

„Regulation und Bedeutung der kardialen Bradykinin-Rezeptoren unter patho- physiologischen Bedingungen“

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

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

vorgelegt von

Christine Altmann

aus Berlin

Juli, 2006

1. Gutachter: PD Dr. Carsten Tschöpe
2. Gutachter: Prof. Volker A. Erdmann

Disputation am **19. Januar 2007**

Danksagung

Im Besonderen möchte ich mich bei PD Dr. Carsten Tschöpe bedanken, sein Engagement, seine immerwährende Diskussionsbereitschaft, sein Fachwissen und seine Motivation haben kontinuierlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Meinen herzlichsten Dank für die fruchtbaren Diskussionen und Erklärungen, sowie für die Möglichkeit, im Rahmen der DFG-Projekte Ts 64-1 und 64-2, an Konferenzen teilzunehmen, um die Ergebnisse meiner Arbeit präsentieren zu können. Auch bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe möchte ich mich für die nette und produktive Zusammenarbeit bedanken. Besonders möchte ich mich bei Dr. Frank Spillmann und Dirk Westermann für die Hilfe bei der *in vivo*-Charakterisierung, und bei Dr. Nasser Dayhat, Dr. Samir Dayhat und Dr. Marc Dorenkamp für ihre Unterstützung bei der immunohistochemischen Charakterisierung bedanken.

Herrn Prof. Volker A. Erdmann danke ich für die Bereitschaft als Gutachter zu fungieren und die Arbeit vor der Fakultät für Biologie, Chemie und Pharmazie der Freien Universität Berlin zu vertreten.

Herrn Prof. Heinz-Peter Schultheiss, dem Leiter der Kardiologie, danke ich für die Möglichkeit die Arbeit in seiner Abteilung durchzuführen. Prof. Schultheiss hat neben der Schaffung sehr guter Forschungsbedingungen, auch immer aufmunternde Worten gefunden. Im Speziellen möchte ich mich für seine finanzielle Unterstützung und für das entgegengebrachte Vertrauen ganz herzlich bedanken.

Bei Prof. Thomas Walther bedanke ich mich für seinen wissenschaftlichen Rat und seine Unterstützung. Auch sein Engagement, seine Diskussionsbereitschaft und sein Fachwissen waren ein hilfreicher Beitrag zu dieser Arbeit. Meinen Dank auch an alle Mitarbeiter seiner Arbeitsgruppe, sie schafften durch ihre Einsatzbereitschaft und Unterstützung eine produktive Arbeitsatmosphäre. Besonderer Dank gilt hier Florian Gemhardt und Helmut Würdemann die mir jederzeit bei der Arbeit und in allen Lebenslagen zur Seite gestanden haben.

Auch bei Herrn Prof. Michael Bader und seinen Mitarbeitern am Max-Delbrück-Centrum (MDC) möchte ich mich dafür bedanken, dass sie mir am Anfang dieser Arbeit bei der Aneignung neuer Techniken und Methoden mit ihrer großen Erfahrung unterstützend zur Seite gestanden und dort wesentlich zu einer produktiven und angenehmen Arbeitsatmosphäre beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt hierbei Dr. Natalia Alenina, Monika Nitz und Adelheid Böttger, die auch nach meinem Weggang vom MDC ebenso selbstverständlich immer für Fragen offen waren.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

