

## **1. Einleitung**

### **1.1 Koronare Herzkrankheit und Angina pectoris**

Die koronare Herzkrankheit ist definiert als die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien. Bedingt durch flusslimitierende Koronarstenosen kommt es zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf. Schweregrad und Dauer der hierdurch hervorgerufenen Ischämie bestimmen die Manifestation in Form von stabiler oder instabiler Angina pectoris, stummer Myokardischämie, ischämisch bedingter Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen und akutem Myokardinfarkt (Deutsche Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung, 1998).

Mit 95% ist die Makroangiopathie Hauptursache der Entstehung der koronaren Herzkrankheit. Hierbei kommt es zu Arteriosklerose der großen und mittleren epikardialen Koronararterien. Artherosklerotische Plaques können als eine überschießende entzündlich-fibroproliferative Antwort der Gefäße auf verschiedene Schädigungen des Endothels und der glatten Gefäßmuskelzellen angesehen werden (Meyer et al., 1996). Die Mikroangiopathie spielt ätiologisch lediglich eine untergeordnete Rolle.

Epidemiologische Studien, wie z.B. die Framinghamstudie, haben eine Reihe von Risikofaktoren für die Entwicklung der Koronarsklerose aufgezeigt (siehe Tabelle 1) (D'Agostino et al., 2000). Zu den in Tabelle 1 erwähnten Risikofaktoren kommen noch unbeeinflussbare Risikofaktoren wie Lebensalter, Geschlecht und genetische Disposition (Classen et al. 1994). Abhängig vom Stenosegrad der Koronargefäße kann es zu einer Behinderung des Koronarflusses kommen, was wiederum eine

Myokardischämie auslösen kann. Als klinische Manifestationen der koronaren Herzkrankheit (KHK) sind Angina pectoris, Herzinfarkt, ischämische Herzmuskelerkrankung mit Linksherzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen und plötzlicher Herztod anzusehen.

**Tabelle1:** Risikofaktoren der Arteriosklerose (D'Agostino et al., 2000)

1. Inhalatives Tabak rauchen
2. Fettstoffwechselstörungen: Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin ?, HDL-Cholesterin ?, Triglyceride ?
3. Arterielle Hypertonie
4. Diabetes mellitus
5. Metabolisches Syndrom: Stammfettsucht, Insulinresistenz und Hyperinsulinämie + assoziierte Erkrankungen (2-4)
6. Antikonceptiva bei Frauen
7. Adipositas

Die Angina pectoris ist mit 55% die häufigste Manifestationsform der KHK. Ab einer Reduktion des Gefäßquerschnitts um 75%, der sogenannten kritischen Koronarstenose und dem Fehlen von kompensatorisch wirkenden Kollateralen ist die Koronarreserve erschöpft und es resultiert eine belastungsabhängige Manifestation. Leitsymptom der Angina pectoris sind retrosternal lokalisierte Schmerzen, die in den linken, seltener auch rechten Schulter-Armbereich, sowie Hals und Unterkiefer ausstrahlen können. Sie sind von

kurzer Dauer und können durch körperliche oder psychische Belastungen ausgelöst werden. Typischerweise sistieren sie rasch nach Gabe von Nitropräparaten oder nach Beendigung der auslösenden körperlichen Anstrengung. Nach der Verlaufsform werden folgende Formen der Angina pectoris voneinander unterschieden (Classen et al., 1994):

- 1. Stabile Angina pectoris:** Regelmäßig durch körperliche oder psychische Belastungen auslösbar
- 2. Instabile Angina pectoris:** Beinhaltet jede Erstmanifestation von Angina pectoris (De-novo-Angina), Zunahme der Anfallsdauer und Anfallsfrequenz (Crescendo-Angina)
- 3. Prinzmetalangina:** Sie stellt eine Sonderform der Angina pectoris dar. Es kommt ausschließlich zu Ruheschmerzen, die länger als 15 Minuten anhalten. Die Prinzmetallangina wird durch Koronarspasmen, bisher unklarer Ursache, ausgelöst.

### **1.1.2 Stabile Angina pectoris**

Die stabile Angina pectoris ist regelmäßig durch bestimmte Mechanismen, wie psychische oder körperliche Anstrengungen, auslösbar. Bei einigen Patienten wird der belastungsabhängige Angina-pectoris-Schmerz durch Fortsetzen der körperlichen Tätigkeit aufgehoben („walk through“-Phänomen). Die stabile Angina pectoris spricht gut auf Nitratgabe an (Classen et al., 1994). Die Tabelle 2 zeigt die Einteilung der Angina pectoris nach dem Schweregrad, vorgeschlagen durch die Canadian Cardiovascular Society (Campeau, 1976). Sie ist in Anlehnung an die Klassifizierung der Herzinsuffizienz der New York Heart Association erstellt worden.

