

Aus dem Institut für Physiologie
(Direktor Univ.-Prof. Dr. med. R. Rettig)
der Medizinischen Fakultät der Ernst Moritz Arndt-Universität Greifswald

Blutdruckregulierende Systeme während der frühen Entwicklung der renalen Posttransplantationshypertonie

Inaugural - Dissertation
zur

Erlangung des akademischen
Grades
Doktor der Medizin
(Dr. med.)

der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst Moritz Arndt-Universität
Greifswald
2005

vorgelegt von:
Matthias Heukäufer
geboren am 18.01.1977
in Limburg an der Lahn

Dekan: Prof. Dr. H. K. Kroemer
1. Gutachter: Prof. Dr. R. Rettig, Greifswald
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Pagel, Lübeck
Ort, Raum: Institut für Physiologie, 17495 Karlsburg
Tag der Disputation: 26.7.2005

Diese Arbeit ist meinen Eltern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Hintergrund	7
1.2	Fragestellung	14
2	Material und Methoden	16
2.1	Tiere und Tierhaltung	16
2.2	Operationstechnik	17
2.2.1	Instrumentarium	17
2.2.2	Nierentransplantation	17
2.2.3	Implantation des telemetrischen Blutdrucksensors	21
2.2.4	Implantation arterieller und venöser Katheter	22
2.3	Hämodynamische Messungen	22
2.3.1	Messung des arteriellen Blutdrucks	22
2.3.2	Messung des zentralen Venendrucks	23
2.3.3	Messung des Blutvolumens	24
2.4	Biochemisch-analytische Methoden	25
2.4.1	Bestimmung der renalen und intestinalen Natriumaus- scheidung	25
2.4.2	Bestimmung der endogenen NO-Synthese	26
2.4.3	Bestimmung der Kreatininclearance	27
2.4.4	Bestimmung der Plasmareninaktivität	28
2.4.5	Bestimmung der Plasmaaldosteronkonzentration	28
2.5	Aufbau der Experimente	28
2.5.1	Bestimmung des intravasalen Volumens	28
2.5.2	Natriumretention, Plasmareninaktivität und endogene NO-Synthese	29
2.5.3	Ganglienblockade	30
2.6	Statistik	31

3	Ergebnisse	33
3.1	Bestimmung des intravasalen Volumens	33
3.2	Natriumhaushalt, Plasmareninaktivität und endogene NO-Synthese	34
3.2.1	Natriumhaushalt	34
3.2.2	Plasmareninaktivität	35
3.2.3	Endogene NO-Synthese	35
3.3	Ganglienblockade	35
4	Diskussion	44
4.1	Intravasales Volumen	44
4.2	Natriumretention	48
4.3	Plasmareninaktivität	50
4.4	NO-Synthese	52
4.5	Ganglienblockade	52
4.6	Schlußfolgerung	53
5	Zusammenfassung	61
6	Eigene Veröffentlichung	65

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Die arterielle Hypertonie ist die häufigste Ursache kardiovaskulärer Erkrankungen in den Industrieländern und damit sowohl Risikofaktor für die häufigsten Todesursachen als auch ein wesentlicher Kostenfaktor im Gesundheitswesen. In der Bundesrepublik Deutschland sind beispielsweise 31 % aller Todesfälle auf die durch arterielle Hypertonie (mit-)verursachten Krankheitsbilder der chronischen ischämischen Herzkrankheit, des akuten Myokardinfarkts, der Herzinsuffizienz und des Schlaganfalls zurückzuführen [13], wobei die arterielle Hypertonie im Jahre 1998 eine Prävalenz von 30 % bei Männern und 26,9 % bei Frauen aufwies [59].

Nach der Ätiologie unterscheidet man die primäre oder auch essentielle Hypertonie von den sekundären Hypertonieformen mit bekannten Ursachen wie zum Beispiel einer Nierenarterienstenose oder einem hormonproduzierenden Tumor. Die Ursachen der primären Hypertonie sind weitgehend unbekannt. Sie macht mit etwa 90 % den Großteil aller Fälle aus [29].

Aufgrund des überwiegenden Anteils der essentiellen Hypertonie ist die Forschung nach ihren Ursachen von großem Interesse für die Verbesserung der

medizinischen Versorgung. Bei der essentiellen arteriellen Hypertonie handelt es sich um ein Krankheitsbild mit einer multifaktoriellen Entstehung. Es werden sowohl Veränderungen in der Wirkung oder Konzentration endokrin wirksamer Faktoren wie des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems [35] diskutiert, als auch neuronale oder humorale Faktoren [7, 19]. Außerdem spielen möglicherweise Veränderungen der Struktur der großen Gefäße [51] und der Widerstandsgefäße [16] eine Rolle. Schließlich können funktionelle Veränderungen an Endorganen wie beispielsweise den Nieren [11] zu einer Erhöhung des arteriellen Blutdrucks beitragen.

Obwohl Kenntnisse über die Ursachen der essentiellen Hypertonie aufgrund ihrer hohen Prävalenz von großer Bedeutung sind, ist ihre Ätiologie trotz aller Forschungsbemühungen bislang unklar [38]. Als sicher gilt hingegen, daß es eine genetische Prädisposition für das Auftreten einer essentiellen Hypertonie gibt [50]. Für die Erforschung der Ätiologie der essentiellen Hypertonie hat sich die Nutzung von Tieren, die eine genetisch bedingte (primäre) Hypertonie entwickeln, als sinnvoll erwiesen. Dadurch lassen sich, anders als bei experimentell erzeugten Hypertonieformen, auch Vorgänge, die bereits in der Embryonal- oder Neonatalphase eine Rolle spielen, untersuchen.

Dabei spielen Ratteninzuchtstämme, die durch Selektion für das Merkmal Hypertonie entstanden sind, eine wichtige Rolle. Man geht davon aus, daß nach etwa 20 Generationen alle Nachkommen homozygot an mehr als 99% aller Genloci sind [34]. Bekannte Inzuchtstämme sind „Neuseeland hypertensive Ratten“ [55], die den ersten derartigen Stamm darstellten, „Dahl salzsensitive und salzresistente Ratten“ [45], bei denen die salzsensitiven Tiere unter einer Diät mit erhöhtem Kochsalzgehalt eine fulminante Hypertonie

entwickeln, „Milan hypertensive Ratten“ [4] und „Spontan hypertensive Ratten (SHR)“, auch als „Okamoto-Kyoto Ratten“ bekannt [63].

Dieser Tierstamm ist als Modell zur Erforschung der essentiellen arteriellen Hypertonie weltweit verbreitet. Im Rahmen der zahlreichen Untersuchungen zur Ätiologie und Pathogenese der Hypertonieentstehung bei diesen Tieren ergaben sich einige Faktoren, die alleine oder in Kombination für den erhöhten arteriellen Mitteldruck verantwortlich sein könnten. So weisen SHR eine verstärkte Aktivität des sympathischen Nervensystems sowohl in Ruhe [28], als auch in Stresssituationen [39] auf. In einer Arbeit ergab sich dabei ein Zusammenhang zwischen der vermehrten Produktion von Sauerstoffradikalen und einer erhöhten Sympathikusaktivität bei SHR [53]. Andere Autoren fanden Hinweise, daß es aufgrund veränderter Signalkaskaden zu einer Gefäßwandhyperplasie aufgrund eines verstärkten Wachstums glatter Muskelzellen bei SHR kommt [18, 27]. Die Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstands als Ursache der Hypertonieentstehung läßt sich auch durch eine stärkere Calciumpermeabilität der glatten Muskelzellen von SHR unter dem Einfluß von Noradrenalin oder eine größere Zahl von Calciumkanälen auf glatten Muskelzellen dieser Tiere erklären [40, 43].

Außerdem gibt es Hinweise, daß die Ursache der arteriellen Hypertonie bei SHR in der Niere zu suchen ist: Die afferenten Nierenarteriolen weisen im Vergleich zu normotensiven Kontrollen bei SHR einen deutlich reduzierten Durchmesser auf [42], und die Nierenfunktionskurve ist bei SHR zu deutlich höheren arteriellen Drücken verschoben [48]. Eine vermehrte renale Flüssigkeits- und Elektrolytretention [14] oder -reabsorption [1] kommen ebenfalls in Betracht. Erste Hinweise auf die zentrale Rollen der Niere für die

langfristige Einstellung des arteriellen Druckes ergaben sich aus den Arbeiten Guytons [24, 25], in denen experimentell und durch mathematische Modelle gezeigt wurde, daß alleine die Nieren einen Regelfaktor von null besitzen, der erforderlich ist, um den arteriellen Blutdruck langanhaltend zu verändern. Der Regelfaktor beschreibt die Güte einer Regelung als Verhältnis der Abweichung vom Sollwert nach erfolgter Regelung zur ursprünglichen Abweichung. Sehr kleine Werte dieses Faktors bedeuten somit, daß der Regelkreis die Regelgröße, in diesem Fall den Blutdruck, im Fall einer Abweichung vom Sollwert, effektiv wieder auf den Sollwert einregeln kann, da die verbleibende Abweichung vom Sollwert im Verhältnis zur ursprünglichen Abweichung gering ist. Ein Regelfaktor von null bedeutet dementsprechend, daß die Nieren in der Lage sind, eine Abweichung des Blutdrucks vom Sollwert so gut zu korrigieren, daß nach erfolgter Regelung keine Abweichung mehr vorliegt.

Weitere Argumente für die Bedeutung der Nieren bei der Pathogenese der primären Hypertonie sind die Ergebnisse zahlreicher Transplantationsexperimente, mit denen gezeigt werden konnte, daß sich nach Nierentransplantation bei den Empfängern Blutdrücke einstellten, die mit den bei den Spendern gemessenen Werten vergleichbar waren [5, 10, 21, 31].

Schließlich gibt es auch beim Menschen deutliche Hinweise für die überragende Rolle der Nieren bei der Entstehung der arteriellen Hypertonie. In einer Studie von Curtis und Luke wurden acht Patienten im Mittel viereinhalb Jahre nach Nierentransplantation nachuntersucht und mit normotensiven, in Alter, Geschlecht und Rasse entsprechenden Kontrollpersonen verglichen. In jedem Fall war die Transplantation wegen einer Nephrosklerose nach essentieller Hypertonie erforderlich geworden. Es zeigte sich, daß der arterielle

Mitteldruck der Transplantatempfänger dem der Kontrollgruppe vergleichbar war und somit vom Genotyp der transplantierten Niere abhing [9]. In einer anderen Studie wurden 85 Empfänger einer menschlichen Niere über einen Zeitraum von acht Jahren verfolgt. Empfänger ohne einen erhöhten arteriellen Mitteldruck in der Familienanamnese benötigten dabei eine zehnmals stärkere antihypertensive Medikation wenn der Spender eine Hypertonie in der Familienanamnese aufwies, als wenn in der Spenderfamilie keine Hypertonie zu beobachten war [23]. Wenn der Empfänger selbst ein familiäres Risiko für die Entwicklung eines arteriellen Hochdrucks besaß, war dieser Effekt dagegen nicht zu beobachten. Außerdem wiesen normotensive Empfänger der Nieren von Spendern mit einer Hypertonie in der Eigen- oder Familienanamnese einen größeren Blutdruckanstieg und eine deutlichere Schädigung der Transplantate während einer akuten Abstoßungsreaktion auf, als dies bei Empfängern der Nieren normotensiver Spender der Fall war [22]. Die genannten Arbeiten, in denen die Transplantation der Nieren spontan hypertensiver Ratten oder menschlicher Spender mit essentieller Hypertonie auch bei den zuvor normotensiven Empfängern einen dauerhaften Blutdruckanstieg verursachte, stützen die Hypothese, daß die Niere das entscheidende Organ bei der Entstehung der essentiellen Hypertonie ist. Offen bleibt, welche renalen Funktionsveränderungen zur Entstehung der Hypertonie beitragen und auf welche Weise der Blutdruckanstieg bei Empfängern einer Niere eines genetisch hypertensiven Spenders erfolgt.

Es liegt nahe, Transplantationsexperimente zur Beantwortung dieser Frage durchzuführen. Bei der Verwendung normotensiver Empfängertiere und Konstanthaltung aller übrigen Parameter ist zu vermuten, daß eine nach

Transplantation zu beobachtende Blutdruckerhöhung durch das Transplantat verursacht worden ist, und extrarenale Ursachen eine geringere Rolle spielen. In einer Arbeit, die der Frage nachgeht, welche Faktoren der Blutdruckerhöhung bei normotensiven Empfängern nach Transplantation einer SHR-Niere zugrundeliegen, untersuchten die Autoren die Auswirkung von Nierentransplantationen auf das Renin-Angiotensin-System der Empfängertiere. Es zeigte sich, daß der Blutdruck bei F_1 -Hybriden von WKY und SHRSP, die eine SHRSP-Niere empfangen hatten, mit 184 mmHg vier Wochen nach Transplantation wie erwartet signifikant höher lag als bei den Empfängern einer WKY-Niere, die lediglich einen Blutdruck von 126 mmHg aufwiesen [46]. Während die Plasmareninaktivität (PRA) bei Empfängern einer SHRSP-Niere signifikant höher als bei Empfängern einer WKY-Niere war, ließ sich ein solcher Unterschied weder in der Aktivität von ACE, noch in den Plasmakonzentrationen von Angiotensin I und II nachweisen. Allerdings fanden sich insgesamt bei den transplantierten Tieren jeweils deutlich niedrigere PRA als bei nichttransplantierten Kontrollen, was auf den Wegfall einer Niere sowie die Denervierung der transplantierten Niere zurückzuführen ist. In Verbindung mit Daten einer früheren Studie [47] kommen die Autoren dieser Veröffentlichung zu dem Ergebnis, daß weder das systemische, noch das Renin-Angiotensin-System der Niere einen Beitrag zur Hypertonie nach Transplantation einer SHRSP-Niere leisten.

In einer anderen Arbeit [20] wurde ein möglicher Einfluß des extrarenalen Sympathikus auf die Entstehung der Posttransplantationshypertonie untersucht. Als Empfänger dienten F_1 -Hybride von WKY-Ratten und SHR, und es wurden SHR- und F_1 H-Nieren transplantiert. Die Bestimmung der Sympathi-

kusaktivität erfolgte anhand der Expression von Tyrosinhydroxylase-mRNA als dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der Katecholaminsynthese in den Nebennieren. Außerdem wurde die Aktivität im Nervus splanchnicus an wachen Tieren gemessen. Wiederum zeigte sich eine signifikante Blutdruckdifferenz zwischen den beiden Gruppen. Es konnte allerdings weder ein Unterschied in der Konzentration der adrenalen Tyrosinhydroxylase, noch in der Aktivität des Nervus splanchnicus zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Schließlich zeigten sich auch keine Unterschiede in der Reaktion auf eine zentrale Sympathikusinhibition. Auch die Aktivität des Sympathikus bei den Empfängertieren scheint also für die Entwicklung der Posttransplantationshypertonie keine entscheidende Rolle zu spielen.