| | |
|-------------------|---|
| AA/BAA | Acrylamid/ bis-Acrylamid |
| AC | Adenylatcyklase |
| ACE | Angiotensin-,Converting'-Enzym |
| ACE2 | Angiotensin-,Converting'-Enzym 2 |
| ACEI | Angiotensin-,Converting'-Enzym-Inhibitor |
| AF | Gewebefläche |
| Amp | Ampicillin |
| ANG (1-7) | Angiotensin (1-7) |
| ANG (1-9) | Angiotensin (1-9) |
| ANG I | Angiotensin I; Angiotensin (1-10) |
| ANG II | Angiotensin II; Angiotensin (1-8) |
| ANG III | Angiotensin III; Angiotensin (2-8) |
| ANG IV | Angiotensin IV; Angiotensin (3-8) |
| AOGEN | Angiotensinogen |
| AK | Antikörper |
| AP-1 | ,activator'-Protein-1 |
| APS | Ammoniumpersulfat |
| AS | Aminosäuren |
| AT ₁ R | Angiotensin II Rezeptor AT ₁ |
| AT ₂ R | Angiotensin II Rezeptor AT ₂ |
| B ₁ R | Bradykinin B ₁ -Rezeptor |
| B ₂ R | Bradykinin B ₂ -Rezeptor |
| BD | Blutdruck |
| bidest. | bidestilliertes Wasser |
| BK | Bradykinin |
| BKR | Bradykininrezeptor |
| BNP | ,Brain' Natriuretisches Peptid |
| bp | Basenpaar |
| BSA | bovines (Rinder-) Serumalbumin |
| cAMP | zyklisches Adenosinmonophosphat |
| CAT | Chloramphenicol-Acetyltransferase |
| cDNA | Copy-Desoxyribonukleinsäure |
| cGMP | zyklisches Guanosinmonophosphat |
| chrom. | chromosomal |
| CIAA | Chloroform/Isoamylalkohol |
| CMC | Kardiomyozyt |
| Col I | Kollagen I |
| COX | Cyclooxygenase |
| CPM | Carboxypeptidase M |
| CPN | Carboxypeptidase N |
| Da | Dalton |
| DAG | Diacylglycerol |
| DCM | Dilatative Kardiomyopathie |
| DEPC | Diethylpyrokarbonat |
| DMEM | ,Dulbecco's modifiziertes Eagle`s Medium' |

| | |
|-----------------|--|
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| DNase | Desoxyribonuklease |
| dP/dt_{\max} | maximale linksventrikuläre Druckerhöhungsgeschwindigkeit |
| dP/dt_{\min} | minimale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit |
| DTT | Dithiothreitol |
| E | Exon |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| EC | Endothelzellen |
| EDHF | „Endothelium-derived Hyperpolarizing Factor“ |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| eNOS | endotheliale Stickstoffoxid-Synthase |
| EOX | Epoxygenase |
| E-Puffer | Elektrophoresepuffer |
| EtBr | Ethidiumbromid |
| Fa. | Firma |
| FB | Fibroblast |
| FCS | fötale Kälberserum |
| G418 | Neomycin |
| GAPDH | Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase |
| GPgR | G-Protein gekoppelter Rezeptor |
| GTE | Glukose-Tris-EDTA |
| Hoe | Hoe 140 (Icatibant) |
| HS | Homo sapiens |
| I | Intron |
| ICE | Interleukin-Konversionsenzym |
| ICE1 | Interleukin-Konversionsenzym-Inhibitor |
| IL1 β | Interleukin-1 β |
| IP ₃ | Inositol-1,4,5-Trisphosphat |
| IPTG | Isopropylthiogalactosid |
| Irb | Irbesartan |
| kb | Kilobase(n) |
| kD | Kilodalton |
| KKS | Kallikrein-Kinin-System |
| KL | Kallidin |
| KLK | Kallikrein |
| KO | „knockout“ |
| LB | Luria „Broth“ |
| LV | linker Ventrikel |
| LVEDP | linksventrikulärer enddiastolischer Druck |
| LVH | Linksventrikuläre Hypertrophie |
| LVP | linksventrikulärer (Spitzen-) Druck |
| MI | Myokardinfarkt |
| MM | Mus musculus |
| mRNA | Messenger-RNA |
| MW | Mittelwert |
| NEP | Neutrale Endopeptidase |