**Tabelle 2:** Einteilung der Angina pectoris nach dem Schweregrad (Canadian Cardiovascular Society, 1992)

0	Stumme Ischämie
I	Keine Angina bei normaler körperlicher Belastung, Angina bei schwerer körperlicher Anstrengung
II	Geringe Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch Angina pectoris
III	Erhebliche Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch Angina pectoris
IV	Angina bei geringster körperlicher Belastung oder Ruheschmerzen

### 1.1.3 Instabile Angina pectoris

Das Syndrom der instabilen Angina pectoris ist definiert als rasch zunehmende, in den letzten sechs Wochen neu aufgetretene Angina bei geringer Belastung oder Ruheangina ohne signifikante Erhöhung der Plasmakreatinkinaseaktivität.

Die instabile Angina pectoris wird in der Regel ausgelöst durch eine plötzliche Zunahme der Thrombogenität eines koronaren Plaque (Davies, 1997 ; Theroux et al., 1998). Meist liegt die Ruptur der fibrösen Kappe einer exzentrischen, lipidreichen Plaque zugrunde. Hierdurch kommt es zur Exposition thrombogener Plaquebestandteile, wie extrazellulärer Matrixproteine, Phospholipid und Thromboplastin, das auf plaqueständigen Makrophagen exprimiert wird (Marx et al., 1998 ; Moreno et al., 1996). Ein weiterer Auslöser der

instabilen Angina pectoris ist die oberflächliche Erosion von Plaques (Burke et al., 1997). An erodierten oder rupturierten Plaques führen Thrombinbildung und Kontakt mit extrazellulärer Matrix zur Aktivierung, Adhäsion und Aggregation von Thrombozyten mit Ausbildung wechselnder intrakoronarer Thromben, die initial noch durch den Blutfluss freigespült werden können (Fuster, 1994; Neumann et al., 1996). Die Folge sind zyklische Flussschwankungen bis hin zur kompletten Ischämie. Hieraus ergibt sich ein fließender Übergang zwischen den akuten Koronarsyndromen: Kritische Reduktion des Blutflusses oder kürzer anhaltende Okklusionen führen zur Ischämie, die je nach Ausmaß mit Myokardzellnekrose (rudimentärer Myokardinfarkt) oder ohne Nekrose (instabile Angina) einhergehen. Wird eine komplette Okklusion durch Fibrin stabilisiert, kommt es zum transmuralen Myokardinfarkt.

#### **1.1.4 Epidemiologie der Koronaren Herzkrankheit**

Jährlich sterben 12 Mio. Menschen an den Folgen koronarer Herzerkrankungen. Die KHK ist, nach Angaben der World Health Organisation (WHO), die häufigste Todesursache der Welt. In den USA waren 1999 38,6% der Todesfälle der weißen, männlichen und 42,5% der weißen, weiblichen Bevölkerung Folge einer KHK. Die Sterblichkeitsrate unterliegt starken regionalen Schwankungen. In Russland beträgt sie für die männliche Bevölkerung 639 und in Japan 57 pro 100.000 Einwohner. Das „Lifetime Risk“ an einer KHK nach dem 40. Lebensjahr zu erkranken, beträgt für Männer 49% und für Frauen 32%. Männer erkranken gehäuft zwischen dem 40. und 60. Lebensjahr und im Durchschnitt zehn Jahre früher als Frauen. Sobald Frauen die

Menopause erreichen, steigt jedoch das Risiko an einer KHK zu erkranken. 25% der Männer und 38% der Frauen mit einem diagnostizierten Herzinfarkt, als Folge der KHK, sterben innerhalb des nächsten Jahres. Bei einem plötzlichen Herztod, als Folge der KHK, können zu 50% bei Männern und zu 63% der Frauen keine vorhergehenden Symptome der Erkrankung festgestellt werden (American Heart Association, 2002). Durch zahlreiche Einflüsse wie Früherkennung, Reduktion der Risikofaktoren und Verbesserung der Therapie hat die Krankheitshäufigkeit seit 1968 abgenommen, in den USA beispielsweise um 45%.

