

3. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 112 Experimente durchgeführt. Die durchschnittlich gemessene Flussrate betrug $8,3 \pm 1,8 \text{ ml/min}$. Nach der Äquilibrierungsphase betrug der Basisdruck $60 \pm 2 \text{ mmHg}$. Die Gabe von L-NAME ($10 \mu\text{M}$) erhöhte signifikant den Perfusionsdruck um 7 mmHg ($P < 0,05$). Die Gabe von PPADS ($10 \mu\text{M}$) und MRS2179 ($1 \mu\text{M}$) beeinflussten den Perfusionsdruck nicht signifikant.

3.1 Dosis-Wirkungs-Kurven

Die Bolusinjektion von Ap_5A , Ap_6A , Ap_5G , Ap_6G , 2-meSATP und 2-ClATP führten zu einer dosisabhängigen Vasodilatation der Koronargefäße. Wie die Abbildungen 7a und 7b zeigen, haben die Dinukleoside Ap_nA ($n=5\&6$) eine stärkere vasodilatative Wirkung als die Dinukleoside Ap_nG ($n=5\&6$). Für Gp_nG ($n=5\&6$) konnte keine signifikante Vasoaktivität nachgewiesen werden. Die Abbildungen 7a-c zeigen die Dosis-Wirkungskurven der Vasodilatationen von Ap_5A , Ap_6A , Ap_5G , Ap_6G , 2-meSATP und 2-ClATP. Die Dosis-Wirkungskurven waren nicht parallel und die maximal induzierbaren Vasodilatationen variierten beachtlich. Dies machte die Abschätzung über die Wirksamkeit der einzelnen Substanzen schwierig. Um einen Vergleich der Wirksamkeiten der verschiedenen Substanzen möglich zu machen, wurden die Konzentrationen der Agonisten bestimmt, die die gleiche vasodilatative Auswirkung auslösen konnten wie $10 \text{ nmol Ap}_6\text{G}$. Die Reihenfolge der Wirkstärke war $2\text{-ClATP} = 2\text{-meSATP} = \text{Ap}_5\text{A} = \text{Ap}_6\text{A} = \text{Ap}_5\text{G} = \text{Ap}_6\text{G} = \text{Gp}_5\text{G} \sim \text{Gp}_6\text{G}$. Die Tabelle 4 zeigt die ED_{50} -

Werte und die maximalen Vasodilatationen der Agonisten bei 10 μ M Bolusinjektionen. Die Bolusinjektion von α, β -meATP führte zu einer dosisabhängigen Vasokonstriktion (Abbildung 7c).

Tabelle 4: ED₅₀-Werte und Maximalantworten für 10 μ mol Bolusinjektionen von Mono- und Dinukleosiden im isolierten perfundierten Rattenherz

Agonist	ED ₅₀ -Werte (-log mol)	Maximalantwort bei 10 μ mol Bolusinjektion
2-CIATP	10,90 \pm 0,40	-14,3 \pm 2,8
2-meSATP	10,13 \pm 0,19	-12,2 \pm 1,2
Ap ₅ A	8,92 \pm 0,27	-8,6 \pm 2,6
Ap ₆ A	9,09 \pm 0,19	-6,9 \pm 1,4
Ap ₅ G	8,86 \pm 0,26	-4,8 \pm 1,8
Ap ₆ G	9,15 \pm 0,29	-2,9 \pm 0,3
Gp ₅ G	nicht berechnet	0 \pm 0
Gp ₆ G	nicht berechnet	0 \pm 0

Die Werte sind dargestellt als Wert \pm Standardabweichung (n=11).

