

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität
Tübingen
Abteilung Pharmakologie und Experimentelle Therapie
Direktor: Professor Dr. H. Oßwald

**Die Bedeutung der renalen Nerven für die
Entstehung der salz-abhängigen Hypertonie
bei Dahl-Ratten**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stephan Christoph Richter
aus
Freiburg
2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. B. Mühlbauer

2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Lang

Meinen Eltern
und
meiner Schwester

1. EINLEITUNG

1.1	Gegenstand der Arbeit	1
1.2	Bisheriger Kenntnisstand	1
1.3	Die Blutdruckregulation	3
1.3.1	Das vegetative Nervensystem	3
1.3.2	Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System	3
1.3.3	Die Niere	4
1.3.4	Die renalen Nerven	5
1.4	Struktur und Stoffwechsel von Dopamin	6
1.4.1	Neurales Dopamin	6
1.4.2	Renales Dopamin	7
1.5	Dopaminrezeptoren	7
1.5.1	Die D ₁ - und D ₂ -Rezeptor-Subfamilien	7
1.5.2	Der D ₃ -Rezeptor	9
1.6	Funktionen von Dopamin	11
1.6.1	Wirkungen im ZNS	11
1.6.2	Wirkungen in der Peripherie, insbesondere in der Niere	12
1.6.3	Dopamin und die arterielle Hypertonie	13
1.7	Fragestellung der vorliegenden Arbeit	15

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1	Tierexperimente	16
2.1.1	Versuchstiere und Tierhaltung	16
2.1.2	Die Dahl-Ratte	16
2.1.3	Denervierung	17
2.1.4	Kontrolle der Denervierung	19
2.1.5	Blutdruckmessung	19
2.1.6	Stoffwechselkäfigversuche	22

II Renale Nerven und Hypertonie

2.2	Verwendete Liganden am Dopamin-D ₃ -Rezeptor	23
2.3	Analytik	24
2.3.1	Elektrolyte im Urin	24
2.3.2	Absolute Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin	24
2.3.3	Bestimmung des Noradrenalingehalts im Nierengewebe durch HPLC	24
2.4	Statistische Auswertung	26

3. ERGEBNISSE

3.1	Blutdruckmessungen	28
3.1.1	Scheinoperierte und denervierte SD-Tiere	29
3.1.2	SD-Tiere unter Dopamin-D ₃ -Rezeptor-Antagonisten	30
3.1.3	Scheinoperierte und denervierte salz-resistente Dahl-Tiere (DR)	32
3.1.4	Scheinoperierte, denervierte oder mit einem Dopamin-D ₃ -Rezeptor-Antagonisten vorbehandelte salz-sensitive Dahl-Tiere (DS)	33
3.2	Stoffwechselläufigversuche	34
3.2.1	Scheinoperierte und denervierte SD-Tiere	35
3.2.2	SD-Tiere unter Dopamin-D ₃ -Rezeptor-Antagonisten	37
3.2.3	Scheinoperierte und denervierte salz-resistente Dahl-Tiere (DR)	39
3.3	Kontrolle der Denervierung	40

4. DISKUSSION

4.1	Einführung, Arbeitshypothese und experimenteller Ansatz	41
4.2	Aufbau und Funktionsweise der Niere	44
4.2.1	Das Gefäßsystem der Niere	44
4.2.2	Das Tubulussystem der Niere	48
4.2.3	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System	53
4.3	Dopamin und die Niere	56

4.4	Noradrenalin und das sympathische Nervensystem	63
4.5	Schlussfolgerungen	66
5.	ZUSAMMENFASSUNG	68
6.	ANHANG	
6.1	Literaturverzeichnis	70
6.2	Tabellen	80
6.3	Danksagung	82
6.4	Lebenslauf	83

1. EINLEITUNG

1.1 Gegenstand der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wird die Bedeutung der renalen Nerven für die Entstehung und Aufrechterhaltung der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie untersucht. Da die Funktion des Dopamin-D₃-Rezeptors mit der intakten renalen Innervation zusammen hängen soll, wird die Bedeutung dieses Rezeptor-Systems für die arterielle Hypertonie in die Überlegungen einbezogen.

Die Experimente (Blutdruckmessungen, Stoffwechselläufigversuche) wurden an Tieren des salz-resistenten sowie des salz-sensitiven Dahl-Stammes durchgeführt, welche ein Modell der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie darstellen. Ergänzend wurden weitere Versuche mit normalen Sprague-Dawley-Ratten vorgenommen.

1.2 Bisheriger Kenntnisstand

Das Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC) hat in seinem jüngsten Bericht die Grenzen der arteriellen Hypertonie bei einem Blutdruck von 140/90 mmHg festgelegt (o.V. 1997). Um den ständig wachsenden Erkenntnissen über die gesundheitlichen Folgen der arteriellen Hypertonie Rechnung zu tragen, wurde dieser Schwellenwert in den letzten Jahren kontinuierlich gesenkt.

Nur in etwa 5-8% der Fälle ist es möglich, eine kausale Ursache für die arterielle Hypertonie auszumachen. Zu den sogenannten sekundären Hypertonieformen gehören z. B. die endokrine, die medikamenteninduzierte, die renovaskuläre Hypertonie sowie zahlreiche andere Hypertonieformen. Ist eine zugrundeliegende Ursache für die Entstehung einer Hypertonie nicht zu finden, so spricht man von

2 Renale Nerven und Hypertonie

der primären oder essentiellen Hypertonie. Je nach Lebensgewohnheiten und Lebensumständen manifestiert sich diese essentielle Hypertonie meistens ab der 3. Lebensdekade und hat in den westlichen Industrieländern eine Prävalenz von 25-30%. Betrachtet man Personen in einem Alter von 65 Jahren und darüber, so ist davon auszugehen, dass 60-70% dieser Bevölkerungsgruppe einen erhöhten Blutdruck aufweisen. Dass es sich bei der arteriellen Hypertonie nicht um eine banale Erkrankung handelt ist daraus ersichtlich, dass heute etwa 20% der Hypertoniker an kardiovaskulären oder zerebrovaskulären Komplikationen sterben.

Man nimmt an, dass hereditäre Faktoren zur Entstehung der essentiellen Hypertonie prädisponieren. Andererseits spielen auch erworbene Faktoren eine Rolle, z. B. Rauchen, Stress, physische Aktivität und die Ernährung. Bei der Ernährung spielt auch das Kochsalz eine Rolle. Es wurde festgestellt, dass ein gewisser Teil der essentiellen Hypertoniker an der sogenannten salz-abhängigen Hypertonie leidet. Diese wird stark durch die Kochsalzaufnahme beeinflusst und bessert sich bei einer verminderten alimentären Kochsalzzufuhr. In Studien wurden Patienten je nach ihrem Kochsalzhaushalt in salz-resistente und salz-sensitive Individuen aufgeteilt (Kawasaki et al. 1978). Es stellte sich heraus, dass salz-sensitive Probanden auf eine vermehrte Kochsalzaufnahme mit einer Natriumretention und somit einer Vergrößerung des Extrazellulärvolumens (EZV) reagierten, während die salz-resistenten Probanden dieses Phänomen nicht zeigten (Skrabal et al. 1984).

An der Regulation des Blutdrucks sind viele Systeme des Organismus beteiligt. Zu nennen sind hier das Herzkreislaufsystem mit seinen zahlreichen vasoaktiven Substanzen, das vegetative Nervensystem, die Nebennierenrindenhormone sowie einige andere humorale Faktoren. Eine zentrale Rolle spielt allerdings die Niere, die über die Beeinflussung des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes entscheidend in die Blutdruckregulation eingreift. Über all diese Mechanismen werden das

Herzzeitvolumen (HZV) und der totale periphere Widerstand (TPR) geregelt. Als Produkt dieser beiden Größen ist der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) definiert:

$$\text{MAP} = \text{HZV} \times \text{TPR}$$

1.3 Die Blutdruckregulation

1.3.1 Das vegetative Nervensystem

Kurzfristige Änderungen des arteriellen Blutdrucks (z. B. beim Aufstehen aus dem Sitzen/Liegen) werden von Baro- und Chemorezeptoren im Gefäßsystem registriert. Diese lösen, vermittelt durch das zentrale Nervensystem und vegetative Bahnen, die Anpassung des HZV und des TPR aus, um den geänderten Anforderungen an das Kreislaufsystem gerecht zu werden. Dieser Vorgang dauert nur wenige Sekunden. Registrieren die Barorezeptoren über einen längeren Zeitraum erhöhte Blutdruckwerte, kann es zu einer Verschiebung des von den Rezeptoren als normal erkannten Blutdrucks kommen, so dass über diese Reflexbahn ein erhöhter Blutdruck aufrechterhalten und fixiert wird (sog. Sollwertverstellung).

1.3.2 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Mittelfristig greift das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) in die Blutdruckregulation ein (Guyton 1991). Die Peptidase Renin wird in den juxtaglomerulären Zellen der Niere synthetisiert, dort gespeichert und unter bestimmten Bedingungen in das Gefäßsystem freigesetzt. Bei den juxtaglomerulären Zellen handelt es sich um spezialisierte glatte Muskelzellen der afferenten Arteriolen, die sich in unmittelbarer Nähe der Glomerula befinden. Die Freisetzung des Renins aus diesen Zellen wird durch den hydrostatischen Druck, die Natriumionenkonzen-

tration im distalen Tubulus (gemessen durch die benachbarte Macula densa), das sympathische Nervensystem durch sowie humorale Faktoren (z. B. Angiotensin II, Katecholamine, Steroidhormone, etc.) gesteuert. Renin spaltet aus dem Protein Angiotensinogen das Dekapeptid Angiotensin I ab. Dieses ist das Substrat des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE), welches erneut zwei Aminosäuren abtrennt. Schließlich entsteht Angiotensin II, der eigentliche Effektor dieses Systems. Angiotensin II verursacht hämodynamische Veränderungen in der Niere sowie im übrigen Kreislauf, es löst zentralnervös Durst und Salzappetit aus und stimuliert die Bildung von Aldosteron, welches den Elektrolyt- und Wasserhaushalt beeinflusst. Bei Patienten mit essentieller Hypertonie sind oft pathologische Änderungen des RAAS zu sehen, wobei sowohl erhöhte als auch erniedrigte Plasma-Renin-Aktivitäten (PRA) gemessen wurden (Krämer 1998).

1.3 Die Niere

Die langfristige Regulation des Blutdrucks über mehrere Stunden bis Tage erfolgt durch die Niere. Dort wird über die renale Ausscheidung bzw. Retention von Natrium und Wasser das Extrazellulärvolumen beeinflusst. Gesteuert wird die Funktion der Niere über zahlreiche humorale Faktoren sowie über die renalen Nerven. Das Kidney-Fluid-System beschreibt den Zusammenhang zwischen arteriellem Blutdruck (Mitteldruck) und der Salz- und Wasserausscheidung bzw. Bilanzierung durch die Niere (Guyton 1991). Bei erhöhtem Blutdruck wird von den Nieren automatisch mehr Natrium und Wasser ausgeschieden. Daraus resultiert ein vermindertes zirkulierendes Blutvolumen, das HZV und somit der arterielle Blutdruck sinken. Bei zu niedrigem Blutdruck ist die Filtrationsleistung der Nieren geringer, es wird weniger Natrium und Wasser ausgeschieden, das Blutvolumen steigt und bedingt ein vergrößertes HZV und somit einen höheren arteriellen Blutdruck. Aus diesem Zusammenhang wird auch ersichtlich, dass bereits eine geringe Abweichung in diesem System über längere Zeit einen erheblichen Einfluss auf den Blutdruck haben kann.

Am Anfang einer arteriellen Hypertonie steht häufig ein erhöhtes Herzzeitvolumen, bedingt z. B. durch vegetative Überstimulation bei Stress (Volumenhochdruck). Um die Hyperperfusion der Körperorgane zu unterbinden, steigt dann gegenregulatorisch der totale periphere Widerstand an, es kommt zu einem Widerstandshochdruck, der außerdem durch den Elastizitätsverlust der Arterien bei Arteriosklerose begünstigt wird.

1.3.4 Die renalen Nerven

Wie bereits erwähnt, spielen die renalen Nerven bei der Regulation der Nierenfunktion eine erhebliche Rolle. Aus diesem Grund ist es von Interesse, den Einfluss der die Nieren versorgenden Nerven auf die Entstehung der arteriellen Hypertonie zu untersuchen.

Für die experimentelle Forschung der arteriellen Hypertonie stehen zahlreiche Tierspezies zur Verfügung, welche unter verschiedenen Bedingungen eine Hypertonie entwickeln. In verschiedenen Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Entwicklung der arteriellen Hypertonie bei vielen dieser Modelle, sowohl der salz-induzierten als auch der salz-unabhängigen, durch die Unterbrechung der renalen Nerven (renale Denervierung) verzögert oder gar verhindert werden kann (Katholi et al. 1980; Kline et al. 1978; Nagaoka & Kakihana 1982; Norman, Jr. & Dzielak 1982; Weinstock et al. 1996). Bei diesen Hypertonieformen scheinen die renalen Nerven eine pathogenetisch entscheidende Rolle zu spielen. Im Gegensatz dazu hat die renale Denervierung jedoch keinen Einfluss auf die Entwicklung der Hypertonie der salz-sensitiven Dahl-Ratte (Wyss et al. 1987).

Seit kurzem wird bei Dahl-Tieren ein Defekt im renalen Dopamin-System vermutet (Hansell 1995), der sowohl auf der Ebene der Genexpression der Rezeptoren, des Dopamin-Metabolismus als auch auf der Ebene der Signaltransduktion in der Zelle liegen könnte. Bei einigen Formen der experimentellen Hypertonie, aber

auch bei Formen der menschlichen Hypertonie sind Veränderungen im dopaminergen System diskutiert worden (Iimura & Shimamoto 1990; Gill, Jr. et al. 1988).

1.4 Struktur und Stoffwechsel von Dopamin

1.4.1 Neuronales Dopamin

Dopamin ist ein biogenes Amin aus der Gruppe der Katecholamine. Am Anfang seiner Biosynthese in den Varikositäten und Endigungen dopaminerger Nerven steht die Aminosäure Tyrosin, die im ersten Syntheseschritt durch die Tyrosinhydroxylase zu L-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) oxidiert wird. Diese Oxidation ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der Biosynthese (Zigmond et al. 1989). Anschließend wird L-DOPA durch die aromatische L-Amino-Acid-Decarboxylase (AADC) zu Dopamin decarboxyliert. Dopamin wird dann in Vesikeln gespeichert. Diese Vesikel verschmelzen nach durch Kalziumeinströme induzierter Membrandepolarisation mit der Zellmembran und geben ihren Inhalt in den synaptischen Spalt frei. Außerdem kann Dopamin weiter zu Noradrenalin und Adrenalin metabolisiert werden, welche dann ebenfalls in Vesikeln gespeichert werden. Einmal in den synaptischen Spalt gelangt, wird Dopamin von der Catechol-O-Methyl-Transferase (COMT) abgebaut. Alternativ kann es aber auch durch einen Natrium-gekoppelten Cotransporter in das Neuron wieder aufgenommen werden. Intrazellulär wird es dann entweder in Vesikeln gespeichert und somit erneut verwendet oder durch die Monoamin-Oxidase (MAO) inaktiviert. Stoffwechselendprodukt nach enzymatischem Abbau ist schließlich die Homovanillinmandelsäure, welche über das Blut zu den Nieren transportiert und von dort mit dem Urin ausgeschieden wird (Kopin 1972).

1.4.2 Renales Dopamin

Dopamin kann auf drei verschiedenen Wegen in die Niere gelangen, um dort seine Wirkungen zu entfalten. Zum einen kann es direkt mit dem Blut in die Niere gelangen, wo es im Gefäßsystem und nach glomerulärer Filtration auch im Tubulussystem wirksam werden kann. Diese Möglichkeit ist jedoch sehr fraglich, da die so erzielten Konzentrationen am Wirkort viel zu gering erscheinen (Da Prada & Zürcher 1976).

Zum anderen kann Dopamin aus dopaminergen Nervenendigungen in der Niere freigesetzt werden. Allerdings ist die Existenz solcher dopaminergener Neurone und deren Beteiligung an der Bereitstellung wirksamen Dopamins umstritten (Dinerstein et al. 1979; DiBona & Kopp 1997) und soll unter anderem in dieser Arbeit diskutiert werden.

Schließlich wird L-DOPA, welches mit dem Blut in die Niere gelangt und in das Tubulussystem filtriert wird, über einen Natrium-Cotransporter in Zellen des proximalen Tubulus aufgenommen und dort von der AADC zu Dopamin decarboxyliert (Baines & Chan 1980). Von hier wird Dopamin sowohl über die apikale als auch die basolaterale Zellmembran sezerniert und kann über dort lokalisierte Dopamin-Rezeptoren autokrine und parakrine Wirkungen entfalten (Wang et al. 1997). Unklar sind jedoch noch immer der genaue Wirkort und die physiologische Bedeutung des renal synthetisierten Dopamins.

1.5 Dopaminrezeptoren

1.5.1 Die D₁- und D₂-Rezeptor-Subfamilien

Für das biogene Amin Dopamin existiert ein eigenes spezifisches Rezeptorsystem. Hinsichtlich ihrer Signaltransduktion, d. h. der Konzentrationsänderung von

intrazellulärem cAMP nach Rezeptorstimulation, wurden die Dopamin-Rezeptoren des Gehirns ursprünglich in D₁- und D₂-Rezeptoren unterteilt. Die D₁-Rezeptoren aktivieren über ein stimulierendes G_s-Protein die Adenylatzyklase wobei die D₂-Rezeptoren diese über ein inhibitorisches G_i-Protein hemmen (Kebabian & Calne 1979).

Um die peripheren von den zentralen Dopamin-Rezeptoren zu unterscheiden, wurde für diese Rezeptoren eine eigene Nomenklatur eingeführt. Die peripheren Dopamin-Rezeptoren wurden zunächst mit DA₁ und DA₂ bezeichnet (Goldberg et al. 1978). Da sich die zentralen und die peripher lokalisierten Dopamin-Rezeptoren jedoch in ihrer Funktionsweise und ihren pharmakologischen Eigenschaften weitgehend zu gleichen scheinen, wurde die gesonderte Nomenklatur der peripheren Rezeptoren zugunsten der nun alle Rezeptoren umfassenden ursprünglichen Nomenklatur wieder verlassen (Nash et al. 1993; Andersen et al. 1990).

Im Laufe der Zeit ist es gelungen, die Dopamin-Rezeptoren mittels molekularbiologischer Methoden und mit Hilfe spezifischer Liganden weiter zu differenzieren. Bis heute sind beim Säuger drei zusätzliche Dopamin-Rezeptor-Subtypen kloniert worden, der D₃-, D₄- und der D₅-Rezeptor (Sokoloff et al. 1990; Van Tol et al. 1991; Sunahara et al. 1991). Diese wurden anhand ihrer Ähnlichkeiten bezüglich molekularer Struktur und pharmakologischer sowie biochemischer Eigenschaften in zwei Rezeptor-Familien eingeteilt, die D₁- und die D₂-Subfamilie.

Der D₁-Subfamilie gehören zwei Rezeptoren an, der D₁- und der D₅-Rezeptor. Beide Rezeptoren sind überwiegend postsynaptisch lokalisiert und aktivieren über ein stimulierendes G_s-Protein eine cAMP-abhängige Proteinkinase (Zhou et al. 1990). Diese Proteinkinase hemmt z.B. in proximalen Tubuluszellen der Niere den apikalen Na⁺/H⁺-Austauscher. Über einen anderen Mechanismus vermag der D₁-Rezeptor außerdem die basolaterale Na⁺/K⁺-ATPase in proximalen Tubuluszellen zu hemmen. Vermittelt wird dies durch die Stimulation der Phospholipase C und die Bildung von Diacylglycerin und Inositoltrisphosphat (Felder et al. 1989). Diese

Zusammenhänge sind allerdings bisher nur in vitro gezeigt worden. Die physiologische Bedeutung ist unklar.

Zur Familie der D₂-Rezeptoren gehören der D₂-, der D₃- und der D₄-Rezeptor, wobei für den D₂-Rezeptor die beiden Isoformen D_{2long} und D_{2short} bekannt sind (Monsma et al. 1989; Giros et al. 1989; Dal Toso et al. 1989). Die Rezeptoren der D₂-Unterfamilie sind sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisiert. Der D₂-Rezeptor ist an ein inhibitorisches G_i-Protein gekoppelt, wodurch die Adenylatzyklase in ihrer Aktivität gehemmt wird (Liu et al. 1996; Neve et al. 1989). Außerdem nimmt dieser Rezeptor über die Phospholipasen A₂ und C Einfluss auf den Arachidonsäurestoffwechsel, was die intrazelluläre Kalzium-Konzentration beeinflusst (Vallar et al. 1990). Zusätzlich wird über die Regulation von K⁺-Kanälen das Membranpotential gesteuert (Liu et al. 1996). Der D₄-Rezeptor wirkt ebenfalls über ein G_i-Protein (Chabert et al. 1994) und soll auch membranständige K⁺-Kanäle beeinflussen können (Colville et al. 1994). Die Vielzahl der beschriebenen teils übereinstimmenden, teils widersprüchlichen Befunde macht klar, dass die Signaltransduktionswege für den D₂-, D₄- und den D₃-Rezeptor (s. Abschn. 1.6.2) noch nicht befriedigend geklärt sind.

1.5.2 Der D₃-Rezeptor

Der 1990 erstmals aus dem Rattenhirn klonierte D₃-Rezeptor besteht bei Ratten aus 446 Aminosäuren (Sokoloff et al. 1992). Beim Menschen ist das Gen für den D₃-Rezeptor in der Bande q13.3 des Chromosoms 3 lokalisiert (Giros et al. 1990). Es enthält fünf Introns, beschrieben sind drei Splice-Varianten sowie eine Deletion, welche die dritte zytoplasmatische Schleife verkürzt. Dadurch besteht die funktionelle menschliche Variante dieses Rezeptors aus lediglich 400 Aminosäuren. Der D₃-Rezeptor besitzt sieben transmembranäre Segmente sowie jeweils drei extra- und intrazelluläre (zytoplasmatische) Schleifen.

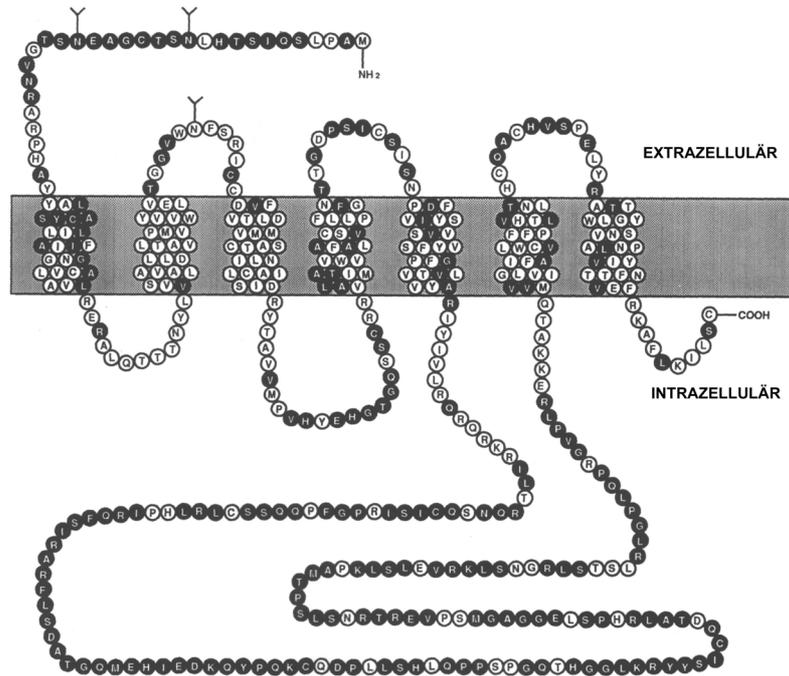


Abbildung 1: Dopamin- D_3 -Rezeptor der Ratte (Sokoloff et al. 1992)

Über die Signaltransduktion des D_3 -Rezeptors herrscht weiterhin Unklarheit. Experimente mit Hamster-Ovarialzellen, in denen D_3 -Rezeptoren vom Menschen sowie von der Ratte exprimiert wurden, ergaben, dass der menschliche D_3 -Rezeptor nur in sehr geringem Ausmaß mit dem G_i -Protein gekoppelt ist. Er kann somit die Adenylatzyklase bzw. cAMP kaum beeinflussen (Sokoloff et al. 1992). Der D_3 -Rezeptor der Ratte hatte sogar überhaupt keinen Einfluss auf dieses second-messenger System. Die Stimulation des D_3 -Rezeptors zeigte keinerlei Effekte auf die Phospholipase C und ebenfalls nur geringe Auswirkungen auf die Phospholipase A_2 .