Ausgehend von der Beobachtung, daß SHR zumindest in einer frühen Phase der Hypertonieentwicklung weniger Natrium und Kalium als WKY gleichen Alters ausscheiden [2], wurde schließlich untersucht, ob eine verstärkte Natriumretention bei Empfängern einer SHR-Niere der Grund für den erhöhten arteriellen Blutdruck sein könnte. Es zeigte sich, daß Empfänger einer SHR-Niere in den ersten zwölf Tagen nach bilateraler Nephrektomie unter einer Normalsalzdiät mehr Natrium retinieren als Empfänger einer WKY-Niere. Dieser Effekt wurde ab dem neunten Tag statistisch signifikant. Allerdings entwickelten auch Empfänger einer SHR-Niere unter einer Niedrigsalzdiät einen Hochdruck, obwohl sie nicht signifikant mehr Natrium als normotensive Empfänger einer WKY-Niere retinierten. Trotzdem könnte die verminderte Fähigkeit der SHR-Niere, Natrium auszuscheiden, eine Ursache für die zu beobachtende Posttransplantationshypertonie sein [17].

1.2 Fragestellung

Mit der vorliegenden Arbeit wird der Frage nachgegangen, wie die nach Transplantation von SHR-Nieren auf normotensive Kontrolltiere zu beobachtende Blutdruckerhöhung bei den Empfängern zu erklären ist.

In früheren Arbeiten wurden weder Anzeichen für eine Beteiligung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems [46] oder eine Veränderung neuronaler Faktoren [20], noch eine verstärkte Natriumretention [17] als mögliche Ursachen für die Entstehung der Posttransplantationshypertonie gefunden.

In bezug auf die Ergebnisse Guytons [24] scheint eine, zumindest passage-re, vermehrte Retention von Natrium und Flüssigkeit durch eine veränderte Nierenfunktion als Ursache der Posttransplantationshypertonie wahrscheinlich. Dadurch ließe sich auch erklären, daß sich in früheren Arbeiten keine signifikanten Veränderungen neurohumoraler Parameter nachweisen ließen. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb die Entwicklung des intravasalen Volumens nach Transplantation der Nieren unterschiedlicher Spendergruppen untersucht. Zusätzlich wurde der Natriumhaushalt bilanziert, um eine mögliche Natriumretention bei Empfängern der Nieren spontan hypertensiver Ratten nachweisen zu können.

Die Einwirkung neurohumoraler Faktoren bei der Entstehung der Posttransplantationshypertonie erscheint trotz negativer Ergebnisse früherer Untersuchungen sehr wahrscheinlich. Denkbar sind in diesem Zusammenhang Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, unterschiedliche Aktivitäten des sympathischen Nervensystems und Unterschiede in der endogenen NO-Synthese. Der Grund für eine erneute Untersuchung dieser Fak-

toren liegt darin, daß die untersuchten Parameter in den früheren Arbeiten erst relativ spät nach der Transplantation bestimmt wurden. Eine signifikante Blutdruckdifferenz zwischen Empfängern der Nieren von SHR und Kontrolltieren zeigt sich allerdings, anders als früher angenommen, bereits innerhalb der ersten Woche nach der Transplantation [21]. Im weiteren Verlauf könnte dann die Bedeutung neurohumoraler Faktoren zugunsten struktureller Veränderungen abnehmen. In der vorliegenden Arbeit wurde deswegen abermals nach Unterschieden im Renin-Angiotensin-System zwischen Empfängern der Nieren spontan hypertensiver Ratten und Empfängern der Nieren normotensiver Kontrolltiere gesucht, wobei der Untersuchungszeitraum in die akute Phase der Hypertonieentstehung in der ersten Woche nach der Nierentransplantation gelegt wurde.

Um Hinweise auf eine Beteiligung des vegetativen Nervensystems an der Bluthochdruckentstehung in der Frühphase nach einer Nierentransplantation zu erhalten, wurde in einem Experiment außerdem die Reaktion von Empfängern einer SHR-Niere mit der Reaktion von Empfängern der Niere eines normotensiven Spenders auf die Blockade der Ganglien des sympathischen Nervensystems untersucht.

Als wichtiger parakriner blutdruckregulierender Faktor wurde die endogene NO-Synthese anhand der renalen Nitrat- und Nitritausscheidung bei Empfängern der Niere einer SHR und bei Kontrolltieren untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Tiere und Tierhaltung

Alle Transplantationen wurden zwischen männlichen Ratten im Alter von neun bis elf Wochen und einem Gewicht von 270 bis 350 Gramm durchgeführt. Empfänger waren dabei stets F₁-Hybride von Wistar-Kyoto- und spontan hypertensiven Ratten, als Spender fungierten F₁-Hybride für die Kontrollgruppe sowie SHR.

Spontan hypertensive Ratten wurden von M & B, Ry, Dänemark, WKY-Ratten von Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld bezogen. Alle Tiere wurden in der Versuchstieranlage des Instituts auf Streu bei Preßfutter und Leitungswasser ad libitum und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von je zwölf Stunden gehalten.

Alle Experimente waren zuvor durch die Versuchstierkommission beim Landesveterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt Mecklenburg-Vorpommern genehmigt worden.

2.2 Operationstechnik

2.2.1 Instrumentarium

- Operationsmikroskop M3Z (Wild, Heerbrugg, Schweiz)
- Mikrochirurgisches Besteck
- Erbe Kauter N (Erbe Elektromedizin, Tübingen)
- Gefäßklemmen
- Catgut 3-0 (Catgut GmbH, Markneukirchen)
- Faden Mersilene 4-0 (Ethicon, Norderstedt)
- Faden Prolene 6-0 (Ethicon, Norderstedt)
- Faden 9-0 (Resorba, Nürnberg)
- 0,9% NaCl-Lösung
- Desinfektionslösung Softasept N (B. Braun, Melsungen)

2.2.2 Nierentransplantation

Spendertier

Die gesamte Operation erfolgte in Ethernarkose. Dem Spendertier wurde der Bauch rasiert und desinfiziert und das Tier dann mit Pflasterstreifen in Rückenlage fixiert. Es erfolgte eine mediane Laparotomie, und der Darm wurde nach kranial aus der Bauchhöhle heraus verlagert.

Nach der stumpfen Eröffnung des Retroperitoneums mittels Wattetupfern und der Mobilisierung der linken Niere wurde die Vena suprarenalis inferior sinistra freipräpariert und nach ihrer Ligatur durchschnitten. Die Arteriae mesenterica superior et renalis dexter wurden ebenfalls ligiert und durchtrennt. Die Aorta abdominalis wurde unterfahren und von allen Abgängen kaudal des Truncus coeliacus bis etwa einen Zentimeter kaudal der Arteria renalis sinistra befreit.

Die Arteria renalis sinistra wurde bis kurz vor den Nierenhilus von der Vena renalis getrennt. Anschließend wurde die Arteria suprarenalis inferior sinistra ligiert und durchtrennt. Die Vena cava inferior wurde von der Vena testicularis dextra sowie von einer regelmäßig auf Höhe der Nierengefäße vorkommenden Vena lumbalis befreit. Die Vena testicularis sinistra wurde vor ihrer Einmündung in die Vena renalis sinistra ligiert und durchtrennt. Schließlich wurde die Vena cava inferior mobilisiert.

Der Ureter wurde so dicht an der Blase wie möglich durchtrennt und aus dem umgebenden Bindegewebe herausgelöst.

Nun wurden Gefäßklemmen über die Vena cava inferior und die Aorta abdominalis kaudal des Truncus coeliacus gesetzt. Außerdem wurden die Aorta am kaudalen und die Vena cava inferior am kranialen Ende der Präparationsstrecke abgeklemmt.

Danach wurde die Vena renalis sinistra an ihrer Einmündungsstelle in die Vena cava durchtrennt und die Niere mit eiskalter Euro-Collins-Lösung (Fresenius, Bad Homburg) durchspült, indem die Aorta kaudal des Abgangs der Arteria renalis sinistra punktiert wurde.

Abschließend wurde die Niere mit der Nierenvene, der Nierenarterie, an der nach kranial und kaudal jeweils ein etwa drei Millimeter langes Stück der Aorta belassen wurde und dem Ureter entfernt und in eiskalte Kochsalzlösung gegeben.

Empfängertier

Das Empfängertier wurde mittels Ether narkotisiert, der Bauch wurde rasiert und desinfiziert und das Tier in Rückenlage fixiert. Es erfolgte eine mediane Laparotomie, und der Darm wurde, in eine mit Kochsalzlösung angefeuchtete Kompresse eingeschlagen, nach kranial aus der Bauchhöhle heraus verlagert.

Die linke Niere wurde aus ihrer Kapsel gelöst, die Nierengefäße und der Ureter wurden am Nierenhilus ligiert und die Niere anschließend entfernt.

Nach stumpfer Eröffnung des Retroperitoneums mit Wattetupfern wurden die Aorta abdominalis und die Vena cava inferior nach kranial bis etwa zum Abgang der Nierengefäße und nach kaudal bis zur Bifurkation freipräpariert und alle abgehenden Gefäße ligiert und durchtrennt. Schließlich wurden auch die Aorta und die Vena cava inferior an der kranialen und kaudalen Grenze des freipräparierten Bereichs jeweils auf einer Länge von etwa fünf Millimetern voneinander getrennt, um den Blutfluß in beiden Gefäßen mittels Gefäßklemmen für den Zeitraum der Transplantation unterbrechen zu können.

Die Aorta und Vena cava wurden in Längsrichtung mit kleinen, dem Durchmesser der Spendernierengefäße angepaßten, Schnitten eröffnet, wobei die Aorta kranial der Vena cava eröffnet wurde und die Schnitte sich nicht überlappten. Die eröffneten Gefäßabschnitte wurden mit isotoner Koch-

salzlösung blutleer gespült. Die Spenderniere wurde, in eine Mullkomresse eingewickelt, in das linke Nierenlager gelegt und während des folgenden Eingriffs wiederholt mit eiskalter Kochsalzlösung überspült.

Das kraniale Ende des an der Spendernierenarterie belassenen Aortenabschnitts wurde zunächst mit zwei Einzelnähten mit 9-0 Faden am kranialen und kaudalen Ende der Aorteninzision fixiert und die Anastomose dann mit jeweils sechs Einzelnähten auf jeder Gefäßseite vervollständigt. Das freie Ende der Spenderaorta wurde mit 4-0 Faden ligiert.

Anschließend wurde die Nierenvene zunächst mit einer Einzelnahnt kranial an die Vena cava angeheftet und die der Naht gegenüberliegende Gefäßwand auf einer Länge von drei bis vier Millimetern in Längsrichtung eingeschnitten, um ein größeres Anastomosolumen zu erreichen. Schließlich wurde die Nierenvene auch kaudal an die Vena cava angeheftet und die Anastomose auf beiden Seiten mit je einer fortlaufenden Naht vervollständigt.

Nach der Anastomosierung der Gefäße wurden die Gefäßklemmen entfernt. Die Ischämiezeit überschritt in keinem Fall 45 Minuten.

Der Ureter wurde an seinem distalen Ende vom umgebenden Binde- und Fettgewebe freipräpariert.

Anschließend wurde die Muskelschicht der Blase im Fundusbereich angeschnitten, der Ureter mit einem Faden angeschlungen, die Nadel am Fundus in die Blase eingestochen und seitlich so weit aus der Blase herausgeführt, daß der angeschlungene Teil des Ureters abgeschnitten werden konnte. Dann wurde das Ureterende in das Blasenlumen zurückgezogen und der Ureter in dieser Position durch Bindegewebsnähte fixiert.

Gegebenenfalls erfolgte nun die Implantation des telemetrischen Blutdrucksensors.

Abschließend wurde der Darm wieder in die Bauchhöhle reponiert und der Bauchschnitt durch Naht der Muskel- und Hautschicht verschlossen.

Eine Woche nach Transplantation wurde der Bauchschnitt wieder eröffnet und die rechte Niere freigelegt. Die Nierengefäße und der Ureter wurden dicht am Hilus ligiert und die Niere entfernt. Anschließend wurde die Bauchwand wieder verschlossen.

2.2.3 Implantation des telemetrischen Blutdrucksensors

Für die Implantation des Blutdrucksensors (Model PhysioTel TA11PA-C40, Data Sciences International, St. Paul, Minnesota, USA) wurden die Aorta distal des Abgangs der implantierten Nierengefäße und beide Arteriae iliacae communes mit Gefäßklemmen abgeklemmt. Die Aorta wurde mit einer Kanüle punktiert, der Meßfühler durch die entstandene Öffnung in das Gefäßlumen vorgeschoben und dort mit Acrylkleber fixiert.

Die Fixierung des Senders in der Bauchhöhle erfolgte durch drei Fäden, die an den dafür vorgesehenen Stellen des Gehäuses befestigt wurden. Diese Fäden wurden anschließend zur Muskelnahat beim Verschluß der Bauchdecke verwendet.

2.2.4 Implantation arterieller und venöser Katheter

Arteria carotis-/ Vena jugularis-Katheter

Nach Präparation der rechten Arteria carotis beziehungsweise Vena jugularis wurde das Gefäß distal ligiert. Nachdem das Gefäß zur Unterbindung des Blutflusses proximal angeschlungen worden war, wurde das Lumen eröffnet. Anschließend wurde ein Katheter (PE50, Portex Limited, Hythe, England) etwa 15 mm weit in das Gefäß vorgeschoben und durch zwei Knoten fixiert.

Die Katheter wurden subkutan zum Nacken des Tieres geführt, wo sie für das Tier nicht erreichbar waren, mit heparinierter (500 *IE/ml*, B. Braun Melsungen AG) Kochsalzlösung gefüllt und mit Metallstiften verschlossen.

Arteria/ Vena femoralis-Katheter

Die Implantation dieser Katheter erfolgte nach der gleichen Methode wie für die Arteria carotis und Vena jugularis beschrieben. Auch diese Katheter wurden subkutan zum Nacken der Niere geführt, mit heparinierter Kochsalzlösung gefüllt und verschlossen.

2.3 Hämodynamische Messungen

2.3.1 Messung des arteriellen Blutdrucks

Messung mittels eines telemetrischen Blutdrucksensors

Durch die Implantation der telemetrischen Blutdrucksensoren war während des gesamten Experiments eine kontinuierliche Aufzeichnung des arteriellen

Blutdrucks, der Herzfrequenz und der lokomotorischen Aktivität der Tiere möglich. Dabei wurden alle zehn Minuten über eine Zeitspanne von jeweils zehn Sekunden Daten mit einer Abtastfrequenz von 500 Hertz aufgenommen.

Die übermittelten Daten wurden dazu auf einem Rechner mit der Software LabPRO Acquisition (Version 3.11, Data Sciences International, St. Paul, Minnesota, USA) jeweils über einen Zeitraum von zehn Minuten gemittelt und zur späteren Auswertung zwischengespeichert.

