

4. Ergebnisse

4.1. Statische Untersuchungen

4.1.1. Absolutwerte der Fluxe von LFC, LFM und RBF

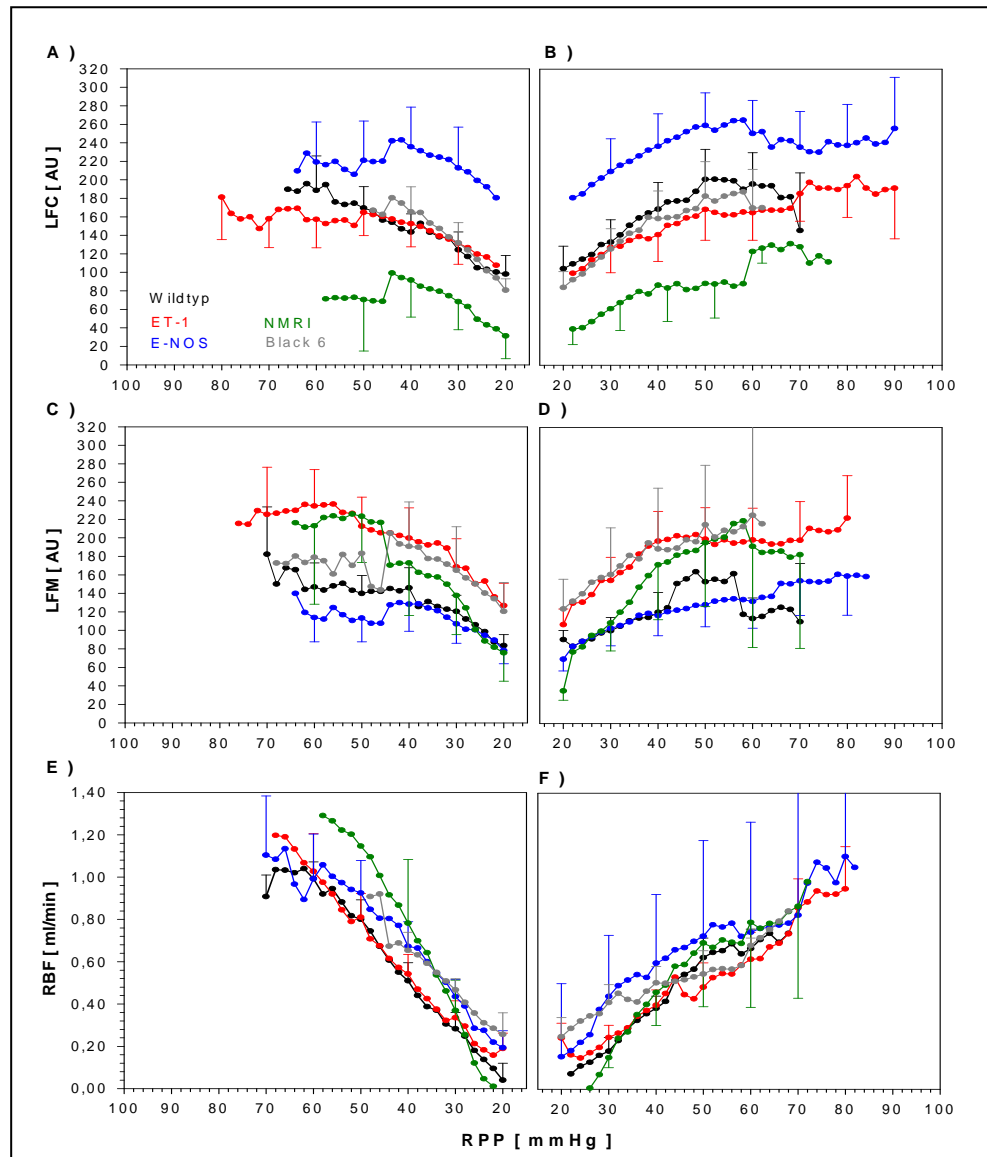


Abbildung 10 Das Verhalten der Absolutwerte (Mittelwerte \pm SEM) für das Laserdopplersignal in arbitrary units (AU) in der Nierenrinde (LFC-laser flow cortical), das Laserdopplersignal im Nierenmark (LFM-laser flow medulla) und des RBF (renal blood flow) für NMRI- und C57BL6-Mäuse (Black 6) sowie Tieren mit genetischem Defizit für die endotheliale NO-Synthese (eNOS), Endothelin-1 überexprimierten Tieren (ET-1) sowie den Wildtypmäusen in Abhängigkeit vom mittleren renalen Perfusionsdruck (RPP), links bei langsamer rampenförmiger Reduktion (A, C, E) und rechts bei langsamen, rampenförmigem Wideranstieg (B, D, F).

Der mittlere renale Perfusionsdruck (RPP) wurde zwischen 90 mmHg und 20 mmHg rampenförmig kontinuierlich gesenkt und wieder angehoben. Die 3 Flusswerte weisen im Verlauf ein typisches autoregulatives Verhalten auf. Bei Erniedrigung des mittleren RPP tritt kein lineares Abfallen und bei Erhöhung des mittleren RPP kein lineares Anstiegsverhalten der Fluxe auf. Ab etwa 40 mmHg ist im Verlauf sowohl bei Erniedrigung als auch bei Erhöhung des mittleren RPP ein unproportionaler Verlauf bei den Blutflüssen im Verhältnis zur Änderung des mittleren RPP zu beobachten. Die Anzahl der verwendeten Versuchstiere sowie die ermittelte mittlere Streuung lassen keine Differenzierung zwischen den einzelnen Mausstämmen zu (Abbildung 10). Bei allen Mausstämmen ist der Ausgangswert des RBF zwischen 1,0 bis 1,2 ml/min, der nach rampenförmiger Erniedrigung des mittleren RPP auf 20 mmHg bis auf 0,2 ml/min abfällt. Unter Erhöhung des mittleren RPP steigt der RBF bei NMRI-, C57Bl6-Mäusen, sowie den genetisch veränderten Tieren wieder an, erreicht jedoch nicht das Ausgangsniveau.