Im ZNS kommt der D_3 -Rezeptor im limbischen System, im ventralen Tegment und in Teilen der Substantia nigra vor, dort vor allem in dopaminergen Neuronen. Die Lokalisation in diesen Neuronen hat zu der Vermutung geführt, dass es sich bei diesen Rezeptoren um präsynaptische Autorezeptoren handeln könnte, die die Transmittersynthese und -freisetzung aus Nervenenden bzw. Dendriten modulieren könnten (Sokoloff et al. 1992).

Die Suche nach D₃-Rezeptoren in der Peripherie war bis heute lediglich in der Niere erfolgreich. In anderen Organen, vor allem im Gefäßsystem sowie im Herzen, wird der D₃-Rezeptor zwar vermutet, seine Existenz konnte dort allerdings noch nicht nachgewiesen werden. Durch autoradiographische und immunhistochemische Studien konnten D₃-Rezeptoren in Zellen proximaler und distaler Tubuli der Niere sowie in Sammelrohren lokalisiert werden (Barili et al. 1997; O'Connell et al. 1998), wobei sie sich hier im apikalen Pol der Zellen befinden sollen. Außerdem konnten D₃-Rezeptoren in Abschnitten des renalen Gefäßsystems nachgewiesen werden (O'Connell et al. 1998). Hier wurden Rezeptoren in der Media und Adventitia der Gefäßwände arterieller Widerstandsgefäße gefunden. Des Weiteren stellen sich Rezeptoren in den Podozyten der Glomerula sowie in Mesangiumzellen dar (Barili et al. 1997). Innerhalb der Zellen befinden sich die Rezeptoren in den Zellmembranen und in Vesikeln, die sich von den Membranen durch Knospung lösen. Außerdem könnten die Rezeptoren auch frei im Zytoplasma vorkommen (O'Connell et al. 1998).

1.6 Funktionen von Dopamin

1.6.1 Wirkungen im ZNS

Dopamin stellt im zentralen Nervensystem den wichtigsten Transmitter aus der Gruppe der Katecholamine dar (Missale et al. 1998). Über die verschiedenen Rezeptor-Subtypen ist Dopamin an der Steuerung zahlreicher motorischer, kognitiver und emotionaler Funktionen beteiligt und beeinflusst die Synthese und Sekretion einiger Hormone. Erkrankungen, denen Dysregulationen bzw. Degenerationen dopaminerger Neurone zugrunde liegen, sind z. B. der Morbus Parkinson, die Hyperprolaktinämie und die Schizophrenie. Auch für die Entstehung von Depressionen wird ein entgleistes dopaminerges System mit verantwortlich gemacht (DiChiara, persönliche Mitteilung). Außerdem wird einigen Dopamin-Rezeptor-Systemen größere Bedeutung für die Entstehung und Aufrechterhaltung

von Suchterkrankungen (Drogenabusus) sowie für das Lernen und das Gedächtnis beigemessen.

1.6.2 Wirkungen in der Peripherie, insbesondere in der Niere

Auch in der Peripherie werden Organfunktionen durch Dopamin beeinflusst, so z. B. die Peristaltik des Gastrointestinaltraktes. Auch das kardiovaskuläre System steht unter dem Einfluss von Dopamin. Diese Wirkungen werden jeweils durch die verschiedenen Dopamin-Rezeptoren vermittelt, wobei Dopamin in höheren Konzentrationen auch β_1 - und schließlich α -Adrenorezeptoren stimulieren kann.

In der Niere umfassen die Wirkungen von Dopamin sowohl hämodynamische als auch tubuläre Effekte. Zum Schutz der Niere wird Dopamin bei Patienten im Schock eingesetzt, da durch geringe Dosen Dopamin eine Vasodilatation der Nierengefäße erreicht wird und somit die renale Hämodynamik verbessert werden kann. Es kommt zu einer Steigerung der Nierendurchblutung, die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und das Urinvolumen nehmen ebenfalls zu (Bello-Reuss et al. 1982). Allerdings haben neue klinische Studien gezeigt, dass eine Dopamintherapie in der "Nierendosis" keinen günstigen Effekt auf klinische Endpunkte (Verhinderung des akuten Nierenversagens, Reduktion der Mortalität bzw. der Notwendigkeit zur Hämodialyse) hat, so dass diese therapeutische Strategie verlassen werden sollte (Bellomo et al. 2000; Kellum & Decker 2001; Laville 2002). Trotzdem wird seit längerem über die Bedeutung von endogenem Dopamin und dessen Funktion als mögliches intrarenales natriuretisches Hormon diskutiert (Jose et al. 1992).

In Versuchen mit Probanden sowie in Tierversuchen konnte nach Salzbeladung des Organismus eine enge Korrelation zwischen der Kochsalzausscheidung und der Dopaminausscheidung mit dem Urin festgestellt werden (Goldstein et al. 1989; Alexander et al. 1974; Oates et al. 1979; Ball & Lee 1977). Es stellte sich

die Frage, ob Dopamin ursächlich mit der gesteigerten Natriurese zusammenhängt. Durch Blockade der renalen Dopamin-Biosynthese in Zellen des proximalen Tubulussystems mit Benserazid wurde sowohl die Dopamin- als auch die Natriumausscheidung mit dem Urin unter Salzbeladung abgeschwächt (Bertorello et al. 1988). Diese Erkenntnisse unterstützten die Vermutung, dass lokal produziertes Dopamin im Tubulussystem natriuretisch wirkt. Als Mechanismus für die natriuretische Wirkung stellte sich eine durch Dopamin vermittelte Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase in der basolateralen Membran proximaler Tubuluszellen heraus (Aperia et al. 1987). Gleichermaßen wird der Na^+/H^+ -Austauscher in der apikalen Membran proximaler Tubuluszellen durch Dopamin gehemmt (Gesek & Schoolwerth 1990; Felder et al. 1990a). Wie bereits erwähnt, handelt es sich hierbei jedoch lediglich um Ergebnisse aus in vitro Versuchen, deren physiologische Bedeutung noch unklar ist.

Weiterführende Versuche auf diesem Gebiet erbrachten die Erkenntnis, dass nicht die Kochsalzbeladung, sondern bestimmte Nahrungsbestandteile für eine vermehrte luminale Dopaminausscheidung verantwortlich sind (Mühlbauer & Osswald 1994; Mühlbauer et al. 1997b). Zu nennen sind hier die Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin, welche als Grundlage der Dopaminsynthese dienen (Mühlbauer et al. 1997a). Demzufolge könnte die renale Exkretion von Dopamin, welches zum größten Teil in den Tubuluszellen der Niere synthetisiert wird (Lee 1982), lediglich eine Ausscheidungsfunktion für überschüssige Katecholamine bzw. deren Vorstufen darstellen.

1.6.3 Dopamin und die arterielle Hypertonie

Obwohl schon seit einiger Zeit intensiv an der Bedeutung des Dopamins für die Nierenfunktion geforscht wird, sind die Herkunft des Dopamins, die Lokalisation und mögliche Funktion der einzelnen Dopamin-Rezeptoren und deren Interaktion sowie auch deren Wechselwirkung mit anderen Regelsystemen erst lückenhaft

bekannt. Es wird z. B. beschrieben, dass das dopaminerge System der Niere eine wichtige Funktion im Zusammenhang mit der Entstehung bestimmter Formen der arteriellen Hypertonie besitzt (Asico et al. 1998; Albrecht et al. 1996; Hussain & Lokhandwala 1998). Auch ist noch in der Diskussion, auf welcher Ebene dieses Systems mögliche Ursachen für die Pathogenese der arteriellen Hypertonie zu suchen sind, sei es im Dopaminstoffwechsel, in fehlerhaft angelegten Rezeptoren oder in deren Signalkette (Jose et al. 1992).

In Clearance-Versuchen mit verschiedenen Tierstämmen wurde gezeigt, dass durch die selektive Stimulierung der Dopamin-D₃-Rezeptoren durch 7-OH-DPAT eine dosisabhängige Steigerung des postglomerulären Gefäßwiderstandes und damit eine Steigerung der GFR verursacht wird. Zusätzlich wurde eine vermehrte Diurese und Natriurese beobachtet.

Eine Frage, die für die Dahl-Hypertonie nicht geklärt ist, ist die Bedeutung der renalen Nerven für diese Hypertonieform. In einigen Formen der experimentellen salz-induzierten (z.B. DOCA-NaCl, baroreflex-impaired rabbit) sowie der salz-unabhängigen Hypertonie (SHR, DOCA, Goldblatt, etc.) kann das Ausmaß der Hypertonie vermindert bzw. der Zeitpunkt der Hypertonieentstehung durch die Durchtrennung der renalen Nerven hinausgezögert werden (Norman, Jr. & Dzzielak 1982; Nagaoka & Kakihana 1982; Katholi et al. 1980; Kline et al. 1978; Weinstock et al. 1996). Man macht für diese Art der Hypertonieentstehung eine vermehrte sympathische Aktivität der Nierennerven verantwortlich, die zu Veränderungen der Nierenfunktion mit Salz- und Wasserretention und möglicherweise auch zur Aktivierung des RAAS mit dessen Folgen führen könnte.

Erstaunlicherweise lässt sich jedoch die Entstehung der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie bei salz-sensitiven Dahl-Tieren durch renale Denervierung nicht beeinflussen (Wyss et al. 1987). Allerdings lassen sich salz-resistente Tiere durch die Behandlung mit D₃-Antagonisten phänotypisch in salz-sensitive Tiere kon-

vertieren, bei denen sich eine salz-abhängige Hypertonie einstellt (Luippold et al. 2001).

Da für D_2 -ähnliche Rezeptoren eine sowohl prä- als auch postsynaptische Lokalisation beschrieben ist, wurde über die Bedeutung von Dopamin für die Freisetzung von Noradrenalin aus sympathischen Nervenendigungen diskutiert. Dopamin soll die Freisetzung von Noradrenalin aus postganglionären sympathischen Nerven vermindern (Rump et al. 1993b; Rump et al. 1993a), wodurch einige D_2 -ähnliche-Effekte zu erklären sein könnten.

1.7 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Zusammengenommen werfen diese Ergebnisse die Frage nach der Bedeutung der renalen Nerven für die Entwicklung der salz-induzierten Dahl-Hypertonie auf. Des Weiteren soll der Zusammenhang zwischen renaler Innervation und Funktionalität des Dopamin-Systems der Niere geklärt werden.

Im Einzelnen sind folgende Fragen zu klären:

- Lassen sich bei salz-resistenten oder salz-sensitiven Dahl-Tieren bzw. bei SD-Tieren durch renale Denervierung und Antagonisierung des Dopamin- D_3 -Rezeptors funktionelle Unterschiede hinsichtlich Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung herbeiführen?
- Lässt sich durch die renale Denervierung normaler SD-Tiere oder salz-resistenter Dahl-Tiere ähnlich wie bei salz-sensitiven Dahl-Tieren eine salz-abhängige Hypertonie auslösen?
- Ist durch die chronische Behandlung salz-sensitiver Dahl-Tiere sowie normaler SD-Tiere die Blutdruckentwicklung unter salzreicher Ernährung zu beeinflussen?

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Tierexperimente

2.1.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Alle Experimente wurden an männlichen Ratten der folgenden Stämme durchgeführt:

- Sprague-Dawley-Ratten (SD) (Charles-Rivers, Sulzfeld)
- Salz-resistente Dahl-Ratten (DR) (M&B, Ry, DK)
- Salz-sensitive Dahl-Ratten (DS) (M&B, Ry, DK)

Zum Zeitpunkt der Lieferung wiesen die Tiere ein Gewicht von 190-250 g auf und nahmen im Verlauf der Versuche auf ein Gewicht von maximal 350 g zu. Nach der Lieferung wurden die Tiere in Gruppen zu zwei bis vier Tieren in Makrodex[®]-Standardkäfigen (Fa. Ehret, Freiburg) im Tierstall des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie gehalten. Dort herrschte eine konstante Temperatur von 22,5°C und ein künstlicher Tag/Nacht-Rhythmus von jeweils zwölf Stunden. Den Tieren stand jederzeit Futter und Trinkwasser ad libitum zur Verfügung, mit Ausnahme einer zwölfstündigen Zeitspanne vor der Durchführung der Stoffwechselkäfigversuche und Denervierungsoperationen, in der sie aufgrund des Versuchsprotokolls jeweils nüchtern belassen worden sind. Als Futter wurde Standard-Nagerfutter (Altromin 1320, 0.6% NaCl, Fa. Altromin, Lage) bzw. kochsalzangereichertes Nagerfutter (Altromin 1324, 4% NaCl, Fa. Altromin, Lage) verwendet.

2.1.2 Die Dahl-Ratte

Ein Tiermodell der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie ist die Dahl-Ratte (Dahl 1961). Bereits vor 40 Jahren gelang Dahl die Züchtung zweier genetisch nahezu

identischer Rattenstämme: der salz-resistenten und der salz-sensitiven Dahl-Ratte. Ausgehend von normotensiven Blutdruckwerten unter salznormaler Ernährung ist bei den Tieren des salz-sensitiven Stammes unter salzreicher Ernährung ein deutlicher Blutdruckanstieg zu beobachten, der bei den Tieren des salz-resistenten Stammes nicht auftritt. Durch Kreuztransplantationsversuche konnte Dahl außerdem zeigen, dass der Grund für die Blutdruckentwicklung in den Nieren selbst zu suchen ist (Dahl & Heine 1975). So entwickeln salz-resistente Tiere, denen die Niere einer salz-sensitiven Ratte implantiert wurde, einen erhöhten Blutdruck. Ebenso kann bei salz-sensitiven Tieren mit implantierten Nieren salz-resistenter Tiere die Senkung eines erhöhten Blutdrucks beobachtet werden. Es ist allerdings noch nicht abschließend geklärt, worin genau der intrinsische Unterschied der salz-sensitiven Niere im Vergleich mit der salz-resistenten Niere besteht. Man weiß, dass es zu einer Retention von Natrium und damit von Flüssigkeit kommt (Bright 1836). In welchem Ausmaß hier vaskuläre, tubuläre, hormonelle oder vegetative Faktoren eine Rolle spielen, soll im Verlauf dieser Arbeit erörtert werden.

2.1.3 Denervierung

Die Tiere wurden in der Nacht vor der Denervierungsoperation nüchtern belassen. Die Narkose der Tiere wurde mit einer Kombination aus Ketamin und Xylazin durch intraperitoneale Gabe eingeleitet. Dabei wurden Ketamin (Ketamin 100 mg Curamed, Curamed Pharma, Karlsruhe) in einer Dosis von 42 mg/kg Körpergewicht und Xylazin (Rompun 2%, Bayer, Leverkusen) in der Dosis von 9 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Das Eintreten der Narkose wurde anhand des vollständigen Verlustes des Muskeltonus, eines fehlenden Kornealreflexes und fehlender Reaktionen auf Schmerzreize festgestellt. Die Narkosetiefe wurde während der Operation kontinuierlich geprüft, gegebenenfalls wurden 20% der ursprünglichen Dosis an Narkosemittel nachinjiziert.

Die Tiere wurden in Rückenlage auf einem beheizbaren OP-Tisch (Fa. Effenberger, München) gelagert. Anhand einer rektalen Temperatursonde wurde die Körpertemperatur gemessen und über einen Heiztisch im physiologischen Bereich gehalten.

Um das Eindringen von Haaren in den geöffneten Bauchraum zu verhindern, wurde das Fell mit Paraffinöl bestrichen. Dann wurde unterhalb des Processus xyphoideus ein ca. 2 cm langer Medianschnitt durch die Haut geführt. Anschließend wurde die Bauchmuskulatur entlang der Linea alba durchtrennt und, falls noch nicht geschehen, das Peritoneum eröffnet. Magen und Darmkonvolut wurden vorsichtig zur Seite gedrängt, mit feuchten Tupfern abgedeckt und mit Bauchhaken fixiert, um zunächst freien Zugang zur linken Niere zu ermöglichen. Nun wurde die linke Nierenarterie unter stereomikroskopischer Sicht (Leica Wild M 10, Heerbrugg, Schweiz) stumpf freipräpariert. Soweit sichtbar, wurden Bindegewebe und Nervenfasern vom Gefäß entfernt. Um eine vollständige Dener- vierung zu erreichen, wurde die Arterie anschließend dreimal mit Tupfern umwickelt, die mit neurotoxisch wirkender 10%iger ethanolischer Phenollösung getränkt waren. Danach wurde mit isotonischer NaCl-Lösung gespült, um das restliche Phenol aus dem Bauchraum zu entfernen. Auf der rechten Seite wurde in entsprechender Weise vorgegangen. Da dort die Nierenarterie unter der Vena cava inferior verläuft, war die Präparation hier etwas aufwändiger.

Schließlich wurden die Tupfer entfernt und der Bauchraum durch eine Peritoneal-/Muskelnaht sowie eine Hautnaht verschlossen. Für die Muskelnaht wurde Vicryl-Nahtmaterial der Stärke 3-0 (Sutopak Vicryl 3-0, Ethicon, Norderstedt) verwendet, die Haut wurde mit monofilem Nahtmaterial (Ethilon II 3-0, Ethicon, Brüssel, Belgien) verschlossen, wobei jeweils Einzelknöpfe genäht wurden. Zur Vermeidung von Kratzen und Lecken an der Wunde wurde diese im Anschluss an die Operation mit Harnstoff-Salbe bestrichen. Die Kontrolltiere wurden einer so genannten Sham-Operation unterzogen (Sham-Operation = Scheinoperation). Diese verlief in gleicher Weise, wobei aber keinerlei Manipulation an den Nieren-

gefäßsen vorgenommen wurde. Bis zum Erwachen wurden die Tiere auf einem weiteren beheizten OP-Tisch gelagert. Nach dem Einsetzen des Kornealreflexes und ersten Willkürbewegungen kamen die Tiere für weitere zwei Stunden zur Beobachtung in einen Käfig. Um sie vor Auskühlung zu schützen, stand der Käfig unter einer Wärmelampe.

2.1.4 Kontrolle der Denervierung

Um sicherzustellen, dass die Denervierung der Nieren erfolgreich durchgeführt worden war, wurden nach Abschluss der Versuchsreihen (Zeitraum von ca. 4-5 Wochen) in Narkose bei allen Tieren jeweils beide Nieren entfernt, sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und bei -80°C bis zur späteren Bestimmung des Noradrenalingewebsgehalts aufbewahrt.

2.1.5 Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessung wurde an wachen Ratten vorgenommen, wobei darauf geachtet wurde, die Messungen immer zur gleichen Tageszeit durchzuführen, um eine Beeinflussung der Messergebnisse durch zirkadiane Schwankungen auszuschließen. Damit der Einfluss der Wirkstoff-Vorbehandlung bzw. der Denervierungs- und Scheinoperationen auf den Blutdruck erfasst werden kann, wurden die Tiere ab einem Zeitpunkt von drei Tagen nach Substanzgabe bzw. Operation eine Woche lang unter normalen Ernährungsbedingungen (Futter mit normalem NaCl-Gehalt, NS) gehalten. In diesem Zeitraum wurden zwei Blutdruckmessungen (Tage 1 und 5) durchgeführt. In den ersten Tagen nach Gabe des salzreichen Futters (4% NaCl, HS) wurden täglich Blutdruckmessungen durchgeführt, um etwaige frühzeitig einsetzende Veränderungen erfassen zu können. Anschließend

wurden über einen Zeitraum von insgesamt drei Wochen weitere Messungen zur Beobachtung der langfristigen Entwicklung des Blutdrucks durchgeführt.

Für die Blutdruckmessung wurden die Ratten in größenverstellbaren Restrainern (Herstellung in der institutseigenen Werkstatt) gehalten, die eine Ruhigstellung der Tiere gewährleisten sollten. Um die Temperatur der Ratten konstant zu halten, wurden die Restraimer in einen auf 32°C geheizten Plexiglaskasten (eigene Herstellung) gestellt. Vor Versuchsbeginn wurden die Ratten mehrfach an die Situation in den Restrainern gewöhnt, um eine Verfälschung der Messwerte durch die Stresssituation (Einengung und Wärme) auf ein Mindestmaß zu reduzieren.

Den Tieren wurde jeweils eine Staumanschette (D=9,5 mm, Rhema Labortechnik, Hofheim/Ts.) und ein piezoelektrischer Pulswellensensor (D=7,0 mm, Rhema Labortechnik, Hofheim/Ts.) an die Schwanzwurzel angelegt. Sobald über den Pulswellensensor ein gleichmäßiges Signal der Schwanzarterienpulsation registriert werden konnte, wurde die Staumanschette über den Blood-Pressure-Monitor (8010, Rhema Labortechnik, Hofheim/Ts) bis zu einem eingestellten Maximaldruck aufgepumpt. Danach wurde der Druck in der Manschette kontinuierlich verringert. Der Manschettendruck, bei dem erneut Pulswellen der Schwanzarterie messbar waren, wurde als systolischer Blutdruckwert (in mm Quecksilbersäule) aufgezeichnet. Außerdem wurde die Herzfrequenz (Schläge/min) erfasst. Pro Tier wurden 3-5 Messungen durchgeführt und die Werte gemittelt. Pro Tiergruppe und Messtag wurden ebenfalls Mittelwerte gebildet und mit SEM (standard error of means) angegeben.

In Tabelle 1 sind die Versuchsgruppen, die zu diesen Versuchen herangezogen wurden, im Einzelnen erläutert:

Tabelle 1: Übersicht über die Versuchsgruppen für die Blutdruckmessungen und Stoffwechselläufigversuche (SWK)

Bezeichnung	Erläuterung
SD-SHAM (n=5)	SD-Tiere, die einer SHAM- bzw. Denervierungsoperation (DNX) unterzogen wurden. Nach 7 Tagen Normalsalz - Ernährung (NS) und Blutdruckmessungen wurde die Ernährung für 3 Wochen auf Futter mit einem NaCl-Gehalt von 4% (HS) umgestellt. Im Anschluss an die Messreihe wurden die Nieren entfernt und der Erfolg der Denervierungsoperation anhand des Noradrenalinsgehalts im Nierengewebe überprüft.
SD-DNX (n=7)	
SD-VHC (n=4)	SD-Tiere, die mit D ₃ -Rezeptor-Antagonisten im Trinkwasser vorbehandelt wurden. Die Dosierungen der Substanzen waren: BSF-135170 - 40 mg/kg/d BSF-201640 - 10 mg/kg/d Die Gruppe VHC erhielt als Kontrollgruppe wirkstoffreies Trinkwasser. Nach 7 Tagen Normalsalzer Ernährung (NS) wurde die Ernährung auf 4%ige Hochsalzer Ernährung (HS) umgestellt.
SD-BSF 135170 (n=4)	
SD-BSF 201640 (n=4)	
DR-SHAM (n=6 bzw. n=9 SWK)	Salz-resistente Dahl-Tiere, die einer SHAM- bzw. Denervierungsoperation (DNX) unterzogen wurden. Nach 7 Tagen Normalsalz-Ernährung (NS) und Blutdruckmessungen wurde die Ernährung für 3 Wochen auf Futter mit einem NaCl-Gehalt von 4% (HS) umgestellt. Im Anschluss an die Messreihe wurden die Nieren entfernt und die komplette Denervierung anhand des Noradrenalinsgehalts im Nierengewebe sichergestellt.
DR-DNX (n=11 bzw. n=9 SWK)	

Tabelle 1 (Fortsetzung): *Übersicht über die Versuchsgruppen für die Blutdruckmessungen und Stoffwechselkäfigversuche (SWK)*

Bezeichnung	Erläuterung
DS-SHAM (n=3)	Salz-sensitive Dahl-Tiere, die einer SHAM- bzw. Dener- vierungsoperation (DNX) unterzogen wurden.
DS-DNX (n=5)	Nach 7 Tagen Normalsalz-Ernährung (NS) und Blutdruck- messungen wurde die Ernährung für 3 Wochen auf Futter mit einem NaCl-Gehalt von 4% (HS) umgestellt. Im An- schluss an die Messreihe wurden die Nieren entfernt und die komplette Denervierung anhand des Noradrenalinge- halts im Nierengewebe sichergestellt.
DS-BSF 135170 (n=4)	Salz-sensitive Dahl-Tiere, die mit dem Trinkwasser einen D ₃ -Rezeptor-Antagonisten erhielten. Dosierung: BSF 135170 - 40 mg/kg/d Nach 7 Tagen Normalsalz-Ernährung (NS) und Blutdruck- messungen wurde die Ernährung für 3 Wochen auf Futter mit einem NaCl-Gehalt von 4% (HS) umgestellt.

