

1 Einleitung und Stand der Forschung

Bluthochdruck gehört neben Fettstoffwechselstörungen, Übergewicht, Diabetes mellitus und Rauchen zu den einflussreichsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen. Herz-Kreislauferkrankungen sind die Hauptursache für Morbidität und Mortalität in den westlichen Industrienationen (Murray et al., 1997). Eine arterielle Hypertonie besteht definitionsgemäß dann, wenn mit der Methode nach Riva-Rocci und Korotkoff Blutdruckwerte von systolisch größer/gleich 140mmHg und diastolisch größer/gleich 90mmHg gemessen werden. Wird eine organische Grunderkrankung als Ursache der Blutdruckerhöhung identifiziert, spricht man von einer sekundären Hypertonie. Wenn kein ursächlicher Pathomechanismus für den Bluthochdruck ermittelt werden kann, handelt es sich um eine primäre oder essentielle Hypertonie (Kreutz et al., 2000). Ihr Anteil an allen Hypertonieerkrankungen ist mit ca. 90 – 95% die zahlenmäßig bedeutsamere Form.

Die Hypertonie hat mit ungefähr 25% eine hohe Prävalenz bei der erwachsenen deutschen Bevölkerung. Mit zunehmendem Alter steigt die Zahl der Hypertoniker kontinuierlich an. Bei den über 65-Jährigen weisen bereits über 50% einen Bluthochdruck auf (Kreutz et al., 2000). Da die demographische Entwicklung eine Zunahme der Lebenserwartung voraussagt, wird die Zahl der Hypertoniker zukünftig weiter ansteigen. Als Folge erhöht sich die enorme sozioökonomische und medizinische Bedeutung der Hypertonie mit ihren entstehenden Folgeerkrankungen und hypertensiven Endorganschäden (van Rossum et al., 2000).

Bei der Suche nach der Ursache der essentiellen Hypertonie konnten im Rahmen von epidemiologischen Studien familiäre Häufungen sowie eine erhöhte Konkordanz bei eineiigen Zwillingen beobachtet werden (Camussi et al., 1988). Der Bluthochdruck wird als eine multifaktorielle, polygene Erkrankung verstanden, an deren Entstehung zu 30 - 50% die Erbanlagen eines Individuums beteiligt sind (Ward et al., 1990). Zu den zahlreichen interagierenden Faktoren zählt man Übergewicht, Bewegungsmangel, hormonelle Faktoren, exogenen Stress, Hypercholesterinämie, Insulinresistenz, männliches Geschlecht sowie Alter und Kochsalzaufnahme.

Die Hypertonie ist eine chronische Erkrankung mit hoher Prävalenz die zu schwerwiegenden sekundären zerebralen, kardiovasulären und renalen Komplikationen disponiert.

1.1 Hypertonie und Nierenfunktion

Zwischen Niere und Bluthochdruck besteht eine besondere wechselseitige Beziehung. Einerseits kann eine Hypertonie zu einer Nierenschädigung führen, andererseits bewirken renale Erkrankungen eine Erhöhung des Blutdrucks.

Pathophysiologisch kann es bei Nierenerkrankungen durch Volumenexpansion, vermehrte Natriumresorption oder durch eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldesteron- Systems bzw. des sympathischen Nervensystems zur Blutdruckerhöhung kommen. Die arterielle Hypertonie kann andererseits durch eine progrediente Nierenschädigung zu einer renalen Fixierung des Bluthochdrucks führen (Adamczak et al., 2002, Wesson 2001).

Bereits eine geringe Erhöhung des Blutdrucks beschleunigt den Nierenfunktionsverlust, während sich die Senkung der Werte protektiv hinsichtlich der hypertensiven Nephropathie auswirkt. Die Blutdruckeinstellung auf normotensive Werte gilt als renoprotektiv (Wesson 2001). In einer Langzeitbeobachtung eines großen Männerkollektivs fand sich bei schweren Hypertonieformen ein 11fach erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz (Klag et al., 1996). Diese Blutdruckempfindlichkeit konnte an der vorgeschädigten Niere noch deutlicher beobachtet werden (Ritz et al., 2001). Dabei hängt das Ausmaß der Schädigung in erster Linie von der Dauer und dem Schweregrad der Hypertonie ab. Der Bluthochdruck ist neben dem Diabetes mellitus eine der Hauptursachen für die Entstehung einer chronischen Niereninsuffizienz (Parmar 2002).

1.2 Morphologie der hypertensiven Nephropathie

Bei langjährigem, unbehandeltem arteriellem Hochdruck kommt es zu einer zunehmenden arteriosklerotischen Schädigung der kleinen Nierenarterien, der Nephrosklerose. Bei der benignen Nephrosklerose ist die Funktion der Niere lange Zeit uneingeschränkt, erst sehr spät tritt Niereninsuffizienz mit Proteinurie auf. Die Schrumpfniere ist das Endstadium der benignen Nephrosklerose. Sie entsteht aus der Zerstörung von Nephronen mit folgender Vernarbung, die zur Verkleinerung der Niere und zur Funktionsverminderung führt. Bei ca. 10% aller Patienten mit chronischem Nierenversagen kann eine Hypertonie als Ursache identifiziert werden (Zucchelli et al., 1992).