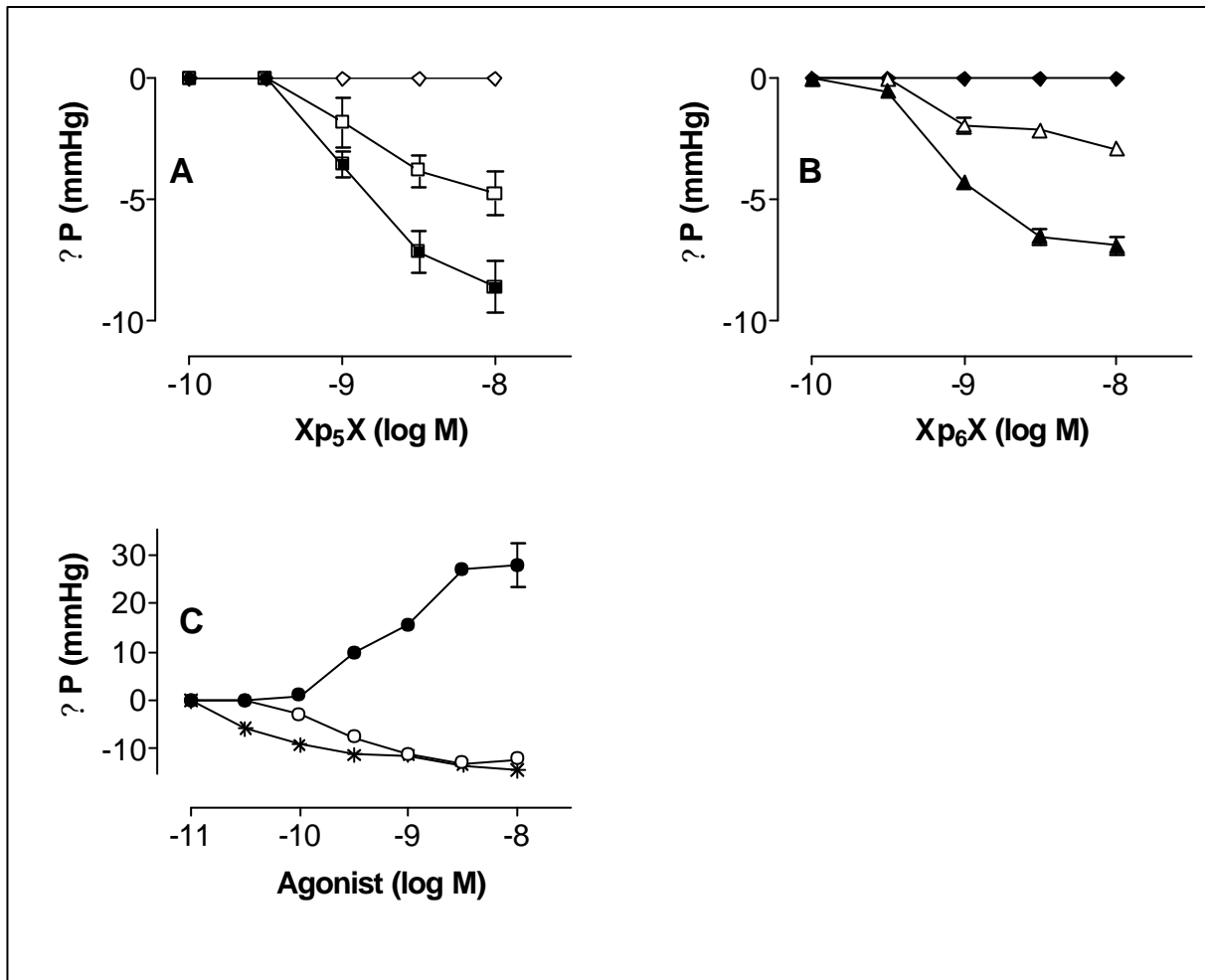


Abbildung 7: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap₅A, Ap₆A, Ap₅G, Ap₆G, Gp₅G, Gp₆G, ?/?-meATP, 2-CIATP und 2-meSATP

Die Abbildung zeigt die Änderung des Perfusionsdrucks im isolierten perfundierten Rattenherz, ausgelöst durch Bolusinjektionen von (A) Ap₅A (○), Ap₅G (□), Gp₅G (△), (B) Ap₆A (○), Ap₆G (□), Gp₆G (△), (C) ?/?-meATP (○), 2-CIATP (□) und 2-meSATP (△). Jeder Punkt ist der Mittelwert von mindestens 11 verschiedenen Experimenten und die vertikalen Linien zeigen die Standardabweichungen. Ist keine Linie vorhanden, liegt diese innerhalb der Symbolgröße. Signifikante Änderungen ($p < 0,05$) vom Basis-Perfusionsdruck zeigen sich für 2-meSATP bei $10^{-10,5}$ mol, für 2-CIATP bei 10^{-10} mol, für ?/?-meATP bei $10^{-9,5}$ mol und für Ap₅A, Ap₅G, Ap₆A, Ap₆G bei 10^{-9} mol.