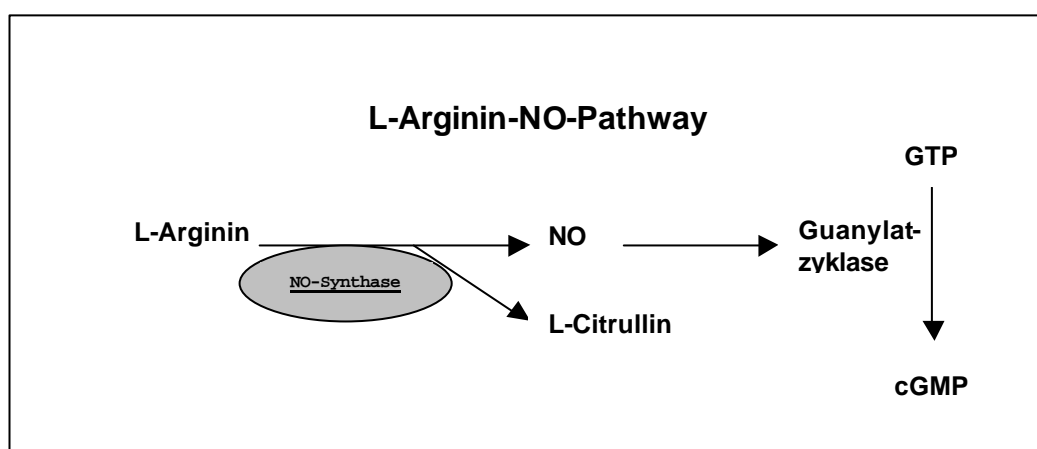
Die Kosten, hervorgerufen durch kardiovaskuläre Erkrankungen, werden für die USA für das Jahr 2002 auf \$329,2Mrd. geschätzt. Allein für die KHK entsteht ein Kostenvolumen von \$111,8Mrd (American Heart Association, 2002).

## **1.2. Rolle des Endothels für die Koronardurchblutung**

Seit 1980 Furchgott und Mitarbeiter an isolierten Gefäßen des Kaninchens erstmals einen endothelialen, vasodilatierenden Faktor (EDRF) entdeckten (Furchgot et al., 1980), ist klar geworden, dass das Endothel durch sekretorische Leistungen aktiv an der Aufrechterhaltung der funktionellen und strukturellen Integrität der Arterienwand beteiligt ist. Es reguliert, durch die Freisetzung vasoaktiver Substanzen, den lokalen Gefäßtonus, die Adhäsivität für Leukozyten und Thrombozyten und die Proliferation glatter Muskelzellen (Vane et al., 1990; Moncada et al., 1993). Der wichtigste endotheliale Faktor ist der Endothelium-Derived-Relaxing-

Factor (EDRF), welcher von Ignarro und Palmer 1987 als Stickstoffmonoxid (NO) identifiziert werden konnte (Ignarro et al., 1987; Palmer et al., 1987). NO wird durch die NO-Synthase (NOS) aus der Vorstufe L-Arginin gebildet (siehe Abbildung 1) (Moncada et al., 1993). NO/EDRF stimuliert direkt die Guanylatzyklase in glatten Gefäßmuskelzellen, die wiederum zyklisches Guanosin-5'-monophosphat (cGMP) bildet und so zu einer Relaxation des Gefäßes führt.

Die endothelabhängige Vasodilatation erfolgt, sowohl durch basale als auch durch stimulierte Freisetzung von NO. Bei Letzterer spielen Scherkräfte und pulsatile Dehnung eine bedeutende Rolle, die bei Blutflusssteigerungen am Endothel wirksam werden. Diese Form der endothelialen Reaktion wird als „flussvermittelte Vasodilatation“ bezeichnet (Pohl et al., 1986; Rubanyi et al., 1986). Des Weiteren kommt es zu einer rezeptorvermittelten Freisetzung von NO durch zirkulierende Agonisten wie Acetylcholin, Bradykinin, Substanz P, Serotonin, Adenosin-5'-diphosphat (ADP) (Moncada et al., 1991) und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) (Kelm et al., 1988).



**Abbildung 1:** Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) (Moncada et. al, 1993)

Außerdem werden vom Endothel vasokonstriktorisches Substanzen gebildet. Die Bedeutendsten sind das potente Endothelin-1 (Yanagisawa et al., 1988), die cyclooxygenaseabhängigen Prostaglandine (Pagano et al., 1991) und die Superoxid-Anionen (Ohara et al., 1993).