| | |
|------------------|--|
| NF κ B | ,nuclear factor- κ B' |
| NO | Stickstoffoxid |
| NOS | Stickstoffoxid-Synthase |
| n.s. | nicht signifikant |
| OD | Optische Dichte |
| OP | Operation |
| P | Promotor |
| PAA | Polyacrylamid |
| PBS | Phosphat-gepufferte Salzlösung |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PD | PD 123319 |
| PEG | Polyethylenglycol |
| PGI ₂ | Prostaglandin 2; Prostazyklin |
| PIP ₂ | Phosphatidylinosit-4,5-Bisphosphat |
| PKC | Proteinkinase C |
| PLA ₂ | Phospholipase A ₂ |
| PLC | Phospholipase C |
| Qui | Quinapril |
| r | Ratte |
| RAAS | Renin-Angiotensin-Aldosteron-System |
| RAS | Renin-Angiotensin-System |
| RE | Restriktions-Enzym |
| RIVA | Ramus interventriculares anterior |
| RN | Rattus norvegicus |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| RNase | Ribonuklease |
| RPA | ,RNase-Protection-Assay' |
| rpm | Umdrehungen pro Minute |
| rT | reverse Transkription |
| RT | Raumtemperatur |
| RV | rechter Ventrikel |
| SAS | ,Splice-Acceptor-Site' |
| Sham | schein-operiert |
| SD | Sprague Dawley-Ratte(n) |
| SDS | Sodium (Natrium-) Dodecylsulfat |
| SEM | Standardabweichung |
| SHR | spontan hypertensive Ratte(n) |
| SHRSP | schlaganfallgefährdete spontan hypertensive Ratte(n) |
| STZ | Streptozotocin |
| SVAB | supravalvuläres Aortenbanding |
| TAE | Tris-Acetat-EDTA-Puffer |
| TE | Tris-EDTA-Puffer |
| TEMED | N, N, N',N'-Tetramethylethyldiamin |
| TF | Transkriptionsfaktor |
| TNF- α | Zytokin-Tumor-Nekrose-Faktors- α |
| Tris | Trishydroxymethylaminomethan |
| TSS | Transkriptionsstartpunkt |

| | |
|-------|---|
| U | Unit(s) |
| üN | über Nacht |
| UTR | untranslatierter Bereich |
| UV | Ultraviolett |
| Vol | Volumen |
| VSMC | vaskuläre glatte Muskelzellen |
| WKY | Wistar Kyoto Ratte(n) |
| X-Gal | 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosid |
| ZNS | zentrales Nervensystem |

