

Einleitung

Epitheliale Gewebe bilden Barrieren zwischen verschiedenen Kompartimenten. Neben ihrer Barrierefunktion besitzen sie auch oft die Fähigkeit eines vektoriellen, also gerichteten Transportes verschiedener endogener und exogener Substanzen. Voraussetzung dafür ist eine Polarisierung der Zellen, also eine festgelegte Ausrichtung. Durch den gerichteten epithelialen Transport besteht die Möglichkeit, die Homöostase verschiedener Moleküle zu kontrollieren. Fehlfunktionen dieser Systeme können aber auch zu Störungen führen, die den gesamten Organismus betreffen.

Der Niere kommt beim transepithelialen Transport eine besondere Rolle zu, da die Homöostase vieler Substanzen zu einem großen Teil über deren renale (Re)absorption oder Ausscheidung aufrechterhalten wird. Entscheidende Erkenntnisse über den renalen epithelialen Transport wurden durch die Aufdeckung genetisch bedingter Störungen dieser Systeme gewonnen. Meist handelt es sich dabei um monogene Erkrankungen, bei denen eine Mutation in einem Gen zu einer klinisch und biochemisch definierbaren Erkrankung führt. Neben diesen Erkrankungen existiert eine Anzahl von Störungen, die zwar eine genetische Komponente besitzen, in ihrer klinischen und biochemischen Ausprägung jedoch variabel sind. Im Kindesalter bestehen darüber hinaus Erkrankungen die vererbbar sind, deren Verlauf während der kindlichen Entwicklung jedoch stark variiert und auch bei den Betroffenen innerhalb einer Familie unterschiedlich ausgeprägt sein kann. Somit muss unterschieden werden, ob es sich um eine polygene Erkrankung handelt, die durch das Zusammenwirken mehrerer Genprodukte zustande kommt und durch Umweltfaktoren modifiziert wird oder ob eine bestimmte Erkrankung eine heterogene Gruppe unterschiedlicher Ursachen darstellt.

Zu diesen häufigen Erkrankungen mit variabler Ausprägung zählen in der Kinderheilkunde die idiopathischen Hyperkalziurie und die primären Enuresis nocturna. Ziel vorliegender Arbeit war es, die Rolle renaler Transportsysteme in der Pathogenese dieser Erkrankungen zu evaluieren.

Prinzipien epithelialen Transportes

Epithelien bilden eine Barriere, indem sie zwei Kompartimente trennen (z.B. Darmlumen und Gefäßsystem). Epithelien bestehen aus mindestens einer Zellschicht, meist besitzen diese Zellen eine definierte Ausrichtung¹⁻³. Die Ausrichtung der Zelle zum Lumen (z.B. zum Tubuluslumen) bezeichnet man als apikal, die Ausrichtung zum extrazellulären Raum (EZR) als basolateral. Neben der Barrierefunktion haben Epithelien aber auch die Fähigkeit, Moleküle über diese Barriere, meist von apikal nach basolateral zu transportieren. Die Aufrechterhaltung dieser Polarität ist eine essentielle Voraussetzung für die

Transportfunktion⁴⁻⁷. Der Verlust dieser Ausrichtung ist ein häufiges Phänomen verschiedener Erkrankungen⁸⁻¹⁵. Prinzipiell stehen zwei Möglichkeiten des vektoriellen (gerichteten) Transportes (apikal nach basolateral) zur Verfügung: Der transzelluläre und der parazelluläre Transport.

Transzellulärer Transport bedingt die Resorption des entsprechenden Moleküls über die apikale Plasmamembran in die Zelle (Intrazellulärer Raum, IZR) hinein, den Transport von dort zur basolateralen Membran und den weiteren Transport über diese Membran in den EZR. Größere Moleküle wie Proteine werden dabei meist endozytotisch resorbiert, oftmals unterliegen diese Substanzen dann einer intrazellulären Prozessierung.

Beim transzellulären Transport von Ionen (z.B. Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) besteht ein solches System aus mindestens zwei membranständigen Systemen, wobei durch Transportproteine der apikalen Membran die Moleküle in die Zelle und an der basolateralen Membran aus der Zelle heraus gebracht werden. Diese Form des Transportes erfordert die ständige Entfernung der Moleküle aus dem IZR oder deren intrazelluläre Metabolisierung. Damit wird ein Konzentrationsgradient aufrechterhalten und zu hohe intrazelluläre Konzentrationen verhindert. Für diese Aufgabe stehen verschiedene Transportmechanismen zur Verfügung (Abbildung 1).

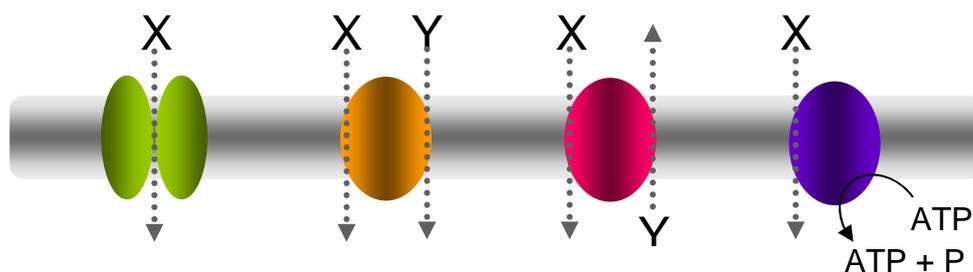


Abbildung 1: Verschiedene membranständige Transportsysteme. X und Y: Zu transportierende Moleküle. Grün: Kanal, Braun: Kotransporter oder Symporter, Rot: Antiporter oder Austauscher, Blau: Transport unter direktem Energieverbrauch (hier durch ATP-Hydrolyse): ATPase.

Die Entfernung der Moleküle aus der Zelle erfordert die Bereitstellung von Energie. Diese wird direkt durch ATP-Hydrolyse oder durch indirekte Prozesse zu Verfügung gestellt. Der transzelluläre Transport ist durch eine Vielzahl verschiedener Faktoren beeinflussbar. Beispielsweise ist die Na^+ -Resorption im Sammelrohr der Niere über den epithelialen Na^+ -Kanal (Epithelial Na^+ channel, ENaC) durch das Nebennierenrindenhormon Aldosteron regulierbar¹⁶⁻¹⁸.

Dagegen wird der parazelluläre Transport primär durch die Existenz eines elektrochemischen Gradienten realisiert (Abbildung 2). Dieser Gradient besteht aus einer unterschiedlichen Konzentration der jeweiligen Moleküle und der meist daraus resultierenden Spannungsdifferenz zwischen apikalem und basolateralem Kompartiment^{19;20}. Dieser Gradient garantiert dem Organismus die Resorption (Darm) oder Rückresorption (Niere) essentieller Substanzen mit geringem energetischem Aufwand.

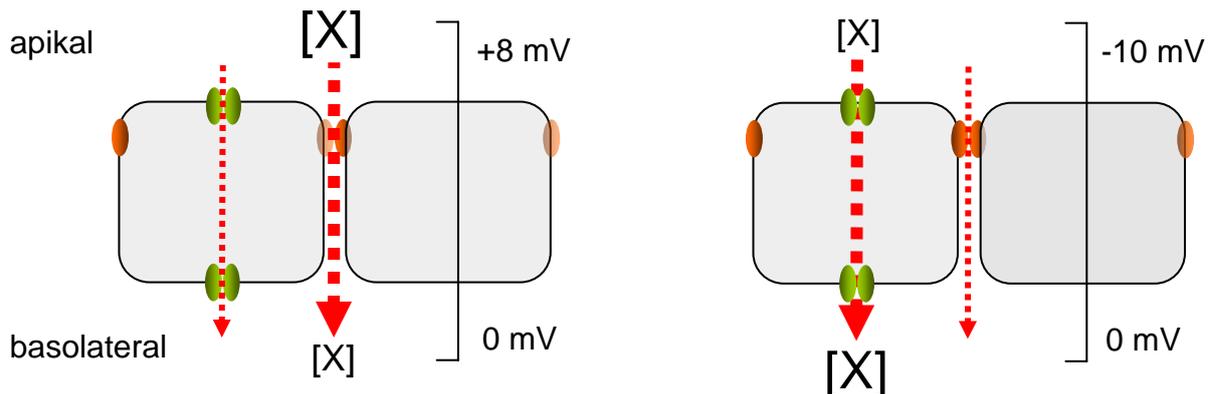


Abbildung 2: Schematische Darstellung prinzipieller Transportwege in absorbierenden Epithelien. Grün: Transzellulärer Transportweg, Braun: Parazellulärer Transportweg. Der parazelluläre Transport einer Substanz [x] ist abhängig von einem Konzentrationsgradienten der apikal höher sein muss als basolateral. Damit zusammenhängend ist die transepitheliale Spannungsdifferenz, exemplarisch für die Situation im TAL (links) und im DCT (rechts) dargestellt. Dagegen ist der transzelluläre Transport gegen einen elektrochemischen Gradienten möglich.

