

3 Ergebnisse

3.1 Zellkulturen

3.1.1 Immunzytochemischer Nachweis der α_1 -Adrenozeptor-Expression

Mit Hilfe von kommerziell erhältlichen, subtypselektiven Antikörpern wurde die Expression der einzelnen α_1 -adrenergen Rezeptorsubtypen in aortalen Muskelzellen bestimmt. Konfokalmikroskopisch war in allen untersuchten Gefäßmuskelzellen eine Immunfluoreszenz zu verzeichnen. Diese war jedoch in den Zellen, die zuvor mit dem zum eingesetzten Primärantikörper korrespondierenden Rezeptorsubtyp transfiziert worden waren, am intensivsten. Insbesondere im Bereich der Zellgrenzen war eine deutliche Immunreaktivität festzustellen, was auf eine Membranlokalisation der Rezeptoren hinweist. Weiterhin zeigte sich auch im perinukleären Bereich sowie im Zytoplasma eine deutliche Fluoreszenz, was auf eine Lokalisation der Rezeptoren in intrazellulären Kompartimenten hindeutet. In Abbildung 3.1 ist eine Zelle dargestellt, die mit dem α_{1B} -Adrenozeptor transfiziert und mit dem korrespondierenden Antikörper inkubiert wurde (A). Dagegen ist die Immunfluoreszenz in der mit dem selben Antikörper inkubierten Kontrollzelle (B) deutlich geringer, in der Negativkontrolle hingegen (C) gar nicht ausgeprägt.

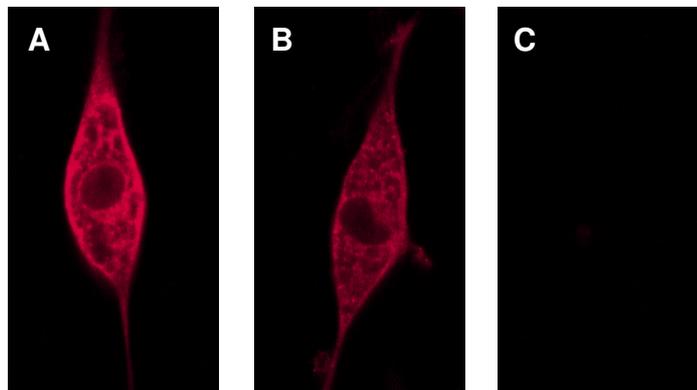


Abbildung 3.1: Gefäßmuskelzellen der Rattenaorta, die mit einem subtypselektiven α_{1B} -Primärantikörper (Ziege) und anschließend mit einem Kaninchen anti-Ziege, Texas Red-Konjugat inkubiert wurden. Die Darstellung erfolgte mittels eines konfokalen Lasermikroskops (TCS 4 DVV, Leica) bei 40-facher Vergrößerung. (A) Muskelzelle, die mit dem α_{1B} -Adrenozeptor transfiziert wurde. Besonders entlang der Zellgrenzen und im perinukleären Bereich ist eine intensive Immunfluoreszenz zu verzeichnen. (B) Kontrollzelle, die dem selben Färbeprotokoll unterzogen war und bei gleichen Mikroskopeinstellungen dargestellt wurde. Auch hier ist eine Immunreaktivität zu sehen, die jedoch deutlich schwächer ausgeprägt ist als bei der transfizierten Zelle. (C) Die Negativkontrolle zeigt keine Fluoreszenz, was darauf hindeutet, dass der Sekundärantikörper nicht unspezifisch an zelluläre Strukturen bindet.

Die geringere Immunfluoreszenz in der Kontrollgruppe und in den Gruppen, die zuvor nicht mit dem zum eingesetzten Antikörper korrespondierenden Rezeptorsubtyp transfiziert worden waren, kann durch die endogene Expression des jeweiligen Subtyps erklärt werden. Die Zellen, die nicht mit dem zum eingesetzten Primärantikörper korrespondierenden Subtyp transfiziert worden waren, wiesen gegenüber der Kontrollgruppe keine erhöhte Fluoreszenz auf, was darauf hindeutet, dass die Kreuzreaktivität der Antikörper gering ist. In den Negativkontrollen wurde keine Fluoreszenz über das Hintergrundniveau hinaus festgestellt, was darauf hinweist, dass der Sekundärantikörper nicht unspezifisch an zelluläre Strukturen bindet.

In Abbildung 3.2 sind die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Membranleuchtdichte nach immunzytochemischer Anfärbung mit subtypselektiven α_1 -Adrenozeptor-Antikörpern dargestellt. In den Diagrammen ist zu sehen, dass die Zellgruppen, die mit dem zum eingesetzten Primärantikörper korrespondierenden Rezeptorsubtyp transfiziert worden waren, eine gegenüber der Kontrollgruppe auf das Doppelte bis Dreifache erhöhte Membranleuchtdichte aufwiesen. Dagegen zeigen die anderen transfizierten Gefäßzellgruppen keine erhöhte Immunfluoreszenz gegenüber der Kontrollgruppe.

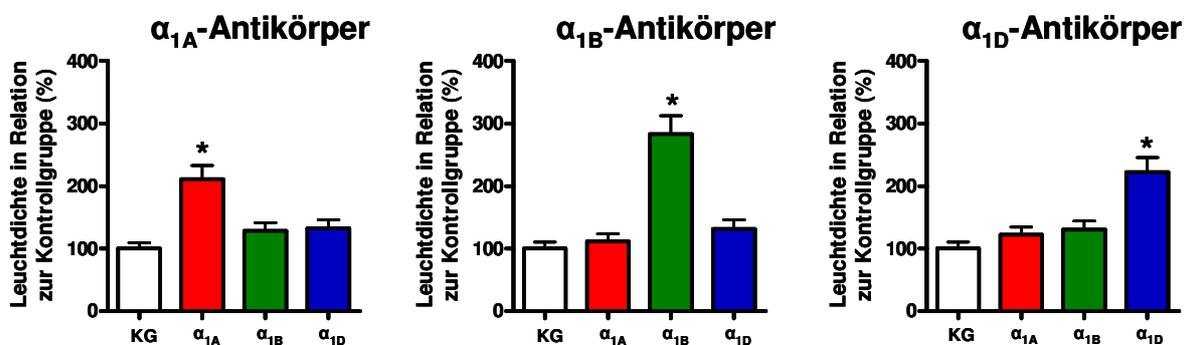


Abbildung 3.2: In den grafischen Darstellungen sind die Fluoreszenzintensitäten der Zellgrenzen nach Inkubation der Muskelzellen mit dem jeweiligen subtypselektiven Antikörper normiert auf die entsprechende Kontrollgruppe (KG) angegeben. Die Zellen, die mit dem zum eingesetzten Primärantikörper korrespondierenden Rezeptorsubtyp transfiziert worden waren, zeigten eine deutlich erhöhte Immunfluoreszenz. Die in der Abbildung dargestellten Fluoreszenzintensitäten wurden an jeweils 15 bis 20 Zellen pro Gruppe erhoben. Zellgruppe, die mit dem zum Primärantikörper korrespondierenden Rezeptorsubtyp transfiziert wurde versus restliche Gruppen, * $p < 0,01$.

Um ein Maß für die Gesamtexpression der α_1 -adrenergen Rezeptoren unter Einschluss der endogen exprimierten Subtypen zu erhalten, wurden zusätzlich Immunfärbungen mit α_1 -Adrenozeptor-Antikörpern durchgeführt, die keine Subtypselektivität aufwiesen.

Bei dem Vergleich der transfizierten Zellen und der Kontrollen zeigten sich deutliche Fluoreszenzunterschiede im Bereich der Zellgrenzen, wobei die Leuchtintensität in allen drei rezeptortransfizierten Gruppen um mehr als das Doppelte erhöht war. Dies kann als Hinweis auf eine erhöhte Dichte membranständiger α_1 -Adrenozeptoren in diesen Zellgruppen gewertet werden.

Dagegen wurden bei dem Vergleich der transfizierten Gruppen untereinander keine Leuchtdichteunterschiede festgestellt, was auf eine ähnliche α_1 -Adrenozeptor-Expression in diesen Zellen hinweist. In Abbildung 3.3 sind die Leuchtintensitäten der unterschiedlichen Zellgruppen grafisch dargestellt.

