

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden drei experimentelle Modelle der arteriellen Hypertonie untersucht. Hierbei handelte es sich um die spontan hypertensive Ratte (Okamoto et al., 1963), die München-Wistar-Frömter-Ratte (Hackbarth, 1980), die eine spontane Albuminurie bzw. Proteinurie entwickelt, sowie die salzsensitive Sabra-Ratte (Yagil et al., 1996). In Einzelstudien wurden jeweils funktionelle Parameter der Aorta und der Niere untersucht. Es ließ sich zeigen, dass die Behandlung mit einer cholesterinreichen Diät sowohl bei der spontan hypertensiven Ratte als auch bei der München-Wistar-Frömter-Ratte mit ausgeprägten Veränderungen dieser Parameter einhergeht. Ferner konnte gezeigt werden, dass bei der salzsensitiven Sabra-Ratte das Endothelinsystem eine entscheidende Rolle spielt. Die Substudien werden nachfolgend im Einzelnen diskutiert.

### 4.1 Genetisch determinierte Hypertonie

#### 4.1.1 Wirkungen einer Cholesterinbehandlung auf renale Funktionsparameter bei spontan hypertensiven Ratten

Unsere Untersuchungen konnten zeigen, dass bei der normotensiven Wistar-Ratte wie auch bei der spontan hypertensiven Ratte die Behandlung mit einer cholesterinreichen Diät zu der Ausbildung einer Albuminurie (Cooper et al., 1990) sowie zu einem Anstieg des Gesamt-Cholesterins im Serum führt. Eine Salzdiät bewirkt bei den salzsensitiven SHRSP (Spontaneously Hypertensive Rat Stroke-Prone)-Ratten ebenfalls eine Albuminurie, nicht aber bei salzresistenten SHR-Ratten (Rothermund et al., 2001). Interessanterweise konnten wir in der vorliegenden Studie zeigen, dass die Cholesterinbehandlung sowohl bei Wistar-Ratten als auch bei spontan hypertensiven Ratten mit einem deutlichen Anstieg des Entzündungsmarkers C-reaktives Protein vergesellschaftet ist. Somit ist anzunehmen, dass die erhöhte alimentäre Zufuhr von Cholesterin unabhängig vom Blutdruck eine Entzündungsreaktion hervorrufen kann. Dies ist insbesondere vor der wiederholt diskutierten entzündlichen Genese der Atherosklerose von großer Bedeutung (Ross, 1999).

Der Anstieg des HDL-Cholesterins unter Cholesterindiät war bei den Wistar-Ratten stärker ausgeprägt als bei den spontan hypertensiven Ratten. Die Veränderungen hinsichtlich des LDL-Cholesterins waren in beiden Gruppen vergleichbar, Veränderungen des HDL-Cholesterins waren sowohl bei Wistar-Ratten als auch bei spontan hypertensiven Ratten blutdruckunabhängig.

Unter den bekannten experimentellen Modellen ist die spontan hypertensive Ratte ein häufig eingesetztes Modell der "essentiellen" arteriellen Hypertonie. Die essentielle Hypertonie beim Menschen ist polygenetisch bedingt, und es konnten verschiedene Genloci dokumentiert werden, die als Ursache für die essentielle Hypertonie möglicherweise eine Rolle spielen. Bei unbehandelten essentiellen Hypertonikern findet sich häufig eine Nierenschädigung, die eine häufige Ursache für die chronische Niereninsuffizienz darstellt (Bidani et al., 2002). Die Hypertonie führt zu Schädigungen an der Gefäßwand in Form von Gefäßhypertrophie sowie zu einer tubulo-interstitiellen und glomerulären Schädigung (Barton et al., 1999; Barton et al., 2000).