Die renale Morphologie der hypertensiven Nephropathie hat drei Komponenten: Die Vaskulopathie, die Glomerulosklerose und die interstitielle Fibrose. Die Gefäßveränderungen betreffen alle Nierengefäße und gleichen denen des Alterns (Helmchen et al., 1994). Während die mittlere Gefäßschicht (Media) schrumpft, verdickt sich die innere Schicht (Intima) aufgrund der Druckerhöhung und engt das Gefäßlumen ein. Die Intimahyperplasie der afferenten Arteriolen führt zur glomerulären Ischämie, Verschlechterung der glomerulären Filtrationsrate und somit zur fokalen und segmentalen Glomerulosklerose (FSGS) (Tracy et al., 1990). Diese Fibrose der Intima korreliert eng mit der Höhe und Dauer der Hypertonie und wird bei jungen, normotensiven Individuen kaum gesehen (Tracy 1992). Die interstitiellen Läsionen der Niere, die mit der Hypertonie einhergehen, ähneln der interstitiellen Nephritis mit Fibroseentstehung im Interstitium und eingewanderten Entzündungszellen. Die Sammelrohre der Niere (Tubuli) werden zystisch und atrophieren (Helmchen et al., 1994). Obwohl auch diese Erscheinung ein typisches Charakteristikum der bluthochdruckgeschädigten Niere ist, korreliert diese Veränderung weniger eng mit dem Ausmaß der Hypertonie und kann auch bei Menschen mit normalen Blutdruckwerten gefunden werden (Tracy, 1992).

An den Nieren kann eine morphologische Veränderung in Korrelation mit erhöhten Blutdruckwerten beobachtet werden.

1.3 Blutdruckregulation und Kochsalzeinfluss

Eine Hauptursache der Hypertonieentstehung ist die Unfähigkeit der Nieren bei normalem arteriellem Druck eine adäquate Menge Urin auszuschcheiden (Hall et al., 1996). Damit sammelt sich soviel Flüssigkeitsvolumen im Körper an, bis der Druck ein Level erreicht, bei dem Flüssigkeitsausscheidung und -aufnahme ein Gleichgewicht erreichen (Wesson, 2001). Dieser Natrium-Volumenhaushalt ist die dominierende Methode des Körpers zur Langzeit- Blutdruckeinstellung, es entfaltet seine volle Wirkung durchschnittlich nach zwei bis vier Tagen (Guyton, 1992). Andere Systeme basieren auf neuronalen Rezeptoren wie Barorezeptoren, Chemorezeptoren und dem zentralen Nervensystem, die in Sekunden reagieren können. Außerdem existieren hormonelle Regulatoren wie das Renin-Angiotensin-Systems (RAS) deren Einfluss innerhalb von Minuten messbar werden.

Auch Ernährungsgewohnheiten haben einen Einfluss auf die Hypertonieentstehung. Erhöhte Kochsalzzufuhr führt bei einigen Menschen zu einem signifikanten Blutdruckanstieg. Dieses Phänomen wird in der Literatur als Salzsensitivität beschrieben. Bleibt der Blutdruck von der Salzaufnahme unbeeinflusst, spricht man von Salzresistenz (Luft, 1999). Populationen mit sehr geringem Kochsalzkonsum entwickeln weniger essentielle Hypertonien; ist die konsumierte Menge kleiner als 55mmol pro Tag wird diese Erkrankung gar nicht mehr beobachtet (Stamler et al., 1991). Bei der genaueren Untersuchung der Pathogenese dieser Salzabhängigkeit zeigten einige salzabhängige Hypertoniker eine Gewichtszunahme. Daraufhin wurde eine Assoziation zwischen Blutdruckerhöhung und Vermehrung des extrazellulären Volumens vermutet. Die Blutdruckerhöhung manifestiert sich durch die fehlende Verringerung des Gefäßwiderstandes, der bei Gesunden als Reaktion auf das vergrößerte Volumen betrachtet werden kann (Campese 1994). Andere Studien zeigen, dass einige salzabhängige Hypertoniker den peripheren Widerstand erhöhen müssen, um eine adäquate renale Natriumelimination zu erreichen. Das extrazelluläre Volumen bleibt hier unverändert, die Blutdrucksteigerung ergibt sich aus dem erhöhten Widerstand (Hall et al., 1996).

