

## 6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob NO-NSAIDs in verschiedenen Zellkulturmodellen Stickstoffmonoxid derart freisetzen, dass es zu Reaktionen mit NO-sensitiven Zielstrukturen kommt.

Die NO-Freisetzung konnte in LLC-PK-1-Zellen durch Bestimmung des intrazellulären cGMP-Spiegels gezeigt werden. In diesem Zelltyp stimulierten NO-NSAIDs am Beispiel des NO-Naproxens konzentrationsabhängig die cGMP-Bildung. Kontrollversuche mit Naproxen und Vorbehandlung der Zellen mit SOD oder Hämoglobin belegen, dass der Effekt dem freigesetzten NO-Radikal zuzuschreiben ist. Eine Vorinkubation mit GTN oder NO-Naproxen führte zur *Downregulation* der NO-Freisetzung aus beiden Verbindungen. Diese Kreuzempfindlichkeit belegt, dass organische Nitrate und NO-NSAIDs über gemeinsame Stoffwechselwege bioaktiviert werden.

Besondere Aufmerksamkeit galt der NO-abhängigen Induktion antioxidativer Proteine am Beispiel der HO-1.

In Endothelzellen induzierten NO-NSAIDs die HO-1 sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene konzentrations- und zeitabhängig. Die NO-freien Muttersubstanzen zeigten ebenso wie der selektive COX-2-Hemmer Rofecoxib keinen induktiven Effekt auf die HO-1. Diese Ergebnisse belegen, dass der Effekt ursächlich auf die Freisetzung von NO zurückzuführen ist, nicht auf eine Hemmung von COX-Isoenzymen.

Darüber hinaus wurde in der vorliegenden Arbeit erstmalig eine NO-abhängige Induktion der HO-1 in gastralen Epithelzellen nachgewiesen. Auch in diesem Zelltyp aktivierten NO-NSAIDs die Transkription des HO-1-Gens und führten zu einer vermehrten Proteinexpression.

Untersuchungen zur Genaktivierung der HO-1 durch NO-NSAIDs in Endothelzellen ergaben, dass diese durch NO-vermittelte Effekte und nicht über reaktive Sauerstoffspezies oder Peroxynitrit induziert wird. Der *second messenger* cGMP spielte keine Rolle bei der Induktion der HO-1 durch NO-NSAIDs.

Eine Vorbehandlung der Endothelzellen mit dem Translationsblocker CHX zeigte, dass die Genaktivierung der HO-1 durch NO-NSAIDs eine De-novo-Synthese von Proteinen erforderte.

Unter Verwendung von spezifischen Inhibitoren Mitogen-aktivierter Proteinkinasen wurde eine Beteiligung der MAP-Kinasen p38, JNK und ERK an der HO-1-Genaktivierung durch NO-NSAIDs dokumentiert. Besonders die Stress-aktivierten Kinasen p38 und JNK scheinen eine entscheidende Mediatorfunktion zu besitzen.

Inwieweit sich die genomischen Effekte von NO-NSAIDs funktionell als antioxidative Schutzwirkung manifestieren, wurde in einem Zellkulturmodell für oxidativen Stress untersucht.

In Endothelzellen und gastralen Epithelzellen zeigten NO-NSAIDs sowohl direkte als auch indirekte antioxidative Wirkungen. Eine direkte Zugabe reduzierte ebenso wie eine 24stündige Vorinkubation mit anschließendem Auswaschen die durch NADPH stimulierte Konzentrationserhöhung an Sauerstoffradikalen.

Im gleichen Modell zeigte der HO-1-Metabolit Bilirubin konzentrationsabhängige antioxidative Effekte. Dieses Ergebnis dokumentiert, dass HO-1-Metabolite unter den gewählten Bedingungen als Mediatoren der NO-NSAID-Effekte fungieren können.

Mit Hilfe eines Hämoxygenase-Inhibitors konnte schließlich ein kausaler Zusammenhang zwischen der HO-1-Induktion durch NO-NSAIDs und deren indirekten antioxidativen Wirkungen festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit charakterisieren die NO-NSAIDs als potente Aktivatoren antioxidativer und antiinflammatorischer Stoffwechselwege. Die Induktion der HO-1 durch NO-NSAIDs ist ein hier erstmalig beschriebener Wirkmechanismus, der ursächlich an protektiven Effekten der NO-NSAIDs in der Magenschleimhaut, der Niere und im kardiovaskulären System beteiligt sein könnte.

Darüber hinaus zeichnet sich für die NO-NSAIDs ein therapeutisches Potenzial ab, das weit über das konventioneller NSAIDs und Coxibe hinaus geht.