

4. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, ob die neu entdeckten Diadenosinpolyphosphate Ap_7A und Ap_8A ebenso vasoaktive Eigenschaften besitzen wie die schon in der Vergangenheit untersuchten Ap_nA ($n=2-6$). Wir konnten mit dieser Arbeit nachweisen, daß sich nach Applikation von Ap_7A und Ap_8A in der isolierten perfundierten Rattenniere signifikante Anstiege des Perfusionsdruckes zeigten. Aufgrund dieser Tatsache scheint ein Einfluß dieser Substanzen auf die systemische Blutdruckregulation durchaus möglich. Diese Tatsache könnte dazu beitragen die Pathogenese der arteriellen Hypertonie weiter zu klären. Die gefäßregulierenden Eigenschaften anderer Diadenosinpolyphosphate wie zum Beispiel Ap_4A , Ap_5A oder Ap_6A sind schon seit längerer Zeit bekannt (van der Giet, Khattab et al. 1997). Dinukleosidpolyphosphate haben aufgrund ihrer vasoaktiven Eigenschaften (Schluter, Tepel et al. 1996), (Steinmetz, Van Le et al. 2005), (Luo, Jankowski et al. 2004) und ihrer allgemein vielfältigen biologischen und pharmakologischen Eigenschaften im letzten Jahrzehnt große Aufmerksamkeit erlangt. Sie spielen so auch eine entscheidende Rolle in der Thrombozytenaggregation (Ogilvie, Blasius et al. 1996), Gefäßproliferation (Van Der Giet, Giebing et al. 2002) und bei multiplen endogenen Prozessen wie Neurotransmission (Hervas, Perez-Sen et al. 2005), (Duarte-Araujo, Nascimento et al. 2004), exokriner und endokriner Sekretion (Troadek and Thirion 2002), (Rees, Scanlon et al. 2003) oder Inflammation (Wu, Whiteside et al. 2004), (Inoue 2006). Die proliferative Wirkung auf glatte Gefäßmuskelzellen wurde in der Vergangenheit ebenso vielfach untersucht wie die vasoregulierenden Effekte der Diadenosinpolyphosphate. Bei Vorhandensein von Adenosin in Dinukleosidpolyphosphaten nimmt die wachstumsstimulierende Wirkung deutlich ab. Dagegen belegen andere Experimente, die den Einfluß komplexer Dinukleosidpolyphosphate auf den Gefäßtonus in Nierengefäßen und Koronargefäßen untersuchen sollten, daß nur die Dinukleosidpolyphosphate vasoaktiv wirksam sind, die mindestens ein Molekül Adenosin enthalten. Diguanosinpolyphosphate jedoch zeigen keine signifikante Änderung des Gefäßtonus in Nieren- und Koronargefäßen (van der Giet, Schmidt et al. 2002), (van der Giet, Westhoff et al. 2001). Für die proliferative Wirkung ist daher vor allem die Anwesenheit eines Guanosinmoleküls wichtig, während für die Vasoaktivität das Adenosinmolekül eine große Bedeutung hat. Aktuelle Untersuchungen lassen auch einen komplexen Einfluss der Diadenosinpolyphosphate auf die glomeruläre Filtrationsrate (Szczepanska-Konkel, Jankowski et al. 2005) vermuten. Aufgrund der Tatsache, daß Ap_5A und Ap_6A (Schluter, Offers et al. 1994) nach zentraler Injektion in Ratten einen systemischen

