

1. Einleitung

1.1 Endothel und Endothelfunktion

Das gesamte Gefäßsystem ist an seiner luminalen Seite mit einer einzelligen Endothelschicht ausgekleidet. Das Endothel wurde lange als einfache Barriere angesehen, die das Blut vom Gewebe trennt. Heute gilt das Endothel als hochspezifisches Zellsystem, dessen Funktion bei der Aufrechterhaltung der vaskulären Homöostase von der Regulation des Transportes gelöster Stoffe oder Moleküle über die Antigenpresentation und die Regulation der Blutgerinnung bis hin zur Kontrolle des vaskulären Zellwachstums reicht. Eine der wichtigsten Aufgaben des Endothels ist die Modulation des Kontraktionszustandes der glatten Gefäßmuskulatur und damit die Anpassung des Gefäßdurchmessers an die hämodynamischen Gegebenheiten. Dies geschieht durch Bildung und Freisetzung vasodilatatorischer bzw. vasokonstriktorischer Substanzen auf einen humoralen oder physikalischen Stimulus hin. Dadurch kommt dem Endothel eine bedeutende Rolle bei der Aufrechterhaltung eines adäquaten Blutflusses zu (Busse, 1985; Vanhoutte, 1988; Busse und Fleming, 1993).

Nach humoraler Stimulation des Endothels, z.B. mit Agonisten wie ATP und Bradykinin, sind der biphasische Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration und die Aktivierung endothelialer Ionenkanäle von großer Bedeutung. Auf einen initialen Kalziumanstieg, der auf eine Kalziumfreisetzung aus intrazellulären Speichern zurückzuführen ist, folgt eine langanhaltende Plateauphase, die auf einem Kalziumeinstrom von extrazellulär beruht. Abhängig von der intrazellulären Kalziumkonzentrationserhöhung sind die Synthese und Freisetzung von EDRF (*endothelium derived relaxing factor*) (Adams et al., 1989). Eine mit einem Agonisten stimulierte Endothelzelle zeigt elektrophysiologisch einen großen auswärtsgerichteten Kaliumstrom, welcher zu einer Hyperpolarisierung der Zelle führt und auf die Aktivierung eines Kalzium-abhängigen Kaliumkanals zurückzuführen ist (Johns et al., 1987; Fichtner et al., 1987; Nilius, 1991; Sauv e et al., 1990; Colden-Stanfield et al., 1990; Rusko et al., 1992; Ikeuchi et al., 1995). Durch diese Zellhyperpolarisierung wird die elektrische Triebkraft f ur einen anhaltenden

Kalziumeinstrom bereitgestellt (Adams et al., 1989; Nilius, 1991). Der Kalziumeinstrom und damit die Bildung von EDRF hängen direkt von der Zellhyperpolarisierung ab (Lückhoff und Busse, 1990).

Der langanhaltende Kalziumeinstrom in die Endothelzelle wird über verschiedene Kationenkanäle ermöglicht. Dazu gehören Rezeptor-regulierte Kationenkanäle (Nilius, 1991) und Kalzium-permeable Kationenkanäle, die durch den Füllungsstatus intrazellulärer Kalziumspeicher reguliert werden (Lückhoff, 1992; Nilius, 1998; Fasolato, 1998). Die genaue Identifizierung und Charakterisierung dieser für einen Kalziumeinstrom notwendigen Kalziumkanäle konnte bisher noch nicht erbracht werden.

Zusammenfassend ist die Aktivierung von endothelialen Kalzium-permeablen Kationenkanälen und hyperpolarisierend wirkenden Kaliumkanälen von entscheidender Bedeutung für die Synthese vasoaktiver Faktoren des Endothels.

1.2 Endotheliale Vasodilatoren

Die Vasodilatoren EDRF (Stickstoffmonoxid, NO) und Prostazyklin (PGI₂) gelten unter physiologischen Bedingungen als die wichtigsten kurzlebigen Autakoide, die an der lokalen Kontrolle von Gefäßtonus und Inhibition der Thrombozytenaktivierung beteiligt sind.