Die Abkürzungen zur Bezeichnung der Aminosäuren und Nukleotide entsprechen der Drei- bzw. Einbuchstaben-Nomenklatur.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1. | Einleitung..... | 1 |
| 1.1. | Das Kallikrein-Kinin-System | 1 |
| 1.1.1. | Geschichte des Kallikrein-Kinin-Systems..... | 1 |
| 1.1.2. | Das Plasma- und das Gewebe-Kallikrein-Kinin-System..... | 2 |
| 1.1.2.1. | Das plasmatische Kallikrein-Kinin-System | 2 |
| 1.1.2.2. | Das Gewebe-Kallikrein-Kinin-System | 2 |
| 1.1.2.3. | Das endotheliale und das kardiale Kallikrein-Kinin-System | 3 |
| 1.1.3. | Bestandteile und Organisation des Kallikrein-Kinin-Systems..... | 3 |
| 1.2. | Die Bradykinin-Rezeptoren | 6 |
| 1.2.1. | Der Bradykinin B ₁ -Rezeptor | 7 |
| 1.2.2. | Der Bradykinin B ₂ -Rezeptor | 8 |
| 1.3. | Genomische Organisation, Struktur und Expression des Bradykinin B ₁ - und B ₂ -Rezeptors | 8 |
| 1.3.1. | Lokalisation auf dem Genom..... | 8 |
| 1.3.2. | Die Exon-Intron-Struktur | 9 |
| 1.3.3. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren in verschiedenen Spezies und Geweben | 10 |
| 1.3.4. | Die Promotorregion und die Regulationsmechanismen | 11 |
| 1.3.5. | Die Proteinstruktur des B ₁ - und B ₂ -Rezeptors..... | 12 |
| 1.4. | Bradykinin-Rezeptoren als Mitglieder der Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren..... | 13 |
| 1.4.1. | Allgemeine Merkmale der G-Protein gekoppelten Rezeptoren | 13 |
| 1.4.2. | Die Signaltransduktion von G-Protein gekoppelten Rezeptoren | 14 |
| 1.4.3. | Die Signaltransduktion des B ₁ - und B ₂ -Rezeptors | 16 |
| 1.5. | Interaktion des Kallikrein-Kinin- und des Renin-Angiotensin- Systems | 17 |
| 1.5.1. | Das Renin-Angiotensin-System | 18 |
| 1.5.2. | Kardiovaskuläre Bedeutung der Interaktion der Systeme | 19 |
| 1.6. | Pathophysiologie des Herzens..... | 22 |
| 1.6.1. | Linksventrikuläre Hypertrophie..... | 22 |
| 1.6.2. | Diabetische Kardiomyopathie..... | 23 |
| 1.6.3. | Ischämische Kardiomyopathie | 24 |
| 1.6.4. | Zytokine in der kardialen Pathophysiologie | 25 |
| 1.6.4.1. | Die Zytokine | 25 |
| 1.6.4.2. | Pathophysiologische Bedeutung der Zytokine im kardialen System | 25 |
| 1.7. | Ziel der Arbeit..... | 27 |
| 2. | Material | 28 |
| 2.1. | Synthetische Oligonukleotid-Primer | 28 |
| 2.2. | Verwendete Bakterien | 29 |
| 2.3. | Vektoren..... | 29 |
| 2.3.1. | Vektoren zur Klonierung..... | 29 |
| 2.3.2. | Vektoren mit einklonierten Fragmenten | 30 |
| 2.4. | Antikörper..... | 32 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.5. | Zelllinien | 32 |
| 2.6. | Tierversuche | 33 |
| 2.6.1. | Tierstämme | 33 |
| 2.6.2. | Chirurgische Verbrauchsmaterialien | 33 |
| 2.6.3. | Chirurgische Instrumente und Geräte | 34 |
| 2.6.4. | Pharmaka..... | 34 |
| 2.7. | Enzyme und Radiochemikalien..... | 35 |
| 2.8. | Geräte und Materialien zur Dokumentation..... | 35 |
| 2.9. | Medien..... | 36 |
| 2.9.1. | Bakterienkultur | 36 |
| 2.9.2. | Zellkultur..... | 36 |
| 2.10. | Stammlösungen, Puffer und Gele | 37 |
| 2.10.1. | Stammlösungen und Puffer..... | 37 |
| 2.10.2. | Gele | 38 |
| 2.11. | Chemikalien | 38 |
| 2.12. | Gebrauchsfertige Reaktionssysteme | 39 |
| 3. | Methoden | 40 |
| 3.1. | DNA..... | 40 |
| 3.1.1. | Techniken zur Klonierung | 40 |
| 3.1.2. | Ligation von DNA-Fragmenten..... | 40 |
| 3.1.3. | DNA-Transformation in Bakterien | 40 |
| 3.1.4. | Präparation von Plasmid-DNA | 41 |
| 3.1.5. | Präparation von genomischer DNA..... | 41 |
| 3.1.6. | Southern-Blot-Technik | 42 |
| 3.1.6.1. | Radioaktive Markierung von DNA-Sonden..... | 42 |
| 3.1.6.2. | Auftrennung der DNA im Agarosegel und Kapillar-Blot..... | 43 |
| 3.1.6.3. | Hybridisierung | 43 |
| 3.1.7. | DNA-Sequenzierung und Sequenzanalyse..... | 43 |
| 3.1.8. | Herstellung und Klonierung von PCR-Fragmenten | 44 |
