

1 Einleitung

Neben der vasodilatatorischen Wirkung, die über den L-Typ-Calciumkanal in der glatten Muskulatur vermittelt wird, haben Calciumantagonisten zusätzlich eine endothelabhängige Wirkkomponente (Kojda et al., 1991; Vilaine et al., 1991). Der zu Grunde liegende Mechanismus ist bisher nicht eindeutig geklärt, scheint aber zumindest teilweise NO-vermittelt zu sein. Wie von verschiedenen Gruppen (Berkels et al., 1996; Dhein et al., 1999; Brovkovich et al., 2001; Zhang et al., 2002) gezeigt, steigern Calciumkanalmodulatoren vom Dihydropyridin-Typ (DHP) die NO-Bildung aus dem Gefäßendothel, obwohl in diesem Zelltyp keine L-Typ-Calciumkanäle exprimiert werden (Adams et al., 1989; Colden-Stanfield et al., 1987). Da verschiedene Vertreter der ersten und zweiten Generation, verschiedene Enantiomere mit unterschiedlichen Calciumkanal-blockierenden Eigenschaften und auch das agonistische DHP-Derivat Bay K 8644 gleichartig wirken (Günther et al., 1991; Berkels et al., 1999; Dhein et al., 1999), muss es sich um einen Calciumkanal-unabhängigen Substanzklassen-Effekt der DHP handeln (Dhein, 1999; Klaus, 2002).

Generell stellt sich die Frage, worauf eine erhöhte NO-Konzentration zurückgeführt werden kann. Es könnte

1. eine Freisetzung aus membranären Speichern vorliegen, ein Mechanismus, der kürzlich in Erythrozyten gefunden wurde (Pawloski et al., 2001).
2. eine Stimulation der eNOS, d.h. direkte oder indirekte Erhöhung der Enzymaktivität zu Grunde liegen, sei es durch Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration oder durch Aktivierung mittels verschiedener Kinasen.
3. eine Verlängerung der Lebensdauer von NO durch Verlangsamung des oxidativen Abbaus zu Nitrat/Nitrit eintreten.

Von diesen Möglichkeiten kann 1. ausgeschlossen werden, da die Zunahme der NO resp. $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ -Bildung vollständig durch Hemmstoffe der eNOS zu unterdrücken war (Berkels et al., 1996; Brovkovich et al., 2001), während bisher zwischen 2. und 3. nicht unterschieden werden kann.

Wie mehrere Autoren gezeigt haben, besitzen DHP-Calciumkanalmodulatoren ein antioxidatives Potential (Mak, Weglicki, 1994; Berkels et al., 2001). Unterschiede im Redox-Potential könnten zur Verlängerung der Lebensdauer und zu erhöhter NO-Konzentration führen, ohne dass sich dies in der Kumulation von $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ bemerkbar macht. Dies könnte die divergierenden Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen für unterschiedliche DHP erklären. Wurde direkt die freie NO-Konzentration unmittelbar am oder im Endothel ermittelt, so konnte z.B. nach Nifedipin-Applikation ein Anstieg beobachtet werden (Berkels et al.,

2000), während die Gruppe um Hintze (Zhang, Hintze, 1998), die das Oxidationsprodukt Nitrat/Nitrit analysierten, keine Steigerung durch Nifedipin, wohl aber durch Amlodipin nachweisen konnten. Da die basale NO-Bildungsrate von Endothel sehr niedrig ist (Guo et al., 1996), könnte auch eine nicht ausreichende Sensitivität des für die Nitrit-Analytik verwendeten Griess-Assays für die von Zhang und Hintze (1998) gefundenen Unterschiede von Amlodipin und Nifedipin verantwortlich sein, vor allem wenn beide Substanzen die NO-Bildung in unterschiedlichem Ausmaß stimulierten (Amlodipin > Nifedipin), könnte dieser Effekt von Nifedipin so gering ausfallen, dass er mit dieser Methode nicht nachzuweisen ist.

Daher sollte in der vorliegenden Arbeit ein Verfahren der Nitrit-Analytik entwickelt und etabliert werden, welches eine höhere Sensitivität als der Griess-Assay aufweist, so dass geklärt werden kann, ob verschiedene DHP-Calciumantagonisten die NO-Bildung (über die NO-Synthase) in unterschiedlichem Maße stimulieren und/oder auf Grund ihres mehrfach beschriebenen antioxidativen Potentials die Lebensdauer des NO verlängern.