Um gesicherte Aussagen über die Autoregulation des RBF abzuleiten, ist die Betrachtung der Leitwerte der gemessenen Flusswerte notwendig.

4.1.2. Relative Leitwerte von LFC, LFM und relativer renaler Leitwert von RBF

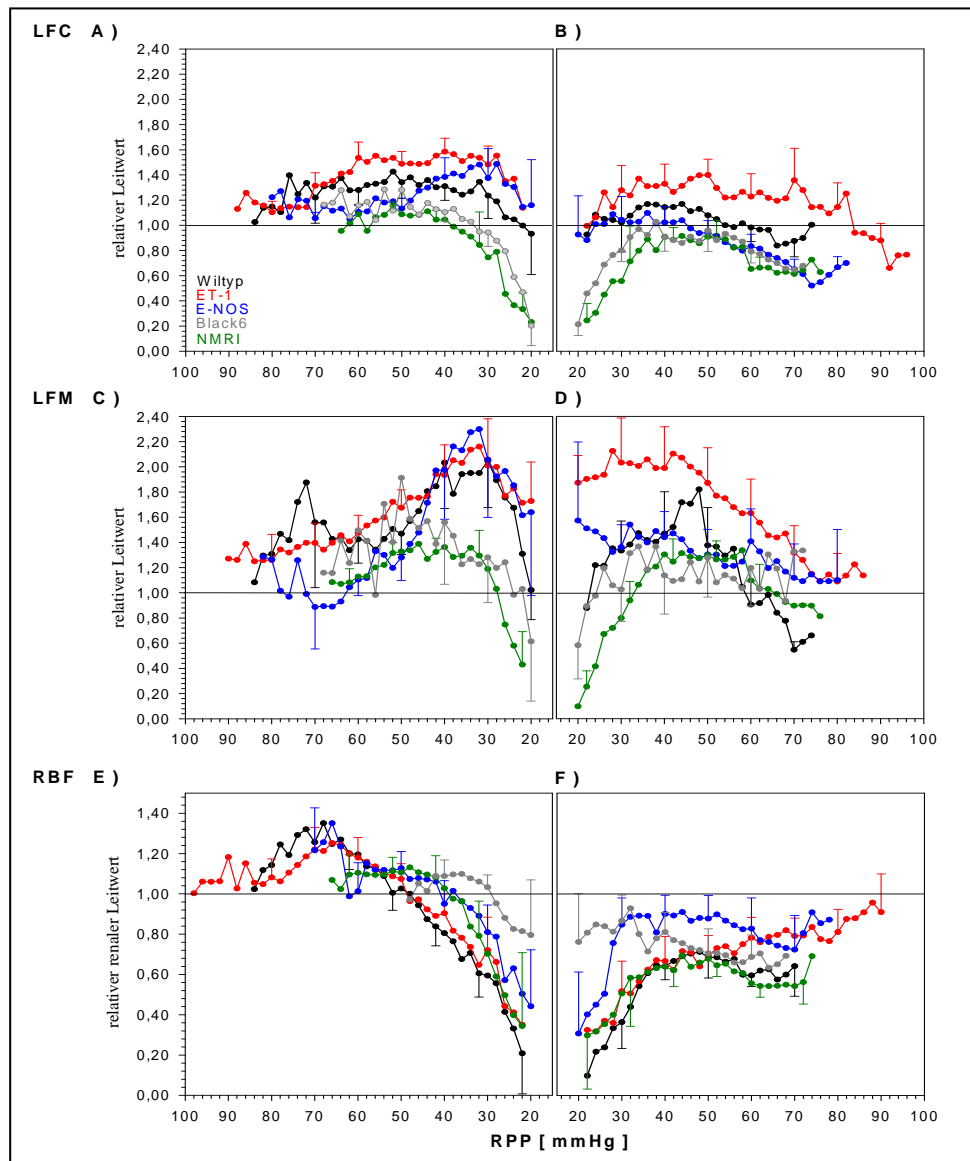


Abbildung 11 Das Verhalten des relativen Leitwertes von LFC und LFM (Mittelwerte \pm SEM) sowie des relativen renalen Leitwertes von RBF (Mittelwerte \pm SEM) für NMRI- und C57BL6-Mäuse (Black 6) sowie Tieren mit genetischem Defizit für die endotheliale NO-Synthase (eNOS), Endothelin-1 überexprimierten Tieren (ET-1) sowie den Wildtypmäusen in Abhängigkeit vom mittleren renalen Perfusionsdruck (RPP), links bei langsamer rampenförmiger Reduktion (A, C, E) und rechts bei langsamen rampenförmigen Anstieg (B, D, F).

Bei Betrachtung der relativen Leitwerte von LFC, LFM und des relativen renalen Leitwertes des RBF lässt sich allgemein ein ähnliches Verhalten im Verlauf bei rampenförmiger Erniedrigung und Erhöhung des mittleren RPP festhalten. Bei allen 3 Messparametern und Mausstämmen lassen sich im Verlauf der Messkurven sichere Zeichen autoregulativen Verhaltens erkennen.

Unter rampenförmiger Reduktion des mittleren RPP ist im Verlauf der Messkurven bei allen Flusswerten ein Anstieg des relativen renalen Leitwertes > 1 als sicheres Zeichen für die Existenz autoregulativen Verhaltens erkennbar. Bei den Kurvenverläufen der relativen Leitwerte von LFC und LFM sowie des relativen renalen Leitwertes des RBF gibt es keine signifikanten Unterschiede der Mausstämme untereinander.

Bei rampenförmiger Erhöhung des mittleren RPP bedeutet ein relativer renaler Leitwertwert < 1 autoregulatives Verhalten, das gut im Kurvenverlauf des RBF erkennbar ist und nicht gravierend unter den Mausstämmen differiert. Bei Betrachtung des Kurvenverlaufes der relativen Leitwerten von LFC und LFM ist das Autoregulationsverhalten der Endothelin-1 Mäuse vergleichbar mit dem der anderen Mausstämme.

