

Aus dem Institut für Vegetative Physiologie
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Bilanzuntersuchungen an chronisch instrumentierten Hunden
zur Rolle der Elemente des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems
für die Einstellung von Natriumbestand und arteriellem Druck
bei primär vermindertem Natriumbestand**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Till Lunenburg, geb. Rebeschke
aus Berlin

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. H.W. Reinhardt
2. Priv.-Doz. Dr. med. W. Boemke
3. Prof. Dr. med. A. Kurtz

Datum der Promotion: 03.09.2010

1. EINLEITUNG	1
1.1.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)	2
1.1.2 Die Reninfreisetzung	3
1.1.3 Die Aldosteronfreisetzung	8
1.2 Fragestellung.....	8
1.3 Methodische Voraussetzungen /Wahl der Methodik.....	10
2. MATERIAL UND METHODIK	15
2.1. Versuchstiere.....	15
2.1.1 Art und Anzahl	15
2.1.2 Versuchsphasen und Tierhaltung	15
2.1.2.1 Phase I: Gewöhnungs-, Selektions- und Trainingsphase.....	16
2.1.2.2 Phase II: Operationen, Narkose, Instrumentierung, Deinstrumentierung.....	16
2.1.2.3 Phase III: versuchsfreie Intervalle.....	18
2.1.2.4 Phase IV: Vorbereitungsphase.....	19
2.1.2.5 Phase V: Versuchsphase	19
2.2 Versuchsablauf.....	21
2.2.1 Ernährung	22
2.2.2 Versuchsprotokolle.....	23
2.2.3 Infusionen, ACE-Hemmung und Aldosteronantagonisierung	24
2.2.4 Peritonealdialyse.....	25
2.3 Messungen und Registrierungen	25
2.3.1 Arterielle Druckmessung & Herzfrequenzbestimmung	25
2.3.2 Automatische Harnsammlung	25
2.3.3 Elektrolyt- und Volumenbestimmung des Harns	26
2.3.4 Blutentnahmen und Blutanalysen.....	26
2.3.4.1 Bestimmung des Hämatokrits (Hkt)	27
2.3.4.2 Bestimmung der Plasma-Elektrolytkonzentrationen (P_{Na} , P_K).....	27
2.3.4.3 Bestimmung der Plasmaosmolarität (P_{Osmo}).....	27
2.3.4.4 Bestimmung der Plasmaproteinkonzentration (P_{Prot}).....	27
2.3.4.5 Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität (PRA)	27
2.3.4.6 Bestimmung der Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC)	28
2.3.4.7 Bestimmung der Konzentration des Atrialen-Natriuretischen-Peptids (ANP).....	28
2.3.4.8 Bestimmung der Kreatininkonzentration im Plasma und Urin und.....	28
Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR).....	28
2.3.4.9 Bestimmung des Natrium-Load (Na-Load).....	29
2.3.4.10 Berechnung der 24-h-Bilanzen für Natrium, Kalium und Wasser	29
2.4 Statistik.....	30
3. ERGEBNISSE	31
3.1 Mittlerer arterieller Blutdruck (MABP).....	31
3.2 Herzfrequenz (HF).....	33
3.3 Renale Natrium-Ausscheidung (UNaV) und Änderungen des Natriumbestandes.....	34
3.4 Renale Kalium-Ausscheidung (UKV) und Änderungen des Kaliumbestandes	38
3.5 Renale Wasser-Ausscheidung (UV) und Änderungen des Wasserbestandes.....	41

3.6	Plasma-Renin-Aktivität (PRA)	44
3.7	Plasma-Aldosteronkonzentration (PAC)	46
3.8	Plasma-Konzentration des atrio-natriuretischen-Peptids (ANP)	47
3.9	Plasma-Natrium-Konzentration (P_{Na})	49
3.10	Plasma-Kalium-Konzentration (P_K).....	51
3.11	Glomeruläre-Filtrations-Rate (GFR)	52
3.12	Proximal tubuläre Natrium-Load (Na-Load)	54
3.13	Hämatokrit (Hkt).....	55
3.14	Plasma-Osmolarität (P_{Osmo})	57
3.15	Plasma-Protein-Konzentration (P_{Prot})	58
4.	DISKUSSION	61
4.1	Zusammenhang zwischen dem RAAS und der Regulation des Natriumbestandes ..	62
4.1.1	Stellenwert und Wirkung des A-II bei der Regulation des Natriumbestandes.....	62
4.1.2	Stellenwert und Wirkung des Aldosterons bei der Regulation des Natriumbestandes ...	64
4.2	Zusammenhang zwischen Na^+-, K^+- und Wasserbestand	66
4.3	Der Zusammenhang zwischen dem RAAS und der Blutdruckregulation	68
4.3.1	Stellenwert und Wirkung des A-II bei der Blutdruckregulation bei vermindertem	69
	Natriumbestand.....	69
4.3.2	Stellenwert und Wirkung des Aldosterons bei der Blutdruckregulation bei.....	71
	vermindertem Natriumbestand	71
4.4	Die Plasma-Renin-Aktivität (PRA);.....	73
	Ursachen und Mechanismen der gesteigerten Reninfreisetzung	73
4.4.1	Die Stimulation der Reninfreisetzung in der Kontrollgruppe	73
4.4.2	Die Stimulation der Reninfreisetzung nach Erzeugen des Natriumbestandsdefizits	79
4.5	Die Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC);.....	85
	Ursachen und Mechanismen der gesteigerten Aldosteronfreisetzung.....	85
4.5.1	Die Stimulation der Aldosteronfreisetzung im Kontrollprotokoll.....	86
4.5.2	Die Stimulation der Aldosteronfreisetzung nach Erzeugen d. Natriumbestandsdefizits	88
4.6	Mechanismen zur Konstanthaltung des Natriumbestandsdefizits und des	93
	arteriellen Drucks bei vollständig blockiertem RAAS	93
4.6.1	Beteiligung der Drucknatriurese.....	93
4.6.2	Beteiligung eines erhöhten Sympathikotonus	94
4.6.3	Beteiligung der Nierenerven.....	95
4.6.4	Beteiligung des ANP	98
4.6.5	Beteiligung der intrazellulären Natriumkonzentration	98
5.	ZUSAMMENFASSUNG	101
6.	LITERATURVERZEICHNIS	105
7.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	121
8.	LEBENS LAUF	123
9.	PUBLIKATIONEN	125
10.	ERKLÄRUNG.....	127

1. EINLEITUNG

Es besteht kein Zweifel über den engen Zusammenhang zwischen dem Natriumbestand und der langfristigen Regulation des arteriellen Blutdrucks (mean arterial blood pressure [MABP])^{24,62,64,160}. Eine längerfristige Erhöhung des Natriumbestandes führt bei ansonsten gesunden Versuchstieren im Allgemeinen zu einer Erhöhung des MABP^{15,153,161,174,178}. Ein besonders eindrucksvolles klinisches Beispiel ist, dass bei Dialysepatienten (bei terminaler Niereninsuffizienz) der MABP und Natriumbestand im Intervall zwischen den Dialysen parallel zur Wasserbestandszunahme sukzessive ansteigt. Diese Tatsache basiert auf folgenden Zusammenhängen: Die Flüssigkeits- und Elektrolytbestände des Organismus und die Osmolalität der Flüssigkeitskompartimente werden innerhalb enger Grenzen konstant gehalten. Die Regulation der Osmolarität nimmt dabei einen besonders hohen Stellenwert ein: Änderungen der Osmolalität werden rasch und effektiv durch Änderung der Wasseraufnahme und/oder -ausscheidung korrigiert. Daher wird die Menge isotoner Flüssigkeit bzw. der Wasserbestand durch die Menge an Osmolyten, vor allem durch den Natrium- und Kaliumbestand determiniert. Aktuelle Untersuchungen von Seeliger et al. konnten dies erneut bestätigen^{175,176}. Sie induzierten Natriumbestandsänderungen über einen weiten Bereich (von -10% bis + 50%). Die Änderungen des Natriumbestandes korrelierten dabei unter Berücksichtigung gleichzeitiger Änderungen des Kaliumbestandes eng ($r^2=0,93$) mit Änderungen des Wasserbestandes, die Plasmaosmolarität blieb dabei unverändert auf Kontrollniveau. Der im Extrazellulärraum mengenmäßig am häufigsten vorkommende Elektrolyt ist Natrium. Somit wird das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen und das Plasmavolumen wesentlich durch den Natriumbestand determiniert^{85,86}. Ein verändertes Plasmavolumen beeinflusst über den Frank-Straub-Starling-Mechanismus wiederum den arteriellen Blutdruck, so dass letztlich die Regulation des Natriumbestandes eng mit der langfristigen Regulation des Blutdrucks verknüpft ist.