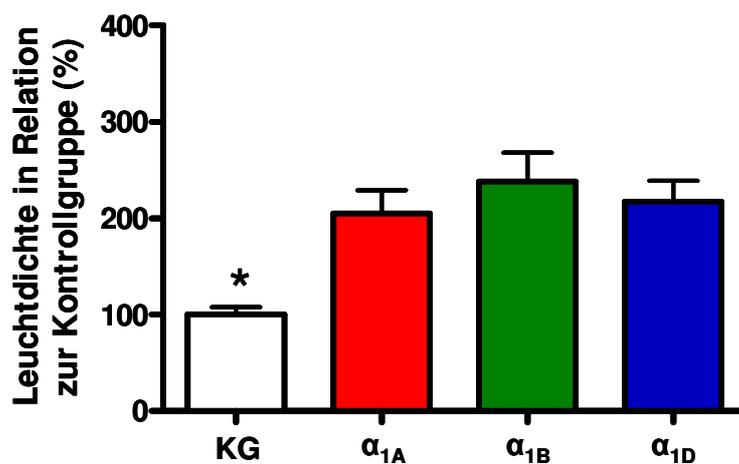


Abbildung 3.3: In der grafischen Darstellung ist die Fluoreszenz der Zellgrenzen nach Inkubation mit dem nichtselektiven α_1 -Adrenozeptor-Antikörper (Alexis) für alle transfizierten Zellgruppen sowie die Kontrollgruppe angegeben. Die in der Abbildung dargestellten, auf die Kontrollgruppe normierten Fluoreszenzintensitäten, wurden an jeweils 15 bis 20 Zellen pro Gruppe erhoben. Kontrollgruppe (KG) versus rezeptortransfizierte Gruppen, * $p < 0,01$.

3.1.2 Funktionelle Studien

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse der funktionellen Untersuchungen wurden an insgesamt 64 Zellen erhoben. Die vier Gruppen bestanden aus folgender Anzahl an Zellen: Kontrollgruppe (KG): n=15; α_{1A} : n=16; α_{1B} : n=16; α_{1D} : n=17.

Die Applikation von 100 mmol/l KCl rief in allen vier Gruppen von Zellen deutliche Kontraktionen hervor. Die maximale Abnahme des Zelldurchmessers lag in der Kontrollgruppe (KG) bei $10.4 \pm 0,7\%$, in der α_{1A} -Gruppe bei $10.9 \pm 0,9\%$, in der α_{1B} -Gruppe bei $10.4 \pm 0,9\%$ und in der α_{1D} -Gruppe bei $10.7 \pm 0,9\%$. Dabei gab es, wie in Abbildung 3.4 zu sehen, keine gruppenabhängigen Unterschiede zu verzeichnen. Auch bezüglich der Kontraktionsgeschwindigkeit wiesen die unterschiedlichen Zellgruppen keine Unterschiede auf.

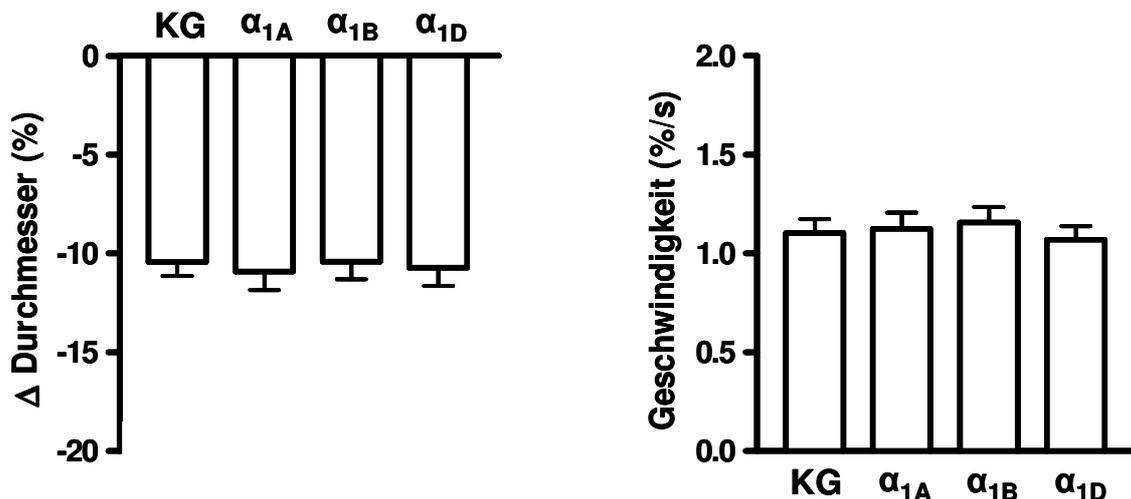


Abbildung 3.4: Änderungen des Zelldurchmessers (linkes Säulendiagramm) und die maximalen Kontraktionsgeschwindigkeiten (rechtes Säulendiagramm) von aortalen, mit einem der α_1 -Adrenozeptor-Subtypen transfizierten Gefäßmuskelzellen und der Kontrollgruppe (KG) nach Applikation von 100 mmol/l KCl. Sowohl im Ausmaß als auch in der Geschwindigkeit der Kontraktion waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu verzeichnen.

Die Applikation des selektiven α_1 -Adrenozeptor-Agonisten Phenylephrin rief in allen vier Gefäßzellgruppen dosisabhängige Kontraktionen hervor. In den drei rezeptortransfizierten Gruppen war eine signifikante Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven gegenüber der Kontrollgruppe zu verzeichnen (pEC_{50} : α_{1A} : $8,09 \pm 0,02$; α_{1B} : $8,07 \pm 0,02$, α_{1D} : $7,98 \pm 0,03$, KG: $6,78 \pm 0,04$; α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} versus KG, * $p < 0,01$). Zwischen den rezeptortransfizierten Gruppen waren hingegen keine Sensitivitätsunterschiede feststellbar. Die maximale Zellverkürzung war in allen vier

Gruppen ähnlich ausgeprägt und lag im Bereich um 10% vom Ausgangswert (Abbildung 3.5, links).

Die maximalen Kontraktionsgeschwindigkeiten als Antwort auf die Applikation von Phenylephrin waren in den drei rezeptortransfizierten Gruppen gegenüber den Kontrollzellen erhöht. Beispielsweise lag die maximale Geschwindigkeit in der Kontrollgruppe (KG) bei $0,59 \pm 0,06\%/s$, in den rezeptortransfizierten Gruppen hingegen bei $1,04 \pm 0,09\%/s$ (α_{1A}), $1,11 \pm 0,09\%/s$ (α_{1B}) und $0,96 \pm 0,09\%/s$ (α_{1D}), was nahezu einer Verdopplung entspricht (KG versus α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , * $p < 0,01$). Zwischen den rezeptortransfizierten Zellgruppen ergaben sich keine Unterschiede (siehe Abbildung 3.4, rechtes Diagramm) in Bezug auf diesen Parameter.

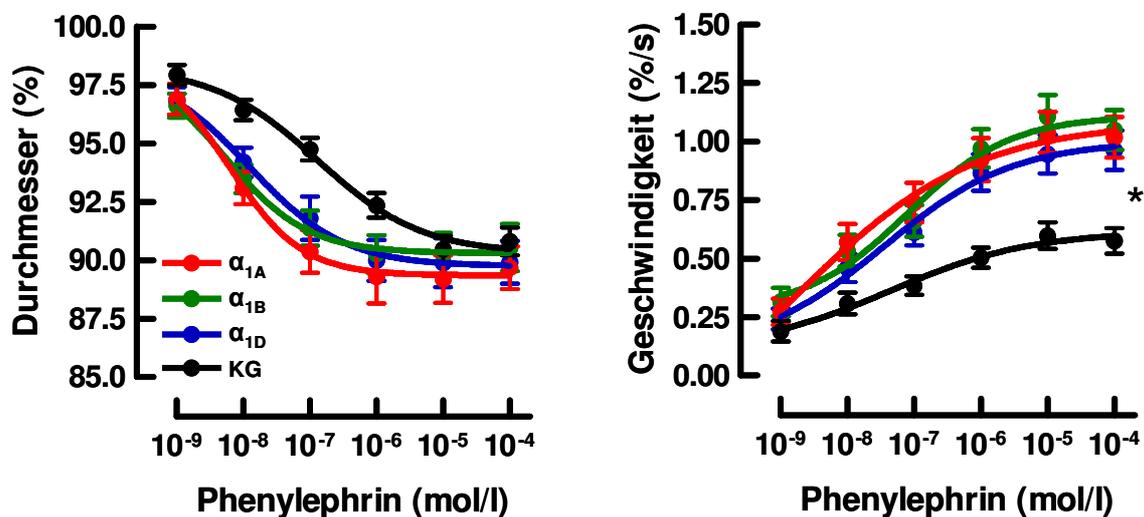


Abbildung 3.5: Dosis-Wirkungs-Kurven für die prozentuale Zelldurchmesseränderung (links) und die Kontraktionsgeschwindigkeit (rechts) aortaler Gefäßmuskulzellen als Antwort auf die Applikation des spezifischen α_1 -Adrenozeptor-Agonisten Phenylephrin. Die Experimente wurden an 15 bis 17 Zellen pro Gruppe durchgeführt. α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} versus KG, * $p < 0,01$.