Die spontan hypertensive Ratte zeichnet sich pathophysiologisch durch eine präglomeruläre Gefäßhypertrophie aus. Messungen der renalen Hämodynamik zeigen einen erhöhten renalen Gefäßwiderstand bei normaler glomerulärer Filtrationsrate und normalem glomerulärem Kapillardruck (Arendshorst et al., 1979). Diese Veränderungen finden sich bei diesen Tieren bereits in einem Alter von 4 Wochen, also vor dem Anstieg des Blutdrucks (Dilley et al., 1984; Harrap et al., 1986; Smeda et al., 1988b; Anderson et al., 2000). Mehrere Studien haben gezeigt, dass sich diese renale Gefäßhypertrophie im Gegensatz zu der anderer Gefäße (Lee et al., 1991) nicht durch eine antihypertensive Therapie mit Dihydralazin oder Enalapril rückgängig machen lässt (Smeda et al., 1988a; Kett et al., 1995; Anderson et al., 1997), was eine besondere pathogenetische Bedeutung der präglomerulären Widerstandsgefäße nahe legt.

Als Ursache für die Entstehung hypertoniebedingter Gefäßveränderungen spielt die Schädigung des Gefäßendothels eine bedeutende Rolle. Das Endothel setzt eine Reihe von vasoaktiven und mitogenen Substanzen frei, deren proliferative Wirkung bei arterieller Hypertonie erhöht ist. In der Folge kommt es zur

Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen sowie Mesangiumzellen, es resultieren Gefäßhypertrophie und Glomerulosklerose.

#### **4.1.2 Wirkungen einer Cholesterinbehandlung auf vaskuläre Funktionsparameter bei spontan hypertensiven Ratten**

Wir haben in der vorliegenden Studie die Auswirkungen einer Cholesterindiät auf endothelvermittelte Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) durch Acetylcholin untersucht. NO ist einer der wichtigsten Vasodilatoren, und seine Bioverfügbarkeit ist in spontan hypertensiven Ratten aufgrund einer erhöhten Dekomposition durch Superoxidanionen vermindert (Tschudi et al., 1996).

Die endothelabhängige, acetylcholinvermittelte Relaxation der thorakalen Aorta war bei spontan hypertensiven Ratten im Vergleich zu normotensiven Wistar-Ratten abgeschwächt. Bei Wistar-Kontrolltieren hatte die Behandlung mit einer Cholesterindiät keinen Einfluss auf die endothelabhängige Relaxationsfähigkeit. Im Gegensatz hierzu waren die Relaxationen auf Acetylcholin nach chronischer Behandlung mit einer cholesterinreichen Diät bei den spontan hypertensiven Ratten abgeschwächt. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die endotheliale Stickstoffmonoxid(NO)-Verfügbarkeit während Cholesterinfütterung nur bei gleichzeitig bestehender Hypertonie beeinträchtigt ist. Diese Ergebnisse entsprechen im wesentlichen denen einer Studie zum Einfluss einer Cholesterinbehandlung auf die acetylcholinvermittelte Relaxation bei spontan hypertensiven Ratten (Kitagawa et al., 1995) sowie anderen Studien zur eingeschränkten endothelabhängigen Relaxation bei genetisch determinierter Hypertonie (Konishi et al., 1983; Winquist et al., 1984; Luscher et al., 1986).

Um die Wirkung von basal freigesetztem Stickstoffmonoxid zu untersuchen, wurden isolierte Gefäßringe *in vitro* mit einem Hemmer der NO-Synthase vorbehandelt und Kontraktionsexperimente durchgeführt. Für die Kontraktionen wurde der vorwiegend über  $\alpha_1$ -Rezeptoren wirkende Agonist Phenylephrin verwendet (Yen et al., 1996). Um die Wirkung von vasoaktiven Prostanoiden auszuschalten, fanden sämtliche Experimente unter Vorinkubation mit einem Cyclooxygenasehemmer statt.

In Gefäßringen, die mit dem NO-Synthasehemmer L-NMMA und dem nicht-selektiven Cyclooxygenaseinhibitor Indomethacin vorbehandelt waren, zeigte sich bei Wistar-Ratten nach chronischer Behandlung mit einer Cholesterindiät eine Verstärkung der Kontraktionen auf Phenylephrin. Dieser Effekt war bei spontan hypertensiven Ratten nicht zu beobachten. Bei diesen Tieren zeigte sich eine deutlich schwächere phenylephrinvermittelte Kontraktilität. Diese Befunde sind mit einer cholesterinvermittelten Erhöhung der basalen NO-Bioverfügbarkeit bei normotensiven, nicht aber bei hypertensiven Tieren vereinbar. Unsere Beobachtungen entsprechen *in vitro*-Versuchen an Endothelzellen, die gezeigt haben, dass die endotheliale NO-Synthase durch erhöhte LDL-Konzentrationen heraufreguliert werden kann (Hirata et al., 1995).