Die Bildung von NO wird von einer Gruppe von Isoenzymen, den NO-Synthasen, katalysiert (Moncada, 1976; Nathan, 1993). In Abhängigkeit von Kalzium bindet eine dieser Isoformen, die konstitutive NO-Synthase der Endothelzellen, reversibel Calmodulin. Dadurch wird dieses Enzym in seine aktive Form überführt. Eine Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration führt somit zu einer Aktivierung der NO-Synthase und zu einer Steigerung der NO-Produktion. Neben diesem vorrangigen Syntheseweg ist auch eine Kalzium-unabhängige Aktivierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) durch Phosphorylierung (Dimmeler et al., 1999), *shear stress* und gesteigerte zelluläre Tyrosinphosphorylierung (Bauersachs et al., 1997) sowie durch isometrische Gefäßkontraktion (Fleming et al., 1999) beschrieben worden.

Eine Inhibition der NO-Synthese mit nicht metabolisierbaren L-Arginin-Analoga führt zu einer Erhöhung des Blutdrucks, einer Verringerung des Blutflusses und einer

Unterdrückung der endothelvermittelten Vasodilatation (Cooke et al., 1991). Eine genetische Ausschaltung des NO-Synthase-Gens über eine Knock-out-Mutation in Mäusen resultiert ebenfalls in einer Erhöhung des Blutdrucks (Huang et al., 1995).

Für die Prostazyklinsynthese ist der initiale und limitierende Schritt die Freisetzung des Substrats Arachidonsäure aus Phospholipiden der Zellmembran über die Kalzium-abhängige Phospholipase A_2 . An glatten Gefäßmuskelzellen und Thrombozyten wirkt PGI_2 über die Bindung an einen spezifischen Membranrezeptor und einer nachfolgenden Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration, die eine Vasodilatation bewirkt bzw. die Thrombozytenaktivierung unterdrückt.

Eine weitere Art der endothelvermittelten Vasodilatation beruht auf der Freisetzung eines endothelialen hyperpolarisierenden Faktors (*endothelium derived hyperpolarizing factor*, EDHF). Die Freisetzung von EDHF führt über die Aktivierung einer Kaliumleitfähigkeit zu einer Hyperpolarisierung der glatten Gefäßmuskelzellen. Dadurch werden spannungsabhängige Kalziumkanäle inaktiviert und die Kontraktion der Gefäßmuskulatur unterdrückt. EDHF ist als Substanz noch nicht exakt identifiziert bzw. charakterisiert worden. Einerseits ist gezeigt, daß es sich bei EDHF um einen diffusiblen Faktor handeln kann, für dessen Signalkaskade Zytochrom P450 eine wichtige Rolle spielt (Bolz et al., 2000). Andererseits ist eine direkte Übertragung einer endothelialen Hyperpolarisierung auf die Gefäßmuskelzelle über *gap junctions* gezeigt worden (Lüscher, 1991; Beny, 1999). Außerdem wurde postuliert, dass Kalium selbst als EDHF fungieren kann (Edwards et al., 1998).

1.3 Endotheliale Vasokonstriktoren

Endothelin-1 und Zyklooxygenaseprodukte, wie Thromboxan A_2 und das instabile Prostaglandin H_2 , werden als Vasokonstriktoren angesehen. Endothelin-1 führt als potentes vasokonstriktorisches Peptid nach einer kurzfristigen Vasodilatation zu einer langanhaltenden Vasokonstriktion. Des weiteren wirkt Endothelin-1 proliferierend in der glatten Gefäßmuskulatur - im Gegensatz zu NO und PGI_2 , die das Zellwachstum inhibieren (Lüscher et al., 1989, 1993; Busse und Fleming, 1993).

1.4 Mechanorezeption des Endothels

Die NO-Freisetzung kann nicht nur über Rezeptor-abhängige Stimuli (z.B. Bradykinin, Histamin, ATP, Acetylcholin), sondern auch Rezeptor-unabhängig über hämodynamische Kräfte, wie intravasalen Druck und Wandschubspannung (*shear stress*), erhöht werden (Bauersachs et al., 1997; Popp et al., 1998).

Es konnte gezeigt werden, daß das Endothel hämodynamische Veränderungen registriert und durch die Freisetzung vasoaktiver Substanzen den Gefäßtonus anpasst (Rubanyi et al., 1990). Erhöhte Blutflußraten gehen mit einer erhöhten Wandschubspannung, also einem erhöhten *shear stress*, einher. *In vivo* führen erhöhte Blutflußraten bei der Arteria femoralis des Hundes (Busse et al., 1985) und menschlichen Koronararterien (Nabel et al., 1990) sowie bei isolierten Koronararterien von Kaninchen (Kuo et al., 1990) zur Vasodilatation. Eine Abhängigkeit der NO-Freisetzung von der Flußrate des Perfusates konnte entsprechend an Gefäßpräparationen aus Kaninchenaorta (Griffith et al., 1990) und Kaninchenfemoralarterie (Rubanyi et al., 1986) nachgewiesen werden. An intakten Kaninchenherzen zeigte sich, daß die basale, nicht hormonell oder pharmakologisch stimulierte Freisetzung von NO in Koronargefäßen von der Blutflußrate und von der mechanischen Deformierung des Gefäßes abhängig ist (Lamontagne et al., 1992; Busse und Fleming, 1998). Zusammengefaßt kann also gesagt werden, daß die Wandschubspannung *in vivo* ein wesentlicher Stimulus für die basale NO-Freisetzung des Endothels ist.

