

4 Ergebnisse

4.1 Versuchsergebnisse nach L-NAME-Behandlung

4.1.1 Blutdruckverhalten nach 1 Woche L-NAME

Die einwöchige Gabe von L-NAME im Trinkwasser führt sowohl bei AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen (AT₂⁻/y) als auch in den Kontrollen (AT₂⁺/y) zu einem Blutdruckanstieg, der bei den Knockout-Tieren stärker ausgeprägt war als bei den Kontrollen. Unter Ausgangsbedingungen liegt der telemetrisch gemessene und über 24h gemittelte arterielle Blutdruck der AT₂⁻/y mit 105±2 mm Hg etwas über dem der Wildtyp-Mäuse bei 101±3 mm Hg. Nach L-NAME-Behandlung wurde in AT₂⁻/y ein deutlich erhöhter MAP von 118±2 mm Hg gegenüber 108±4 mm Hg bei AT₂⁺/y gemessen (Abb. 11). In diese Messung sind 8 AT₂-Rezeptor-Knockout-Tiere (31±1g) und 7 Wildtyp-Mäuse (33±1g) eingegangen.

4.1.2 Renale Funktionsänderungen nach 1 Woche L-NAME

Wie aus dem mittleren Teil der Abb. 11 ersichtlich ist, führte L-NAME auch zu einer gesteigerten Natriumexkretion in beiden Mausstämmen. Dargestellt sind 24h-Werte, die mit Hilfe von metabolischen Käfigen ermittelt wurden. Ähnlich wie beim Blutdruck nimmt auch die Natriurese in Abhängigkeit vom Mausstamm in unterschiedlichem Maße zu. Die Ausgangswerte der AT₂⁻/y unterscheiden sich mit 8,16±0,99 µmol/h nicht signifikant von denen der AT₂⁺/y mit 8,52±0,81 µmol/h. Im Unterschied zum in der oberen Graphik abgebildeten Blutdruckverhalten steigt die Natriurese nach L-NAME-Gabe bei AT₂⁺/y stärker als bei AT₂⁻/y an. Für AT₂⁺/y wurden 10,88±0,45 µmol/h und für AT₂⁻/y 8,75±0,82 µmol/h gemessen. Der größere Blutdruckanstieg bei AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen auf der einen Seite bei gleichzeitig im Vergleich zu den Kontrollen geringem Anstieg der Natriurese resultiert in einer Rechtsverschiebung des Druck-/Natriurese-Mechanismus bei AT₂⁻/y. Das bedeutet, daß bei äquivalenten systemischen Blutdruckwerten die AT₂⁻/y in einem vergleichbaren Zeitraum weniger Natrium ausscheiden als AT₂⁺/y. Diese Verschiebung ist im unteren Teil der Abb. 11 dargestellt.

Um zu klären, welche renalen Funktionsänderungen der Rechtsverschiebung des Natriuresemechanismus zugrunde liegen, wurden akute Experimente an anästhesierten Tieren

durchgeführt, in denen erneut das Verhalten des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus bestimmt aber auch der renale Blutfluß (RBF), die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) sowie die fraktionelle Natrium- und Wasserausscheidung gemessen werden konnten.

Der im Vergleich zu den Kontrollen flachere Anstieg der chronischen Natriuresekurve der $AT_2^{-/y}$ aus Abb. 13 äußerte sich auch unter Narkose in einer stärkeren Rechtsverschiebung des Druck- Diurese-/Natriurese-Mechanismus in $AT_2^{-/y}$. Unter Ausgangsbedingungen wurden bei $AT_2^{+/y}$ auf einem Blutdruckniveau von 107 mm Hg ein Urinfluß von $25,66 \pm 4,4 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und eine Natriumexkretion von $4,69 \pm 0,82 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ gemessen. Nach schrittweiser Erhöhung des peripheren Widerstandes und damit auch des systemischen Blutdruckes auf 143 mm Hg stellte sich eine Diurese von $97,29 \pm 12,31 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und eine durchschnittliche Natriumexkretion von $18,24 \pm 2,7 \mu\text{mol}/\text{h} \cdot \text{g N}$ ein. In den Knockout-Mäusen lagen die Ausgangswerte bei einem MAP von 108 ± 3 mm Hg um $14,48 \pm 4,6 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ bzw. $2,74 \pm 0,82 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$. Nach Abbinden der großen arteriellen Gefäße stieg der MAP auf 147 ± 2 mm Hg und mit ihm die Diurese auf $60,52 \pm 11,63 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ sowie die Natriurese auf $11,06 \pm 1,75 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$.

Während nach L-NAME in $AT_2^{-/y}$ sowohl Diurese als auch Natriurese nach rechts verschoben waren, konnte bei den Wildtyp-Mäusen lediglich bei der Diurese eine signifikante Veränderung gemessen werden (Abb. 12). Insgesamt war der L-NAME-Effekt bei den Knockout-Tieren ausgeprägter als bei den Kontrollen. So führte L-NAME bei einem in allen Gruppen vergleichbaren Blutdruckniveau von 140 mm Hg in der Kontrollgruppe zu einer ca. 1,5-fachen Reduktion der Diu- und Natriurese. Die Ausgangswerte lagen hier bei $97,29 \pm 12,31 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und $18,24 \pm 2,7 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und sanken auf $67,18 \pm 7,12 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ bzw. $11,99 \pm 1,37 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$. Bei den Knockout-Tieren nahm die Urin- und Natrium-ausscheidung um das ca. 2,2-fache des Ausgangswertes – von $60,52 \pm 11,63 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ bzw. $11,06 \pm 1,75 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ auf $23,92 \pm 1,91 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ bzw. $4,6 \pm 0,45 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ – ab. Bei Blutdruckwerten von 107 bis 140 mm Hg wurden bei den Kontrollen nach L-NAME Diuresewerte von 18,49-67,18 $\mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und Natriuresewerte von 4,42-11,99 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ ermittelt. In den $AT_2^{-/y}$ nach L-NAME wurde der Blutdruck von 116-152 mm Hg erhöht, wodurch die Werte für Diu- und Natriurese von $17,49 \pm 2,8 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ und $3,87 \pm 0,67 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ auf $43,94 \pm 3,34 \mu\text{l}/\text{min} \cdot \text{g N}$ bzw. $8,13 \pm 0,6 \mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g N}$ anstiegen.

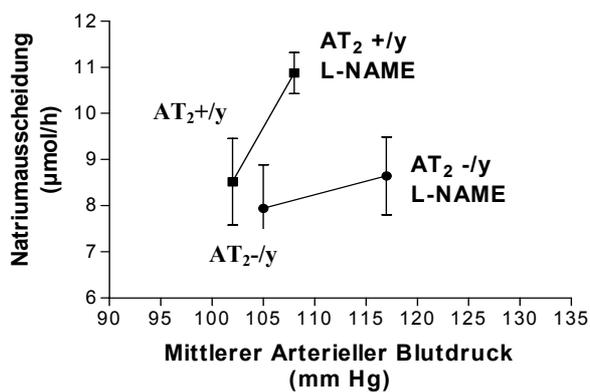
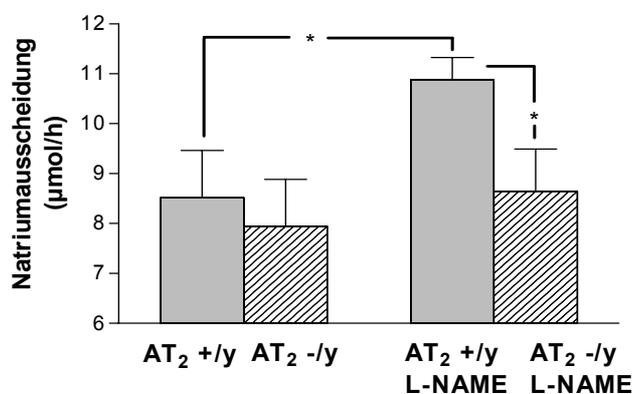
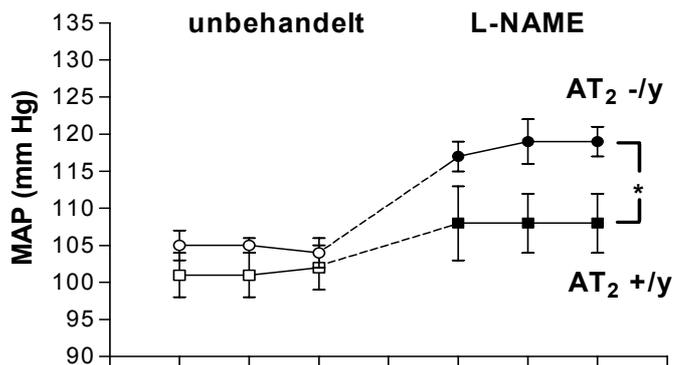


Abb. 11: Mittlerer arterieller Blutdruck, Natriumexkretion und das daraus resultierende Druck-Natriurese-Verhältnis in AT₂+/y und AT₂-/y vor und nach L-NAME-Behandlung. Die Blutdruckmessung erfolgte telemetrisch, die Stoffwechseldaten wurden mit Hilfe metabolischer Käfige erhoben.

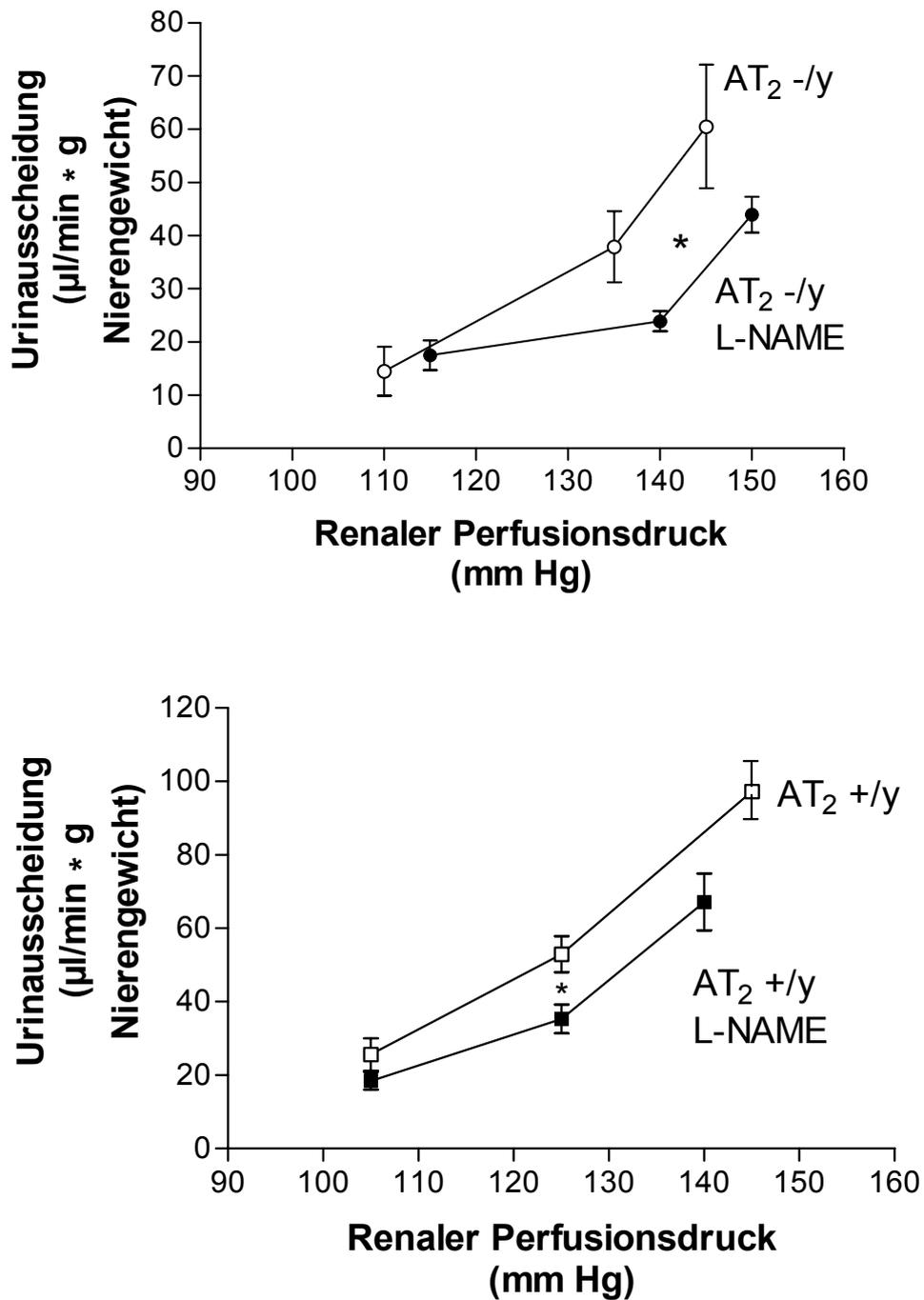


Abb. 12: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Urinausscheidung nach einwöchiger L-NAME-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrolltieren ($AT_2^{+/y}$). * $P < 0,05$ L-NAME führt zu einer Verschiebung des Druck-Diurese-Mechanismus zu höheren Perfusionsdrücken.

