

**Interaktion von Renin-Angiotensin- und NO-System/ Physiologische
Untersuchungen zur Herz- und Nierenfunktion in AT₂-Rezeptor-
defizienten Mäusen nach L-NAME und DOCA-Salz-Behandlung**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Michael Obst

aus Berlin

März 2004

1. **Gutachter:** Prof. Dr. Irene Zerbst, Freie Universität Berlin
2. **Gutachter:** Dr. med. habil. Volkmar Groß, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin

Disputation am 27.04.2004

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	I
Eine Maus = keine Maus: Der Tierversuch – eine Gewissensfrage?	II
1 EINLEITUNG	1
1.1 Risikofaktor Hypertonus	1
1.1.1 Blutdruckhöhe und Morbidität	1
1.2 Ursachen des Bluthochdrucks	2
1.3 Problemfall Essentielle Hypertonie	5
1.4 Wirkmechanismen und Regelkreise lang- und kurzfristiger Blutdruckregulation	6
1.4.1 Kurzzeitregulation	7
1.4.1.1 Pressorezeptorenreflex	7
1.4.1.2 Chemorezeptoren-vermittelte Kreislaufreflexe	8
1.4.2 Langzeitregulation	9
1.4.2.1 Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus der Niere	9
1.4.3 Zusammenwirken lang- und kurzfristiger Mechanismen der Blutdruckregulation	10
1.4.3.1 Hormonelle Regulationsmechanismen	10
1.5 Die Funktion des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems	11
1.6 Bedeutung von Stickstoffmonoxid in der Blutdruckregulation	14
2 PROJEKTBESCHREIBUNG	16
2.1 Die AT ₂ -Rezeptor-Knockout-Maus	16
2.2 Zielsetzung und Einordnung der vorliegenden Arbeit vor dem Hintergrund gegenwärtiger biomedizinischer Forschung	17
2.2.1 Stand der Forschung	17
2.3 Hypothese und Zielstellung der experimentellen Arbeit	19
2.3.1 Fragestellungen	21
2.4 Experimentelle Grundlage der Versuche – Einsatz von L-NAME und DOCA-Salz	21
2.5 Arbeitsprogramm	22
2.6 Zusammenarbeit mit anderen Arbeitsgruppen	24

3	MATERIAL UND METHODEN	25
3.1	Versuchstiere	25
3.2	Protokoll 1: Implantation eines Telemetriesenders für die Erfassung von Blutdruck und Herzrate in der nichtnarkotisierten Maus	26
3.3	Protokoll 2: Messung der Druck-Diu-/Natriuresis sowie des renalen Blutflusses (RBF)	27
3.4	Protokoll 3: Messung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)	32
3.5	Protokoll 4: Linksventrikuläre Druck- und Volumen-Messungen	34
3.6	Protokoll 5: Bestimmung des Totalen Peripheren Widerstandes an der nicht-narkotisierten Maus durch die Simultanmessung des Herzminutenvolumens und des Mittleren Blutdruckes	35
3.6.1	Implantation einer perivaskulären Flowprobe um die aufsteigende Aorta zur chronischen Messung des Herzminutenvolumens	35
3.6.2	Simultanerfassung des Herzminutenvolumens und des Blutdruckes	38
3.7	Protokoll 6: Uninephrektomie	38
3.8	Untersuchungen in Stoffwechselläufigen	38
3.9	Induktion der L-NAME-Hypertonie	40
3.10	Induktion der DOCA-Salz-Hypertonie	40
3.11	Statistische Datenanalyse	41
3.12	Verwendete Geräte und Pharmaka	42
4	ERGEBNISSE	44
4.1	Versuchsergebnisse nach L-NAME-Behandlung	44
4.1.1	Blutdruckverhalten nach 1 Woche L-NAME	44
4.1.2	Renale Funktionsänderungen nach 1 Woche L-NAME	44
4.1.3	Einfluß von L-NAME auf die Funktion des linken Ventrikels	55
4.1.4	Linksventrikuläre Hypertrophie unter L-NAME	60
4.1.5	Veränderungen des Herzminutenvolumens und des Totalen Peripheren Widerstandes unter Einfluß von L-NAME	60
4.2	Versuchsergebnisse nach DOCA-Salz-Behandlung	64
4.2.1	Blutdruckverhalten nach 3 Wochen DOCA-Salz	64
4.2.2	Renale Funktionsänderungen nach 3 Wochen DOCA-Salz	64
4.2.3	Einfluß der iNOS-Blockade durch GED auf das Blutdruckverhalten und die Herzrate	72

4.2.4	Veränderungen des Herzminutenvolumens und des Totalen Peripheren Widerstandes unter Einfluß von DOCA-Salz	77
4.3	Kooperationsergebnisse in Zusammenarbeit mit anderen Arbeitsgruppen	79
4.3.1	Renale mRNA-Expression des AT ₁ -Rezeptors unter L-NAME	79
4.3.2	Kardiale mRNA-Expression nach 3 Wochen L-NAME	79
4.3.3	Histologische Veränderungen des linken Ventrikels nach 3-wöchiger L-NAME-Gabe	81
4.3.4	Linksventrikuläre Transkription des brain natriuretic peptide (BNP)	84
4.3.5	Renale mRNA-Expression des AT ₁ Rezeptors unter DOCA-Salz	86
4.3.6	Nitrit-Exkretion unter DOCA-Salz	87
4.3.7	NO-Synthaseaktivität unter DOCA-Salz	87
5	DISKUSSION	90
5.1	Methodenkritik	90
5.1.1	Tierversuche	90
5.1.2	Das Modell AT ₂ -Rezeptor-Knockout-Maus	90
5.1.3	Streß	91
5.1.4	Narkose	91
5.1.5	Instrumentierung	92
5.1.6	Circadiane Rhythmik	92
5.2	Diskussion der Versuchsergebnisse	93
5.2.1	Funktionsänderungen von Herz und Niere unter Einfluß von L-NAME	93
5.2.1.1	Blutdruck und renale Funktionsänderungen	93
5.2.1.2	Kardiale Funktionsänderungen nach L-NAME-Behandlung	97
5.2.1.3	Simultanerfassung von Blutdruck und Herzminutenvolumen unter L-NAME	100
5.2.2	Funktionsänderungen von Herz und Niere unter Einfluß von DOCA-Salz/Regulation des NO-Systems	101
5.2.2.1	Blutdruck und renale Funktionsänderungen	101
5.2.2.2	Simultanerfassung von Herzminutenvolumen und Blutdruck unter DOCA-Salz	105
6	LITERATURVERZEICHNIS	108
7	ZUSAMMENFASSUNG	115
8	SUMMARY	116
9	ANHANG	117