Ebenfalls wurde in Versuchen mit pulsatilem Fluss und damit verbundenen rhythmischen Anstiegen des intravasalen Drucks und der Wandschubspannung eine gesteigerte EDHF-Synthese in Koronararterien der Ratte beobachtet (Popp et al., 1998). Am Rinderendokard konnte gezeigt werden, daß *shear stress* die endotheliale Prostazyklinausschüttung steigert (Hanada et al., 2000). Dies verdeutlicht, daß neben der NO-Sekretion auch andere Vasodilatoren in ihrer Basalausschüttung durch die Wandschubspannung moduliert werden können.

Hämodynamische Veränderungen des *shear stress* und des intravasalen Drucks, die zu einer Aktivierung der NO-Produktion führen, werden vom Endothel über Mechanismen wahrgenommen, die noch nicht vollständig aufgeklärt sind (Davies, 1997). Untersuchungen an kultivierten Endothelzellen haben gezeigt, dass diese

Zellen auf *shear stress* mit morphologischen und funktionalen Veränderungen reagieren. Es wurde eine Ausrichtung der Endothelzellen und ihrer zytoskelettalen Elemente parallel zur Strömungsrichtung sowie eine Abflachung der Zellkörper beschrieben (Dewey et al. 1981; Levesque und Nerem, 1985). Neben der Synthese und Sekretion von vasoaktiven Faktoren werden auch zelluläre Prozesse wie die Stimulierung der Proliferation und Genregulation durch *shear stress* beeinflusst (Frangos et al., 1988; Levesque et al., 1989; Sato et al., 1990; Diamond et al., 1990; Hsieh et al., 1991; Resnik et al., 1993). Diese Veränderungen treten jedoch erst nach einigen Stunden unter kontinuierlichem *shear stress* auf. Zu den sehr schnellen zellulären Antworten auf *shear stress* zählen die Zunahme der Adenylatzyklaseaktivität, der IP₃-Bildung, der Ionenleitfähigkeit und der Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration (Davies und Tripathi, 1993). Dabei kommt dem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration eine Schlüsselrolle zu, von der weitere Prozesse abhängen (Griffith et al., 1986; Lückhoff et al., 1988, 1990).

Sogenannte mechanosensitive Kationenkanäle können hierbei als endotheliale Mechanosensoren fungieren, da sie einen physikalischen Stimulus, wie intravasale Flußgeschwindigkeit oder intravasaler Druck, in ein intrazelluläres biochemisches Signal, nämlich Kalziumeinstrom, umsetzen (Davies, 1995). In den Aktivierungsmechanismus der mechanosensitiven Ionenkanäle scheinen zytoskelettale Strukturen eingebunden zu sein (Morris, 1990; Mills et al., 1994; Köhler, 1999). Es wurde videomikroskopisch gezeigt, daß das submembranöse, membrangebundene Zytoskelett durch mechanische Verformung der Zellmembran gestaucht oder gestreckt wird (Sokabe und Sachs, 1991). Aufgrund der Kopplung des Zytoskeletts mit dem Kanal kommt es zur Kanalaktivierung und über den damit verbundenen Kalziumeinstrom zur Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration.

1.5 Mechanosensitive Ionenkanäle

Mechanosensitive Ionenkanäle (*mechanosensitive channel*, MSC) wurden erstmalig an Muskelzellen des Hühnchenembryos nachgewiesen (Guharay und Sachs, 1984) und werden als Mechanosensoren für die Rezeption mechanischer Kräfte auf zellulärer Ebene angesehen.

Aufgrund ihrer unterschiedlichen Mechanosensitivität werden MSC in dehnungsaktivierte (*stretch-activated channel*, SAC), druckaktivierte (*pressure-activated channel*, PAC) und dehnungsinaktivierte Kanäle (*stretch-inactivated channel*, SIC) unterteilt.

