

Aus der Klinik für Innere Medizin IV
Endokrinologie und Nephrologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Wirkung einer Vasopeptidase-Hemmung auf die linksventrikuläre
Hypertrophie und Funktion
am Modell der 5/6-nephrektomierten Ratte**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
Universitätsmedizin Berlin

von

Fabian Halleck

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Priv.-Doz. Dr. med. L. Rothermund
 2. Priv.-Doz- Dr. med. St. Morgera
 3. Priv.-Doz. Dr. med. J. Beige

Datum der Promotion: 24.02.2012

Meiner lieben Mutter

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	6
1.1 Vasopeptidaseinhibition	7
1.2 Zielstellung der Studie	10
2 Material und Methoden	11
2.1 Materialien	11
2.1.1 Medikamente und Arzneimittel	11
2.1.2 Instrumente und Nahtmaterialien	12
2.1.3 Geräte	12
2.2 Methoden	13
2.2.1 Tierstamm und Haltung	13
2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign	13
2.2.3 Narkose und operatives Vorgehen	14
2.2.4 Blutdruckmessung	16
2.2.5 Asservation des Urins und Nierenfunktionsbestimmung	16
2.2.6 Herzkatheteruntersuchung und Blutentnahme	17
2.2.7 Organentnahme	19
2.2.8 Statistische Analyse	19
3 Ergebnisse	20
3.1 Tierzahlen	20
3.2 Systolischer Blutdruck	20
3.3 Herzgewichte	21
3.4 Parameter der linksventrikulären Myokardfunktion	22
3.4.1 Kontraktion	22
3.4.2 Relaxation	23
3.4.3 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck	23
3.5 Nierenfunktion	24
4 Diskussion	25
4.1 Nierenfunktion	25
4.1.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf die Nierenfunktion	25
4.1.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT ₁ -Blockade auf die Nierenfunktion im 5/6-Nephrektomiemodell	26
4.2 Blutdruck	28
4.2.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf den Blutdruck	28
4.2.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT ₁ -Blockade auf den Blutdruck im 5/6-Nephrektomiemodell	29
4.3 Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie	31
4.3.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie	31
4.3.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT ₁ -Blockade auf Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie im 5/6-Nephrektomiemodell	32
4.4 Linksventrikuläre Funktion	34
4.4.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf die Parameter der linksventrikulären Funktion	34
4.4.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT ₁ -Blockade auf die Parameter der linksventrikulären Funktion im 5/6-Nephrektomiemodell	36
5 Zusammenfassung	37

Literaturverzeichnis.....	38
Erklärung.....	44
Lebenslauf.....	45
Danksagung.....	46

1 Einleitung

Die meisten Nierenerkrankungen führen in ihrem Verlauf zu einem progredienten Verlust der Nierenfunktion. Mit dem zunehmenden Verlust der Nierenfunktion kommt es zu einer deutlichen Steigerung des kardiovaskulären Risikos. Die Inzidenz für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz, einer koronaren Herzerkrankung, einer peripher arteriellen Verschlusskrankheit und andere Endorganschädigungen sind deutlich erhöht.²⁻⁴ Die Abnahme der Nierenfunktion stellt somit einen klaren Prädiktor für die Mortalität dar. Der komplexen Interaktion zwischen Herz und Niere wurde in dem Begriff des Kardioresalen Syndroms und seiner jüngst erfolgten Überarbeitung sowie Neueinteilung in fünf verschiedene Stadien Rechnung getragen.⁵

Unter den verschiedenen hierfür verantwortlichen Mechanismen kommt der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie über die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) eine besondere Rolle zu. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ist eine Aktivierung des RAAS gut belegt.⁶⁻⁸ Diese Aktivierung wird vorrangig durch eine durch die Nierenerkrankung induzierte Arteriosklerose, die als lumenverengender Umbauvorgang der präglomerulären Gefäße zu verstehen ist, erklärt. Als Konsequenz dieser Lumenverengung kommt es zu einem Druckabfall in dem nachgeschalteten Gefäßbereich. Die juxtaglomerulären Barorezeptoren registrieren an dieser Stelle einen falsch-niedrigen Blutdruck. Daraus resultiert eine erhöhte Sekretion von Renin, was wiederum die Kaskade der nachgeschalteten Effektorsubstanzen im RAAS anstößt. Den beiden Hormonen Angiotensin II als potentes Vasokonstriktor und Aldosteron mit seinen natrium- und volumenretinierenden Eigenschaften am Sammelrohr kommen eine Schlüsselrolle bei der Genese und Aufrechterhaltung eines erhöhten Systemdrucks zu. Hieraus lässt sich das protektive Potential der Angiotensin converting enzyme (ACE)-Hemmung bzw. der Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisierung folgern.

Für eine Vielzahl chronischer Nierenerkrankungen ist der günstige Effekt der Hemmung des RAAS mittlerweile nachgewiesen.^{9,10} Dabei wurde neben einer Progressionsverlangsamung der Niereninsuffizienz per se auch ein günstiger Effekt auf die Progression von mit ihr assoziierten Erkrankungen nachgewiesen.¹¹⁻¹⁵

1.1 Vasopeptidaseinhibition

Die Gruppe der Natriuretischen Peptide (NPs) verfügt über ausgeprägte natriuretische sowie vasodilatierende Eigenschaften. Weiterhin wirken die NPs inhibierend auf das RAAS, reduzieren die Sympathikusaktivität und vermittelt darüber hinaus einen antiproliferativen und antihypertrophischen Effekt.¹⁶⁻¹⁸ Die wichtigsten Vertreter aus der Familie der natriuretischen Peptide sind Atrial natriuretic peptide (ANP), Brain natriuretic peptide (BNP) und C-type natriuretic peptide (CNP). Der Abbau der NPs erfolgt mittels proteolytischer Spaltung durch das Enzym Neutrale Endopeptidase (NEP), unter anderem auch Nepriylsin genannt. Das Enzym kommt ubiquitär mit besonders hoher Aktivität in den Epithelzellen der Bürstensaummembran der proximalen Nierentubuli sowie beispielsweise in Herz, Lunge, Intestinum, Plazenta, ZNS und der Gefäßwand vor.¹⁹

Die NEP greift in die Funktion unterschiedlichster endogener Peptide ein. So werden vasodilatierende Substanzen wie die natriuretischen Peptide (ANP, BNP, CNP) oder auch Bradykinin degradiert und darüber hinaus der Abbau von Endothelin I und Angiotensin II maßgeblich beeinflusst.²⁰ Knock-out-Mäuse für Nepriylsin zeigten eine erhöhte Anfälligkeit für die Entwicklung eines septischen Schocks, was durch den verminderten Abbau eben dieser Mediatoren verursacht wird.²¹ Ein Konzentrationsanstieg der NPs durch medikamentöse Hemmung ihres Abbaus birgt somit ein kardio- und renoprotektives Potential (siehe Abbildung 1.1).

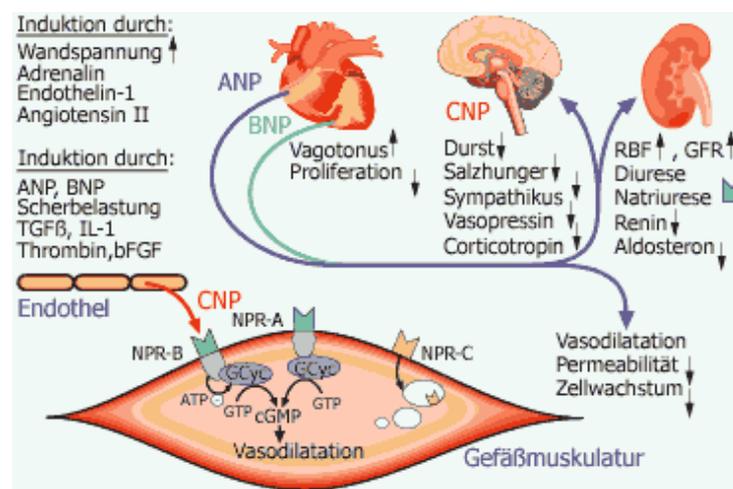


Abbildung 1.1: Bildung und Wirkung der Natriuretischen Peptide (modifiziert nach Dendorfer²²)

In klinischen Studien erwies sich die selektive NEP-Inhibition als ineffizient, da bei längerfristiger NEP-Hemmung eine kompensatorische Aktivierung des RAAS eintritt, was die zuvor erreichte Blutdrucksenkung wieder zu nichte macht.^{23,24}

Die Idee den Effekt der NEP-Hemmung durch den additiven Effekt einer ACE-Hemmung in einer neuen Substanzklasse, den sogenannten Vasopeptidaseinhibitoren, zu vereinen, brachte eine Reihe von neuartigen Testsubstanzen auf den Markt. Aufgrund der Ähnlichkeit der Untereinheit des katalytischen Zentrums des NEP-Moleküls zu der des ACE-Moleküls gelang es, beide Wirkmechanismen in einem Molekül zu vereinen.²⁵ Die kombinierte Hemmung von NEP und ACE stellt dabei schon aufgrund des zuvor beschriebenen Stellenwerts der ACE-Hemmer bei der Therapie von Hypertonie, Herzinsuffizienz, diabetischer Nephropathie sowie nach Myokardinfarkt einen vielversprechenden, therapeutischen Ansatz dar.

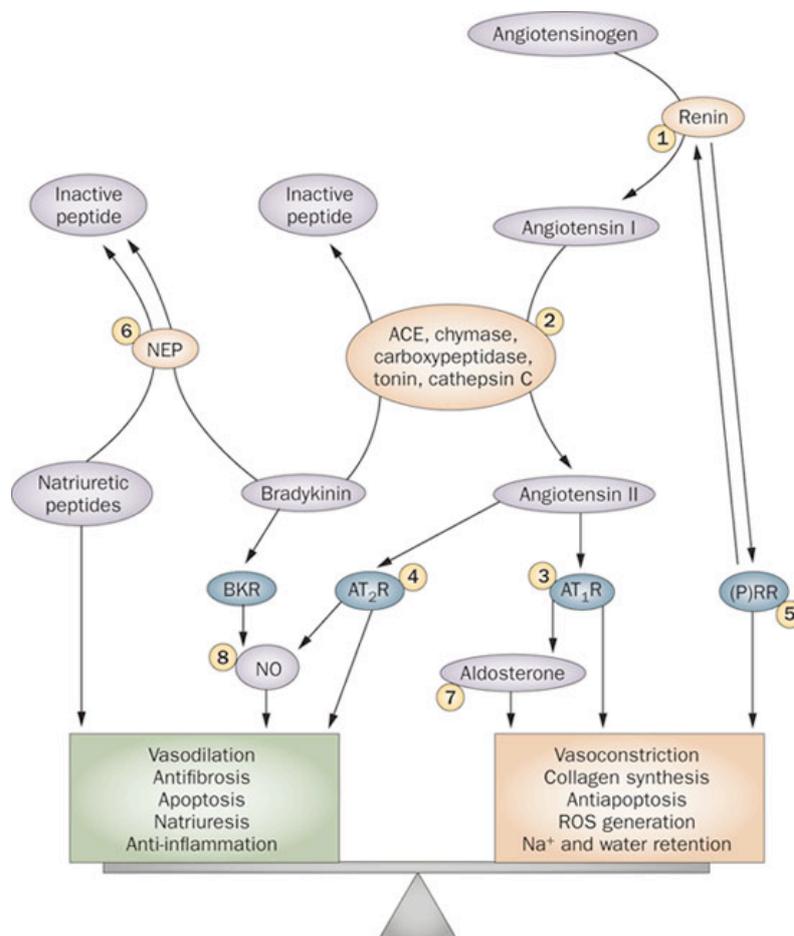


Abbildung 1.2: The renin–angiotensin–aldosterone system: vasoactive balance and targets for antihypertensive therapy