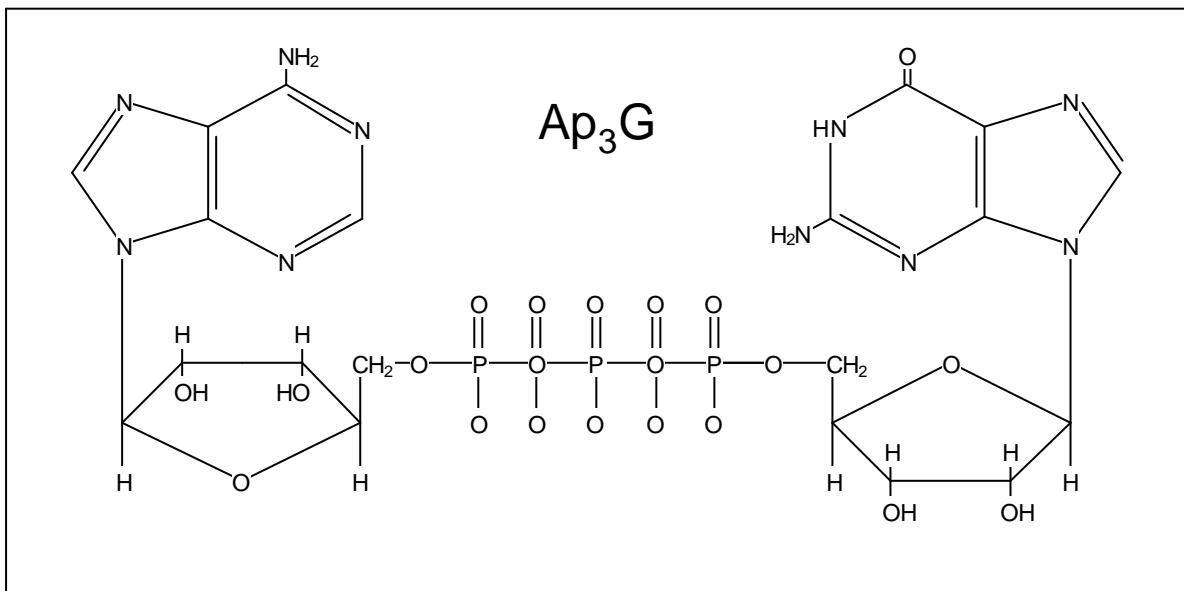
1986 beschrieben Ludmer und Mitarbeiter eine paradoxe Vasokonstriktion auf Acetylcholin an Patienten mit endothelialer Dysfunktion bei koronarer Herzkrankheit (Ludmer et al., 1986). Acetylcholin hat eine duale Wirkung auf die Koronargefäße. Zum Einen wirkt es über die endothelabhängige Freisetzung von NO/EDGF vasodilatatorisch, zum Anderen direkt auf die glatte Gefäßmuskulatur vasokonstriktorisches. Im Falle einer Endotheldysfunktion, wie sie für die Koronarsklerose typisch ist, wird das Gleichgewicht zwischen Vasodilatation und Vasokonstriktionen zugunsten Letzterer verschoben. In Koronargefäßen steht der metabolischen Vasodilatation, hervorgerufen durch erhöhten Sauerstoffverbrauch, die Alpha-adrenerge Vasokonstriktion gegenüber (Feigl, 1987). Das normale Endothel beeinflusst die Balance zugunsten der Vasodilatation, vor allem durch flussvermittelte Freisetzung von NO. Bei funktionell gestörtem Endothel ist jedoch die Sensitivität einer Arterie auf vasokonstriktorisches Wirkung von Katecholaminen erhöht (Vita et al., 1992). Weiter konnte gezeigt werden, dass Patienten mit endothelialer Dysfunktion auf physiologische sympathotone Reize, wie Kälte oder körperliche Belastung, mit Vasokonstriktion reagieren, im Gegensatz hierzu gesunde Patienten mit Vasodilatation (Nabel et al., 1988; Gordon et al., 1989). Serotonin oder Thromboxan, die aus Thrombozyten bei instabiler Angina pectoris an rupturierten Plaques freigesetzt werden, führen in intakten Arterien über NO-Freisetzung zu einer Dilatation der Koronargefäße, während sie bei defekten Gefäßen mit gestörter



Endothelfunktion zu einer Vasokonstriktion führen (Golino. et al.,1991). Zusätzlich entfällt bei gestörten NO-Synthese in defekten Endothelzellen der antithrombogene Effekt von NO (Willerson et al., 1989).