Bei Einzelkanaluntersuchungen werden SAC durch mechanische Reizung über Anlegen eines negativen Drucks auf die Zellmembran aktiviert bzw. SIC inaktiviert. Im Unterschied dazu werden PAC durch Anlegen eines positiven Drucks auf die Zellmembran aktiviert, jedoch durch negativen Druck inaktiviert. Damit unterscheiden sich die MSC von anderen Ionenkanälen, die unempfindlich gegenüber einer mechanischen Manipulation der Membran sind. Bei dem Anlegen eines positiven bzw. negativen Drucks an die Zellmembran verändert sich die Kanalaktivität bzw. das Kanalöffnungsverhalten von MSC, ohne daß sich die Stromamplitude und die Kanalleitfähigkeit verändern.

Mechanosensitive Ionenkanäle unterschiedlicher Selektivität wurden an Spheroplasten von Bakterien und Pilzen, Protoplasten von Pflanzen sowie zahlreichen Zellen von Vertebraten und Invertebraten beschrieben (Morris, 1991). Bei Säugern wurden dehnungsaktivierte nichtselektive Kationenkanäle (SAC_{ns}) an ventrikulären Myozyten der Ratte (Craelius et al., 1988) und an Endothelzellen beschrieben (Popp et al., 1992; Hoyer et al., 1994). Dehnungsinaktivierte Kanäle wurden als nichtselektive Kalzium-permeable Kationenkanäle an Myofibrillen der Maus beobachtet (Franco und Lansmann, 1990).

Druckaktivierte Kationenkanäle (PAC) wurden erstmals an Endothelzellen von Aorta und Mesenterialarterie der Ratte nachgewiesen (Hoyer et al., 1996; Köhler et al., 1998). Es konnte gezeigt werden, daß die Kanalaktivität, gemessen als Kanaloffenwahrscheinlichkeit, mit zunehmendem Pipettendruck ansteigt.

Die genannten MSC in Säugetierzellen werden von dem dreiwertigen Lanthanid Gadolinium vollständig inhibiert.

Der molekulare Mechanismus der Aktivierung von mechanosensitiven Ionenkanälen ist nicht aufgeklärt. Eine Hypothese ist, daß MSC an submembranöse Komponenten des Zytoskeletts gekoppelt sind, die den mechanischen Stimulus von der Zellmembran auf das Kanalprotein übertragen (Morris, 1991; Davies und Tripathi, 1993; Sackin, 1995). An Nierentubuluszellen konnte eine funktionale Kopplung von

mechanosensitiven natriumselektiven Kanälen und F-Aktinkomponenten gezeigt werden (Cantiello et al., 1991; Prat et al., 1993).

1.5.1 Endotheliale dehnungsaktivierte Ionenkanäle (SAC)

Erstmals konnte ein SAC an kultivierten Endothelzellen der Schweineaorta nachgewiesen werden (Lansman et al., 1987).

Untersuchungen am intakten endokardialen Endothel zeigten einen Kalzium-permeablen SAC, dessen Öffnen durch den Kalziumeinstrom zur Aktivierung eines benachbarten Kalzium-abhängigen Kaliumkanals im gleichen Membranareal unter der Patchpipette führte (Hoyer et al., 1994). Auch in Ganzzellstrom- und Einzelkanaluntersuchungen an kultivierten vaskulären Endothelzellen des Rinds führte eine Aktivierung von SAC durch *shear stress* zu einer Koaktivierung von auswärts gerichteten Kaliumströmen (Olesen et al., 1988; Jacobs et al., 1995; Hoyer et al., 1998).

1.5.2 Endotheliale druckaktivierte Ionenkanäle (PAC)

In der eigenen Arbeitsgruppe konnte in Untersuchungen an Gefäßpräparaten mit intaktem Endothel erstmalig ein druckaktivierter Kationenkanal elektrophysiologisch identifiziert werden (Hoyer et al., 1996).

Bislang konnte dieser PAC am intakten Endothel der Aorta und der Mesenterialarterie der spontan hypertensiven Ratte (SHR) und der Wistar-Kyoto-Ratte (WKY) sowie am intakten endokardialen Endothel des Papillarmuskels der *two-kidney-one-clip*-Ratte (2K1C) nachgewiesen werden. Ebenso wurde dieser Kanal von Marchenko und Sage am intakten Endothel der Aorta von Ratten nachgewiesen (Marchenko und Sage, 1997).