(1) Renin inhibition; (2) ACE inhibition; (3) AT₁R blockade; (4) AT₂R stimulation; (5) (P)RR blockade; (6) NEP inhibition; (7) aldosterone-receptor blockade or aldosterone-synthase inhibition; (8) NO–cGMP stimulation. Abbreviations: ACE, angiotensin-converting enzyme; AT₁R, angiotensin II type 1 receptor; AT₂R, angiotensin II type 2 receptor; BKR, bradykinin receptor; cGMP, cyclic guanosine monophosphate; NEP, neutral endopeptidase; NO, nitric oxide; (P)RR, (pro)renin receptor; ROS, reactive oxygen species. - Paulis, L. & Unger, T. (2010) Novel therapeutic targets for hypertension *Nat. Rev. Cardiol.*¹

Neben ersten, überzeugenden Versuchsreihen am Tiermodell²⁶ zeigten alsbald groß angelegte klinische Studien am Menschen die Wirksamkeit und Sicherheit einer Vasopeptidaseinhibition. In der IMPRESS-Studie (Inhibition of MetalloProtease by omapatrilat in a Randomized Exercise and Symptom Study in subjects with heart failure) an 573 Patienten mit NYHA-Stadien II–IV konnten erste Anzeichen einer günstigen Wirkung des Vasopeptidaseinhibitors Omapatrilat gegenüber Lisinopril beobachtet werden.²⁷ Die OPERA- und OKTAVE-Studie belegte den positiven Nutzen hinsichtlich der Wirkung auf arteriellen Hypertonus und Herzinsuffizienz.^{28,29} Die an 5770 herzinsuffizienten Patienten durchgeführte OVERTURE-Studie (Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events) ergab jedoch, entgegen den Erwartungen, scheinbar keinen Vorteil der Vasopeptidaseinhibition durch Omapatrilat im Vergleich zu dem etabliertem ACE-Hemmer Enalapril.^{30,31} Für den primären Endpunkt - Risiko für Mortalität oder kardiale Dekompensation – zeigte sich nach 24 Wochen nur ein tendenzieller Vorteil in der Omapatrilatgruppe. Unter Omapatrilat trat aber seltener eine Verschlechterung der Nierenfunktion auf und die klinische Symptomatik der schwer herzinsuffizienten Patienten (NYHA III–IV) zeigte eine geringere Progredienz.³²

Problematisch war das bei der ACE-Hemmung schon bekannte Angioödem, welches bei Vasopeptidaseinhibitor-behandelten Patienten deutlich häufiger auftrat. Als Ursache hierfür ist sicherlich die zeitgleiche Inhibition von ACE und NEP zu nennen, die letztlich zu einem Bradykininexzess beitragen kann.³³ Diese Erkenntnisse stoppten die Zulassung der ersten Vasopeptidaseinhibitoren.²⁹

Ein vielversprechender Ansatz, der das Problem der vermehrten Angioödembildung bei den Vasopeptidaseinhibitoren zu vermeiden scheint, ist der Einsatz der neueren Angiotensin-Receptor-Neprilysin-Inhibitoren (ARNI). In einem Molekül wird hierbei das duale Wirkprinzip der Angiotensin-II-Rezeptorblockade und der Neprilysin-Inhibition (NEP) genutzt. Diese nebenwirkungsärmere Substanzklasse könnte eine klinisch sinnvolle Weiterentwicklung der Vasopeptidaseinhibitoren darstellen.^{34,35}

1.2 Zielstellung der Studie

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung einer medikamentösen Vasopeptidaseinhibition hinsichtlich ihrer reno- sowie kardioprotektiven Wirkung. Zu diesem Zweck wurde das klinische Modell der chronischen Niereninsuffizienz durch operativ herbeigeführte 5/6-Nephrektomie der Ratte benutzt. Als Parameter für das Auftreten und das Ausmaß der durch diese Maßnahme induzierten Niereninsuffizienz wurde die Kreatinin-Clearance untersucht. Als Parameter für die kardiale Funktion dienten der systolische arterielle Blutdruck und das Herzgewicht relativ zum Körpergewicht sowie der linksventrikuläre enddiastolische Druck und die Relaxations- und Kontraktionsgeschwindigkeiten, die mittels Linksherzkatheter bestimmt wurden. Der für diese Studie verwendete Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688 (Sanofi Aventis) wurde dabei in direktem Vergleich zu dem mittlerweile vielfach eingesetzten AT₁-Blocker Olmesartan getestet.

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Medikamente und Arzneimittel

- Hautdesinfektionsmittel
- Desinfektionsmittel für Instrumente
- Povidon-Iod (Braunol-Braun)
- 2-Propanol 70% (Braun)
- Ketamin 25mg/ml (Ketanest® - Parke-Davis, jetzt Pfizer Pharma GmbH)
- Xylazin 2% (Rompun - Bayer Vital GmbH Leverkusen)
- Paracetamol-Saft 20 mg / kg KG (Ratiopharm)
- Angiotensin-II-Typ1-Rezeptorblocker (AT₁-B): Olmesartan 10 mg / kg KG
- Vasopeptidaseinhibitor: AVE 7688 (Sanofi-Aventis)

Der hier verwendete Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688 ist eine Entwicklungssubstanz der Aventis Pharma GmbH (heute Sanofi-Aventis). AVE 7688 hemmt selektiv kompetitiv gleichzeitig NEP und ACE. AVE 7688 hat eine orale Bioverfügbarkeit von 30% und wird aufgrund seines lipophilen Charakters zu ca. 80% an Plasmaeiweiß gebunden, hepatisch metabolisiert und renal eliminiert. Die effektive Halbwertszeit liegt bei 15-17 Stunden.

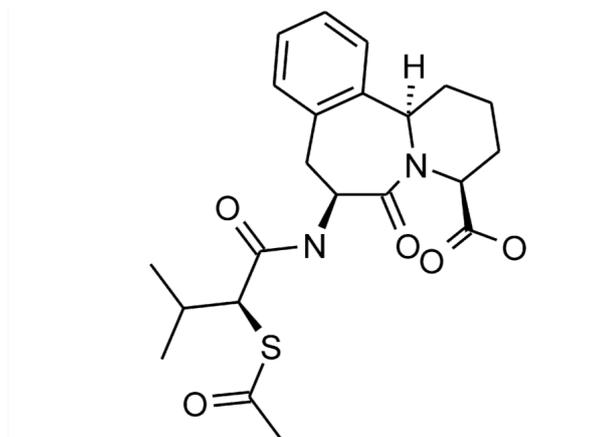


Abbildung 2.1: Strukturformel AVE 7688 (Sanofi-Aventis)

2.1.2 Instrumente und Nahtmaterialien

Artikel	Firma
Anatomische Pinzette	Aesculap Standard BD 47/ BD 35
Chirurgische Pinzette	Aesculap Standard BD 557
Chirurgische Schere	Aesculap Standard-Modell BC 320
Feine Präparierschere	Aesculap Jameson-Werber BC 175
Micro-Pincette Uhrmacher Modell	Aesculap BD 329
Mikro-Nadelhalter	Aesculap Barraquer FD 230
Nadelhalter	Aesculap Crile-Murray BM 219
Wundspreizer	Aesculap Mellinger OA 241
Haken	Werkstatt Lorenz
Nahtmaterial Perma Handseide 0	Sutupak, Ethicon, Norderstedt
Nahtmaterial geflochten 3-0	Dexon II, B. Braun Dexon GmbH
Nahtmaterial Monofilament 6-0	Biosyn, Surgalloy, USSC
Braunülen 20 GA, 16 GA	BD Adsyte Pro
Catheter Transducers Model SPC-330, 3F	Millar, Micro-Tip
Kanülen Gr.1, Gr. 12, Gr. 26	Braun, Sterican
Sterile Einwegspritzen 2ml, 5ml	Braun

2.1.3 Geräte

Gerät	Firma
Kathetersystem	TSE BIOSystems GmbH
Respirator	Rodent Ventilator 7025, UGO Basile
Analysewaage	Satorius Laboratory
Restrainer	Werkstatt UKBF
Blutdruckmessgerät	TSE BIOSystems GmbH
elektrischer Tierhaartrimmer	
Präzisionswaage	Satorius Laboratory
Zentrifuge 5417R	Eppendorf

2.2 Methoden

Unter der Genehmigungsnummer G 0093/01 wurden die beschriebenen Tierversuche durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt. Über einen Zeitraum von insgesamt zwölf Monaten wurden die hier beschriebenen tierexperimentellen Untersuchungen durchgeführt. Sämtliche Tierversuche wurden unter Bewahrung des deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt. Sie standen im Einklang mit den Richtlinien für Tierversuche des Instituts für Klinische Pharmakologie der Charité Campus Benjamin Franklin.

2.2.1 Tierstamm und Haltung

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir insgesamt 100 männliche Wistar-Ratten. Der Wistar-Rattenstamm wurde 1996 in der Charité Campus Benjamin Franklin etabliert. Die Wistar-Ratten wurden von Charles River, Sulzfeld, bezogen. Das mittlere Körpergewicht der Wistar Ratten am Operationstag betrug 300g. Die Haltung der Ratten erfolgte in den Räumen der Forschungsanstalt für Experimentelle Medizin (FEM) der Freien Universität Berlin. Die Tiere hatten jederzeit freien Zugang zu Wasser und Standard-Rattenfutter. Es lebten maximal sechs Ratten in einem Makrolon-Gemeinschaftskäfig. Die Temperatur in den Haltungs- und Versuchsräumen des FEM betrug durchgehend 20°C, die Luftfeuchtigkeit lag bei 50%. Durch eine automatische Beleuchtung wurde ein natürlicher Tag-Nacht-Rhythmus imitiert. Der Allgemeinzustand und der Ernährungszustand der Ratten wurde über den gesamten Versuchszeitraum regelmäßig kontrolliert. Hierbei wurden der Gesamteindruck, der Bewegungsradius und der Fellzustand regelmäßig begutachtet.

2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign

Die Einteilung in die entsprechenden Gruppen zeigt die untere Tabelle 2.1. Die Ratten der Gruppe Ko wurden sham-operiert und blieben medikamentös unbehandelt. Die Gruppe Nx erhielt eine 5/6-Nephrektomie. Ratten der Gruppe AVE erhielten nach erfolgter 5/6-Nephrektomie ab dem Operationstag täglich den Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688 (Sanofi Aventis). Ratten der Gruppe AT₁B erhielten nach erfolgter 5/6-Nephrektomie ab dem Operationstag täglich den Angiotensin-II-Typ1-Rezeptor-Blocker (AT₁-B) Olmesartan. Über das Futter erhielten die Ratten den Vasopeptidase-Inhibitor in einer Dosierung von 30mg pro kg

Körpergewicht bzw. den AT₁-Blocker Olmesartan in einer Dosis von 10 mg pro kg Körpergewicht. Die Medikation wurde bis zum Tötungstag am Ende der vierten postoperativen Woche beibehalten.

