

Aus dem Institut für Physiologie

(Direktor Univ.-Prof. Dr. med. R. Rettig)

der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Spezifische Effekte der neonatalen Sympathektomie auf
das isometrische Kontraktionsverhalten proximaler
renaler Widerstandsgefäße spontan hypertensiver Ratten**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Medizinischen Fakultät

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität

Greifswald

2006

vorgelegt von:

Ulrike Lothar

geboren am 09. 03. 1981

in Anklam

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Heyo K. Kroemer

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Rettig

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Rudolf Schubert

Ort, Raum: Greifswald, Friedrich-Loeffler-Straße 23a,
Klinik für Innere Medizin B, Seminarraum

Tag der Disputation: 09. November 2006

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	5
2 Material und Methoden	13
2.1 Verwendete Versuchstiere	13
2.2 Vorbehandlung der Tiere	14
2.2.1 Neonatale Sympathektomie.....	14
2.2.2 Scheinsympathektomie.....	15
2.2.3 Scheinsympathektomie und Hydralazin-Behandlung.....	15
2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials	16
2.3.1 Nierenentnahme	16
2.3.2 Gefäßpräparation.....	16
2.4 Small-Vessel-Myographie.....	18
2.4.1 Der Myograph	18
2.4.2 Vorbereitung der Myographie.....	20
2.4.3 Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials.....	21
2.4.4 Agonist-induzierte Vasokonstriktion	22
2.4.5 Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium....	22
2.4.6 Endothelunabhängige und endothelvermittelte Vasodilatation.....	23
2.5 Protokolle der Myographie-Experimente.....	26
2.6 Verwendete Pharmaka	28
2.7 Statistische Auswertung.....	29
3 Ergebnisse	33
3.1 Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials.....	33
3.2 Agonist-induzierte Vasokonstriktion	36
3.2.1 Noradrenalin.....	37
3.2.2 Vasopressin	38
3.2.3 Endothelin-1	39

3.3	Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium	40
3.3.1	Kalziumsensitivität der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion	40
3.3.2	Aktivierung von L-Typ-Kalziumkanälen	42
3.4	Vasodilatation	44
3.4.1	Vorkontraktion	45
3.4.2	Endothelunabhängige Vasodilatation	47
3.4.3	Endothelvermittelte Vasodilatation	48
4	Diskussion	55
4.1	Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials	58
4.2	Agonist-induzierte Vasokonstriktion	63
4.3	Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium	69
4.4	Endothelunabhängige und endothelvermittelte Vasodilatation	73
4.5	Resümee und Ausblick	80
5	Zusammenfassung	81
6	Literaturverzeichnis	83
7	Publikation	93

1 Einleitung

Die arterielle Hypertonie ist eine Krankheit, die in den Industrienationen und zunehmend auch in den Entwicklungsländern weit verbreitet ist. Ihre Prävalenz wird derzeit auf etwa 30 % der Weltbevölkerung geschätzt, wobei Männer häufiger betroffen sind als Frauen (34). Der Bluthochdruck ist der wichtigste beeinflussbare Risikofaktor für kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Erkrankungen sowie für das chronische Nierenversagen (34). Er gilt global gesehen als die dritthäufigste Ursache der Morbidität und als der führende Risikofaktor für die Mortalität (34). In Deutschland sterben jährlich mehr als 400.000 Menschen an Herz-Kreislauf-Erkrankungen, was etwa 43 % der Todesfälle bei Männern und über 50 % der verstorbenen Frauen entspricht (7).

Nur bei ca. 10 % aller Hypertoniker ist die Ätiologie des Bluthochdrucks bekannt. Es handelt sich in diesen Fällen meistens um eine sekundäre Hypertonie, die beispielsweise durch renovaskuläre oder renoparenchymatöse Erkrankungen, durch die Überproduktion blutdrucksteigernder Hormone oder mechanisch, z. B. durch eine Aortenisthmusstenose, bedingt sein kann.

Die Mehrheit der Bluthochdruckpatienten leidet an der essentiellen Hypertonie, einer multifaktoriellen Erkrankung, deren Ursachen nach dem heutigen Erkenntnisstand im Einzelnen nicht hinreichend geklärt sind. Die Manifestation eines essentiellen Bluthochdrucks wird durch Umweltfaktoren wie Überernährung, erhöhten Alkoholkonsum und Bewegungsmangel gefördert (35). Daneben ergaben Zwillingsstudien, dass etwa 30 - 40 % der Blutdruckvariabilität in der Bevölkerung auf genetische Einflüsse zurückzuführen sind (35). Die Erforschung erblicher Mechanismen, die zur Entstehung der essentiellen arteriellen Hypertonie beitragen, ist daher als Grundlage für die Verbesserung der Gesundheit weiterer Teile der Weltbevölkerung von großem Interesse.

Das erste Tiermodell eines verlässlich reproduzierbaren Bluthochdrucks schuf Goldblatt 1934, indem er mit Silberklemmen die Nierenarterien von Hunden stenosierte (77). Dadurch wurde erstmals eine tierexperimentelle, standardisierte

Untersuchung pathophysiologischer Aspekte des arteriellen Hypertonus möglich. Dieses und andere, nachfolgend entwickelte Modelle experimentell induzierten Bluthochdrucks spiegeln im Wesentlichen die Verhältnisse bei sekundären Hypertonieformen des Menschen wider.

Zur Erforschung der essentiellen Hypertonie sind heute durch Inzucht gewonnene, genetisch hypertensive Rattenstämme weit verbreitet. Bekannte Beispiele sind die *Neuseeland genetisch hypertensiven Ratten*, die als erster dieser Stämme 1958 etabliert wurden, die *Lyon hypertensiven Ratten*, *Milan hypertensive Ratten*, *Dahl salzsensitive Ratten* und die *spontan hypertensiven Ratten* (40).

Die spontan hypertensiven Ratten (SHR) des Okamoto-Aoki-Stammes zählen zu den am besten untersuchten Tierstämmen mit genetischem Bluthochdruck. Sie sind ein Modell, das zahlreiche Gemeinsamkeiten mit der humanen essentiellen Hypertonie aufweist. So zeigen die spontan hypertensiven Ratten Folgeerkrankungen des arteriellen Hypertonus wie Schlaganfälle, Linksherzhypertrophie und Glomerulosklerose (84). Sie reagieren ähnlich auf antihypertensive Medikamente wie Bluthochdruckpatienten und sind bei der Entwicklung der Hypertonie sensitiv gegenüber einer erhöhten Natriumaufnahme oder Stress (84). Das Gefäßsystem der SHR ist durch einen erhöhten peripheren Widerstand bei normalem Plasmaplasma-volumen gekennzeichnet (84).

Die Ursachen und Entstehungsmechanismen der essentiellen Hypertonie sind beim Menschen und bei genetisch hypertensiven Tierstämmen trotz umfangreicher Forschung nicht vollständig bekannt.

Als erwiesen gilt die Beteiligung der *Niere* an der langfristigen Blutdruckregulation. Tierexperimente und Computeranalysen der Kreislauffunktion ergaben, dass kein anderes System als die renale Salz- und Wasserausscheidung in der Lage ist, den Blutdruck länger als einige Tage auf einem konstanten Niveau zu halten (22). Ein theoretisches Modell zur Beschreibung der Blutdruckregulation zieht Parallelen zwischen der Verteilung des Blutflusses im kardiovaskulären System und einer von Angebot und Nachfrage regulierten freien Marktwirtschaft (13). Die Niere fungiert in diesem Modell als ein wichtiges Kontrollorgan, das durch die Variation seiner Ausscheidungsfunktion dem Körperkreislauf

verschieden große Mengen sauerstoffreichen Blutes entziehen kann (13). Auf diese Weise beeinflusst die Niere das Sauerstoffangebot unabhängig von ihrem eigenen Energiebedarf und wirkt regulierend auf den Perfusionsdruck anderer Organe sowie auf den systemischen Blutdruck ein (13).

In Nierentransplantationsstudien konnte ein Zusammenhang zwischen der Blutdruckhöhe des Nierenspenders und der Höhe des Posttransplantationsblutdrucks beim Organempfänger aufgezeigt werden (61-63). Für fünf genetisch hypertensive Rattenstämme (*Milan hypertensive Ratten*, *Dahl salzsensitive Ratten*, *Prag hypertensive Ratten*, *spontan hypertensive Ratten* und *zu Schlaganfällen neigende spontan hypertensive Ratten (SHRSP)*) wurde nachgewiesen, dass die Übertragung einer Niere dieser hypertensiven Tiere bei den jeweiligen normotensiven Empfängern (*Milan normotensive Ratten*, *Dahl salzresistente Ratten*, *Prag normotensive Ratten*, *F₁-Hybride aus SHR bzw. SHRSP und Wistar-Kyoto-Ratten*) den arteriellen Mitteldruck erhöht (61-63).

Eine Blutdrucksenkung nach Nierentransplantation konnte bei *Milan* hypertensiven und *Dahl* salzsensitiven Ratten erzeugt werden, denen Organe aus dem jeweiligen normotensiven Kontrollstamm transplantiert wurden (62, 63). Gleiches gelang bei SHR nach der Transplantation einer Niere normotensiver, histokompatibler, kongener BB.1K-Ratten (17).

In klinischen Studien zur Posttransplantationshypertonie spielen blutdrucksteigernde Faktoren wie Transplantatabstoßungsreaktionen oder die immunsuppressive Therapie eine größere Rolle als in Tiermodellen. Trotz dieser Störgrößen korrelieren auch beim Menschen die Blutdrücke von Nierenspender und -empfänger miteinander (20, 63). Patienten, denen die Niere eines offensichtlich hypertensiven Donors implantiert wurde, benötigen eine stärkere antihypertensive Medikation als die Empfänger von Nieren normotensiver Spender (63). Bei Nierentransplantatempfängern, deren Transplantat von Spendern mit hypertensiven Eltern stammte, wurden höhere Posttransplantationsblutdrücke gemessen als bei Empfängern von Transplantaten, bei denen die Eltern der Spender nicht hypertensiv waren (20). Bei Hypertoniepatienten kann durch die Implantation der Niere eines normotensiven Individuums kombiniert mit bilateraler Nephrektomie der Blutdruck dauerhaft gesenkt werden (63).

Die bisherigen Ergebnisse klinischer und experimenteller Nierentransplantationsstudien zeigen, dass die Niere wesentlich zur Pathogenese der essentiellen Hypertonie des Menschen und experimenteller genetischer Hypertonieformen beiträgt.

Neben den renalen Mechanismen werden strukturelle und funktionelle Veränderungen des *Blutgefäßsystems* in ihrer Rolle für die Entstehung der essentiellen Hypertonie diskutiert. Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die Arteriolen und kleinen Arterien mit einem Durchmesser unter 300 μm , da durch sie der größte Anteil des peripheren Gefäßwiderstandes bestimmt wird (49). Bei Bluthochdruckpatienten und bei SHR ist der periphere Widerstand im Vergleich zu normotensiven Individuen erhöht (2, 28, 49, 50, 73). In beiden Fällen ist dies mit einer dickeren und muskelstärkeren Wand der Widerstandsgefäße im Verhältnis zu deren Lumen assoziiert (2, 28, 49, 50, 73). Diese Erhöhung der so genannten „wall-to-lumen-ratio“ beruht bei einem unveränderten Mediavolumen pro Gefäßsegmentlänge wahrscheinlich eher auf einer Remodellierung der vorhandenen Strukturen um ein engeres Lumen als auf Wachstumsprozessen der Muskulatur (49).

Die Ursachen des veränderten Baus arterieller Widerstandsgefäße und die Auswirkungen auf den Blutdruck sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und werden kontrovers diskutiert. Eine längerfristige Blutdruckerhöhung führt unabhängig von ihrem Auslöser zu einer Zunahme der „wall-to-lumen-ratio“ der Widerstandsarterien (73). Bei Tiermodellen mit experimentell erzeugter Hypertonie wird eine Mediaverdickung auch in Gefäßbetten beobachtet, in denen kein gesteigerter Druck herrscht (73). Vaskuläre Umbauprozesse sind offenbar ein Adaptationsmechanismus des Blutgefäßsystems an lokal oder generalisiert erhöhte arterielle Drücke (73).

Andererseits besitzen normotensive Kinder hypertensiver Eltern und junge, prähypertensive SHR bereits Widerstandsarterien, die eine Mediaverdickung aufweisen (49, 51). Zahlreiche medikamentöse Ansätze zur Behandlung der Hypertonie können den Blutdruck senken, jedoch die Ausbildung struktureller Gefäßveränderungen allenfalls sehr langsam beeinflussen (49, 73). Diese Befunde sprechen dafür, dass eine muskelstarke Gefäßwand ein Merkmal genetisch hypertensiver

Individuen ist, welches der Manifestation der arteriellen Hypertonie vorausgehen kann und auch unabhängig von erhöhten Blutdruckwerten auftritt (73). Die vergrößerte „wall-to-lumen-ratio“ könnte somit nicht nur eine Folge des Bluthochdrucks darstellen, sondern auch eine anlagebedingte Eigenschaft sein, die für die Entwicklung der essentiellen Hypertonie mitverantwortlich ist.

An Widerstandsarterien hypertensiver Individuen mit großer „wall-to-lumen-ratio“ wurden verstärkte Reaktionen auf vasokonstriktorisch wirkende Agonisten beobachtet (49, 50). Andere Autoren beschreiben dagegen bei spontan hypertensiven Ratten und den normotensiven Wistar-Kyoto-Ratten gleichartige kontraktile Gefäßfunktionen (2, 28). Sie gehen davon aus, dass der erhöhte periphere Widerstand der SHR eher auf strukturellen Ursachen im Sinne engerer Gefäßlumina als auf einer größeren Vasokonstriktionsfähigkeit beruht (2, 28).

Auf welche Art ein veränderter Gefäßwandaufbau langfristig den vaskulären Widerstand und damit den arteriellen Blutdruck beeinflusst, ist bislang im Einzelnen ungeklärt.

Ein dritter Faktor, der zusammen mit renalen Mechanismen und dem peripheren Gefäßwiderstand maßgeblich an der akuten und chronischen Blutdruckregulation beteiligt ist, ist das *sympathische Nervensystem*. Schon vor der Ära der medikamentösen Hypertonietherapie wurde die chirurgische Sympathektomie zur Behandlung schweren Bluthochdrucks eingesetzt (15). Außerdem sind Antagonisten kardialer und vaskulärer Adrenorezeptoren sowie zentral wirkende α_2 -Rezeptoragonisten wirksame Antihypertensiva (15).

Bei Menschen, die an essentieller Hypertonie leiden, sind die Aktivität der sympathischen Nerven, welche Muskeln versorgen, und die renale Noradrenalinfreisetzung erhöht (18). Ebenso ist die sympathische Nervenaktivität der normotensiven Nachkommen von Hypertonie-Patienten gesteigert (45).

Spontan hypertensive Ratten besitzen einen hohen Ruhetonus des sympathischen Nervensystems und eine vermehrte noradrenerge Innervation ihrer Organe auf Grund einer Überexpression des „Nerve Growth Factors“ (18). Auf Stress reagieren sie mit einer stärkeren Aktivierung des Sympathikus als normotensive

Kontrolltiere (15). Der Blutdruck der SHR kann durch neonatale Sympathektomie der Tiere langfristig gesenkt werden (19, 41, 42).

Zwischen den wichtigen Blutdruckregulatoren *sympathisches Nervensystem*, *peripherer Gefäßwiderstand* und *Niere* bestehen zahlreiche Zusammenhänge.

Noradrenalin als Transmitter des *sympathischen Nervensystems* hat in hohen Konzentrationen trophische Wirkungen auf die glatten Gefäßmuskelzellen (5, 6, 73). Neonatale Sympathektomie verringert den Einfluss des Noradrenalins auf den Organismus. Dies geht bei spontan hypertensiven Ratten mit einer Verminderung der vaskulären „wall-to-lumen-ratio“ (41, 42) und geringeren *Gefäßwiderständen* im mesenterialen (41, 42) und renalen Stromgebiet (19) sowie an den Arterien der hinteren Extremität (39) einher.

Ein Zusammenhang zwischen dem *sympathischen Nervensystem* und den *Nieren* hypertensiver Individuen besteht dahingehend, dass die erhöhte sympathische Nervenaktivität unter anderem Nervenfasern betrifft, die die Niere versorgen (8).

Die Aktivierung efferenter renaler sympathischer Nerven führt zu einer gesteigerten tubulären Natriumresorption, vermehrter Renin-Sekretion und zu einem größeren Widerstand des renalen Gefäßsystems (8). Dadurch verschiebt sich das Verhältnis zwischen arteriellem Blutdruck und Natriurese zu höheren Drücken, was zur Entstehung und Aufrechterhaltung der Hypertonie beiträgt (8).

Wird der Einfluss des Sympathikus auf die Niere durch neonatale Denervierung des Organs minimiert, verringert sich die Höhe des Blutdrucks genetisch hypertensiver Tiere (18, 19, 39). Komplette neonatale Sympathektomie bewirkt bei spontan hypertensiven Ratten eine Reduktion des arteriellen Mitteldrucks um ca. 30 mmHg (19). Die Nierenfunktion wird durch die Sympathektomie derartig verändert, dass sie der arteriellen Hypertonie langfristig entgegenwirkt (19). Durch die Transplantation der Niere einer sympathektomierten SHR und bilaterale Nephrektomie des Empfängertieres kann der gesenkte Blutdruck auf bis dahin unbehandelte spontan hypertensive Ratten übertragen werden (19).

Eine mögliche Erklärung der antihypertensiven Wirkung eines Nierentransplantats sympathektomierter SHR stellen behandlungsbedingte Veränderungen im Blutgefäßsystem der Niere dar. Die Kombination der beiden blutdruckregulierenden Faktoren *peripherer Gefäßwiderstand* und *Niere* ist für den Bluthochdruck der SHR von entscheidender Bedeutung. Der renale Gefäßwiderstand ist bei diesen Tieren schon vor der Manifestation der Hypertonie erhöht (80). Die präglomerulären Widerstandsgefäße der spontan hypertensiven Ratten weisen strukturelle Veränderungen auf, welche in Analogie zu Goldblatts Experimenten an einer Blutdrucksteigerung beteiligt sein können (53).

Einen Einfluss des *sympathischen Nervensystems* auf den *Gefäßwiderstand* der *Niere* legen Studien zur Hämodynamik nahe, in denen bei spontan hypertensiven Ratten nach neonataler Sympathektomie eine Verringerung des renalen vaskulären Widerstandes beobachtet wurde (19).

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Funktion renaler Widerstandsarterien von neonatal sympathektomierten SHR detailliert zu untersuchen. Mit Hilfe der Small-Vessel-Myographie sollte getestet werden, ob es bei spontan hypertensiven Ratten langfristige Veränderungen des Konstriktions- und Dilatationsverhaltens der proximalen renalen Widerstandsgefäße gibt, die durch neonatale Sympathektomie induziert werden und die in einem physiologischen Zusammenhang mit der beobachteten Blutdrucksenkung stehen können.

Im Einzelnen wurde die Hypothese untersucht, dass neonatale Sympathektomie bei SHR möglicherweise zu einer oder mehreren der folgenden Funktionsänderungen der distalen Interlobararterien führt:

1. Geringere maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials
2. Verminderte Reaktivität gegenüber den physiologischen Vasokonstriktoren Noradrenalin, Vasopressin und Endothelin-1
3. Verminderte Empfindlichkeit der Vasokonstriktion gegenüber extrazellulärem Kalzium
4. Verbesserte endothelunabhängige oder endothelvermittelte Vasodilatation

2 Material und Methoden

2.1 Verwendete Versuchstiere

Die Versuche wurden an männlichen, 12 Wochen alten, spontan hypertensiven Ratten in Übereinstimmung mit den Regelungen des Tierschutzgesetzes und nach Genehmigung durch die zuständige Landesbehörde durchgeführt. Die für die Experimente verwendeten Tiere wurden im Institut für Physiologie gezüchtet. Männliche und weibliche Zuchttiere sind dazu von der DIMED GmbH, Schönwalde, Deutschland bezogen worden.

Die Tierhaltung erfolgte unter standardisierten Bedingungen bei einem konstanten Tag-Nacht-Rhythmus mit 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit. Die Tiere wurden in Kunststoffkäfigen auf Weichholzstreu gehalten und hatten Zugang zu Standardrattenfutter (Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) und Leitungswasser ad libitum.

2.2 Vorbehandlung der Tiere

Die Versuchstiere waren in drei Gruppen mit verschiedenen Vorbehandlungsschemata eingeteilt, welche im Folgenden beschrieben werden.

2.2.1 Neonatale Sympathektomie

Die Vorbehandlung der ersten Tiergruppe bestand in neonataler Sympathektomie durch Zerstörung der peripheren sympathischen Neurone mittels Guanethidin (30) und anschließender bilateraler Entfernung des Nebennierenmarks.

Die neugeborenen Ratten erhielten vom 5. bis zum 28. Lebenstag täglich 50 µg Guanethidin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) je Gramm Körpergewicht als intraperitoneale Injektion. Das Pharmakon wurde in isotoner Kochsalzlösung gelöst und auf den pH-Wert 7,4 eingestellt.

Im Alter von 28 Tagen wurden die Jungtiere von der Mutter abgesetzt und einen Tag später wurde das Nebennierenmark beidseits entfernt. Für diese Operation erhielten die Tiere eine Ethertropfnarkose (Diethylether, Otto Fischar GmbH & Co. KG, Saarbrücken). Die zu behandelnden Ratten wurden an den Flanken rasiert und in Seitenlage auf dem Operationstisch fixiert. Die rasierte Haut wurde desinfiziert (Softasept[®] N, B. Braun Melsungen AG, Deutschland), aufgeschnitten und von der Muskelfaszie mobilisiert. Anschließend erfolgte die Durchtrennung der Muskulatur. Mit Hilfe zweier Wattestäbchen ließ sich die Nebenniere stumpf darstellen. Ihre Rinde wurde mit einer Kanüle inzidiert. Durch leichten Druck mit zwei Watteträgern konnte das Nebennierenmark entfernt werden. Die Muskelschicht und die Haut wurden jeweils durch fortlaufende Nähte verschlossen und die Wunde mit Braurol[®] (B. Braun Melsungen AG, Deutschland) desinfiziert. Die Entnahme des zweiten Nebennierenmarks ist anschließend auf der Gegenseite in gleicher Weise durchgeführt worden. Nach dem Eingriff wurde das Tier in seinen Käfig zurückgesetzt, wo es aus der Narkose erwachte.

Mit der beschriebenen Vorgehensweise ließen sich der Blutdruck um rund 30 mmHg, die renale NoradrenalinKonzentration auf etwa 10 % und der Katecholamingehalt der Nebenniere auf ca. 1 % der Konzentrationen in Hydralazin-behandelten Kontrollen senken (19).

