

## 5 Diskussion

### 5.1 Methodenkritik

#### 5.1.1 Tierversuche

Bei der tierexperimentellen Arbeit stellt sich stets auch die Frage nach Alternativen zum Versuch am lebenden Organismus. Physiologische Fragestellungen, insbesondere der Grundlagenforschung, bieten in dieser Hinsicht nur wenig Handlungsmöglichkeit.

Die hier untersuchte Kreislaufregulation ist ein systemisches Geschehen des gesamten Organismus, das die Fokussierung nur eines Organes oder Organsystemes nicht zuläßt. Daher sind mögliche *in vitro*-Untersuchungen an isolierten Organen nur im Hinblick auf spezielle Fragestellungen sinnvoll. Ergebnisse solcher Experimente können sich von der gesamtorganismischen Antwort bei gleichem Versuchs-Setup erheblich voneinander unterscheiden. Das liegt daran, daß die Stellglieder der Blutdruckregulation in ihrer Funktion dem Einfluß des Autonomen Nervensystems und des endokrinen Systems unterliegen. Dieser Einfluß ist an isolierten Organen unterbrochen. Somit besteht also bei den hier durchgeführten Experimenten die Notwendigkeit von Tierversuchen.

#### 5.1.2 Das Modell AT<sub>2</sub>-Rezeptor-Knockout-Maus

Das hier verwendete Tiermodell der AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Maus wurde auf der Basis zweier Wildtierstämme, C57/BL6 und SVJ129, gezüchtet. Dieser inhomogene genetische Hintergrund kann aufgrund des Selektionsdruckes einer weitergehenden Zucht zu leichten Veränderungen des Mausstammes führen. Diese Veränderungen sind aber aufgrund des bei Knockout-Stämmen üblichen hohen Inzuchtkoeffizienten minimal und haben vor den hier betrachteten starken Herz-Kreislauffeffekten keine besondere Bedeutung.

Außerdem ist zu berücksichtigen, daß es bei der mit einem Knockout verbundenen Ausschaltung eines Gens immer zu einer Gegenregulation in anderen Systemen kommt, wodurch nicht differenzierbar ist, ob der vorliegende Phänotyp primäre Folge des Knockouts ist oder sekundär durch Kompensationsmechanismen bewirkt wird. An diesem Modell lassen sich aber funktionellen Zusammenhänge zwischen den AngII-Rezeptoren im

Gesamtorganismus verständlich machen, auf die die Fragestellung dieser Arbeit ausgerichtet war.

### **5.1.3 Streß**

Prinzipiell gilt, daß jedes „Handling“ eines Tieres Ungenauigkeiten in den physiologischen Versuchsergebnissen nach sich zieht. Im Falle der telemetrischen Blutdruckmessung konnte diese Fehlerquelle minimiert werden, da sich die Mäuse während der Messung in einem separaten Raum befanden, der nicht betreten werden mußte. Bei anderen Messungen am nichtnarkotisierten Tier – wie der Herzminutenvolumen-Messung – wurde darauf geachtet, daß ein ausreichendes Äquilibrium zwischen Manipulation und Messung eingehalten wurde. Nach Möglichkeit wurde das Tier stets vom gleichen Untersucher in den Versuch genommen.

Auch das Einbringen des Tieres in eine neue Umgebung, insbesondere wenn diese mit schlechteren Haltungsbedingungen verbunden ist, verursacht Streß. Untersuchungen in Stoffwechselkäfigen sind aufgrund ihrer Konstruktion mit Einschränkungen für das Tier verbunden. Die Maus muß sich auf einem Gitterrost bewegen, da der Urin ungehindert abfließen können muß. In einer Ecke des Käfigs wurde daher zur Minderung der Streßkomponente ein Plastikplättchen als Ruhelager auf dem Gitter befestigt. Zudem wurden die Messungen auf drei Tage begrenzt. Die Urinproben des ersten Meßtages wurden verworfen. Schonendere Stoffwechseluntersuchungen an nichtnarkotisierten Mäusen sind bislang nicht möglich.

### **5.1.4 Narkose**

Auch Narkose beeinflusst in starkem Maße Parameter der Kreislaufregulation. So ist beispielsweise der Blutdruck und die Herzrate deutlich abgesenkt. Sofern es möglich war (telemetrische Blutdruckmessung, Messung des Herzminutenvolumens), wurden die Untersuchungen daher an nichtnarkotisierten Tieren vorgenommen. Nach Erwachen des Tieres wurde auf eine ausreichende Ruhephase vor Beginn der Messung geachtet. So wurde

die Datenaufnahme erst nach Wiedereinstellung des ursprünglichen Körpergewichtes sowie des circadianen Rhythmus im Verhalten von Blutdruck und Herzrate begonnen.

War die Sedierung der Maus aufgrund des Versuchablaufs unvermeidbar, wurde nach Möglichkeit die gut steuerbare und damit schonendere Gasnarkose (Isofluran) der Injektionsnarkose vorgezogen. Dennoch konnte beispielsweise bei umfangreicher Instrumentierung, wie der Messung des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus und des RBF, aufgrund der besseren Handhabbarkeit auf die Injektionsnarkose nicht verzichtet werden.

### **5.1.5 Instrumentierung**

Jede Form der Instrumentierung stellt für eine nichtnarkotisierte Maus eine Belastung dar und muß somit als Fehlerquelle diskutiert werden. Bei einem durchschnittlichen Körpergewicht einer Maus von 25-30g wiegt beispielsweise ein Telemetriesender 3,4 g. Abgesehen davon, daß dieser Fremdkörper Druck auf innere Organe ausübt, ist auch die Körpergewichtsregulation beeinflusst. So stellt sich post operationem das Körpergewicht in etwa abzüglich des Sendergewichtes ein. Trotz des Senders ist die Maus in ihrer Bewegungsmöglichkeit kaum eingeschränkt. In Abwägung anderer Kriterien, wie Narkoseeffekt und Streß, stellt die telemetrische Blutdruckmessung das Optimum der derzeitigen methodischen Möglichkeiten dar.

### **5.1.6 Circadiane Rhythmik**

Die Kreislaufregulation ist durch eine ausgeprägte circadiane Rhythmik gekennzeichnet. Messungen an nichtnarkotisierten Tieren wurden deshalb nach Möglichkeit über einen längeren Zeitraum durchgeführt, um daraufhin den Mittelwert zu bilden (telemetrische Blutdruckmessung). Waren nur stichprobenartige Messungen möglich (Herzminutenvolumen) wurden diese stets zur gleichen Tageszeit und auch über einen längeren Untersuchungszeitraum durchgeführt.

