

#### **4. Diskussion**

Dinukleosidpolyphosphate wurden in letzter Zeit in verschiedenen menschlichen Geweben, darunter auch Thrombozyten (Schlüter et al., 1994) und Myokard (Luo et al., 1999), entdeckt und isoliert. Es konnte gezeigt werden, dass diese Substanzen starke vasoaktive Potenz besitzen, die sowohl den Gefäßtonus, als auch den Blutdruck beeinflussen (Schlüter et al., 1994). Die Effekte von Ap<sub>5</sub>A, Ap<sub>5</sub>G, Ap<sub>6</sub>A und Ap<sub>6</sub>G auf die isoliert perfundierten Koronararterien unterscheiden sich deutlich von den bisher gefundenen Auswirkungen auf nicht vorkontrahierte Nierengefäße (Schlüter et al., 1998; van der Giet et al., 1997) und Mesenterialgefäße (Ralevic et al., 1995; Lewis et al., 2000; Steinmetz et al., 2000a; Steinmetz et al., 2000b). Sowohl Ap<sub>5</sub>A und Ap<sub>6</sub>A, als auch in geringerem Maße Ap<sub>5</sub>G und Ap<sub>6</sub>G, wirken an Nierengefäßen und Mesenterialgefäßen als starke Vasokonstriktoren. Vasodilatative Eigenschaften von Ap<sub>5</sub>A und Ap<sub>6</sub>A konnten in den mit Angiotensin II vorbehandelten Nierengefäßen nicht nachgewiesen werden (van der Giet et al., 1997). In Mesenterialarterien unterscheiden sich die Ergebnisse. Ralevic und Mitarbeiter konnten keine durch Ap<sub>5</sub>A und Ap<sub>6</sub>A verursachten Vasodilatationen finden (Ralevic et al., 1995), während Steinmetz und Mitarbeiter in ihrem Modell Vasodilatationen nachweisen konnten (Steinmetz et al., 2000a; Steinmetz et al., 2000b). An vorkontrahierten Mesenterialarterien konnten sie durch Stimulation mit Ap<sub>5</sub>A und Ap<sub>6</sub>A eine initiale Vasokonstriktion, gefolgt von einer Vasodilatation, erzeugen. Weiterhin zeigten sie, dass die Ap<sub>5</sub>A induzierten Vasodilatationen via P<sub>2y</sub>-Rezeptoren vermittelt werden (Steinmetz et al., 2000b).

Die vorliegende Studie zeigt, dass in Koronargefäßen Ap<sub>5</sub>A, Ap<sub>5</sub>G, Ap<sub>6</sub>A und Ap<sub>6</sub>G im Grundtonus eine dosisabhängige

Vasodilatation induzieren, während  $Gp_5G$  und  $Gp_6G$  keine vasoaktive Potenz besitzen. Stavrou und Mitarbeiter konnten an Koronargefäßen des Meerschweinchens ebenfalls eine durch  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  induzierte dosisabhängige Vasodilatation zeigen (Stavrou et al., 2001).  $Ap_nX$  ( $X \neq A/G$ ;  $n \neq 5&6$ ) scheinen die Vasodilatation über  $P_{2Y1}$ -Rezeptoren zu vermitteln, was durch eine komplette Inhibition mit dem spezifischen  $P_{2Y1}$ -Rezeptorantagonisten MRS2179 nachgewiesen werden konnte (Kaiser et al., 2002). Patel und Mitarbeiter zeigten, dass  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  in der Lage sind  $P_{2Y1}$ -Rezeptoren in der Zellreihe 1321N1 zu aktivieren (Patel et al., 2001). Da L-NAME in der Lage ist diese  $Ap_nX$ -induzierten Vasodilatationen vollständig zu antagonisieren, scheinen offensichtlich endotheliale  $P_{2Y}$ -Rezeptoren aktiviert worden zu sein, welche zu einer NO-Freisetzung aus dem Endothel führen. Es konnte schon früher gezeigt werden, dass  $P_{2Y}$ -Rezeptoren in Koronargefäßen vorhanden sind und dass sie durch verschiedene Nukleotide wie ATP oder 2-meSATP aktiviert, eine Vasodilatation auslösen (Korchazhkina et al., 1999; Hansmann et al., 1998). Die durch ATP und 2-meSATP ausgelösten,  $P_{2Y}$ -vermittelte Vasodilatationen können durch eine Blockade der NO-Synthase mit L-NAME inhibiert werden (Hansmann et al., 1998). ATP induziert Vasodilatationen nicht nur über  $P_{2Y}$ -Rezeptoren sondern auch über  $A_2$ -Rezeptoren. Die ist Folge des schnellen Abbaus von ATP in AMP oder Adenosin im Koronarendothel durch Endonukleasen. Diese können wiederum  $A_2$ -Rezeptoren aktivieren (Korchazhkina et al., 1999). Schon früher konnte in der isolierten perfundierten Rattenniere gezeigt werden, dass  $Ap_5A$  und  $Ap_6A$  nicht den  $A_2$ -Rezeptor aktivieren, obwohl dieser Rezeptor in den Nierengefäßen vorkommt (van der Giet et al., 1997). Mögliche Abspaltungsprodukte von Dinukleosipolyphosphaten wie ATP oder AMP sind nicht für die Vasoaktivität von  $Ap_nX$  verantwortlich,

da sie viel kürzere Halbwertszeit als Dinukleosidpolyphosphate haben (Schlüter et al., 1998; Luthje et al., 1988). Außerdem konnte gezeigt werden, dass ATP aus Thrombozyten in den Konzentrationen, die während der Thrombozytenaggregation vorliegen, die Spaltung von Dinukleosidpolyphosphaten im Vollblut in großem Maße hemmt (Luthje et al., 1988). Die verschiedenen Ergebnisse der vasoaktiven Potenz der einzelnen  $Ap_nX$  ( $X=A/G$ ,  $n=5&6$ ) in Koronar- und Nierengefäßen könnten durch eine verschiedene Expression von Purinrezeptoren verursacht sein. Der  $P_{2y1}$ -Rezeptor scheint in den Koronargefäßen eine größere Rolle zu spielen als in den Nierenarterien.

