

2 Problemstellung

Die regelmäßige Einnahme klassischer NSAIDs kann durch Hemmung der Prostaglandin-Synthese schwerwiegende Nebenwirkungen im Gastrointestinaltrakt und eine Funktionsstörung der Niere verursachen. Die Folgen sind dyspeptische Beschwerden, Erosionen der Mukosa bis hin zu Magen-Darm-Ulzera und ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko durch Anstieg des Blutdrucks (Hawkey & Langman, 2003; Rainsford, 1999; Wolfe et al., 1999).

Erkenntnisse darüber, dass endogen gebildetes NO und die Prostaglandine synergistisch protektive Wirkungen in der Magenschleimhaut medieren und exogen zugeführtes NO die bei Hemmung der COX fehlenden Prostaglandine ersetzen könnte, führte zur Entwicklung NO-freisetzender NSAIDs (Wallace et al., 1994). Die NO-NSAIDs oder CINODs (COX-inhibiting Nitric Oxide Donators) sind klassische saure NSAIDs, deren Carboxylgruppe mit einer NO-freisetzenden Nitrooxybutyl- oder Nitrooxymethylphenyl-Gruppe verestert ist (Keeble & Moore, 2002; Muscara & Wallace, 1999).

Protektive Effekte der NO-NSAIDs im Gastrointestinaltrakt, in der Niere und im kardiovaskulären System lassen eine Beteiligung antioxidativer und zellschützender Stoffwechselwege an den noch nicht vollständig geklärten Wirkmechanismen vermuten (Cirino, 2003; Wallace et al., 2002).

Ziel der Arbeit war eine Charakterisierung von NO-NSAIDs als NO-Donoren im Zellkulturmodell. Dabei sollte zunächst der Frage nachgegangen werden, ob NO-NSAIDs Stickstoffmonoxid derart freisetzen, dass es zu Reaktionen mit NO-sensitiven Strukturen wie der löslichen Guanylatcyclase kommt. Die Bestimmung des intrazellulären cGMP-Spiegels bei Aktivierung dieses Enzyms kann als sensibler Marker für die NO-Freisetzung dienen (Bennett et al., 1989). Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob NO-NSAIDs und organische Nitrate wie GTN über gemeinsame Stoffwechselwege bioaktiviert werden.

Besondere Aufmerksamkeit sollte der NO-abhängigen Induktion antioxidativer Proteine am Beispiel der Hämoxxygenase-1 gelten. Die antioxidativen, antiinflammatorischen und cytoprotektiven Effekte einer Induktion des HO-1-Stoffwechsels wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* gezeigt und könnten einen Teil des Wirkprofils der NO-NSAIDs erklären (Foresti & Motterlini, 1999; Immenschuh & Ramadori, 2000).

Die HO-1 ist durch spontane NO-Donoren unter anderem in Endothelzellen, Gefäßmuskelzellen und Nierenepithelzellen induzierbar (Durante et al., 1997; Liang et al., 2000; Polte et al., 2000). Einige Studien zeigen allerdings, dass bestimmte Prostaglandine die HO-1 induzieren oder bei einer Induktion synergistisch wirken (Chen et al., 2002a; Koizumi et al., 1995). Daher sollte geprüft werden, ob NO-NSAIDs die HO-1 induzieren, obwohl sie ein duales Wirkprinzip besitzen: NO-NSAIDs setzen NO erst durch enzymatische Spaltung frei und stellen gleichzeitig potente Hemmstoffe beider Isoenzyme der Cyclooxygenase und damit der Prostaglandin-Synthese dar.

Mit Hilfe der Northern-Blot-Technik sollte der Frage nachgegangen werden, ob verschiedene NO-NSAIDs die Transkription der HO-1 in Endothelzellen aktivieren. Weiterhin wurde untersucht, ob eine vermehrte mRNA-Bildung zu einer gesteigerten Proteinexpression der HO-1 führt.

Von Interesse war außerdem, ob die NO-abhängige Aktivierung des cGMP/Guanylatcyclase-Systems den genregulatorischen Wirkungen der NO-NSAIDs

zugrunde liegt oder ob andere NO-aktivierbare Signaltransduktionswege wie die Mitogen-aktivierten Proteinkinasen eine Rolle spielen.

Um die protektiven Wirkungen im Magen näher zu beschreiben, sollte betrachtet werden, ob NO-NSAIDs auch in gastralen Epithelzellen die mRNA- und Protein-Synthese der HO-1 stimulieren.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung direkter oder indirekter antioxidativer Eigenschaften der NO-NSAIDs.

Da reaktive Sauerstoffspezies (ROS) in der Pathogenese der NSAID-induzierten Schädigung der Magenschleimhaut eine entscheidende Rolle spielen, sollte untersucht werden, ob NO-NSAIDs in einem Zellkulturmodell für oxidativen Stress antioxidative Wirkungen zeigen. Dieses Modell sollte sowohl für gastrale Epithelzellen als auch für Endothelzellen angewandt werden.

Ob ein Zusammenhang zwischen der Stimulation des HO-1-Stoffwechsels und einer Senkung des ROS-Spiegels besteht, sollte durch Versuche mit dem HO-1-Metaboliten Bilirubin und einem spezifischen Inhibitor der HO-1-Aktivität untersucht werden.