Dieser volumenabhängigen Blutdruckregulation stehen die volumenunabhängigen Mechanismen gegenüber. Letztere können u.a. durch Änderungen der Weite der Kapazitätsgefäße des Niederdrucksystems, durch Änderung der Herzinotropie und Änderung des peripheren Gefäßwiderstandes (insbesondere der sog. Widerstandsgefäße) den Blutdruck beeinflussen^{41,87}. Ist der Wasserbestand erhöht, so dominiert die volumenabhängige Blutdruckregulation über die volumenunabhängige Blutdruckregulation, insofern, als dass die volumenunabhängigen Mechanismen der Zunahme des Blutdruckanstiegs entgegensteuern, diese aber nicht vollständig kompensieren können¹⁷⁴. Korrelationsanalysen an freilaufenden Hunden zeigten eine enge Korrelation ($r^2= 0,69$) des Wasserbestandes mit den langfristigen Änderungen des Blutdrucks über einen weiten Bereich (Wasserbestandsänderung von 0 bis + 120ml/kg KG)¹⁷⁹. Ist der

Wasserbestand jedoch moderat vermindert, so findet sich keine solch enge Korrelation zwischen Wasserbestand und Blutdruck mehr^{81,177,179}. Seeliger et al. formulierten die Hypothese, dass bei Zuständen mit vermindertem Wasserbestand volumenunabhängige Mechanismen einen möglichen Blutdruckabfall voll kompensieren können. Systematische Untersuchungen zu dieser Fragestellung existieren bisher jedoch nicht.

Im Zusammenhang mit der Blutdruckregulation spielt das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) eine Sonderrolle. Es vereinigt Mechanismen der volumenabhängigen Blutdruckregulation, vermittelt über die natriumretinierende Wirkung des Angiotensin-II (A-II) und des Aldosterons, und der volumenunabhängigen Blutdruckregulation, vermittelt über die vasopressorische Wirkung des A-II¹⁶⁵.

1.1.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Die Entdeckung des Renins geht auf die Untersuchungen von Tigerstedt und Bergmann¹⁹⁵ vor mehr als 100 Jahren zurück, die eine Blutdruck steigernde Substanz aus dem renalen Kortex extrahierten. 35 Jahre später beschreiben Goldblatt et al.⁵⁰ einen Zusammenhang zwischen renaler Ischämie und arterieller Hypertension. Diese Zusammenhang wurde 1963 von Skinner¹⁸⁵ in dem Sinne verifiziert, als dass er zeigen konnte, dass nicht die Ischämie per se, sondern die renale Hypotension der Stimulus für die Freisetzung dieser Substanz war. Braun-Menendez¹⁸ und Page¹³⁷ stellten 1939 unabhängig von einander fest, dass das Renin nur im Blutplasma einen blutdrucksteigernden Effekt besaß. Sie identifizierten die vasoaktive Komponente, ein Peptid, welches sie Hypertensin bzw. Angiotonin nannten. Im Jahr 1958 kamen sie überein, die neu gefundene Substanz Angiotensin zu nennen. Heute ist bekannt, dass Renin zu einer Konversion von dem in der Leber synthetisierten Angiotensinogen zu Angiotensin-I (A-I) führt. A-I wird anschließend durch das hauptsächlich an den Gefäßwänden der Lungenstrombahn verankerte Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) in das Angiotensin-II (A-II) gespalten. Der Geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der A-II-Bildung ist hierbei die Reninfreisetzung.

1948 beschrieb Deane²⁹ eine als „Electrocortin“ bezeichnete Substanz in der Zona glomerulosa der Nebennieren. 1953 machte Simpson¹⁸³ eine Entdeckung, die zunächst nicht direkt mit Renin und Angiotensin in Verbindung gebracht wurde. Es gelang ihm aus 500 kg Rindernebennieren ca. 21 mg eines salzretinierenden Hormons zu isolieren, das später als Aldosteron bezeichnet werden sollte. Zu diesem Zeitpunkt war bekannt, dass eine Nebenniereninsuffizienz zu einer Hypovolämie und letztlich zu einem Kreislaufzusammenbruch führte. Die Verbindung zwischen der Nierenfunktion und dem Renin-Angiotensin-System einerseits und den Nebennieren und dem Aldosteron andererseits wurde schließlich 1956 durch Groß^{54,55} hergestellt. Groß et al.

formulierten die Hypothese dass die Nieren via Renin und A-II die Aldosteronsekretion steuern können. Aus diesem Ergebnis und denen anderer Untersucher schlussfolgerte man letztendlich einen Zusammenhang zwischen Renin, Angiotensin und Aldosteron und entwickelte daraus die noch heute gültige Vorstellung vom RAAS. Das klassische, systemische RAAS stellt das zentrale Element zur Adaptation der Natriumausscheidung an den Natriumbestand und der damit verbundenen Regulation des Wasserhaushaltes und des Blutdruckes dar. Der Blutdruck wie auch der Natriumbestand wirken ihrerseits auf die Reninfreisetzung zurück, so dass das RAAS ein vollständiges „feedback-control-system“ zur Regulation des Natriumbestandes und des Blutdruckes darstellt. Darüber hinaus existieren neben dem „klassischen“ systemischen RAAS auch intrarenal- und adrenal sowie in weiteren Organen wie dem Herzen oder den Blutgefäßen komplette Renin-Angiotensin-Systeme (RAS). Das sog. Gewebe-RAS ist vermutlich durch die lokale Bildung von A-II und seinen Spaltprodukte A-III – VII, die u.a. eine wachstumshormonähnliche, proinflammatorische und profibrotische Wirkung besitzen, an der Entstehung cardiovasculärer Erkrankungen beteiligt^{22,207}. Auch Aldosteron ist an vasculären und kardialen Umbauvorgängen beteiligt und trägt beim sog. „remodelling“ nach Myocardinfarkten zur Verstärkung der Myocardfibrose und exzentrischen ventriculären Hypertrophie bei^{2,74,206,207}. Die genannten Wirkungen des RAS sind im Rahmen länger dauernden pathophysiologischen Umbauvorgängen zu sehen und spielen für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit sicher eine nur untergeordnete Rolle, so dass sich die folgende Diskussion nur auf das klassische, systemische RAAS bezieht.

1.1.2 Die Reninfreisetzung

Die Reninfreisetzung wird durch vielfältige Mechanismen und Faktoren beeinflusst. In Anlehnung an Hackenthal et al.⁶³ soll hier zwischen integrativen Mechanismen und lokalen Signalen unterschieden werden. Während die lokalen Signale nur eine modifizierende Wirkung auf die Reninfreisetzung besitzen, sind für die integrativen Mechanismen komplette Regelkreise beschrieben worden^{11,63,160,177}. Die integrativen Mechanismen der Reninfreisetzung sind dabei eng miteinander vermascht. Zum Teil nutzen sie die selben Signalwege, können jedoch auch unabhängig von einander die Reninfreisetzung steuern. Kennzeichnend für ein solches, als redundant zu bezeichnendes System ist, dass die Blockierung bzw. der Wegfall eines der integrativen Mechanismen oder eines Signalweges durch andere nicht blockierte Mechanismen und durch die Nutzung differenter Signalwege oftmals vollständig kompensiert werden kann. Dies ist nicht zuletzt Grund dafür, dass die vollständige Klärung aller afferenten und efferenten

Signalwege der integrativen Mechanismen der Reninfreisetzung und deren Interaktionen bis heute noch nicht abgeschlossen werden konnte.