Aus der Darstellung ist somit ableitbar, dass bei allen untersuchten Mausstämmen unter rampenförmigen Änderung des mittleren RPP eine RBF-Autoregulation vorliegt und darstellbar ist.

Um auf die Lage des Autoregulationsbereiches schließen zu können, ist die Betrachtung der Maxima der relativen renalen Leitwerte sowie deren korrespondierenden erreichten mittleren RPP notwendig.

4.1.3. Lage und Ausmaß des maximalen relativen Leitwertes von LFC, LFM und des relativen renalen Leitwertes von RBF (renale Effektivität)

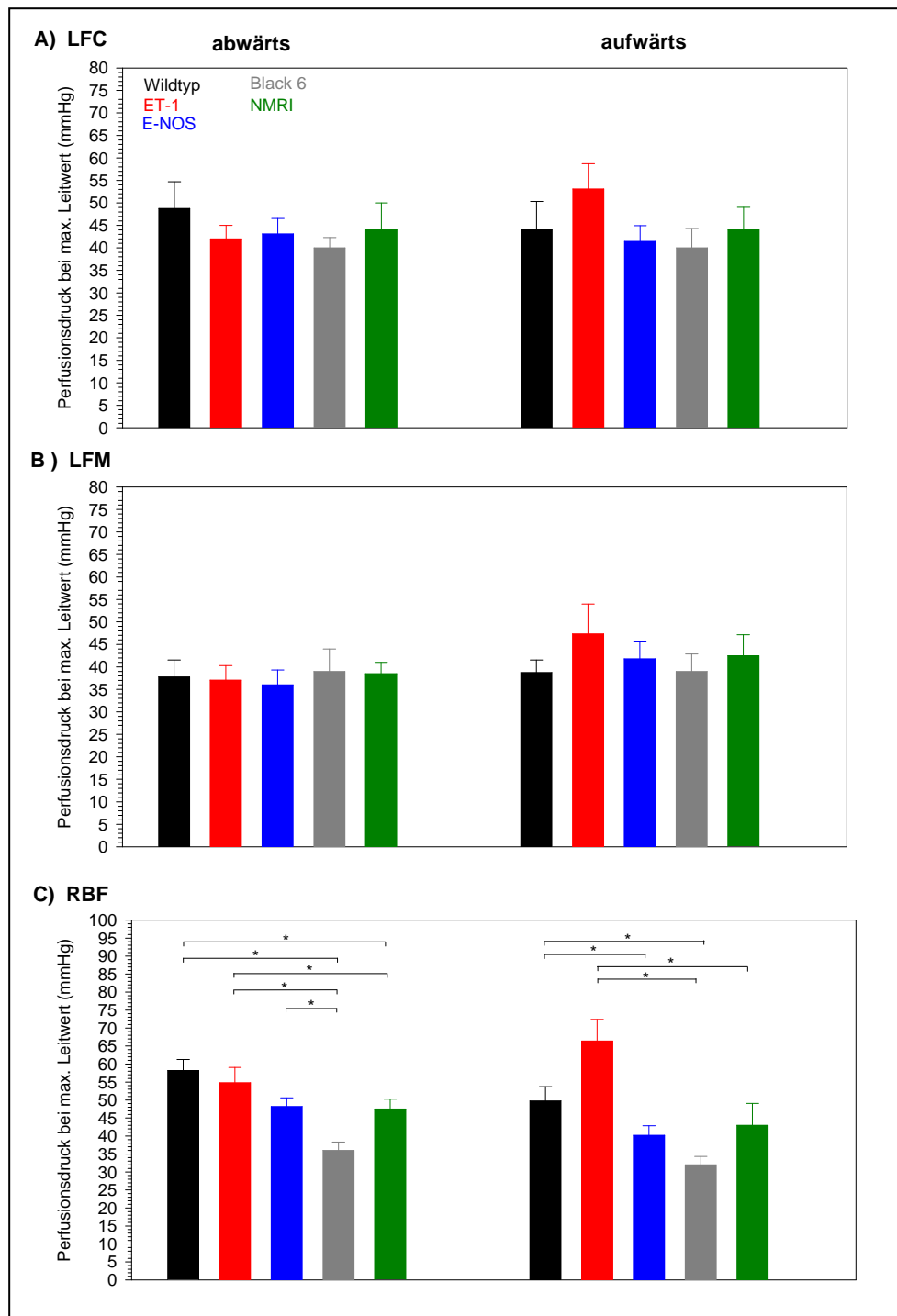


Abbildung 12 Auf der Abszisse sind die verschiedenen Mausstämme bei rampenförmiger Erniedrigung (links, abwärts) und Erhöhung (rechts, aufwärts) des mittleren RPP durch farblich differente Säulen dargestellt. Auf der Ordinate ist der erreichte renale Perfusionsdruck (mmHg) (Mittelwerte \pm SEM), bei dem das Maximum der relativen Leitwerte erreicht wurde, für die Flussparameter (LFC, LFM, RBF) abgebildet (* Signifikanzen, $p < 0,05$).

Die aus den einzelnen relativen Leitwertkurven der Fluxe gewonnenen Maxima und der dabei anliegende mittlere renale Perfusionsdruck sowohl bei Erniedrigung sowie bei Erhöhung des mittleren RPP (siehe Abbildung 12) stellen ein Maß für die Lage der Autoregulation im Perfusionsdruckbereich dar. Sie sind vergleichbar mit der Bestimmung der unteren Autoregulationsgrenze, wie bereits oben dargestellt (Einleitung, statische Untersuchungen). Aus den in Abbildung 12 gewonnen mittleren renalen Perfusionsdrücken der Maxima der relativen Leitwerte lässt sich ableiten, dass bei den verschiedenen Mausstämmen die untere Autoregulationsgrenze medullär (LFM) und cortical (LFC) bei ca. 40 mmHg liegt, während die RBF-Autoregulation abhängig von der Rampenphase sowie der Mausstämmen signifikante Unterschiede aufweist. Die RBF-Autoregulation bei den untersuchten Mausstämmen liegt hier in einem Bereich zwischen 35 mmHg bis 65 mmHg. Sowohl die Lage als auch die Schwankung der unteren Autoregulationsgrenze sind vom Mausstamm und Phase der Änderung des mittleren RPP (Erniedrigung oder Erhöhung) abhängig.

