

Diskussion

Die Ergebnisse der in dieser Arbeit vorgelegten Studien werden nachfolgend diskutiert und zusammengefasst. Untersucht wurde die Rolle epithelialer Transportsysteme bei zwei häufigen pädiatrischen Krankheitsbildern, der idiopathischen Hyperkalziurie und der primären Enuresis nocturna. Die Resultate der Untersuchungen zu beiden Erkrankungen werden getrennt diskutiert.

Idiopathische Hyperkalziurie

TRPV5 / TRPV6

TRPV5 und TRPV6 gehören, ebenso wie TRPM6 und TRPM7, zur Superfamilie der TRP (,transient receptor potential')-Kanäle. Die ersten Mitglieder dieser Familie wurden durch Untersuchungen bei der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* identifiziert. Mutationen verursachen bei *D. melanogaster* Veränderungen im visuellen System, da der Ca^{2+} -Influx in die Photorezeptoren gestört ist⁵⁶. TRP-Kanäle besitzen sechs transmembrane Domänen und ein zytoplasmatisches C- und N-terminales Ende und unterscheiden sich in ihren regulatorischen Domänen. Von einigen wird angenommen, dass vier Einzelmoleküle einen funktionsfähigen Ca^{2+} -Kanal bilden (Homotetramerisierung)⁵⁴. Die Gewebsverteilung und die Funktionen der TRP-Proteine sind vielfältig. TRP-Proteine fungieren unter anderem als Tastrezeptoren und Sensoren für osmotische Stimuli⁵⁶. Auch die Polyzystine gehören zur TRP-Familie, Mutationen in den korrespondierenden Genen verursachen eine Form der hereditären polyzystischen Nierendegeneration¹⁹⁷.

Durch die Klonierung der epithelialen Ca^{2+} -Kanäle TRPV5 und TRPV6 konnte die molekulare Identität des apikalen Eintrittsmechanismus in $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -responsiven Epithelien aufgeklärt werden^{53;54}. Die Identifizierung von TRPV5 erfolgte initial aus der Kaninchenniere, später wurde auch die intestinale Expression beschrieben¹⁹⁸. Trotz der großen Homologie zum zeitlich später klonierten TRPV6 legen Expressions- und Regulationsstudien aber nahe, dass beide Kanäle unterschiedliche Funktionen besitzen. Die Hauptfunktion von TRPV5 besteht in der Ca^{2+} -Resorption im DCT, die von TRPV6 in der Ca^{2+} -Resorption in Duodenum und Colon¹⁹⁹. Die Gene, die für TRPV5 und TRPV6 kodieren, liegen beim Menschen benachbart auf Chromosom 7q35, und sind vermutlich durch Genduplikation entstanden⁵⁵. Splicevarianten beider Kanäle wurden bisher nicht beschrieben. Mehrere intrazelluläre Adapterproteine, die einen Einfluss auf die Funktion von TRPV5 und TRPV6 haben, wurden identifiziert²⁰⁰⁻²⁰². Unklar bleibt zunächst die physiologische Funktion der möglichen Heterotetramerisierung von TRPV5 und TRPV6²⁰³. So zeigt der Phänotyp der

TRPV5-Knockout-Maus, dass dieser Kanal nicht redundant ist, da TRPV6 einen völligen Verlust der TRPV5-Funktion nicht kompensieren kann. TRPV5-Knock out Mäuse zeigen eine renale Hyperkalziurie, eine verminderte Knochendichte und eine kompensatorisch erhöhte intestinale Ca^{2+} -Absorption²⁰⁴. Die hohe Selektivität für Ca^{2+} , der in die Zelle gerichtete Ca^{2+} -Strom unter physiologischen Spannungsverhältnissen und die Regulation durch intrazelluläres Ca^{2+} und Calcitriol, die in dieser Arbeit demonstriert wurde, unterstreicht die zentrale Rolle im regulierten renalen transzellulären Ca^{2+} -Transport²⁰⁵⁻²⁰⁷ [Hoenderop et al., Seite 24, Hoenderop et al, Seite 33]. Aufgrund dieser Charakteristika stellt TRPV5 ein Kandidatengen für die idiopathische Hyperkalziurie dar.

In vorliegender Arbeit wurde die humane TRPV5-Variante erstmalig elektrophysiologisch charakterisiert [Müller et al., Seite 49]. Trotz der Unterschiede in der Region, die vermutlich die Pore der Kanals bildet (eine hydrophobe Region zwischen den transmembranen Domänen 5 und 6), unterschieden sich die elektrophysiologischen Daten nicht signifikant zwischen Mensch, Maus und Kaninchen^{208;209} [Müller et al., Seite 49].

Neun Familien wurden untersucht, in denen formalgenetisch die Hyperkalziurie autosomal dominant vererbt wurde. Außer der Ca^{2+} -Exkretion unterschieden sich die biochemischen Parameter der Patienten (Blutgasanalyse, PTH, Calcitriol) nicht von denen nicht betroffener Familienmitglieder. Bei diesen Patienten wurde zunächst die von Reed et al. identifizierte Region auf Chromosom 1q23.3-q24 durch Haplotypanalyse ausgeschlossen⁹⁸.

