

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, welche möglichen Purinrezeptoren an der Regulation des Blutdrucks in der Niere beteiligt sind. Bereits früher wurde gezeigt, daß vasoaktive purinerge Substanzen zwei unterschiedliche Purinrezeptoren in der Niere aktivieren. Es wurde gezeigt, daß diese Purinrezeptoren eine Vasokonstriktion verursachen (van der Giet et al. 2001).

Vermutet wurde daher, daß neben dem P2X₁-Rezeptor-Subtyp, der bereits in der glatten Gefäßmuskulatur in der Niere nachgewiesen wurde, ein weiterer P2X-Rezeptorsubtyp beteiligt sein muß (van der Giet et al., 1999). Da bisher bezüglich Purinrezeptoren kaum Untersuchungen in der Niere durchgeführt worden sind, überprüften wir zunächst, welche P2X-Rezeptorsubtypen in der Niere bzw. in den verschiedenen Funktionseinheiten der Niere exprimiert werden.

Bei den durchgeführten Expressionsuntersuchungen zeigte sich, daß sowohl in der Rinde als auch im Mark die P2X₁-, P2X₂-, P2X₃- und P2X₄-Rezeptorsubtypen exprimiert werden.

Eine P2X₇-Rezeptorexpression kann auch nachgewiesen werden, jedoch ist dies am ehesten darauf zurückzuführen, daß P2X₇-Rezeptoren im wesentlichen in Makrophagen exprimiert sind, die sich auch in der Niere finden (Surprenant et al. 1996).

Daß der P2X₁-Rezeptor in der Niere vornehmlich in glatten Gefäßmuskelzellen exprimiert ist, ist bekannt (Chan et al. 1998).

Laut Literatur gab es bisher jedoch keinen Hinweis darauf, daß P2X₂-P2X₄-Rezeptoren in der Niere nachgewiesen wurden, bzw. dies wurde noch nicht gezeigt.

Daher stellte sich die nächste Frage: Kann einer der zusätzlich in der Niere identifizierten Rezeptoren der zweite vasoaktive P2X-Rezeptor sein?

Der P2X₂-Rezeptor ist dadurch charakterisiert, daß er nicht durch α,β -meATP aktivierbar, aber durch PPADS hemmbar ist. Die beobachteten Effekte des unidentifizierten Rezeptors sprechen jedoch dagegen, da der vermutete Rezeptor durch α,β -meATP aktivierbar ist (van der Giet et al., 1999).

Ähnliches gilt für P2X₄ (Bo et al., 1995). P2X₃ hingegen läßt sich sowohl durch α,β -meATP aktivieren als auch durch PPADS hemmen. Daher wäre der P2X₃-Rezeptor ein Kandidat für den unidentifizierten vasoaktiven P2X-Rezeptor.

Leider ist es schwierig, die P2X-Rezeptorsubtypen P2X₁ und P2X₃ pharmakologisch zu unterscheiden, da diese beiden sowohl durch PPADS wie auch durch Suramin hemmbar sind (Evans et al. 1998). Beide Antagonisten können nicht zwischen den beiden Purinrezeptoren diskriminieren. So hemmt Suramin einen rekombinant exprimierten P2X₁-Rezeptor in vitro bei einer IC₅₀-Konzentration von 1 μ M und den P2X₃-Rezeptor bei 3 μ M (Khakh et al., 2001). In vivo hemmt Suramin bei einer IC₅₀-Konzentration von 30 μ M den P2X₁-Rezeptor und den P2X₃-Rezeptor bei 0,3 μ M. PPADS hemmt in vitro den P2X₁-Rezeptor bei 1 μ M und den P2X₃-Rezeptor ebenfalls bei 1 μ M (IC₅₀-Werte). In vivo hingegen hemmt PPADS den P2X₁-Rezeptor bei 8 μ M und den P2X₃-Rezeptor bei 0,4 μ M. Bisher gibt es einen Antagonisten, das NF023, ein Suramin Analogon, welches zwischen dem P2X₁- und P2X₃-Rezeptor diskriminieren kann. NF023 inhibiert den P2X₁-Rezeptor in vitro in einer 10-fach niedrigeren Konzentration als den P2X₃-Rezeptor. Über in vivo Daten ist bisher nichts bekannt.

An klonierten P2X₁- und P2X₃-Rezeptoren, exprimiert in *Xenopus*-Oocyten, konnte gezeigt werden, daß sowohl Ap₆A als auch Ap₆G beide Rezeptoren aktivieren (Cinkilic et al., 2001).

Der P2X₂- und P2X₄-Rezeptor können durch Ap₆A und Ap₆G nicht aktiviert werden. Interessant hingegen ist es, daß Ap₆G potenter den P2X₃-Rezeptor aktiviert als Ap₆A, welcher beide

Rezeptoren gleich aktiviert. Daher sind an der isoliert perfundierten Rattenniere Versuche durchgeführt worden, um zu überprüfen, ob durch die Antagonisten Suramin, PPADS oder NF023 in verschiedenen Konzentrationen die Vasoaktivität von Ap_6A , Ap_6G und α,β -meATP unterschiedlich konzentrationsabhängig blockiert werden kann. Es zeigte sich, daß Suramin Ap_6A , Ap_6G und α,β -meATP in gleichen Konzentrationen hemmt, wie in der Literatur beschrieben und bereits oben erwähnt (van der Giet et al. 2001).