Es wird deutlich, daß jede Methode eine Beeinflussung des Versuchstieres darstellt. Ein Optimum gibt es daher nicht. Die Auswahl der „besten“ Versuchsmethode ist daher immer eine Kompromißfindung zwischen verschiedenen Fehlerquellen.

## **5.2 Diskussion der Versuchsergebnisse**

Ausgehend von der Hypothese NO-vermittelter Wechselwirkungen zwischen den AngII-Rezeptoren soll das im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Versuchsprogramm zur Aufklärung physiologischer Vorgänge bei der Interaktion des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und des NO-Systems beitragen, die im Zusammenhang mit der Langzeiteinstellung des Blutdruckes stehen. Dazu wurden Funktionsanalysen des Herzens und der Niere – zwei wichtigen Stellgliedern der Blutdruckregulation – unter Blockade des NO-Systems mit L-NAME und Stimulation des NO-Systems mit DOCA-Salz vorgenommen. Die Ergebnisse sollen hier unter dem Aspekt eines integrativen Blickwinkels organismischer Vorgänge auch vor dem Hintergrund molekularbiologischer Befunde, die in Zusammenarbeit mit anderen Arbeitsgruppen ermittelt wurden, umfassender diskutiert werden. Alle Untersuchungen wurden am Modell der AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Maus vorgenommen, die die Möglichkeit einer Analyse AT<sub>1</sub>-Rezeptor-vermittelter Effekte an der Blutdruckregulation ohne Beeinflussung durch den AT<sub>2</sub>-Rezeptor bietet.

### **5.2.1 Funktionsänderungen von Herz und Niere unter Einfluß von L-NAME**

#### **5.2.1.1 Blutdruck und renale Funktionsänderungen**

Für die Langzeitregulation des Blutdruckes spielt die Niere über den Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus die zentrale Rolle. Für das Verständnis der L-NAME-Hypertonie ist damit die Untersuchung renaler Funktionen unerlässlich. In Stoffwechseluntersuchungen und Blutdruckuntersuchungen an nicht-narkotisierten AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Mäusen und deren Kontrollen unter L-NAME wurden Hinweise auf einen veränderten Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus gefunden. Es zeigte sich, daß einerseits der Blutdruckanstieg in AT<sub>2</sub>-y-Tieren stärker ausgeprägt war als bei den Kontrollen, letztere aber eine im Vergleich zu den Knockouttieren gesteigerte Natriurese aufwiesen. Zusammengenommen resultierte daraus eine Abflachung und Rechtsverschiebung der Druck-Diurese-/Natriurese-Kurve. Diese Befunde sollten anschließend genauer analysiert werden, um verantwortliche renale Funktionsänderungen zu bestimmen. Nun gibt es bereits zahlreiche Arbeiten zur L-NAME-Hypertonie in Ratten und Mäusen. Neu ist aber die Möglichkeit, aufgrund des in dieser Arbeit verwendeten AT<sub>2</sub>-Rezeptor-Knockouts Einsicht in die Regulation des Renin-Angiotensinsystems nach Blockade des NO-System zu erhalten.

Zunächst einmal ist festzuhalten, daß die bereits gezeigte Rechtsverschiebung des DDN-Mechanismus (34) der  $AT_2$ - $y$ -Tiere unter Ausgangsbedingungen sowie der im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen geringere renale Blutfluß (RBF) in dieser Versuchsserie nicht gezeigt werden konnte. Dies kann am gemischten genetischen Hintergrund der Knock-Out-Maus liegen und der zwangsläufig durch die langjährige Zucht und dem damit verbundenen Selektionsdruck verursachten geringen Veränderung des Stammes.

L-NAME führt in beiden Mauslinien zu einer Neueinstellung des DDN-Mechanismus, d.h. die gleiche Urinmenge wird nach chronischer L-NAME-Behandlung auf einem höheren Blutdruckniveau ausgeschieden. Außerdem verändert sich die Menge des ausgeschiedenen Urins bei gleichen Blutdruckänderungen nicht mehr genauso stark wie unter Ausgangsbedingungen. Graphisch spiegelt sich das in einer Rechtsverschiebung der DDN-Kurve bei kleinerem Anstieg des Graphen wider. Ferner kommt es zu einer Reduktion des renalen Blutflusses und einem Anstieg des RVR. Auf die Autoregulation des renalen Blutflusses hat L-NAME dabei keinen Einfluß. Die GFR nimmt bei den  $AT_2$ - $y$  ab. Letzteres zieht auch Veränderungen in der fraktionellen Wasser- und Natriumausscheidung mit sich. Ähnlich wie bei der Druck-Diurese-/Natriurese ist das grafisch dargestellte Verhältnis dieser Parameter zum MAP nach rechts verschoben. Das bedeutet auch hier, daß höhere renale Perfusionsdrücke aufgebracht werden müssen, um die gleiche Menge an Urin bzw. Natrium auszuschcheiden. Bemerkenswert ist, daß die angeführten Effekte in den  $AT_2$ - $y$  akzentuierter auftraten als bei den Kontrolltieren. Da die Knockouttiere auch einen stärkeren Blutdruckanstieg zeigten – beide Gruppen unterschieden sich um ca. 15 mm Hg am Ende der Meßperiode, scheinen die festgestellten renalen Funktionsänderungen in direktem Zusammenhang mit der Entstehung und Manifestation des L-NAME-Hypertonus zu stehen.