Tabelle 2.1: Protokollgruppen

Protokollgruppe	Stamm	Anzahl der operierten Ratten	Ratten gesamt
Ko	Wistar _{sham}	N = 23	
Nx	Wistar _{Nx}	N = 18	
AVE	Wistar _{Nx AVE}	N = 21	
AT ₁ B	Wistar _{Nx AT₁B}	N = 13	N _{ges} = 75

Sham: sham - operiert; Nx: 5/6-Nephrektomie; AVE: behandelt mit dem Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688; AT₁B: behandelt mit dem Angiotensin-II-Typ1-Rezeptor-Blocker Olmesartan

2.2.3 Narkose und operatives Vorgehen

Am Operationstag wurden die Tiere zur Operationsvorbereitung aus den Gemeinschaftskäfigen genommen und in Einzelkäfige gesetzt. Sie wurden gewogen und in den Operationsraum gebracht. Durch intraperitoneale Injektion von Ketanest (0,174 mg/100g KG) und Xylazin 2% (0,065 mg/100 g KG) wurden die Tiere narkotisiert. Eine wirksame Narkosetiefe wurde durch das Setzen eines Schmerzreizes mittels einer chirurgischen Pinzette an der Pfote getestet. Bestand nach ca. fünf Minuten keine ausreichende Narkosetiefe wurde Ketanest in halbiertes Initialdosis nachapplied. Die Ratten wurden in Rückenlage auf dem OP-Tisch fixiert. Die Bauchdecke wurde rasiert. Dabei atmeten die Tiere unter der Narkose spontan.

Zur Einleitung der Operation wurde eine mediane Laparotomie mit Spaltung von Haut, Muskulatur, Faszie und Peritoneum vorgenommen. Sobald freier Zugang zur Bauchhöhle bestand, wurden Magen, Darm, Leber und Milz kurzfristig zur Seite verdrängt und mit stumpfen Haken so fixiert, dass die Nierenloge frei zugänglich war. Das operative Vorgehen an der linken Niere gestaltete sich hauptsächlich aufgrund des längeren Gefäßverlaufes einfacher. Hilusnah wurde das Peritoneum parietale inzidiert. Es erfolgte die Darstellung der Arteria renalis sinistra mit ihren Aufzweigungen in einen ventralen und dorsalen Hauptast. Durch kurzzeitiges Abklemmen der dargestellten Äste war eine Zuordnung zu den jeweils versorgten renalen Parenchymanteilen möglich. Letztlich gelang es durch gezielte Ligatur einzelner arterieller

Seitenäste die Perfusion von 2/3 der linken Niere dauerhaft zu unterbinden. Daraufhin erfolgte die Nephrektomie der rechten Niere durch komplettes Absetzen am Gefäßstumpf.

Nach sorgfältiger Kontrolle des Operationssitus auf etwaige Nahtinsuffizienzen war die operative Reduktion des Nierengewebes um 5/6 erfolgt. Es erfolgte der Verschluss der Bauchhöhle. Dabei wurden schrittweise zunächst das Peritoneum und dann die Muskelfaszie durch fortlaufende resorbierbare Nähte vernäht. Zuletzt erfolgte der Hautverschluss.

Die Tiere wurden nach abschließender Desinfektion der Operationswunde auf einen vorgewärmten, mit Zellstoff ausgelegten Käfigplatz bis zum vollständigen Abklingen der Narkose beobachtet. Danach erfolgte die Rücküberführung in die Gemeinschaftskäfige. Hierbei bestand jederzeit freier Zugang zu Wasser und Nahrung. Eine postoperative Analgesie erfolgte durch im Trinkwasser gelöstes Paracetamol.

2.2.4 Blutdruckmessung

Für die Bestimmung des systolischen Blutdrucks wurde die nicht-invasive Tailcuff-Methode benutzt. Es wurde eine automatisierte, computergestützte, oszillatorische Technik der Firma TSE, Bad Homburg verwendet. Zur Messung des Blutdrucks wurden die Tiere einzeln in eine schmale Kunststoffröhre gesetzt, welche in einer auf 35°C aufgeheizten abgeschlossenen Kammer stand, wodurch sich die Durchblutung des Rattenschwanzes verbesserte. Über den Schwanz der Ratten befestigten wir eine aufblasbare Druckmanschette sowie einen mit dem Computer verbundenen Pulssensor. Um die Tiere an dieses Procedere zu gewöhnen gingen der eigentlichen Datenermittlung einige Tage zuvor Testmessungen voraus.

In der vierten postoperativen Woche wurde so an drei aufeinander folgenden Tagen täglich mindestens drei Blutdruckmessungen bei jedem Tier durchgeführt. Der Mittelwert dieser Messungen floss in die Blutdruckdatenauswertung dieser Studie ein.

2.2.5 Asservation des Urins und Nierenfunktionsbestimmung

Am Ende der vierten Woche wurden weiterhin alle Tiere einzeln in einen speziellen Stoffwechsellkäfig überführt, welcher über einen unten am Käfig befindlichen, konisch zulaufenden Auffangmechanismus die Asservation des Urins über 24 Stunden für die Kreatinin-clearancemessung ermöglichte. Die labortechnische Untersuchung des Urins erfolgte in den Räumen des Institutes für klinische Pharmakologie der Charité Campus Benjamin Franklin. Die Bestimmung der Kreatinin-clearance erfolgte durch die gebräuchliche Formel:

$$C = U \times UV / S \times t$$

(C: Kreatinin-clearance in ml/min; U: Kreatininkonzentration im 24h-Urin (mg/dl); UV: Uringesamtvolumen in 24h (ml); S: Kreatininkonzentration im Serum (mg/dl); t: Zeit (min))

2.2.6 Herzkatheteruntersuchung und Blutentnahme

Am Ende der vierten postoperativen Woche wurden die Tiere für die abschließende Herzkatheteruntersuchung und Blutabnahme vorbereitet. Die Tiere wurden gewogen. Im Anschluss erfolgte in Analogie zur initialen 5/6-Nephrektomie die Narkose.

Für die Herzkatheteruntersuchung wurde nach linksseitiger Thorakotomie mit Durchtrennung des linken Rippenbogens eine direkte Punktion des linken Ventrikels über die Herzspitze mit einer Verweilkanüle durchgeführt. Ein Katheter konnte auf diesem Weg über die liegende Verweilkanüle direkt in den linken Ventrikel eingeführt werden. Bei Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe hatte sich gezeigt, dass ein Verschieben des Herzkatheters über eine periphere Arterie (beispielsweise A. carotis communis) bei den verhältnismäßig kleinen Tieren technisch teilweise nicht durchführbar war. Um ein Kollabieren der Lunge durch den erzeugten Pneumothorax nach Thorakotomie zu verhindern, wurden die Tiere intubiert und beatmet. Hierfür wurde ein spezieller Respirator (Rodent Ventilator, Typ 7025, UGO Basile) benutzt. Als Tubus diente eine Verweilkanüle (26 G), die nach Tracheotomie direkt in die Trachea eingeführt wurde. So konnte eine ausreichende Oxygenierung während der gesamten Katheteruntersuchung aufrecht erhalten werden.

Über die im linken Ventrikel liegende Verweilkanüle konnte nun der Millar-Katheter (Modell SPR - 401, 2F) zur Druckmessung vorgeschoben werden. Die korrekte Lage der Katheterspitze wurde anhand der über einen Computer aufgezeichneten Druckkurve kontrolliert.

Mit dem Schluss der Aortenklappe kommt es zum Absinken des linksventrikulären Drucks, woraufhin in der sich anschließenden diastolischen Füllungsphase ein neuerlicher Druckanstieg zu verzeichnen ist, der kurz vor der sich anschließenden Kontraktionsphase ein Maximum erreicht. Dieser Werte findet sich als linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) in der Auswertung dieser Studie wieder. Weiterhin wurden Daten über den maximalen linksventrikulären Druck (LVP_{max}) sowie die erste Ableitung des Ventrikeldrucks P nach der Zeit t während der Kontraktionsphase ($+dP/dt$) und während der Relaxationsphase ($-dP/dt$) des linken Ventrikels bestimmt.

Nach ca. drei- bis fünfminütiger Aufzeichnung konnten die Messungen beendet werden. Nach Entfernung des Katheters wurde Blut über die liegende Verweilkanüle entnommen, was zum Tod der Ratten führte.

Das aufgefangene Blut wurde 5 min bei 8000 U/min und 4°C zentrifugiert. Das daraufhin abpipettierte Serum wurde schockgefroren, um es weiteren Auswertungen zuzuführen. Aus diesen Proben wurde später im Labor 28 in Berlin-Wilmersdorf unter anderem die Kreatininkonzentration bestimmt.

2.2.7 Organentnahme

Nach der erfolgten direkt-invasiven Herzkatheteruntersuchung mit abschließender Blutentnahme erfolgte die abschließende Organentnahme. Das Herz wurde entnommen, gesäubert und gewogen. Der rechte Ventrikel wurde dabei vom linken Ventrikel abgetrennt, um das Gewicht der Ventrikel einzeln zu bestimmen. Zur Vorbereitung der weiteren histologischen Aufarbeitung in unserer Arbeitsgruppe wurden die Organe in Fixierlösungen gebettet. Nach Entfernung des nekrotischen Nierengewebes der Teilablation der verbliebenen Niere wurden letztere gewogen. Ähnlich wurde mit beiden Lungenflügeln, einem Stück der Aorta, der Leber sowie den Nebennieren verfahren. Alle Organe wurden in flüssigem Stickstoff bei $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$ schockgefroren.

2.2.8 Statistische Analyse

Die Auswertung der experimentell erhobenen Daten erfolgte unter Zuhilfenahme des Statistikprogrammes SPSS 11.0 für Windows, der Firma SPSS Inc. 1981-2001 sowie dem Graphikprogramm SIGMAPLOT. Alle Werte wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) angegeben. Die statistische Analyse erfolgte durch nicht-parametrische Testung nach Mann-Whitney mit anschließender Adjustierung nach Bonferroni zur Berücksichtigung der alpha-Fehler Kumulierung. Zum Vergleich der beiden Rattenstämme verwendeten wir eine univariate Varianzanalyse. Unterschiede wurden bei einem $p < 0,05$ als signifikant angenommen.

Der Benutzung des SEM weist den Vorteil auf, dass seine Anwendung - bis zu einer gewissen Grenze - auch bei Stichproben möglich ist, die nicht aus einer symmetrisch-eingipfligen Grundgesamtheit stammen. Die Verwendung der Standardabweichung des Mittelwertes bietet sich somit bei geringen Gruppengrößen an.

3 Ergebnisse

3.1 Tierzahlen

Von 100 operierten Ratten erreichten 25 Tiere nicht die abschließende Untersuchung, da sie frühzeitig verstarben. Dabei verstarben die meisten Tiere aus der Gruppe Nx der unbehandelten 5/6-nephrektomierten Ratten. Von diesen 25 Tieren verstarben im vierwöchigen Untersuchungszeitraum 15 Tiere im frühen postoperativen Verlauf. Fünf Ratten verstarben innerhalb von 48 Stunden postoperativ. Fünf Tiere fanden in der zweiten postoperativen Woche den Tod. Die am Todestag durchgeführten Obduktionen der frühzeitig verstorbenen Ratten erbrachten in keinem der Fälle einen eindeutigen Hinweis auf die Todesursache. Eine letale Blutung konnte bei allen verstorbenen Tieren ausgeschlossen werden.

Aufgrund der ausgeschiedenen Tiere verringerte sich die Anzahl der in die statistische Auswertung eingegangenen Ratten auf $n = 75$. Für die statistische Erhebung ergibt sich nun ohne die frühzeitig verstorbenen Tiere folgende Verteilung:

Tabelle 3.1: Gruppeneinteilung und Anzahl der Ratten pro Gruppe nach dem vierwöchigen Untersuchungszeitraum.

Gruppe: Ko	Wistar _{sham}	23
Gruppe: Nx	Wistar _{Nx}	18
Gruppe: AVE	Wistar _{NxAVE}	21
Gruppe: AT ₁ B	Wistar _{NxAT1B}	13
Gesamt:		75

Wistar: Wistar - Ratten; sham: sham - operiert; Nx: 5/6-Nephrektomie; AVE: behandelt mit dem Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688; AT₁B: behandelt mit dem AT₁-Blocker Olmesartan

3.2 Systolischer Blutdruck

Abbildung 3.1 zeigt die in der vierten postoperativen Woche ermittelten systolischen Blutdruckwerte. Bei den sham-operierten Tieren der Kontrollgruppe Ko lagen signifikant niedrigere systolische Blutdruckwerte im Vergleich zu den nephrektomiert-unbehandelten Tieren der Gruppe Nx vor ($p < 0,05$).