2.2.2 Scheinsympathektomie

Die scheinsympathektomierten Tiere erhielten vom 5. bis zum 28. Lebenstag intraperitoneale Injektionen isotoner Kochsalzlösung. Sie wurden ebenfalls am 28. Tag von der Mutter abgesetzt und am 29. Lebenstag scheinoperiert. Die Narkose und die Vorbereitung der Operation erfolgten wie unter 2.2.1 beschrieben. Der Eingriff bestand auf jeder Seite aus der Eröffnung der Haut und der Muskelschicht sowie der Darstellung der Nebennieren. Anschließend wurde die Wunde wieder schichtweise verschlossen und desinfiziert.

2.2.3 Scheinsympathektomie und Hydralazin-Behandlung

Die Tiere der dritten Vorbehandlungsgruppe wurden nach der gleichen Methode scheinsympathektomiert. Beginnend mit dem Absetzen am 28. Lebenstag erhielten sie außerdem täglich 50 µg Hydralazin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) pro Gramm Körpergewicht, das sie über das Trinkwasser aufnahmen.

Die Blutdrucksenkung, die durch die Hydralazin-Behandlung hervorgerufen wurde, entsprach der Sympathektomie-induzierten Verringerung des arteriellen Mitteldrucks (19).

2.3 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

2.3.1 Nierenentnahme

Die Myographie-Experimente wurden durchgeführt, wenn die Versuchstiere ein Alter von 12 Wochen erreicht hatten.

Zur Entnahme der Nieren erhielten die Ratten zunächst eine tiefe Ether-Anästhesie. Sie wurden in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert. Der Bauch der Tiere wurde rasiert und desinfiziert. Es folgten ein medianer Hautschnitt, das stumpfe Ablösen der Bauchhaut von der Muskelfaszie und die Durchtrennung der Linea alba. Mit Hilfe zweier Wattestäbchen wurde der Darm mobilisiert und auf den Thorax der Tiere verlagert. Nun konnte der Retroperitonealraum eingesehen und die rechte Niere stumpf aus dem umgebenden Fettgewebe präpariert werden. Mit zwei Pinzetten wurde die Nierenkapsel vorsichtig eröffnet und von der Niere getrennt. Arteria und Vena renalis sind danach abgeklemmt worden, um beide Gefäße sowie den Ureter hilusnah zu durchtrennen. Die Niere wurde entnommen und sofort in Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung (KRB) gelegt, die im Eisbad gekühlt wurde.

Anschließend erfolgte die Entnahme der linken Niere in gleicher Weise.

Die Tiere wurden durch die Blutung aus den Nierenarterien und eine Thorakotomie getötet.

2.3.2 Gefäßpräparation

Bei den untersuchten Gefäßen handelt es sich um distale Interlobararterien mit einem Durchmesser von 150 bis 200 μm , die den proximalen Widerstandsgefäßen der SHR-Niere entsprechen (49).

Um diese Gefäße darstellen zu können, wurden die Nieren zunächst längs durchgeschnitten und eine Hälfte wurde mit Kanülen in einer Petrischale befestigt,

welche ein Silikongel enthielt. Die Schale war so weit mit KRB-Lösung gefüllt, dass die Nierenhälfte vollständig bedeckt war. Unter dem Stereomikroskop wurde die Nierenpapille entfernt und die Aufzweigungen der Interlobararterien wurden ohne direkte Berührung der Gefäße freipräpariert. Im Bereich der dritten Verzweigungsstufe der Arteria renalis wurde ein ca. 3 bis 4 mm langes, abzweigungsfreies Gefäßsegment weitestgehend vom umgebenden Gewebe getrennt. Mit einer kleinen Schere ist die Gefäßwand eingeschnitten worden und durch die entstandene Öffnung wurde ein Edelstahldraht mit einem Durchmesser von 40 μm in das Gefäß geschoben, ohne mit seiner Spitze die Wand zu berühren. Danach wurden am distalen Ende des ausgewählten Segments die Arterie und der sich in ihr befindende Draht senkrecht zum Gefäßverlauf durchtrennt. Der Draht wurde von proximal weiter vorgeschoben und das Gefäß an der Stelle, an der er in die Arterie eingeführt worden war, komplett abgeschnitten.

Das Gefäßsegment befand sich somit vollständig auf dem Draht und war aus dem umgebenden Nierengewebe herausgelöst, so dass es entnommen und bis zum Einsetzen in den Myographen in gekühlter KRB-Lösung aufbewahrt werden konnte.

2.4 Small-Vessel-Myographie

Die Small-Vessel-Myographie ist ein Verfahren, mit dem die Vasokonstriktion und Vasodilatation isolierter Gefäßsegmente beurteilt werden kann. Unter isometrischen Bedingungen wird bei der Small-Vessel-Myographie die Wandspannung registriert, welche der untersuchte Gefäßabschnitt als Antwort auf die Applikation verschiedener Agonisten entwickelt.

2.4.1 Der Myograph

Die Untersuchung der Arteriensegmente erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit in einem Small-Vessel-Drahtmyographen (Model 410A, Danish Myo Technology A/S, Aarhus, Dänemark), wie er 1976 von Mulvany und Halpern erstmals beschrieben wurde (50). Bei diesem Myographie-Verfahren wird der isolierte Gefäßabschnitt mittels zweier Drähte aufgespannt, die zum einen mit einem mechanoelektrischen Signalwandler und zum anderen mit einer Mikrometerschraube fest durch Schrauben verbunden sind (Abb. 1).

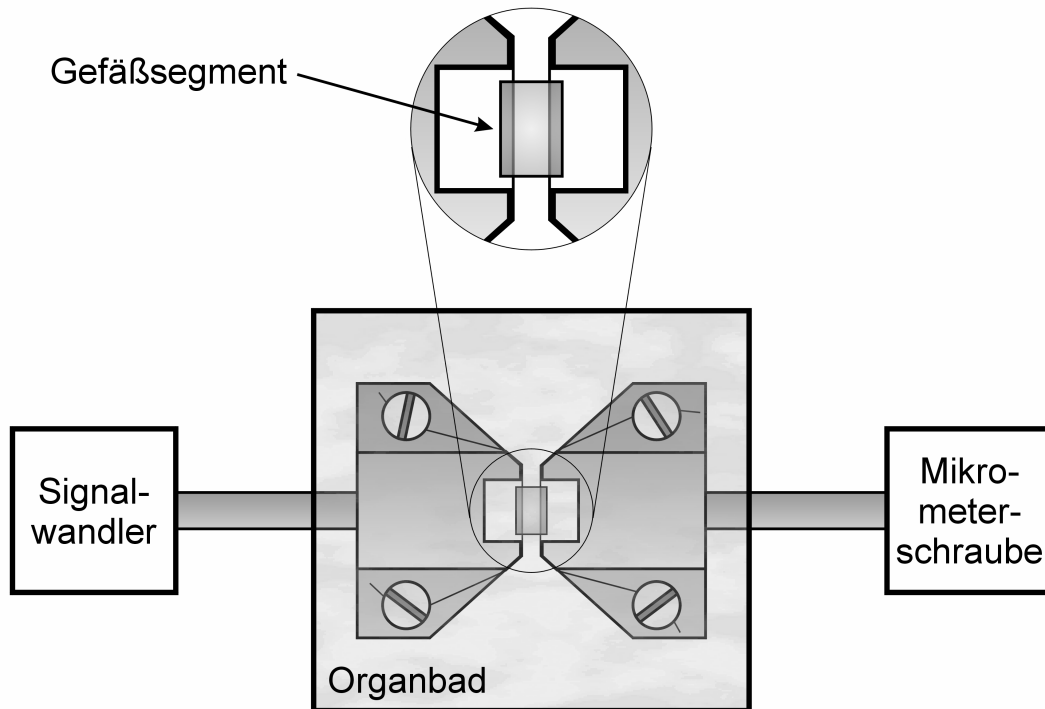


Abb. 1. Schemazeichnung eines Small-Vessel-Drahtmyographen.

Der für unsere Versuche benutzte Myograph besitzt zwei identische Messvorrichtungen, die es ermöglichen, zwei Gefäßsegmente gleichzeitig zu untersuchen. Die Kammer, in der sich die Gefäße befanden, war mit 10 ml KRB-Lösung gefüllt, deren Temperatur 37 °C betrug und die mit Carbogen (95 % Sauerstoff, 5 % Kohlendioxid) begast wurde. Die Badlösung konnte durch das Absaugen der alten und das anschließende Einfüllen neuer Flüssigkeit gewechselt werden.

Die von den Gefäßsegmenten entwickelte Wandspannung wurde mit Hilfe des Datenerfassungsprogramms Myodaq version 2.01 (Universität Maastricht, Maastricht, Niederlande), welches auf LabView (National Instruments, Austin, Texas, USA) basiert, als „active wall tension“ in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet. Diese aktive Wandspannung in mN/mm ergibt sich aus der am Signalwandler gemessenen Kraftänderung dividiert durch die zweifache Segmentlänge (50).

2.4.2 Vorbereitung der Myographie

Nach dem Vorheizen und Kalibrieren des Myographen wurden die Arterien-segmente eingesetzt. Dazu wurde unter dem Stereomikroskop zunächst der Draht mit dem sich auf ihm befindenden Gefäßabschnitt an dem Block befestigt, der mit dem Signalwandler verbunden ist. Anschließend wurde ein zweites Drahtstück gleichen Durchmessers durch das Arterienlumen geschoben und an dem zweiten Block fixiert. Die beiden Drähte lagen nun straff in einer Ebene direkt nebeneinander, so dass das Gefäßsegment befestigt, aber entspannt war. Seine Länge wurde mit Hilfe einer geeichten Okularstrichplatte ausgemessen.

Es folgte eine Äquilibrationszeit von 30 Minuten, wobei nach 15 Minuten die Badlösung erneuert wurde.

Vor Beginn der eigentlichen Untersuchung wurde der Vordehnungszustand des Gefäßes eingestellt, bei dem die größte Kontraktionsantwort der glatten Muskelzellen erreicht werden kann. Dies erfolgte durch schrittweise Erhöhung des Abstandes zwischen den Drähten mit Hilfe der Mikrometerschraube. Nach jedem Dehnungsschritt wurde die Badlösung gegen kaliumreiche Lösung (125 mmol/l Kaliumchlorid) ausgetauscht. Dadurch wurde das Membranpotential der Muskelzellen depolarisiert und eine Vasokonstriktion erzeugt. Der optimale Vordehnungszustand, bei dem die größte Kraftentwicklung auf diese depolarisierende Reizung entstehen kann, wurde in fünf bis sechs Schritten ermittelt. Die dabei registrierte maximale Änderung der Wandspannung diente als Bezugswert für die Ergebnisse der folgenden Experimente. Die Spannungsänderungen, die durch vasokonstriktorische Agonisten erzeugt wurden, werden im Weiteren als prozentualer Anteil dieses Bezugswertes angegeben.

Nach jedem Depolarisationsschritt fand ein dreimaliger Austausch der Badlösung gegen frische KRB-Lösung statt und nach Erreichen des Ausgangstonus wurde jeweils eine 5-minütige Pause eingehalten. Im Anschluss an den letzten Schritt folgte eine Pause von 30 Minuten mit einem Badwechsel nach der Hälfte der Zeit.

Anschließend wurde die Intaktheit des Endothels anhand der endothelabhängigen Vasodilatation mit Acetylcholin (10^{-6} mol/l) nach Vorkontraktion mit 10^{-6} mol/l des α_1 -Adrenozeptor-Agonisten Phenylephrin qualitativ getestet.

Die Agonistenlösungen wurden hierbei und in allen Versuchen dem Organbad zugesetzt. Das Pipettivolumen betrug jeweils 10 μ l.

Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Badlösung.

2.4.3 Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials

Zur Ermittlung des Kontraktionsverhaltens auf depolarisierende Reizung wurde die Badlösung gegen kaliumreiche Lösung (125 mmol/l Kaliumchlorid) ausgetauscht, worauf die Gefäßsegmente mit einer Zunahme ihrer Wandspannung reagierten. Nach Überschreiten des Spannungsmaximums wurde die Kammer dreimal mit Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung gespült.

Nach einer 15-minütigen Pause wurde das gleiche Experiment unter Zugabe des nichtselektiven α -Adrenorezeptor-Blockers Phentolamin (10^{-6} mol/l) durchgeführt, um einen möglichen Einfluss des durch die Depolarisation aus perivaskulären Plexus freigesetzten Noradrenalins auf die Vasokonstriktion zu hemmen. In Vorversuchen konnten mit der verwendeten Phentolaminkonzentration kontraktile Antworten der Gefäßabschnitte auf 10^{-5} mol/l Noradrenalin vollständig blockiert werden.

Die Depolarisierung des Membranpotentials mit und ohne den Zusatz von Phentolamin wurde von Tag zu Tag in wechselnder Reihenfolge durchgeführt, um zeitabhängige Effekte auszuschließen.

2.4.4 Agonist-induzierte Vasokonstriktion

Die Untersuchung der Sensitivität gegenüber den physiologischen Vasokonstriktoren Noradrenalin, Vasopressin und Endothelin-1 erfolgte durch Erhebung von Konzentrations-Wirkungs-Kurven. Die jeweilige Substanz wurde dazu kumulativ in halblogarithmisch ansteigenden Konzentrationsschritten in das Organbad pipettiert.

Die Konzentrationen der Agonisten in der Badlösung wurden nacheinander für Noradrenalin von 10^{-8} auf 10^{-5} mol/l, für Arginin-Vasopressin von 10^{-10} auf 3×10^{-8} mol/l und für Endothelin-1 von 10^{-9} auf 3×10^{-7} mol/l gesteigert. Die nächsthöhere Konzentrationsstufe folgte immer dann, wenn die von dem jeweiligen Gefäßsegment erzeugte Spannung ein Plateau erreicht hatte. Das bedeutet für Noradrenalin nach 2 Minuten, für Arginin-Vasopressin nach 3 Minuten und für Endothelin-1 nach 9 Minuten.

Auf die gleiche Weise wurden auch Konzentrations-Wirkungs-Kurven für den α_1 -Adrenorezeptor-Agonisten Phenylephrin in Konzentrationsschritten von 10^{-8} bis 10^{-5} mol/l mit Pipettierintervallen von 2 Minuten aufgenommen.

2.4.5 Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium

Die Sensitivität gegenüber extrazellulärem Kalzium wurde durch Vasokonstriktion mit der maximal wirksamen Noradrenalin-Konzentration 10^{-5} mol/l bei variiertem Kalziumgehalt der Badlösung untersucht.

Die Kalziumkonzentrationen des Organbades betragen nacheinander

- 0 mol/l mit Zusatz von 1 mmol/l des Komplexbildners Ethylenglycol-bis(2-aminoethylether)-N,N'-tetraessigsäure (EGTA)
- 0 mol/l ohne EGTA-Zusatz
- 2,5 $\mu\text{mol/l}$
- 25 $\mu\text{mol/l}$
- 250 $\mu\text{mol/l}$
- 2,5 mmol/l

Nach dreifachem Badwechsel mit der Lösung der jeweiligen Kalziumkonzentration und zwei Minuten Äquilibrierungszeit wurden die Gefäßmuskelzellen durch Noradrenalin-Gabe (10^{-5} mol/l) maximal kontrahiert. Nach dem Waschen wurde vor dem Versuch mit der nächsthöheren Kalziumkonzentration eine 20-minütige Pause eingehalten, während der sich die Gefäße in normaler KRB-Lösung (2,5 mmol/l Kalziumchlorid) befanden.

Weiterhin wurde die Reaktion der Gefäße auf den Aktivator der L-Typ-Kalziumkanäle S(-)-BayK8644 getestet. Dazu sind kumulative Konzentrations-Wirkungskurven mit sechs halblogarithmisch ansteigenden S(-)-BayK8644-Konzentrationen von 10^{-8} bis 3×10^{-6} mol/l erstellt worden. Die Zugabe der Substanz erfolgte jeweils nach 3-minütigen Zeitintervallen.

2.4.6 Endothelunabhängige und endothelvermittelte Vasodilatation

Um Experimente zur Vasodilatation durchführen zu können, wurden die Arteriensegmente zunächst mit Phenylephrin und in späteren Versuchen mit Arginin-Vasopressin vorkontrahiert. Zur Ermittlung der Konzentrationen der beiden Vasokonstriktoren, bei welchen das gewünschte, etwa halbmaximale Vorkontraktionsniveau zu erwarten ist, sind in einem vorangehenden Versuch

Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die zwei Agonisten aufgenommen worden (siehe 2.4.4). Daraufhin wurden 5×10^{-7} mol/l Phenylephrin bzw. Vasopressinkonzentrationen zwischen 5×10^{-10} und 3×10^{-9} mol/l zur Vorkontraktion verwendet.

Die endothelunabhängige Vasodilatation wurde durch das Erstellen kumulativer Konzentrations-Wirkungs-Kurven für den Stickstoffmonoxid-donor Nitroprussidnatrium beurteilt. Nach Erreichen eines Plateaus der Vorkontraktionsspannung erfolgte die Zugabe des Vasodilatators alle 2 Minuten, wobei die Nitroprussidnatriumkonzentrationen nacheinander in sieben halblogarithmisch zunehmenden Stufen 10^{-9} bis 10^{-6} mol/l betragen.

Die Untersuchung der endothelvermittelten Vasodilatation wurde mit Acetylcholin in sechs halblogarithmisch größer werdenden Konzentrationsschritten von 10^{-8} bis 3×10^{-6} mol/l durchgeführt, die der Badlösung alle 2 Minuten zugegeben wurden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde dieses Experiment mit 10^{-8} bis 10^{-5} mol/l Acetylcholin wiederholt. Anschließend erfolgte ein dreimaliger Austausch des Organbades gegen frische KRB-Lösung. Nachdem die Gefäße wieder ihre Ausgangsspannung erreicht hatten, wurde der Stickstoffmonoxidsynthase-Inhibitor N-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME, 3×10^{-4} mol/l) zugesetzt. Nach 25 Minuten (mit Badwechsel und erneuter L-NAME-Gabe nach 10 Minuten) erfolgte die nochmalige Erfassung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin.

Ein dritter Durchgang fand in gleicher Weise statt, wobei neben L-NAME auch der Zyklooxygenase-Hemmer Indomethacin in der Konzentration 3×10^{-6} mol/l zum Organbad gegeben wurden.

Indomethacin war in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Zum Ausschluss von Effekten dieses Lösungsvermittlers auf den Gefäßmuskeltonus wurden in einem Kontrollversuch außerdem Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin mit gleichzeitigem L-NAME- und DMSO-Zusatz, ohne Indomethacin, erstellt.

Weiterhin wurden Zeitkontrollexperimente durchgeführt, in denen die Vasodilatation drei Mal nacheinander unter Einhaltung der beschriebenen Pausen aber

ohne die Gabe von Inhibitoren erfolgte. Eventuelle Einflüsse der Versuchsdauer auf die Sensitivität der Gefäßsegmente gegenüber Acetylcholin konnten auf diese Art nachvollzogen werden.

2.5 Protokolle der Myographie-Experimente

Experiment 1:

- Depolarisation mit kaliumreicher Badlösung
- Depolarisation mit kaliumreicher Badlösung unter Zusatz von Phentolamin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Phenylephrin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Noradrenalin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Arginin-Vasopressin

Experiment 2:

- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Endothelin-1

Experiment 3:

- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Phenylephrin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Nitroprussidnatrium nach Vorkontraktion mit Phenylephrin
- Kalziumsensitivität der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion

Experiment 4:

- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Nitroprussidnatrium nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für S-(-)-BayK8644

Experiment 5:

- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin und Inkubation mit L-NAME
- Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin und Inkubation mit L-NAME und Indomethacin

2.6 Verwendete Pharmaka

Noradrenalin, Arginin-Vasopressin, Endothelin-1, S(-)-BayK8644, Acetylcholin, Nitroprussidnatrium, N-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME), Indomethacin, Dimethylsulfoxid (DMSO) und Ethylenglycol-bis(2-aminoethylether)-N,N'-tetraessigsäure (EGTA) wurden von der Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland bezogen.

Als Lösungsmittel dienten DMSO für Indomethacin und isotone Kochsalzlösung für die anderen Substanzen.

Die Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung wurde täglich aus Stammlösungen hergestellt, mit Carbogen begast, im Wasserbad auf 37 °C erwärmt und auf den pH-Wert 7,4 eingestellt.

Sie setzte sich wie folgt zusammen:

NaCl	118,5 mmol/l
KCl	4,7 mmol/l
MgSO ₄ • 7H ₂ O	1,2 mmol/l
KH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l
NaHCO ₃	25,0 mmol/l
CaCl ₂ • 2H ₂ O	2,5 mmol/l
Glukose	5,6 mmol/l

Kaliumreiche Lösung enthielt 0 mmol/l Natriumchlorid und 125 mmol/l Kaliumchlorid. Die übrigen Konzentrationen entsprechen der Standard-KRB-Lösung.

Die für die Herstellung der Krebs-Ringer-Bikarbonat-Lösung verwendeten Substanzen wurden von der Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland (MgSO₄ • 7H₂O), von der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland (CaCl₂ • 2H₂O, NaCl, KH₂PO₄, NaHCO₃) und von der Serva Feinbiochemie GmbH, Heidelberg, Deutschland (KCl, alpha-D-Glucose) erworben.

2.7 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Resultate erfolgte mit Hilfe des Programms Myodata version 2.02 (Universität Maastricht, Maastricht, Niederlande).

Die Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die Agonist-induzierte Vasokonstriktion und Vasodilatation sowie für die Aktivierung der L-Typ-Kalziumkanäle konnten durch sigmoidale Funktionen beschrieben werden. Dazu wurde der Levenberg-Marquardt-Algorithmus genutzt, um nach der Methode der kleinsten quadratischen Abweichungen eine logistische Funktion mit vier Parametern an die Datenpunkte anzupassen.

Die Gleichung der logistischen Funktion lautet:

$$Y = B + \frac{T - B}{1 + 10^{(\lg C - X) \cdot H}}$$

- X – Konzentration des Agonisten
- Y – Spannungsänderung
- B – Bottom, minimale Wandspannung
- T – Top, maximale Wandspannung
- C – Median der verwendeten Konzentrationsstufen des Agonisten
- H – Hill Slope, Anstieg der linearisierten Konzentrations-Wirkungs-Kurve

Für die statistischen Vergleiche wurden bei allen Versuchen zur Vasokonstriktion die Maxima der Konzentrations-Wirkungs-Kurve und der pD_2 -Wert betrachtet. Die Maxima wurden dazu als prozentualer Anteil der Depolarisations-induzierten Wandspannung angegeben. Der pD_2 -Wert ist der negative dekadische Logarithmus der EC_{50} , also der Konzentration des Agonisten, bei der eine halbmaximale Gefäßantwort beobachtet wird. Er ist ein Maß für die Sensitivität eines Arterien-segments gegenüber der jeweiligen Substanz.

