

Tanja Puschner  
Dr. sc. hum.

## **Untersuchungen zum Kallikrein-Kinin System der Ratte**

Geboren am 31. 03. 1970 in Wilhelmshaven  
Reifeprüfung am 11. 05. 1989 in Jever  
Studiengang der Biologie vom WS 1990 bis SS 1995  
Vordiplom am 24. 08. 1992 an der Universität Frankfurt am Main  
Diplom am 20. 07. 1995 an der Universität Frankfurt am Main

Promotionsfach: Pharmakologie  
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. U. Hilgenfeldt

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Identifizierung eines unbekanntes Kinins im Rattenurin mittels HPLC und spezifischen Radioimmunoassays. Wir finden im Urin und im Plasma der Ratte ein „**Kallidin“-Equivalent**, das eine dem Kallidin ähnliche Retentionszeit in der HPLC aufweist. Aufgrund der Daten der HPLC- und RIA-Analyse postulieren wir für dieses Kinin die Sequenz Arg<sup>0</sup>-BK. Diese Hypothese muß noch durch eine Massenspektroskopie bestätigt werden. Dieses „Kallidin“-Equivalent läßt sich durch Ratten-Gewebskallikrein aus Ratten-LMW-Kininogen freisetzen. Das „Kallidin“-Equivalent ist in Plasma und Urin in ähnlichen Konzentrationen vorhanden wie Bradykinin. Es könnte analog zum humanen Kallidin für die meisten Kinin-Effekte verantwortlich sein.

Des weiteren wird in dieser Arbeit der **Einfluß salzarmer bzw. salzreicher Ernährung** auf die Komponenten des KKS und des RAS der Ratte in Urin, Niere, Plasma, Leber, Herz und Glandula submandibularis untersucht. Beide Systeme sind für die Salz-Wasser-Homöostase, die Blutdruckregulation sowie die lokale Organdurchblutung verantwortlich und stehen in antagonistischer, regulatorischer Beziehung. Ein weiterer Versuch soll mit Hilfe des B<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten Icatibant die **Regulation** der Systeme durch den **B<sub>2</sub>-Rezeptor** verdeutlichen.

Wir haben eine **Kallikrein-Gensonde** erstellt, mit der wir die Expression der Ratten-Kallikrein-Genfamilie unter verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Zuständen untersuchen können.

Die **salzarme Diät** bewirkt, wie seit längerem bekannt ist, eine erhöhte Reninaktivität und damit eine gesteigerte Aldosteronkonzentration. Wir finden in diesem Zusammenhang eine verminderte Expression der Kallikrein-Gene in der Niere, verbunden mit einer unveränderten Kallikreinaktivität und Kininogen-Konzentration im Urin. Dieses führt zu einer verminderten Kinin-Ausscheidung. Insbesondere die urinäre Konzentration des neu beschriebenen „Kallidin“-Equivalent ist deutlich vermindert. Durch die Veränderungen im KKS und RAS resultiert eine gesteigerte Natriumretention.

Unter **salzreicher Diät** messen wir im **Urin** erhöhte Kininogen- und Bradykinin-Konzentrationen, die zu einer erhöhten Natriumexkretion im Sammelrohr führen. Allerdings sind auch die Komponenten des RAS im Urin erhöht, was auf eine erhöhte plasmatische Kaliumkonzentration zurückgeführt werden kann.

Im **Plasma** finden wir unter **salzärmer Diät** einen erhöhten Natrium-Spiegel, den wir auf die salzretinierende Wirkung des aktivierten RAS zurückführen. Trotz unveränderter Kallikreinaktivität kommt es durch erhöhte HMW-Kininogenspiegel zu gesteigerten Konzentrationen des „Kallidin“-Equivalents. Diese sind wahrscheinlich durch die Hypernatriämie induziert. Eine direkte Korrelation des KKS im Plasma zum KKS in der Leber oder im Herzen läßt sich nicht erkennen. Das gewebsspezifische KKS scheint einer eigenständigen Regulation zu unterliegen. Vor allem die Veränderungen im Herzen sind in Hinblick auf die kardioprotektive Wirkung des Bradykinins oder „Kallidins“ interessant und bedürfen weiterer Untersuchungen.

Eine **salzreiche Diät** bewirkt im **Plasma** eine Suppression des RAS. Eine Verdopplung der Konzentration des „Kallidin“-Equivalents weist auf eine wichtige, physiologische Bedeutung dieses Kinins unter salzreicher Diät hin. Es ist hier neben der Salz-Wasser Homöostase an der Blutdruckregulation maßgeblich beteiligt.

Wir finden mit Hilfe der **B<sub>2</sub>-Rezeptorblockade** einen deutlichen stimulierenden Einfluß von Bradykinin bzw. „Kallidin“ auf die Komponenten des **renalen RAS** sowohl unter **salzärmer** als auch unter **salzreicher Diät**. Angesichts dieser Versuche postulieren wir eine über B<sub>2</sub>-Rezeptoren vermittelte partielle Stimulation der renalen Renin- bzw. Angiotensinogen-Synthese. Gleichzeitig wird die renale Kininogen-Konzentration vermindert, wobei dem neu beschriebenen „Kallidin“-Equivalent über den B<sub>2</sub>-Rezeptor ein wesentlicher Anteil zukommt. Die Kallikrein-Genexpression in der Niere wird jedoch stimuliert.

Im **Plasma** hingegen reduziert das „Kallidin“-Equivalent durch **B<sub>2</sub>-Rezeptorbindung** die Angiotensin I-Konzentration **unter salzärmer und salzreicher Diät**. Ferner beobachten wir eine verminderte Aldosteronproduktion, die entweder über diesen indirekten oder durch einen direkten hemmenden Effekt über B<sub>2</sub>-Rezeptoren auf den Zellen der Nebennierenrinde vermittelt wird. Dadurch wird letztlich die Natriumausscheidung in der Niere erhöht.

Im **Herzen** konnten wir keinen regulatorischen **B<sub>2</sub>-Rezeptor** vermittelten Einfluß der Kinine auf das RAS erkennen. Durch eine B<sub>2</sub>-Rezeptor vermittelte, positive Rückkopplung auf die Kallikrein-Genexpression wird vermehrt Bradykinin gebildet und so die kardioprotektive Wirkung verstärkt.

An dem vereinfachten Modell der **isoliert perfundierten Niere** sollten die Ergebnisse aus dem Tierversuch bestätigt werden. Die Befunde der Perfusion mit salzreichem bzw. salzarmem Medium korrelieren nicht mit dem in vivo Versuch. Bradykinin bzw. „Kallidin“ hemmt in den Perfusionsversuchen die Kallikreinaktivität unabhängig von der Rezeptorblockade. Während im Tierversuch eine Stimulation des RAS durch Kinine über B<sub>2</sub>-Rezeptoren zu beobachten war, wird die Angiotensin I-Konzentration im Urin der perfundierten Nieren durch Kinine supprimiert.

Wir erkennen sowohl in den Perfusionsversuchen als auch in den in vivo Experimenten, daß das KKS einen regulatorischen Einfluß auf das RAS besitzt, obwohl die erzielten Ergebnisse eine Fülle von Fragen offen lassen, die durch zukünftige Experimente beantwortet werden müssen.