Zu den integrativen Mechanismen zählen:

- I.) Die druckabhängige Reninfreisetzung
- II.) Die über die sympathischen Nierennerven vermittelte Reninfreisetzung
- III.) Die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung

Es ist allgemein akzeptiert, dass eine inverse Beziehung zwischen der Reninfreisetzung und dem arteriellen Blutdruck (MABP) bzw. dem renalen Perfusionsdruck (RPP) besteht (s. Abb. 1.1.2:I.)^{39,42,63,84,153,177}. Die Reninfreisetzung wird zum einen durch den RPP via einen intrarenalen Barorezeptor-ähnlichen Mechanismus gesteuert^{63,185}. Kirchheim, Finke et al. vermuteten, dass die reninhaltigen Zellen selbst eine Barorezeptoren-Funktion haben^{63,193}. Aktuelle Untersuchungen zeigen ein differenzierteres Bild: Änderungen des intravasalen Drucks in den afferenten Arteriolen führen u.a. zu einer veränderten Freisetzung von NO und cytosolischem Calcium in den Endothelzellen, die als primärer Mechanosensor dienen sollen. Die Interaktion zwischen den Endothelzellen und den reninbildenden Zellen geschieht wahrscheinlich über sog. Connexin(40)-abhängige „gap junctions“ und beinhaltet den Austausch von Ionen und second messengers^{19,92,201}.

Neben dem intrarenalen Mechanismus der druckabhängigen Reninfreisetzung können Änderungen des systemischen, arteriellen Blutdrucks die Reninfreisetzung steuern. Die von arteriellen Barorezeptoren der Aorta und dem Carotissinus detektierten Druckänderungen werden auf nervalem Weg zum im Hirnstamm lokalisierten „Kreislaufzentrum“ übermittelt. Hier findet eine Integration mit Impulsen von u.a. Volumenrezeptoren und denen anderer Hirnregionen statt. Wahrscheinlich stellen die sympathischen Nierennerven den efferenten Signalweg der über den arteriellen Druck (via Kreislaufzentrum) vermittelten Reninfreisetzung dar^{31,32,49,56,82,83,96,97,99,101,142,155,194}. Diese Annahme basiert auf folgenden Zusammenhängen: Zum einen konnten sympathische Nervenendigungen im Bereich der juxtaglomerulären Zellen¹⁷ nachgewiesen werden, zum anderen kann durch experimentelle Stimulation der Nierennerven³¹ die Reninfreisetzung gesteigert bzw. die basale Reninfreisetzung durch β -Blockade vermindert werden^{11,84}. Die Rolle der sympathischen Nierennerven (s. Abb. 1.1.2: II.) bei der Regulation der Natriumhomöostase u.a. durch direkte Beeinflussung der Reninfreisetzung⁸³ - auch unabhängig vom MABP - wurde vielfach von DiBona et al. untersucht^{31,32}. Der physiologische Stellenwert der Nierennerven als Vermittler Natrium-konservierender Signale ist jedoch nicht völlig geklärt. So ist die Reninfreisetzung in Folge einer Stimulation arterieller Barorezeptoren des Carotissinus bzw. nach Plasmavolumenexpansion durch langsame Natriumchlorid-Infusion nach renaler

Denervation nicht verändert^{11,90,97}. Kaczmarczyk et al. zeigten bereits 1986, dass ein experimentell erzeugtes Natriumbestandsdefizit bei Hunden auch nach renaler Denervation bei ausreichendem Natriumangebot innerhalb kürzester Zeit wieder ausgeglichen wird, die Reninfreisetzung (gemessen als Plasma-Renin-Aktivität; PRA) war dabei unabhängig von der renalen Denervation⁷⁸.

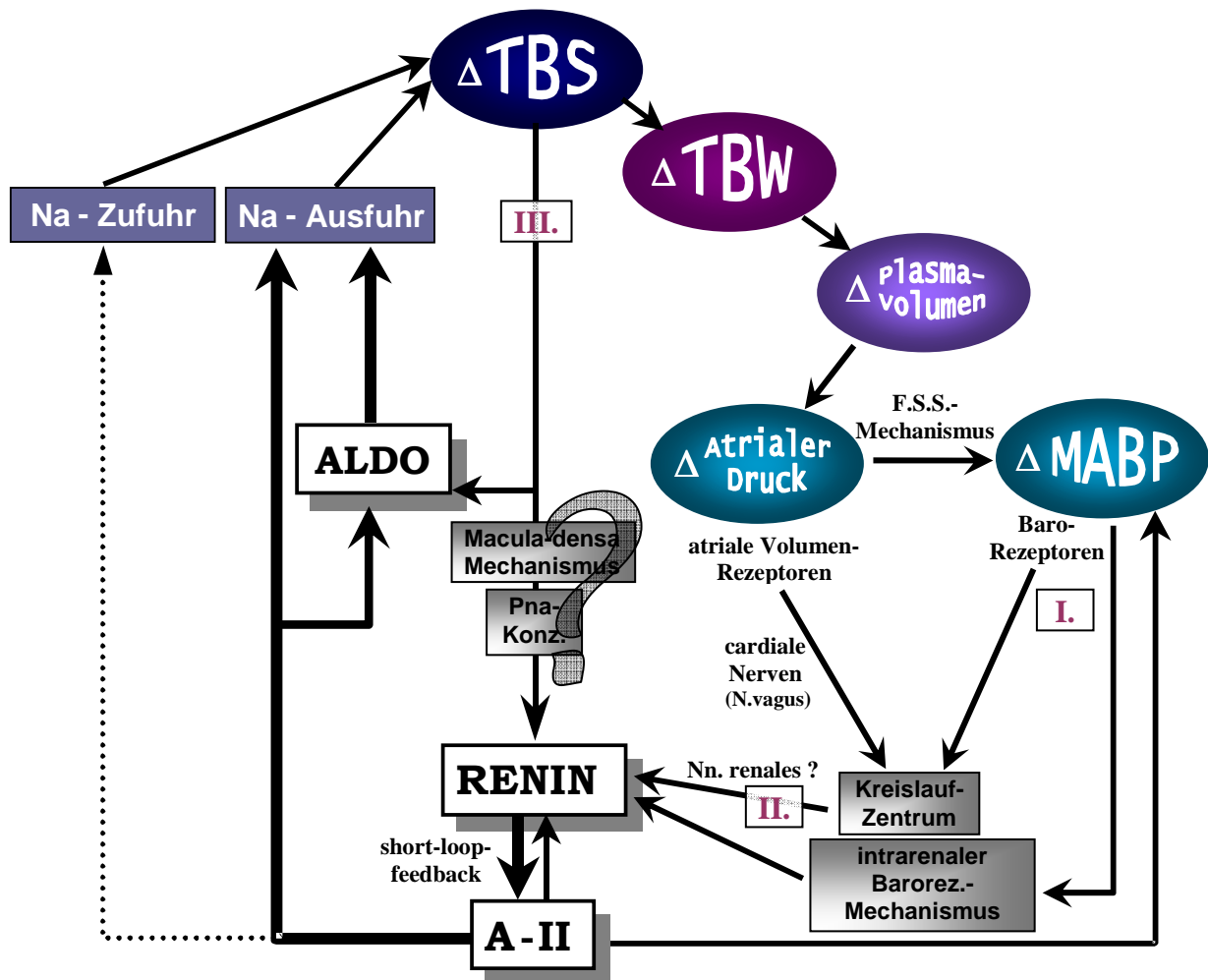


Abb. 1.1.2: - Wirkmechanismus und zentrale Stellung des RAAS im Zusammenhang mit der Regulation des TBS, TBW und MABP und
- Darstellung der integrativen Mechanismen der Reninfreisetzung

TBS = Gesamtkörper-Natriumbestand; TBW = Gesamtkörper-Wasserbestand; MABP = mittlerer arterieller Blutdruck;
F.-S.-S.-Mechanismus = Frank-Straub-Starling-Mechanismus, A-II = Angiotensin-II, ALDO = Aldosteron,
P_{Na}-Konz. = Plasma-Natrium-Konzentration, Δ = Differenz

Der Begriff „natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung“ wurde aufgrund systematischer Studien zum Einfluss von veränderter Na-Zufuhr und von experimentellen Änderungen des Natriumbestandes auf die basale und die druckabhängige Reninfreisetzung geprägt (s. Abb. 1.1.2: III.)¹⁷⁷. Seeliger et al. wiesen nach, dass Änderungen des Natriumbestandes unabhängig

vom arteriellen Druck die Reninfreisetzung invers steuern^{160,177}. Ein Defizit des Natriumbestandes führte zu einer drastischen Erhöhung der Reninfreisetzung, während ein stark erhöhter Natriumbestand diese fast vollständig supprimierte. Über welche Mechanismen ein veränderter Natriumbestand auf die Reninfreisetzung einwirkt, ist derzeit nicht vollständig geklärt.

