

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

DISSERTATION

Bedeutung eines operativ und genetisch bedingten
Nephronmangels für die Ausbildung einer linksventrikulären
Hypertrophie, die kardiale Expression des atrialen
natriuretischen Peptids und den myokardialen
Calciumstoffwechsel

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Anne Katharina Schnieber

aus Hamburg

Gutachter: 1. Priv-Doz. Dr. med. L. Rothermund
2. Priv-Doz. Dr. med. J. Beige
3. Priv-Doz. Dr. rer. nat. D. Müller

Datum der Promotion: 23.03.2007

Meinen Eltern

| Inhaltsverzeichnis | | Seite |
|--------------------|--|-------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | <i>Funktionstüchtige Nephrone und chronische Niereninsuffizienz</i> | 1 |
| 1.2 | <i>Das kardiovaskuläre Risiko chronischer Nierenerkrankungen</i> | 1 |
| 1.3 | <i>Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen bei cNI</i> | 3 |
| 1.4 | <i>Nephronanzahl und chronische Niereninsuffizienz: Die Brenner-Hypothese</i> | 4 |
| 1.5 | <i>Nephronanzahl, vermindertes Geburtsgewicht und kardiale Erkrankungen: Die Barker-Hypothese</i> | 6 |
| 1.6 | <i>Linksventrikuläre Hypertrophie bei chronischer Niereninsuffizienz</i> | 8 |
| 1.7 | <i>mRNA-Expression von ANP bei linksventrikulärer Hypertrophie</i> | 10 |
| 1.8 | <i>Ca²⁺-Stoffwechsel und linksventrikuläre Hypertrophie</i> | 10 |
| 1.9 | <i>Die physiologische Calciumhomöostase der Herzmuskelzelle</i> | 11 |
| 1.9.1 | <i>Die sarkoplasmatische Ca²⁺-ATPase SERCA2a</i> | 12 |
| 1.9.2 | <i>Der sarkolemmale Na⁺/Ca²⁺-Austauscher NCX1</i> | 13 |
| 1.10 | <i>Störungen der myokardialen Calciumhomöostase</i> | 13 |
| 1.11 | <i>Das Renin-Angiotensin-System, chronische Niereninsuffizienz und kardiovaskuläre Endorganschäden</i> | 15 |
| 1.12 | <i>Zielstellung dieser Arbeit</i> | 16 |
| 2 | Material und Methoden | 17 |
| 2.1 | <i>Material</i> | 17 |
| 2.1.1 | <i>Geräte</i> | 17 |
| 2.1.2 | <i>Instrumente und Nahtmaterial</i> | 17 |
| 2.1.3 | <i>Futtermittel</i> | 18 |
| 2.1.4 | <i>Medikamente und Arzneimittel</i> | 18 |
| 2.1.5 | <i>Verbrauchsmaterial</i> | 18 |
| 2.1.6 | <i>Reagenzien</i> | 19 |
| 2.1.7 | <i>Kits</i> | 19 |
| 2.1.8 | <i>Oligonukleotide</i> | 19 |
| 2.1.8.1 | <i>Standardprimer</i> | 19 |
| 2.1.8.2 | <i>Taqmanprimer</i> | 20 |
| 2.1.8.3 | <i>Taqmansonden</i> | 20 |
| 2.1.9 | <i>Tierstämme</i> | 20 |
| 2.2 | <i>Methoden</i> | 21 |
| 2.2.1 | <i>Tierexperimentelle Untersuchungen</i> | 21 |
| 2.2.1.1 | <i>Haltung der Tiere</i> | 22 |
| 2.2.1.2 | <i>Durchführung der Nephrektomie</i> | 22 |
| 2.2.1.3 | <i>Postoperative ACE-Hemmer-Behandlung</i> | 24 |
| 2.2.1.4 | <i>Bestimmung der Kreatininclearance</i> | 24 |
| 2.2.1.5 | <i>Messung des systolischen Blutdrucks</i> | 24 |
| 2.2.1.6 | <i>Organentnahme</i> | 25 |
| 2.2.2 | <i>Molekularbiologische Methoden</i> | 26 |
| 2.2.2.1 | <i>RNA-Isolation</i> | 26 |
| 2.2.2.2 | <i>Gelelektrophorese und optische Konzentrationmessung (Photometrie)</i> | 27 |
| 2.2.2.3 | <i>Reverse Transkription</i> | 28 |
| 2.2.2.4 | <i>Die Taqman-PCR</i> | 28 |
| 2.2.2.5 | <i>Primer- und Sondendesign</i> | 32 |
| 2.2.2.6 | <i>Bestimmung der mRNA-Konzentrationen mittels Taqman-PCR</i> | 34 |
| 2.2.3 | <i>Calciumtransportmessungen</i> | 35 |
| 2.2.3.1 | <i>Oxalat-abhängiger Calciumtransport mittels SERCA2a</i> | 35 |

