

2. Einleitung, Frage- und Zielstellung der Untersuchungen

Die RALES-Studie (*Randomized Aldactone Evaluation Study*) hat den therapeutischen Nutzen des Aldosteronblockers Spironolaktone bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz belegt ¹. Der theoretische Hintergrund der Untersuchung eines möglicherweise zusätzlichen Effektes der Blockade des Mineralokortikoid-Rezeptors (MR) bei Patienten mit ACE-Hemmer-Therapie ergab sich aus Beobachtungen Anfang der 90er Jahre. Borghi et al. beschrieben unter ACE-Hemmer-Therapie wieder normalisierte Aldosteronspiegel nach einer initialen Suppression der Aldosteronsynthese ². Seit der Veröffentlichung der CONSENSUS-Studie 1990 und der SOLVD-Studie 1991 wurden in der Therapie der Herzinsuffizienz bereits Medikamente eingesetzt, welche die Bildung von Angiotensin II vermindern ^{3,4} und damit auch einen wichtigen Stimulus der Aldosteronsynthese reduzieren. Die Ergebnisse von RALES fordern nicht nur eine zusätzliche therapeutische Intervention, sondern v.a. auch ein neues Verständnis der Regulierung der Synthese des Steroidhormons Aldosteron und seiner physiologischen und pathophysiologischen Auswirkungen.

2.1 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Angiotensin II ist einer der Hauptstimuli der Aldosteronsynthese. Die Synthese vom Angiotensin II wird durch Renin gesteuert, das hauptsächlich in den Granulazellen des juxtaglomerulären Apparates der Niere produziert wird. Bei niedriger Natriumkonzentration, einem Blutdruckabfall oder erniedrigten Angiotensin II-Spiegeln wird Renin vermehrt in den systemischen Kreislauf abgegeben. Renin

spaltet das Dekapeptid Angiotensin I aus dem überwiegend in der Leber gebildeten Angiotensinogen ab. Von Angiotensin I wird durch ACE (*angiotensin-converting-enzyme*) das Oktapeptid Angiotensin II abgespalten. Angiotensin II ist ein wichtiger Vasokonstriktor, ein Mitspieler bei zahlreichen proinflammatorischen und fibrotischen Signalwegen und Stimulus der Aldosteronsynthese in den Nebennieren. Das beschriebene System wird auch das zirkulierende Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) genannt und von einem lokalen RAAS unterschieden. Letzteres ist in der Lage, die Gewebespiegel von Angiotensin II und Aldosteron um ein Vielfaches im Vergleich zu den Plasmaspiegeln anzureichern; beispielsweise ist die Angiotensin II-Konzentration in der Niere tausendfach höher als im Plasma ⁵. Da Teile des Produktions- und Aktivierungsapparates für das RAAS in verschiedenen Organen und Zellverbänden nachgewiesen wurden, geht man davon aus, dass es eine lokale Produktion von Angiotensinogen und Aldosteron gibt, deren Regulation teilweise unabhängig vom zirkulierenden System stattfindet ^{6,7}. Das dafür benötigte Renin wird aus der Zirkulation in das Gewebe aufgenommen ⁸.

Das aktivierte RAAS führt zum entzündlich-fibrotischen Endorganschaden in Herz, Nieren und Gefäßen. Es ist nicht geklärt, welchen direkten Anteil Renin, Angiotensin II und Aldosteron an diesem Endorganschaden haben. So zeigten Pitt et al. in einer kleinen Studie mit 202 Patienten, dass der Aldosteronblocker Eplerenon genauso effektiv bei der Blutdruckkontrolle und der Rückbildung der linksventrikulären Hypertrophie war wie der Angiotensin II-Blocker Enalapril ⁹. Aldosteron allein moduliert neben dem Salz- und Wasserhaushalt die Organfunktion von Herz, Nieren und Gefäßen (**Abb. 1**) ¹⁰.



Abbildung 1: Einfluss von Aldosteron auf verschiedene Funktionen des Organismus

2.2 Aldosteron und sein Rezeptor

Aldosteron wurde 1953 von Simpson und Tait als "amorphe, das Salz im Körper retinierende Substanz" bezeichnet. Aldosteron ist ein Steroid, ein Endprodukt aus dem Cholesterol-Metabolismus und wird hauptsächlich in der Zona glomerulosa der Nebenniere synthetisiert. Die höchste Bindungsaffinität von Aldosteron wurde zum MR beobachtet¹¹. In der Niere wird der MR im distalen Nephron exprimiert. Er reguliert die Aktivität des epithelialen Natriumkanals ENaC, welcher einen wichtigen Ionenkanal für die Homöostase des Wasser- und Elektrolythaushaltes darstellt (**Abb. 2**).