Die Mutationsanalyse aller 15 bisher bekannten Exons und ca. 3000 bp der 5'-untranslatierten Region von TRPV5 der Patienten erbrachte keine Unterschiede im Vergleich zu Kontrollen. Da dieses Patientenkollektiv als repräsentativ für die idiopathische Hyperkalziurie anzusehen ist, kann geschlossen werden, dass Mutationen im TRPV5-Gen nicht die Ursache der idiopathischen Hyperkalziurie bei diesen Patienten darstellen [Müller et al., Seite 49].

Endgültig kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass TRPV5 eine Rolle bei der idiopathischen Hyperkalziurie zukommt, da diese Erkrankung als heterogen gilt und weitere, größere Patientenkollektive untersucht werden müssen. Zukünftige Forschung muss außerdem die Rolle von TRPV6 und der intrazellulären Adapterproteine evaluieren^{200-202;210}.

Claudin-16

Claudin-16 gehört einer Familie von Tight Junction-Proteinen, die aus mindestens 22 Mitgliedern besteht. Claudine besitzen 4 transmembrane Domänen und einen zytosolischen C- und N-terminalen Anteil und kommen in vielen epithelialen Geweben vor²¹¹. Mutationen im CLDN-14-Gen führen sowohl beim Menschen als auch bei der Maus zu einer Form der hereditären Taubheit²³. In der Niere werden Claudine in verschiedenen Segmenten des

Tubulus und in Abhängigkeit von der Entwicklung des Organismus differentiell exprimiert²¹²⁻²¹⁴.

CLDN-16-Mutationen führen zur familiären Hypomagnesiämie mit Hyperkalziurie und Nephrokalzinose (FHHNC)²⁵. Etwa ein Drittel der Patienten mit FHHNC hat zum Zeitpunkt der Diagnose eine terminale Niereninsuffizienz. Ein weiteres Drittel der Patienten hat eine eingeschränkte glomeruläre Filtrationsrate (GFR)^{25;65;215;216}. Da Patienten mit FHHNC renale Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Verluste aufweisen wurde postuliert, dass CLDN-16 innerhalb der TJ parazelluläre Ca^{2+} - und Mg^{2+} - permeable Ionenkanäle bilden kann. Die Theorie, dass Claudine solche substratspezifischen Kanäle formen, wurde durch mehrere Untersuchungen unterstützt, die demonstrieren, dass sich durch unterschiedliche Expression von CLDN-2, -4 und -8 der parazelluläre Ionentransport spezifisch verändert²¹⁷⁻²²¹. Die Expression der Claudine entlang des Tubulussystems sowie deren Ionenselektivität, legen nahe, dass auch die Regulation der renalen Claudine spezifisch, z. B. durch diätätische Mg^{2+} -Supplementation verändert werden kann, Studien darüber existieren bisher nicht.

Am Carboxy-terminalen Ende von CLDN-16 befindet sich eine Aminosäuresequenz, die als PDZ-Motiv bezeichnet wird²²². Die Bezeichnung dieser Sequenz, die klassischerweise aus drei Aminosäuren besteht (Varianten sind bekannt), entstammt den Proteinen, die als Interaktionspartner von PDZ-Motif-tragenden Molekülen identifiziert wurden: PSD-95, Discs-Large und ZO-1²²². Dieses Motiv ist nicht spezifisch für Claudine, sondern kommt in vielen membranständigen Proteinen vor, wie zum Beispiel dem Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR), einem Cl^- Kanal, dessen Funktionsverlust zur Cystischen Fibrose führt²²³. Über das PDZ-Motif interagieren die korrespondierenden Transportmoleküle mit intrazellulären Proteinen (Adapterproteine, auch *scaffolding proteins*). Diese Proteine besitzen eine mit dem PDZ-Motiv interagierende Sequenz (PDZ-Domäne)²²⁴. Die Interaktion zwischen PDZ-Motiv und PDZ-Domäne führt zu einem gerichteten Transport aber auch zu einer Stabilisierung des membrangebundenen Proteins²²². Da die intrazellulären Adaptorproteine mehrere PDZ-Domänen besitzen, wurde postuliert, dass ein Adaptorprotein mehrere Membranproteine „zusammenhält“²²². Für diese Hypothese spricht, dass die Elimination des PDZ-Motifs im CFTR zu einem Fehl-Transport des Proteins an die basolaterale Membran führt^{225;226}. Für mehrere Claudine konnte eine Interaktion mit ZO-1 und anderen intrazellulären Proteinen, die PDZ-Domänen aufweisen, nachgewiesen werden^{219;227}.

In vorliegender Arbeit konnte ZO-1 als endogener Ligand von CLDN-16 identifiziert werden, ZO-2 und ZO-3 wurden ausgeschlossen [Müller et al., Seite 57]. Umgekehrt kann vermutet

werden, dass Veränderungen in ZO-1 sowie in anderen spezifischen intrazellulären (zytoplasmatischen) Adapterproteinen auch die Lokalisation und damit die Funktion von CLDN-16, aber auch anderen PDZ-Motiv-tragenden membranständigen Transportproteinen beeinflussen können.

Der, im Vergleich zu anderen Patienten mit FHHNC milde Phänotyp der hier beschriebenen Patienten, lässt sich somit durch die fehlende Interaktion zwischen der CLDN-16-T233R Mutante und ZO-1 erklären. CLDN-16-T233R kann zwar einen funktionsfähigen Ionenkanal bilden, die Verweilzeit des Moleküls an der Plasmamembran ist jedoch reduziert und kann offenbar nicht durch eine erhöhte Transkriptionsrate oder Translationsrate kompensiert werden.

