

Aus der Medizinischen Klinik IV
des Universitätsklinikums Benjamin Franklin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Walter Zidek

**Rolle von Dinukleosidpolyphosphaten
im isolierten perfundierten Rattenherz**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
des Fachbereiches Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von: Sven Schmidt

aus: Essen

Referent: Prof. Dr. med. Walter Zidek

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. H.-Ch. Gunga

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Humanmedizin der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 11.04.2003

Meinen Eltern
Anneliese und Bernd
und meinem Bruder Jörn

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1	Koronare Herzkrankheit und Angina pectoris	1
1.1.2	Stabile Angina pectoris	3
1.1.3	Instabile Angina pectoris	4
1.1.4	Epidemiologie der Koronaren Herzkrankheit	5
1.2	Rolle des Endothels für die Koronardurchblutung	6
1.3	Dinukleosidpolyphosphate	9
1.3.1	Diadenosinpolyphosphate	10
1.3.2	Diadenosinpolyphosphate im kardialen System	12
1.3.3	Adenosin- und Diguanosinpolyphosphate	14
1.4	Purinrezeptoren	15
1.4.1	Purinrezeptoren allgemein	15
1.4.2	Purinrezeptoren im kardialen System	17
1.5	Fragestellung	18

2. Methodik

2.1	Präparation zur Isolierung des Rattenherzens	19
2.2	Perfusionssystem	21
2.3	Überprüfung der Funktionstüchtigkeit des Koronarendothels	23
2.4	Dosis-Wirkungs-Beziehungen	23
2.5	Dauerperfusionen mit Antagonisten und Agonisten	25
2.5.1	Dauerperfusion mit NO-Synthase-Hemmern	25
2.5.2	Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensibilisierung des P _{2x1} -Rezeptors	27
2.5.3	Dauerperfusion mit P _{2y1} - und P _{2x} -Rezeptorantagonisten	29

2.6	Materialien	31
2.7	Statistik	32
3.	Ergebnisse	34
3.1	Dosis-Wirkungs-Kurven	34
3.2	Dauerperfusion mit NO-Synthasehemmern	37
3.3	Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensitisierung des P _{2x1} -Rezeptors	40
3.4	Dauerperfusion mit Rezeptorantagonisten	42
4.	Diskussion	45
6.	Zusammenfassung	50
5.	Literaturverzeichnis	51
7.	Danksagung	61
8.	Curriculum Vitae	62

Abkürzungsverzeichnis

2-ClATP	2-Chloro-adenosin-5'-triphosphat
2-meSATP	2-Methylthio-adenosin-5'-triphosphat
ACh	Acetylcholin
A	Adenosin
α, β -meATP	α, β -Methyl-adenosin-5'-triphosphat
AngII	Angiotensin II
ANP	atriales natriuretisches Peptid
Ap _n A	Diadenosinpolyphosphate
Ap ₂ A	Adenosin-5'-diphospho-5'-adenosin
Ap ₃ A	Adenosin-5'-triphospho-5'-adenosin
Ap ₄ A	Adenosin-5'-tetraphospho-5'-adenosin
Ap ₅ A	Adenosin-5'-pentaphospho-5'-adenosin
Ap ₆ A	Adenosin-5'-hexaphospho-5'-adenosin
Ap _n G	Adenosin-5'-oligophospho-5'-guanosin
Ap ₃ G	Adenosin-5'-triphospho-5'-guanosin
Ap ₄ G	Adenosin-5'-tetraphospho-5'-guanosin
Ap ₅ G	Adenosin-5'-pentaphospho-5'-guanosin
Ap ₆ G	Adenosin-5'-hexaphospho-5'-guanosin
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
cGMP	cyclisches Guanosin-5'-monophosphat
EDRF	Endothelium-Derived-Relaxing-Factor
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage-Colony-Stimulating-Factor
Gp _n G	Diguanosinpolyphosphate
Gp ₄ G	Guanosin-5'-tetraphospho-5'-guanosin
Gp ₅ G	Guanosin-5'-pentaphospho-5'-guanosin
Gp ₆ G	Guanosin-5'-hexaphospho-5'-guanosin
GDP	Guanosin-5'-diphosphat
GTP	Guanosin-5'-triphosphat

VI

i.E.	internationale Einheit
KHK	Koronare Herzerkrankung
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginin-methylester
MRS2179	2'-Deoxy-N ⁶ -methyladenosin-3',5'-bisphosphat
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NO	Stickstoffmonoxid
PGI ₂	Prostacyclin
PPADS	Pyridoxalphosphat-6-azophenyl-2',4'- disulfonsäure
SEM	standard error mean = mittlerer Fehler des Mittelwertes
SNP	Natrium Nitroprussid
Triton X100	t-Octylphenoxypolyethoxyethanol
TxA ₂	Thromboxan A ₂
Xp _n X	Dinukleosipolyphosphate
WHO	World Health Organisation

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Synthese von Stickstoffmonoxid	7
Abbildung 2: Chemische Struktur der Dinukleosid- polyphosphate	9
Abbildung 3: Schematische Darstellung des isolierten perfundierten Rattenherzens	21
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Dauerperfusion mit NO-Synthasehemmern	25
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensitisierung des P _{2x1} -Rezeptors	27
Abbildung 6: Schematische Darstellung der Dauerperfusion mit P _{2y1} - und P _{2x} -Rezeptorantagonisten	29
Abbildung 7: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₅ A, Ap ₆ A, Ap ₅ G, Ap ₆ G, Gp ₅ G, Gp ₆ G, α,β -meATP, 2-ClATP und 2-meSATP	36
Abbildung 8: Effekt von L-NAME auf die Vasoaktivität von Ap ₅ A, Ap ₆ A, Ap ₅ G und Ap ₆ G	38
Abbildung 9: Wirkung von Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensitisierung des P _{2x1} -Rezeptors	41