Nach Blockierung der NO-Synthase mit L-NAME kehrt sich die durch  $Ap_nX$  ( $X=A/G$ ;  $n=5&6$ ) ausgelöste, dosisabhängige Vasodilatation in eine dosisabhängige Vasokonstriktion um. Die Blockierung des  $P_{2y1}$ -Rezeptors mit MRS2179 oder das Entfernen des Endothels mit Triton X100 kehren die Vasodilatationen ebenfalls in Vasokonstriktionen um, welche durch Blockierung mit den  $P_{2x}$ -Rezeptorantagonisten PPADS oder durch Desensibilisierung des  $P_{2x1}$ -Rezeptorsubtyps mit  $\alpha,\beta$ -meATP vollständig aufgehoben werden können. Schon früher konnte gezeigt werden, dass  $Ap_nX$  ( $X=A/G$ ;  $n=5&6$ ) den  $P_{2x1}$ -Rezeptor aktivieren können (Cincilic et al., 2001; Lewis et al., 2000; Wildman et al., 1999), welcher in glatten Muskelzellen der Koronargefäße vorkommt (Kanapuli et al., 1998; Malmsjo et al., 2000). Es ist sehr unwahrscheinlich, dass die beobachteten Vasokonstriktionen durch den  $P_{2y2}$ -,  $P_{2y4}$ -, oder den  $P_{2y6}$ -Rezeptor vermittelt sind, welche in humanen Koronargefäßen identifiziert werden konnten (Malmsjo et al., 2000), da diese  $P_{2y}$ -Rezeptoren nicht durch  $\alpha,\beta$ -meATP aktiviert werden können. Die beobachteten  $Ap_5X$ - und  $Ap_6X$ -induzierten Vasokonstriktionen sind jedoch durch  $P_{2x1}$ -Rezeptordesensibilisierung mit  $\alpha,\beta$ -meATP vollständig

blockierbar. Die Auswirkungen von Dinukleosidpolyphosphaten auf KoronargefäÙe ist aus verschiedenen Gründen wichtig für die Pathophysiologie des Menschen:

1. Dinukleosid-polyphosphate wurden im Myokard nachgewiesen. Erst kürzlich wurde  $Ap_2A$  in menschlichem Myokard (Luo et al. 1999) und  $Ap_5A$  im Meerschweinchenherzen isoliert (Javanovic et al., 1998). Sofern  $Ap_nA$  in so hohem Maße vorhanden ist, dass es den Gefäßtonus beeinflussen könnte, könnten diese Dinukleotide eine Rolle in der autokrinen Regulation der Koronargefäßperfusion spielen.

2.  $Ap_nX$  wurden aus Thrombozyten isoliert und es wurde gezeigt, dass sie bei Thrombozytenaggregation freigesetzt werden (Jankowsky et al., 1999; Schlüter et al., 1994; Schlüter et al. 1998). Deshalb sind die Auswirkungen dieser Substanzen im Zusammenhang mit Myokardischämien und instabiler Angina pectoris von Interesse. Die Freisetzung von  $Ap_nXs$  aus einem Thrombozytenthrombus könnte eine Änderung der lokalen Myokardperfusion hervorrufen.

Die in der Studie gewonnenen Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass diese Änderungen der Myokardperfusion vom Funktionszustand des Myokardendothels abhängen: In GefäÙen mit einem Endothelschaden, wie er bei der instabilen Angina pectoris beobachtet wird (Yeghiazarians et al., 2000), kann ein vasokonstriktiver Effekt von  $Ap_5X$  und  $Ap_6X$  erwartet werden. Im Gegensatz hierzu sollte es bei intaktem Endothel zu einer Vasodilatation kommen.

Zuletzt muß geprüft werden, ob die gewonnenen Ergebnisse der Studie auch in vivo relevant sind. Dies hängt davon ab, ob die Konzentrationen, die bei der Thrombozytenaggregation freigesetzt werden, groß genug sind, um den Gefäßtonus zu beeinflussen. In früheren Studien konnte gezeigt werden, daß bei der Thrombozytenaggregation Dinukleosidpolyphosphate im

Bereich von Millimolar freigesetzt werden (Jankowski et al., 1999). Folglich muss davon ausgegangen werden, dass in der engeren Umgebung eines Thrombozytenthrombus ausreichend hohe Konzentrationen von Dinukleosidpolyphosphate freigesetzt werden, um den Gefäßtonus zu beeinflussen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß  $Ap_5A$ ,  $Ap_6A$ ,  $Ap_5G$  und  $Ap_6G$  starke Vasodilatoren in Koronargefäßen sind. Sie wirken über Aktivierung von endothelialen  $P_{2Y1}$ -Rezeptoren, welche zu einer NO-Freisetzung führen. Ist das Koronarendothel beschädigt oder entfernt, wirken die gleichen Substanzen als starke Vasokonstriktoren über die Aktivierung von  $P_{2X}$ -Rezeptoren. Die Wirkung auf Koronargefäße unterscheiden sich deutlich von den Wirkungen auf Nierengefäße. Diese Effekte können von Bedeutung bei der Regulation der Koronarperfusion unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen sein.