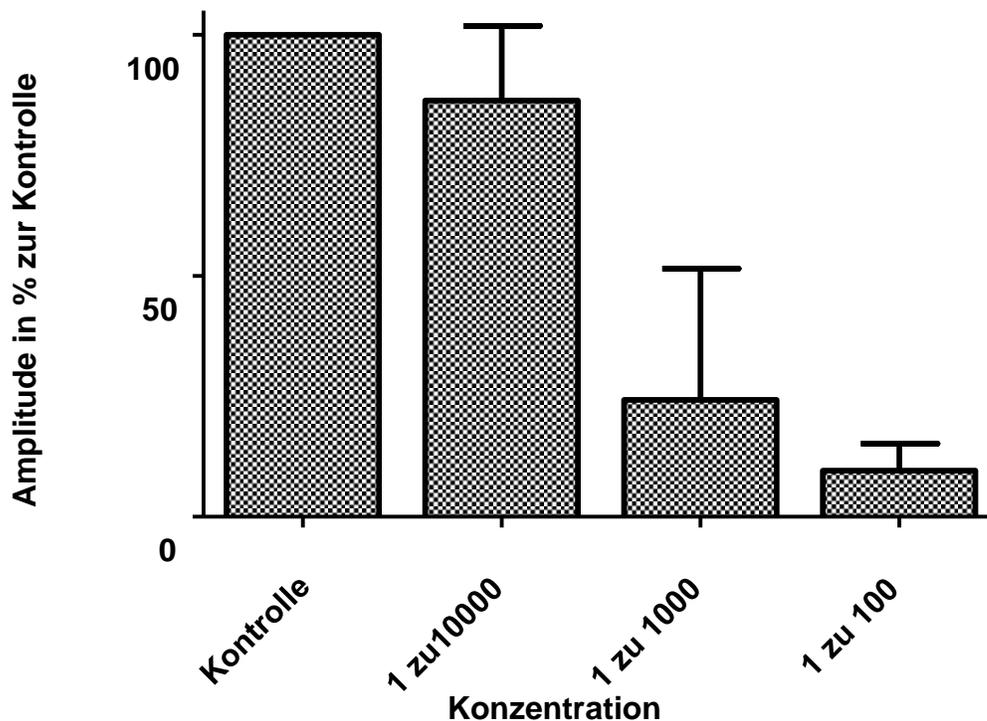


Abbildung 25: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille- und Kaffeebohle-Extrakt in steigender Konzentration (1:10000 - 1:100) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus.

Die Zugabe steigender Konzentrationen des Präparates führte zu signifikanten Verminderungen der Amplituden der Basalkontraktion glatter Muskelzellen: bei 1:10.000: $111,11\% \pm 72,02$; bei 1:1000: $64,4\% \pm 19,37$; bei 1:10: $41,7\% \pm 20,44$.

Im Falle der Spannungs-induzierten Kontraktion zeigten sich folgende Werte bei schrittweiser Zugabe der Kombination der drei obengenannten Extrakte: bei 1:10.000: $86,3\% \pm 14,5$; bei 1:1000: $24,3\% \pm 25,4$; bei 1:10: $9,5\% \pm 5,2$.

Ergebnisse

1.6.2 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille-Extrakt auf dem Basaltonus und auf der Spannungs-induzierten Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Im Sinne eines besseren Verständnisses bezüglich der synergistischen Wirkung der pflanzlichen Extrakte die im *Myrrhinil Intest*[®] enthalten sind, erfolgte die einmalige Gabe von 0,02 mg/mL des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit darauffolgender Zugabe steigender Konzentrationen des Kamille-Extraktes (0,002 mg/mL - 2 mg/mL). Die untenstehenden Abbildungen (Abbildung 26, Abbildung 27 zeigen die signifikante Wirkung dieser Kombination in der Verminderung der Amplituden sowohl der basalen, als auch der Spannungs-induzierten Kontraktion.

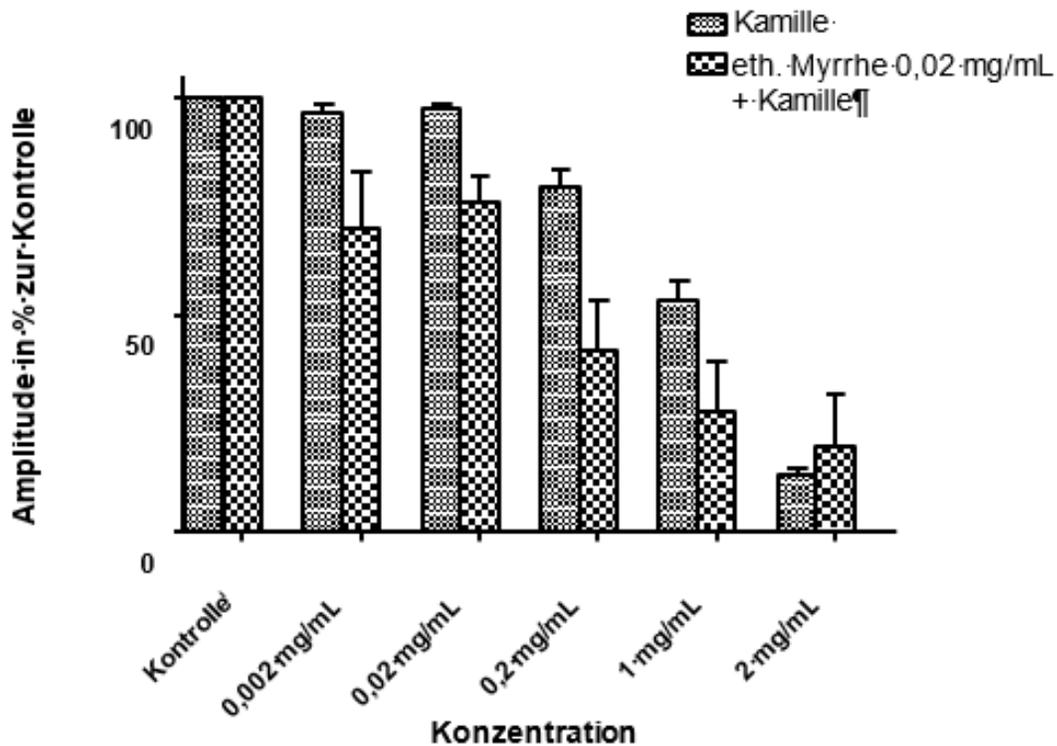


Abbildung 26: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) und steigenden Konzentrationen des Kamille-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die Spontankontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kamillenblütenextraktes.

Ergebnisse

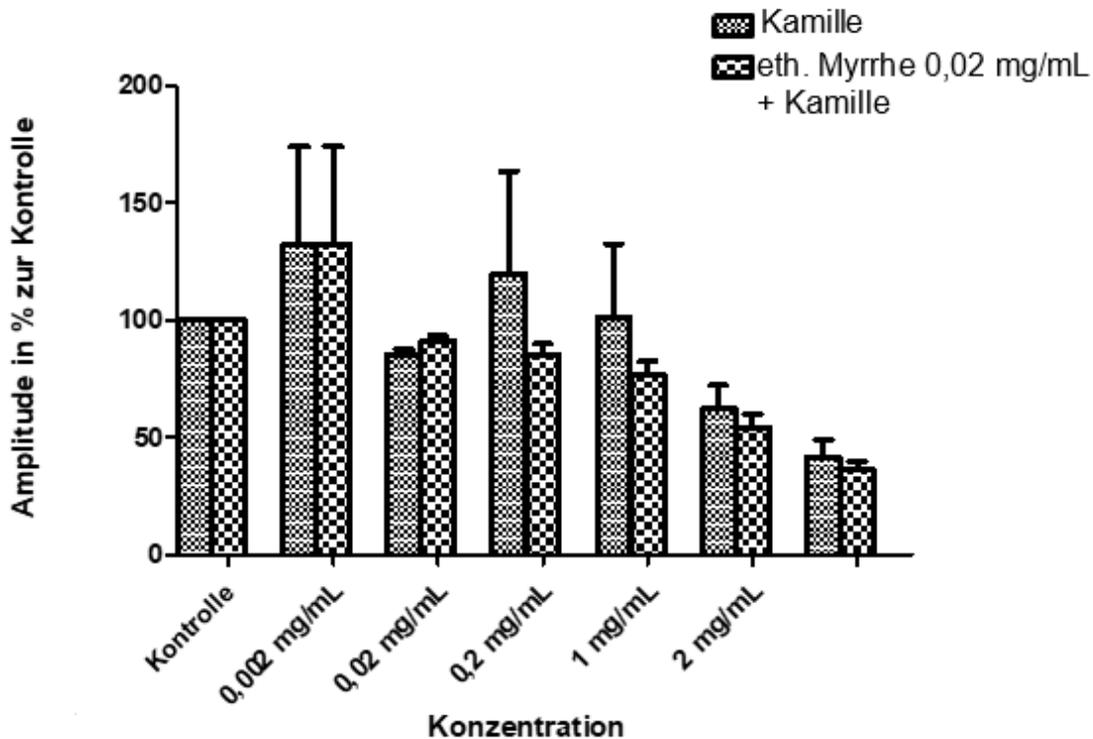


Abbildung 27: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kamille-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die Spannungs-induzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kamillenblütenextraktes.