Für die Vasodilatation mit Acetylcholin und Nitroprussidnatrium wurden die pD_2 -Werte sowie die Minima der Konzentrations-Wirkungs-Kurven zwischen den

Vorbehandlungsgruppen verglichen. Die Größe der Minima wurde dazu auf die jeweilige Vorkontraktionsspannung bezogen und als deren prozentualer Anteil ausgedrückt.

Die Konzentrationswirkungskurven der Experimentes 5 zeigten bei Zusatz von L-NAME bzw. L-NAME und Indomethacin keinen sigmoidalen Verlauf. Deshalb wurden anstatt der Minima und pD_2 -Werte die Flächeninhalte unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven (AUC, „area under the curve“) für die statistische Auswertung herangezogen.

Der statistische Vergleich der drei Behandlungsgruppen erfolgte durch Einweg- und Zweiweg-Varianzanalysen sowie den χ^2 -Test.

Einweg-Varianzanalysen wurden bezüglich folgender Parameter durchgeführt:

- Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials
- Maxima bzw. Minima und pD_2 -Werte der Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin, Vasopressin, Endothelin-1, Phenylephrin, Nitroprussidnatrium, Acetylcholin und S(-)-BayK8644
- mit Vasopressin und Phenylephrin erzeugte Vorkonstriktionsspannungen
- Minimum, pD_2 -Wert und AUC der Zeitkontrollexperimente zur endothel-abhängigen Vasodilatation

Für die Versuche zur Vasodilatation im fünften Experiment wurde eine Zweiweg-Varianzanalyse für die Faktoren *Vorbehandlung* und *zugesetzter Inhibitor* gerechnet. Anschließend wurde der Einzelgruppenvergleich mit dem Student-Newman-Keuls-Test durchgeführt.

Der Vergleich der Vorkontraktion in der 5. Versuchsreihe und der Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials mit und ohne Phentolamin-Zusatz erfolgte ebenfalls mit der Zweiweg-Varianzanalyse für die Faktoren *Vorbehandlung* und *zugesetzter Inhibitor*.

Die Versuche zur Kalziumsensitivität wurden mit einer Zweiweg-Varianzanalyse für wiederholte Messungen bezüglich der Faktoren *Vorbehandlung* und *Kalziumkonzentration* gefolgt vom Student-Newman-Keuls-Test ausgewertet.

In dem Experiment mit S(-)-BayK8644 zeigte nur ein Teil der untersuchten Gefäßsegmente dosisabhängige Reaktionen auf den Aktivator der L-Typ-Kalziumkanäle. Die Verteilung der S(-)-BayK8644-responsiven und der nichtresponsiven Arterienabschnitten in den einzelnen Vorbehandlungsgruppen wurde durch einen χ^2 -Test verglichen.

Für alle statistischen Tests wurde als Signifikanzniveau $p < 0,05$ gewählt.

Im Folgenden werden alle Daten als Gruppenmittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials

Auf die depolarisierende Reizung mit kaliumreicher Lösung reagierten die untersuchten Segmente der distalen Interlobararterien spontan hypertensiver Ratten mit einer Zunahme ihrer Wandspannung.

Beim Vergleich der maximalen Spannungsänderung in der sympathektomierten (SYX), in der schein sympathektomierten und Hydralazin-behandelten (HRDL) sowie in der ausschließlich schein sympathektomierten (SHAM) Tiergruppe traten keine statistisch signifikanten Unterschiede auf (Abb. 2).

Gleiches gilt für die Spannungsänderung, die durch die Depolarisation des Membranpotentials unter Zugabe des α -Adrenozeptorantagonisten Phentolamin induziert wurde. Die Gefäßsegmente aller Gruppen zeigten eine ähnliche maximale Zunahme der Wandspannung.

Ein statistisch signifikanter Effekt der α -Rezeptor-Blockade auf die Vasokonstriktion war in keiner Vorbehandlungsgruppe nachweisbar (Abb. 2).

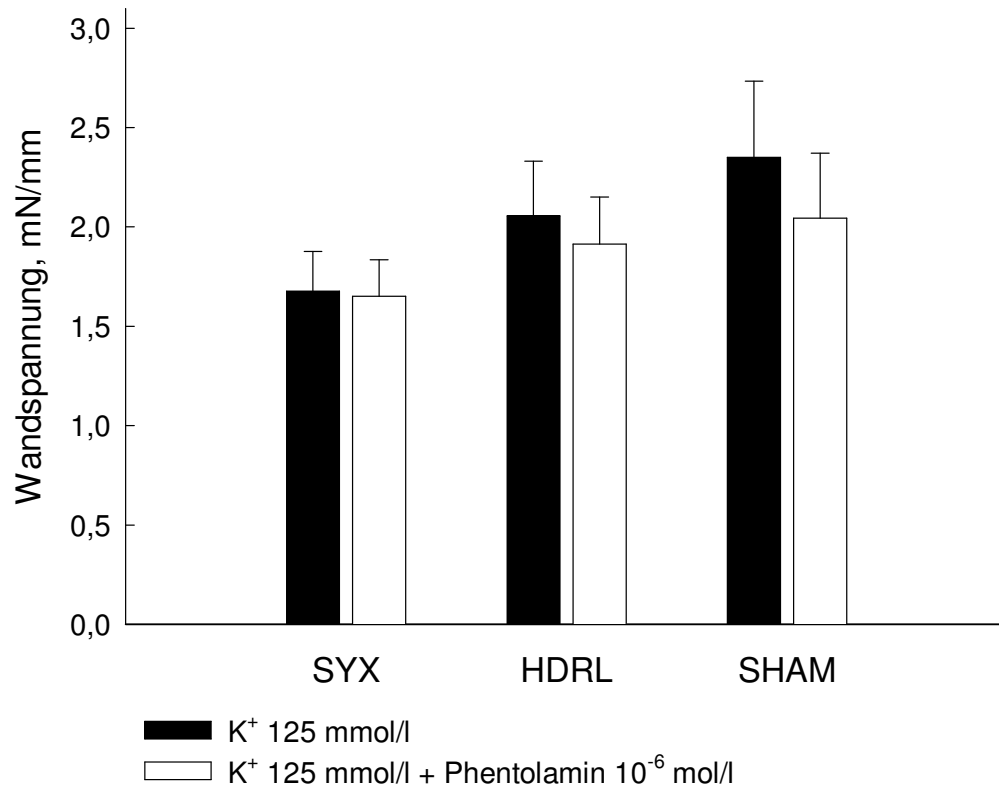


Abb. 2. Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials, n = 9 in allen Vorbehandlungsgruppen.

SYX – sympathektomierte SHR

HDRL – schein sympathektomierte und Hydralazin-behandelte SHR

SHAM – schein sympathektomierte SHR

Neben dem Experiment 1 beinhalteten auch alle weiteren Experimente eine Kontraktionsauslösung durch die Depolarisation des Membranpotentials mit kaliumreicher Badlösung. So wurde im Vorfeld sämtlicher Versuche der optimale Vordehnungszustand der Gefäßsegmente mit Hilfe der Depolarisations-induzierten Vasokonstriktion in mehreren Dehnungsstufen ermittelt. Vor dem Experiment 5 mit 14 bzw. 15 Arterienabschnitten pro Tiergruppe wurde dabei eine maximale Änderung der Wandspannung von $1,81 \pm 0,17$ mN/mm nach Sympathektomie, $2,02 \pm 0,18$ mN/mm nach Hydralazin-Behandlung und $1,98 \pm 0,31$ mN/mm nach Scheinbehandlung gemessen. Zwischen diesen Gefäßantworten bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Der Vergleich der Spannungsänderung, die bei optimaler Vordehnung im Rahmen der Vorbereitung der Gefäßsegmente beobachtet wurde, bestätigt damit die Ergebnisse des ersten Experiments. Auch bei einer größeren Versuchsanzahl war kein Zusammenhang zwischen der Vorbehandlung und der maximalen Spannungsentwicklung nach Depolarisation des Membranpotentials festzustellen.

3.2 Agonist-induzierte Vasokonstriktion

Für alle verwendeten Vasokonstriktoren wurden Konzentrations-Wirkungs-Kurven durch die kumulative Gabe der Agonisten in die Badlösung erstellt. Die Gefäßsegmente reagierten mit einer Zunahme ihrer Wandspannung. Hatte diese ein Plateau erreicht, wurde der nächste Konzentrationsschritt des jeweiligen Pharmakons zugegeben. Für die Noradrenalin-induzierte Vasokonstriktion ergaben sich daraus beispielsweise 2-minütige Pipettierintervalle (Abb. 3).

Die Wandspannung der Gefäßsegmente („active wall tension“) wurde in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet.

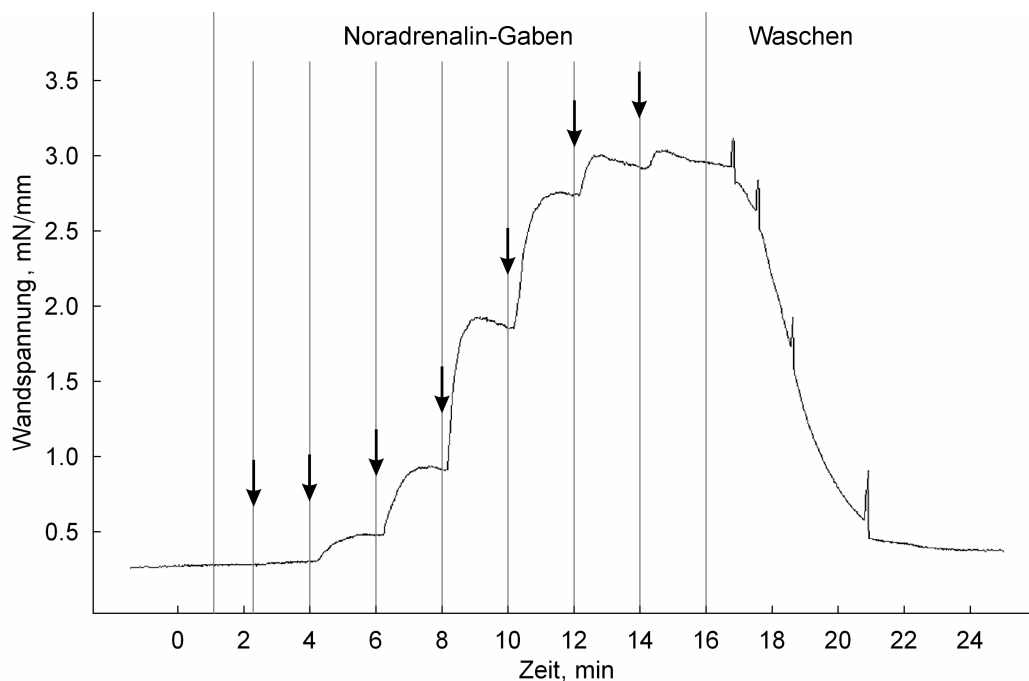


Abb. 3. Originalaufnahme einer kumulativen Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Noradrenalin. Es wurde ein Gefäßsegment einer distalen Interlobararterie eines sympathektomierten Tieres untersucht. Die sieben Noradrenalin-Gaben (10^{-8} bis 10^{-5} mol/l) sind durch Pfeile gekennzeichnet.

3.2.1 Noradrenalin

Die Gefäßsegmente aller Vorbehandlungsgruppen reagierten auf Noradrenalin mit einer konzentrationsabhängigen Vasokonstriktion.

Bezüglich der dabei beobachteten maximalen Spannungsänderung verhielten sich die Arterien aller untersuchten Tiere ähnlich. Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Noradrenalinsensitivität war bei den Arteriensegmenten der sympathektomierten Tiere ($pD_2 = 6,93 \pm 0,21$) signifikant größer als in den Kontrollgruppen (HDRL: $pD_2 = 6,41 \pm 0,06$; SHAM: $pD_2 = 6,21 \pm 0,20$). Die Konzentrations-Wirkungs-Kurve für die Gefäße der sympathektomierten SHR ist dadurch insgesamt nach links in Richtung kleinerer NoradrenalinKonzentrationen verschoben (Abb. 4).

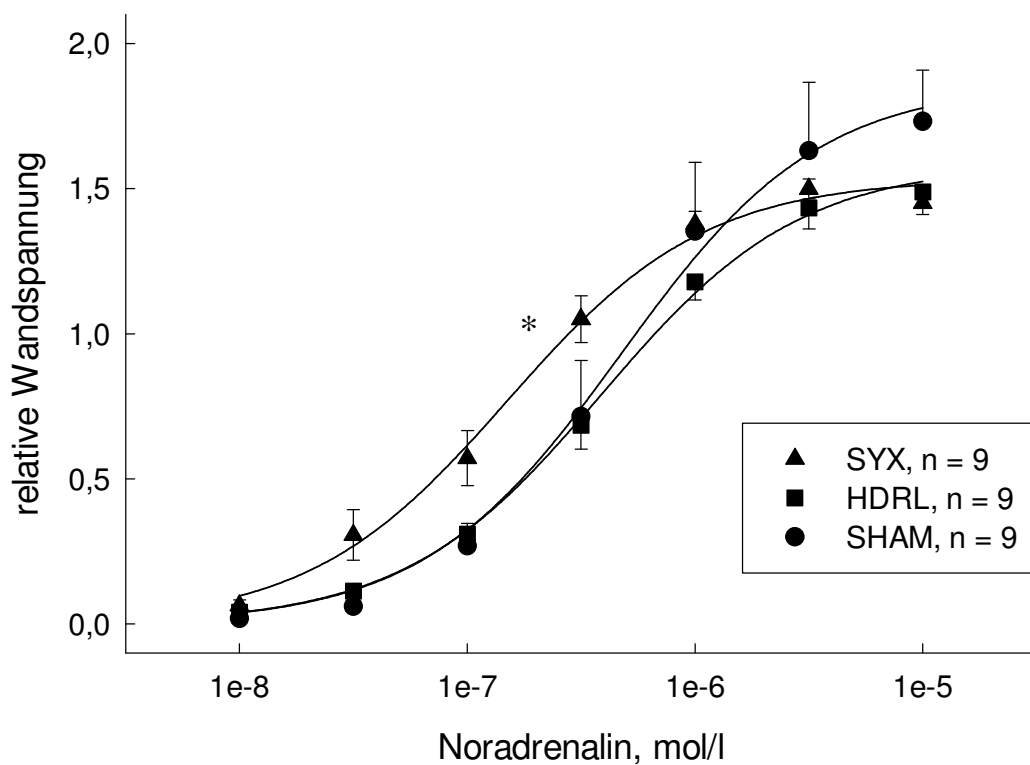


Abb. 4. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin.
* signifikant größerer pD_2 für SYX vs. HDRL und SHAM, $p < 0,05$

3.2.2 Vasopressin

Mit Vasopressinkonzentrationen von 10^{-10} bis 3×10^{-8} mol/l konnte in allen Vorbehandlungsgruppen eine ähnlich verlaufende Wandspannungsänderung ausgelöst werden. Zwischen den drei Konzentrations-Wirkungs-Kurven bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich ihres Maximums und pD_2 -Werts (Abb. 5).

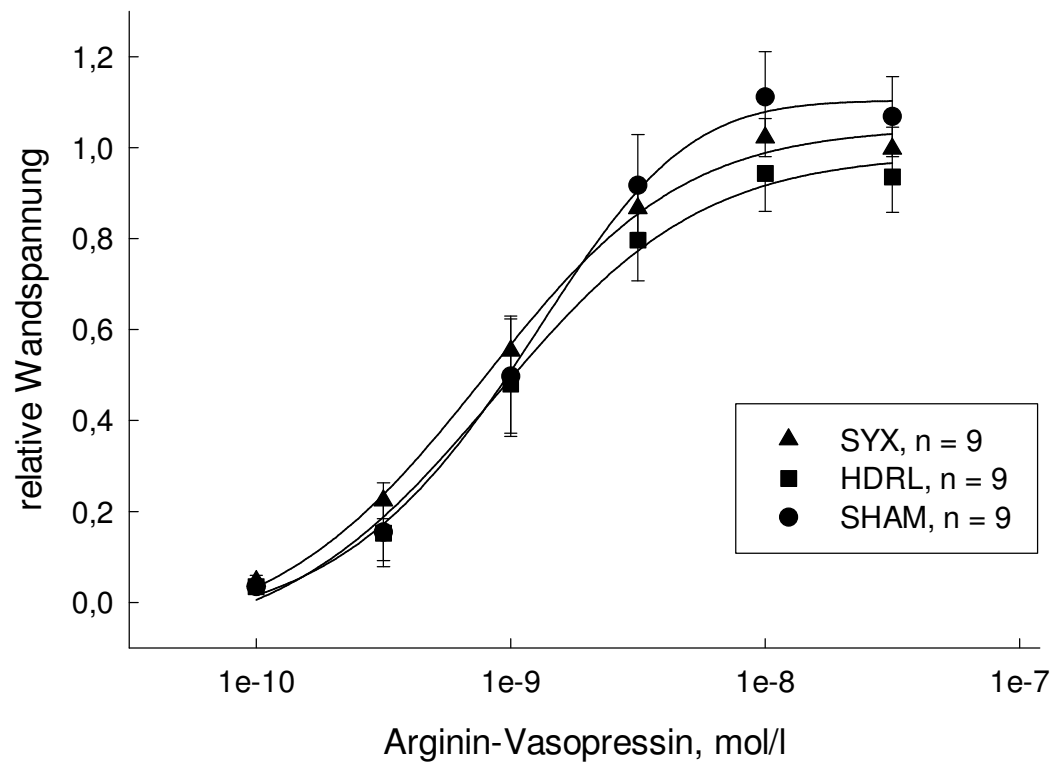


Abb. 5. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Arginin-Vasopressin.

3.2.3 Endothelin-1

Nach der kumulativen Gabe von Endothelin-1 entwickelten die Gefäßsegmente der sympathektomierten Tiere eine Maximalspannung, die statistisch signifikant größer als in der scheinbehandelten Gruppe war ($1,37 \pm 0,07$ versus $1,14 \pm 0,09$, $p < 0,05$). Das Spannungsmaximum, das an den Arterien der Hydralazin-behandelten SHR beobachtet wurde, unterschied sich von keiner der anderen Vorbehandlungsgruppen signifikant.

Der pD_2 -Wert als Maß für die Sensitivität gegenüber Endothelin-1 war in den drei Tiergruppen etwa gleich groß (Abb. 6).

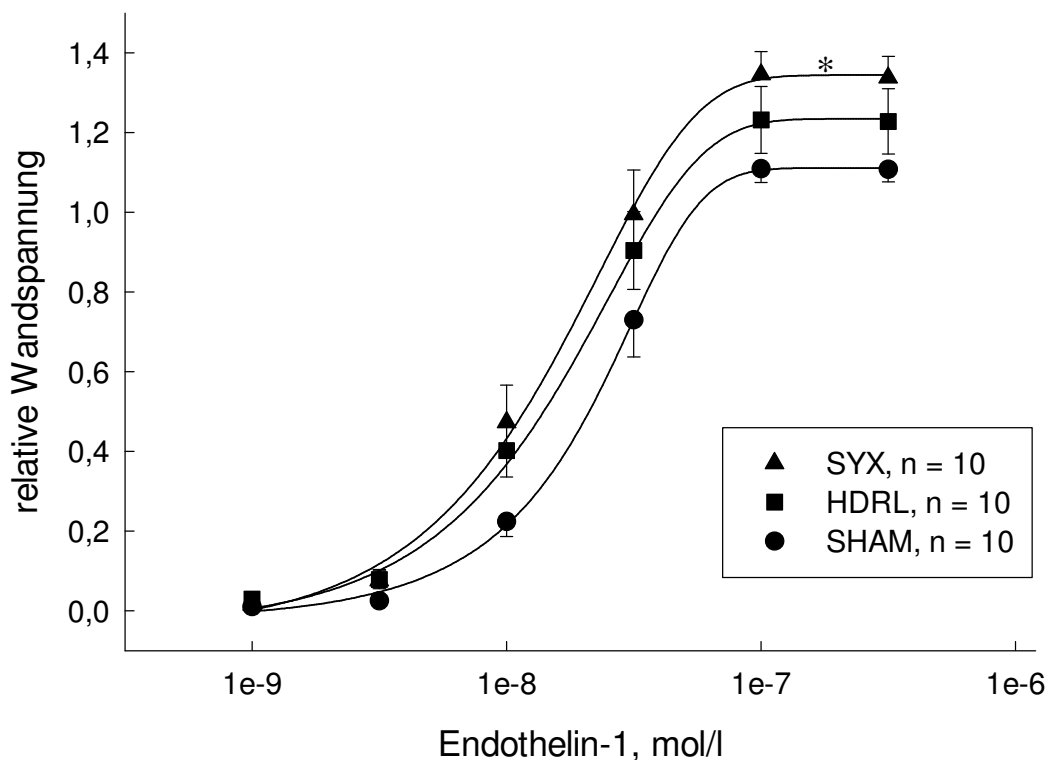


Abb. 6. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Endothelin-1.

* signifikant größere Maximalspannung für SYX vs. SHAM, $p < 0,05$

3.3 Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium

3.3.1 Kalziumsensitivität der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion

Die Stimulation der Gefäßsegmente mit der maximal wirksamen Noradrenalin-konzentration von 10^{-5} mol/l bewirkte bei jedem untersuchten Kalziumgehalt des Organbades eine deutliche Zunahme der Wandspannung. An den Arterien der sympathektomierten SHR wurde bei allen extrazellulären Kalziumkonzentrationen eine statistisch signifikant größere Spannungsänderung beobachtet als an den Gefäßabschnitten Hydralazin-behandelter Tiere.

Im Vergleich zu der scheinbehandelten Gruppe war die Wandspannung nach Sympathektomie bei einer Kalziumkonzentration von $2,5 \mu\text{mol/l}$ statistisch signifikant vergrößert. Bei allen anderen Kalziumkonzentrationen des Organbades ähnelte die maximale Spannungsentwicklung, die an den Gefäßen scheinbehandelter Tiere beobachtet wurde, der Spannungsänderung in den beiden anderen Vorbehandlungsgruppen (Abb. 7).

Statistisch signifikante Interaktionen zwischen den Faktoren *Vorbehandlung* und *extrazelluläre Kalziumkonzentration*, die auf eine unterschiedliche Kalziumsensitivität hinweisen würden, bestanden nicht.