2.1.6 Stoffwechselkäfigversuche

In der Nacht vor den Stoffwechselkäfigversuchen wurden die Tiere nüchtern belassen, um die Sondierung der Tiere zu erleichtern. Als akute Natriumbeladung wurde den Tieren 10 ml einer 3%igen Natriumchloridlösung (5,13 mmol Na) durch eine Magensonde in den Magen appliziert (Anmerkung: Die SD-HS-DNX-Gruppe erhielt aufgrund ihres durchschnittlich 10% leichteren Gewichts nur 9 ml der NaCl-Lösung, um auf das Gewicht bezogen gleiche Bedingungen für die Ausscheidung zu schaffen, siehe Tabelle 2, S. 35). Danach wurden die Tiere einzeln in Stoffwechselkäfige (Techniplast[®], Fa. Ehret, Emmendingen) gesetzt, die die separate

Gewinnung von Urin und Faeces ermöglichen. Vor und während der Versuche hatten die Tiere freien Zugang zu Trinkwasser. Nach 6 Stunden Aufenthalt in den Käfigen wurden die Trinkmenge und die Differenz des Körpergewichts bestimmt. Das Urinvolumen und die absolute Natriumausscheidung im Urin wurden getrennt nach 2 Stunden und nach weiteren 4 Stunden erhoben.

Zur Übersicht über die Versuchsgruppen für die Stoffwechselkäfigversuche siehe Tabelle 1, S. 21 f.

2.2 Verwendete Liganden am Dopamin-D₃-Rezeptor

Als Liganden am Dopamin-D₃-Rezeptor wurden in den durchgeführten Versuchen folgende Substanzen verwendet:

- **BSF 135170** (Knoll AG, Ludwigshafen): ein selektiver Antagonist am Dopamin D₃-Rezeptor, der die Blut-Hirn-Schranke nur in unwesentlichem Ausmaß passiert und daher nahezu ausschließlich peripher wirksam ist. An menschlichen embryonalen Nierenzellen wurden für diesen Antagonisten in Verdrängungsstudien mit unterschiedlichen dopaminergen Liganden die folgenden K_i-Werte ermittelt: 13 nmol/l für den D₃-Rezeptor, >2000 nmol/l für den D₁- und D₂-Rezeptor und >1000 nmol/l für den D₄-Rezeptor (Luippold et al. 2001).
- **BSF 201640** (Knoll AG, Ludwigshafen): ein selektiver Dopamin D₃-Rezeptor-Antagonist, der sowohl peripher als auch zentral wirksam ist. Für diesen wurden in kompetitiven Verdrängungsstudien mit diversen dopaminergen Liganden an embryonalen Nierenzellen vom Menschen folgende K_i-Werte ermittelt: 3 nmol/l für den D₃-Rezeptor, >2000 nmol/l für den D₁-Rezeptor, 454 nmol/l für den D_{2A}-Rezeptor, 101 nmol/l für den D_{2B}-Rezeptor sowie 2800 nmol/l für den D₄-Rezeptor (L. Unger, Knoll AG, persönliche Mitteilung).

2.3 Analytik

2.3.1 Elektrolyte im Urin

Für die flammenphotometrische Bestimmung der Elektrolyte (Na^+ , K^+) wurden jeweils Doppelproben der Urine pipettiert, wobei 10 : 1 Urin mit 2 ml Lithium-Lösung (1:100 verdünnte Lithium-Stammlösung, Fa. Eppendorf, Hamburg) verdünnt wurden. Vor den Messungen wurde das Flammenphotometer (ELEX 6361[®], Fa. Eppendorf) mit zwei Standardlösungen kalibriert. Dieser Vorgang wurde jeweils nach ca. 20 Messungen wiederholt. Bestimmt wurden die Elektrolytkonzentrationen in mmol/l, die Messwerte der Doppelproben wurden gemittelt.

2.3.2 Absolute Ausscheidung von Natrium und Kalium im Urin

Die absolute Ausscheidung von Natrium wird wie folgt berechnet:

$$U_{\text{Na}} V = [\text{Na}]_{\text{Urin}} \cdot UV$$

Dies gilt ebenso für die absolute Ausscheidung von Kalium ($U_{\text{K}}V$).

2.3.3 Bestimmung des Noradrenaliningehalts im Nierengewebe durch HPLC

Die bei den Denervierungsversuchen nach der Entnahme eingefrorenen Nieren wurden in Reagenzgläser mit 2 ml eisgekühlter Sulfosalicylsäure gegeben und mit Hilfe eines Homogenisators (Ultra-Turrax T25, Fa. Janke & Kunkel, Staufen i. Br) homogenisiert. Anschließend wurde das Gewicht der Nieren als Differenz des Gewichts des Reagenzglases incl. Sulfosalicylsäure mit und ohne Niere bestimmt. Als interner Standard wurde dem Homogenat dann 100 ng/g Nierengewicht eines DHBA-Standards (Dihydrobenzylamin) zugegeben. Der charakteristische DHBA-Peak im Chromatogramm macht später eine quantitative Auswertung der Kate-

cholaminpeaks möglich. Des Weiteren wurden 2 Proben eines Katecholaminstandards hergestellt, denen ebenfalls die entsprechenden Mengen DHBA hinzugefügt wurden. Nun wurden die Proben eine Stunde lang auf Eis gelagert, erneut gemischt und dann bei 4000 Umdrehungen/min 10 Minuten zentrifugiert (Hettich Rotanta, Fa. Hettich, Tuttlingen). Vom Überstand wurden jeweils 2 x 500 : l für Doppelproben abgenommen und in 2ml Eppendorf-Cups gegeben (Fa. Eppendorf, Hamburg). Da die Katecholaminstandards kein Nierengewebe enthielten, wurden diese direkt (d. h. ohne Zentrifugation) als Doppelproben weiterverarbeitet. Anschließend wurde in jede Probe 1 ml Tris-Puffer (pH 8,6) pipettiert und der pH-Wert der Proben mit 2 M NaOH bzw. 2 M HCL auf 8,6 eingestellt (pH-Meter Orion Research 611, Stall). Zur Adsorption der Katecholamine wurde den Proben ca. 90 mg getrocknetes Aluminiumoxid (Al_2O_3) beigefügt. Dann wurden die Proben 15 Minuten auf einem Vibrax-Schüttler (IKA-Vibrax-Schüttler VXR, Fa. Janke & Kunkel, Staufen i. Br.) gemischt, um die Katecholamine vollständig an das Aluminiumoxid zu adsorbieren. Danach wurden die Proben abzentrifugiert (Hettich Mikro 12-24, Fa. Hettich, Tuttlingen) und der Überstand verworfen. Zum Waschen wurde 1 ml Aqua bidest. hinzugegeben, erneut 5 Minuten auf dem Vibrax-Schüttler gemischt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen (1. Waschvorgang). Daraufhin wurde das Aluminiumoxid mit 2 x 500 ml Aqua bidest. in Extraktionssäulen mit Filter überführt und erneut kurz geschüttelt (2. Waschvorgang). Anschließend wurden die Säulen unten geöffnet, in Reagenzgläser gestellt und 10 Minuten bei 2500 Umdrehungen/min zentrifugiert (Hettich Rotanta). Durch das Filter im Boden der Extraktionssäulen konnte lediglich das Wasser entweichen. Das Aluminiumoxid (und somit die daran gebundenen Katecholamine) blieb in den Säulen zurück. Danach wurden 300 : l 0,1 M Phosphorsäure (H_3PO_4) hinzugegeben, wodurch die Katecholamine vom Aluminiumoxid desorbierten. Die Proben wurden nochmals 10 Minuten geschüttelt (Vibrax-Schüttler), so dass die Katecholamine vollständig in die flüssige Phase übergehen konnten, und schließlich in der Zentrifuge (Hettich Rotanta) bei 2500 Umdrehungen/min in spezielle HPLC-Vials überführt.

Als Methode zur quantitativen Katecholaminbestimmung diente die reversed phase HPLC (high performance liquid chromatography). Dabei wurde die Probe durch ein polares Fließmittel (Elutionsmittel) über eine stationäre Phase (Sorptionmittel) geführt. Zwischen dem Elutionsmittel und den Katecholaminen konnten sich Ionenpaare bilden (Ionenpaarchromatographie), während auch zwischen der stationären Phase und dem Elutionsmittel Wechselwirkungen bestanden. Charakteristisch für die einzelnen Substanzen sind die Zeiten, die sie für die Passage durch die Sorptionsphase in der Trennsäule benötigen, die so genannten Retentionszeiten. Nach Austritt aus der Säule wurden die Substanzen durch eine elektrochemische Messzelle detektiert. Anhand des Vergleichs der einzelnen Peaks mit dem DHBA-Standard-Peak konnte der Gehalt an Katecholaminen quantifiziert und in ng/ml angegeben werden.

Das verwendete HPLC-System setzte sich aus einem automatisierten Probengeber (Gina 160, Gynkotek, München), einer Hochdruckpumpe (S1100[®], Fa. Sykam, Gilching), einer C 18 reversed-phase Trennsäule (Nucleosil 5 : m[®], 125x4 mm, Fa. Grom, Herrenberg), einer Messzelle sowie einem elektrochemischen Detektor (EP30[®], Fa. Biometra, Göttingen) zusammen. Gesteuert wurde die Anlage durch die Software Axxi-Chrom 737[®] (Fa. Axxiom Chromatography, Calabasas, USA) Das Laufmittel setzte sich aus 11.36 g/l Trinatriumcitratdihydrat, 1.97 g/l Citronensäuremonohydrat, 0.15 g/l Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), 0.3g/l Octansulfonsäure (Na-Salz) in Aqua bidest., welches mit 3% Methanol und 3% Acetonitril versetzt war, zusammen (alle Substanzen Fa. Merck, Darmstadt).

2.4 Statistische Auswertung

Zunächst wurden die Versuchsdaten pro Versuchstier ausgewertet und anschließend pro Gruppe als Mittelwerte \pm SEM (standard error of means) angegeben. Die Berechnungen wurden mit der Tabellenkalkulation Excel 2000 (Microsoft

Corporation, Redmont, WA, USA) durchgeführt. Die Grafiken wurden mit Figure P für Windows, Version 2.7 (Biosoft, Cambridge, UK) erstellt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm JMP, Version 4.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Die Daten wurden anhand einer multifaktoriellen Varianzanalyse ausgewertet. In die Berechnungen gingen die Gruppenzugehörigkeit und der Messtag und deren Wechselwirkungen als feste Faktoren ein. Als zufällige Faktoren gingen die Tiere, genestet in den jeweiligen Versuchsgruppen, in die Auswertung ein. Bei multiplen Vergleichen wurde das Verfahren nach Tukey verwendet.

Die Nullhypothese, dass zwei zu vergleichende Werte sich nicht unterscheiden, wurde ab einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ verworfen.

3. ERGEBNISSE

3.1 Blutdruckmessungen

Die Tiergruppen, die zu den Blutdruckmessungen herangezogen wurden, wichen hinsichtlich ihres Alters und ihres Gewichts zu Beginn der Versuche kaum von einander ab. Eine Ausnahme bildeten die SD-DNX-Tiere, die ein etwas geringeres Gewicht aufwiesen als ihre SD-Sham Kontrollgruppe. Pro Tier wurden 3-5 Messungen durchgeführt, deren Werte gemittelt wurden. Aus den Blutdruckwerten aller Tiere einer Gruppe wurden für jeden Messtag wiederum die Mittelwerte gebildet. Angegeben sind die systolischen Blutdruckwerte in Millimeter Quecksilbersäule (mmHg) \pm SEM (standard error of means). Zu den einzelnen Versuchsgruppen siehe Tabelle 1, S. 21 f, tabellarische Angabe der Messwerte siehe Tabellen 6-9, S. 80 ff).

3.1.1 Scheinoperierte und denervierte SD-Tiere

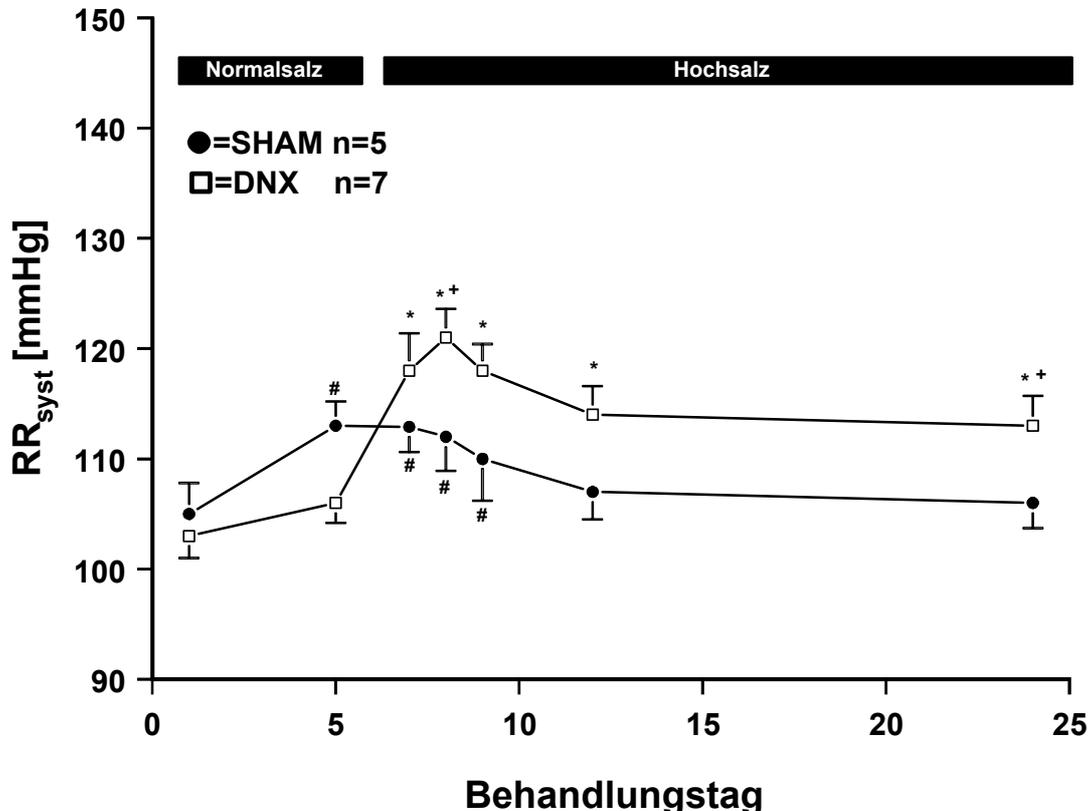


Abbildung 2: Systolischer Blutdruck scheinoperierter (SHAM) und denervierter (DNX) SD-Tiere unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Mittelwerte in mmHg \pm SEM. * $p < 0.05$, signifikant gegenüber Tage 1 und 5; # $p < 0.05$, signifikant gegenüber Tage 1, 12 und 24; + $p < 0.05$, signifikant gegenüber SHAM am gleichen Messtag.

Die Ausgangswerte der Sham- und der DNX-Tiere unter normaler Ernährung waren nahezu identisch ($105 \pm 2,8$ mmHg bzw. $103 \pm 2,0$ mmHg). Am Tag 5 lagen die gemessenen Blutdruckwerte mit $113,4 \pm 2,2$ mmHg signifikant über dem Wert von Tag 1. Dies ist am ehesten als ausgeprägte Tagesschwankung zu werten, da die Werte im weiteren Verlauf unter Hochsalzernährung kontinuierlich gegen den Ausgangswert abfielen. Zwar waren die Blutdruckwerte der Tage 7, 8 und 9 ebenfalls erhöht gegenüber dem Ausgangswert von Tag 1 und erreichten sogar das Signifikanzniveau, jedoch wiesen die Werte der letzten beiden Mess-tage ($106,6 \pm 2,5$ mmHg und $106 \pm 2,3$ mmHg) keinen Unterschied gegenüber der Ausgangssituation vom Tag 1 auf. Die DNX-Gruppe reagierte auf die Hochsalzernährung mit einem signifikanten Anstieg des systolischen Blutdrucks um bis zu

14% auf Werte von $118 \pm 3,4$, $121 \pm 2,6$ und $118 \pm 2,4$ mmHg (Tage 7, 8 und 9). Im weiteren Zeitverlauf fielen die Blutdruckwerte der DNX-Gruppe wieder leicht ab, am Ende der Messungen lagen die Werte bei $113 \pm 2,7$ mmHg. Alle Blutdruckwerte unter Hochsalzernährung lagen signifikant über den Werten an den beiden Ausgangstagen. Das bedeutet, dass die denervierten Tiere unter Hochsalzernährung über den gesamten Zeitraum signifikant erhöhte Blutdruckwerte aufwiesen, wenn auch die Steigerung in den ersten 3 Tage nach Hochsalzbeginn am ausgeprägtesten war (vgl. Tabelle 6, S. 80). Unter Hochsalzbedingungen lagen die Blutdruckwerte der DNX-Tiere außerdem stets über denen der Sham-Gruppe, wobei nur die Werte der Messtage 8 und 24 das Signifikanzniveau erreichten.

3.1.2 SD-Tiere unter Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten

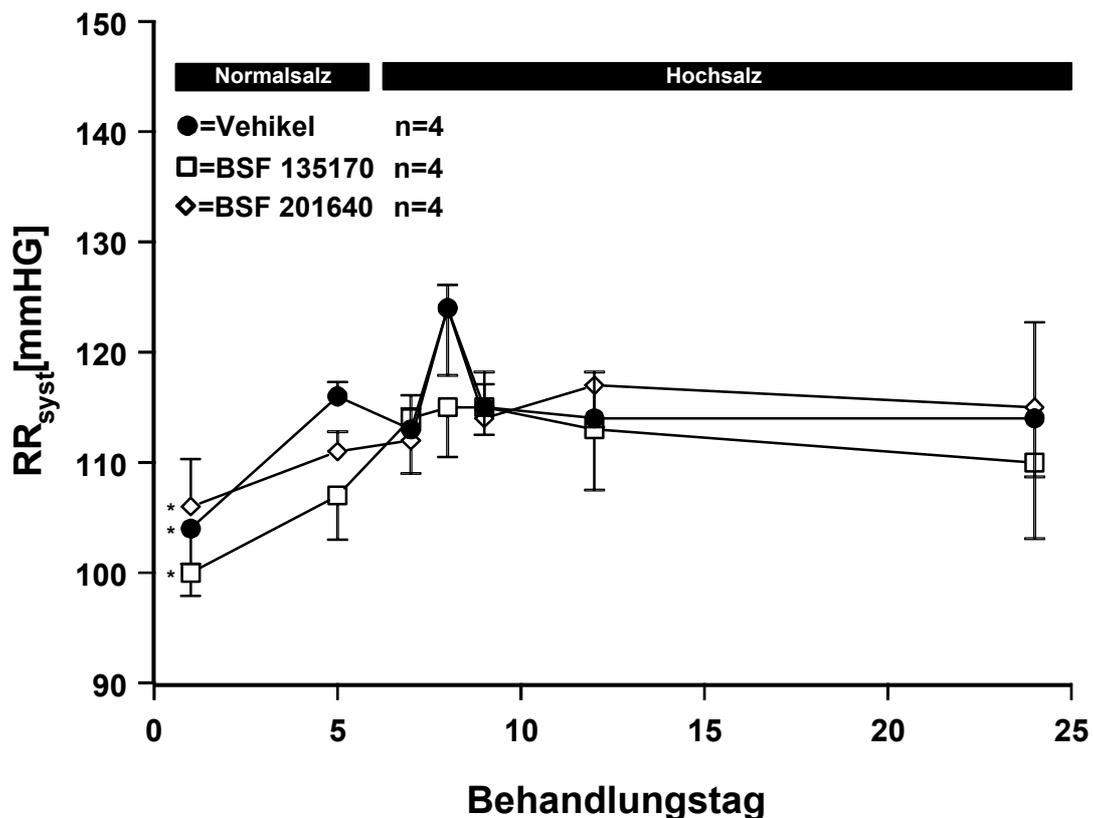


Abbildung 3: Systolischer Blutdruck vorbehandelter (D₃-Antagonisten BSF 135170 und BSF 201640) und unbehandelter (Vehikel) SD-Tiere unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Mittelwerte in mmHg \pm SEM. * $p < 0.05$, signifikant gegenüber Tage 5-24.

Die drei Gruppen Vehikel (VHC), BSF 135170 und BSF 201640 (s. Tabelle 1, S. 21 f sowie Abbildung 3, S. 30) hatten mit Blutdruckwerten zwischen 100 und 106 mmHg unter Normalsalzernährung ähnliche Ausgangssituationen. Jedoch war bei jeder Gruppe vor Umstellung auf salzreiche Ernährung ein Blutdruckanstieg von 5 bis 7 mmHg (BSF 201640 und BSF 135170) zu erkennen, der bei der Vehikel-Gruppe mit 12 mmHg am deutlichsten ausgeprägt war. Die Werte des ersten Tages lagen bei allen 3 Gruppen statistisch signifikant unter den Werten des gesamten restlichen Versuchsverlaufes. Möglicherweise handelte es sich hierbei um eine weitere Gewöhnungsreaktion an die Blutdruckmessungen. Unter salzreicher Ernährung war bei den BSF 135170 - Tieren kaum eine Veränderung festzustellen, die Werte lagen konstant zwischen 110 und 114 mmHg, der leichte Anstieg gegenüber Tag 5 war nicht signifikant. Die beiden anderen Gruppen verhielten sich in ihrer Blutdruckentwicklung sehr ähnlich. Sowohl bei Vehikel als auch bei BSF 201640 war eine Blutdruckspitze am Tag 8 zu sehen, die jedoch mit $124 \pm 2,1$ mmHg (Vehikel) bzw. mit $124 \pm 6,1$ mmHg (BSF 201640) nicht signifikant über den Ausgangswerten von Tag 5 lag (vgl. Tabelle 7, S. 81).

3.1.3 Scheinoperierte und denervierte salz-resistente Dahl-Tiere (DR)

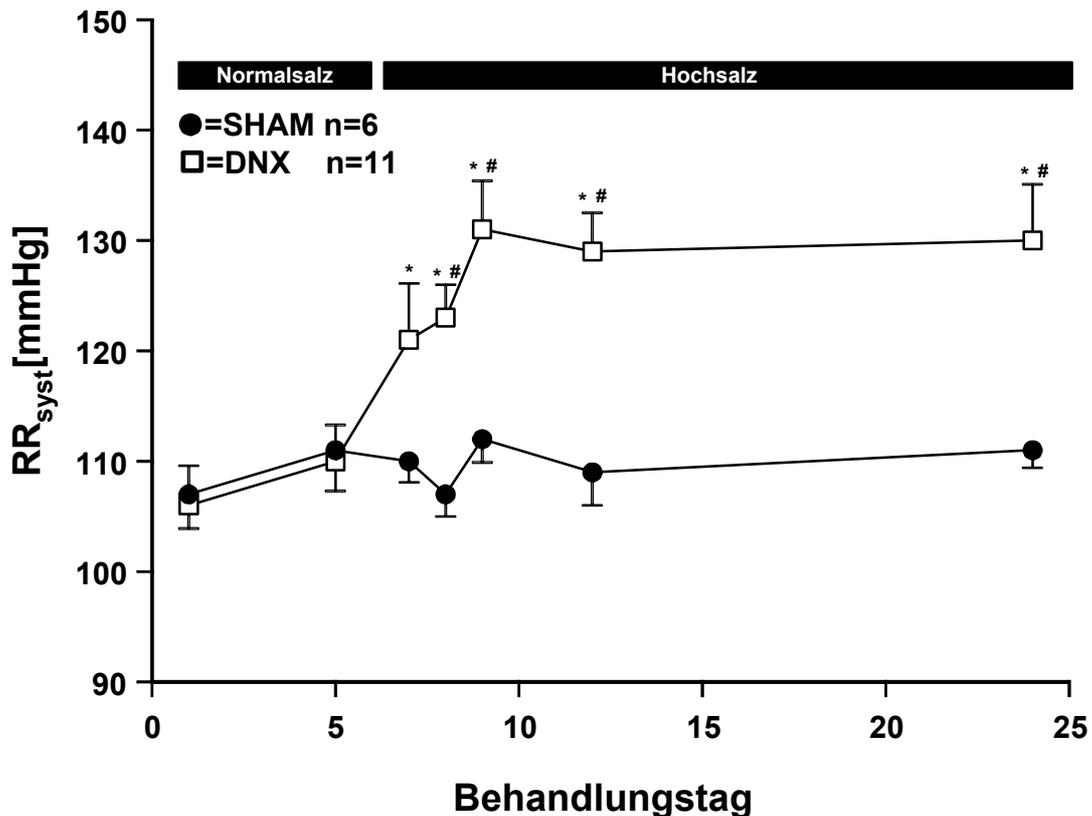


Abbildung 4: Systolischer Blutdruck scheinoperierter (SHAM) und denervierter (DNX) salz-resistenter Dahl-Tiere unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Mittelwerte in mmHg \pm SEM. * $p < 0.05$, signifikant vs. Messtag 1 und 5; # $p < 0.05$, signifikant vs. SHAM am gleichen Messtag.