Für jedes Tier wurde anschließend mit dem Programm Microsoft Access (Version 2000, Microsoft Corporation, Redmond, USA) das Tagesmittel bestimmt, wobei ein Labortag jeweils um 7.00 Uhr begann.

Messung mittels eines externen Druckwandlers

Der arterielle Blutdruck wurde in diesem Fall über den in der Arteria carotis liegenden Dauerkatheter mittels eines Druckwandlers (Modell P23XL, Ohmeda, Madison, Wis., USA) und Verstärkers (Grass Instruments, Modell 7P1, Quincy, Mass., USA) gemessen. Vor jeder Messung erfolgte die Kalibrierung mittels eines Quecksilbersphygmomanometers. Die Versuchstiere erhielten vor Beginn der Messung etwa eine Stunde Zeit, sich an die veränderten Umgebungsbedingungen zu gewöhnen und konnten sich während der Messungen in ihren Käfigen frei bewegen.

2.3.2 Messung des zentralen Venendrucks

Der zentrale Venendruck der Tiere wurde über den in der Vena jugularis liegenden Katheter mit den gleichen Geräten wie bei der Messung des arte-

riellen Drucks gemessen. Die Kalibrierung erfolgte in diesem Fall über eine Wassersäule. Auch hier konnten die Tiere sich während einer halben Stunde zuerst an die veränderte Umgebung gewöhnen und sich während der Messung in ihren Käfigen frei bewegen. Während der Messung wurde darauf geachtet, daß das Signal deutliche atemsynchrone Druckschwankungen zeigte. Es wurden nur Messungen verwendet, die keine Artefakte durch Tierbewegungen aufwiesen.

2.3.3 Messung des Blutvolumens

Das intravasale Volumen der Tiere wurde mittels einer Farbstoffverdünnungsmethode [3] unter Verwendung des Farbstoffs Evans blue (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) gemessen. Vorversuche hatten gezeigt, daß Volumenänderungen ab einem Milliliter in einer 300 Gramm schweren Ratte sicher nachzuweisen waren.

Dazu wurden wachen und in ihren gewohnten Käfigen frei beweglichen Tieren 250 μl des Farbstoffs in einer Konzentration von 0,1% über den Katheter in der Vena jugularis verabreicht. Sofort danach wurde der Katheter mit 50 μl Heparinlösung gespült, um sicherzugehen, daß die gesamte Farbstoffmenge ins Blut gelangt war. Fünf Minuten nach Verabreichung des Farbstoffs wurden 300 μl Blut aus dem Katheter in der Arteria carotis entnommen, der Katheter mit Heparinlösung gespült und wieder verschlossen. Ein kleiner Teil der entnommenen Blutprobe diente zur Bestimmung des Hämatokrits mittels Mikro-Hämatokritröhrchen (Brand). Das übrige Blut wurde zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die

Evans blue-Konzentration im Überstand photometrisch (Titertek Multiskan MCC/340, Flow Laboratories, Lugano, Schweiz) bei 620 nm gemessen.

Das absolute Plasmavolumen ergibt sich nach folgender Gleichung:

$$PV = \frac{250 \mu l \cdot 0,1 \%}{[EB_{plasm.}]}$$

Wobei $[EB_{plasm.}]$ die im Plasma gemessene Evans blue-Konzentration ist.

Das intravasale Blutvolumen errechnet sich folgendermaßen:

$$BV = PV \left(1 + \frac{Hk}{1 - Hk} \right)$$

Um eine Vergleichbarkeit der Volumina mehrerer Tiere zu erreichen, wurde anschließend das relative Blutvolumen durch Division des Volumens durch das Körpergewicht zum Zeitpunkt der Messung errechnet.

2.4 Biochemisch-analytische Methoden

2.4.1 Bestimmung der renalen und intestinalen Natriumausscheidung

Um die Menge des über den Fäzes ausgeschiedenen Natriums zu messen, wurde der Fäzes nach folgendem Protokoll behandelt:

1. Trocknung der tiefgefroren gelagerten Fäzesproben für drei Tage bei Raumtemperatur
2. Bestimmung des Trockengewichts

3. Auflösung der getrockneten Proben in 2 ml zweimolarer Salpetersäure
4. Zugabe von 100 μl Wasserstoffperoxid
5. Ruhenlassen der Probe für einen Tag
6. pH-Neutralisation der Probe mit dreimolarer Kalilauge
7. Zentrifugation der Probe bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 15 Minuten
8. Abermalige Zentrifugation des Überstands bei 1200 g für 15 Minuten

Die Messung der Natriumkonzentration im Überstand erfolgte mit dem AVL Electrolyte Analyzer 988-4 (AVL, Graz, Österreich), die Messung der Natriumkonzentration im Urin erfolgte direkt.

2.4.2 Bestimmung der endogenen NO-Synthese

Zur Beurteilung der endogenen NO-Synthese wurde bei den Versuchstieren die renale Nitrat- und Nitritausscheidung bestimmt. Dazu wurde zunächst das im Urin vorhandene Nitrat mittels des Enzyms Nitrat-Reductase zu Nitrit reduziert (Test-Nr. 0905658, Boehringer Mannheim/ R-BIOPHARM). Das Nitrit reagierte dann mit Sulfanilamid und N-(1-Naphthyl)-ethylendi-ammoniumdichlorid unter Bildung eines roten Diazo-Farbstoffs, dessen Konzentration photometrisch bei 540 nm gemessen wurde.

Um eine Beeinflussung der Meßwerte durch über das Trinkwasser oder Futter eingetragenes Nitrat zu beurteilen, wurde außerdem die Nitrat- und Nitritkonzentration im Trinkwasser und Futter bestimmt.

Probenvorbereitung Urin/ Trinkwasser

Urin wurde zentrifugiert und die Nitrat- und Nitritkonzentration im Überstand entweder direkt oder in einer Verdünnung von 1:2 oder 1:10 gemessen. Im Trinkwasser wurde die Nitrat- und Nitritkonzentration ebenfalls direkt bestimmt.

Probenvorbereitung Futter

1. Auflösung von 3 g zerkleinertem Trockenfutter in 50ml Aqua bidest.
2. Zugabe von 50 ml kochendem Aqua bidest. zu der Probe
3. Zugabe von je 10 ml Carrez I (15 g $K_4[Fe(CN)_6]$ auf 100 ml Aqua bidest) und Carrez II (30 g $Zn(OOCCH_3)_2$ auf 100 ml Aqua bidest.)
4. Einstellung der Probe mit einmolarer Natronlauge auf pH 8
5. Filtration der Probe durch einen Faltenfilter
6. Bestimmung der Nitrat- und Nitritkonzentration im Filtrat als Direktbestimmung oder in einer Verdünnung von 1:2.

2.4.3 Bestimmung der Kreatininclearance

Am Ende des Experiments wurde bei jedem Tier die Kreatininkonzentration sowohl im arteriellen Blut als auch im Urin bestimmt (Kreatinin liquicolor, Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden). Die Kreatininclearance errechnet sich wie folgt:

$$Clearance = \frac{Kreatinin[mg/dl] \cdot ml\ Urin/24\ h}{Serumkreatinin[mg/dl] \cdot 1440}$$

2.4.4 Bestimmung der Plasmareninaktivität

Die Bestimmung der Plasmareninaktivität erfolgte mittels eines Radioimmunoassays (RENCTK P2721, DiaSorin GmbH, Düsseldorf). Dazu wird die während einer Inkubationsphase vom in der Probe enthaltenen Renin aus Angiotensinogen gebildete Angiotensin I-Menge in dem Assay gemessen.

2.4.5 Bestimmung der Plasmaaldosteronkonzentration

Die Bestimmung der Plasmaaldosteronkonzentration erfolgte ebenfalls mittels eines Radioimmunoassays (ALDOCTK-2, DiaSorin GmbH, Düsseldorf).

2.5 Aufbau der Experimente

2.5.1 Bestimmung des intravasalen Volumens

F₁-Hybriden wurde entweder die Niere einer spontan hypertensiven Ratte (n = 11) oder eines anderen F₁-Hybriden (n = 12) transplantiert, nachdem den Tieren zuvor die linke Niere entfernt worden war. In der gleichen Operation erfolgte dann die Implantation des Telemetriesenders.

Am sechsten Tag nach Nierentransplantation erfolgte die Nephrektomie der rechten Niere, und es wurden Katheter in die Arteria carotis und die Vena jugularis implantiert.

Acht Tage nach Nierentransplantation wurde bei den Tieren der zentrale Venendruck (ZVD) sowie, ebenso wie am zwölften Tag, das Blutvolumen gemessen.

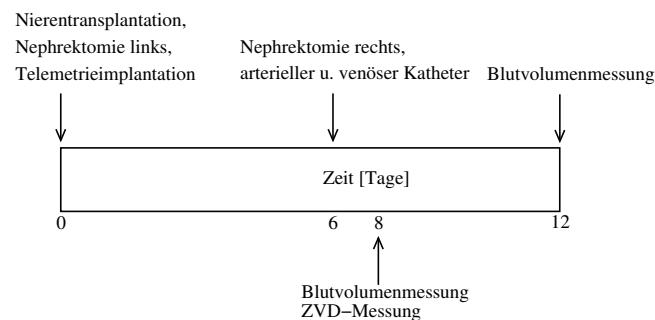


Abbildung 2.1: Bestimmung des intravasalen Volumens — Versuchsablauf

2.5.2 Natriumretention, Plasmareninaktivität und endogene NO-Synthese

F₁-Hybriden wurde entweder die Niere einer spontan hypertensiven Ratte (n = 8) oder eines anderen F₁-Hybriden (n = 8) transplantiert, nachdem den Tieren zuvor die linke Niere entfernt worden war. Anschließend begann die Haltung in Stoffwechsellkäfigen. Dadurch wurde eine tägliche, separate Gewinnung von Urin und Fäzes möglich. Die Tiere erhielten eine Normal-salzdiät mit 100 μmol Natrium/Gramm Futter und hatten freien Zugang zu Leitungswasser.

Am sechsten Tag nach Nierentransplantation erfolgte die Nephrektomie der rechten Niere, und es wurden Katheter in die Arteria und Vena femoralis implantiert.

Acht Tage nach Nierentransplantation fand die Messung des arteriellen Blutdrucks statt, außerdem wurden Blutproben für die Bestimmung der Plas-mareninaktivität und der Kreatininclearance gewonnen.

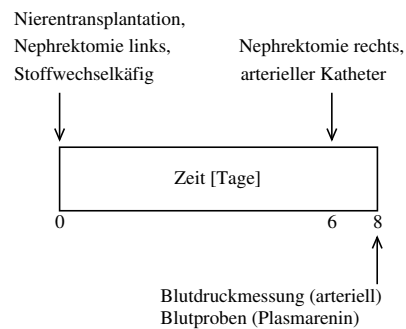


Abbildung 2.2: Na-Retention, Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und NO-Synthese — Versuchsablauf

2.5.3 Ganglienblockade

F₁-Hybriden wurde entweder die Niere einer spontan hypertensiven Ratte (n = 8) oder eines anderen F₁-Hybriden (n = 9) transplantiert, nachdem den Tieren zuvor die linke Niere entfernt worden war.

Am sechsten Tag nach Nierentransplantation erfolgte die Nephrektomie der rechten Niere, und es wurden Katheter in die Arteria und Vena femoralis implantiert.

Acht Tage nach Nierentransplantation erfolgte die Messung des arteriellen Blutdrucks an wachen, frei beweglichen Tieren während der Gabe von Hexamethonium (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) in einer Dosierung von 30 mg/kg KG.

Am zehnten Tag nach Nierentransplantation wurden die Tiere dekapiert, um Blut für die Bestimmung der Plasmaaldosteronkonzentration zu gewinnen.

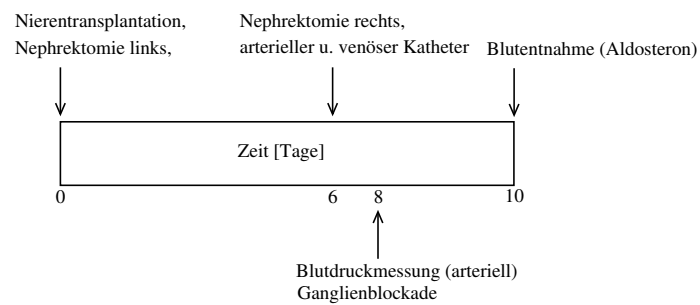


Abbildung 2.3: Ganglienblockade — Versuchsablauf

2.6 Statistik

Soweit nicht anders angegeben, werden sämtliche Daten als Mittelwert mit dem Standardfehler des Mittelwerts abgebildet.

Der Student t-Test für ungepaarte Stichproben wurde zum Vergleich der Mittelwerte zweier Gruppen herangezogen.

Zum Vergleich zweier Gruppen mit mehreren Beobachtungen im Laufe des Experiments wurde eine Zwei-Wege-Varianzanalyse für wiederholte Messungen mit den Faktoren Zeit und Transplantatquelle (SHR/ F₁H) durchgeführt.

Bei signifikanten Unterschieden wurde als post-hoc-Test der Student-Newman-Keuls-Test verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Bestimmung des intravasalen Volumens

Die Empfänger der Niere einer spontan hypertensiven Ratte zeigten über die gesamte Dauer des Versuchs höhere arterielle Mitteldrücke als Kontrolltiere. Wie Abbildung 3.1 zeigt, trat diese Druckdifferenz unmittelbar nach Transplantation der Nieren auf. Statistisch signifikant wurde sie erst am siebten Tag, also einen Tag nach Entfernung der verbliebenen eigenen Niere. Gleiches gilt für die diastolischen und systolischen Blutdrücke.

Die Herzfrequenz der beiden Gruppen unterschied sich während der gesamten Versuchsdauer nicht signifikant voneinander (Abbildung 3.2); die Spitzenwerte am Transplantationstag und Tag sechs lassen sich auf den Operationsstreß zurückführen.

Jeweils an Tag acht und zwölf wurden das Plasmavolumen und der Hämatokrit gemessen. Weder für diese beiden Werte, noch für das daraus errechnete Blutvolumen ergaben sich an den beiden Meßzeitpunkten signifikante Unterschiede (Tabelle 3.1).

Als weiterer Indikator für eine mögliche Veränderung des intravasalen Volumens wurde am achten Tag nach Nierentransplantation der zentralvenöse

Druck bei allen Tieren gemessen (Tabelle 3.1). Auch dieser Wert zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Schließlich zeigten sich auch keine Unterschiede zwischen den Gruppen in bezug auf das Körpergewicht (Tabelle 3.1).

3.2 Natriumhaushalt, Plasmareninaktivität und endogene NO-Synthese

3.2.1 Natriumhaushalt

Mögliche Unterschiede im Natriumhaushalt wurden in einem zweiten Experiment untersucht. Bei acht Empfängern einer SHR-Niere und neun Kontrolltieren zeigten sich dabei eine vergleichbare Natriumaufnahme sowie ähnliche Werte für die renale und die intestinale Natriumausscheidung (Abbildung 3.3).