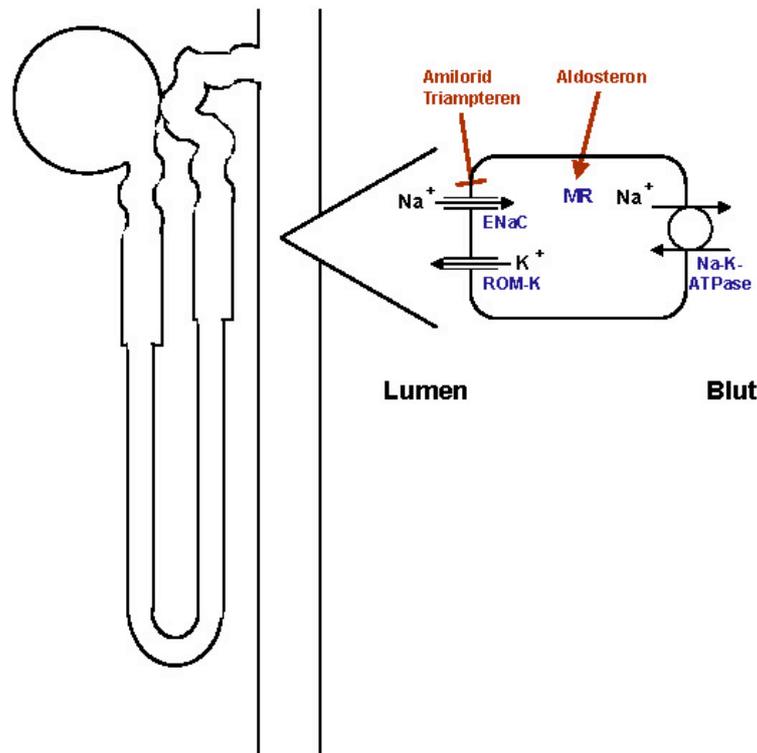


Abbildung 2: Wirkung von Aldosteron im distalen Nephron. Aldosteron bindet an den Mineralokortikoid-Rezeptor (MR) und stimuliert die Synthese des epithelialen Natriumkanals (ENaC). Die ENaC-Funktion kann durch Kalium-sparende Diuretika wie Amilorid und Triamteren blockiert werden. Bei der Natrium-Rückresorption im distalen Nephron sind außerdem der Kalium-Kanal ROM-K und die Na-K-ATPase aktiviert.

Außer in der Niere wird der MR auch in zahlreichen anderen epithelialen Geweben (Schweißdrüsen, Retina, Harnblase und in der rektalen Mukosa), aber auch im nicht-epithelialen Gewebe wie dem Myokard, im Endothel, in den glatten Muskelzellen der Gefäße und im Gehirn exprimiert (zusammengefasst in ¹²). Eine den MR aktivierende Mutation ist an der Entwicklung des Bluthochdrucks beteiligt ¹³. MR-Knockoutmäuse entwickeln einen Pseudohypoaldosteronismus und sterben kurz nach der Geburt am Salzverlustsyndrom ¹⁴. Der Mineralokortikoid-Rezeptor ist ein nukleärer Rezeptor, welcher sich im ungebundenen Zustand im Zytoplasma der Zellen in einem Komplex mit anderen Proteinen befindet. Nach Bindung von Aldosteron beobachtet man die Translokation des Steroid-Rezeptor-Komplexes in

den Zellkern, in dem er die Genexpression moduliert ¹⁵. Die MR-Signaltransduktion hängt auch von der 11beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11 β HSD2) ab, welche die Konzentration von Kortisol, das mit gleicher Affinität wie Aldosteron an den MR binden kann, beeinflusst. Die 11 β HSD2 metabolisiert Kortisol zu 11-Dehydrokortikosteron. Letzteres hat seine Bindungsfähigkeit und damit auch seine Wirkung auf den Mineralokortikoid-Rezeptor verloren (**Abb. 3**).