Es lassen sich signifikante Unterschiede in der Lage der unteren Grenze der RBF-Autoregulation bei rampenförmiger Änderung des mittleren RPP bei den untersuchten Mausstämmen mit dieser Methode nachweisen.

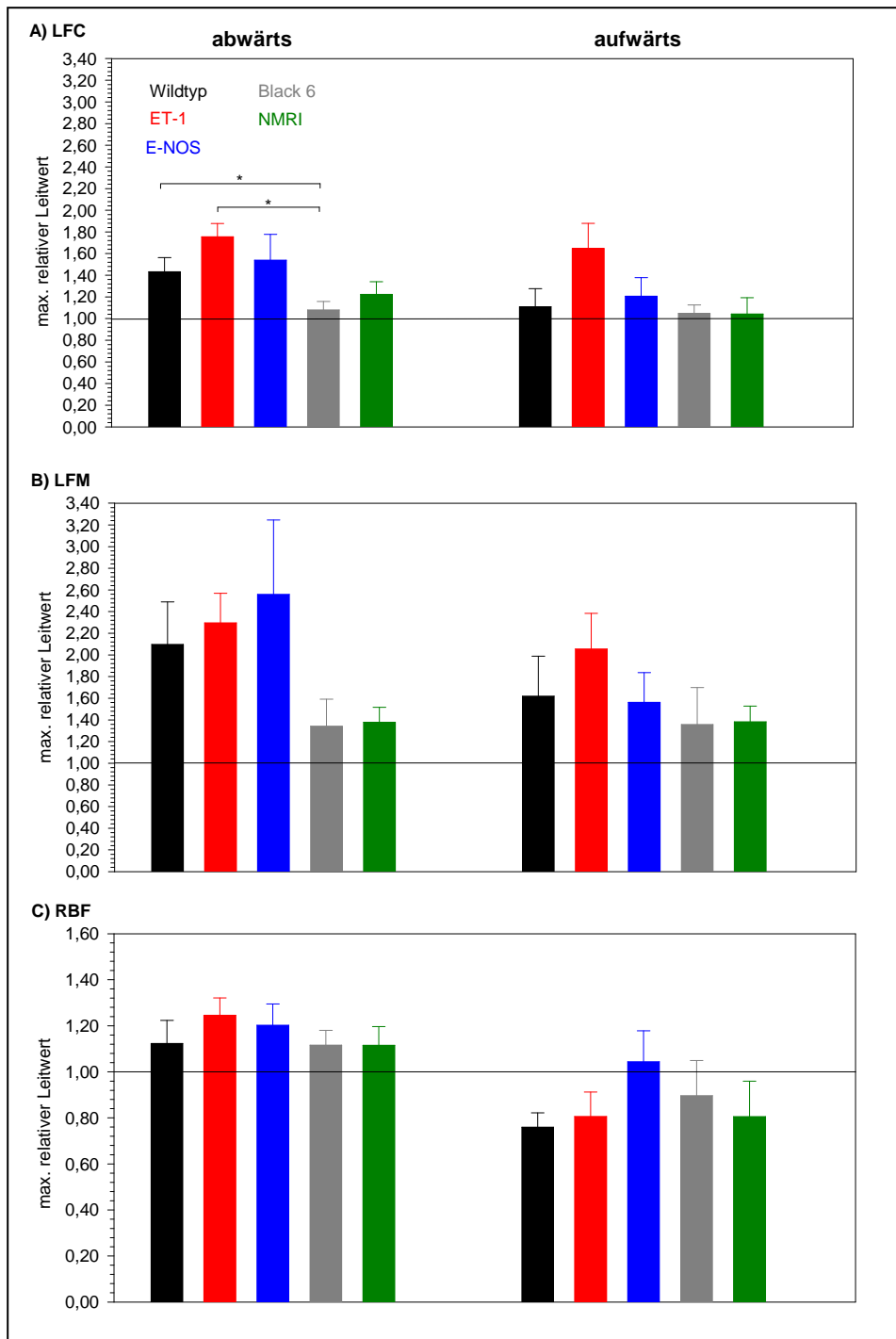


Abbildung 13 Auf der Abszisse sind die verschiedenen Mausstämme bei rampenförmiger Erniedrigung (links, abwärts) und Erhöhung (rechts, aufwärts) des mittleren RPP durch farblich differente Säulen dargestellt. Auf der Ordinate ist der maximal erreichte relative Leitwert (Mittelwerte \pm SEM), der die Stärke der renalen Autoregulation reflektiert für die einzelnen Flussparameter (LFC, LFM, RBF) abgebildet. Die korrespondierenden mittleren renalen Perfusionsdrücke (RPP) bei denen die Maxima der relativen Leitwert (Mittelwerte \pm SEM) der Fluxe erreicht wurden sind Abbildung 12 zu entnehmen (* Signifikanzen, $p < 0,05$).

Eine effektive renale Autoregulation ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des relativen Leitwerts > 1 . Dies ist bei allen Mausstämmen und Fluxen bei rampenförmiger Erniedrigung des RPP zu beobachten. Signifikante Unterschiede im Ausmaß der Autoregulation sind bei den rampenförmigen Änderungen des RPP der Mausstämme untereinander nur im LFC Signal statistisch zu sichern (siehe Abbildung 13).