Obwohl Unterschiede zwischen den Gruppen während der gesamten Versuchsdauer nicht statistisch signifikant wurden, fällt in der kumulativen Bilanz auf, daß die Kontrolltiere ab Tag fünf bis zum Ende des Experiments tendenziell etwas mehr Natrium retinierten als die Empfänger einer SHR-Niere (Abbildung 3.4).

In bezug auf die Flüssigkeitsbilanz ergaben sich während des gesamten Experiments keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 3.5).

Die Kontrolle der arteriellen Mitteldrücke bei beiden Gruppen (bei Empfängern einer SHR-Niere 115 ± 5 mmHg und 102 ± 2 mmHg bei Empfängern

einer F₁H-Niere) am achten Tag nach Transplantation ergab jedoch einen signifikanten Unterschied.

3.2.2 Plasmareninaktivität

Acht Tage nach Nierentransplantation zeigten sich keine Unterschiede in der Plasmareninaktivität und Plasmaaldosteronkonzentration zwischen beiden Gruppen. Auch die Natrium- und die Kaliumkonzentration im Plasma wiesen keine Unterschiede auf. Lediglich die Kreatininclearance war bei Empfängern einer Niere spontan hypertensiver Ratten signifikant niedriger (Tabelle 3.2).

3.2.3 Endogene NO-Synthese

Um eventuelle Unterschiede in der endogenen NO-Synthese zwischen den beiden Gruppen feststellen zu können, wurde die renale Nitrat- und Nitritausscheidung über 24 Stunden am dritten Tag nach Entfernung der zweiten Niere gemessen. Tabelle 3.2 zeigt geringfügig niedrigere Werte bei Empfängern einer SHR-Niere, es wurde jedoch keine statistische Signifikanz erreicht.

3.3 Ganglienblockade

In diesem Experiment sollte ein unterschiedlich starker Beitrag des sympathischen Nervensystems zur Blutdruckregulierung durch eine Blockierung der sympathischen Ganglien nach Gabe von 30 mg Hexamethonium pro Kilogramm Körpergewicht festgestellt werden. Wie Abbildung 3.6 zeigt, fiel der Blutdruck jedoch bei beiden Gruppen vergleichbar stark ab.

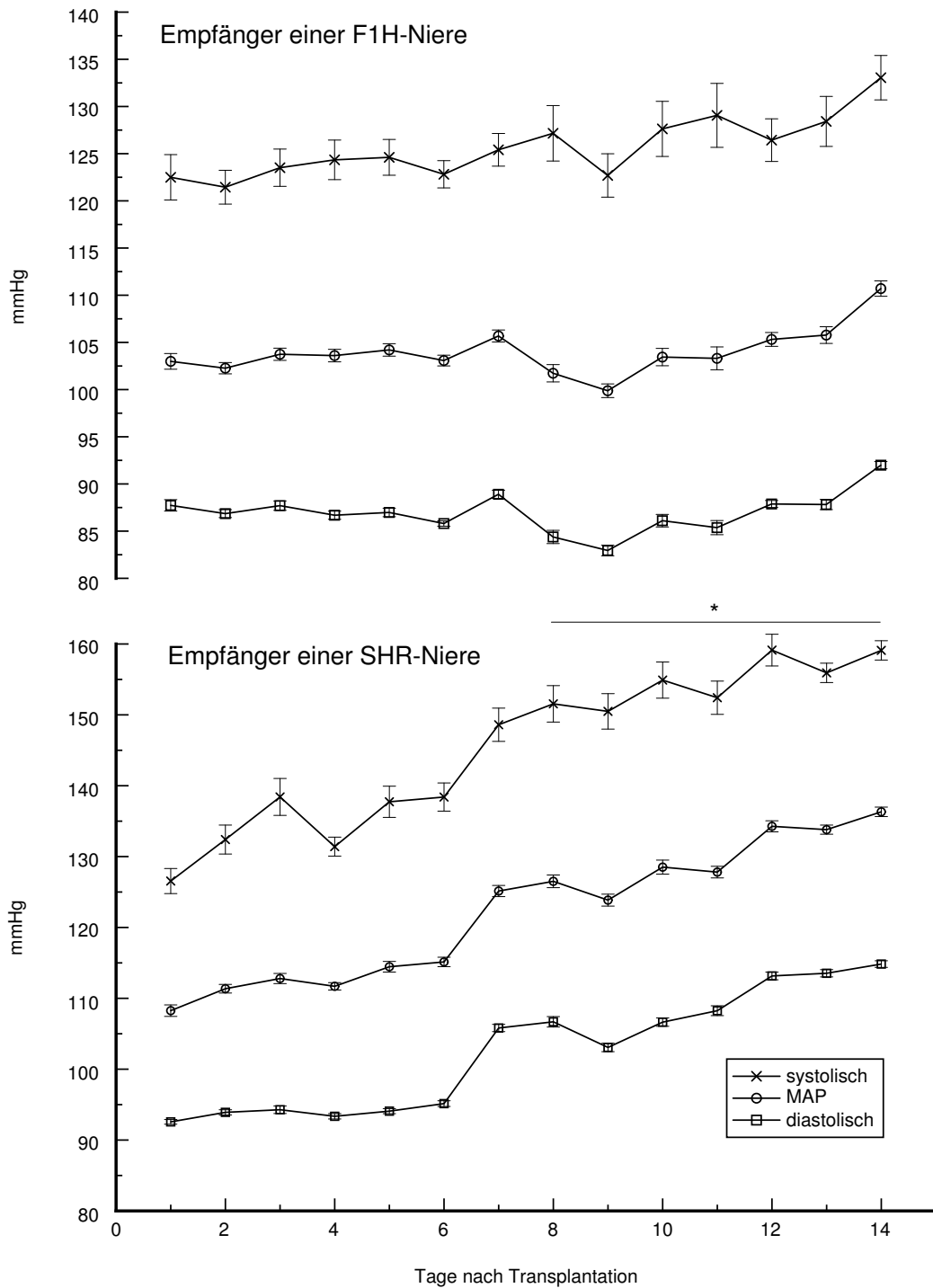


Abbildung 3.1: Entwicklung der arteriellen Blutdrücke; Kontrollen: n = 12, SHR-Nierenempfänger: n = 11

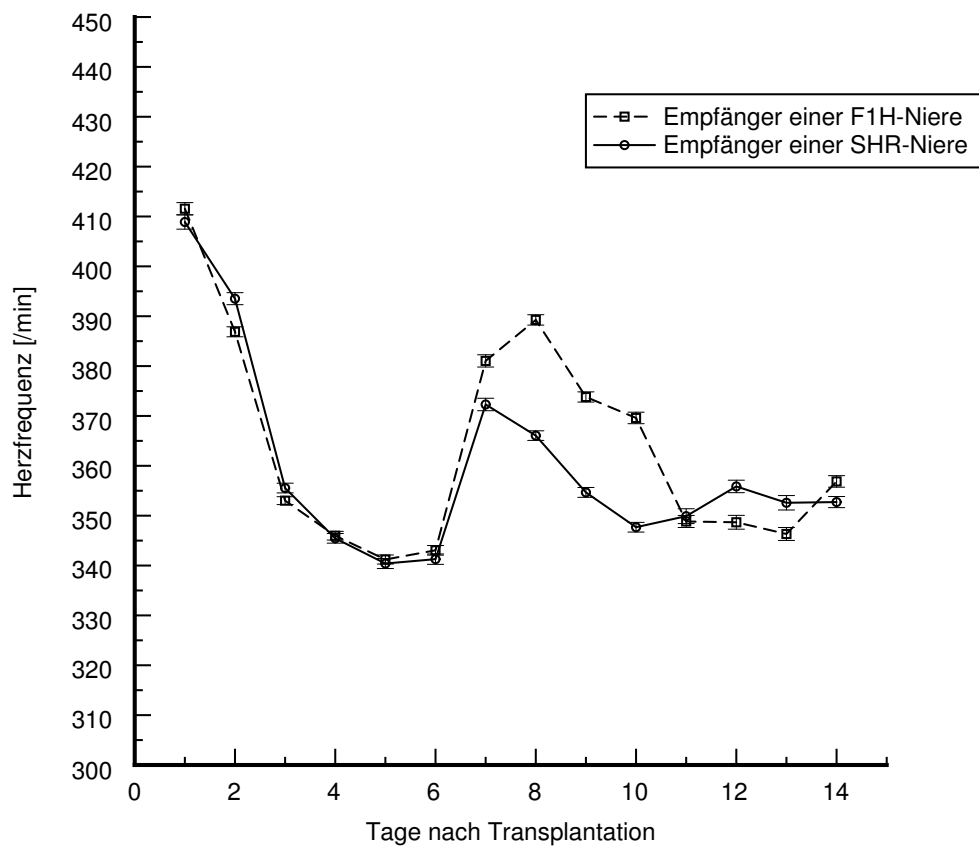


Abbildung 3.2: Entwicklung der Herzfrequenz; Kontrollen: $n = 12$, SHR-Nierenempfänger: $n = 11$

Tabelle 3.1: Entwicklung von Körpergewicht, Hämatokrit, Plasma- und Blutvolumen sowie zentralem Venendruck (ZVD) bei F₁-Hybriden, denen Nieren von SHR oder F₁-Hybriden transplantiert wurden („n. g.“: nicht gemessen).

Tage nach Transplantation	SHR-Transplantat (n = 11)		F ₁ H-Transplantat (n = 12)	
	8	12	8	12
Körpergewicht [g]	278 ± 8	280 ± 5	282 ± 5	289 ± 8
Hämatokrit [%]	0,38 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,36 ± 0,01
Plasmavolumen [ml/100 g KG]	4,3 ± 0,2	3,8 ± 0,1	4,5 ± 0,2	4,2 ± 0,2
Blutvolumen [ml/100 g KG]	7,0 ± 0,3	6,5 ± 0,2	7,3 ± 0,3	6,6 ± 0,4
ZVD [mm Wassersäule]	8,8 ± 3,6	<i>n.g.</i>	8,0 ± 4,9	<i>n.g.</i>

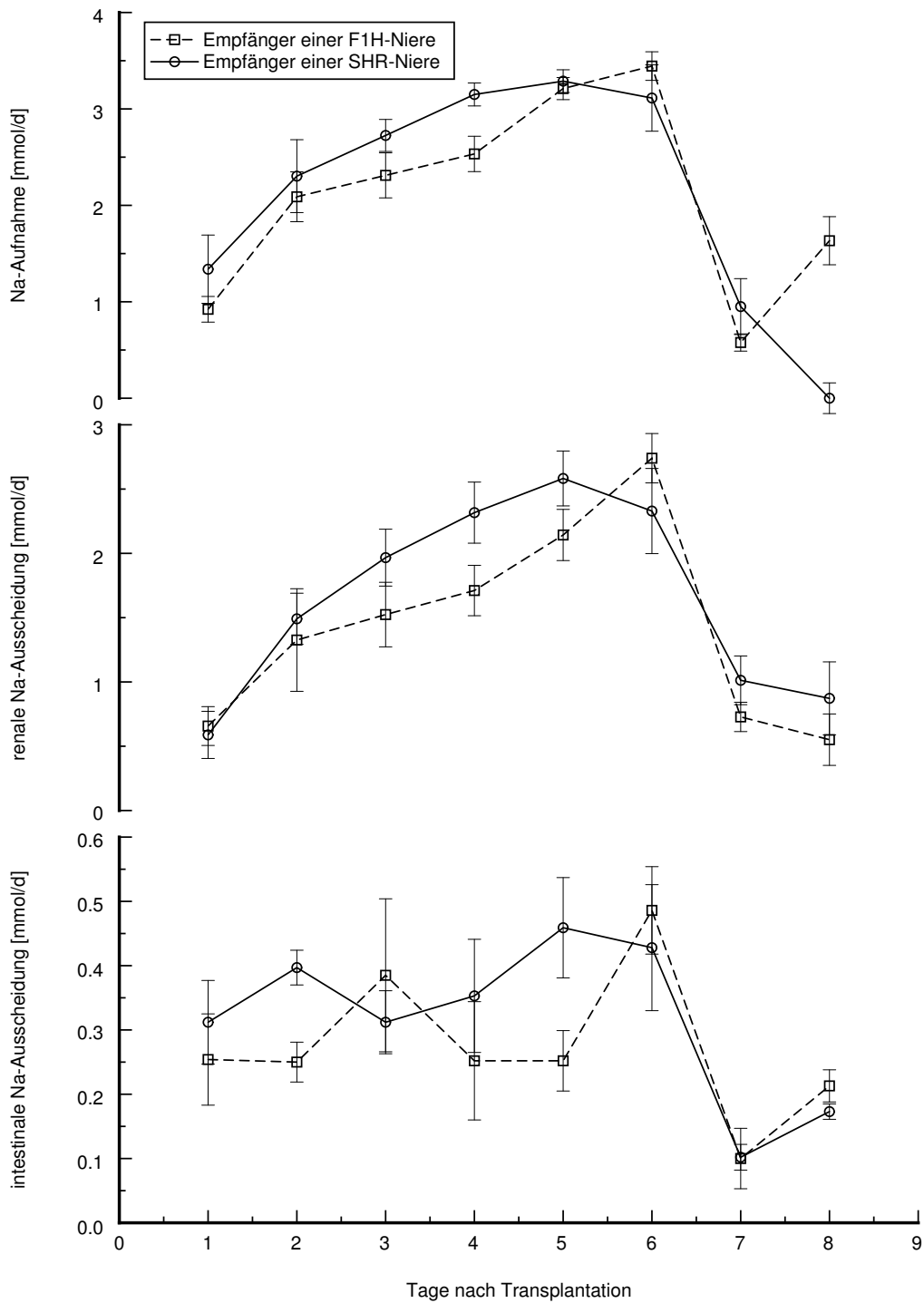


Abbildung 3.3: Natriumaufnahme und -ausscheidung; Kontrollen: n = 9; Empfänger einer SHR-Niere: n = 8