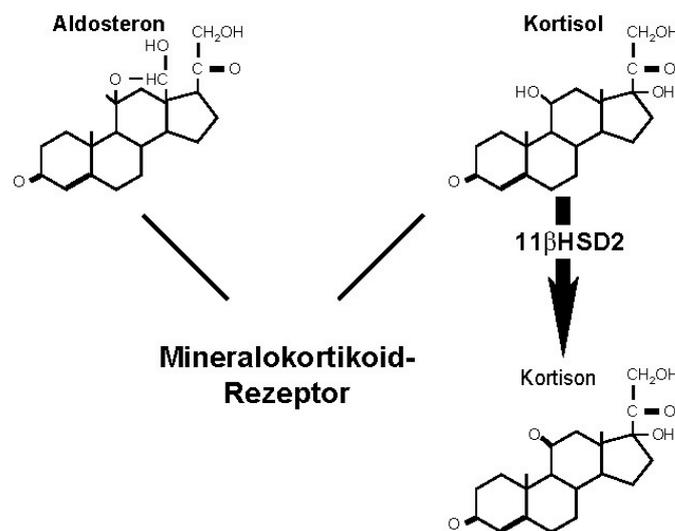


Abbildung 3: Aldosteron und Kortisol konkurrieren um die Bindung an den MR. 11 β HSD2 metabolisiert Kortisol zum am MR inaktiven Kortison.

Die Aldosteronsynthese wird hauptsächlich durch Angiotensin II und Kalium, aber auch durch ACTH und Neurotransmitter stimuliert und findet v.a. in der Nebenniere statt. Aldosteron bindet an den MR. Die Aldosteron-MR-Bindung verursacht akute und chronische Effekte. Letztere werden auch genomische Effekte genannt, da sie über die Synthese von Aldosteron-induzierten Proteinen zustande kommen. Zusätzlich werden kurze, sogenannte nicht-genomische Effekte beobachtet, welche unabhängig von einer DNS-Neusynthese stattfinden (**Abb. 4**).

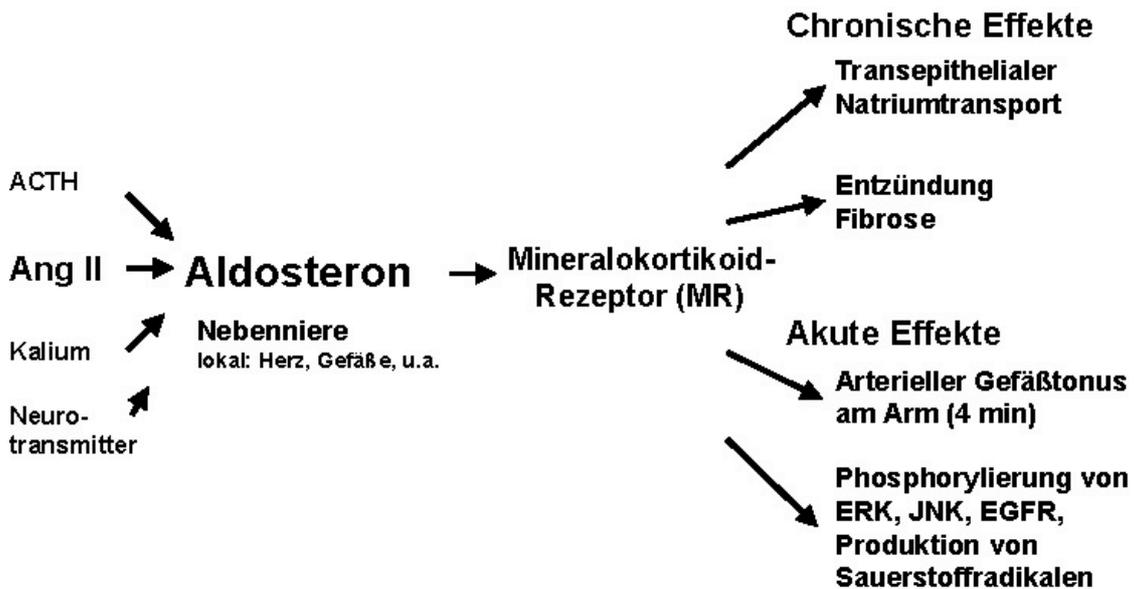


Abbildung 4: Synthese vom Aldosteron und abhängige Effekte. Die Aktivierung des MR stimuliert sogenannte genomische (chronische) und nicht-genomische (akute) Prozesse.

Ausgehend von der chemischen Aldosteronstruktur wurde der Aldosteron-Antagonist Spironolakton entwickelt, dessen hauptsächliches Untersuchungs- und Einsatzgebiet die Salzregulierung ist. Bereits bei den vorklinischen Untersuchungen mit Spironolakton fiel auf, dass zwischen den beobachteten anti-hypertensiven Effekten von Spironolakton und seiner Regulation des Elektrolythaushaltes keine Korrelation besteht und dass Spironolakton im Tiermodell vor den Folgen akuter Myokardnekrosen schützt^{16,17}. Diese Beobachtungen blieben jedoch für lange Zeit ohne therapeutische Konsequenz und Spironolakton wurde 1960 als kaliumsparendes Diuretikum zur Behandlung des primären Hyperaldosteronismus, bei Volumenbelastung, essentiellen Hypertonus und Hypokaliämie zugelassen.

