

## **4. Diskussion**

### **4.1 Proliferationseigenschaften von Dinukleosidpolyphosphaten**

Die durchgeführten Experimente belegen, dass Dinukleosidpolyphosphate mit fünf bzw. sechs Phosphatgruppen starke proliferative Wirkung auf glatte Gefäßmuskelzellen induzieren. Um auszuschließen, dass die Degradationsprodukte der Dinukleosidpolyphosphate das Wachstum der Dinukleosidpolyphosphate nur simulieren, wurde im nächsten Schritt überprüft, ob die möglichen Degradationsprodukte, wie z.B. GTP oder auch ATP die Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen induzieren.

Die möglichen Degradationsprodukte der Dinukleosidpolyphosphate, wie ATP, ADP, AMP, GTP, GDP und GMP können nicht für die wachstumsstimulierende Wirkung verantwortlich gemacht werden. Ähnliches wurde bereits beobachtet, als Experimente mit Dinukleosidpolyphosphaten in der isolierten perfundierten Niere durchgeführt wurden [19]. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Vasoaktivität von den Dinukleosidpolyphosphaten nicht durch die möglichen Degradationsprodukte der Dinukleosidpolyphosphate verursacht ist.

Die Proliferation von ATP oder auch GTP ist im Vergleich zur Proliferation von den getesteten Dinukleosidpolyphosphaten deutlich und signifikant geringer.

### **4.2 Die Bedeutung von Guanosin und Adenosin in Dinukleosidpolyphosphaten**

Die durchgeführten Experimente belegen, dass vor allem die guanosinhaltigen Dinukleosidpolyphosphate starke Wachstumsfaktoren sind, während Ap5A und Ap6A im Vergleich zu

PDGF nur einen geringen und fast biologisch nicht zu wertenden wachstumsstimulierenden Effekt haben.

Durch die Anwesenheit von Adenosin bei den Dinukleosidpolyphosphaten nimmt die wachstumsstimulierende Wirkung deutlich ab.

Ein umgekehrter Effekt wurde beobachtet, als untersucht wurde, welche Auswirkungen Dinukleosidpolyphosphate auf den Gefäßtonus in Nierengefäßen und Koronargefäßen haben. Hierbei wurde festgestellt, dass nur die Dinukleosidpolyphosphate vasoaktiv sind, die mindestens eine Adenosingruppe enthalten. Diguanosinpolyphosphate zeigen hingegen keine signifikante Änderung des Gefäßtonus in Nierengefäßen und Koronargefäßen [82,83].

Für die Vasoaktivität der Dinukleosidpolyphosphate ist die Anwesenheit eines Adenosinmoleküls wichtig, während für die Proliferation vor allem die Anwesenheit eines Guanosinmoleküls von großer Bedeutung ist. Dies zeigt vor allem auch an, dass die Rezeptoren bezüglich der Proliferation und der Vasoaktivität unterschiedlich sind.

#### **4.3 Welcher Purinrezeptor ist für die Proliferation von Dinukleosidpolyphosphaten verantwortlich?**

Während die Vasokonstriktion der arteriellen Gefäße vor allem durch die Aktivierung von P2X-Rezeptoren induziert wird [84] stellt sich die Frage, welcher Rezeptor für die proliferationssteigernde Wirkung von Dinukleosidpolyphosphaten in den glatten Gefäßmuskelzellen verantwortlich ist.

Dies ist in der vorliegenden Studie in einem ersten Ansatz untersucht worden. Es ist allgemein bekannt, dass P2X-Rezeptoren unter Zellkulturbedingungen nicht mehr exprimiert

werden [85]. Dadurch scheiden die P2X-Rezeptoren für die Proliferation aus.

Eine Alternative bieten die P2Y-Rezeptoren. Durch den Einsatz von P2Y-Rezeptorantagonisten konnte festgestellt werden, dass die Dinukleosipolyphosphat - induzierte Vasokonstriktion durch einen P2Y-Rezeptor vermittelt wird. In zahlreichen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass die P2Y-Rezeptoren 1, 2, 4 und 6 in der Lage sind in Gefäßen eine Proliferation zu induzieren [78].