Die Prävalenz der essentiellen Hypertonie ist signifikant höher in der afroamerikanischen Bevölkerung als bei der weißen Bevölkerung (Cooper et al., 1997). Annähernd 75% der afroamerikanischen Hypertoniker leiden an einem

salzabhängigen Bluthochdruck (Weinberger et al., 1996). Neuere Ergebnisse weisen darauf hin, dass diese Hypertonie eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Linksherzinsuffizienz und des Herzversagens spielt. Über 60% der afroamerikanischen Patienten mit Herzversagen wiesen anamnestisch eine Hypertonie auf, wohingegen bei nur 30% eine koronare Herzkrankheit als Ursache der Linksherzinsuffizienz vermutet wurde (Yancy 2001). Bei Afroamerikanern ist die Blutdruckeinstellung durch eine Monotherapie mit β -Blockern oder Angiotensin-Convertin Enzym (ACE) Hemmern unbefriedigender als bei Kaukasiern (Hall et al., 1996). Auch andere Studien weisen auf eine unterschiedliche Medikamentenantwort zwischen den Rassen hin (Carson et al., 1999, Exner et al., 2001). Während eine Studie die Anwendung des β -Blocker Carvedilol bei Herzversagen bei der weißen und der schwarzen Bevölkerung ähnlich gut bewertete (Yancy et al., 2001), erbrachte eine andere Untersuchung keinen Nutzen der Behandlung mit dem β -Blocker Bucindolol für Afroamerikaner (Ferguson 2000). Eine Vielzahl an Ergebnissen weisen auf eine Beteiligung des Endothelinsystems an der Manifestation und Progression des salzabhängigen Bluthochdrucks hin, die wiederum die Grundlage eines Linksherzversagens sein kann (Schiffrin 1999, Elijovich et al., 2001). So wurden signifikant höhere Endothelin-1 (ET-1) Plasmaspiegel bei hypertensiven Afroamerikanern als bei weißen Hypertonikern sowie der schwarzen und weißen normotensiven Population gefunden (Ergul et al., 1996).

Eine zusammenfassende Betrachtung der vielfältigen Ergebnisse lässt einige bemerkenswerte Charakteristika des salzabhängigen Bluthochdrucks erkennen (Elijovich et al., 2002). Dazu gehören die hohe Prävalenz bei Afroamerikanern (Falkner et al., 1991), eine ansteigende Prävalenz mit zunehmendem Alter (Weinberger et al., 1991), ein unterdrücktes Kallikrein-Kinin-System (Ferri et al., 1994) und eine übermäßige Aktivität von Vasopressin (Bakris et al., 1997). Die Assoziation mit dem Geschlecht (Kojima et al., 1992), einem hyperaktiven sympathischen System, einem hypoaktiven dopaminergen System (Gill et al., 1991), Übergewicht und Insulinresistenz werden kontrovers diskutiert. Das könnte darauf deuten, dass die Salzabhängigkeit des Bluthochdrucks nicht nur einem Phänotypen entspricht (Elijovich et al., 2002).

Trotz intensiver Forschung ist bis heute keine zusammenfassende endgültige Antwort auf die komplexe Frage der Hauptgründe der Salzsensibilität gefunden worden.

1.4 Endothelinsystem

Im Jahre 1985 wurde erstmals ein Peptid postuliert, das aus einem Kulturmedium aus aortalen Endothelzellen des Schweins gewonnen wurde und nach anfänglicher Dilatation eine außergewöhnlich starke gefäßverengende Wirkung besaß (Hickey et al., 1985). Dieser Effekt ließ sich durch keinen der bekannten vasokonstriktorisches Mediatoren erklären. Drei Jahre später konnte die Peptidstruktur sequenziert werden (Yanagisawa et al., 1988). Das nach seinem Ursprungsort Endothelin genannte Peptid besteht aus 21 Aminosäuren mit zwei intramolekularen Disulfidbrücken. Durch intensive Suche konnten zwei weitere Isoformen des menschlichen Endothelins entdeckt werden, die als Endothelin-2 (ET-2) und Endothelin-3 (ET-3) bezeichnet werden (Inoue et al., 1989). ET-2 unterscheidet sich von dem zuerst entdeckten ET-1 in zwei Aminosäuren, ET-3 weist an sechs Positionen eine unterschiedliche Sequenz auf, alle drei besitzen durch Disulfidbrücken eine typische Haarnadelform (Abb. 1). ET-1 ist die bedeutendste Isoform im Hinblick auf die vasokonstriktorisches Potenz.

1.4.1 Biosynthese des Endothelins

Einem häufigen biologischen Prinzip folgend, wird das ET-1 aus einer weitgehend inaktiven Vorstufe generiert. Das Vorläuferprotein des ET-1 wird als Prepro-Endothelin bezeichnet und besteht aus 203 Aminosäuren. Durch Entfernung des Signalpeptids sowie weitere Spaltungen durch Peptidasen entsteht Big-Endothelin. Diese Kette aus 38 Aminosäuren wird durch eine Metalloendopeptidase, dem Endothelin-Konversionsenzym (ECE) zum biologisch aktiven ET-1 umgesetzt (Ahn et al., 1992). Die Abspaltung des 19 Aminosäuren enthaltenden Rests erfolgt zwischen Trp²¹-Val²². Die Entstehung der ET-1 Isoformen wird vergleichbar aus größeren Vorläuferproteinen generiert.