### 1.3 Dinukleosidpolyphosphate

Dinukleosidpolyphosphate ( $Xp_nX$ ) bestehen aus zwei Adenosinen ( $Ap_nA$ ), aus zwei Guanosinen ( $Gp_nG$ ) oder aus einem Adenosin und einem Guanosin ( $Ap_nG$ ), die durch bis zu sieben Phosphatgruppen ( $n=2-7$ ) miteinander verbunden sind.



**Abbildung 2:** Chemische Struktur der Dinukleosidpolyphosphate (Beispiel: Adenosin-5'-triphospho-5'-guanosin =  $Ap_3G$ )

### 1.3.1 Diadenosinpolyphosphate

Die verschiedenen Diadenosinpolyphosphate ( $Ap_nA$ ;  $n=2-7$ ) wurden im menschlichen Körper in verschiedenen Geweben, wie den Thrombozyten, den Nebennieren, den Hepatozyten, dem ZNS, der Placenta, dem Herzen, den Erythrozyten und dem Plasma nachgewiesen. Sie unterscheiden sich in ihrer Struktur lediglich durch die Anzahl der gebundenen Phosphatgruppen. 1992 isolierte Agha aus Thrombozyten blutdrucksteigernde Substanzen (Agha et al., 1992). Diese konnten 1994 durch Schlüter und Mitarbeiter mit Hilfe von Chromatographie, Massenspektrometrie und UV-Spektrometrie als Adenosin-5'-pentaphospho-5'-adenosin ( $Ap_5A$ ) und Adenosin-5'-hexaphospho-5'-adenosin ( $Ap_6A$ ) identifiziert werden. Intraaortale Injektion von  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  induzierten einen systemischen Blutdruckanstieg, wohingegen eine Injektion von Adenosin-5'-triphospho-5'-adenosin ( $Ap_3A$ ) und Adenosin-5'-tetraphospho-5'-adenosin ( $Ap_4A$ ) eine Abnahme auslöste. Dieser Effekt legte die Vermutung nahe, dass Diadenosinpolyphosphate an der Blutdruckregulation beteiligt sein könnten (Schlüter et al., 1994). Die Ausprägung des vasoaktiven Effekts der Dinukleosidpolyphosphate hängt offenbar von der Anzahl der gebundenen Phosphatgruppen, dem Rezeptorenbesatz des untersuchten Gefäßes und dem Kontraktionszustandes ab.  $Ap_4A$ ,  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  führten sowohl in der isolierten perfundierten Niere (van der Giet et al., 1997), sowie in isolierten perfundierten Nabelschnurvenen (Davies et al., 1995) zu einer Vasokonstriktion. Eine Dauerperfusion mit  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  in der isolierten perfundierten Rattenniere führte zu einer initialen und einer permanenten Vasokonstriktion (van der Giet et al., 1999). Adenosin-5'-diphospho-5'-adenosin ( $Ap_2A$ ) und  $Ap_3A$  hingegen führte nur in den Gefäßen der Niere zu einer

Tonussteigerung. Im vorkontrahierten Zustand der Gefäße konnte im Nierenmodell eine Abnahme des Gefäßtonus festgestellt werden. In den Mesenterialgefäßen der Ratte sind die Ergebnisse verschieden. Ralevic und Mitarbeiter zeigten an isolierten perfundierten Mesenterialarterien durch  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  induzierbare Vasokonstriktionen. Vasodilatationen konnten in vorkontrahierten Gefäßen nicht beobachtet werden (Ralevic et al., 1995). Im Gegensatz hierzu konnte Steinmetz (2000), sowohl initiale Vasokonstriktionen als auch eine anschließende Vasodilatation in vorkontrahierten Mesenterialarterien nachweisen (Steinmetz et al., 2000a; Steinmetz et al., 2000b). Neben den vasoaktiven Wirkungen der Diadenosinpolyphosphate konnte gezeigt werden, dass  $Ap_3A$ ,  $Ap_4A$ ,  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  eine wachstumsfördernde Wirkung auf Mesangialzellen haben (Schulze-Lohoff et al., 1995; Heidenreich et al., 1995). Gasmi und Mitarbeiter stellten fest, dass  $Ap_3A$  und  $Ap_4A$  in Kombination mit Granulocyte-Macrophage-Colony-Stimulating-Factor (GM-CSF) die Apoptose von neutrophilen Granulozyten verlangsamt (Gasmi et al., 1996). An glatten Muskelzellen, an Fibroblasten (Tepel et al., 1996 a/b) und in kultivierten Mesangialzellen (Tepel et al., 1996 c) verursachen  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  einen nicht erschöpflichen transmembranösen  $Ca^{2+}$ -Einstrom. Des Weiteren konnte für  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  eine diuretische und natriuretische Wirkung gezeigt werden (Hohage et al., 1996). Über die in-vivo Biosynthese von Diadenosinpolyphosphate ist bisher nichts bekannt.