Wichtiges strukturelles Element des parazellulären Transportes stellt die Tight Junction (TJ) dar, die benachbarte Zellen verbindet. Hierbei handelt es sich um eine supramolekulare Organisation mehrerer Proteine, die in den Membranen benachbarter Zellen verankert sind und zum Teil durch intrazelluläre Adapterproteine stabilisiert und reguliert werden²¹. Einen wichtigen Bestandteil der TJ stellen die Claudine (CLDN) dar, eine Familie von Proteinen, die parazelluläre Ionenkanäle mit hoher Spezifität bilden können²². Mutationen in CLDN-16-Gen führen zur familiären Hypomagnesiämie mit Hyperkalziurie und Nephrokalzinose (FHHNC). Mutationen im CLDN-14-Gen resultieren in einer hereditären Form der Taubheit, da CLDN-14 im Innenohr exprimiert ist und dort zur Konstanthaltung der Ionenkonzentration der Endolymphe beiträgt²³⁻²⁵.

Renaler tubulärer Transport

Das Nephron stellt eine Funktionseinheit der Niere dar. Entlang dieser Funktionseinheit findet die Rückresorption glomerulär filtrierter Substanzen statt. Die glomeruläre Filtration ist vor

allem durch Druck in den glomerulären Kapillaren sowie durch die Größe und Selektivität der Filtrationsfläche bedingt. Die tubuläre Resorption hingegen hängt vom transepithelialen Konzentrationsunterschied der Moleküle und der Bereitstellung von Energie (z.B. in Form von ATP) ab, die Resorption kann entlang oder gegen einen Konzentrationsgradienten erfolgen. Die tubuläre Funktion unterliegt zu einem großen Teil endokrinen Einflüssen.

Das Tubulussystem beginnt mit dem Bowmannschen Kapselraum, es folgen proximaler Tubulus, Henlesche Schleife, bestehend aus absteigendem und aufsteigendem Ast. Danach folgt der distale Tubulus, der in das Sammelrohr übergeht. Das Sammelrohr mündet an der Papillenspitze in das Nierenbecken. Unter Berücksichtigung der Einteilung in Rinde und Mark liegen proximaler und distaler Tubulus in der Rinde, die Henlesche Schleife im Mark (Abbildung 3).

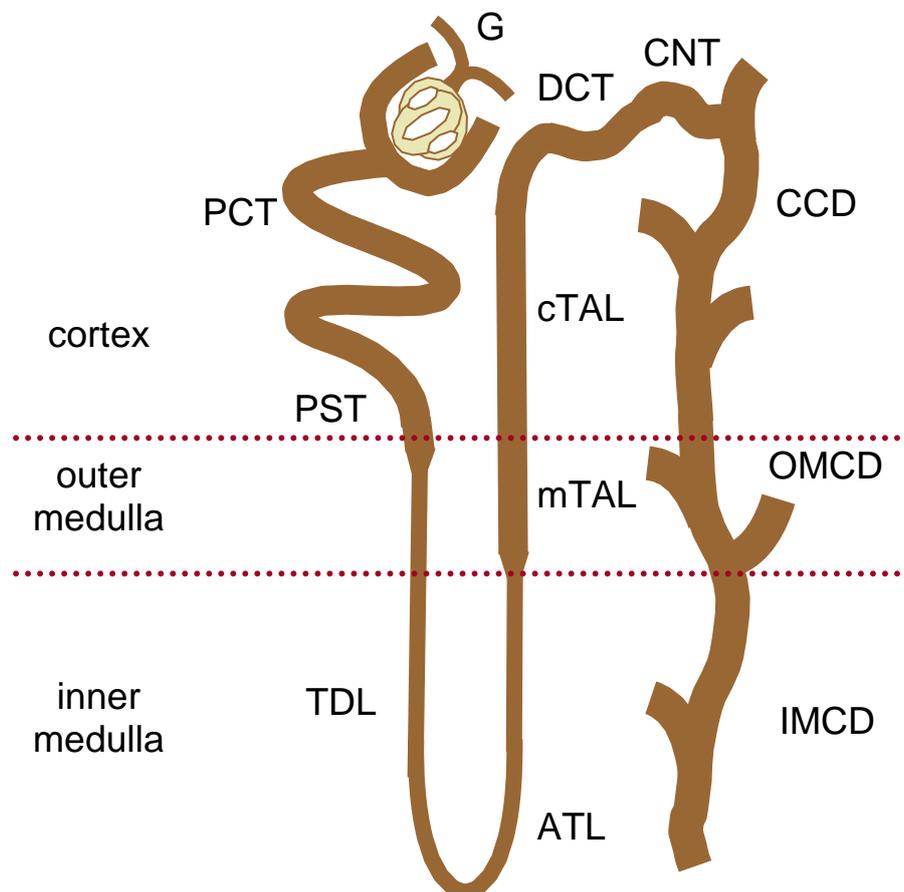


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines Nephrons. G: glomerulus, PCT: proximal convoluted tubule, PST: proximal straight tubule, TDL: thin descending loop, ATL: ascending thin loop, mTAL: medullary thick ascending loop, cTAL cortical thick ascending loop, DCT: distal convoluted tubule, CNT: connecting tubule, CCD: cortical collecting duct, OMCD: outer medullary collecting duct, IMCD: inner medullary collecting duct.

Proximaler Tubulus

Der proximale Tubulus (proximal tubule, PT) beginnt mit dem Bowmanschen Kapselraum und erstreckt sich bis zum absteigenden Ast der Henleschen Schleife. In den proximalen Tubulus gelangen im Regelfall Moleküle, die ein Molekulargewicht von ca. 68.000 Dalton nicht überschreiten. Somit erreichen neben Ionen und Aminosäuren auch niedrig molekulare Proteinen den proximalen Tubulus. Dieser lässt sich unterteilen in die pars convoluta (proximal convoluted tubule, PCT) und in die pars recta (proximal straight tubule, PST). Der überwiegende Anteil fast aller frei filtrierbaren Moleküle wird im PT resorbiert. Insbesondere die Rückresorption von Oligopeptiden, Polypeptiden und Proteinen findet in PT statt. Eine zentrale Rolle spielt dabei das System aus den Endozytose-vermittelnden membranständigen Rezeptoren Megalin (gp 330, LRP-2) und Cubilin²⁶. Megalin ist ein Rezeptor mit niedriger Spezifität und hoher Kapazität und resorbiert nicht nur endogene niedrig molekulare Proteine sondern auch exogene Substanzen wie Heparin und Gentamycin. Die Interaktion zwischen Megalin und Cubilin ist für die Resorption verschiedener Substanzen beschrieben worden, jedoch nicht für alle Moleküle erforderlich²⁷⁻³². Mutationen im Cubilin-Gen führen zum Imerslund-Gräsbeck Syndrom (IGS)^{33;34}. Dabei handelt es sich um eine Form der megaloblastären Anämie, da der Komplex aus Intrinsic-Factor und Cobalamin intestinal durch ein funktionell inaktives Cubilin-Protein nicht mehr resorbiert werden kann³³. Aufgrund der renalen Expression von Cubilin im PT weisen Patienten mit IGS auch eine niedrig molekulare Proteinurie auf. Mutationen im Megalin-Gen sind beim Menschen bisher nicht beschrieben worden. Genetisch modifizierte Mäuse, bei denen das Gen für Megalin inaktiviert ist, weisen neben einer Holoprosencephalie auch eine renal bedingte Osteopathie auf, da der Komplex aus Vitamin-D-bindendem Protein und 25-OH-D3 nicht mehr im PT resorbiert werden kann³⁵.

Die hohe Resorptionsleistung des PT erfordert die ständige Bereitstellung von Energie und erklärt die hohe Dichte von Mitochondrien in den Zellen des PT. Umgekehrt verursachen primäre oder sekundäre Schädigungen des PT neben dem Verlust von verschiedenen Ionen, Glukose, Aminosäuren und Bikarbonat auch den Verlust von Proteinen (Fanconi Syndrom). Durch den Verlust der zellulären Integrität und der interzellulären Verbindungen sind nicht nur membranständige Systeme von solchen Störungen betroffen.

Henlesche Schleife

Die Henlesche Schleife wird unterteilt in einen absteigenden einen aufsteigenden Ast. Der aufsteigende Ast wird unterteilt in einen dünnen und einen dicken Abschnitt (thick ascending

loop, TAL), der nach seiner anatomischen Lokalisation in einen medullären und einen kortikalen Anteil unterteilt wird (medullary TAL, mTAL und cortical TAL, cTAL). Im Gegensatz zum aufsteigenden Ast ist der absteigende Ast der Henlesche Schleife fast impermeabel für Na^+ , umgekehrt verhält es sich bei der H_2O -Permeabilität. Durch dieses Prinzip wird erreicht, dass das Nierenmark zur Papille hin einen ansteigenden osmotischen Gradienten aufweist, der für verschiedene Transportleistungen essentiell ist (s.o.).

Der aufsteigende Ast der Henleschen Schleife besitzt eine wichtige Rolle in der Reabsorption verschiedener Ionen (Abbildung 4). Durch den Furosemid-sensitiven Na^+ - K^+ - 2Cl^- Kotransporter (NKCC2) werden transzellulär vor allem Na^+ und Cl^- resorbiert, daher ist dieser Bereich bedeutsam für die Volumen- und Blutdruckregulation. Mutationen in den beteiligten membranständigen Transportproteinen (NKCC2, ROMK, ClC-Kb und Barttin) führen zum Bartter-Syndrom (Typ I-IV)³⁶⁻⁴².