Das ECE hat durch die Bildung des biologisch aktiven Proteins im letzten Schritt eine entscheidende Bedeutung als Schlüsselenzym. Drei Isoformen vom ECE sind mittlerweile bekannt, die sich vor allem in ihrer Lokalisation unterscheiden. Das ECE-1 ist membrangebunden und setzt nur extrazelluläres Big-Endothelin 1 um, sein pH-Optimum liegt bei 7,0. Es setzt sich zusammen aus einer einzelnen transmembranären Region mit einem kurzen C-terminalen zytoplasmatischen Teil und einer langen N-terminalen Region, der katalytischen Domäne des Enzyms. Das andere Konversionsenzym, ECE-2, ist überwiegend intrazellulär im Golgi-Apparat lokalisiert und spaltet dort endogenes Big-Endothelin. Sein pH-Optimum liegt mit 5,5 im sauren Bereich. Die Aminosäuresequenzen beider Peptidasen sind zu 59% identisch. ECE-1 hat jedoch eine höhere Affinität zu ET-1 und damit die höhere Konversionsrate als die Isoform ECE-2 (Xu et al., 1994, Valdaire et al., 1995, Emoto et al., 1995). Ein als ECE-3 bezeichnetes Enzym wurde aus der bovinen Iris extrahiert und ist bisher nur auf Proteinebene charakterisiert worden. Seine Affinität zu ET-3 ist höher als zu ET-1, bei einem pH-Optimum von 6,6 (Hasegawa et al., 1998). Die genaue Regulation dieser Peptidasen ist noch nicht vollständig geklärt.

Neben dem Endothel konnten auch Lunge, Leber, Niere und Nervensystem als Bildungsstätten des Endothelins identifiziert werden (Lee et al., 1990, Lüscher et al., 1993). Die Synthespezifität der Endothelinpeptide einzelner Organe unterscheidet sich voneinander. ET-2 wird hauptsächlich im intestinalen Epithel exprimiert. Nervensystem, Hypophyse und Darm sind die Synthesegewebe für ET-3. Das Endothel stellt den Hauptbildungsort für das erstentdeckte ET-1 dar (Yanagisawa et al., 1988, Matsumoto et al., 1989). Innerhalb der Niere sind ebenfalls Expressionsunterschiede bekannt. So sezerniert das renale Endothel ausschließlich ET-1 (Marsden et al., 1991) während ET-3 vornehmlich im inneren medullären Sammelrohr exprimiert wird.

Derzeit kennt man zwei Klassen von Endopeptidasen die das zirkulierende ET-1 abbauen, ein Enzym mit neutralem- das andere mit saurem pH-Optimum. Hauptort der Spaltung ist die Lunge, aber auch in Leber und Nieren findet der Abbau statt (Simon et al., 1993).

Die Freisetzung des ET-1 wird durch eine Reihe heterogener Faktoren ausgelöst: durch die vasoaktiven Substanzen Adrenalin, Angiotensin II (ANG II), Vasopressin und Bradykinin, durch Zytokine wie Tumornekrosefaktor und Interleukin-1, durch

Hormone z.B. Erythropoietin, durch das Enzym Thrombin, durch Pharmaka wie Glukokortikoide und Kontrastmittel sowie mechanische Scherkräfte und Hypoxie (Ito et al., 1993, Kourembanas et al., 1991). ANG II erhöht die renale und vaskuläre Synthese von ET-1 und stimuliert die ECE-Aktivität vermittelt durch den ET_A-Rezeptor in vivo. Die durch ANG II stimulierte ET-1 Expression kann durch ET_A-Blockade gehemmt werden (Barton et al., 1997). Außerdem können Endotheline ihre eigene Freisetzung im Sinne eines positiven Feedbackmechanismus stimulieren (Lüscher et al., 1993). Die ET-1 Transkription wird u.a. durch den redox-sensiblen Transkriptionsfaktor nuclear factor-κB (NF-κB) kontrolliert.

Eine Hemmung der ET-Sekretion wurde für das atriale natriuretische Peptid, Hyperosmolarität und Stickstoffmonoxid (NO) nachgewiesen (Kohan 2000). ET-1 stimuliert die NO-Synthese über den Endothelin B (ET_B)-Rezeptor und komplettiert damit den negativen Feedbackmechanismus.

Abgesehen von der ausgeprägten Vasoaktivität spielt Endothelin eine Rolle bei der Regulation des Salz- und Wasserhaushaltes. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass sich bei Ratten und Mäusen mit defizientem ET_B-Rezeptor als Antwort auf eine hochdosierte Salzgabe mit Desoxycorticosteronacetat (DOCA) ein salzabhängiger Bluthochdruck entwickelt (Ohuchi et al., 2000). Diese Daten, ebenso wie in vitro Studien (Gilmore et al., 2001, Galleo et al., 1996) lassen vermuten, dass ET-1 in der Lage ist, über seine Wirkung am ET_B-Rezeptor den Blutdruck während einer Salzbelastung im Normbereich zu halten.