Die im chronischen Experiment erhobenen Befunde sind also durch das akute Experiment in narkotisierten Tieren bestätigt worden. Neben einer Neueinstellung des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus konnte eine Beteiligung des RBF und der GFR festgestellt werden. Als Bindeglied zwischen diesen renalen Funktionsänderungen einerseits und dem Blutdruckanstieg andererseits scheint dabei das RAS eine entscheidende Rolle zu spielen. Innerhalb dieses Systemes vermittelt – wie bereits im Eingangskapitel dargestellt – der  $AT_1$ -Rezeptor vasokonstriktorische Vorgänge und führt somit zu einer Blutdruckerhöhung (84, 93). Hinzu kommt die direkte Steigerung der Natrium- und Wasser-Reabsorption am

proximalen Tubulus sowie auf indirektem Wege über Aldosteron am distalen Tubulus (59, 83). Die Druck-Diurese-/Natriurese wird dadurch gehemmt und forciert somit den Blutdruckanstieg. Dem  $AT_2$ -Rezeptor hingegen wird eine counterregulatorische, d.h. blutdrucksenkende Wirkung zugeschrieben (26). Allerdings sind die bisher veröffentlichten Befunde zum  $AT_2$ -Rezeptor bei weitem nicht so umfangreich wie für den  $AT_1$ -Rezeptor und teilweise auch widersprüchlich. So konnte gezeigt werden, daß durch Blockade des  $AT_2$ -Rezeptors in L-NAME behandelten Ratten der DDN-Mechanismus normalisiert werden konnte, es also zu einer Linksverschiebung der DDN-Kurve kam (79). Dabei handelt es sich um ein pharmakologisches Modell, das nicht ohne weiteres mit dem hier untersuchten Gen-Knockout verglichen werden kann. Zahlreich hingegen sind die Ergebnisse, die die Linksverschiebung der DDN-Kurve durch Blockade des  $AT_1$ -Rezeptors belegen (20, 31, 32, 45, 86). An dieser Stelle wird deutlich, daß das eingangs vorgestellte Modell eines Wechselspiels zweier opponierender Rezeptorisoformen der Komplexität tatsächlicher Vorgänge nicht gerecht wird.

Wie in anderen Arbeiten gezeigt werden konnte, agiert NO innerhalb eines Regelkreises als Gegenspieler zu  $AT_1$ -Rezeptor-vermittelten hämodynamischen Veränderungen in der Niere (13, 119). Wird die NO-Synthese durch L-NAME-Gabe blockiert, kommt es zu einer AngII-abhängigen Blutdruckerhöhung (99), die in erster Linie auf die Erhöhung des peripheren Widerstandes zurückzuführen ist. NO reguliert aber auch die renale Wasser- und Salz-Reabsorption, die Sekretion von Renin und die tubuloglomeruläre Balance (70, 108, 135). Durch die chronische Gabe von  $AT_1$ -Rezeptor-Blockern oder ACE-Hemmern kann der Blutdruckanstieg verhindert werden. Die Gabe von Valsartan nach zweiwöchiger L-NAME-Behandlung normalisierte die Blutdruckwerte in  $AT_2^{+/y}$  als auch  $AT_2^{-/y}$  annähernd auf das Ausgangsniveau. Die verwendete Dosis führt zu einer ca. 80-prozentigen Rezeptorblockade. Ursache für den Blutdruckanstieg unter L-NAME ist der Anstieg des totalen peripheren Widerstandes dessen Reversibilität mit Valsartan in  $AT_2^{+/y}$  gezeigt werden konnte – ein weiterer Beleg für die Bedeutung des  $AT_1$ -Rezeptors bei der Ausbildung der L-NAME-Hypertonie.

In Ratten konnte gezeigt werden, daß die  $AT_1$ -Rezeptor-Blockade nach Manifestation der L-NAME-Hypertonie zu einer Normalisierung des MAP, RBF und der GFR, interessanterweise aber nicht zu einer Normalisierung des DDN-Mechanismus (20) führte. Daher sind auch andere als  $AT_1$ -Rezeptor-vermittelte Wirkungen an der Ausbildung der L-

NAME-Hypertonie mit ihren renalen Funktionsänderungen anzunehmen. In diesem Zusammenhang ist eine Beteiligung des  $AT_2$ -Rezeptors denkbar. Von besonderer Bedeutung für die Diu- und Natriurese ist aber neben direkten tubulären Vorgängen und der corticalen Durchblutung auch der medulläre Blutfluß sowie der interstitielle hydrostatische Druck medullären Gewebes. In Ratten sind beide Parameter nach L-NAME-Behandlung erniedrigt (85, 92). Das kann auch für den in  $AT_2$ -/-y veränderten DDN-Mechanismus ausschlaggebend sein, denn ein gesenkter interstitieller hydrostatischer Druck führt zu einer erhöhten Natrium- und Wasser-Reabsorption und bietet daher eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die beobachteten Änderungen des Exkretionsverhaltens der Tiere. Interessant in diesem Zusammenhang auch die Beobachtung, daß der gesenkte interstitielle hydrostatische Druck nach NO-Blockade in Hundenieren auch nach konstanter Infusion von NO-Donatoren nicht restituiert werden konnte (80). Möglicherweise spielt dies auch bei der Irreversibilität der Veränderungen des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus im Gegensatz zu anderen renalen Funktionsparametern eine Rolle (20).

Die renale Genexpression des  $AT_1$ -Rezeptors – die in Zusammenarbeit mit Dr. J. Janke untersucht wurde – ist im Vergleich zu den Kontrollen auf mRNA-Ebene hochreguliert (95) und ist somit eine Erklärungsmöglichkeit für den in Vorbefunden (34) gegenüber den Kontrollen erniedrigten RBF und den leicht verschobenen DDN-Mechanismus in  $AT_2$ -/-y. In den hier durchgeführten Experimenten zeigte sich unter Ausgangsbedingungen lediglich eine Rechtsverschiebung der DDN-Kurve der  $AT_2$ -/-y gegenüber den Kontrollen. Der RBF verhielt sich in beiden Gruppen gleich. Gründe hierfür sind möglicherweise in der Inhomogenität des genetischen Hintergrundes und der Veränderlichkeit des Zuchtstammes zu sehen. Unter L-NAME wird die Expression des  $AT_1$ -Rezeptors in Wildtyp-Mäusen vermindert. Hingegen konnte in  $AT_2$ -Knockout-Tieren das gleiche Expressionsniveau wie unter Ausgangsbedingungen gezeigt werden (95). Somit sind nach chronischer L-NAME-Behandlung einerseits Blutdruckänderungen und nierenphysiologische Veränderungen feststellbar, die die Beteiligung des  $AT_1$ -Rezeptors implizieren, andererseits aber wird dessen Genexpression unter diesen Bedingungen zumindest in  $AT_2$ +/-y gehemmt. Dieser zunächst widersprüchliche Befund kann durch kompensatorische Mechanismen erklärt werden. So unterscheidet sich der Ausgangsblutdruck beider Stämme trotz veränderter Regulation des  $AT_1$ -Rezeptors nicht. Möglicherweise ist hierfür die verstärkte Transkription von iNOS und nNOS in den  $AT_2$ -Knockout-Mäusen verantwortlich, die zunächst die  $AT_1$ -Rezeptor-vermittelten Wirkungen kompensieren (96). Denkbar ist, daß es dann erst nach Wegfall dieses

Gegenspielers unter NO-Blockade zu einer akzentuierten Änderung des Blutdruckes und renaler Funktionsparameter kommt. Diese Veränderungen vollziehen sich in  $AT_2$ -/ $y$  stärker, da sowohl der  $AT_2$ -Rezeptor als auch NO als counterregulatorische Systeme wegfallen. Dafür spricht auch das Herunterregulieren der  $AT_1$ -Rezeptorexpression unter L-NAME in  $AT_2$ +/ $y$ , der eine  $AT_2$ -Rezeptor-vermittelte, NO-unabhängige Kompensation der L-NAME-Hypertonie nahelegt.