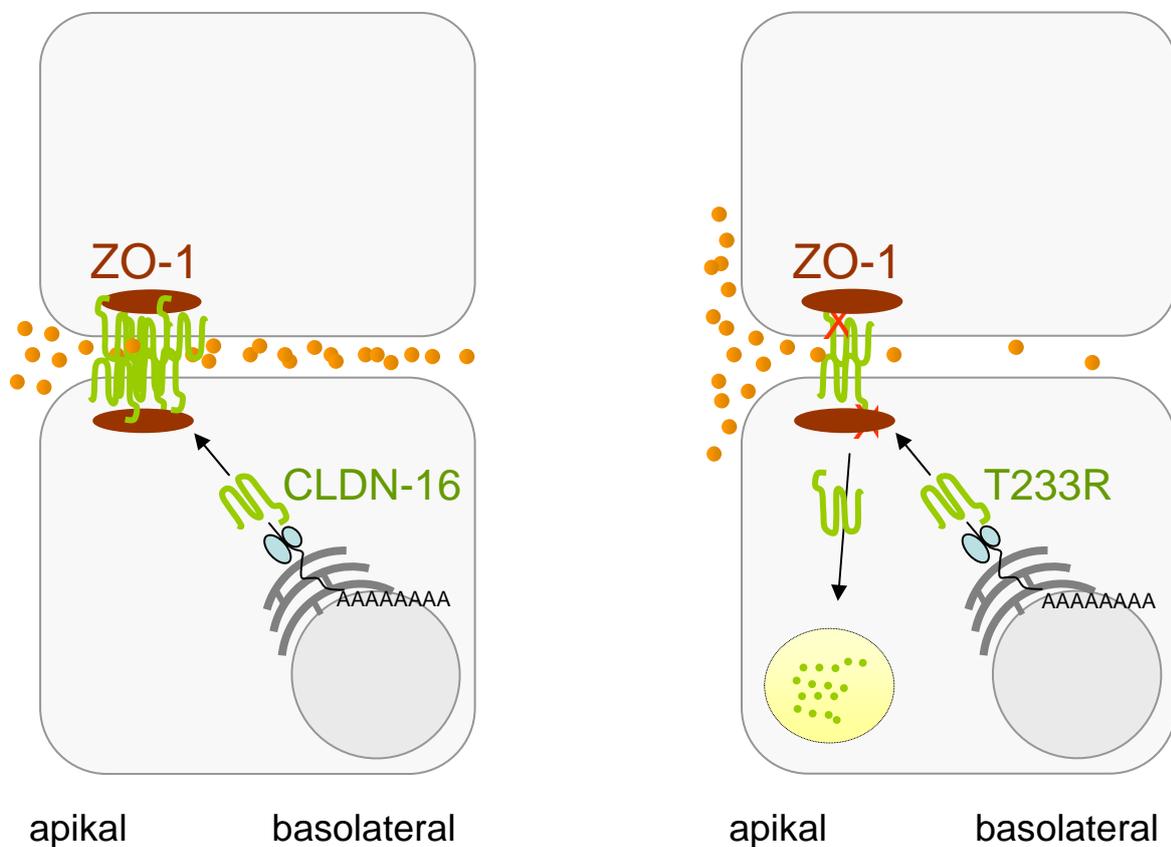


Abbildung 8: Schematische Darstellung zur Erklärung des CLDN-16-T233R Phänotyps. Links dargestellt der normale Transport von CLDN-16 zur Tight Junction. Dort formt CLDN-16 zusammen mit dem gegenüberliegenden CLDN-16 einen Ionenkanal. Rechts: Durch Verlust der Interaktion CLDN-16-T233R und ZO-1 ist die Zeit, in der T233R an der Membran verbleibt, reduziert. Durch die CLDN-16-T233R Mutante können zwar funktionsfähige Ionenkanäle formiert werden, insgesamt stehen jedoch weniger Moleküle zu Verfügung, die funktionell defekten CLDN-16-T233R Moleküle werden in die Lysosomen abtransportiert und dort degradiert.

Bei den betroffenen Mitgliedern beider Familien konnte eine Hyperkalziurie festgestellt werden, diese war jedoch altersabhängig, je jünger die Kinder waren, umso höher war die renale Ca^{2+} -Exkretion. Mit dem Erwachsenenalter erreichte die Ca^{2+} -Ausscheidung wieder Normalwerte. Die bei allen Kindern initial nachweisbare Nephrokalzinose zeigte im Verlauf der Entwicklung keine Progression. Alle Betroffenen wiesen eine gering erhöhte renale Mg^{2+} -Ausscheidung auf, die korrespondierenden Plasmakonzentrationen lagen am unteren Ende der Norm. Die Mg^{2+} -Ausscheidung änderte sich nicht während des Beobachtungszeitraumes. Zwar kann bei Patienten mit FHHNC im Verlauf der Erkrankung eine Verminderung der renalen Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Ausscheidung beobachtet werden, diese ist aber mit einer Reduktion der GFR verbunden. Bei den beiden Familien, die hier untersucht wurden, lag jedoch eine Verminderung der renalen Ca^{2+} -Exkretion ohne gleichzeitig bestehende Reduktion der GFR vor^{25;65;105;228;229}.