4.2. Dynamische Untersuchungen an ET-1 überexprimierenden Mäusen und Wildtypmäusen

4.2.1. Absoluter RBF nach Abklemmung des RPP für 30 s (Sprungantwort)

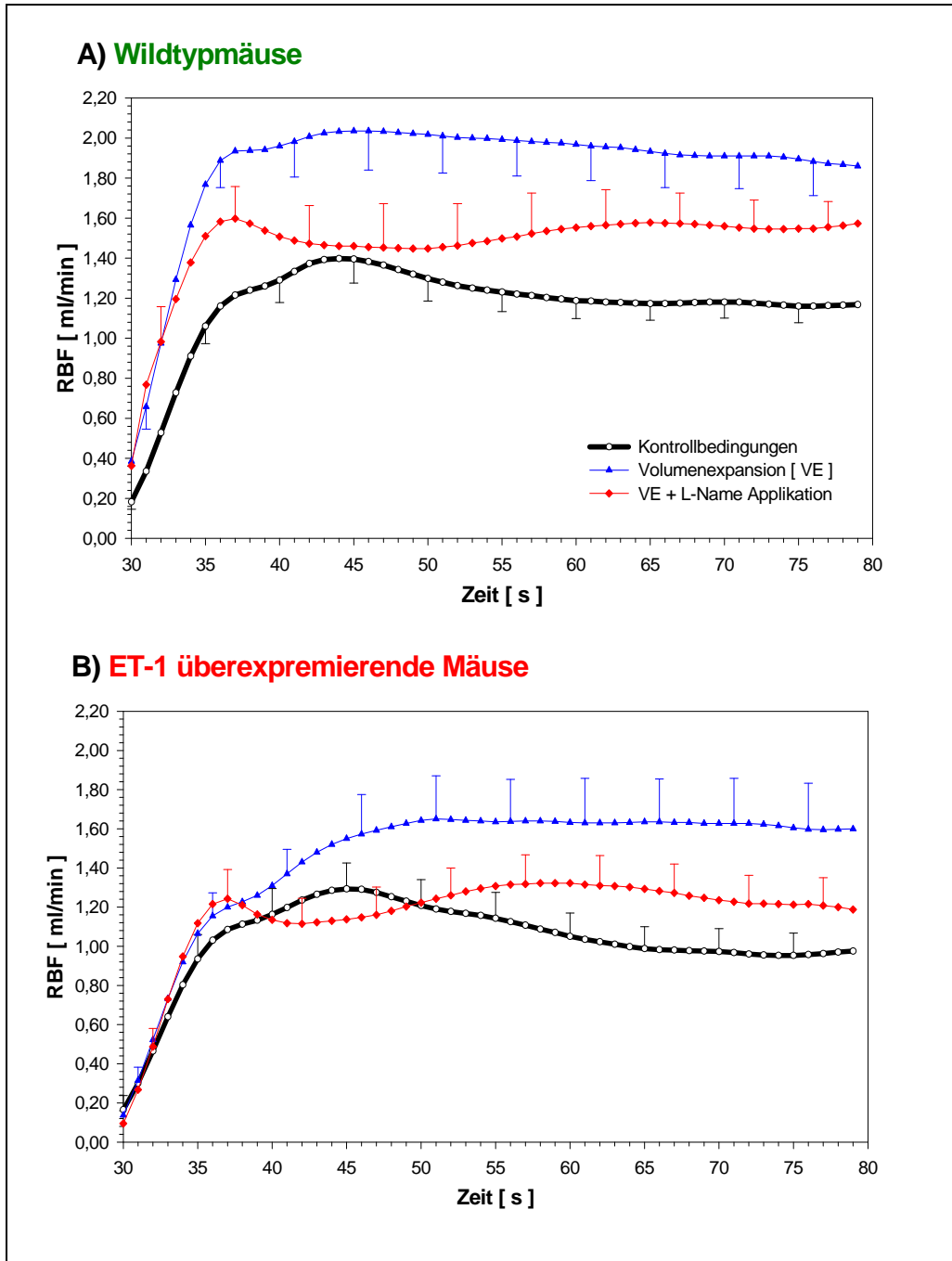


Abbildung 14 Dargestellt ist der zeitliche Verlauf des absoluten renalen Blutflusses (RBF) (Mittelwerte \pm SEM), der an der Nierenarterie durch einen Ultraschallmesskopf gemessen wurde; nach einer 30 Sekunden Unterbrechung des renalen Perfusionsdruckes (RPP) (Sprungantwort) bei A) Wildtypmäusen, B) bei ET-1 überexprimierenden Mäusen unter Kontrollbedingungen (schwarze Linie), nach Volumenexpansion (VE, blaue Kurve) und zusätzlicher L-NAME Applikation (VE + L-NAME, rote Kurve).

Der zeitliche Verlauf des renalen Blutflusses (RBF) zeigt nach Abklemmung der Aorta oberhalb der Nierenarterien für 30s (Sprungantwort) sowohl in der absoluten Höhe als auch im zeitlichen Verhalten unter verschiedenen Versuchsbedingungen tendenziell Differenzen.

Bei den Kontrolltieren (Wildtypmäusen) ist das Zeitintegral des renalen Blutflusses (RBF) durch die Volumenexpansion (blaue Kurve, Abbildung 14) im Vergleich zu den Kontrollbedingungen (schwarze Kurve) deutlich erhöht. Dieser Effekt ist bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen nicht so stark ausgeprägt. Allerdings erreichen die Differenzen aufgrund der individuellen Variabilität keine Signifikanz. Nach systemischer Blockade der NO Freisetzung durch L-NAME Gabe unter Volumenexpansion, kommt es zu einer tendenziellen Abnahme des renalen Blutflusses (RBF) im Vergleich zur Volumenexpansion ohne L-NAME (siehe Abbildung 14 A) Wildtypmäusen und B) ET-1 überexprimierende Maus; blaue Kurve vs. rote Kurve).