Die einmalige Gabe von 0,02 mg/mL ethanolischen Myrrhe-Extrakt und die darauffolgende Zugabe steigender Konzentrationen des Kamille-Extraktes zeigte folgende Veränderungen der Amplituden der Basalkontraktion glatter Muskelzellen im Vergleich zur interventionsfreien Kontrolle: bei 0,002 mg/mL: $42,7\% \pm 49,3$, bei 0,02 mg/mL: $95,6\% \pm 120,5$, bei 0,2 mg/mL $81,1 \pm 88,5$, bei 1 mg/mL: $49,6\% \pm 36,4$; bei 2 mg/mL: $41,4\% \pm 20,9$.

Bezüglich der Veränderungen der Spannungs-induzierten Kontraktion glatter Muskelzellen bei obengenanntem Ansatz zeigten sich folgende Ergebnisse: bei

Ergebnisse

0,002 mg/mL: 35,0%±41,7, bei 0,02 mg/mL: 60,9%±35,6, bei 0,2 mg/mL 33,7±33,7, bei 1 mg/mL: 22,2%±30,7; bei 2 mg/mL: 19,9%±33,8.

1.6.3 Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kaffeekohle-Extrakt auf dem Basaltonus und auf der spannungsinduzierten Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus

Ähnlich zum Versuchsaufbau der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit dem Kamille-Extrakt, wurde auch in diesem Fall einmalig 0,02 mg/mL des ethanolischen Myrrhe-Extraktes zugegeben. Darauffolgend wurden steigende Konzentrationen (0,002 – 2 mg/mL) des Kaffeekohle-Extraktes hinzugefügt. Dabei konnte man den langsamen und statistisch niedrig signifikanten Effekt dieses Extraktes bemerken (Abbildung 28, Abbildung 29). Diese Tatsache gilt sowohl bezüglich der basalen Kontraktion, als auch bezüglich der Spannungs-induzierten Kontraktion.

Ergebnisse

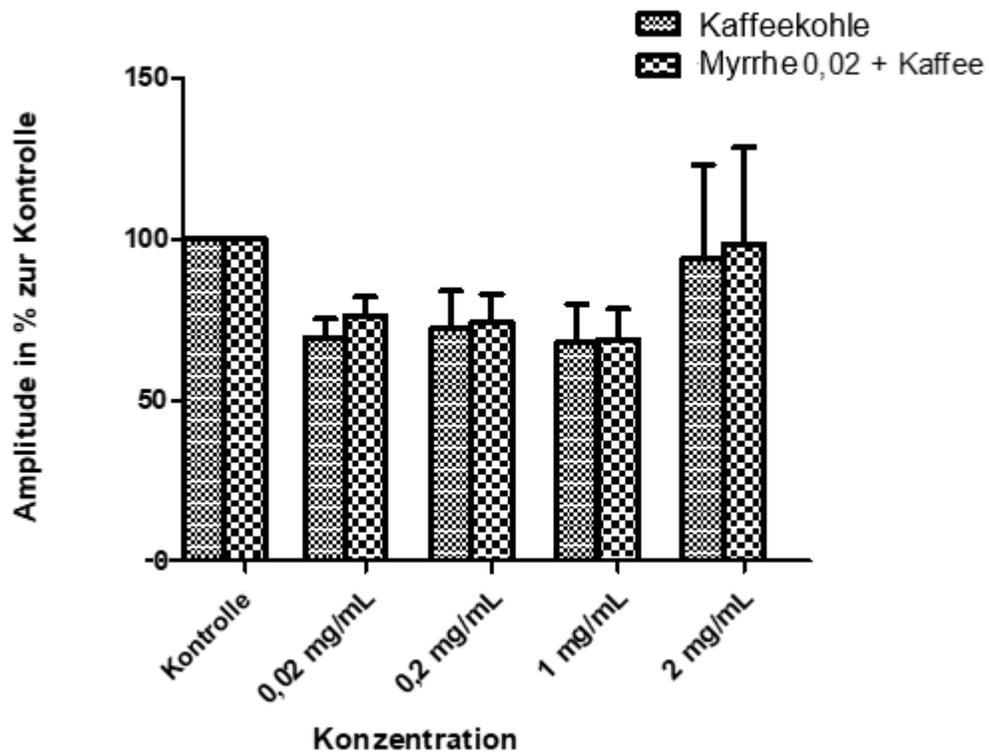


Abbildung 28: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kaffeekohle-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die Spontankontraktion un behandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kaffeekohlenextraktes.

Ergebnisse

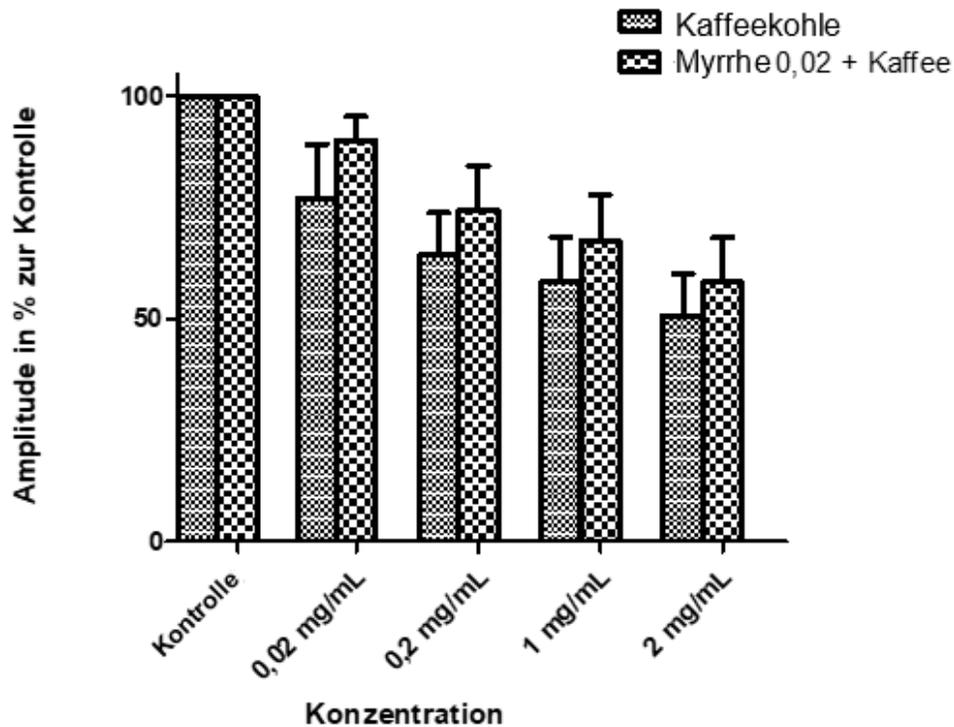


Abbildung 29: Einfluss der Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes (0,02 mg/mL) mit steigenden Konzentrationen des Kaffeekohle-Extraktes (0,002 - 2 mg/mL) auf die spannungsinduzierte Kontraktion unbehandelter Dünndarmpräparate der Maus im Vergleich zur Wirkung der alleinigen Gabe des Kaffeekohlenextraktes.

Die einmalige Gabe von 0,02 mg/mL ethanolischen Myrrhe-Extraktes und die darauffolgende Zugabe steigender Konzentrationen des Kaffeekohlen-Extraktes zeigte folgende Verminderungen der Amplituden der Basalkontraktion glatter Muskelzellen im Vergleich zur interventionsfreien Kontrolle: bei 0,02 mg/mL: $34,8\% \pm 40,3$, bei 0,1 mg/mL: $57,8\% \pm 42,2$, bei 0,2 mg/mL $54,3 \pm 41,3$, bei 1 mg/mL: $75,1\% \pm 82,7$.

Im Falle der Spannungs-induzierten Kontraktion zeigten sich folgende Werte bei schrittweiser Zugabe des Kaffeekohlen-Extraktes nach initialer Gabe von 0,002 mg/mL des ethanolischen Myrrhe-Extraktes: bei 0,02 mg/mL: $38,6\% \pm 45,4$, bei 0,1 mg/mL: $51,5\% \pm 35,9$, bei 0,2 mg/mL $46,8 \pm 34,8$, bei 1 mg/mL: $40,6\% \pm 31,6$.

