

Jutta Finsterle

Diplom-Chemikerin

## **Beeinflussung des renalen Kallikrein-Kinin-Systems der Ratte durch Endothelin-1**

Geboren am 04.06.1971 in Mannheim

Reifeprüfung am 23.05.1990

Studiengang der Fachrichtung Chemie vom WS 1990/91 bis WS 1996/97

Vordiplom am 27.01.1994 an der Universität Heidelberg

Diplom am 03.03.1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pharmakologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Hilgenfeldt

Im Zentrum der vorliegenden Dissertationsarbeit steht die Untersuchung der Interaktion zwischen dem renalem Endothelin- und Kallikrein-Kinin-System. Die damit verbundenen Fragen untersuchen wir am Modell der isoliert perfundierten Rattenniere.

In Anwesenheit steigender Et-1-Konzentrationen im Perfusionsmedium beobachten wir eine *Zunahme des Drucks*, der in einem engen Dosisbereich (von 1-10pM Et-1) von 105 auf 129mmHg ansteigt. Dieser Effekt wird über den ET<sub>A</sub>-Rezeptor vermittelt, weil er durch einen spezifischen ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten (LU 135252) vollständig aufgehoben werden kann. Gleichzeitig beobachten wir eine *Zunahme des Urinvolumens*, die ebenfalls über den ET<sub>A</sub>-Rezeptor vermittelt wird und die durch den spezifischen Antagonisten wieder auf Kontrollniveau gesenkt werden kann.

Die *renale Ausscheidung von Natrium* ist bei 5 und 10pM Et-1 ebenfalls signifikant um 18 bzw. 24% (18 bzw. 24mM) erhöht. Diese Zunahme kann durch den ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten vollständig blockiert werden. Allerdings erzielen wir mit dem selektiven ET<sub>B</sub>-Rezeptorantagonisten, BQ 788, auch eine deutliche, aber nicht signifikante Reduktion.

Die *renale Ausscheidung von Kalium* ist durch 10pM Et-1 ebenfalls signifikant um 41% (13,2mM) erhöht. Auch dieser Effekt ist durch den ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten vollständig reversibel.

Ein interessanter Befund ist die Beobachtung, dass Endothelin seine eigene renale Ausscheidung stimuliert. Diese Autoinduktion der renalen Endothelinausscheidung wurde in der Literatur bereits in Mesangiumzellen der Ratte und in humanen Endothelzellen beschrieben. Wir finden eine 2,6fache Zunahme der Endothelinausscheidung nach Zugabe von 10pM Et-1 zum Perfusionsmedium. Diese Autoinduktion wird über den ET<sub>B</sub>-Rezeptor vermittelt. Wir finden eine vollständige Inhibierung dieses Effektes durch den selektiven ET<sub>B</sub>-Rezeptorantagonisten, BQ 788. Eine partielle Reduktion der renalen Endothelinausscheidung ist aber auch durch den ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten zu erzielen. Bezüglich der renalen Effekte von Endothelin eröffnet sich durch diesen Befund die Möglichkeit, dass renales Et-1 die Endothelineffekte vermittelt, nachdem es durch vaskuläres Et-1 induziert wurde.

Die *renale Ausscheidung von Ang-II* ist nach Zugabe von 10pM Et-1 zum Perfusionsmedium ebenfalls signifikant um 61% erhöht. Dieser Effekt kann durch den ET<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten vollständig blockiert werden. Die Bedeutung dieses Befundes ist zur Zeit noch völlig offen, da es keine Befunde über die Lokalisation und die physiologische Rolle eines lokalen Renin-Angiotensin-Systems im distalen Tubulus und Sammelrohr in der Niere gibt.

Im Gegensatz dazu ist die *renale Ausscheidung von Kallikrein* in Abhängigkeit von der Et-1-Konzentration im Perfusat signifikant um 32% reduziert. Da dieser Effekt in gleicher Weise durch den ET<sub>A</sub>- als auch über den ET<sub>B</sub>-Rezeptorantagonisten hemmbar ist, halten wir es für denkbar, dass er über die ET<sub>B</sub>-Rezeptoren durch einen NO-vermittelten Effekt durch lokales Endothelin vermittelt wird.

Die *renale Ausscheidung von Bradykinin* unterliegt einer durch Gabe von Et-1 ausgelösten biphasischen Regulation. Nach Zugabe von 1pM Et-1 erhalten wir signifikant verminderte Bradykininwerte, dagegen stimuliert 10pM Et-1 im

Perfusionsmedium die urinäre Bradykininexkretion um 59%. Die Hemmung kann durch den spezifischen  $ET_B$ -Rezeptorantagonisten signifikant aufgehoben werden. Dagegen kann die Stimulation der urinären Bradykininausscheidung weder durch den  $ET_A$ - noch durch den  $ET_B$ -Rezeptorantagonisten blockiert werden. Eine geringe, nicht signifikante Reduktion der renalen Bradykininausscheidung ist in Gegenwart des  $ET_B$ -Rezeptorantagonisten zu erkennen. Ebenfalls eine biphasische Regulation finden wir in der renalen Ausscheidung des kallidin-ähnlichen Peptides. Niedrige Et-1-Konzentrationen (0,1pM) im Perfusat führen zu einer signifikanten Stimulation des kallidin-ähnlichen Peptides um 47%, während Et-1-Konzentrationen von 0,5 - 1pM Et-1 die urinäre Ausscheidung des kallidin-ähnlichen Peptides nicht verändern. Dagegen beobachten wir bei Et-1-Konzentrationen von 5 und 10pM eine Stimulation der urinären Exkretion des kallidin-ähnlichen Peptides von 12 und 42%.

Im Zusammenhang mit Befunden von Majima und Katori konnte gezeigt werden, dass es im Connecting Tubulus und im Sammelrohr der Niere ein eigenständiges Kallikrein-Kinin-System gibt, das die renale Salzausscheidung erhöht. Wir finden, dass dieses System durch Endothelin direkt oder indirekt beeinflusst wird. Zur Unterstützung der physiologischen Experimente haben wir die Expression des  $ET_B$ -Rezeptors durch die In-situ Hybridisierung in den Niere lokalisiert. Wir finden die Expression des  $ET_B$ -Rezeptors im Glomerulus, und zwar in den Podozyten und extraglomerulären Mesangiumzellen, sowie im proximalen Tubulus und der Macula densa. Daneben finden wir den  $ET_B$ -Rezeptor aber auch im distalen Tubulus und in den Zellen des kortikalen und medullären Sammelrohres. Dieser Befund unterstreicht die Möglichkeit einer direkten parakrinen Hemmung der Kallikreinsekretion in der Niere durch lokales Endothelin.