Die Ausgangswerte beider Gruppen unter normaler Ernährung ($107 \pm 2,6$ und $106 \pm 2,1$ mmHg Sham bzw. $111 \pm 2,3$ und $110 \pm 2,7$ mmHg DNX) waren nahezu identisch. Bereits 24 Stunden nach Umstellung auf salzreiches Futter (Tag 7) konnte ein signifikanter Anstieg des systolischen Blutdrucks bei der DNX-Gruppe um 12% auf $121 \pm 5,1$ mmHg gemessen werden. Anschließend kam es zu einem weiteren Blutdruckanstieg bis zu einem maximalen Wert von $131 \pm 4,4$ mmHg am Tag 9. Am Ende der Messungen lagen die Werte ziemlich konstant um 130 mmHg. Insgesamt lagen alle unter Hochsalzernährung gemessenen Blutdruckwerte signifikant über den Ausgangswerten der Tage 1 und 5. Die Gruppe der scheinoperierten Tiere machte dagegen keine Veränderung des Blutdrucks unter

salzreicher Ernährung durch. Die Messwerte lagen während der gesamten Versuchsdauer zwischen $107 \pm 2,6$ und $112 \pm 2,1$ mmHg (vgl. Tabelle 8, S. 81).

3.1.4 Scheinoperierte, denervierte oder mit einem Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten vorbehandelte salz-sensitive Dahl-Tiere (DS)

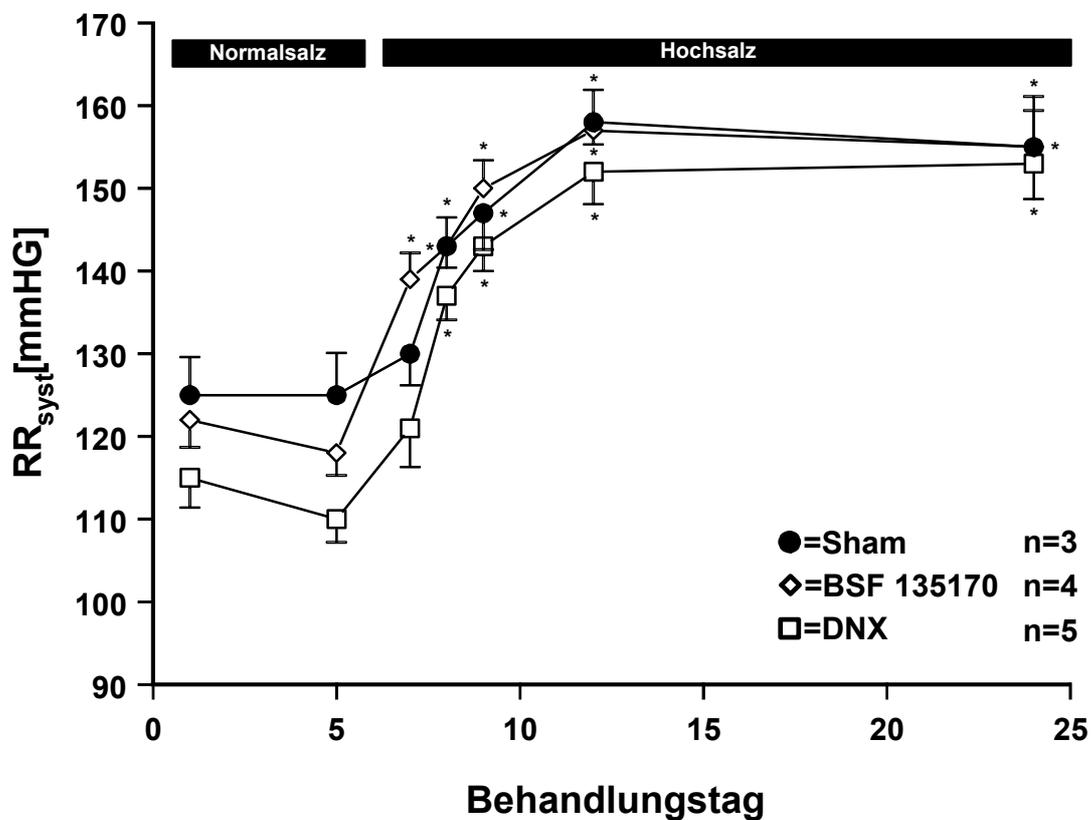


Abbildung 5: Systolischer Blutdruck scheinoperierter (SHAM), denervierter (DNX) und vorbehandelter (D₃-Antagonist BSF 135170) salz-sensitiver Dahl-Tiere unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Mittelwerte in mmHg \pm SEM. * $p < 0.05$, signifikant gegenüber Tage 1 und 5

Zu Beginn der Messreihe unter normaler Ernährung zeigten die Gruppen Sham und BSF 135170 ähnliche Blutdruckwerte ($125 \pm 4,6$ bzw. $122 \pm 3,3$ mmHg), während die DNX-Tiere etwas niedrigere Werte aufwiesen ($115 \pm 3,6$ mmHg). Diese Unterschiede waren nicht signifikant. In den Gruppen DNX und BSF konnte bei der zweiten Messung unter Normalsalzbedingungen ein leichter Abfall der Blutdruckwerte festgestellt werden ($110 \pm 2,8$ bzw. $118 \pm 2,7$ mmHg), die Werte lagen jedoch nicht signifikant unter den Werten der Sham-Tiere, die gegenüber der ersten Messung konstant blieben. Bereits 24 Stunden nach Umstellung auf salzreiches Futter war bei allen drei Gruppen ein deutlicher Blutdruckanstieg zu sehen, der bei der BSF-Gruppe bereits Signifikanzniveau gegenüber den Ausgangswerten der Tage 1 und 5 erreichte (BSF $139 \pm 3,2$ mmHg; Sham $130 \pm 3,8$ mmHg und DNX $121 \pm 4,7$ mmHg). In den folgenden Messungen konnte ein weiterer Blutdruckanstieg verzeichnet werden, der ab dem 8. Messtag bei allen Gruppen signifikant war (Sham $143 \pm 2,6$ mmHg; DNX $137 \pm 2,9$ mmHg; BSF $143 \pm 3,5$). Bei der letzten Messung verblieben alle Versuchsgruppen auf ähnlichem Niveau (BSF $155 \pm 4,4$ mmHg; Sham $155 \pm 6,1$ mmHg; DNX $153 \pm 4,3$ mmHg, vgl. Tabelle 9, S. 82).

3.2 Stoffwechselkäfigversuche

Die Ergebnisse der Stoffwechselversuche sind in den Tabellen 2-4 dargestellt. Aufgrund annähernd übereinstimmender Ergebnisse der Versuche an Versuchstagen unter gleichen Ernährungsbedingungen wurden die Ergebnisse der Versuche unter Normalsalz und Hochsalz (jeweils 3 Versuche) zusammengefasst.

3.2.1 Scheinoperierte und denervierte SD-Tiere

Tabelle 2: Ergebnisse der Versuche im SWK mit scheinoperierten und denervierten SD-Tieren unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Zu Versuchsbeginn bekamen die Tiere akut 10 ml einer 3%igen NaCl-Lösung per Magensonde.

Gruppe	SD-Sham	SD-DNX	SD-Sham	SD- DNX
Ernährung	Normalsalz		Hochsalz	
Körpergewicht [g]	236 ± 3,1	217 ± 2,8	277 ± 6,8	258 ± 8,8
^a Gewicht [g/6 h]	-9,7 ± 0,7	2,1 ± 0,4	0,1 ± 0,5	-1,6 ± 0,4
Trinkmenge [ml/6 h]	4,1 ± 1,3 °	11,5 ± 1,4*	13,2 ± 1,9 [#]	11,3 ± 2,7
Urinvolumen [ml/6 h]	14,2 ± 0,7	10,5 ± 0,8*	15,8 ± 1,1	15,0 ± 1,6 ^{##}
Volumenbilanz [ml/6 h]	° -0,1 ± 1,8	10,7 ± 1,4*	7,4 ± 1,6 [#]	5,7 ± 1,8 ^{##}
U_{Na}V [mmol/6 h]	4,10 ± 0,22	2,80 ± 0,17*	3,57 ± 0,22	3,55 ± 0,22 ^{##}
Na-Bilanz [mmol/6 h]	1,03 ± 0,22	2,16 ± 0,21*	1,56 ± 0,22	1,24 ± 0,20 ^{##}

$U_{Na}V$ = absolute renale Natriumausscheidung

Die Daten sind wiedergegeben als Mittelwerte ± SEM.

* $p < 0.05$ SD-Sham (Normalsalz) gegenüber SD-DNX (Normalsalz)

° $p < 0.05$ SD-Sham (Normalsalz) gegenüber SD-DNX (Hochsalz)

$p < 0.05$ SD-Sham (Normalsalz) gegenüber SD-Sham (Hochsalz)

$p < 0.05$ SD-DNX (Normalsalz) gegenüber SD-DNX (Hochsalz)

° Aufgrund des um ca. 10% geringeren Gewichts der DNX-Tiere wurde das Volumen der Natriumbeladung um 10% verringert, was bei gleicher Natriumausscheidung eine um 0,51mmol/6h geringere Natriumbilanz und eine um 1ml/6h geringere Volumenbilanz erklärt.

Während der 6 Stunden im Stoffwechsellkäfig fand sich bei der Sham-Gruppe unter Normalsalzernährung eine mit $-0,1 \pm 1,8$ ml/6 h nahezu ausgeglichene Volumenbilanz, d.h. die Tiere schieden genauso viel an Volumen aus, wie sie über die Magensonde und über die frei zugänglichen Trinkflaschen zu sich genommen hatten. Die normalsalzernährte DNX-Gruppe hatte mit $10,7 \pm 1,4$ ml/6 h eine deutlich positive Bilanz, was über die größere Trinkmenge ($11,5 \pm 1,4$ ml/6 h gegenüber $4,1 \pm 1,3$ ml/6 h für die Sham-Gruppe) und das mit $10,5 \pm 0,8$ ml/6 h

geringere Urinvolumen im Vergleich zu $14,2 \pm 0,7$ ml/6 h bei der Sham-Gruppe erklärt werden kann. Dies bedingte auch die Gewichtszunahme von $2,1 \pm 0,4$ g/6 h für die DNX-Gruppe, während die Sham-Tiere in den Versuchen durchschnittlich $9,7 \pm 0,7$ g an Gewicht verloren. Auch bei der absoluten Natriumausscheidung ergaben sich Unterschiede. Die Sham-Tiere schieden mit $4,10 \pm 0,22$ mmol/6 h 32% mehr Natrium aus als die DNX-Tiere mit $2,80 \pm 0,17$ mmol/6 h. Bei gleicher Natriumbeladung von 5,13 mmol über die Magensonde schlug sich dies auch in den Natriumbilanzen über 6 Stunden nieder, die bei den DNX-Tieren signifikant über den Werten der Sham-Tiere lagen ($2,16 \pm 0,21$ mmol/6 h für DNX bzw. $1,03 \pm 0,22$ mmol/6 h für Sham).

Unter Hochsalzbedingungen waren die Resultate dagegen eher ausgeglichen. Aufgrund des geringeren Gewichts der DNX-Tiere wurde die Natriumbeladung per Magensonde entsprechend reduziert (auf 4,62 mmol, was 90% der ursprünglichen Menge entspricht), um für beide Tiergruppen dem Gewicht entsprechende Bedingungen zu gewährleisten. Im Gegensatz zu den Ergebnissen unter Normal-salzbedingungen wichen die Trinkmengen und die Gewichtsunterschiede kaum voneinander ab, die Urinvolumina waren sogar nahezu identisch ($15,8 \pm 1,1$ ml/6 h Sham und $15,0 \pm 1,6$ ml/6 h DNX). Beide Gruppen hatten auch mit $3,57 \pm 0,22$ mmol/6 h (Sham) und $3,55 \pm 0,22$ mmol/6 h (DNX) fast identische Werte für die Natriumausscheidung, was die ähnlichen Natriumbilanzen von $1,56 \pm 0,22$ mmol/6 h (Sham) und $1,24 \pm 0,20$ mmol/6 h (DNX) erklärt. Zu prüfen bleibt allerdings, ob durch die geringere Natriumbeladung der DNX-Tiere möglicherweise ein künstlicher Unterschied in den Natriumbilanzen erzeugt wurde, da die absolute Natriumausscheidung beider Gruppen keinen Anhaltspunkt für einen Unterschied liefert.

3.2.2 SD-Tiere unter Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten

Tabelle 3: Ergebnisse der Versuche im SWK mit Dopamin D₃-Rezeptor-Antagonisten vorbehandelten SD-Tieren unter Normalsalz- und Hochsalzernährung. Zu Versuchsbeginn bekamen die Tiere akut 10 ml einer 3%igen NaCl-Lösung per Magensonde.

Gruppe	SD-VHC	SD-BSF 135170	SD-BSF 201640
Ernährung	Normalsalz		
Körpergewicht [g]	279 ± 4,3	269 ± 2,4	291 ± 2,1
^a Gewicht [g/6 h]	-2 ± 2,1	-0,3 ± 1,5	-4,9 ± 1,1
Trinkmenge [ml/6 h]	12,6 ± 2,7	13,5 ± 2,0	10,7 ± 1,4
Urinvolumen [ml/6 h]	17,3 ± 2,6	14,8 ± 1,0	16,2 ± 0,5
Volumenbilanz [ml/6 h]	5,3 ± 1,3	8,7 ± 1,6	4,5 ± 1,2
U_{Na}V [mmol/6 h]	3,46 ± 0,26	3,41 ± 0,13	3,88 ± 0,13
Na-Bilanz [mmol/6 h]	1,67 ± 0,26	1,72 ± 0,13	1,25 ± 0,13
Ernährung	Hochsalz		
Körpergewicht [g]	312 ± 3,7	299 ± 3,9	326 ± 4,0
^a Gewicht [g/6 h]	-3,8 ± 1,7	-1,8 ± 1,5	-2,8 ± 0,9
Trinkmenge [ml/6 h]	10,0 ± 2,0	8,2 ± 1,9	12,0 ± 1,5
Urinvolumen [ml/6 h]	14,9 ± 1,5	14,1 ± 0,7	16,7 ± 1,0
Volumenbilanz [ml/6 h]	5,1 ± 1,8	4,9 ± 1,7	5,3 ± 0,6
U_{Na}V [mmol/6 h]	3,36 ± 0,35	3,83 ± 0,18	3,80 ± 0,10

U_{Na}V = absolute renale Natriumausscheidung, wiedergegeben sind Mittelwerte ± SEM.

Unter Normalsalzbedingungen waren die drei Versuchsgruppen in ihrem Verhalten relativ ausgeglichen, die SD-NS-BSF 201640- Tiere nahmen mit $-4,9 \pm 1,1$ g/6 h mehr an Gewicht ab als die anderen Tiere (SD-NS-VHC $-2 \pm 2,1$ g/6 h und SD-NS-BSF 135170 $-0,3 \pm 1,5$ g/6 h). Des Weiteren schieden diese Tiere etwa 10% mehr Natrium mit dem Urin aus als SD-NS-VHC und SD-NS-BSF 135170, was zu einer geringfügig weniger positiven Natriumbilanz führte ($1,25 \pm 0,13$ mmol/6 h gegenüber $1,72 \pm 0,13$ mmol/6 h BSF135170 und $1,67 \pm 0,26$ mmol/6 h VHC). Die Volumenbilanzen von SD-NS-VHC und SD-NS-BSF 201640 zeigten nur geringe Unterschiede. Die Tiere der Gruppe SD-NS-BSF201640 tranken weniger und wiesen somit eine geringer ausgeprägte positive Volumenbilanz auf. Eine deutlich ausgeprägter positive Volumenbilanz hatten die Tiere der Gruppe SD-NS-BSF 135170, die mit $8,7 \pm 1,6$ ml/6 h knapp 40% über den Werten von SD-NS-VHC ($5,4 \pm 1,3$ ml/6 h) und von SD-NS-BSF201640 ($4,5 \pm 1,2$ ml/6 h) lagen. Ein insgesamt ausgeglicheneres Bild ergab sich unter Hochsalzbedingungen. Hier lagen die Tiere hinsichtlich Trinkmengen und Urinvolumina dicht beieinander, so dass auch die Volumenbilanzen mit $5,1 \pm 1,8$ ml/6 h (SD-HS-VHC), $4,9 \pm 1,7$ ml/6 h (SD-HS BSF135170) und $5,3 \pm 0,6$ ml/6 h (SD-HS-BSF201640) kaum Unterschiede erkennen ließen. Lediglich die Natriumausscheidung der SD-HS-VHC-Gruppe lag mit $3,36 \pm 0,35$ mmol/6 h unter den Werten der anderen Tiere ($3,83 \pm 0,18$ mmol/6 h SD-HS-BSF135170 bzw. $3,80 \pm 0,10$ mmol/6 h SD-HS-BSF 201640). Daher wiesen diese Tiere auch eine stärker ausgeprägte positive Natriumbilanz auf, die etwa 15% über den Natriumbilanzen der Vergleichsgruppen lag.

3.2.3 Scheinoperierte und denervierte salz-resistente Dahl-Tiere (DR)

Tabelle 4: Ergebnisse der Versuche im SWK mit scheinoperierten und denervierten salz-resistenten Dahl-Tieren unter Normsalz- und Hochsalzernährung. Zu Versuchsbeginn bekamen die Tiere akut 10 ml einer 3%igen NaCl-Lösung per Magensonde.

Gruppe	DR-Sham	DR-DNX	DR-Sham	DR-DNX
Ernährung	Normalsalz		Hochsalz	
Körpergewicht [g]	215 ± 2,3	211 ± 3,0	246 ± 3,7	241 ± 4,0
^a Gewicht [g/6 h]	-3,0 ± 1,0	-3,4 ± 0,9	-0,2 ± 0,9	-1,4 ± 0,8
Trinkmenge [ml/6 h]	8,1 ± 0,8	7,4 ± 0,9	9,3 ± 0,8	7,2 ± 0,7
Urinvolumen [ml/6 h]	13,0 ± 0,3	12,9 ± 0,4	13,5 ± 0,4	12,0 ± 0,3*
Volumenbilanz [ml/6 h]	5,1 ± 0,8	4,7 ± 1,1	5,1 ± 0,8	5,8 ± 0,7
U_{Na}V [mmol/6 h]	3,69 ± 0,08	3,71 ± 0,10	3,75 ± 0,07	3,72 ± 0,08
Na-Bilanz [mmol/6 h]	1,44 ± 0,08	1,42 ± 0,10	1,38 ± 0,07	1,41 ± 0,8

$U_{Na}V$ = absolute renale Natriumausscheidung

Die Daten sind wiedergegeben als Mittelwerte ± SEM.

* $p < 0.05$ DR-Sham (Hochsalz) gegenüber DR-DNX (Hochsalz)

Unter Normsalzbedingungen war bei keiner der Variablen ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festzustellen, alle Werte waren sehr ausgeglichen, wobei vor allem die Natriumausscheidung und die Natriumbilanz mit den Werten der anderen Tiergruppen unter gleichen Bedingungen korrelierten. Lediglich unter Hochsalzbedingungen schieden die Sham-Tiere signifikant mehr Volumen aus als die DNX-Gruppe.

Auffallend ist, dass die Werte unter Normsalz und Hochsalz nahezu identisch waren, so dass hier kein Einfluss der Diät bzw. der Behandlung (Sham/DNX) auf die gemessenen Parameter festgestellt werden konnte.

3.3 Kontrolle der Denervierung

Tabelle 5: Noradrenalingewebsgehalt von Nieren scheinoperierter (SHAM) und denervierter (DNX) salz-resistenter und salz-sensitiver Dahl-Tiere sowie SD-Tiere.

Tierstamm	Sham	DNX
SD	251 ± 26,0	21,6 ± 5,1***
DR	296 ± 19,8	25,0 ± 4,4***
DS	287 ± 27,6	9,8 ± 5,4***

Die Werte sind angegeben in ng/g Nierenfeuchtgewicht ± SEM.

*** $p < 0.0001$ DNX gegenüber Sham

Um zu bestätigen, dass die Denervierung der Nieren erfolgreich durchgeführt worden war, wurde mit Hilfe der HPLC der Noradrenalingehalt der Nieren bestimmt (siehe dazu Abschn. 2.3.2). Wie die Tabelle 5 zeigt, ist bei allen drei Gruppen der Noradrenalingehalt der Nieren (bezogen auf das Feuchtgewicht) nach der Denervierung deutlich reduziert. Bei den SD-Tieren war der Gehalt an Noradrenalin um 91,4%, bei den DR-Tieren um 91,5% und bei den DS-Tieren um 96,6% verringert. Diese Ergebnisse zeigen, dass die sympathische Innervation der Nieren erfolgreich unterbrochen worden war und auch keine Reinnervation stattgefunden hatte.

4. DISKUSSION

4.1 Einführung, Arbeitshypothese und experimenteller Ansatz

Der arterielle Blutdruck wird bestimmt durch das vom Herz erzeugte Herzzeitvolumen (HZV), den totalen peripheren Widerstand (TPR), welcher durch die Arteriole des großen Körperkreislaufsystems aufgebracht wird, und schließlich durch das zirkulierende Blutvolumen (Cowley-AW 1992). Die Menge des zirkulierenden Volumens wird hauptsächlich über den Wasser- und Natriumhaushalt durch die Niere kontrolliert. Funktioniert das komplexe Zusammenspiel all dieser Regulationsmechanismen nicht einwandfrei, kann daraus ein veränderter Blutdruck resultieren (s. Abschn. 1.2).

Bei der so genannten essentiellen Hypertonie ist der genaue Fehler des Systems nicht bekannt, unter anderem vermutet man jedoch, dass durch eine Fehlfunktion der Niere Natrium retiniert wird. Da die Exkretion von Natrium eng mit der Flüssigkeitsausscheidung zusammenhängt, kommt es gleichzeitig zur Flüssigkeitsretention, wodurch sich das Extrazellulärvolumen und somit auch das zirkulierende Blutvolumen erhöht.

Man hat beobachtet, dass bei einigen Menschen die vermehrte Aufnahme von Kochsalz mit der Nahrung zu einer arteriellen Hypertonie führt, welche sich jedoch unter Restriktion der Kochsalzzufuhr bessert. Bei dieser Art der arteriellen Hypertonie, der so genannten salz-abhängigen Hypertonie, scheint der Mechanismus der Salzretention pathogenetisch ausschlaggebend zu sein. Bemühungen, eine Ursache für die unzureichende Ausscheidung von Kochsalz zu finden, führten allerdings bisher zu keinem Erfolg, zumal davon auszugehen ist, dass nicht nur ein einzelner, sondern vielmehr mehrere Faktoren zur Entstehung dieser Natriumretention beitragen.

An der Regulierung der Nierenfunktion sind verschiedene Mechanismen beteiligt, unter anderem die Hormone Aldosteron, ANP (Atriales natriuretisches Peptid) und Vasopressin sowie in geringerem Maße auch andere Hormone, wie z.B. Glukokortikoide. Eine wichtige Rolle spielt dabei auch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (s. Abschn. 1.3.2). Außerdem sind von großer Bedeutung das sympathische Nervensystem mit Noradrenalin als Transmitter sowie das biogene Amin Dopamin, dessen Bedeutung für die Funktion der Niere in dieser Arbeit weiter geklärt werden soll.