| 3.1.8.1. | Herstellung von PCR-Fragmenten | 44 |
| 3.1.8.2. | Klonierung von PCR-Fragmenten | 45 |
| 3.1.9. | PCR zur Genotypisierung | 45 |
| 3.2. | RNA | 46 |
| 3.2.1. | RNA-Extraktion aus Organen und Zellen | 46 |
| 3.2.2. | Reverse Transkription | 47 |
| 3.2.3. | Amplifizierung von B ₁ R- und B ₂ R-RNA-Enden | 47 |
| 3.2.4. | „RNase-Protection-Assay“ | 48 |
| 3.3. | Proteine..... | 49 |
| 3.3.1. | Immunhistochemie | 49 |
| 3.3.1.1. | Präparation der Organe | 49 |
| 3.3.1.2. | Immunhistochemischer Proteinnachweis | 50 |
| 3.4. | Zellkultur | 51 |
| 3.4.1. | Kultivierung von neonatalen Kardiomyozyten | 51 |
| 3.4.2. | Behandlung der neonatalen Kardiomyozyten..... | 51 |
| 3.5. | Tierversuche | 52 |
| 3.5.1. | Chirurgische Behandlung der Tiere..... | 52 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.5.1.1. | Narkose und Beatmung | 52 |
| 3.5.1.2. | Aortenbanding..... | 52 |
| 3.5.1.3. | Scheininfarkt und Myokardinfarkt..... | 53 |
| 3.5.2. | Induktion von Diabetes mellitus Typ I..... | 53 |
| 3.5.3. | Pharmakologische Behandlung der Tiere | 54 |
| 3.5.4. | Messung physiologischer Herzparameter | 55 |
| 3.6. | Statistische Auswertung..... | 55 |
| 4. | Ergebnisse..... | 56 |
| 4.1. | Genstruktur der Bradykinin-Rezeptoren..... | 56 |
| 4.1.1. | Genstruktur der Bradykinin B ₁ -Rezeptoren | 57 |
| 4.1.1.1. | Sequenzvergleiche der B ₁ -Rezeptorbasenpaarfolge | 57 |
| 4.1.1.1.1. | Sequenzvergleiche der Rattesequenzen | 57 |
| 4.1.1.1.2. | Sequenzvergleiche der Mausequenzen | 57 |
| 4.1.1.1.3. | Sequenzvergleiche der humanen Sequenzen | 58 |
| 4.1.1.1.4. | Gegenüberstellung der Sequenzen von Ratte, Maus und Mensch | 59 |
| 4.1.1.2. | Analyse des Ratten-B ₁ -Rezeptorgens auf weitere Promotoren..... | 59 |
| 4.1.1.3. | Analyse des alternativen Spleißens im B ₁ -Rezeptorgen | 62 |
| 4.1.1.3.1. | Design der Sonde | 62 |
| 4.1.1.3.2. | Alternatives Spleißen des B ₁ -Rezeptorgens im Herzen | 63 |
| 4.1.1.4. | Schematische Darstellung der Genstruktur des B ₁ -Rezeptors..... | 64 |
| 4.1.2. | Genstruktur der Bradykinin B ₂ -Rezeptoren | 65 |
| 4.1.2.1. | Sequenzvergleiche der B ₂ -Rezeptorbasenpaarfolge | 65 |
| 4.1.2.1.1. | Sequenzvergleiche der Rattesequenzen | 65 |
| 4.1.2.1.2. | Sequenzvergleiche der Mausequenzen | 66 |
| 4.1.2.1.3. | Sequenzvergleiche der humanen Sequenzen | 66 |
| 4.1.2.1.4. | Gegenüberstellung der Sequenzen von Ratte, Maus und Mensch | 67 |
| 4.1.2.2. | Analyse des Ratten-B ₂ -Rezeptorgens auf weitere Promotoren..... | 68 |
| 4.1.2.3. | Analyse des alternativen Spleißens im B ₂ -Rezeptorgen | 70 |
| 4.1.2.3.1. | Design der Sonde | 70 |
| 4.1.2.3.2. | Alternatives Spleißen des B ₂ -Rezeptorgens im Herzen | 71 |
| 4.1.2.4. | Schematische Darstellung der Genstruktur des B ₂ -Rezeptors..... | 72 |
| 4.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren unter physiologischen Bedingungen..... | 72 |
| 4.2.1. | B ₁ -Rezeptor Expression unter physiologischen Bedingungen | 73 |
| 4.2.1.1. | Organspezifische Expression des B ₁ -Rezeptors..... | 73 |
| 4.2.1.2. | Ontogenetischer Verlauf der Expression des B ₁ -Rezeptors..... | 74 |
| 4.2.2. | B ₂ -Rezeptor Expression unter physiologischen Bedingungen | 74 |
| 4.2.2.1. | Organspezifische Expression des B ₂ -Rezeptors..... | 74 |
| 4.2.2.2. | Ontogenetischer Verlauf der Expression des B ₂ -Rezeptors..... | 75 |
| 4.3. | Rezeptorregulation unter pathophysiologischen Bedingungen | 76 |
| 4.3.1. | Modell der linksventrikulären Hypertrophie nach Induktion einer supravalvularen Aortenstenose..... | 76 |
| 4.3.1.1. | Kardiale Charakterisierung des Modells der LVH..... | 76 |
| 4.3.1.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren im Modell der LVH | 77 |
| 4.3.2. | Kardiale und molekulare Charakterisierung der Tiere mit diabetischer Kardiomyopathie | 78 |