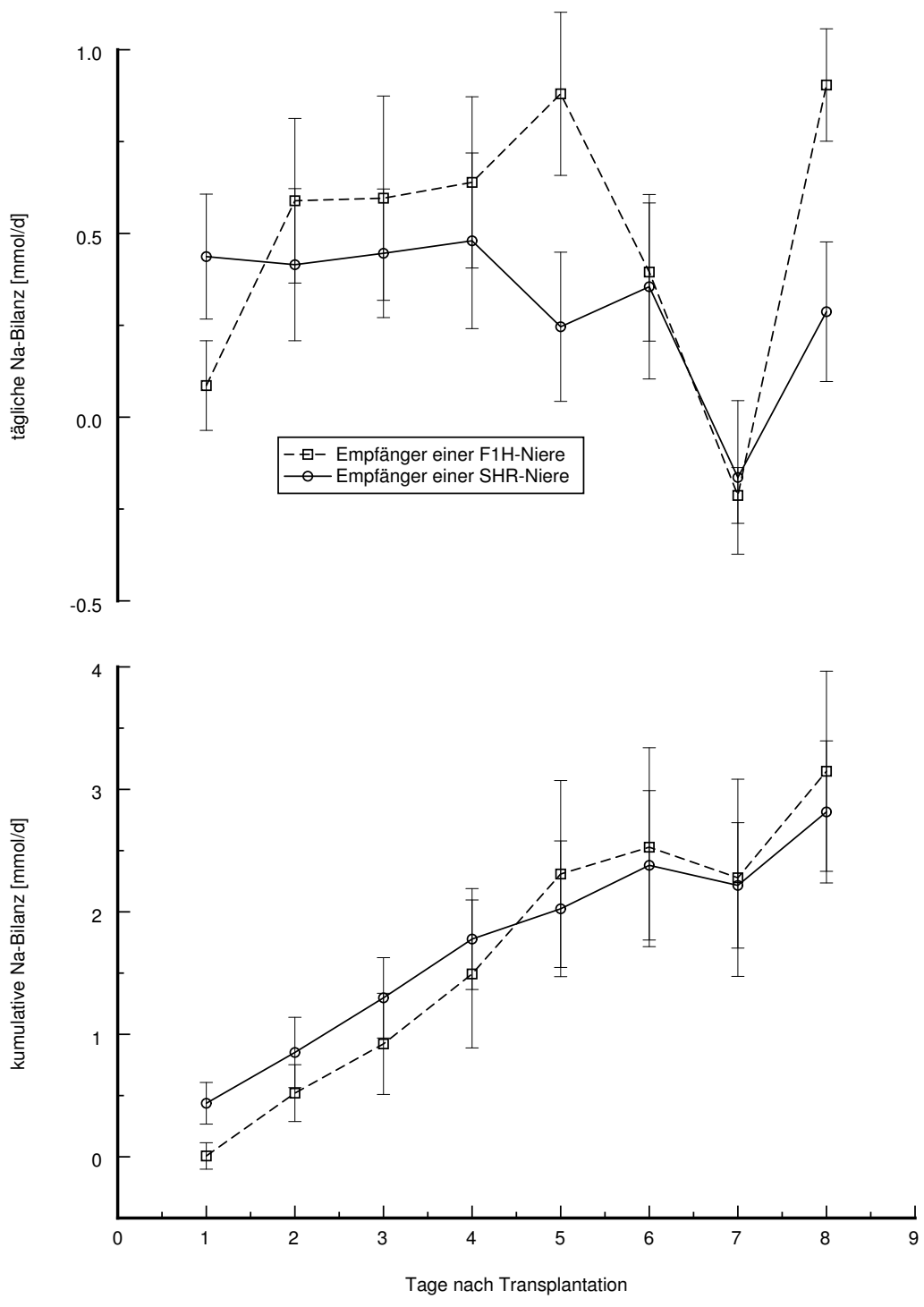


Abbildung 3.4: tägliche und kumulative Natriumbilanz; Kontrollen: n = 9; Empfänger einer SHR-Niere: n = 8

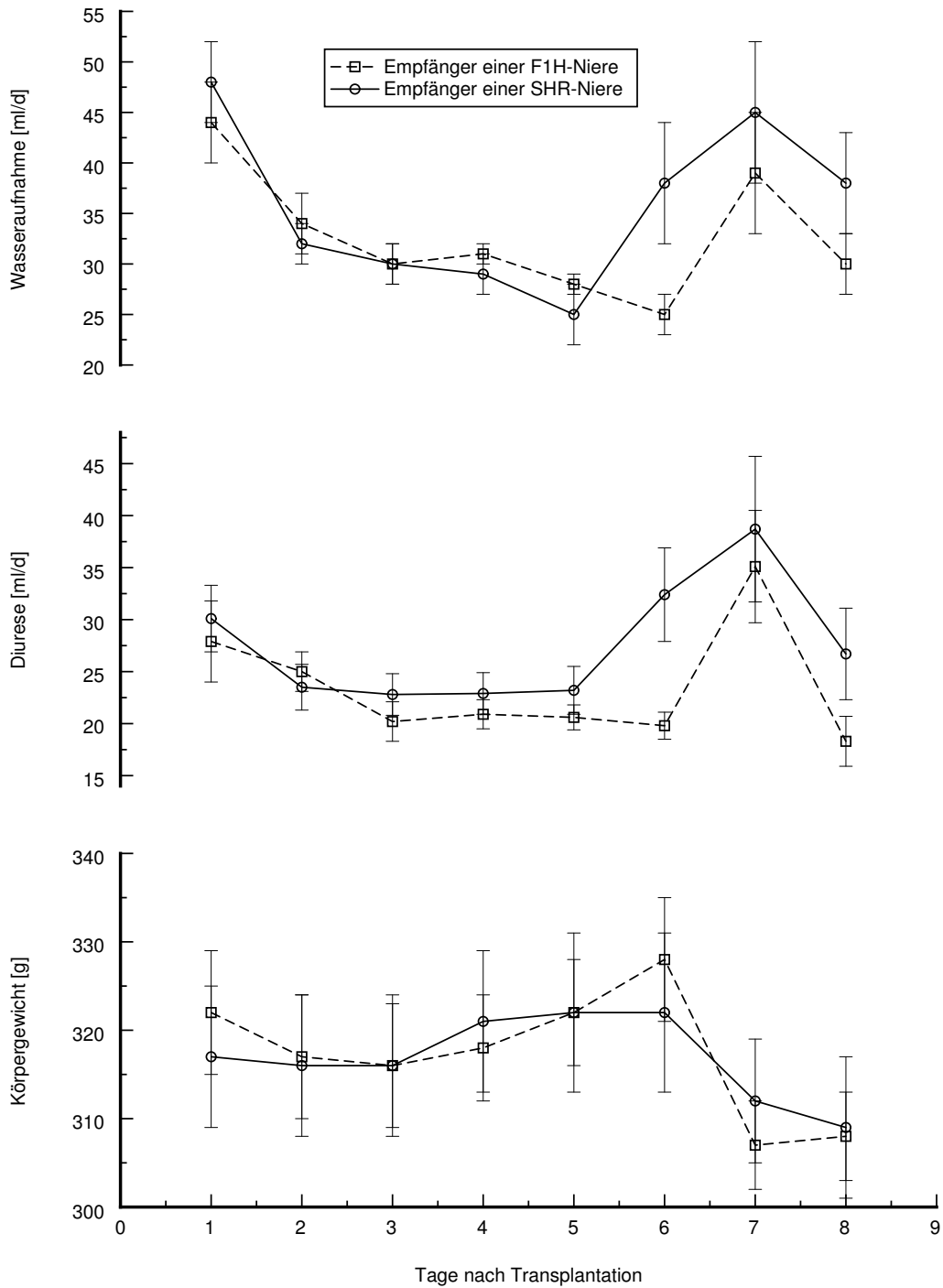


Abbildung 3.5: Wasseraufnahme, Diurese und Entwicklung des Körpergewichts; Kontrollen: n = 9; Empfänger einer SHR-Niere: n = 8

Tabelle 3.2: Plasmapareninaktivität, Plasmaaldosteron-, Natrium- und Kaliumkonzentration sowie renale Nitrat- und Nitritausscheidung über 24 Stunden

	Empfänger einer SHR-Niere (n = 8)	Empfänger einer F ₁ H-Niere (n = 9)	Tage nach bilateraler Nephrektomie
Plasmapareninaktivität [<i>ng AngI/ml · h</i>]	0,92 ± 0,29	0,62 ± 0,18	8
Plasmaaldosteronkonzentration [pg/ml]	42,9 ± 14,0	67,6 ± 29,0	10
Plasmanatriumkonzentration [mmol/l]	142,5 ± 1,3	141,6 ± 1,6	8
Plasmakaliumkonzentration [mmol/l]	4,42 ± 0,1	4,28 ± 0,1	8
Nitrit und Nitritausscheidung über 24h	7,0 ± 2,0	10,0 ± 2,2	8
spezifische Kreatininclearance [<i>ml/min · g</i>]	0,49 ± 0,07	0,7 ± 0,0	8

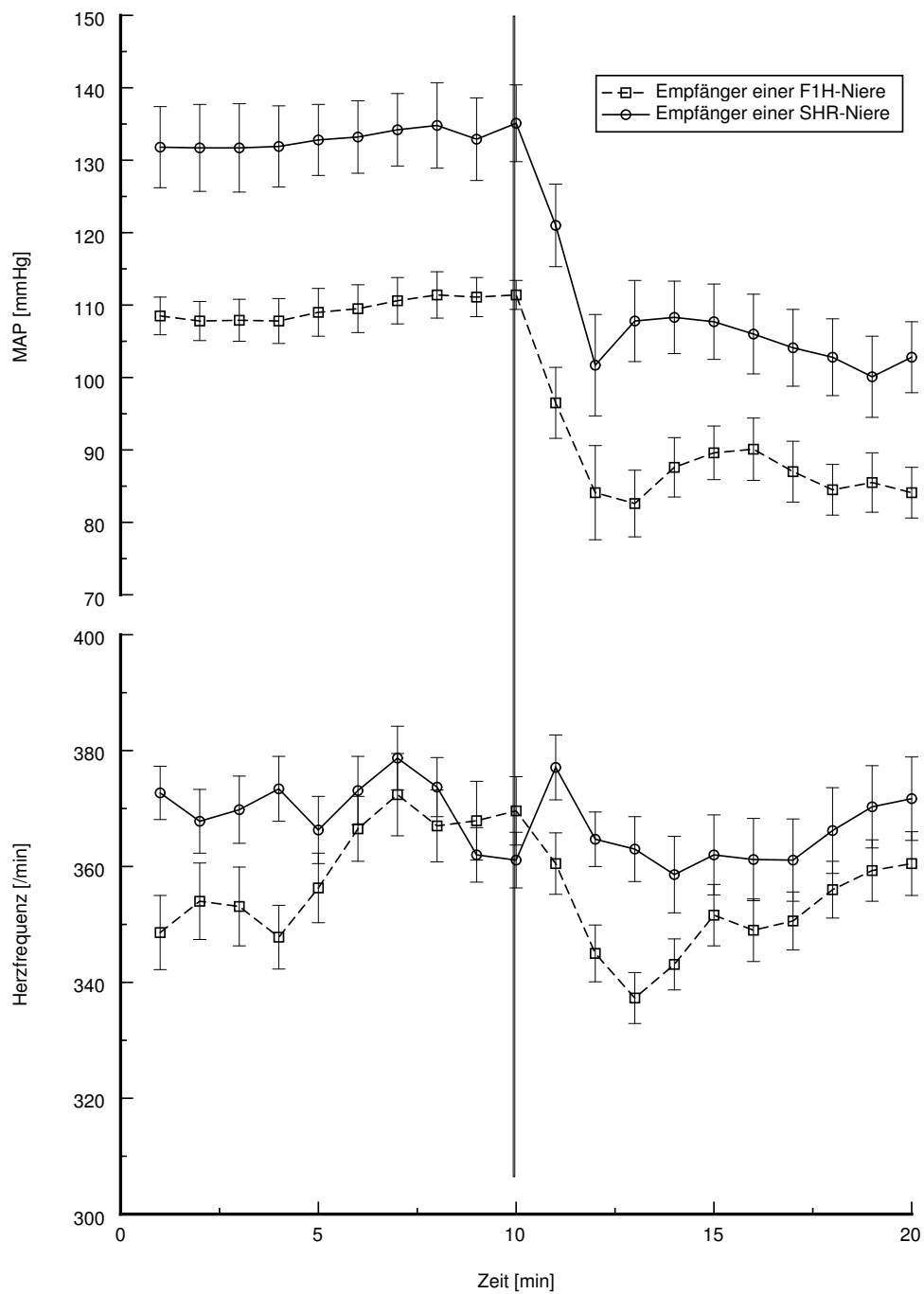


Abbildung 3.6: Entwicklung von Blutdruck und Herzfrequenz nach Gangli-
enblockade durch Hexamethonium. Der Zeitpunkt der Gabe
ist durch die senkrechte Linie bei zehn Minuten markiert.
Kontrollen: $n = 8$; Empfänger der Niere einer SHR: $n = 8$

4 Diskussion

4.1 Intravasales Volumen

Guyton postulierte, daß langfristige Änderungen des arteriellen Mitteldrucks nicht durch neuronale oder endokrine Faktoren, sondern alleine durch eine Verschiebung der Nierenfunktionskurve verursacht werden können [25].

Mit der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob die Hypertonie, die nach Transplantation der Nieren spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Empfänger bei diesen manifest wird, im Sinne der genannten Hypothese auf einer Zunahme des intravasalen Volumens beruht.

Aus den entsprechenden Arbeiten Guytons [24, 25] läßt sich die Rechtsverschiebung der Nierenfunktionskurve, also die Notwendigkeit höherer Blutdrücke für bestimmte Diuresemengen, als Voraussetzung für ein größeres intravasales Volumen ableiten. Eine derartige Verschiebung der Nierenfunktionskurve, die bei SHR tatsächlich gefunden wurde [49], könnte also auch die Ursache der Posttransplantationshypertonie, wie sie nach Transplantation der Nieren spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Empfänger auftritt, sein. Ein allein durch die Transplantation bedingter Effekt läßt sich

mit großer Sicherheit ausschließen, da syngen transplantierte Kontrolltiere keine Blutdruckerhöhung zeigen.

In einer Studie [15], in der das Plasmavolumen bei 16–60 Tage alten SHR und WKY-Ratten mit radioaktiv markiertem Serumalbumin gemessen wurde, fanden sich in bezug auf das intravasale Volumen außer starken Schwankungen während der Wachstumsphase von SHR keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen während des gesamten Beobachtungszeitraums. Auffällig war lediglich ein vermehrtes Ganzkörperwasser bei SHR in der prähypertensiven Phase. Eine andere Arbeitsgruppe [44] hielt das Körpergewicht salzsensitiver Dahlratten über eine beschränkte Zufuhr von Trinkwasser konstant, während den Tieren eine kochsalzreiche Diät angeboten wurde. Trotz der Gewichtskontrolle entwickelten die Tiere eine Hypertonie, was die Autoren zu der Schlußfolgerung veranlaßte, daß zumindest in diesem Tiermodell eine Zunahme des Gesamtkörperwassers keine wesentliche Voraussetzung für die Hypertonieentstehung sein kann. Eine negative Korrelation zwischen Plasmavolumen und mittlerem arteriellen Druck ergab sich in einer Arbeit [6], bei der Plasmavolumina von SHR mit Wistar-Kyoto-Ratten vergleichbaren Gewichts mithilfe der Farbstoffverdünnungsmethode verglichen wurden. Die Studie wurde allerdings an sieben Monaten alten Tieren durchgeführt und läßt damit keine Aussagen über das intravasale Volumen während der Entstehungsphase der Hypertonie bei SHR zu. Von einer Erhöhung des Plasmavolumens von vier Wochen alten SHR um etwa 16 % im Vergleich zu gleichaltrigen WKY berichten dagegen die Autoren einer Studie, die Plasmavolumina mit einem Radioisotop bestimmten [60]. Ab der sechsten Lebenswoche kehrten

sich die Verhältnisse jedoch um, und SHR wiesen nun durchweg geringere Plasmavolumina als gleichaltrige WKY auf.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Werte für Plasmavolumina bei Ratten stimmen grundsätzlich gut mit den Ergebnissen anderer Veröffentlichungen überein [3, 6, 37, 54, 62]. Außerdem traten bei den Empfängern der Niere einer spontan hypertensiven Ratte die erwarteten deutlich erhöhten Blutdruckwerte auf. Eine Vergrößerung des intravasalen Volumens zeigte sich allerdings weder bei den mit der Farbstoffverdünnungsmethode gemessenen Werten noch in Unterschieden des zentralen Venendrucks. Insbesondere die Farbstoffverdünnungsmethode hatte sich jedoch in Vorversuchen als genügend sensitiv erwiesen, um Veränderungen des intravasalen Volumens ab einer Größenordnung von zehn Prozent des gesamten Blutvolumens nachweisen zu können.