Die Bindung von ET-1 in picomolaren Mengen hemmt die Aktivität des amilorid-sensitiven epithelialen Natriumkanals (ENaC) im kortikalen Sammelrohr. Das führt zu einer geringeren Na⁺-Rückresorption. Diese Hemmung konnte durch ET_B-Rezeptoragonisten nachgeahmt und durch ET_B-Rezeptorantagonisten, nicht aber durch Endothelin A (ET_A)-Rezeptorantagonisten verhindert werden. Der ET_A-Rezeptor scheint durch die Reabsorption von Na⁺ durch den aktivierten ENaC zur Entwicklung des salzabhängigen Bluthochdrucks beizutragen (Ohuchi et al., 2000). Der ET_B-Rezeptor vermittelt damit eine natriuretische, das extrazelluläre Volumen verringernde Wirkung. ET-1 reguliert dosisabhängig den ENaC im distalen Nephron (Gallego et al., 1996). Folglich könnte die selektive ET_A-Rezeptorblockade nicht nur durch die Hemmung der Vasokonstriktion und den proliferativen Eigenschaften des

ET-1 bei der Behandlung der Hypertonie wirken, sondern auch durch den Einfluss des Endothelins auf den Salzhaushalt den Blutdruck normalisieren (Schiffrin, 1999).

1.4.2 Endothelinrezeptoren

Endotheline entfalten ihre Wirkung über die beiden Endothelinrezeptor-Subtypen A und B. Der ET_A-Rezeptor wurde 1990 von Arai et al. beim Rind beschrieben, der ET_B-Rezeptor von Sakurai et al. bei der Ratte. Kurze Zeit später konnten die humanen Rezeptorsequenzen charakterisiert werden (Hosoda et al., 1992). Es wird angenommen, dass beide Endothelinrezeptoren sowohl gegensätzliche als auch synergistische Effekte vermitteln. Beide gehören zur Familie der G-Proteingekoppelten Rezeptoren und bestehen aus einer N-terminalen Region im Extrazellularraum und sieben transmembranären Domänen, die durch jeweils drei Schleifen im Extra- und Intrazellularraum verbunden sind. Der C-Terminus befindet sich im Zytoplasma und zeigt die größten Unterschiede in der Aminosäuresequenz beider Rezeptoren, die insgesamt eine 50%ige Homologie aufweisen (Hoscha et al., 1992). Warner et al. postulierten bereits 1993 die Existenz zumindest eines weiteren Endothelinrezeptorsubtyps. Schließlich konnte im Herzen von *Xenopus laevis*, dem afrikanischen Krallenfrosch, ein weiterer als ET_C bezeichneter Subtyp identifiziert werden (Kuma et al., 1994). Da er bei Säugetieren bisher noch nicht nachgewiesen werden konnte, wäre allerdings eine Speziesvariante der bekannten Rezeptoren möglich.

Der ET_A-Rezeptor wird konstitutiv auf glatten Gefäßmuskelzellen der großen und kleinen arteriellen Blutgefäße exprimiert (Hori et al., 1992). Dort vermittelt der ET_A-Rezeptor Kontraktion. Das ET-1 weist eine besonders hohe Affinität zu diesem Rezeptor auf, während alle drei Endothelinisoformen eine vergleichbare Affinität zum ET_B-Rezeptor besitzen. Dieser befindet sich sowohl am Endothel, wo er durch die Freisetzung von NO und Prostacyclin Vasodilatation vermittelt, als auch an den glatten Muskelzellen der Gefäße, wo er für die Vasokonstriktion verantwortlich ist. Dies legt eine Unterscheidung des ET_B-Rezeptors in zwei Subtypen nahe.

Die Verteilung der Rezeptoren innerhalb der Niere zeigt, dass bei der Ratte ET_A-Rezeptor-mRNA in den afferenten und efferenten Arteriolen der Glomeruli sowie in

den Vasa recta und den Aa. arcuatae exprimiert wird (Terada et al., 1992). In den Tubuli und Glomeruli der Rattenniere dominierte der ET_B-Rezeptor (Hochoer et al., 1995). Auf den Mesangiumzellen konnten beide Rezeptorsubtypen nachgewiesen werden (Tekeda et al., 1992).

Durch die Blockade des ET_B-Rezeptors verlangsamt sich der vor allem in der Lunge stattfindende Endothelinabbau (Kedzierski et al., 2001). Der ET_B-Rezeptor erhält damit eine Bedeutung als so genannter „Clearance“-Rezeptor.