Auch nach Normierung der Phenylephrin-induzierten Kontraktionen auf die KCl-Antworten war in den transfizierten Gruppen eine Linksverschiebung gegenüber der Kontrollgruppe zu sehen. Die pEC_{50} betrug für α_{1A} $8,24 \pm 0,06$, für α_{1B} $8,22 \pm 0,1$, für α_{1D} $8,08 \pm 0,07$ und für die Kontrollgruppe $7,02 \pm 0,05$, α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} versus KG, * $p < 0,01$. Die maximale Zellverkürzung gegenüber Phenylephrin entsprach in allen Gruppen dem Ausmaß der Verkürzung gegenüber KCl.

Anhand der normierten Dosis-Wirkungs-Kurven für die Kontraktionsgeschwindigkeiten kann man erkennen, dass die rezeptortransfizierten Gruppen ähnliche maximale Kontraktionsge-

schwindigkeiten in Bezug auf Phenylephrin aufwiesen, verglichen mit den Antworten auf die Applikation von 100 mmol/l KCl. Im Gegensatz dazu reagierte die Kontrollgruppe auf Phenylephrin nur etwa halb so schnell wie auf KCl.

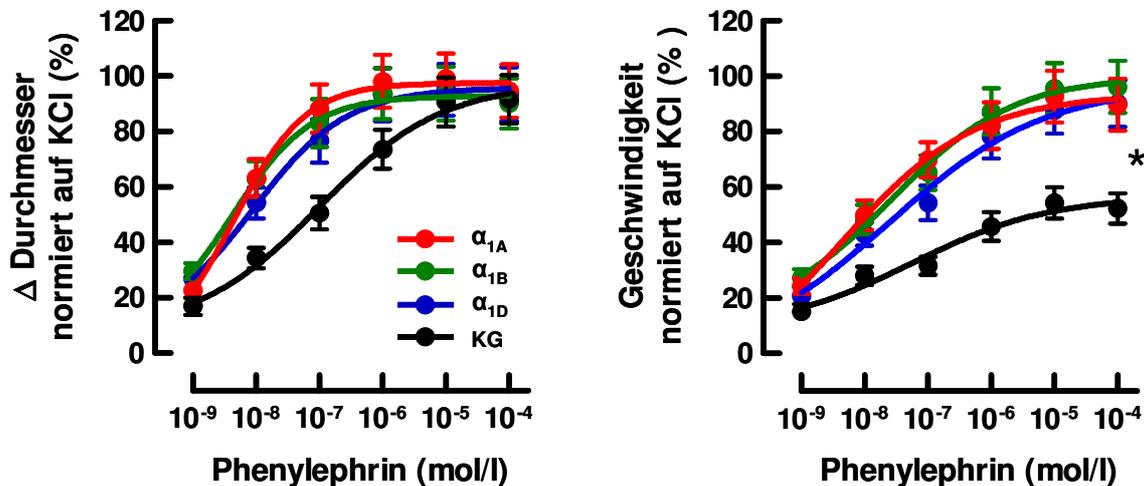


Abbildung 3.6: KCl-normierte Dosis-Wirkungs-Kurven für die prozentuale Durchmesseränderung (links) und die relative Kontraktionsgeschwindigkeit (rechts) aortaler Gefäßmuskeln als Antwort auf Phenylephrin. Die Experimente wurden an 15 bis 17 Zellen pro Gruppe durchgeführt. α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} versus KG, * $p < 0,01$.

3.2 Systemphysiologische Studien am wachen Tier

3.2.1 Hämodynamische Ausgangswerte und Nervenableitungen

Bei den Ruheregistrierungen des Blutdruckes, der Herzfrequenz und der sympathischen Nervenaktivität waren zwischen der WKY-Gruppe und den beiden hypertensiven Gruppen SHR und 2K-1C erwartungsgemäß signifikante Unterschiede im Blutdruck zu verzeichnen. Der arterielle Mitteldruck betrug bei WKY 108 ± 2 mmHg, bei 2K-1C 130 ± 8 mmHg und in der SHR-Gruppe 136 ± 3 mmHg. Neben dem mittleren Blutdruck waren in den hypertensiven Gruppen auch der systolische und der diastolische Blutdruck höher als bei den WKY-Ratten. Die SHR- und die 2K-1C-Gruppe unterschieden sich dagegen in keinem der Blutdruckwerte. Bei der Herzfrequenz und der sympathischen Nervenaktivität waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu verzeichnen. Die Werte sind für WKY (n=8), SHR (n=8) und 2K-1C (n=10) in Abbildung 3.7 grafisch dargestellt.

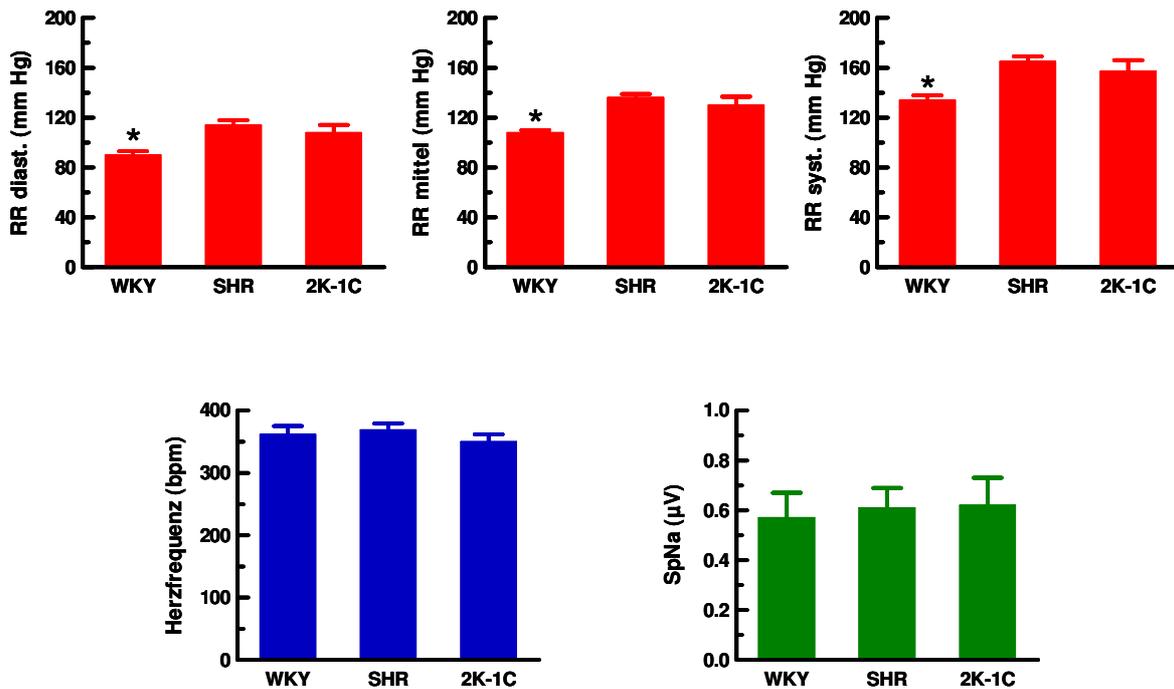


Abbildung 3.7 In den roten Balkendiagrammen sind die Basalwerte für den systolischen Blutdruck, den arteriellen Mitteldruck und den diastolischen Blutdruck der drei untersuchten Versuchstiergruppen dargestellt. Das blaue Diagramm gibt die Herzfrequenz der Tiere wieder. Im grünen Diagramm ist die sympathische Nervenaktivität abgeleitet vom Nervus splanchnicus major dargestellt. WKY: n=8; SHR: n=8; 2K-1C: n=10. WKY versus SHR und 2K-1C, * $p < 0,05$.