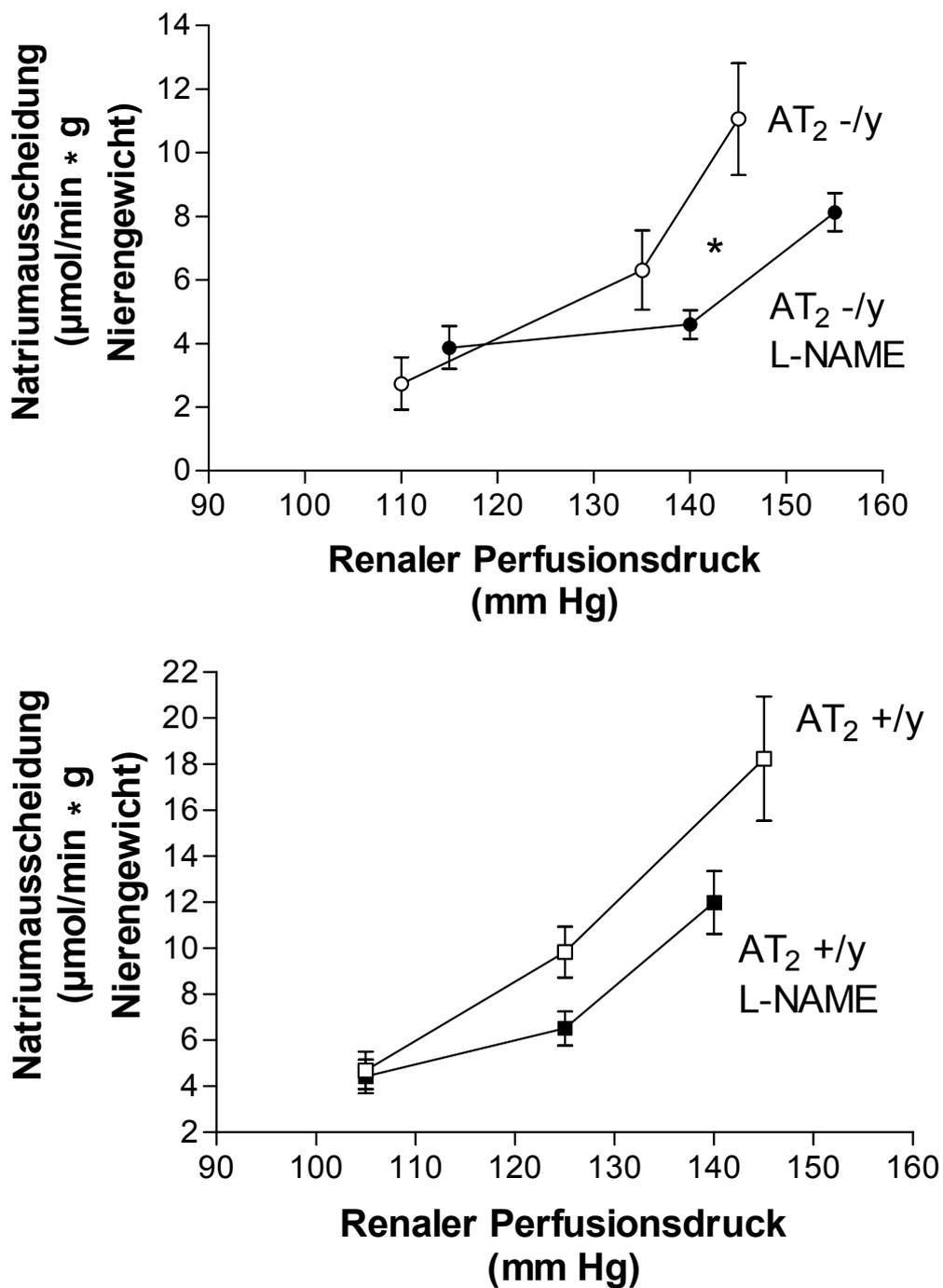


Abb. 13: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Natriumausscheidung nach einwöchiger L-NAME-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrolltieren ($AT_2^{+/y}$). * $P < 0,05$ L-NAME führt zu einer Verschiebung des Druck-Natriuresis-Mechanismus zu höheren Perfusionsdrücken.

In Abb. 14 ist das Verhalten des renalen Blutflusses in Abhängigkeit vom renalen Perfusionsdruck dokumentiert. Abgesehen von der dritten Druckstufe bei den AT_2+/y nach L-NAME-Behandlung erscheint der RBF über einen weiten Bereich des Druckanstieges mehr oder weniger konstant. Bei unbehandelten AT_2+/y wurden Werte zwischen $4,95 \pm 0,5$ und $5,52 \pm 0,48$ ml/min*g N gemessen. Demgegenüber war der renale Blutfluß bei AT_2-/y erniedrigt und bewegte sich im Bereich von $3,68 \pm 0,56$ und $4,35 \pm 0,92$ ml/min*g N. Bei den Knockout-Tieren führte die L-NAME-Behandlung zu einer Verminderung des RBF. In Abhängigkeit vom Druckniveau lag der RBF somit bei den AT_2-/y mit L-NAME zwischen $2,49 \pm 0,3$ und $3,16 \pm 0,25$ ml/min*g N gegenüber $4,47 \pm 0,31$ und $5,49 \pm 0,42$ ml/min*g N bei den Wildtyp-Mäusen.

In Verbindung mit den Veränderungen beim RBF nach L-NAME ergaben sich reziproke Änderungen des aus RBF und MAP errechneten renalen vaskulären Widerstandes (RVR) (s. Abb. 15). Bei den AT_2-/y führte die Gabe von L-NAME zum Anstieg des RVR. Hier lagen die Ausgangswerte bei $31,51 \pm 8,2$ mm Hg/ml/min*g N und nach L-NAME bei $45,43 \pm 15,18$ mm Hg/ml/min*g N. Die leichten Veränderungen bei den Wildtyp-Mäusen erreichten nicht das Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Die Messung der Diurese, Natriurese und des RBF wurden jeweils am selben Tier vorgenommen. Es wurden 7 AT_2-/y (29 ± 1 g) und 10 AT_2+/y (30 ± 1 g) sowie 9 AT_2-/y nach L-NAME (31 ± 1 g) und 7 AT_2+/y nach L-NAME (29 ± 1 g) untersucht.

Der Zusammenhang zwischen glomerulärer Filtrationsrate (GFR) und RPP ist in Abb. 16 dargestellt. Bei den AT_2-/y ist die gemittelte GFR nach L-NAME reduziert. Als Ausgangswerte wurden bei den Kontrollen Werte im Bereich von $0,82 \pm 0,1$ und $1,21 \pm 0,14$ ml/min*g N und bei den Knockout-Tieren zwischen $1,15 \pm 0,16$ und $1,31 \pm 0,14$ ml/min*g N gemessen. Nach L-NAME wurden für die Wildtyp-Mäuse Werte zwischen $0,81 \pm 0,06$ und $0,96 \pm 0,15$ ml/min*g N im Vergleich zu den Knockout-Tieren mit $0,79 \pm 0,1$ und $1,02 \pm 0,14$ ml/min*g N ermittelt. Ähnlich wie beim RBF stellt sich die GFR somit trotz großer Druckänderungen über einen weiten Druckbereich konstant dar.

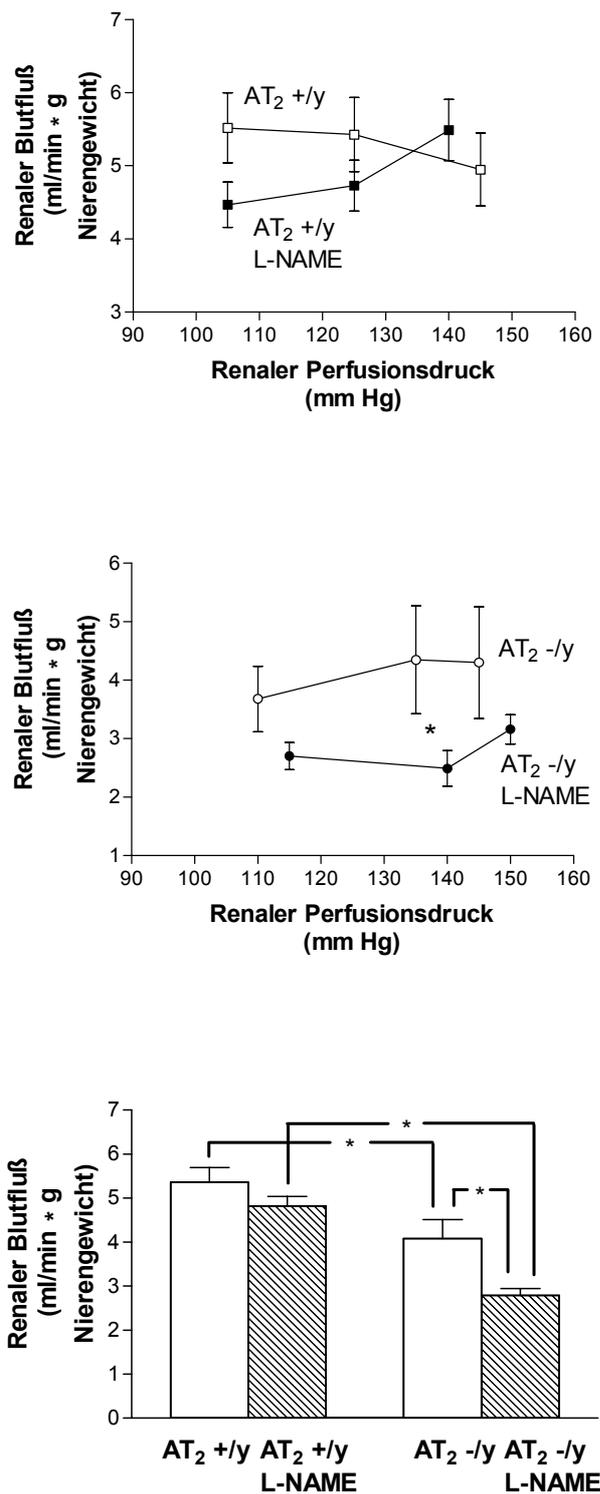


Abb. 14: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und der Renalen Blutfluß (RBF) in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrollen ($AT_2^{+/y}$ nach einwöchiger L-NAME-Behandlung. * $P < 0,05$ In der oberen und mittleren Graphik sind die einzelnen Druckstufen dargestellt, die in der unteren Grafik zusammengefaßt dargestellt wurden. L-NAME senkt den RBF in $AT_2^{-/y}$ und $AT_2^{+/y}$.

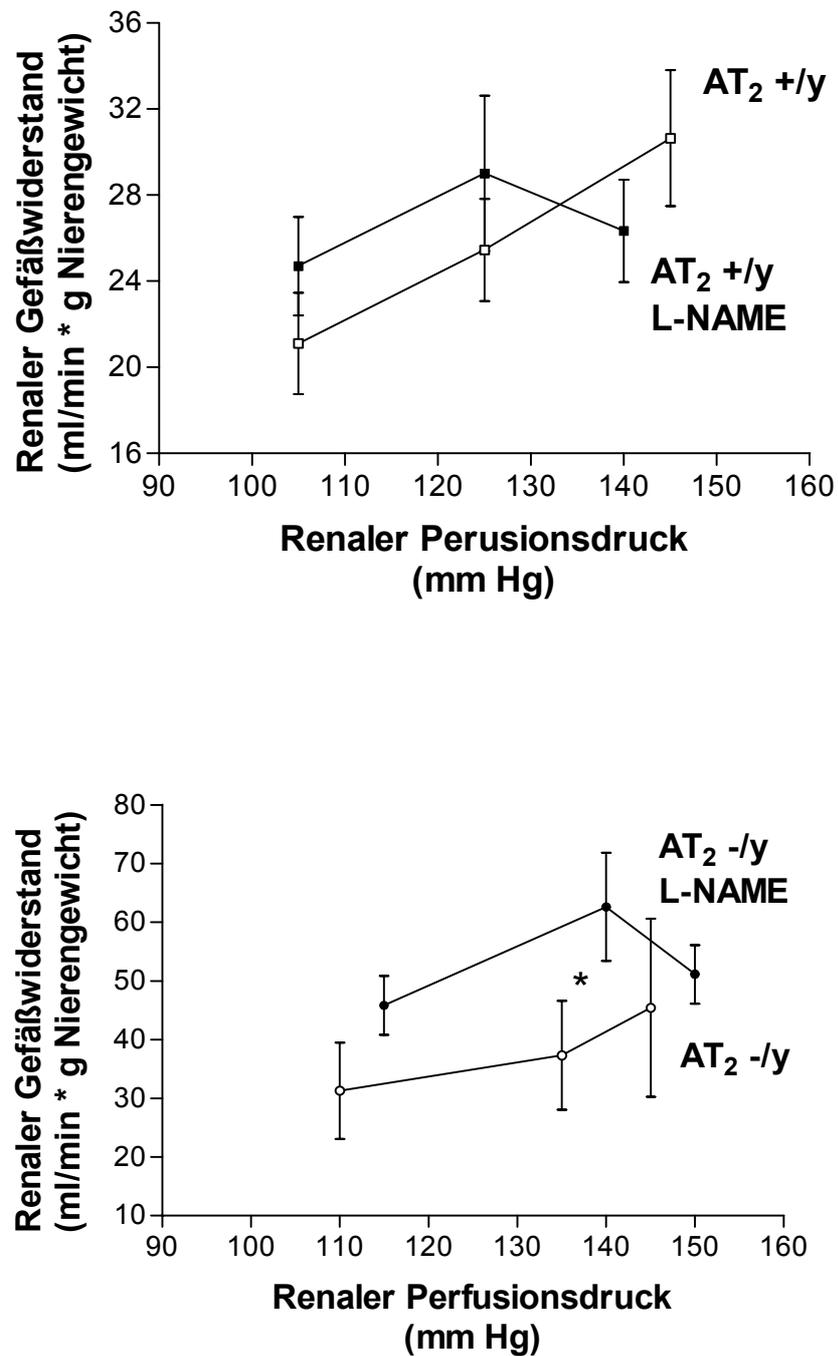


Abb. 15: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und dem Renalen Gefäßwiderstand (RVR) in AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen (AT₂-/y) und Kontrollen (AT₂+/y nach einwöchiger L-NAME-Behandlung. * P<0,05 L-NAME erhöht den RVR in AT₂-/y.

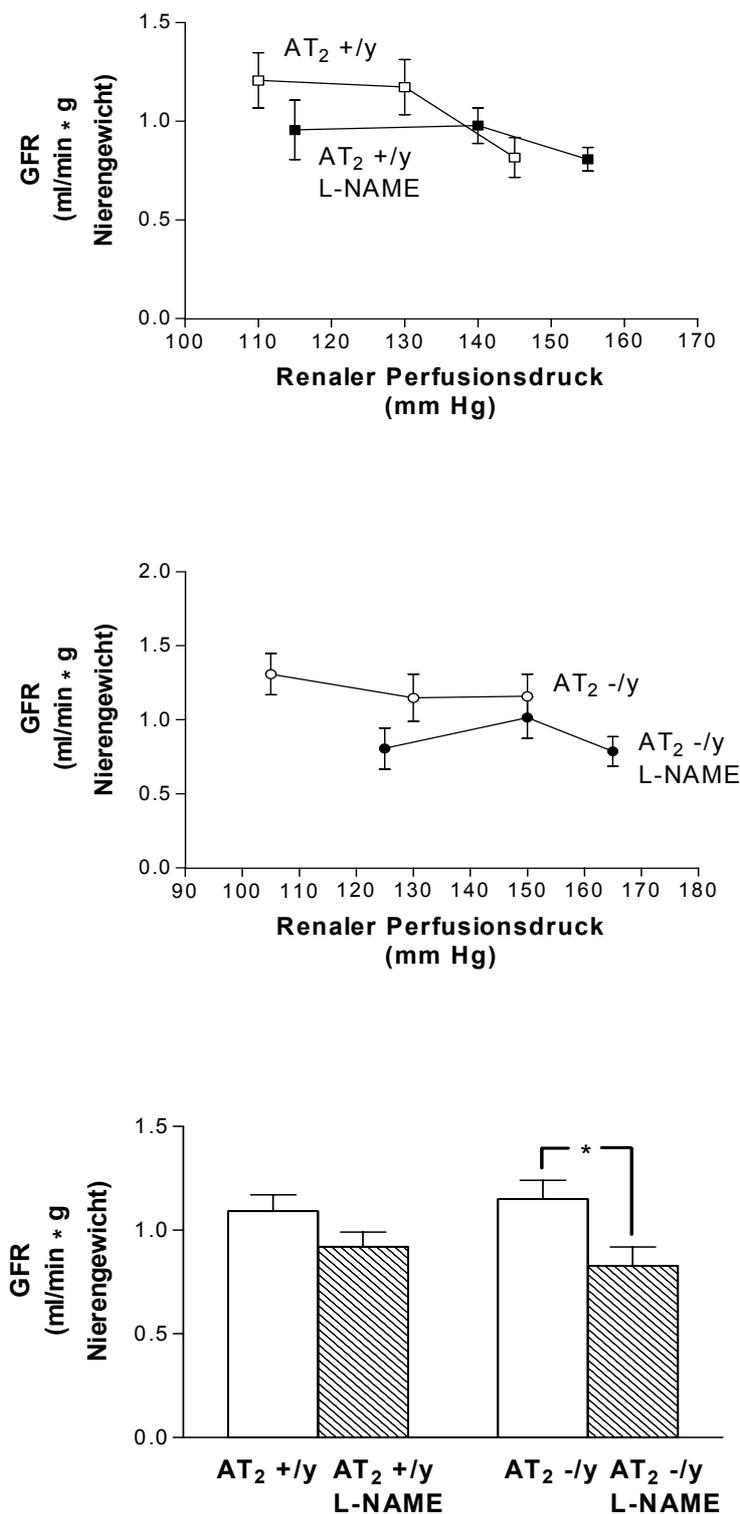


Abb. 16: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) in AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen (AT₂-/y) und Kontrollen (AT₂+/y nach einwöchiger L-NAME-Behandlung. * P<0,05 In der oberen und mittleren Graphik sind die einzelnen Druckstufen dargestellt, die in der unteren Grafik zusammengefaßt dargestellt wurden. L-NAME senkt die GFR in AT₂-/y.

