

Hans Martin Bosse

Dr. med.

## **Konstitutive Stickstoffmonoxid-Synthasen der Säugerniere: Lokalisation, Regulation und Beziehung zum Renin-Angiotensin-System**

Promotionsfach: Anatomie

Doktorvater: Prof. Dr. S. Bachmann

Der juxtaglomeruläre Apparat (JGA) spielt bei der Homöostase des Wasser- und Elektrolythaushalts des Organismus eine Schlüsselrolle. Eine veränderte NaCl-Konzentration an der Macula densa vermittelt zwei entscheidende Mechanismen, die zu einer Regulation des Wasser- und Elektrolythaushalts beitragen: erstens den rasch operierenden tubuloglomerulären

Feedback (TGF)-Mechanismus und zweitens die Regulation des Renin-Angiotensin-Systems bei langfristigen Veränderungen. Die Tatsache, daß in den Zellen der Macula densa eine konstitutive Isoform der Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase (NOS I) nachgewiesen werden konnte, wirft die Frage der funktionellen Bedeutung der NO-Produktion an dieser strategischen Position auf. Im Endothel wird NO durch eine weitere konstitutive Isoform der NO-Synthase (NOS III) freigesetzt. In einer Vielzahl von Modellen wurde die Rolle von NO bei entscheidenden Regulationsmechanismen am JGA unterstrichen, unter anderem bei der Regulation des renalen Blutflusses, der glomerulären Hämodynamik und der Funktionen des Tubulus. Die funktionellen Bedeutungen von NOS I und NOS III sind im einzelnen schwer voneinander zu trennen. In dieser Arbeit soll deshalb die Lokalisation und Regulation der NOS I und NOS III gezeigt werden und ihre Beziehung zum Renin-Angiotensin-System dargestellt werden.

NOS I-Genexpression und -Enzymaktivität fand sich in den Nierentubuli aller untersuchten Spezies, einschließlich des Menschen, fast ausschließlich in der Macula densa. Dabei zeigte sich eine regelmäßige enge Nachbarschaft zur afferenten Arteriole. Ultrastrukturell war NOS I zytosolisch verteilt, ohne zelluläre Polarität. NOS III fand sich in allen Endothelien, in den Arterien und Arteriolen stärker als im venösen Gefäßsystem.

In vier Versuchen wurde der Effekt auf die NOS I-Genexpression und -Enzymaktivität in der Macula densa ('NOS I-Status') und auf Renin-Genexpression und -Proteingehalt in der afferenten Arteriole ('Renin-Status') mit histochemischen Methoden semiquantitativ bestimmt. Im *Goldblatt-Hypertoniemodell* (unilaterale Nierenarterien-Stenose) zeigte sich nach drei Tagen auf der geklippten (d.h. minderperfundierten) Seite ein gesteigerter NOS I- und Renin-Status im Vergleich zum Kontrollniveau. Während der Behandlung über 40 Tage hielten sich diese Steigerungen auf der geklippten Seite, auf der nicht-geklipten, kontralateralen Seite dagegen waren NOS I- und Renin-Status supprimiert.

Unter *Furosemidbehandlung* war der NOS I-Status deutlich gesteigert mit einer parallelen kräftigen Steigerung des Renin-Status.

Unter *Salzverarmung* war der NOS I-Status im Vergleich zu *Salzbelastung* gesteigert. Parallel dazu war der Renin-Status leicht gesteigert.

Unter *Blockade der NO-Produktion mit L-NAME* konnte eine drastische Reduktion des Renin-Status bewirkt werden, bei einer allerdings nur leicht verminderten NOS I-Enzymaktivität in der Macula densa.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen an Modellen mit langfristig verändertem NaCl-Transport an der Macula densa eine gegensinnige Regulation der Genexpression bzw. Enzymaktivität von NOS I in der Macula densa zum angenommenen lokalen NaCl-Transport. Es fand sich stets eine gleichsinnige Regulation der Renin-Genexpression und des Renin-Proteingehalts in

der afferenten Arteriole zur Regulation der NOS I-Genexpression und -Enzymaktivität. Aus diesen Ergebnissen läßt sich eine herausragende Bedeutung der Regulation der NO-Produktion in der Macula densa bei der Regulation der Renin-Freisetzung ableiten.

In anderen Arbeiten ließ sich eine verstärkte Nitrotyrosin-Immunreaktivität in Geweben mit verstärkter lokaler Enzymaktivität der *induzierbaren* NO-Synthase (NOS II) nachweisen. In dieser Arbeit fand sich im Goldblatt-Hypertonie-Modell eine verstärkte Nitrotyrosin-Immunreaktivität in Nachbarschaft zu Strukturen mit massiv gesteigerter Aktivität der *konstitutiven* NO-Synthasen: auf der geklippten Seite im extraglomerulären Mesangium (EGM), parallel zur gesteigerten NOS I-Enzymaktivität in der Macula densa und auf der nicht-geklipten, kontralateralen Seite um die afferente Arteriole parallel zur gesteigerten NOS III-Enzymaktivität im Endothel der afferenten Arteriole. Mit dieser Spur von nitrierten Tyrosinresten, die NO entlang seines Diffusionswegs in das EGM hinterläßt, ließ sich eine Freisetzung von NO aus den Zellen der Macula densa in das EGM indirekt nachweisen. Welche direkten oder indirekten Wirkungen NO auf die biologischen Prozesse im EGM ausübt, ist noch unklar. Von dort könnte NO direkt oder über einen bisher unbekanntem sekundären Stimulus auf andere Strukturen des JGA wirken. Über die Bedeutung einer NO-Freisetzung

aus der Macula densa bei der akuten und langfristigen Regulation des tubuloglomerulären Informationstransfers besteht keine Einigkeit; bei der Regulation des Renin-Angiotensin-Systems stellt sie eine der entscheidenden Stellgrößen dar