Blutdruckanstieg verursachen ist anzunehmen, daß eine Bedeutung von Ap₇A und Ap₈A für die physiologische Regulation des Gefäßtonus sehr wahrscheinlich ist. Der Vergleich zwischen den verschiedenen Diadenosinpolyphosphaten ergab, daß deren Wirkung auf die Gefäßmuskulatur von der Anzahl der Phosphatgruppen abhängig ist. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß für beide Adenosinanteile in den Molekülen ein optimaler Abstand existieren muß, um vasokonstriktiv zu wirken. In Gefäßen mit intaktem Endothel konnte nach Verabreichung von Ap₂A, Ap₃A und Ap₄A eine Vasodilatation beobachtet werden, während Ap₅A und Ap₆A eine Vasokonstriktion (Schluter, Tepel et al. 1996) verursachten. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit zeigen erstmalig die vasokonstriktiven Effekte von Diadenosinpolyphosphaten mit jeweils sieben und acht Phosphatgruppen. Der vasokonstriktive Effekt von Ap₇A ist in seiner Potenz vergleichbar mit dem Effekt von Ap₅A, dem Diadenosinpolyphosphat mit der stärksten vasokonstriktiven Wirkung (Schluter, Offers et al. 1994). Unter der Annahme, daß die optimale Länge der Phosphatkette um den P_{2X}-Rezeptor zu aktivieren fünf beträgt, erscheint die Rezeptoraffinität für Ap₇A und Ap₈A im Vergleich zu Ap₅A und Ap₆A geringer. Abgeschätzt wurde diese mit Hilfe der ED₅₀. Offensichtlich haben Ap₇A und Ap₈A im sigmoidalen Anteil der Dosis-Wirkungskurve schwächere Effekte als Ap₅A und Ap₆A. Diese Tatsache impliziert jedoch nicht, daß die extrazellulären Effekte von Ap₇A und Ap₈A unbedeutend sind. Es ist zum Beispiel möglich, daß durch die lange Phosphatkette die Affinität zu Hydrolasen geringer und daher auch die extrazelluläre Halbwertszeit länger als die der anderen Diadenosinpolyphosphate ist. Dadurch könnten Ap₇A und Ap₈A in lokale Veränderungen der Perfusion involviert sein. Die aktuellen Literaturdaten zeigen, daß Ap₇A und Ap₈A bisher aus noch keinem Gewebe isoliert werden konnten. Im Gegensatz dazu wurden die Diadenosinpolyphosphate Ap_nA (n=2-6) bereits mehrfach aus verschiedenen Geweben wie zum Beispiel dem Herzen und einzelnen zellulären Blutbestandteilen extrahiert. Unsere Experimente mit dem P₂-Rezeptorantagonisten Suramin, dem P_{2X}-Rezeptorantagonisten PPADS und dem Suraminanalogon NF023 weisen darauf hin, daß die vasokonstriktive Aktivität von Ap₇A und Ap₈A auf eine P_{2X}-Rezeptoraktivierung zurückzuführen ist. PPADS und Suramin blockierten die vasokonstriktiven Antworten von Ap₇A und Ap₈A signifikant und nahezu vollständig. Unter Suramin ließ sich der Perfusionsdruckanstieg bei Ap₇A auf 2 mmHg ± 1 und bei Ap₈A auf 0 mmHg ± 1 senken. Unter PPADS minimierte sich der Perfusionsdruckanstieg bei Ap₇A auf 3 mmHg ± 2 und bei Ap₈A auf 4 mmHg ± 2. Mit Hilfe von NF023 zeigte sich bei Ap₇A ein Druckanstieg von 2 mmHg ± 1 und bei Ap₈A von 3 mmHg ± 2. Dagegen blieben die vasokonstriktiven Effekte von Ap₇A und Ap₈A in Gegenwart der P_{2Y}-Rezeptorantagonisten MRS 2179 und RB-2 unbeeinflusst, was wiederum auf eine P_{2X}-Rezeptoraktivierung hindeutet.