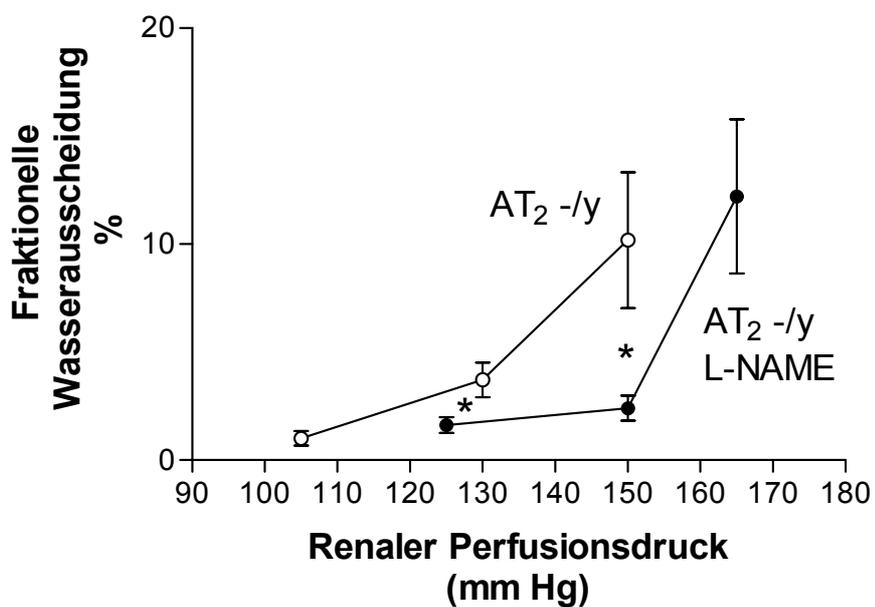
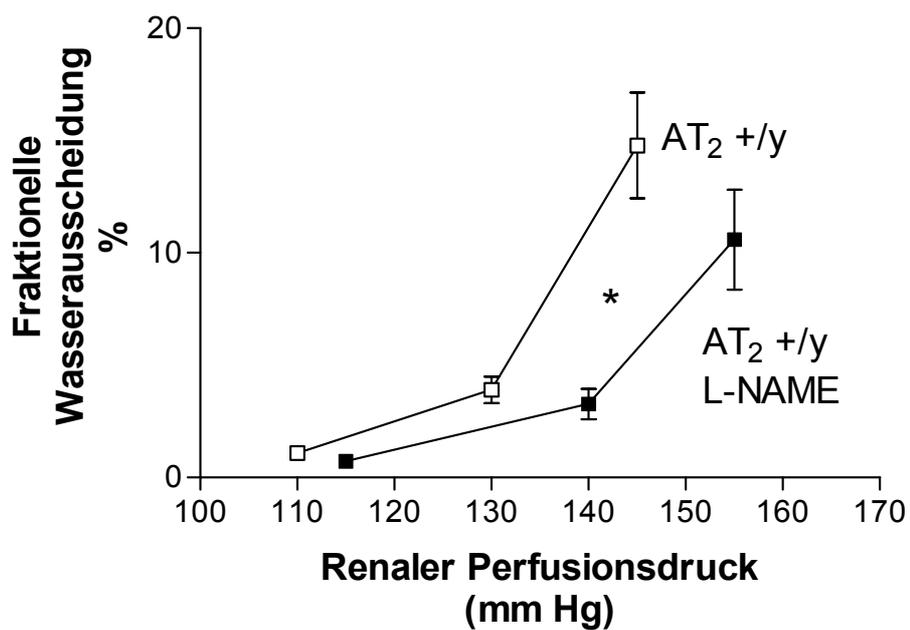


Abb. 17: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Fraktionellen Wasserausscheidung nach einwöchiger L-NAME-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2 -/y$) und Kontrolltieren ($AT_2 +/y$). * $P < 0,05$. L-NAME führt zu einer Verschiebung der Fraktionellen Wasserausscheidung zu höheren Perfusionsdrücken.

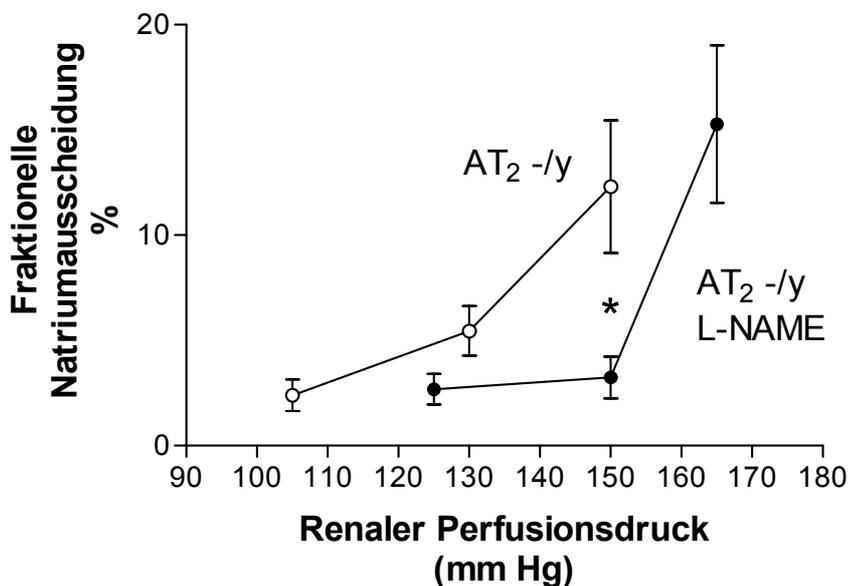
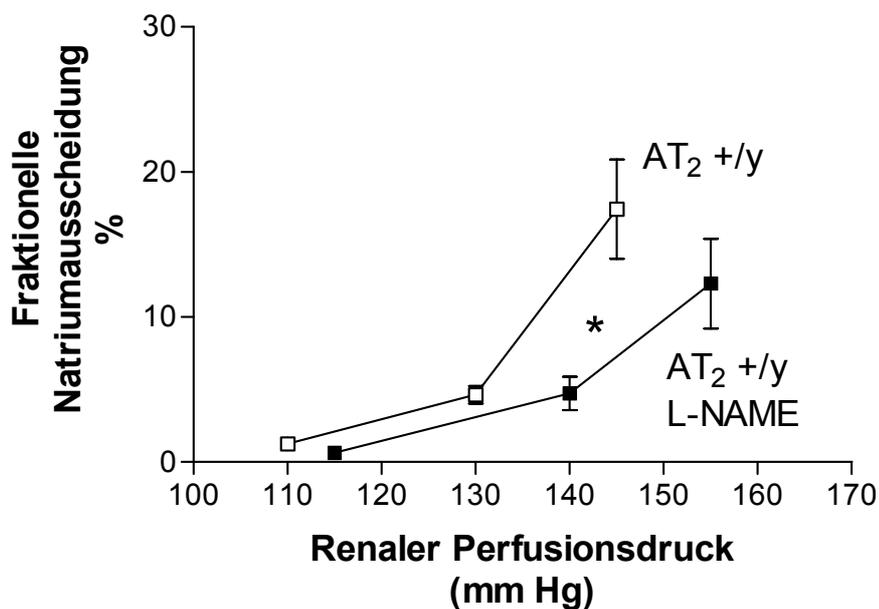


Abb. 18: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Fraktionellen Natriumausscheidung nach einwöchiger L-NAME-Behandlung in AT₂-Rezeptordefizienten Mäusen (AT₂-/y) und Kontrolltieren (AT₂+/y). * P<0,05. L-NAME führt zu einer Verschiebung der Fraktionellen Natriumausscheidung zu höheren Perfusionsdrücken.

Die einwöchige Gabe von L-NAME wirkt sich auch auf die fraktionelle Wasser- bzw. Natriumausscheidung (Fe_{H_2O}/Fe_{Na}) aus (Abb. 17, 18). Sowohl bei AT_{2+}/y als auch AT_{2-}/y führt L-NAME zu einer Rechtsverschiebung des Druck-Exkretions-Verhältnisses, was in einer verminderten Ausscheidung von Wasser und Natrium bei konstanten Druckniveaus resultiert. Diese Rechtsverschiebung ist bei AT_{2-}/y stärker ausgeprägt als bei AT_{2+}/y . Während sich die Ausgangswerte für die fraktionelle Wasser- und Natriumausscheidung zwischen Wildtyp- und Knockout-Mäusen nicht wesentlich unterscheiden, wurden bei annähernd gleichem Druckniveau um 150 mm Hg für AT_{2+}/y $Fe_{H_2O}=10,58\pm 2,23\%$ und $Fe_{Na}=12,3\pm 3,08\%$ und für AT_{2-}/y $Fe_{H_2O}=2,41\pm 0,58$ und $Fe_{Na}=3,24\pm 0,99\%$ gemessen. Die Messung von GFR, Fe_{H_2O} und Fe_{Na} wurden jeweils am selben Tier vorgenommen. In die Meßserie sind 14 AT_{2-}/y ($29\pm 1g$) und 10 AT_{2+}/y ($32\pm 1g$) sowie 10 AT_{2-}/y nach L-NAME ($29\pm 1g$) und 7 AT_{2+}/y nach L-NAME ($30\pm 1g$) eingegangen.

Die Gabe von Valsartan führte bei mit L-NAME vorbehandelten Telemetriertieren zu einem deutlichen Blutdruckabfall. In AT_{2+}/y , bei denen unter L-NAME ein MAP von 122 ± 2 mm Hg gemessen wurde, sank der Blutdruck nach fünftägiger Valsartangabe auf 103 ± 2 mm Hg. Dieser Wert lag sogar unter dem der Ausgangsmessung vor der L-NAME-Behandlung. Bei den Knockout-Mäusen wurde nach Valsartan ein Blutdruckabfall von 127 ± 2 auf 116 ± 3 mm Hg registriert. Gemessen wurde an 6 AT_{2+}/y ($30\pm 1g$) und 4 AT_{2-}/y ($29\pm 1g$).

4.1.3 Einfluß von L-NAME auf die Funktion des linken Ventrikels

Auch in dieser Versuchsserie wurde zur Kontrolle des Blutdruckverhaltens im Behandlungszeitraum in einigen Tieren telemetrisch der MAP erfaßt (Abb. 19). Der mittlere arterielle Blutdruck betrug unter Ausgangsbedingungen in AT_{2+}/y 115 ± 1 mm Hg und in AT_{2-}/y 110 ± 2 mm Hg. Für die Herzrate (HR) wurden Werte zwischen 589 ± 10 Schläge/min in AT_{2+}/y und 574 ± 8 Schläge/min in AT_{2-}/y gemessen. L-NAME erhöhte den MAP auf 124 ± 3 mm Hg (AT_{2+}/y) bzw. 129 ± 3 mm Hg (AT_{2-}/y) in der dritten Behandlungswoche. Das Körpergewicht betrug $31\pm 2g$ (AT_{2+}/y) bzw. $30\pm 1g$ (AT_{2-}/y).

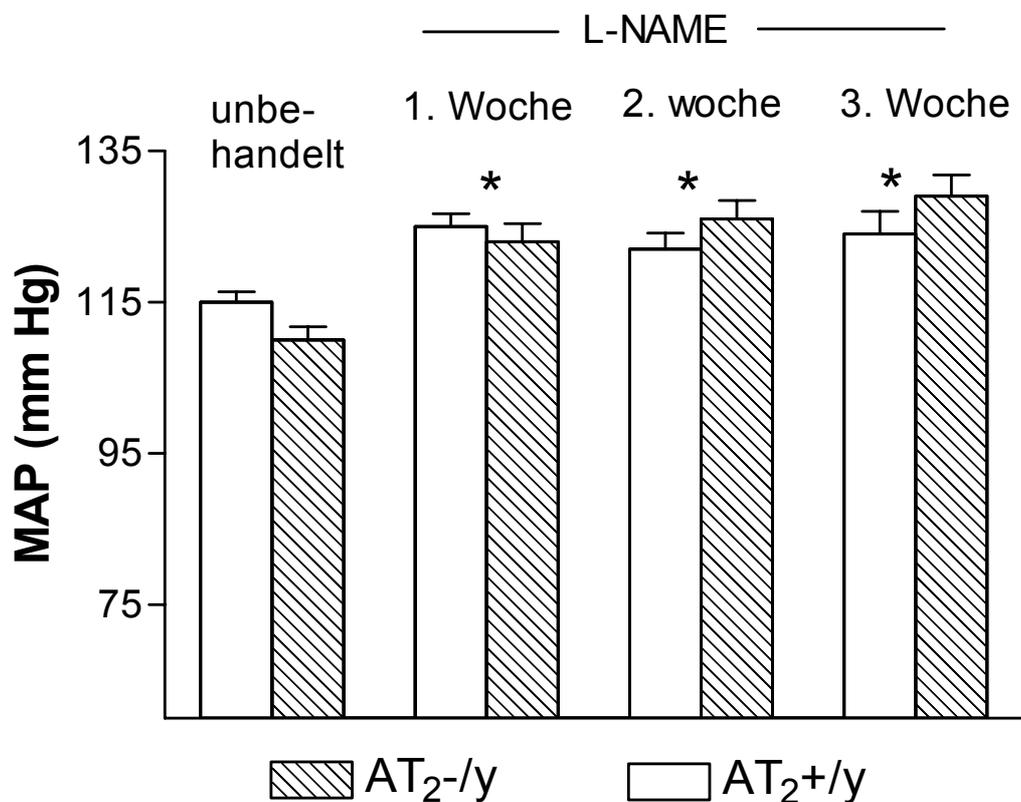
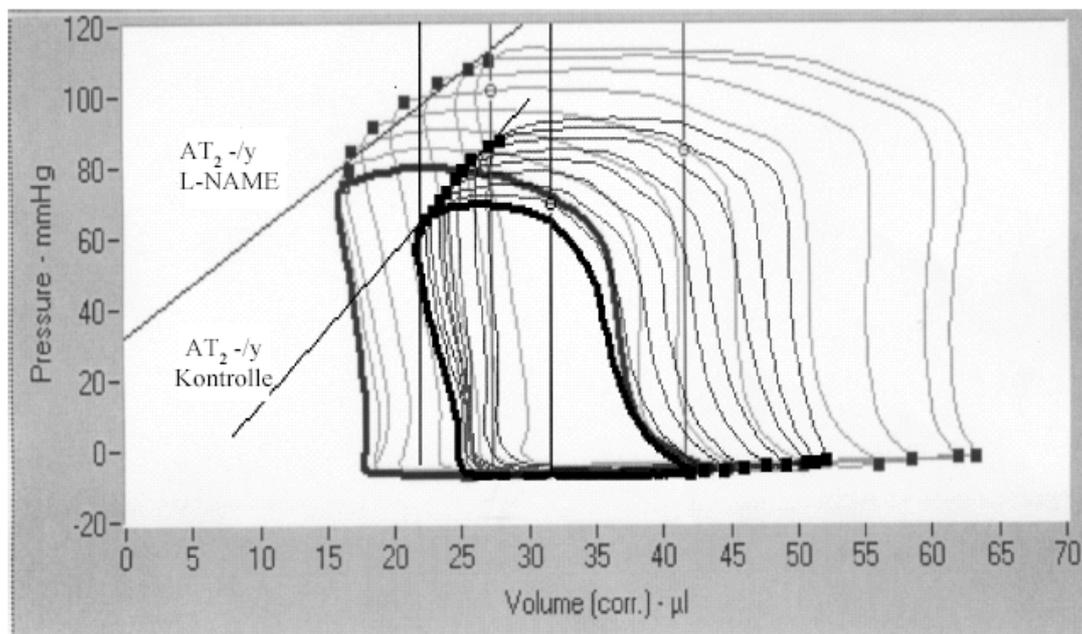