Verschiedene Untersuchungen in den letzten Jahren haben gezeigt, dass der Vasokonstriktor und Wachstumsfaktor Endothelin-1 eine große Bedeutung für die Entstehung der arteriellen Hypertonie und deren Folgeschäden an Arterien und Nieren hat. Um zu untersuchen, ob die durch Cholesterindiät vermittelten Veränderungen hinsichtlich der Kontraktilität auf Phenylephrin über Endothelin reguliert werden, haben wir Kontraktionsexperimente in Gegenwart eines Endothelin-Rezeptorblockers durchgeführt. Wurden die Gefäßringe zusammen mit dem ET<sub>A</sub>-Rezeptorblocker LU135252 *in vitro* vorbehandelt, so zeigte sich eine deutliche Abschwächung der phenylephrininduzierten Kontraktionen bei spontan hypertensiven Ratten. Dies deutet auf eine endothelinvermittelte Modulation der  $\alpha_1$ -rezeptorvermittelten Kontraktionen bei hypertensiven Tieren hin. Interessanterweise hatte bei den normotensiven Wistar Ratten die *in vitro*-Blockade mit LU135252 nur einen leichten abschwächenden Effekt auf die phenylephrinvermittelte Kontraktilität bei den cholesterinbehandelten Tieren, der unter Normaldiät gehaltenen Tieren fehlte. Diese Beobachtungen legen den Verdacht nahe, dass das Endothelinsystem in der thorakalen Aorta durch Cholesterinbehandlung bei normotensiven Wistar-Ratten lokal aktiviert wird. Weiterhin ist anzunehmen, dass die kontrahierende Wirkung von Phenylephrin zum Teil über einen endothelinvermittelten Mechanismus zustande kommt. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits an Gefäßen anderer Spezies gemacht (Gondre et al., 1998). Diese Wirkung scheint für die normotensiven Wistar-Ratten unter normaler Diät eine untergeordnete Rolle zu spielen. Im Gegensatz hierzu

legen unsere Befunde erstmals den Verdacht nahe, dass die Kontraktilität auf Phenylephrin bei spontan hypertensiven Ratten partiell durch Endothelin vermittelt ist.

## 4.2 Spontane Proteinurie bei Hypertonie

### 4.2.1 Wirkungen einer Cholesterinbehandlung auf renale Funktionsparameter bei der München-Wistar-Frömter-Ratte

Mikroalbuminurie und Makroalbuminurie sind bedeutende prädiktive Faktoren, die nicht nur das Fortschreiten chronischer Nierenerkrankungen bestimmen, sondern auch einen unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellen (Yudkin et al., 1988; Deckert et al., 1989; Borch-Johnsen et al., 1999; Jensen et al., 2000; Gerstein et al., 2001). Neben einer Reihe von experimentellen Modellen, bei denen die Proteinurie durch experimentelle Interventionen hervorgerufen werden können (Eisenbach et al., 1975; Grond et al., 1982; Blizard et al., 1991; Hirawa et al., 1999), zeigt sich bei der München-Wistar-Frömter-Ratte eine spontane Proteinurie und eine arterielle Hypertonie. Darüber hinaus zeichnet sich die MWF-Ratte durch eine um bis zu 50% verminderte Anzahl an Glomeruli aus (Fassi et al., 1998), was für die Entstehung eines Hypertonus (Brenner et al., 1988) und das Fortschreiten von Nierenerkrankungen (Remuzzi et al., 1997) beim Menschen eine Rolle spielen soll.