In Analogie zu den in der Literatur beschriebenen Mechanismen, welche den Einfluss der Na-Zufuhr auf die Reninfreisetzung vermitteln sollen, haben Seeliger et al. postuliert, dass die natriumbestandsabh. Reninfreisetzung durch Änderungen des Plasmavolumens und/oder durch den Macula densa Mechanismus die Reninfreisetzung vermitteln könnten^{11,177}. In diesem Zusammenhang kommt dem als „atriale Natriuresis“ (AN) bezeichneten Mechanismus eine besondere Rolle zu. Eine Änderung des Natriumbestandes führt meistens zu einer adäquaten Änderungen des Plasmavolumens¹⁷⁵. Änderungen des Plasmavolumens wiederum verändern den Druck in den Herzvorhöfen. Dieser wird von dort lokalisierten Dehnungsrezeptoren detektiert und via N.vagus (Afferenz) an das Kreislaufzentrum im Hirnstamm weitergeleitet. Die zum atrialen Druck positiv korrelierende Natriumausscheidung^{76,78,80,81,152,154-157} wird durch eine Suppression der Reninfreisetzung und konsekutiver Verminderung der A-II-Konz. mit nachfolgender geringerer tubulärer Natriumresorption vermittelt^{80,154}. Die über ein verändertes Plasmavolumen vermittelte Natriumausscheidung wird nicht über den renalen Perfusionsdruck vermittelt¹⁷³ und kann auch ohne gleichzeitige Änderung des systemischen, arteriellen Drucks stattfinden^{11,149,167,168}. Die sympathischen Nierennerven (s.o.) können nicht den einzigen efferenten Signalweg darstellen: Kaczmarczyk et al. zeigten, dass ein experimentell erzeugtes Natriumbestandsdefizit in wachen Hunden nach kardialer und auch renaler Denervation vollständig kompensiert werden kann^{78,81} und die Reninfreisetzung trotz renaler Denervation praktisch unverändert bleibt. Aktuelle Untersuchungen von Bie et al. mit pharmakologischer Blockierung von β_1 -Rezeptoren stützen diese Beobachtung¹¹. Die heutige Datenlage spricht ebenfalls gegen eine Rolle des ANP als Mittler der atrialen Natriuresis^{49,81,93,154,155}. Somit bleibt ungeklärt über welchen efferenten Signalweg die Reninfreisetzung in diesem Zusammenhang gesteuert wird. Die natriumbestandsabh. Reninfreisetzung könnte zum einen durch Änderungen des Plasmavolumens und des Vorhofdruckes vermittelt sein (s.o.), zum anderen könnte auch der sog. Macula-densa Mechanismus (MD) in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle spielen, den Vander und Miller 1964 erstmalig beschrieben haben²⁰⁰. Das veränderte NaCl-Load in der Flüssigkeit im distalen Tubulus wird über Na-K-2Cl-Transporter der Macula densa Zellen detektiert^{89,135,140,171}. Über noch nicht vollständig geklärte Signalwege bewirkt dies an den benachbarten reninbildenden Zellen eine Änderung der intrazellulären Calciumkonzentration,

des Membranpotentials, des Zellvolumens und eine Aktivierung von second messengers. Die Folge ist eine gesteigerte Reninsynthese und -freisetzung bei vermindertem distalen NaCl-load und einer verminderten Synthese bei erhöhtem Load^{63,89,140,171,200}. Seeliger et al. beobachteten, dass die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung nicht an Änderungen der P_{Na} -Konz. und der GFR gebunden ist, d.h., auch bei unverändertem filtrierten (proximale) Na-Load und vermutlich (vorausgesetzt es existieren unter den genannten Bedingungen keine vom RAAS unabhängigen Faktoren, welche die proximale tubuläre Natriumresorption beeinflusst haben) unverändertem distalen Na-Load¹⁷⁷ ist die Reninfreisetzung zum Natriumbestand adäquat. In Folge einer experimentellen Änderung des Natriumbestandes kommt es zu einer gravierenden Umverteilungen von Elektrolyten und Wasser zwischen den einzelnen Flüssigkeitskompartimenten des Organismus, sowie zu Änderungen der Elektrolyt- und Wasserbestände^{173,175-177}. Es ist davon auszugehen, dass eben solche Umverteilungen und Ionenshifts an den MD-Zellen stattfinden. Diese Ionenshifts könnten nach Reinhardt, Seeliger et al. ohne Änderungen des distalen Na-Loads über noch ungeklärte Mechanismen unter Beteiligung der MD-Zellen die Reninfreisetzung gesteuert haben¹⁷⁷. Bie et al. vermuten, dass in Folge einer langsamen NaCl-Infusion nicht messbare Änderungen der P_{Na} -Konz. und GFR zu einem veränderten distalen Na-Load geführt haben könnten und via MD-Mechanismus die Reninfreisetzung in diesem Zusammenhang supprimiert wurde¹¹. Letztlich ist der efferente Signalweg der natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung, nicht zuletzt durch die hohe Redundanz der Regulationselemente der Reninfreisetzung bedingt, weitgehend ungeklärt, da der Wegfall einzelner Regelemente, z.B. der Nierennerven durch andere Mechanismen zumindest teilweise kompensiert und damit maskiert werden kann.

Neben den integrativen Mechanismen der Reninfreisetzung (s.o.) sind eine Vielzahl an Substanzen, welche die Reninfreisetzung beeinflussen können, beschrieben worden. Hierbei hervorzuheben ist das A-II für welches ein geschlossener Regelkreis, das sog. short-loop-feedback, beschrieben worden ist. A-II wirkt dabei hemmend auf die Reninfreisetzung. Die übrigen Substanzen wirken nur steuernd auf die Reninfreisetzung, wobei ihr physiologischer Stellenwert weitgehend ungeklärt ist. Hierzu zählen u.a. Dopamin, ADH, Histamin, ANP, Endothelin, Prostaglandine und Leukotriene, Acetylcholin, Kallikreine, Kinine etc.⁶³. In der vorliegenden Arbeit findet deren Diskussion nur dann Berücksichtigung, sofern sie Teil eines der bekannten, rückgekoppelten Regelsysteme zur Steuerung der Reninfreisetzung sind.