Die Tatsache, daß sich bei Patienten oder Versuchstieren mit einer etablierten Hypertonie kein vergrößertes intravasales Volumen feststellen läßt, wird gelegentlich als Argument gegen Guytons Hypothese gebraucht. Andererseits könnte eine initial durch eine Volumenzunahme bedingte Hypertonie langfristig zu Umbauvorgängen des Gefäßsystems führen, durch welche die Hypertonie dann fixiert würde, ohne daß die auslösende Volumenzunahme noch nachweisbar sein müßte [61]. In der vorliegenden Studie wurde das intravasale Volumen jedoch in der Phase der Hypertonieentstehung gemessen, in der es vermutlich noch nicht zu größeren Umbauvorgängen des Gefäßsystems gekommen sein kann. Eine Volumenzunahme als Ursache der Hypertonieentstehung hätte sich also nachweisen lassen sollen. Eine Zunahme des intravasalen Volumens, die sich in dieser Studie weder durch direkte Messung

mit einer Farbstoffverdünnungsmethode noch durch einen erhöhten zentralen Venendruck nachweisen ließ, erscheint also unwahrscheinlich. Zudem fanden sich keine Unterschiede in der Natriumretention zwischen den Gruppen. Unter der Annahme, daß der Elektrolythaushalt einer sehr genauen Regelung unterliegt, hätten Empfänger der Nieren von SHR neben einer erhöhten Wasser- auch eine vermehrte Natriumretention zeigen müssen.

Obwohl sich ein statistisch signifikanter Unterschied der arteriellen Mitteldrücke zwischen den beiden Gruppen erst nach Entfernung der zweiten eigenen Niere ergab, fällt in Abbildung 3.1 auf, daß Empfänger der Nieren von SHR ab dem Zeitpunkt der Transplantation und schon vor der Entfernung der zweiten eigenen Niere kontinuierlich höhere Blutdrücke als die Kontrollen aufwiesen. Diese Beobachtung läßt sich nicht durch eine verminderte Ausscheidungsfähigkeit bei einer möglicherweise ischämisch geschädigten Transplantatniere erklären, denn von früheren Transplantationsstudien ist bekannt, daß die Ausscheidungsfunktion einer Niere hinreichend ist, um einen normalen Blutdruck aufrechtzuerhalten [33]. Die verbliebene eigene Niere sollte also in der Lage sein, gegebenenfalls auch bei völligem Ausfall des Transplantats adäquate Flüssigkeitsmengen zu eliminieren.

Daß es sich bei dem beobachteten Blutdruckanstieg vermutlich nicht um die Folge einer eingeschränkten Ausscheidungsfunktion handelt, wird auch vor dem Hintergrund einer Studie, in der die zweite eigene Niere in den Empfängertieren belassen wurde, deutlich [52]. Obwohl die Posttransplantationshypertonie bei Empfängern der Nieren von SHRSP weniger stark ausgeprägt war, wurde ihre Entstehung durch die verbliebene eigene Niere nicht verhindert.

Die Verschiebung der Nierenfunktionskurve zu höheren arteriellen Blutdrücken wurde indirekt durch die vorliegende Arbeit bestätigt. Durch die deutlich erhöhten Blutdrücke müßte es nach Guyton ansonsten zu einer vermehrten Diurese mit der Folge einer relativen Hypovolämie bei SHR kommen.

Eine auf diesen Beobachtungen aufbauende Hypothese ist, daß es nicht primär aufgrund einer herabgesetzten Nierenfunktion bei SHR zum Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks kommt, sondern daß ein, möglicherweise extrarenaler, Regelmechanismus den Blutdruck erhöht, um so das intravasale Volumen konstant zu halten [49]. Eine experimentelle Fixierung des arteriellen Mitteldrucks spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Werte sollte dann mit einer Zunahme des intravasalen Volumens einhergehen.

4.2 Natriumretention

Eine zweite Hypothese zur Entstehung der Hypertonie bei spontan hypertensiven Ratten stützt sich auf die Vermutung, daß die Ausscheidungskapazität der Nieren dieser Tiere für Natrium im Vergleich zu normotensiven Tieren möglicherweise eingeschränkt ist. Eine vermehrte Natriumretention könnte zu einer vermehrten kompensatorischen Wasserretention führen. Auch andere Mechanismen wie die Sensibilisierung glatter Gefäßmuskelzellen oder eine direkte Beeinflussung des sympathischen Nervensystems werden diskutiert [2].

Hinweise auf eine verminderte Natriuresekapazität der Nieren spontan hypertensiver Ratten ergaben sich durch ein Experiment, in dem die Natriuresedenervierter SHR-Nieren mit WKY-Nieren unter Konstanthaltung endokri-

ner Einflußfaktoren verglichen wurde. Es zeigte sich, daß SHR-Nieren signifikant höhere Perfusionsdrücke als die Organe von WKY-Ratten zur Exkretion gleicher Natriummengen benötigen [49]. In einer anderen Studie wurde ein erhöhter Körpergesamtnatriumgehalt bei ein bis zehn Wochen alten SHR im Vergleich zu WKY gefunden, wobei die Autoren die Gesamtnatriummenge bei Nachkommen von Eltern maßen, die zuvor mit $^{22}\text{NaCl}$ equilibriert worden waren [26]. Weniger eindeutig sind die Ergebnisse einer Studie, in der der Natriumhaushalt von 3–13 Wochen alten SHR mit dem gleichaltriger WKY verglichen wurde. Die Autoren fanden bei jungen SHR eine vermehrte Retention von Wasser, Natrium und Kalium, die sich erst ab der achten Woche nicht mehr von den Werten bei WKY unterschied. Diese Ergebnisse ließen sich allerdings nur bei Gabe einer Normalsalzdiät finden. Eine Niedrigsalzdiät verzögerte zwar das Auftreten der Hypertonie bei SHR, konnte es aber nicht verhindern, und signifikante Unterschiede in der Natriumretention zwischen den Gruppen ließen sich nicht mehr feststellen [2]. In einem Transplantationsexperiment, bei dem die Nieren von SHR und WKY auf F_1 -Hybride dieser beiden Stämme transplantiert wurden, zeigte sich eine signifikant höhere kumulative Natriumbilanz bei Empfängern der Niere von SHR unter einer Diät mit 0,6% Natriumgehalt ab dem neunten Tag nach Entfernung der nichttransplantierten Niere. Allerdings verhinderte eine Niedrigsalzdiät mit nur 0,2% Natrium die Entstehung einer Posttransplantationshypertonie bei diesen Tieren nicht, und ein signifikanter Unterschied in der Natriumbilanz im Vergleich zu Empfängern der Niere von WKY ließ sich unter dieser Diät nicht feststellen [17]. Dazu kommt die Tatsache, daß sich der signifikante Unterschied in der kumulativen Natriumbilanz erst am neunten Tag nach

bilateraler Nephrektomie zeigte, während signifikante Unterschiede des Blutdrucks bereits zwei bis drei Tage nach bilateraler Nephrektomie festgestellt werden können.

Die Daten der vorliegenden Untersuchung geben dagegen keinen Anlaß zur Vermutung, daß eine verstärkte Natriumretention die Ursache für die Entstehung einer Posttransplantationshypertonie bei Empfängern der Niere von SHR sein könnte. Es ergaben sich in bezug auf die Natriumaufnahme sowie die renale und intestinale Natriumausscheidung keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Empfängern einer Niere spontan hypertensiver Ratten oder Kontrolltieren.

Schließlich spricht die Tatsache, daß spontan hypertensive Ratten und Empfänger der Nieren von SHR auch unter Nidrigsalzdiäten hypertensiv wurden, gegen die Hypothese, daß eine verstärkte Natriumretention ursächlich für die Hypertonie bei SHR ist.

4.3 Plasmareninaktivität

Unter den für die Blutdruckregulation in Betracht kommenden endokrinen Faktoren wurde häufig das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System als möglicher Verursacher der Hypertonie bei SHR untersucht.

Die in dieser Studie gemessenen Plasmareninaktivitäten weisen dagegen keinen signifikanten Unterschied zwischen Empfängern der Nieren von SHR und WKY auf, wenn die durchschnittliche Aktivität bei Empfängern der Nieren von SHR auch etwas höher liegt. Insgesamt sind die Aktivitäten im Vergleich zu den in anderen Arbeiten [26, 46] beschriebenen Werten jedoch eher

vermindert, was sich auf die durch die Transplantation erfolgte Denervierung der Nieren und die Tatsache, daß es sich jeweils um einseitig nephrektomierte Tiere handelte, zurückführen läßt. Die bei beiden Gruppen beobachtete Supprimierung der Plasmareninaktivität sowie vergleichbare Plasmaaldosteron-, -kalium- und -natriumkonzentrationen machen eine ursächliche Beteiligung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems an der Entstehung der Posttransplantationshypertonie damit eher unwahrscheinlich.

In einer früheren Transplantationsstudie mit denselben Tierstämmen [47] fanden die Autoren bei Empfängern der Nieren von WKY signifikant niedrigere Plasmareninaktivitäten als bei Empfängern der Nieren von SHR, schlossen dies als die Ursache der Posttransplantationshypertonie aufgrund der zu nichttransplantierten Kontrollen deutlich verringerten Werte aber ebenfalls aus. Eine weitere derartige Studie [46] kam zu vergleichbaren Ergebnissen: während die Plasmareninaktivität bei Empfängern der Nieren von SHRSP höher war, fanden sich in bezug auf die ACE-Aktivität und Angiotensin-I- und -II-Konzentrationen keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Insgesamt war die Plasmareninaktivität bei Transplantatempfängern im Vergleich zu Kontrollen vermindert. Allerdings wurden diese Werte vier Wochen nach der Transplantation bestimmt, sodaß sie keine Rückschlüsse auf die unmittelbar nach Transplantation beginnende Entstehung der Transplantationshypertonie zulassen.

Anhand der vorliegenden Daten sind allerdings keine Aussagen über mögliche Unterschiede zwischen Empfängern der Niere einer SHR und Kontrolltieren hinsichtlich des dynamischen Verhaltens der Reninfreisetzung auf

Stressoren wie einen plötzlichen Blutdruckabfall oder eine Sympathikusaktivierung möglich.

4.4 NO-Synthese

Am achten Tag nach Nierentransplantation, also zwei Tage nach Entfernung der zweiten eigenen Niere, wurde die Nitrat- und Nitritkonzentration im Urin bestimmt. Damit sollten Unterschiede in der endogenen Stickstoffmonoxid-synthese zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. Obwohl hypertensive Empfänger der Nieren von SHR geringfügig niedrigere Gesamtnitratkonzentrationen als normotensive Kontrollen aufwiesen, ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied, und eine ursächliche Beteiligung dieses parakrinen Faktors an der Posttransplantationshypertonie scheint nicht wahrscheinlich.

4.5 Ganglienblockade

Ein erhöhter peripherer Gefäßwiderstand oder ein gesteigertes Herzminutenvolumen durch eine vermehrte Sympathikusaktivierung bei Empfängern der Nieren von SHR ist eine mögliche Ursache für die nach Transplantation zu beobachtende Erhöhung des arteriellen Mitteldrucks. Eine Blockierung sympathischer Ganglien sollte also bei Tieren, die aufgrund eines erhöhten Sympathikotonus eine Hypertonie aufweisen, eine stärkere Blutdrucksenkung als bei normotensiven Kontrollen bewirken.

In der vorliegenden Studie bewirkte die Blockade sympathischer Ganglien mit Hexamethonium bei Empfängern der Nieren von SHR und bei Empfän-

gern der Nieren von WKY eine vergleichbare Senkung des arteriellen Mitteldrucks. Damit sind auch Unterschiede in der Aktivität des sympathischen Nervensystems offenbar nicht die Ursache für die Posttransplantationshypertonie. Diese Feststellung stimmt mit den Ergebnissen einer früheren Studie überein, in der, bei Verwendung der gleichen Tierstämme, ebenfalls kein Anhalt für eine verstärkte Sympathikusaktivität als Ursache der Posttransplantationshypertonie gefunden wurde [20].

Eine insgesamt gesteigerte Sympathikusaktivität konnte weder in der oben zitierten Studie nachgewiesen werden, noch läßt sie sich in der vorliegenden Studie, in der keine Unterschiede der Herzfrequenzen zwischen den Gruppen auftraten, vermuten.

4.6 Schlußfolgerung

Die beschriebenen Ergebnisse machen eine vermehrte Volumen- oder Natriumretention, beziehungsweise eine gesteigerte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei spontan hypertensiven Ratten als Ursache für die bei diesen Tieren zu beobachtende Hypertonie ebenso unwahrscheinlich wie eine ursächliche Beteiligung des sympathischen Nervensystems.

Insbesondere in der dynamischen Phase der Hochdruckentstehung könnten dagegen (bislang unbekannt) endokrine Faktoren eine Rolle spielen. Dabei sind vier verschiedene Varianten denkbar:

- Die Nieren spontan hypertensiver Ratten bilden eine blutdrucksteigernde Substanz, die in den Nieren normotensiver Tiere nicht oder in geringerem Maße gebildet wird.

Dafür spricht die Tatsache, daß die Transplantation der Nieren spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Tiere bei den Empfängern eine Hypertonie verursacht. Offensichtlich ist also für die Erhöhung des arteriellen Mitteldrucks nur das einzelne Organ Niere verantwortlich. Die kurze Zeitspanne von wenigen Tagen, in welcher der Blutdruckanstieg manifest wird, läßt vermuten, daß es sich dabei, zumindest in der Anfangsphase, um einen endokrin gesteuerten Prozeß handelt. Beachtenswert ist in diesem Rahmen auch die Beobachtung, daß der Blutdruckanstieg nicht erst mit der bilateralen Nephrektomie, sondern offenbar vom Tag der Transplantation an einsetzt, wie auch in Abbildung 3.1 zu erkennen ist. Zwar wird der Unterschied zwischen den arteriellen Mitteldrücken erst einen Tag nach bilateraler Nephrektomie statistisch signifikant, wie in früheren Studien mit telemetrisch registrierten arteriellen Blutdrücken bereits beobachtet, weisen die Empfänger der Nieren von SHR jedoch ab der Transplantation höhere Blutdrücke als die Kontrollen auf. Diese Beobachtung stimmt mit der bereits erwähnten Studie überein, in der eine Hypertonie bei vormals normotensiven Empfängern der Nieren von SHRSP auch dann auftrat, wenn die verbliebene eigene Niere nicht entfernt wurde [52].

