

Aus der Klinik für Nephrologie und Endokrinologie,
Campus Benjamin Franklin,
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Pharmakologische Charakterisierung der vasoaktiven
Eigenschaften von Ap_7A und Ap_8A an der isolierten
perfundierten Rattenniere

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Daniela Blaschke

aus Löbau

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. M. van der Giet
2. Prof. Dr. med. B. Levkau
3. Prof. Dr. med. H. Peters

Datum der Promotion: 23.03.2007

Erlaubnis für die Durchführung von Tierexperimenten:

Aktenzeichen: O 0086/ 01

Datum der behördlichen Genehmigung: 27.04.2001

I. Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Bedeutung der arteriellen Hypertonie / Gegenstand dieser Arbeit.....	1
1.2 Folgeerkrankungen der arteriellen Hypertonie	2
1.2.1 Linksherzhypertrophie, Herzinsuffizienz, Koronare Herzkrankheit.....	2
1.2.2 Zerebrovaskuläre Erkrankungen.....	2
1.2.3 Renale Erkrankungen	3
1.2.4. Weitere Erkrankungen.....	3
1.3 Definition / Epidemiologie der arteriellen Hypertonie	4
1.4 Klinik der arteriellen Hypertonie	5
1.5 Ätiologie der arteriellen Hypertonie	6
1.6 Dinukleosidpolyphosphate / Purinrezeptoren	7
1.6.1 Diadenosinpolyphosphate	7
1.6.2 Purinrezeptoren	9
1.7. Fragestellung	14
2. Material und Methoden	15
2.1 Präparationen zur Isolierung und Perfusion der Rattenniere	15
2.2 Verwendete Chemikalien	16
2.3 Das Nierenperfusionssystem	17
2.4 Äquilibration des Systems und Überprüfung auf Funktionstüchtigkeit.....	18
2.5 Durchführung der Nierenversuche	19
2.5.1 Erstellen von Dosiswirkungskurven der Testsubstanzen unter Dauerperfusion mit Tyrode.....	19
2.5.2 Erstellen von Dosiswirkungskurven der Testsubstanzen unter Dauerperfusion mit Antagonisten	19
2.5.3 Desensitierungsversuche	20
2.6 Statistik.....	20
3. Ergebnisse	21
3.1 Veränderungen des MPD bei Dauerperfusion mit Tyrodelösung, Suramin, PPADS, NF023, α,β -meATP, ATP γ S, MRS 2179, RB-2 und CPDPX	21
3.2 Untersuchung der dosisabhängigen ED ₅₀ von Ang II, α,β -meATP, Ap ₇ A und Ap ₈ A	21
3.3 Untersuchung der dosisabhängigen ED ₅₀ von Ap ₇ A und AP ₈ A unter Dauerperfusion mit Suramin, PPADS, α,β -meATP und NF023.....	23
3.4 Untersuchung der dosisabhängigen ED ₅₀ von Ap ₇ A und Ap ₈ A unter Dauerperfusion mit MRS 2179, RB-2 und ATP γ S.....	25

3.5 Untersuchung der dosisabhängigen ED ₅₀ von Ap ₇ A und Ap ₈ A unter Dauerperfusion mit CPDPX	27
3.6 Untersuchung der dosisabhängigen ED ₅₀ von Ang II unter Dauerperfusion mit α,β -meATP und Suramin.....	29
3.7 Bestimmung der beteiligten Purin-Rezeptoren	30
3.8 Desensitisierungsexperimente	31
4. Diskussion	32
5. Zusammenfassung.....	36
6. Literaturverzeichnis.....	37
7. Danksagung	43
8. Lebenslauf	44
Erklärung.....	47

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Adenosin und Guanosin	7
Abbildung 2: Strukturformel von Ap ₇ A.....	9
Abbildung 3: P _{2X} -Rezeptor	12
Abbildung 4: Aufbau des Perfusionssystems.....	18
Abbildung 5: Dosis-Wirkungs-Kurven von α,β -meATP, Ang II, Ap ₇ A, Ap ₈ A.....	22
Abbildung 6: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₇ A in Anwesenheit und Abwesenheit von Suramin, PPADS, NF023 und α,β -meATP	23
Abbildung 7: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₈ A in Anwesenheit und Abwesenheit von Suramin, PPADS, NF023 und α,β -meATP	24
Abbildung 8: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₇ A in Anwesenheit und Abwesenheit von ATP γ S, MRS 2179 und RB-2.....	25
Abbildung 9: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₈ A in Anwesenheit und Abwesenheit von ATP γ S, MRS 2179 und RB-2.....	26
Abbildung 10: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₇ A in Anwesenheit und Abwesenheit von CPDPX.....	27
Abbildung 11: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ap ₈ A in Anwesenheit und Abwesenheit von CPDPX.....	28
Abbildung 12: Dosis-Wirkungs-Kurven von Ang II in Anwesenheit und Abwesenheit von Suramin und α,β - meATP.....	29