3.2.2 Leistungsspektren des Blutdruckes und der sympathischen Nervenaktivität

Sowohl im Spektrum des arteriellen Mitteldruckes als auch in dem der sympathischen Nervenaktivität war bei SHR eine gegenüber den anderen beiden Versuchstiergruppen deutliche Erhöhung der mittelfrequenten Komponente, die als Marker für die sympathische Blutdruckmodulation angesehen wird, zu verzeichnen. Im Gegensatz dazu war bei 2K-1C in diesem Frequenzbereich des arteriellen Blutdruckspektrums die niedrigste Leistung zu sehen, die jedoch nicht mit einer verminderten Leistung der sympathischen Nervenaktivität in diesem Frequenzbereich assoziiert war. Die Leistungsspektren für den arteriellen Mitteldruck und die sympathische Nervenaktivität sind in Abbildung 3.8 dargestellt.

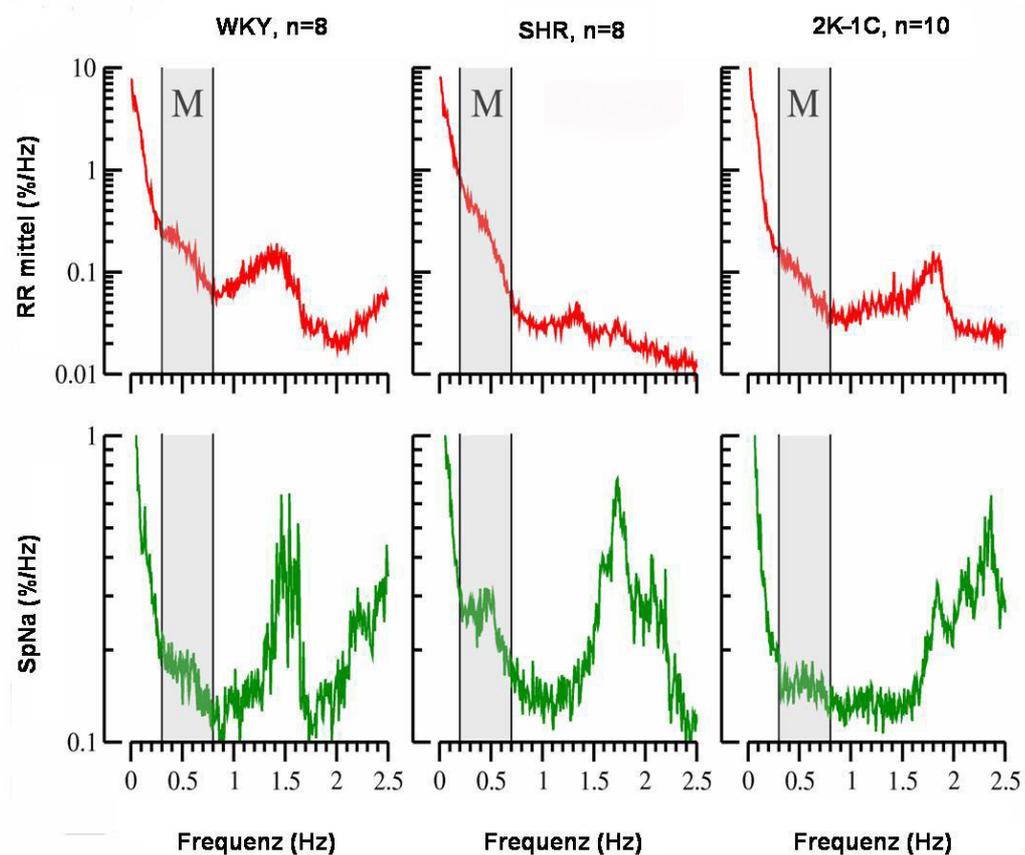


Abbildung 3.8: Leistungsspektren für den arteriellen Mitteldruck und die sympathische Nervenaktivität der drei Versuchstiergruppen WKY, SHR und 2K-1C. Der grau markierte Bereich kennzeichnet den mittleren Frequenzbereich (M), der als Marker für die sympathische Blutdruckmodulation angesehen wird.

In der folgenden Abbildung 3.9 ist die Leistung des niederfrequenten, des mittelfrequenten und des hochfrequenten Spektralbereichs für den arteriellen Mitteldruck und die sympathische Nervenaktivität dargestellt. Die Leistung der einzelnen Spektralbereiche ist dabei prozentual zur Gesamtleistung des jeweiligen Spektrums angegeben. Neben den eben beschriebenen Unterschieden im mittelfrequenten Spektralbereich gab es auch Unterschiede im niederfrequenten Bereich des Blutdruckspektrums zu verzeichnen, in dem die 2K-1C eine erhöhte Leistung aufwiesen. Im Leistungsspektrum der sympathischen Nervenaktivität waren in diesem Frequenzbereich hingegen keine Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen.

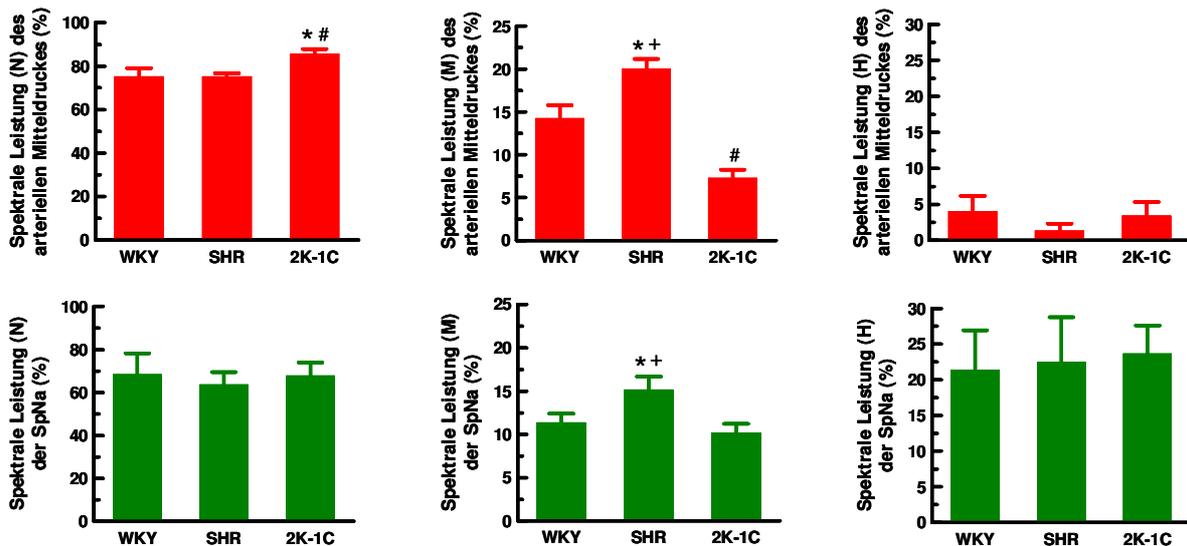


Abbildung 3.9: In der Abbildung ist die Leistung des niederfrequenten (N, links), des mittelfrequenten (M, Mitte) und des hochfrequenten (H, rechts) Spektralbereiches relativ zur Gesamtleistung des Spektrums für den arteriellen Mitteldruck (oben) und die sympathische Nervenaktivität (SpNa, unten) angegeben. WKY: n=8, SHR: n=8, 2K-1C: n=10. SHR versus 2K-1C, * p<0,05; WKY versus 2K-1C, # p<0,05; SHR versus WKY, + p<0,05.

Hinsichtlich des Parameters Frequenz der Maximalleistung im mittelfrequenten Bereich des Spektrums waren für den arteriellen Mitteldruck und die sympathische Nervenaktivität keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu verzeichnen.