Die Reduktion der renalen Ca^{2+} -Exkretion bei unveränderter Mg^{2+} -Ausscheidung kann nicht unmittelbar durch die Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Permeabilität von CLDN-16 erklärt werden. Zwar ist die renale Ausscheidung von Ca^{2+} bei jüngeren Kindern höher als bei älteren Kindern, diese Beobachtung legt jedoch nahe, dass die Mg^{2+} -Resorption nicht direkt mit der Ca^{2+} -Resorption gekoppelt ist. Daraus ergibt sich, dass auch CLDN-16 ausschließlich Mg^{2+} transportiert, während die Ca^{2+} -Resorption sekundär erfolgt. Vergleichbar ist diese Konstellation mit der familiären Hypomagnesiämie mit sekundärer Hypokalziämie¹¹⁵. Der vorgeschlagene Pathomechanismus kann damit den milden Phänotyp erklären und gleichzeitig die Hypothese der sekundären Hyperkalziurie unterstützen. Somit können die beiden hier beschriebenen Familien jetzt als Untergruppe der FHHNC identifiziert werden und nicht als Patienten mit familiärer idiopathischer Hyperkalziurie.

Primäre Enuresis nocturna

Durch die Beteiligung verschiedener Fachrichtungen an Diagnostik und Therapie der PEN wurden auch unterschiedliche Hypothesen zur Ätiologie entwickelt und auf deren Basis der Erfolg verschiedener Therapieoptionen begründet. Die Behandlung der PEN mit dDAVP basiert auf dessen antidiuretischer Wirkung und auf Berichten, nach denen Kinder mit PEN einen inadäquaten nächtlichen Anstieg des endogenen ADH aufweisen^{154;177;230}. Allerdings lässt diese Hypothese die Besonderheit der PEN unbeachtet, dass das Einnässen den Schlaf nicht unterbricht; die Betroffenen werden weder vor, während, noch nach dem Einnässen wach. Diese Charakteristik unterscheidet die Enuresis von der Inkontinenz. Somit erklärt die

Hypothese einer inadäquaten ADH-Sekretion eine erhöhte nächtliche Urinproduktion, zu folgern wäre aber, dass daraus eine Nykturie entsteht, nicht jedoch eine PEN.

Diese Kritik war Grundlage, die Rolle des renalen AQP-2/V2R Systems bei der PEN zu evaluieren. In engem thematischen Zusammenhang damit und zu den Studien renaler Ca^{2+} -Homöostase wurden auch Berichte überprüft, die der Hyperkalziurie eine zentrale Rolle bei der Genese der PEN zuschreiben.

Hyperkalziurie und Enuresis

Aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit muss Berichten widersprochen werden, nach denen eine erhöhte renale Ca^{2+} -Ausscheidung ursächlich für die PEN ist. Bei der beschriebenen Familie A litten alle Patienten, die eine Mutation im Gen für CLDN-16 aufwiesen, auch an einer PEN. Die Verwendung von dDAVP führte zum sofortigen Sistieren der PEN bei unveränderter renaler Ca^{2+} -Ausscheidung [Müller et al., Seite 67].

Eine Erklärung hierfür liegt in der Ko-Segregation zweier vererbbarer Erkrankungen, der autosomal-rezessiv übertragenen FHHNC und der vermutlich autosomal-dominant übertragenen PEN. Gleiches trifft wahrscheinlich auch für die Untersuchungen zu, die über eine hohe Inzidenz der Hyperkalziurie bei Kindern PEN berichten¹⁸². Beide Störungen sind im Kindesalter häufig, die Hyperkalziurie ist die häufigste Ursache der postglomerulären Hämaturie im Kleinkind- und Schulkindalter und eine bekannte Ursache des ‚frequent-voiding-dysuria-syndrome‘^{69;231}. Allerdings schließt die Diagnose PEN solche organischen Ursachen aus.

Auch die Ergebnisse der eigenen Untersuchung zur Pharmakotherapie der PEN mit dDAVP sprechen gegen die Hyperkalziurie als Ursache der PEN. Denn wie hier gezeigt wurde, führt die Applikation von dDAVP zu einer vermehrten renalen Ca^{2+} -Ausscheidung [Müller et al., Seite 67]. Träfe die Hypothese der Hyperkalziurie als Ursache der PEN zu, so wäre unter dDAVP keine Besserung erwarten, da sich während der Behandlung die Ca^{2+} -Exkretion erhöht. Ungeklärt bleibt die molekulare Grundlage der erhöhten Ca^{2+} -Ausscheidung. In primären Kulturen von Kaninchen DCT-Zellen konnte ein umgekehrter Effekt, eine erhöhte Ca^{2+} -Resorption nach Inkubation mit dDAVP, beobachtet werden²³².

Obwohl bei keinem der behandelten Patienten die Ca^{2+} -Ausscheidung unter dDAVP-Therapie pathologische Werte erreichte, muss die dDAVP-Langzeitbehandlung insbesondere von Kindern kritisch betrachtet werden.