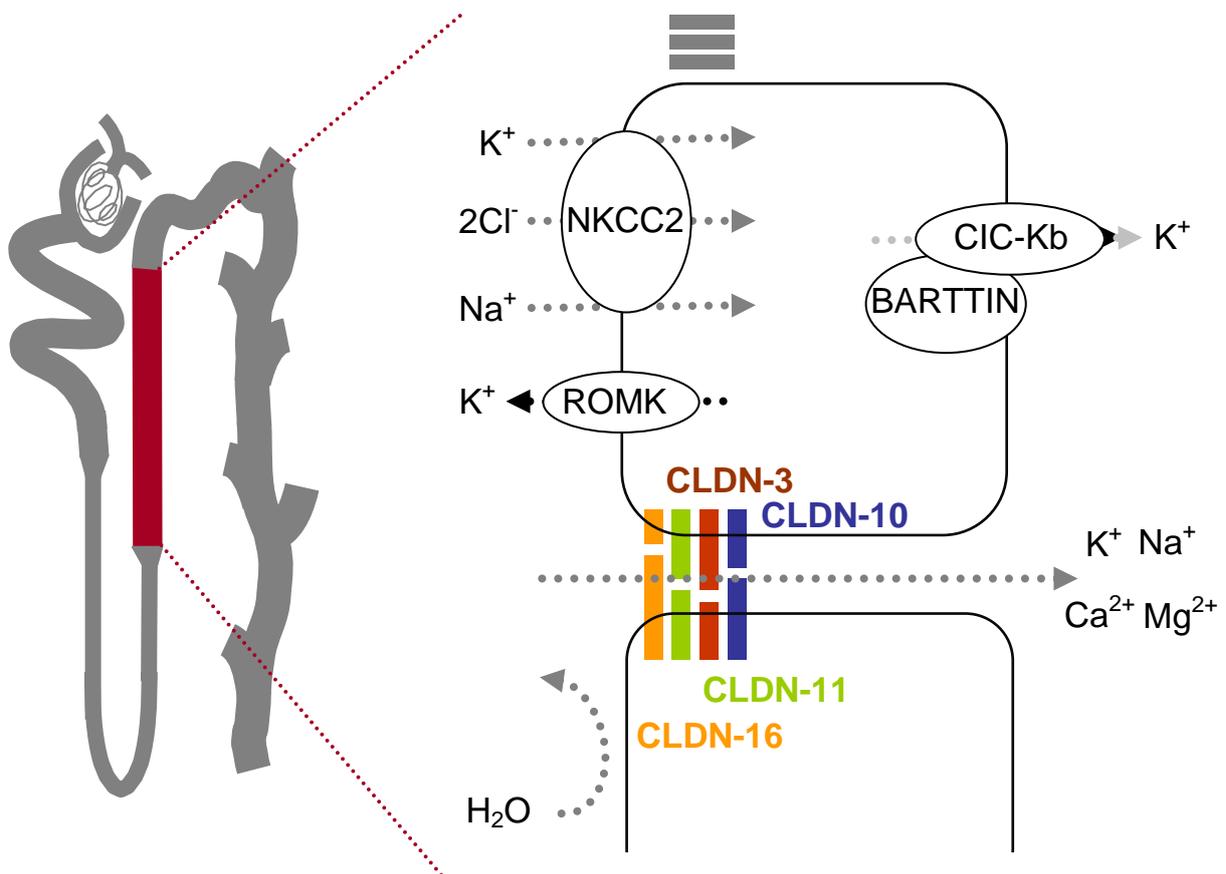


Abbildung 4: Schematische Darstellung wichtiger Ionentransportsysteme im mTAL. Dargestellt sind trans- und parazelluläre Transportwege (NKCC2: Na^+ - K^+ - 2Cl^- -Cotransporter, ROMK: Renal outer medullary K^+ channel, ClC-Kb : Basolateral Cl^- channel, CLDN-3, -10, -11, -16: Claudin-3, -10, -11, -16).

Distaler Tubulus

Der distale Tubulus (distal tubule, DT) besteht aus dem gewundenen Teil (distal convoluted tubule, DCT) und dem Verbindungstubulus (connecting tubule, CT), wobei der DCT noch einmal in DCT1 und DCT2 (proximal und distal) unterteilt werden kann⁴³. In diesem Abschnitt des Tubulus ist der transepitheliale elektrochemische Gradient meist klein, so dass ein parazellulärer Transport keine wesentliche Rolle mehr spielt. Dahingegen existieren hier wichtige transzelluläre Transportsysteme wie der Thiazid-sensitive, elektroneutrale Na⁺-Cl⁻-Kotransporter (NCC) und die epithelialen Ca²⁺-Kanäle (ECaC1/TRPV5 und ECaC2/TRPV6)⁴⁴⁻⁴⁷. Trotz der prozentual geringen Resorptionsleistung dieser Systeme besteht die Möglichkeit einer hormonellen Kontrolle und somit einer aktiven Regulation. Die Verbindung zum Sammelrohr stellt der Verbindungstubulus (connecting tubule CNT) dar. Während dieser Abschnitt bei Nagetieren einen bedeutenden Teil des distalen Tubulus ausmacht, spielt der CNT beim Menschen auch funktionell keine bedeutende Rolle.

Sammelrohr

Das Sammelrohr (collecting duct, CD) wird in kortikale, äußere und innere medulläre (OMCD, IMCD) Anteile unterteilt. In diesem Bereich des Nephrons erfolgt die transzelluläre H₂O-Rückresorption und damit die Aufrechterhaltung der Plasmaosmolalität. Die Zellen des CD sind an der Na⁺-Rückresorption über den Aldosteron-sensitive apikalen epithelialen Natrium-Kanal (ENaC) beteiligt¹. Ferner erfolgt im CD die renale H⁺ Elimination (Anion Exchanger, AE)⁴⁸⁻⁵⁰.

Genetisch bedingte tubuläre Transportstörungen

Häufig sind monogene Erkrankungen durch einen klinisch und biochemisch definierbaren, konstanten Phänotyp charakterisiert. Diese Zuordnung und die Anwendung der Kopplungsanalyse bei hereditären Tubulopathien haben dazu geführt, dass ein großer Anteil der Erkrankungen, die durch defekte Membranproteine und deren regulatorische Proteine entstehen, aufgeklärt werden konnten^{36;38;51}. Weiterhin konnten Erkrankungen mit definierten Phänotypen auch durch gezielte Kandidatengenanalyse identifiziert werden³⁹. Eine Übersicht über wichtige, bisher aufgeklärte Tubulopathien, deren Ursache in der gestörten Funktion membranständiger Transportsysteme liegt, gibt die Tabelle im Anhang.

Dagegen ist es schwierig, Krankheitsbilder die eine hohe klinische Variabilität aufweisen, mittels solcher Verfahren zu identifizieren, da der Erfolg von Kopplungsanalysen oftmals von einer klaren Phänotypisierung, also der klinischen und laborparametrischen Einteilung gesunder und kranker Familienmitglieder abhängt. Eine Kandidatengenanalyse ist dagegen

aufwendig, da aufgrund der Funktion und des Expressionsmusters von Proteinen häufig eine Vielzahl von korrespondierenden Genen in Betracht kommt.

Ca²⁺- und Mg²⁺-Transport

Die Resorption der beiden divalenten Kationen Ca²⁺ und Mg²⁺ ist eng miteinander verbunden. Aus Gründen der Anschaulichkeit wird die renale Reabsorption beider Ionen getrennt dargestellt.

Ca²⁺-Transport

Die tägliche Ca²⁺-Aufnahme beträgt in Abhängigkeit vom Lebensalter bis zu 1000 mg. Davon wird intestinal, hauptsächlich im Duodenum, weniger als 50 % absorbiert. 99 % des körpereigenen Ca²⁺ sind im Knochen gespeichert⁵². Im Blut liegt ein Teil des Ca²⁺ an Proteine gebunden vor, meist an Albumin. Ein geringer Teil bildet Komplexe, z.B. mit Phosphat. Nur der freie (ionisierte) Anteil des Ca²⁺ hat biologische Wirkung. Im Regelfall werden 95-99 % des filtrierten Ca²⁺ tubulär rückresorbiert. Etwa 80-90 % der renalen Ca²⁺-Rückresorption erfolgt parazellulär, etwa 5-10 % transzellulär (Abbildung 5).