| | | |
|--------------|--|-----|
| 4.3.2.1. | Genotypisierung der KLK-transgenen Tiere | 78 |
| 4.3.2.2. | Blutzucker und Gewicht der diabetischen Tiere | 79 |
| 4.3.2.3. | Kardiale Charakterisierung der Wildtyp- und TGR(hKLK1)-Ratten | 79 |
| 4.3.2.4. | Expression von Kallikrein, den Bradykinin-Rezeptoren und von Interleukin 1 β im linken Ventrikel | 80 |
| 4.3.2.5. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren und von Interleukin 1 β im rechten Ventrikel | 83 |
| 4.3.3. | Modell des Myokardinfarktes..... | 84 |
| 4.3.3.1. | Kardiale Charakterisierung der wildtypischen Ratten..... | 85 |
| 4.3.3.2. | Charakterisierung der wildtypischen Ratten ohne Behandlung | 87 |
| 4.3.3.2.1. | Charakterisierung der Tiere 6 Stunden nach Myokardinfarkt | 87 |
| 4.3.3.2.2. | Charakterisierung der Tiere 6 Tage nach Myokardinfarkt | 89 |
| 4.3.3.2.3. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 91 |
| 4.3.3.2.4. | Expression von Kollagen und Interleukin 1 β im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 95 |
| 4.3.3.2.5. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren im rechten Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 96 |
| 4.3.3.3. | Effekte der pharmakologischen Behandlung nach Myokardinfarkt..... | 97 |
| 4.3.3.3.1. | Behandlung mit ACE-Inhibitor bzw. AT $_1$ -Rezeptor-Antagonist | 97 |
| 4.3.3.3.1.1. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren im linken Ventrikel 6 Tage nach Myokardinfarkt..... | 97 |
| 4.3.3.3.1.2. | Expression von Interleukin 1 β im linken Ventrikel 6 Tage nach Myokardinfarkt..... | 100 |
| 4.3.3.3.1.3. | mRNA-Expression der Bradykinin-Rezeptoren im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 100 |
| 4.3.3.3.1.4. | Protein-Expression der Bradykinin-Rezeptoren im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 103 |
| 4.3.3.3.1.5. | Expression von Kollagen im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 106 |
| 4.3.3.3.1.6. | Expression von ACE im linken Ventrikel 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 107 |
| 4.3.3.3.2. | Behandlung mit AT $_2$ -Rezeptor-Antagonist..... | 110 |
| 4.3.3.3.2.1. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren und von Kollagen 6 Tage nach Myokardinfarkt..... | 110 |
| 4.3.3.3.2.2. | Expression des B $_2$ -Rezeptors 3 Wochen nach Myokardinfarkt | 112 |
| 4.3.3.3.3. | Behandlung mit ICE-Inhibitor | 112 |
| 4.3.3.3.3.1. | Kardiale Charakterisierung 6 Stunden nach Myokardinfarkt | 112 |
| 4.3.3.3.3.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren 6 Stunden nach Myokardinfarkt..... | 113 |
| 4.3.3.3.3.3. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 114 |
| 4.3.3.4. | Induktion des Myokardinfarktes bei AT $_1$ -transgenen Tiere..... | 114 |
| 4.3.3.4.1. | Kardiale Charakterisierung 6 Tage nach Myokardinfarkt | 115 |
| 4.3.3.4.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren 6 Tage nach Myokardinfarkt | 115 |