Die spontan hypertensive Ratte ist ein Tiermodell mit einer genetisch determinierten Hypertonie, welche sich bei den adulten Tieren spontan ausbildet. Bei WKY-Ratten handelt es sich um Tiere des normotensiven Kontrollstamms. Die 2K1C-Ratte ist ein Tiermodell mit einer renovaskulären Hypertonie, welche durch eine operative Stenosierung einer Nierenarterie mittels eines Metallclips induziert wird.

Die Mechanosensitivität des PAC zeigte sich in einer Aktivierbarkeit des Kanals durch Anlegen eines positiven Drucks auf die Zellmembran (Hoyer et al., 1996; Köhler et al., 1998). Durch Anlegen eines Unterdrucks auf die Patchpipette und damit einhergehender Dehnung (*stretch*) der Zellmembran wurde der Kanal inaktiviert.

Nach Aktivierung des PAC konnte ein zelleinwärts gerichteter Strom durch den Kanal beobachtet werden. Die Leitfähigkeit des PAC für Kalzium betrug 4,1 pS und für Na⁺ sowie für K⁺ 21,8 pS (Köhler et al., 1998).

Der PAC konnte fast ausschließlich an intaktem Endothel von Gefäßpräparaten nachgewiesen werden. An isolierten Endothelzellen konnte nur in etwa 2% der Versuche eine Kanalaktivität gemessen werden (Hoyer et al., 1996). Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass es bei der Isolierung von Endothelzellen zu einem Funktionsverlust und zu einer Herunterregulation der zellulären Ionenkanäle kommt. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit von Patch-Clamp-Untersuchungen an intaktem Endothel.

1.6 Endothelfunktion bei Hypertonie

Eine arterielle Hypertonie, und damit eine chronische mechanische Belastung des Gefäßes, führt zu einer Schädigung sowie zu funktionellen und morphologischen Veränderungen der Gefäßwand und zum Umbau der Gefäßwand, dem sog. *remodelling*. Insbesondere eine gestörte Endothelfunktion scheint mitverantwortlich für eine pathologisch veränderte Gefäßtonuskontrolle und die Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen bei Hypertonie zu sein (Gibbons und Dzau, 1994).

Bei arterieller Hypertonie ist sowohl die humoral induzierte als auch die flußinduzierte Endothelfunktion gestört. So deutet bei hypertensiven Tieren eine verminderte NO-Freisetzung des Endothels bei humoraler Stimulation auf eine endotheliale Dysfunktion hin (Lüscher et al., 1986, 1992). Weiterhin wurde an isolierten Femoralarterien der spontan hypertensiven Ratte gezeigt, daß auch die flußinduzierte NO-Freisetzung des Endothels bei arterieller Hypertonie gestört ist (Koller und Huang, 1994). Die endothelabhängige Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur war bei hypertensiven Tieren im Vergleich zu normotensiven Tieren vermindert.

1.6.1 Mechanosensitive Ionenkanäle bei Hypertonie

In den letzten Jahren konnte von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden, daß die Funktion vaskulärer Ionenkanäle bei experimentellem Hypertonus verändert ist: So wurden gesteigerte hyperpolarisierende Kaliumströme und gesteigerte *stretch*-aktivierte Kationenströme in glatten Gefäßmuskelzellen (Qiu et al., 1998; Liu et al., 1997) und im aortalen Endothel spontan hypertensiver Ratten (Hoyer et al., 1997) beobachtet. Es wurde gezeigt, daß die Kanaldichte des PAC bei Ratten mit einer renovaskulären induzierten Hypertonie (2K1C) verglichen mit normotensiven Tieren (WKY) signifikant erhöht war (Köhler et al., 1998). Demnach scheint die Hochregulation des PAC bei diesen Tiermodellen eine Folge des Hypertonus zu sein und könnte einen gegenregulatorischen Mechanismus des Endothels darstellen, da der verstärkte Kalziumeinstrom durch den Kanal die Kalzium-abhängige Synthese vasodilatierender Faktoren steigern könnte.

Ebenso konnte in der eigenen Arbeitsgruppe gezeigt werden, daß eine gesteigerte Kanalfunktion des PAC im Endothel adulter spontan hypertensiver Ratten mit manifestem Bluthochdruck verglichen mit jungen SHR mit noch normalem Blutdruck einem Anpassungsprozess des Endothels an veränderte hämodynamische Gegebenheiten entspricht (Hoyer et al., 1996).

