

5. Zusammenfassung

Frühere Studien liefern ein breites Spektrum an experimentellen Daten, die belegen, dass oxidativem Stress eine kritische Rolle für die vaskuläre Funktion bei der Pathogenese von Gefäßerkrankungen als auch bei der Ausbildung einer sogenannten Nitrat-Toleranz zukommt. Dabei konnte eine erhöhte Superoxid-Produktion durch ein vaskuläres, NAD(P)H-abhängiges Oxidasesystem nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit wurden diesbezüglich Untersuchungen zu den Mechanismen und den Auswirkungen von durch Nitrat-Toleranz induziertem, oxidativem Stress in Aortengewebe von Kaninchen durchgeführt. Diese umfassten mRNA-Expressionsanalysen der vaskulären NAD(P)H-Oxidase Untereinheit gp91-Phox und Experimente zur Funktionalität des NO/cGMP-Signalweges über die Aktivität der cGMP abhängigen Proteinkinase I (cGK-I). In die Experimente zur cGK-I Aktivität wurden zusätzlich, als pathologisches Versuchsmodell, Aorten von chronisch hyperlipidämischen Watanabekaninchen integriert. Da in vorangegangenen Studien durch den Einsatz von Angiotensin-Rezeptorantagonisten in Verbindung mit oxidativem Stress ein positiver Einfluss bezüglich der Superoxid-Produktion und der Endothelfunktion gezeigt werden konnte, wurden die Versuche u.a. in Abhängigkeit einer Blockade des Angiotensinrezeptors 1 (AT-1) durchgeführt. Zuzüglich wurden auch sekundäre Effekte von oxidativem Stress nach Ausbildung einer Nitrat-Toleranz hinsichtlich der toxischen Eigenschaften von aus Stickstoffmonoxid (NO) und Superoxid (O_2^-) gebildetem Peroxinitrit ($ONOO^-$) in die Untersuchungen einbezogen.

Anhand der Ergebnisse bezüglich der gp91-Phox mRNA-Expression konnte festgestellt werden, dass im Endothel ein über den AT-1-Rezeptor vermittelter Expressionsanstieg der NAD(P)H-Oxidaseuntereinheit gp91-Phox ausgelöst wird.

Hinsichtlich der Auswirkungen von oxidativem Stress konnte demonstriert werden, dass der Grad der Serin 239 Phosphorylierung des Vasodilatator stimulierten Phosphoproteins (P-VASP) in Kaninchenaorten bedeutend durch den NO/cGMP-Signalweg reguliert wird. Endothelentfernung und Inhibition der NO-Synthase als auch induzierter und pathogener oxidativer Stress mindert markant die VASP-Phosphorylierung an der von cGK-I bevorzugten Phosphorylierungsstelle Serin 239. Eine Behandlung mit dem AT-1 Rezeptorantagonisten Irbesartan unterdrückt Nitrat-Toleranzeffekte, verbessert bei hyperlipidämischen Tieren die Endothelfunktion und reduziert die vaskuläre O_2^- -Produktion, was sich folglich in gesteigertem P-VASP widerspiegelt hat. Somit konnte mit der Analyse von P-VASP als biochemischen Marker eine neue Methode zur Charakterisierung des NO/cGMP/cGK-I

-Signalweges in Kaninchenaorten etabliert werden, mit der sich ein entscheidender Aspekt zur Effektivität von NO als Relaxationsfaktor in vaskulärem Gewebe untersuchen lässt. Mit Hilfe der P-VASP Analyse ließ sich indirekt, durch Einsatz von ONOO⁻ senkenden Agenzien, im Nitrat-Toleranz Modell eine zusätzliche Beeinträchtigung der NO/cGMP-Signaltransduktion durch ONOO⁻ zeigen, bei der als Ursache eine oxidative Schädigung der Guanylatzyklase und/oder der NO-Synthase angenommen werden kann. Ferner konnte aufgrund der Auswirkungen von ONOO⁻ eine verstärkte Tyrosin-Nitrierung der Prostazyklin-Synthase (PGI₂-S) ermittelt werden, womit sich spekulieren lässt, dass bei in dieser Art induziertem, oxidativen Stress in Kombination mit der bereits beeinträchtigten, cGMP-abhängigen Gefäßrelaxation auch mit einer Reduktion der durch PGI₂ vermittelten, cAMP-abhängigen Relaxation gerechnet werden kann.

Schlussfolgernd lässt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit in Assoziation mit anderen Forschungsarbeiten folgende Hypothese für die Mechanismen und Auswirkungen von oxidativen Stress in Aortengewebe postulieren:

Über eine verstärkte Stimulation des RAAS wird durch eine AT-1-Rezeptor vermittelte Signaltransduktion ein Expressions- und Aktivitätsanstieg des vaskulären NAD(P)H-Oxidasesystems ausgelöst, was als einer der initial maßgeblichen Mechanismen für oxidativen Stress im Gefäßsystem angesehen werden kann. Die dadurch erhöhte O₂⁻-Produktion inaktiviert primär den vom Endothel freigesetzten Relaxationsfaktor NO, woraus eine sogenannte Endotheldysfunktion mit erhöhter Gewebedurchblutung resultiert. Hierbei werden durch die Reaktion von NO mit O₂⁻ zelltoxische Konzentrationen von ONOO⁻ gebildet. Aufgrund der oxidierenden bzw. nitrierenden Eigenschaften erzeugt ONOO⁻ sekundär eine Steigerung der Inhibition des NO/cGMP-Signalweges als auch eine Beeinträchtigung der durch PGI₂ induzierten, cAMP-vermittelten Gefäßrelaxation. Dadurch wird die primär ausgelöste Endotheldysfunktion potenziert, was letztendlich die Initiation und Progression von Gefäßerkrankungen, wie z.B. Arteriosklerose, zur Folge hat.

Da sich gezeigt hat, dass der initiale Prozess für die Ausbildung einer Nitrat-Toleranz durch eine AT-1-Rezeptorblockade vermindert wurde, könnten bei der Behandlung von mit oxidativen Stress verbundenen Gefäßerkrankungen durch eine Nitroglyzerin-Therapie mit kombinierter Verabreichung von AT-1-Rezeptorantagonisten und ONOO⁻ senkenden Medikamenten eventuell vielversprechende Erfolge erzielt werden.