### 1.3.2 Diadenosinpolyphosphate im kardialen System

Diadenosinpolyphosphate spielen eine wichtige Rolle bei der Kontrolle des kardiovaskulären Tonus und Zellwachstums (Schlüter et al., 1996). Bereits 1991 zeigten Pohl und Mitarbeiter am isolierten Kaninchenherz die dosisabhängige Abnahme des Perfusionsdrucks durch  $Ap_3A$  und  $Ap_4A$  (Pohl et al., 1991).

Rubino und Burnstock untersuchten die Wirkung von Adenosinpolyphosphaten auf das isolierte perfundierte Meerschweinchenherz. Sie stellten nach Gabe von  $Ap_2A$ – $Ap_6A$  eine Hemmung der positiv inotropen Antwort fest, die sie durch elektrische Stimulation zuvor erzeugt hatten. Die Ergebnisse veranlassten sie zu der Hypothese, dass Adenosinpolyphosphate bei der Regelung der sensomotorischen Neurotransmission am Herzen eine Rolle spielen. Zusätzlich wurde eine direkte negativ inotrope Wirkung auf das Myokard beobachtet (Rubino et al., 1996). Die Injektion von  $Ap_4A$  in anästhesierte Hunde oder Schweine führte dosisabhängig zu einer Abnahme des arteriellen Blutdrucks. Das Herzminutenvolumen stieg bei niedrigen Konzentrationen und sank bei höheren Konzentrationen. Kikuta und Mitarbeiter schlussfolgerten, dass  $Ap_4A$  negativ chronotrop wirkt und dass der Abfall des Blutdrucks bei steigender Konzentration von  $Ap_4A$  nicht mit einer reflektorischen Tachykardie assoziiert ist (Kikuta et al., 1994). Vahlensieck und Mitarbeiter zeigten an Herzmuskelpräparaten vom Mensch und Meerschweinchen den negativ inotropen Effekt von  $Ap_4A$  nach adrenerger Stimulation. Im Gegensatz hierzu konnten bei  $Ap_4A$  allein positiv inotrope Effekte am menschlichen Ventrikelmyokard gezeigt werden (Vahlensieck et al., 1999). Für  $Ap_6A$  konnte eine sowohl negativ inotrope, als auch negativ chronotrope Wirkung am Herzen gezeigt werden (Vahlensieck et

al., 1996). Stavrou und Mitarbeiter konnten am Herzen des Meerschweinchens eine durch  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  induzierte, dosisabhängige Vasodilatation der Koronargefäße beobachten (Stavrou et al., 2001).

### 1.3.3 Adenosin- und Diguanosinpolyphosphate

In Thrombozyten wurden 1997 zwei weitere Untergruppen der Dinukleosipolyphosphate identifiziert und isoliert. Für die Isolierung wurden verschiedene chromatographische Verfahren genutzt. Die Substanzen wurden mit Hilfe von UV-Spektrometrie, MALDI (matrix-assisted laser desorption /ionization), PSD-MALDI (postsource decay matrix-assisted laser desorption/ionization), Massenspektrometrie und enzymatischer Spaltung als Adenosin-5'-oligophospho-5'-guanosine ( $Ap_nG$ ;  $n=3-6$ ) und Diguanosinpolyphosphate ( $Gp_nG$ ;  $n=3-6$ ) identifiziert (Schlüter et al., 1998). Die Isolierung stellte den ersten Nachweis dieser Substanzen im menschlichen Körper dar. Bisher konnten sie lediglich in Bakterien wie *E. coli*, in Hefen, in Schalentieren (Lever et al., 1986; Palfi et al., 1991; Prescott et al., 1989; Avila et al., 1991), in *Physarum polycephalum*, in der Rattenleber und in *Saccharomyces cerevisiae* nachgewiesen werden (Redon et al., 1994). An der isolierten perfundierten Rattenniere zeigte sich nach Applikation von Adenosin-5'-triphospho-5'-guanosin ( $Ap_3G$ ), Adenosin-5'-tetraphospho-5'-guanosin ( $Ap_4G$ ), Adenosin-5'-pentaphospho-5'-guanosin ( $Ap_5G$ ) und Adenosin-5'-hexaphospho-5'-guanosin ( $Ap_6G$ ) eine Zunahme des Perfusionsdrucks. Dieser vasokonstriktive Effekt ist bei  $Ap_3G$  und  $Ap_4G$  schwach ausgeprägt. Vasoaktive Wirkung von Diguanosinpolyphosphaten konnten nicht nachgewiesen werden (Schlüter et al., 1998). Neben den vasoaktiven Effekten konnten sowohl bei den  $Ap_nG$  ( $n=3-6$ ), als auch bei den  $Gp_nG$  ( $n=3-6$ ) wachstumsstimulierende Wirkungen nachgewiesen werden, wobei eine indirekte Wirkung über den Abbau zu ATP, ADP, Guanosin-5'-triphosphat (GTP) und Guanosin-5'-diphosphat (GDP) ausgeschlossen werden konnte (Schlüter et al., 1998). Folgende Halbwertszeiten der