Ein weiteres Indiz dafür ist, daß unter Dauerperfusion mit der maximal effektiven Konzentration von α,β -meATP, dem potentesten P_{2X} -Rezeptoragonisten, es durch die Applikation von Ap_7A und Ap_8A zu keinem weiteren Anstieg des Gefäßwiderstandes kam. Dieses Phänomen kann entweder als kompetitive Hemmung oder als Desensitisierung des P_{2X} -Rezeptors durch α,β -meATP gewertet werden. In allen aufgeführten Fällen ist die Hemmung des vasokonstriktiven Effektes eine Bestätigung des Ergebnisses, daß die vasokonstriktiven Effekte über einen P_{2X} -Rezeptor vermittelt sind. Auch ein P_1 -Rezeptor kommt als Effektor für Ap_7A und Ap_8A nicht in Frage, denn unter Dauerperfusion mit CPDPX, einem potenten P_1 -Rezeptorantagonisten, kam es ebenfalls nicht zu einer signifikanten Beeinflussung der vasokonstriktiven Potenz von Ap_7A und Ap_8A . Ang II als purinrezeptorunabhängig fungierendes Agens zeigte unter Dauerperfusion mit α,β -meATP und Suramin keine Veränderung seiner vasoaktiven Wirkung. In der Vergangenheit durchgeführte Untersuchungen zeigten, daß in den glatten vaskulären Muskelzellen der Niere nur der P_{2X1} -, P_{2X2} und P_{2X4} -Subtyp existiert (Chan, Unwin et al. 1998). Da allein der P_{2X1} -Rezeptor sowohl durch PPADS und Suramin hemmbar und α,β -meATP-sensitiv (MacKenzie, Mahaut-Smith et al. 1996) ist, wird die Wirkung von Ap_7A und Ap_8A mit hoher Wahrscheinlichkeit über diesen Rezeptorsubtyp vermittelt. Es scheint daher, daß Ap_7A und Ap_8A über die gleichen Mechanismen wie Ap_5A und Ap_6A wirken (van der Giet, Khatlab et al. 1997). In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, daß letztere Diadenosinpolyphosphate über P_{2X} -Rezeptoren eine Vasokonstriktion hervorrufen. Dagegen entfalten Ap_2A und Ap_3A über A_2 -Rezeptoren eine vasodilatorische Wirkung (Busse, Ogilvie et al. 1988). Frühere Experimente entdeckten, daß circa 80% der Diadenosinpolyphosphate während der Aggregation aus den Thrombozyten freigesetzt werden (Agha, Schluter et al. 1992). Die Konzentration der Diadenosinpolyphosphate, die nach der Plättchenaggregation im Extrazellulärraum vorkommt, ist offensichtlich vom Verteilungsvolumen abhängig. Die Konzentration in den Plättchen zeigt jedoch, daß in der nahen Umgebung des Thrombus ähnliche Konzentrationen an Diadenosinpolyphosphaten zu finden sind wie in den Thrombozyten selbst. Besonders Thrombozyten und chromaffine Granula im Nebennierenmark enthalten relativ hohe Konzentrationen an Diadenosinpolyphosphaten (Ap_nA ; $n=3-6$), die bis zu 6 mmol/l betragen können. An lokalen extrazellulären Konzentrationen werden bis zu 100 μ mol/l angenommen (Ogilvie A, 1992, CRC Press Inc., Boca Raton). Die physiologische Rolle von Ap_7A und Ap_8A ist noch immer unklar. Wie schon erwähnt werden 80% der AP_nA ($n=3-6$), (Luthje and Ogilvie 1983), (Flodgaard and Klenow 1982), (Schluter, Grobeta et al. 1998) während der Thrombozytenaggregation freigesetzt. Es könnte sein, daß Ap_7A und Ap_8A dadurch ausreichend

hohe extrazelluläre Konzentrationen erreichen, die in der Lage sind die Gefäßmuskulatur zu beeinflussen. Genau dieses versuchten wir in der vorliegenden Arbeit anhand von Dosis-Wirkungskurven am Modell der isolierten perfundierten Rattenniere nachzuweisen. Angenommen, daß Ap_7A und Ap_8A ein so ausgedehntes Vorkommen wie die anderen Diadenosinpolyphosphate haben, muß daran gedacht werden, daß sie eine große Rolle als sympathische Co-Transmitter spielen könnten. Die physiologischen Konzentrationen von Ap_7A und Ap_8A scheinen auf jeden Fall geringer zu sein als die von Ap_5A und Ap_6A , zumindest in menschlichen Thrombozyten. Bis jetzt wurden mögliche Unterschiede in den Wirkungen von Ap_5A , Ap_6A und Ap_7A und Ap_8A noch nicht untersucht. Zusammengefaßt kann man sagen, daß Ap_7A und Ap_8A , isoliert aus menschlichen Thrombozyten, potente Vasokonstriktoren zu sein scheinen. Die vasokonstriktiven Effekte der Substanzen werden wahrscheinlich über einen P_{2X} -Rezeptor, möglicherweise über den P_{2X1} -Subtyp vermittelt. Aufgrund der aufgeführten Daten kann man schlußfolgern, daß sowohl Ap_7A als auch Ap_8A eine entscheidende Bedeutung in der Genese der arteriellen Hypertonie und auch der Hämostase-Regulation haben könnten.