3.2.3 Hämodynamische Antworten auf die Applikation gefäßaktiver Substanzen

Als Antwort auf die intravenöse Applikation des selektiven α_1 -Adrenozeptor-Agonisten Phenylephrin konnten in allen drei Gruppen dosisabhängige Anstiege des arteriellen Mitteldruckes verzeichnet werden (Abbildung 3.10). Dabei reagierten SHR und WKY im niedrigen Dosisbereich mit deutlich stärkeren Blutdruckanstiegen als die 2K-1C-Gruppe. Beispielsweise stieg der arterielle Mitteldruck nach Verabreichung einer Dosis von 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ KGW bei SHR um $36,2 \pm 3,3\%$, bei WKY um $30,8 \pm 4,2\%$, hingegen bei 2K-1C um nur $15,6 \pm 4,4\%$ an (2K-1C versus SHR und WKY, * # p<0,05). Dies könnte als Ausdruck einer verminderten Sensitivität der 2K-1C aufgefasst werden. Die Maximalwerte für die relative Änderung des mittleren arteriellen Blutdruckes nach Applikation von Phenylephrin waren in allen drei Gruppen ähnlich (WKY: $55,1 \pm 4,8\%$, SHR: $52,0 \pm 4,2\%$ 2K-1C: $53,5 \pm 5,3\%$). In Bezug auf die Änderungen der Herzfrequenz nach Phenylephrin-Applikation war in allen drei Gruppen eine dosisabhängige Frequenzabnahme zu beobachten. Ausgehend von der Basalfrequenz betrug die Abnahme in der WKY-Gruppe

45,4±5,2% und war somit deutlich stärker ausgeprägt als in den beiden hypertensiven Gruppen, bei denen lediglich eine Abnahme um 24,6±6,8% (SHR) bzw. 28,9±4,3% (2K-1C) zu verzeichnen war. Wie die Herzfrequenz, so nahm auch die sympathische Nervenaktivität als Ausdruck eines intakten Baroreflexbogens mit steigenden Phenylephrindosen ab. Die maximale Abnahme betrug in allen Gruppen ausgehend von der basalen Aktivität zwischen 20 und 30%. In Bezug auf diesen Parameter konnten keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen festgestellt werden.

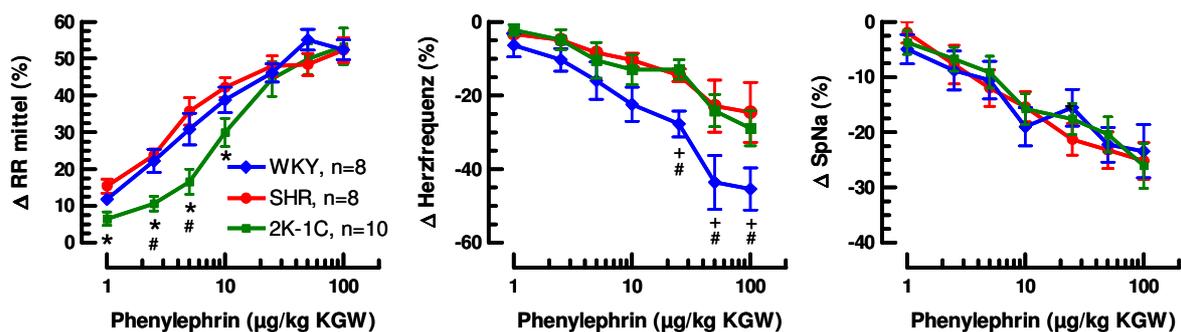


Abbildung 3.10: Dosis-Wirkungs-Kurven für die Änderung des arteriellen Mitteldruckes (links), der Herzfrequenz (Mitte) sowie der sympathischen Nervenaktivität (rechts) als Antwort auf die intravenöse Applikation von Phenylephrin. SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$.

Die Applikation des nichtadrenergen Vasokonstriktivums Arginin-Vasopressin ergab ebenfalls in allen drei Versuchstiergruppen ein Dosis-Wirkungs-Verhalten von Blutdruck, Herzfrequenz und sympathischer Nervenaktivität. Im Gegensatz zu Phenylephrin waren gegenüber diesem Agonisten keine gruppenspezifischen Unterschiede in der Blutdruckansprechbarkeit zu verzeichnen (Abbildung 3.11). Auch in Bezug auf die reaktive Abnahme der sympathischen Nervenaktivität verhielten sich alle Versuchstiergruppen ähnlich. Im Gegensatz dazu unterschieden sich alle drei Gruppen signifikant in der maximalen Herzfrequenzabnahme nach Applikation dieses Agonisten. Dabei wies die WKY-Gruppe bei einer Dosis von 100 ng/kg KGW, wie in Abbildung 3.11 dargestellt, mit einer Abnahme um 41,5±1,8% den stärksten Frequenzabfall auf. Im Vergleich dazu war bei den 2K-1C-Ratten eine maximale Abnahme um 30,7±3,5%, in der SHR-Gruppe dagegen um nur 17,1±1,3% zu verzeichnen.

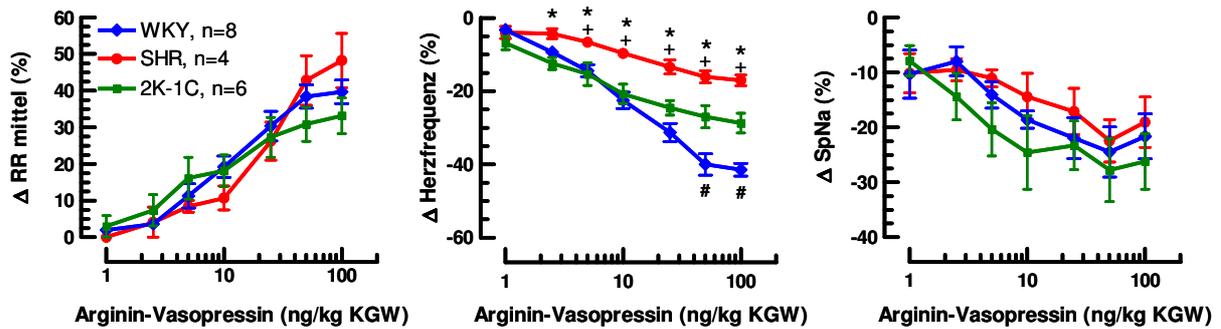


Abbildung 3.11: Dosis-Wirkungs-Kurven für die Änderung des arteriellen Mitteldruckes (links), der Herzfrequenz (Mitte) sowie der sympathischen Nervenaktivität (rechts) als Antwort auf die intravenöse Applikation von Arginin-Vasopressin. Das Blutdruckverhalten und die sympathische Nervenaktivität waren in allen drei Gruppen ähnlich. Die Herzfrequenzabnahme war bei WKY am stärksten, bei SHR am geringsten ausgeprägt. SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$.

Der endothelunabhängige NO-Donor Natrium-Nitroprussid führte in allen Versuchstiergruppen zu dosisabhängigen Blutdruckabfällen, die von einem reflektorischen Anstieg der Herzfrequenz und der sympathischen Nervenaktivität begleitet waren. Dabei waren keine Unterschiede im Blutdruckverhalten und in der Nervenaktivität zwischen den Gruppen zu verzeichnen. Dagegen war die Herzfrequenzantwort bei WKY am stärksten ausgeprägt. Bei einer Dosis von 10 $\mu\text{g/kg}$ KGW reagierte diese Versuchstiergruppe mit einem Frequenzanstieg von $37,6 \pm 6,7\%$, wogegen der Anstieg bei SHR und 2K-1C bei $24,2 \pm 4,5\%$ bzw. $26,3 \pm 7,1\%$ lag (Abbildung 3.12).

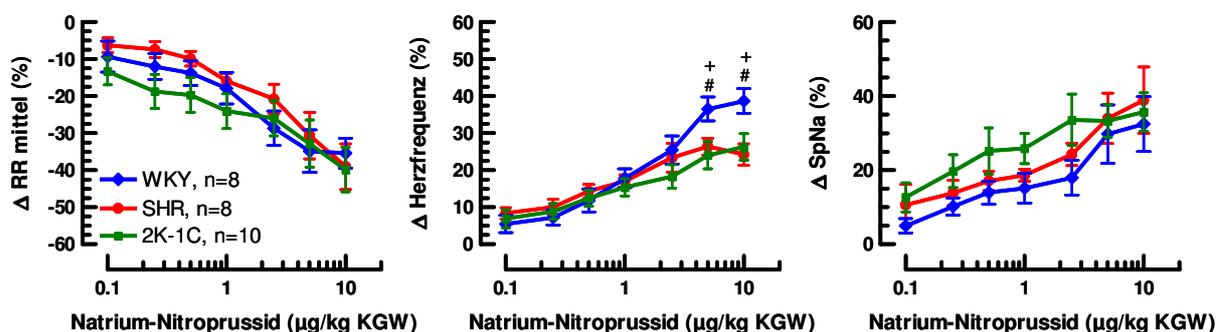


Abbildung 3.12: Dosis-Wirkungs-Kurven für die Änderung des arteriellen Mitteldruckes (links), der Herzfrequenz (Mitte) sowie der sympathischen Nervenaktivität (rechts) als Antwort auf die intravenöse Applikation von Natrium-Nitroprussid. SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$.

