

1. EINLEITUNG

Eine zentrale Leistung des Kreislaufs ist die Fähigkeit, sich wechselnden Anforderungen in weiten Bereichen, z.B. unter Ruhebedingungen oder maximaler Leistung des Organismus, kontinuierlich anzupassen. Das umfaßt einerseits die Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdrucks (arterieller Blutdruck) und die Einstellung der jeweils erforderlichen Gesamtstromstärke (Herzzeitvolumen) sowie andererseits die Steuerung der regionalen Blutverteilung auf die verschiedenen Stromgebiete. Die bedarfsgerechte Verteilung der Durchblutung innerhalb eines Gewebes wird weitgehend durch den Durchmesser der einzelnen Arteriolen bestimmt. Der arterioläre Durchmesser wiederum wird durch den Tonus, d.h. die aktive Spannungsentwicklung, der glatten Gefäßmuskulatur reguliert.

Arteriolen weisen im lebenden Gewebe normalerweise ständig einen gewissen Tonus, den sogenannten Ruhetonus, auf. Dieser wird durch eine Vielzahl zentraler und lokaler Einflüsse aufrechterhalten. Die zentralen tonusmodulierenden Mechanismen werden durch das Kreislaufzentrum koordiniert und über den Sympathikus sowie über Hormone vermittelt. Lokale, also in den Gefäßen selbst oder im umgebenden Gewebe entstehende Einflüsse spiegeln die lokale metabolische und hämodynamische Situation wider. Im Gewebe fallen bereits unter Ruhebedingungen und vermehrt bei verstärkter Organtätigkeit Stoffwechselprodukte an, die gefäßerweiternd wirken.¹⁻³

Zu den lokal wirksamen Faktoren gehören die hämodynamischen Parameter intravasaler Druck und Blutströmung. Durch einen schnellen transmuralen Druckanstieg wird eine Tonuserhöhung des glatten Gefäßmuskels ausgelöst. Diese dehnungsinduzierte Vasokonstriktion, die als myogene Reaktion bzw. Bayliss-Effekt bezeichnet wird,⁴ ist der Hauptmechanismus für die Autoregulation der Durchblutung besonders des Gehirns und der Nieren.^{5,6} Die Blutströmung übt Scherkräfte (Wandschubspannung) auf die Endothelzelloberfläche aus. Bei erhöhter Wandschubspannung setzen die Endothelzellen vermehrt vasodilatatorische Mediatoren frei,⁷ die für die sogenannte blutströmungsinduzierte Vasodilatation verantwortlich sind. Diese kann eine myogen ausgelöste Vasokonstriktion modulieren.⁸

Das Gefäßendothel, das als kontinuierliche, einschichtige Zelllage die innere Oberfläche des gesamten Gefäßsystems auskleidet und eine selektive Barriere zwischen dem strömenden Blut und dem Gewebe darstellt, ist nicht nur an der blutströmungsinduzierten Vasodilatation, sondern auch bei konstanter Blutströmung an der Modulation des Gefäßmuskeltonus und somit an der funktionsadäquaten Gewebedurchblutung beteiligt. Diese bedeutsame Endothelleistung wurde zunehmend seit den Untersuchungen von Furchgott und Zawadzki⁹ im Jahr 1980 erkannt. Sie konnten an isolierten Aortenringen zeigen, daß die Applikation des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) nur bei unversehrtem Endothel zu einer Relaxation des glatten Gefäßmuskels führt. Nach der mechanischen Endothelentfernung trat jedoch eine Kontraktion ein, die durch Stimulierung der muskarinischen Rezeptoren auf den Gefäßmuskelzellen vermittelt wird.

Die Endothelzellen produzieren und sezernieren eine Reihe von Mediatoren, die den Gefäßmuskeltonus beeinflussen. Diese sogenannten "Autakoide" gehören zu verschiedenen Stoffklassen, sind diffusibel und können über unterschiedliche molekulare Mechanismen den Spannungszustand des glatten Gefäßmuskels verändern.¹⁰ Zu den die glatte Gefäßmuskulatur relaxierenden Faktoren (Abb. 1) gehört der "Endothelium-derived relaxing factor" (EDRF), der dem chemisch instabilen Stickstoffmonoxid (NO) entspricht.^{11,12} NO führt in der glatten Gefäßmuskelzelle infolge einer Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase über die Konzentrationserhöhung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) zur Verminderung der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration und dadurch zur Relaxation der Muskelzelle.¹³ Ein weiteres Autakoid-System stellen vasodilatatorische Prostaglandine (PG) dar, die durch die Cyclooxygenase aus Arachidonsäure produziert werden. Das wichtigste Prostaglandinprodukt im Endothel ist Prostaglandin I₂ (Prostacyclin),¹⁴ das einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor (IP) aktiviert.¹⁵ PG erhöhen im glatten Gefäßmuskel durch Aktivierung der Adenylatcyclase die Konzentration von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP). Auch dieses führt zum Absinken der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration und zur Muskelrelaxation. NO und PG werden kontinuierlich von den Endothelzellen sezerniert und sind an der Modulation des Ruhetonus beteiligt.¹⁶⁻¹⁸