Flüssigkeitsregulation

Eine eigene Arbeit zur Dosis-Wirkungs-Beziehung von dDAVP bei der Behandlung der PEN zeigte, dass die Wirkung von dDAVP einer Sättigungscharakteristik unterliegt; weitere

Steigerungen der Dosierung haben keinen Einfluss mehr auf den Therapieerfolg²³³. Ebenso zeigen Studien zur Langzeitbehandlung von Kindern mit PEN, dass die Dosierung im Verlauf der Behandlung nicht erhöht werden muss²³⁴. Diese Charakteristik kann aber nicht erklären, warum bei maximaler Dosierung immer noch etwa ein Drittel der Kinder mit PEN als Non-Responder gilt²³⁵⁻²³⁸.

Um diesen Widerspruch zu erklären, können zwei Hypothesen angeführt werden. Erstens könnte bei den Kindern, die nicht auf dDAVP ansprechen, ein Defekt der H₂O-Regulation vorliegen, der durch die Behandlung mit dDAVP nicht kompensiert werden kann. Somit wäre zu erwarten, dass dDAVP Non-Responder, ähnlich den Patienten mit Diabetes Insipidus, eine erniedrigte Plasmaosmolalität aufweisen, die sich aber auf die Nacht beschränkt. In der Literatur finden sich aber gegenteilige Berichte: so sollen Kinder mit relativer nächtlicher Polyurie eher auf dDAVP ansprechen als Kinder, bei denen dies nicht der Fall ist. Eine verminderte nächtliche ADH-Sekretion wurde bei einigen Kindern mit PEN beschrieben und als Erklärung der nächtlichen Polyurie herangezogen. Allerdings stellte bereits Vulliamy 1956 fest, dass Kinder mit PEN durchschnittlich nachts nicht mehr Urin produzieren als altersentsprechende Kontrollpersonen. Die Gesamtmenge an Urin innerhalb von 24 Stunden ist ebenfalls gleich²³⁹.

Gegen eine ausschließlich pharmakologische Manipulation der renalen Konzentrationsfähigkeit spricht auch die dDAVP-Dosierung bei der PEN. Diese liegt im Bereich der Behandlung des kompletten CDI (20 - 40 µg/Tag). Berücksichtigt man, dass die dDAVP-Dosierung sich bei der PEN nur auf die Nacht bezieht, die bei CNI aber auf 24 Stunden, so liegt die Dosierung mindestens doppelt so hoch. Dies widerspricht der Ansicht, bei der Therapie mit dDAVP handele es sich lediglich um einen nächtlichen Ausgleich eines endogenen ADH-Defizites. Klinische Erfahrungen zeigen auch, dass Dosierungen von 10µg dDAVP nicht zum therapeutischen Erfolg bei der PEN führen, wohl aber beim CDI.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit besteht in der Annahme, dass der therapeutische Erfolg von dDAVP nicht in dessen Wirkung am renalem V₂ Rezeptor begründet liegt. So behandelten Ramsden et al. in einer doppel-blinden, placebo-kontrollierten cross-over Studie 21 adulte PEN-Patienten mit dDAVP. Während sich die Anzahl der enuretischen Episoden signifikant verminderte, bestand kein Unterschied bezüglich der Plasmaosmolalität²⁴⁰.

Aladjem und Mitarbeiter konnten zeigen, dass sich dDAVP-Responder unter der Behandlung nicht signifikant in ihren morgendlichen Urinosmolalitäten von Kontrollpersonen unterschieden und folgerten, dass der Effekt von dDAVP möglicherweise nicht durch dessen antidiuretischen Effekt bedingt sei¹⁵⁶. Außerdem konnte gezeigt werden, dass niedrige

nächtliche ADH-Plasmakonzentrationen mit einen schlechten Ansprechen auf eine dDAVP Therapie assoziiert sind, was ebenfalls der Hypothese einer ‚Substitutionstherapie‘ widerspricht²⁴¹. Auch die Beobachtung, dass die Enuresis bei den betroffenen Kindern im Nachmittagsschlaf auftritt, kann die Hypothese der isolierten nächtlichen inadäquaten ADH-Sekretion nicht unterstützen.

Aus den oben angeführten Überlegungen ergab sich die Notwendigkeit, durch Flüssigkeitsrestriktion die H₂O-Regulation bei Kindern mit PEN im Vergleich zu gesunden Kontrollen zu überprüfen. Die Ergebnisse belegen, dass Kinder mit PEN ihre Plasmaosmolalität (der zu regelnden Größe in diesem Regelkreis) nach Flüssigkeitsentzug konstant halten können [Eggert et al., Seite 71]. Da dieser Flüssigkeitsentzug ein Modell der nächtlichen Situation darstellt, zeigt diese Arbeit, dass der prinzipielle Regelkreis intakt ist und die Plasmaosmolalität, als zu regelnde Größe unverändert bleibt. Da diese Versuche während des Tages durchgeführt wurden, kann daraus auch geschlossen werden, dass nachts ein anderer Mechanismus zur PEN führen muss. Allerdings zeigte sich auch, dass Kinder mit PEN unter Flüssigkeitsrestriktion höhere Plasma-ADH-Spiegel haben als Kontrollpersonen. Die Ursache dieser Befunde ist unklar, legt aber nahe, dass Kinder mit PEN zur Aufrechterhaltung der Plasmaosmolalität höhere ADH-Plasmaspiegel benötigen als gesunde Kinder. Da Mutationsanalysen bei Kindern mit PEN bereits die renal exprimierten Gene wie AQP2 und V2R ausgeschlossen haben, müssen auch zentral exprimierte Kandidatenmoleküle für den humanen Osmorezeptor, wie der `Vanilloid receptor related osmotically activated channel` (VR-OAC oder TRPV4) auf ihre Rolle bei der PEN hin untersucht werden^{196;242-244}.