Diskussion

1.7 Allgemeine Diskussion

1.7.1 Funktionelle gastrointestinale Erkrankungen

Epidemiologische Studien belegen, dass die Inzidenzen und die Prävalenzen der gastrointestinalen Funktionsstörungen sehr hoch sind, so werden z.B. für die Dyspepsie und das Reizdarmsyndrom (Irritable bowel syndrome; IBS) Prävalenzen im Bereich von 10-15 % der Bevölkerung, in manchen Studien sogar bis zu 25%, berichtet^{28,29}.

Funktionelle gastrointestinale Erkrankungen sind häufiger Grund ärztlicher Inanspruchnahme und verursachen einen hohen Leidensdruck. Die Symptome sind unspezifisch und können nicht einem Organ zugeordnet werden. Zudem treten oft überlappende Beschwerden auf, die auf Beteiligung verschiedener Organe hindeuten. Zahlreiche dieser Funktionsstörungen sind sehr präsent; hier wären die Refluxerkrankung, die Dyspepsie, das Reizdarmsyndrom und die chronische Obstipation zu nennen. Aufgrund der völlig unspezifischen Symptomatik, der nicht vollständig bekannten Pathophysiologie und der fehlenden spezifischen Untersuchungsergebnisse oder Biomarker, ist die Diagnosestellung auf die Erfassung von Symptommustern nach den Rom IV Kriterien angewiesen³⁰.

1.7.2 Reizdarmsyndrom (*irritable bowel syndrome*, IBS)

Das IBS ist eine der häufigsten Erkrankungen aus der Gruppe der funktionellen gastrointestinalen Erkrankungen (FGD). Entsprechend der epidemiologischen Studien sind Patienten aller Altersgruppen betroffen, wobei jüngere Frauen insbesondere der Altersgruppe 20-30 Jahre häufiger ärztlichen Rat suchen^{31,32}. Die Erkrankung wird entsprechend dem führenden Symptom eingeteilt. Somit werden ein Diarrhö-dominantes Reizdarmsyndrom (RDS-D), ein Obstipations-dominantes Reizdarmsyndrom (RDS-C) oder ein alternierender Typ (RDS-M) unterschieden³³. Diese Unterscheidung ist insbesondere bei der symptomatischen

Diskussion

Therapie von Bedeutung. Aufgrund der hohen Prävalenz könnte das RDS als Volkskrankheit benannt werden. Es verursacht durch die Beeinträchtigung von Lebensqualität und Arbeitsfähigkeit Einschränkungen der Lebensqualität, kann aber auch teilweise zu ökonomischen Schäden führen ³⁴.

Die Ätiologie und Pathophysiologie des RDS sind im Wesentlichen unklar. Diskutiert wird, dass es sich dabei möglicherweise um eine gemeinsame symptomatische Präsentation unterschiedlichster Störungen handeln könnte. Die Symptome des RDS, wie Schmerzen, Meteorismus und Stuhlveränderungen und –unregelmäßigkeiten haben keinen entsprechenden organischen Schaden, der durch diagnostische Verfahren objektiviert werden konnte. In zahlreichen Publikationen werden Veränderungen der gastrointestinalen Motilität, Veränderungen von Schmerzwahrnehmung (viszerale Hyperalgesie), Neurotransmission, des intestinalen Mikrobioms, sowie psychologische und immunologische Veränderungen als pathophysiologisch bedeutend diskutiert. Einige dieser Erkenntnisse haben auch den Weg für entsprechende Therapieansätze vorbereitet ³³⁻³⁶.

Die aktuelle Therapie wurde 2011 in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Deutschen Gesellschaft für Neurogastroenterologie und Motilität (DGNM) publiziert ^{13,14,37}. Empfohlen werden je nach führendem Symptom verschiedene Therapien, bei denen Ballaststoffe, Antidiarrhöika, Carminativa, Phytotherapeutika, Laxantien, Spasmolytika, Analgetika oder Antidepressiva zum Einsatz kommen ¹⁴. Eine Kurzfassung der aktuellen Therapieprinzipien ist in Tabelle 1 dargestellt.

Diskussion

Generelles Therapieprinzip	Vermittlung eines plausiblen individuellen Krankheitsmodells und eines kongruenten Behandlungskonzepts. Die medikamentöse Therapie soll symptomorientiert erfolgen.
Therapie der Schmerzen	Spasmolytika; lösliche Ballaststoffe; trizyklische Antidepressiva selektive Serotonin <i>reuptake</i> Inhibitoren (SSRI) 5-HT ₃ -Antagonisten (z.B. Alosetron) Probiotika; Phytotherapeutika
Therapie der Diarrhö	Loperamid; 5-HT ₃ -Antagonisten (z.B. Alosetron, Ondansetron) Cholestyramin; Probiotika
Therapie der Stuhlunregelmäßigkeiten	Phytotherapeutika Spasmolytika
Therapie der Obstipation	wasserlösliche Gelbildner wie z.B. Flohsamenschalen (Psyllium) osmotische Laxantien vom Macrogoltyp andere osmotische oder stimulierende Laxantien Probiotika; Pflanzenmischung STW-5; Spasmolytika SSRI; Prucaloprid in therapierefraktären Fällen

Tabelle 1: Therapie des Reizdarmsyndroms entsprechend der aktuellen Leitlinie^{14,37}

1.7.3 Das enterische Nervensystem

Die Funktionen des Gastrointestinaltraktes unterliegen komplexen Kontrollmechanismen, die über ein eigenständiges, in der Darmwand lokalisiertes Nervensystem reguliert werden: das enterische Nervensystem (ENS)³⁸. Dieses komplexe System ist aus zwei Netzwerksystemen aufgebaut: Der Plexus submucosus (Meissner), der zwischen der Zirkulärmuskulatur und der Mukosa liegt, und der Plexus myentericus (Auerbach), lokalisiert zwischen der Zirkulär- und Längsmuskulatur. Diese beiden Nervengeflechte sind durch ein dichtes Netzwerk von Fasersträngen untereinander verbunden und mit Effektororganen oder anderen Teilen des autonomen Nervensystems verbunden. Somit kann das autonome Nervensystem als Funktionseinheit mit insgesamt drei funktionell voneinander unabhängigen Teilsystemen angesehen werden. Diese drei Systeme

Diskussion

sind: das sympathische, das parasympathische und das enterische Nervensystem. Das enterische Nervensystem ist die größte bekannte Ansammlung von Nervenzellen außerhalb des Gehirns und besitzt eigene sensorische, Inter - und Motoneurone. Diese fungieren als Chemo- oder Mechanorezeptoren und übertragen und übersetzen Informationen und Stimuli auf die Darmwand, die dann innerhalb des enterischen Nervensystems weitergeleitet werden. Interneurone nehmen Signale auf und übertragen die Information weiter auf Motoneurone. Deren Erregbarkeit wird dadurch reguliert und dadurch kommt es zu Modulation der Aktivität der Muskulatur und der Mukosa³⁹.

1.7.4 Neuromuskuläre Interaktionen im Gastrointestinaltrakt

Die Eigenständigkeit des ENS begründete Langley im Jahr 1899 mit der Beobachtung, dass selbst in einem isolierten Dünndarmsegment in vitro, die gerichtete Propulsion eines intraluminalen Bolus vorhanden war. Die intestinale Propulsion wird durch eine orale Muskelkontraktion und eine anale Muskelrelaxation, ausgelöst durch einen Stimulus verursacht⁴⁰. Aufgrund seiner grundlegenden Bedeutung für den Magen-Darm-Trakt wurde dieser Reflex 1899 von Bayliss und Starling als "*law of the intestine*", also als Gesetz des Darmes bezeichnet⁴¹. Die Auslösung des peristaltischen Reflexes kann sowohl durch eine mechanische Stimulierung der Muskulatur oder der Mukosa als auch durch verschiedene chemische Stimuli im Darmlumen erfolgen⁴¹. Moderne Konzepte betrachten das ENS heutzutage als ein im Großen und Ganzen unabhängiges, integratives System, das strukturell und funktionell sehr viele Ähnlichkeiten zum zentralen Nervensystem (ZNS) aufweist⁴² und das eigene sensorische Neurone, Interneurone und Motoneurone enthält. Durch intrinsische Reflexe steuert das ENS die Funktionen des Magen-Darm-Traktes, wie motorische und sekretorische Vorgänge, Durchblutung und Modulation von Immunvorgängen⁴²⁻⁴⁵. Extrinsische sympathische und parasympathische Nervenfasern modulieren enterische Schaltkreise, somit beeinflussen das Sympathikus und das Parasympathikus in bedingtem Umfang die motorische und sekretorische Aktivität des Magen-

Diskussion

Darmtrakts^{46,47}. Erst in den 80er Jahren erfolgte durch den Einsatz elektrophysiologischer Techniken die neurophysiologische Charakterisierung des ENS^{48,49}.