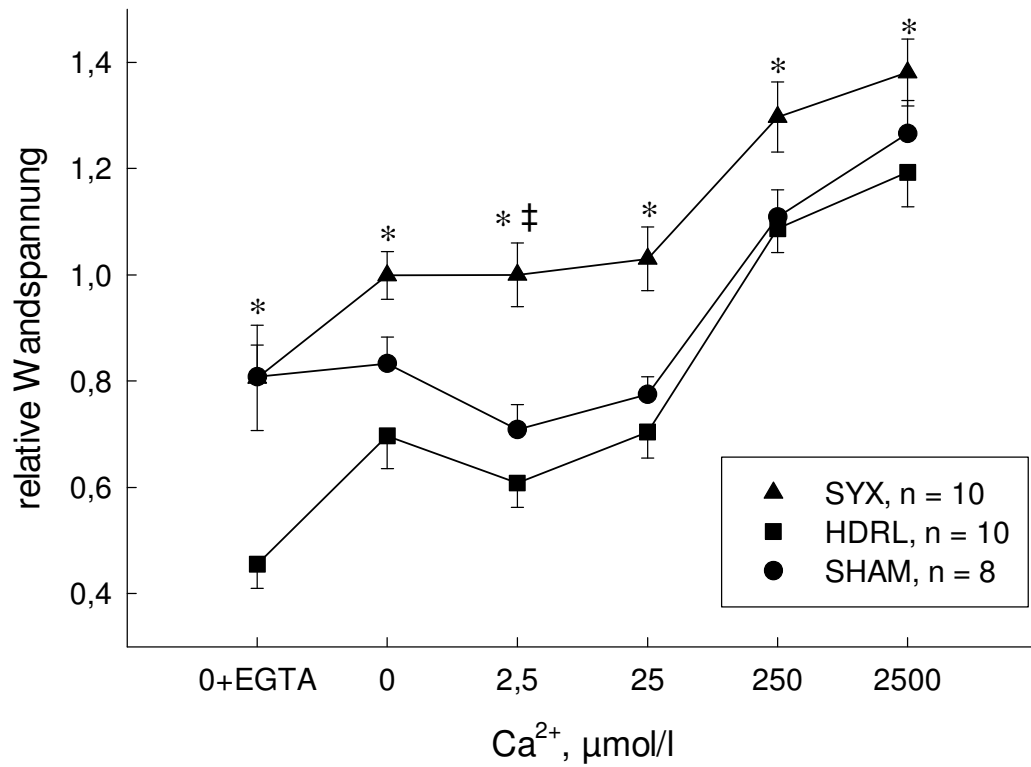


Abb. 7. Vasokonstriktion mit 10^{-5} mol/l Noradrenalin bei steigender Kalziumkonzentration der Badlösung.

* signifikanter Unterschied SYX vs. HDRL, $p < 0,05$

‡ signifikanter Unterschied SYX vs. SHAM, $p < 0,05$

3.3.2 Aktivierung von L-Typ-Kalziumkanälen

Auf den Aktivator der L-Typ-Kalziumkanäle S(-)-BayK8644 reagierten die meisten Gefäßsegmente mit einer aktiven Spannungsentwicklung.

Im Einzelnen zeigten sich

nach Sympathektomie	bei 8 von 10 Tieren,
nach Hydralazin-Behandlung	bei 6 von 8 Tieren,
nach Scheinbehandlung	bei 4 von 8 Tieren

konzentrationsabhängige, konstriktorische Gefäßantworten auf S(-)-BayK8644.

Mit 80 %, 75 % und 50 % haben in allen Vorbehandlungsgruppen ähnlich viele Arteriensegmente auf S(-)-BayK8644 reagiert. Im χ^2 -Test waren bezüglich dieses prozentualen Anteils keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Vorbehandlungsschemata festzustellen.

Die Empfindlichkeit gegenüber dem Kalziumkanal-Öffner, ausgedrückt durch den pD_2 -Wert, war bei den sympathektomierten ($7,25 \pm 0,10$) und Hydralazin-behandelten Tieren ($7,11 \pm 0,03$) größer als nach Scheinbehandlung ($6,82 \pm 0,03$; $p < 0,05$).

Die Unterschiede zwischen den Spannungsmaxima der drei Gruppen waren statistisch nicht signifikant ($p = 0,148$; Abb. 8).

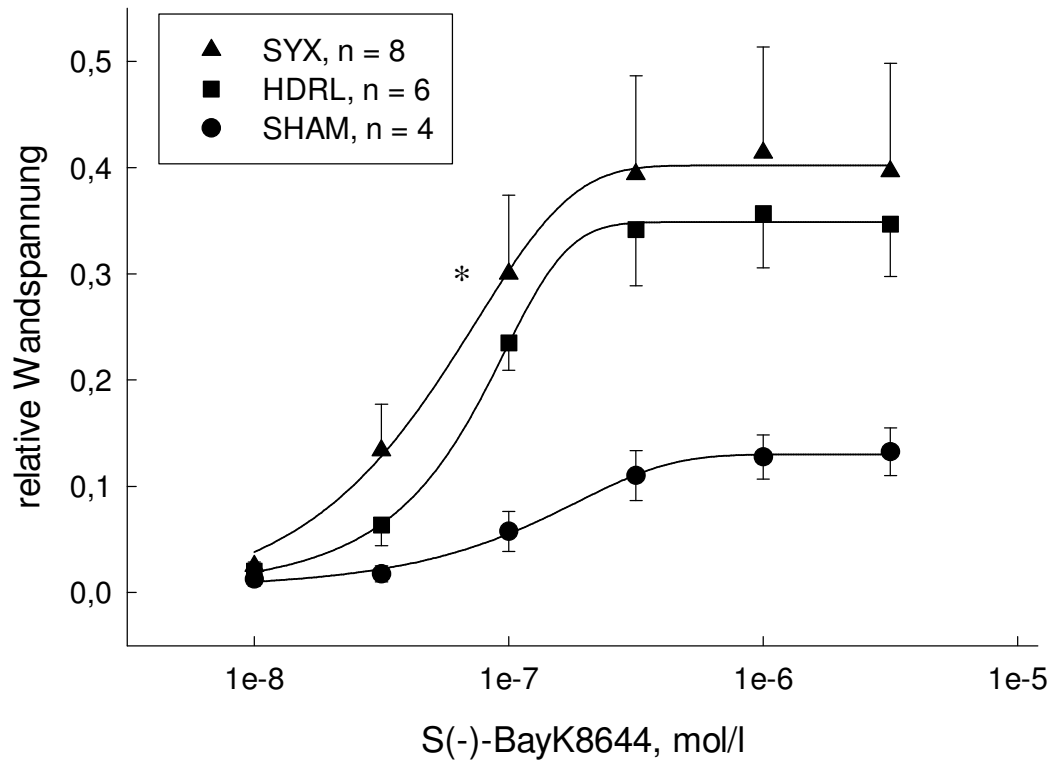


Abb. 8. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für S(-)-BayK8644.
 * signifikant größerer pD_2 für SYX und HDRL vs. SHAM, $p < 0,05$

3.4 Vasodilatation

Für die vasodilatatorisch wirkenden Substanzen Nitroprussidnatrium und Acetylcholin wurden ebenfalls kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven erstellt, wozu der jeweilige Agonist dem Organbad in mehreren Konzentrationsschritten zugesetzt wurde.

Um Untersuchungen zur Vasodilatation durchführen zu können, mussten die Arterienabschnitte vorkontrahiert werden. Hierfür diente im unten abgebildeten Beispiel Vasopressin (Abb. 9).

Die Wandspannung der untersuchten Gefäßsegmente wurde wiederum zeitabhängig erfasst.

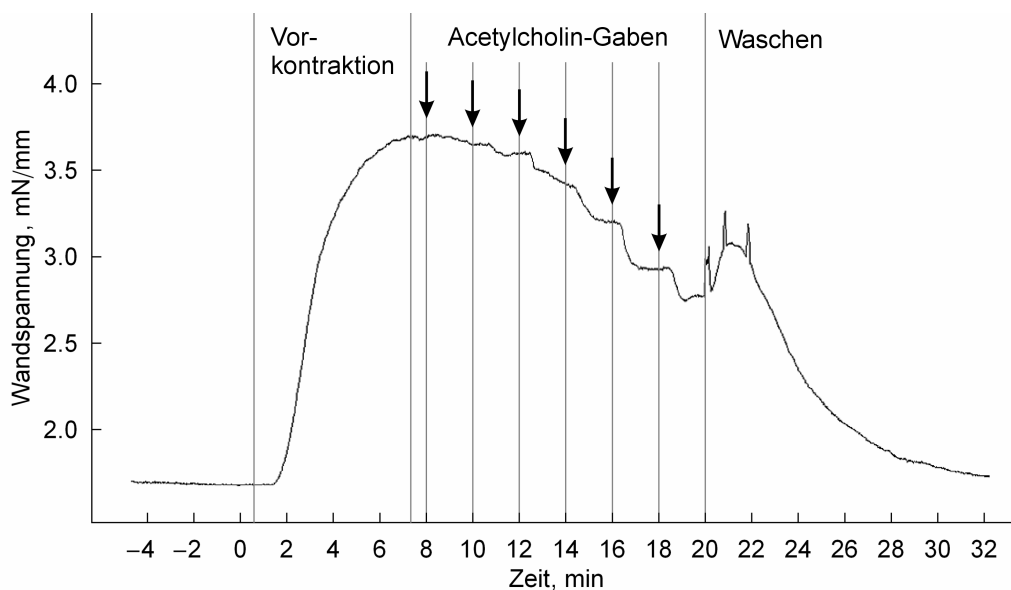


Abb. 9. Originalaufnahme einer kumulativen Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin. Es wurde ein Gefäßsegment einer distalen Interlobararterie eines Hydralazin-behandelten Tieres untersucht. Nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin und Erreichen eines Plateaus der Wandspannung folgten sechs Acetylcholin-Gaben.

3.4.1 Vorkontraktion

Für die Versuche zur Vasodilatation wurde zunächst der vasokonstriktorisch wirkende α_1 -Adrenozeptor-Agonist Phenylephrin zur Vorkontraktion der Gefäße genutzt. Dazu sind in einem Vorversuch kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Phenylephrinkonzentrationen von 10^{-8} bis 10^{-5} mol/l aufgenommen worden. Sie verliefen in allen Behandlungsgruppen ähnlich.

Zur Vorkonstriktion der Arteriensegmente diente deshalb eine Phenylephrinkonzentration von 5×10^{-7} mol/l, welche im Bereich der zuvor kumulativ bestimmten EC_{50} liegt. Dabei entwickelten die Gefäßringe der sympathektomierten Tiere signifikant größere Wandspannungen als die der Kontrollgruppen ($p < 0,05$).

Dieser Befund lässt sich am ehesten auf eine Supersensitivität der Gefäße sympathektomierter SHR gegenüber Adrenorezeptor-Agonisten zurückführen. In Analogie zu den Beobachtungen bei der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion (siehe 3.2.1 und 3.3.1) äußert sich die Sympathektomie-bedingte Überempfindlichkeit der untersuchten Gefäße gegenüber Phenylephrin unter den herrschenden Versuchsbedingungen nicht in einer veränderten Maximalspannung bei kumulativer Applikation des Agonisten, aber in einer statistisch signifikant erhöhten Spannungsentwicklung bei der Gabe von Einzeldosen.

Die Konzentrations-Wirkungs-Kurven für vasodilatatorisch wirkende Substanzen, die nach Vasokonstriktion mit Phenylephrin aufgezeichnet wurden, konnten somit auf Grund unterschiedlicher Vorkontraktionszustände nicht verwendet werden, um aus ihnen allgemeingültige Aussagen über das Dilatationsverhalten der untersuchten Gefäße abzuleiten.

In den weiteren Versuchsreihen fand Arginin-Vasopressin zur Vorkontraktion Verwendung, wodurch Effekte einer Supersensitivität im adrenergen System weitestgehend auszuschließen waren. Mit Vasopressin-Konzentrationen zwischen 5×10^{-10} und 3×10^{-9} mol/l wurden die Arteriensegmente jeweils auf etwa 60 % der durch Depolarisation erzeugten Wandspannung vorkonstringiert (Abb. 10).

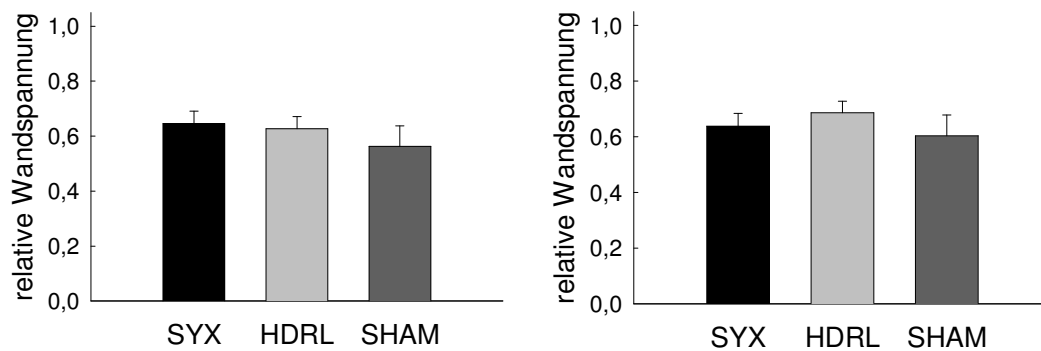


Abb. 10. Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin ($5 \times 10^{-10} - 3 \times 10^{-9}$ mol/l)
SYX: n = 10, HDRL: n = 8, SHAM: n = 8, links: vor Vasodilatation mit Nitroprussidnatrium, rechts: vor Vasodilatation mit Acetylcholin.

3.4.2 Endothelunabhängige Vasodilatation

Die endothelunabhängige Vasodilatation wurde durch die Gabe des Stickstoffmonoxiddonors Nitroprussidnatrium untersucht. Nach der Vorkontraktion mit Vasopressin ergaben sich in den drei Vorbehandlungsgruppen fast identische Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Nitroprussidnatrium mit einer Relaxation der Gefäßsegmente bis auf etwa 25 % der Vorkonstriktionsspannung (Abb. 11).

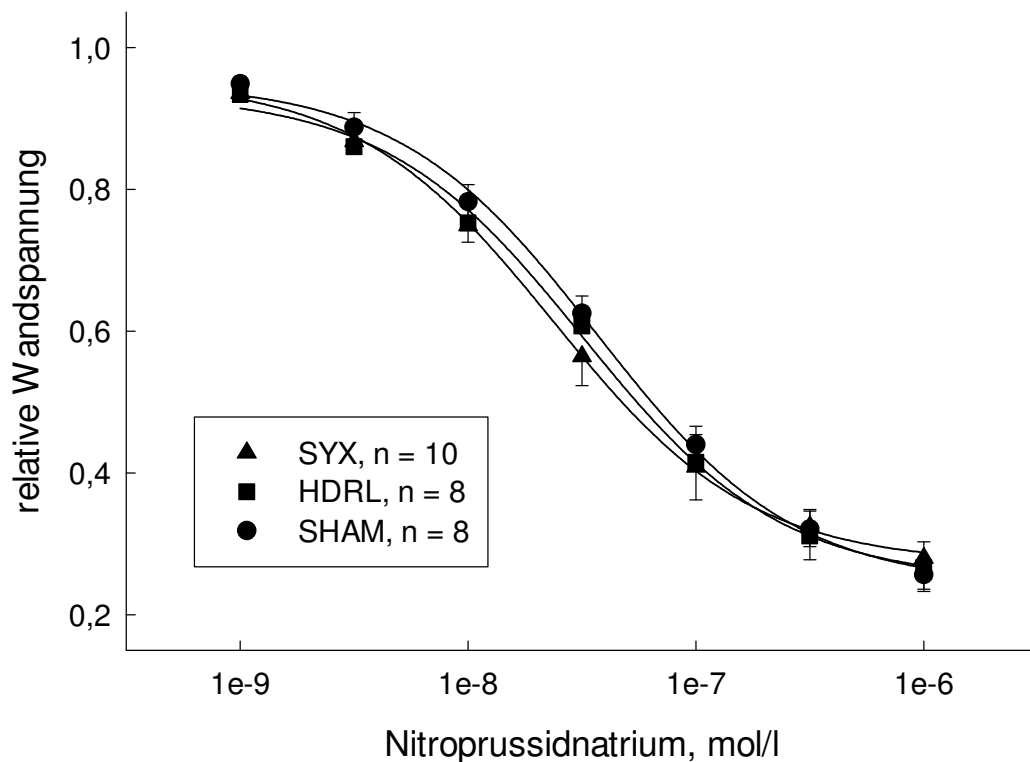


Abb. 11. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Nitroprussidnatrium nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin.

3.4.3 Endothelvermittelte Vasodilatation

Die Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die endothelabhängige Vasodilatation mit Acetylcholin hatten in allen Vorbehandlungsgruppen ähnliche Minima von etwa 55 % der mit Vasopressin erzeugten Vorkontraktionsspannung.

Der pD_2 -Wert war bei den sympathektomierten Tieren ($7,04 \pm 0,08$) signifikant größer als nach Hydralazin-Behandlung ($6,41 \pm 0,21$), aber ohne deutlichen Unterschied im Vergleich zu der scheinbehandelten Gruppe ($6,85 \pm 0,17$; Abb. 12).

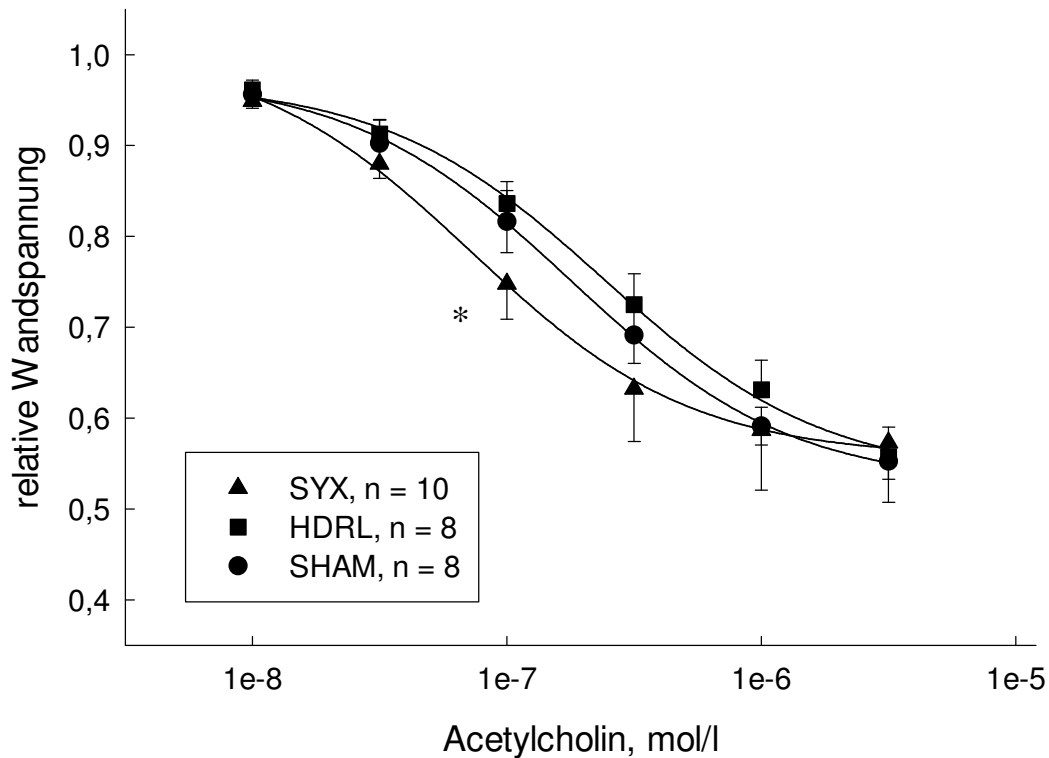


Abb. 12. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin.

* signifikant größerer pD_2 für SYX vs. HDRL, $p < 0,05$

Der statistisch signifikante, aber geringe Unterschied zwischen den pD_2 -Werten der Acetylcholin-induzierten Vasodilatation für die sympathektomierten und die Hydralazin-behandelten Tiere ist in einer weiteren Versuchsserie überprüft worden. Weiterhin sollte dieses Experiment zusätzliche Aussagen zum Beitrag des Stickstoffmonoxids und der Zyklooxygenaseprodukte zur endothelabhängigen Vasodilatation ermöglichen. Zunächst wurden noch einmal kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin aufgenommen. Anschließend wurde der gleiche Versuch unter Zugabe von N-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) sowie nach gleichzeitigem Zusatz von L-NAME und Indomethacin wiederholt.

Im Vorfeld diente ein Zeitkontrollexperiment dem Ausschluss zeitabhängiger Effekte auf die endothelabhängige Vasodilatation. Es ergab dreimal nacheinander Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin mit einer ähnlichen Vorkontraktion und ähnlicher Relaxation. Hinsichtlich des Minimums, des pD_2 -Werts und des Flächeninhalts unter der Konzentrations-Wirkungs-Kurve unterschieden sich die drei aufeinander folgenden Versuche nicht voneinander (Abb. 13).

Ein weiterer Kontrollversuch an insgesamt neun Gefäßsegmenten aus allen Vorbehandlungsgruppen in Form von Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Acetylcholin unter Zusatz von L-NAME und DMSO zeigte keine Auswirkungen des Lösungsmittels auf die Vasodilatation.

Das Vorkontraktionsniveau, welches in allen Versuchen mit Vasopressin erzeugt wurde, veränderte sich durch die Zugabe von L-NAME nicht. Die gleichzeitige Gabe von L-NAME und Indomethacin führte bei der Betrachtung der Gesamtzahl aller Versuche zu einer Reduktion der Vasopressin-induzierten Vorspannung im Vergleich zu alleinigem L-NAME-Zusatz und im Vergleich zu inhibitorfreier Badlösung ($p < 0,05$). Dieser Effekt war von der Vorbehandlung der Tiere unabhängig. Unterschiede im Einzelgruppenvergleich und statistisch signifikante Interaktionen zwischen den Faktoren *Vorbehandlung* und *zugesetzter Inhibitor* bestanden nicht. In jedem Teilversuch konnte somit von einem ähnlichen Vorkontraktionszustand der Gefäßsegmente aller Behandlungsgruppen ausgegangen werden.