Zentralnervöse Wirkung von dDAVP

Hier wurde anhand zweier Familien mit PEN und NDI gezeigt, dass dDAVP auch ohne ein funktionierendes V2-Rezeptor/AQP-2 System zur Therapie der PEN erfolgreich eingesetzt werden kann [Müller et al., Seite 76]. Auf zellbiologischer Ebene unterschieden sich die veränderten AQP-2 Proteine nicht von denen anderer bisher publizierter Mutationen [Marr et al., Seite 88]. Daraus folgt, dass dDAVP in der Therapie der PEN nicht durch Manipulation der renalen Konzentrationsfähigkeit wirkt. Bei dieser Untersuchung konnte auch festgestellt werden, dass die Patienten die an beiden Erkrankungen gleichzeitig litten (PEN und NDI), während der dDAVP-Behandlung nun eine Nykturie aufwiesen. Gegen eine indirekte Wirkung von dDAVP (z.B. durch Veränderung der Plasmaosmolalität) spricht das gleichzeitige Vorliegen des NDI, der durch konstant hohe Plasmaosmolalitäten charakterisiert ist. Somit deuten die Ergebnisse auf das Zentralnervensystem (ZNS) als primären Wirkort für

dDAVP bei der Behandlung der PEN hin. Insbesondere der Wandel von PEN zur Nykturie spricht zunächst für eine Veränderung des Arousal-systems oder aber der Schlafarchitektur.

Um diese Hypothese zu bestätigen und die ZNS-Effekte von dDAVP näher zu charakterisieren, wurde das Aufmerksamkeitsvermögen von Kindern mit PEN unter dDAVP getestet [Müller et al., Seite 100]. Die erhobenen Befunde eines erhöhten Kurzzeitgedächtnisses sprechen für eine Wirkung von dDAVP auf das im Hirnstamm lokalisierte Arousal-system, da diese Form des Gedächtnisses - im Gegensatz zu Mittel- und Langzeitgedächtnis- keine Funktion neu gebildeter Synapsen darstellt.

Diese Hypothese findet Unterstützung durch mehrere Studien, die die Wirkung von exogen zugeführtem ADH an erwachsenen Patienten testeten und einen signifikant positiven Effekt auf Gedächtnisfunktionen nachweisen konnten. Weingartner beschrieb einen im Vergleich zur Placebo-behandelten Gruppe positiven Effekt ($p < 0,05$) von ADH (Behandlung über 2 Wochen) auf die Fähigkeit, sich an vorher dargebotene Worte zu erinnern. Außerdem konnten die Probanden, die mit ADH behandelt wurden, besser ($p < 0,05$) semantisch verwandte Worte erinnern. Einen Effekt auf das Langzeitgedächtnis konnte nicht nachgewiesen werden^{245;246}. Auch in anderen Studien konnte die positive Wirkung von ADH, dDAVP und deren Metabolite auf verschiedene Gedächtnisfunktionen nachgewiesen werden²⁴⁶⁻²⁵¹.

In vorliegender Arbeit wurde die Hypothese der zentralnervösen Wirkung von dDAVP bei der Behandlung der PEN bewiesen. DDAVP-behandelte Kinder haben eine deutlich veränderte Weckschwelle als unbehandelte Kinder. Allerdings zeigte diese Studie, dass die behandelten Kinder nicht, wie zu erwarten leichter, sondern schwerer erweckbar waren [Eggert et al., Seite 104]. Diese Ergebnisse legen nahe, dass nicht nur der Effekt von dDAVP auf das Arousal System bei der Behandlung der PEN eine Rolle spielt. Einem einfachen Effekt auf das Arousal-system widersprechen auch Studien, die keine Abhängigkeit der enuretischen Episoden von den Schlafphasen und der Schlaftiefe demonstrieren konnten²⁵²⁻²⁵⁴.

Andererseits berichten verschiedene Studien an Kindern mit PEN über veränderte Reaktionen auf physiologische Stimuli. So konnten Ornitz et al. demonstrieren, dass Knaben mit PEN auf einen ersten akustischen Reiz hin signifikant geringer die Reaktion auf einen zweiten, stärkeren Reiz unterdrücken konnten, als Knaben, die nicht an einer PEN litten^{252;255}. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Fehlverarbeitung auf zentraler Ebene vorliegt.