Sowohl die AT₁-Blocker-Therapie als auch die Gabe des Vasopeptidaseinhibitors AVE 7688 konnte nach 5/6-Nephrektomie die Blutdruckwerte auf das Niveau der unbehandelten

Kontrolltiere senken. Zwischen den Blutdruckwerten der mit Vasopeptidaseinhibitor und der mit AT₁-Blocker behandelten Tiere bestanden keine signifikanten Unterschiede.

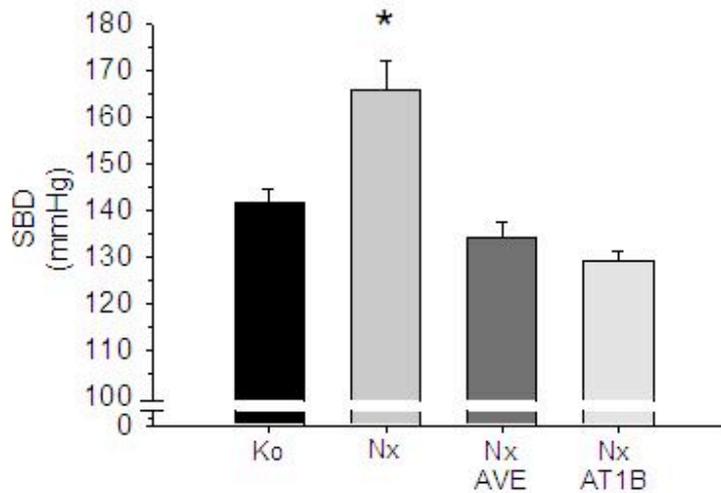


Abbildung 3.1: Systolischer Blutdruck der Wistar-Ratten am Ende der vierten Untersuchungswoche; Werte in mean \pm SEM; * $p < 0,05$ vs. Ko; Ko - sham-operierte Kontrollgruppe; Nx - 5/6-nephrektomiert und unbehandelt; AVE - Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688; AT₁B - AT₁-Rezeptor Blocker Olmesartan

3.3 Herzgewichte

Die Tabelle 3.2 zeigt die auf das Körpergewicht normalisierten mittleren Herzgewichte sowie die auf das Körpergewicht normalisierten Gewichte der linken und rechten Ventrikel der einzelnen Gruppen am Tötungstag.

Tabelle 3.2 : Herzgewicht und Gewicht der linken und rechten Ventrikel

Gruppe	HG/KG(t) in mg/g	LVG/KG(t) in mg/g	RVG/KG(t) in mg/g	Anzahl N
Wistar sham	2,3 \pm 0,06	1,9 \pm 0,07	0,48 \pm 0,09	19
Wistar Nx	*3,6 \pm 0,21	*2,9 \pm 0,14	*0,72 \pm 0,37	18
Wistar Nx AVE	2,8 \pm 0,04	2,2 \pm 0,06	*0,58 \pm 0,05	21
Wistar Nx AT ₁ B	2,7 \pm 0,05	2,0 \pm 0,06	*0,71 \pm 0,06	13

HG: Herzgewicht; KG(t): Körpergewicht am Tötungstag; LVG: Gewicht des linken Ventrikels; RVG: Gewicht des rechten Ventrikels; Anzahl N: Ratten pro Gruppe; Werte in mean \pm SEM; * $p < 0,05$ vs. Ko.

Subtotale Nephrektomie führte innerhalb des vierwöchigen Untersuchungszeitraumes zu einer signifikanten Erhöhung der relativ zum Körpergewicht normalisierten Herzgewichte (HG/KG(t)) sowie der relativ zum Körpergewicht normalisierten Gewichte der linken und rechten Ventrikel (LVG/KG(t) und RVG/KG(t)). Sowohl die AT₁-Blocker-Gabe als auch die Gabe von AVE 7688 konnte nach 5/6-Nephrektomie die normalisierten Herzgewichte (HG/KG(t)) sowie die normalisierten Gewichte der linken Ventrikel (LVG/KG(t)) auf das Niveau der unbehandelten Kontrolltiere senken. Zwischen den Gewichten der Gruppe AVE und AT₁-B bestanden keine signifikanten Unterschiede.

3.4 Parameter der linksventrikulären Myokardfunktion

3.4.1 Kontraktion

Subtotale Nephrektomie führte bei den Tieren der Gruppe Nx im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren Ko im Untersuchungsintervall zu einer signifikanten Einschränkung der Kontraktion [$+dP/dt/LVP_{max}(s^{-1})$] des linken Ventrikels ($p < 0,05$). Diese Verminderung der Kontraktion ließ sich sowohl durch die Gabe des Vasopeptidaseinhibitors AVE 7688, als auch durch die Gabe des AT₁-Blockers verhindern, so dass sich, wie in Abbildung 3.2 gezeigt, die gemessene Kontraktion dem Niveau der unbehandelten Kontrolltiere anpasste.

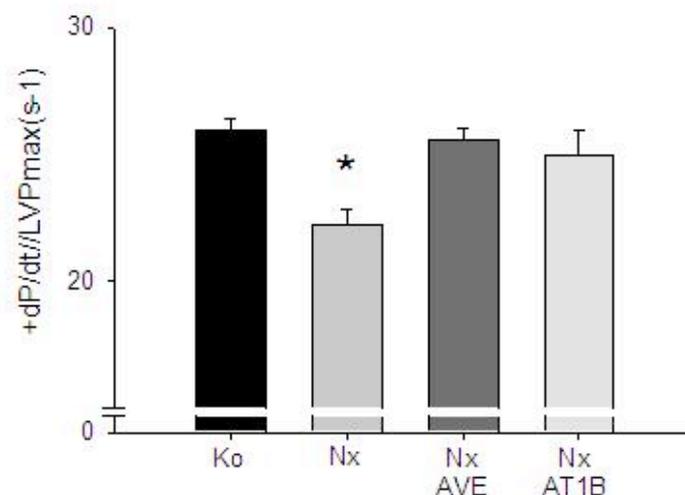


Abbildung 3.2: Linksventrikuläre Myokardfunktion der Wistar-Ratten am Ende der vierten Untersuchungswoche charakterisiert durch die Kontraktion des linken Ventrikels [$+dP/dt/LVP_{max}(s^{-1})$]; Werte in mean ± SEM * $p < 0,05$ vs. Ko.

3.4.2 Relaxation

Subtotale Nephrektomie führte bei den Tieren der Gruppe Nx im Vergleich zu den Tieren der unbehandelten Kontrollgruppe Ko im Untersuchungsintervall zu einer signifikanten Einschränkung der Relaxation $[-dP/dt/LVP_{\max}(s^{-1})]$ des linken Ventrikels ($p < 0,05$). Diese Verminderung der Relaxation ließ sich sowohl durch die Gabe von AVE 7688 als auch durch die Gabe des AT₁-Blockers verhindern, so dass sich, wie Abbildung 3.3 gezeigt, die gemessene Relaxation des linken Ventrikels dem Niveau der unbehandelten Kontrolltiere anglich.

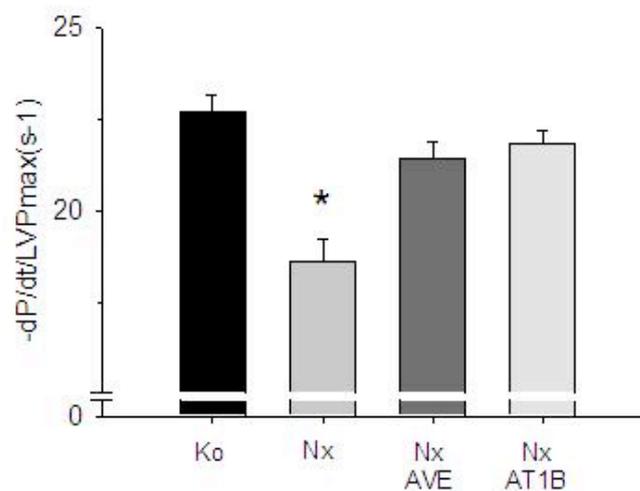


Abbildung 3.3: Linksventrikuläre Myokardfunktion der Wistar-Ratten am Ende der vierten Untersuchungswoche charakterisiert durch die Relaxation $[-dP/dt/LVP_{\max}(s^{-1})]$ des linken Ventrikels; Werte in mean \pm SEM * $p < 0,05$ vs. Ko.

3.4.3 Linksventrikulärer enddiastolische Druck

Der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Subtotale Nephrektomie führte hierbei bei den Tieren der Gruppe Nx zu einer deutlichen Zunahme des LVEDP im Vergleich zu den anderen Gruppen. Die LVEDP-Werte der mit AVE 7688 oder mit AT₁-Blocker behandelten Tiere konnten dabei auf das Niveau der unbehandelten Kontrolltiere gesenkt werden.

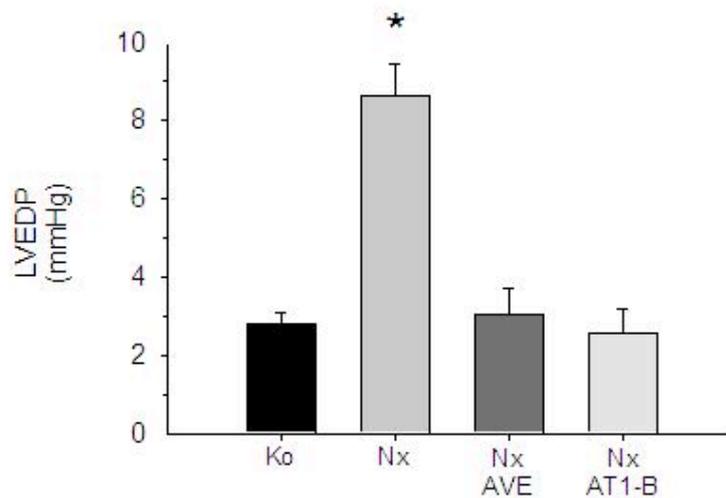


Abbildung 3.4: Darstellung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks (LVEDP) der einzelnen Gruppen am Ende der vierten Untersuchungswoche; Werte in mean \pm SEM; * $p < 0,05$ vs. Ko.

3.5 Nierenfunktion

Abbildung 3.5 zeigt die Kreatinin-Clearance aller Behandlungsgruppen im Vergleich. Subtotale Nephrektomie führte zu einem signifikanten Abfall der Kreatinin-Clearance. Sowohl AVE 7688 als auch AT₁B-Gabe führte zu einem leichten Anstieg der Kreatinin-Clearance. Es zeigte sich dabei jedoch kein signifikanter Unterschied zu den nephrektomiert-unbehandelten Tieren der Gruppe Nx ($p < 0,05$).