Auffällig bei der Betrachtung der zeitlichen Kurvenverläufe der Mittelwerte des RBF nach Freigabe des RPP unter verschiedenen Versuchsbedingungen ist das unterschiedliche Oszillationsverhalten in den RBF Kurven bei Wildtypmäusen und ET-1 überexprimierenden Mäusen. Das zeitliche Auftreten und die Höhe der Maxima sowie Minima der Schwingungen des RBF sind bei den verschiedenen Mausstämmen abhängig von den jeweiligen Versuchsbedingungen. Statistische Aussagen sind erst nach mathematischer Verarbeitung der hier vorgestellten Kurven hinsichtlich der Oszillationen nach Wiederherstellung des renalen Blutflusses und Berechnung der Zeitkonstante möglich (siehe Abbildung 16 - unten).

Mit Hilfe weiterer Verfahren wurden diese Schwingungen der jeweiligen Einzelkurven des RBF unter den verschiedenen Versuchsbedingungen analysiert und charakterisiert. Die errechneten Charakteristika dieser Einzelschwingungen werden in den weiteren Ergebnissen dargestellt.

4.2.2. Verteilung der Amplitudenquadrate

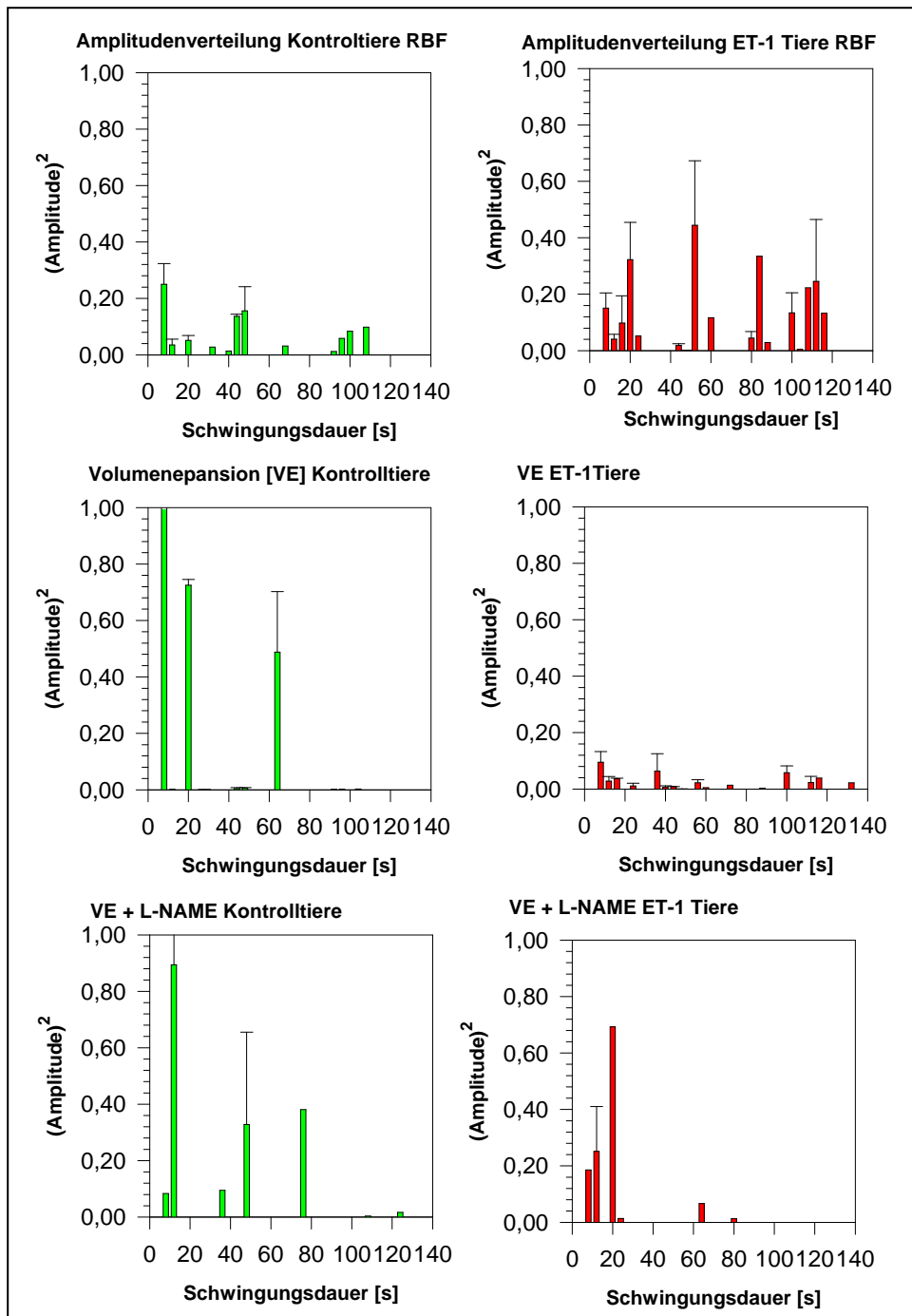


Abbildung 15 Auf der Abszisse der einzelnen Diagramme ist die Schwingungsdauer (T in s) abgebildet. Ferner sind auf der Ordinate die Amplitudenquadrate der Schwingungen des relativen renalen RBF (Mittelwerte \pm SEM) bei der dazugehörigen Schwingungsdauer nach einer 30 Sekunden Unterbrechung des RPP von ET-1 überexprimierenden Mäusen (ET-1, rot) und Wildtypmäusen (Kontrolltiere, grün) unter Kontrollbedingungen (oben), nach Volumenexpansion (VE, Mitte) und L-NAME Gabe (VE + L-NAME, unten) abgebildet. Die Amplitudenquadrate reflektieren hierbei die Intensität der einzelnen Schwingung.