verschiedenen Dinukleosipolyphosphate konnten chromatographisch bestimmt werden:  $56 \pm 7$  min für  $\text{Ap}_4\text{G}$ ,  $75 \pm 9$  min für  $\text{Ap}_5\text{G}$ ,  $65 \pm 9$  min für  $\text{Ap}_6\text{G}$ ,  $62 \pm 8$  min für Guanosin-5'-tetraphospho-5'-guanosin ( $\text{Gp}_4\text{G}$ ),  $72 \pm 10$  min für Guanosin-5'-pentaphospho-5'-guanosin ( $\text{Gp}_5\text{G}$ ) und  $69 \pm 9$  min für Guanosin-5'-hexaphospho-5'-guanosin ( $\text{Gp}_6\text{G}$ ) (Schlüter et al., 1998). Im Vergleich hierzu liegt die Halbwertszeit von ATP bei etwa  $0,2$  s (Turner et al., 1998). Die Konzentrationen der gefundenen  $\text{Ap}_n\text{G}$  ( $n=3-6$ ) und  $\text{Gp}_n\text{G}$  ( $n=3-6$ ) lagen im Vergleich zu ATP bei  $1/500$  bis  $1/200$ . Nach Zugabe von Thrombin zu einer Thrombozytensuspensionen konnten nach Thrombozytenaggregation mindestens 60% der Nukleosidpolyphosphate im Plasma nachgewiesen werden (Schlüter et al., 1998).

## 1.4 Purinrezeptoren

### 1.4.1 Purinrezeptoren allgemein

Die Familie der purinergeren Rezeptoren können in zwei Hauptgruppen,  $\text{P}_1$ - und  $\text{P}_2$ -Rezeptoren, unterteilt werden (Burnstock, 1978). Sie können durch Nukleosidpolyphosphate aktiviert werden, wie bereits vielfach in den letzten Jahren beschrieben wurde.

$\text{P}_1$ -Rezeptoren sind an Adenylatzyklase gebunden. Stärkster Agonist ist Adenosin, wobei verschiedene Affinitätsgrade unterschieden werden können: Adenosin  $\gg$  AMP  $\gg$  ADP  $\gg$  ATP (Harden et al., 1995). Antagonisten sind Methylxanthine.  $\text{P}_1$ -Rezeptoren werden in  $\text{A}_1$ -,  $\text{A}_{2A}$ ,  $\text{A}_{2B}$ - und  $\text{A}_3$ -Rezeptoren weiter unterteilt.

$P_2$ -Rezeptoren kann man in zwei Untergruppen einteilen, den  $P_{2x}$ - und  $P_{2y}$ -Rezeptoren (Burnstock 1996). Agonisten sind ATP ? ADP ? AMP ? Adenosin (Harden et al., 1995). Im Gegensatz zu  $P_1$ -Rezeptoren sind  $P_2$ -Rezeptoren nicht durch Methylxanthine hemmbar. Bei den  $P_{2x}$ -Rezeptoren lassen sich weitere sieben Untergruppen unterscheiden ( $P_{2x1}$ – $P_{2x7}$ ). Es sind unselektive Kationenkanäle, die für  $Ca^{+}$ , aber auch für  $Na^{+}$  und  $Ka^{+}$  durchlässig sind (Evans et al., 1995). Die Existenz eines weiteren  $P_{2x}$ -Rezeptorsubtyps oder eines chimeren  $P_{2x}$ -Rezeptors wurde von van der Giet et al. 1999 postuliert (van der Giet et al., 1999).  $P_{2y}$ -Rezeptoren teilt man weiter in fünf Unterklassen ein ( $P_{2y1}$ ,  $P_{2y2}$ ,  $P_{2y4}$ ,  $P_{2y6}$ ,  $P_{2y11}$ ). Es sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren, deren Effektoren möglicherweise NO oder Prostaglandine sind (Motte et al., 1995).

