

# Der atriale natriuretische Faktor (ANF) in der Herzmuskulatur von herzkranken und -gesunden Hunden

## Atrial natriuretic factor (ANF) in cardiac muscle of dogs with and without heart diseases

U. Mönch

**Zusammenfassung:** Zur Darstellung des immunreaktiven ANF (IR-ANF) im caninen Herzen wurden von 79 Hunden jeweils 10 Herzmuskelproben aus definierten Lokalisationen entnommen, in Bouinscher Lösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Da überprüft werden sollte, ob gesunde und pathologisch veränderte Herzen eine unterschiedliche ANF-Expression zeigen, wurden die Tiere nach klinisch-pathologischen, pathologisch-anatomischen und pathologisch-histologischen Kriterien den folgenden Gruppen zugeordnet: herzgesunde junge Hunde (Gruppe 1a), herzgesunde adulte Hunde (Gruppe 1b), Hunde mit gering- bis mittelgradiger Atrioventrikularklappenfibrose (Gruppe 2a), Hunde mit mittel- bis hochgradiger Atrioventrikularklappenfibrose (Gruppe 2b), Hunde mit kongestiver Kardiomyopathie (Gruppe 2c), Hunde mit hochgradigen Nierenerkrankungen und sekundären Herzveränderungen (Gruppe 2d), Hunde mit sonstigen Herzbefunden (Gruppe 2e). Mit einem Antikörper gegen *alpha*-h-ANF (IgG-Fraktion) und einer modifizierten ABC-Technik gelang die immunhistochemische Darstellung von ANF in den Herzvorhöfen aller untersuchten Hunde. Obwohl sich bei den meisten Tieren die höchste Konzentration an IR-ANF im linken Vorhof befand, konnte eine feste Regel für die regionale Verteilung von IR-ANF innerhalb der Vorhöfe nicht aufgestellt werden. Ein veränderter IR-ANF-Gehalt in den Vorhöfen der herzkranken Hunde war nicht festzustellen, da die Reaktionsstärke innerhalb der einzelnen Gruppen erheblich schwankte. In den Kammern der herzgesunden adulten Hunde war keinerlei IR-ANF immunhistochemisch nachweisbar. Bei den Hunden mit pathologischen Herzbefunden wurden nur bei einem Hund an einer Lokalisation eindeutige Sekretgranula in einigen Ventrikelmyozyten beobachtet, während eine schwache diffuse Reaktion subendokardial gelegener Ventrikelmyozyten bei einigen Herzen der Gruppen 2a, 2b, 2c und 2e nicht mit Sicherheit als IR-ANF angesprochen werden konnte. Mögliche Ursachen für die fehlende Immunreaktion in den Ventrikeln wurden diskutiert. Die Herzvorhöfe der Ratte und des Hamsters reagierten stärker ANF-positiv als die der Hunde. In den Ventrikeln konnte IR-ANF bei der Ratte und beim Hamster ausschließlich in den Purkinjefasern der Trabeculae septomarginales dargestellt werden. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung, die an je drei gesunden und kranken Hundeherzen und einem Rattenherzen durchgeführt wurde, zeigten sich in allen untersuchten Vorhöfen überwiegend perinukleär lokalisierte, elektronendichte Granula, die bei der Ratte größer und zahlreicher waren. Dagegen konnten in keiner der untersuchten Kammern derartige Granula dargestellt werden. Sowohl in den Herzvorhöfen als auch in den -kammern der kardiomyopathischen Hunde fielen eine Vergrößerung des Golgi-Apparates und eine Zunahme an rauhem endoplasmatischem Retikulum auf, die auf eine gesteigerte Proteinsynthese hinweisen. Durch den Nachweis der ANF-mRNA mittels Northern-Blot-Hybridisierung an jeweils zwei gesunden und kranken Herzen wurde gezeigt, daß auch die Ventrikel des Hundes ANF synthetisieren. Ferner wurden relativ hohe Konzentrationen an ANF-mRNA an der Basis des linken Ventrikels und des Septums eines kardiomyopathischen Hundes beobachtet, die für eine gesteigerte ANF-Produktion in diesem veränderten Herzen sprechen.

**Summary:** The present study investigated whether dogs suffering from various heart diseases show alterations in ANF-expression as described in cardiomyopathic hamster strains and human beings with congestive heart failure. For immunohistochemistry cardiac muscle specimens of 79 dogs obtained from 10 defined localizations were fixed in Bouin's fluid and embedded in paraffin. According to clinical, anatomical and histopathological findings, the dogs were grouped as follows: young dogs (< 1 year of age) without cardiac diseases (group 1a); adult dogs (> 1 year of age) without cardiac diseases (group 1b); dogs with mild

to moderate fibrosis of atrioventricular valve(s) (group 2a); dogs with moderate to severe fibrosis of atrioventricular valve(s) (group 2b); dogs with dilated cardiomyopathy (group 2c); dogs with severe renal diseases and secondary cardiac alterations (group 2d); and dogs with further cardiac findings (group 2e). Using an antibody (IgG-fraction) against *alpha*-human-ANF and a modified ABC-technique immunoreactive ANF (IR-ANF) was demonstrated in the atria of all dogs examined. In most dogs the left atrium was more intensely stained than the right. A common pattern of the IR-ANF-distribution within the atria however could not be observed. Due to considerable variations of the immunoreaction within the different groups it was impossible to detect immunohistochemically regular changes of the atrial IR-ANF-content in diseased hearts. Ventricular cardiocytes of the adult dogs without cardiac diseases were not immunoreactive. Only in one of the diseased hearts secretory granules could unequivocally be found in some ventricular myocytes. A weak diffuse staining of ventricular myocytes in the subendocardium of some dogs of group 2a, 2b, 2c and 2e was presumed to be unspecific or due to an increased secretion in association with the constitutive pathway of secretion. In comparison to the dog the immunoreactivity in the atria of rats and hamsters was markedly stronger. In the ventricles of both species IR-ANF was confined to the Purkinje fibres of the false tendons. Ultrastructurally hearts of three normal and three cardiomyopathic dogs were investigated and compared to one normal rat heart. Typical secretory granules were constantly present in atrial cardiocytes localized predominantly around the nuclei and at the periphery of the Golgi complex. The cardiocytes of all dogs contained considerably fewer and smaller granules. No granules were seen in ventricular cardiocytes. In cardiomyopathic dogs both atrial and ventricular myocytes showed a strongly developed Golgi complex and an increase in the amount of rough endoplasmatic reticulum, indicating a stimulated secretory activity of these cells. Additionally, in two normal dogs, one dog with dilated cardiomyopathy and one dog with severe fibrosis of the atrioventricular valves, a Northern blot analysis for the demonstration of ANF-mRNA was performed.