| | | |
|----------|--|----|
| 2.2.3.2 | <i>Natrium-abhängiger Calciumtransport über den NCX1</i> | 37 |
| 2.2.4 | <i>Statistische Analyse</i> | 38 |
| 2.2.5 | <i>Gruppeneinteilung und Studiendesign</i> | 39 |
| 3 | Ergebnisse | 40 |
| 3.1 | <i>Kreatininclearance</i> | 40 |
| 3.2 | <i>Systolischer Blutdruck</i> | 41 |
| 3.3 | <i>Linksventrikuläre Hypertrophie</i> | 42 |
| 3.4 | <i>Rechtsventrikuläre Hypertrophie</i> | 43 |
| 3.5 | <i>mRNA-Spiegel von ANP</i> | 44 |
| 3.6 | <i>mRNA-Spiegel der SERCA2a</i> | 45 |
| 3.7 | <i>mRNA-Ratio SERCA2a/PLN</i> | 46 |
| 3.8 | <i>Oxalat-abhängiger Calciumtransport über die SERCA2a</i> | 47 |
| 3.9 | <i>mRNA-Spiegel des NCX1</i> | 48 |
| 3.10 | <i>Natriumabhängiger Calciumtransport über den NCX1</i> | 49 |
| 4 | Diskussion | 50 |
| 4.1 | <i>Nierenfunktionseinschränkung</i> | 50 |
| 4.2 | <i>Der systolische Blutdruck</i> | 52 |
| 4.3 | <i>Herzhypertrophie</i> | 54 |
| 4.4 | <i>Linksventrikuläre mRNA-Expression von ANP</i> | 56 |
| 4.5 | <i>Veränderungen kardialer Ca²⁺-Transportprozesse</i> | 58 |
| 4.5.1 | <i>Diastolischer Ca²⁺-Rücktransport in das SR in vitro (innerer Zyklus)</i> | 60 |
| 4.5.1.1 | <i>mRNA-Spiegel der SERCA2a</i> | 60 |
| 4.5.1.2 | <i>mRNA-Ratio von SERCA2a zu PLN</i> | 62 |
| 4.5.1.3 | <i>SERCA2a-katalysierter Ca²⁺ Transport in Homogenaten</i> | 63 |
| 4.5.2 | <i>diastolischer Ca²⁺-Rücktransport nach extrazellulär über das Sarkolemm (äusserer Zyklus)</i> | 64 |
| 4.5.2.1 | <i>mRNA-Spiegel des NCX1</i> | 65 |
| 4.5.2.2 | <i>Na⁺-abhängiger sarkolemmaler Ca²⁺-Transport über den NCX1 in Homogenaten</i> | 67 |
| 5 | Zusammenfassung | 70 |
| 6 | Literaturverzeichnis | 72 |
| | <i>Eidesstattliche Erklärung</i> | 83 |
| | <i>Danksagung</i> | 84 |
| | <i>Lebenslauf</i> | 85 |