3.3 Studien an isolierten Widerstandsgefäßen

3.3.1 Dosis-Wirkungs-Kurven für die Änderung des Gefäßdurchmessers

Die Stimulation der isolierten mesenterialen Widerstandsgefäße mit steigenden Konzentrationen des sympathischen Transmitters Noradrenalin, der neben einer α_1 -adrenergen auch eine α_2 - und β -adrenerge Wirkung ausübt, rief bei den Gefäßen aller drei Gruppen dosisabhängige Kontraktionen hervor. Dabei waren die Antworten in der SHR-Gruppe mit einer maximalen Verringerung des luminalen Durchmessers um $87,9 \pm 3,4\%$ am stärksten, gefolgt von der WKY-Gruppe mit $72,7 \pm 5,2\%$ und der 2K-1C-Gruppe mit $36,2 \pm 6,9\%$ (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$, Abbildung 3.13). Die Sensitivität unterschied sich nicht zwischen den Gruppen. Ähnlich sahen die Verhältnisse bei der Stimulation mit dem selektiven α_1 -adrenergen Agonisten Phenylephrin aus (siehe Abbildung 3.13). Hier lagen die Maximalantworten bei $83,7 \pm 11,9\%$ für SHR, bei $61,7 \pm 21,3\%$ für WKY und bei nur $35,9 \pm 22,5\%$ für 2K-1C (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$). Auch in Bezug auf diese Substanz waren keine Sensitivitätsunterschiede zwischen den Gruppen zu verzeichnen.

Im Gegensatz zu Noradrenalin und Phenylephrin bewirkte der selektive α_2 -Adrenozeptor-Agonist Clonidin nur äußerst geringe Gefäßkontraktionen. Jedoch auch gegenüber dieser Substanz zeigten die Arterien der SHR eine verstärkte Ansprechbarkeit. Dabei war die Sensitivität der SHR im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen erhöht (pEC_{50} : SHR $6,4 \pm 0,03$, WKY $5,32 \pm 0,07$, 2K-1C $5,6 \pm 0,03$; SHR versus WKY und 2K-1C, * # $p < 0,05$). Außerdem war die maximale Durchmesseränderung bei SHR stärker ausgeprägt als bei 2K-1C, unterschied sich jedoch nicht von WKY (SHR: $5,67 \pm 1,37\%$, WKY: $3,46 \pm 1,44\%$, 2K-1C: $2,41 \pm 0,67\%$; SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$).

Um zu testen, wie sich die Gefäßantworten bei Applikation eines nichtadrenergen Agonisten darstellen, wurden die kontraktile Gefäßeigenschaften in Bezug auf den Vasopressinrezeptoragonisten Arginin-Vasopressin (AVP) untersucht. Wie die adrenergen Agonisten, so bewirkte auch diese Substanz in allen drei Gruppen dosisabhängige Kontraktionen. Bereits bei Konzentrationen von 3×10^{-8} mol/l konnte in allen drei Versuchstiergruppen ein nahezu vollständiger Verschluss der Gefäßlumina verzeichnet werden. Die Maximalantworten lagen in der SHR-Gruppe bei $97,1 \pm 2,8\%$, in der WKY-Gruppe bei $95,4 \pm 4,1\%$ sowie in der 2K-1C-Gruppe bei $94,0 \pm 5,8\%$

und unterschieden sich nicht voneinander. Auch in Bezug auf die Sensitivität gab es keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu verzeichnen.

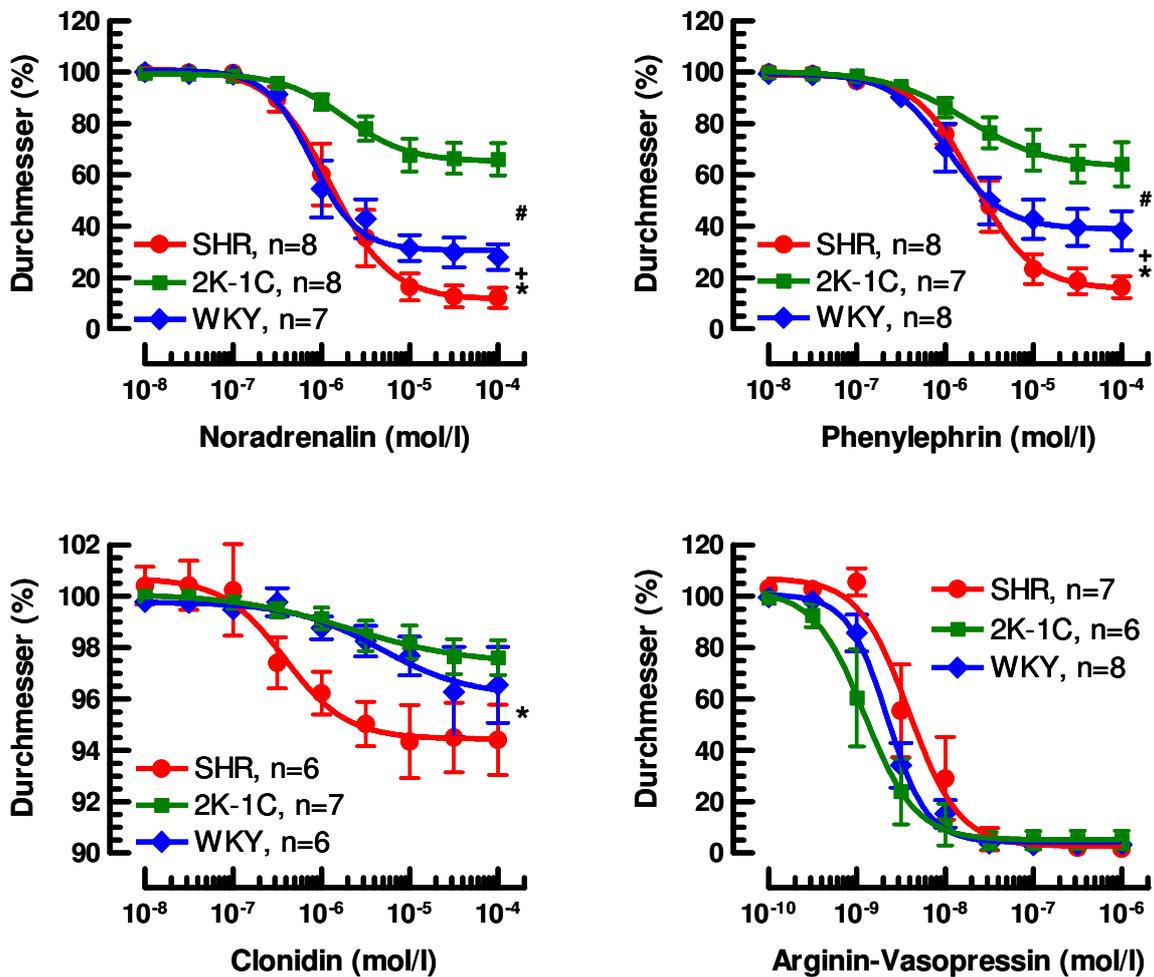


Abbildung 3.13: Dosis-Wirkungs-Kurven für die luminalen Durchmesseränderungen nach Applikation adrenerger und nichtadrenerger Substanzen. Man beachte die abweichende Achseneinteilung der Ordinate bei der Darstellung der Clonidin-Antworten, die sehr gering ausfielen. Bei der Darstellung der Arginin-Vasopressin-Dosis-Wirkungs-Kurven ist der Dosisbereich auf der Abszisse zu niedrigen Konzentrationen hin verschoben. (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$).