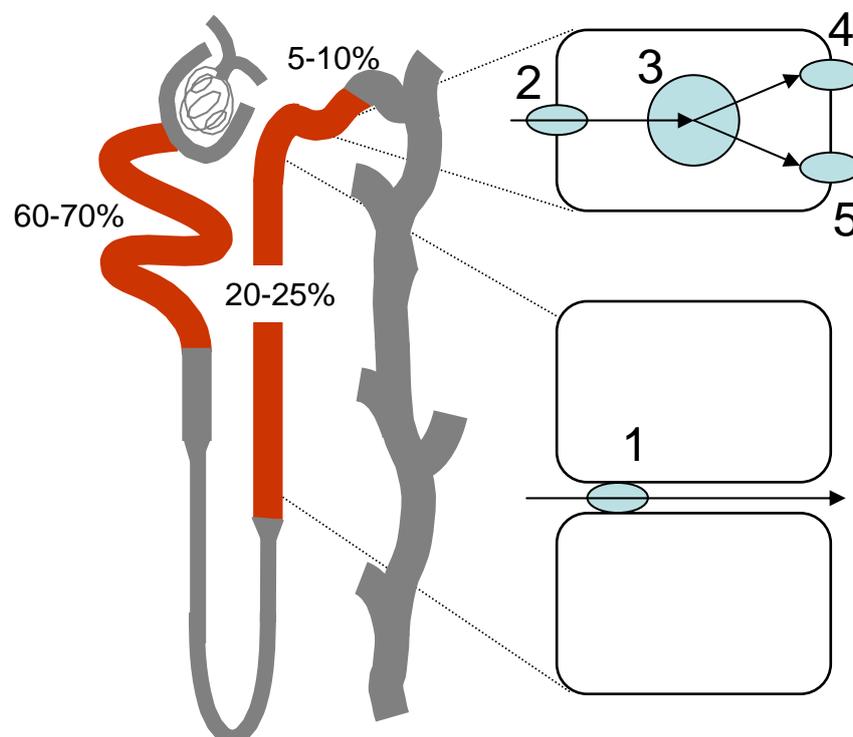


Abbildung 5: Renale Ca²⁺-Rückresorption und beteiligte Mechanismen. In rot dargestellt die Bereiche des Nephrons, in denen 85-95 % des gesamten filtrierten Ca²⁺ resorbiert werden. Die Zahlen geben den prozentualen Anteil wieder. 1: CLDN-16, 2: TRPV5/TRPV6, 3: Calbindin_{D28k}, 4: Ca²⁺ ATPase, 5: Na⁺-Ca²⁺-Austauscher

Obwohl der parazelluläre Transport den überwiegenden Anteil der Ca^{2+} -Resorption ausmacht, ist der genaue Mechanismus nicht bekannt; die beteiligten Tight Junction Proteine sind bisher nicht identifiziert worden. Der transzelluläre Transport erfolgt im DCT. Durch zwei apikale Ca^{2+} -Kanäle (TRPV5 und TRPV6) gelangt Ca^{2+} in die Zellen⁵³⁻⁵⁶. Nach Eintritt in die Zelle durch TRPV5 / TRPV6 wird Ca^{2+} von einem zytosolischen Protein (Calbindin_{D28k}), welches auch als Pufferprotein wirkt, zur basolateralen Membran gebracht und über zwei Extrusionsmechanismen, einer Ca^{2+} -ATPase und einem Na^+ - Ca^{2+} -Austauscher in den EZR geschleust⁵⁷⁻⁵⁹. Die renale Ca^{2+} -Absorption unterliegt endokrinen Einflüssen, beispielsweise durch 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃, Calcitriol) und Parathormon (PTH). In den Zellen des proximalen Tubulus findet die Konversion von 25-hydroxyvitamin D₃ zu der aktiven Form (1,25(OH)₂D₃) durch das mitochondriale Enzym 1 α -Hydroxylase statt^{60,61}.

Hereditäre renale Ca^{2+} -Transportstörungen

Mehrere hereditäre Erkrankungen wurden identifiziert, die mit einer erhöhten renalen Ca^{2+} -Ausscheidung assoziiert sind (Tabelle im Anhang). Die Ca^{2+} -Plasmakonzentration stellt im Regelkreis der Ca^{2+} -Homöostase die zu regulierende Größe dar, Veränderungen wurden nachgewiesen bei reduzierter („loss-of-function“) und erhöhter Funktion („gain-of-function“) des Calcium Sensing Receptors (CaR), verursacht durch Mutationen im korrespondierenden Gen⁶²⁻⁶⁴. Der CaR, der in parathyreoidalen, renalen und intestinalen Geweben nachgewiesen werden konnte, stellt den Sensor dieses Regelkreises dar. Durch dessen Aktivierung werden kompensatorische Mechanismen gesteuert, die zur Konstanthaltung der Ca^{2+} -Plasmakonzentrationen erforderlich sind wie z. B. die Parathormon- (PTH) Sekretion.

Neben den Mutationen im CaR-Gen führen andere Ca^{2+} -assoziierte Erkrankungen meist über eine symptomatische Hyperkalziurie zur Diagnose. Mutationen im Gen, das für den lysosomalen Chlorid-Kanal 5 (CLCN-5) kodiert, verursachen eine Hyperkalziurie mit Nephrokalzinose sowie eine niedrig molekulare Proteinurie⁶⁵. Dieser Erkrankung (Dent's disease) liegt eine Störung der proximal-tubulären Funktion zugrunde. Im mTAL existieren mehrere membranständige Transportsysteme, deren Funktionsstörung zum Bartter-Syndrom führen. Alle Bartter-Syndrome (I-IV) führen zu einer erhöhten Ausscheidung von Ca^{2+} . Diese Hyperkalziurie kann nicht durch die zugrunde liegenden Transportdefekte erklärt werden und ist deshalb vermutlich sekundär, da auch bei einer pharmakologischen Blockade des NKCC2 durch Furosemid eine Hyperkalziurie beobachtet wird. Weiterhin wurden Gendefekte identifiziert, die zu einer Störung der HCO_3^- -Rückresorption (proximale renale tubuläre Azidose, RTA Typ II) oder der H^+ -Ionen-Exkretion führen (distale RTA, Typ I). Die distalen RTAs gehen mit einer sekundärer Hyperkalziurie einher^{36-39;41;47-50;66-68}.

Idiopathische Hyperkalziurie

Die idiopathische Hyperkalziurie ist definiert durch eine persistierend erhöhte renale Ca^{2+} -Ausscheidung ($> 0.1 \text{ mmol/kg/24h}$, entsprechend 4 mg/kg/24h , es besteht eine Alterabhängigkeit), ohne dass bekannte Ursachen der Hyperkalziurie vorliegen. Die Plasma- Ca^{2+} -Konzentration liegt innerhalb des Normbereiches von $2,1\text{-}2,6 \text{ mmol/l}$. Häufige Symptome der Hyperkalziurie im Kindesalter sind erhöhte Miktionsfrequenz und Dranginkontinenz⁶⁹. Harnwegsinfekte sind bei Kindern mit Hyperkalziurie häufiger als bei gesunden Kontrollpersonen⁷⁰⁻⁷⁵. Die Hyperkalziurie ist außerdem die häufigste Form der postglomerulären Hämaturie im Kindesalter^{76;77}. Postuliert wird die irritierende, bzw. schädigende Wirkung des Ca^{2+} und Ca^{2+} -haltiger Komplexe auf die Mukosa von Urether, Harnblase und Urethra.

Neben diesen Symptomen treten auch Nephrokalzinose und Nierensteine auf. Bei den Nierensteinen handelt es sich meist um Kalziumoxalat- und Kalziumphosphatsteine⁷⁸. Im Kindesalter, wie auch bei Erwachsenen kann eine verminderte Knochendichte nachgewiesen werden⁷⁹⁻⁸³. Weiterhin wird die idiopathische Hyperkalziurie als eine Ursache der Enuresis nocturna in Kindesalter diskutiert⁸⁴.

Versuche, diese Erkrankung näher zu charakterisieren und in eine Form mit intestinaler Hyperabsorption und eine mit renalem Verlust zu unterteilen, haben zu inkonsistenten Ergebnissen geführt. Pak et al. berichteten über einen ‚oral Ca^{2+} loading test‘. Nach einer Phase einer Ca^{2+} -armen Ernährung wird den Patienten eine definierte Menge Ca^{2+} oral verabreicht (meist 1000 mg). Wenn sich daraufhin die renale Ca^{2+} -Ausscheidung deutlich von der ersten Phase unterscheidet, soll eine intestinale Ca^{2+} -Hyperabsorption vorliegen, bei ausbleibender oder geringer Änderung soll primär ein renaler Verlust vorliegen⁸⁵. Aljadem et al. konnten dagegen zeigen, dass intraindividuell die Form der Hyperkalziurie in Laufe der Entwicklung wechseln kann und stellen, wie auch andere Autoren, die klinische Bedeutung einer solchen Unterteilung in Frage⁸⁶⁻⁸⁹. Untersuchungen zu Ca^{2+} -regulierenden Mechanismen haben bisher die pathogenetische Grundlage der Hyperkalziurie nicht identifizieren können^{72;90;91}.

Familienuntersuchungen legen nahe, dass zumindest bei einem Teil der Familien die Hyperkalziurie autosomal dominant vererbt wird^{89;92-95}. Ursachen hereditärer Formen der idiopathischen Hyperkalziurie konnten jedoch bisher nicht geklärt werden. Kopplungs- und Kandidatengenanalysen (z.B. Vitamin-D-Rezeptor (VDR), Calcium Sensing Receptor (CaR) und das Enzym 1α -Hydroxylase) zeigten keine Unterschiede zwischen den Betroffenen und normalen Kontrollpersonen^{90;96;97}. Reed et al. berichteten 2001 über eine Familie mit autosomal dominant vererbter intestinaler Hyperkalziurie. Bei den Betroffenen konnte durch

Kopplungsanalysen eine Kandidatenregion auf Chromosom 1q23.3-q24 lokalisiert werden⁹⁸. Im Folgenden konnten verschiedene Polymorphismen in einem in dieser Region gelegenen Gen (codierend für die lösliche Adenylat Cyclase) mit der Erkrankung bei einigen aber nicht allen Individuen mit absorptiver Hyperkalziurie assoziiert werden⁹⁹. Die Bedeutung für größere Patientenkollektive bleibt jedoch unklar.