Da Spironolakton wegen seiner gleichzeitigen Wirkungen am Östrogen- und Progesteron-Rezeptor ein ungünstiges Nebenwirkungsprofil hat (in therapeutischer Dosis bis zu 10 % Gynäkomastie sowie Libidoverlust, Impotenz und Periodestörungen), wurde nach spezifischeren Antagonisten geforscht und 1987 Eplerenon vorgestellt. Wenn man beide Antagonisten vergleicht, hat Spironolakton

zwar eine 40fach höhere Aktivität am Aldosteron-Rezeptor, dafür ist die Selektivität von Eplerenon gegenüber dem MR höher: Um eine stimulatorische Wirkung am Östrogen- oder Progesteron-Rezeptor auszulösen, wird eine 40- bzw. 370-fach höhere Eplerenon-Konzentration im Vergleich zu Spironolaktone benötigt¹⁸.

2.3 Lokale Aldosteronproduktion

Aldosteron ist aus der Nebenniere, dem Gehirn, Blutgefäßen, dem Herzen und den Nieren isoliert worden (zusammengefasst in¹⁹). In zwei ähnlichen humanen Studien gibt es zur lokalen Aldosteronproduktion am Herzen entgegengesetzte Ergebnisse. Mizuno und Tsutamoto verglichen die Aldosteronkonzentrationen im Blut, das vom Herzen kommt (Koronarsinus und Vena interventrikularis anterior), mit dem aus der Aortenwurzel in die Koronarien und damit zum Herzen führenden Blut. Während Mizuno et al. zeigen konnten, dass bei Herzinsuffizienz die Aldosteronkonzentration in den dem Herzen nachgeschalteten Blutgefäßen bei herzinsuffizienten Patienten höher war und diese Spiegelerhöhung mit einer zusätzlichen lokalen Aldosteronproduktion im Herz erklärten, beobachteten Tsutamoto et al. in einer vergleichbaren Studie das Gegenteil^{20,21}. Yoshimura et al. wiesen nach, dass bei herzinsuffizienten Patienten die Expression der Aldosteronsynthase hochreguliert wird²². Bei Patienten mit hypertropher obstruktiver Kardiomyopathie (HOCM) wurden nicht nur eine Verdopplung der Expression der Aldosteronsynthase im Myokard, sondern auch erhöhte Aldosteronkonzentrationen im Koronarsinus beschrieben²³. Die Bedeutung der lokalen Aldosteronsynthese bleibt umstritten. Gomez-Sanchez et al. berichteten, dass in gesunden Wistar-Ratten das im Herzen messbare Aldosteron zum größten Teil aus den Nebennieren stammt

und das lokal am Herzen produzierte Aldosteron keinen messbaren Einfluss auf die Aldosteronspiegel im Plasma hat ²⁴.

Die in dieser Arbeit zusammengefassten Ergebnisse geben Einblick in die Aldosteron-spezifischen Effekte des aktivierten RAAS, in die Bedeutung der kardialen Aldosteronsynthese und in seine Interaktion mit anderen Signalwegen.

2.4 Zielstellung der Untersuchungen

Die folgenden Experimente sollten das Verständnis der Bedeutung von Aldosteron beim Angiotensin II-verursachten Endorganschaden erweitern. Dabei wurde untersucht, ob die alleinige Blockade der Aldosteronwirkung durch Intervention an verschiedenen Punkten in der Aldosteron-Mineralokortikoid-Rezeptor-Kaskade den Angiotensin II-induzierten Endorganschaden beeinflusst. Mittlermoleküle, die für den durch ein aktiviertes Renin-Angiotensin-Aldosteron-System verursachten Gewebe- und Gefäßschaden verantwortlich sein könnten, sollten charakterisiert werden. Außerdem sollte in Zellkulturexperimenten aufgedeckt werden, ob es bereits ohne eine Neusynthese von Proteinen zur Interaktion zwischen den durch Angiotensin II und durch Aldosteron beeinflussten Signalwegen kommt.

Im Detail werden hier die Ergebnisse folgender Untersuchungen behandelt:

- Aldosteroneffekte bei der Angiotensin II-induzierten kardiovaskulären und renalen Schädigung *in vivo*
 - Auswirkungen der Blockade des Mineralokortikoid-Rezeptors
 - Auswirkungen der Blockade der Aldosteronsynthese
 - Auswirkungen einer Adrenalectomie

- Aldosteroneffekte bei der Angiotensin II-induzierten Signaltransduktion *in vitro*
- Bedeutung der G-Proteine und Kalziumkanäle für das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
- Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und der Gas6-/Axl-Signalweg