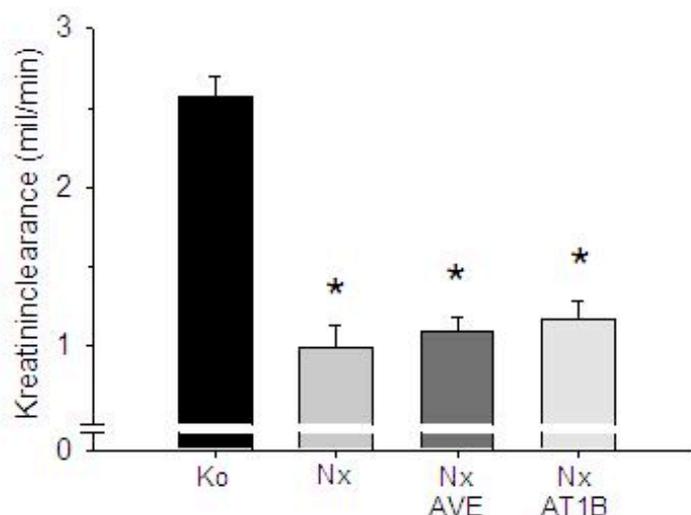


Abbildung 3.5 : Kreatininclearance der einzelnen Gruppen in der 4. postoperativen Woche in ml/min; Werte in mean \pm SEM * $p < 0,05$ vs. Ko

4 Diskussion

4.1 Nierenfunktion

4.1.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf die Nierenfunktion

In der vorliegenden Studie kam es nach 5/6-Nephrektomie zu einer signifikanten Abnahme der Kreatinin-Clearance bei allen nephrektomierten Tieren im Vergleich zu den unbehandelt nicht nephrektomierten Tieren. Die Kreatinin-Clearance gilt gemeinhin als Maß für die Nierenfunktion, so dass sich zusammenfassend eine Verschlechterung der Nierenfunktion bei den nephrektomierten Tieren feststellen ließ.

Die Tatsache, dass es nach 5/6-Nephrektomie - und somit verbundener Reduktion der Nephrondosis auf 5/6 des Ausgangswerts - nicht zu einer Reduktion der Kreatinin-clearance auf 5/6 des Ausgangswertes in den unbehandelt nephrektomierten Tieren kommt, lässt gewisse Kompensationsmechanismen der verbliebenen Restnephronen erahnen:

Braun-Menendez et al. konnte bereits in der Mitte des letzten Jahrhunderts eine Funktionsanpassung nach unilateraler Nephrektomie bei der Ratte feststellen. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) lag hier bei 70-85% des präoperativ durch zwei Nieren geleisteten Ausgangswertes.³⁶ Imbert et al. gelang es 1974 diese Beobachtung durch eine erhöhte glomeruläre Filtrationsrate des Einzelneurons zu erklären.³⁷ Nach der Brenner'schen Hypothese von 1988 kommt es nach einer initialen Schädigung der Niere mit Verlust an funktionstüchtigen Glomeruli zu einer kompensatorischen, glomerulären Hypertension und Hyperfiltration. Die aufgehobene renale Autoregulation hat zur Folge, dass es zum Untergang weiterer Glomeruli im Sinne eines Circulus vitiosus kommt.³⁸ Diese Anpassungsreaktion konnte mittlerweile in einer Vielzahl von Studien bestätigt werden und darf als gesichert gelten.³⁹⁻⁴² Da bei der Ratte im Gegensatz zum Menschen Kreatinin verstärkt tubulär sezerniert wird, sind diese Ergebnisse jedoch nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar.

Am Menschen zeigten Baudoin et al. in einer retrospektiven Beobachtungsstudie bei 111 Patienten, dass die GFR nach unilateraler Nephrektomie nach einen Zeitraum von 7-52 Jahren bei etwa 75% lag.⁴³ In einer weiteren retrospektiven Studie von Fehrmann-Ekhol et al. aus dem Jahr 2011 wurden 573 Lebendnierenspenden bezüglich ihrer Nierenfunktion nachverfolgt. Die GFR nach erfolgter Donornephrektomie lag über die folgenden Jahre bei 71%. Ähnlich hierzu

fanden Goldfarb et al. 25 Jahre nach erfolgter Donornephrektomie bei den Spendern eine GFR von 72%.⁴⁴

Zusammenfassend lässt sich demnach aussagen, dass die Reduktion der Nephronosis nicht proportional zur Nierenfunktion ist. Darüber hinaus ist nach Rothermund et al. nicht die Nierenmasse per se sondern die Zahl der funktionstüchtigen Nephrone letztlich für die Nierenfunktion sowie die Entwicklung eines arteriellen Hypertonus und weiterer Endorganschäden verantwortlich. Weiterhin scheint es eine kritische Nephronosis zu geben bei deren Unterschreiten - wie in dem hier benutztem Modell der 5/6-Nephrektomie als Modell der chronischen Niereninsuffizienz - es durch die beschriebenen Anpassungsmechanismen zu einer weiteren Verschlechterung der Niereninsuffizienz kommt.^{45, 46}

4.1.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT₁-Blockade auf die Nierenfunktion im 5/6-Nephrektomiemodell

In unserer Studie zeigte sich nach vierwöchiger Versuchszeit in allen nephrektomierten Gruppen eine deutliche Verschlechterung der Kreatinin-Clearance infolge des drastischen Verlustes an funktionstüchtigen Nephrone. Ein signifikanter Unterschied zwischen den medikamentös behandelten und den nicht-behandelten Tieren ließ sich nicht feststellen.

Während sich in unseren Versuchsreihen keine Verbesserung der Nierenfunktion bei den medikamentös behandelten Tieren zeigte, lassen sich in der Literatur viele gegensätzliche Ergebnisse finden:

Remuzzi et al.⁴⁷ konnten bei Untersuchungen an uninephrektomierten Ratten nach Gabe eines ACE-Hemmers die Verbesserung der Nierenfunktion zeigen. Cao, Burrell et al. untersuchten bei subtotal nephrektomierten Ratten den Effekt des Vasopeptidasehemmers Omapatrilat im Vergleich zum ACE-Hemmer Lisinopril. Hierbei wurden die Tiere über 12 Wochen behandelt. Die GFR der Tiere verbesserte sich sowohl unter der Gabe von Omapatrilat als auch unter Fosinopril in vergleichbarem Maße.⁴⁸ In ähnlichen Versuchsreihen zeigten Wenzel, Wolf et al. im 'two-kidney, one clip hypertension'-Modell einen vergleichbar positiven Effekt von ACE- und Vasopeptidaseinhibition auf die renale und kardiovaskuläre Funktion.^{49,50} Dabei ist der kardioprotektive Effekt einer ACE-Hemmung direkt abhängig von der Anzahl der zur Verfügung stehenden Nephrone.⁴⁶ Ying, Flamant et al. konnten bei Ratten mit inhibierter NO-Synthase und

Salz-Diät eine Normalisierung der Kreatinin-clearance unter der Therapie mit einem Vasopeptidaseinhibitor zeigen.⁵¹

Die erwähnten Studien zeigen, dass die nephroprotektive Wirkung der Vasopeptidaseinhibition noch nicht abschließend geklärt ist. Ein möglicher Grund weshalb wir keinen positiven Effekt bzgl. der Nierenfunktion beobachten konnten, könnte ein zu kurz gewählter Beobachtungszeitraum gewesen sein. Bei den oben erwähnten Studien mit nachgewiesenem positiven Effekt in Form einer Zunahme der Kreatinin-clearance war ein deutlich längerer Beobachtungszeitraum gewählt worden.

4.2 Blutdruck

4.2.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf den Blutdruck

In der vorliegenden Studie kam es nach 5/6-Nephrektomie bei männlichen Wistar-Ratten im Zeitraum von 28 Tagen zu einem deutlichen Anstieg des arteriellen Blutdrucks gegenüber unbehandelten, sham-operierten Kontrolltieren. Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied von 24 mmHg +/- 6 zwischen den gesunden Kontrolltieren der Gruppe Ko zu der nephrektomierten, unbehandelten Gruppe Nx (Ko: 142 mmHg +/- 3 vs. Nx: 166 mmHg +/- 6).

In der vorliegenden Studie beruht die Entwicklung des arteriellen Bluthochdrucks in primär normotensiven Ratten auf der Reduktion der Nephronanzahl durch Entfernung der rechten Niere und ischämischer Infarzierung von zwei Dritteln der linken Niere. In diesem Modell wird das RAAS aktiviert. Ursächlich hierfür ist die Ischämie in der Periinfarktzone aufgrund der Ligation des Seitenasts der Nierenarterie. Es ist bekannt, dass dies nur in der ersten Woche nach Infarzierung des Gewebes zu einer Stimulation des RAAS Systems führt. Diese Stimulation des RAAS führt zu einer frühen Blutdruckspitze, die man in den ersten Tagen nach Infarzierung messen kann.⁵²⁻⁵⁴

In einer aktuellen Publikation unserer Arbeitsgruppe (Rothermund et al. 2011) ließ sich weiterhin nachweisen, dass die Entwicklung eines arteriellen Bluthochdrucks nicht von der Nierenmassenreduktion per se abhängig ist, vielmehr ist die Anzahl der nach Massenreduktion zur Verfügung stehenden Nephrone ausschlaggebend und gilt damit als unabhängiger Parameter für die Entstehung eines arteriellen Bluthochdrucks sowie arterieller Endorganschäden.⁴⁶

Unabhängig von der Methode der Nephrektomie ist gut belegt, dass eine 5/6-Nephrektomie zu einem Anstieg des arteriellen Blutdrucks führt (siehe Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Arterielle Hypertension als Folge von Nierenablation

Studienbeleg	Tierstamm	Ablationsausmaß	SAB ± SEM (mmHg)
Kanazawa, 2006	SHR-Izumo	5/6	265 ± 8
Ardiles, 2002	Sprague-Dawley	5/6	178 ± 7,8
Fujihara, 2000	Munich-Wistar	5/6	156 ± 5

Brochu, 1999	Wistar	5/6	180 ± 8
Fitzgibbon, 1999	Wistar	5/6	184 ± 7
Griffin 1994	Sprague-Dawley	5/6	156 +/- 5
Lafayette, 1992	Munich-Wistar	5/6	185 ± 5
Brooks, 1990	Long-Evans	5/6	215 ± 5
Ikeda, 1989	Sprague-Dawley	5/6	155 ± 8,4
Anderson, 1986	Munich-Wistar	5/6	177 ± 7
Yuhara, 1989	Sprague-Dawley	5/6	155 ± 8,3
Norman, 1988	Sprague-Dawley	5/6	161 +/- 5
Garcia, 1987	Munich-Wistar	5/6	160 ± 9
Purkerson, 1985	Sprague-Dawley	7/8	190 ± 3,9

SAB - systolischer arterieller Blutdruck; SEM - Standardfehler des Mittelwertes; SHR - spontan hypertensive Ratte

4.2.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT₁-Blockade auf den Blutdruck im 5/6-Nephrektomiemodell

In der vorliegenden Studie wurde der antihypertensive Effekt der Gabe des Vasopeptidaseinhibitors AVE 7688 mit der Gabe des AT₁-Blockers Olmesartan im 5/6-Nephrektomie Modell der Ratte verglichen. Dabei konnte die Gabe des Vasopeptidaseinhibitors die Blutdruckwerte der 5/6-nephrektomierten Tiere auf das Niveau der unbehandelten Kontrolltiere senken (AVE: 134 mmHg +/- 3 vs. Kontrolle 142 mmHg +/- 3). Es konnte ein vergleichbarer, nicht signifikant unterschiedlicher, antihypertensiver Effekt wie bei der Gabe eines AT₁-Blockers nachgewiesen werden (AT₁B: 129 mmHg +/- 2).