Damit die Motilität des Magen-Darm-Traktes funktionieren kann, bedarf es einem optimal abgestimmten Zusammenspielen von exzitatorischen und inhibitorischen Regulationsmechanismen. Als zentrale Substanz für die exzitatorische Komponente ist Acetylcholin bekannt, das fast ausschließlich von Nervenzellen des ENS ausgeschüttet wird. Die inhibitorische Komponente wird durch die Freisetzung mehrerer Neurotransmitter vermittelt.⁵⁰

Mittels isolierten Magen- und Darmpräparaten kann die Funktion und Wirkweise unterschiedlicher und einzelner Neurotransmitter entschlüsselt werden. Enterische Nervenfasern können mittels elektrischer Feldstimulation (EFS) selektiv elektrisch gereizt werden, dies führt zu einer Ausschüttung von Neurotransmitter. Meistens führt ein elektrischer Reiz zu einer Mischantwort, bei der sowohl exzitatorische, als auch inhibitorische Komponenten beteiligt sind. Diese Antwort spiegelt die Vorgänge wider, die auch in der Initialphase des peristaltischen Reflexes ablaufen. Mit Hilfe dieser experimentellen Methode der Stimulation können die Wirkweisen unterschiedlicher Neurotransmitter auf die Aktivität der glatten Muskulatur registriert und pharmakologisch analysiert werden. Somit kann die Wirkung rezeptorspezifischer Agonisten bzw. Antagonisten auf die elektrisch induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur durch die entstandenen Motilitätsänderungen objektiviert werden. Die EFS-induzierte Kontraktion beruht zwar auf die Ausschüttung einer Vielzahl an Neurotransmitter, aber die durch exogene Applikation von Neurotransmitter entstandene Motilitätsänderungen können durch solche Untersuchungen differenziert werden.

Die neuro-neuronale und neuro-muskuläre Koordination innerhalb des ENS wird durch exzitatorische und inhibitorische Neurotransmitter und Neuromodulatoren verändert. Neben verschiedenen anderen Neurotransmittern spielen hier auch Cannabinoide eine wichtige Rolle, deren Verwendung als Heilmittel in der Medizin

Diskussion

seit Jahrtausenden bekannt ist. Die funktionellen und morphologischen Grundlagen dieser Empirie waren lange Zeit Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung. Inzwischen existieren zahlreiche Veröffentlichungen, welche die Existenz von Cannabinoid Rezeptoren auf Nervenzellen des ENS nachweisen ^{28,49}.

1.8 Spezielle Diskussion

1.8.1 Wirkmechanismen eines pflanzlichen Arzneimittels bestehend aus Myrrhe, Kamillenblüten und Kaffeekohle

In der symptomatischen Behandlung der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und des Reizdarmsyndroms hat sich seit mehreren Jahren ein pflanzliches Arzneimittel bestehend aus Myrrhe, Kamillenblüten und Kaffeekohle unter dem Namen *Myrrhinil-Intest*[®] etabliert. Die zunehmenden Erkenntnisse der zugrundeliegenden pharmakologischen Mechanismen, die zur spasmolytischen und antiinflammatorischen Wirkung beitragen, sowie die gute Verträglichkeit des Präparates führen zum erfolgreichen Einsatz im klinischen Alltag. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen sollen die bis dato existierende Literatur zum obengenannten Phytopharmakon vervollständigen.

In der bestehenden Literatur wurde die Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase als ein zugrundeliegender Mechanismus der spasmolytischen Aktivität des Kamillenblütenextraktes diskutiert ²¹.

Bewiesen wurde auch eine Calcium-antagonistische Wirkung des ethanolischen Myrrhe-Extraktes, womit sich die muskelentspannende Wirkung dieser Substanz erklären lässt ¹⁷.

Experimente wurden bisher sowohl auf gesundem Gewebe, als auch auf *TNBS*-inkubierten Gewebe durchgeführt. *TNBS* löst eine entzündungsähnliche Erhöhung der TNF α -Genexpression aus. Die Verminderung der schädigenden Einflüsse des *TNBS* durch die Einzelkomponenten des *Myrrhinil-Intest*[®] wurde untersucht.

Diskussion

Myrrhe- und Kamille-Extrakte führten zu einer Aufrechterhaltung der Funktion des entzündeten Dünndarmgewebes, indem sie der Verminderung der Kontraktionskraft entgegenwirkten. Myrrhe-Extrakte konnten zudem die Erhöhung der TNF α -Genexpression verzögern ¹⁶.

Untersucht wurde nicht nur die TNF α -Genexpression, sondern auch die TNF α -Freisetzung aus entzündeten Zellen, beziehungsweise deren Verminderung durch die Komponenten des Pharmakons. Somit wurde bewiesen, dass alle drei Komponenten des *Myrrhinil-Intest*[®] eine Hemmung der TNF α -Freisetzung bewirken. Außerdem wurden zytotoxische Effekte anhand von LDH-Tests ausgeschlossen, so dass man behaupten kann, dass alle Bestandteile des Pharmakons zu dessen antiinflammatorischen Wirkung beitragen ¹⁹.

Weitere Experimente untersuchten die Verminderung der NO-Freisetzung. Dabei wurde beobachtet, dass der ethanolische Myrrhe-Extrakt eine signifikante Wirkung diesbezüglich hat. Diese Tatsache könnte auch zum anti-inflammatorischen Effekt des Präparates beitragen ¹⁶.

Außerdem wurde die Phagozytoseaktivität unter dem Einfluss des *Myrrhinil-Intest*[®] geforscht. Sowohl die ethanolischen, als auch die wasserlöslichen Myrrhe-Extrakte zeigten in dem Sinne eine Erhöhung der Phagozytoserate als Hinweis auf einer gesteigerten Aktivierungsbereitschaft der Makrophagen im Rahmen der unspezifischen Immunabwehr. Dadurch konnte man eine effiziente Bekämpfung akut-pathogener Erreger erzielen¹⁶.

Klinische Studien zum Präparat belegen die gute Verträglichkeit und Wirksamkeit. Eine in 2014 veröffentlichte, prospektive, multizentrische Studie hat Patienten ab dem 12. Lebensjahr mit akuter Diarrhö aufgrund akuter Darmerkrankungen, chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen und Reizdarmsyndrom untersucht. Die Patienten wurden entweder mit *Myrrhinil-Intest*[®] als Monotherapie, als *Add-on*-Therapie oder mit anderen Therapien behandelt. Untersucht wurden in erster Linie die Veränderungen des Hauptsymptoms (akute Diarrhö) vor und nach

Diskussion

Therapie, die klinische Bewertung des Krankheitsverlaufs und der Wirksamkeit, sowie die Patientenzufriedenheit mit der Therapie. Die Unterschiede zwischen den drei Therapieoptionen waren bei den drei unterschiedlichen Indikationen nicht signifikant, allerdings zeigten Patienten mit Reizdarmsyndrom signifikant bessere Ergebnisse, wenn monotherapiert mit dem Phytopharmakon. Patienten mit akuten Darmerkrankungen und Reizdarmsyndrom bevorzugten die phytopharmazeutische Monotherapie, Betroffene mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen zeigten eine Präferenz zur *Add-On*-Therapie mit *Myrrhinil-Intest*^{®23}.

Eine weitere klinische, doppelblinde, randomisierte Studie hat die Wirkung von *Myrrhinil-Intest*[®] im Vergleich zu Mesalazin bei der Remissionserhaltung bei Patienten mit Colitis ulcerosa untersucht. Die Beobachtung erstreckte sich über 12 Monaten und hatte als primärer Endpunkt die Nichtunterlegenheit der Phytopharmakons im Vergleich zu Mesalazin. Sekundäre Endpunkte waren Rückfallraten, Sicherheitsprofil, rezidivfreie Zeiten, endoskopische Aktivität und fäkale Biomarker. Insgesamt wurden 96 Patienten mit inaktiver Colitis ulcerosa eingeschlossen. 53% der Patienten, die *Myrrhinil-Intest*[®] erhielten zeigten einen Rückfall, im Vergleich zu 45% aus der Mesalazin-Gruppe, allerdings gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Gruppen bezüglich rückfallfreier Zeit, Endoskopie und fäkale Biomarker. Die gute Wirksamkeit, das günstige Sicherheitsprofil und die Nichtunterlegenheit des Phytopharmakons im Vergleich zur etablierten Remissionstherapie bei Colitis ulcerosa belegen die Wichtigkeit des Präparates in Behandlung obengenannter Erkrankungen²².

1.8.2 Wirkung einzelner pflanzlicher Extrakte auf unbehandelte Darmsegmente im Mausmodell

Die Organbaduntersuchungen einzelner Trockenextrakten auf die spontanen und elektrisch-induzierten Kontraktionen, sowie die intrazellulären Messungen zur Erfassung der Änderungen auf die intestinale Neurotransmission konnten die zugrundeliegende Wirkung des *Myrrhinil-Intest*[®] aufschlüsseln.