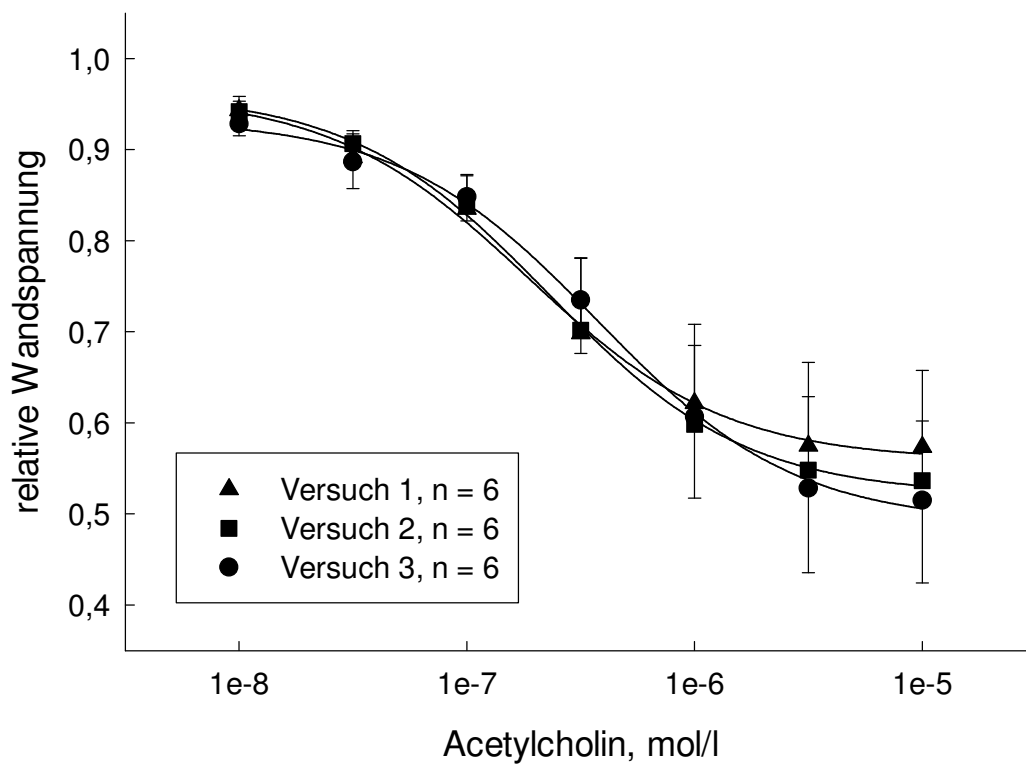


Abb. 13. Konzentrations-Wirkungs-Kurven der Zeitkontrollexperimente zur Vasodilatation mit Acetylcholin (10^{-8} bis 10^{-5} mol/l) nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopresin.

Die endothelvermittelte Vasodilatation mit Acetylcholin verlief bei der Untersuchung von 14 bzw. 15 Arteriensegmenten pro Vorbehandlungsschema in allen Gruppen ähnlich. Die Flächeninhalte unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven (AUC, „area under the curve“) unterschieden sich in den drei Tiergruppen nicht signifikant voneinander. Die zuvor festgestellte Erhöhung der durch den pD_2 -Wert beschriebenen Acetylcholinsensitivität an den Gefäßen der sympathektomierten Tiere im Vergleich zur Hydralazin-Behandlung ließ sich in dieser Versuchsreihe nicht bestätigen (Abb. 14).

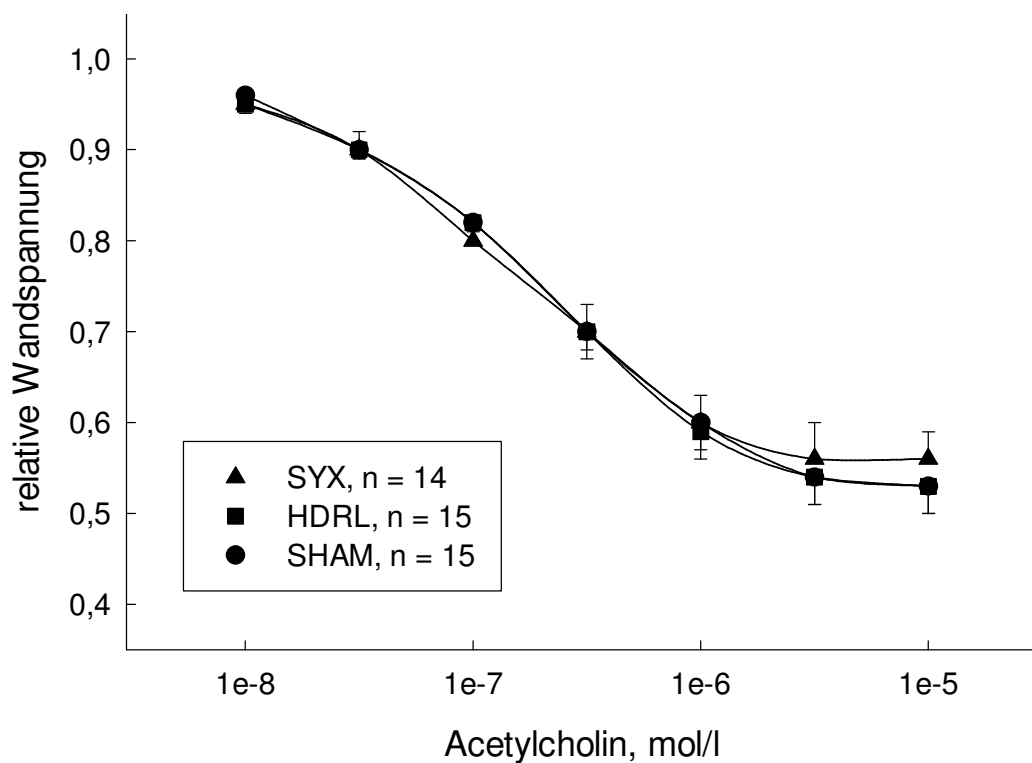


Abb. 14. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin nach Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin.

Nach der Inkubation der Gefäßsegmente mit L-NAME (3×10^{-4} mol/l; Abb. 15) sowie mit L-NAME und Indomethacin (3×10^{-6} mol/l; Abb. 16) bestanden zwischen den Vorbehandlungsgruppen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Flächeninhalts unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven.

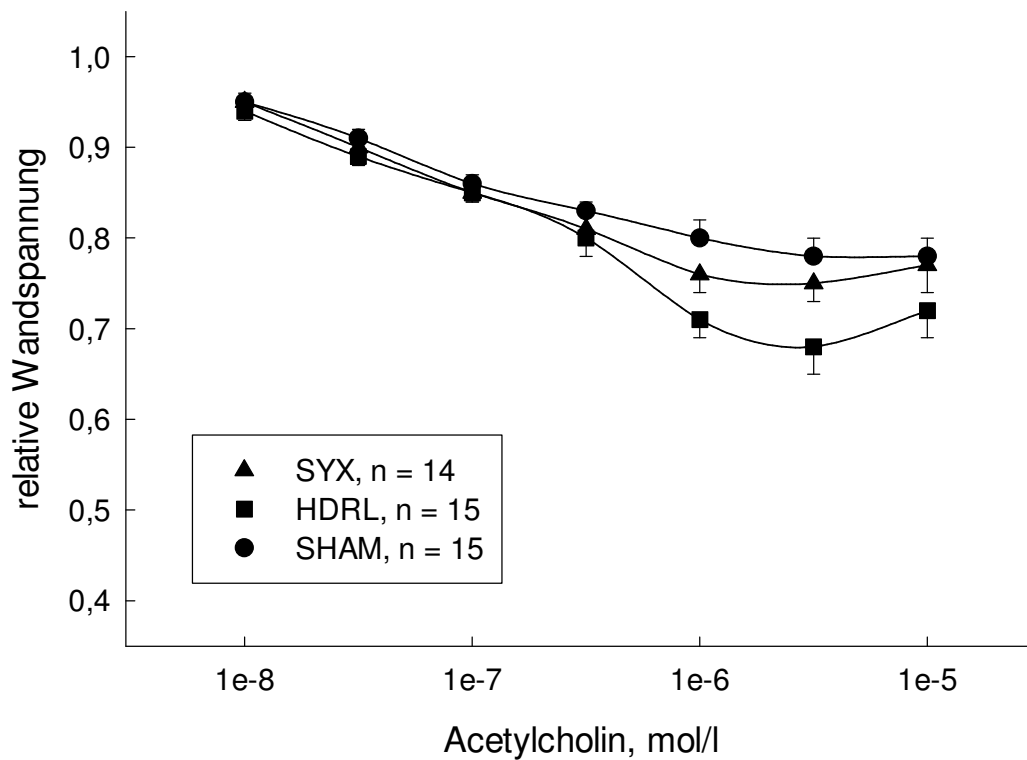


Abb. 15. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin nach Inkubation mit L-NAME und Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin.

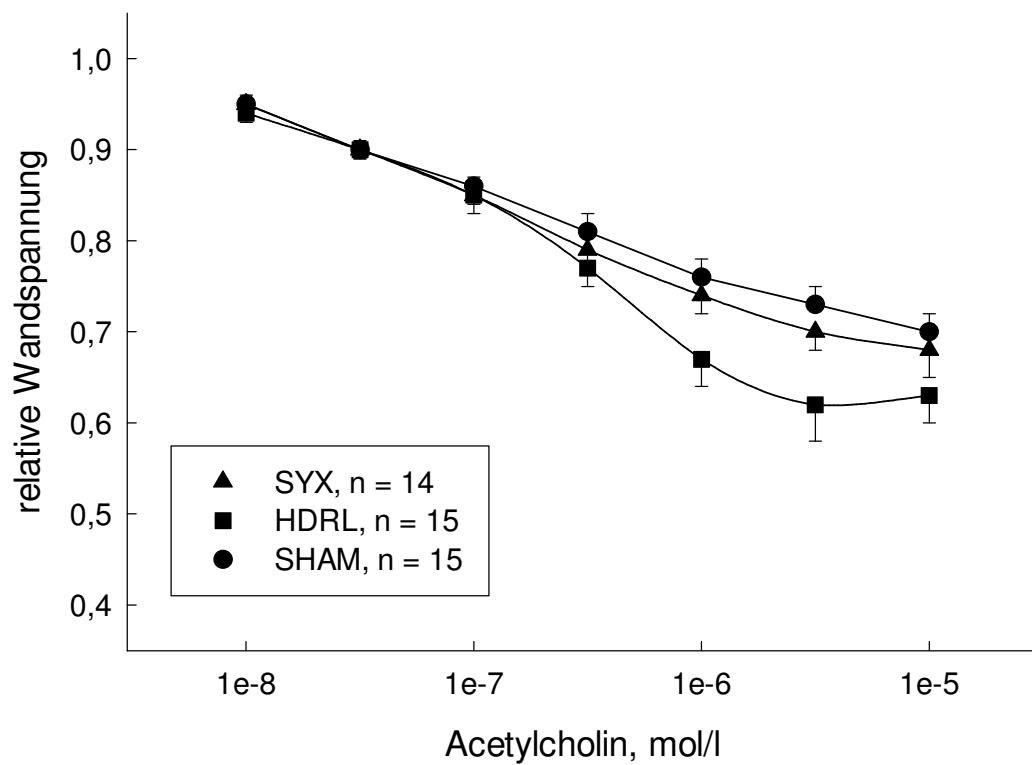


Abb. 16. Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin nach Inkubation mit L-NAME und Indomethacin und Vorkontraktion mit Arginin-Vasopressin.

Beim Vergleich der drei Teilversuche zur endothelvermittelten Vasodilatation und unter gemeinsamer Betrachtung der Gefäße aller Vorbehandlungsgruppen waren die Flächeninhalte unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven bei inhibitorfreier Badlösung am kleinsten, das heißt die dilatatorische Gefäßantwort auf Acetylcholin war in diesem Teilversuch am stärksten ausgeprägt. Die Inkubation mit L-NAME verminderte das Ausmaß der Vasodilatation (größere AUC). Durch die zusätzliche Gabe von Indomethacin konnte die Relaxation der Gefäßsegmente wieder verstärkt werden. Das gleiche Niveau wie ohne den Zusatz eines Inhibitors wurde durch Indomethacin aber nicht erreicht (siehe Tabelle).

Die beobachteten Unterschiede zwischen den Flächeninhalten unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Acetylcholin ohne die Zugabe eines Inhibitors, mit L-NAME-Zusatz und nach Inkubation mit L-NAME und Indomethacin waren statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Inhibitor-Zusatz	AUC
ohne	$5,81 \times 10^{-6} \pm 1,84 \times 10^{-7}$ *
L-NAME	$7,51 \times 10^{-6} \pm 1,32 \times 10^{-7}$ *
L-NAME + Indomethacin	$6,92 \times 10^{-6} \pm 1,55 \times 10^{-7}$ *

Tabelle. Mittelwerte der Flächeninhalte unter den Konzentrations-Wirkungs-Kurven (AUC) \pm Standardfehler des Mittelwertes für die Vasodilatation mit Acetylcholin ohne Zusatz eines Inhibitors, mit Zusatz von L-NAME sowie mit Zusatz von L-NAME und Indomethacin. Die Tiere aller Vorbehandlungsgruppen wurden gemeinsam betrachtet.

* signifikanter Unterschied zu den zwei anderen Teilversuchen, $p < 0,05$

4 Diskussion

Spontan hypertensive Ratten (SHR) weisen im Vergleich zu den normotensiven Wistar-Kyoto-Ratten (WKY) einen erhöhten sympathischen Ruhetonus und eine gesteigerte noradrenerge Organinnervation auf (18). Daneben ist die Nierenfunktion der SHR derartig verändert, dass die genetisch bedingte Hypertonie dieser Tiere zumindest teilweise auf renale Mechanismen zurückgeführt werden kann (53, 62, 80). Die Nieren der spontan hypertensiven Ratten sind stärker sympathisch innerviert als bei Wistar-Kyoto-Ratten (18). Diese erhöhte Aktivität der efferenten renalen sympathischen Nerven führt zu einer Verschiebung der Druck-Natriuresis-Kurve in Richtung höherer Blutdrücke (8). Durch selektive renale Denervierung oder durch vollständige neonatale Sympathektomie kann der arterielle Mitteldruck bei SHR gesenkt werden (8, 19). Die mit der neonatalen Sympathektomie hervorgerufene Blutdrucksenkung lässt sich mittels Nierentransplantation auf bis dahin unbehandelte Empfänger-SHR übertragen (19). Die neonatale sympathische Innervation der SHR-Nieren ist somit offenbar ursächlich an der Entstehung und der Aufrechterhaltung des Bluthochdrucks der Tiere beteiligt.

Durch die neonatale Sympathektomie wird neben dem systemischen Blutdruck auch der renale Gefäßwiderstand der spontan hypertensiven Ratten vermindert, so dass der arteriellen Hypertonie der SHR ein erhöhter Widerstand im Gefäßsystem der Niere ursächlich zu Grunde liegen könnte (19). In der vorliegenden Arbeit wurden daher die Auswirkungen der neonatalen Sympathektomie auf die Funktion der renalen Widerstandsgefäße spontan hypertensiver Ratten untersucht. Dazu wurden die konstriktorischen und dilatatorischen Reaktionen auf verschiedene vasoaktive Agonisten an den distalen Interlobararterien beurteilt, welche den proximalen renalen Widerstandsgefäßen der SHR entsprechen. Die Versuche an den Gefäßsegmenten fanden ex vivo unter den Bedingungen der Small-Vessel-Myographie statt, wobei die Arterienabschnitte sympathektomierter und scheinbehandelter SHR vergleichend betrachtet wurden.

Die neonatale Sympathektomie erfolgte in unseren Versuchen durch die Zerstörung der peripheren sympathischen Neurone mittels Guanethidin (30) und die anschließende Entfernung des Nebennierenmarks. Der Blutdruck der SHR wurde dadurch um rund 30 mmHg, die renale NoradrenalinKonzentration auf etwa 10 % und der Katecholamingehalt der Nebenniere auf ca. 1 % der Konzentrationen bei Hydralazin-behandelten Kontrolltieren gesenkt (19).

Ein Vorteil der Guanethidin-Behandlung gegenüber anderen Denervierungsverfahren liegt in einer stärkeren Inaktivierung des peripheren sympathischen Nervensystems als nach der so genannten Immunsympathektomie mit Antikörpern gegen den „Nerve Growth Factor“ (30). Mit 6-Hydroxydopamin, einer weiteren Substanz, die zur Ausschaltung sympathischer Neurone genutzt werden kann, lässt sich eine periphere Sympathektomie erzeugen, deren Ausmaß der nach Guanethidin-Gabe weitestgehend entspricht (30). Allerdings wirkt 6-Hydroxydopamin auch zentral und führt zu einer deutlichen Verminderung der zerebralen NoradrenalinKonzentration, während die Aktivität zentraler sympathischer Neurone durch Guanethidin nicht wesentlich beeinträchtigt wird (30, 56).

Der verminderte renale Gefäßwiderstand neonatal sympathektomierter SHR kann einerseits durch direkte Effekte der fehlenden noradrenergen Innervation, andererseits aber auch durch eine sekundäre Gefäßadaptation an einen gesenkten arteriellen Mitteldrucks bedingt sein. Um diese zwei möglichen Ursachen veränderter Gefäßfunktionen voneinander zu differenzieren, erhielt in unseren Versuchen eine Scheinbehandlungsgruppe das Antihypertensivum Hydralazin. Der Blutdruck der Hydralazin-behandelten Tiere entsprach dem der sympathektomierten SHR (19).

Bei Hydralazin handelt es sich um ein seit langem eingesetztes Medikament, das vor allem in arteriellen Gefäßen eine Vasodilatation hervorruft. Die genauen Wirkmechanismen des Hydralazins sind aber bislang nicht eindeutig geklärt. Untersuchungen an Ratten, isolierten Schweinekoronararterien und isoliert perfundierten Rattenherzen ergaben Ähnlichkeiten der mit Hydralazin ausgelösten Vasodilatation zu den Effekten spezifischer Öffner Kalzium-aktivierter Kaliumkanäle mit großer Leitfähigkeit (BK_{Ca} -Kanäle) (1). Patch-Clamp-Experimente sprechen

dafür, dass Hydralazin die BK_{Ca} -Kanäle über intrazelluläre Signalwege aktiviert (1).

In anderen Experimenten ist gezeigt worden, dass Hydralazin Enzyme mit Prolylhydroxylase-Aktivität hemmt und auf diesem Weg die Bildung des „Hypoxia inducible factor“ HIF-1 α induziert (36). Dies kann in den Gefäßmuskelzellen zu einem akuten Anstieg der intrazellulären Konzentration an zyklischem Guanosinmonophosphat führen, der möglicherweise durch endotheliale Wachstumsfaktoren vermittelt wird (36). Zyklisches Guanosinmonophosphat ist vor allem durch seine inhibierende Wirkung auf Kalziumkanäle und durch die Aktivierung der Einwärtsgerichteter-Kaliumkanäle ein Initiator der Vasodilatation (72). Die vermehrte Produktion von HIF-1 α nach Hydralazin-Gabe verursacht außerdem eine Proliferation kultivierter Endothelzellen und wirkt *in vivo* proangiogenetisch (36).

4.1 Maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials

Das sympathische Nervensystem übt durch seinen Transmitter Noradrenalin einen wesentlichen Einfluss auf das Wachstum und auf die Differenzierung glatter Gefäßmuskelzellen aus (4-6, 73). An Mesenterialarterien spontan hypertensiver Ratten wurde gezeigt, dass sympathisch innervierte Gefäße eine stärker ausgeprägte Tunica media mit einer größeren Anzahl an Muskelzellschichten besitzen als die entsprechenden Arterien sympathektomierter SHR (41, 42). Eventuelle Unterschiede in der konstriktorischen Gefäßfunktion, die möglicherweise mit einem muskelstärkeren Wandbau einhergehen, können mit Hilfe der Small-Vessel-Myographie charakterisiert werden. Dazu wird das Membranpotential der glatten Gefäßmuskelzellen mittels einer kaliumreichen Badlösung depolarisiert, wodurch spannungsabhängige Kalziumkanäle geöffnet werden (50, 72). Der resultierende Kalziumioneneinstrom bewirkt eine Muskelkontraktion, die von der Sensitivität der glatten Muskelzellen gegenüber den verschiedensten vasokonstriktorisch wirksamen Substanzen unabhängig ist (72).

In myographischen Untersuchungen an Blutgefäßen spontan hypertensiver Ratten und Wistar-Kyoto-Ratten wurde beobachtet, dass die muskelstärkeren Mesenterialarterien der SHR nach Gabe kalium- und kalziumreicher Aktivierungslösung stärker kontrahieren als die entsprechenden Gefäße der WKY (50).

Derartige Vergleiche zwischen den beiden Tierstämmen bezüglich einzelner Merkmale, die vermutlich mit der Höhe des Blutdrucks in Verbindung stehen, werden vielfach herangezogen, um Aussagen über mögliche Ursachen der arteriellen Hypertonie der SHR zu formulieren. Direkte Schlussfolgerungen zur Ätiologie des Bluthochdrucks können aus solchen Stammvergleichen nur gezogen werden, wenn das betreffende Merkmal diskret ausgeprägt ist, nach den Mendelschen Gesetzen vererbt wird und in einem sinnvollen physiologischen Zusammenhang mit der Blutdruckregulation steht (60). Die Höhe des arteriellen Blutdrucks wird polygen vererbt und durch zahlreiche Faktoren beeinflusst und

kontrolliert (60). Aus diesem Grund kann aus der größeren Depolarisations-induzierten Spannungsentwicklung der SHR-Mesenterialarterien im Vergleich zu WKY nicht abgeleitet werden, ob es sich dabei um eine Ursache oder eine Folge des Blutdruckunterschiedes handelt. Es wäre auch denkbar, dass dieses Merkmal nicht selbst an der Regulation des Blutdrucks beteiligt ist, sondern mit anderen, den arteriellen Druck beeinflussenden Faktoren gekoppelt vererbt wird.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche an sympathektomierten, Hydralazin- und scheinbehandelten SHR dienten ebenfalls der Untersuchung von Merkmalen, die mit Blutdruckunterschieden zwischen den betrachteten Tiergruppen einhergehen. Im Gegensatz zu Stammvergleichen, bei denen die Ursache der beobachteten Unterschiede in der Regel unklar bleibt, wurde in unseren Experimenten mit der neonatalen Sympathektomie ein pathogenetischer Faktor manipuliert, der für die Entstehung der Hypertonie bei SHR von entscheidender Bedeutung ist.

Nach der Depolarisation des Membranpotentials entwickelten die von uns untersuchten proximalen renalen Widerstandsgefäße sympathektomierter und scheinbehandelter SHR ähnliche Maximalspannungen. Zwar zeigte sich bei den sympathektomierten Tieren eine Tendenz zu kleineren Wandspannungen als in den Kontrollgruppen, statistisch signifikante Unterschiede bestanden jedoch nicht. Diese Aussage ließ sich anhand der Daten aus den Vordehnungsprozeduren in Experiment 5, die an größeren Versuchsgruppen gewonnen wurden, bestätigen. Bei optimaler Vordehnung wurde durch kaliumreiche Badlösung auch hier eine Spannungsänderung ausgelöst, die von der Vorbehandlung der Tiere unabhängig war.

In Zusammenschau mit der in allen Gruppen ähnlichen Sensitivität der Vaso-konstriktion gegenüber extrazellulärem Kalzium lassen die Ergebnisse vermuten, dass zwischen den drei Vorbehandlungsgruppen wahrscheinlich keine wesentlichen Unterschiede im Gehalt der distalen Interlobararterien an kontraktilem, glattem Muskelgewebe bestehen.