Somit stellt die Hyperkalziurie immer noch eine Diagnose dar, die erst nach Ausschluss alimentärer, pharmakologischer, metabolischer und genetischer Ursachen (s.o.) gestellt werden kann. Therapeutisch führt meist die Administration von Hydrochlorothiazid (HCT, 0,5-2 mg/kg Körpergewicht) zu einer Reduktion der Ca^{2+} Ausscheidung¹⁰⁰. Dabei wird nicht der natriuretische (antihypertensive) Effekt, sondern die Ca^{2+} -retinierende Wirkung genutzt. Die Thiazidtherapie führt somit zu dem gleichen Phänotyp wie Mutationen im NCC-Gen, die zum Gitelman-Syndrom führen^{47;101;102}. HCT wird gelegentlich mit dem Na^+ -Kanal-Blocker Amilorid kombiniert, um einem assoziierten renalen K^+ -Verlust zu kompensieren. Bei Ca^{2+} -Phosphat-Steinen erfolgt die Ansäuerung des Urins (pH 6,2 bis 6,8), eine konsequente antibiotische Therapie begleitender Harnwegsinfektion ist obligatorisch. Insbesondere im Kindesalter stellt die alimentäre Ca^{2+} -Restriktion keine therapeutische Option dar, da sie zu einer Mangelversorgung des wachsenden Organismus mit Ca^{2+} führt. Eine sekundäre Hyperoxalurie kann eine bereits vorliegende Nephrolithiasis noch verstärken¹⁰³.

Zusammenfassend ist die molekulare Grundlage der renalen Ca^{2+} -Rückresorption bisher, abgesehen von der Identifikation der TRPV5/6-Kanäle des DCT, ungeklärt. Viele indirekte Erkenntnisse zum epitheliale Ca^{2+} -Transport sind durch die Aufklärung von Erkrankungen zustande gekommen, die zu einer sekundären Hyperkalziurie führen, wie dem Bartter-Syndrom¹⁰⁴. Eine einheitliche Ursache der idiopathischen Hyperkalziurie ist bisher nicht beschrieben worden.

Mg^{2+} -Transport

Mg^{2+} stellt neben Ca^{2+} das wichtigste divalente Kation im Säugetierorganismus dar. Der überwiegende Anteil des Mg^{2+} befindet sich im Knochen (53%) und Myozyten (27%), etwa 1% befindet sich im EZR⁵². Ebenso wie für Ca^{2+} wird die Plasmakonzentration in engen Grenzen konstant gehalten, die biologisch aktive Form ist das freie Mg^{2+} . Diese ungebundene Form spielt eine wichtige Rolle bei verschiedenen physiologischen Prozessen, z.B. als Kofaktor verschiedener Enzyme und bei der Vermittlung intrazellulärer Signalketten. Die Mg^{2+} -Homöostase hängt entscheidend von der intestinalen Resorption und der renalen Rückresorption ab. Etwa 95 % des frei glomerulär filtrierten Mg^{2+} wird tubulär reabsorbiert,

wie beim Ca^{2+} werden weniger als 5% mit dem Urin ausgeschieden¹⁰⁵. Während Ca^{2+} zu etwa 60-70 % im PT resorbiert wird, erfolgt die Mg^{2+} -Resorption zu etwa 70-80 % im mTAL, cTAL und DCT (Abbildung 6)^{106;107}.

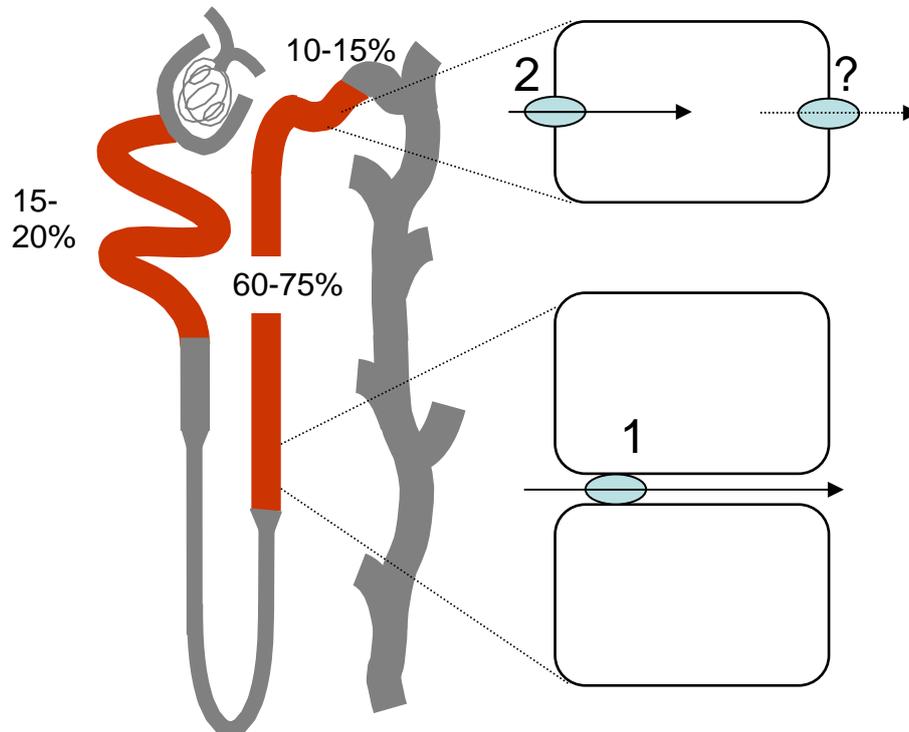


Abbildung 6: Tubuläre Reabsorption von Mg^{2+} . Angegeben ist der prozentuale Anteil der entsprechenden Nephronabschnitte. Schematisch dargestellt ist die Mg^{2+} -Reabsorption in TAL und DCT. 1: CLDN-16, 2: TRPM-6; ?: bisher nicht aufgeklärter basolateraler Mechanismus zur Extrusion von Mg^{2+} aus der Zelle.

Hereditäre renale Mg^{2+} -Transportstörungen

Die enge Beziehung zwischen Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Reabsorption wird auch durch Beteiligung beider Ionen bei verschiedenen tubulären Transportstörungen verdeutlicht. So zeigt sich bei allen Formen des Bartter-Syndroms (Typ I-IV) eine erhöhte renale Mg^{2+} -Ausscheidung¹⁰⁸. Zudem lassen sich auch Störungen der Mg^{2+} -Homöostase bei Erkrankungen, die durch Mutationen im CaR bedingt sind nachweisen (s.o.). Obwohl neben Ca^{2+} und anderen Molekülen auch Mg^{2+} als endogener Ligand des CaR identifiziert wurde, ist der molekulare Mechanismus der Mg^{2+} Regulation über CaR nicht bekannt⁶².

Meij et al. konnten zeigen, dass eine Mutation im FXYD2-Gen, welches für die γ -Untereinheit der basolateralen Na^+ - K^+ -ATPase kodiert, zu einer autosomal dominanten Form des hereditären Mg^{2+} -Verlustes führt^{109;110}. Diese Patienten haben eine verminderte renale Ca^{2+} -Ausscheidung, deren Ursache nicht bekannt ist. Simon et al. identifizierten mittels Positionsklonierung ein Tight Junction-Protein der Claudin-Familie, CLDN-16 (auch Paracellin-1)²⁵. CLDN-16 ist im mTAL exprimiert, Mutationen im korrespondierenden CLDN-16 Gen führen zur Familiären Hypomagnesiämie mit Hyperkalziurie und

Nephrokalzinose (FHHNC)^{65;111;112}. Auch diese Patienten haben eine erhöhte renale Ca^{2+} -Ausscheidung, so dass postuliert wurde, dass CLDN-16 einen parazellulären Kanal darstellt, der sowohl für Mg^{2+} als auch Ca^{2+} permeabel ist¹¹³.

Schlingmann et al. und Walder et al. konnten bei Patienten mit familiärer Hypomagnesiämie mit sekundärer Hyperkalziurie Mutationen im TRPM6-Gen identifizieren^{114;115}. Dieses Gen kodiert für den apikalen Kanal TRPM6 (transient receptor potential melastatin), TRPM6 gehört ebenso wie TRPV5 zur Familie der TRP-Kanäle und ist für divalente Kationen permeabel^{116;117}. TRPM6 ist im Darm (Duodenum, Jejunum, Ileum, Colon) und in der Niere (DCT) exprimiert¹¹⁸. Eine funktionelle Analyse dieses Ionenkanals zeigte, dass er heteromere Komplexe mit TRPM7, einem weiteren apikalen Kationen-permeablen Ionenkanal der TRP-Familie, bilden kann¹¹⁹.