Die Bedeutung des  $AT_2$ -Rezeptors als Gegenspieler des  $AT_1$ -Rezeptors wird auch anhand der renalen L-NAME-Effekte deutlich. Die Verschiebung von RBF und DDN-Mechanismus sind in  $AT_2$ -Rezeptor-defizienten Mäusen stärker ausgeprägt als bei den Kontrollen, in denen mit der NO-Blockade nur ein Kompensationsmechanismus ausgeschaltet wurde.

In Übereinstimmung mit der Literatur konnte die maßgebliche Beteiligung des  $AT_1$ -Rezeptors an den beobachteten Funktionsänderungen der Niere und am Blutdruckanstieg nach NO-Blockade durch L-NAME gezeigt werden. Da der  $AT_2$ -Rezeptor-Knockout die  $AT_1$ -Rezeptorwirkungen unter L-NAME verstärkt, scheint NO für die Beeinflussung des  $AT_1$ -Rezeptors durch den  $AT_2$ -Rezeptor nicht essentiell zu sein. Diese Annahme wird auch durch die Expressionsanalyse des  $AT_1$ -Rezeptors gestützt. Die ausgeprägteren renalen Funktionsänderungen und der stärkere Blutdruckanstieg in  $AT_2$ -/ $y$  bestätigen die antagonistische Wirkung des  $AT_2$ -Rezeptors auf  $AT_1$ -Rezeptor-Effekte.

#### 5.2.1.2 Kardiale Funktionsänderungen nach L-NAME-Behandlung

Im Unterschied zu den Experimenten für die renale Funktionsprüfung, die nach einwöchiger L-NAME-Gabe durchgeführt wurden, sind die Tiere der im folgenden betrachteten Versuchsserie 3 Wochen mit L-NAME behandelt worden. Zunächst wurde auch hier – wie bereits im Kapitel zur Projektbeschreibung dargestellt – mit einer einwöchigen Behandlung begonnen. Da zu diesem Zeitpunkt der L-NAME-Intervention nur sehr geringe funktionale Unterschiede festgestellt wurden, ist die Behandlungsdauer verlängert worden.

Begleitend zu den linksventrikulären Untersuchungen wurde auch das Blutdruckverhalten über den gesamten Zeitraum der L-NAME-Behandlung erfaßt. Sowohl in



AT<sub>2</sub>+/-y als auch AT<sub>2</sub>-/-y konnte ein Blutdruckanstieg verzeichnet werden, der sich bereits am Ende der ersten Woche manifestierte und sich nicht zwischen den beiden Mausstämmen unterschied.

Während die linksventrikuläre Druck-Volumen-Messung unter Ausgangsbedingungen keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen zeigte, konnte nach Occlusion der V. cava eine systolische Dysfunktion der AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Tiere unter L-NAME festgestellt werden. Das drückte sich in einer Abnahme der Endsystolischen Druck-Volumen-Relation (ESPVR) aus, die durch die Unterbindung des venösen Rückstromes als Vor- und Nachlast-unabhängiger Kontraktilitätsparameter gilt (117, 118). Erhöhte Herzmassen-Indizes in dieser Versuchsgruppe gaben den Hinweis auf ein linksventrikuläre Hypertrophie, die als kompensatorischer Mechanismus für die verminderte Kontraktilität denkbar ist.

Diese Vermutung wurde durch die in Zusammenarbeit mit anderen Arbeitsgruppen durchgeführten Untersuchungen im Hinblick auf Fibrose, Kernoberfläche und Expression von BNP überprüft (37). L-NAME ruft in AT<sub>2</sub>-KO-Mäusen sowohl eine verstärkte Expression des Hypertrophiemarkers BNP, eine Vergrößerung der Kernoberfläche, als auch eine Zunahme der perivaskulären Fibrose hervor. Bis auf eine gleichbleibende BNP-Expressivität sind diese Veränderungen in geringerem Maße auch bei den Wildtyp-Kontrollen feststellbar. Der Knockout des AT<sub>2</sub>-Rezeptors gibt hier also offensichtlich einen zusätzlichen Impuls für die Hypertrophierung, die hier möglicherweise eine kompensatorische Funktion für die nachlassende Kontraktilität des linken Ventrikels nach chronischer L-NAME-Behandlung übernimmt. Aufgrund des gleichen Blutdruckverhaltens beider Versuchsgruppen scheinen für diese funktionalen Veränderungen hämodynamische Unterschiede nicht primär verantwortlich zu sein. Die kardiale Hypertrophierung verbunden mit perivaskulärer Fibrose nach NO-Blockade ist auch in anderen Spezies, wie Ratten und Schweinen beschrieben worden (57, 61, 94, 102). L-NAME-Applikation führt aber nicht in jedem Falle zur Herzhypertrophie (72, 103). An der Überwindung des erhöhten Gefäßwiderstandes könnte in diesem Falle anstelle der Herzhypertrophierung die verstärkte Synthese von Mitochondrien mit nachfolgendem Anstieg der ATP-Produktion, die für NO-Mangelzustände beschrieben wird, beteiligt sein (103).