| | | |
|------------|--|------------|
| 4.3.3.4.3. | Expression von Interleukin 1 β und des AT ₁ -Rezeptors 6 Tage nach Myokardinfarkt..... | 117 |
| 4.3.3.4.4. | Kardiale Charakterisierung 3 Wochen nach Myokardinfarkt | 118 |
| 4.3.3.4.5. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren 3 Wochen nach Myokardinfarkt | 119 |
| 4.3.3.4.6. | Expression von Interleukin 1 β und des AT ₁ -Rezeptors 3 Wochen nach Myokardinfarkt | 120 |
| 4.3.3.5. | KLK-transgene Tiere 3 Wochen nach Myokardinfarkt..... | 122 |
| 4.3.3.5.1. | Kardiale Charakterisierung der infarzierten Tiere..... | 122 |
| 4.3.3.5.2. | Expression von Kollagen..... | 122 |
| 4.4. | Regulation der Bradykinin-Rezeptoren in anderen Tiermodellen | 123 |
| 4.4.1. | Charakterisierung von AT ₁ -Rezeptor-defizienten Tieren | 124 |
| 4.4.2. | Charakterisierung von B ₁ -Rezeptor-defizienten Tieren..... | 125 |
| 4.4.2.1. | Expression des B ₂ -Rezeptors bei 5 Monate alten Tieren..... | 125 |
| 4.4.2.2. | Expression des B ₂ -Rezeptors und von BNP bei 15 Monate alten Tieren..... | 126 |
| 4.4.3. | Charakterisierung von B ₂ -Rezeptor-defizienten Tieren..... | 127 |
| 4.4.3.1. | Expression des B ₁ -Rezeptors bei 5 Monate alten Tieren..... | 128 |
| 4.4.3.2. | Expression des B ₁ -Rezeptors und von BNP bei 15 Monate alten Tieren..... | 128 |
| 4.5. | Regulation der Bradykinin-Rezeptoren in neonatalen Kardiomyozyten | 129 |
| 4.5.1. | Einfluss von ANG II auf die Expression der Bradykinin- Rezeptoren..... | 130 |
| 4.5.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren bei pharmakologischer Behandlung..... | 131 |
| 5. | Diskussion..... | 134 |
| 5.1. | Genstruktur der Bradykinin-Rezeptoren..... | 134 |
| 5.1.1. | Genstruktur des B ₁ -Rezeptors | 134 |
| 5.1.2. | Genstruktur des B ₂ -Rezeptors | 138 |
| 5.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren unter physiologischen Bedingungen..... | 143 |
| 5.2.1. | Gewebespezifische und zeitabhängige Expression des B ₁ - Rezeptors unter physiologischen Bedingungen | 143 |
| 5.2.2. | Gewebespezifische und zeitabhängige Expression des B ₂ - Rezeptors unter physiologischen Bedingungen | 145 |
| 5.3. | Regulation der Bradykinin-Rezeptoren unter pathophysiologischen Bedingungen..... | 146 |
| 5.3.1. | Modell der Bluthochdruck-induzierten linksventrikulären Hypertonie..... | 146 |
| 5.3.2. | Modell der diabetischen Kardiomyopathie | 148 |
| 5.3.2.1. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren beim diabetischen Wildtyp .. | 149 |
| 5.3.2.2. | Expression der Bradykinin-Rezeptoren bei diabetischen Tieren mit aktiviertem Kallikrein-Kinin-System | 151 |
| 5.3.3. | Der Myokardinfarkt..... | 153 |
| 5.3.3.1. | Expression des B ₁ -Rezeptors beim Myokardinfarkt | 154 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 5.3.3.2. | Expression des B ₂ -Rezeptors beim Myokardinfarkt | 156 |
| 5.3.3.3. | Der Einfluß des AT ₁ -Rezeptors auf die Bradykinin-Rezeptoren beim Myokardinfarkt..... | 160 |
| 5.3.3.4. | Der Einfluß des AT ₂ -Rezeptors auf die Bradykinin-Rezeptoren beim Myokardinfarkt..... | 163 |
| 5.3.3.5. | Der Einfluß von IL1 β auf die Expression des B ₁ -Rezeptors beim Myokardinfarkt..... | 166 |
| 5.3.3.6. | Der Einfluß von IL1 β auf die Expression des B ₂ -Rezeptors beim Myokardinfarkt..... | 167 |
| 5.3.3.7. | Der Einfluß des ICE-Inhibitors auf die Bradykinin-Rezeptoren beim Myokardinfarkt..... | 169 |
| 5.3.3.8. | Das kardiale ‚Remodeling‘ beim Myokardinfarkt | 170 |
| 5.4. | Die Genetische Defizienz der Bradykinin-Rezeptoren | 172 |
| 5.4.1. | Die Defizienz des B ₁ - Rezeptors bei Mäusen..... | 172 |
| 5.4.2. | Die Defizienz des B ₂ - Rezeptors bei Mäusen..... | 174 |
| 6. | Zusammenfassung | 176 |
| 7. | Literatur | 180 |
| 8. | Anlagen | 224 |
| 8.1. | B ₁ - und B ₂ -Rezeptorsequenzen | 224 |
| 8.2. | Karten der RPA-Sonden-tragenden Plasmide..... | 236 |
| 8.3. | Graphische Zusammenfassung der Promotoranalyse | 247 |
| 8.4. | Blutzucker und Körpergewicht der diabetischen Ratten..... | 250 |
| 8.5. | Dimensionierung der Elektrophorese-Marker..... | 252 |