H₂O-Transport

Etwa 90 % des glomerulären Ultrafiltrates werden im PT resorbiert. Hier und in der Henleschen Schleife ist die Resorption von H₂O eng an die Resorption von Na⁺ gebunden. Während Na⁺ in der ersten Hälfte des PT an den Transport mit HCO₃⁻, Glucose, Aminosäuren und anderen Molekülen gekoppelt ist, erfolgt die Resorption in der zweiten Hälfte des PT vor allem zusammen mit Cl⁻ parazellulär. Im Sammelrohr erfolgt die H₂O-Rückresorption spezifisch transzellulär und unterliegt dort einer hormonellen Kontrolle. Einen entscheidenden Fortschritt für das Verständnis der renalen H₂O-Regulation gelang durch die Entdeckung einer Familie von H₂O-permeablen Membranproteinen, den Aquaporinen (AQP). AQPs kommen in vielen epithelialen Geweben vor. Im Tubulusystems sind vor allem AQP-1, -2, -3 und -4 von Bedeutung^{1;120}.

Im CD wird der Mechanismus der transzellulären H₂O-Reabsorption durch die Bindung von antidiuretischem Hormon (ADH, oder Arginin Vasopressin, AVP) an den basolateral gelegenen Rezeptor (V2R) vermittelt (Abbildung 7)¹²¹. Nach der Synthese im Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis sowie hypophysären Transport wird das Nonapeptid ADH durch den posterioren Anteil der Hypophyse sezerniert. Abhängig ist die ADH-Sekretion von der Plasmaosmolalität; sinkt diese ab (< 280 mosm/kg H₂O) wird die Sekretion gehemmt; steigt sie an, so wird die Sekretion gesteigert. Die Plasmaosmolalität ist ein weitaus stärkerer Stimulator der ADH-Sekretion als das aktuelle Blutvolumen. Durch die Bindung von ADH an den V2-Rezeptor wird cAMP vermittelt AQP-2 in die apikale Membran eingebracht. Durch diesen Mechanismus kann H₂O in die Zelle gelangen und diese durch AQP-3 und AQP-4 an der basolateralen Seite wieder verlassen.

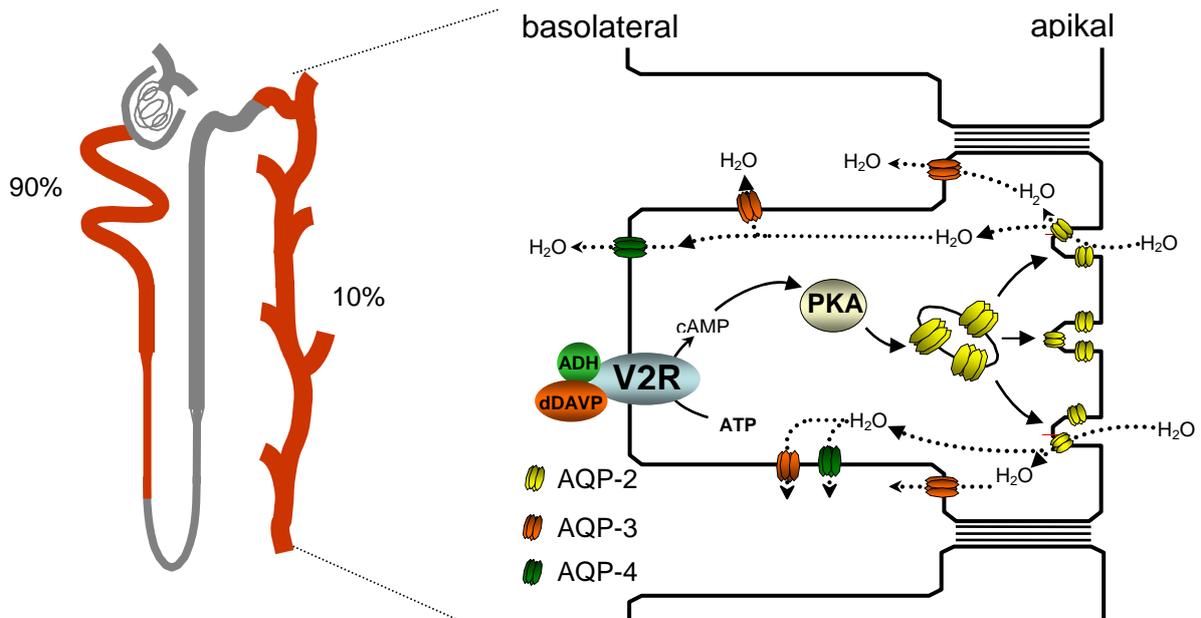


Abbildung 7: H₂O-Reabsorption entlang des Tubulussystems. Dargestellt sind (links) die prozentuale H₂O-Rückresorptionsrate und (rechts) schematisch eine Tubuluszelle des CD und die am transzellulären H₂O-Transport beteiligten Proteine. Nach Bindung von endogenem ADH an den basolateralen V2-Rezeptor erfolgt eine zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP)-vermittelte Aktivierung einer Proteinkinase A (PKA). Dies führt zu einer Verlagerung von AQP-2 Molekülen an die apikale Membran. Nachdem H₂O durch AQP-2 in die Zelle gelangt ist, verlässt es diese wieder an der basolateralen Membran, vermittelt durch AQP-3 und AQP-4. Neben ADH kann auch dDAVP den V2-Rezeptor aktivieren.

Hereditäre renale H₂O-Transportstörungen

Der renale V2R-AQP-2 Mechanismus ist das einzige bekannte effektive System der regulierten H₂O-Rückresorption; Mutationen im AQP-2-Gen führen zum nephrogenen Diabetes Insipidus (NDI). Die Mutationen können autosomal rezessiv oder auch autosomal dominant vererbt werden. Beim autosomal dominanten NDI handelt es sich um einen dominant negativen Effekt, der durch Störung der Tetramerisierung durch mindestens ein defektes AQP-2-Monomer zustande kommt^{122;123}. Zum nephrogenen Diabetes insipidus führen auch inaktivierende Mutationen im V2-Rezeptor¹²⁴⁻¹²⁷. Es sind Mutationen beschrieben worden, die eine Restfunktion des V2R zur Folge haben (inkompletter renaler Diabetes insipidus)¹²⁵.

Mutationen im Arginin Vasopressin Neurophysin II (AVP-NPII)-Gen führen zum kompletten oder inkompletten zentralen Diabetes Insipidus (Central Diabetes Insipidus, CDI)¹²⁸.

ADH bindet an mindestens 3 verschiedene Rezeptoren, die alle der Superfamilie G-Proteingekoppelter Rezeptoren angehören. Neben dem renalen V2-Rezeptor finden sich auch Rezeptoren in Leber und Gefäßwänden (V1aR und V2R) sowie in der Hypophyse (V1bR, auch als V3R bezeichnet)¹²⁸⁻¹³⁰.

Durch zwei Veränderungen in der Molekülstruktur entsteht aus ADH 1-Deamino-8-D-arginin-vasopressin (dDAVP oder Desmopressin, Summenformel: $C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2 \times C_2H_4O_2 \times 3H_2O$, Molekulargewicht 1183.3 Da)¹³¹. Die Deaminierung an Position 1 des Peptids verzögert die Degradierung (und damit den raschen Wirkungsverlust) und erhöht die antidiuretische Wirkung. Der Einsatz von D-Arginin anstelle von L-Arginin reduziert die vasopressorische Aktivität (Abbildung 7). Daher zeigt dDAVP eine starke antidiuretische Wirkung bei geringer vasopressorischer Funktion.

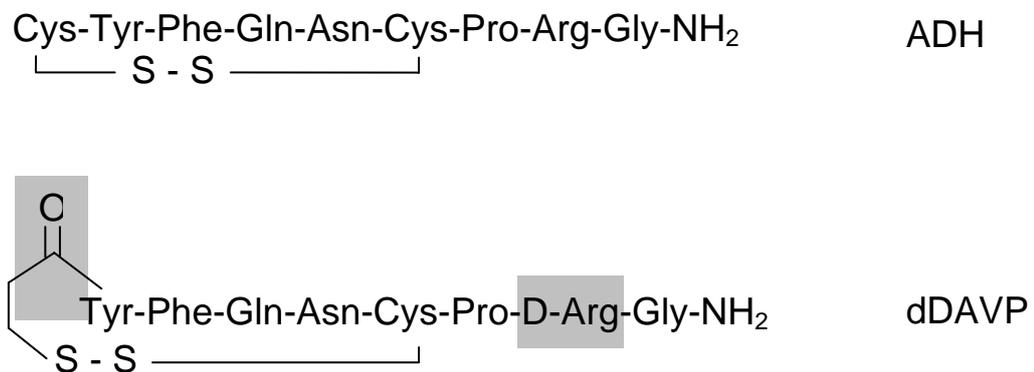


Abbildung 8: Vergleich der Struktur des Antidiuretischen Hormons (ADH, oben) und dDAVP (unten). Grau unterlegt sind die bei dDAVP eingeführten Veränderungen im Molekül.

Durch die verlängerte Halbwertszeit und die hohe V2-Rezeptoraffinität eignet sich dDAVP daher als Antidiuretikum und stellt die Therapiemethode der Wahl zur ADH-Substitution bei Patienten mit kongenitaler oder erworbener ADH-Defizienz dar (z.B. kongenitaler CDI bei vollständig inaktivierenden Mutationen im ADH-Gen).