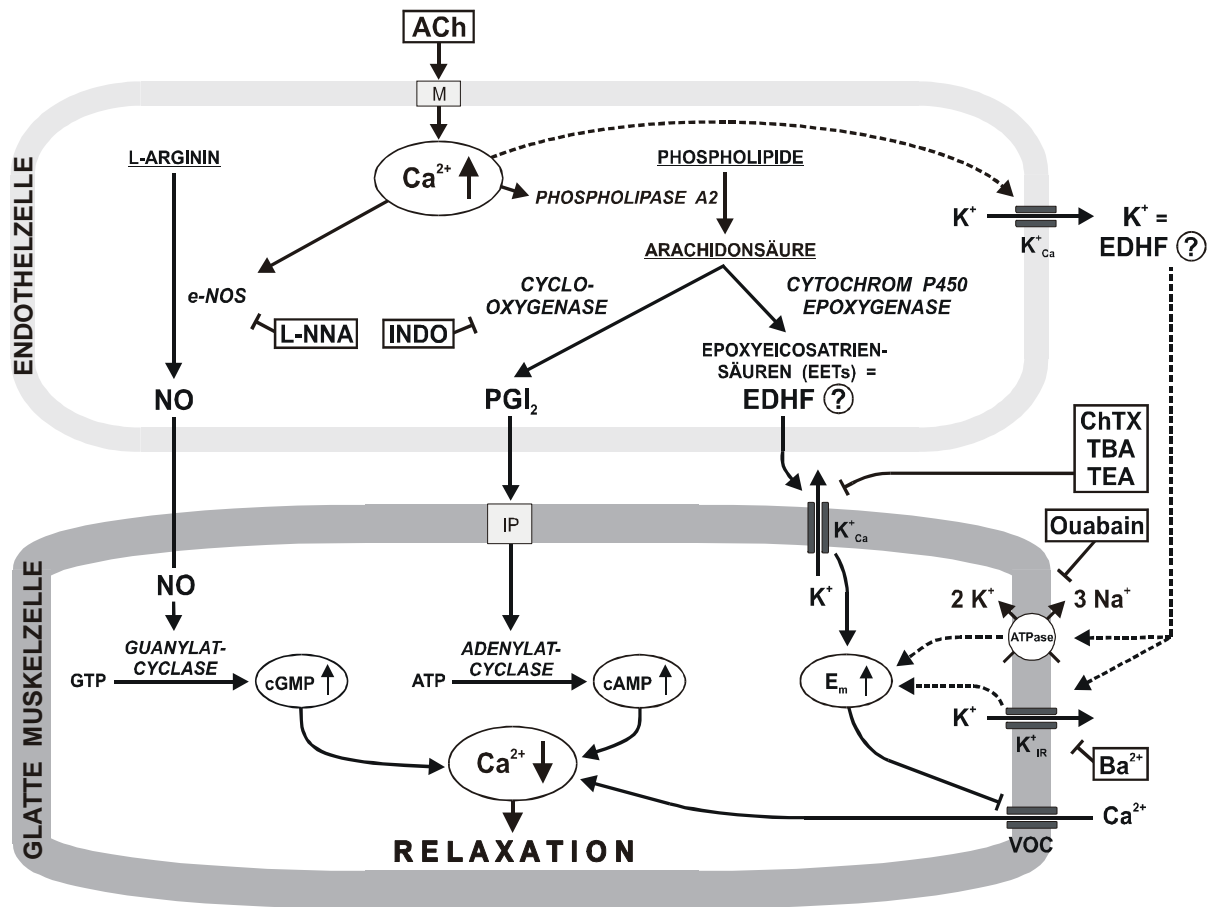


Abbildung 1:

Schematische Darstellung einer Endothelzelle und einer glatten Gefäßmuskelzelle mit ausgewählten Stoffwechselwegen der vasodilatatorischen Autakoide NO, PGI₂ und EDHF. Acetylcholin (ACh) wirkt auf muskarinische Rezeptoren (M). Prostacyclin (PGI₂) aktiviert den IP-Rezeptor. Die EDHF-Wirkung soll entsprechend einer gängigen Theorie über K⁺_{Ca}-Kanäle im glatten Gefäßmuskel vermittelt werden. Ein alternativer Stoffwechselweg, in dem EDHF endothelial freigesetzten Kaliumionen mit Wirkung auf K⁺_{IR}-Kanäle und Na⁺/K⁺-ATPase entsprechen soll, ist mit gestrichelten Linien markiert. E_m bezeichnet das Membranpotential. Die Wirkung der in den Experimenten verwendeten Blocker der endothelialen NO-Synthase (e-NOS), der Cyclooxygenase, der K⁺-Kanäle und der Na⁺/K⁺-ATPase sind eingezeichnet. Weitere Abkürzungen siehe Anhang.