Der antihypertensive Effekt einer Vasopeptidaseinhibition konnte in der Vergangenheit bereits in einigen Studien, darunter auch Studien mit dem hier benutzten 5/6-Nephrektomiemodell der Ratte, nachgewiesen werden. Neben dem häufiger aufgeführten Vergleich mit einem ACE-Hemmer konnten Gröholm et al.⁵⁵ als erste im Modell der spontan hypertensiven Ratte (SHR) den antihypertensiven Effekt eines Vasopeptidaseinhibitors mit dem eines AT₁-Blockers, in diesem Fall Losartan, gegenüberstellen (siehe Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: Studienbelege für die Wirksamkeit der Vasopeptidaseinhibition

Studie	Tierstamm	Modell	SAB ± SEM ohne Therapie (mmHg)	SAB ± SEM unter VPI (mmHg)	SAB ± SEM unter Vergleichs-substanz (mmHg)	Vergleichs-substanz
Steinmetz, Sadaghiani et al. 2007	Sprague-Dawley	2 kidney-1-clip	174 +/-5	L: 168 +/-8 M: 133 +/-7 H: 94 +/-4	-	-
Krebs Hamming et al. 2007	Goldblatt	2 kidney-1-clip	> 160 mmHg	VPI erniedrigte dosisabhängig den Blutdruck	-	-
Quaschnig, Hocher et al. 2006	WKY	2 kidney-1-clip	208 +/- 19	119 +/-8	124 +/- 10	Ramipril
Linz et al. 2006	SHR		210 +/- 5	150 +/- 5	150 +/- 5	Ramipril
Benigni, Zoja et al. 2004	Sprague-	5/6-Nx	159 +/- 5	101 +/- 3	109 +/- 3	Enalapril
Gröholm, Finckenberg et al. 2004	SHR		210 +/-5	170 +/-10	170 +/- 10	Losartan
Taal, Nenov et al. 2001	Munich-Wistar	5/6-Nx	143 +/- 5	L: 90-100 H: < 120	L: 90-100 H: < 120	Enalapril

SAB - systolischer arterieller Blutdruck; SEM - Standardfehler des Mittelwertes; VPI - Vasopeptidaseinhibitor; SHR - spontan hypertensive Ratte

Neben der Studien am Rattenmodell zeigte die *Omapatrilat Cardiovascular Treatment vs. Enalapril (OCTAVE)* Studie als erste multizentrische, randomisiert-doppelblinde Hypertoniestudie am Menschen über einen Zeitraum von 24 Wochen den antihypertensiven Effekt einer Vasopeptidaseinhibition. Dabei fand sich eine stärkere Blutdrucksenkung bei Gabe eines Vasopeptidaseinhibitors im Vergleich zur Gabe eines etablierten ACE-Hemmers.⁵⁶

Der direkte Vergleich eines AT₁-Blockers mit einem Vasopeptidasehemmer ist wegen des Problems einer adäquaten Äquivalenzdosis sicherlich nur eingeschränkt möglich. Wir entschieden uns hierbei für die verbreitete Methode die Äquivalenzdosis zweier antihypertensiv wirksamer Substanzen über die gleiche blutdrucksenkende Wirkung festzusetzen, so dass in der vorgelegten Arbeit Olmesartan und AVE 7688 als dosisäquivalent angesehen werden können.

Die vorliegende Studie zeigt klar den antihypertensiven Effekt der Gabe des Vasopeptidasehemmers AVE 7688 im 5/6-Nephrektomiemodell der Ratte.

4.3 Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie

4.3.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie

In der vorliegenden Studie kam es bei den 5/6-nephrektomierten, nicht-behandelten Tieren im Zeitraum von 28 Tagen zu einer signifikanten Zunahme des jeweils auf das Körpergewicht normalisierten Herzgewichts bzw. des Gewichts des linken Ventrikels. Dieser Effekt der nephron dosisabhängigen Gewichtszunahme der myokardialen Masse konnte bereits mehrfach im Tiermodell gezeigt werden und gilt als gesichert (siehe Tab. 4.3). Dabei ist die Myokardmassenzunahme als adaptiver Prozess multimechanistischer Ursache zu verstehen.

Als Hauptursache in unserem Modell ist zunächst der gesteigerte systolische Blutdruck zu nennen, der kompensatorisch zu einer Mehrarbeit des Ventrikels aufgrund des konsekutiv erhöhten intrakavitären Drucks führt. Diese wird letztlich durch eine Anreicherung kontraktiler Proteine im Myozyten erreicht. Während der Frank-Starling-Mechanismus der automatischen Anpassung der Kammertätigkeit an kurzfristige Druck- und Volumenschwankungen im physiologischen Rahmen dient, kommt es als Resultat der Perpetuierung dieser negativen Einwirkung letztlich zu einer Gefügedilatation des Ventrikels mit erhöhter Wandspannung, einem Mischbild aus konzentrischer und exzentrischer Dilatation.⁵⁷

Nach dem Laplace-Gesetz ist bei kugelförmigen Körpern die Wandspannung proportional zu Druck und Radius sowie antiproportional zur Wanddicke. Eine Zunahme der Wanddicke stellt also prinzipiell einen nützlichen Mechanismus zur Reduktion der Wandspannung dar.⁵⁸ In unserem Modell kommt es jedoch durch den fortlaufenden Übergang von physiologischer Adaptation zu pathophysiologischer Maladaptation zu einem Circulus vitiosus. Die hierfür verantwortlichen molekularbiologischen Mechanismen werden aktuell mehr und mehr entschlüsselt. Der fortschreitende Prozess von Hypertrophie zu Apoptose und schließlich zu Fibrose ist dabei nicht nur konstitutionell-genetisch sondern auch durch etliche Hormone, Wachstumsfaktoren, Cytokine (z.B. Endothelin 1, Angiotensin II), insulin-like growth factor und tumor necrosis factor α (TNF- α) beeinflusst. Mit zunehmender Apoptose aufgrund des hypoxisch bedingten "myozytären burnout" überwiegen schließlich die profibrotischen Prozesse.^{59, 60}

Neben dem gängigem Modell der vornehmlich durch den arteriellen Hypertonus bedingten linksventrikulären Hypertrophie konnten Kennedy et al. zeigen, dass es weiterhin zu einer Alterationen der kardialen Genexpression sowie Veränderungen im intramyozytären Kalziumstoffwechsel kommt.⁶¹ In der Canadian Cohort Study konnte weiterhin die Abnahme des Hämoglobinspiegels als weiterer Verursacher der myokardialen Hypertrophie identifiziert werden.⁶²

In dem hier benutzten 5/6-Nephrektomiemodell der Ratte konnte ein arterieller Hypertonus als Verursacher der linksventrikulären Hypertonie nachgewiesen werden.

4.3.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT₁-Blockade auf Herzgewicht und linksventrikuläre Hypertrophie im 5/6-Nephrektomiemodell

In der vorliegenden Studie wurde nach einem Zeitraum von 28 Tagen sowohl durch die Gabe eines etablierten AT₁-Blockers als auch durch die Gabe eines experimentellen Vasopeptidaseinhibitors nach 5/6-Nephrektomie der Ratte ein signifikant niedrigeres auf das Körpergewicht normalisierte Herzgewicht bzw. linksventrikuläre Gewicht im Vergleich zu 5/6-nephrektomierten, medikamentös unbehandelten Tieren (Nx) gefunden. Dabei konnte zwischen diesen beiden Substanzklassen ein vergleichbar starker Effekt festgestellt werden.

Exemplarisch belegt eine Studie aus dem Jahre 2006 von Linz et al. bei spontan hypertensiven Ratten im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe eine geringere Linksherzhypertrophie nach Therapie mit einem ACE-Hemmer dessen Wirksamkeit der einer Behandlung mit einem Vasopeptidaseinhibitor entsprach.⁶³ In einer Echokardiographie basierten Studie von Dong et. al konnte sogar die Überlegenheit einer Vasopeptidaseinhibition mit Omapatrilat gegenüber einem ACE-Inhibitor hinsichtlich Reduktion der linksventrikulären Masse beschrieben werden.⁶⁴ Einen weiteren Überblick ausgewählter Studien gibt Tabelle 4.3.

Tabelle 4.3: Studienbelege für die Wirksamkeit der Vasopeptidaseinhibition bei kardialer Hypertrophie

Studie	Tierstamm	Behandlungsdauer	Einheit	Kardiale Hypertrophie ohne Therapie +SEM	Kardiale Hypertrophie mit VPI +SEM
Burell, Droogh et al. 2000	SHR	10 Tage	LV/BW; mg/g KG	2,76 +/- 0,03	2,55 +/- 0,02 mg/g (P < 0,01)
Lapointe, Blais et al. 2003	Wistar	56 tage	LV/BW; mg/g KG	2,36 +/- 0,1	2,1 +/- 0,08 (p<0,05)
Maki, Nasa et al. 2003	Wistar	5 Wocehn	LV/BW; mg/g KG	3,02 +/- 0,13	2,36 +/- 0,08 (p<0,05)
Loch, Hoey et al. 2006	Wistar	14 Tage			Verminderung der Hypertrophie
Nishkimi Mori et al.	Dahl sensitive rats	7weeks	LV/BW; mg/g KG	3,17 +/- 0,32	2,55 +/- 0,12

SEM - Standardfehler des Mittelwertes; VPI - Vasopeptidaseinhibitor; SHR - spontan hypertensive Ratte

Am Menschen konnte in der OVERTURE Echokardiographie-Studie ein Jahr nach Behandlung von 321 Patienten mit einem ACE-Hemmer oder einem Vasopeptidaseinhibitor ein vergleichbarer kardioprotektiver Effekt bzgl. Ventrikelgröße und positivem Remodeling festgestellt werden. Dementsprechend besserte sich die Prognose dieser Patienten.³¹

Nachdem in der vorgelegten Studie Olmesartan und AVE 7688 den gleichen blutdrucksenkenden Effekt haben, werden beide als dosisäquivalent angesehen. Der vergleichbare protektive Effekt bzgl. der linksventrikulären Hypertrophie ist damit am ehesten durch die identische antihypertensive Dosiswirkung von Olmesartan und AVE 7688 erklärt. AVE 7688 hat in unserem Versuchsaufbau dabei keinen über die antihypertensive Wirkung hinaus gehenden Effekt auf die linksventrikuläre Hypertrophie.

Die vorliegende Studie zeigt in dem hier benutzten chronischen Niereninsuffizienzmodell der Ratte klar einen kardioprotektiven Effekt bezüglich der Linksherzhypertrophie durch die Gabe des Vasopeptidaseinhibitors AVE 7688. Dieser Effekt beruht hauptsächlich auf der antihypertensiven Wirkung.

4.4 Linksventrikuläre Funktion

4.4.1 Auswirkung der 5/6-Nephrektomie auf die Parameter der linksventrikulären Funktion

In der vorliegenden Studie kam es nach 5/6-Nephrektomie bei männlichen Wistar-Ratten im Zeitraum von 28 Tagen zu einer deutliche Verschlechterung der kardialen Funktion, die sich in einem Anstieg des linksventrikulären endsystolischen Drucks (LVEDP) sowie einer Abnahme der linksventrikulären Kontraktions- und Relaxationsfähigkeit bei den 5/6-nephrektomierten, medikamentös nicht-behandelten Tieren äußerte.

Linksventrikulärer enddiastolischer Druck

In den vorangegangenen Kapiteln wurde der Pathomechanismus erläutert, der nach 5/6-Nephrektomie die Entwicklung eines Hypertonus mit konsekutiver linksventrikulärer Hypertrophie bedingt. Unter Berücksichtigung des Signifikanzniveaus ($p < 0,05$) fand sich in unseren Versuchsreihen eine deutliche Zunahme des LVEDP. Letztere ist als Resultat der verminderten maximalen Auswurfkapazität des linken Ventrikels und somit einer fortschreitenden systolischen Dysfunktion im Rahmen des gestörten Frank-Starling Mechanismus zu verstehen.⁶⁵ Die aufgrund der Druck-Volumenbelastung chronisch erhöhte Wanddehnung stößt dabei an die Grenzen der kardialen Compliance, so dass eine weitere Dehnbarkeit der Myozyten nicht möglich ist. Aufgrund der unveränderten kardialen Auswurfleistung ist ein ausgeprägter Anstieg des LVEDP die Folge. Die systolische Dysfunktion geht dabei mit einer exzentrischen Herzhypertrophie einher.⁶⁶ Die Hauptverursacher auf zellulärer Ebene stellen eine Fibroseinduktion sowie eine Fehlregulation des Ca^{2+} -Metabolismus im Myozyten dar, die nachfolgend im Abschnitt ‚Kontraktion und Relaxation‘ genauer beschrieben werden sollen.