Der Nutzen der dDAVP-Therapie bei der Behandlung der von Willebrand Erkrankung Typ I erklärt sich über die dDAVP-induzierte Erhöhung des von Willebrand Faktors, des Faktors VIII:C, des gewebespezifischen Plasminogen Aktivators (t-PA) und der dadurch verkürzten Blutungszeit¹³²⁻¹³⁴. Die V2R-vermittelte Erhöhung des von Willebrand Faktors und des Faktors VIII:C durch dDAVP kann auch diagnostisch genutzt werden: Während dieses Phänomen bei Patienten mit AQP-2-Mutationen nach dDAVP-Gabe vorkommt, zeigen sich bei Patienten mit V2R-Mutationen keine solchen hämostaseologischen Veränderungen^{128;133}. Zur Differenzierung zwischen CDI und NDI, sowie anderen Erkrankungen, die mit Polyurie einhergehen (z.B. habituelle Polydipsie) kann ein Durstversuch mit anschließender dDAVP Gabe durchgeführt werden. Während bei beiden Formen (CDI und NDI) die Urinosmolalität

unter der Flüssigkeitsrestriktion unverändert bleibt, findet man nur bei CDI nach dDAVP Gabe einen signifikanten Anstieg.

Primäre Enuresis nocturna

Nächtliches Einnässen (Enuresis nocturna) stellt eines der häufigsten Probleme im Kindesalter dar. Nach dem tageszeitlichen Auftreten werden Enuresis diurna, nocturna sowie diurna et nocturna unterschieden. Diagnostisch wie therapeutisch bedeutsam ist dabei, ob es sich um die Persistenz des ‚physiologischen‘ Einnässens des Kleinkindalters handelt (Primäre Enuresis Nocturna, PEN), oder ob das Einnässen nach einer längeren Phase der offensichtlichen nächtlichen Blasenkontrolle erneut aufgetreten ist (sekundäre Enuresis nocturna)¹³⁵.

Obwohl keine spezifischen wissenschaftlichen Grundlagen existieren, gilt allgemein, dass mit dem Erreichen des Schulalters eine Kontrolle über die Blasenfunktion tagsüber und während des Schlafes erreicht sein sollte. Es besteht kein Konsens, welche Frequenz die Episoden des Einnässens haben müssen. Beispielsweise legt die Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendpsychiatrie und -psychotherapie in ihren Leitlinien eine einzige Episode pro Monat bei Kindern, die älter als 7 Jahre sind, als minimal ausreichend fest¹³⁶. Das ‚Diagnostic und Statistical Manual of Mental Disorders‘ der American Psychiatric Association, aktuell als DSM-IV, unterscheidet zwischen ‚nocturnal only‘ und ‚nocturnal and diurnal‘¹³⁷. Eine ähnliche Klassifikation wurde von der International Children’s Continenence Society (ICCS) 1998 vorgeschlagen¹³⁸.

	ICCS	DGKJ	DGJKP
Alter	≥ 5 Jahre	≥ 6 Jahre	≥ 5 Jahre
Perioden ohne Einnässen	≤ 6 Monate	≤ 3 Monate	JA
Einnässen: Frequenz	≥ 1 / Monat	‚regelmäßig‘	< 7 Jahre: ≥ 2 / Monat; ≥ 7 Jahre: > 1 / Monat; mind. 3 Monate in Folge
Ausschluss organischer Ursachen	JA	JA	JA
Betroffene werden vom Einnässen nicht wach	JA	NEIN	NEIN

Tabelle 1: Kriterien der Primären Enuresis Nocturna. ICCS: International Children’s Continenence Society, DGKJ: Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin; DGJKP: Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendpsychiatrie und –psychotherapie.

Die ‚International Classification of Diseases‘ (ICD-10 Klassifikation) ordnet die ‚nichtorganische Enuresis‘ (F98.0) den ‚Verhaltens- und emotionalen Störungen mit Beginn

in der Kindheit und Jugend' zu. Hier wird weder zwischen primärer und sekundärer Enuresis unterschieden, noch wird die Enuresis nocturna von der Enuresis diurna abgegrenzt. Ein Beispiel zeigt, dass die ICD-10 Klassifikation den klinisch-pädiatrischen Aspekten der Enuresis nicht gerecht wird: ‚Die Enuresis kann von Geburt an bestehen...‘¹³⁹.

In den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ) wird die Enuresis nocturna im Kapitel ‚Nephrologie‘ abgehandelt, eine psychologische Untersuchung wird erst zum Abschluss der diagnostischen Verfahren empfohlen, eine kinderpsychiatrische Diagnostik wird nicht erwähnt¹⁴⁰.

Allen Klassifikationen ist gemein, dass organische Ursachen ausgeschlossen sein müssen, um die Diagnose PEN zu stellen. Bei körperlichen, apparativen und laborchemischen Untersuchungen sollen keine Auffälligkeiten bestehen, die das Erlangen der Kontinenz *per se* verhindern. Nephrologische und endokrinologische Ursachen müssen ausgeschlossen sein, es dürfen keine anatomischen Abnormalitäten wie z.B. eine Blasen-Scheiden-Fistel vorliegen. Hier ist zu trennen zwischen der Enuresis und der Inkontinenz. Psychologische und psychiatrische Krankheitsbilder sollten, im Gegensatz zur sekundären Enuresis nocturna nicht vorliegen, obwohl dadurch eine eventuell bestehende Komorbidität übersehen werden kann.

Die bisher umfangreichste Studie zur Prävalenz der Enuresis stammt von Byrd et al. aus dem Jahre 1996. In einer Querschnittsstudie in den USA wurden 10960 Kinder im Alter von 5 bis 17 Jahren eingeschlossen¹⁴¹. Sechzehn % aller 5 Jahre alten Kinder litten an einer Enuresis nocturna wenn eine Frequenz von 104 oder mehr Episoden pro Jahr zugrunde gelegt wurden. Die Prävalenz im Alter von 15 Jahren betrug noch etwa 1 %. In dieser Studie waren Knaben signifikant häufiger betroffen. Aus diesen Daten ergab sich eine Abnahme der Prävalenz von ca. 15 % pro Jahr. In der Studie von Yeung et al. wurden 8534 (3996 Männer und 4538 Frauen) Personen im Alter von 16 bis 40 Jahren untersucht; es ergab sich eine Rate von 1,9 % von Erwachsenen, die an einer PEN litten¹⁴².

Trotz der guten Prognose stellt sich bereits im Schulkindalter die Frage nach der Behandlung der PEN, da diese mit einer signifikanten Reduktion des Selbstwertgefühls einhergeht, welches durch eine erfolgreiche Behandlung normalisiert werden kann¹⁴³⁻¹⁴⁶.

In prospektiven, randomisierten kontrollierten Studien haben sich drei Verfahren zur Therapie der PEN als effektiv herausgestellt. Die apparative Verhaltenstherapie (AVT) mittels einer Klingelmatte oder Klingelhose, dDAVP (s.o.) und trizyklische Antidepressiva (TCA), vor allem Imipramin. Bei allen Verfahren liegt die Erfolgsrate bei 40-80 %, wenn eine Reduktion der enuretischen Episoden um 50 % zugrunde gelegt wird. Während TCA und dDAVP als

symptomatische Therapien gelten, bei denen nach Absetzen der Therapie die PEN wieder auftritt, gibt es Berichte, dass die Rückfallquote nach der AVT geringer sein soll¹⁴⁷⁻¹⁵⁰.

Bedingt durch die verschiedenen Fachdisziplinen wie Pädiatrie, Kinderurologie, Kinderpsychiatrie, die an der Diagnostik und Therapie der PEN beteiligt sind, haben sich verschiedene Hypothesen zur Ätiologie und Wirkungsweise der entsprechenden Therapieoptionen gebildet¹⁵¹⁻¹⁵³.

1989 berichteten Rittig et al., dass im Unterschied zu gesunden Kontrollen bei Kindern mit PEN kein adäquater Anstieg der ADH-Sekretion während der Nacht beobachtet werden konnte, einhergehend mit einer niedrigeren Urinosmolalität¹⁵⁴. Daher lag die Hypothese nahe, dass die PEN durch einen relativen nächtlichen ADH-Mangel verursacht wird. Somit wurde die dDAVP-Therapie, die bereits einige Jahre früher in die Therapie der Enuresis eingeführt worden war, mit einer Hypothese unterlegt¹⁵⁵⁻¹⁵⁹. Die Effektivität der dDAVP-Behandlung liegt etwa bei 50-80%, wenn mindestens eine Halbierung der enuretischen Episoden zugrunde gelegt wird^{155;157;158;160-164}. Für diese Indikation steht sowohl eine nasale (10 - 40 µg) als auch eine orale Applikation (200 – 400 µg) zur Verfügung¹⁶⁵. dDAVP gilt als Medikament mit geringen und wenigen Nebenwirkungen, es wurden jedoch auch Fälle von hyponatriämischer Hypervolämie mit Krampfanfällen berichtet¹⁶⁶⁻¹⁷³.