Die willkürliche Regulation, d.h. die im Verlauf der Entwicklung erlernte Kontrolle über die primitiven Reflexe der Blasenentleerung, deren Verzögerung, bzw. Aufschub hat ihren Ursprung im mehreren, anatomisch unterschiedlichen Regionen des Zentralnervensystems. In

der Pons existieren sowohl Zentren, deren Aktivierung zur Miktion führen (Pontine Micturation Center; PMC, auch *Barrington's area* oder M-region genannt) als auch Zentren, deren Aktivierung zum Aufschub der Miktion führen (Pontine Continenence Center (PCC) oder L-region)^{256;257}. Die Aktivierung des PMC führt zu einem Anstieg des intravesikalen Druckes. Die gleichzeitig notwendige Relaxation des M. sphincter urethrae externus erfolgt durch Projektionen vom PMC zu sakralen inhibitorischen Interneuronen, dadurch erfolgt die Inhibition der sympathischen Neurone. Umgekehrt führt eine Stimulation des PCC zu einer Kontraktion der Beckenbodenmuskulatur²⁵⁸. Durch Studien mit Positronen-Emissions-Tomographie (PET) konnten diese Zentren (PMC und PCC) beim Menschen im Hirnstamm lokalisiert werden, die eingehende funktionelle und molekulare Charakterisierung steht jedoch noch aus²⁵⁹. Afferente Bahnen von Mechanosensoren in der Blasenwand verlaufen zum Rückenmark und von dort in den Hirnstamm. Studien haben gezeigt, dass während der Blasenfüllung eine erhöhte Aktivität im Bereich der periaquäduktalen grauen Substanz (periaqueductal grey; PAG) nachweisbar ist²⁶⁰⁻²⁶². Durch Verbindungen dieses Bereichs zum PMC scheint dieser Region eine wichtige Rolle in der adäquaten Verarbeitung der Information des Blasenfüllungszustandes zuzukommen, speziell dann, wenn der Organismus keine höhere, bewusste Kontrolle (z.B. Schlaf) ausüben kann²⁶³.

Auf diesen Regelkreis haben viele Faktoren modulierende Einflüsse. Obwohl Regionen rostral der Pons nicht essentiell für die Miktion sind, haben funktionelle Studien an Katzen gezeigt, dass durch Stimulation dieser Regionen eine Miktion ausgelöst werden kann, dazu gehören der Gyrus cingulus anterior und die Area preoptica des Hypothalamus²⁶⁴. Die Verbindung zwischen diesen verschiedenen Bereichen sowie die mögliche Manipulation durch dDAVP im Zusammenhang mit der PEN ist bisher nicht untersucht worden.

Über den molekularen Mechanismus der zentralen dDAVP-Wirkung kann zum jetzigen Zeitpunkt nur spekuliert werden. Im Gegensatz zur Ratte, bei der die mRNA des V1-Rezeptors in verschiedenen Arealen des Gehirns nachgewiesen werden konnte, konnte beim Menschen dieser Rezeptor nur in der Neurohypophyse lokalisiert werden. Bei Ratten wird auch der V2-Rezeptor während der Entwicklung zerebral exprimiert, beim Menschen existieren keine vergleichbaren Studien^{265;266}. Dagegen wurde ADH in verschiedenen Hirnregionen nachgewiesen. Mehrere Untersuchungen beschrieben die Funktion von ADH als Neurotransmitter^{249,267;268}.

Nach der Administration von 3[H]-markiertem dDAVP findet sich der überwiegende Anteil der Radioaktivität in Niere und Darm, aber auch zu einem geringen Anteil in der

Adenohypophyse²⁶⁹. In einer eigenen Untersuchung waren etwa 5% der gesamten Aktivität im Gehirn nachweisbar²⁷⁰.

Born et al. konnten bei freiwilligen gesunden Probanden 30 Minuten nach intranasaler Administration ADH im Liquor cerebrospinalis nachweisen²⁷¹. Zum gleichen Abnahmezeitpunkt fand sich im Serum eine deutlich geringere Konzentration. Dies spricht dafür, dass der transnasale Zugang unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke für solche Oligopeptide möglich ist. Tracerstudien in Tieren haben gezeigt, dass Moleküle parazellulär das olfaktorische Epithel überwinden und innerhalb von Minuten im Bereich des Bulbus olfactorius nachweisbar sind^{272;273}. Andererseits führt auch die Therapie mit oral applizierbarem dDAVP zum therapeutischen Erfolg, womit postuliert werden kann, dass dDAVP (oder seine Metabolite) die Blut-Hirn-Schranke überwinden können oder die ihre zentrale Wirkung durch Bindung an periphere Rezeptoren bewirken²⁷⁴.

Zur zentralnervösen dDAVP-Wirkung gibt es weitere indirekte Hinweise. So führt die Behandlung mit dem Antikonvulsivum Valproinsäure (Valproat, VPA) in 1 bis 7 % der behandelten Patienten zum Auftreten einer Enuresis nocturna, die mit dDAVP therapierbar ist²⁷⁵⁻²⁷⁷. Die antikonvulsive Wirkung von VPA basiert unter anderem auf dessen GABA-Inhibition, wodurch generell die synaptische Aktivität vermindert wird. Weiterhin kann durch VPA ein von Willebrand-Syndrom induziert werden^{133;278-281}. Umgekehrt ist der idiopathische Typ I des vW-Syndroms wiederum mit dDAVP therapierbar^{132;134}. Ungeklärt bleibt, warum sich nur bei einem Teil der mit VPA behandelten Patienten eine Enuresis Nocturna, beziehungsweise ein vW-Syndrom ausbildet. Möglicherweise liegen hier Veränderungen in der Rezeptorstruktur der Zielorgane vor, womit auch der Anteil der dDAVP-Non-Responder erklärt werden könnte.