Obwohl die oben dargestellten Dosis-Wirkungs-Kurven eine unterschiedliche Gefäßansprechbarkeit der verschiedenen Versuchstiergruppen gegenüber den applizierten Agonisten zeigen, so kann aus diesen Unterschieden nicht eindeutig auf unterschiedliche Rezeptoreigenschaften geschlossen werden. Auch rezeptorunabhängige Eigenschaften, wie die Ansprechbarkeit des kontraktile Apparates oder die Endothelfunktion könnten zu den Kontraktilitätsunterschieden in

diesen Gruppen beigetragen haben. Aus diesem Grund wurde das Dosis-Wirkungs-Verhalten eines jeden Gefäßes auf seine entsprechende KCl-Antwort normiert (Abbildung 3.14).

Nach Normierung der Dosis-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin und Phenylephrin war der Unterschied in den Maximalwerten zwischen der SHR- und der WKY-Gruppe nicht mehr vorhanden, hingegen waren die Antworten in der 2K-1C-Gruppe weiterhin abgeschwächt. Beispielsweise betragen die maximalen Durchmesseränderungen gegenüber Phenylephrin bei SHR $86,8 \pm 4,8\%$, bei WKY $74,0 \pm 11,3\%$ und 2K-1C $43,9 \pm 5,6\%$ (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$).

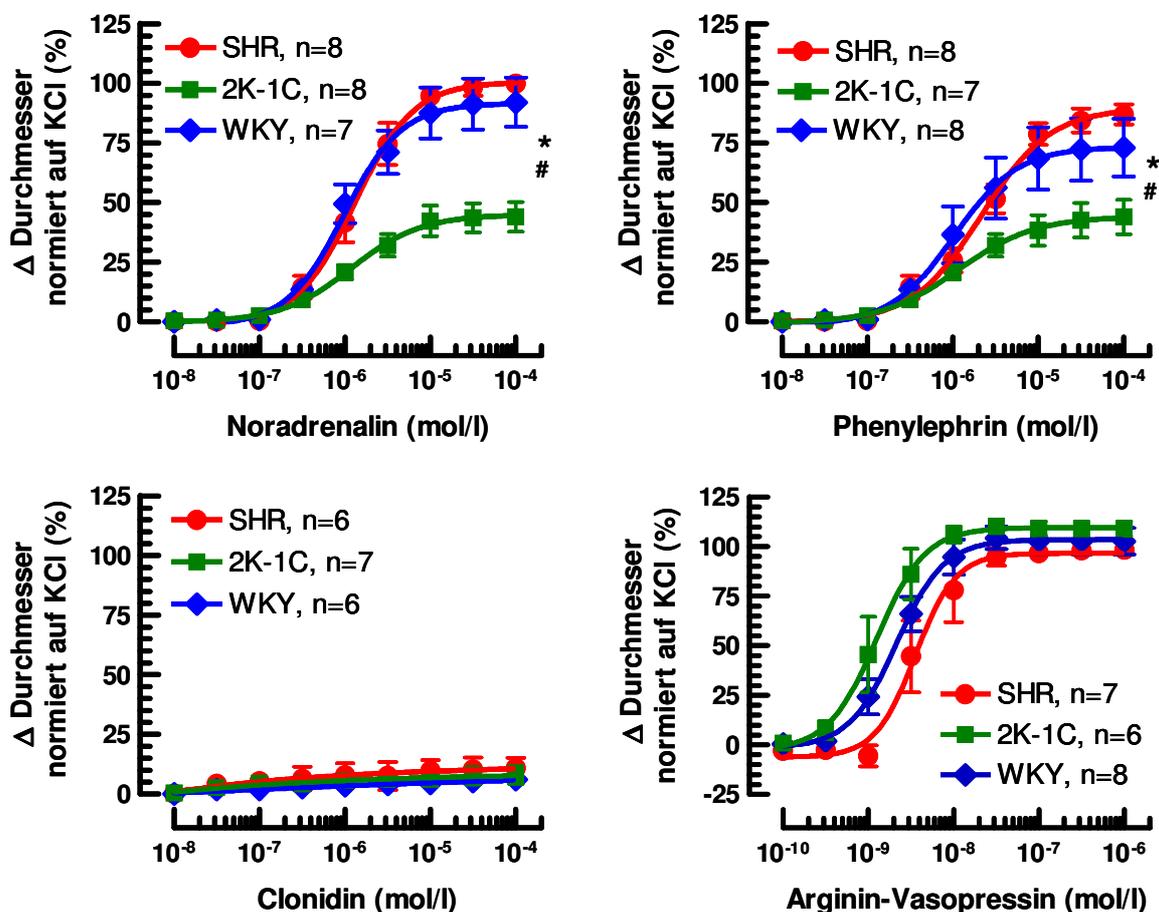


Abbildung 3.14: Darstellung der normierten Dosis-Wirkungs-Kurven für die Durchmesseränderung nach Applikation adrenerger und nichtadrenerger Substanzen. Auf der Ordinate ist die prozentuale Änderung des luminalen Gefäßdurchmessers gegenüber dem jeweiligen Agonisten bezogen auf die Durchmesseränderung gegenüber KCl angegeben. (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$).

Die normierten Clonidin-Dosis-Wirkungs-Kurven zeigten in allen Gruppen einen ähnlichen Verlauf, die Maximalantworten betragen in allen Gruppen weniger als 10% der KCl-induzierten Reaktionen. Die Normierung der Arginin-Vasopressin-Dosis-Wirkungs-Kurven ergab keine Änderung im Vergleich zu den nichtnormierten Ergebnissen.

3.3.2 Dosis-Wirkungs-Kurven für die Kontraktionsgeschwindigkeit

Wie schon bei den Dosis-Wirkungs-Kurven für die Änderung des luminalen Gefäßdurchmessers ergab sich auch in Bezug auf die dynamische Komponente der Kontraktion in allen drei Gruppen ein ähnliches Bild nach Noradrenalin- und Phenylephrinapplikation. In Bezug auf Noradrenalin kontrahierten die Gefäße der SHR-Gruppe am schnellsten. Ihre maximale Kontraktionsgeschwindigkeit lag dabei bei $22,1 \pm 1,3\%/s$. Die Gefäße der WKY-Ratten kontrahierten im Vergleich dazu nur etwa halb so schnell. Die Maximalwerte lagen in dieser Gruppe bei $14,4 \pm 1,2\%/s$. Am langsamsten hingegen reagierte die 2K-1C-Gruppe. Hier lag die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit bei $9,9 \pm 1,2\%/s$ (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$). In einem ähnlichen Geschwindigkeitsbereich lagen die Werte für Phenylephrin. Dagegen waren die Kontraktionsgeschwindigkeiten in Bezug auf Clonidin in allen Gruppen bedeutend geringer. Sie lagen in der SHR-Gruppe, deren Gefäße auch in Bezug auf diesen Agonisten die höchste Maximalgeschwindigkeit aufwiesen, bei $3,4 \pm 0,6\%/s$. Die anderen beiden Gruppen unterschieden sich dagegen nicht in Bezug auf diesen Parameter. Die Maximalwerte lagen hier bei $0,7 \pm 0,2\%/s$ in der WKY-Gruppe und bei $0,4 \pm 0,2\%/s$ in der 2K-1C-Gruppe (SHR versus 2K-1C und WKY, * + $p < 0,05$). Interessanterweise zeigten die Gefäße der SHR-Gruppe auch gegenüber dem nichtadrenergen Agonisten Arginin-Vasopressin die höchste Maximalgeschwindigkeit. Diese lag bei $19,3 \pm 1,2\%/s$, was im Bereich der Kontraktionsgeschwindigkeiten gegenüber Noradrenalin und Phenylephrin lag. Zwischen der WKY- ($8,7 \pm 1,2\%/s$) und der 2K-1C-Gruppe ($10,0 \pm 1,3\%/s$) waren hingegen in Bezug auf diesen Agonisten keine Unterschiede in der Kontraktionsgeschwindigkeit zu verzeichnen (SHR versus 2K-1C und WKY, * + $p < 0,05$).