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Definition und Klassifikation von Blutdruckbereichen in mmHg (WHO / ISH Guidelines-Subcommittee).....	4
Tabelle 2: Klinische Stadien der arteriellen Hypertonie	5
Tabelle 3: Pharmakologische Charakterisierung von P _{2X} -Rezeptoren.....	11
Tabelle 4: Agonistensensitivität an P _{2Y} -Rezeptoren	11
Tabelle 5: Zusammensetzung der Tyrodelösung	17
Tabelle 6: ED ₅₀ -Werte mit Standardabweichungen für α,β -meATP, Ang II, Ap _{7A} , Ap _{8A}	22
Tabelle 7: ED ₅₀ -Werte mit Standardabweichungen für Ap _{7A} und Ap _{8A} in Anwesenheit und Abwesenheit von Suramin, PPADS, NF023 und α,β -meATP	24
Tabelle 8: ED ₅₀ -Werte mit Standardabweichungen für Ap _{7A} und Ap _{8A} in Anwesenheit und Abwesenheit von ATP _{γS} , MRS 2179 und RB-2	26
Tabelle 9: ED ₅₀ -Werte mit Standardabweichungen für Ap _{7A} und Ap _{8A} in Anwesenheit und Abwesenheit von CPDPX	28
Tabelle 10: ED ₅₀ -Werte mit Standardabweichungen für Ang II in Anwesenheit und Abwesenheit von Suramin und α,β -meATP	29

IV. Abkürzungsverzeichnis

A	Adenosin
2-MeSATP	2-Methylen-Thioadenosin-5`-triphosphat
α,β -meATP	α,β -Methylen-Adenosin-5`-triphosphat
ADP	Adenosin-5`-diphosphat
AMP	Adenosin-5`-monophosphat
Ang II	Angiotensin II
Ap ₂ A	P ¹ , P ² -Diadenosindiphosphat
Ap ₃ A	P ¹ , P ³ -Diadenosintriphosphat
Ap ₄ A	P ¹ , P ⁴ -Diadenosintetraphosphat
Ap ₅ A	P ¹ , P ⁵ -Diadenosinpentaphosphat
Ap ₆ A	P ¹ , P ⁶ -Diadenosinhexaphosphat
Ap ₇ A	P ¹ , P ⁷ -Diadenosinheptaphosphat
Ap ₈ A	P ¹ , P ⁸ -Diadenosinoctaphosphat
Ap _n A	Diaadenosinpolyphosphate
ATP	Adenosin-5`-triphosphat
ATP γ S	Adenosin-5`-0-3`-Thiotriphosphat
β,γ -meATP	β,γ -Methylen-Adenosin-5`-triphosphat
°C	Temperatur in Grad Celsius
Ca ²⁺	Calcium
CaCl ₂	Calciumchlorid
cAMP	Cyclisches Adenosin-5`-monophosphat
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
CPDPX	8-Cyclopentyl-1, 3-dipropylxanthin
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ED ₅₀	Dosis effectiva 50
EDRF	Endothelin-derived relaxing factor (=NO)
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
fmol	Femtomol
g	Gramm

H ₀	Nullhypothese
H ₁	Alternativhypothese
H ₂ O	Wasser
i.E.	Internationale Einheit(en)
K ⁺	Kalium
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
l	Liter
log	Logarithmus
M	Mol
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µmol	Mikromol
min	Minuten
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimol
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
Mol	Mol
MPD	Mittlerer Perfusionsdruck
MRS 2179	2'-Deoxy-N ⁶ -methyladenosine-3',5'-bisphosphate
n	Stichprobenumfang
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumbicarbonat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphatdihydrat
NF023	8,8'-(carbonylbis(imino)-3,1-phenylene carbonylimino)bis(1,3,5-naphthalenetrisulfonic acid)

ng	Nanogramm
nmol	Nanomol
NO	Stickstoffmonoxid (=EDRF)
O ₂	Sauerstoff
p	Probability (Wahrscheinlichkeit)
pmol	Pikomol
PPADS	Pyridoxalphosphat-6-azophenyl-2,4-disulfonsäure
RB-2	Reactive Blue 2
SEM	Standard error mean = mittlerer Fehler des Mittelwertes
UMP	Uracil-5`-monophosphat
UDP	Uracil-5`-diphosphat
UTP	Uracil-5`-triphosphat
WHO	World Health Organization
Xp _n X	Dinukleosidpolyphosphate
ZNS	Zentrales Nervensystem

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Walter Zidek für die Rahmenbedingungen, die diese Promotion ermöglicht haben, danken.

Ebenfalls möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Markus van der Giet für die thematische Findung und für die freundliche Unterstützung der hier vorliegenden Arbeit danken.

Für die Bereitstellung der der aufgereinigten Substanzen möchte ich Herrn PD Dr. rer. nat. Joachim Jankowski danken.

Ganz besonders erwähnen und danken möchte ich Herrn Dr. med. Markus Tölle, der mich mit seiner Kompetenz und Freundlichkeit zu jeder Zeit, während des praktischen und auch schriftlichen Teils der Promotion, geduldig unterstützt, betreut und motiviert hat.

Frau Nadja Müller und Frau Julia Steinhagen möchte ich für Findung der Promotionsarbeit und die stets angenehme und fröhliche Zusammenarbeit im Labor danken.

Herrn Richard Waluga möchte ich vor allem für seine freundschaftliche Unterstützung während des praktischen Teils der Arbeit danken.

Besonders meinen lieben Eltern und meiner Schwester sei für ihre kontinuierliche und liebevolle Unterstützung Dank ausgesprochen.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung

„Ich, Daniela Blaschke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Pharmakologische Charakterisierung der vasoaktiven Eigenschaften von Ap₇A und Ap₈A an der isolierten perfundierten Rattenniere“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 22.02.2007

Unterschrift