3.2 Dauerperfusionen mit NO-Synthasehemmern

Eine Dauerperfusion mit L-NAME ($10\ \mu\text{M}$) blockierte die endotheliale NO-Freisetzung. Nach Bolusapplikation von ACh zeigte sich in der Anwesenheit von L-NAME eine Vasokonstriktion (Perfusionsdruckänderung vor Dauerperfusion mit L-NAME: $-9,9 \pm 2,3\ \text{mmHg}$; nach Dauerperfusion mit $10\ \mu\text{M}$ L-NAME: $+5,9 \pm 2,3\ \text{mmHg}$). L-NAME, als Dauerperfusion, hat weder eine Auswirkung auf die dilatative Wirkung von Bolusinjektionen mit $10\ \text{nmol}$ SNP (Vasodilatation von SNP vor L-NAME: $-19,5 \pm 4,2\ \text{mmHg}$; nach Dauerperfusion mit $10\ \mu\text{M}$ L-NAME: $-18 \pm 4,5\ \text{mmHg}$), noch auf die vasokonstriktive Wirkung von $10\ \text{nmol}$ α, β -meATP (Perfusionsdruckänderung von α, β -meATP vor L-NAME: $22,1 \pm 7,4\ \text{mmHg}$; nach Dauerperfusion mit $10\ \mu\text{M}$ L-NAME: $22,8 \pm 6,3\ \text{mmHg}$).

Die dosisabhängige Abnahme des Perfusionsdrucks, ausgelöst durch Ap_5A , Ap_5G (Abbildung 8a), Ap_6A und Ap_6G (Abbildung 8b), kehrte sich durch die Anwesenheit von L-NAME in eine dosisabhängige Vasokonstriktion um. Die Dosis-Wirkungs-Kurven waren nicht parallel und die maximalen Änderungen des Perfusionsdrucks unterschieden sich beträchtlich. Um einen Vergleich der Wirkstärken möglich zu machen, bestimmte man die Konzentrationen der Agonisten, die unter der Dauerperfusion mit L-NAME ($10\ \mu\text{M}$) die gleichen Auswirkungen wie eine Bolusapplikation von $10\ \text{nmol}$ Ap_6G hatten. Es ergab sich für die Kontraktionen folgende Reihenfolge der Wirkstärken: α, β -meATP = Ap_5A = Ap_6A = Ap_5G = Ap_6G . Tabelle 5 zeigt die ED_{50} -Werte und die maximalen Auswirkungen von $10\ \text{nmol}$ Bolusinjektionen von Agonisten unter Dauerperfusion mit L-NAME ($10\ \mu\text{M}$).