Kontraktion und Relaxation

In den in dieser Studie durchgeführten hämodynamischen Messung am schlagenden Rattenherz am Ende der Beobachtungsperiode von 28 Tagen zeigte sich ein signifikanter Abfall der Kontraktions- und Relaxationsfähigkeit der 5/6-nephrektomierten und medikamentös unbehandelten Rattenherzen im Vergleich zu den Herzen der sham-operierten Kontrolltiere.

De Marchi et al. zeigten, dass eine direkte Korrelation zwischen dem Ausmaß der linksventrikulären Myokardhypertrophie und der Entwicklung einer diastolischen wie

systolischen Dysfunktion besteht. Vor allem Patienten mit bestehender arterieller Hypertonie zeigen bereits vor dem Auftreten einer Myokardhypertrophie Zeichen der diastolischen Funktionseinschränkung.⁶⁷

Ein Prozess, der im Rahmen der zunehmenden Myokardhypertrophie gut belegt ist, stellt die zunehmende myokardiale Fibrosierung dar. Dabei kommt der Anreicherung von Kollagen Typ I-Fibrillen und der damit einhergehenden Versteifung des Ventrikels eine tragende Rolle zu. Durch urämisches Milieu, wie es bei chronischer Niereninsuffizienz häufig zu finden ist, wird dieser Prozess verstärkt.^{66,68} An der Fibroseentstehung sind weiterhin Angiotensin II und Aldosteron maßgeblich beteiligt. Für das in dieser Studie benutzte Modell der 5/6-Nephrektomie konnte eine Aktivierung von Kardiofibroblasten durch Angiotensin II gezeigt werden, so dass anzunehmen ist, dass Angiotensin II die Kollagensynthese direkt mitinduziert.^{69,74} Letzteres bewirkt dabei durch seine ausgeprägte vasostringierende Wirkung einen ischämischen Zelluntergang der Kardiomyozyten. In einer Studie an Ratten, denen Angiotensin II direkt appliziert wurde, waren eine deutliche linksventrikuläre Hypertrophie sowie der Untergang von Kardiomyozyten nachweisbar.^{72,73} Aldosteron ist durch seine proliferative Wirkung am Mineralokortikoidrezeptor ebenfalls eine Schlüsselrolle in der Genese der myokardialen Fibrose zuzuschreiben.⁷⁵

Als Folge dieser fibrotischen Umbauvorgänge zeigt sich typischerweise zunächst eine diastolische Dysfunktion mit noch erhaltener systolischer Funktion (heart failure with preserved ejection fraction) auf deren Boden sich eine fortschreitende kardiale Dysfunktion mit systolischer Funktionseinschränkung entwickeln kann.^{70,71}

Neben den hier genannten Faktoren bestehen sicherlich weitere Faktoren, die das Ausmaß der linksventrikulären Hypertrophie und Dysfunktion zusätzlich triggern. Zu diesen Faktoren gehören beispielsweise die verstärkte Ausschüttung von Katecholaminen, die Verkalkung des Klappenapparates und der Koronarien sowie ein Hyperparathyreoidismus als Fibroseinduktor.⁷⁶

In der hier vorliegenden Studie am 5/6-Nephrektomiemodell der Ratte entwickelte sich neben einer diastolischen Dysfunktion (erhöhter LVEDP, $[-dP/dt/LVP_{\max}(s^{-1})]$) eine systolische Funktionseinschränkung ($[+dP/dt/LVP_{\max}(s^{-1})]$).

4.4.2 Auswirkung der Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur AT₁-Blockade auf die Parameter der linksventrikulären Funktion im 5/6-Nephrektomiemodell

Die vorgelegte Studie ist die erste ihrer Art, die aufgrund der direkten hämodynamischen Messungen der linksventrikulären Funktionsparameter eine Aussage über die Auswirkung einer Vasopeptidaseinhibition im Vergleich zur Gabe eines AT₁-Blockers im 5/6-Nephrektomiemodell der Ratte zulässt. Dabei ließ sich eine signifikante Verbesserung der kardialen Funktionsparameter in Form einer Erniedrigung des LVEDP sowie Erhöhung der linksventrikulären Kontraktion- und Relaxationsfähigkeit nachweisen.

Aufgrund der bereits zuvor angeführten führenden Rolle von Angiotensin II und Aldosteron in der Pathogenese der kardialen Dysfunktion, wirkt eine Hemmung des RAAS kardioprotektiv.^{77,78} Die damit verknüpfte Reduktion des kardialen Risikos gilt als gesichert.⁷⁹⁻⁸¹

Erste Studien haben gezeigt, dass eine Vasopeptidaseinhibition einen positiven Effekt auf die Fibroseinduktion am Herzen hat. Pu et al. konnten den günstigen Effekt des Vasopeptidaseinhibitors Omapatrilat auf die Kollagenablagerung in Herz und Aorta nachweisen. Unter der Behandlung war sowohl die interstitielle als auch die perivaskuläre Fibrosierung deutlich zurückgegangen.⁸² Grönholm et al. wiesen in ihrer Studie an spontan hypertensiven Ratten mit salzreicher Diät nach acht Wochen eine stärkere Verringerung der myokardialen Kollagenvolumenfraktion durch den Vasopeptidaseinhibitor Omapatrilat als durch eine AT₁-Rezeptor-Blockade nach.⁵⁵

In Einklang mit den Ergebnissen aus unseren Untersuchungen an einem Modell der chronischen Niereninsuffizienz der Ratte kann von einer kardioprotektiven Wirkung unter Vasopeptidasehemmung ausgegangen werden.

5 Zusammenfassung

Die Vasopeptidaseinhibition stellt eine neue medikamentöse Therapieoption dar. Dabei wird das Prinzip der klassischen ACE-Hemmung mit der Blockade der Neutralen Endopeptidase (NEP) kombiniert.

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, die Wirkung einer Vasopeptidase-Hemmung auf die linksventrikuläre Hypertrophie und Funktion am Modell der 5/6-nephrektomierten Ratte zu untersuchen.

Wistar-Ratten wurden nach operativer 5/6-Nephrektomie über einen Zeitraum von 28 Tagen mit dem Vasopeptidaseinhibitor AVE 7688 (AVE: 30 mg/kg KG/d) oder dem AT₁-Blocker Olmesartan (AT₁B 10 mg/kg KG/d) behandelt. Diesen beiden Gruppen wurden 5/6-nephrektomierte, medikamentös unbehandelte Tiere (Nx) sowie gänzlich unbehandelte Tiere (Ko) als Kontrolle gegenübergestellt.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Ko) kam es zu einer deutlichen Abnahme der Kreatininclearance nach 5/6-Nephrektomie. Die AVE- und AT₁B-Gruppe zeigte dabei keinen Anstieg der glomerulären Filtration (GFR). Es fand sich weiterhin ein deutlicher Anstieg des arteriellen Blutdrucks von durchschnittlich 24 mmHg +/- 6 zwischen den gesunden Kontrolltieren und den 5/6-nephrektomierten, medikamentös unbehandelten Tieren (Ko: 142 mmHg +/- 3 vs. Nx: 166 mmHg +/- 6; p<0,05). In der AVE- und AT₁B-Gruppe lag der Blutdruck auf dem Niveau der unbehandelten Kontrolltiere (Ko). Die AVE- und AT₁B-Gruppe zeigte eine deutliche Reduktion der linksventrikulären Hypertrophie im Vergleich zu den 5/6-nephrektomierten Tieren und führte weiterhin zu einer signifikanten Verbesserung der linksventrikulären Funktionsparameter (p<0,05). Dabei fand sich eine Verbesserung der nach 5/6-Nephrektomie auftretenden diastolischen Dysfunktion (LVEDP; [-dP/dt/LVP_{max}(s⁻¹))] sowie systolischen Funktionseinschränkung ([+dP/dt/LVP_{max}(s⁻¹))].

Die Verhinderung der Entwicklung eines arteriellen Hypertonus und einer linksventrikulären Hypertrophie sowie die Verbesserung der linksventrikulären Funktion bestätigen deutlich den kardioprotektiven Effekt einer Vasopeptidase-Hemmung. Ob der beobachtete Effekt den einer etablierten AT₁-Blockade übertrifft, bleibt zukünftigen Untersuchungen vorbehalten.

Literaturverzeichnis

1. Paulis L, Unger T. Novel therapeutic targets for hypertension. *Nat Rev Cardiol* 2010;7:431-41.
2. Dries DL, Exner DV, Domanski MJ, Greenberg B, Stevenson LW. The prognostic implications of renal insufficiency in asymptomatic and symptomatic patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:681-9.
3. Hillege HL, Girbes AR, de Kam PJ, et al. Renal function, neurohormonal activation, and survival in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2000;102:203-10.
4. Mahon NG, Blackstone EH, Francis GS, Starling RC, 3rd, Young JB, Lauer MS. The prognostic value of estimated creatinine clearance alongside functional capacity in ambulatory patients with chronic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1106-13.
5. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1527-39.
6. Remuzzi G, Perico N, Macia M, Ruggenti P. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2005:S57-65.
7. Schlaich MP, Socratous F, Hennebry S, et al. Sympathetic activation in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:933-9.
8. Siragy HM, Carey RM. Role of the intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2010;31:541-50.
9. Hollenberg NK, Swartz SL, Passan DR, Williams GH. Increased glomerular filtration rate after converting-enzyme inhibition in essential hypertension. *N Engl J Med* 1979;301:9-12.
10. Himmelmann A, Hansson L, Hansson BG, et al. ACE inhibition preserves renal function better than beta-blockade in the treatment of essential hypertension. *Blood Press* 1995;4:85-90.
11. Hsueh WA, Wyne K. Renin-Angiotensin-aldosterone system in diabetes and hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2011;13:224-37.
12. Ruilope LM. Angiotensin receptor blockers: RAAS blockade and renoprotection. *Curr Med Res Opin* 2008;24:1285-93.
13. Taal MW, Brenner BM. Renoprotective benefits of RAS inhibition: from ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* 2000;57:1803-17.
14. Ting RZ, Luk AO, Chan JC. Treatment and landmark clinical trials for renoprotection. *Contrib Nephrol* 2011;170:184-95.
15. Hernandez D, Muriel A, Abraira V, et al. Renin-angiotensin system blockade and kidney transplantation: longitudinal cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2011.

16. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998;339:321-8.
17. Stein BC, Levin RI. Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998;135:914-23.
18. Gardner DG, Chen S, Glenn DJ, Grigsby CL. Molecular biology of the natriuretic peptide system: implications for physiology and hypertension. *Hypertension* 2007;49:419-26.
19. Turner AJ, Brown CD, Carson JA, Barnes K. The neprilysin family in health and disease. *Adv Exp Med Biol* 2000;477:229-40.
20. Veelken R, Schmieder RE. Neutral endopeptidase inhibition: the potential of a new therapeutic approach in cardiovascular disease evolves. *J Hypertens* 2002;20:599-603.
21. Lu B, Gerard NP, Kolakowski LF, Jr., et al. Neutral endopeptidase modulation of septic shock. *J Exp Med* 1995;181:2271-5.
22. Dendorfer A. Was leisten die Vasopeptidase-Inhibitoren? *Cardiovasc* 2002.
23. Bevan EG, Connell JM, Doyle J, et al. Candoxatril, a neutral endopeptidase inhibitor: efficacy and tolerability in essential hypertension. *J Hypertens* 1992;10:607-13.
24. Richards AM, Wittert GA, Crozier IG, et al. Chronic inhibition of endopeptidase 24.11 in essential hypertension: evidence for enhanced atrial natriuretic peptide and angiotensin II. *J Hypertens* 1993;11:407-16.
25. Burnett JC, Jr. Vasopeptidase inhibition: a new concept in blood pressure management. *J Hypertens Suppl* 1999;17:S37-43.
26. Trippodo NC, Robl JA, Asaad MM, Fox M, Panchal BC, Schaeffer TR. Effects of omapatrilat in low, normal, and high renin experimental hypertension. *Am J Hypertens* 1998;11:363-72.
27. Vesterqvist O, Reeves RA. Effects of omapatrilat on pharmacodynamic biomarkers of neutral endopeptidase and Angiotensin-converting enzyme activity in humans. *Curr Hypertens Rep* 2001;3 Suppl 2:S22-7.
28. Corti R, Burnett JC, Jr., Rouleau JL, Ruschitzka F, Luscher TF. Vasopeptidase inhibitors: a new therapeutic concept in cardiovascular disease? *Circulation* 2001;104:1856-62.
29. Coats AJ. Omapatrilat--the story of Overture and Octave. *Int J Cardiol* 2002;86:1-4.
30. Ruschitzka FT. Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE). *Curr Hypertens Rep* 2003;5:57-8.
31. Packer M, Califf RM, Konstam MA, et al. Comparison of omapatrilat and enalapril in patients with chronic heart failure: the Omapatrilat Versus Enalapril Randomized Trial of Utility in Reducing Events (OVERTURE). *Circulation* 2002;106:920-6.

32. Rouleau JL, Pfeffer MA, Stewart DJ, et al. Comparison of vasopeptidase inhibitor, omapatrilat, and lisinopril on exercise tolerance and morbidity in patients with heart failure: IMPRESS randomised trial. *Lancet* 2000;356:615-20.
33. Fryer RM, Segreti J, Banfor PN, et al. Effect of bradykinin metabolism inhibitors on evoked hypotension in rats: rank efficacy of enzymes associated with bradykinin-mediated angioedema. *Br J Pharmacol* 2008;153:947-55.
34. Ruilope LM, Dukat A, Bohm M, Lacourciere Y, Gong J, Lefkowitz MP. Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and neprilysin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study. *Lancet* 2010;375:1255-66.
35. Waeber B, Feihl F. Blood-pressure reduction with LCZ696. *Lancet* 2010;375:1228-9.
36. Braun-Menendez E, Euler US. Hypertension after bilateral nephrectomy in the rat. *Nature* 1947;160:905.
37. Imbert MJ, Berjal G, Moss N, de Rouffignac C, Bonvalet JP. Number of nephrons in hypertrophic kidneys after unilateral nephrectomy in young and adult rats. A functional study. *Pflugers Arch* 1974;346:279-90.
38. Brenner BM. Nephron adaptation to renal injury or ablation. *Am J Physiol* 1985;249:F324-37.
39. Deen WM, Maddox DA, Robertson CR, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. VII. Response to reduced renal mass. *Am J Physiol* 1974;227:556-62.
40. Kaufman JM, DiMeola HJ, Siegel NJ, Lytton B, Kashgarian M, Hayslett JP. Compensatory adaptation of structure and function following progressive renal ablation. *Kidney Int* 1974;6:10-7.
41. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 1981;241:F85-93.
42. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1315-25.
43. Baudoin P, Provoost AP, Molenaar JC. Renal function up to 50 years after unilateral nephrectomy in childhood. *Am J Kidney Dis* 1993;21:603-11.
44. Goldfarb DA, Matin SF, Braun WE, et al. Renal outcome 25 years after donor nephrectomy. *J Urol* 2001;166:2043-7.
45. Fehrman-Ekholm I, Kvarnstrom N, Softeland JM, et al. Post-nephrectomy development of renal function in living kidney donors: a cross-sectional retrospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2011.
46. Rothermund L, Lorenz M, Schnieber A, et al. Impact of nephron number dosing on cardiorenal damage and effects of ACE inhibition. *Am J Hypertens* 2011;24:474-81.

47. Remuzzi A, Benigni A, Malanchini B, Bruzzi I, Foglieni C, Remuzzi G. ACE inhibition prevents renal failure and death in uninephrectomized MWF/Ztm rats. *Kidney Int* 1995;47:1319-26.
48. Cao Z, Burrell LM, Tikkanen I, Bonnet F, Cooper ME, Gilbert RE. Vasopeptidase inhibition attenuates the progression of renal injury in subtotal nephrectomized rats. *Kidney Int* 2001;60:715-21.
49. Wolf G, Schneider A, Wenzel U, Helmchen U, Stahl RA. Regulation of glomerular TGF-beta expression in the contralateral kidney of two-kidney, one-clip hypertensive rats. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:763-72.
50. Wenzel UO, Wolf G, Jacob I, et al. Beneficial and adverse renal and vascular effects of the vasopeptidase inhibitor omapatrilat in renovascular hypertensive rats. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:2005-13.
51. Ying L, Flamant M, Vandermeersch S, et al. Renal effects of omapatrilat and captopril in salt-loaded, nitric oxide-deficient rats. *Hypertension* 2003;42:937-44.
52. Griffin KA, Picken MM, Churchill M, Churchill P, Bidani AK. Functional and structural correlates of glomerulosclerosis after renal mass reduction in the rat. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:497-506.
53. Norman RA, Jr., Galloway PG, Dzielak DJ, Huang M. Mechanisms of partial renal infarct hypertension. *J Hypertens* 1988;6:397-403.
54. Griffin KA, Picken M, Bidani AK. Method of renal mass reduction is a critical modulator of subsequent hypertension and glomerular injury. *J Am Soc Nephrol* 1994;4:2023-31.
55. Groholm T, Finckenberg P, Palojoki E, et al. Cardioprotective effects of vasopeptidase inhibition vs. angiotensin type 1-receptor blockade in spontaneously hypertensive rats on a high salt diet. *Hypertens Res* 2004;27:609-18.
56. Kostis JB, Packer M, Black HR, Schmieder R, Henry D, Levy E. Omapatrilat and enalapril in patients with hypertension: the Omapatrilat Cardiovascular Treatment vs. Enalapril (OCTAVE) trial. *Am J Hypertens* 2004;17:103-11.
57. Svirglerova J, Kuncova J, Nalos L, Tonar Z, Rajdl D, Stengl M. Cardiovascular parameters in rat model of chronic renal failure induced by subtotal nephrectomy. *Physiol Res* 2010;59 Suppl 1:S81-8.
58. Middleton RJ, Parfrey PS, Foley RN. Left ventricular hypertrophy in the renal patient. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1079-84.
59. Hunter JJ, Chien KR. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *N Engl J Med* 1999;341:1276-83.
60. Li XM, Ma YT, Yang YN, et al. Downregulation of survival signalling pathways and increased apoptosis in the transition of pressure overload-induced cardiac hypertrophy to heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009;36:1054-61.

61. Kennedy D, Omran E, Periyasamy SM, et al. Effect of chronic renal failure on cardiac contractile function, calcium cycling, and gene expression of proteins important for calcium homeostasis in the rat. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:90-7.
62. Levin A, Thompson CR, Ethier J, et al. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis* 1999;34:125-34.
63. Linz W, Schafer S, Afkham F, Gerl M, Schmidts HL, Rutten H. Vasopeptidase inhibition prevents target organ damage and improves survival in spontaneously hypertensive rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2006;7:155-61.
64. Dong Y, Zhou H, Shaffer E, Atamas N, Liao WC, Wei C. The cardiovascular actions of omapatrilat in spontaneously hypertensive rats. *Curr Hypertens Rep* 2001;3 Suppl 2:S1-5.
65. Komamura K, Shannon RP, Ihara T, et al. Exhaustion of Frank-Starling mechanism in conscious dogs with heart failure. *Am J Physiol* 1993;265:H1119-31.
66. Lin M, Sumimoto T, Hiwada K. Left ventricular geometry and cardiac function in mild to moderate essential hypertension. *Hypertens Res* 1995;18:151-7.
67. De Marchi SF, Allemann Y, Seiler C. Relaxation in hypertrophic cardiomyopathy and hypertensive heart disease: relations between hypertrophy and diastolic function. *Heart* 2000;83:678-84.
68. Rambašek M, Amann K, Mall G, Ritz E. Structural causes of cardiac dysfunction in uremia. *Ren Fail* 1993;15:421-8.
69. Mall G, Rambašek M, Neumeister A, Kollmar S, Vetterlein F, Ritz E. Myocardial interstitial fibrosis in experimental uremia--implications for cardiac compliance. *Kidney Int* 1988;33:804-11.
70. Kawaguchi M, Hay I, Fetis B, Kass DA. Combined ventricular systolic and arterial stiffening in patients with heart failure and preserved ejection fraction: implications for systolic and diastolic reserve limitations. *Circulation* 2003;107:714-20.
71. Yamamoto K, Sakata Y, Ohtani T, Takeda Y, Mano T. Heart failure with preserved ejection fraction. *Circ J* 2009;73:404-10.
72. Sun Y, Ramirez FJ, Weber KT. Fibrosis of atria and great vessels in response to angiotensin II or aldosterone infusion. *Cardiovasc Res* 1997;35:138-47.
73. Brilla CG, Pick R, Tan LB, Janicki JS, Weber KT. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circ Res* 1990;67:1355-64.
74. Brilla CG, Zhou G, Matsubara L, Weber KT. Collagen metabolism in cultured adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 1994;26:809-20.
75. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 1991;83:1849-65.

76. Rostand SG, Drueke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;56:383-92.
77. Amann K, Tyralla K, Gross ML, et al. Cardiomyocyte loss in experimental renal failure: prevention by ramipril. *Kidney Int* 2003;63:1708-13.
78. Cannella G, Paoletti E, Delfino R, Peloso G, Rolla D, Molinari S. Prolonged therapy with ACE inhibitors induces a regression of left ventricular hypertrophy of dialyzed uremic patients independently from hypotensive effects. *Am J Kidney Dis* 1997;30:659-64.
79. Rothermund L, Kossmehl P, Neumayer HH, Paul M, Kreutz R. Renal damage is not improved by blockade of endothelin receptors in primary renin-dependent hypertension. *J Hypertens* 2003;21:2389-97.
80. Mathew J, Sleight P, Lonn E, et al. Reduction of cardiovascular risk by regression of electrocardiographic markers of left ventricular hypertrophy by the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril. *Circulation* 2001;104:1615-21.
81. Rothermund L, Pinto YM, Hocher B, et al. Cardiac endothelin system impairs left ventricular function in renin-dependent hypertension via decreased sarcoplasmic reticulum Ca(2+) uptake. *Circulation* 2000;102:1582-8.
82. Pu Q, Schiffrin EL. Effect of ACE/NEP inhibition on cardiac and vascular collagen in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2001;14:1067-72.

Erklärung

„Ich, Fabian Halleck, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **„Wirkung einer Vasopeptidase-Hemmung auf die linksventrikuläre Hypertrophie und Funktion am Modell der 5/6-nephrektomierten Ratte“** selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Priv.-Doz. Dr. med. L. Rothermund, der mir diese Dissertation ermöglicht hat und der mir stets hilfreich zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. R. Kreutz für die freundliche Unterstützung und den nötigen Ansporn zur Fertigstellung dieser Arbeit bedanken. Dem Team meiner Mitdoktoranden gebührt ebenfalls mein aufrichtiger Dank.

Ohne die fortwährende Unterstützung meiner Familie, meiner Freunde und meiner Freundin Kristina wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ihnen allen gilt mein herzlicher Dank.