1.1.3 Die Aldosteronfreisetzung

Aldosteron ist das wichtigste mineralokortikoide Hormon des menschlichen Organismus. Bereits 1956 hatte Gross⁵³ auf die enge funktionelle Beziehung zwischen dem Renin-Angiotensin-System und Aldosteron hingewiesen. Unbestritten ist, dass A-II über AT₁-Rezeptoren der Zellen der Zona glomerulosa die Aldosteronfreisetzung steuert²⁰⁴. Die Bezeichnung >RAAS< mag implizieren, dass Renin und A-II eine notwendige Voraussetzung für die Aldosteronfreisetzung darstellen und A-II die dominierenden bzw. einzige Aldosteron freisetzende Substanz ist. Einige Untersuchungen deuten daraufhin, dass eine erhöhte Aldosteronfreisetzung in Folge einer Natriumrestriktion (natriumarme Ernährung) fast ausschließlich auf eine gleichzeitig erhöhte Renin- und A-II-Freisetzung zurückzuführen war, denn eine ACE-Hemmung oder AT₁-Rezeptorblockade konnte einen Anstieg der Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) in diesem Zusammenhang verhindern^{109,190,192}. Sie leiteten daraus eine dominierende bzw. essentielle Rolle des A-II bei der Stimulation der Aldosteronfreisetzung ab. Allerdings führte die ACE-Hemmung bzw. AT₁-Rezeptorblockade weder unter „normaler“ noch unter natriumarmer Ernährung zu einer kompletten Blockierung der Aldosteronfreisetzung. Somit muss hier zusätzlich eine A-II-unabhängige, basale Aldosteronfreisetzung vorliegen. Derzeit sind über 20 verschiedene Substanzen identifiziert worden, welche die Aldosteronfreisetzung steuern können, auch wenn ihr physiologischer Stellenwert im Einzelnen nicht abschließend geklärt ist¹²³. Insbesondere die extrazelluläre Kaliumkonzentration spielt hier eine zentrale Rolle^{45,203,204}. Es konnte gezeigt werden, dass unter bestimmten pathophysiologischen Zuständen die A-II-unabhängigen Faktoren sogar potent genug sind, nicht nur eine basale, sondern eine Stimulation der Aldosteronfreisetzung zu bewirken^{14,108,133,187,191}. Derzeit existieren jedoch keine systematischen Untersuchungen, welche die Aldosteronfreisetzung bei vermindertem Natriumbestand in Bezug auf die A-II-abhängige und A-II-unabhängige Aldosteronfreisetzung untersucht haben.

1.2 Fragestellung

Die zentrale Rolle des RAAS bei der Regulation des Natriumbestandes und der des langfristigen Blutdrucks wurde vielfach bei Zuständen mit normalem oder erhöhtem Natriumbestand untersucht^{15,16,39,42,83,153,160,174,177-179}. Durch die systematische Ausschaltung der einzelnen Elemente des RAAS konnte der qualitative und quantitative Beitrag der einzelnen Elemente zur Aufrechterhaltung der Natriumhomöostase und des Blutdrucks in diesem Zusammenhang evaluiert werden. Eine Natriumresorption wird dabei hauptsächlich durch die beiden Elemente A-II und Aldosteron induziert. Der Blutdruck steigt in Folge der Natrium- und Wasserretention (volumenabhängige Blutdruckregulation) an. Umgekehrt kann der Organismus einer durch

andere Ursachen bedingten, anhaltenden und sonst zu einer deletären Situation führenden Natriumretention und Blutdruckanstieg durch Suppression der einzelnen Elemente des RAAS entgegen wirken und den Natriumbestand und MABP auf einem erhöhten Niveau konstant halten^{160,174}. Die Potenz aller Natrium eliminierenden Mechanismen zusammen ist hierbei geringer, als die Wirkung der Suppression der einzelnen Elemente des RAAS allein. In diesem Zusammenhang konnten Untersuchungen zeigen, dass das RAAS keine starre Achse darstellt und unter bestimmten pathophysiologischen Bedingungen die einzelnen Elemente des RAAS, d.h., die Reninfreisetzung und A-II-Bildung auf der einen, die Aldosteronfreisetzung auf der anderen Seite, auch getrennt von einander angesteuert und unabhängig von einander supprimiert werden können. Man könnte dann von einer Dissoziation des RAAS sprechen. Im klinischen Alltag findet sich eine solche Dissoziation beim primären Hyperaldosteronismus. Bei einer erhöhten Plasma-Aldosteronkonzentration (PAC) ist die Plasma-Reninaktivität (PRA) und damit die A-II-Bildung supprimiert, der PAC/PRA-Quotient ist erhöht¹⁵⁰. Dem gegenüber wird die Aldosteronfreisetzung trotz erhöhter PRA und A-II-Konzentrationen in Folge einer experimentell längerfristigen Reduktion des renalen Perfusionsdruckes (experimentelle Simulation einer Nierenarterienstenose), bereits nach 24 Stunden supprimiert^{153,160,174}. Die Suppression der Aldosteronfreisetzung wirkt einer anhaltenden Natrium- und Wasserretention und Blutdrucksteigerung entgegen („pressure escape“)¹⁷⁴. In diesem Zusammenhang kann nur durch die Suppression der Aldosteronfreisetzung durch den erhöhten Natriumbestand ein weiterer Anstieg des Natriumbestandes und des Blutdruckes¹⁷⁸ verhindert werden.

Bei den bisher beschriebenen Untersuchungen war der Natriumbestand jedoch entweder normal oder experimentell erhöht gewesen. Es existieren derzeit keine systematischen Untersuchungen über die Rolle der einzelnen Elemente des RAAS in Bezug auf die langfristige Regulation des Blutdrucks bei primär vermindertem Natriumbestand. Es existieren ebenfalls keine Untersuchungen, ob die Mechanismen der volumenunabhängigen Blutdruckregulation den Volumenmangel infolge eines vermindertem Natriumbestandes voll oder nur teilweise kompensieren können. Eine Verminderung des Natriumbestandes führt bekanntermaßen zu einer massiven Stimulation der Reninfreisetzung (s.o.)^{12,14,81,177}. Somit lässt sich vermuten, dass das RAAS am Wiederausgleich eines Natriumbestandsdefizits maßgeblich beteiligt ist. Der mögliche Beitrag der einzelnen Elemente des RAAS zum Ausgleich des Natriumbestandsdefizits wurde bisher ebenfalls nicht geklärt.

Die systematische, schrittweise Unterbrechung des RAAS durch eine ACE-Hemmung bzw. durch die Gabe eines ACE-Hemmers in Kombination mit einem Aldosteronantagonisten nach primär erzeugtem Natriumbestandsdefizit soll dazu dienen die folgende Fragen zu klären:

1. In welchem Maße können die Mechanismen der volumenunabhängigen Blutdruckregulation das Volumendefizit bei vermindertem Natrium- und Wasserbestand kompensieren?
2. Welchen Beitrag leisten die einzelnen Elemente des RAAS in diesem Zusammenhang?
3. Welchen qualitativen und quantitativen Anteil besitzen die einzelnen Elemente des RAAS beim Wiederausgleich des Natriumbestandsdefizits? Ist in diesem Zusammenhang eine A-II-unabhängige Aldosteronfreisetzung zu beobachten?
4. Welche Rolle spielen die verschiedenen Mechanismen der Reninfreisetzung in diesem Zusammenhang?
5. Welche Konsequenz hat eine komplette Blockierung des RAAS in Bezug auf die Blutdruckregulation und in Bezug auf den Elektrolyt- und Wasserhaushalt?

1.3 Methodische Voraussetzungen /

Gründe für die Wahl der Methodik und des vorliegenden Versuchsmodells

Zur Beantwortung der oben genannten Fragestellung wurde aus mehreren Gründen die von Reinhardt et al. etablierte Methode zur längerfristigen Bilanzuntersuchung an frei laufender Hunde gewählt^{15,16,139,159,177}. Es ist bekannt, dass eine Narkose und Stress im Rahmen einer Operation die Regulationsmechanismen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes sowie auch die Reninfreisetzung massiv beeinflussen (s. Postaggressionsstoffwechsel). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit der Untersuchung an wachen Tieren. Sog. Tischversuche mit chronisch instrumentierten, wachen Tieren sind aus mehreren Gründen nicht geeignet: Einstellvorgänge wie die des Blutdrucks oder des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes, wie an den Untersuchungen zum „pressure escape“¹⁷⁴ gezeigt, können mehr als 24 Stunden, unter Umständen Tage in Anspruch nehmen. Die bei Tischversuchen maximale Untersuchungszeit von ca. 4-6 Stunden reicht daher nicht aus. Die dauerhafte Anwesenheit der Untersucher, sowie die Messgeräte und Apparaturen und die starke Restriktion des Bewegungsfreiraumes der Tiere stellen ebenfalls erhebliche Stressfaktoren für die Tiere dar, was wiederum zu einer Beeinflussung der Regulationsmechanismen der Reninfreisetzung führt. Auf Grund dessen wurde eine Methodik gewählt, die eine Untersuchung

- a) über einen Zeitraum von 4 Tagen
- b) an wachen und
- c) freilaufenden Tieren (hier: Hunden) ermöglicht.