Abb. 19: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) in $\text{AT}_2^{-/-y}$ und $\text{AT}_2^{+/+y}$ vor und im Verlauf dreiwöchiger L-NAME-Behandlung. Der Blutdruck wurde kontinuierlich telemetrisch erfaßt und im Wochenturnus gemittelt dargestellt. In beiden Maus-Stämmen wurde ein Blutdruckanstieg bereits eine Woche nach Behandlungsbeginn nachgewiesen. * $P < 0,05$

Die mit Hilfe eines im linken Ventrikel platzierten Konduktivitätskatheters gemessenen systolischen und diastolischen Parameter zeigten keine funktionellen Unterschiede zwischen unbehandelten Knockout-Tieren und Wildtyp-Mäusen. Auch die 3-wöchige L-NAME-Behandlung führte zu keinen Änderungen der unter Ausgangsbedingungen gemessenen linksventrikulären Funktionsparameter. Da das experimentelle Design eine Laparotomie und die Retraktion des Sternums für die Messung loadunabhängiger Parameter vorsah, wurde nach diesen Maßnahmen und nachfolgender Einstellung des Äquilibrium eine erneute Messung vorgenommen, die abgesehen von geringfügigen Änderungen die Erstmessungen bestätigten.

Die dann nach Unterbrechung des venösen Rückstromes vorgenommene Datenerfassung mit anschließender Kalkulation Vor- und Nachlast-unabhängiger Parameter zeigte Unterschiede im endsystolischen Druck-/Volumenverhältnis (ESPVR s. Abb. 20). Dieser Parameter stellt ein Maß für die Kontraktilität des Herzen dar. L-NAME senkte das ESPVR in AT₂-y von $4,78 \pm 0,5$ mm Hg/ μ l in unbehandelten Tieren auf $3,03 \pm 0,21$ mm Hg/ μ l. Bei den Wildtyp-Mäusen wurde kein Effekt nachgewiesen. Funktionelle Unterschiede in der Diastole wurden nicht gefunden. In dieser Versuchsserie wurden 13 unbehandelte AT₂-y mit einem mittleren Körpergewicht von 31 ± 1 g, 8 mit L-NAME behandelte AT₂-y mit 29 ± 1 g, 7 unbehandelte AT₂+y und einem Durchschnittsgewicht von 30 ± 2 g sowie 9 L-NAME-behandelte AT₂+y mit durchschnittlich 29 ± 1 g Körpergewicht untersucht.



End-systolic pressure volume relationship, ESPVR (mm Hg/μl)

| AT ₂ +/y | AT ₂ +/y L-NAME | AT ₂ -/y | AT ₂ -/y L-NAME |
|---------------------|----------------------------|---------------------|----------------------------|
| 3,73±0,69 | 3,99±0,4 | 4,78±0,5 | 3,03±0,21 |

Abb. 20: Arbeitsdiagramm des linken Ventrikels bei Occlusion der Vena cava in AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen vor und nach dreiwöchiger L-NAME-Behandlung. Als Gerade wurde der jeweilige ESPVR an das Diagramm angelegt. In AT₂-/y senkte L-NAME den ESPVR. * P<0,05

Tabelle 3: Hämodynamische Parameter der linksventrikulären Druck-Volumen-Messungen

| | AT ₂ +/y | AT ₂ +/y L-NAME | AT ₂ -/y | AT ₂ -/y L-NAME |
|---------------------|---------------------|-------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| n | 7 | 9 | 12 | 8 |
| HR (bpm) | 407 ± 21 | 435 ± 10 | 421 ± 19 | 447 ± 19 |
| EDP (mm Hg) | 2.23 ± 1.47 | 2.15 ± 0.81 | 1.41 ± 0.73 | 2.34 ± 0.75 |
| ESP (mm Hg) | 91 ± 4.0 | 94 ± 7.2 | 94 ± 3.8 | 118 ± 9.1 |
| EDV (µl) | 54.1 ± 7.0 | 51.1 ± 4.2 | 52.4 ± 6.2 | 62.5 ± 6.6 |
| ESV (µl) | 37.6 ± 5.1 | 37.9 ± 4.1 | 37.2 ± 5.2 | 44.8 ± 6.1 |
| SV (µl) | 27.0 ± 3.7 | 23.3 ± 2.7 | 24.9 ± 3.0 | 28.8 ± 1.9 |
| Tau (ms) | 4.4 ± 0.9 | 4.2 ± 0.7 | 4.3 ± 0.8 | 4.0 ± 0.7 |
| dP/dt max (mm Hg/s) | 6429 ± 501 | 6503 ± 629 | 6455 ± 744 | 8349 ± 1219 |
| dP/dt min (mm Hg/s) | -5948 ± 516 | -6090 ± 531 | -6263 ± 389 | -8199 ± 941 |

(Arithmetisches Mittel ± SEM)

HR: Herzrate

EDP: Enddiastolischer Druck

ESP: Endsystolischer Druck

EDV: Enddiastolisches Volumen

ESV: Endsystolisches Volumen

SV: Schlagvolumen

Tau: Diastolische Relaxationskonstante

4.1.4 Linksventrikuläre Hypertrophie unter L-NAME

Nach dreiwöchiger L-NAME-Gabe ist das Verhältnis Herzgewicht/Körpergewicht (cardiac mass index=CMI) in AT₂-/y mit $4,98 \pm 0,25$ im Vergleich zur Kontrollgruppe mit $4,51 \pm 0,17$ im Mittel erhöht (Abb. 21). Bei Wildtyp-Mäusen besteht kein Unterschied zwischen L-NAME-Gruppe und unbehandelter Kontrollgruppe. Die größeren Herzen deuten auf eine linksventrikuläre Hypertrophie hin, die mit anderen Meßverfahren in Kooperation mit anderen Arbeitsgruppen verifiziert werden sollten. Die untersuchten Herzen wurden den nach der Herzkatheteruntersuchung getöteten Tieren entnommen.

4.1.5 Veränderungen des Herzminutenvolumens und des Totalen Peripheren Widerstandes unter Einfluß von L-NAME

Mit Hilfe der chronisch um die ascendierende Aorta implantierten Flowprobe, war die Direktmessung des Herzminutenvolumens oder Cardiac Output (CO) bei simultaner Erfassung des MAP und der HR im nichtnarkotisierten Tier möglich. Die telemetrische Blutdruckmessung zeigte einen signifikanten Blutdruckanstieg in den chronisch instrumentierten AT₂+/y Mäusen, der mit einer gleichzeitigen Abnahme der Herzfrequenz verbunden war. Gegenüber 116 ± 4 mm Hg unter Ausgangsbedingungen erreichte der MAP bereits in der ersten Woche der L-NAME-Gabe ein konstantes Niveau von 131 ± 4 mm Hg (siehe Abb. 23). Die Herzfrequenz nahm in diesem Zeitraum von 616 ± 14 bpm auf 589 ± 6 bpm ab. Der Blutdruckanstieg unter L-NAME setzt dabei schon sehr früh ein. So ist in der individualisierten Darstellung des Blutdruckverhaltens der in diese Serie eingegangenen Wildtyp-Mäuse bereits 4 h nach erstmaliger L-NAME-Gabe ein deutlicher Anstieg des MAP zu verzeichnen (Abb. 22). Gleichzeitig nimmt im gleichen Zeitfenster der CO ab. Daraus ergibt sich eine simultane Zunahme des aus MAP und CO kalkulierten TPR. Dieser in der Induktionsphase der L-NAME-Hypertonie festgestellte Trend setzt sich kontinuierlich fort und erreicht wie bereits für den MAP beschrieben schon in der ersten Woche der Behandlung stabile Level der relevanten Parameter. Das Herzminutenvolumen nahm von anfänglich $19,32 \pm 1,61$ ml/min auf $16,67 \pm 1,48$ ml/min ab. Damit erhöhte sich der TPR von $6,2 \pm 0,57$ mm Hg/ml*min auf $8,17 \pm 0,86$ mm Hg/ml*min (Abb. 23). Die anschließende Gabe des AT₁-Rezeptor-Blockers Valsartan in der zweiten Behandlungswoche unter L-NAME führte zu einer Umkehrung der beschriebenen hämodynamischen Veränderungen. Der

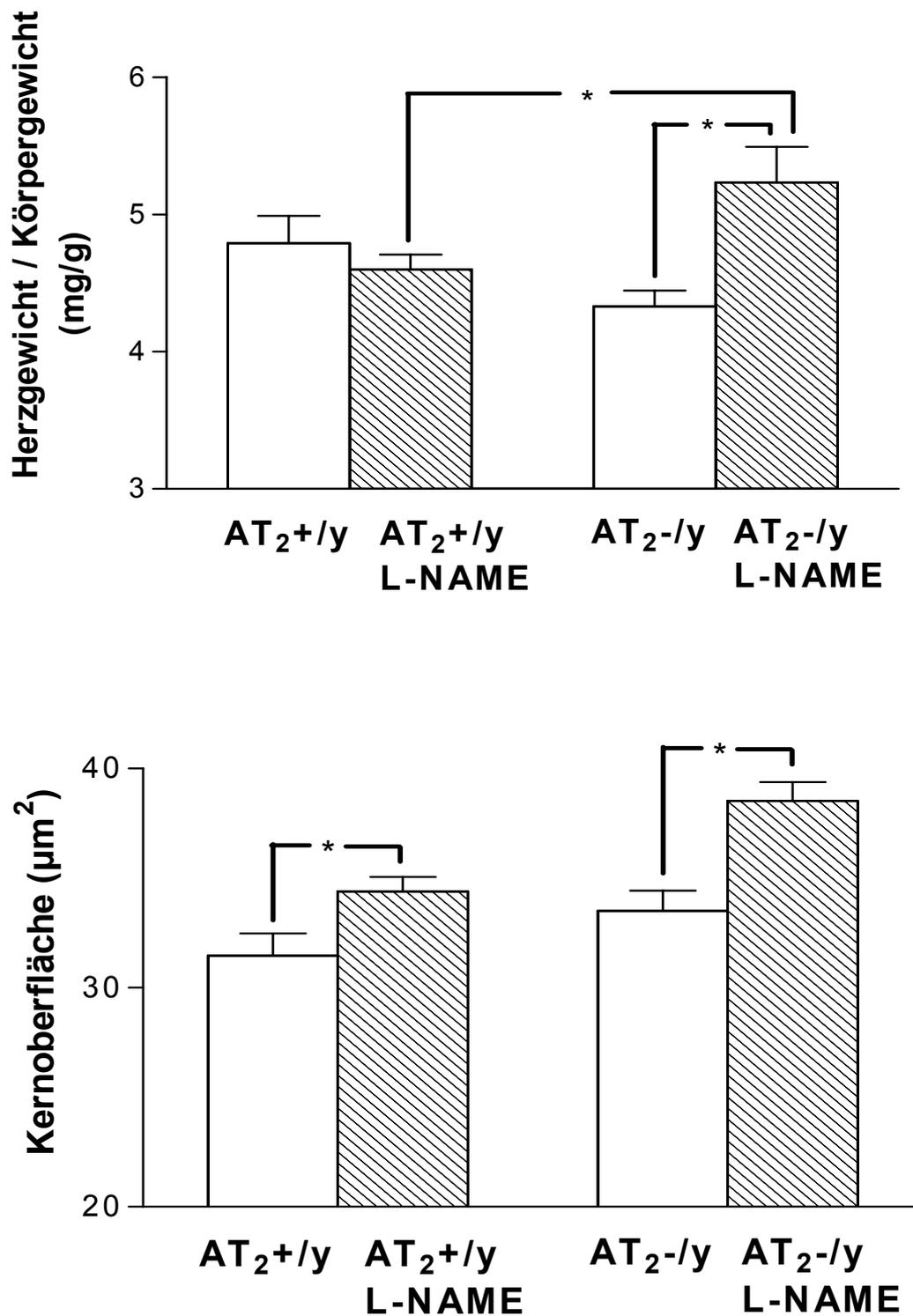


Abb. 21: Herzgewichtsindex (oben) und Kernoberfläche (unten) in AT₂^{-/y} und AT₂^{+/y} vor und nach dreiwöchiger L-NAME-Behandlung. * P<0,05 L-NAME induzierte in den Knock-Out-Tieren eine stärkere Hypertrophie als in den Kontrolltieren. Kernoberflächen wurden von Prof. Dr. H.-J. Gröhne vermessen.