Die vaskulären Veränderungen bei diesem Hypertoniemodell sind bisher wenig charakterisiert; insbesondere ist unklar, ob eine gleichzeitig bestehende Cholesterindiät diese Parameter beeinflussen kann. Wir haben daher untersucht, inwieweit sich eine Cholesterindiät auf biochemische Parameter und funktionelle Veränderungen der thorakalen Aorta in einem Tiermodell spontaner Nierenschädigung auswirkt. Wir haben hierfür das München-Wistar-Frömter-Modell verwendet, das neben der Hypertonie auch eine Nierenschädigung mit Spontanalbuminurie zeigt (Hackbarth et al., 1991).

Die MWF-Ratte wurde auf die Ausprägung einer hohen Anzahl oberflächlicher Nierenkörperchen selektiert (Rittinghausen, 1985; Hackbarth et al., 1983) und ist durch eine verminderte Anzahl funktionierender Glomeruli, einen hohen arteriellen Blutdruck und eine starke Proteinurie (vornehmlich Albuminurie) (Rovira Halbach

et al., 1986) sowie eine altersabhängige Glomerulosklerose charakterisiert (Remuzzi et al., 1992). Diese pathophysiologischen Veränderungen sind bei männlichen MWF-Tieren wesentlich stärker ausgebildet als bei weiblichen (Remuzzi et al., 1988; Remuzzi et al., 1992; Fassi et al., 1998). Die subzelluläre Lokalisation des Zonula Occludens-Proteins (ZO-1) in den Podozyten konnte kürzlich als mögliche Ursache der Permeabilitätsveränderungen der glomerulären Basalmembran identifiziert werden (Macconi et al., 2000).

Die Mechanismen der Hypertonie- und Albuminurieentstehung bei diesem Tiermodell wurden bislang wenig untersucht. Schulz et al. konnten kürzlich für den Phänotyp Albuminurie vier verschiedene QTL auf den Chromosomen 1, 6, 12 und 17 detektieren (Schulz et al., 2002). Blutdruck und Albuminurie lassen sich durch eine hochprozentige Salzdiet (8%) experimentell erhöhen (Kreutz et al., 2000). Darüber hinaus konnten Macconi et al. zeigen, dass eine Protein- bzw. Kalorienrestriktion die spontane Proteinurie verhindern kann, ohne dabei den Blutdruck zu beeinflussen (Macconi et al., 1997). In einer anderen Studie der gleichen Arbeitsgruppe konnte durch eine eisenarme Diät ebenfalls eine antialbuminurische Wirkung erzielt werden (Remuzzi et al., 1991).

Ähnlich wie bei menschlichen Nierenerkrankungen lässt sich die Nierenschädigung der München-Wistar-Frömter-Ratte durch Hemmung des Renin-Angiotensin-Systems vermindern, insbesondere der Einsatz von Hemmern des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE) hat u.a. bei uninephrektomierten hypertensiven MWF-Ratten die Nierenschädigung vermindern können (Remuzzi et al., 1990; Remuzzi et al., 1995; Remuzzi et al., 1996; Remuzzi et al., 1999). Ähnliche Daten wurden auch für Patienten mit essentieller Hypertonie oder Diabetes mellitus erhoben (Marre et al., 1991; Ruggenenti et al., 1998; Ruggenenti et al., 1999; Parving et al., 2001).

Eine Hypercholesterinämie wird häufig sekundär infolge eines erhöhten renalen Proteinverlustes bei Proteinurie beobachtet. Unter basalen Bedingungen zeigte sich bei den München-Wistar-Frömter-Ratten bereits unter Normaldiät eine vielfach höhere Proteinausscheidung als bei den normotensiven Kontrolltieren. Im Vergleich zu spontan hypertensiven Ratten und Wistar-Ratten, zeigten die MWF-Tiere eine deutlich ausgeprägte Hypercholesterinämie (Gesamtcholesterin

15.1±1.7 mmol/L, LDL-Cholesterin 4.5±0.8). Unter Cholesterindiät zeigte sich bei diesen Tieren außerdem ein ausgeprägter Anstieg der Serum-Harnstoffkonzentration, sowie des C-reaktiven Proteins als Indikator inflammatorischer Veränderungen.