VIII

- Abbildung 10: Wirkung von Ap_5A , Ap_6A , Ap_5G und Ap_6G
unter MRS2179 und PPADS 43
- Abbildung 11: Originalkurve der Auswirkung von MRS2179
auf die vasoaktive Wirkung von Ap_5A ,
 Ap_6A , Ap_5G und Ap_6G im isolierten
perfundierten Rattenherz 44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Risikofaktoren der Arteriosklerose	2
Tabelle 2:	Einteilung der Angina pectoris nach dem Schweregrad	4
Tabelle 3:	Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung	20
Tabelle 4:	ED ₅₀ -Werte und Maximalantworten für 10 ⁻⁶ mol Bolusinjektionen von Mono- und Dinukleosiden im isolierten perfundierten Rattenherz	35
Tabelle 5:	ED ₅₀ -Werte und Maximalantworten bei 10 ⁻⁶ mol Bolusinjektionen von Mono- und Dinukleosiden in Anwesenheit von 10 ⁻⁶ M L-NAME im isolierten perfundierten Rattenherz	39

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Studie zeigt die Wirkung von Xp_5X und Xp_6X (X =Guanosine (G) oder Adenosine (A); $n=5&6$), welche aus Thrombozyten isoliert werden konnten, auf den Gefäßtonus von Koronargefäßen. Die Aktivierung von Purinrezeptoren in den Koronargefäßen der Ratte durch Xp_5X und Xp_6X wurde registriert als Perfusionsdruckänderung im isolierten perfundierten Rattenherzen nach Langendorff. Ap_5X und Ap_6X induzieren dosisabhängige Vasodilatationen, die über den P_{2y1} -Rezeptor vermittelt sind, wie durch eine spezifische Blockade des P_{2y1} -Rezeptors mittels 2'-Deoxy- N^6 -methyladenosin-3',5'-bisphosphat (MRS2179) nachgewiesen werden konnte. Die Vasodilatationen werden über eine Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) ausgelöst, was durch eine Blockierung der NO-Synthase mit N^G -nitro-L-arginin-methylester (L-NAME) gezeigt werden konnte. Die dosisabhängige Abnahme des Perfusionsdrucks, ausgelöst durch Ap_5A und Ap_6A , kehrte sich nach Blockade der NO-Synthase mit L-NAME in eine dosisabhängige Zunahme des Perfusionsdrucks um. Nach Entfernung des Endothels der Koronargefäße kehrten sich die durch Ap_5A und Ap_6A ausgelösten Vasodilatationen in Vasokonstriktionen um, die wiederum durch eine Blockierung des P_{2x} -Rezeptors inhibiert werden konnten. Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A und Ap_6G sind Nukleotide, die über eine Aktivierung des P_{2y1} -Rezeptors Vasodilatationen, als auch über die Aktivierung des P_{2x} -Rezeptor Vasokonstriktionen auslösen können. Die Richtung der vasoaktiven Reaktion hängt vom Funktionszustand des Koronarendothels ab. Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A und Ap_6G könnten somit in der Pathogenese der instabilen Angina pectoris eine Rolle spielen.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Walter Zidek für die Rahmenbedingungen danken, die diese Promotionsarbeit ermöglicht haben.

Herrn Dr. med. Markus van der Giet danke für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, für die hervorragende Betreuung und dessen ständige Ansprechbarkeit für den gesamten Zeitraum des praktischen und schriftlichen Teils der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Martin Tepel danke ich für seine fachliche Unterstützung.

Herrn PD Dr. rer. Nat. Hartmut Schlüter danke ich für die Synthetisierung und Aufreinigung der Dinukleosidpolyphosphate.

Herrn Dr. rer. Nat. Joachim Jankowski danke ich sowohl für die Bereitstellung der aufgereinigten Substanzen, als auch für die stets angenehme Atmosphäre im Labor.

Meinen Eltern danke ich für die Unterstützung während meines gesamten Studiums.

Der letzte Dank geht an meine Freundin Daniela Peters für die liebevolle, emotionale Unterstützung in der Zeit der Erstellung dieser Arbeit.

8. Curriculum Vitae

Name: Schmidt

Vorname: Sven Christoph

Geburtsdatum: 24.12.74

Geburtsort: Essen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Anschrift: Landhausstr. 36
10717 Berlin

Eltern: Frau Annelise Schmidt (geborene
Seupke), geb. am 01.05.1948

Herrn Dipl. Ing. Bernd Schmidt, geb.
am 21.5.1943

Geschwister: Jörn Schmidt, geb. am 28.06.1972

Werdegang: 1981-1985: Grundschule in
Essen-Burgaltendorf
1985: Gymnasium Essen-Überruhr
1985-1994: Gymnasium Hattingen-
Holthausen
1994: Allgemeine Hochschulreife
(Abitur)

- 1995-1995: Zivildienst im Kath.
Krankenhaus St. Elisabeth,
Hattingen
- 1995: Beginn des Studiums der
Humanmedizin an der Ruhr-
Universität Bochum
- 1997: Ärztliche Vorprüfung
- 1998: Erster Abschnitt der
Ärztlichen Prüfung
- 2000: Zweiter Abschnitt der
Ärztlichen Prüfung
- 2000: Studienortwechsel an die
Freie Universität Berlin
- 2001: Dritter Abschnitt der
Ärztlichen Prüfung
- 2002: Seit Januar Arzt im
Praktikum im Universitäts-
klinikum Benjamin Franklin