Diese Interpretation wird durch aktuelle Versuche zur Proteinexpression und Morphologie isolierter Femoralarteriensegmente gestützt. An den Gefäßabschnitten und an aus ihnen angelegten Organkulturen wurde kein vermehrtes Wachstum sympathisch innervierter glatter Gefäßmuskulatur im Vergleich zu nicht innervertem Muskelgewebe beobachtet (4). Die sympathische Innervation bewirkte in der Studie eine vermehrte Produktion des Myosins und des α -Aktins in den Gefäßmuskelzellen, welche durch den „Transforming Growth Factor β 2“ (TGF- β 2) vermittelt wurde (4). Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass das sympathische Nervensystem an der postnatalen Entwicklung und Differenzierung der untersuchten Gefäßsegmente beteiligt ist, ohne deren Hypertrophie zu bedingen. Die Allgemeingültigkeit derartiger Befunde zum Einfluss des Sympathikus auf den Wandbau arterieller Widerstandsgefäße ist jedoch eingeschränkt, da bei hypertensiven Tieren eine große regionale Heterogenität ihrer strukturellen Gefäßveränderungen besteht (3)

Die von uns ermittelten Ergebnisse zur Antwort der distalen Interlobararterien auf die Depolarisation des Membranpotentials entsprechen den Resultaten ähnlicher Untersuchungen an Gefäßen sympathektomierter Tiere. Perfundierte mesenteriale Gefäßbetten von Sprague-Dawley-Ratten, die entweder kurzfristig mit 6-Hydroxydopamin oder langfristig mit Guanethidin sympathektomiert worden waren, zeigten gleiche Reaktionen auf die Depolarisation des Membranpotentials durch Kaliumchloridinjektionen wie die Gefäßbetten der Kontrolltiere (59). Ähnliche Befunde erbrachten In-vitro-Versuche an Mesenterialarterien von sympathektomierten WKY. Die kurzzeitige Behandlung mit 6-Hydroxydopamin beeinflusste die Vasokonstriktion dieser Gefäße bei einer erhöhten Kaliumkonzentration des Organbades nicht (65).

Der arterielle Mitteldruck spontan hypertensiver Ratten kann durch die Implantation der Niere einer sympathektomierten SHR gesenkt werden (19). Außerdem erhöht die Übertragung einer Niere unbehandelter SHR auf F₁-Hybride aus SHR und WKY den Blutdruck der Empfängertiere (17). Zur weiterführenden Untersuchung dieser Posttransplantationshypertonie wurde unter anderem ebenfalls die

Small-Vessel-Myographie eingesetzt (16). Dabei ließen sich an den Interlobararterien der Nierentransplantate von SHR und F₁-Hybriden keine Unterschiede in der maximalen Spannungsentwicklung nach Depolarisation des Membranpotentials nachweisen (16).

Verschiedene Kontraktionsantworten der proximalen renalen Widerstandsgefäße auf die Depolarisation des Membranpotentials stehen somit weder mit der bei den spontan hypertensiven Ratten ausgelösten Blutdrucksenkung durch Sympathektomie, noch mit der durch SHR-Nierentransplantate bewirkten Blutdruckerhöhung in einem ursächlichen Zusammenhang.

Kaliumreiche Badlösung depolarisiert nicht nur das Membranpotential der glatten Muskelzellen, sondern aller Zellen der von uns untersuchten Gefäßsegmente. Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang die perivaskulären Nervengeflechte, in deren Synapsen Noradrenalin als Transmitter gespeichert ist, welches durch Depolarisation freigesetzt werden kann (27). Die Menge des ausgeschütteten vasokonstriktorisch wirkenden Noradrenalins ist nach Guanethidin-Behandlung vermindert (41). Deshalb wurde die maximale Spannungsentwicklung bei Depolarisation des Membranpotentials in allen Versuchen ein zweites Mal unter α -Rezeptor-Blockade mit Phentolamin registriert. Das Telexperiment mit dem Zusatz von Phentolamin fand abwechselnd vor und nach dem Versuch ohne Phentolamin-Gabe statt. Effekte der Reihenfolge wurden durch dieses Vorgehen ausgeschlossen. Die Inhibition der Noradrenalin-Wirkung hatte bei keiner Untersuchungsgruppe eine signifikante Reduktion der Maximalspannung zur Folge. Die Ergebnisse dieses Teilversuchs ähneln somit denen, die mit kaliumreicher Badlösung ohne Phentolamin gewonnen wurden. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass bei depolarisierender Reizung freigesetztes Noradrenalin keinen wesentlichen Einfluss auf die Maximalspannung besitzt, die ein isoliertes SHR-Nierenarteriensegment unter den vorliegenden Versuchsbedingungen in einem kaliumreichen Organbad entwickelt.

Im Rahmen der Vordehnungsprozedur wurde vor jedem Experiment mehrmals eine Vasokonstriktion mit kaliumreicher Badlösung ausgelöst. Die maximale Änderung der Wandspannung bei optimaler Vordehnung konnte auf Grund des ähnlichen Konstriktionsverhaltens mit und ohne den Zusatz von Phentolamin als eine in allen Vorbehandlungsgruppen gleiche Bezugsgröße verwendet werden. Die in den folgenden Experimenten beobachteten Wandspannungen wurden als prozentualer Anteil der Depolarisations-induzierten Spannungsänderung miteinander verglichen.

4.2 Agonist-induzierte Vasokonstriktion

Eine weitere denkbare Erklärung für den verminderten renovaskulären Widerstand sympathektomierter SHR könnte eine geringere Reaktivität ihrer Nierengefäße gegenüber vasokonstriktorisch wirkenden Agonisten sein. Wir untersuchten deshalb die Wirkungen der physiologischen Vasokonstriktoren Noradrenalin, Vasopressin und Endothelin-1 auf die isolierten proximalen Widerstandsgefäße der Nieren sympathektomierter und scheinbehandelter spontan hypertensiver Ratten.

Noradrenalin

Noradrenalin bewirkt über die Bindung an α_1 - und α_2 -Adrenozeptoren der glatten Gefäßmuskelzellen eine Vasokonstriktion (72). Dabei reagieren perfundierte mesenteriale Gefäßbetten der SHR mit stärkeren Druckanstiegen auf Noradrenalin-Injektionen als gleichartige Präparationen von Wistar-Kyoto-Ratten (42). An isolierten Mesenterialarterien spontan hypertensiver Ratten ist die Sensitivität der Gefäßantworten auf Noradrenalin größer als an den entsprechenden Gefäßen von WKY (44, 51). Unter Berücksichtigung der eingeschränkten Interpretierbarkeit derartiger Stammvergleiche könnte eine gesteigerte Noradrenalin-induzierte Vasokonstriktionen eventuell zur Erklärung des Bluthochdrucks bei SHR beitragen. Von anderen Autoren wurde aber auch eine gleich große Noradrenalin-Sensitivität der mesenterialen (29) und renalen (14) Widerstandsgefäße von SHR und WKY beschrieben.

Ausgehend von diesen Ergebnissen untersuchten wir das Kontraktionsverhalten der proximalen renalen Widerstandsgefäße sympathektomierter und scheinbehandelter SHR nach Noradrenalin-Gabe. Die neonatale Sympathektomie führte in unseren Versuchen nicht zu verringerten Reaktionen der distalen Interlobararterien auf Noradrenalin. Die Sensitivität gegenüber dem Katecholamin war in der sympathektomierten Gruppe im Vergleich zu den Kontrollen erhöht.

In anderen Studien an sympathektomierten Tieren konnte ebenfalls eine solche Supersensitivität gegenüber α -Adrenozeptor-Agonisten festgestellt werden. Der

Blutdruck von Sprague-Dawley-Ratten reagierte nach Guanethidin-Behandlung empfindlicher auf Injektionen des selektiven α_1 -Rezeptor-Agonisten Methoxamin (48). Perfundierte mesenteriale Gefäßbetten von SHR und WKY, die mit Antikörpern gegen den Nerve Growth Factor in Kombination mit Guanethidin sympathektomiert worden waren, zeigten eine gesteigerte Noradrenalinsensitivität (42). Ebenso verhielten sich mesenteriale Gefäßbetten von akut mit 6-Hydroxydopamin behandelten Sprague-Dawley-Ratten (59). An isolierten Mesenterialarterien 6-Hydroxydopamin-sympathektomierter SHR und WKY wurde eine Linksverschiebung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin und Phenylephrin beobachtet (54, 65). Die Entfernung des Nebennierenmarks bewirkte bei Sprague-Dawley-Ratten eine erhöhte Bindungskapazität des renalen Kortex für spezifische Agonisten der α_1 -, α_2 - und β -Adrenorezeptoren, die ebenfalls zu einer Katecholamin-Supersensitivität beiträgt (76).

Im Gegensatz zu der erhöhten Noradrenalinsensitivität (ausgedrückt durch einen verminderten pD_2 -Wert) wird die maximale Wandspannung, die in unseren Versuchen an Nierengefäßen spontan hypertensiver Ratten durch kumulative Noradrenalin-Applikation erzeugt wurde, durch neonatale Sympathektomie nicht beeinflusst. Bei der Gabe von Noradrenalin-Einzeldosen spiegelt sich die Überempfindlichkeit der untersuchten Arteriensegmente sympathektomierter Tiere gegenüber Katecholaminen dagegen auch in größeren Maximalspannungen als bei den Kontrollen wider.

Isolierte Mesenterialarterien von Wistar-Kyoto-Ratten entwickelten auch unter kumulativen Versuchsbedingungen stärkere Wandspannungen auf den α_1 -Adrenorezeptor-Agonisten Phenylephrin, wenn das entsprechende Tier kurzzeitig mit 6-Hydroxydopamin behandelt worden war (65). In Experimenten an wachen sympathektomierten WKY wurde nach Phenylephrin-Gabe ein größerer Blutdruckanstieg beobachtet als bei unbehandelten Tieren (65). Dagegen ergaben Experimente an mesenterialen Gefäßbetten von SHR (42), WKY (42) und Sprague-Dawley-Ratten (59) sowie In-vivo-Untersuchungen an Sprague-Dawley-Ratten (48) nach Sympathektomie einen verminderten maximalen Anstieg des Perfusionsdrucks

bzw. des arteriellen Mitteldrucks als Antwort auf die Applikation von α_1 -Adrenorezeptor-Agonisten.

Diese unterschiedlichen Reaktionen können zumindest teilweise auf die verschiedenen experimentellen Bedingungen zurückzuführen sein. Lee et al. (42) und Ralevic et al. (59) verwendeten perfundierte Gefäße, wohingegen bei der Small-Vessel-Myographie kein Fluss im Gefäßlumen besteht. Bei Untersuchungen an perfundierten Gefäßbetten oder bei In-vivo-Experimenten können außerdem Gefäßabschnitte an der Antwort auf Katecholamine beteiligt sein, die der Drahtmyographie wegen ihrer geringen Größe nicht zugänglich sind.

Die Reaktivität der von uns untersuchten Arteriensegmente gegenüber Noradrenalin wird durch neonatale Sympathektomie gesteigert. Dieses Merkmal sympathektomierter SHR begünstigt die Vasokonstriktion im renalen Gefäßsystem und kann daher nicht zur Erklärung der Sympathektomie-bedingten Blutdrucksenkung bei spontan hypertensiven Ratten herangezogen werden.

Vasopressin

Vasopressin, dessen Effekte ebenfalls in der vorliegenden Studie untersucht wurden, hemmt über die „tubulären“ V_2 -Rezeptoren direkt die renale Wasserausscheidung und wirkt über „vaskuläre“ V_1 -Rezeptoren schon in geringen Plasmakonzentrationen vasokonstriktorisch (37).

Isolierte Mesenterialarterien adulter SHR reagieren im Vergleich zu WKY empfindlicher und stärker auf Vasopressin (78). Auch der renale Blutfluss ist bei spontan hypertensiven Ratten sensitiver gegenüber Vasopressin-Injektionen in die Arteria renalis als bei Wistar-Kyoto-Ratten (11). Bei gleicher Affinität des Vasopressins zum Rezeptor (81) und bei gleichen Mechanismen der Kalziummobilisierung auf der Postrezeptorebene (11) wird in den präglomerulären Widerstandsgefäßen der SHR circa doppelt so viel V_1 -Rezeptor-mRNA exprimiert wie bei WKY (81). Weiterhin wurde in Rezeptorbindungsexperimenten an diesen Gefäßen eine bei SHR etwa zwei- bis dreimal höhere V_1 -Rezeptordichte nachgewiesen als bei den normotensiven Kontrolltieren (81). Untersuchungen an isolierten Interlobulararterien und afferenten Arteriolen legen nahe, dass die bei SHR gegenüber

WKY erhöhte Vasopressin-Reaktivität des renalen Gefäßsystems in den Interlobulararterien lokalisiert ist (23). An diesen lassen sich bei den spontan hypertensiven Ratten ein größerer Vasopressin-induzierter Anstieg der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration, eine damit verbundene stärkere Vasokonstriktion nach der Gabe des Agonisten sowie eine vermehrte Expression von V_{1a} -Rezeptor-mRNA nachweisen (23).

Basierend auf diesen Ergebnissen ist in unseren Versuchen getestet worden, ob die große Vasopressin-Reaktivität renaler Arteriensegmente bei spontan hypertensiven Ratten durch neonatale Sympathektomie beeinflusst wird. Eine verminderte maximale Spannungsentwicklung oder eine geringere Sensitivität der distalen Interlobulararterien gegenüber Vasopressin könnte an der Verminderung des renovaskulären Widerstandes und des systemischen Blutdrucks sympathektomierter SHR beteiligt sein.

Die Vasokonstriktion, die wir an den proximalen renalen Widerstandsgefäßen spontan hypertensiver Ratten mit Vasopressin ausgelöst haben, ähnelte sich in allen Vorbehandlungsgruppen und wird somit durch neonatale Sympathektomie nicht verändert.

In anderen Modellen scheint Vasopressin eine besondere Bedeutung für die Aufrechterhaltung des Blutdrucks sympathektomierter Tiere zu besitzen. Nach Guanethidin-Behandlung reagieren Sprague-Dawley-Ratten mit größeren Blutdruckabfällen auf die systemische Applikation eines Vasopressin-Antagonisten als unbehandelte Kontrollen (48). Eine erhöhte Vasopressin-Reaktivität könnte bei diesen Tieren einen Kompensationsmechanismus oder auch eine direkte Folge der Sympathektomie darstellen. Nach kurzzeitiger Sympathektomie mit 6-Hydroxydopamin wurde für mesenteriale Gefäßbetten von Sprague-Dawley-Ratten (59) und für isolierte Mesenterialarterien von WKY (65) eine Vasopressin-Supersensitivität beschrieben. Derartige Reaktionen auf den unabhängig von den Adrenorezeptoren wirkenden Agonisten ließen sich in unseren Experimenten nach langfristiger Reduktion des Sympathotonus an renalen Gefäßen der SHR nicht nachweisen. Als mögliche Erklärungen der unterschiedlichen Beobachtungen kommen die verschiedenen Tierstämme, andere Denervierungsmethoden und Ver-

suchsbedingungen sowie Unterschiede in der Herkunft der untersuchten Arterien in Betracht.

Endothelin-1

Der dritte untersuchte Vasokonstriktor, Endothelin-1, wird hauptsächlich von den Endothelzellen synthetisiert und wirkt über die ET_A-Rezeptoren der Gefäßmuskulzellen vasokonstriktorisch (21, 75, 83). Daneben vermittelt Endothelin-1 trophische Wirkungen auf glatte Muskelzellen (5, 6).

Über die Rolle, die Endothelin-1 in der Entstehung des Bluthochdrucks bei spontan hypertensiven Ratten spielt, gibt es widersprüchliche Aussagen. So behaupten einige Autoren, dass das Endothelin-System bei diesen Tieren kaum eine Bedeutung für die Entwicklung der arteriellen Hypertonie besitzt (70). Andere beschreiben bei SHR stärkere konstriktorische Gefäßantworten auf Endothelin-1 als bei WKY (70). Untersuchungen an isolierten Mesenterialarterien ergaben dagegen eine gleiche Endothelin-1-Sensitivität für SHR und WKY (29) oder eine geringere Empfindlichkeit der SHR bei identischer Maximalkraft in beiden Tierstämmen (78). Die Nierenfunktion der spontan hypertensiven Ratten kann durch die Gabe von Endothelin-1-Antagonisten verbessert werden (32, 33, 79). So wurden nach ihrer Applikation eine Steigerung der glomerulären Filtrationsrate, des renalen Plasmaflusses, der Kreatininclearance und der absoluten und fraktionellen Natriumausscheidung beobachtet (32, 33). Außerdem kann eine langfristige Blockade der ET_A-Rezeptoren die Proteinurie der SHR senken und die „wall-to-lumen-ratio“ intrarenaler Gefäße salzbelasteter spontan hypertensiver Ratten vermindern (79).

An den von uns untersuchten renalen Gefäßsegmenten ist die maximal mit Endothelin-1 erzeugte Wandspannung bei sympathektomierten spontan hypertensiven Ratten entgegen der zuvor aufgestellten Hypothese signifikant größer als bei scheinbehandelten Kontrolltieren. Dieses, die renale Vasokonstriktion begünstigende, Phänomen kann der Blutdrucksenkung durch neonatale Sympathektomie nicht ursächlich zu Grunde liegen.

Ähnliche Ergebnisse erbrachten Versuche an mesenterialen Gefäßbetten 6-Hydroxydopamin-behandelter WKY. An diesen Präparationen wurde eine vermehrte Endothelin-1-Sensivität im Vergleich zu scheinbehandelten Kontrollen beobachtet (59). Langfristige Sympathektomie mit Guanethidin hatte dagegen keinen Einfluss auf die Reaktivität der mesenterialen Gefäßbetten der Wistar-Kyoto-Ratten gegenüber Endothelin-1 (59).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die proximalen renalen Widerstandsgefäße sympathektomierter SHR ähnlich auf Vasopressin reagieren, empfindlicher gegenüber Noradrenalin sind und auf Endothelin-1 eine größere Maximalspannung entwickeln als die entsprechenden Arteriensegmente scheinbehandelter Tiere. Neonatale Sympathektomie erzeugt bei spontan hypertensiven Ratten keine Veränderungen der Gefäßantworten gegenüber den verwendeten vasokonstriktorisch wirkenden Agonisten, die die langfristige Blutdrucksenkung erklären könnten.

Ein weiterer, sehr potenter Vasokonstriktor ist Angiotensin II.

Das Verhalten isolierter Gefäßsegmente gegenüber dieser Substanz ließ sich mit der Methode der Small-Vessel-Myographie nicht beurteilen, da die wiederholte Angiotensin II-Gabe zur Tachyphylaxie führte. Die Bedeutung dieses Hormons für renal-vaskuläre Mechanismen, die zur Senkung des Blutdrucks spontan hypertensiver Ratten nach neonataler Sympathektomie beitragen können, muss deshalb vorerst ungeklärt bleiben.

4.3 Abhängigkeit der Vasokonstriktion von extrazellulärem Kalzium

Voraussetzung für jede Muskelkontraktion und damit auch für jede Vasokonstriktion ist ein Anstieg der sarkoplasmatischen Kalziumkonzentration, der durch die Depolarisation des Membranpotentials oder durch vasoaktive Agonisten ausgelöst werden kann (72). Vergleichende Untersuchungen von SHR und WKY zeigten an isolierten Muskelzellen distaler Interlobararterien ein stärker depolarisiertes Ruhemembranpotential und eine höhere basale intrazelluläre Kalziumkonzentrationen bei den hypertensiven Tieren (46). Gleiches wurde an Sprague-Dawley-Ratten beobachtet, nachdem bei ihnen durch die Applikation von Desoxycorticosteronacetat verbunden mit einer Hochsalzdiät und unilateraler Nephrektomie eine arterielle Hypertonie erzeugt wurde (46).

Bei Kontraktionen der glatten Muskelzellen arterieller Widerstandsgefäße steigt der Kalziumgehalt des Zytoplasmas durch die Kalziumfreisetzung aus intrazellulären Speichern wie dem endoplasmatischen Retikulum und durch den quantitativ bedeutsameren transmembranösen Kalziumioneneinstrom an (72). Das Ausmaß der Vasokonstriktion ist somit unter anderem von der Kalziumkonzentration der Extrazellulärflüssigkeit abhängig. An isolierten mesenterialen Widerstandsgefäßen ist die Sensitivität der Noradrenalin-induzierten Spannungsentwicklung gegenüber einer steigenden extrazellulären Kalziumkonzentration bei spontan hypertensiver Ratten etwa doppelt so groß wie bei Wistar-Kyoto-Ratten (51).

Analog zu den Voruntersuchungen an SHR und WKY (51) wurde im dritten Experiment dieser Arbeit überprüft, ob die Kalziumsensitivität der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion proximaler renaler Widerstandsgefäße bei scheinbehandelten SHR höher ist als nach Sympathektomie.

Die mit Noradrenalin ausgelöste Spannungsentwicklung der distalen Interlobararterien war dabei für jede Kalziumkonzentration des Organbades bei sympathektomierten SHR stärker ausgeprägt als bei den Hydralazin-behandelten Kontroll-

tieren. Diese Beobachtung kann mit der Katecholamin-Supersensitivität nach neonataler Sympathektomie erklärt werden.

Das Ausmaß der Vasokonstriktion nahm in allen Vorbehandlungsgruppen mit steigendem Kalziumgehalt der Badlösung gleichermaßen zu. Es ließen sich keine statistisch signifikanten Interaktionen zwischen der Art der Vorbehandlung und der Kalziumkonzentration des Organbades feststellen. Die unter unseren Versuchsbedingungen beobachtete Empfindlichkeit der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion gegenüber extrazellulärem Kalzium wird somit durch neonatale Sympathektomie nicht verändert.

Übereinstimmend mit diesem Ergebnis wurde an isolierten Mesenterialarterien spontan hypertensiver Ratten ebenfalls kein Einfluss einer neonatalen Sympathektomie mit 6-Hydroxydopamin auf die Kalziumsensitivität der mit Noradrenalin ausgelösten Vasokonstriktion festgestellt (54).

Nach depolarisierenden Reizen strömt Kalzium aus dem Extrazellulärraum durch spannungsgesteuerte Kanäle in die glatten Gefäßmuskelzellen ein (72). Dabei ist der Kalziumionenfluss durch L-Typ-Kanäle mit großer Leitfähigkeit bei kultivierten SHR-Gefäßmuskelzellen stärker ausgeprägt als der Einstrom durch T-Typ-Kanäle, die schon bei negativem Membranpotential aktiviert, aber auch rasch wieder inaktiviert werden (26). An den Gefäßmuskelzellen von WKY verhalten sich die Ströme durch L- und T-Typ-Kalziumkanäle genau umgekehrt (26).

Bei spontan hypertensiven Ratten wird durch die Absenkung der intrazellulären Kalziumkonzentration außerdem ein starker Kalziumioneneinstrom in die glatten Gefäßmuskelzellen ausgelöst, welcher bei Wistar-Kyoto-Ratten fehlt (26).

An Mesenterial- und Femoralarterien adulter SHR ist eine Hochregulation des Gens für die porenbildende α_{1C} -Untereinheit des L-Typ-Kalziumkanals und eine verstärkte Expression dieses Kanalproteins im Vergleich zu WKY beschrieben worden (57). In derselben Studie wurde auch die Reaktivität isolierter Mesenterialarterien auf S(-)-BayK8644 als spezifischen Aktivator der L-Typ-Kalziumkanäle untersucht. SHR-Gefäße zeigten dabei eine deutliche Vasokonstriktion, während die Arterien von Wistar-Kyoto-Ratten kaum reagierten (57).