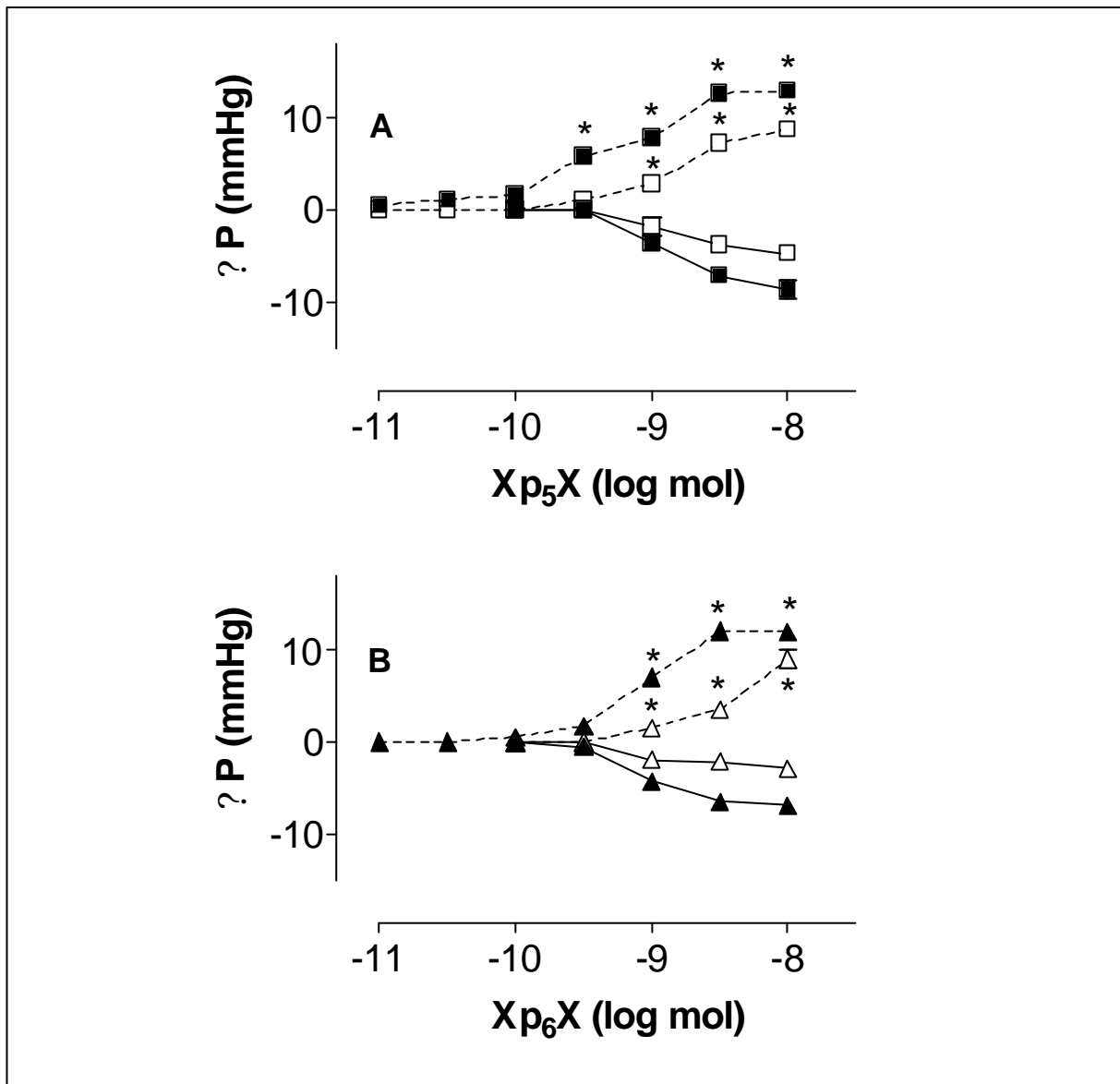


Abbildung 8: Effekt von L-NAME auf die Vasoaktivität von Ap₅A, Ap₆A, Ap₅G und Ap₆G

Die Abbildung zeigt durch (A) Ap₅A (†), Ap₅G (†) und (B) Ap₆A (?), Ap₆G (?) induzierte Änderungen des Perfusionsdrucks im isolierten perfundierten Rattenherz in Abwesenheit (durchgezogene Linie, Kontrolle) und Anwesenheit (gestrichelte Linie) von L-NAME (10 μM) im Perfusat. Jeder Punkt ist der Mittelwert von mindestens acht Bestimmungen. Die vertikale Linie zeigt die Standardabweichung. Ist diese nicht zu sehen, liegt sie innerhalb der Symbolgröße. *P<0,05 L-NAME vs. Kontrolle

Tabelle 5: ED₅₀-Werte und Maximalantworten bei 10⁻⁶mol Bolusinjektionen von Mono- und Dinukleosiden in Anwesenheit von 10⁻⁶M L-NAME im isolierten perfundierten Rattenherz

Agonist	ED ₅₀ (-log mol)	Maximalantwort bei 10 ⁻⁶ mol Agonist (mmHg)
γ,γ-meATP	9,18 ± 0,18	22,8 ± 6,3
Ap ₅ A	9,22 ± 0,23	13,0 ± 1,7
Ap ₆ A	9,06 ± 0,09	10,7 ± 1,6
Ap ₅ G	8,75 ± 0,29	8,8 ± 1,5
Ap ₆ G	7,34 ± 0,40	9,0 ± 2,6