Diskussion

Der ethanolische Myrrhe-Extrakt führt konzentrationsabhängig zu einer Verminderung der Amplitude von spontanen und der Spannungs-induzierten Kontraktionen und hat auf der Ebene der Neurotransmission eine hemmende Wirkung auf EJP, fIJP und sIJP.

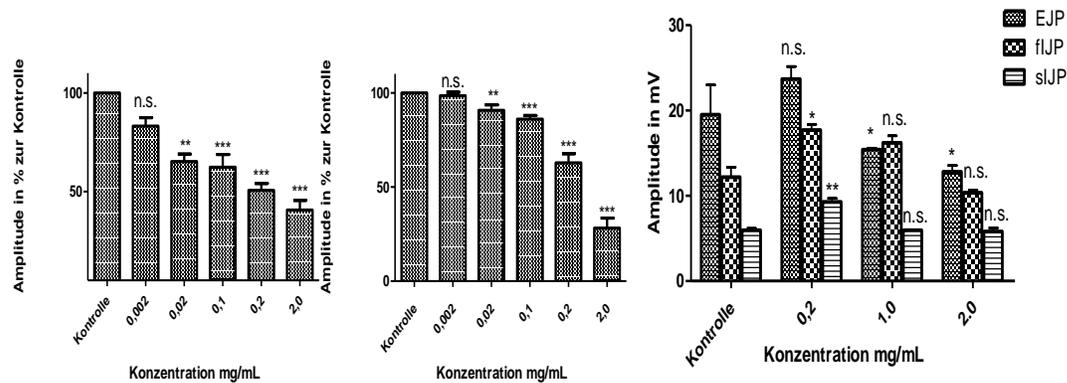


Abbildung 30: Zusammenfassung der Wirkung des ethanolischen Myrrhe-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.

Die Amplituden der spontanen und elektrisch-induzierten Kontraktionen vermindern sich unter dem Einfluss des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes. Aufsteigende Konzentrationen des wasserlöslichen Myrrhe-Extrakts haben auf der Ebene der Neurotransmission eine hemmende Wirkung auf das EJP und eine aktivierende Wirkung auf das sIJP.

Diskussion

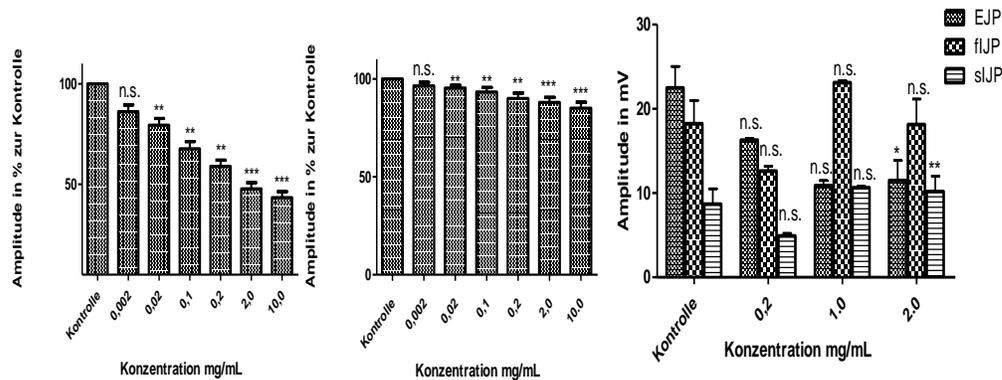


Abbildung 31 Zusammenfassung der Wirkung des wasserlöslichen Myrrhe-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.

Der Kamillen-Extrakt führt konzentrationsabhängig zu einer Verminderung der Amplitude von spontanen und der Spannungs-induzierten Kontraktionen und hat auf der Ebene der Neurotransmission eine hemmende Wirkung auf EJP, fIJP und sIJP.

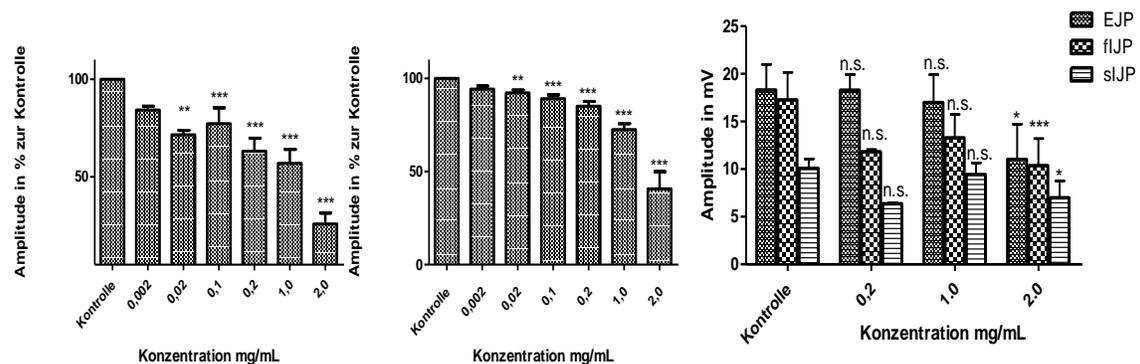


Abbildung 32: Zusammenfassung der Wirkung des Kamillen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.

Mit steigender Konzentration des Kaffeekohlen-Extraktes tritt eine Reduktion der spontanen und Spannungs-induzierten Kontraktionsamplituden auf. Im Gegensatz

Diskussion

zu den oben beschriebenen Veränderungen der neuromuskulären Übertragung bei Myrrhe- und Kamillen Extrakten, zeigt sich Kaffeekohle-Extrakt als Substanz mit einer auf fIJP hemmenden Wirkung. Die Amplitude der EJP und sIJP bleiben unbeeinflusst vom Kaffeekohle-Extrakt im proximalen Kolon der Maus.

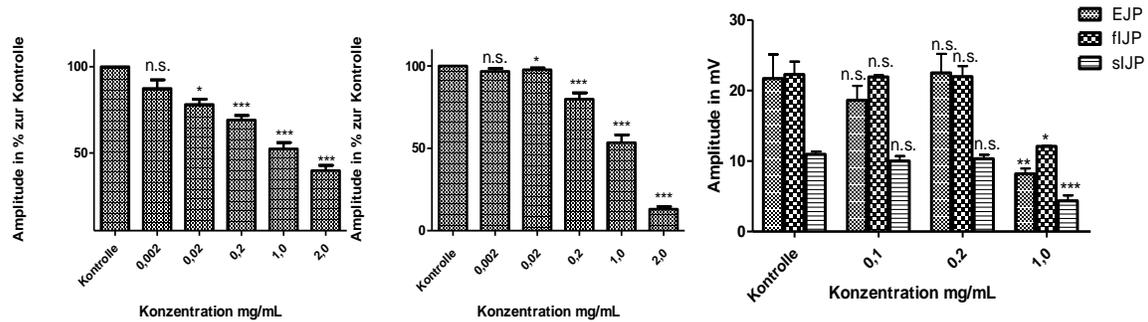


Abbildung 33: Zusammenfassung der Wirkung des Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur, sowie auf die intestinale Neurotransmission.

Zusammenfassend zeigten alle Trockenextrakte hemmende Wirkungen auf die spontanen und Spannungs-induzierten Kontraktionen glatter Muskelzellen des Dünndarmes im Mausmodell.

Die intrazellulären Ableitungen maßen im Falle aller Trockenextrakten abfallende Amplituden der exzitatorischen Junktionspotenzialen. Die inhibitorischen Junktionspotenzialen waren insbesondere von den Myrrhe-Extrakten beeinflusst. Lediglich die schnellwirksamen Junktionspotenzialen (fIJP) zeigten eine indifferente Tendenz auf die aufsteigenden Konzentrationen wasserlöslicher Myrrhe-Extrakten.

Kamille- und Kaffeekohlen-Trockenextrakte zeigten ebenfalls geringe bis moderat hemmende Auswirkungen auf die exzitatorischen Junktionspotenzialen. Die zwei Extrakten zeigten allerdings auch im Falle der inhibitorischen Junktionspotenzialen eine hemmende Tendenz. Die postsynaptischen inhibitorischen Potenziale verhindern die Auslösung von Aktionspotenzialen durch Hyperpolarisation der

Diskussion

postsynaptischen Membran. Dadurch wird die Amplitude der entstehenden Muskelkontraktion unterdrückt. Im klinischen Kontext eines entzündlichen Darmgeschehens, ist die Stimulation der IJP wegen der spasmolytischen Effekte erwünscht.