Unsere Versuche mit S(-)-BayK8644 an Interlobararterien von SHR ergaben sehr unterschiedliche Gefäßantworten auf den Kalziumkanalöffner. Ein großer Teil der untersuchten Arterienringe konstringierte bei der schrittweisen S(-)-BayK8644-Applikation konzentrationsabhängig. Andererseits gab es in jeder Vorbehandlungsgruppe Gefäße, die zwar adäquat auf die Depolarisation mit kaliumreicher Badlösung und adäquat auf Vasopressin, aber nicht auf S(-)-BayK8644 reagierten. Eine Studie an isolierten afferenten Arteriolen ergab ähnliche Befunde. Diese Gefäße konstringierten nach der Erhöhung der Kaliumkonzentration im Organbad (24). Die Gabe von Kalziumkanalantagonisten konnte die Gefäßantworten auf die Depolarisation des Membranpotentials dosisabhängig hemmen (24). Gegenüber S(-)-BayK8644 zeigten die untersuchten Gefäßsegmente dennoch keinerlei Reaktionen (24).

Beim Vergleich der Arteriensegmente, die mit einer konzentrationsabhängigen Vasokonstriktion auf die Gabe von S(-)-BayK8644 reagiert hatten, konnten wir nach neonataler Sympathektomie keine verminderten Kontraktionsantworten gegenüber den Kontrollgruppen feststellen. Die S(-)-BayK8644-Sensitivität der Gefäße sympathektomierter und Hydralazin-behandelter SHR, also der Tiere mit niedrigerem Blutdruck, war größer als nach Scheinbehandlung. Die maximal entwickelte Wandspannung tendierte in diesen beiden Gruppen zu höheren Werten, ohne dass die beobachteten Unterschiede eine statistische Signifikanz erreichten. Die Ergebnisse dieses Experiments lassen sich möglicherweise dahingehend interpretieren, dass die Expression der L-Typ-Kalziumkanäle bei sympathektomierten und Hydralazin-behandelten SHR im Vergleich zu den scheinbehandelten Tieren gesteigert ist. Ob die erhobenen Befunde spezifische Auswirkungen der Sympathektomie und der Hydralazin-Behandlung darstellen oder ob es sich um einen Effekt der Blutdrucksenkung handelt, bleibt dabei ungeklärt.

Weiterhin werfen die durchgeführten Experimente die Frage auf, ob ein Zusammenhang zwischen der erhöhten S(-)-BayK8644-Sensitivität der distalen Interlobararterien sympathektomierter SHR und der vermehrten Spannungsentwicklung dieser Gefäßsegmente nach der Gabe von Endothelin-1 besteht.

Endothelin-1 bindet auf der Oberfläche glatter Gefäßmuskelzellen hauptsächlich an ET_A-Rezeptoren, über die eine Steigerung der intrazellulären Kalziumkonzentration vermittelt wird (75). Dieser Prozess beinhaltet die Mobilisierung intrazellulär gespeicherten Kalziums und die Aktivierung verschiedener Kalziumkanäle (75). An den distalen Interlobararterien sympathektomierter SHR könnte die erhöhte Reaktivität gegenüber S(-)-BayK8644 und gegenüber Endothelin-1 durch eine vermehrte Expression der L-Typ-Kalziumkanäle bedingt sein.

Einen Einfluss der neonatalen Sympathektomie auf die Sensitivität der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion gegenüber extrazellulärem Kalzium haben wir an den distalen Interlobararterien der SHR nicht beobachtet. Die gesteigerte Empfindlichkeit der untersuchten Gefäße gegenüber einem spezifischen Öffner der L-Typ-Kalziumkanäle, welche nach Sympathektomie und nach Hydralazin-Behandlung festzustellen war, spiegelt sich somit nicht in der Kalziumabhängigkeit der Gefäßantworten auf Noradrenalin wider. Sie wird möglicherweise durch Veränderungen anderer Komponenten des Noradrenalin-induzierten Kalziumeinstroms kompensiert. Denkbar wären in diesem Zusammenhang ein gesteigerter Fluss durch rezeptorabhängige oder speicherabhängige Kalziumkanäle sowie Modifikationen in der Signaltransduktion zwischen dem α_1 -Adrenorezeptor und den verschiedenen Kalziumkanälen (10, 66).

An den afferenten Arteriolen spontan hypertensiver Ratten wurde eine stärkere Mobilisierung intrazellulär gespeicherten Kalziums durch Noradrenalin beobachtet als an den entsprechenden Gefäßen von Wistar-Kyoto-Ratten (67).

Mit der Methode der Small-Vessel-Myographie war nicht beurteilbar, inwieweit die neonatale Sympathektomie bei SHR die Kalziumfreisetzung aus den intrazellulären Speichern in der Gefäßmuskulatur der distalen Interlobararterien beeinflusst.

4.4 Endothelunabhängige und endothelvermittelte Vasodilatation

Die verminderte Fähigkeit der renalen Arterien spontan hypertensiver Ratten zur Vasodilatation kann ebenso wie deren verstärkte Vasokonstriktion an der Entstehung der arteriellen Hypertonie dieser Tiere beteiligt sein (14). In der vierten Versuchsreihe dieser Arbeit wurde deshalb getestet, ob neonatale Sympathektomie bei SHR dazu führt, dass die distalen Interlobararterien stärker dilatieren als nach Scheinbehandlung.

Endothelunabhängige Vasodilatation

Eine Möglichkeit, die Vasodilatation an isolierten Gefäßsegmenten zu untersuchen, ist die Gabe von Nitroprussidnatrium nach vorheriger Applikation eines vasokonstriktorisch wirkenden Agonisten. Nitroprussidnatrium wird im Blutgefäßsystem unter Freisetzung von Stickstoffmonoxid metabolisiert und löst eine von der Endothelfunktion unabhängige Vasodilatation aus (55, 72). Das aus Nitroprussidnatrium gebildete NO aktiviert die lösliche Guanylatzyklase der glatten Gefäßmuskulatur, die daraufhin zyklisches Guanosinmonophosphat produziert (72). Dieses zyklische Nukleotid bewirkt direkt und über die Aktivierung der Proteinkinase G eine Senkung der intrazellulären Kalziumkonzentration sowie eine Kalzium-Desensitivierung der kontraktilen Proteine, was zur Relaxation der glatten Muskulatur führt (72). An Rattenschwanzarterien konnte gezeigt werden, dass die vasodilatatorische Wirkung des aus Nitroprussidnatrium freigesetzten Stickstoffmonoxids zum Teil auf einer Aktivierung der Einwärtsgleichrichter-Kaliumkanäle und einer Hyperpolarisation des Membranpotentials beruht (71).

In vergleichenden Untersuchungen zu den Reaktionen von SHR und WKY auf Stickstoffdonatoren wurden ähnliche Gefäßantworten (58) oder eine bei SHR vermehrte (29) Relaxation isolierter Mesenterialgefäße (29) bzw. perfundierter mesenterialer Gefäßbetten (58) beschrieben.

Die von uns untersuchten distalen Interlobararteriensegmente spontan hypertensiver Ratten zeigten nach Vorkontraktion mit Vasopressin in allen drei

Behandlungsgruppen eine fast identische Relaxation. Dieser Befund deutet auf gleichartige Antworten der glatten Gefäßmuskelzellen sympathektomierter und scheinbehandelter SHR gegenüber Stickstoffmonoxid hin.

In Experimenten an akut sympathektomierten WKY reagierten zerebrale Arterien ebenfalls ähnlich auf Vasopressin-Vorkontraktion und anschließende Vasodilatation mit Nitroprussidnatrium wie die der Kontrolltiere (65). An mesenterialen Widerstandsarterien beobachteten die Autoren nach Vorkontraktion mit Noradrenalin jedoch nach Sympathektomie eine geringere Vasodilatation als ohne Vorbehandlung (65). Inwiefern dieses Resultat durch verschiedene Vorkontraktionsspannungen auf Grund einer Katecholamin-Supersensitivität der sympathektomierten Tiere bedingt sein könnte, wurde nicht beschrieben.

Endothelvermittelte Vasodilatation

Bis dato ist nicht endgültig geklärt, in welchem Zusammenhang die endotheliale Dysfunktion und die damit einhergehende verminderte Fähigkeit zur Vasodilatation mit der Entwicklung einer genetisch bedingten arteriellen Hypertonie stehen. Zum einen wurde bei normotensiven Nachkommen hypertensiver Eltern eine eingeschränkte Endothelfunktion beobachtet (64). Sie könnte daher als ein erblicher Faktor an der Entstehung des essentiellen Bluthochdrucks beteiligt sein (64). Andererseits ist aber die endothelabhängige, mit Acetylcholin ausgelöste Vasodilatation auch bei Goldblatt-hypertonen Sprague-Dawley-Ratten und bei Patienten mit sekundärer Hypertonie deutlich vermindert (64, 74). Die Einschränkung der endothelvermittelten Vasodilatation bei diesen Individuen ohne genetische Veranlagung zur Entwicklung eines Bluthochdrucks deutet auf eine Endothelschädigung als Folge der arteriellen Hypertonie hin (64, 74).

Isolierte Mesenterialarterien der genetisch hypertensiven SHR reagierten in einer Studie zur endothelvermittelten Vasodilatation nach Vorkontraktion mit Vasopressin ähnlich auf Acetylcholin wie die entsprechenden Gefäße der normotensiven Wistar-Kyoto-Ratten (44). Nach Vorkontraktion mit Noradrenalin wurden für spontan hypertensive Ratten geringere Acetylcholin-induzierte Relaxationen renaler und mesenterialer Arteriensegmente beschrieben als für WKY (14, 29, 43, 44).

Es ist denkbar, dass eine derartige Verminderung der endothelvermittelten Vasodilatation an der Pathogenese des Bluthochdrucks bei SHR beteiligt ist.

Vor diesem Hintergrund wurden unsere Experimente zur endothelabhängigen Vasodilatation mit Acetylcholin durchgeführt. Acetylcholin bewirkt durch die Aktivierung der Stickstoffmonoxidsynthase und der Zyklooxygenase in den Endothelzellen eine gesteigerte Produktion der endogenen Vasodilatoren NO und Prostazyklin (25, 72). Außerdem setzt es den „Endothelium-derived hyperpolarizing factor“ (EDHF) frei (25). Es handelt sich dabei um eine Substanz, die ebenfalls vasodilatierend wirkt, indem sie das Membranpotential der glatten Muskelzellen hyperpolarisiert (25). Hypothesen zur Natur des EDHF beinhalten Epoxide der Arachidonsäure, das der Arachidonsäure ähnelnde Anandamid, vom Endothel freigesetzte Kaliumionen, reaktive Sauerstoffspezies, Kohlenstoffmonoxid und die elektrische Kopplung zwischen Endothelzellen und glatten Muskelzellen über „Gap junctions“ (9, 25). Nach den Ergebnissen jüngerer Studien scheint in mesenterialen und renalen Arterien sowie in der Arteria saphena von Ratten eine Beteiligung letztgenannter myoendothelialer „Gap junctions“ an der EDHF-Wirkung wahrscheinlich (31, 68, 69). Eine durch das Öffnen Kalzium-aktivierter Kaliumkanäle ausgelöste Hyperpolarisation der Endothelzellen wird offenbar durch diese Strukturen auf die glatten Gefäßmuskelzellen übertragen (31, 68, 69). Die genauen Wirkmechanismen des „Endothelium-derived hyperpolarizing factor“ sind bislang jedoch ungewiss.

In unseren Versuchen zur endothelvermittelten Vasodilatation konnten wir initial eine Acetylcholin-Sensitivität der distalen Interlobararterien beobachten, die bei sympathektomierten SHR im Vergleich zur Hydralazin-Behandlung geringfügig, aber dennoch statistisch signifikant gesteigert war. Bei der Wiederholung des Experiments mit 14 bzw. 15 Gefäßen pro Vorbehandlungsgruppe ließ sich dieser Unterschied in der Empfindlichkeit der Arteriensegmente gegenüber Acetylcholin nicht bestätigen. Die neonatale Sympathektomie der spontan hypertensiven Ratten führte somit an ihren proximalen renalen Widerstandsgefäßen nicht zu wesentlichen Veränderungen der endothelabhängigen Vasodilatation.

Die differierenden Ergebnisse der zwei Versuchsreihen zur Acetylcholin-induzierten Relaxation sind wahrscheinlich nicht auf verschieden starke Vorkontraktionen zurückzuführen, denn diese betragen in allen Experimenten zur Vasodilatation möglichst genau 60 % der Depolarisations-induzierten Wandspannung.

Neben der Überprüfung des zunächst beobachteten Gruppenunterschiedes in der Acetylcholinsensitivität diente das zweite Experiment zur endothelvermittelten Vasodilatation dazu, mögliche Differenzen zwischen den Relaxationsmechanismen in den drei Vorbehandlungsgruppen zu charakterisieren. Es fanden Untersuchungen dazu statt, ob die anfänglich verschieden große Empfindlichkeit der Gefäßsegmente gegenüber Acetylcholin auf einer unterschiedlichen Aktivität der Stickstoffmonoxidsynthase oder der Zyklooxygenase beruhen kann.

Zunächst wurde die Stickstoffmonoxidsynthase der Gefäßsegmente blockiert. Hierfür diente N-Nitro-L-Arginin-Methylester, ein strukturelles Analogon ihres Substrats L-Arginin. Die Acetylcholin-induzierte Vasodilatation der Arteriensegmente wurde durch die Inkubation mit L-NAME erwartungsgemäß geringer, ohne dass Unterschiede zwischen den Vorbehandlungsgruppen auftraten.

Es finden sich zahlreiche Hinweise darauf, dass die Blockade der Stickstoffmonoxidsynthase die Vasodilatation der Mesenterialarterien bei SHR stärker als bei WKY beeinträchtigt (29, 43, 44). Stickstoffmonoxid besitzt scheinbar bei dem hypertensiven Stamm eine größere Bedeutung für die endothelvermittelte Relaxation der Gefäßmuskulatur. Befunde, die diese Folgerung unterstützen, sind die verstärkte Aktivität der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthase im Herzen, in den Nieren und in den Mesenterialarterien spontan hypertensiver Ratten sowie höhere Plasmaspiegel des NO-Stoffwechselproduktes Nitrat bei SHR im Vergleich zu WKY (52). Die gesteigerte NO-Produktion der SHR verläuft direkt proportional zur Entwicklung des Bluthochdrucks dieser Tiere (52). Andere Autoren beobachteten dagegen bereits bei juvenilen, prähypertensiven SHR eine gesteigerte Stickstoffmonoxidsynthase. Sie fanden bei drei Wochen alten Tieren eine erhöhte Nitrat- und Nitrit-Ausscheidung im Urin sowie eine vermehrte Expression der endothelialen und der induzierbaren NO-Synthase in der Niere und in der thorakalen Aorta (82). Die neuronale NO-Synthase, als in der Niere dominierende Isoform

des Enzyms, wird von den Tubuluszellen des Nierenmarks bei spontan hypertensiven Ratten ebenfalls stärker exprimiert wird als bei Wistar-Kyoto-Ratten (12). Bei der in verschiedenen Geweben der SHR gesteigerten Stickstoffmonoxid-Produktion könnte es sich eventuell um einen der arteriellen Hypertonie entgegenwirkenden Kompensationsmechanismus handeln.

Die Ergebnisse unserer Versuche zur endothelvermittelten Vasodilatation unter Hemmung der Stickstoffmonoxidsynthase sprechen dafür, dass die neonatale Sympathektomie sich nicht auf die Bedeutung des NO für die Relaxation der distalen Interlobararterien spontan hypertensiver Ratten auswirkt.

Der zweite Weg, über den Acetylcholin eine endothelvermittelte Vasodilatation auslösen kann, ist die Freisetzung von Prostazyklin durch die Aktivierung der Zyklooxygenase (72). In einem dritten Teilversuch des Experiments zur endothelabhängigen Vasodilatation hemmten wir dieses Enzym mit dem nichtselektiven Zyklooxygenase-Inhibitor Indomethacin. Die kombinierte Gabe von L-NAME und Indomethacin konnte die Acetylcholin-induzierte Vasodilatation im Vergleich zu alleiniger L-NAME-Applikation nicht vermindern, sondern förderte sie. Die mit Vasopressin erzeugte Vorkontraktionsspannung war nach gleichzeitiger Inkubation mit L-NAME und Indomethacin kleiner als wenn dem Organbad L-NAME allein oder kein Inhibitor zugesetzt wurde. Gruppenunterschiede in der Indomethacin-Wirkung und somit ein Einfluss der neonatalen Sympathektomie auf die Zyklooxygenase-Aktivität in den untersuchten Gefäßsegmenten waren nicht feststellbar.

Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass Indomethacin die Synthese eines von der Zyklooxygenase produzierten, vasokonstriktorisch wirkenden Faktors hemmt. Bei einem derartigen endothelialen Konstriktionsfaktor kann es sich um den „Endothelium-derived contracting factor“ handeln. Verschiedene Autoren beobachteten die Wirkung dieser Substanz bei myographischen Untersuchungen der endothelvermittelten Vasodilatation an renalen und mesenterialen Arteriensegmenten spontan hypertensiver Ratten (14, 29, 44). Für hohe Acetylcholin-Konzentrationen des Organbades (10^{-7} - 10^{-6} mol/l) beschrieben sie ein Umschlagen der Relaxation in eine Vasokonstriktion, das durch den Zusatz von Indomethacin

verhindert werden konnte (14, 29, 44). Experimente mit spezifischen Rezeptorantagonisten ergaben, dass es sich bei diesem Konstriktionsfaktor in den distalen Interlobararterien der SHR-Niere um Prostaglandin H₂ oder Thromboxan A₂ handeln kann (14).

In unseren Versuchen zur endothelvermittelten Vasodilatation mit Acetylcholin-Konzentrationen bis zu 10⁻⁵ mol/l in der Badlösung wurden für die Gefäße aller Behandlungsgruppen auch ohne Indomethacin-Zusatz sigmoidale Konzentrations-Wirkungs-Kurven erstellt. Eine Abnahme der Relaxation oder eine Zunahme der Wandspannung konnten wir mit hohen Acetylcholin-Konzentrationen nicht auslösen. Bei den Beobachtungen der anderen Arbeitsgruppen könnte es sich um spezifische Effekte des zur Vorkontraktion verwendeten Noradrenalins handeln. Nach Vasopressin-Vorkontraktion und ausgehend vom Ruhezustand der Arterien wurden keine konstriktorischen Gefäßantworten auf Acetylcholin beschrieben (44).

Die von uns untersuchten Gefäßsegmente reagierten auch dann mit einer deutlichen Vasodilatation auf Acetylcholin, wenn die Zyklooxygenase und die NO-Synthase gleichzeitig inhibiert wurden. Dies deutet auf das Vorhandensein eines Faktors mit vasodilatierender Wirkung hin, der endothelvermittelt, aber unabhängig von den beiden gehemmten Enzymen produziert wird.

Knockout-Mäuse, die keine Gene für die endotheliale NO-Synthase oder für die cGMP-abhängige Proteinkinase Typ I besitzen und zusätzlich mit Indomethacin behandelt wurden, reagieren auf eine lokale Acetylcholin-Gabe mit einer Dilatation ihrer Widerstandsgefäße (38). Auch diese Beobachtung spricht für das Vorhandensein eines mit Acetylcholin aktivierbaren, Stickstoffmonoxid- und Zyklooxygenase-unabhängigen, vasodilatierenden Faktors (38). Eine Substanz mit den genannten Merkmalen ist der „Endothelium-derived hyperpolarizing factor“, der nach der Gabe von Acetylcholin oder Bradykinin von den Endothelzellen freigesetzt wird und der das Membranpotential der Gefäßmuskelzellen hyperpolarisiert (25). Eine nähere Charakterisierung des vasodilatierend wirkenden EDHF ist anhand der von uns durchgeführten Untersuchungen nicht möglich. Seine Bildung wird an den distalen Interlobararterien spontan hypertensiver Ratten durch neonatale Sympathektomie wahrscheinlich nicht gefördert.

Die Hauptaussagen aller zur Vasodilatation durchgeführten Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen. Neonatale Sympathektomie bewirkt bei spontan hypertensiven Ratten keine verstärkte endothelunabhängige Vasodilatation der proximalen renalen Widerstandsgefäße. Konstriktions- und Relaxationsfaktoren, welche durch Acetylcholin aus den distalen Interlobararterien freigesetzt werden, haben bei sympathektomierten und scheinbehandelten SHR gleichartige Auswirkungen. Die Blutdrucksenkung, die bei spontan hypertensiven Ratten durch neonatale Sympathektomie ausgelöst wird, beruht somit wahrscheinlich nicht auf einer vergrößerten Vasodilatationsfähigkeit der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Gefäßsegmente.

4.5 Resümee und Ausblick

Mit Hilfe der Small-Vessel-Myographie wurden die Reaktionen distaler Interlobararteriensegmente von sympathektomierten und scheinbehandelten spontan hypertensiven Ratten auf vasokonstriktorisch und vasodilatatorisch wirkende Agonisten untersucht. Mit den durchgeführten Versuchen gelang es jedoch nicht, funktionelle Veränderungen an den proximalen renalen Widerstandsgefäßen zu charakterisieren, die bei den SHR durch neonatale Sympathektomie hervorgerufen werden und die in einem physiologischen Zusammenhang mit der dadurch induzierten Blutdrucksenkung stehen könnten.

Deshalb sind weitere Untersuchungen nötig, um die Mechanismen zu identifizieren, die an der chronisch antihypertensiven Wirkung der Nierentransplantate sympathektomierter SHR beteiligt sind. In diesem Zusammenhang ist eine nach Sympathektomie verringerte Sensitivität der untersuchten Arteriensegmente gegenüber Angiotensin II denkbar. Ebenso käme eine verminderte Mobilisierbarkeit des in den glatten Gefäßmuskelzellen gespeicherten Kalziums in Betracht. Die Senkung des renalen Gefäßwiderstandes durch neonatale Sympathektomie könnte auch stärker auf strukturellen Veränderungen der proximalen Widerstandsgefäße im Sinne erweiterter Lumina als auf Unterschieden in der kontraktilen Gefäßfunktion beruhen.

Weiterhin ist es möglich, dass sich die Auswirkungen der neonatalen Sympathektomie auf die renale Durchblutung spontan hypertensiver Ratten hauptsächlich an anderen Gefäßen als den distalen Interlobararterien manifestieren. Dabei könnten vor allem kleine, präglomeruläre Widerstandsgefäße wie die afferenten Arteriolen sowie die Blutgefäße des Nierenmarks von besonderer Bedeutung sein (47, 52, 53).