In unseren Untersuchungen zeigte sich bereits bei mit Normaldiät behandelten Tieren eine deutlich ausgeprägte Albuminurie, die um das 26-fache höher lag als bei vergleichbaren Kontrolltieren. Interessanterweise wurde diese vorbestehende Albuminurie durch eine zusätzliche Cholesterindiät trotz Nierenhypertrophie nicht weiter erhöht. Die Cholesterindiät hatte bei den normotensiven Wistar-Kontrolltieren einen nur schwach ausgeprägten Effekt.

Ob die Hypercholesterinämie und die damit verbundenen entzündlichen Veränderungen den Blutdruck beeinflussen können, ist bislang wenig untersucht worden. Interessanterweise und im Gegensatz zu den spontan hypertensiven Ratten hatte die Cholesterindiät bei MWF-Tieren eine blutdrucksenkende Wirkung auf die arterielle Hypertonie im Vergleich zu den mit Normaldiät behandelten MWF-Tieren. Bei den normotensiven Wistar Ratten zeigte die Cholesterindiät keinen signifikanten Effekt auf den systolischen Blutdruck. Diese Befunde lassen vermuten, dass die Cholesterinbehandlung bei MWF-Tieren möglicherweise die Freisetzung blutdrucksenkender Substanzen wie z.B. Stickstoffmonoxid erhöht. Hierzu passend konnte in früheren Studien eine Induktion der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) durch oxidiertes LDL-Cholesterin in kultivierten Endothelzellen nachgewiesen werden (Hirata et al., 1995).

#### **4.2.2 Wirkungen einer Cholesterinbehandlung auf vaskuläre Funktionsparameter bei der München-Wistar-Frömter-Ratte**

Eine bestehende Proteinurie bei Nierenschädigung ist häufig mit einer Veränderung der vaskulären Funktion vergesellschaftet (Pedrinelli et al., 1994; Pedrinelli et al., 2001). Diese wird durch eine gleichzeitig bestehende Hypertonie weiter verstärkt. Hinsichtlich der MWF-Ratte ist nicht bekannt, ob die Proteinurie sich auf die aortale Gefäßfunktion auswirkt.

In unseren Untersuchungen wurde erstmals eine Charakterisierung der aortalen Gefäßfunktion der MWF-Ratte durchgeführt. Die Ergebnisse unserer

Untersuchungen zeigen im Vergleich zu den spontan hypertensiven Ratten eine nur leicht abgeschwächte endothelvermittelte Relaxation auf Acetylcholin in Gefäßringen der thorakalen Aorta. Die Cholesterindiät hatte keinen wesentlichen Einfluß auf das Relaxationsverhalten. Im Vergleich zur spontan hypertensiven Ratte zeigte sich bei den MWF-Tieren keine Abschwächung der phenyleprinvermittelten Kontraktion in Gegenwart von L-NMMA und Indomethacin. Dies lässt vermuten, dass die für die kontraktile Antwort verantwortlichen Mechanismen und/oder Proteine in beiden Hypertoniemodellen differentiell reguliert werden. Ebenso zeigte sich unter zusätzlicher Gabe von LU135252 *in vitro* keine Veränderung der kontraktilen Antwort auf Phenylephrin. Somit scheinen die Kontraktionen auf Phenylephrin in der thorakalen Aorta der MWF Ratte - im Gegensatz zur spontan hypertensiven Ratte - nur in geringem Maße über ET<sub>A</sub>-Rezeptor-vermittelte Mechanismen reguliert zu werden. Eine weitere Möglichkeit, die die differentiellen Befunde erklären könnte, liegt in der Zeitdauer und dem Ausmaß der vorbestehenden Proteinurie.

Gschwend und Mitarbeiter konnten kürzlich zeigen, dass zumindest in den Koronararterien dieser Tiere eine veränderte endothelabhängige Vasodilatation nach Stimulation mit Acetylcholin besteht (Gschwend et al., 2002). Die Tatsache, dass die endothelabhängigen Relaxationen auf Acetylcholin unter gleichen experimentellen Bedingungen in der Mesenterialarterie unverändert sind, spricht zusammen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit gegen die zuvor angenommene Hypothese einer Korrelation von Albuminurie und generalisierter endothelialer Dysfunktion bei der MWF-Ratte.