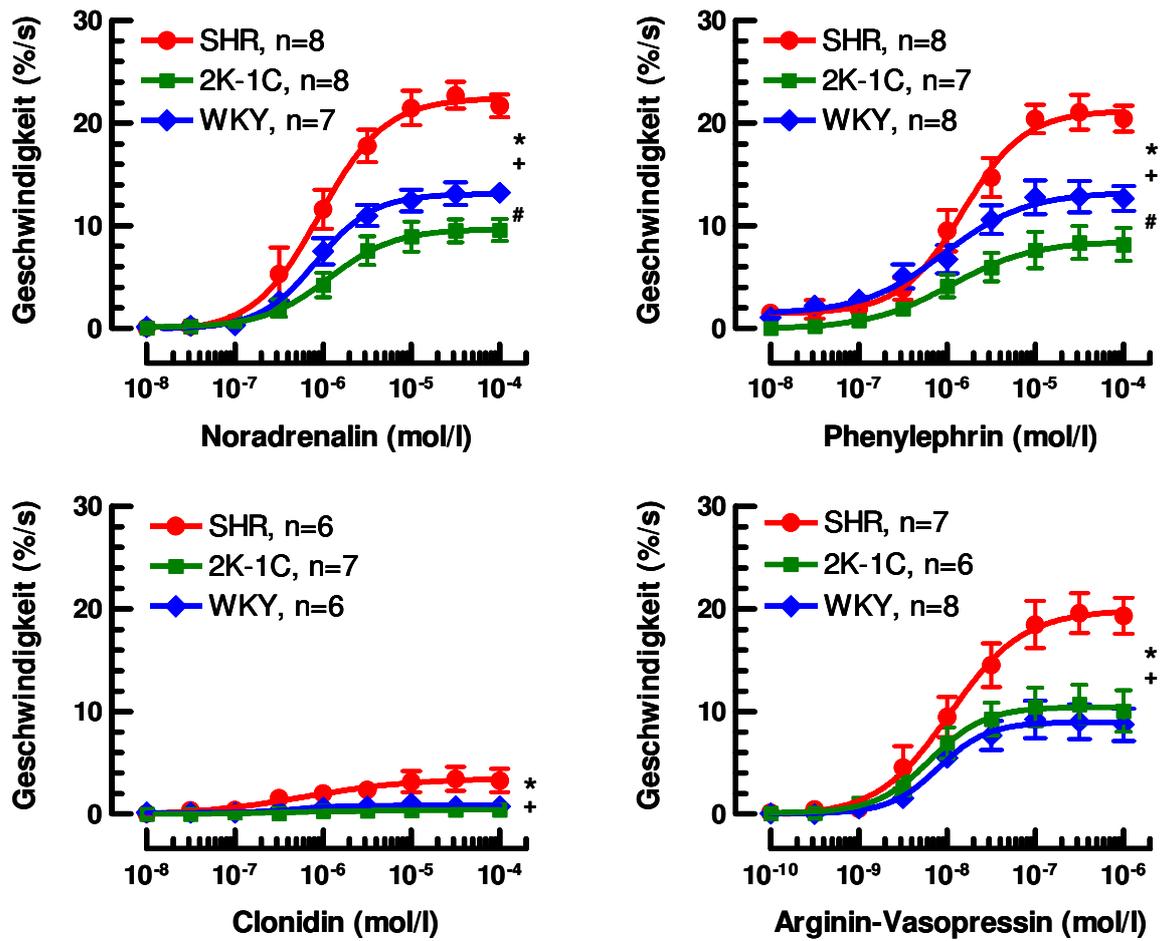


Abbildung 3.15: Dosis-Wirkungs-Kurven für die Kontraktionsgeschwindigkeit nach Applikation adrenerger und nichtadrenerger Substanzen. Auf der Ordinate ist die Kontraktionsgeschwindigkeit gegenüber dem jeweiligen Agonisten in %/s angegeben, auf der Abszisse hingegen die Konzentration. (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$).

Auch nach Normierung der Gefäßreaktionen gegenüber Phenylephrin- und Noradrenalin waren in der SHR-Gruppe im Vergleich zu den anderen Versuchstiergruppen erhöhte Werte zu verzeichnen. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit betrug $86,3 \pm 4,2\%$ der KCl-induzierten Geschwindigkeit. Zwischen der WKY- und der 2K-1C-Gruppe waren hingegen keine Unterschiede in der dynamischen Komponente der Kontraktion zu sehen. Die Maximalwerte lagen in den beiden Gruppen bei $60,1 \pm 4,2\%$ (WKY) und $55,4 \pm 4,1\%$ (2K-1C) (SHR versus 2K-1C und WKY, * + $p < 0,05$, Abbildung 3.16).

Im Gegensatz zu Noradrenalin und Phenylephrin gab es bei Arginin-Vasopressin und bei Clonidin nach Normierung der Dosis-Wirkungs-Kurven keine Unterschiede zwischen den Gruppen zu verzeichnen (Abbildung 3.16).

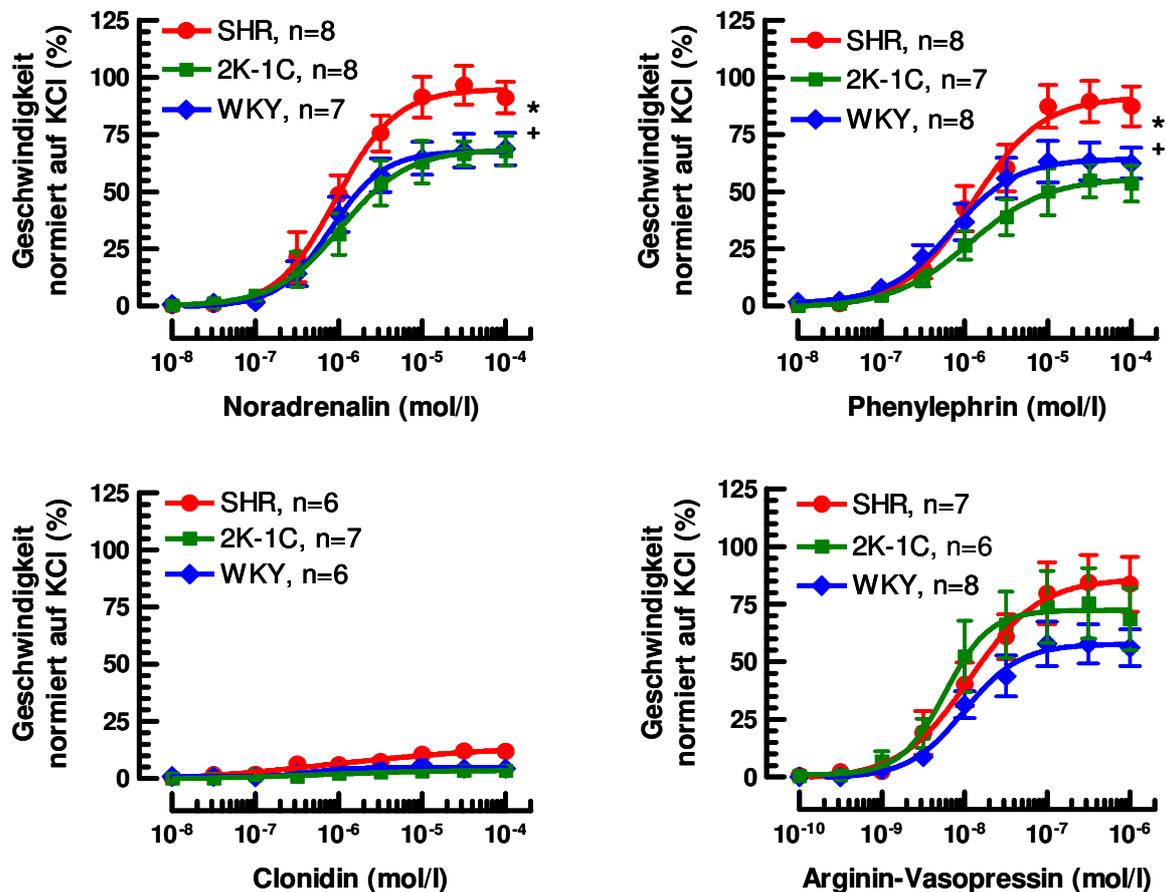


Abbildung 3.16: Darstellung der normierten Dosis-Wirkungs-Kurven für die Kontraktionsgeschwindigkeit nach Applikation adrenerger und nichtadrenerger Substanzen. Auf der Ordinate ist die Kontraktionsgeschwindigkeit gegenüber dem jeweiligen Agonisten prozentual zu den Geschwindigkeiten gegenüber KCl angegeben. Auf der Abszisse ist dagegen die Agonistenkonzentration abgetragen (SHR versus 2K-1C, * $p < 0,05$; WKY versus 2K-1C, # $p < 0,05$; SHR versus WKY, + $p < 0,05$).