3.3 Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensibilisierung des P_{2x1} -Rezeptors

Nach Entfernung des Endothels der Koronararterien mit Triton X100 waren die Vasodilatationen, ausgelöst durch Applikation von 10^{-6} mol Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A , Ap_6G , 2-meSAMP und 2-ClAMP, komplett gehemmt und in Vasokonstriktionen umgekehrt (Abbildung 9, $P < 0,05$). Die Entfernung des Endothels hatte weder Einfluss auf die Vasokonstriktion durch 10^{-6} mol α, β -meAMP, noch noch auf die Vasodilatation, ausgelöst durch 10^{-6} mol SNP. Nach der zusätzlichen Desensibilisierung des P_{2x1} -Rezeptor durch Dauerperfusion mit α, β -meAMP ($1 \mu M$) waren die nach Endothelentfernung durch Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A , Ap_6G , 2-meSAMP und 2-ClAMP induzierten Vasokonstriktionen vollständig blockiert (Abbildung 9, $P < 0,05$).

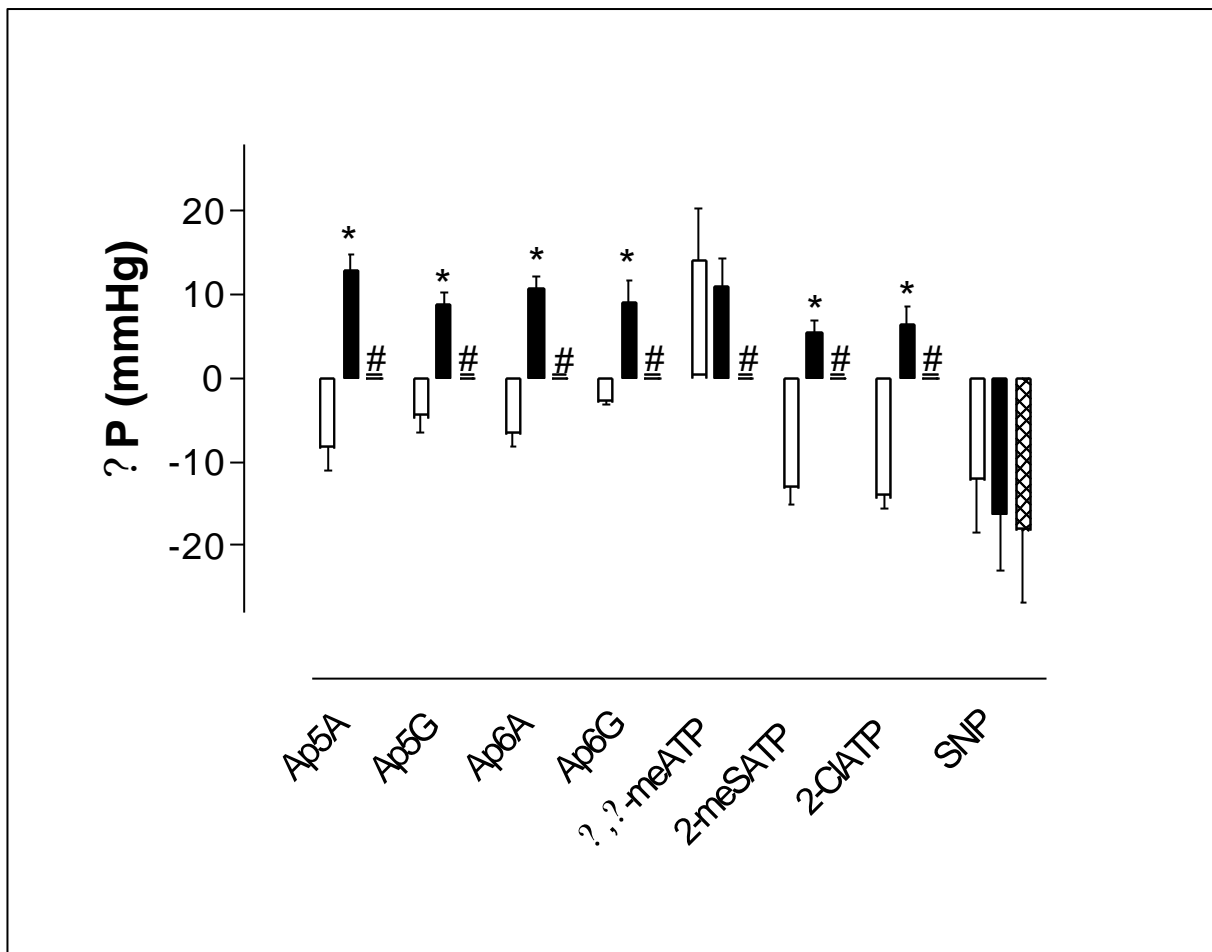


Abbildung 9: Wirkung von Deendothelialisierung der Koronararterien und Desensibilisierung des P_{2x1} -Rezeptors auf die Vasoaktivität von Ap₅A, Ap₆A, Ap₅G und Ap₆G

Die Abbildung zeigt Änderungen des Perfusionsdrucks (in mmHg) im isolierten perfundierten Rattenherz, induziert durch Bolusapplikationen verschiedener Agonisten vor (Kontrolle, weiße Säule) und nach Endothelentfernung (EE) durch Triton X100. Die schraffierten Säulen zeigen die