Die Unterbringung der Versuchstiere erfolgte dabei in einem abgeschlossenen, vollklimatisierten Raum mit konstanten Umweltbedingungen (konstanter Raumtemperatur, fester Tag-Nacht-

Rhythmik), getrennt von den Labor- und Überwachungsräumen, den Untersuchern und den Messgeräten. Über ein von Reinhardt et al. entwickeltes Schlauch-Rollensystem (s. Material und Methodik) erfolgten sämtliche Blutentnahmen, die Urinsammlung, die Messung der Hämodynamik und die Gabe von Infusionen von einem benachbarten Raum aus, ohne Störung der Tiere.

Nach Erzeugen eines Natriumbestandsdefizits kommt es zu einer raschen Umverteilung von Elektrolyten und Wasser zwischen dem intra- und extrazellulären Raum¹⁵³. Dilutionsverfahren sind zur Erfassung von (auch nur geringen) Änderungen der Natrium-, Kalium-, und Wasser-Bestände über einen Zeitraum von 4 Tagen nicht geeignet. Einzig anhand von Bilanzuntersuchungen können Aussagen über Änderungen der Gesamtkörperbestände in der geforderten hohen zeitlichen Auflösung und Präzision getroffen werden. Hierfür muss die genaue Natrium-, Kalium- und Wasser-Zufuhr bekannt sein und deren Ausfuhr kontinuierlich gemessen werden. Zur Ausfuhr zählen auch die extrarenalen Verluste, die messtechnisch schwer erfassbar sind. Durch eine hohe Standardisierung der Versuchsabläufe und durch konstante Umweltbedingungen können die extrarenalen Verluste innerhalb und zwischen den einzelnen Versuchsprotokollen konstant gehalten werden. Es wurde auf eine vollständige orale Futteraufnahme innerhalb einer vorgeschriebenen Zeit geachtet, zudem waren die Natrium-, Kalium- und Wasserzufuhr standardisiert und körperrgewichtsadaptiert, um eine ebensolche Standardisierung und Vergleichbarkeit der untersuchten Regelvorgänge zu erhalten. Durch gleichzeitige, kontinuierliche Messung der renalen Ausscheidung von Wasser und Elektrolyten ist das Erstellen von 24h-Bilanzen über einen längeren Zeitraum (4 Tage) möglich und Änderungen der Natrium-, Kalium- und Wasserbestände werden quantitativ erfasst.

In der folgenden Arbeit sollen die Zusammenhänge zwischen dem Natrium- und Wasserhaushalt und der langfristigen Blutdruckregulation und in diesem Zusammenhang die Rolle des RAAS bei primär vermindertem Natriumbestand untersucht werden. Dass der Natriumbestand eine vom Körper geregelte Größe darstellt, ist seit längerem bekannt^{63,154,158,160,177,182,188}. Aus Bilanz-Untersuchungen geht hervor, dass eine alleinige salzarme Ernährung bei Hunden nicht zu einer signifikanten Verminderung des Natriumbestandes führt^{6,177}. Diese Befunde passen zu dem von Strauss, Hollenberg und Simpson entwickelten Modell zur Regulation des Natriumbestandes^{70,182,188}. Sie gehen von einem „basalen Natriumbestand“ des Körpers aus. Dieser entspricht dem „set-point“ des Systems. Bei einer täglichen, durchschnittlichen, natriumreichen Ernährung befindet sich der Natriumbestand oberhalb des basalen set-points. Dieses über dem basalen Bestand befindliche Natrium wird als sog. „Extra-Natrium“ bezeichnet. Wird die tägliche natriumreiche auf eine natriumarme Ernährung reduziert, wird diese geringe zugeführte Menge

Natrium mit dem Urin wieder ausgeschieden. Das Extra-Natrium wird dadurch reduziert, der basale Natriumbestand wird jedoch nicht unterschritten. Es entsteht kein echtes Natriumbestandsdefizit. Im Unterschied dazu wird die selbe geringe Menge Natrium fast vollständig retiniert, wenn zuvor der Natriumbestand unter den basalen Natriumbestand gesenkt wurde. Reinhardt et al.⁵ hatten mittels einer Peritonealdialyse (PD) wachen Hunden eine definierte Menge Natrium entzogen und beobachteten, dass die Hunde an den folgenden Tagen so lange das ihnen über die Nahrung zugeführt Natrium retinierten, bis exakt die durch die Peritonealdialyse entzogenen Menge Natrium quantitativ wieder ausgeglichen war. In diesem Zusammenhang prägten sie den Begriff des „Natrium-Gedächtnisses“. Die genannten Untersuchungen machten zum einen deutlich, dass der Natriumbestand eine vom Körper geregelte Größe darstellt, zum anderen, dass eine Peritonealdialyse ein probates Mittel zur Senkung des Natriumbestandes unter den basalen set-point darstellt.

Modell zur Regulation des Gesamtkörpernatriumbestandes

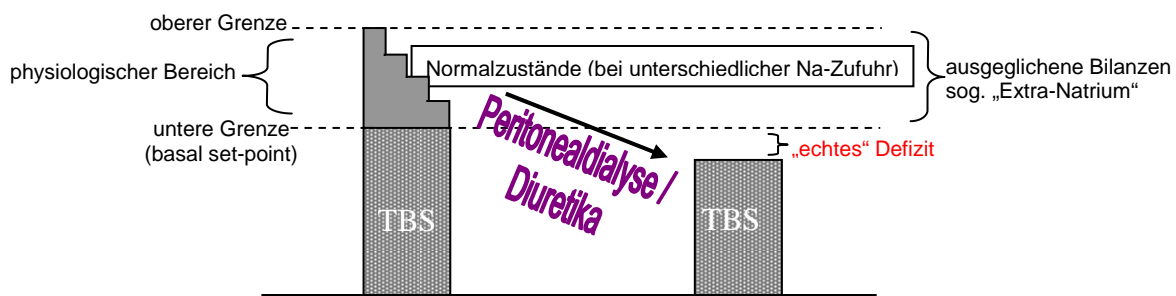


Abb. 1.3: Schematische Darstellung: Der Gesamtkörpernatriumbestand als geregelte Größe

TBS = total-body-sodium = Natriumbestand

Zum Erzeugung eines echten Natriumbestandsdefizits stehen theoretisch auch andere Möglichkeiten zur Auswahl: Mittels ausreichend wirksamer Diuretika kann durch Forcieren der Natriumausscheidung der Natriumbestand unter den basalen Natriumbestand gesenkt werden. Allerdings wird hierbei die tubuläre Nierenfunktion massivst beeinträchtigt. Zudem ist die Natrium-Ausscheidung sowie die Ausscheidung anderer Elektrolyte praktisch nicht steuerbar. Es kann demzufolge kein vorher festgelegtes Natriumbestandsdefizit erzeugt werden. Schleifendiuretika üben ihre Wirkung durch Hemmung des Na-K-2Cl-Kotransporter aus. Dieser spielt jedoch auch beim MD-Mechanismus und bei der über den MD-Mechanismus vermittelten Reninfreisetzung (s.o.) eine wichtige Rolle. Aus den genannten Gründen erscheint die Verwendung von Diuretika zur Erzeugung eines echten Natriumbestandsdefizit daher nicht sinnvoll. Mittels einer Peritonealdialyse (PD) kann ohne primäre Beeinflussung der tubulären

Nierenfunktion der Natriumbestand gezielt um einen bestimmten Betrag vermindert und zuverlässig ein echtes Natriumbestandsdefizit erzeugt werden. Es führt zudem nicht zu einer primären Änderung der Bestände anderer Elektrolyte^{5,78,81,177}. Aus diesen Gründen und der langjährigen Erfahrungen in der Arbeitsgruppe, wurde in dieser Arbeit die Methode der PD zur kontrollierten Reduzierung des Natriumbestandes gewählt.