Im Gegensatz zu der Studie von Rittig et al. wiesen Eggert und Kühn in einer kontrollierten Studie signifikant höhere nächtliche ADH-Plasmaspiegel bei Enuretikern nach. Kein Unterschied bestand in der Plasmaosmolalität¹⁷⁴. Aikawa et al. berichteten über unterschiedliche ADH-Profile bei 9 Kindern mit Enuresis im Vergleich zu 8 Kindern ohne Enuresis¹⁷⁵. Kinder mit Enuresis hatten demnach eine geringere ADH-Sekretion, wenn diese auf 24 Stunden bezogen wurde. Die Daten wurden aber weder auf Körpergewicht noch auf Körperoberfläche der Kinder bezogen, noch wurde die aufgenommene Flüssigkeitsmenge protokolliert. Läckgren et al. konnten an 25 Enuretikern keinen Unterschied in der Tag/Nacht Ratio der ADH-Plasmaspiegel im Vergleich zu 20 gesunden Kontrollkindern finden¹⁷⁶. Zum gleichen Ergebnis kam auch eine Studie von Nevés et al.. Steffens et al. wiederum fanden einen signifikanten Unterschied zwischen Enuretikern und gesunden Kontrollpersonen bezüglich der nächtlichen ADH-Plasmaspiegel¹⁷⁷. Ein Vergleich der Osmolalitäten im Morgenurin von 144 Enuretikern und 1453 Kontrollen konnte keine Unterschiede aufzeigen¹⁷⁸. Die Plasmaosmolalität, welche die eigentliche Stellgröße in diesem Regelkreis darstellt, wird jedoch in kaum einer Studie berücksichtigt¹⁷⁹.

Neben der inadäquaten nächtlichen ADH-Sekretion wurde auch die Hypothese der Hyperkalziurie als Ursache der PEN entwickelt. Pace et al. berichteten über 21 Patienten aus

einem Kollektiv von 406 Kindern (5,1 %) mit PEN, die eine erhöhte Ca^{2+} -Ausscheidung aufwiesen⁸⁴. Die gleiche Arbeitsgruppe stellte an einer kleinen Fallzahl eine erhöhte Ausscheidung von AQP-2 bei Kindern mit PEN fest, mit und ohne gleichzeitig bestehender Hyperkalziurie¹⁸⁰. Im Folgenden fanden die Autoren, dass eine Ca^{2+} -reduzierte Diät (500 mg pro Tag) zu einer Reduktion der AQP-2-Exkretion führt und die enuretischen Episoden reduziert¹⁸¹. In einer weiteren multizentrischen Untersuchung wird eine Prävalenz der nächtlichen Hyperkalziurie von 39,7% bei einem Gesamtkollektiv von 450 Patienten mit PEN berichtet¹⁸². Innerhalb der Gruppe von Patienten mit Hyperkalziurie fanden sich eine signifikante Erniedrigung der nächtlichen ADH-Spiegel ($p = 0,003$). Im Gegensatz dazu konnten Nevés et al. keine erhöhte Ca^{2+} -Ausscheidung nachweisen¹⁸³.

Seit Jahrzehnten wird ein genetischer Einfluss bei der PEN vermutet¹⁸⁴⁻¹⁸⁶. In etwa der Hälfte der betroffenen Kinder litt anamnestisch auch ein Elternteil an einer Enuresis nocturna. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Nachkommen an einer Enuresis nocturna leiden, ermittelte Barwin auf 43 % wenn der Vater betroffen war und auf 44 % wenn die Mutter betroffen war¹⁸⁷. In einer Untersuchung an Zwillingen konnte Hallgren zeigen, dass 21 von 30 monozygoten Zwillingspaaren konkordant für die Enuresis nocturna waren, während 9 von 30 monozygoten Zwillingspaaren sowie alle 10 dizygoten Zwillingspaare diskordant waren¹⁸⁸. Eine eigene Studie zeigte, dass die Diskordanz bei monozygoten Zwillingen auch in einer Familie auftrat, in der drei Generationen an PEN litten¹⁸⁹.

Mehrere Studien haben in den letzten Jahren mittels Kopplungsanalysen versucht, chromosomale Kandidatenregionen zu identifizieren. Wie bereits oben erläutert, stellt die PEN möglicherweise einen Pool von Erkrankungen verschiedener Ätiologien dar. Somit besteht auch die Möglichkeit einer genetischen Heterogenität. Daher wurden bevorzugt wenige, große Familien untersucht bei denen die Enuresis nocturna formal genetisch dominant mit einer hohen Penetranz vererbt worden war. Eiberg et al. konnten 1995 mit einer Kopplungsanalyse an 5 dänischen Multiplex-Familien (Familien mit mehr als einem Betroffenen) eine Region auf Chromosom 13q13-q14.3 ermitteln¹⁹⁰. Der LOD-Score (logarithm of odds; ein LOD-Score ≥ 3 entspricht einem Signifikanzniveau von $p < 0,01$) betrug 3,55¹⁹⁰. In einer darauf folgenden Studie von Arnell et al. wurden 16 Multiplex-Familien untersucht¹⁹¹. Eine genomweite Kopplungsanalyse erbrachte keinen signifikanten LOD-Score. Jedoch beschrieben die Autoren dieser Studie einen LOD-Score von 4,2 für den Locus um den Mikrosatellitenmarker D12S80 auf Chromosom 12, wenn 6 Familien separat analysiert wurden. Da dieses Vorgehen jedoch nichts anderes bedeutet als die nachträgliche

Elimination von ‚unpassenden‘ Werten, können diese Ergebnisse nicht als valide betrachtet werden. Ein Locus auf Chromosom 22q11 wurde 1998 von Eiberg durch die Analyse einer großen Multiplexfamilie eingegrenzt¹⁹². Weiterhin wurde ebenfalls von Eiberg eine Region auf Chromosom 8q beschrieben. Von Gontard et al. berichten über 14 von 35 Familien, bei denen eine Kopplung mit der oben beschriebenen Region auf Chromosom 22 nicht ausgeschlossen werden konnte¹⁹³. In diese Studie wurden jedoch auch Kinder eingeschlossen, die andere Formen des Einnässens zeigten (sekundäre Enuresis nocturna, Tagessymptomatik). Neben der Kopplungsanalyse wurde auch in mehreren Untersuchungen die Kandidatengenanalyse benutzt, um Genprodukte, die aufgrund ihrer Funktion oder Expressionsmusters bei der PEN eine Rolle spielen könnten, zu identifizieren. Solche Kandidatengene, wie beispielsweise AQP-2 und AVP-Neurophysin II konnten jedoch ausgeschlossen werden^{190;194}.

Zusammenfassend konnte bisher trotz der beschriebenen Loci und der Komplettierung des Humanen Genom Projektes kein Gen isoliert werden, welches eine Rolle in der Ätiologie der PEN spielt. Mehrere Loci auf verschiedenen Chromosomen wurden zwar beschrieben, konnten aber meist von anderen Arbeitsgruppen nicht oder nur teilweise bestätigt werden^{195;196}.

Ziel vorliegender Arbeit

Wie oben dargelegt, gehören die idiopathische Hyperkalziurie und die primäre Enuresis nocturna zu Erkrankungen mit klinischer und biochemischer Variabilität. Ausserdem ist der Verlauf während der Entwicklung des Kindes oftmals nicht vorhersagbar. Die Ätiologie beider Erkrankungen konnte bisher nicht umfassend geklärt werden, was zu der Vermutung geführt hat, dass es sich sowohl bei der idiopathischen Hyperkalziurie wie auch bei der PEN um eine Gruppe unterschiedlicher Ätiologien handelt. Aufgrund dieser anzunehmenden Heterogenität wurde in vorliegender Arbeit ausschliesslich ein spezifischer Teilaspekt -die Rolle epithelialer Transportsysteme- in der Pathogenese beider Erkrankungen untersucht.

Nachfolgend werden die Ergebnisse zu den in der Einleitung formulierten Fragestellungen in Form der entsprechenden Veröffentlichungen vorgelegt.

Grundlage für die Studien über die idiopathische Hyperkalziurie waren Arbeiten, die während eines Aufenthaltes (1999-2001) in der Abteilung für Zellphysiologie an der Universität Nijmegen /Niederlande (ehem. Direktor: Prof. Dr. C. H. van Os) entstanden. Ausgehend von der Identifizierung und Charakterisierung des humanen Ca²⁺-Kanals ECaC1/TRPV5 wurde

ein eigenes Patientenkollektiv mit Hyperkalziurie auf Mutationen in diesem und weiteren Kandidatengenomen hin untersucht. Ausgangspunkt für die Arbeiten zur primären Enuresis nocturna waren eigene klinische Studien zur H₂O-Regulation und zur Pharmakotherapie bei betroffenen Kindern. Die molekulargenetischen Untersuchungen wurden ebenfalls in Nijmegen durchgeführt.

Alle klinischen Studien vorliegender Arbeit wurden entsprechend den gegenwärtigen Qualitätsanforderungen prospektiv und kontrolliert durchgeführt.

Teile dieser Arbeit wurden gefördert durch den Stifterverband für die deutsche Wissenschaft und die Deutsche Forschungsgemeinschaft. Darüber hinaus wurden die Arbeiten ausgezeichnet durch die Deutsche Gesellschaft für Kinderheilkunde (DGKJ, Abstract-Preis 2001), durch die Arbeitsgemeinschaft für pädiatrische Nephrologie (APN, Else Kröner Fresenius-Preis, 2002) sowie anlässlich der jährlichen Arbeitstagung für pädiatrische Forschung (Friedrich Linneweh-Preis, 2001). Eine weitere Auszeichnung für die Arbeit auf dem Gebiet der zentralnervösen Genese der PEN wurde von der DGKJ (1. Posterpreis, 2003) zuerkannt.