Perfusionsdruckänderungen nach Applikation der Agonisten bei zusätzlicher Anwesenheit von 2,2'-meATP (1 μ M, schraffierte Säule) im Perfusat. Jede Säule zeigt die Mittelwerte von mindestens 8 separaten Experimenten und die vertikale Linie zeigt die Standardabweichung. * $P < 0,05$ EE vs. Kontrolle; # $P < 0,05$ 2,2'-meATP/EE vs. EE.

3.4 Dauerperfusionen mit Rezeptorantagonisten

Eine Dauerperfusion mit dem spezifischen P_{2Y1} -Rezeptorantagonisten MRS2179 ($1\ \mu\text{M}$) hemmte vollständig die vasodilatativen Effekte von $10\ \text{nmol}$ Bolusinjektionen mit Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A , Ap_6G , 2-meSATP und 2-ClATP. Wie Abbildung 10 und Abbildung 11 zeigen, kehrten sich die vor der Dauerperfusion ausgelösten Vasodilatationen in Vasokonstriktionen um. Im Gegensatz hierzu wurden weder die Vasodilatationen, ausgelöst durch Bolusinjektion von $10\ \text{nmol}$ SNP und $1\ \text{nmol}$ ACh, noch die Vasokonstriktionen, durch Applikation von $10\ \text{nmol}$ α,β -meATP ausgelöst, signifikant durch MRS2179 inhibiert. Wird eine zusätzliche Dauerperfusion mit $10\ \mu\text{M}$ PPADS angeschlossen, werden die Vasokonstriktionen, induziert durch $10\ \text{nmol}$ Applikationen mit Ap_5A , Ap_5G , Ap_6A , Ap_6G , 2-meSATP und 2-ClATP in der Anwesenheit von MRS2179, signifikant blockiert. Die Reaktion von SNP und ACh blieb durch PPADS unberührt.