Um die genannten Zusammenhänge zwischen dem Natrium- und Wasserhaushalt und der Blutdruckregulation in diesem Zusammenhang möglichst genau untersuchen zu können, reicht eine alleinige Messung der Parameter am Anfang und am Ende der Untersuchungen nicht aus. Stattdessen müssen die Zeitintervalle zwischen den Messungen möglichst kurz gewählt werden. Über den gesamten Versuchszeitraum von 4 Tagen erfolgt die Messung des Harnvolumens und der Na⁺- und K⁺-Ausscheidung daher in 20-Minuten Perioden, die Registrierung der Hämodynamik (Blutdruck und Herzfrequenz) kontinuierlich, die Messung der Na⁺-, K⁺-, Aldosteronkonzentration und der Plasma-Renin-Aktivität im Plasma alle 4 Stunden.

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1. Versuchstiere

2.1.1 Art und Anzahl

Alle Versuche wurden mit behördlicher Genehmigung (LAGeSi Berlin, AZ 0254/02) an reinrassigen weiblichen Beaglehunden durchgeführt. Sämtliche Tiere wurden von autorisierten Züchtern bezogen, waren geimpft und wurmfrei, hatten ein Alter zwischen 1 bis 2 Jahren bei einem minimalem Körpergewicht von 11,0 kg und einem maximalem von 18 kg. Im Mittel lag das Körpergewicht aller untersuchten Hunde bei 13,5 kg.

2.1.2 Versuchsphasen und Tierhaltung

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde in der folgenden Tabelle exemplarisch dargestellt, welche einzelnen Phasen von einem Versuchstier durchlaufen wurden und in welchem zeitlichen Ablauf diese zueinander standen. Die Zeitangaben in der Tabelle verstehen sich als Mindestangaben. Die Dauer der einzelnen Phasen wurden individuell von dem Versuchstier abhängig variiert, d.h., sie wurden bei Bedarf verlängert. Im folgenden Text werden nun die Phasen abschnittsweise in chronologischer Reihenfolge abgehandelt.

Mo.	Wo.	Maßnahme	Mo.	Wo.	Maßnahme
1	1	Aufnahme	4	1	Versuch (Protokoll X)
	2	Gewöhnung		2	versuchsfreies Intervall
	3	``		3	``
	4	Selektion		4	Vorbereitung
2	1	Training	5	1	Versuch (Protokoll Y)
	2	``		2	versuchsfreies Intervall
	3	``		3	``
	4	OP (Instrumentierung)		4	usw. s.o.
3	1	Erholung, versuchsfrei	...	1	Deinstrumentierung
	2	``		2	Erholung
	3	``		3	``
	4	Vorbereitung		4	Abgabe an Privat

Abb. 2.1.2: chronologische Abfolge der Versuchsphasen

2.1.2.1 Phase I: Gewöhnungs-, Selektions- und Trainingsphase

Die Selektions- und Trainingsphase entsprach einer sog. Probezeit von mindestens vier Wochen, innerhalb derer die Versuchstiere von erfahrenen Tierpflegerinnen in einem standardisierten Verfahren beobachtet und getestet wurden. Während dieser Zeit wurden die Hunde außerdem auf die Versuche und die damit verbundenen Umstände vorbereitet, um sicherzustellen, dass die Versuchsbedingungen von den Hunden gut toleriert werden. Nach den folgenden Kriterien wurden die Hunde getestet und trainiert:

- Gewöhnung an das Pflegepersonal, Untersucher und Umgebung
- Tolerierung von: Blasenkatheter, rektaler Temperaturmessung, Wägung, Fütterung über Magensonde, Tragen einer Segeltuchjacke mit Drehkupplung¹⁵⁹
- Spontane, zügige Futteraufnahme
- Sozialverhalten im Hundekollektiv

Die für geeignet erachteten Hunde wurden nun den unten beschriebenen vorbereitenden Operationen unterzogen.

2.1.2.2 Phase II: Operationen, Narkose, Instrumentierung, Deinstrumentierung

Sämtliche Versuche wurden an wachen, freilaufenden, chronischinstrumentierten Beagle-Hunden durchgeführt. In einer vorbereitenden Operation wurden die für die Versuche notwendigen Instrumente (s. Abb: 2.1.2.2) implantiert. Dazu gehörten zwei Katheter, die über die rechte bzw. linke A. femoralis communis eingeführt wurden. Ein speziell entwickelter Katheter wurde in die Harnblase implantiert und ermöglichte damit eine kontinuierliche Harnsammlung. Diese implantierten Instrumente verblieben einige Monate bis das Versuchstier nach Durchlaufen verschiedener Versuchsprotokolle in einer abschließenden Operation deinstrumentiert wurde. Alle operativen Eingriffe wurden unter aseptischen Bedingungen in einem Operationssaal durchgeführt. Vor der jeweiligen Operation wurde der Hund im Operationsgebiet großzügig rasiert, anschließend geduscht und das Operationsfeld ausgiebig desinfiziert. Die Einleitung der Narkose erfolgte mit Methohexital i.v. (8 mg/kg KG). Nach endotrachealer Intubation wurden die Tiere mit einem Beatmungsgerät (Siemens Ventilator 711, Siemens-Elenna, Solna, Schweden) kontrolliert beatmet. Zum Aufrechterhalten der Narkose wurde ein mit Isofluran® (0,8 bis 1,5 Vol%) versetztes Lachgas-Sauerstoff-Gemisch (im Verhältnis 2:1) verwendet. Über die Dauer der Narkose wurde eine i.v. Infusion mit 5%iger Glucoselösung (Glukose G5®, B. Braun, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) angelegt. Zur Narkosesteuerung und Überwachung wurde während der gesamten Dauer der Operation das

endexpiratorische CO₂, die Respirationsfrequenz und mittels eines Pulsoximeters die Sauerstoffsättigung gemessen und kontrolliert. Gegen postoperative Schmerzen wurde bei Bedarf das Analgetikum Rompun® 2 % (Lösung für Gebrauch an Tieren, Bayer-Leverkusen, Deutschland) eingesetzt.

Durch eine mediane Laparatomie (ca. 10-15cm langer Hautschnitt) entlang der Linea alba wurde der Zugang zur Harnblase geschaffen. Diese wurde nun exponiert und ein speziell entwickelter Silikon-Katheter¹⁵⁹ im Bereich der Harnblasenspitze in die Harnblasenwand implantiert. Das periphere Ende des Blasenkatheters wurde dann subkutan von der Harnblase aus bis in die Nackenregion vorgeschoben und dort ausgeleitet. Hieran anschließend erfolgte ein schichtweiser Wundverschluss.

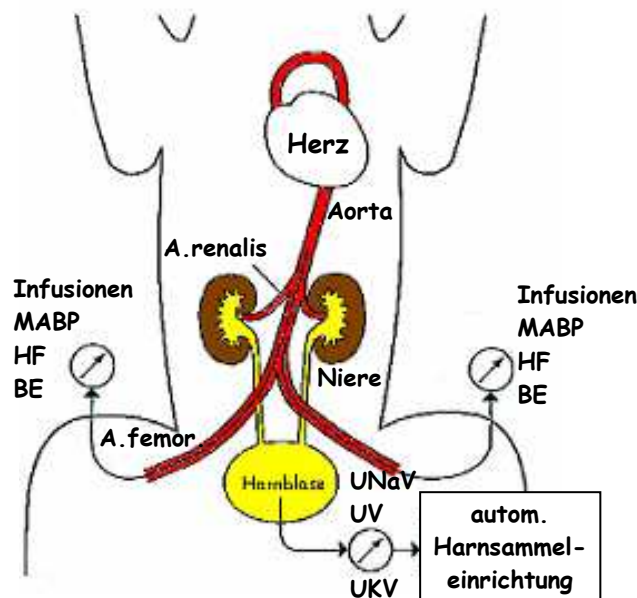


Abb. 2.1.2.2: schematische Darstellung der Instrumentierung

MABP = mittlerer arterieller Blutdruck; HF = Herzfrequenz; BE = Blutentnahme; UV = Urinzeitvolumen
UNaV = Natriumausscheidung/Zeit und Volumen; UKV = Kaliumausscheidung/Zeit und Volumen