Die untenstehende Tabelle (Tabelle 2) zeigt eine graphische Zusammenfassung der Wirkung einzelner Trockenextrakte auf die spontane und Spannungsinduzierte Kontraktion glatter Muskelzellen und auf die exzitatorischen und inhibitorischen Junctionspotenziale.

	spontane Kontraktionen	EFS-induzierte Kontraktion	EJP	fIJP	sIJP
Myrrhe-Extrakt (ethanolisch)	↓	↓	↓	↑	↑
Myrrhe- Extrakt (wasserlöslich)	↓	↓	↓	—	↑
Kamillen-Extrakt	↓	↓	↓	↓	↓
Kaffeebohle-Extrakt	↓	↓	↓	↓	↓

kein Einfluss (n.s.)	geringer Einfluss (*)	moderater Einfluss (**)	Ausgeprägter Einfluss (***)
----------------------	-----------------------	-------------------------	-----------------------------

Legende zur Bedeutung der Effekte:

- ✓ spontane Kontraktionen : Hinweis auf Aktivität der interstitiellen Zellen von Cajal im myenterischen Plexus und den Muskelschichten
- ✓ EFS induzierte Kontraktionen: Acetylcholin Freisetzung nach elektrischer Nervenstimulation: Initiierung eines Ca²⁺-Einstroms in glatte Muskelzellen
- ✓ EJP: exzitatorische Junctionpotenziale: Depolarisation des Membranpotenzials durch Freisetzung von Acetylcholin
- ✓ fIJP: schnelles inhibitorisches Junctionspotenzial, Hyperpolarisation des Membranpotenzials durch ATP-Freisetzung und Aktivierung Ca²⁺-abhängiger K⁺-Kanäle
- ✓ sIJP: langsames inhibitorisches Junctionspotenzial, Hyperpolarisation des Membranpotenzials durch NO-Freisetzung und Aktivierung der cGMP Kaskade

Tabelle 2: Graphische Zusammenfassung der Wirkung einzelner Trockenextrakte auf die spontane und elektrisch-induzierte Kontraktion glatter Muskelzellen und auf die exzitatorischen und inhibitorischen Junctionspotenzialen

Diskussion

1.8.3 Wirkung kombinierter pflanzlicher Extrakte auf unbehandelte Darmsegmente im Mausmodell

In einem weiteren experimentellen Ansatz wurde die Wirkung kombinierter Trockenextrakte auf die Amplituden der spontanen und der Spannungs-induzierten Kontraktionen untersucht.

Zunächst wurde eine Kombination der drei Trockenextrakte aus Myrrhe, Kamille und Kaffeekohle in der gleichen Konzentration wie in *Myrrhinil Intest*® in aufsteigender Konzentration verabreicht. Diese zeigte zunächst eine moderate Amplitudenminderung, sowohl bei der basalen, als auch bei den Spannungs-induzierten Kontraktion der glatten Muskelzellen. Mit aufsteigenden Konzentrationen des Präparates konnte allerdings eine deutliche Hemmung sowohl des Basaltonus, als auch der Spannungs-induzierten Kontraktion erzielt werden. Diese Tatsache könnte bedingt als zugrundeliegendes Mechanismus der krampflösenden Wirkung des *Myrrhinil Intest*® betrachtet werden.

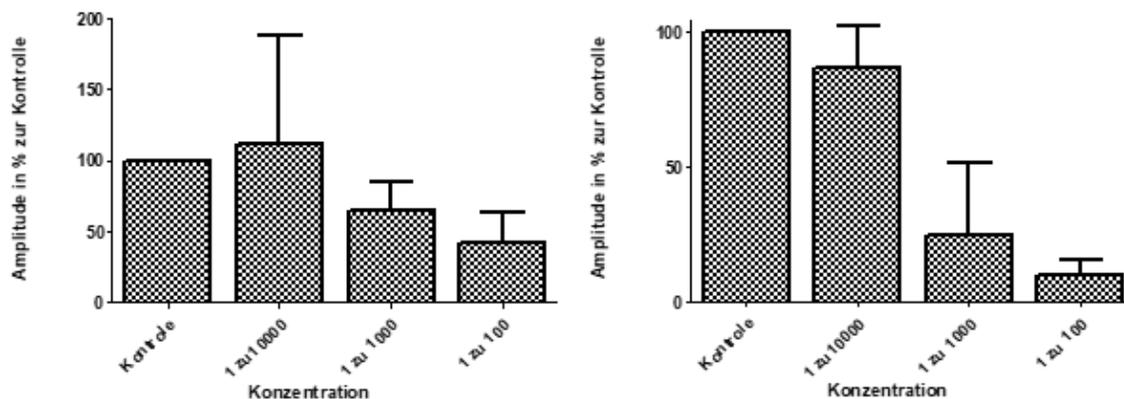


Abbildung 34: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanologischen Myrrhe-, Kamillen- und Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.

Diskussion

Im nächsten Ansatz wurde die Kombination des ethanolischen Myrrhe Extraktes mit aufsteigenden Konzentrationen des Kamillen-Extraktes in den Organbäder verabreicht. Hierbei zeigte bei bereits geringen Konzentrationen eine Verminderung der Amplitude, sowohl bei der spontanen, als auch bei der elektrisch-induzierten Konzentration (Abbildung 35). Diese Erkenntnisse könnten mit der bereits bekannten, spasmolytischen Wirkung der Kamille²¹ in Verbindung gebracht werden.

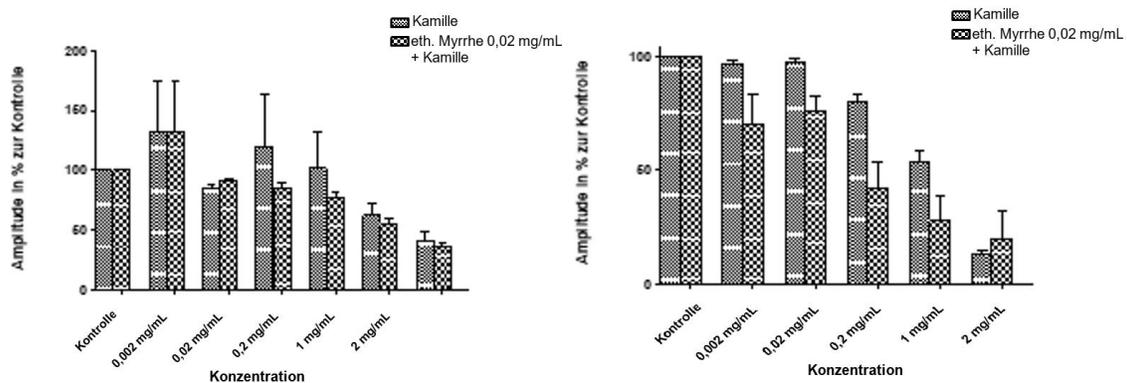


Abbildung 35: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanolischen Myrrhe-Extrakt mit aufsteigenden Konzentrationen eines Kamillen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.

Die Kombination des ethanolischen Myrrhe-Extraktes mit aufsteigenden Konzentrationen des Kaffeebohnen-Extraktes zeigte zunächst ein geringer, nicht signifikanter Einfluss auf die Amplitude der spontanen und der Spannungs-induzierten Kontraktion der glatten Muskulatur (Abbildung 36).

Diskussion

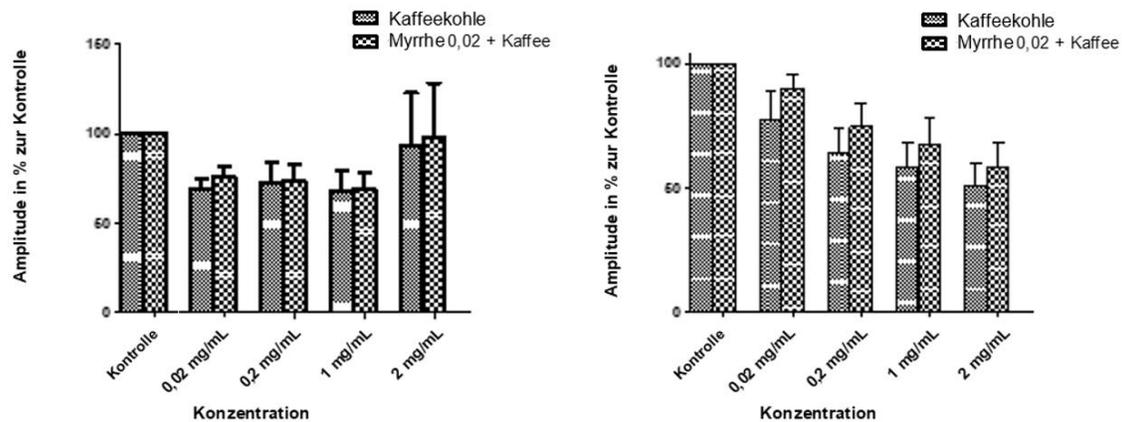


Abbildung 36: Zusammenfassung der Wirkung der Kombination aus einem ethanolischen Myrrhe-Extrakt mit aufsteigenden Konzentrationen eines Kaffeekohlen-Extraktes auf die spontane und auf die Spannungs-induzierte Kontraktion der glatten Muskulatur.