Obwohl die Bedeutung des Dopamins für die Nierenfunktion schon seit einiger Zeit untersucht wird, sind die Angaben über die Herkunft des Dopamins, die Lokalisation und mögliche Funktion der einzelnen Dopamin-Rezeptoren und deren Interaktion sowie auch deren Interaktion mit den anderen Regelsystemen noch lückenhaft. So wird z. B. beschrieben, dass das dopaminerge System der Niere eine wichtige Funktion im Zusammenhang mit der Entstehung bestimmter Formen der arteriellen Hypertonie besitzt (Asico et al. 1998; Albrecht et al. 1996; Hussain & Lokhandwala 1998). Es ist jedoch noch fraglich, auf welcher Ebene dieses Systems mögliche Ursachen für die arterielle Hypertonie zu suchen sind, sei es im Dopaminstoffwechsel, in fehlerhaften Rezeptoren oder deren Signaltransduktionskette (Jose et al. 1992).

Ein Tiermodell der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie ist die Dahl-Ratte (s. Abschn. 1.4). In welchem Ausmaß vaskuläre, tubuläre, hormonelle oder vegetative Faktoren an der Entstehung der salz-abhängigen Dahl-Hypertonie beteiligt sind, soll im Verlauf dieser Arbeit erörtert werden. Seit kurzem wird aufgrund neuer Erkenntnisse verstärkt ein Defekt im renalen Dopamin-System vermutet (Hansell 1995). Ergebnisse einiger Arbeitsgruppen legen nahe, dass möglicherweise ein Defekt in der Funktion des Dopamin-D₃-Rezeptors, aber auch des Dopamin-D_{1A}-Rezeptors ursächlich für die Entwicklung der arteriellen Hypertonie sein könnte (Asico et al. 1998; Felder et al. 1990b; Albrecht et al. 1996; Luippold

et al. 2001). Neueste Untersuchungen haben ergeben, dass auch ein fehlerhafter Dopamin-D₂-Rezeptor eine arterielle Hypertonie verursachen kann (Li et al. 2001).

Über die Funktionsweise und die Lokalisation des Dopamin-D₃-Rezeptors liegen erst lückenhafte Informationen vor. Luippold et al. konnten allerdings zeigen, dass bei SD-Ratten typische renale Dopamin-D₃-Antworten nach chronischer Denervierung ausblieben (Luippold et al. 1999b). Deshalb soll in dieser Arbeit die Frage geklärt werden, welche Rolle die renalen Nerven für die Funktion des dopaminergen Systems der Niere spielen. Dabei ist u. a. zu prüfen, ob der Dopamin-D₃-Rezeptor die Nierenfunktion z.B. durch Modulation der renalen sympathischen Aktivität beeinflusst.

Ausgangspunkt der Überlegungen war die Hypothese, dass der Dopamin-D₃-Rezeptor, wie andere Rezeptoren der D₂-Unterfamilie, auch präsynaptisch an sympathischen Synapsen der Niere lokalisiert ist. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden DR- und DS-Tiere sowie auch normale SD-Tiere mikrochirurgisch chronisch denerviert bzw. scheinoperiert. Anschließend wurde deren Blutdruckentwicklung unter normaler und salzreicher Ernährung über mehrere Wochen aufgezeichnet. Im Vergleich dazu wurden gleichartige Tiere über einen längeren Zeitraum mit spezifischen Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten behandelt und ebenfalls Blutdruckmessungen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen unterzogen. Zusätzlich wurden Stoffwechsellkäfigversuche mit akuter Salzbelastung der Tiere durchgeführt, um etwaige Unterschiede zwischen denervierten, innervierten und pharmakologisch vorbehandelten Tieren hinsichtlich der Fähigkeit, Kochsalz auszuscheiden, festzustellen.

4.2 Aufbau und Funktionsweise der Niere

4.2.1 Das Gefäßsystem der Niere

Durch immunhistochemische Studien konnten Dopamin-D₃-Rezeptoren unter anderem in Abschnitten des renalen Gefäßsystems nachgewiesen werden (O'Connell et al. 1998). Hier wurden Rezeptoren in der Media und Adventitia der Gefäßwände arterieller Widerstandsgefäße gefunden. Außerdem stellten sich Rezeptoren in den Podozyten der Glomerula dar. Über weitere Lokalisationen der Dopamin-D₃-Rezeptoren soll in späteren Abschnitten berichtet werden.

Versuche von Luippold et al. an SD-Ratten zeigten eine signifikante Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) infolge pharmakologischer Stimulation von Dopamin-D₃-Rezeptoren durch 7-OH-DPAT, einen selektiven Dopamin-D₃-Rezeptor-Agonisten (Luippold et al. 1999a). Im Einzelnen wurde nachgewiesen, dass dieser Effekt auf einer Konstriktion der Vasa efferentia im postglomerulären Stromgebiet beruht, wodurch trotz Absinken des renalen Blutflusses (RBF) der Filtrationsdruck im Glomerulum erhöht wird (Luippold et al. 2000c). Daraus resultiert eine Zunahme des primären Ultrafiltrats, was auch zu einer gesteigerten Diurese beitragen kann.

Um weitere Erkenntnisse über die pathologische Salztoleranz bei Dahl-Tieren und eventuell Hinweise auf Defekte im dopaminergen System zu erhalten, wurden Clearanceversuche mit normotensiven DS- und DR-Ratten unter normaler Ernährung durchgeführt. Dabei ergaben sich in beiden Gruppen basal vergleichbare GFR-Werte. Jedoch erfolgte bei den salz-sensitiven Tieren nach Gabe des D₃-Agonisten 7-OH-DPAT ein geringerer Anstieg der GFR als bei der salz-resistenten Kontrollgruppe (Luippold et al. 2001). Für diese Beobachtung sind mehrere Erklärungen denkbar. Zum einen könnte die schwächere Reaktion auf einen reduzierten bzw. fehlenden D₃-Rezeptor zurückgeführt werden, zum anderen könnte der Rezeptor selbst defekt sein, oder es könnte ein Fehler in der nachgeschalte-

ten Signaltransduktionskette des Rezeptors vorliegen. In Betracht gezogen werden muss auch die Möglichkeit, dass bei den DS-Tieren bereits hämodynamische Kompensationsmechanismen eingreifen, die dafür sorgen, dass diese Tiere unter normalen Bedingungen eine annähernd normale GFR aufweisen, so dass hier kein weiterer Spielraum für Steigerungen der GFR besteht (s. u.). Die Tatsache, dass DS-Tiere nicht in der Lage sind, ihre GFR auf diesen spezifischen Stimulus in angemessener Weise zu steigern, könnte somit zu einer Flüssigkeitsretention und damit zu einer Erhöhung des Extrazellulärvolumens im Vergleich mit den DR-Tieren führen. Es ist lange bekannt, dass bei Ratten durch die intravenöse Infusion einer Aminosäurelösung eine glomeruläre Hyperfiltration ausgelöst wird (Meyer et al. 1983). Bereits vor einiger Zeit konnten Tobian et al. in einer Versuchsreihe mit prähypertensiven DS-Tieren zeigen, dass diese Tiere zwar eine normale und mit DR-Tieren gleichzusetzende GFR aufweisen, dass ihnen aber die Möglichkeit fehlt, auf den Aminosäurestimulus mit einem (physiologischen) GFR-Anstieg zu reagieren (Tobian et al. 1989). Wie Tobian et al. zuvor in Experimenten mit perfundierten isolierten Nieren von prähypertensiven DS- und DR-Tieren festgestellt hatten, besitzen die Nieren der DS-Tiere unter diesen künstlichen Bedingungen eine um ca. 33% geringere GFR verglichen mit den Nieren der DR-Tiere (Tobian et al. 1977). Zusammen mit den neueren Ergebnissen kann geschlossen werden, dass in vivo hämodynamische Kompensationsmechanismen bei den prähypertensiven DS-Tieren für die unauffällige GFR sorgen müssen, was allerdings zur Folge hätte, dass die Nieren dieser Tiere auf weitere Herausforderungen hämodynamisch nicht mehr reagieren können. Es ist allerdings zu bedenken, dass es sich hier um die Betrachtung der isolierten Niere handelt und dass daher mögliche systemische Effekte, die durch eine Aminosäureinfusion hervorgerufen werden könnten, nicht zum Tragen kommen. Auch über die Art der Kompensationsmechanismen gibt es bisher keine genauen Erkenntnisse, Tobian et al. vermuteten eine bereits unter normalen Bedingungen maximale Dilatation der afferenten Arteriolen, so dass hier kein Spielraum mehr für eine Steigerung der GFR auf diesem Wege besteht (Tobian et al. 1989).

Roman konnte in einem ähnlichen Versuchsmodell zeigen, dass bereits prähypertensive DS-Tiere Einschränkungen in der renalen Ausscheidungsfunktion unterliegen. Er stellte fest, dass DS-Tiere bei normalem renalen Perfusionsdruck geringere Werte für Wasser-, Natrium- und fraktionelle Natriumausscheidung aufweisen (Roman 1986). Die Differenzen dieser Funktionsparameter zwischen DR- und DS-Tieren wurden bei steigenden Perfusionsdrücken immer größer, d. h. das Verhältnis zwischen Perfusionsdruck und Exkretionsleistung ist bei DS-Tieren deutlich zu höheren Drücken verschoben. Des Weiteren zeigte sich, dass salzreich ernährte DS-Tiere eine deutlich geringere GFR und RBF besitzen. Die Nieren hypertensiver DS-Tiere erreichen erst bei einem renalen Perfusionsdruck von 170 mmHg ihre maximale GFR, während prähypertensive Tiere diese schon bei 125 mmHg erreichen. Im Vergleich dazu zeigten DR-Tiere über einen Bereich von 100-150 mmHg konstante Filtrationsraten. Diese Erkenntnisse sprechen ebenfalls für einen intrinsischen Defekt der Nieren salz-sensitiver Dahl-Tiere, da in diesen Experimenten die Einflüsse von Hormonen (Aldosteron, Cortison, Noradrenalin, Vasopressin) sowie der renalen Nerven (durch renale Denervierung) ausgeschaltet waren. Jedoch wurden im Zuge der Präparation die Experimente in einer akuten Denervierung durchgeführt, was zu verfälschten Ergebnissen durch die bekannten Effekte der akuten Denervierung (Diurese, Natriurese) führen kann (Bello-Reuss et al. 1975). Ebenfalls wurde der Bedeutung von Dopamin in diesen Versuchen keine Beachtung geschenkt, so dass mögliche Unterschiede hinsichtlich der Wirkung von endogenem Dopamin nicht ausgeschlossen werden können.

Um die Bedeutung von Dopamin für die aminosäurebedingte (AA-bedingte) Hyperfiltration weiter zu klären, wurden von einigen Autoren in diesem Zusammenhang Versuche mit Agonisten und Antagonisten des renalen Dopamin-Systems durchgeführt. Mendez et al. beschrieben, dass die AA-bedingte Hyperfiltration durch den spezifischen Dopamin-D₂-Rezeptor-Antagonisten Sulpirid vollständig unterdrückt wird (Mendez et al. 1991). Luippold und Mühlbauer konnten des Weiteren zeigen, dass durch Quinpirol, einen unspezifischen D₂-ähnlichen

Agonisten, die gleichen Effekte wie durch eine AA-Infusion hervorgerufen werden können. Sie konnten ebenfalls nachweisen, dass dies durch die Gabe von Sulpirid, welches zentrale und periphere D₂-Rezeptoren blockiert, unterdrückt werden kann (Luippold & Mühlbauer 1998). Allerdings stellte sich auch heraus, dass Domperidon, ein peripher wirkender D₂-Rezeptor-Antagonist, die Hyperfiltration nicht vollständig zu unterdrücken vermochte. Dadurch wurde erstmals bestätigt, dass tatsächlich Dopamin-Rezeptoren für diesen Effekt verantwortlich sind. Um welche Rezeptoren aus der Familie der D₂-Rezeptoren es sich dabei handelt und ob die zu beobachtenden Reaktionen auf zentrale oder periphere Dopamin-Rezeptoren zurückzuführen sind, wurde anschließend weiter untersucht.

Durch Versuche mit D₃-knockout-Mäusen, denen die genetische Information für den Dopamin-D₃-Rezeptor fehlt, gelang es unserer Arbeitsgruppe zu beweisen, dass die aminosäurebedingte Hyperfiltration direkt von einem intakten Dopamin-D₃-Rezeptor abhängt (Luippold et al. 2000b). So waren bei diesen knockout-Tieren keine Anzeichen einer glomerulären Hyperfiltration nach Aminosäureinfusion zu beobachten. Damit konnte die Hypothese aufgestellt werden, dass aus der D₂-Unterfamilie der D₃-Rezeptor für diese physiologische Reaktion verantwortlich ist. In diesem Zusammenhang stellte sich erneut die Frage nach der Bedeutung des Dopamin-D₃-Rezeptors für die Entwicklung der arteriellen Hypertonie, da durch den Ausfall dieses Regelmechanismus hämodynamisch ungünstige Voraussetzungen für eine normale Nierenfunktion gegeben sind. Auf diese Überlegungen soll später eingegangen werden.

Von großem Interesse war auch die Frage, ob der Effekt der glomerulären Hyperfiltration von der intakten (sympathischen) Innervierung der Niere abhängig ist. Mehrere Autoren konnten zeigen, dass sich bei beidseitig renal denervierten SD-Tieren durch die Infusion von Aminosäuren keine Änderungen der renalen Hämodynamik auslösen lassen (Mühlbauer et al. 1997c; Mendez et al. 1991). Dies unterstützt die Vermutung, dass die Funktion der hierfür verantwortlichen renalen

Dopamin-D₃-Rezeptoren maßgeblich von der intakten renalen Innervierung abhängig ist.

Mühlbauer konnte außerdem beweisen, dass durch die Infusion bestimmter Aminosäuren, die als Vorstufen für die Katecholaminsynthese dienen, ein Anstieg der renalen Dopaminausscheidung verursacht wird (Mühlbauer et al. 1997a). Diese Moleküle werden glomerulär filtriert, von den Zellen des proximalen Tubulus aufgenommen und zu Dopamin verstoffwechselt. Allerdings zeigte sich, dass dieses tubulär sezernierte Dopamin keine hämodynamischen Wirkungen besitzt, da die GFR unverändert blieb. Auch im tubulären System konnten keine funktionellen Veränderungen festgestellt werden, so dass davon auszugehen ist, dass tubulär sezerniertes Dopamin keinen Einfluss auf die Nierenfunktion hat. Damit widersprach Mühlbauer einigen Autoren, die fordern, dass das von Tubuluszellen synthetisierte und ins tubuläre Lumen ausgeschiedene Dopamin von funktioneller Bedeutung sei (Lokhandwala et al. 1990; Hegde et al. 1989).

Diese Ergebnisse legen zusammengenommen nahe, dass die Funktion des Dopamin-D₃-Rezeptors eine intakte renale Innervierung voraussetzt. Für den Dopamin-D₂-Rezeptor ist bereits eine präsynaptische Lokalisation an Neuronen nachgewiesen (Lachowicz & Sibley 1997). Solche Erkenntnisse fehlen noch für den Dopamin-D₃-Rezeptor, jedoch weisen einige der oben genannten Forschungsergebnisse deutlich in diese Richtung.

4.2.2 Das Tubulussystem der Niere

Im Tubulussystem der Niere wird die Zusammensetzung und die Menge des durch das Glomerulum erzeugten Primärharns verändert. Durch aktive und passive Resorptions- und Sekretionsvorgänge wird dort der Gehalt der Urinbestandteile (Elektrolyte, Säuren, Basen, Aminosäuren, etc.) verändert.

Durch autoradiographische und immunhistochemische Studien konnten Dopamin- D_3 -Rezeptoren in Zellen proximaler Tubuli der Niere lokalisiert werden (Barili et al. 1997; O'Connell et al. 1998), wobei sie sich hier im apikalen Pol der Zellen befinden. Es ist bekannt, dass L-DOPA von dort lokalisierten Zellen aufgenommen und durch die L-Amino-Acid-Decarboxylase zu Dopamin abgebaut wird, welches dann ins Tubuluslumen sezerniert und mit dem Urin ausgeschieden wird. In der Literatur herrscht allerdings keine Einigkeit darüber, ob mit dem Urin ausgeschiedenes Dopamin von funktioneller Bedeutung für die Niere ist, oder ob es sich dabei lediglich um eine funktionell bedeutungslose Exkretion handelt. Dazu gibt es zahlreiche Arbeiten, die sich mit der Herkunft des mit dem Urin ausgeschiedenen Dopamins beschäftigen und Ursachen für die beobachtete vermehrte Dopaminausscheidung, wie sie z.B. nach der bereits genannten Infusion von Aminosäuren auftritt, diskutieren.

Mühlbauer und Osswald gingen der Frage nach, wodurch die Dopaminausscheidung mit dem Urin beeinflusst wird. Sie zeigten, dass die renale Dopaminausscheidung weder von der intakten renalen Innervierung noch vom Natriumbestand des Organismus abhängt, sondern wesentlich durch die Nahrungsaufnahme beeinflusst wird (Mühlbauer & Osswald 1994). In einer weiteren Arbeit konnte gezeigt werden, dass auch beim Menschen weder die diätetische Salzzufuhr noch Zustände der akuten Volumenexpansion die Dopaminausscheidung verändern (Luippold et al. 2000a). Deshalb wurde die Hypothese vertreten, dass es sich bei tubulär sezerniertem Dopamin lediglich um ein funktionell bedeutungsloses Eliminationsprodukt handelt. Jedoch konnte man nicht ausschließen, dass parallel zur tubulären Sekretion gleichzeitig Dopamin auf der basolateralen Zellseite freigesetzt werden könnte und dort wirksam ist. Auch Baines geht davon aus, dass tubulär sezerniertes Dopamin keine Bedeutung für die renale Hämodynamik besitzt (Baines & Drangova 1986). Zuvor war die Hypothese vertreten worden, dass Dopamin auf neuronalem Wege in die Niere gelangt. Außerdem lag die Vermutung nahe, dass der Natriumhaushalt, der durch das dopaminerge System mitgesteuert wird, die Dopaminausscheidung beeinflussen könnte (Grossman et

al. 1990). Beide Hypothesen wurden durch oben genannte Arbeit von Mühlbauer widerlegt. Im Zusammenhang mit dem Anstieg der Dopaminausscheidung nach Nahrungsaufnahme war außerdem auch ein Anstieg des renal ausgeschiedenen Kreatinins festzustellen, was Ausdruck einer GFR-Steigerung sein könnte (Mühlbauer & Osswald 1994).

Diese Vermutung steht jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von Mendez, der an denervierten Nieren keine GFR-Steigerung nach Aminosäuregabe feststellen konnte (Mendez et al. 1991). Allerdings ist die Kreatinin-Clearance eine sehr unzuverlässige Methode, die GFR zu bestimmen. Außerdem ist nicht klar, in welcher Weise das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System durch die renale Denervierung beeinflusst wird, wobei zu erwarten wäre, dass mögliche Effekte bei beiden Autoren gleich ausfallen würden.

Im Gegensatz zu den Erkenntnissen von Mühlbauer existieren andere Hinweise dafür, dass der Anstieg von Dopamin im venösen renalen Blut eine direkte Konsequenz der Stimulation renaler Nervenfasern darstellt (Kopp et al. 1983). Es hat sich gezeigt, dass sowohl Noradrenalin als auch Dopamin nach einer hochfrequenten Stimulierung renaler Nervenbahnen vermehrt im venösen renalen Blut nachzuweisen sind, was darauf hindeutet, dass beide Stoffe aus diesen Nerven freigesetzt werden. Ferner gelang es Dinerstein et al. in histofluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen, dopaminhaltige Nervenstrukturen in der Nähe von Glomerula nachzuweisen, was ebenfalls dafür spricht, dass Dopamin aus solchen Nervenendigungen freigesetzt werden könnte (Dinerstein et al. 1979). Da Dopamin jedoch eine Vorstufe der Katecholaminsynthese (Adrenalin, Noradrenalin) ist, lässt sich in jedem adrenergen Neuron Dopamin finden, welches auch zusammen mit Noradrenalin freigesetzt wird (DiBona & Kopp 1997). Aus diesem Grund ist der alleinige Nachweis dopaminhaltiger Neuronen kein Beweis für die Existenz funktioneller dopaminergerefferenzen in der Niere. Jedoch fanden auch Bell et al. in ihren Untersuchungen Hinweise darauf, dass es in der menschlichen Niere dopaminerge Neuronen gibt (Bell & Mann 1990).

Baines hingegen fand in seinen Versuchen Hinweise darauf, dass mit dem Urin ausgeschiedenes Dopamin neuraler Herkunft sein könnte (Baines 1982). Er schlug vor, dass bis zu 20% dieses Dopamins aus renalen Nerven stammt. Bestimmt wird die Menge des aus Nerven freigesetzten Dopamins durch den Salzhaushalt bzw. das Extrazellulärvolumen des Organismus, so dass bei niedrigem Salzgehalt kaum neurales Dopamin freigesetzt wird, bei Salzbelastung jedoch eine starke Dopamin-Sekretion stattfindet.

Durch Versuche mit dem spezifischen Dopamin-D₃-Rezeptor-Agonisten 7-OH-DPAT haben Luippold et al. gezeigt, dass auch der Dopamin-D₃-Rezeptor die tubuläre Funktion der Niere beeinflusst (Luippold et al. 1998): 7-OH-DPAT verursacht in SD-Tieren eine verringerte tubuläre Natrium-Rückresorption. Zusammen mit der bereits erwähnten GFR-Steigerung bewirkt dies eine deutliche Zunahme der Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung. Luippold konnte des Weiteren zeigen, dass für eine funktionelle D₃-Antwort eine intakte Innervierung der Niere notwendig ist; an chronisch denervierten SD-Tieren fiel die Reaktion auf 7-OH-DPAT deutlich schwächer aus (Luippold et al. 1999b).

Die Experimente an Dopamin-D₃-Rezeptor-knockout-Mäusen haben gezeigt, dass Tiere, denen der D₃-Rezeptor fehlt, auf eine akute Beladung mit Kochsalz nicht in gleichem Maße mit einer adäquaten Steigerung der Natriurese sowie Diurese reagieren können wie ihre Kontrolltiere (Asico et al. 1998). Dies unterstützt die Bedeutung des renalen dopaminergen Systems für die Reaktion auf Änderungen des Natrium- und Flüssigkeitshaushaltes. Außerdem wird ersichtlich, dass eine fehlende Steigerung der Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung entsprechend den Anforderungen über einen längeren Zeitraum eine Akkumulation von Natrium und Flüssigkeit verursachen und in einem vergrößerten Extrazellulärvolumen resultieren kann.

Die Vorbehandlung von SD-Tieren mit Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten erbrachte jedoch in den Stoffwechselkäfigversuchen der vorliegenden Arbeit keine

Unterschiede in der Reaktion auf eine akute Kochsalzbeladung im Vergleich mit unbehandelten Kontrolltieren. Alle Tiergruppen wiesen nach Ablauf der Versuche nahezu identische Werte für Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung auf, auch die Natrium- und Flüssigkeitsbilanzen wichen kaum voneinander ab. In früheren Versuchen unserer Arbeitsgruppe mit DR-Tieren, die mit den gleichen Dopamin- D_3 -Antagonisten vorbehandelt und den gleichen Versuchsbedingungen ausgesetzt worden waren, wurde eine Änderung der Ausscheidungsfunktion der Nieren beobachtet. Diese Tiere tendierten in ihrer Fähigkeit, die akute Kochsalzbeladung auszuscheiden, hin zu unbehandelten DS-Tieren (Luippold et al. 2001). Dass nun die vorbehandelten DS-Tiere keine Einschränkung ihrer Exkretionsfunktion zeigten, könnte wiederum daraus erklärt werden, dass möglicherweise der Ausfall des D_3 -Rezeptorsystems durch andere Dopamin-Rezeptoren kompensiert wurde. So wäre denkbar, dass z. B. über den Dopamin- D_1 -Rezeptor, der ebenfalls diuretische und natriuretische Effekte vermittelt, die nötige Anpassung der Nierenfunktion vorgenommen wurde.