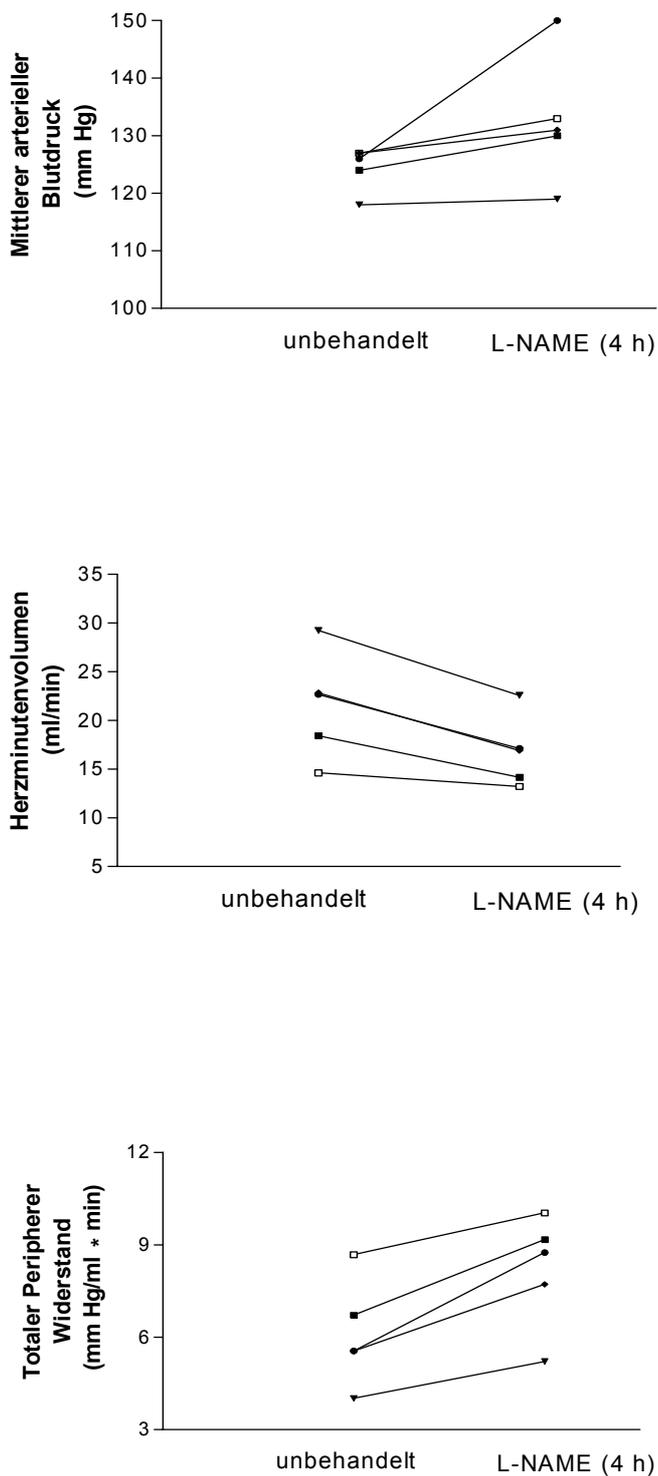


Abb. 22: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzminutenvolumen und Totaler peripherer Widerstand unter Ausgangsbedingungen und 4 h nach Beginn der L-NAME-Gabe. Schon zu diesem Zeitpunkt sind MAP und TPR deutlich erhöht während das Herzminutenvolumen abfällt. Dargestellt sind die individuellen Daten von 5 Mäusen ($AT_2^{+/y}$).

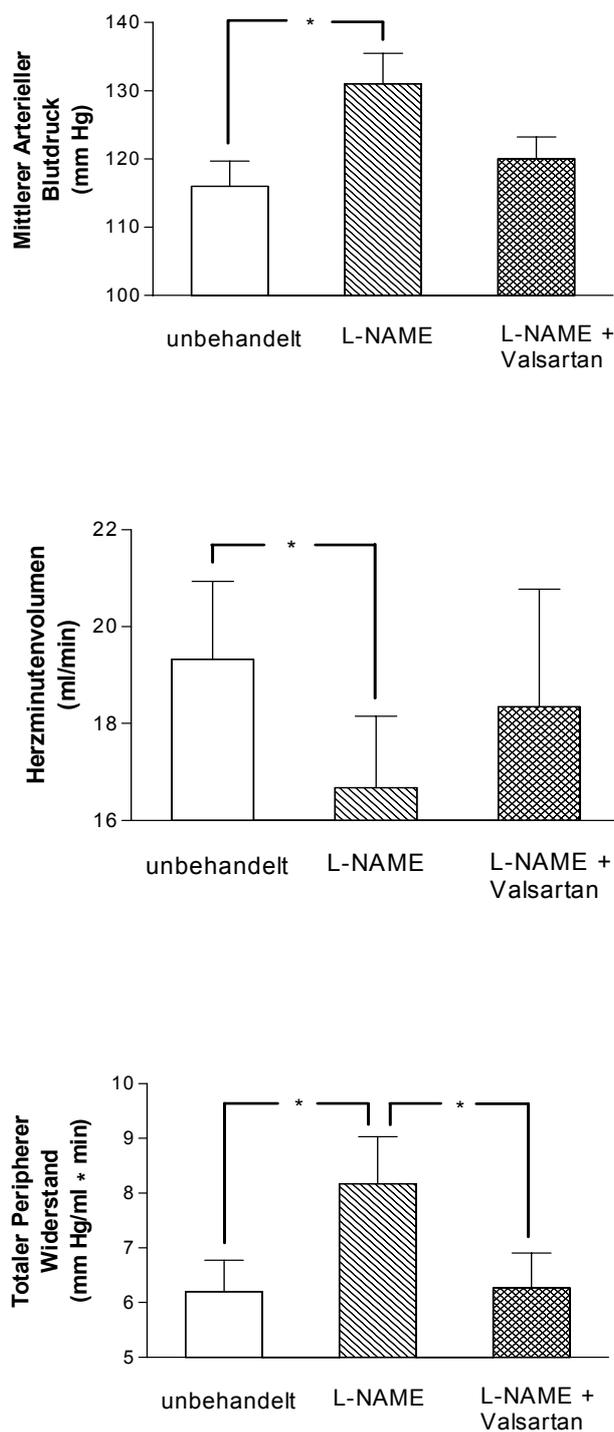


Abb. 23: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzminutenvolumen (CO) und totaler peripherer Widerstand (TPR) in $AT_2+\gamma$ nach Behandlung mit L-NAME (2 Wochen) und anschließender zusätzlicher Gabe von Valsartan. Dargestellt sind Mittelwerte über jeweils 4 Tage. Während MAP und TPR unter L-NAME ansteigen, fällt das Herzminutenvolumen ab. Valsartan normalisiert die hämodynamischen Veränderungen auf das Ausgangsniveau. * $P < 0,05$

Blutdruck sank auf durchschnittlich 120 ± 3 mm Hg bei gleichzeitigem Anstieg des Herzminutenvolumens auf $18,34 \pm 2,43$ ml/min. Damit war ebenso ein Abfall des totalen peripheren Widerstandes auf $6,27 \pm 0,63$ mm Hg/ml*min verbunden und entsprach somit wieder dem Ausgangsniveau (Abb. 23). Untersucht wurden in dieser Serie 5 $AT_2^{+/y}$ mit einem mittleren Körpergewicht von $28,5 \pm 0,5$ g. Während des Versuchszeitraumes wurden nur minimale Schwankungen des Körpergewichtes von maximal $\pm 0,5$ g verzeichnet.

4.2 Versuchsergebnisse nach DOCA-Salz-Behandlung

4.2.1 Blutdruckverhalten nach 3 Wochen DOCA-Salz

Unter DOCA-Salz kommt es sowohl bei $AT_2^{+/y}$ als auch $AT_2^{-/y}$ zu einem Anstieg des systemischen Blutdruckes, dessen Maximum am Ende der zweiten Woche erreicht wird. Unter Ausgangsbedingungen wurden in beiden Stämmen nur wenig voneinander abweichende Werte des mittleren Blutdruckes (MAP) gemessen. Für $AT_2^{+/y}$ wurden 102 ± 3 mm Hg und für $AT_2^{-/y}$ 106 ± 2 mm Hg ermittelt. Nach Gabe von DOCA-Salz bekommt diese leichte Verschiebung statistische Signifikanz. Der MAP der Knockout-Tiere liegt am Ende der zweiten Woche DOCA-Salz bei 122 ± 6 mm Hg im Unterschied zu 112 ± 3 mm Hg bei den Wildtyp-Mäusen (siehe Abb. 24). Alle Blutdruckwerte wurden telemetrisch am nichtnarkotisierten Tier ermittelt und stellen Mittelwerte über drei Meßtage dar. Das mittlere Körpergewicht betrug bei $AT_2^{+/y}$ 32 ± 1 g (n=6) und bei $AT_2^{-/y}$ 29 ± 1 g (n=5) sowie nach DOCA-Salz bei $AT_2^{-/y}$ 29 ± 1 g (n=5) und $AT_2^{+/y}$ 32 ± 1 g (n=6).

4.2.2 Renale Funktionsänderungen nach 3 Wochen DOCA-Salz

Das mit Hilfe von Stoffwechsellkäfigen untersuchte Verhalten der Urin- und damit der Natrium-Exkretion zeigte unter Ausgangsbedingungen keine signifikanten Unterschiede zwischen $AT_2^{+/y}$ ($8,52 \pm 0,81 \mu\text{mol/h}$) und $AT_2^{-/y}$ ($8,16 \pm 0,99 \mu\text{mol/h}$). Nach Beginn der DOCA-Salz-Behandlung zeichnete sich im Vergleich zu den Knockout-Tieren ($63,28 \pm 12,15 \mu\text{mol/h}$) bei Wildtyp-Mäusen mit $101,22 \pm 17,65 \mu\text{mol/h}$ ein stärkerer Anstieg der Natriurese ab. Dieser Unterschied ist statistisch gesichert (Abb. 24). Aus den Unterschieden im Blutdruckverhalten und der Natriumexkretion läßt sich bei den Knockout-Tieren auf einen

veränderten Natriuresemechanismus schließen, der eine bei identischen Druckniveaus im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen geringere Natriumausscheidung zur Folge hat. In Abb. 24 wird das am geringeren Anstieg der Druck-/Natriurese-Gerade deutlich. Die Tiere dieser Serie hatten ein mittleres Körpergewicht von $29,5 \pm 1,2$ g bei $AT_2^{+/y}$ (n=5) und $31,4 \pm 1,1$ g bei $AT_2^{-/y}$ (n=6).

Die bereits in der L-NAME-Serie festgestellte im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen geringere Nierendurchblutung bei $AT_2^{-/y}$ wurde auch in dieser Kontrollserie bestätigt. In Abhängigkeit von der Druckstufe lag der renale Blutfluß bei Werten zwischen $4,05 \pm 0,45$ ml/min*g N und $4,8 \pm 0,69$ ml/min*g N in der unbehandelten $AT_2^{-/y}$ -Gruppe und zwischen $5,57 \pm 0,47$ ml/min*g N und $6,05 \pm 0,63$ ml/min*g N in der Kontrollgruppe. In beiden Mausstämmen führte die dreiwöchige Gabe von DOCA-Salz zu einer Verminderung des RBF. Für $AT_2^{+/y}$ wurden im akuten Experiment Werte zwischen $4,17 \pm 0,41$ ml/min*g N und $4,81 \pm 0,53$ ml/min*g N gemessen. Bei $AT_2^{-/y}$ schwankte der RBF nach DOCA-Salz zwischen $3,79 \pm 0,3$ ml/min*g N und $3,92 \pm 0,42$ ml/min*g N (Abb. 27). Trotz geringer Schwankungen stellt sich der renale Blutfluß als gut autoreguliert dar.

Die durch DOCA-Salz hervorgerufenen Veränderungen der Nierendurchblutung spiegeln sich auch im Verhalten des rechnerisch ermittelten RVR wider. Die Abnahme des RBF geht mit einer Erhöhung des RVR in beiden Versuchsgruppen einher. Die Ausgangswerte liegen hier bei vergleichbaren Druckniveaus in der Kontrollgruppe zwischen $18,35 \pm 2,7$ und $26,59 \pm 4,46$ mm Hg/ml/min*g N, bei $AT_2^{-/y}$ zwischen $32,2 \pm 8,19$ und $35,95 \pm 10,95$ mm Hg/ml/min*g N. In der dritten Woche der DOCA-Salz-Behandlung steigt der RVR bei den Wildtyp-Mäusen auf Werte zwischen $26 \pm 3,37$ und $34,82 \pm 2,53$ mm Hg/ml/min*g N, bzw. $30,97 \pm 2,82$ und $43,41 \pm 3,2$ mm Hg/ml/min*g N bei den behandelten Knockout-Tieren an (Abb. 28).

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen an nicht narkotisierten Tieren finden sich nach DOCA-Salz die gleichen Veränderungen des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus auch im akuten Experiment an narkotisierten Tieren. In beiden Mauslinien führt DOCA-Salz zu einer signifikanten Rechtsverschiebung der in Abb. 25, 26 dargestellten Druck-Diurese-/Natriuresekurven. Physiologisch drückt sich diese „Rechtsverschiebung“ der

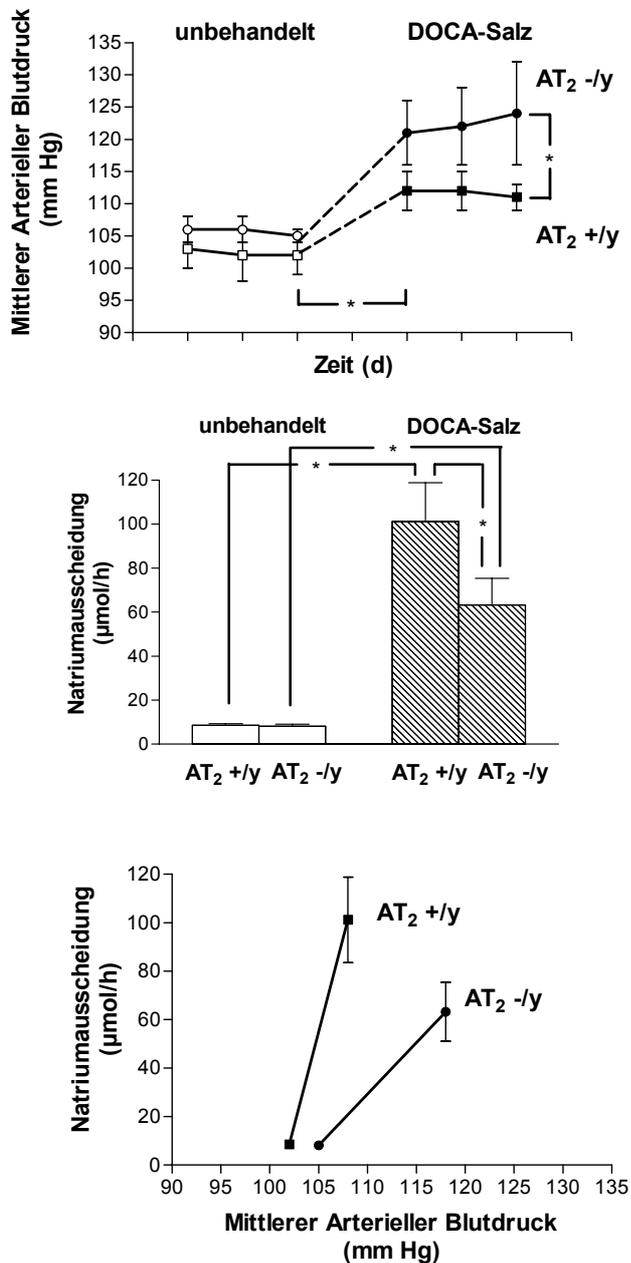


Abb. 24: Mittlerer arterieller Blutdruck, Natriumexkretion und das daraus resultierende Druck-Natriurese-Verhältnis in $AT_2^{+/y}$ und $AT_2^{-/y}$ vor und nach DOCA-Salz-Behandlung. Die Blutdruckmessung erfolgte telemetrisch, die Stoffwechseldaten wurden mit Hilfe metabolischer Käfige erhoben. * $P < 0,05$