Sowohl für den ET_A-Rezeptor als auch für den ET_B-Rezeptor mit Lokalisation auf den glatten Muskelzellen wurde eine G-Protein gekoppelte Aktivierung der Phospholipase C beschrieben. Die nachfolgende Bildung der beiden second messenger Inositol-1,4,5,-triphosphat und 1,2-Diacylglycerol erhöht die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration. Über eine Depolarisation der Zellmembran führt dies zu einer Änderung des Ruhepotentials der Muskelzelle und zur elektromechanischen Kopplung des kontraktile Apparats. Die Folge ist eine durch Kontraktion glatter Gefäßmuskelzellen vermittelte Vasokonstriktion mit einem starken „Pressor-Effekt“ und nachfolgendem Blutdruckanstieg (Masaki et al., 1992).

Zusätzlich vermittelt der ET_B-Rezeptor auch depressorische Wirkung, was die Annahme zweier Untertypen unterstreicht. An der abluminalen Oberfläche der Endothelzellen kommt es ET_B-rezeptorvermittelt zur Freisetzung vasodilatatorischer Substanzen aus Gefäßendothelzellen wie NO und Prostacyclin (Bottig et al., 1990).

Tabelle 1: Übersicht über die beiden Hauptendothelinrezeptoren und ihre Wirkung

Rezeptorsubtyp	Affinität	Effekte
ET _A	ET-1 > ET-2 >> ET-3	Vasokonstriktion mittels Ca ²⁺ -Freisetzung
ET _B	ET-1 ~ ET-2 ~ ET-3	Vasodilatation über NO-Freisetzung

1.4.3 Endothelinrezeptorantagonisten

Durch die Entwicklung spezifischer ET-Rezeptorantagonisten und -agonisten konnte ein wesentlicher Fortschritt in der pharmakologischen Charakterisierung der Rezeptorsubtypen erzielt werden. Die ersten gebräuchlichen Antagonisten waren Derivate der physiologischen Effektorpeptide mit unterschiedlicher intrinsischer Aktivität. Weiterentwicklungen erbrachten nicht-peptidische Antagonisten, die oral applizierbar waren und eine längere Halbwertszeit aufwiesen, (Douglas et al., 1994, D'Uscio et al., 1997). Ein Beispiel ist die Substanz Darusentan, die häufig als selektiver ET_A-Rezeptorantagonist bei in vivo Studien verwendet wird. Die peptidischen Antagonisten BQ-123 als selektiver ET_A-Rezeptorantagonist und BQ-3020 mit einer tausendfach höheren Affinität zum ET_B-Rezeptor haben sich für die Unterscheidung zwischen den Rezeptorsubtypen bei in vitro Studien bewährt (Bird et al., 1993). Die unterschiedlichen Komponenten des Endothelinsystems sind in Abb. 1 zusammengefasst.