Die Ergebnisse der Stoffwechselkäfigversuche mit denervierten und innervierten SD-Tieren werfen Fragen auf. Hier zeigten sich ja deutliche Unterschiede in der Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung unter Normalsalzernährung, die später unter der salzreichen Ernährung nicht mehr zu sehen waren. Erklären könnte man diese Beobachtung folgendermaßen: Durch die akute Denervierung kommt es, wie bereits erwähnt, zu einer Natriurese und Diurese und somit zu einer Verarmung des Organismus an Kochsalz und Flüssigkeit. Normalisiert sich in den darauffolgenden Tagen die Nierenfunktion, kommt es zu einer Retention von Natrium und Flüssigkeit, um den Salz-Wasser-Haushalt auszugleichen. Möglicherweise fielen die ersten Stoffwechselkäfigversuche noch in die Zeit dieser Ausgleichsphase, so dass von den DNX-Tieren mehr Natrium und Flüssigkeit retiniert wurde als von der Kontrollgruppe. Im Verlauf der Versuchsreihe nahmen die Unterschiede zwischen DNX-Gruppe und den Kontrolltieren auch immer mehr ab, schließlich waren auch hier keine Unterschiede mehr zu sehen.

Auch lieferten die Stoffwechselkäfigversuche mit denervierten und innervierten DR-Tieren keinen Hinweis auf unterschiedliche Reaktionen auf die akute Kochsalzbelastung. Auch hier wiesen die verschiedenen Tiergruppen fast vollkommen identische Ausscheidungswerte auf. Wodurch hier die uneingeschränkte Exkretion der Kochsalzbelastung vermittelt wird, ist unklar. Wird durch die Denervierung tatsächlich die Funktion des D_3 -Rezeptor-Systems eingeschränkt, wie durch die Arbeitshypothese gefordert, müssten erneut Kompensationsmechanismen greifen. Andererseits spricht die Entstehung der salz-abhängigen arteriellen Hypertonie bei diesen Tieren eher dafür, dass es zu einer Retention von Natrium und Flüssigkeit kommt, die in den Stoffwechselkäfigen jedoch nicht beobachtet werden konnte. Möglicherweise spielen sich die Unterschiede in der Exkretion auch in kleineren Größenordnungen ab, bereits wenige Prozent Abweichung in der Natriumbilanz wären für die Entstehung einer arteriellen Hypertonie durch Natriumretention ausreichend. Im Gegensatz zu dem von unserer Arbeitsgruppe gewählten zeitlichen Rahmen, in welchem in früheren Versuchen durchaus unterschiedliche Exkretionsverhalten beobachtet werden konnten, haben andere Arbeitsgruppen längere Versuchsperioden in Stoffwechselkäfigen vorgezogen. Damit wären feine Unterschiede leichter zu erkennen. Somit wäre die Durchführung der Stoffwechselkäfigversuche in geänderten zeitlichen Rahmenbedingungen sicherlich interessant und könnte die bisherigen Erkenntnisse ergänzen bzw. erhellen.

4.2.3 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Eines der zentralen Systeme zur Adaptation der Nierenfunktion an die situativen Erfordernisse ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). In seiner Funktion wird dieses System durch eine Vielzahl regulierender Einflüsse moduliert (s. Abschn. 1.3.2). Nachfolgend soll die mögliche Bedeutung des Dopamins für die Einstellung der Plasma-Renin-Aktivität (PRA) als Grundlage für dieses Regelsystem diskutiert werden.

In ihrer Arbeit an D₃-Rezeptor-knockout-Mäusen fanden Asico et al. bei diesen Tieren eine um ein Vielfaches erhöhte PRA im Vergleich mit den Wildtypmäusen (Asico et al. 1998). Die heterozygoten D₃(+/-)-Mäuse waren in ihrer PRA ebenfalls leicht erhöht. Dementsprechend ließ sich die arterielle Hypertonie, die bei den knockout-Mäusen eingetreten war, durch Gabe des AT₁-Rezeptor-Antagonisten Losartan senken. Aus diesen Ergebnissen schlossen sie, dass die beobachtete arterielle Hypertonie, hervorgerufen durch die Ausschaltung des D₃-Rezeptors, ursächlich auf die gesteigerte PRA zurückzuführen sei.

Dopamin ist über mindestens zwei Dopamin-Rezeptor-Subtypen an der Steuerung der Renin-Freisetzung beteiligt. O'Connell beschrieb mit immunhistochemischen Methoden D_{1A}-Rezeptoren in Zellen des juxtaglomerulären Apparates (JGA) (O'Connell et al. 1995). Kurtz et al. gelang es, an kultivierten juxtaglomerulären Zellen der Rattenniere zu zeigen, dass die Renin-Sekretion durch Aktivierung dieses D_{1A}-Rezeptors gesteigert wird (Kurtz et al. 1988). Diese Sekretion wird vermittelt durch ein dem D_{1A}-Rezeptor nachgeschaltetes stimulierendes G-Protein, das zu einem Anstieg der intrazellulären Konzentration an cAMP führt. Da für Rezeptoren der D₂-Unterfamilie postuliert wird, dass sie neben anderen Signalwegen über inhibitorische G-Proteine die intrazelluläre cAMP-Konzentration senken und somit zu einer verminderten Renin-Sekretion führen (MacDonald et al. 1988), wurde unter anderem auch von Asico vorgeschlagen, dass der D₃-Rezeptor die Renin-Inkretion drosselt und somit eine Senkung der PRA bewirkt (Asico et al. 1998). Lachowicz bezweifelt in seinem Review allerdings grundsätzlich eine Kopplung zwischen D₃-Rezeptor und der Adenylatzyklase (Lachowicz & Sibley 1997). Im Falle der knockout-Mäuse könnte dies jedoch die stark erhöhte PRA erklären, da der inhibitorische Effekt des Dopamin auf die Renin-Inkretion fehlt. Allerdings gelang es O'Connell im Gegensatz zu seiner früheren Arbeit über D₁-Rezeptoren nicht, Dopamin-D₃-Rezeptoren im JGA nachzuweisen (O'Connell et al. 1998), wodurch diese pathophysiologischen Überlegungen wieder an Aussagekraft verlieren. Eine weitere Arbeitsgruppe wiederum wies mit molekularbiologischen Studien nach, dass in Zellen des JGA sowohl die Gene für den

D₃- als auch für den D₄-Rezeptor exprimiert werden (Sanada et al. 1997). Daher ist es schwierig, eine definitive Antwort auf die Frage nach dem Vorkommen und der funktionellen Bedeutung der Rezeptoren der D₂-Unterfamilie im JGA zu geben.

Ganz im Gegensatz zu den Angaben von Asico über eine erhöhte PRA bei D₃-knockout-Mäusen stehen Daten von Iwai et al., die für salz-sensitive Dahl-Tiere eine verminderte PRA im Vergleich zu salz-resistenten Dahl-Tieren belegen (Iwai et al. 1973). Barker et al. fanden bei diesen DS-Tieren außerdem eine geringere Granulation der Zellen des JGA, was auf einen geringeren Gehalt an Renin hindeutet, wodurch wiederum eine geringere Renin-Sekretion und somit auch eine geringere PRA erklärt werden könnte (Barker et al. 1970). Denkbar wäre in diesem Fall, dass der bereits gesteigerte arterielle Blutdruck das RAAS negativ moduliert, um den Zustand der Hypertonie kompensieren zu können, was aber allein durch diese Maßnahme nicht gelingt. Hansell et al. konnten in einer Studie mit SD-Tieren zeigen, dass die natriuretische Wirkung von Dopamin stark vom Grad der Hypervolämie bzw. Hypernatriämie abhängt. Sie fanden, dass Dopamin bei starker Volumenexpansion für die Natriurese und Diurese eine untergeordnete Rolle spielt (Hansell & Fasching 1991). Es wäre denkbar, dass Dopamin nur bei normalen oder leicht erhöhten Hydratationszuständen die Sekretion von Renin beeinflusst. Somit wäre erklärbar, warum Iwai et al. eine erniedrigte PRA trotz des für DS-Tiere postulierten Defektes im dopaminergen System gefunden haben.

Versuche an denervierten und innervierten SD-Tieren, die salzreich ernährt worden waren, ergaben keinerlei Unterschiede in ihren PRA (Greenberg et al. 1991). Zwar wurde von den denervierten Tieren mehr Natrium retiniert, dies wurde aber offenbar nicht durch das RAAS bedingt.

In unserer Arbeitsgruppe konnten bei hypertensiven Tieren des salz-sensitiven Dahl-Stammes keine Differenzen der PRA verglichen mit den salz-resistenten Kontrolltieren festgestellt werden (Luippold et al. 2001), was erneut die Frage

nach der Bedeutung des Dopamin-D₃-Rezeptors für die arterielle Hypertonie dieses Tierstammes als auch für die Beeinflussung der PRA aufwarf. Jedenfalls scheint das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System keine entscheidende Rolle für diese Form der arteriellen Hypertonie zu spielen. Einschränkend muß jedoch angemerkt werden, dass die PRA einen nur wenig sensitiven Parameter für die Aktivität des RAAS darstellt. Genau genommen kann man auch gar nicht vom RAAS als solchem sprechen, da inzwischen bekannt ist, dass es in fast jeder Region des arteriellen Gefäßsystems lokale Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systeme gibt, die ganz spezifisch auf die lokalen Gegebenheiten und Anforderungen reagieren. Somit hängt die gemessene PRA jeweils stark von der an der jeweiligen Entnahmestelle herrschenden Aktivität des dortigen lokalen RAAS ab und kann nur bedingt eine Aussage über die Gesamtsituation im Organismus zulassen (Bader et al. 2001).

4.3 Dopamin und die Niere

Ohne Zweifel spielt Dopamin für die Funktion der Niere eine wichtige Rolle. Bis heute konnten in der Niere der Ratte Dopamin-D_{1A}- und Dopamin-D₃-Rezeptoren nachgewiesen werden (O'Connell et al. 1998; Gao et al. 1994) (s. Abschn. 4.2.1 und 4.2.2). Es wurde gezeigt, dass Dopamin, vermutlich über die Stimulation von D_{1A}-Rezeptoren, zu einer Vasodilatation in renalen Widerstandsgefäßen führt, woraus ein vermehrter renaler Blutfluss resultiert (Carey et al. 1990). Andere Autoren berichten, dass Agonisten am Dopamin-D_{1A}-Rezeptor im renalen Gefäßsystem keine hämodynamischen Wirkungen zeigen, so dass der renale Blutfluss unverändert bleibt (Siragy et al. 1989). Einigkeit herrscht darüber, dass über Dopamin-D_{1A}-Rezeptoren keine GFR-Veränderungen ausgelöst werden. Außerdem wird über Dopamin-D_{1A}-Rezeptoren die Rückresorption von Natrium im Tubulussystem gehemmt, wodurch eine Natriuresis und Diuresis entsteht (s. Abschn. 4.2.2).

Über Dopamin- D_3 -Rezeptoren kommt es im postglomerulären Stromgebiet zu einer Vasokonstriktion, wodurch sich der glomeruläre Filtrationsdruck erhöht (Luippold et al. 2000c). Zusätzlich zu dieser gesteigerten GFR wird durch D_3 -Rezeptoren die Funktion des Tubulussystems moduliert, es kommt zu einer verstärkten Diurese und Natriurese (Luippold et al. 1998). Allerdings ist der Wirkmechanismus, der für diese tubulären Effekte verantwortlich ist, noch nicht bekannt.

Dass D_{1A} - und D_3 -Rezeptoren in diesem Zusammenhang auch an der Pathogenese salz-abhängiger Hypertonieformen beteiligt sein könnten, wird aus dem Folgenden ersichtlich. Felder konnte zeigen, dass bei SHR und salz-sensitiven Dahltieren der natriuretische Effekt, vermittelt durch D_{1A} -Rezeptor-Aktivierung, deutlich vermindert ist (Felder et al. 2000). Dabei herrschte in diesen Versuchen eine normale Dopamin-Inkretion bei normaler Rezeptordichte, woraus geschlossen wurde, dass die fehlerhafte Funktion auf einen Defekt in der nachgeschalteten Signaltransduktion durch das G-Protein zu suchen sei. Versuche an D_3 -Rezeptor-knockout-Mäusen deuteten an, dass ein Fehlen des D_3 -Rezeptors mit einer verminderten Fähigkeit zur Natriumausscheidung einhergeht und in der Entstehung einer Hypertonie endet (Asico et al. 1998). Asico macht für die Entstehung dieser arteriellen Hypertonie eine vermehrte Plasma-Renin-Aktivität verantwortlich, die über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System Auswirkungen auf Salzhaushalt, Extrazellulärvolumen und Gefäßtonus hat. So soll der Dopamin- D_3 -Rezeptor im juxtaglomerulären Apparat die Sezernierung von Renin hemmen. Andere Autoren berichten, dass Dopamin über den Dopamin- D_{1A} -Rezeptor die Renin-Inkretion steigert (Kurtz et al. 1988; Yamaguchi et al. 1997).

Es stellt sich jedoch die Frage, ob die D_3 -Effekte lediglich auf postsynaptischen Signalen beruhen, wie es für D_{1A} -Rezeptoren bekannt ist, oder ob daneben noch eine präsynaptische Komponente von Bedeutung ist, da andere Rezeptoren der D_2 -Unterfamilie auf diesem Wege wirken (Rump et al. 1993b). Für diese Hypothese sprechen Versuche an denervierten und scheinoperierten SD-Tieren, die für

die denervierten Tiere eine deutlich schwächere Reaktion der Nierenfunktion auf eine Infusion von 7-OH-DPAT zeigen (Luippold et al. 1999b). Allerdings ist der Einfluss der Denervierung auf die renale Hämodynamik größer als auf die tubuläre Funktion, da nach 7-OH-DPAT-Infusion bei denervierten Tieren zwar noch eine leichte Steigerung des Urinvolumens sowie der absoluten und fraktionellen Natriumausscheidung als Indikator für die tubuläre Funktion zu sehen ist, die GFR jedoch unverändert bleibt. Möglicherweise handelt es sich bei den Rezeptoren, die die glomeruläre und die tubuläre Funktion beeinflussen, um unterschiedlich lokalisierte Typen, so dass man annehmen könnte, präsynaptische Rezeptoren in ihrer Funktion auszuschalten, während postsynaptische Rezeptoren zumindest einen Teil ihrer Funktion behalten. Dies setzt natürlich voraus, dass der natürliche Rezeptoragonist Dopamin weiterhin verfügbar ist, so dass erneut die Frage nach seiner Herkunft in der Niere aufkommt.

In der vorliegenden Arbeit wurde beobachtet, dass renal denervierte SD-Tiere über eine verminderte D_3 -Antwort hinaus, ähnlich wie Tiere des DS-Stammes, auf eine salzreiche Ernährung mit einem signifikant erhöhten systolischen Blutdruck reagieren. Da D_3 -knockout-Mäuse eine salz-abhängige Hypertonie entwickeln, sich also ähnlich verhalten wie denervierte SD-Ratten, liegt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um eine Reaktion auf eine fehlende Funktion des D_3 -Rezeptors nach Denervation handelt. Dies unterstützt erneut die Annahme, dass der Dopamin- D_3 -Rezeptor für eine normale Funktion eine intakte nervale Versorgung der Niere voraussetzt.

Weitergehende Versuche mit SD-Tieren, die mit zwei spezifischen Dopamin- D_3 -Rezeptor-Antagonisten behandelt (BSF 135170 sowie BSF 201640) und salzreich ernährt worden waren, führten allerdings nicht zu Änderungen im Blutdruck im Vergleich mit einer Vehikel-behandelten Kontrollgruppe, so dass man davon ausgehen muss, dass die Denervierung weitere Effekte zusätzlich zur Ausschaltung der D_3 -Rezeptor-Funktion hat. Falls das funktionell bedeutende Dopamin tatsächlich an Synapsen renaler Nervenendigungen freigesetzt wird, wäre auch

denkbar, dass durch die Denervierung die physiologische Fähigkeit zur Dopaminfreisetzung unter bestimmten Bedingungen verloren geht, so dass nicht nur die Funktion des Dopamin-D₃-Rezeptors, sondern möglicherweise auch des Dopamin D_{1A}-Rezeptors ausgeschaltet wird. In diesem Falle wäre auch zu erklären, warum die alleinige Antagonisierung der D₃-Rezeptoren nicht zu einem Hypertonus führt, während die renale Denervierung diesen hervorruft. Im Falle der D₃-Rezeptor-Antagonisten könnte noch eine Kompensation über die D_{1A}-Rezeptoren stattfinden. Um dies zu klären wäre es erforderlich, Versuche zur Funktionalität des D_{1A}-Rezeptors an denervierten Nieren durchzuführen.

Der Dopamin-D_{1A}-Rezeptor soll im proximalen Tubulus über ein G_s-Protein mit der Na⁺/K⁺-ATPase gekoppelt sein, die durch Aktivierung des Rezeptors gehemmt werden soll (Aperia et al. 1987). Das bedeutete, dass Dopamin über diesen Weg die tubuläre Rückresorption von Natrium drosselt. Der Na⁺/H⁺-Austauscher soll ebenfalls über die Aktivierung des Dopamin-D_{1A}-Rezeptors gehemmt werden, was gleichermaßen in einer verminderten Natrium-Rückresorption resultieren würde. Der D_{1A}-Rezeptor soll also genau wie der D₃-Rezeptor dazu führen, dass mehr Natrium und damit auch Flüssigkeit aus dem Organismus ausgeschieden wird.

Es ist bekannt, dass es zwischen den verschiedenen Dopamin-Rezeptoren zu Interaktionen kommt, wodurch die Einzeleffekte der jeweiligen Rezeptoren moduliert werden. So konnte gezeigt werden, dass für die Inhibition der Na⁺/K⁺-ATPase im proximalen Tubulus von Wistar-Kyoto-Ratten (WKY), der normotensiven Kontrollgruppe zu den spontanhypertensiven Ratten (SHR), sowohl D₁- als auch D₂-Rezeptoren stimuliert werden müssen. Die spezifische Stimulation einzelner Rezeptor-Subtypen reichte für eine Hemmung des Enzyms nicht aus (Bertorello & Aperia 1990). In weiteren Arbeiten wurde interessanterweise nachgewiesen, dass die alleinige Stimulation von D₂-ähnlichen Rezeptoren durch Quinpirol eine Antidiurese und Antinatriurese hervorruft, wohingegen die Costimulation von D₁- und D₂-Rezeptoren eine gegenüber alleiniger D₁-Rezeptor-Stimulation stärkere Diurese und Natriurese auslöst (Jose et al. 1998). Dies hat zu weiteren Untersu-

chungen über mögliche Rezeptorinteraktionen geführt. Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass die Interaktion von D₁- und D₂-Rezeptoren bei SHR gestört ist, wodurch eine verminderte Exkretion von Natrium und Flüssigkeit resultiert (Ladines et al. 2001). Da D₂-Rezeptoren, genauer der D₃-Rezeptor, auch für die Modulation der Renin-Sekretion aus dem JGA verantwortlich ist, kann sich die gestörte D₁-D₂-Interaktion ebenfalls auf das renale RAAS auswirken, was ein weiterer Grund für die Blutdruckentwicklung bei SHR zu sein scheint. In Zellkulturen des ZNS wurde zudem festgestellt, dass die Stimulation von D₁-Rezeptoren sowohl zur verstärkten Expression der D₁-Rezeptoren selbst als auch zur Hochregulierung der Dopamin-D₃-Rezeptor-Synthese führt (Levavi-Sivan et al. 1998). Falls dieser Zusammenhang auch für die Dopamin-Rezeptoren der Peripherie Geltung hat, wäre denkbar, dass ein defektes D₁-Rezeptorsystem, wie es für SHR und auch DS-Tiere beschrieben ist, direkte Auswirkungen auf das Dopamin-D₃-Rezeptor-System hat. Dadurch wäre möglicherweise auch die beobachtete verminderte D₃-Rezeptor-Expression in DS-Tiere zu erklären (Mühlbauer et al. 2000).

Überträgt man den Ansatz der renalen Denervierung auf salz-resistente Dahl-Tiere (DR), die im Gegensatz zu salz-sensitiven Dahl-Tieren (DS) unter salzreicher Ernährung normotensiv bleiben, zeigen sich hier sehr ähnliche Resultate. Genau wie denervierte SD-Tiere reagieren auch denervierte DR-Tiere unter salzreicher Ernährung mit einem signifikanten Blutdruckanstieg, der sogar noch deutlicher ausfällt als bei den SD-Tieren. Das bedeutet, dass die DR-Tiere nach Denervierung phänotypisch nahezu den DS-Tieren entsprechen. Interessant ist jedoch die Tatsache, dass Dahl durch Transplantation einer DR-Niere in eine hypertensive DS-Ratte hier eine Blutdrucksenkung erzeugen konnte, da die transplantierte Niere zwangsläufig denerviert wurde. Dieser Zusammenhang konnte bisher noch nicht geklärt werden. Andererseits kommt es mit der Zeit zu einer funktionellen Reinnervation, allerdings nicht vor der 12. Woche (Kline & Mercer 1980). Vorausgehende Versuche aus unserer Arbeitsgruppe erbrachten die gleichen Ergebnisse für DR-Tiere, die mit spezifischen D₃-Rezeptor-Antagonisten

behandelt und salzreich ernährt worden waren (Luippold et al. 2001). Das bedeutet, dass bei Tieren des DR-Stammes die Denervierung sowie die Blockade des D_3 -Rezeptors einer Änderung des Phänotyps hin zu DS-Tieren entspricht. Beide experimentellen Ansätze führen zu einer salz-induzierten arteriellen Hypertonie, wie sie für DS-Tiere etabliert ist.

Auffallend ist die Diskrepanz zwischen den Beobachtungen der beiden Rattenstämme SD und DR. Bei beiden lässt sich durch renale Denervierung eine salz-abhängige Hypertonie auslösen, die pharmakologische Blockade der D_3 -Rezeptoren verursacht jedoch nur bei DR-Tieren eine Veränderung im Blutdruck. Wie bereits erwähnt, wäre denkbar, dass durch die renale Denervierung eine Quelle für funktionell bedeutendes Dopamin ausgeschaltet wird, so dass mögliche Kompensationsmechanismen über andere Dopamin-Rezeptor-Systeme (z. B. D_{1A} -Rezeptor, s. o.) nicht mehr greifen können, da auch ihr Agonist fehlt. Bei pharmakologischer Blockade der D_3 -Rezeptoren könnte bei SD-Tieren in der Niere vorhandenes Dopamin weiterhin z.B. über den D_{1A} -Rezeptor für eine ausreichende Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung sorgen. Geht man allerdings davon aus, dass Dopamin auf nicht-neuronalem Wege an seine Wirkorte in der Niere gelangt, so dass die renale Denervierung keinen Einfluss auf die Dopaminbereitstellung hat, bleibt die Erklärung für dieses DR-spezifische Phänomen der salz-induzierten Hypertonieentwicklung unter D_3 -Blockade vorerst offen. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre erneut die Interaktion zwischen D_{1A} - und D_3 -Rezeptor. Zu untersuchen wäre hier, ob bei DR-Tieren eine normale Interaktion zwischen diesen beiden Rezeptor-Subtypen vorliegt.

Zusätzlich dazu ist bekannt, dass Tiere des Dahl-Stammes von Grund auf eine Disposition zu einer fehlerhaften Nierenfunktion und damit Blutdruckregulation besitzen, die durch Einflussnahme auf den Dopamin- D_3 -Rezeptor bei den DR-Tieren demaskiert wird (s. Abschn. 4.2.1). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass bei DS-Tieren von vornherein bereits eine fehlerhafte Funktion des renalen Dopamin-Systems besteht. Unter normaler Ernährung zeigen prähypertensive

DS-Tiere auf die Gabe von 7-OH-DPAT keine GFR-Veränderung, wie sie bei SD-Tieren und auch bei DR-Tieren zu sehen ist. Auch die Diurese und Natriurese fallen geringer aus. Frühere Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe belegten anhand vergleichend quantitativer Bestimmung der Dopamin-D₃-Rezeptor mRNA aus Nieren junger Dahl-R- und Dahl-S-Tiere, dass die Expression des D₃-Rezeptors in DS-Tieren ca. 60% geringer ausfällt (Mühlbauer et al. 2000). Diese Beobachtung hat allerdings nicht notwendigerweise eine funktionelle Bedeutung, da unter physiologischen Bedingungen nicht alle vorhandenen Rezeptoren besetzt werden müssen, um die entsprechenden Reaktionen zu erhalten. Außerdem befinden sich möglicherweise auch D₃-Rezeptoren in Vesikeln im Zellinneren, die als Vorrat dienen. Es ist jedoch bemerkenswert, dass den molekularbiologischen Ergebnissen der verminderten Rezeptorexpression tatsächlich ein funktioneller Unterschied gleichkommt. Ob diese Tatsache alleine allerdings die genetische Prädisposition der Dahl-S-Tiere zur salz-abhängigen Hypertension darstellt, kann bisher nicht endgültig beantwortet werden.