## 4.3 Salzsensitive Hypertonie

### 4.3.1 Wirkungen einer Endothelinblockade auf renale Funktionsparameter bei der Sabra-Ratte

Exogene Salzzufuhr ist ein wesentlicher Faktor für das Neuauftreten und Fortbestehen essentieller arterieller Hypertonie (Intersalt, 1988; Sacks et al., 2001). Bei salzsensitiven Individuen kommt es frühzeitig zu einer Ausbildung von hypertensiven Gefäß- und Nierenschäden, diese Patienten zeigen eine Niereninsuffizienz sowie Ausbildung einer Atherosklerose (Safar et al., 2000;



Schiffrin, 2001; Johnson et al., 2002). In den letzten Jahren konnten verschiedene Arbeiten eine wichtige pathogenetische Rolle von Endothelin für die Entstehung der salzsensitiven Hypertonie und der daraus resultierenden Endorganschäden nachweisen (Schiffrin, 1999). Es ist anzumerken, dass die Inzidenz der salzsensitiven Hypertonie mit dem Alter zunimmt (Johnson et al., 1997; Weinberger et al., 2001; Sander, 2002).

Die Inzidenz der salzsensitiven Hypertonie ist bei Afro-Amerikanern erhöht und zeigt ein vermindertes Ansprechen auf  $\beta$ -Blocker und ACE-Hemmer. Bei afro-amerikanischen Hypertonikern wurden erhöhte Endothelin-1-Plasmaspiegel im Vergleich zu hypertensiven Kaukasiern gemessen, was vermuten lässt, dass die salzsensitive arterielle Hypertonie mit einer Aktivierung des Endothelinsystems einhergeht (Ergul et al., 1996; Ergul et al., 1998; Grubbs et al., 2002). Neuere Arbeiten verbinden den ET<sub>B</sub>-Rezeptor mit der renalen Natriumchlorid-Homöostase. Dementsprechend wurde bei ET<sub>B</sub>-Rezeptor-defizienten Tieren die Ausbildung einer salzsensitiven Hypertonie beobachtet (Garipey et al., 2000; Matsumura et al., 2000; Ohuchi et al., 2000).

Die Bedeutung von Endothelin für die Entstehung experimenteller salzsensitiver Hypertonie ist in den letzten Jahren erforscht worden. So konnte u.a. bei DOCA-sensitiven Ratten (Li et al., 1994) und bei Dahl-salzsensitiven Ratten (d'Uscio et al., 1997; Barton et al., 1998; Barton et al., 2000) nachgewiesen werden, dass Endothelin für die strukturellen und v.a. funktionellen Veränderungen arterieller Gefäße und der Niere bei diesen Hypertoniemodellen eine wichtige Rolle spielt.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sabra-Ratten (SBH/y bzw. SBN/y) stellen ein Tiermodell experimenteller Hypertonie dar, bei dem die Salzsensitivität genetisch determiniert ist. Im Gegensatz zur Dahl-Ratte entwickelt sich mit zunehmendem Alter kein spontaner Hypertonus und es bestehen keine Geschlechtsunterschiede (Yagil et al., 1998; Yagil et al., 2000). Der größte Teil der QTL (quantitative trait loci), die für die unterschiedliche Salzempfindlichkeit verantwortlich sind, konnten lokalisiert werden (Yagil et al., 1998; Yagil et al., 1999).