Da der AT<sub>2</sub>-Rezeptor-Knockout offensichtlich einen besonderen Impuls bei der strukturellen Veränderung (remodelling) des Herzen spielt, stellt sich die Frage inwiefern nun

die beiden untersuchten Rezeptorisoformen an diesen Vorgängen konkret beteiligt sind. Für den AT<sub>1</sub>-Rezeptor wird in diesem Zusammenhang die Regulation der Fibroblasten beschrieben (123). Ferner konnten durch AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockade in Ratten L-NAME-induzierte strukturelle Änderungen der Gefäße verhindert werden (120). Auf der anderen Seite verhindert der AT<sub>2</sub>-Rezeptor – ganz in Übereinstimmung mit dem eingangs hypothetisierten Modell einer counterregulativen Wirkweise beider Rezeptortypen – die Ausbildung einer perivaskulären Fibrose durch einen Bradykinin- und NO-abhängigen Mechanismus (72). Allerdings wird neben zahlreichen Befunden, die eine in bezug auf den AT<sub>1</sub>-Rezeptor antagonistische Wirkung des AT<sub>2</sub>-Rezeptors suggerieren, auch eine mögliche Beteiligung des AT<sub>2</sub>-Rezeptors an kardialer Hypertrophie beschrieben. So konnten in AT<sub>2</sub>-y im Gegensatz zu den Kontrollen nach Angiotensin II-Infusion oder Occlusion der Aorta abdominalis keinerlei Anzeichen eines kardialen Remodelling festgestellt werden, während sich in den Kontrolltieren eine linksventrikuläre Hypertrophie mit interstitieller Kollagenablagerung manifestierte (54, 56, 111). Denkbar ist in diesem Zusammenhang eine Rezeptorwirkkette unter Aktivierung von NF-κB, einem Genregulationsfaktor, der an entzündlichen Prozessen beteiligt ist. Auf diesem Wege kann eine Regulation der Zytokin-Expression erfolgen, die für hypertrophe Prozesse von Bedeutung sind (106). Inwiefern beide Befunde uneingeschränkt verglichen werden können bleibt fraglich, da sie sich auf zwei unterschiedliche Hypertoniemodelle stützen. Der Umstand, daß AT<sub>2</sub>-Rezeptor-vermittelte Wirkungen in Abhängigkeit von der experimentellen Situation AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Wirkungen entgegenwirken oder aber diese verstärken können, zeigt deutlich, daß die modellhafte Vorstellung einer antagonistischen Wechselwirkungen beider AngII-Rezeptoren nicht uneingeschränkt gilt.

Wie auch in der Niere ist die in Zusammenarbeit mit Dr. J. Janke ermittelte AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Expression im Myokard in AT<sub>2</sub>-y hochreguliert (37). In Übereinstimmung mit Expressionsanalysen anderer Gewebe der AT<sub>2</sub>-KO-Maus scheint diese Dysregulation im gesamten Organismus aufzutreten (105, 122). Dreiwöchige L-NAME-Behandlung führt zu einer Abnahme der mRNA-Bildung. Der Expressionslevel des AT<sub>1</sub>-Rezeptors im Myokard von Wildtyp-Mäusen bleibt nach L-NAME unverändert. Dieses Bild zeigte sich auch in der parallel durchgeführten Western-Blot-Analyse. Im Gegensatz zu diesem Befund wird für Ratten nach L-NAME-Behandlung ein erhöhter Expressionslevel des AT<sub>1</sub>-Rezeptors im Herz und der Nebenniere beschrieben (63, 126). Zusammen mit der in diesem Zusammenhang beobachteten erhöhten Aldosteron-Konzentration des Plasmas können diese Vorgänge an

kardialer Hypertrophie und Fibrose beteiligt sein (9, 131). Aber auch trotz eines ungefähr gleichen  $AT_1$ -Rezeptor-Genexpressionsniveaus der beiden hier untersuchten Mausstämme nach L-NAME müssen die Angiotensin II-Effekte in den Versuchsgruppen nicht die gleichen sein. So können  $AT_2$ -y zusätzliche Effekte zeigen, die neben der NO-Blockade durch den Wegfall eines weiteren Kompensationsmechanismus  $AT_1$ -Rezeptor-vermittelter Wirkungen hervorgerufen werden.

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, daß der Knockout des  $AT_2$ -Rezeptors unter chronischer L-NAME-Applikation in diesen Experimenten zu einer Abnahme der systolischen Leistungsfähigkeit des Herzen bei gleichzeitig verstärkter linksventrikulärer Hypertrophie und erhöhter perivaskulärer Fibrose führt. Dieser Befund stützt die Vorstellung von der antiproliferativen und somit kardioprotektiven Funktion des  $AT_2$ -Rezeptors. Da zwischen den Versuchsgruppen keine Unterschiede im Blutdruckverhalten festzustellen waren, werden von der Hämodynamik weitgehend unabhängige Prozesse als Ursache angenommen.

### 5.2.1.3 Simultanerfassung von Blutdruck und Herzminutenvolumen unter L-NAME

Durch das aufwändige und in der Maus erstmalig angewandte Verfahren einer Kombination telemetrischer Blutdruckmessung und der Bestimmung des Herzminutenvolumens mit Hilfe einer chronisch implantierten Transit-time-Flowprobe an der aufsteigenden Aorta lassen sich hämodynamische Parameter im organismischen Zusammenhang am nichtnarkotisierten Tier beurteilen. L-NAME führt zu einem hauptsächlich auf der Erhöhung des totalen peripheren Widerstandes beruhenden Hypertonus (18, 42, 53, 113, 127), an dessen Manifestation – wie bereits diskutiert wurde – in starkem Maße das RAAS beteiligt ist (60, 99). Anhand dieser Befunde, die auch in dieser Versuchsserie bestätigt werden konnten, wird deutlich, welche große Bedeutung die Bildung von NO für den Erhalt eines normotensiven Blutdruckes hat.

Interessant ist, daß es bereits 4 Stunden nach Beginn der L-NAME-Behandlung zu einem deutlichen Anstieg des MAP und TPR kommt, der mit einer Abnahme des Herzminutenvolumens (CO) einhergeht. Als Ursache hierfür wird in der Literatur eine veränderte Kontraktilität des Herzen, ein verminderter venöser Rückstrom oder die Barorezeptor-vermittelte Abnahme der Herzrate und/oder der Kontraktilität des Ventrikels

diskutiert (18, 42). Da das Schlagvolumens während des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant blieb und auch die Bestimmung des Arbeitsdiagrammes des linken Ventrikels bei den Wildtyp-Mäusen keinerlei Auffälligkeiten zeigte, ist eine veränderte Kontraktilität als Grund für die Abnahme des CO auszuschließen. Ursache ist vielmehr die in gleichem Maße abnehmende Herzrate. Hervorgerufen werden kann diese Bradykardie durch einen direkten L-NAME-Effekt auf den Sinusknoten (58).