Um eine Übersicht über Verteilung der Häufigkeit und Größe der Schwingungen im RBF Antwortsignal zu erhalten, wurden aus den einzelnen originalen RBF-Flusskurven mit dem oben beschriebenen Verfahren die Kenndaten der Schwingungen für die Kontrollmäuse sowie ET-1 überexprimierende Mäuse unter den verschiedenen Versuchsbedingungen ermittelt. Hier zeigt sich, dass bei der Darstellung der absoluten Amplitudenquadrate als Maß der Intensität der einzelnen Schwingung bei der dazugehörigen Schwingungsdauer, eine ungleichmäßige Verteilung der Höhe der Amplitudenquadrate über die Schwingungsdauer zwischen 0 s und 120 s gibt (siehe Abbildung 15).

Bei Betrachtung der Kontrollmäuse unter Ausgangsbedingungen als exemplarisches Verhalten (Abbildung 15 - oben links) können in der Verteilung der Amplitudenquadrate in Abhängigkeit von der Schwingungsdauer (T) drei Gruppen grob unterschieden werden. Eine Gruppe von 10 s bis 20 s, 40 s bis 60 s und 80 s bis 120 s. Diese Verteilung ist unter den anderen Versuchsbedingungen und bei beiden Mausstämmen zu beobachten, unterscheidet sich jedoch hinsichtlich der Anzahl und Größe.

Aufgrund dieser Ergebnisse erfolgte eine weitere Auswertung der genannten Schwingungsdauerbereiche mit gehäuften Amplitudenquadraten und zwar in einem Schwingungsdauerbereich kleiner als 20 s, von 21 s bis 60 s sowie größer als 60 s, um weitere Kenndaten über die beteiligten Schwingungen der RBF-Autoregulation unter den differenten Untersuchungsbedingungen zu erhalten.

4.2.3. Kennwerte der RBF-Autoregulation

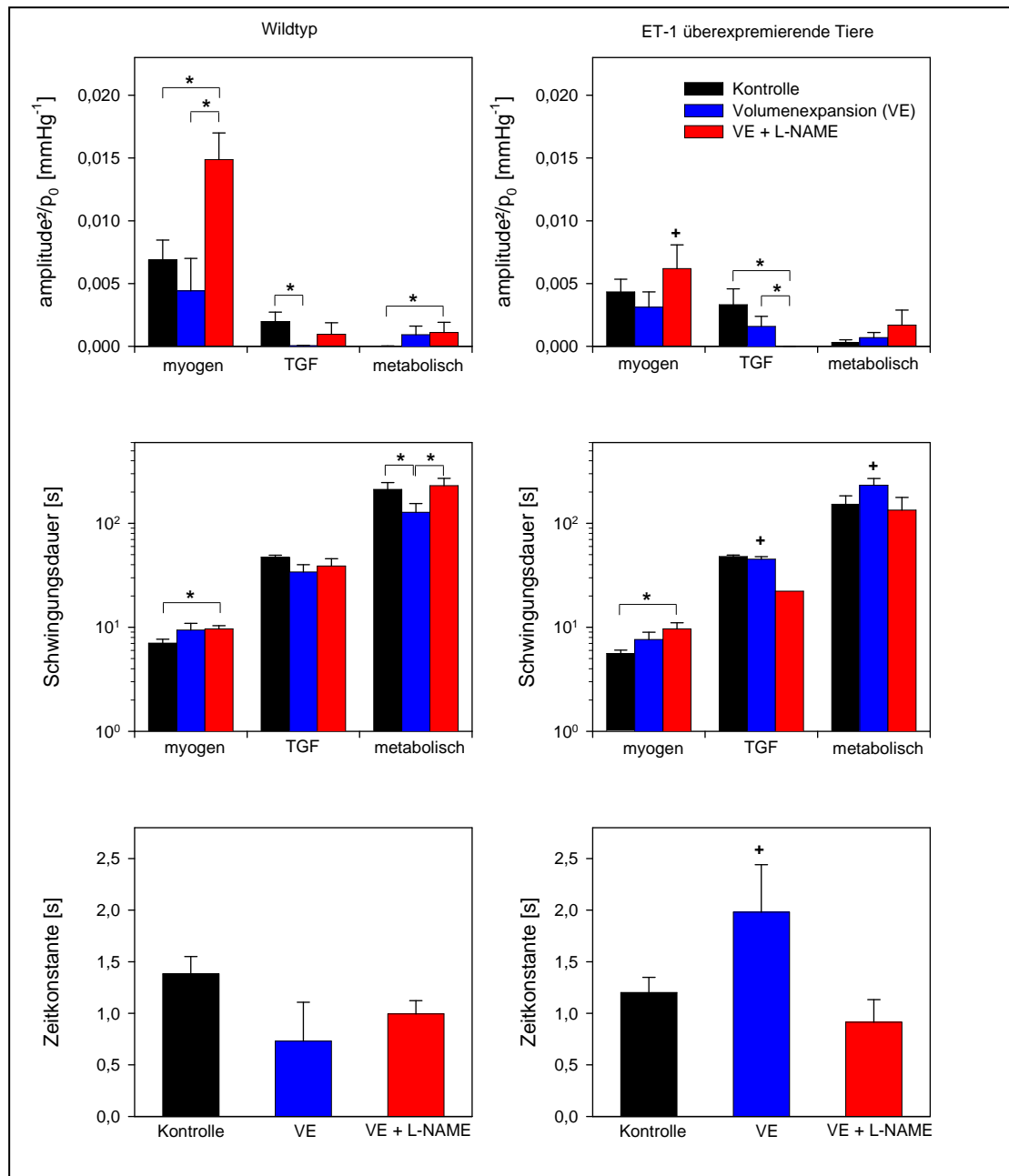


Abbildung 16 Die Amplitudenquadrate, die Schwingungsdauer und Zeitkonstante des RBF (Mittelwerte \pm SEM) nach einer 30 s Unterbrechung des RPP bei Wildtypmäusen (links) sowie ET-1 überexprimierenden Mäusen (rechts) unter Kontrollbedingungen (schwarze Balken), nach Volumenexpansion (VE, blaue Balken) sowie L-NAME Gabe nach Volumenexpansion (VE + L-NAME, rote Balken) (*, Signifikanzen des jeweiligen Mechanismus innerhalb einer Tiergruppe unter verschiedenen Versuchsbedingungen, + Signifikanzen des jeweiligen Mechanismus unter gleichen Versuchsbedingungen der Tiergruppen untereinander, Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$).