Um die Bedeutung des Endothelinsystems beim Modell der salzsensitiven Sabra-Hypertonie zu untersuchen, erhielten in unseren Experimenten salzbehandelte Sabra-Ratten gleichzeitig einen oral wirksamen Endothelinantagonisten. Unsere eigenen Untersuchungen geben Hinweise für eine Beteiligung des Endothelinsystems an der Entstehung der salzinduzierten Hypertonie und der damit verbundenen Endorganschäden bei der Sabra-Ratte. Die chronische ET<sub>A</sub>-Blockade verhinderte eine linksventrikuläre Herzhypertrophie und bewirkte eine deutliche Abschwächung des systolischen Blutdruckanstiegs und der Albuminausscheidung nach Salzexposition. Dies entspricht im wesentlichen den Ergebnissen anderer Studien, die die Wirkung des ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten LU135252 auf Blutdruck und Nierenfunktion bei SHRSP-Ratten (Munter et al., 1998; Orth et al., 1998) und Dahl-Ratten (Barton et al., 1998; Barton et al., 2000) untersucht haben. Folglich kann angenommen werden, dass sich unabhängig vom Modell der arteriellen Hypertonie ein wesentlicher Teil der funktionellen und strukturellen Veränderungen, die durch Salz induziert werden, über eine Hemmung des Endothelinsystems verhindern lassen.

#### **4.3.2 Wirkungen einer Endothelinblockade auf vaskuläre Funktionsparameter bei der Sabra-Ratte**

Endothelin-1 ist der stärkste bekannte Vasokonstriktor hinsichtlich der Dauer und Höhe der maximalen Kontraktionsantwort (Yanagisawa et al., 1988). In Gefäßen menschlicher Hypertoniker (Cardillo et al., 1999; Verma et al., 2001) sowie in allen bekannten experimentellen Hypertoniemodellen (Kung et al., 1995; Barton et al., 2000; Tostes Passaglia et al., 2000) zeigt Endothelin-1 eine starke Kontraktion, die über Phospholipase C und Kalzium reguliert wird (Simonson et al., 1989; Nishimura et al., 1992). Diese Kontraktionen liegen üblicherweise im Bereich von Kontraktionen, die durch 100 mmol Kaliumchlorid ausgelöst werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit sich in der Sabra-Hypertonie funktionelle Gefäßveränderungen ausbilden. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die salzsensitive Hypertonie bei der Sabra-Ratte bereits unter normotensiven Bedingungen durch eine stark verminderte Gefäßantwort auf Endothelin gekennzeichnet ist. Dies lässt vermuten, dass die Gefäßantwort auf Endothelin bei dieser experimentellen Form der genetisch determinierten

salzsensitiven Hypertonie bereits im prähypertensiven Stadium pathologisch verändert ist. Diese vorbestehende Abschwächung der endothelinvermittelten Kontraktion war unter der Behandlung mit Deoxykortikosteronazetat weiter abgeschwächt und fast völlig aufgehoben. Diese Befunde deuten auf eine spezifische, stark gestörte funktionelle Einschränkung  $ET_A$ -vermittelter intrazellulärer Signaltransduktion in der Aorta der Sabra-Ratte, die sich von den bekannten Hypertoniemodellen unterscheidet, hin (Kung et al., 1995; Barton et al., 2000; Tostes Passaglia et al., 2000).

Interessanterweise zeigte sich auch bei normotensiven Sabra hypertonieresistenten Tieren weder eine abgeschwächte Endothelinkontraktilität noch eine Veränderung der Gefäßantwort nach Salzbehandlung. Allerdings konnte man auch bei diesen Tieren unter DOCA eine ausgeprägte Zunahme der Natriurese und der Endothelinausscheidung im Urin beobachten. Diese Parameter blieben, ebenso wie die abgeschwächte Vasoreaktivität auf Endothelin, bei salzsensitiven Sabra-Ratten von einer chronischen Endothelinblockade unbeeinflusst. Dieses war umso überraschender, als die chronische Endothelinblockade bei salzsensitiven DOCA-behandelten Sabra-Ratten mit einer teilweisen Senkung des erhöhten Blutdrucks einherging und auch zu einer deutlichen Reduktion der renalen Albuminausscheidung führte. Insgesamt legen diese Ergebnisse den Verdacht nahe, dass Endothelin an der Ausbildung der salzsensitiven Sabra-Hypertonie beteiligt ist und für die nierenschädigungsbedingte Albuminurie eine wesentliche Rolle spielt.