Der Nachweis der zentralen dDAVP-Wirkung kann auch Berichte eines inadäquaten nächtlichen ADH-Anstiegs, trotz widersprüchlicher Untersuchungen, möglicherweise einordnen. Da ADH nicht nur durch seine systemische Wirkung am renalen V2-Rezeptor, sondern auch als Neurotransmitter eine Funktion besitzt, könnten fehlende nächtliche Anstiege der ADH-Sekretion auch zu einem intrazerebralem ADH-Mangel führen, der nicht nur durch dDAVP sondern auch durch Imipramin kompensierbar ist. Diese Erklärung steht im Einklang mit Berichten, die ADH als Modulator neuroendokriner Prozesse und Gedächtnisfunktionen beschreiben.^{250;282-286} Außerdem wurde sowohl für die Therapie mit ADH als auch für die mit Imipramin ein Einfluss auf den REM-Schlaf beschrieben^{284;287}. Ratten mit fehlendem ADH und hereditärem CDI (Brattleboro) zeigen insgesamt eine Reduktion der REM-Schlafphasen um 38%²⁸².

Aus dem Nachweis der zentralnervösen dDAVP-Wirkung bei der Behandlung der PEN resultiert die Hypothese einer zentralnervösen Ursache der PEN selbst. In diese Hypothese lassen sich auch die anderen effektiven Therapieverfahren bei der PEN einfügen. Denn die Wirkung der trizyklischen Antidepressiva oder der apparativen Verhaltenstherapie lassen sich nicht durch einen Effekt auf die in der Literatur postulierte niedrige funktionelle nächtliche Blasenkapazität oder eine nächtliche Polyurie in Einklang bringen. Vielmehr ist bekannt, dass beide Therapieformen eine zentralnervöse Wirkung besitzen, womit o.g. Hypothese unterstützt wird.

Somit liegt bei den Kindern mit PEN keine verminderte nächtliche Blasenkapazität vor, sondern die Miktion erfolgt bei vermindertem Füllungsvolumen, dessen Ursache nicht direkt in einem ‚Arousal-Defekt‘ zu sehen ist, sondern in einer inadäquaten ZNS-Reaktion auf afferente sensorische Informationen während des Schlafs.

Ausblick

Ausgehend von der durch die Ergebnisse dieser Arbeit unterstützten Hypothese einer zentralnervösen Genese der PEN, finden sich die Charakteristika der PEN auch bei anderen Erkrankungen wieder. Die PEN (1) tritt nur im Schlaf auf, (2) betrifft organisch gesunde Kinder, (3) hat eine genetische Komponente, (4) tritt nur in einem bestimmten Abschnitt der Entwicklung auf. Die gleichen Charakteristika finden sich auch beim plötzlichen Kindtod (sudden infant death syndrome, SIDS) und dem damit assoziierten offensichtlich lebensbedrohlichem Ereignis (apparent life threatening event, ALTE), wieder (Tabelle 2)²⁸⁸. Ebenso wie bei der PEN sind organisch gesunde Kinder betroffen und das Ereignis beschränkt sich auf einen bestimmten Abschnitt der Entwicklung. Auch beim SIDS wird eine gestörte zentralnervöse Weckreaktion diskutiert²⁸⁹⁻²⁹².

	PEN	SIDS/ALTE
Aktivitätszustand des Organismus	Schlaf	Schlaf
Auftreten in einem bestimmten Lebensalter	Ja (6.-15. Lebensjahr)	Ja (1.-2. Lebensjahr)
Organische Auffälligkeiten	Nein	Nein
Familiäres Vorkommen	Ja	Ja
Vorhersagemöglichkeit (ohne Indexfälle in der Familie)	Nein	Nein

Tabelle 2: Vergleich der Charakteristika von PEN und SIDS/ALTE, Erläuterung siehe Text.

Ferner bestehen Assoziationen zu anderen Erkrankungen. So weisen mehrere Publikationen darauf hin, dass die Schlafapnoe (obstruktiv oder nicht obstruktiv) mit einer erhöhten Inzidenz der PEN einhergeht^{293;294}. Umgekehrt besteht die PEN nach erfolgreicher Behandlung der Schlafapnoe nicht mehr^{135;295}. Auch das Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (ADHS) ist mit einer erhöhten PEN-Prävalenz assoziiert^{296;297}. Hierbei ist bemerkenswert, dass das ADHS sich klinisch im Wachzustand des Kindes (oder des Erwachsenen) manifestiert, während die ADHS-assoziierte PEN sich nur im Schlafzustand zeigt. Während Familienuntersuchungen demonstrieren, dass ADHS und PEN unterschiedlich vererbt werden, konnten Ornitz et al. bei beiden Störungen eine veränderte ‚pre-pulse-startle-inhibition‘ (siehe oben) demonstrieren^{298;299}. Diese Feststellung erfolgt ungeachtet der Tatsache, dass auch andere Formen der kindlichen Miktionsstörungen (z.B. Dranginkontinenz) häufiger mit ADHS assoziiert sind³⁰⁰.

Zukünftige Studien, die sich mit der molekularen Identität dieses zentralnervösen Kontrollmechanismus beschäftigen, können daher nicht nur die Ursache der PEN, sondern möglicherweise auch die anderer, gleichartiger und assoziierter Erkrankungen aufklären.