Um diesen möglichen Defekt im dopaminergen System der DS-Tiere in der vorliegenden Arbeit weiter zu untersuchen, wurden die Versuchsergebnisse der SD- und DR-Tiere auf DS-Tiere übertragen. Gemessen wurde die Blutdruckentwicklung von mit spezifischen D₃-Antagonisten behandelten Tieren zum einen und mit chronisch denervierten Tieren zum anderen, wobei beiden Gruppen eine Vehikel-behandelte Kontrollgruppe gegenübergestellt wurde. Hier zeigte sich, dass alle drei Gruppen erwartungsgemäß unter salzreicher Ernährung signifikant erhöhte Blutdruckwerte entwickelten, wobei interessanterweise weder die Unterbrechung der renalen Nervenversorgung noch die Blockade der Dopamin-D₃-Rezeptoren zu einem zusätzlichen Anstieg des Blutdrucks gegenüber der Kontrollgruppe führte. Es war allerdings zu beobachten, dass sowohl die vorbehandelten als auch die denervierten Tiere von niedrigeren basalen Blutdruckwerten ausgegangen sind und somit einen prozentual stärkeren Blutdruckanstieg zeigten. Allerdings ist unklar, wodurch die niedrigeren Ausgangswerte zustandekommen, da sowohl die Denervierung als auch die Antagonisierung des D₃-Rezeptors aufgrund der

diskutierten Hypothese zu einer verminderten Exkretion von Natrium und Flüssigkeit und somit zu einem Anstieg des Blutdrucks führen sollten. Trotzdem könnten diese Ergebnisse darauf hinweisen, dass bei den DS-Tieren ein funktioneller Defekt am Dopamin-D₃-Rezeptor vorliegt, da durch dessen Antagonisierung keine funktionelle Änderung zu beobachten ist. Diese Hypothese wird auch von Daten unterstützt, die zeigen, dass die genetische Information für den Dopamin-D₃-Rezeptor in Nieren salz-sensitiver Dahl-Tiere um ca. 60% weniger in mRNA transskribiert wird als bei salz-resistenten Dahl-Tieren (Mühlbauer et al. 2000). Da die mRNA die Grundlage für die Proteinsynthese darstellt, könnte auch eine deutlich niedrigere Zahl an Dopamin-D₃-Rezeptoren vorhanden sein.

Asico et al. beobachteten in ihren Versuchen, dass zwischen D₃-knockout-Mäusen und ihren Kontrolltieren keine Unterschiede hinsichtlich des Katecholamin-/Noradrenalinsgehalts im Nierengewebe besteht, d. h. das Fehlen des Dopamin-D₃-Rezeptors verursacht keine vermehrte Noradrenalin-Aktivität in der Niere (Asico et al. 1998). Aus ihren Ergebnissen schlossen sie daher, dass der Dopamin-D₃-Rezeptor zumindest bei der Maus nicht wesentlich an der Modulation der sympathischen Aktivität beteiligt ist, auch wenn für ihn eine präsynaptische Lokalisation an autonomen Synapsen diskutiert wird. Welche Bedeutung die sympathische Versorgung für die Funktion der Nieren und damit über diesen Weg für die Blutdruckregulation besitzt, wird im Folgenden erörtert.

4.4 Noradrenalin und das sympathische Nervensystem

Von einiger Bedeutung für die Funktion der Niere ist das vegetative Nervensystem. Die Niere wird jedoch nur von sympathischen Nervenfasern versorgt, für die Existenz parasympathischer Efferenzen gibt es keine Beweise. DiBona schloss eine funktionell bedeutende cholinerge Innervation der Rattenniere sogar ganz aus (DiBona & Kopp 1997). Die Nervenfasern verlaufen entlang der arteriellen Nierengefäße, hier vor allem in einem Geflecht um die Nierenarterie. Al-

lerdings ist nicht auszuschließen, dass auch entlang des Ureters sympathische Bahnen zur Niere ziehen. Über die sympathischen Efferenzen wird zusammen mit den zahlreichen anderen Mechanismen die Ausscheidungsfunktion der Niere an die jeweiligen Gegebenheiten hinsichtlich Hydratationszustand und Elektrolythaushalt angepasst, so dass die Homöostase von Volumen und Elektrolyten (Säuren / Basen) aufrechterhalten wird. Durch Stimulierung efferenter sympathischer renaler Nervenfasern wird die Funktion des Tubulussystems moduliert, wobei die renale Hämodynamik und die GFR unverändert bleiben (Bello-Reuss et al. 1976). In verschiedenen Abschnitten des Tubulussystems wird die Rückresorption von Natrium und Wasser verstärkt, es kommt zu einer Antinatriurese und Antidiurese. Da GFR und RBF nicht verändert werden, bedeutet dies, dass nicht die Nierengefäße, sondern direkt das Tubulussystem beeinflusst wird (Barajas & Muller 1973). Dies wurde durch Versuche untermauert, die gezeigt haben, dass diese Effekte unabhängig von einem intakten Renin-Angiotensin-Aldosteron-System bzw. einem Prostaglandin-System sind (DiBona 1977).

Die Aktivität der sympathischen Fasern hängt vom Zustand der Hydratation und des Natriumbestandes des Körpers ab. Physiologisch gesehen herrscht eine starke Aktivität im Zustand der Hypovolämie und Hyponatriämie, während bei Volumenexpansion und Natriumbeladung die sympathischen Efferenzen unterdrückt werden (DiBona & Sawin 1985). Vor diesem Hintergrund ist es verständlich, dass es, wie Bello-Reuss berichtet (Bello-Reuss et al. 1975), nach akuter renaler Denervierung normovolämischer narkotisierter Ratten zu einer deutlichen Diurese und Natriurese kommt, da die durch den sympathischen Grundtonus vermittelte Rückresorption von Natrium und Flüssigkeit vermindert ist. Interessanterweise konnten Greenberg et al. (Greenberg et al. 1991) zeigen, dass renal denervierte Tiere gegenüber innervierten Kontrollen in ihrer Fähigkeit deutlich gemindert sind, auf eine akute Natriumbeladung mit einer adäquaten Natriurese zu reagieren. Über einen Zeitraum von 72 Stunden retinierten diese Tiere etwa doppelt so viel Kochsalz wie die Kontrolltiere, wobei die Unterschiede erst nach etwa 24-36 Stunden deutlich wurden. Betrachtet man isoliert das sympathische

System, würde man jedoch erwarten, dass ohne den adrenergen Stimulus zur Resorption von Natrium und Volumen eine vermehrte Natriurese und Diurese stattfinden sollte. Da genau das Gegenteil der Fall ist, wird vielmehr die diskutierte Hypothese gestützt, dass durch die Denervierung die Funktionalität des dopaminergen Systems eingeschränkt wird, das ebenfalls für die Volumen- und Elektrolythomöostase unter der Bedingung der Salzbeladung verantwortlich ist. Bedenkt man außerdem, dass es im Rahmen einer Natriumretention ebenfalls zu einer Retention von Flüssigkeit in der Niere kommt, würde man zusätzlich eine Expansion des Extrazellulärvolumens erwarten, die von Greenberg allerdings nicht beobachtet werden konnte. Hinsichtlich der Renin-Aktivität im Plasma konnte diese Arbeitsgruppe ebenfalls keine Unterschiede zwischen denervierten und innervierten Tieren feststellen.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Blutdruckmessungen an SD- und Dahl-Tieren unter salzreicher Ernährung, bei denen ein Anstieg des systolischen Blutdrucks gesehen werden konnte, scheinen diese Möglichkeit allerdings zu unterstützen, da der erhöhte Blutdruck wie eingangs erwähnt durch ein erhöhtes Extrazellulärvolumen bedingt sein kann. Der Anstieg über mehrere Tage im Vergleich zu den innervierten Kontrolltieren spricht auch dafür, dass der Unterschied in der Natriumretention wie erwähnt erst nach 24 Stunden zum Ausdruck kommt, so dass es frühestens in diesem Zeitraum zu einer Vermehrung des Natriumbestandes kommt. Zu klären bleibt die Frage, ob der durch die renale Denervierung entstandene Effekt ursächlich auf eine fehlende sympathische Efferenz zurückzuführen ist oder auf eine Ausschaltung des Dopamin-D₃-Rezeptor-Systems, das seinerseits regulierenden Einfluss auf die Nierenfunktion nimmt. Tatsache ist, dass Effekte, die auf die Aktivierung von Dopamin-D₃-Rezeptoren zurückzuführen sind, an denervierten Nieren nicht auszulösen sind. Dieses erhärtet die Vermutung, dass ein Dopamin-D₃-Rezeptor existiert, dessen Funktionalität von der intakten renalen Innervierung abhängt. In Versuchen mit Dopamin-D₃-Rezeptor-Antagonisten (Luippold et al. 2001) wurden die gleichen Effekte gesehen wie in den vorliegenden Versuchen mit renaler Denervierung,

was ebenfalls für diese Vermutung spricht.

In Analogie dazu stehen Daten von Rump et al. (Rump et al. 1993b), die belegen, dass durch Aktivierung präsynaptisch lokalisierter Dopamin-D₂-Rezeptoren, die wie die D₃-Rezeptoren zur D₂-Unterfamilie zählen, die Ausschüttung von Noradrenalin aus sympathischen Nervenendigungen gehemmt wird. Ebenso wäre denkbar, dass auch präsynaptisch lokalisierte D₃-Rezeptoren ähnlichen Einfluss auf die NA-Freisetzung haben. Allerdings scheint auch die Vermutung plausibel zu sein, dass durch die Denervierung eine Quelle für funktionelles Dopamin ausgeschaltet wird, so dass auch postsynaptische Rezeptoren an Funktion verlieren, da ihr Agonist fehlt (s.a. Abschn. 4.3). Es ist also weiterhin zu klären, welcher Effektor-Weg des D₃-Rezeptors ausschlaggebend für eine physiologische Nierenfunktionsregulierung ist. Fest steht, dass die intakte renale Nervenversorgung eine Voraussetzung für ein funktionsfähiges Dopamin-D₃-Rezeptor-System ist.

4.5 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die renalen Nerven bei SD-Tieren und bei Tieren des Dahl-Stammes eine wichtige Funktion für die Blutdruckregulation haben. Im Gegensatz zu den meisten anderen Hypertonie-Tiermodellen entsteht hier durch die Durchtrennung der renalen Nerven die Disposition zur salz-abhängigen arteriellen Hypertonie.

Da in anderen Versuchen vermutet wurde, dass Defekte im Dopamin-D₃-Rezeptor ebenfalls maßgeblich an der Entstehung der arteriellen Hypertonie beteiligt sind und dass der Dopamin-D₃-Rezeptor in seiner Funktion von der intakten renalen Innervierung abhängt, wurde argumentiert, dass die Durchtrennung der renalen Nerven möglicherweise durch das Ausschalten des Dopamin-D₃-Rezeptor-Systems zur arteriellen Hypertonie führt.

Ferner stand zur Diskussion, über welche Mechanismen SD-Tiere trotz Dopamin- D_3 -Rezeptor-Blockade eine erhöhte Salzbelastung kompensieren und somit einen normalen Blutdruck erhalten können. Da DR-Tiere dies nicht bewerkstelligen können, wurde auch hier über mögliche prädisponierende Faktoren berichtet.

Es bleiben jedoch weiterhin einige Fragen offen. Es ist nicht abschließend geklärt, aus welchen Quellen das die Nierenfunktion modulierende Dopamin tatsächlich stammt. Gesichert ist auch noch nicht, ob tubulär ausgeschiedenes Dopamin tatsächlich von funktioneller Bedeutung ist, zumal viele Beobachtungen dagegen sprechen. Dass das renal wirksame Dopamin aus renalen Nerven freigesetzt wird, scheint aufgrund der aktuellen Datenlage unwahrscheinlich zu sein.

Eng mit der Herkunft des renalen Dopamins verbunden ist die Frage nach der definitiven Lokalisation der Dopamin- D_3 -Rezeptoren. Sind sie nun in ihrer Mehrheit präsynaptisch oder postsynaptisch vorhanden oder sind beide Lokalisationen in ähnlichem Maße vertreten? Es gibt durchaus Hinweise, die beide Möglichkeiten unterstützen. Vermutlich lassen sich jedoch sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisierte Dopamin- D_3 -Rezeptoren finden, welche beide an der Regulation der verschiedenen Nierenfunktionsparameter beteiligt sind.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese überprüft, ob sich bei bestimmten Tiermodellen durch die Durchtrennung der renalen Nerven eine salz-abhängige arterielle Hypertonie auslösen lässt und ob dafür möglicherweise eine Störung im renalen Dopamin-D₃-Rezeptor-System verantwortlich ist.

Bei normalen SD-Tieren ließ sich durch renale Denervierung eine salz-induzierte Hypertonie auslösen. Da bereits bekannt war, dass nach renaler Denervierung nur noch eine eingeschränkte Funktionalität des Dopamin-D₃-Rezeptors besteht, wurde überprüft, ob auch die alleinige pharmakologische Blockade des D₃-Rezeptors eine arterielle Hypertonie auszulösen vermag. Dies war jedoch nicht der Fall, da eine genügende Natrium- und Flüssigkeitsausscheidung über Kompensationsmechanismen erreicht werden konnte. Über die genaue Art dieser Mechanismen konnten lediglich begründete Vermutungen dargelegt werden, diese müssen in weiteren Studien geklärt werden.

Auch bei DR-Tieren ließ sich durch renale Denervierung und Salzbeladung eine arterielle Hypertonie erzeugen, so dass diese denervierten Tiere phänotypisch DS-Tieren entsprachen. Da hier auch die pharmakologische D₃-Blockade zu einer Hypertonie führte, scheinen hier renale Defekte vorzuliegen, die eine Kompensation unmöglich machen. Auch über diese möglichen Defekte gibt es noch keine eindeutigen Erkenntnisse.

Schließlich wurde überprüft, ob die renale Denervierung bzw. die selektive Dopamin-D₃-Rezeptor-Blockade die salz-induzierte Hypertonie von DS-Tieren noch weiter beeinflussen kann. Da keine Veränderungen in der Blutdruckentwicklung im Vergleich mit den unbehandelten Tieren zu beobachten war, scheint bei diesen Tieren das Dopamin-D₃-Rezeptor-System bereits zum größten Teil ohne Funktion zu sein.

Überraschenderweise konnten in den Stoffwechselläufigversuchen keine relevanten Unterschiede im Natrium- und Flüssigkeitshaushalt zwischen innervierten, denervierten und vorbehandelten Tieren gesehen werden. Falls es tatsächlich durch die Salzbeladung unter den verschiedenen Bedingungen zu einer Retention von Natrium und Flüssigkeit und somit zu einer Vergrößerung des Extrazellulärvolumens kommt, muss es sich um chronische Effekte handeln. Die Veränderungen im Salz-Wasserhaushalt könnten akut von so geringem Ausmaß sein, dass sie mit den verwendeten Methoden nicht erfasst wurden.

6. ANHANG

6.1 Literaturverzeichnis

- Albrecht, F. E., Drago, J., Felder, R. A., Printz, M. P., Eisner, G. M., Robillard, J. E., Sibley, D. R., Westphal, H. J. & Jose, P. A. 1996. Role of the D1A dopamine receptor in the pathogenesis of genetic hypertension. *J.Clin.Invest.* 97: 2283-2288.
- Alexander, R. W., Gill, J. R., Jr., Yamabe, H., Lovenberg, W. & Keiser, H. R. 1974. Effects of dietary sodium and of acute saline infusion on the interrelationship between dopamine excretion and adrenergic activity in man. *J.Clin.Invest.* 54: 194-200.
- Andersen, P. H., Gingrich, J. A., Bates, M. D., Dearry, A., Falardeau, P., Senogles, S. E. & Caron, M. G. 1990. Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification. *Trends Pharmacol.Sci.* 11: 231-236.
- Aperia, A., Bertorello, A. & Seri, I. 1987. Dopamine causes inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity in rat proximal convoluted tubule segments. *Am.J.Physiol* 252: F39-F45.
- Asico, L. D., Ladines, C., Fuchs, S., Accili, D., Carey, R. M., Semeraro, C., Pochiari, F., Felder, R. A., Eisner, G. M. & Jose, P. A. 1998. Disruption of the dopamine D3 receptor gene produces renin-dependent hypertension. *J.Clin.Invest* 102: 493-498.
- Bader, M., Peters, J., Baltatu, O., Muller, D. N., Luft, F. C. & Ganten, D. 2001. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. *J.Mol.Med* 79: 76-102.
- Baines, A. D. 1982. Effects of salt intake and renal denervation on catecholamine catabolism and excretion. *Kidney Int.* 21: 316-322.
- Baines, A. D. & Chan, W. 1980. Production of urine free dopamine from DOPA; a micropuncture study. *Life Sci.* 26: 253-259.
- Baines, A. D. & Drangova, R. 1986. Neural not tubular dopamine increases glomerular filtration rate in perfused rat kidneys. *Am.J.Physiol.* 250: F674-F679.
- Ball, S. G. & Lee, M. R. 1977. Increased urinary dopamine in salt loaded rats. *Clin.Sci.Mol.Med.* 52: 20p-21p.

- Barajas, L. & Muller, J. 1973. The innervation of the juxtaglomerular apparatus and surrounding tubules: a quantitative analysis by serial section electron microscopy. *J.Ultrastruct.Res.* 43: 107-132.
- Barili, P., Ricci, A., Baldoni, E., Mignini, F. & Amenta, F. 1997. Pharmacological characterisation and autoradiographic localisation of a putative dopamine D3 receptor in the rat kidney. *Eur.J.Pharmacol.* 338: 89-95.
- Barker, D. M., Sutherland, L. E., Jaffe, D. & Dahl, L. D. 1970. Effects of chronic excess salt ingestion. Juxtaglomerular granulation in kidneys of rats with differing genetic susceptibilities to hypertension. *Arch.Pathol.* 89: 247-258.
- Bell, C. & Mann, R. 1990. Identification of dopaminergic nerves in humans. *Am.J.Hypertens.* 3: 4S-6S.
- Bello-Reuss, E., Colindres, R. E., Pastoriza-Munoz, E., Mueller, R. A. & Gottschalk, C. W. 1975. Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. *J.Clin.Invest.* 56: 208-217.
- Bello-Reuss, E., Higashi, Y. & Kaneda, Y. 1982. Dopamine decreases fluid reabsorption in straight portions of rabbit proximal tubule. *Am.J.Physiol.* 242: F634-F640.
- Bello-Reuss, E., Trevino, D. L. & Gottschalk, C. W. 1976. Effect of renal sympathetic nerve stimulation on proximal water and sodium reabsorption. *J.Clin.Invest.* 57: 1104-1107.
- Bellomo, R., Chapman, M., Finfer, S., Hickling, K., Myburgh, J. 2000. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. Australian and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Clinical Trials Group. *Lancet* 356: 2139-2143.
- Bertorello, A. & Aperia, A. 1990. Inhibition of proximal tubule Na(+)-K(+)-ATPase activity requires simultaneous activation of DA1 and DA2 receptors. *Am.J.Physiol.* 259: F924-F928.
- Bertorello, A., Hokfelt, T., Goldstein, M. & Aperia, A. 1988. Proximal tubule Na+-K+-ATPase activity is inhibited during high-salt diet: evidence for DA-mediated effect. *Am.J.Physiol.* 254: F795-F801.
- Bright, R. 1836. Classics in arterial hypertension. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, IL.

- Carey, R. M., Siragy, H. M., Ragsdale, N. V., Howell, N. L., Felder, R. A., Peach, M. J. & Chevalier, R. L. 1990. Dopamine-1 and dopamine-2 mechanisms in the control of renal function. *Am.J.Hypertens.* 3: 59S-63S.
- Chabert, C., Cavegn, C., Bernard, A. & Mills, A. 1994. Characterization of the functional activity of dopamine ligands at human recombinant dopamine D4 receptors. *J.Neurochem.* 63: 62-65.
- Colville, M., Liu, L. X., Burgess, G. D., Crawford, D. R., Sibley, D. R. & Chiodo, L. A. 1994. D₄ dopamine receptors inhibit a voltage-dependent potassium current in N18TG2 X mesencephalic cell (MES-25) hybrid. *Soc.Neurosci.Abs.* 20, 523.
- Cowley-AW, J. 1992. Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol.Rev.* 72: 231-300.
- Da Prada, M. & Zürcher 1976. Simultaneous radioenzymatic determination of plasma and tissue adrenaline, noradrenaline and dopamine within the femtomole range. *Life Sci.* 19: 1161-1174.
- Dahl, L. K. 1961. Effects of chronic excess salt feeding. Induction of self-sustaining hypertension in rats. *J.Exp.Med.* 115: 1173.
- Dahl, L. K. & Heine, M. 1975. Primary role of renal homografts in setting chronic blood pressure levels in rats. *Circ.Res.* 36: 692-696.
- Dal Toso, R., Sommer, B., Ewert, M., Herb, A., Pritchett, D. B., Bach, A., Shivers, B. D. & Seeburg, P. H. 1989. The dopamine D2 receptor: two molecular forms generated by alternative splicing. *EMBO J* 8: 4025-4034.
- DiBona, G. F. 1977. Neurogenic regulation of renal tubular sodium reabsorption. *Am.J.Physiol.* 233: F73-F81.
- DiBona, G. F. & Kopp, U. 1997. Neural control of renal function. *Physiol.Rev.* 77: 75-197.
- DiBona, G. F. & Sawin, L. L. 1985. Renal nerve activity in conscious rats during volume expansion and depletion. *Am.J.Physiol.* 248: F15-F23.
- Dinerstein, R. J., Vannice, J., Henderson, R. C., Roth, L. J., Goldberg, L. I. & Hoffmann, P. C. 1979. Histofluorescence techniques provide evidence for dopamine-containing neuronal elements in canine kidney. *Science* 205: 497-499.

-
- Felder, C. C., Blecher, M. & Jose, P. A. 1989. Dopamine-1-mediated stimulation of phospholipase C activity in rat renal cortical membranes. *J.Biol.Chem.* 264: 8739-8745.
- Felder, C. C., Campbell, T., Albrecht, F. & Jose, P. A. 1990a. Dopamine inhibits Na(+)-H⁺ exchanger activity in renal BBMV by stimulation of adenylate cyclase. *Am.J.Physiol.* 259: F297-F303.
- Felder, R. A., Eisner, G. M. & Jose, P. A. 2000. D1 dopamine receptor signalling defect in spontaneous hypertension. *Acta Physiol.Scand.* 168: 245-250.
- Felder, R. A., Seikaly, M. G., Cody, P., Eisner, G. M. & Jose, P. A. 1990b. Attenuated renal response to dopaminergic drugs in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 15: 560-569.
- Gao, D. Q., Canessa, L. M., Mouradian, M. M. & Jose, P. A. 1994. Expression of the D2 subfamily of dopamine receptor genes in kidney. *Am.J.Physiol.* 266: F646-F650.
- Gesek, F. A. & Schoolwerth, A. C. 1990. Hormonal interactions with the proximal Na(+)-H⁺ exchanger. *Am.J.Physiol.* 258: F514-F521.
- Gill, J. R., Jr., Gullner, G., Lake, C. R., Lakatua, D. J. & Lan, G. 1988. Plasma and urinary catecholamines in salt-sensitive idiopathic hypertension. *Hypertension* 11: 312-319.
- Giros, B., Martres, M. P., Sokoloff, P. & Schwartz, J. C. 1990. Gene cloning of human dopaminergic D3 receptor and identification of its chromosome. *C.R.Acad.Sci.III* 311: 501-508.
- Giros, B., Sokoloff, P., Martres, M. P., Riou, J. F., Emorine, L. J. & Schwartz, J. C. 1989. Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature* 342: 923-926.
- Goldberg, L. I., Volkman, P. H. & Kohli, J. D. 1978. A comparison of the vascular dopamine receptor with other dopamine receptors. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 18: 57-79.
- Goldstein, D. S., Stull, R., Eisenhofer, G. & Gill, J. R., Jr. 1989. Urinary excretion of dihydroxyphenylalanine and dopamine during alterations of dietary salt intake in humans. *Clin.Sci.(Colch.)* 76: 517-522.
- Greenberg, S. G., Tershner, S. & Osborn, J. L. 1991. Neurogenic regulation of rate of achieving sodium balance after increasing sodium intake. *Am.J.Physiol.* 261: F300-F307.