PPADS hingegen blockiert Ap_6A und Ap_6G in signifikant niedrigerer Konzentration als α,β -meATP. Auch in der Literatur hat sich gezeigt, daß der $P2X_3$ -Rezeptor auch in vivo in geringeren Konzentrationen gehemmt wird als der $P2X_1$ -Rezeptor (Khakh et al., 2001). Bei NF023 ist das Ergebnis noch eindeutiger. Sowohl Ap_6A wie auch Ap_6G werden in höheren Konzentrationen von NF023 gehemmt als α,β -meATP.

Bezüglich der pharmakologischen Experimente läßt sich feststellen, daß es bei der Blockade von α,β -meATP, Ap_6A und Ap_6G signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Antagonisten gibt.

Außerdem zeigt sich, daß die Agonisten in unterschiedlicher Weise Vasokonstriktionen induzieren.

In Kombination mit den molekularen Daten ist es möglich, daß der $P2X_3$ -Rezeptor sowie der $P2X_1$ -Rezeptor an der Vasokonstriktion von Ap_6A oder Ap_6G beteiligt sind.

Ein anderer nicht identifizierter $P2X$ -Rezeptor ist ebenfalls möglich. Um den $P2X_3$ -Rezeptor als möglichen Rezeptor auszuschließen, müßte zunächst gezeigt werden, ob dieser Rezeptor in den glatten Gefäßmuskelzellen der Niere exprimiert wird. Hier wären z.B. immunhistologische Verfahren möglich. Es muß jedoch noch eine weitere Möglichkeit in Betracht gezogen werden, um zu klären, welche $P2X$ -Rezeptoren an der Vasokonstriktion beteiligt sind.

Es gibt auch die Möglichkeit, daß ein Heteromer der vier Purinrezeptorsubtypen diese Vasokonstriktion verursacht. Dazu muß man zunächst wissen, welche Subtypen theoretisch Heteromere bilden können. Dies wurde bereits systematisch von Torres und Mitarbeitern behandelt (Torres et al., 1999). Die Gruppe führte systematisch Koexpressionen der P2X-Rezeptorsubtypen in Zellen durch und konnte mit Hilfe der Immunpräzipitation feststellen, daß P2X₄ keine Interaktion mit P2X₁, P2X₂ oder P2X₃ eingeht. Daher scheidet P2X₄ als Heteromer mit P2X₁, P2X₂ oder P2X₃ aus. P2X₁ und P2X₂ sowie P2X₂ und P2X₃ können Heteromere bilden. In der Natur ist aber bisher nur ein Heteromer von P2X₂ und P2X₃ gezeigt worden (Lewis et al. 1995). Somit gibt es theoretisch die Möglichkeit, daß ein Heteromer aus P2X₁ und P2X₂, bzw. P2X₂ und P2X₃ für die Vasokonstriktion möglich ist.

In einer persönlichen Mitteilung von Dr. van der Giet (Berlin) wurde berichtet, daß P2X₂ in glatten Gefäßmuskelzellen nicht mittels immunhistologischen Untersuchungen nachweisbar ist. Daher scheiden die oben erwähnten Heteromere als Ursache für die nicht zu erklärende Vasokonstriktion aus.

Zusammenfassend läßt sich darstellen, daß in der isoliert perfundierten Niere vier P2X-Rezeptorsubtypen exprimiert werden. Der P2X₂- und P2X₄-Rezeptor sind an der Vasokonstriktion eher nicht beteiligt, da diese Subtypen nicht durch α,β -meATP aktivierbar sind bzw. durch PPADS gehemmt werden können. Hier könnte ein Heteromer als Ursache für die nicht zu erklärende Vasokonstriktion von Ap₆A und Ap₆G vorliegen.

Der P2X₁-Rezeptor spielt eine wichtige Rolle in der α,β -meATP-, Ap₆A- und Ap₆G-induzierten Vasokonstriktion.

Neu ist, daß auch der P2X₃-Rezeptor in der Niere exprimiert ist. Pharmakologische Experimente mit NF023, das die P2X-Rezeptorsubtypen diskriminieren kann, legen nahe, daß auch der

P2X₃-Rezeptor eine Rolle in der Gefäßregulation spielen kann. Weitere Experimente mit P2X-Rezeptorantagonisten, die zwischen den Subtypen unterscheiden, wie z.B. Ip₅I (King et al., 1999), sind nötig. Auch immunhistologische Untersuchungen sind nötig, um den P2X₃-Rezeptor als möglichen vasoaktiven Rezeptor in den glatten Gefäßmuskelzellen zu identifizieren.

Somit gibt es jetzt Hinweise, daß der P2X₃-Rezeptor auch entscheidend an der Blutdruckregulation in der Niere beteiligt ist und auch ein möglicher Rezeptor bei der Entstehung hohen Blutdrucks sein mag.