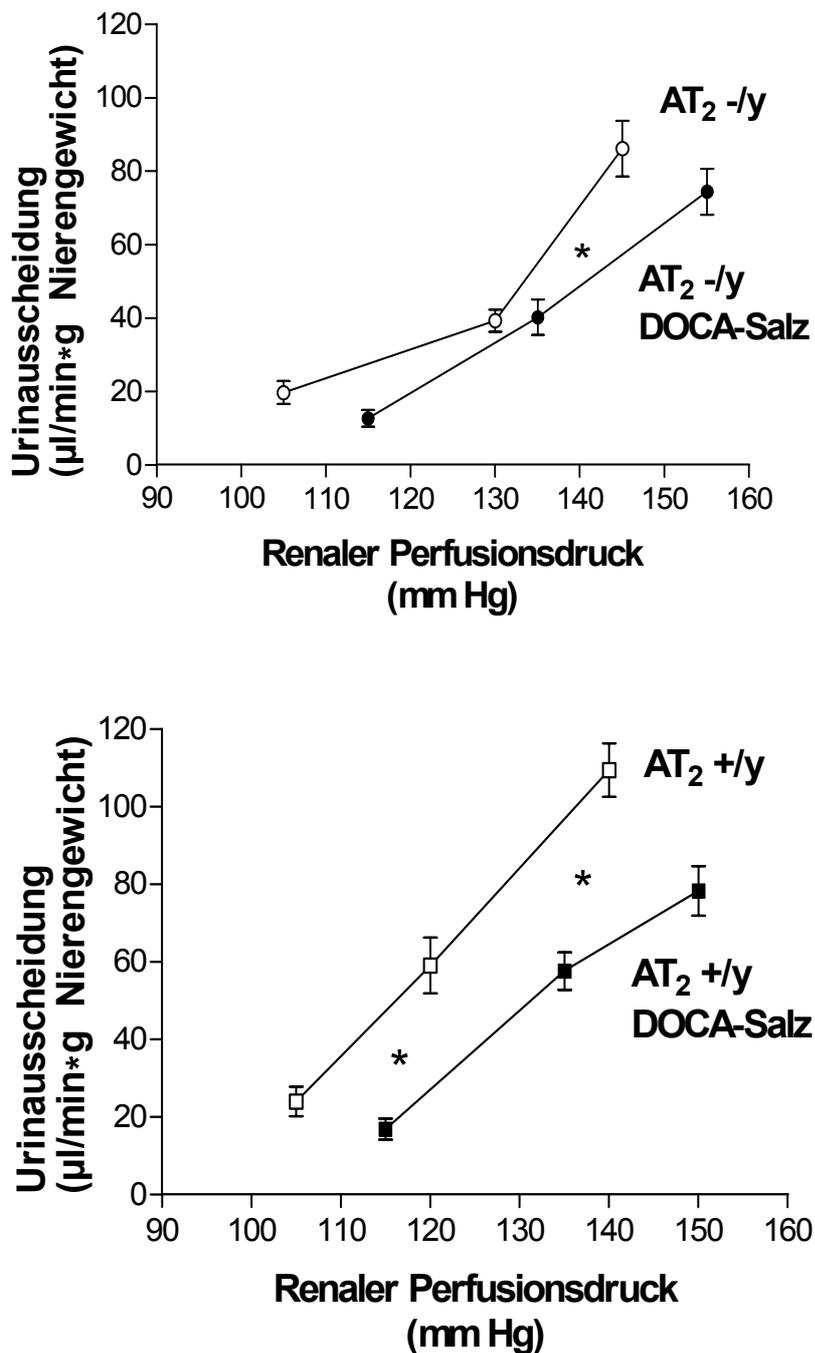


Abb. 25: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Urinausscheidung nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrolltieren ($AT_2^{+/y}$). * $P < 0,05$ DOCA-Salz führt zu einer Verschiebung des Druck-Diurese-Mechanismus zu höheren Perfusionsdrücken.

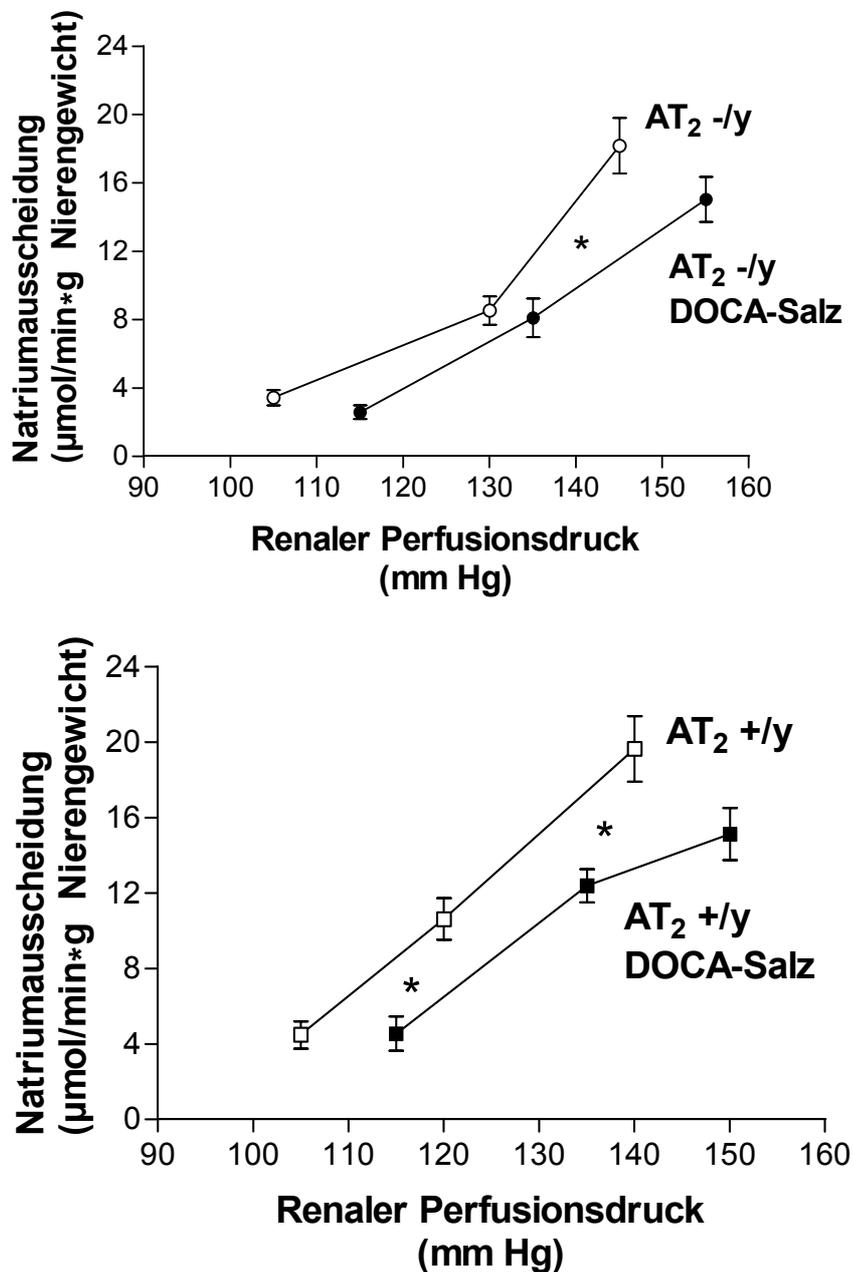


Abb. 26: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Natriumausscheidung nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrolltieren ($AT_2^{+/y}$). * $P < 0,05$ DOCA-Salz führt zu einer Verschiebung des Druck-Natriurese-Mechanismus zu höheren Perfusionsdrücken.

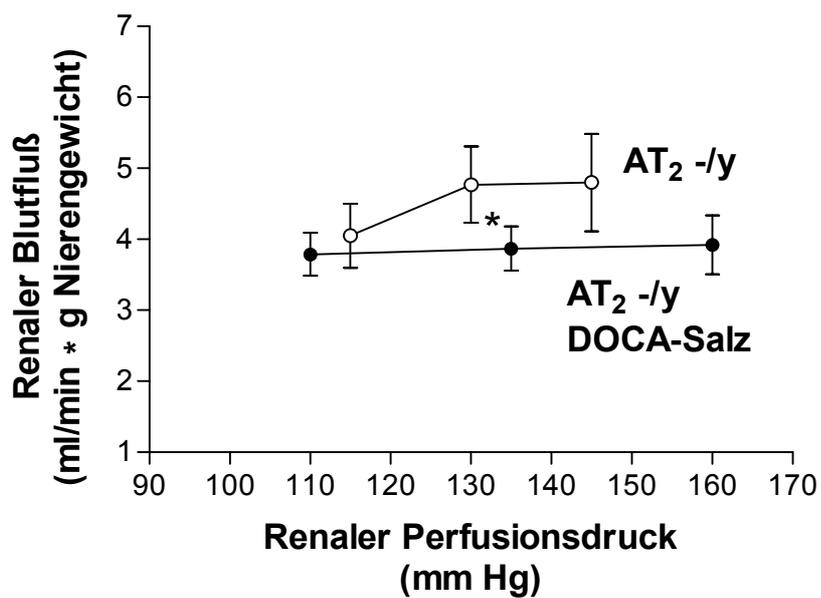
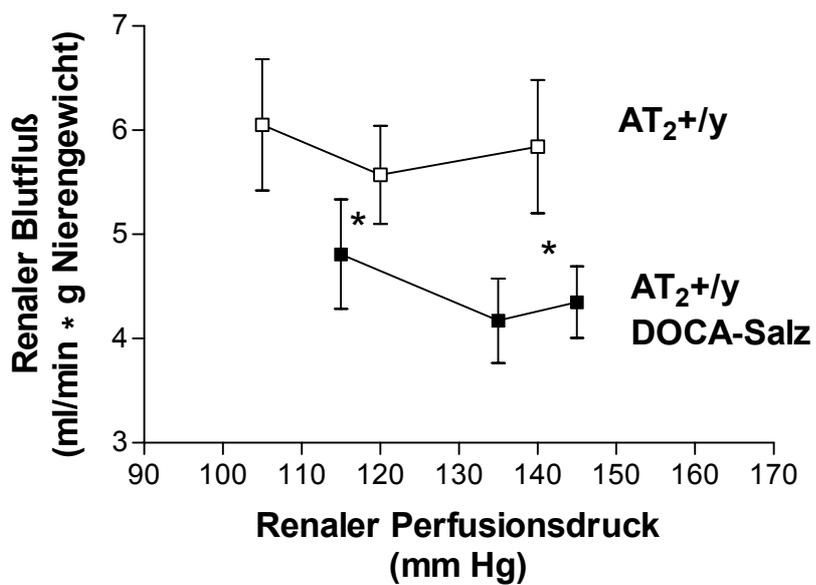


Abb. 27: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und der Renalen Blutfluß (RBF) in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrollen ($AT_2^{+/y}$ nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung. * $P < 0,05$ DOCA-Salz senkt den RBF in $AT_2^{-/y}$ und $AT_2^{+/y}$.

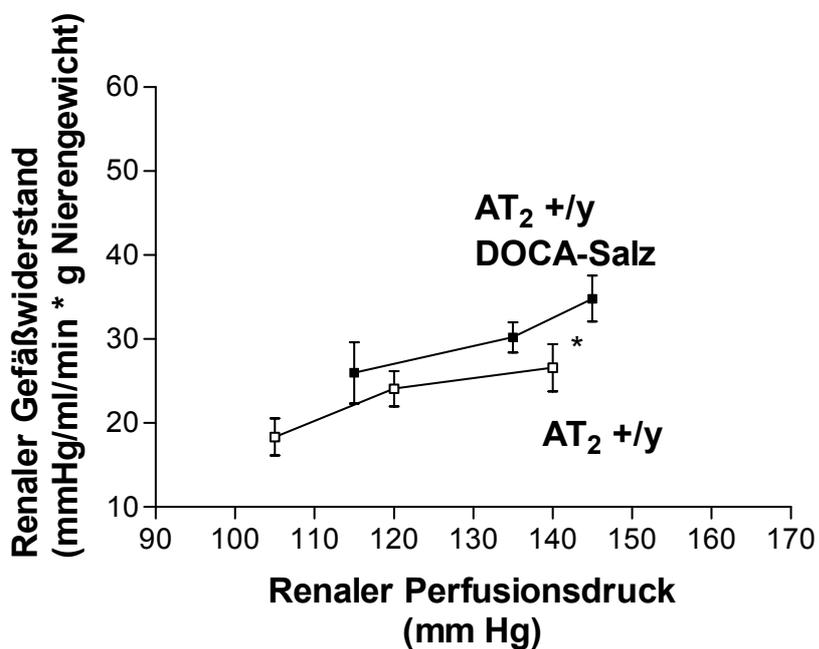
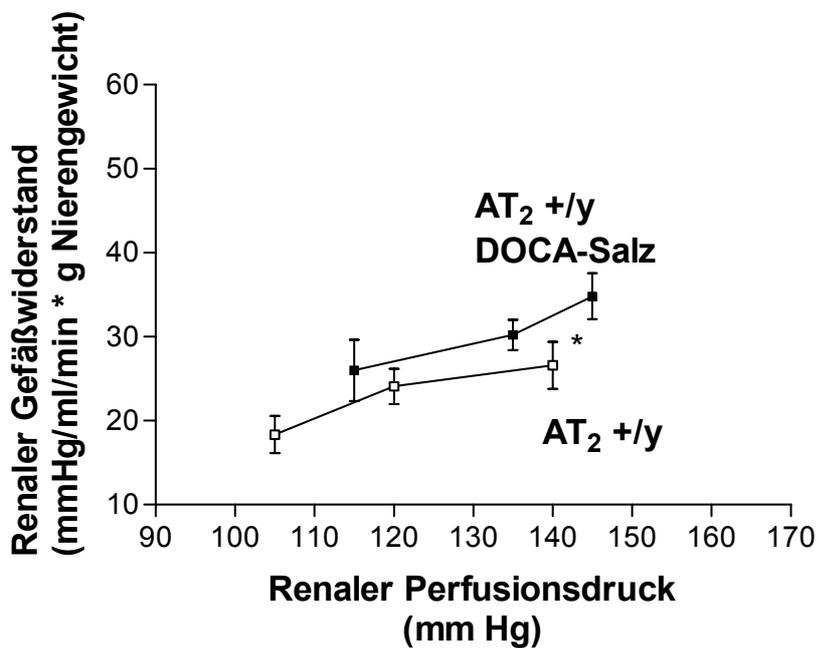


Abb. 28: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und dem Renalen Gefäßwiderstand (RVR) in AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen (AT₂-/-) und Kontrollen (AT₂+/- nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung. * P<0,05 DOCA-Salz erhöht den RVR in AT₂-/- und AT₂+/-.