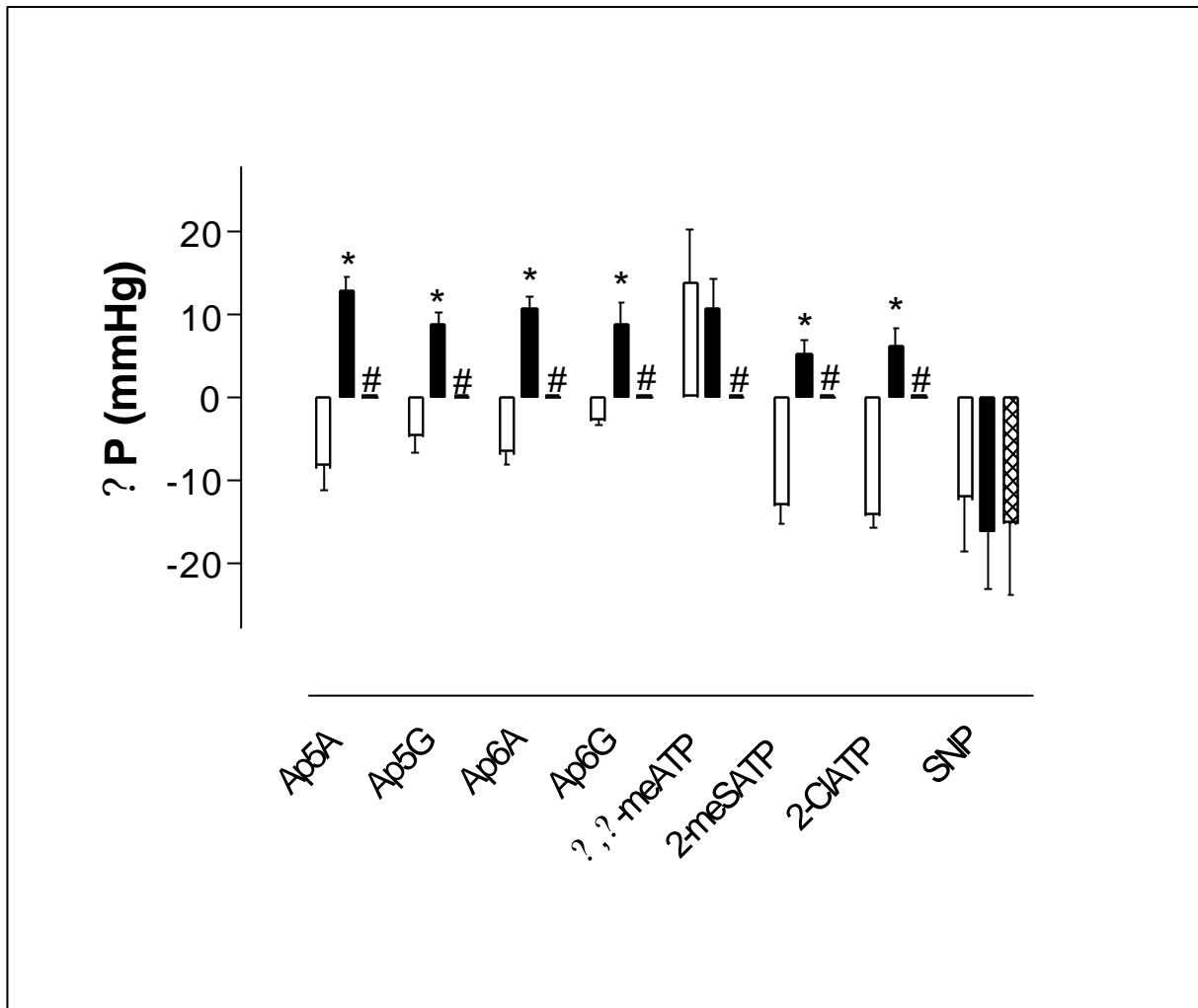


Abbildung 10: Wirkung von Ap₅A, Ap₆A, Ap₅G und Ap₆G unter MRS2179 und PPADS

Die Abbildung zeigt die durch 10 nmol Bolusinjektionen verschiedener Agonisten induzierten Änderungen des Perfusionsdrucks (in mmHg) im isolierten perfundierten Rattenherz in Abwesenheit aller Antagonisten (weiße Säule), in der Anwesenheit von MRS2179 (1 μM, schwarze Säule) und in der Anwesenheit beider Antagonisten, MRS2179 (1 μM) und PPADS (10 μM, schraffierte Säule), im Perfusat. Jede Säule zeigt die Mittelwerte von mindestens neun separaten Experimenten und die vertikale Linie zeigt die Standardabweichung. *P<0,05 MRS2179 vs. Kontrolle; #P<0,05 PPADS/MRS2179 vs. MRS2179