Die Reversibilität des unter L-NAME beobachteten Blutdruckanstieges mit dem AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blocker Valsartan konnte bereits in der Telemetrieserie zu den nierenphysiologischen Alterationen unter L-NAME gezeigt werden und ist auch in der Literatur belegt (60, 99). Mit diesen Experimenten konnte nun auch an nicht narkotisierten, weitgehend ungestreßten Tieren die diesem Blutdruckanstieg zugrundeliegende Änderung des TPR gezeigt werden. Die Normalisierung des TPR nach AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockade bestätigt die eingangs formulierte Hypothese des AT<sub>1</sub>-Rezeptor-vermittelten Widerstandshochdruckes.

## **5.2.2 Funktionsänderungen von Herz und Niere unter Einfluß von DOCA-Salz/Regulation des NO-Systems**

### **5.2.2.1 Blutdruck und renale Funktionsänderungen**

Die mit Hilfe der Telemetrie und den Stoffwechsellkäfigen gewonnenen Ergebnisse im Hinblick auf das Blutdruck- und Salzexkretionsverhalten an nichtnarkotisierten Tieren ähneln trotz der Unterschiedlichkeit beider Hypertoniemodelle denen unter L-NAME erfaßten Daten. Auch hier kommt es unter DOCA-Salz zu einem stärkeren Blutdruckanstieg in AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Tieren. DOCA-Salz führt außerdem zu einem stärkeren Anstieg der Natriumexkretion bei den Wildtyp-Mäusen beobachtet werden. Im Zusammenhang mit den Unterschieden im Blutdruckverhalten kommt es daher auch hier zur Neueinstellung des Druck-Diurese-/Natriuresemechanismus, d.h. zu einer Verschiebung gegebener Exkretionsmengen hin zu höheren renalen Perfusionsdrücken in AT<sub>2</sub>-y.

Die in der Telemetrieserie ermittelte Verschiebung des Druck-Diurese-/Natriurese-Mechanismus konnte auch im akuten Experiment an narkotisierten Tieren nachgewiesen

werden. DOCA-Salz führt in  $AT_2$ -Rezeptor-defizienten Mäusen sowie deren Kontrollen zu einer Rechtsverschiebung des grafisch dargestellten Verhältnisses zwischen renalem Perfusionsdruck und Diu- bzw. Natriurese. Diesen Veränderungen liegt ein verminderter RBF sowie eine reduzierte GFR zugrunde. Im Einklang mit dem verminderten renalen Blutfluß steht der Befund eines erhöhten renalen Gefäßwiderstandes. Die Rechtsverschiebung der Fraktionellen Wasser- bzw. Natriumausscheidung deutet auf Veränderungen in tubulären Prozessen an.

Wie eingangs beschrieben, führt die Gabe von DOCA-Salz zu einer salzabhängigen Form der Hypertonie. Die erhöhte Salzaufnahme induziert eine gesteigerte NO-Synthese in der Niere (16, 112). Die verschiedentlich publizierte Steigerung der NO-Produktion unter DOCA-Salz (1, 69) wird auch durch die in Zusammenarbeit mit Dr. Schulze-Forster vorgenommene Bestimmung der Nitritkonzentration im 24h-Urin bestätigt. Sowohl in  $AT_2^{+/y}$  als auch  $AT_2^{-/y}$  kommt es zu einer signifikanten Steigerung der Nitrit-Exkretion unter DOCA-Salz. Neben dieser Aktivierung des NO-Systems wird gleichzeitig eine Supprimierung des RAAS beschrieben (131). Da beide Systeme eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase in der Niere spielen, sollten sie im Hinblick auf die beobachteten Veränderungen nierenphysiologischer Parameter analysiert werden. In Zusammenarbeit mit Dr. J. Janke wurden daher zusätzlich zu den eigenen nierenphysiologischen Messungen Tiere untersucht, in denen die Auswirkungen von DOCA-Salz auf die Genexpression verschiedener NO-Synthase-Isoformen sowie des  $AT_1$ -Rezeptors in der Niere als auch die Nitrit-Konzentration des Urins untersucht wurden.

Die renale Genexpressionsanalyse des  $AT_1$ -Rezeptors im Nierengewebe bestätigte die bereits in der L-NAME-Serie festgestellte Erhöhung der mRNA-Bildung in  $AT_2^{-/y}$  unter Ausgangsbedingungen. Im Unterschied zu dieser Versuchsserie wird der Expressionslevel in diesen Mäusen allerdings unter DOCA-Salz herunterreguliert während sie in den Wildtyp-Kontrollen unverändert bleibt. Die Angaben in der Literatur zum Verhalten des  $AT_1$ -Rezeptors bei einem für die DOCA-Salz-Hypertonie typischen Überschuß an Mineralcorticoiden sind variabel. Es wird sowohl von einer erhöhten, unveränderten oder verminderten Genexpression berichtet (4, 33, 44, 73, 75). Die Ursachen dafür sind unklar, sind aber vielleicht auch in der Unterschiedlichkeit der untersuchten Tiermodelle zu finden. So gibt es Mausstämme wie C57/BL6, die als Non-Responder keine DOCA-Salz-Hypertonie entwickeln. Hinzu kommt, daß die DOCA-Salz-Hypertonie ein multifaktorielles Geschehen

darstellt. Vor diesem Hintergrund sind daher geringe Abweichungen der Befunde trotz standardisierter Versuchsbedingungen nicht unwahrscheinlich. So ergab beispielsweise die hämodynamische Analyse DOCA-Salz-hypertensiver Schweine im gleichen Versuch-Set einen auf Veränderungen des CO, des TPR oder aber auf Veränderungen beider Parameter basierenden Hypertonus (87).