Druck-Diurese-/Natriurese-Kurven in einer verminderten Urin- und Natrium-Exkretion bei vergleichbaren Druckniveaus aus. Die unmittelbar im Anschluß an das Äquilibrium ermittelten Ausgangswerte für die Diurese und Natriurese liegen in der Kontrollgruppe bei $23,94 \pm 3,79$ ml/min*g N bzw. $4,48 \pm 0,72$ ml/min*g N (103 mm Hg) und $19,57 \pm 3,16$ ml/min*g N bzw. $3,17 \pm 0,82$ ml/min*g N (107 mm Hg) bei den Knockouttieren. Mit Erhöhung des peripheren Widerstandes durch das Abbinden großer peripherer arterieller Gefäße wurde die Diurese auf der dritten und höchsten Druckstufe bis auf $109,24 \pm 6,88$ ml/min*g N bei 141 mm Hg für AT₂+/y bzw. $85,93 \pm 7,63$ ml/min*g N bei 147 mm Hg für AT₂-/y gesteigert. Unter DOCA-Salz werden bei vergleichbaren renalen Perfusionsdrücken kleinere Urinvolumina ausgeschieden. Bei den Kontrolltieren macht das bei einem Druckniveau von annähernd 140 mm Hg einen Unterschied von $109,24 \pm 6,88$ ml/min*g N unter Ausgangsbedingungen und $57,5 \pm 4,83$ ml/min*g N nach DOCA-Salz aus. Die Natriurese wird in diesem Fall von $19,63 \pm 1,73$ ml/min*g N auf $12,37 \pm 0,88$ ml/min*g N abgesenkt. Das mittlere Körpergewicht der Mäuse entspricht aufgrund des gleichen Experiment-Setups dem der für die Messung des RBF verwendeten Tiere. Das mittlere Körpergewicht der in dieser Serie (RBF, Diu-/Natriurese) untersuchten Tiere unterlag gruppenübergreifend nur geringen Schwankungen: AT₂-/y 27 ± 1 g (n=10), AT₂+/y 31 ± 1 g (n=11) sowie AT₂-/y nach DOCA-Salz 28 ± 1 g (n=8) und AT₂+/y nach DOCA-Salz 31 ± 1 g (n=6).

DOCA-Salz beeinflusst auch die glomeruläre Filtrationsrate (GFR). In der dritten Woche nach Implantation des DOCA-Pellets und kontinuierlicher Kochsalzgabe mit dem Trinkwasser konnte eine deutliche Reduktion der GFR im Vergleich zu den unbehandelten Gruppen sowohl bei AT₂+/y als auch AT₂-/y gemessen werden (Abb. 29). So lagen die Ausgangswerte für Wildtyp-Mäuse zwischen $0,9 \pm 0,13$ und $1,24 \pm 0,16$ ml/min*g N und nach DOCA-Salz-Behandlung zwischen $0,66 \pm 0,07$ und $0,81 \pm 0,08$ ml/min*g N. Demgegenüber bewegten sich die Ausgangswerte der unbehandelten Knockout-Mäuse zwischen $0,96 \pm 0,2$ und $1,07 \pm 0,15$ ml/min*g N. DOCA-Salz verminderte die GFR in diesem Mausstamm in etwa auf das Niveau der behandelten Wildtyp-Mäuse. Die Bestimmung der Inulin-Clearance ergab hier Werte zwischen $0,62 \pm 0,07$ und $0,83 \pm 0,04$ ml/min*g N. Die Ergebnisse zeigen, daß die GFR in allen Untersuchungsgruppen autoreguliert ist, also trotz erheblicher Druckunterschiede während des Experimentes auf annähernd gleichem Niveau gehalten wird.

Die aus Clearance und GFR kalkulierten Werte für die fraktionelle Wasser- und Natriumausscheidung deuten auf keine Beeinflussung durch die DOCA-Salz-Gabe hin (Abb. 30, 31). Zwar ist auch hier – ähnlich zum bereits dargestellten Druck-Diurese-/Natriureseverhalten – eine leichte Rechtsverschiebung der Kennkurve für das Exkretionsverhalten hin zu höheren Druckwerten erkennbar, diese erreicht aber nicht das Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Auf vergleichbarem Druckniveau wurden für die fraktionelle Wasserausscheidung in AT_2+/y $0,97 \pm 0,12$ % (MAP=107 mm Hg) und in AT_2-/y $1,53 \pm 0,57$ % (MAP=107 mm Hg) gemessen. In der dritten Woche der DOCA-Salz-Behandlung beträgt die Fe_{H_2O} in Wildtyp-Mäusen $2,99 \pm 0,73$ % (MAP=117 mm Hg) und bei Knockout-Tieren $2,44 \pm 0,52$ % (MAP=116 mm Hg). Im Vergleich zu $13,33 \pm 2,38$ % (138 mm Hg) auf der dritten Druckstufe unter Ausgangsbedingungen in AT_2+/y liegt die Fe_{H_2O} unter DOCA-Salz bei $8,66 \pm 1,03$ % (138 mm Hg). Ebenso geringfügig ist die Rechtsverschiebung in AT_2-/y . Unter Ausgangsbedingungen wurden $13,43 \pm 4,08$ % (148 mm Hg) und am Ende der DOCA-Salz-Gabe $11,09 \pm 0,98$ % (154 mm Hg) gemessen.

Für die fraktionelle Natriumausscheidung wurden unter Ausgangsbedingungen bei Wildtyp-Mäusen eine fraktionelle Natriumausscheidung von $1,06 \pm 0,3$ % (107 mm Hg) und bei Knockout-Tieren von $2,4 \pm 0,81$ % (107 mm Hg) berechnet (Abb. 31). Unter DOCA-Salz wird die Fe_{Na} in AT_2+/y von $13,33 \pm 2,38$ auf $11,8 \pm 1,41$ % (138 mm Hg) gesenkt. In AT_2-/y kommt es zu einer Verschiebung von $16,23 \pm 4,09$ auf $16,9 \pm 1,95$ % bei 148 bzw. 154 mm Hg MAP. Das mittlere Körpergewicht betrug bei der am jeweils selben Tier vorgenommenen Messung von GFR, Fe_{Na} und Fe_{H_2O} in AT_2-/y 29 ± 1 g (n=7) und AT_2+/y 31 ± 1 g (n=6) sowie unter DOCA-Salz in AT_2-/y 27 ± 1 g (n=11) und AT_2+/y 32 ± 1 g (n=10).

4.2.3 Einfluß der iNOS-Blockade durch GED auf das Blutdruckverhalten und die Herzrate

Die mehrtägige Injektion von GED hatte keinen Einfluß auf den MAP. In beiden Mauslinien blieb das durch DOCA-Salz erhöhte Blutdruckniveau erhalten, AT_2+/y 130 ± 7 mm Hg und AT_2-/y 136 ± 2 mm Hg (Abb. 32). Auch die Herzfrequenz wurde durch die Gabe von GED nicht beeinflusst. Die HR ist unter DOCA-Salz leicht erniedrigt und erfährt keine weitere Beeinflussung durch die GED-Gabe (Abb. 32). Für dieses Setup wurden die Daten von 5 Wildtyp-Mäusen 29 ± 1 g und 4 Knockout-Mäusen 24 ± 1 g telemetrisch erfaßt.

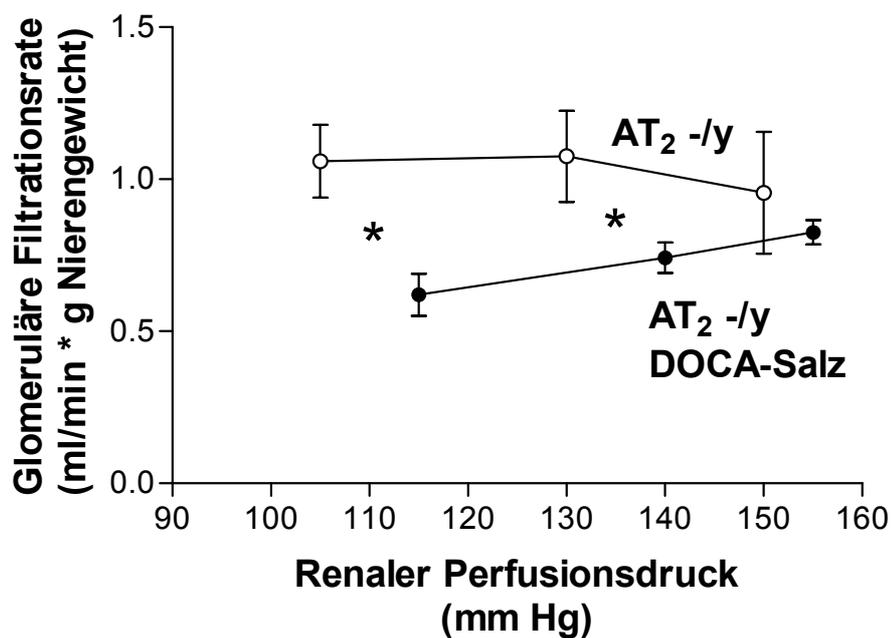
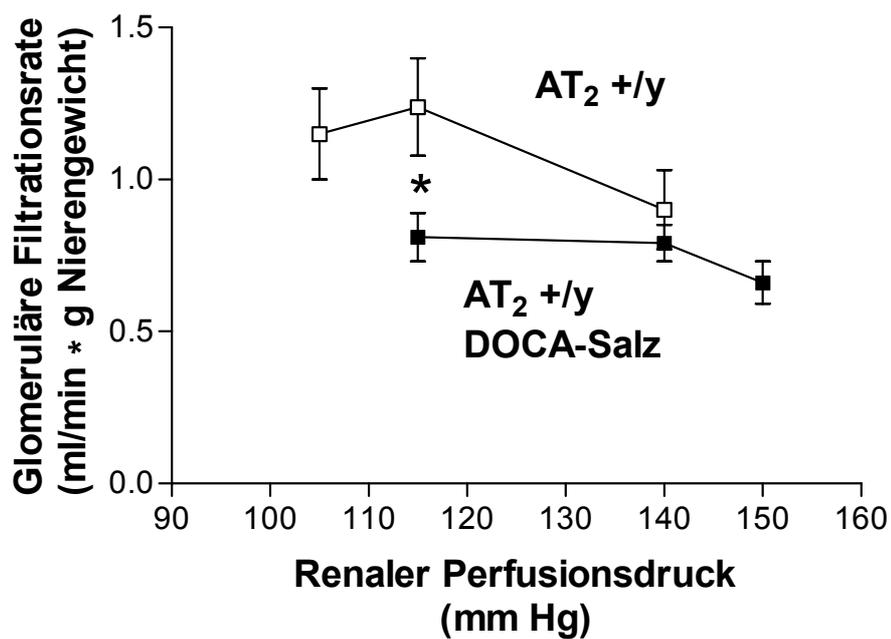


Abb. 29: Verhältnis zwischen dem Renalen Perfusionsdruck und der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) in AT₂-Rezeptor-defizienten Mäusen (AT₂-/-) und Kontrollen (AT₂+/-) nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung. * P<0,05 DOCA-Salz senkt die GFR in AT₂-/- und AT₂+/-.

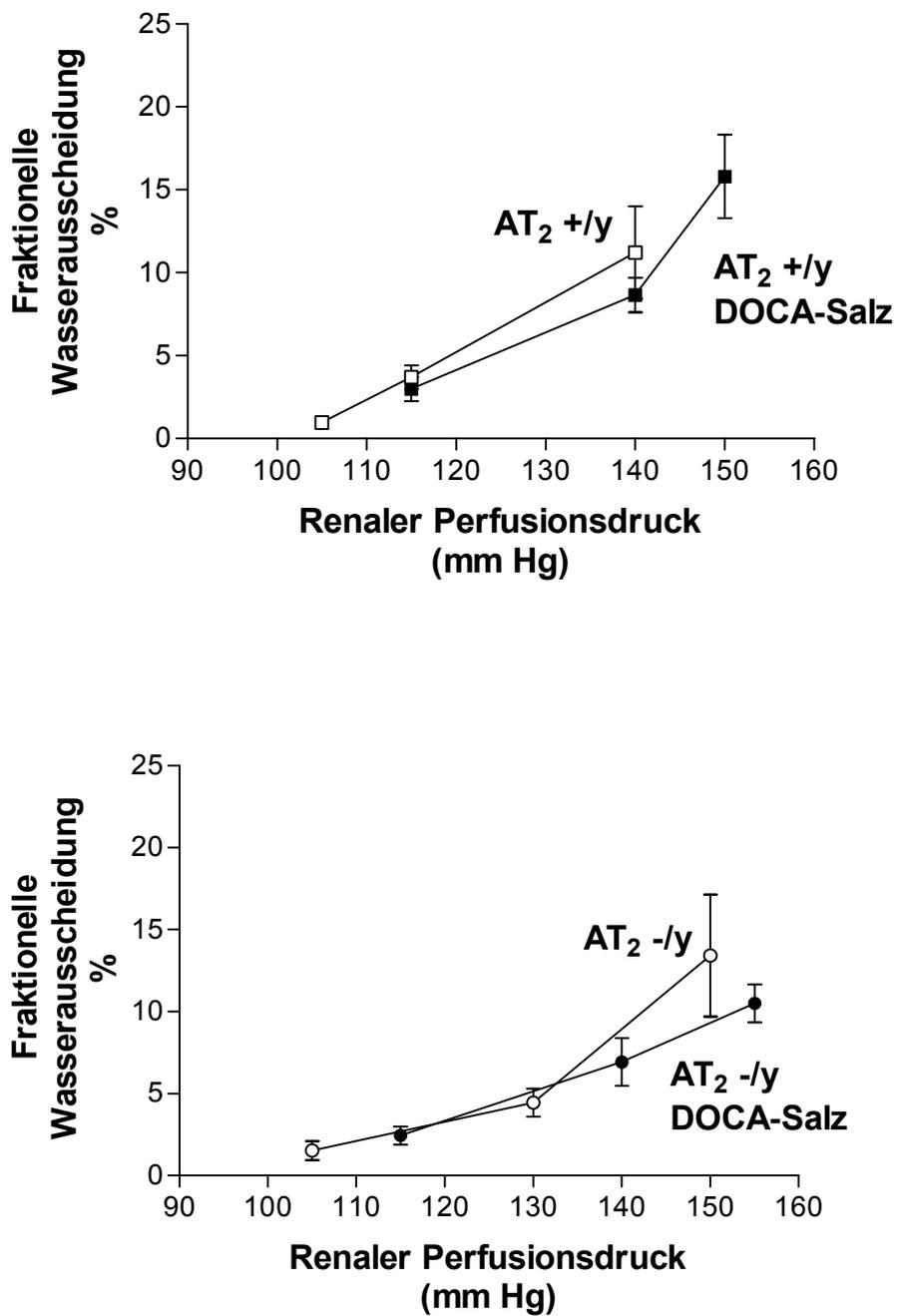


Abb. 30: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Fraktionellen Wasserausscheidung nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen (AT_2 -/y) und Kontrolltieren (AT_2 +/y).