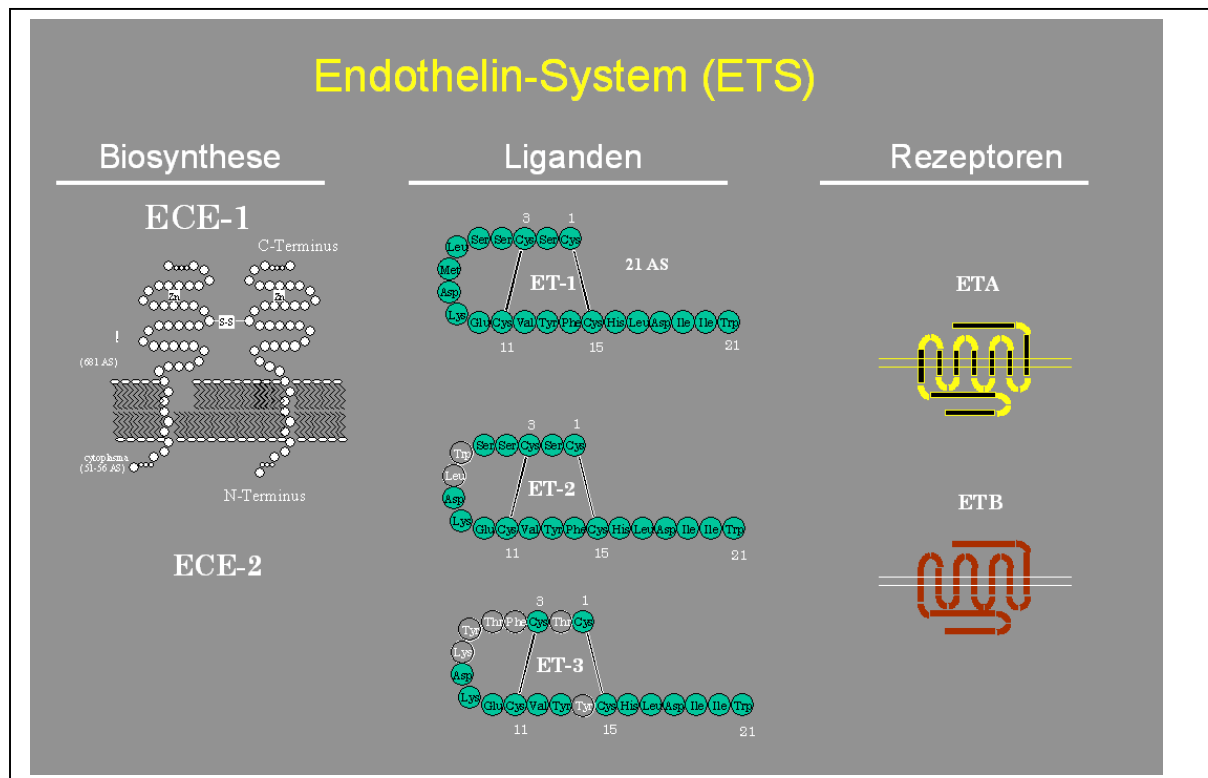


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Endothelinsystems

1.5 Endothelin und Hypertonie

Zahlreiche Untersuchungen weisen auf einen Einfluss des Endothelinsystems auf primäre und sekundäre Hypertonie hin. Erste Hinweise erhielt man durch die intravenöse Applikation von Endothelin, an welche sich ein mehrere Sekunden andauernder Blutdruckabfall gefolgt von einer mehrstündigen Drucksteigerung anschloss (Wright et al., 1988, Shiffrin et al., 1997). Die Vasodilatation zu Beginn wird auf die Aktivierung der ET_B-Rezeptoren mit nachfolgender Freisetzung gefäßrelaxierender Substanzen zurückgeführt. Die Blutdrucksteigerung ist Folge der ET_A-rezeptorvermittelten Konstriktion der Gefäßmuskelzellen. Die typische zeitliche Abfolge der Endothelinwirkung liegt in der unterschiedlichen Kinetik der second messenger Kaskade der ET-Rezeptorsubtypen begründet. An den Nierengefäßen wird die beobachtete Vasokonstriktion über ET_B-Rezeptoren ausgelöst. Das macht die Existenz eines Subtyps des ET_B-Rezeptors wahrscheinlich (Clozel et al., 1992).

1.6 Untersuchungen des Endothelin Systems in hypertensiven Tiermodellen

Die Komplexität der hypertoniebeeinflussenden Faktoren läßt einen Zusammenhang mit dem Endothelinsystem oder einer Salzbelastung oft nicht gleich erkennen oder ausschließen. So wurden Tiermodelle entwickelt, bei denen einerseits Umwelteinflüsse standardisiert und modifiziert werden konnten und bei welchen andererseits durch selektive Züchtung genetische Homogenität und definierte Phänotypen erzielt werden konnten.

Eines dieser Tiermodelle zur Untersuchung salzabhängiger Hypertonieformen ist die DOCA-Salz spontan hypertensive Ratte. Durch den unselektiven ET_A-ET_B-Endothelin-Rezeptoantagonisten Bosentan konnte bei diesen Tieren eine blutdrucksenkende Wirkung erzielt werden, darüber hinaus fand man eine Überexpression von ET-1 (Schiffrin et al., 1995). Außerdem konnten Endothelinantagonisten bei der zu Schlaganfall neigenden Ratte (SHR-SP) und der Dahl-Ratte die Blutdruckwerte verbessern (Doucet et al., 1996). Neuere Daten zeigten eine erhöhte ET-1 Expression bei uninephrektomierten, salzsensitiven SHR-SP (Rothermund et al., 2001). Nach der Behandlung mit einem ACE-Hemmer

sanken sowohl die ET-1 Expression in der Niere als auch der Blutdruck. Dies zeigte die positiven Effekte der ACE Hemmung auf die Verminderung auf ANG II und ET-1 (Rothermund et al., 2001, Largo et al., 1997).

Untersuchungen an genetisch modifizierten Mäusen, denen das ET-1 fehlt, zeigten einen niedrigeren systolischen und diastolischen Blutdruck als beim Wildtyp, obwohl die Gabe eines ET_A-Rezeptorantagonisten bei normotensiven Ratten keine Blutdruckeffekte zeigte. Außerdem konnte beobachtet werden, dass ET-1 sezernierende maligne Hämangioendotheliome zu Hypertonie führen, die sich nach Resektion der Neoplasie zurückbildete (Yokokawa et al., 1991). Bei Patienten mit Adipositas, Präeklampsie sowie maligner Hypertonie konnten erhöhte Endothelinspiegel gemessen werden (Parrinello et al., 1996). Dennoch sind die Ergebnisse hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen hohen Plasmaendothelinspiegeln und Bluthochdruck zum Teil widersprüchlich. So zeigen sich bei typischen Tiermodellen der nicht malignen Hochdruckformen und auch bei der essentiellen Hypertonie beim Menschen keine oder nur minimal erhöhte Plasmaendothelinspiegel (Lüscher et al., 1993).