Dies unterstützt die Hypothese, dass Kaffeebohle zwar wenig spasmolytisch wirkt, aber durch die absorptive und adstringierende Wirkung insgesamt maßgeblich zur Linderung der Symptomatik chronisch entzündlicher Darmerkrankungen und des Reizdarmsyndromes beiträgt. Neuere phytochemische Untersuchungen des Präparates und dessen sekundären Metaboliten konnten die pharmakologische Wirkung der Substanzen und deren anti-inflammatorischen Rolle hervorheben⁵¹.

Fazit und Beantwortung der Hypothesen

Die durchgeführten Versuche belegen, dass die Einzelkomponenten, die in *Myrrhinil-Intest*[®] enthalten sind, einen spasmolytischen Effekt, der maßgeblich bei der Linderung der Symptome der CED und des RDS beiträgt und somit in die supportiven Therapie dieser Erkrankung eine essenzielle Rolle haben.

Die Wirkung des Phytopharmakons enthüllt sich auf mehreren Ebenen und konnte mittels unterschiedlicher Versuchsansätze anhand verminderter spannungsinduzierter Kontraktionen, einer herabgesetzten Spontanaktivität des Darmes und einer Hemmung der Neurotransmission nachgewiesen werden. Diese Effekte sind unterschiedlich ausgeprägt, abhängig von der verwendeten Komponente, aber auch von der chemischen Zusammensetzung des Pflanzenextraktes. Dementsprechend hat man den spasmolytischen Effekt der Hauptkomponente Myrrhe bemerkt, allerdings war dieser ausgeprägter bei dem ethanolischen Extrakt als bei dem wasserlöslichen. Dies deutet darauf hin, dass eher lipophile Bestandteile der Myrrhe für den spasmolytischen Effekt verantwortlich sind. Das kann wiederum interessante Ansätze für die Darreichungsform des Pharmakons anbieten.

Die Kamille-Trockenextrakte zeigen auch eine relevante Verminderung der Spannungs-induzierten Kontraktionen und des Basaltonus des Darmes, aber im Gegensatz zu Myrrhe ist eine verminderte Auswirkung auf die neuronale Transmission im enterischen Nervensystem bemerkbar.

In den Organbad-Versuchen wirkt Kaffeekohle (*Carbo coffeae*) am wenigsten spasmolytisch, so dass keine signifikanten Ergebnisse auf Ebene der Spannungs-induzierten Kontraktion und der Spontankontraktion des Darmes zu erheben sind. Interessant ist aber der hemmende Effekt dieses Extraktes auf die peptiderge inhibitorische Neurotransmission (IJP), was weitere Untersuchungsmöglichkeiten eröffnet.

Fazit und Beantwortung der Hypothesen

Alle untersuchten Substanzen, mit Ausnahme des Kaffeekohleextraktes, zeigen hemmende Wirkungen auf die exzitatorischen Eigenschaften der neuromuskulären Übertragung im proximalen Kolon der Maus. Die hemmende Wirkung auf die cholinergen exzitatorischen Junctionspotenzialen (EJP) führt zu einer Erweiterung unseres Verständnisses der spasmolytischen Effekte von *Myrrhinil-Intest*[®]. Eine verminderte Übertragung kontraktionsaktivierender Signale auf postsynaptischen Strukturen führt zu einer herabgesetzten Muskelkontraktion. Diese Tatsache ist von hoher klinischer Relevanz, da es dadurch schmerzhemmend und krampflösend wirkt⁵². Diese Eigenschaft konnte man bei dem Myrrhe-Extrakt sowohl bei der wasserlöslichen, als auch bei der ethanolischen Fraktion bemerken und war auch im Falle des Kamillenextraktes nachweisbar.

Die durchgeführte Forschungsarbeit belegt die komplexe Wirkungsweise der pflanzlichen Extrakte, die sich sowohl durch Hemmung der Motilität des Darmes, als auch durch Inhibition der exzitatorischen Neurotransmission äußert. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen führen somit zur Vervollständigung der bestehenden Literatur bezüglich der Wirkungsweise der drei Komponenten eines breit eingesetzten Phytopharmakons.

Mit steigendem Interesse der Patienten gegenüber alternativer und pflanzenbasierter Therapiemöglichkeiten, wächst auch die Verantwortung der Schulmedizin zur Erhebung der Evidenz und zur kontrollierten, bewussten Einführung solcher Therapien in die ärztliche Routine. Eine aktive Rolle des Arztes in die ganzheitliche Behandlung des Patienten ist essenziell um potenziell gefährliche Nebenwirkungen und Interaktionen zu vermeiden. Dazu dienen nicht nur Grundlagenuntersuchungen der Phytochemie und -pharmakologie, sondern auch große, randomisierte klinische Studien, die die Wirksamkeit und Verträglichkeit der Phytotherapeutika objektivieren und somit wissenschaftlich belegen können.

Literaturverzeichnis

1. Hiller W, Rief W, Braehler E. Somatization in the population: from mild bodily misperceptions to disabling symptoms. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2006;41(9):704-712.
2. Thompson WG, Heaton KW, Smyth GT, Smyth C. Irritable bowel syndrome in general practice: prevalence, characteristics, and referral. *Gut.* 2000;46(1):78-82.
3. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet.* 2018;390(10114):2769-2778.
4. Wehkamp J, Gotz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF. Inflammatory Bowel Disease. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(5):72-82.
5. Levy RL, Jones KR, Whitehead WE, Feld SI, Talley NJ, Corey LA. Irritable bowel syndrome in twins: heredity and social learning both contribute to etiology. *Gastroenterology.* 2001;121(4):799-804.
6. Codling C, O'Mahony L, Shanahan F, Quigley EM, Marchesi JR. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci.* 2010;55(2):392-397.
7. Chadwick VS, Chen W, Shu D, et al. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology.* 2002;122(7):1778-1783.
8. Ohman L, Isaksson S, Lindmark AC, et al. T-cell activation in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(5):1205-1212.
9. Häuser W, Lempa M. [Irritable bowel syndrome]. *Schmerz.* 2004;18(2):130-135.
10. Sibae A, Yuce B, Kelber O, et al. STW 5 (Iberogast) and its individual herbal components modulate intestinal electrophysiology of mice. *Phytomedicine.* 2006;13 Suppl 5:80-89.
11. Manabe N, Wong BS, Camilleri M, Burton D, McKinzie S, Zinsmeister AR. Lower functional gastrointestinal disorders: evidence of abnormal colonic transit in a 287 patient cohort. *Neurogastroenterol Motil.* 2010;22(3):293-e282.
12. Serra J, Villoria A, Azpiroz F, et al. Impaired intestinal gas propulsion in manometrically proven dysmotility and in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2010;22(4):401-406, e491-402.

Literaturverzeichnis

13. Böhm SK, Kruis W. [Irritable bowel disease: recent developments]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2012;137(40):2034-2037.
14. Andresen V, Keller J, Pehl C, Schemann M, Preiss J, Layer P. Irritable bowel syndrome--the main recommendations. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(44):751-760.
15. El Ashry ES, Rashed N, Salama OM, Saleh A. Components, therapeutic value and uses of myrrh. *Pharmazie.* 2003;58(3):163-168.
16. Vissiennon C, Goos K, Goos O, Nieber K. Calcium antagonistic effects of ethanolic myrrh extract in inflamed intestinal smooth muscle preparations. *Planta Medica.* 2013;79(13):SL70.
17. Vissiennon C, Goos KH, Goos O, Nieber K. Antispasmodic effects of myrrh due to calcium antagonistic effects in inflamed rat small intestinal preparations. *Planta Med.* 2015;81(2):116-122.
18. Mayer J. Myrrhe. *Zeitschrift für Phytotherapie.* 2015;36(03):103-105.
19. Vissiennon C, Jente R, Goos KH, Goos O, Nieber K. Reduction of LPS-induced TNF α -release from THP-1-cells by extracts of Myrrh, Chamomile flower and Coffee charcoal. *Planta Med.* 2014;80(16):LP13.
20. Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. *Mol Med Rep.* 2010;3(6):895-901.
21. Maschi O, Cero ED, Galli GV, Caruso D, Bosisio E, Dell'Agli M. Inhibition of human cAMP-phosphodiesterase as a mechanism of the spasmolytic effect of *Matricaria recutita* L. *J Agric Food Chem.* 2008;56(13):5015-5020.
22. Langhorst J, Varnhagen I, Schneider SB, et al. Randomised clinical trial: a herbal preparation of myrrh, chamomile and coffee charcoal compared with mesalazine in maintaining remission in ulcerative colitis--a double-blind, double-dummy study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(5):490-500.
23. Albrecht U, Müller V, Schneider B, Stange R. Efficacy and safety of a herbal medicinal product containing myrrh, chamomile and coffee charcoal for the treatment of gastrointestinal disorders: a non-interventional study. *BMJ Open Gastroenterol.* 2014;1(1):e000015.
24. Yuce B. Cannabinoid - 1 Rezeptoren (CB 1) beeinflussen die Motilität des Dünndarms von Maus und Ratte - Untersuchungen zum peristaltischen Reflex und Dünndarmtransit. 2005.
25. Sibaev A, Yuce B, Allescher HD, Göke B, Storr M. A new electrophysiological tool to investigate the spatial neuronal projections