- Grossman, E., Hoffman, A., Chang, P. C., Keiser, H. R. & Goldstein, D. S. 1990. Increased spillover of dopa into arterial blood during dietary salt loading. *Clin.Sci.(Colch.)* 78: 423-429.
- Guyton, A. C. 1991. Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. *Science* 252: 1813-1816.
- Hansell, P. 1995. In vivo evidence for a defect in the dopamine DA1 receptor in the prehypertensive Dahl salt-sensitive rat. *Exp.Nephrol.* 3: 15-22.
- Hansell, P. & Fasching, A. 1991. The effect of dopamine receptor blockade on natriuresis is dependent on the degree of hypervolemia. *Kidney Int.* 39: 253-258.
- Hegde, S. S., Jadhav, A. L. & Lokhandwala, M. F. 1989. Role of kidney dopamine in the natriuretic response to volume expansion in rats. *Hypertension* 13: 828-834.
- Hussain, T. & Lokhandwala, M. F. 1998. Renal dopamine receptor function in hypertension. *Hypertension* 32: 187-197.
- Imura, O. & Shimamoto, K. 1990. Suppressed dopaminergic activity and water-sodium handling in the kidneys at the prehypertensive stage of essential hypertension. *J.Auton.Pharmacol.* 10 Suppl 1: s73-s77.
- Iwai, J., Dahl, L. K. & Knudsen, K. D. 1973. Genetic influence on the renin-angiotensin system: low renin activities in hypertension-prone rats. *Circ.Res.* 32: 678-684.
- Jose, P. A., Asico, L. D., Eisner, G. M., Pocchiari, F., Semeraro, C. & Felder, R. A. 1998. Effects of costimulation of dopamine D1- and D2-like receptors on renal function. *Am.J.Physiol.* 275: R986-R994.
- Jose, P. A., Raymond, J. R., Bates, M. D., Aperia, A., Felder, R. A. & Carey, R. M. 1992. The renal dopamine receptors. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2: 1265-1278.
- Katholi, R. E., Naftilan, A. J. & Oparil, S. 1980. Importance of renal sympathetic tone in the development of DOCA-salt hypertension in the rat. *Hypertension* 2: 266-273.
- Kawasaki, T., Delea, C. S., Bartter, F. C. & Smith, H. 1978. The effect of high-sodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. *Am.J.Med.* 64: 193-198.

- Kebabian, J. W. & Calne, D. B. 1979. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277: 93-96.
- Kellum, J.A. & Decker, J. 2001. Use of dopamine in acute renal failure: a meta-analysis. *Crit.Care Med.* 29: 1526-1531.
- Kline, R. L., Kelton, P. M. & Mercer, P. F. 1978. Effect of renal denervation on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 56: 818-822.
- Kline, R. L. & Mercer, P. F. 1980. Functional reinnervation and development of supersensitivity to NE after renal denervation in rats. *Am.J.Physiol.* 238: R353-R358.
- Kopin, I. J. 1972. Metabolic degradation of catecholamines. The relative importance of different pathways under physiological conditions and after administration of drugs. In Blascko, H. K. F. & Muscholl, E. (Eds) *Handbuch der Experimentellen Pharmakologie* (pp. 271-282). Berlin: Springer-Verlag.
- Kopp, U., Bradley, T. & Hjemdahl, P. 1983. Renal venous outflow and urinary excretion of norepinephrine, epinephrine, and dopamine during graded renal nerve stimulation. *Am.J.Physiol.* 244: E52-E60.
- Krämer, B. K. 1998. Primäre arterielle Hypertonie. In Classen, M., Diehl, V. & Kochsiek, K. (Eds) *Innere Medizin* (pp. 1217-1227). München: Urban & Schwarzenberg.
- Kurtz, A., Della, B. R., Pratz, J. & Caverio, I. 1988. Rat juxtaglomerular cells are endowed with DA-1 dopamine receptors mediating renin release. *J.Cardio-vasc.Pharmacol.* 12: 658-663.
- Lachowicz, J. E. & Sibley, D. R. 1997. Molecular characteristics of mammalian dopamine receptors. *Pharmacol.Toxicol.* 81: 105-113.
- Ladines, C. A., Zeng, C., Asico, L. D., Sun, X., Pocchiari, F., Semeraro, C., Pignogna, J., Wank, S., Yamaguchi, I., Eisner, G. M. & Jose, P. A. 2001. Impaired renal D(1)-like and D(2)-like dopamine receptor interaction in the spontaneously hypertensive rat. *Am.J.Physiol.Regul.Integr.Comp.Physiol.* 281: R1071-R1078.
- Laville, M. 2002. Review: Low-dose dopamine does not prevent acute renal failure or reduce mortality or need for hemodialysis. *ACP J.Club* 136: 3.
- Lee, M. R. 1982. Dopamine and the kidney. *Clin.Sci.(Colch.)* 62: 439-448.

- Levavi-Sivan, B., Park, B. H., Fuchs, S. & Fishburn, C. S. 1998. Human D3 dopamine receptor in the medulloblastoma TE671 cell line: cross-talk between D1 and D3 receptors. *FEBS Lett.* 439: 138-142.
- Li, X. X., Bek, M., Asico, L. D., Yang, Z., Grandy, D. K., Goldstein, D. S., Rubinstein, M., Eisner, G. M. & Jose, P. A. 2001. Adrenergic and endothelin B receptor-dependent hypertension in dopamine receptor type-2 knockout mice. *Hypertension* 38: 303-308.
- Liu, L. X., Monsma, F. J., Sibley, D. R. & Chiodo, L. A. 1996. D2L, D2S, and D3 dopamine receptors stably transfected into NG108-15 cells couple to a voltage-dependent potassium current via distinct G protein mechanisms. *Synapse* 24: 156-164.
- Lokhandwala, M. F., Vyas, S. J. & Hegde, S. S. 1990. Renal dopamine and tubular DA-1 receptors in the regulation of sodium excretion. *J.Auton.Pharmacol.* 10 Suppl 1s31-9: -9.
- Luippold, G., Benöhr, P., Piesch, C., Heyne, N. & Mühlbauer, B. 2000a. Urinary dopamine excretion in healthy volunteers: effect of sodium diet and acute water load. *Pflügers Arch.Eur.J.Physiol.* 440: 28-33.
- Luippold, G., Küster, E., Joos, T. O. & Mühlbauer, B. 1998. Dopamine D3 receptor activation modulates renal function in anesthetized rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 358: 690-693.
- Luippold, G., Küster, E., Vallon, V., Osswald, H. & Mühlbauer, B. 1999a. Dopamine D3 receptors in the rat kidney: glomerular and tubular actions. *Nephrol.Dial.Transplant.* 14 Suppl 4: 24-25.
- Luippold, G., Makri, S., Osswald, H. & Mühlbauer, B. 1999b. Role of renal nerves in the dopamine D₃ receptor-induced renal changes in anesthetized rats (Abstract). *Pflügers Arch.Eur.J.Physiol.* 437: R187.
- Luippold, G. & Mühlbauer, B. 1998. Dopamine D2 receptors mediate glomerular hyperfiltration due to amino acids. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 286: 1248-1252.
- Luippold, G., Pech, B., Lemaire, H. G., Höger, T., Gross, G. & Mühlbauer, B. 2000b. Absence of amino acid-induced glomerular hyperfiltration in dopamine D₃ receptor deficient mice. *Kidney Blood Press. Res.* 23, 11.
- Luippold, G., Schneider, S., Vallon, V., Osswald, H. & Mühlbauer, B. 2000c. Postglomerular vasoconstriction induced by dopamine D(3) receptor activation in anesthetized rats. *Am.J.Physiol.Renal Physiol.* 278: F570-F575.

-
- Luippold, G., Zimmermann, C., Mai, M., Kloor, D., Starck, D., Gross, G. & Mühlbauer, B. 2001. Dopamine D₃ Receptors and Salt-Dependent Hypertension. *J.Am.Soc.Nephrol.* 12: 2272-2279.
- MacDonald, T. M., Jeffrey, R. F., Freestone, S. & Lee, M. R. 1988. (+)-sulpiride antagonises the renal effects of gamma-L-glutamyl-L-dopa in man. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 25: 203-212.
- Mendez, R. E., Lopez, R., Lopez, G., Marti, M. S. & Martinez-Maldonado, M. 1991. Effects of dopamine-receptor antagonists and renal denervation on amino acid-induced hyperfiltration. *Am.J.Physiol.* 261: F70-F75.
- Meyer, T. W., Ichikawa, I., Zatz, R. & Brenner, B. M. 1983. The renal hemodynamic response to amino acid infusion in the rat. *Trans.Assoc.Am.Physicians* 9676-83: -83.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M. & Caron, M. G. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol.Rev.* 78: 189-225.
- Monsma, F. J., McVittie, L. D., Gerfen, C. R., Mahan, L. C. & Sibley, D. R. 1989. Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing. *Nature* 342: 926-929.
- Mühlbauer, B., Gleiter, C. H., Gies, C., Luippold, G. & Loschmann, P. A. 1997a. Renal response to infusion of dopamine precursors in anaesthetized rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 356: 838-845.
- Mühlbauer, B., Küster, E. & Luippold, G. 2000. Dopamine D(3) receptors in the rat kidney: role in physiology and pathophysiology. *Acta Physiol.Scand.* 168: 219-223.
- Mühlbauer, B., Mickeler, C. & Schenk, F. 1997b. Protein-induced increase in urinary dopamine in normal and diabetic rats: role of catecholamine precursors. *Am.J.Physiol.* 273: R80-R85.
- Mühlbauer, B. & Osswald, H. 1994. Feeding-induced increase in urinary dopamine excretion is independent of renal innervation and sodium intake. *Am.J.Physiol.* 266: F563-F567.
- Mühlbauer, B., Spohr, F., Schmidt, R. & Osswald, H. 1997c. Role of renal nerves and endogenous dopamine in amino acid-induced glomerular hyperfiltration. *Am.J.Physiol.* 273: F144-F149.
- Nagaoka, A. & Kakihana, M. 1982. Effects of renal sympathectomy on sodium and water excretion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Jpn.J.Pharmacol.* 32: 591-597.

- Nash, S. R., Godinot, N. & Caron, M. G. 1993. Cloning and characterization of the opossum kidney cell D1 dopamine receptor: expression of identical D1A and D1B dopamine receptor mRNAs in opossum kidney and brain. *Mol.Pharmacol.* 44: 918-925.
- Neve, K. A., Henningsen, R. A., Bunzow, J. R. & Civelli, O. 1989. Functional characterization of a rat dopamine D-2 receptor cDNA expressed in a mammalian cell line. *Mol.Pharmacol.* 36: 446-451.
- Norman, R. A., Jr. & Dzielak, D. J. 1982. Role of renal nerves in onset and maintenance of spontaneous hypertension. *Am.J.Physiol.* 243: H284-H288.
- o.V. 1997. The sixth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC VI). *Arch.Intern.Med.* 157: 2413.
- O'Connell, D. P., Botkin, S. J., Ramos, S. I., Sibley, D. R., Ariano, M. A., Felder, R. A. & Carey, R. M. 1995. Localization of dopamine D1A receptor protein in rat kidneys. *Am.J.Physiol.* 268: F1185-F1197.
- O'Connell, D. P., Vaughan, C. J., Aherne, A. M., Botkin, S. J., Wang, Z. Q., Felder, R. A. & Carey, R. M. 1998. Expression of the dopamine D3 receptor protein in the rat kidney. *Hypertension* 32: 886-895.
- Oates, N. S., Ball, S. G., Perkins, C. M. & Lee, M. R. 1979. Plasma and urine dopamine in man given sodium chloride in the diet. *Clin.Sci.(Colch.)* 56: 261-264.
- Roman, R. J. 1986. Abnormal renal hemodynamics and pressure-natriuresis relationship in Dahl salt-sensitive rats. *Am.J.Physiol.* 251: F57-F65.
- Rump, L. C., Schwertfeger, E., Schaible, U., Schuster, M. J., Frankenschmidt, A. & Schollmeyer, P. 1993a. Dopamine receptor modulation of noradrenaline release by carboxirole in human cortical kidney slices. *Eur.J.Clin.Pharmacol.* 44 Suppl 1: S47-S49.
- Rump, L. C., Schwertfeger, E., Schuster, M. J., Schaible, U., Frankenschmidt, A. & Schollmeyer, P. J. 1993b. Dopamine DA2-receptor activation inhibits noradrenaline release in human kidney slices. *Kidney Int.* 43: 197-204.
- Sanada, H., Yao, L., Jose, P. A., Carey, R. M. & Felder, R. A. 1997. Dopamine D3 receptors in rat juxtaglomerular cells. *Clin.Exp.Hypertens.* 19: 93-105.

- Siragy, H. M., Felder, R. A., Howell, N. L., Chevalier, R. L., Peach, M. J. & Carey, R. M. 1989. Evidence that intrarenal dopamine acts as a paracrine substance at the renal tubule. *Am.J.Physiol.* 257: F469-F477.
- Skrabal, F., Hamberger, L. & Ledochowski, M. 1984. Inherited salt sensitivity in normotensive humans as a cause of essential hypertension: a new concept. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 6 Suppl 1: S215-S223.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M. P., Andrieux, M., Besancon, R., Pilon, C., Bouthenet, M. L., Souil, E. & Schwartz, J. C. 1992. Localization and function of the D3 dopamine receptor. *Arzneimittelforschung.* 42: 224-230.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M. P., Bouthenet, M. L. & Schwartz, J. C. 1990. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347: 146-151.
- Sunahara, R. K., Guan, H. C., O'Dowd, B. F., Seeman, P., Laurier, L. G., Ng, G., George, S. R., Torchia, J., Van Tol, H. H. & Niznik, H. B. 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature* 350: 614-619.
- Tobian, L., Johnson, M. A., Hanlon, S. & Bartemes, K. 1989. A glomerular defect in prehypertensive Dahl S rats, which limits their capacity to increase GFR. *Am.J.Hypertens.* 2: 557-559.
- Tobian, L., Lange, J., Azar, S., Iwai, J., Koop, D. & Coffee, K. 1977. Reduction of intrinsic natriuretic capacity in kidneys of Dahl hypertension-prone rats. *Trans.Assoc.Am.Physicians* 90: 401-406.
- Vallar, L., Muca, C., Magni, M., Albert, P., Bunzow, J., Meldolesi, J. & Civelli, O. 1990. Differential coupling of dopaminergic D2 receptors expressed in different cell types. Stimulation of phosphatidylinositol 4,5- bisphosphate hydrolysis in Ltk- fibroblasts, hyperpolarization, and cytosolic-free Ca²⁺ concentration decrease in GH4C1 cells. *J.Biol.Chem.* 265: 10320-10326.
- Van Tol, H. H., Bunzow, J. R., Guan, H. C., Sunahara, R. K., Seeman, P., Niznik, H. B. & Civelli, O. 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 350: 610-614.
- Wang, Z. Q., Siragy, H. M., Felder, R. A. & Carey, R. M. 1997. Intrarenal dopamine production and distribution in the rat. Physiological control of sodium excretion. *Hypertension* 29: 228-234.

- Weinstock, M., Gorodetsky, E. & Kalman, R. 1996. Renal denervation prevents sodium retention and hypertension in salt-sensitive rabbits with genetic baroreflex impairment. *Clin.Sci.(Colch.)* 90: 287-293.
- Wyss, J. M., Sripairojthikoon, W. & Oparil, S. 1987. Failure of renal denervation to attenuate hypertension in Dahl NaCl-sensitive rats. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 65: 2428-2432.
- Yamaguchi, I., Yao, L., Sanada, H., Ozono, R., Mouradian, M. M., Jose, P. A., Carey, R. M. & Felder, R. A. 1997. Dopamine D1A receptors and renin release in rat juxtaglomerular cells. *Hypertension* 29: 962-968.
- Zhou, Q. Y., Grandy, D. K., Thambi, L., Kushner, J. A., Van Tol, H. H., Cone, R., Pribnow, D., Salon, J., Bunzow, J. R. & Civelli, O. 1990. Cloning and expression of human and rat D1 dopamine receptors. *Nature* 347: 76-80.
- Zigmond, R. E., Schwarzschild, M. A. & Rittenhouse, A. R. 1989. Acute regulation of tyrosine hydroxylase by nerve activity and by neurotransmitters via phosphorylation. *Annu.Rev.Neurosci.* 12: 415-461.

6.2 Tabellen

Tabelle 6: Systolische Blutdruckwerte der scheinoperierten (SHAM) und denervierten (DNX) SD-Tiere unter Normalsalz-(NS) und Hochsalzernährung (HS, 4% NaCl)

Messtag und Ernährung	Sham	DNX
1. NS	105 ± 2,8	103 ± 2,0
5. NS	113 ± 2,2 [#]	106 ± 1,8
7. HS	110 ± 4,8 [#]	118 ± 3,4*
8. HS	112 ± 3,1 [#]	121 ± 2,6* +
9. HS	110 ± 3,8 [#]	118 ± 2,4*
12. HS	107 ± 2,5	114 ± 2,6*
24. HS	106 ± 2,3	113 ± 2,7* +

systolischer Blutdruck in mmHg ± SEM

* $p < 0.05$, signifikant gegenüber Messtage 1 und 5

+ $p < 0.05$, signifikant gegenüber Sham am gleichen Messtag

[#] $p < 0.05$, signifikant gegenüber Messtage 1, 12 und 24

Tabelle 7: Systolischer Blutdruckwerte unbehandelter SD-Tiere (VHC) und SD-Tiere unter Dopamin D_3 -Antagonisten (BSF 135170 und BSF 201640) unter Normalsalz-(NS) und Hochsalzernährung (HS, 4% NaCl)

Messtag und Ernährung	VHC	BSF 135170	BSF 201640
1. NS	104 ± 3,2*	100 ± 2,1*	106 ± 4,3*
5. NS	116 ± 1,3	107 ± 4,0	111 ± 1,8
7. HS	113 ± 1,9	114 ± 2,1	112 ± 3,0
8. HS	124 ± 2,1	115 ± 4,5	124 ± 6,1
9. HS	115 ± 3,2	115 ± 2,5	114 ± 3,1
12. HS	114 ± 4,2	113 ± 5,5	117 ± 3,8
24. HS	114 ± 5,3	110 ± 6,9	115 ± 7,7

systolischer Blutdruck in mmHg ± SEM

* $p < 0.05$, signifikant gegenüber Messtage 5-24.

Tabelle 8: Systolische Blutdruckwerte der scheinoperierten (SHAM) und denervierten (DNX) salz-resistenten Dahl-Tiere unter Normalsalz-(NS) und Hochsalzernährung (HS, 4% NaCl)

Messtag und Ernährung	Sham	DNX
1 NS	107 ± 2,6	106 ± 2,1
5 NS	111 ± 2,3	110 ± 2,7
7 HS	110 ± 1,9	121 ± 5,1*
8 HS	107 ± 2,0	123 ± 3,0* #
9 HS	112 ± 2,1	131 ± 4,4* #
12 HS	109 ± 3,0	129 ± 3,5* #
24 HS	111 ± 1,6	130 ± 5,1* #

systolischer Blutdruck in mmHg ± SEM

* $p < 0.05$, signifikant gegenüber Messtage 1 und 5

$p < 0.05$, signifikant gegenüber Sham am gleichen Messtag

Tabelle 9: Systolische Blutdruckwerte der scheinoperierten (SHAM), denervierten (DNX) und mit Dopamin D_3 -Antagonisten (BSF 135170) vorbehandelten salzsensitiven Dahl-Tiere unter Normsalz-(NS) und Hochsalzernährung (HS, 4% NaCl)

Messtag und Ernährung	Sham	DNX	BSF 135170
1. NS	125 ± 4,6	115 ± 3,6	122 ± 3,3
5. NS	125 ± 5,1	110 ± 2,8	118 ± 2,7
7. HS	130 ± 3,8	121 ± 4,7	139 ± 3,2*
8. HS	143 ± 2,6*	137 ± 2,9*	143 ± 3,5*
9. HS	147 ± 4,4*	143 ± 3,0*	150 ± 3,4*
12. HS	158 ± 3,9*	152 ± 3,9*	157 ± 1,7*
24. HS	155 ± 6,1*	153 ± 4,3*	155 ± 4,4*

systolischer Blutdruck in mmHg ± SEM

* $p < 0.05$, signifikant gegenüber Messtage 1 und 5

6.3 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen durchgeführt.

Ich möchte mich herzlich bei der Arbeitsgruppe Mühlbauer bedanken, die mich von Anfang an freundschaftlich aufgenommen und bei meiner experimentellen Arbeit unterstützt hat. Des weiteren möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Pharmakologischen Institutes bedanken, die mir stets freundlich und hilfsbereit begegnet sind.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Swetlana Schneider, die mich mit viel Geduld und Begeisterung angeleitet hat. Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Christine Piesch für die freundliche Unterstützung bei der Analytik bedanken. Herrn PD Dr. Gerd Luippold gilt mein aufrichtiger Dank, da er mir zu jeder Zeit mit viel Geduld und Kompetenz zur Hilfe stand und durch seine humorvolle Art die Arbeit stets angenehm gestaltete.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Bernd Mühlbauer bedanken, der mir nicht nur freundlicherweise das Thema dieser Arbeit überlassen hat sondern auch durch einige Diskussionen und Gespräche mein Interesse an der Arbeit geweckt sowie zum Gelingen derselben beigetragen hat.

Ganz herzlicher Dank gilt auch meinen Kommilitonen und Mitdoktoranden, die mich während der letzten beiden Jahre durch ihre Freundschaft motiviert und unterstützt haben.

Zu guter letzt möchte ich mich sehr herzlich bei meinen Eltern und meiner Schwester bedanken, die mich über die letzte Zeit sehr unterstützt und motiviert haben und die mir mein Studium sowie diese wissenschaftliche Arbeit überhaupt erst ermöglichen haben.

6.4 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Stephan Christoph Richter
Geburtsdatum	3. Oktober 1976
Geburtsort	Freiburg i. Br.
Nationalität	Deutsch
Familienstand	Ledig
Eltern	Dr. rer. nat. Gabriele Schroeter, geb. Wachsmuth Dr.-Ing., Dipl.-Phys. Herbert Richter
Geschwister	Johanna Richter, geb. 22. Februar 1979

Schulbildung

1983 - 1987	Grundschule Vörstetten
1987 - 1988	Kreisgymnasium Gundelfingen (5. Klasse)

1988 - 1996 Robert-Bosch-Gymnasium Wendlingen (6.-13. Klasse)
1996 Abiturabschluß mit Preisauszeichnung (Note: 1,2)
Hauptfächer: Englisch & Chemie

Wehrdienst

07/1996 - 04/1997 Wehrdienst bei der Deutschen Bundesmarine; Ausbildung zum Sanitäter im Marinesanitätsdienst auf Sylt; nach der Grundausbildung Dienst im Sanitätsbereich der Sanitätsakademie München mit medizinischer Weiterbildung

Hochschulbildung

04/1997 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
04/1998 - 07/1998 Tutor für Erstsemester-Studenten im Fach Anatomie, Uni Tübingen
03/1999 Ablegen der Medizinischen Vorprüfung (Note: 2,0)
03/2000 Ablegen des ersten Staatsexamens (Note: 2,0)
10/2000 - 06/2002 Anstellung als freier Mitarbeiter im Wachzimmer der Herz-Thorax-Gefäß-Chirurgie am Universitätsklinikum Tübingen (30-40 Stunden/ Monat)
03/2000 - 02/2002 Experimentelle Doktorarbeit am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen im Bereich experimentelle Pharmakologie
09/2002 Ablegen des zweiten Staatsexamens (Note: 1,66)
04.11.2003 Ablegen des dritten Staatsexamens (Note: 1,0)
Kurse Chirurgische Techniken, medizinisches Englisch