Die im Zusammenhang mit der Manifestation der DOCA-Salz-Hypertonie festgestellten Veränderungen der nierenphysiologischen Parameter ähneln den bereits beschriebenen L-NAME-Effekten. Allerdings ist die Beteiligung des AT<sub>1</sub>-Rezeptors unter DOCA-Salz aufgrund der bei AT<sub>2</sub><sup>+/y</sup> unveränderten und bei AT<sub>2</sub><sup>-/y</sup> verminderten Gentranskription und den widersprüchlichen Befunden in der Literatur in diesem Zusammenhang nicht eindeutig geklärt. Es wird sowohl von einer erhöhten, unveränderten oder verminderten Genexpression berichtet (4, 33, 44, 73, 75). Die Ursachen dafür sind unklar. Und auch an dem in beiden Mausstämmen gezeigten Blutdruckanstieg unter DOCA-Salz scheint der AT<sub>1</sub>-Rezeptor nicht maßgeblich beteiligt zu sein. Zwar konnte durch die Messung des Herzminutenvolumens unter DOCA-Salz wie unter L-NAME die schrittweise Erhöhung des Totalen Peripheren Widerstandes im Untersuchungszeitraum gezeigt werden, Vorversuche mit einem AT<sub>1</sub>-Rezeptorblocker zeigten aber keine Änderungen im Blutdruckverhalten. Es scheinen hierfür andere Prozesse als die Effekte des AT<sub>1</sub>-Rezeptors verantwortlich zu sein. Diskutiert werden in diesem Zusammenhang ein erhöhter Sympathikustonus (64), eine erhöhte Gefäßsensibilität (5) und eine verstärkte Endothelinsynthese (132).

Die Gabe von DOCA-Salz führt außerdem zu einer charakteristischen Veränderung des Expressionsmusters der verschiedenen NO-Synthase-Isoformen in der Niere. Diese sind insofern zur Klärung der nierenphysiologischen Alterationen von Bedeutung, als NO maßgeblich an der renalen Hämodynamik, der Wasser- und Natriumreabsorption, der tubuloglomerulären Balance und an der Renin-Sekretion beteiligt ist (70, 108, 135). Die verstärkte Expression von iNOS in AT<sub>2</sub><sup>-/y</sup> unter Ausgangsbedingungen wird unter DOCA-Salz weiter forciert. Durch Immunohistochemie konnte gezeigt werden, daß der Haupttranskriptionsort in den Glomeruli liegt. Auch nNOS ist unter Ausgangsbedingungen in AT<sub>2</sub>-Rezeptor-defizienten Mäusen hochreguliert. DOCA-Salz-Gabe vermindert die Genexpression in beiden Mausstämmen. Auf die dritte Isoform – eNOS – hat die Behandlung mit DOCA-Salz keinen nachweisbaren Einfluß. Zum großen Teil wird dieses Bild auch von

der Literatur gestützt. So wurde für nNOS eine verminderte, für iNOS und auch für eNOS eine Steigerung der Genexpression bei erhöhter Salzaufnahme beschrieben (2, 90).

Wie die bereits dargestellten L-NAME-Ergebnisse zeigen, spielt die NO-Synthese eine maßgebliche Rolle bei der Blutdruckregulation. DOCA-Salz ist ein Modell mit verstärkter NO-Produktion. So konnte beispielsweise in DOCA-Salz-behandelten Ratten durch Gabe des NOS-Inhibitors L-NMMA der Blutdruck erhöht werden – und zwar in stärkerem Maße als in den Kontrollen (69). Die Beteiligung der iNO-Synthase an der Blutdruckregulation zeigen Befunde an Dahl S Ratten, bei der die Abnahme der für diesen Stamm charakteristischen, hypertonieinduzierenden Salzsensitivität unter Beteiligung dieser Isoform nachgewiesen werden konnte (121). Ferner wurde gezeigt, daß die zusätzliche Gabe von AngII stimulierend auf die NO-Produktion wirkt und dadurch den medullären Blutfluß konstant hält (134). Diese Befunde sprechen für eine kompensatorische Funktion der NO-Bildung im Hinblick auf die blutdrucksteigernde Wirkung von DOCA-Salz. In  $AT_2$ -Rezeptor-defizienten Mäusen sowie deren Kontrollen konnte die Blutdruckrelevanz der iNOS-Regulation nicht gezeigt werden. Die in der dritten Woche der DOCA-Salz-Behandlung vorgenommene zusätzliche Gabe des iNOS-Inhibitors GED rief keine meßbare Änderung im Blutdruckverhalten hervor. In diesem Zusammenhang ist möglicherweise die für Ratten-Nieren beschriebene Bildung zweier unterschiedlicher iNOS-Fraktionen von Bedeutung. Demnach gibt es neben einer vor allem in Gefäß- und Tubulus-Segmenten nachgewiesenen Fraktion, die für die Natrium-Homöostase und damit auch für Salz-induzierte Hypertonie bedeutsam ist (1, 88), auch eine interstitielle iNOS-Fraktion mit pro-inflammatorischer Wirkung (21). Möglicherweise ist letztere in DOCA-Salz-behandelten  $AT_2^{-/y}$  und  $AT_2^{+/y}$  hochreguliert und daher keine Blutdruckänderungen nach iNOS-Blockade feststellbar gewesen.

iNOS wird unter Ausgangsbedingungen stärker in  $AT_2$ -Rezeptor-KO-Mäusen als in Wildtyp-Mäusen – zumindest auf Genebene – exprimiert. Wie beschrieben führt DOCA-Salz zu einer weiteren Steigerung der iNOS-Produktion. Es lassen sich also zwei Stimuli für eine verstärkte iNOS-Bildung ausmachen – zum einen der Knockout des  $AT_2$ -Rezeptors, der auch eine erhöhte nNOS-mRNA-Synthese induziert, und zum anderen die Behandlung mit DOCA-Salz. In glomerulären Mesangiumzellen von Ratten konnte gezeigt werden, daß in Abhängigkeit von der Dosis Angiotensin II die iNOS-Expression auf mRNA- und Proteinebene hemmen kann. Dieser Effekt konnte durch  $AT_2$ -Rezeptor-Blockade unterbunden

werden. Die verstärkte AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Expression hingegen forcierte die iNO-Synthese (110). Dieser Befund steht im Einklang mit den hier dargestellten Ergebnissen, nach denen der Knockout des AT<sub>2</sub>-Rezeptors eine verstärkte iNOS-Produktion fördert.

Auch wenn iNOS offensichtlich keinen Einfluß auf die unter DOCA-Salz beobachteten hämodynamischen Änderungen hat – denn dessen Blockade führte ja in diesen Experimenten zu keinen Blutdruckänderungen – ist doch eine Beteiligung an der gesteigerten Diu- und Natriuresis sowie der veränderten fraktionellen Wasser- und Natriumausscheidung beim DOCA-Salz-Hypertonus denkbar. So konnte in transfizierten MTAL-Zell-Linien gezeigt werden, daß NO die Genexpression der Na-K-ATPase hemmt, wodurch die Natrium-Reabsorption gehemmt wird. Eine vermehrte NO-Bildung durch iNOS könnte daher auch die Natrium-Exkretion (71) steigern.