Die Vasokonstriktion nach Bolusgabe von  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  wird in Mesenterialarterien und in Nabelschnurvenen durch  $P_{2x}$ -Rezeptoren vermittelt (Ralevic et al., 1995; van der Giet et al., 1997). Auch die Vasokonstriktion der Mesenterialarterien nach Applikation von  $Ap_4A$  wird durch  $P_{2x}$ -Rezeptoren vermittelt, wohingegen der Anstieg des Blutdrucks in der isolierten perfundierten Rattenniere durch  $A_1$ - und  $P_{2x}$ -Rezeptoren bedingt ist. In vorkonstringierten Gefäßen wirkt  $Ap_4A$  in Gegenwart eines  $P_{2x}$ -Antagonisten vasodilatatorisch (van der Giet et al., 1997). Nach Bolusgabe von  $Ap_2A$  und  $Ap_3A$  wird eine Vasokonstriktion nur in Gefäßen der isolierten perfundierten Rattenniere beobachtet. Diese wird durch  $A_1$ -Rezeptoren vermittelt. Nach Vorkontraktion der Gefäße kommt es jedoch nach Applikation von  $Ap_2A$  und  $Ap_3A$  über den  $A_2$ -Rezeptor ohne NO-Freisetzung zu einer Vasodilatation (van der Giet et al., 1997). Auch an Mesenterialarterien der Ratte wirken  $Ap_2A$  und  $Ap_3A$  vasodilatatorisch. Diese Vasodilatation ist nach Gabe von  $Ap_3A$  durch den  $P_{2y}$ -Rezeptor vermittelt, während die



vasodilatative Wirkung von  $Ap_2A$  zum einen auf den  $P_1$ -Rezeptor, zum anderen zu einem gewissen Anteil auf den  $P_{2Y1}$ -Rezeptor zurückzuführen ist (Ralevic et al., 1996). Die durch  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  induzierten Vasodilatationen in vorkontrahierten Mesenterialarterien werden möglicherweise durch einen  $P_{2Y}$ -Rezeptor vermittelt (Steinmetz et al., 2000a).

Die Rezeptoren, die zu einer proliferativen Wirkung führen (s.o.), konnten bisher nicht identifiziert werden.

#### **1.4.2. Purinrezeptoren im kardialen System**

Die am Herzen durch  $Ap_6A$  ausgelöste negativ inotrope und chronotrope Wirkung wird durch Aktivierung des  $A_1$ -Rezeptors ausgelöst (Vahlensieck et al., 1996).  $Ap_2A$ - $Ap_6A$  lösen in Vorhöfen des isolierten Meerschweinchenherzens eine Inhibition der sensomotorischen Neurotransmission aus. Dieser Effekt wird durch präjunktionale  $A_1$ -Rezeptoren vermittelt, während die postjunktionale Aktivierung von  $A_1$ -Rezeptoren zu einer direkten negativ inotropen Wirkung führt (Rubino et al., 1996). Malmsjo und Mitarbeiter konnten in humanen Koronargefäßen folgende Purinrezeptoren identifizieren:  $P_{2X1}$ ,  $P_{2Y1}$ ,  $P_{2Y2}$ ,  $P_{2Y4}$  und  $P_{2Y6}$  (Malmsjo et al., 2000). Die Lokalisation der Purinrezeptoren in den Zellen der Koronargefäße ist bisher nicht bekannt.

### 1.5 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, die pharmakologische Charakterisierung der vasoaktiven Wirkung der Diadenosinpolyphosphate  $Ap_5A$ ,  $Ap_6A$  und der aus Thrombozyten neu isolierten Dinukleosidpolyphosphate  $Ap_5G$ ,  $Ap_6G$ ,  $Gp_5G$  und  $Gp_6G$  am isolierten perfundierten Rattenherz zu überprüfen. Die an der Wirkung beteiligten Purinrezeptoren sollen bestimmt werden.