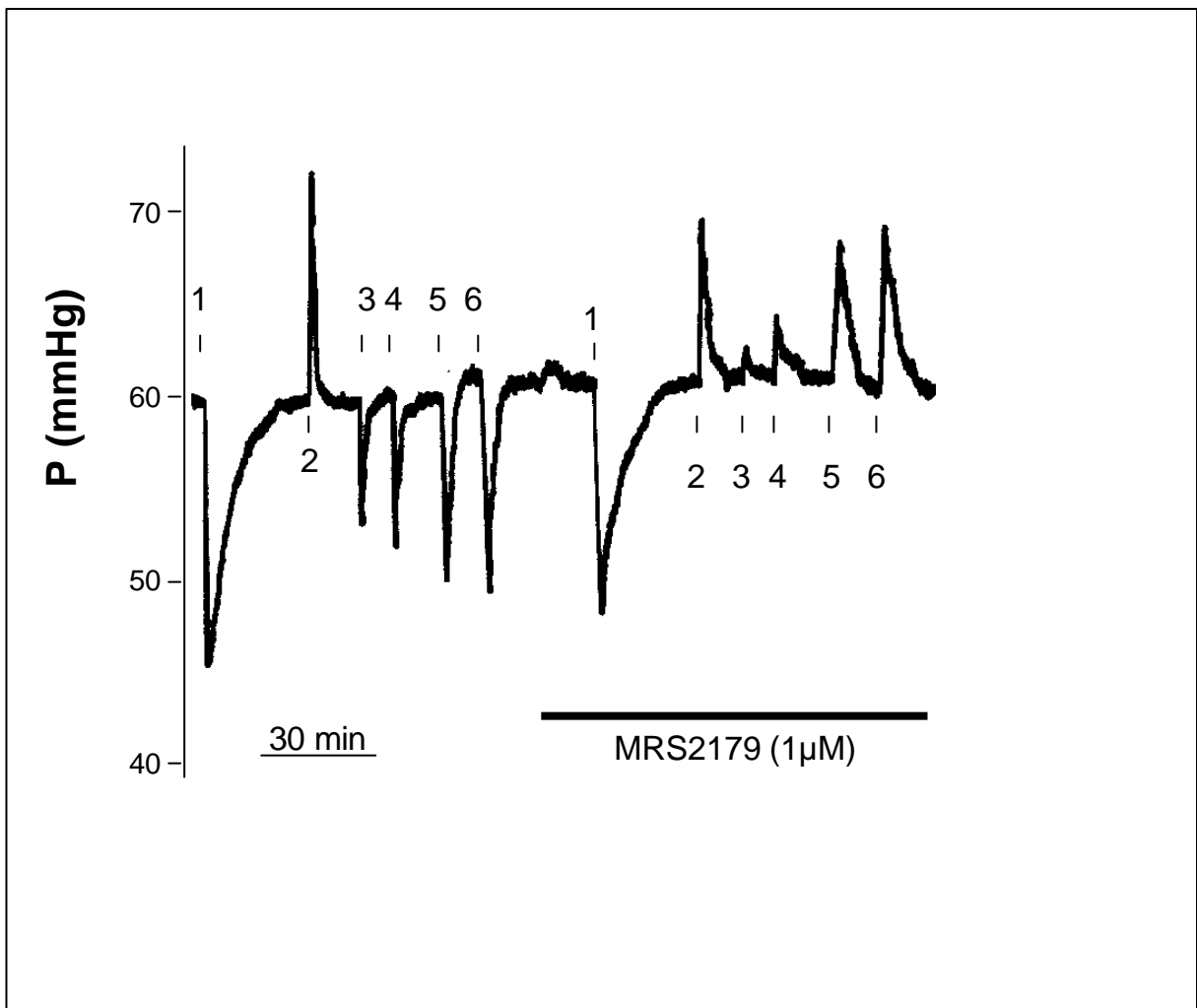


Abbildung 11: Originalkurve der Auswirkung von MRS2179 auf die vasoaktive Wirkung von Ap_5A , Ap_6A , Ap_5G und Ap_6G im isolierten perfundierten Rattenherz

Die Kurve zeigt die Änderungen des Perfusionsdrucks im isolierten perfundierten Rattenherz, induziert durch Bolusinjektionen von jeweils 10 nmol (1) SNP , (2) $\alpha, \beta\text{-meATP}$, (3) Ap_5G , (4) Ap_6G , (5) Ap_5A und (6) Ap_6A ohne und mit (durchgehender Balken) MRS2179 ($1\text{ }\mu\text{M}$) im Perfusat. Die Abbildung stellt eine repräsentative Kurve von fünf gleichen Experimenten dar.