1.7 Das Sabra-Tiermodell mit experimenteller Hypertonie

Das Sabra-Modell gilt als Tiermodell mit einer genetisch determinierten Salz-sensitiven Hypertonie und wurde von C. Yagil und Y. Yagil gezüchtet (Yagil et al., 1985, 1996, 1998). Die Sabrastämme werden eingeteilt in salz-resistente (SBN/y) und salz-sensitive (SBH/y) Ratten.

Unter einer mehrwöchigen Hoch-Salzdiät, bestehend aus 1% NaCl-Trinkwasser und subkutaner Implantation eines 75 mg Desoxycorticosteron-Pellets (DOCA), entwickelt der salz-sensitive Stamm einen manifesten Hypertonus, während die salz-resistenten Tiere normotensiv bleiben.

Das besondere an diesem experimentellen Hypertoniemodell ist, daß weder SBH/y noch SBN/y unter normaler Ernährung eine spontane Hypertonie entwickeln, wie sie

für das sonst häufig verwendete Modell der Dahl-Ratten mit salz-sensitiver Hypertonie beschrieben wurde (Ben-Ishay und Yagil, 1994; Yagil und Yagil, 1998). Des Weiteren wurde gezeigt, daß die Aktivität der Kalzium-abhängigen NO-Synthase des Endothels und die basale Plasmakonzentration von Nitrat bei SBH/y verglichen mit SBN/y signifikant erniedrigt sind. Dies deutet darauf hin, daß die verminderte NO-Produktion zur Entwicklung des Hypertonus bei SBH/y beiträgt (Rees et al., 1996; Lippoldt et al., 1997). Da das Öffnen des Kalzium-permeablen PAC zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration und somit zu einer Aktivierung der Kalzium-abhängigen NO-Synthase führt, könnte eine Herunterregulation des PAC bei salz-sensitiven SBH/y an der Ausbildung des Hypertonus bei diesen Tieren beteiligt sein.

1.8 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Dissertationsarbeit war es, die Regulation des druckaktivierten Kationenkanals bei der Sabra-Ratte (SBH/y und SBN/y) zu untersuchen und zu charakterisieren. Es sollte die Hypothese überprüft werden, ob der endotheliale PAC bei Sabra-Hypertonie einer veränderten Expression unterliegt und an der bei arterieller Hypertonie veränderten endothelialen Gefäßregulation beteiligt ist.

Die Ionenkanäle sollten mit der Patch-Clamp-Technik an isolierten Gefäßstreifen mit intaktem Endothel (*in situ* Endothel, das nicht beschädigt, malträtiert oder kultiviert wurde) untersucht werden.

Dazu war es erforderlich, nach folgenden Gesichtspunkten vorzugehen:

- a) Nachweis des mechanosensitiven Kanals.
- b) Untersuchung des Kanals an zwei Gefäßsystemen.
- c) Elektrophysiologische und funktionelle Charakterisierung des Kanals.
- d) Vergleichsuntersuchungen bei Hypertonie.

- ad a) Nachweis und Charakterisierung des PAC an *in situ* Endothel von Gefäßstreifen von Sabra-Ratten.
- ad b) Die Experimente sollten an Gefäßen aus zwei Gefäßgebieten erfolgen: An der Aorta, um die Ergebnisse mit der zuvor aufgrund von zahlreichen Arbeiten an Rattenaorten postulierten Hypothese einer veränderten endothelialen Vasoregulation bei hypertensiven Ratten (Rinaldi et al., 1989) in Zusammenhang zu bringen und mit bisherigen Ergebnissen der eigenen Arbeitsgruppe zu vergleichen. Weiterhin sollten wegen der Pathophysiologie der Hypertonie Widerstandsgefäße aus dem Stromgebiet der Arteria mesenterica untersucht werden, da diese Gefäße häufig für Vergleichsuntersuchungen eingesetzt werden (Lüscher, 1990).
- ad c) Untersuchung der Einzelkanalleitfähigkeit, der quantitativen Kanalfunktion gemessen als apparente Kanaldichte (Anzahl der funktionell aktiven PAC im *cell-attached Patch*), der Mechanosensitivität und der Kalziumleitfähigkeit des PAC mit der Patch-Clamp-Technik.
- ad d) Untersuchung von Kanalfunktion und Kanalregulation in Abhängigkeit von der Hypertonie in einer doppelt geblindeten Vergleichsstudie mit Sabra-Ratten, welche mit einer Hoch-Salzdiät ernährt wurden, und unbehandelten Sabra-Ratten, welche normale Nagerkost erhielten.