Ein weiteres Indiz für die Existenz eines von den Nieren spontan hypertensiver Ratten produzierten blutdrucksteigernden Faktors ist die Tatsache, daß die Transplantation einer Niere von normotensiven Spendern auf bilateral nephrektomierte SHR den Blutdruck bei diesen weitgehend normalisiert [21]. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist davon auszugehen, daß die Nieren von SHR nicht vermehrt Natri-

um und/ oder Flüssigkeit retinieren. Die Blutdrucknormalisierung bei SHR in der genannten Arbeit ließe sich dann durch den Wegfall des blutdrucksteigernden Faktors nach bilateraler Nephrektomie erklären.

- Eine außerhalb der Nieren gebildete blutdrucksteigernde Substanz wird von den Nieren spontan hypertensiver Ratten nicht oder in ungenügendem Maße eliminiert.

Gegen diese Hypothese spricht, daß zuvor normotensive Empfänger der Niere einer SHR, denen eine native Niere belassen wurde, ebenfalls einen Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks nach Transplantation aufweisen. Die native Niere sollte allerdings für die Elimination der extrarenal gebildeten blutdrucksteigernden Substanz ausreichen, da auch bei normotensiven Kontrolltieren nach unilateraler Nephrektomie kein Blutdruckanstieg zu verzeichnen ist.

Andererseits fällt der Blutdruckanstieg bei normotensiven Empfängern der Niere einer SHR bei Verzicht auf die Entfernung der nativen Niere deutlich weniger stark als nach bilateraler Nephrektomie aus. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß eine solitäre Niere — unabhängig ihres Ursprungs — durch eine dauerhaft erhöhte Belastung allmählich geschädigt wird. Unter Umständen ist aber auch eine verminderte Klärfunktion der Nieren von SHR für eine extrarenal gebildete blutdrucksteigernde Substanz bei gleichzeitiger renaler Produktion einer blutdrucksteigernden Substanz möglich.

- Die Nieren spontan hypertensiver Ratten bilden eine blutdrucksenkende Substanz nicht oder in zu geringem Maße.

Hinweise dafür ergeben sich aus einer Studie, in der die Nieren von SHR und WKY mit verschiedenen Blutdrücken perfundiert wurden, wobei die Auswirkungen auf Herzfrequenz und Blutdruck normotensiver Tiere, in deren Blutkreislauf die perfundierten Nieren eingebunden waren, registriert wurden. Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß die Nieren von SHR über einen antihypertensiven Faktor verfügen, die Freisetzung dieser Substanz jedoch erst bei deutlich erhöhten Blutdrücken erfolgt [30].

- Eine außerhalb der Nieren gebildete blutdrucksenkende Substanz wird von den Nieren spontan hypertensiver Ratten in größerem Maße als bei normotensiven Tieren eliminiert.

Diese Hypothese könnte erklären, weshalb es nach Transplantation der Nieren von SHR auf normotensive Kontrollen auch bei Verbleib einer nativen Niere zu einem Anstieg des Blutdrucks kommt. Die transplantierte Niere würde eine extrarenal gebildete blutdrucksenkende Substanz in unphysiologisch hohem Maße ausscheiden oder abbauen. Die Normalisierung des Blutdrucks bei SHR nach bilateraler Nephrektomie und Transplantation der Niere eines normotensiven Spendertiers wäre dann auf die normale Klärfunktion der transplantierten Niere für die blutdrucksenkende Substanz zurückzuführen.

Bei den bislang diskutierten Ergebnissen bestand stets die Annahme, daß der Genotyp der Niere, unabhängig vom Genotyp des übrigen Organismus, entscheidend für die Höhe des arteriellen Mitteldrucks sei. Diese Hypothese wurde in bezug auf Transplantationsexperimente ursprünglich von Dahl for-

muliert [10] und korrespondiert mit der von Guyton [25] vertretenen Theorie. Einige andere Arbeiten legen aber die Vermutung nahe, daß nicht alleine die Nieren bestimmend für die Regulation des arteriellen Blutdrucks sind.

In einem Transplantationsexperiment wurden sowohl SHR als auch CSHR (so wurden SHR bezeichnet, die ein Segment des Chromosoms 1 normotensiver Brown-Norway-Ratten trugen und einen um 10–15mmHg niedrigeren arteriellen Blutdruck als SHR aufwiesen) als Nierenspender beziehungsweise -empfänger verwendet. Es zeigte sich, daß hypertensive Blutdruckwerte nach der Transplantation bei den Empfängertieren nur bei SHR, denen die Niere einer SHR implantiert worden war, auftraten. Bei allen anderen Kombinationen wurden niedrigere Blutdrücke gemessen. Die Autoren schlossen daraus, daß nicht alleine der Genotyp der Niere für die Höhe des Blutdrucks entscheidend ist, sondern daß der SHR-Genotyp sowohl extra- als auch intrarenal vorkommen muß, damit es zur Ausbildung einer Hypertonie kommt. Als mögliche Erklärung für diese Beobachtung formulieren sie die Hypothese, daß bei normotensiven Tieren eine extra- oder intrarenal produzierte antihypertensive Substanz die Entwicklung antihypertensiver Blutdruckwerte verhindert. Diese Substanz sei bei SHR offenbar nicht vorhanden [8].

Auch in dem in der Einleitung bereits erwähnten Experiment, in dem, zu SHR histokompatible, normotensive BB.1K-Ratten als Nierenspender und -empfänger dienten, ergaben sich Hinweise auf extrarenale Faktoren, die den arteriellen Blutdruck beeinflussen. Obwohl es sowohl bei BB.1K als auch bei F₁H nach bilateraler Nephrektomie und Transplantation der Niere einer SHR zu einer deutlichen Blutdruckzunahme kam, wiesen BB.1K-Empfänger einen

um etwa 10 mmHg geringeren arteriellen Mitteldruck als F₁H-Empfänger auf, was für einen Einfluß extrarenaler Faktoren spricht [21].

Erwähnenswert sind in diesem Zusammenhang auch Arbeiten, bei denen eine Beeinflussung des arteriellen Blutdrucks durch die Transplantation extrarenalen Gewebes erreicht wurde. Dabei machten die Autoren der jeweiligen Arbeiten sowohl endokrine als auch immunologische Faktoren für die Wirkung auf den mittleren arteriellen Druck verantwortlich. So resultierte die Transplantation der Nebenschilddrüsen von WKY in SHRSP nach Ablation des eigenen Drüsengewebes in einer deutlichen Senkung des Blutdrucks bei diesen Tieren, während WKY, die Nebenschilddrüsen von SHRSP empfangen, hypertensiv wurden. Die Autoren fanden dabei keine Unterschiede in der Konzentration von Parathormon oder Calcium zwischen normotensiven, scheinoperierten WKY und hypertensiven WKY, die Nebenschilddrüsen von SHR erhalten hatten, weshalb sie die Hypothese, wonach unterschiedliche Parathormonspiegel für die Blutdruckdifferenz zwischen WKY und SHR verantwortlich sind, ablehnen. Stattdessen postulieren sie die Existenz eines, möglicherweise bislang unbekanntes, endokrinen, blutdrucksteigenden Faktors, der nur von den Nebenschilddrüsen spontan hypertensiver Ratten produziert wird, als Ursache für ihre Beobachtungen [41].

In einer anderen Arbeit [12] wird berichtet, daß die Transplantation hypothalamischer Neurone spontan hypertensiver Ratten in den dritten Hirnventrikel normotensiver Empfänger eine Blutdrucksteigerung auslöst, während dies nach Transplantation hypothalamischer Neurone von WKY nicht zu beobachten war. Die Autoren berichten außerdem von einer Mediahypertrophie der Widerstandsgefäße sowie einer stärkeren Sensitivität auf kontraktile Sti-

muli, wie sie auch bei prähypertensiven SHR zu beobachten sei. Histologische Untersuchungen lassen die Autoren vermuten, daß es sich bei den beschriebenen Beobachtungen nicht um das Resultat neuraler Veränderungen handelt, so daß auch bei diesem Experiment endokrine Faktoren eine Rolle spielen könnten. Die Autoren einer weiteren Veröffentlichung machen Autoimmunprozesse für die bei spontan hypertensiven Ratten zu beobachtende Hypertonie verantwortlich. So sei bei SHR die Lymphozytenzahl im peripheren Blut gegenüber WKY deutlich vermindert und die Abwehrreaktion auf allogene Hauttransplantate sei ebenso vermindert wie die Kooperationsfähigkeit von T-Lymphozyten mit B-Zellen [58]. Ursächlich dafür könnte die Existenz eines gegen Thymozyten gerichteten Autoantikörpers sein, der sich bei SHR ab einem Alter von einem Monat nachweisen lasse. Eine aus diesem autoimmunologischen Prozeß resultierende Vaskulitis sei möglicherweise eine Ursache für die arterielle Hypertonie bei SHR [57]. Umgekehrt könne die Transplantation von Thymusgewebe von WKY in SHR das Ausmaß der Hypertonie bei diesen Tieren reduzieren [32].

Die Verknüpfung dieser Ergebnisse zu einem schlüssigen Gesamtbild erscheint schwierig, und es ist zu vermuten, daß nicht alle Beobachtungen auf den gleichen Mechanismen der Hypertonieentstehung beruhen. Möglicherweise ist die Vorstellung, daß die Ursachen der essentiellen Hypertonie bei SHR alleine in der Niere zu suchen sind, zu eng gefaßt.

Aus den Befunden der vorliegenden Arbeit läßt sich schließen, daß die Posttransplantationshypertonie nach Transplantation der Nieren von SHR nicht auf einer vermehrten Natrium- oder Volumenretention beruht. Mit hoher Wahrscheinlichkeit lassen sich auch Unterschiede in der Sympathikus-

aktivität und dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System ausschließen. Einschränkung muß allerdings gesagt werden, daß sich Unterschiede im dynamischen Verhalten der untersuchten neurohumoralen Faktoren aufgrund der vorliegenden Daten nicht mit absoluter Sicherheit ausschließen lassen.

5 Zusammenfassung

Die essentielle Hypertonie, also eine Erhöhung des mittleren arteriellen Blutdrucks auf unphysiologisch hohe Werte ohne nachweisbare organische Ursache, ist ein medizinisches Problem hoher Prävalenz in der Bevölkerung der Industriestaaten, dessen gesundheitspolitische Bedeutung in Zusammenhang mit der zunehmenden Alterung der Gesellschaft noch weiter zunehmen wird.

Bei der Forschung nach den bislang unbekanntem Ursachen der essentiellen arteriellen Hypertonie finden häufig Tiermodelle Verwendung. Besonders weit verbreitet sind dabei „spontan hypertensive Ratten“ (SHR), ein Inzuchtstamm, bei dem es ab einem Alter von drei bis vier Wochen zur Ausbildung von deutlich erhöhten systolischen Blutdrücken kommt. Trotz zahlreicher Arbeiten ist dabei bislang weitgehend unbekannt, welche Ursachen der Entstehung der arteriellen Hypertonie bei SHR zugrunde liegen.

Unter der Annahme, daß von allen möglichen Systemen alleine die Nieren eine dauerhafte Veränderung des Blutdrucks herbeiführen können, wurden Transplantationsexperimente durchgeführt, bei denen die Nieren spontan hypertensiver Ratten in bilateral nephrektomierte Empfängertiere oder die Nieren normotensiver Spender in SHR transplantiert wurden. Es zeigte sich,

daß der arterielle Mitteldruck mit der Niere „wandert“ und von deren Genotyp abhängig ist.

Mit der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, welche Mechanismen dem Blutdruckanstieg bei bilateral nephrektomierten WKY nach Transplantation der Niere einer SHR zugrunde liegen. Da nach Guyton die langfristige Blutdruckregulation durch die Nieren über die Anpassung des intravasalen Volumens erfolgt, wurde in einem Experiment das intravasale Volumen transplantierte Tiere, bei denen eine Hypertonie durch telemetrische Blutdruckmessungen nachgewiesen worden war, mit dem Blutvolumen normotensiver Kontrolltiere verglichen. Obwohl mit der verwendeten Farbstoffverdünnungsmethode Volumenänderungen ab einer Größe von zehn Prozent des Gesamtblutvolumens festgestellt werden konnten, wurde eine Zunahme des intravasalen Volumens nach Transplantation der Niere einer spontan hypertensiven Ratte auf normotensive Tiere nicht nachgewiesen. Wie erwartet war es bei den Transplantatempfängern aber zur Ausbildung hypertensiver Blutdruckwerte gekommen.

In einem weiteren Experiment wurde untersucht, ob möglicherweise eine bei SHR verminderte Fähigkeit, Natrium über die Nieren auszuscheiden, Ursache für den erhöhten arteriellen Mitteldruck ist. Auch in diesem Versuch entwickelten die Empfänger der Nieren spontan hypertensiver Ratten eine arterielle Hypertonie während der einwöchigen Haltung in Stoffwechselkäfigen. In demselben Zeitraum konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zu normotensiven Kontrollen in bezug auf die Natriumbilanz festgestellt werden.

Ebenso gaben die Untersuchungen zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems oder der endogenen NO-Synthese in der Phase der

Hypertonieentstehung keine Hinweise darauf, daß eine Ursache für die Posttransplantationshypertonie in diesen Systemen liegen könnte.

Schließlich wurde abermals untersucht, ob die Posttransplantationshypertonie aus einer verstärkten Aktivität des efferenten sympathischen Nervensystems resultieren könnte. Die Blockierung sympathischer Ganglien bewirkte jedoch sowohl bei Empfängern der Nieren spontan hypertensiver Ratten als auch bei den Tieren der syngen transplantierten, normotensiven Kontrollgruppe einen vergleichbaren Blutdruckabfall, so daß unterschiedliche Sympathikusaktivitäten als Ursache für die Blutdruckdifferenz nicht wahrscheinlich zu sein scheinen.