1.7 Tiermodell der Sabra-Ratte

Um den Einfluss der Salzbelastung auf die Entwicklung der komplexen, polygenetischen und multifaktoriellen Erkrankung des Bluthochdrucks gezielteren Untersuchungen zugänglich zu machen, wurde 1962 erstmals ein Rattenstamm mit einer gegenüber salzinduziertem Bluthochdruck empfindlichen- (SS) und resistenten (SR) Linie etabliert (Dahl et al., 1962). Aus Tieren dieser Kolonie wurde durch weitere Inzucht ein Unterstamm selektiert (Rapp et al., 1985). Diese Entwicklung ist vergleichbar mit der des zweiten wichtigen Tierstamms für die Erforschung des salzabhängigen Bluthochdrucks, der des Sabra Tiermodells. Ben-Ishay entwickelte seit 1968 die nach Salzbelastung zum Bluthochdruck neigende SBH- und die gegenüber Bluthochdruck resistente SBN Linien des Sabra-Rattenstamms (Ben-Ishay et al., 1972, Ben-Ishay et al., 1994). Dieses viel versprechende Tiermodell wurde erneut nach strengen Selektionsmerkmalen ingezüchtet, und so ein phänotypisch und genotypisch homogener Unterstamm aus SBH/y und SBN/y-

Ratten gewonnen (Yagil et al., 1996). Um den resistenten SBN/y Stamm zu selektieren, wurden die Tiere mit niedrigem basalem Blutdruck und fehlendem Anstieg der Werte nach Salzbelastung miteinander verpaart. Die Selektionskriterien für die SBH/y Tiere waren entsprechend niedrigste basale Blutdruckwerte und stärkste hypertensive Antwort nach Salzbelastung. So konnte gewährleistet werden, dass die genetisch determinierte Hypertonie Antwort der Salzbelastung war. Eine spontane Hypertonie wurde so weitgehend ausgeschlossen. Die Blutdruckergebnisse betragen bei den SBN/y Tieren vor der Salzgabe durchschnittlich 127 ± 1 mmHg wohingegen die basalen Werte der SBH/y Ratten mit einem durchschnittlichen Blutdruck von 139 ± 1 mmHg um 12 mmHg signifikant höher waren (Yagil et al., 1996). Die Salzbelastung der Tiere wurde durch die subkutane Implantation eines 25 mg Pellet DOCA im Nacken sowie einem Salzgehalt von 1% im frei verfügbaren Trinkwasser induziert. Die nach dieser Behandlung gemessenen Blutdruckergebnisse lagen bei den SBN/y Ratten im Bereich der basalen Werte. Die salzsensitiven SBH/y Tieren entwickelten nach der Implantation des DOCA-Pellets einen signifikanten Blutdruckanstieg um 62 mmHg mit durchschnittlichen Messergebnissen von 192 ± 1 mmHg (Yagil et al., 1996). Innerhalb beider Linien konnten weder vor noch nach der Salzbelastung geschlechtsspezifische Unterschiede ermittelt werden. Bei einer kleinen Tiergruppe wurde der Blutdruck am ungestörten, voroperierten Tier direkt in der Abdominalaorta gemessen (Telemetrie) und die Werte automatisch an einen Computer gesendet. Die Genauigkeit der Messergebnisse kann so mit einer zweiten Methode bestätigt und ein stressinduzierter Bluthochdruck ausgeschlossen werden (Yagil et al., 1996).

Inzwischen konnten mittels Kopplungsanalyse Genorte ermittelt werden, die den Phänotyp des salz-abhängigen Bluthochdrucks in dem hier untersuchten Tiermodell der salzsensitiven Sabra Ratte beeinflussen. Diese mit dem salzabhängigen Hypertonus in Zusammenhang stehenden Gene bei der Sabra Ratte wurden mit den bekannten Genorten des Endothelinsystems verglichen. Die unterschiedliche Lokalisation zeigt, dass das Endothelinsystem nicht primär für die Hypertonieentwicklung beim salzsensitiven Bluthochdruck der Sabra Ratte verantwortlich ist (Yagil et al., 1998, Yagil et al., 1999).

Die reproduzierbare und ausschließlich auf die Salzbelastung zurückzuführende Blutdruckerhöhung, sowie die Homogenität der Linien machen das Sabra Tiermodell sehr geeignet für die molekularbiologische Erforschung des salzabhängigen Bluthochdrucks. Aufgrund der genannten Eigenschaften wählten wir das Sabra-Tiermodell für unsere Versuchsreihe, die zur Klärung der Fragestellung diente, ob die pharmakologische Blockade des ET_A-Rezeptors die Entwicklung der Hypertonie und die renalen Organschäden im Sabra Rattenmodell für salzabhängigen Bluthochdruck abschwächen kann.

1.8 Zielsetzung

Dieser Dissertationsarbeit liegt die Analyse folgender Fragen zugrunde:

1. Wie ist das Endothelinsystem im Tiermodell des genetisch determinierten salzsensitiven Hypertonus bei der Sabra-Ratte reguliert?
2. Hat die selektive pharmakologische ET_A-Rezeptorblockade eine antihypertensive und nephroprotektive Wirkung beim salzsensitiven Bluthochdruck im Modell der Sabra Ratte?