P2Y-Rezeptoren werden jedoch in der Zellkultur weiterhin exprimiert. In den vorliegenden glatten Gefäßmuskelzellen konnte gezeigt werden, dass der P2Y1-, P2Y2, P2Y4 und auch der P2Y6-Rezeptor exprimiert sind, sodass alle vier Rezeptoren als potentielle wachstumsinduzierende Rezeptoren in Frage kommen. Vor allem zeigte sich die Expression aller vier P2Y-Rezeptorsubtypen in allen Passagen der glatten Gefäßmuskelzellen.

Es gibt bisher kaum P2Y-Rezeptorantagonisten, die es erlauben zwischen den einzelnen P2Y-Rezeptoren zu unterscheiden. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei P2Y-Rezeptorantagonisten verwandt. MRS2179 blockiert den P2Y1-Rezeptor und PPADS den P2Y1, P2Y2 und P2Y6-Rezeptorsubtyp.

In den Experimenten wurde gezeigt, dass PPADS die Proliferation von Gp5G und Gp6G vollständig blockieren kann. Da MRS2179 keine Blockade des Wachstums induziert, ist davon auszugehen, dass er als proliferationssteigernder P2Y-Rezeptor des Typ 2 oder Typ 6-Rezeptors in Frage kommt.

Da es derzeit keinen spezifischen Inhibitor für den Typ 2 oder Typ 6-Rezeptor gibt, kann derzeit nicht beantwortet werden, welcher der beiden P2Y-Rezeptorsubtypen verantwortlich ist.

#### **4.4 Wie funktioniert die Signaltransduktion der Gp5/6G-induzierten Proliferation ?**

Es ist aus der Literatur bekannt, dass P2Y-Rezeptoren Wachstum über die Aktivierung der Rho-Kinase vermitteln [69].

In der vorliegenden Arbeit ist untersucht worden, ob die Gp5/6G vermittelte Proliferation ebenfalls über die Aktivierung der Rho-Kinase vermittelt ist.

Hier zeigte sich nach Blockade der Rho-Kinase Gp5/6G nicht mehr in der Lage, eine Proliferation zu induzieren.

Diese Information ist für die Hypertensiologie und Arteriosklerose von großer Bedeutung.

Bei der essentiellen Hypertonie treten zwei prinzipielle Veränderungen am Gefäßsystem auf : ein vermehrter Gefäßwiderstand und eine Gefäßhypertrophie. Wie in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, kann die Proliferation von Gp5/6G durch den P2Y2- oder P2Y6-Rezeptoren vermittelt werden. Bisher sind die Ursachen für den gesteigerten systemischen Gefäßtonus beim Patienten mit Hypertonie nicht bekannt. Die molekularen Zusammenhänge konnten bisher nicht geklärt werden. Die Phosphorylierung der Myosinleichtketten (MLC) scheint einen wichtigen Schritt in der Kontraktionssteuerung der glatten Gefäßmuskelzelle zu spielen. Eine Steigerung des Anteils an phosphorylierter Form der MLC führt zu einer gesteigerten Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzelle und zu der sogenannten Calciumsensitisierung [86].

Bei hypertensiven Ratten konnte gezeigt werden, dass die Calciumsensitisierung eine wichtige Rolle in der Entstehung der Hypertonie spielt [87,88,89]. Durch eine Aktivierung der Rho-Kinase durch die GTPase Rho wird eine Calciumsensitisierung induziert. Gp5/6G kann über die Aktivierung des P2Y2 oder P2Y6-Rezeptors die Rho-Kinase aktivieren. Durch diese Aktivierung der Rho-Kinase wird jedoch

nicht nur eine Calciumsensitisierung induziert, sondern es können auch viele weitere Prozesse wie zum Beispiel die Induktion einer Proliferation und Hypertrophie von Zellen induziert werden [90,91,92].

Damit mögen die Dinukleosidpolyphosphate einen wichtigen Beitrag in der Pathogenese der Hypertonie und der Gefäßhypertrophie leisten.