Die vorliegenden Befunde zeigen, daß die Ursache für die nach Transplantation der Nieren spontan hypertensiver Ratten auf normotensive Empfänger entstehende Hypertonie und damit möglicherweise auch die Ursache für die arterielle Hypertonie bei SHR selbst nicht auf eine vermehrte Volumen- und/ oder Natriumretention, Unterschiede in der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems oder der NO-Synthese oder Veränderungen in der Aktivität des Sympathikus zurückgeführt werden kann. In Anbetracht der Dynamik der Hypertonieentstehung nach Transplantation, dem Blutdruckverhalten nach Belassung einer nativen Niere und den Ergebnissen weiterer Veröffentlichungen scheint ein endokriner Faktor eine wahrscheinliche Ursache für die bei SHR zu beobachtende Hypertonie zu sein. Derzeit ist allerdings offen, ob es sich dabei um einen blutdrucksenkenden, blutdrucksteigernden oder eine Kombination mehrerer Faktoren handelt. Außerdem scheinen Zweifel angebracht, ob tatsächlich nur der Genotyp der Niere entscheidend für die langfristige Blutdruckregulation des arteriellen Mitteldrucks

ist, oder ob nicht vielmehr die Kombination aus extra- und intrarenalem Genotyp untersucht werden muß.

6 Eigene Veröffentlichung

O. Grisk, M. Heukäufer, A. Steinbach, S. Gruska, and R. Rettig. Analysis of arterial pressure regulating systems in renal post-transplantation hypertension. *J Hypertens*, 22(1):199–207, 2004

Literaturverzeichnis

- [1] KL. Aldred, PJ. Harris, and E. Eitle. Increased proximal tubule NHE-3 and H⁺-ATPase activities in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*, 18(5):623–8, 2000.
- [2] WH. Beierwaltes, WJ. Arendshorst, and PJ. Klemmer. Electrolyte and water balance in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 4(6):908–15.
- [3] EH. BELCHER and EB. HARRISS. Studies of plasma volume, red cell volume and total blood volume in young growing rats. *J Physiol*, 139(1):64–78, 1957.
- [4] G. Bianchi, B.R. Barber, L. Torielli, and P. Ferrari. *The Milan Hypertensive Strain of Rats*, chapter 22. In Swales [56], 1994.
- [5] G. Bianchi, U. Fox, GF. Di Francesco, AM. Giovanetti, and D. Pagetti. Blood pressure changes produced by kidney cross-transplantation between spontaneously hypertensive rats and normotensive rats. *Clin Sci Mol Med*, 47(5):435–48, 1974.

- [6] M. Bianchi, G. Bellini, H. Hessian, KE. Kim, C. Swartz, and M. Fernandes. Body fluid volumes in the spontaneously hypertensive rat. *Clin Sci (Lond)*, 61(6):685–91, 1981.
- [7] J. Chalmers, L. Arnolda, I. Llewellyn-Smith, J. Pinson, and P. Pilowsky. *Central Nervous Control of Blood Pressure*, chapter 20. In Swales [56], 1994.
- [8] PC. Churchill, MC. Churchill, AK. Bidani, and TW. Kurtz. Kidney-specific chromosome transfer in genetic hypertension: the dahl hypothesis revisited. *Kidney Int*, 60(2):705–14, 2001.
- [9] JJ. Curtis, RG. Luke, HP. Dustan, M. Kashgarian, JD. Whelchel, P. Jones, and AG. Diethelm. Remission of essential hypertension after renal transplantation. 1983. *J Am Soc Nephrol*, 11(12):2404–12, 2000.
- [10] LK. Dahl, M. Heine, and K. Thompson. Genetic influence of renal homografts on the blood pressure of rats from different strains. *Proc Soc Exp Biol Med*, 140(3):852–6, 1972.
- [11] P.W. de Leeuw, C.A. Gaillard, and W.H. Birkenhäger. *The Kidney in Hypertension*, chapter 37. In Swales [56], 1994.
- [12] CF. Deschepper, JS. Li, EL. Schiffrin, and SA. Welner. Hypertension induced by brain grafts from fetal spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 23(6 Pt 1):765–73, 1994.
- [13] Statistisches Bundesamt Deutschland, 2001.

- [14] JR. Dilley and WJ. Arendshorst. Enhanced tubuloglomerular feedback activity in rats developing spontaneous hypertension. *Am J Physiol*, 247(4 Pt 2):F672–9, 1984.
- [15] MM. Von Dreele. Age-related changes in body fluid volumes in young spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*, 255(5 Pt 2):F953–6, 1988.
- [16] Björn Folkow. *The “Structural Factor” in Hypertension: With Special Emphasis on the Hypertrophic Adaptation of the Systemic Resistance Vessels*, chapter 37. Volume 1 of Larragh and Brenner [36], 1990.
- [17] BA. Frey, O. Grisk, N. Bandelow, S. Wussow, P. Bie, and R. Rettig. Sodium homeostasis in transplanted rats with a spontaneously hypertensive rat kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279(3):R1099–104, 2000.
- [18] N. Fukuda, WY. Hu, A. Kubo, M. Endoh, H. Kishioka, C. Satoh, M. Soma, Y. Izumi, and K. Kanmatsuse. Abnormal regulation of transforming growth factor-beta receptors on vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats by angiotensin ii. *Hypertension*, 31(2):672–7, 1998.
- [19] David S. Goldstein and Irwin J. Kopin. *The Autonomic Nervous System and Catecholamines in Normal Blood Pressure Control and in Hypertension*, chapter 47. Volume 1 of Larragh and Brenner [36], 1990.

- [20] O. Grisk, BA. Frey, A. Uber, and R. Rettig. Sympathetic activity in early renal posttransplantation hypertension in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279(5):R1737–44, 2000.
- [21] O. Grisk, I. Klötting, J. Exner, S. Spiess, R. Schmidt, D. Junghans, G. Lorenz, and R. Rettig. Long-term arterial pressure in spontaneously hypertensive rats is set by the kidney. *J Hypertens*, 20(1):131–8, 2002.
- [22] E. Guidi, MG. Cozzi, E. Minetti, and G. Bianchi. Donor and recipient family histories of hypertension influence renal impairment and blood pressure during acute rejections. *J Am Soc Nephrol*, 9(11):2102–7, 1998.
- [23] E. Guidi, D. Menghetti, S. Milani, G. Montagnino, P. Palazzi, and G. Bianchi. Hypertension may be transplanted with the kidney in humans: a long-term historical prospective follow-up of recipients grafted with kidneys coming from donors with or without hypertension in their families. *J Am Soc Nephrol*, 7(8):1131–8, 1996.
- [24] AC. Guyton. Long-term arterial pressure control: an analysis from animal experiments and computer and graphic models. *Am J Physiol*, 259(5 Pt 2):R865–77, 1990.
- [25] AC. Guyton. Blood pressure control—special role of the kidneys and body fluids. *Science*, 252(5014):1813–6, 1991.
- [26] SB. Harrap and AE. Doyle. Renal haemodynamics and total body sodium in immature spontaneously hypertensive and wistar-kyoto rats. *J Hypertens Suppl*, 4(3):S249–52, 1986.

- [27] DG. Johns, RC. Webb, and JR. Charpie. Impaired ceramide signalling in spontaneously hypertensive rat vascular smooth muscle: a possible mechanism for augmented cell proliferation. *J Hypertens*, 19(1):63–70, 2001.
- [28] WV. Judy, AM. Watanabe, WR. Murphy, BS. Aprison, and PL. Yu. Sympathetic nerve activity and blood pressure in normotensive back-cross rats genetically related to the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, 1(6):598–604.
- [29] Norman M. Kaplan, M.D. *Clinical Hypertension*. Williams & Wilkins, fifth edition, 1990.
- [30] G. Karlström, G. Bergström, B. Folkow, J. Rudenstam, and G. Göthberg. Is the humoral renal antihypertensive activity of the spontaneously hypertensive rat (shr) reset to the high blood pressure? *Acta Physiol Scand*, 141(4):517–30, 1991.
- [31] K. Kawabe, TX. Watanabe, K. Shiono, and H. Sokabe. Influence on blood pressure of renal isografts between spontaneously hypertensive and normotensive rats, utilizing the f1 hybrids. *Jpn Heart J*, 19(6):886–94, 1978.
- [32] AA. Khraibi. Association between disturbances in the immune system and hypertension. *Am J Hypertens*, 4(7 Pt 1):635–41, 1991.
- [33] D. Kopf, R. Waldherr, and R. Rettig. Source of kidney determines blood pressure in young renal transplanted rats. *Am J Physiol*, 265(1 Pt 2):F104–11, 1993.

- [34] T.W. Kurtz, E.M. St Lezin, and M. Pravenec. *Development of Hypertension Strains*, chapter 22. In Swales [56], 1994.
- [35] John H. Laragh and Jean E. Sealey. *The Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Hypertensive Disorders: A Key to Two Forms of Arteriolar Vasoconstriction and a Possible Clue to Risk of Vascular Injury (Heart Attack and Stroke) and Prognosis*, chapter 82. Volume 1 of Laragh and Brenner [36], 1990.
- [36] John H. Laragh, M.D. and Barry M. Brenner, M. D., editors. *Hypertension – Pathophysiology, Diagnosis and Management*, volume 1. Raven Press, New York, 1990.
- [37] J. Lucas and MA. Floyer. Changes in body fluid distribution and interstitial tissue compliance during the development and reversal of experimental renal hypertension in the rat. *Clin Sci Mol Med*, 47(1):1–11, 1974.
- [38] FC. Luft. Geneticism of essential hypertension. *Hypertension*, 43(6):1155–9, 2004.
- [39] S. Lundin, SE. Ricksten, and P. Thorén. Interaction between “mental stress” and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand*, 120(2):273–81, 1984.
- [40] MJ. Mulvany and N. Nyborg. An increased calcium sensitivity of mesenteric resistance vessels in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, 71(2):585–96, 1980.

- [41] D. Neuser, R. Schulte-Brinkmann, and S. Kazda. Development of hypertension in wky rats after transplantation of parathyroid glands from shr/sp. *J Cardiovasc Pharmacol*, 16(6):971–4, 1990.
- [42] H. Nørrelund, KL. Christensen, NJ. Samani, P. Kimber, MJ. Mulvany, and N. Korsgaard. Early narrowed afferent arteriole is a contributor to the development of hypertension. *Hypertension*, 24(3):301–8, 1994.
- [43] PF. Pratt, S. Bonnet, LM. Ludwig, P. Bonnet, and NJ. Rusch. Upregulation of l-type ca²⁺ channels in mesenteric and skeletal arteries of shr. *Hypertension*, 40(2):214–9, 2002.
- [44] N. Qi, JP. Rapp, PH. Brand, PJ. Metting, and SL. Britton. Body fluid expansion is not essential for salt-induced hypertension in ss/jr rats. *Am J Physiol*, 277(5 Pt 2):R1392–400, 1999.
- [45] J.P. Rapp. *Dahl Salt-sensitive and Salt-resistant Rats*, chapter 22. In Swales [56], 1994.
- [46] R. Rettig, M. Büch, R. Gerstberger, P. Schnatterbeck, and M. Paul. Effects of kidney transplantation on the renin-angiotensin systems of the recipients. *Kidney Int*, 46(6):1536–8, 1994.
- [47] R. Rettig, H. Stauss, C. Folberth, D. Ganten, B. Waldherr, and T. Unger. Hypertension transmitted by kidneys from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*, 257(2 Pt 2):F197–203, 1989.
- [48] RJ. Roman. Altered pressure-natriuresis relationship in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 9(6 Pt 2):III130–6, 1987.

- [49] R.J. Roman and A.W. Cowley. Abnormal pressure-diuresis-natriuresis response in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*, 248(2 Pt 2):F199–205, 1985.
- [50] V. Ruppert and B. Maisch. Genetics of human hypertension. *Herz*, 28(8):655–62, 2003.
- [51] M.E. Safar and G.M. London. *The Arterial System in Human Hypertension*, chapter 6. In Swales [56], 1994.
- [52] S. Sander, R. Rettig, and B. Ehrig. Role of the native kidney in experimental post-transplantation hypertension. *Pflugers Arch*, 431(6):971–6, 1996.
- [53] T. Shokoji, A. Nishiyama, Y. Fujisawa, H. Hitomi, H. Kiyomoto, N. Takahashi, S. Kimura, M. Kohno, and Y. Abe. Renal sympathetic nerve responses to tempol in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 41(2):266–73, 2003.
- [54] S. Simchon, W.M. Manger, and T.W. Brown. Dual hemodynamic mechanisms for salt-induced hypertension in dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*, 17(6 Pt 2):1063–71, 1991.
- [55] F.O. Simpson, E.L. Phelan, and J.M. Ledingham. *The New Zealand Genetically Hypertensive Strain of Rats*, chapter 22. In Swales [56], 1994.
- [56] J.D. Swales, MD MA FRCP, editor. *Textbook of Hypertension*. Blackwell Scientific Publications, 1994.

- [57] N. Takeichi, K. Suzuki, and H. Kobayashi. Characterization of immunological depression in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Immunol*, 11(6):483–7, 1981.
- [58] N. Takeichi, K. Suzuki, T. Okayasu, and H. Kobayashi. Immunological depression in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Immunol*, 40(1):120–6, 1980.
- [59] M. Thamm. [blood pressure in germany—current status and trends]. *Gesundheitswesen*, 61 Spec No:S90–3, 1999.
- [60] CB. Toal and FH. Leenen. Body fluid volumes during development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *J Hypertens*, 1(4):345–50, 1983.
- [61] CE. Wright and JA. Angus. Enhanced total peripheral vascular responsiveness in hypertension accords with the amplifier hypothesis. *J Hypertens*, 17(12 Pt 1):1687–96, 1999.
- [62] J. Yamamoto, NC. Trippodo, AA. MacPhee, and ED. Frohlich. Decreased total venous capacity in goldblatt hypertensive rats. *Am J Physiol*, 240(4):H487–92, 1981.
- [63] Y. Yamori and J.D. Swales. *The Spontaneously Hypertensive Rat*, chapter 22. In Swales [56], 1994.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig verfaßt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, daß ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und daß eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, 4. April 2005

Lebenslauf

18.1.1977	Geburt in Limburg an der Lahn als Sohn der Eltern Christel und Werner Heukäufer
1983–1987	Grundschule, Hadamar
1987–1996	Fürst Johann Ludwig-Gymnasium, Hadamar
1996–1997	„Anderer Dienst im Ausland“ nach §14b ZDG im Deutsch-Polnischen Jugendwerk, Warschau
1997–2003	Medizinstudium an der Ernst Moritz Arndt-Universität, Greifswald
15.9.99	Ärztliche Vorprüfung
29.8.00	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
19.9.02	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2002–2003	Praktisches Jahr
19.11.03	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1.1.04	Beginn der Tätigkeit als Arzt im Praktikum an der Klinik für Innere Medizin B der Ernst Moritz Arndt-Universität
seit 1.10.04	Tätigkeit als Assistenzarzt an der Klinik für Innere Medizin B der Ernst Moritz Arndt-Universität

Greifswald, 4. April 2005

Danksagung

Hiermit bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. med. R. Rettig, Direktor des Instituts für Physiologie der Ernst Moritz Arndt-Universität Greifswald, für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Besonders danke ich Priv.-Doz. Dr. med O. Grisk für die optimale Betreuung, die ich während der gesamten Arbeit an dieser Dissertation erfahren habe.

Dank gebührt außerdem Frau E. Schallock und Frau B. Sturm, die mich bei der Arbeit im Labor unterstützt haben.