5 Zusammenfassung

Den Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit bilden Versuche, in denen bei spontan hypertensiven Ratten durch neonatale Sympathektomie eine Senkung des arteriellen Mitteldrucks hervorgerufen wurde (16). Durch Nierentransplantation und bilaterale Nephrektomie konnte diese Blutdrucksenkung auf bis dahin unbehandelte Empfängertiere übertragen werden (16). Der renale Gefäßwiderstand der sympathektomierten SHR war dabei im Vergleich zu scheinbehandelten Kontrolltieren reduziert (16).

Das Ziel der von uns durchgeführten Studie war es deshalb, mögliche Veränderungen in der Funktionsweise arterieller, renaler Widerstandsgefäße zu charakterisieren, die bei spontan hypertensiven Ratten an der Blutdrucksenkung durch neonatale Sympathektomie beteiligt sein können.

Mit der Methode der Small-Vessel-Drahtmyographie wurde dazu das Konstriktions- und Dilatationsverhalten isolierter Segmente der distalen Interlobararterien *ex vivo* untersucht. Diese Gefäße entsprechen mit einem Durchmesser von etwa 150 μm den proximalen renalen Widerstandsarterien der spontan hypertensiven Ratten. Das Untersuchungsmaterial ist männlichen SHR im Alter von 12 Wochen entnommen worden. Die Tiere waren bis dahin einem von drei Vorbehandlungsschemata zugeordnet. Sie wurden entweder neonatal sympathektomiert, schein-sympathektomiert und mit Hydralazin antihypertensiv behandelt oder ausschließlich schein-sympathektomiert.

Die entnommenen, isolierten Segmente der renalen Widerstandsgefäße wurden zunächst hinsichtlich ihrer Antwort auf die Depolarisation des Membranpotentials untersucht. Diese bestand in allen Vorbehandlungsgruppen aus einer Vaso-konstriktion ähnlichen Ausmaßes.

Kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die physiologischen Vaso-konstriktoren Noradrenalin, Vasopressin und Endothelin-1 ergaben keine verminderte Reaktivität der distalen Interlobararterien nach Sympathektomie. Die Gefäß-

segmente der sympathektomierten SHR verhielten sich supersensitiv gegenüber Noradrenalin und konstringierten nach Endothelin-1-Gabe stärker als die entsprechenden Gefäße der scheinbehandelten Tiere.

Die Empfindlichkeit der Noradrenalin-induzierten Vasokonstriktion gegenüber extrazellulärem Kalzium war in der sympathektomierten Gruppe und bei den Kontrolltieren gleich groß. Auf die Aktivierung der L-Typ-Kalziumkanäle mit S(-)-BayK8644 reagierten die untersuchten Arterienabschnitte nach Sympathektomie und nach Hydralazin-Behandlung sensitiver als nach alleiniger Scheinbehandlung.

Die endothelvermittelte, mit Acetylcholin ausgelöste Vasodilatation und die endothelunabhängige Relaxation der distalen Interlobararterien mit Nitroprussidnatrium zeigten bei den Tieren aller Vorbehandlungsgruppen ähnliche Ausmaße. Versuche mit L-NAME und Indomethacin stehen im Einklang mit Befunden, die auf die Existenz eines endothelialen, Zykllooxygenase-abhängigen Konstriktionsfaktors und auf das Vorhandensein eines endothelialen, Zykllooxygenase- und Stickstoffmonoxidsynthase-unabhängigen relaxatierend wirkenden Faktors hindeuten. Die Wirkungen dieser Faktoren in den untersuchten Gefäßsegmenten der SHR wurden durch die neonatale Sympathektomie nicht beeinflusst.

Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die Senkung des renalen Gefäßwiderstandes nach neonataler Sympathektomie bei SHR wahrscheinlich nicht auf einer geringeren Reaktivität der distalen Interlobararterien gegenüber den untersuchten Vasokonstriktoren, nicht auf einer vergrößerten Fähigkeit dieser Gefäße zur Vasodilatation und nicht auf einem verminderten Einfluss extrazellulärer Kalziumionen auf die Vasokonstriktion beruht.

In den durchgeführten Versuchen waren keine Veränderungen in der Funktion der proximalen renalen Widerstandsgefäße nachweisbar, die zur Erklärung der anti-hypertensiven Wirkung der Nierentransplantate sympathektomierter spontan hypertensiver Ratten herangezogen werden können.

6 Literaturverzeichnis

1. **Bang L, Nielsen-Kudsk JE, Gruhn N, Trautner S, Theilgaard SA, Olesen S-P, Boesgaard S, Aldershvile J.** Hydralazine-induced vasodilation involves opening of high conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels. *Eur J Pharmacol* 361: 43 - 49, 1998.
2. **Bund SJ.** Contractility of resistance arteries of spontaneously hypertensive rats related to their media : lumen ratio. *J Hypertens* 18: 1223 - 1231, 2000.
3. **Daemen MJAP, De Mey JGR.** Regional heterogeneity of arterial structural changes. *Hypertension* 25: 464 - 473, 1995.
4. **Damon DH.** Sympathetic innervation promotes vascular smooth muscle differentiation. *Am J Physiol* 288: H2785 - H2791, 2005.
5. **Dao HH, Lemay J, de Champlain J, deBlois D, Moreau P.** Norepinephrine-induced aortic hyperplasia and extracellular matrix deposition are endothelin-dependent. *J Hypertens* 19: 1965 - 1973, 2001.
6. **Dao HH, Martens FMAC, Larivière R, Yamaguchi N, Cernacek P, de Champlain J, Moreau P.** Transient involvement of endothelin in hypertrophic remodeling of small arteries. *J Hypertens* 19: 1801 - 1812, 2001.
7. **Deutsche Liga zur Bekämpfung des hohen Blutdrucks e. V. (Deutsche Hochdruckliga) [Hrsg.]**. Leitlinien für die Prävention, Erkennung, Diagnostik und Therapie der arteriellen Hypertonie. Heidelberg, 2003.
8. **DiBona GF, Kopp UC.** Neural control of renal function. *Physiol Rev* 77: 75 - 197, 1997.
9. **Doughty JM, Plane F, Langton PD.** Charybdotoxin and apamin block EDHF in rat mesenteric artery if selectively applied to the endothelium. *Am J Physiol* 276: H1107 - H1112, 1999.

10. **Facemire CS, Arendshorst WJ.** Calmodulin mediates norepinephrine-induced receptor-operated calcium entry in preglomerular resistance arteries. *Am J Physiol* 289: F127 - F136, 2005.
11. **Feng JJ, Arendshorst WJ.** Calcium signaling mechanisms in renal vascular responses to vasopressin in genetic hypertension. *Hypertension* 30: 1223 - 1231, 1997.
12. **Fernández AP, Serrano J, Castro S, Salazar FJ, López JC, Rodrigo J, Nava E.** Distribution of nitric oxide synthases and nitrotyrosine in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 21: 2375 - 2388, 2003.
13. **Fink GD.** Hypothesis: The systemic circulation as a regulated free market-economy. A new approach for understanding the long-term control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32: 377 - 383, 2005.
14. **Fu-Xiang D, Skopec J, Diederich A, Diederich D.** Prostaglandin H₂ and Thromboxane A₂ are contractile factors in intrarenal arteries of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 19: 795 - 798, 1992.
15. **Goldstein DS, Irwin JK.** The autonomic nervous system and catecholamines in normal blood pressure control and in hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnoses, and Management*, edited by Laragh JH and Brenner BM. New York: Raven Press, Ltd., 1990, p. 711 - 747.
16. **Grisk O, Heukäufer M, Steinbach A, Gruska S, Rettig R.** Analysis of arterial pressure regulating systems in renal posttransplantation hypertension. *J Hypertens* 22: 199 - 207, 2004.
17. **Grisk O, Klötting I, Exner J, Spiess S, Schmidt R, Junghans D, Lorenz G, Rettig R.** Long-term arterial pressure in spontaneously hypertensive rats is set by the kidney. *J Hypertens* 20: 131 - 138, 2002.
18. **Grisk O, Rettig R.** Interactions between the sympathetic nervous system and the kidneys in arterial hypertension. *Cardiovasc Res* 61: 238 - 246, 2004.

19. **Grisk O, Rose H-J, Lorenz G, Rettig R.** Sympathetic-renal interaction in chronic arterial pressure control. *Am J Physiol* 283: R441 - R450, 2002.
20. **Guidi E, Menghetti D, Milani S, Montagnino G, Palazzi P, Bianchi G.** 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: 1131 - 1138, 1996.
21. **Gurbanov K, Rubinstein I, Hoffman A, Abassi Z, Better OS, Winaver J.** Differential regulation of renal regional blood flow by endothelin-1. *Am J Physiol* 271: F1166 - F1172, 1996.
22. **Guyton AC, Hall JE, Coleman TG, Manning R, Jr.** The dominant role of the kidneys in the long-term regulation of arterial pressure in normal and hypertensive states. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnoses, and Management*, edited by Laragh JH and Brenner BM. New York: Raven Press, Ltd., 1990, p. 1029 - 1052.
23. **Hansen FH, Vågnes ØB, Iversen BM.** Enhanced response to AVP in the interlobular artery from the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol* 288: F1023 - F1031, 2005.
24. **Hansen PB, Jensen BL, Andreassen D, Skøtt O.** Differential expression of T- and L-type voltage-dependent calcium channels in renal resistance vessels. *Circ Res* 89: 630 - 638, 2001.
25. **Hecker M.** Endothelium-derived hyperpolarising factor - fact or fiction? *News Physiol Sci* 15: 1 - 5, 2000.
26. **Hermsmeyer K, Rusch NJ.** Calcium channel alterations in genetic hypertension. *Hypertension* 14: 453 - 456, 1989.

27. **Holtz J.** Peripheral circulation: fundamental concepts, comparative aspects of control in specific vascular sections, and lymph flow. In: *Comprehensive Human Physiology*, edited by Greger R and Windhorst U. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1996, p. 1865 - 1915.
28. **Hughes JM, Bund SJ.** Influence of experimental reduction of arterial media : lumen ratio on agonist-stimulated contractions in hypertension. *J Hypertens* 22: 519 - 527, 2004.
29. **Jameson M, Fu-Xiang D, Lüscher T, Skopec J, Diederich A, Diederich D.** Endothelium-derived contracting factors in resistance arteries of young spontaneously hypertensive rats before development of overt hypertension. *Hypertension* 21: 280 - 288, 1993.
30. **Johnson EM, Jr., O'Brien F, Werbitt R.** Modification and characterization of the permanent sympathectomy produced by the administration of guanethidine to newborn rats. *Eur J Pharmacol* 37: 45 - 54, 1976.
31. **Karagiannis J, Rand M, Li C-G.** Role of gap junctions in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated vasodilation in rat renal artery. *Acta Pharmacol Sin* 25: 1031 - 1037, 2004.
32. **Karam H, Heudes D, Bruneval P, Gonzales M-F, Löffler B-M, Clozel M, Clozel J-P.** Endothelin antagonism in end-organ damage of spontaneously hypertensive rats. Comparison with angiotensin-converting enzyme inhibition and calcium antagonism. *Hypertension* 28: 379 - 385, 1996.
33. **Kato T, Kassab S, Wilkins FCJ, Kirchner KA, Keiser J, Granger JP.** Endothelin antagonists improve renal function in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 25: 883 - 887, 1995.
34. **Kearny MK, Whelton M, Reynolds K, Whelton PK, He J.** Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *J Hypertens* 22: 11 - 19, 2004.

35. **Klaus D.** Arterielle Hypertonie. State of the Art. In: *Arterielle Hypertonie* (4 ed.), edited by Rosenthal J and Kolloch R. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 2004, p. 3 - 20.
36. **Knowles HJ, Tian Y-M, Mole DR, Harris AL.** Novel mechanism of action for hydralazine. Induction of hypoxia-inducible factor-1 α , vascular endothelial growth factor, and angiogenesis by inhibition of prolyl hydroxylases. *Circ Res* 95: 162 - 169, 2004.
37. **Koizumi K.** The role of the hypothalamus in neuroendocrinology. In: *Comprehensive Human Physiology*, edited by Greger R and Windhorst U. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1996, p. 397 - 401.
38. **Köppen M, Feil R, Siegl D, Feil S, Hofmann F, Pohl U, de Wit C.** cGMP-dependent protein kinase mediates NO- but not acetylcholine-induced dilations in resistance vessels in vivo. *Hypertension* 44: 1 - 4, 2004.
39. **Korner P, Bobik A, Oddie C, Friberg P.** Sympathoadrenal system is critical for structural changes in genetic hypertension. *Hypertension* 22: 243 - 252, 1993.
40. **Kurtz TW, St Lezin EM, Pravenec M.** Development of hypertension strains, Genetic models of hypertension. In: *Textbook of Hypertension*, edited by Swales JD. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna: Blackwell Scientific Publications, 1994, p. 441 - 447.
41. **Lee RMKW, Borkowski KR, Leenen FHH, Tsoporis J, Coughlin MD.** Combined effect of neonatal sympathectomy and adrenal demedullation on blood pressure and vascular changes in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 69: 714 - 721, 1991.
42. **Lee RMKW, Triggle CR, Cheung DWT, Coughlin MD.** Structural and functional consequence of neonatal sympathectomy on the blood vessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 10: 328 - 338, 1987.

43. **Li J, Bian K, Bukoski RD.** A non-cyclo-oxygenase, non-nitric oxide relaxing factor is present in resistance arteries of normotensive but not spontaneously hypertensive rats. *Am J Med Sci* 307: 7 - 14, 1994.
44. **Li J, Bukoski RD.** Endothelium-dependent relaxation of hypertensive resistance arteries is not impaired under all conditions. *Circ Res* 72: 290 - 296, 1993.
45. **Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle C.** Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 34: 724 - 728, 1999.
46. **Martens JR, Gelband CH.** Alterations in rat interlobar artery membrane potential and K⁺ channels in genetic hypertension. *Circ Res* 79: 295 - 301, 1996.
47. **Mattson DL.** Importance of the renal medullary circulation in the control of sodium excretion and blood pressure. *Am J Physiol* 284: R13 - R27, 2003.
48. **Mills E, Bruckert JW, Smith PG.** Development of adrenergic and nonadrenergic pressor mechanisms in rats sympathectomized from birth. *J Pharmacol Exp Ther* 238: 1014 - 1020, 1986.
49. **Mulvany MJ.** Structural changes in the resistance vessels in human hypertension. In: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnoses, and Management* (2 ed.), edited by Laragh JH and Brenner BM. New York: Raven Press, Ltd., 1995, p. 503 - 513.
50. **Mulvany MJ, Halpern W.** Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res* 41: 19 - 26, 1977.
51. **Mulvany MJ, Nyborg N.** An increased calcium sensitivity of mesenteric resistance vessels in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol* 71: 585 - 596, 1980.

52. **Nava E, Salazar FJ, Lüscher TF.** Endothelial function in hypertension: role of nitric oxide. In: *Endothelial Function in Hypertension*, edited by Webb DJ and Vallance P. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1997, p. 13 - 27.
53. **Nørrelund H, Christensen KL, Samani NJ, Kimber P, Mulvany MJ, Korsgaard N.** Early narrowed afferent arteriole is a contributor to the development of hypertension. *Hypertension* 24: 301 - 308, 1994.
54. **Nyborg NCB, Korsgaard N, Mulvany MJ.** Neonatal sympathectomy of normotensive Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats with 6-Hydroxydopamine: effects on resistance vessel structure and sensitivity to calcium. *J Hypertens* 4: 455 - 461, 1986.
55. **Oates JA, Brown NJ.** Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In: *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics* (10 ed.), edited by Hardman JG, Limbird LE and Goodman Gilman A. New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore, Sydney, Toronto: McGraw Hill, 2001, p. 871 - 900.
56. **Picklo MJ.** Methods of sympathetic degeneration and alteration. *J Auton Nerv Syst* 62: 111 - 125, 1997.
57. **Pratt PF, Bonnet S, Ludwig LM, Bonnet P, Rusch NJ.** Upregulation of L-type Ca²⁺ channels in mesenteric and skeletal arteries of SHR. *Hypertension* 40: 214 - 219, 2002.
58. **Qiu HY, Henrion D, Benessioano J, Heymes C, Tournier B, Levy BI.** Decreased flow-induced dilatation and increased production of cGMP in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 32: 1098 - 1103, 1998.
59. **Ralevic V, Burnstock G.** Effects of short- and long-term sympathectomy on vasoconstrictor response of the rat mesenteric arterial bed. *Br J Pharmacol* 119: 1347 - 1354, 1996.

60. **Rapp JP.** A paradigm for identification of primary genetic causes of hypertension in rats. *Hypertension* 5: I-198 - I-203, 1983.
61. **Rettig R, Folberth C, Stauss H, Kopf D, Waldherr R, Unger T.** Role of the kidney in primary hypertension: a renal transplantation study in rats. *Am J Physiol* 258: F606 - F611, 1990.
62. **Rettig R, Grisk O.** The kidney as a determinant of genetic hypertension. Evidence from renal transplantation studies. *Hypertension* 46: 463 - 468, 2005.
63. **Rettig R, Schmitt B, Pelzl B, Speck T.** The kidney and primary hypertension: contributions from renal transplantation studies in animals and humans. *J Hypertens* 11: 883 - 891, 1993.
64. **Rizzoni D.** Endothelial dysfunction in hypertension: fact or fantasy? *J Hypertens* 20: 1479 - 1481, 2002.
65. **Rizzoni D, Perlini S, Mircoli L, Porteri E, Franzelli C, Castellano M, Agabiti Rosei E, Ferrari AU.** Enhanced vascular reactivity in the sympathectomized rat: studies in vivo and in small isolated resistance arteries. *J Hypertens* 18: 1041 - 1049, 2000.
66. **Salomonsson M, Arendshorst WJ.** Effect of tyrosine kinase blockade on norepinephrine-induced cytosolic calcium response in rat afferent arterioles. *Am J Physiol* 286: F866 - F874, 2004.
67. **Salomonsson M, Arendshorst WJ.** Norepinephrine-induced calcium signaling pathways in afferent arterioles of genetically hypertensive rats. *Am J Physiol* 281: F264 - F272, 2001.
68. **Sadow SL, Goto K, Rummery NM, Hill CE.** Developmental changes in myoendothelial gap junction mediated vasodilator activity in the rat saphenous artery. *J Physiol* 556: 875 - 886, 2004.

69. **Sadow SL, Tare M, Coleman HA, Hill CE, Parkington HC.** Involvement of myoendothelial gap junctions in the actions of endothelium-derived hyperpolarizing factor. *Circ Res* 90: 1108 - 1113, 2002.
70. **Schiffrin EL.** Role of endothelin-1 in hypertension. *Hypertension* 34: 876 - 881, 1999.
71. **Schubert R, Krien U, Wulfen I, Schiemann D, Lehmann G, Ulfing N, Veh RW, Schwarz JR, Gagov H.** Nitric oxide donor sodium nitroprusside dilates rat small arteries by activation of inward rectifier potassium channels. *Hypertension* 43: 891 - 896, 2004.
72. **Siegel G.** Vascular smooth muscle. In: *Comprehensive Human Physiology*, edited by Greger R and Windhorst U. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1996, p. 1941 - 1964.
73. **Simon G.** Pathogenesis of structural vascular changes in hypertension. *J Hypertens* 22: 3 - 10, 2004.
74. **Stankevicius E, Martinez AC, Mulvany MJ, Simonson U.** Blunted acetylcholin relaxation and nitric oxide release in arteries from renal hypertensive rats. *J Hypertens* 20: 1571 - 1579, 2002.
75. **Stjernquist M.** Endothelins - vasoactive peptides and growth factors. *Cell Tissue Res* 292: 1 - 9, 1998.
76. **Sundaresan PR, Guarnaccia MM, Izzo JL, Jr.** Adrenal medullary regulation of renal cortical adrenergic receptors. *Am J Physiol* 253: F1063 - F1067, 1987.
77. **Thurston H.** Goldblatt, coarctation and Page experimental models of renovascular hypertension. In: *Textbook of Hypertension*, edited by Swales JD. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna: Blackwell Scientific Publications, 1994, p. 477 - 493.

78. **Touyz RM, Deng L-Y, Li J-S, Schiffrin EL.** Differential effects of vasopressin and endothelin-1 on vascular contractile and calcium responses in pressurized small arteries from spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 14: 983 - 991, 1996.
79. **Trenkner J, Priem F, Bauer C, Neumayer H-H, Raschak M, Hocher B.** Endothelin receptor A blockade reduces proteinuria and vascular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats on high salt diet in a blood-pressure-independent manner. *Clin Sci* 103: 385S - 388S, 2002.
80. **Uyehara CFT, Gellai M.** Impairment of renal function precedes establishment of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 265: R943 - R950, 1993.
81. **Vågnes ØB, Feng JJ, Iversen BM, Arendshorst WJ.** Upregulation of V₁ receptors in renal resistance vessels of rats developing genetic hypertension. *Am J Physiol* 278: F940 - F948, 2000.
82. **Vaziri ND, Ni Z, Oveisi F.** Upregulation of renal and vascular nitric oxide synthase in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 31: 1248 - 1254, 1998.
83. **Webb DJ, Gray GA.** Vascular biology of the endothelin system. In: *Endothelial Function in Hypertension*, edited by Webb DJ and Vallance P. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1997, p. 71 - 90.
84. **Yamori Y, Swales JD.** The spontaneously hypertensive rat, genetic models of hypertension. In: *Textbook of Hypertension*, edited by Swales JD. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna: Blackwell Scientific Publications, 1994, p. 447 - 455.

7 Publikation

Grisk O, Lothar U, Gabriëls G, Rettig R. Influence of neonatal sympathectomy on proximal renal resistance artery function in spontaneously hypertensive rats. *Pflügers Arch – Eur J Physiol* 449: 364 – 371, 2005

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig 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, 22. 05. 2006

Lebenslauf

Persönliche Daten

Ulrike Lothar

geboren am 09. 03. 1981 in Anklam

Schulbildung

1987 – 1992 Karl-Liebknecht-Schule, Anklam

1992 – 1999 Lilienthal-Gymnasium Anklam

Medizinische Ausbildung

1999 – 2005 Medizinstudium an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald

2005 Approbation zur Ärztin

2001 – 2006 Doktorandin am Institut für Physiologie der Ernst-Moritz-
Arndt-Universität Greifswald

Berufliche Tätigkeit

seit 2006 Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin I des
Universitätsklinikums Ulm

Greifswald, 22. 05. 2006

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. R. Rettig möchte dafür danken, dass ich die Möglichkeit erhielt, am Institut für Physiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. O. Grisk für die hervorragende Betreuung, die mir bei der Anfertigung dieser Arbeit jederzeit zuteil wurde.

Frau B. Sturm und Frau E. Schallock danke ich für ihre freundliche Unterstützung bei der Laborarbeit.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. S. Wussow bedanken, in dessen Seminar meine Vorliebe für die Physiologie wuchs und durch den die Kontaktaufnahme mit dem Institut erfolgte.