Entsprechend dem oben gewählten theoretischen Ansatz sollen Schwingungen um 10 s dem myogenen Mechanismus, Schwingungen um 40 s dem TGF und die langsameren Schwingungen um 100 s – 200 s einem unbekanntem metabolischen Mechanismus der RBF-Autoregulation zu zuordnen sein.

Sowohl bei den Kontrollmäusen als auch bei den ET-1 überexprimierende Mäusen sind alle drei Mechanismen existent und die entsprechenden Frequenzen zu beobachten. Die Schwingungsdauern liegen im Mittel bei den Wildtypmäusen (ET-1 überexprimierenden Mäusen = ET-1) bei 7s (ET-1: 5 s) für den myogenen Mechanismus, bei 47 s (ET-1: 45 s) für den TGF und 212 s (ET-1: 152 s) für den metabolisch gesteuerten Mechanismus (siehe Abbildung 16, Mitte). Zwischen dem ET-1 überexprimierenden Mausstamm und Wildtypmäusen lassen sich unter Ausgangsbedingungen für den myogenen Mechanismus und den TGF keine Unterschiede erkennen. Die Ergebnisse sprechen dafür, dass die Frequenzen der einzelnen Mechanismen unter Ausgangsbedingungen beiden Mausstämmen gleich sind. Unter Volumenexpansion und L-NAME Gabe kommt es im Vergleich unter Ausgangsbedingungen zu Änderungen der Schwingungsdauer. Hier fällt vor allem die signifikante Zunahme der Schwingungsdauer des myogenen Mechanismus bei beiden Mausstämmen auf. Beim TGF sind unter den Versuchsbedingungen nur geringe Veränderungen der Schwingungsdauer zu beobachten. Die dem metabolischen Mechanismus zugeordnete langwellige Schwingung ändert ihre Schwingungsdauer unter den differenten Versuchsbedingungen. Während Volumenexpansion bei den Kontrolltieren eine signifikante Abnahme der Schwingungsdauer des metabolisch gesteuerten Mechanismus aufweist, führt dies bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen zu einer Zunahme der Schwingungsdauer. Ebenfalls ist ein gegensätzliches Verhalten der Schwingungsdauer des metabolisch gesteuerten Mechanismus bei Vergleich beider Mausstämme nach Volumenexpansion und zusätzlicher L-NAME Gabe zu beobachten. Während unter diesen Bedingungen eine signifikante Zunahme der Schwingungsdauer bei den Kontrolltieren zu beobachten ist, kommt es bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen zu einer Abnahme (siehe Abbildung 16, Mitte).

Unterschiede im Ausmaß und damit Aktivitätszustand der jeweiligen Schwingung lassen sich mit dem Amplitudenquadrat darstellen. Ein größeres Amplitudenquadrat signalisiert hier einen stärkeren Aktivitätszustand des jeweiligen Mechanismus unter der vorgegebenen Versuchsbedingung. So zeigt sich unter den differenten Versuchsbedingungen bei den Kontrollmäusen insgesamt eine höhere Summe aller Amplitudenquadrate der betrachteten

Antwortschwingungen als bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen (Abbildung 16, oben). Dies lässt sich für die einzelnen Amplituden unter differenten Versuchsbedingungen statistisch sichern.

Die Volumenexpansion führt bei den Wildtypmäusen zu einem signifikanten Abfall des Amplitudenquadrates der dem TGF zugeordneten Schwingung. Dieser ist bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen nicht so stark ausgeprägt und lässt sich nicht statistisch sichern (siehe Abbildung 16 Amplitudenquadrate). Ferner ist unter diesen Versuchsbedingungen eine Abnahme der Amplitudenquadrate des myogenen Mechanismus (Wildtypmäuse > ET-1 überexprimierende Mäuse) und leichte Zunahme des metabolischen Mechanismus bei beiden Mausstämmen nachweisbar.

Nach Gabe von L-NAME unter Volumenexpansion steigt das Amplitudenquadrat des myogenen Mechanismus und des metabolischen Mechanismus bei den Kontrolltieren signifikant über das Niveau unter Ausgangsbedingungen. Das Verhalten des TGF ist different. Während es bei den Kontrollmäusen tendenziell zu einer Zunahme des Amplitudenquadrates des TGF kommt, ist bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen ein drastischer Abfall im Vergleich zu den Ausgangsbedingungen und Volumenexpansion nachweisbar. Weiterhin kommt es unter Volumenexpansion und L-NAME Gabe zu einer weiteren Zunahme der Aktivität des metabolischen Mechanismus über das Niveau unter Ausgangsbedingungen, die bei den Kontrollmäusen signifikant ist (siehe Abbildung 16, oben).

Mit der Zeitkonstante kann die Schnelligkeit eines regelnden Systems beschrieben werden, die nach Einschalten des Systems benötigt wird, um 63,2% des Endwertes zu erreichen. Die Zeitkonstante gibt damit Auskunft über die zeitliche Regelung des RBF, der über die Summe der daran beteiligten Mechanismen reguliert wird. Bei Existenz oder Wegfall eines Regulationsmechanismus der RBF-Blutflussregulation beeinflusst dies die Zeitkonstante. Der beeinflussende Mechanismus kann jedoch nicht unmittelbar daraus abgeleitet werden. Unter Ausgangsbedingungen sowie Volumenexpansion mit anschließender L-NAME Gabe ist kein wesentlicher Unterschied zwischen den Mausstämmen zu beobachten. Jedoch ist die Blockade des TGF nach Volumenexpansion bei den ET-1 überexprimierenden Mäusen eine signifikant höhere Zeitkonstante im Vergleich zu den Wildtypmäusen nachweisbar (siehe Abbildung 16, unten).