Literaturverzeichnis

- within the myenteric ascending reflex of the mouse colon. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;35(7):744-750.
26. Pumnea T, Lipowicz B, Storr M, Sibaev A. In-vitro Untersuchungen zur Wirkungsweise isolierter Komponenten aus Myrrhinil®-Intest auf die intestinale Neurotransmission und Motilität. *Z Gastroenterol.* 2015;53(09):G7.
 27. Pumnea T, Sibaev A, Lipowicz B, Storr M. The Herbal Extracts of Myrrh, Chamomile and Coffee Charcoal Modulate Intestinal Neurotransmission and Motility in Murine Small Intestine. *EC Gastroenterology and Digestive System.* 2017;4.1:15-30.
 28. Saito YA, Schoenfeld P, Locke GR, 3rd. The epidemiology of irritable bowel syndrome in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):1910-1915.
 29. Cremonini F, Talley NJ. Review article: the overlap between functional dyspepsia and irritable bowel syndrome -- a tale of one or two disorders? *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20 Suppl 7:40-49.
 30. Drossman DA. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features and Rome IV. *Gastroenterology.* 2016.
 31. Rey E, Talley NJ. Irritable bowel syndrome: novel views on the epidemiology and potential risk factors. *Dig Liver Dis.* 2009;41(11):772-780.
 32. Canavan C, West J, Card T. The epidemiology of irritable bowel syndrome. *Clin Epidemiol.* 2014;6:71-80.
 33. Saha L. Irritable bowel syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. *World J Gastroenterol.* 2014;20(22):6759-6773.
 34. Drossman DA, Li Z, Andruzzi E, et al. U.S. householder survey of functional gastrointestinal disorders. Prevalence, sociodemography, and health impact. *Dig Dis Sci.* 1993;38(9):1569-1580.
 35. Lee YJ, Park KS. Irritable bowel syndrome: emerging paradigm in pathophysiology. *World J Gastroenterol.* 2014;20(10):2456-2469.
 36. Talley NJ, Holtmann G, Walker MM. Therapeutic strategies for functional dyspepsia and irritable bowel syndrome based on pathophysiology. *J Gastroenterol.* 2015;50(6):601-613.
 37. Layer P, Andresen V, Pehl C, et al. S3-Leitlinie Reizdarmsyndrom: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Gemeinsame Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs-und

Literaturverzeichnis

- Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Deutschen Gesellschaft für Neurogastroenterologie und Motilität (DGNM). *Zeitschrift für Gastroenterologie*. 2011;49(02):237-293.
38. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(5):286-294.
 39. Furness JB. Types of neurons in the enteric nervous system. *J Auton Nerv Syst*. 2000;81(1-3):87-96.
 40. Langley JN, Anderson HK. The Innervation of the Pelvic and adjoining Viscera: Part VII. Anatomical Observations. *J Physiol*. 1896;20(4-5):372-406.
 41. Bayliss WM, Starling EH. The movements and innervation of the small intestine. *J Physiol*. 1899;24(2):99-143.
 42. Wood JD. Enteric Nervous System: Neuropathic Gastrointestinal Motility. *Dig Dis Sci*. 2016;61(7):1803-1816.
 43. Bornstein JC, Costa M, Grider JR. Enteric motor and interneuronal circuits controlling motility. *Neurogastroenterol Motil*. 2004;16 Suppl 1:34-38.
 44. Furness JB, Bornstein JC, Kunze WA, Bertrand PP, Kelly H, Thomas EA. Experimental basis for realistic large-scale computer simulation of the enteric nervous system. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1996;23(9):786-792.
 45. Grider JR. Neurotransmitters mediating the intestinal peristaltic reflex in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;307(2):460-467.
 46. Hillsley K, Schemann M, Grundy D. Alpha-adrenoreceptor modulation of neurally evoked circular muscle responses of the guinea pig stomach. *J Auton Nerv Syst*. 1992;40(1):57-62.
 47. Schemann M, Grundy D. Electrophysiological identification of vagally innervated enteric neurons in guinea pig stomach. *Am J Physiol*. 1992;263(5 Pt 1):G709-718.
 48. Hirst GD, McKirdy HC. A nervous mechanism for descending inhibition in guinea-pig small intestine. *J Physiol*. 1974;238(1):129-143.
 49. Kunze WA, Furness JB, Bertrand PP, Bornstein JC. Intracellular recording from myenteric neurons of the guinea-pig ileum that respond to stretch. *J Physiol*. 1998;506 (Pt 3)(Pt 3):827-842.
 50. Crist JR, He XD, Goyal RK. Chloride-mediated junction potentials in circular muscle of the guinea pig ileum. *Am J Physiol*. 1991;261(5 Pt 1):G742-751.

Literaturverzeichnis

51. Weber L, Hammoud Mahdi D, Jankuhn S, Lipowicz B, Vissiennon C. Bioactive Plant Compounds in Coffee Charcoal (*Coffeae carbo*) Extract Inhibit Cytokine Release from Activated Human THP-1 Macrophages. *Molecules*. 2019;24(23).
52. Gershon MD. Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39(5 Suppl 3):S184-193.

Danksagung

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir mein Studium und die Vollendung meiner Promotion ermöglichten:

Besonders danken möchte ich Prof. Dr. med. Martin Storr für die Möglichkeit, in seinem Arbeitskreis meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen, für die anspruchsvolle und interessante Promotionsthematik und vor allem für die hervorragende und immer prompte Betreuung bei der Durchführung und Umsetzung der gesamten Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei PD Dr. med. Andrei Sibaeu für die Einweisung und Unterstützung bei der gesamten laborbezogenen Arbeit, für seine stete Hilfsbereitschaft und kameradschaftliche Atmosphäre im Labor bedanken.

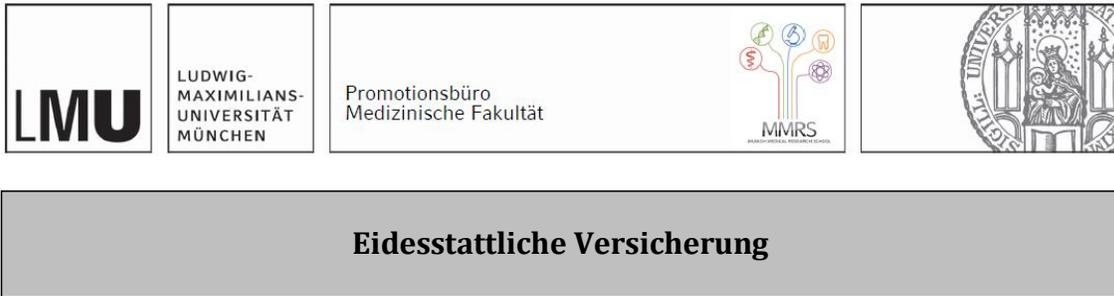
Ganz besonders danke ich meiner Mutter, die mir den bisherigen Lebensweg ermöglichte und mich jederzeit unbedingungslos unterstützt.

Ein herzlicher Dank meinem Partner Cosmin Pazgu, der meiner Arbeit viel Verständnis und Geduld entgegenbrachte und der zweifelsfrei an mich glaubt.

Dana Stanciu für die uneingeschränkten Ermutigungen und fruchtbaren Gespräche; Iulia Ninacs, Tudor Ninacs und Radu Popa für die vielen wertvollen Anregungen und bedingungslose Motivation – ein großer Dank.

Affidavit

Affidavit



Teodora Pumnea

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Die pflanzlichen Extrakte aus Myrrhe, Kamille und Kaffeekohle modulieren die intestinale Neurotransmission und Motilität in einem tierexperimentellen Modell.

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Teodora Pumnea

München, 25.01.2022

Publikationsliste

Publikationsliste

Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation wurden als Vorträge/Poster präsentiert:

10/2015 Postervorstellung auf dem 43. Kongress der Gesellschaft für Gastroenterologie in Bayern in Garmisch-Partenkirchen

09/2016 Postervorstellung und Kurzvortrag auf VISZERALMEDIZIN 2016 - 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten mit Sektion Endoskopie in Hamburg

09/2017 Publikation der Arbeit: The herbal extracts of Myrrh, Chamomile and Coffee Charcoal modulate intestinal neurotransmission and motility in murine small intestine in EC Gastroenterology and Digestive System