Neben Endothelin scheinen weitere Mechanismen für die Ausbildung der arteriellen Hypertonie und der Unterschiede zwischen Salzresistenz und Salzsensitivität bei der Sabra-Ratte eine Rolle zu spielen. Bisher konnten mehrere Unterschiede in der Nierenphysiologie zwischen beiden Sabra-Rattenstämmen nachgewiesen werden. Bei salzsensitiven SBH-Ratten zeigt sich nach Salzbelastung zusätzlich zum Hypertonus eine Proteinurie und eine verminderte glomeruläre Filtrationsrate (Hertzan-Levy et al., 1997; Yagil et al., 2002) sowie ein Defekt der renalen Prostazyklinproduktion (Geoffroy et al., 1988). Außerdem ist bei diesen Tieren die Genexpression der Stickstoffmonoxidsynthase in der Niere vermindert (iNOS und nNOS), und zwar unabhängig von der Salzbelastung

(Lippoldt et al., 1997; Hertzan-Levy et al., 1997). Die Aktivität der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthase (eNOS) ist in der Aorta von SBH-Ratten im Vergleich zu SBN-Ratten niedriger; dementsprechend sind in isolierten Aortenringen die endothelabhängigen Relaxationen auf Acetylcholin abgeschwächt und die Kontraktionsantwort auf Phenylephrin verstärkt (Rees et al., 1996).

Erst kürzlich lieferte eine Studie einen weiteren möglichen Mechanismus für die Salzresistenz der SBN-Ratte: eine nach Salzbelastung gesteigerte Expression des renalen  $\alpha_2$ A-Adrenorezeptors (Khalid et al., 2001). Die gleiche Arbeitsgruppe konnte außerdem zeigen, dass Testosteron die Verteilung der renalen  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren bei männlichen SBH-Tieren reguliert (Khalid et al., 2002). In beiden Sabra-Stämmen hat die DOCA-Salzdiät eine verminderte Aktivität des Renin-Angiotensin-Systems zur Folge (Lippoldt et al., 1997). Dies entspricht im wesentlichen den bekannten Wirkungen einer Salzdiät auf das Plasma-Renin-Angiotensin-Aldosteron-System beim salzsensitiven Hypertoniker (Rabinowe et al., 1987) und anderen experimentellen Modellen der salzsensitiven Hypertonie (Baba et al., 1986). Nicco und Mitarbeiter konnten darüber hinaus nach einer Salzdiät eine nierenspezifische verringerte Genexpression von Angiotensin II-Rezeptorsubtypen ( $AT_{1A+B}$ ) nachweisen (Nicco et al., 2000).

### **Zusammenfassender Überblick**

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen erstmals die Bedeutung von exogenem zugeführtem Cholesterin auf funktionelle Parameter von Aorta und Niere bei verschiedenen Hypertoniemodellen sowie die Bedeutung des Vasokonstriktors und Wachstumsfaktors Endothelin für diese Veränderungen. Insbesondere zeigen die Untersuchungen, dass eine Hoch-Cholesterindiät bei normotensiven Wistar-Ratten, nicht aber bei spontan hypertensiven Ratten und MWF-Ratten mit einer erhöhten Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid einhergeht. Weiterhin scheint bei spontan hypertensiven Ratten im Gegensatz zu MWF-Ratten ein Großteil der phenylephrinvermittelten Kontraktion der Aorta über Endothelin reguliert zu sein. Interessanterweise hatte bei spontan hypertensiven Ratten die Cholesterindiät keinen Einfluss auf den arteriellen Blutdruck. Hingegen kam es trotz bestehender schwerer Proteinurie bei mit Cholesterin behandelten MWF-Ratten zu einer

leichten Blutdrucksenkung. Diese Befunde waren unabhängig von einer Veränderung der NO-Bioverfügbarkeit in der Aorta.

Abschließend konnten wir erstmals zeigen, dass bei salzsensitiven Sabra-Ratten bereits unter normotensiven Bedingungen eine stark abnorme Gefäßantwort auf Endothelin in der Aorta dieser Tiere vorliegt und dass diese durch eine Salzdiät noch weiter verstärkt wird. Die positiven Wirkungen einer chronischen Endothelinblockade auf die arterielle Hypertonie und Nierenschädigung bei diesem Tiermodell konnten darüber hinaus demonstriert werden.