In dieser Versuchsserie konnte gezeigt werden, daß der Knockout des AT<sub>2</sub>-Rezeptors und die Gabe von DOCA-Salz starke Stimuli für die iNOS-Expression sind. Die erhöhte Transkription von iNOS könnte an den beschriebenen nierenphysiologischen Veränderungen beteiligt sein. Das Blutdruckverhalten bleibt durch die veränderte Genexpression der iNO-Synthese unbeeinflusst. Auch die Regulation des AT<sub>1</sub>-Rezeptors ist hämodynamisch nicht von primärer Bedeutung für die DOCA-Salz-Hypertonie.

#### 5.2.2.2 Simultanerfassung von Herzminutenvolumen und Blutdruck unter DOCA-Salz

Wie schon unter L-NAME sind auch bei DOCA-Salz die hämodynamischen Veränderungen bei der Manifestation des Hypertonus untersucht worden. Anders als bei L-NAME wird für das DOCA-Salz-Modell ein in erster Linie auf eine Volumenexpansion zurückzuführender Bluthochdruck postuliert. So wird in verschiedenen salzsensitiven Modellen ein initialer Anstieg des Herzminutenvolumens bei gleichzeitiger Abnahme des TPR beschrieben, beispielsweise in Hunden, in denen kurz nach DOCA-Salz-Administration zunächst ein Anstieg des RBF bei gleichzeitig vermindertem Sympathikustonus gezeigt werden konnte (133). Nach Manifestation des Hypertonus normalisiert sich das Herzminutenvolumen wieder und es kommt zu einem Anstieg des TPR (24, 40, 41, 47, 89).



GUYTON beschrieb diesen Vorgang, bei dem es zu einem Übergang vom Volumen- in den Widerstandshochdruck kommt als „whole body autoregulation“ (39).

In AT<sub>2</sub>+/-y führte DOCA-Salz zu keiner Veränderung des Herzminutenvolumens. Hingegen stieg der TPR schon zu Beginn der Messung parallel mit dem Blutdruck an. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese einer initialen Volumenexpansion nicht. Allerdings erfolgte die erste Messung etwa 16 Stunden nach der Implantation des DOCA-Pellets. Somit kann ein auf Flüssigkeitsretention beruhender Blutdruckanstieg in diesem kurzen Zeitraum nicht ausgeschlossen werden. Interessant sind in diesem Zusammenhang die für junge Schweine beschriebenen hämodynamischen Veränderungen unter DOCA-Salz. In der selben Versuchsgruppe zeigten einige Tiere lediglich einen Anstieg des TPR, andere Änderungen im Herzminutenvolumen und wieder andere Veränderungen in beiden Parametern. Die Autoren fanden keine Anzeichen eines Übergangs vom Volumen- in den Widerstandshochdruck (87). Andererseits wurde ebenfalls in Schweinen eine verstärkte Natrium-Retention in den ersten 24 Stunden nach Induktion der DOCA-Salz-Hypertonie beschrieben (30). Das ist in etwa der Zeitraum, der mit der hier verwendeten Methode nicht erfaßt werden konnte. Möglicherweise birgt die inhomogene Alterszusammensetzung der verwendeten Versuchstiergruppe – bei deren Zusammenstellung wegen der Schwere des Eingriffes unabhängig vom Alter ausschließlich auf das Körpergewicht des Tieres geachtet wurde – eine relevante Fehlerquelle. In Ratten konnte eine Abhängigkeit der zeitlichen Dynamik der DOCA-Salz-Hypertonie vom Lebensalter der Tiere nachgewiesen werden (43).

Die Ergebnisse zeigen ganz deutlich, daß auch die DOCA-Salz-Hypertonie zumindest in dem hier verwendeten Mausmodell in starkem Maße von einer Zunahme des TPR abhängt. Was ist nun aber die Ursache für die Erhöhung des peripheren Widerstandes? Wie auch unter L-NAME wurden in Zusammenarbeit mit anderen AGs Genexpressionsanalysen des Vasokonstriktion vermittelnden AT<sub>1</sub>-Rezeptors durchgeführt. Zwar liegen nur Ergebnisse für die Niere vor, aufgrund der ubiquitären Expression des AT<sub>1</sub>-Rezeptors und vor dem Hintergrund umfangreicher Expressionsanalysen in unbehandelten AT<sub>2</sub>-/-y (105, 122), die ähnliche Ergebnisse in verschiedensten Geweben zeigte, ist jedoch bei der systemisch wirksamen DOCA-Behandlung auch eine systemische Regulationsänderung anzunehmen. Das unveränderte mRNA-Niveau bei Wildtyp-Mäusen unter DOCA-Salz deutet auf keine oder nur sehr geringe Beteiligung des Renin-Angiotensin-Systems an der Erhöhung des peripheren Widerstandes hin. Vorversuche mit einem AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blocker zeigten

keine Effekte im Blutdruckverhalten. Und auch in anderen Experimenten konnten keine oder nur sehr geringe Blutdruckeffekte durch Gabe von ACE-Hemmern und AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten gezeigt werden (68, 91, 100, 129). Möglicherweise ist die in diesem Zusammenhang für Ratten beschriebene Sympathikusaktivierung von Bedeutung (64), vielleicht auch im Zusammenhang mit einer erhöhten Gefäßsensibilität (5). Denkbar ist aber auch eine Erhöhung des Peripheren Widerstandes aufgrund einer gesteigerten Endothelinproduktion. Ein Befund, der ebenfalls in DOCA-Salz-hypertensiven Ratten erhoben wurde (132).

Zusammenfassend kann aus dieser Versuchsserie geschlußfolgert werden, daß der DOCA-Salz-Hypertonie in AT<sub>2</sub>+ $\gamma$  ein Widerstandshochdruck zugrunde liegt, der primär nicht vom Renin-Angiotensin-System abhängig ist. Sollte dem Blutdruckanstieg unter DOCA-Salz tatsächlich eine zunächst volumenexpansive Phase zugrunde liegen, muß diese auf die ersten 12 Stunden unmittelbar nach Initiation der DOCA-Salz-Hypertonie beschränkt sein.