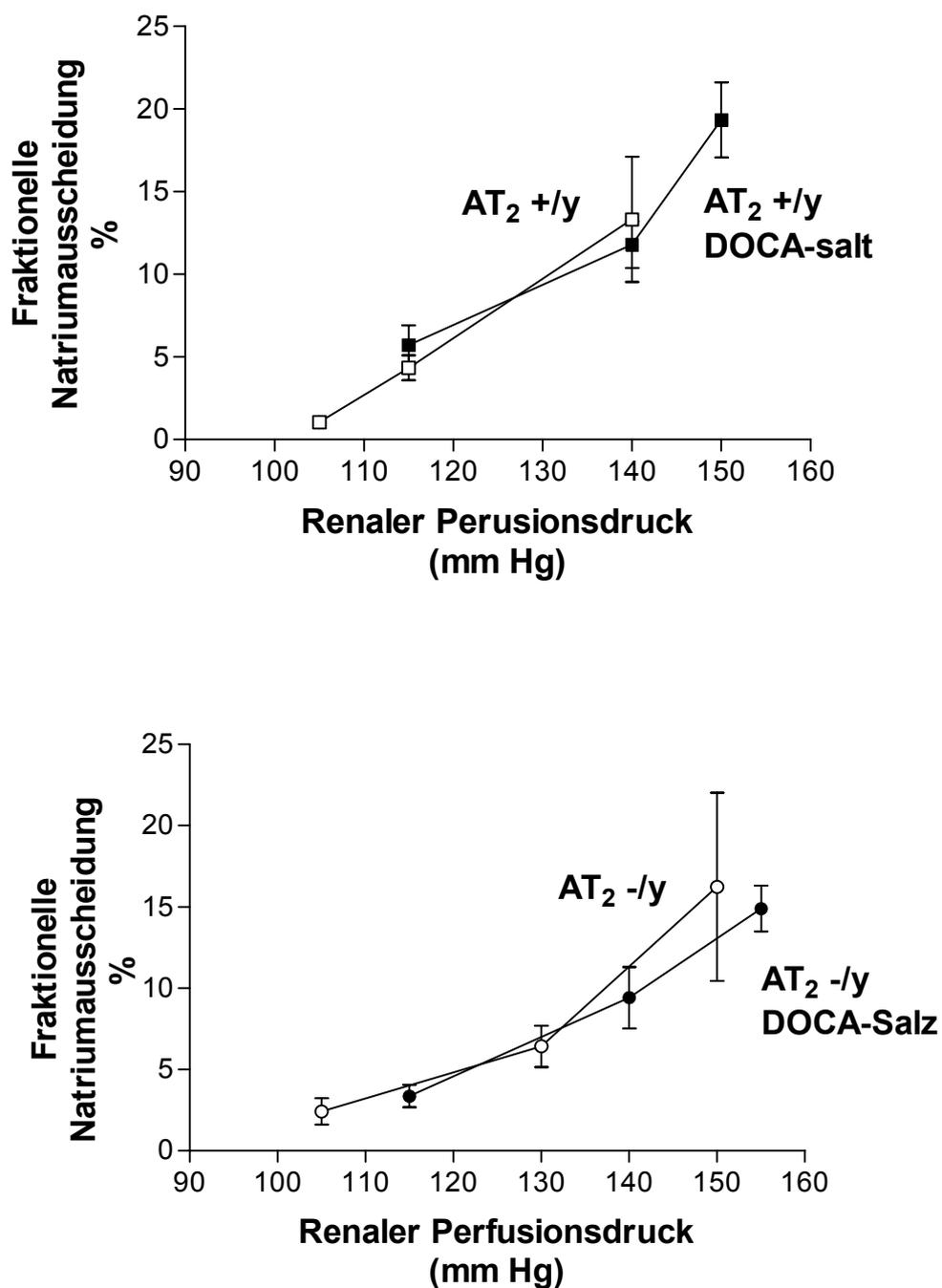


Abb. 31: Verhältnis zwischen Renalem Perfusionsdruck und der Fraktionellen Natrium-ausscheidung nach dreiwöchiger DOCA-Salz-Behandlung in AT_2 -Rezeptor-defizienten Mäusen ($AT_2^{-/y}$) und Kontrolltieren ($AT_2^{+/y}$).

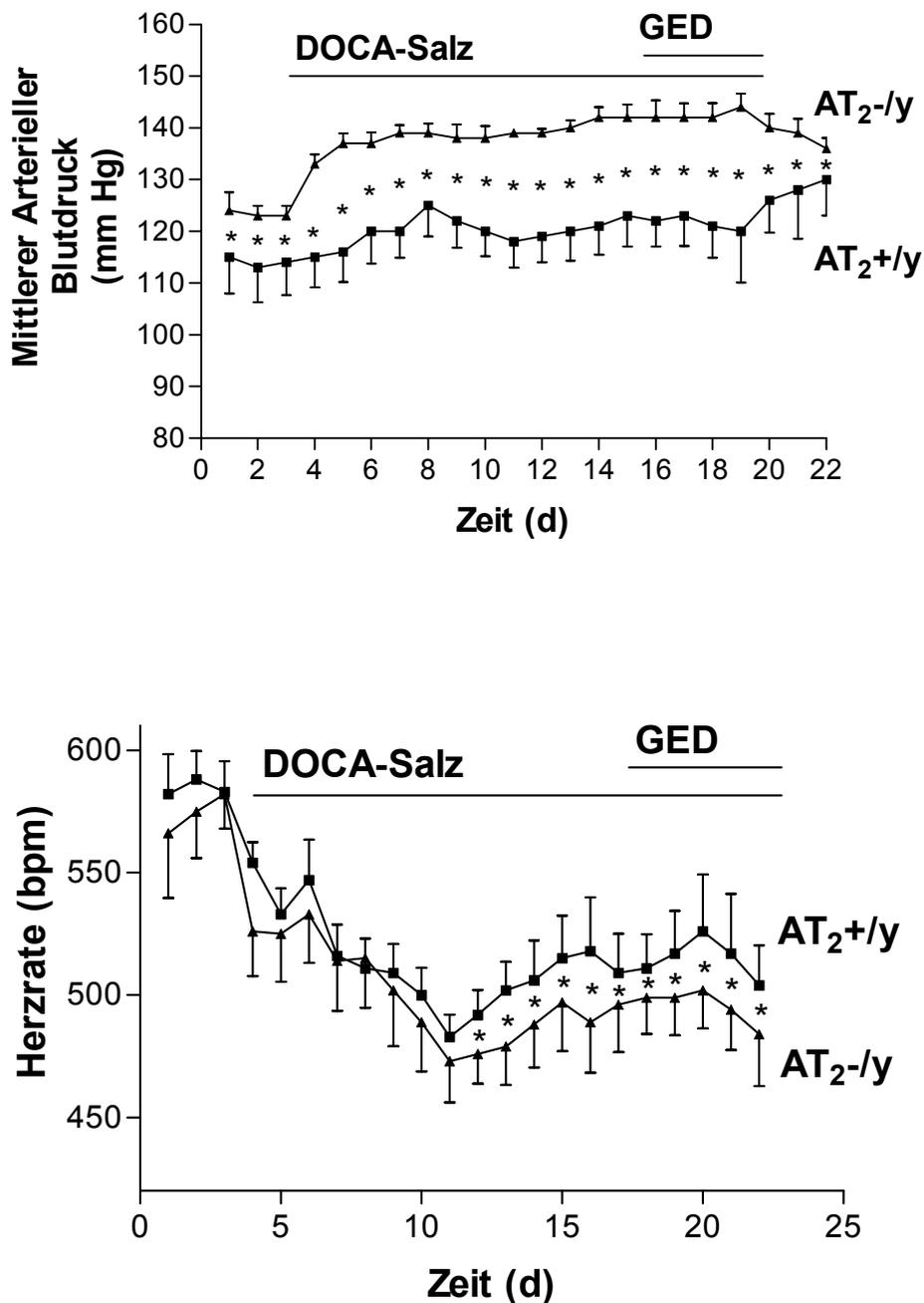


Abb. 32: Mittlerer arterieller Blutdruck und Herzrate in AT₂+/*y* und AT₂-/*y* vor und nach DOCA-Salz-Behandlung (2 Wochen) sowie anschließender zusätzlicher Gabe von GED (iNOS-Inhibitor). * P<0,05 die Daten wurden telemetrisch erfaßt. Die Applikation von GED hatte keinen Einfluß auf Blutdruck und Herzrate.

4.2.4 Veränderungen des Herzminutenvolumens und des Totalen Peripheren Widerstandes unter Einfluß von DOCA-Salz

Die erste Simultanerfassung von Blutdruck und Herzminutenvolumen erfolgte in dieser Serie 12 h nach Implantation des Doca-Pellets und wurde dann wie in der L-NAME-Serie zweimal täglich – vormittags und nachmittags – fortgeführt. Zeigten die ersten Messungen noch keine Auffälligkeiten konnte doch über den gesamten Zeitraum der Messungen ein kontinuierlicher Blutdruckanstieg verzeichnet werden. Von anfänglich 124 ± 3 mm Hg stieg der MAP auf 149 ± 5 mm Hg am Tag 10. Ab dem dritten Tag unterschieden sich die 24-Stundenwerte des MAP signifikant von den Ausgangswerten (Abb. 33).

Der Blutdruckanstieg wurde von einem tendenziellen Abfall der Herzfrequenz begleitet, ohne das geforderte Signifikanzniveau zu erreichen. Zu Beginn wurden 656 ± 13 Schläge/min registriert und am Ende der zweiten Woche nach DOCA-Salz-Initialisierung 599 ± 25 Schläge/min. Das Schlagvolumen unterlag während der ganzen Meßperiode nur geringen Schwankungen und kann als konstant angesehen werden. Es betrug unter Ausgangsbedingungen $0,025 \pm 0,002$ μ l und am zehnten Tag nach Auslösen der DOCA-Salz-Hypertonie $0,022 \pm 0,002$ μ l.

Analog zu Herzrate verhielt sich auch das als Produkt aus Schlagvolumen und Herzfrequenz berechnete Herzminutenvolumen (HMV). Von anfänglich $16,4 \pm 1,25$ ml/min nahm das HMV im Untersuchungszeitraum nur leicht bis auf $13,05 \pm 1,17$ ml/min ab.

Der Anstieg des MAP bei zugleich mehr oder weniger konstantem Herzminutenvolumen spiegelt sich auch im peripheren Widerstand wider, der aus diesen beiden Parametern kalkuliert wurde. In den zwei Wochen unter DOCA-Salz steigt er von $8,16 \pm 0,56$ mm Hg/ml*min kontinuierlich auf $12,19 \pm 0,8$ mmHg/ml*min am Untersuchungsende an (Abb. 33). Ebenso wie beim MAP ist in den ersten Tagen noch keine Veränderung zu beobachten. Ab dem vierten Tag wird das Signifikanzniveau erreicht. Das Körpergewicht der in die Messung eingegangenen 8 AT₂+/-y-Tiere betrug am Versuchsanfang 29 ± 1 g, in der zweiten Behandlungswoche 27 ± 1 g.

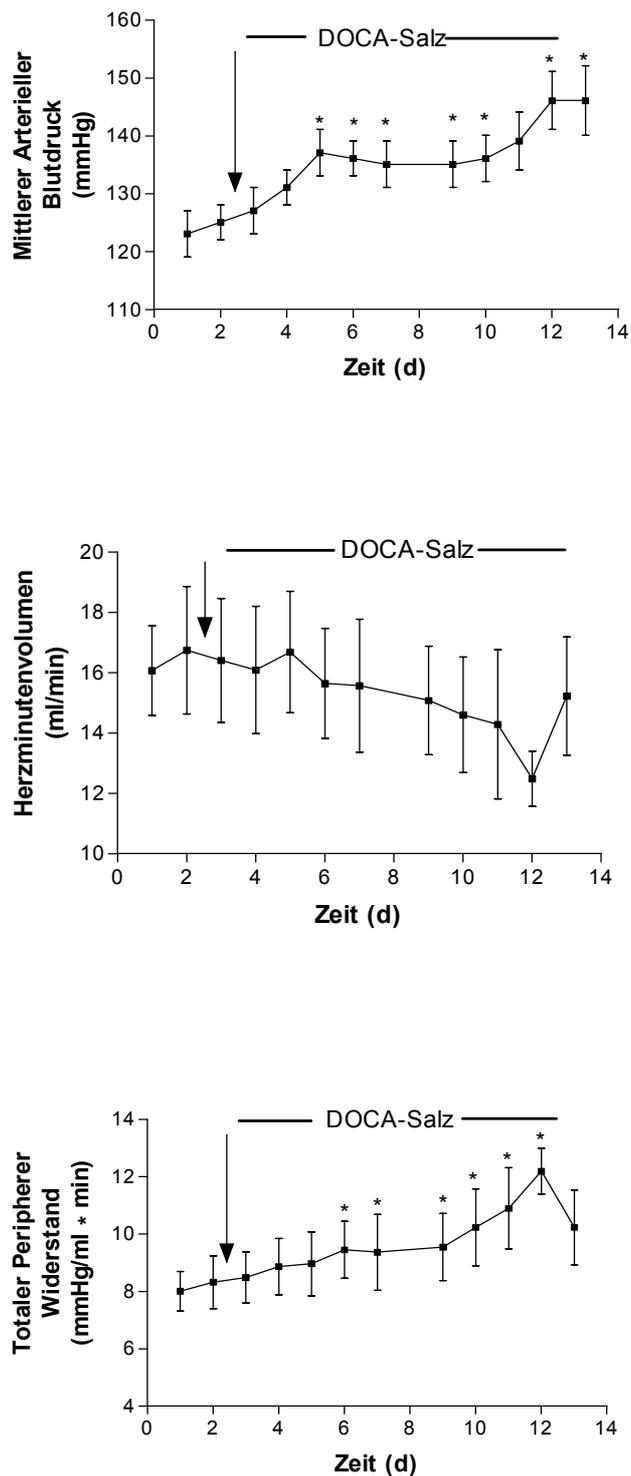


Abb. 33: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzminutenvolumen und totaler peripherer Widerstand vor und nach DOCA-Salz-Behandlung (2 Wochen). MAP und TPR steigen kontinuierlich an. * $P < 0,05$