Eine erhöhte Produktion bzw. Sekretion der dilatierend wirkenden Autakoide NO und PG kann durch die Stimulation von muskarinischen Rezeptoren auf dem Endothel mit z.B. Acetylcholin ausgelöst werden (Abb. 1). Diese Acetylcholin-induzierte Vasodilatation ist aber durch die gemeinsame pharmakologische Blockade der endothelialen NO- und PG-Produktion unter den meisten experimentellen Bedingungen nicht komplett hemmbar,^{19,20} so daß mindestens noch ein weiterer endothelialer dilatierender Faktor existieren muß. Dieser Stoff ist diffusibel²¹ und induziert eine nicht über myoendotheliale Gap Junctions fortgeleitete Hyperpolarisation glatter Gefäßmuskelzellen.²²⁻²⁴ Er wird als "Endothelium-derived hyperpolarizing factor" (EDHF) bezeichnet. Es wurde vermutet,²⁵⁻²⁷ daß der chemisch bisher noch nicht eindeutig charakterisierte EDHF kurzlebigen Cytochrom P450-abhängigen Arachidonsäure-Metaboliten entspricht (Epoxyeicosatriensäuren, EETs, Abb. 1). Diese hyperpolarisieren die glatten Gefäßmuskelzellen wahrscheinlich durch die Öffnung Kalzium-aktivierter Kaliumkanäle (K^+_{Ca} -Kanäle).^{25,28,29} Die so verursachte Hyperpolarisation induziert den Schluß spannungsabhängiger Kalziumkanäle ('voltage-operated Ca^{2+} channel', VOC), so daß ein verminderter Kalziumstrom in die glatte Gefäßmuskelzelle zum Absinken der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration mit nachfolgender Relaxation führt.³⁰ Eine andere Hypothese geht davon aus, daß EDHF Kaliumionen entspricht, die über endotheliale Charybdotoxin- und Apamin-sensitive K^+ -Kanäle in den myoendothelialen Spalt austreten.³¹ Die Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration soll über die Aktivierung Barium-sensitiver, einwärts gleichrichtender K^+ -Kanäle ('inward rectifier K^+ channel', K_{IR} -Kanal) und der Na^+/K^+ -ATPase zur Hyperpolarisation der glatten Gefäßmuskelzellen führen.

Zur Untersuchung von Autakoid-Wirkungen stehen verschiedene experimentelle Ansätze *in vitro* und *in vivo* zur Verfügung, deren Ergebnisse sich ergänzen können. Eine Quantifizierung der Autakoid-Effekte auf den Ruhetonus oder auf die Vasodilatation nach Endothelstimulierung im lebenden Organismus ist aber durch *in-vitro*-Experimente nur sehr eingeschränkt möglich. Denn um die physiologische Relevanz der Autakoid-Einflüsse einschätzen zu können, müssen diese im komplexen Zusammenspiel mit anderen tonusbeeinflussenden Mechanismen im intakten Organismus quantifiziert werden. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit ein *in-vivo*-Versuchsmodell benutzt.

In einer besonders schonenden Präparation des Musculus cremaster der Ratte wurden folgende Fragen zur endothelabhängigen Regulation des Gefäßmuskeltonus in arteriolen Widerstandsgefäßen intravitalmikroskopisch untersucht:

- Welche quantitative Rolle spielt EDHF mit seinen über K^+_{Ca} -Kanäle im glatten Gefäßmuskel vermittelten Wirkungen bei der Modulation des Ruhetonus im Vergleich zu NO und PG?
- Ist EDHF für die NO- und PG-unabhängige Vasodilatation nach Endothelstimulierung mit Acetylcholin verantwortlich?
- Welchen Einfluß hat der alternative hypothetische EDHF-Stoffwechselweg über K^+_{IR} -Kanäle und Na^+/K^+ -ATPase *in vivo*?
- Wie stark verändern sich arteriöler Gefäßdurchmesser und Widerstand bei Blockade endothelialer Autakoide *in situ*?