Über ca. 3 cm große Hautschnitte auf beiden Seiten der Inguinalregion wurden zwei arterielle Katheter aus Polyurethan (Rehau AG Hannover, Deutschland, äußerer Durchmesser 1,7 mm, innerer Durchmesser 1,0 mm) über die rechte bzw. linke Arteria femoralis in die Aorta implantiert, wobei die linke Katheterspitze zentral, die rechte Katheterspitze peripher der Abgänge der Aa. renales zu liegen gekommen sind (s.Abb. 2.1.2.2). Auch hier wurden die peripheren Katheterenden subkutan bis in die Nackenregion geführt und dort ausgeleitet, anschließend wurden die Hautschnitte versorgt. Der linke Femoralis-Katheter wurde für die unter Pkt. 2.2.2 beschriebenen Dauerinfusionen benutzt, der rechte für die Entnahme von Blutproben. Gleichzeitig konnte über beide Katheter der systolische und diastolische

Blutdruckwert gemessen werden. Die Deinstrumentierung wurde erst nach Abschluss der Versuche durchgeführt (s. Abb. 2.1.2), wird aber aus Gründen der Übersichtlichkeit an dieser Stelle erwähnt. In einer erneuten Operation in Vollnarkose nach obigem Schema, wurden sämtliche chronischen Implantate operativ entfernt. Dadurch konnte ein Weiterleben der Hunde ohne Beeinträchtigung des Wohlbefindens erreicht werden, so dass die Tiere nach einer kurzen Erholungsphase an Privathände abgegeben werden konnten.

2.1.2.3 Phase III: versuchsfreie Intervalle

Während den mindestens 2-wöchigen intermittierenden, versuchsfreien Intervallen wurden die Hunde nachts einzeln in 9 m² großen Boxen gehalten, um eine Manipulation der implantierten Katheter durch Artgenossen zu verhindern. Die Hälfte des Tages konnten sie miteinander in einem gemeinsamen Laufraum verbringen, wo sie von Tierpflegern betreut und beaufsichtigt wurden. Die Pflege der Hunde begann um 7⁰⁰ Uhr morgens mit der Katheterpflege, der Dokumentation der wichtigsten medizinischen und biologischen Parameter und der Reinigung der Hundeböden. Gefüttert wurde 1 x täglich am Morgen gegen 8³⁰ Uhr in der individuellen Box, um die Nahrungsaufnahme jedes einzelnen Hundes sicher zu stellen. Wasser stand den Hunden ad libitum zur Verfügung. Alle zwei Tage wurden die Hunde gewogen, ihre Körpertemperatur gemessen und ihre Blutkörperchengeschwindigkeit (BSG) bestimmt, sowie eine Urinprobe aus dem Blasenkatheter ihrem Aussehen nach beurteilt. Sämtliche Daten wurden in den individuell angelegten Protokollheften dokumentiert. Besondere Vorkommnisse wie z.B. nicht gefressene Nahrung, Durchfallerkrankungen, Erbrechen, Läufigkeit, Gabe von Medikamenten z.B. Antibiotika, erhöhte Infektionsparameter (Fieber, erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), ...), wurden ebenfalls vermerkt und waren zugleich Ausschlusskriterien für den Versuch, zu dem nur Hunde in sehr gutem gesundheitlichen Zustand zugelassen wurden.

Besonderes Augenmerk lag auf der Vermeidung einer Katheterinfektion, welche durch standardisierte Maßnahmen in der Pflege und Tierhaltung erreicht werden konnte. Postoperativ trugen die Hunde zum Schutz der Katheter Segeltuchjacken, unter denen die Katheterenden verborgen wurden und somit für die Hunde und deren Artgenossen unerreichbar und zugleich von Verschmutzungen geschützt waren. Es erfolgte täglich ein aseptischer Verbandswechsel mit Applikation von Polyvidon-Jod-Salbe (Braunovidon®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) auf die Katheteraustrittsstellen und eine Desinfektion der Katheterverschlusskappen mit Polyvidon-Jod-Lösung in 50%igem Propanol (Braunoderm®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Anschließend wurden die Katheterenden in Schlaufen gelegt, mit Leukosilk-Pflaster fixiert und unter der Segeltuchjacke verpackt, so dass

sie nicht seitlich am Hund herunterhängen konnten. Zudem wurden die Katheter 3x/Woche nach einer in der Arbeitsgruppe speziell entwickelten Methode¹³⁸ zur Vermeidung von Infektionen („antibiotic-lock technique“) mit einer Lösung aus Gentamicin (20 mg/ml) (Gentamicin® Beecham, Beecham-Wuelfing, Neuss, Deutschland) und Alpha-Chymotrypsin (225 U/ml) (Alpha-Chymotrase®, Laboratoires Leurquin, Paris, Frankreich) gefüllt. Die zur Blockung der Katheter notwendige Menge entsprach dabei der jeweiligen Katheterkapazität. Im Falle einer Infektion wurde dem betroffenen Hund systemisch Antibiotika verabreicht, was zu einem Ausschluss des Tieres von den Versuchen führte. Damit die Versuchsergebnisse nicht durch die Wirkung/Nebenwirkungen von Medikamenten/Wirkstoffen beeinflusst werden konnten, wurden während der Versuchsphase keine, es sei denn, das jeweilige Versuchsprotokoll erforderte dies, Wirkstoffe verabreicht (hier: Captopril ® und Spironolacton®)

2.1.2.4 Phase IV: Vorbereitungsphase

Die Vorbereitungsphase begann 5 Tage vor der Versuchsphase. Der Tagesablauf, die Tierhaltung, d.h., die Umweltbedingungen, die hygienischen Maßnahmen und die Katheterpflege entsprachen denen der versuchsfreien Intervalle (s. Pkt. 2.1.2.3), einzig und allein die Ernährung des Versuchstiers unterschied sich von der des versuchsfreien Intervalls. In der Vorbereitungsphase entsprach die gefütterte Diät der Diät des ersten Versuchstages, allerdings hatten die Hunde in der Vorbereitungsphase freien Zugang zu Wasser im Gegensatz zur Versuchsphase, in der die Tiere eine festgelegte Menge Flüssigkeit erhielten. Der Begriff Diät beschreibt die auf das Körpergewicht bezogene Ernährung definierter Zusammensetzung und Menge (s. Pkt. 2.2.1). Die Dokumentation der wichtigsten biologischen Parametern in der Vorbereitungsphase unterschied sich nicht von der der versuchsfreien Intervalle und wurde nach den selben Standards durchgeführt. Auch die hygienischen Maßnahmen und die Katheterpflege unterschieden sich in ihrer Durchführung und Häufigkeit nicht von denen der versuchsfreien Intervalle.

2.1.2.5 Phase V: Versuchsphase

Die Reihenfolge der vorgesehenen Versuchsabläufe (s. Pkt 2.2) wurde randomisiert, wobei die Versuchsdauer jeweils 96 Stunden betrug. Um die Tiere während der Versuche nicht durch den Untersucher zu stören, war eine räumliche Trennung von Laborbetrieb und Versuchsraum nötig. Daher wurden sämtliche Blutabnahmen, die Urinsammlung und die Messung des arteriellen Blutdrucks und Gabe der Infusionen vom Nebenraum aus vorgenommen. Die Katheter der Hunde mussten über ein Schlauchsystem verlängert und über ein Rollensystem in den

Nebenraum geführt werden. Dafür wurde eine speziell entwickelte Drehkupplung¹⁵⁹ an der Segeltuchjacke befestigt, welche die Katheterenden des Hundes mit den Verlängerungen zum Nebenraum verband und gleichzeitig eine freie Beweglichkeit der Tiere ermöglichte.

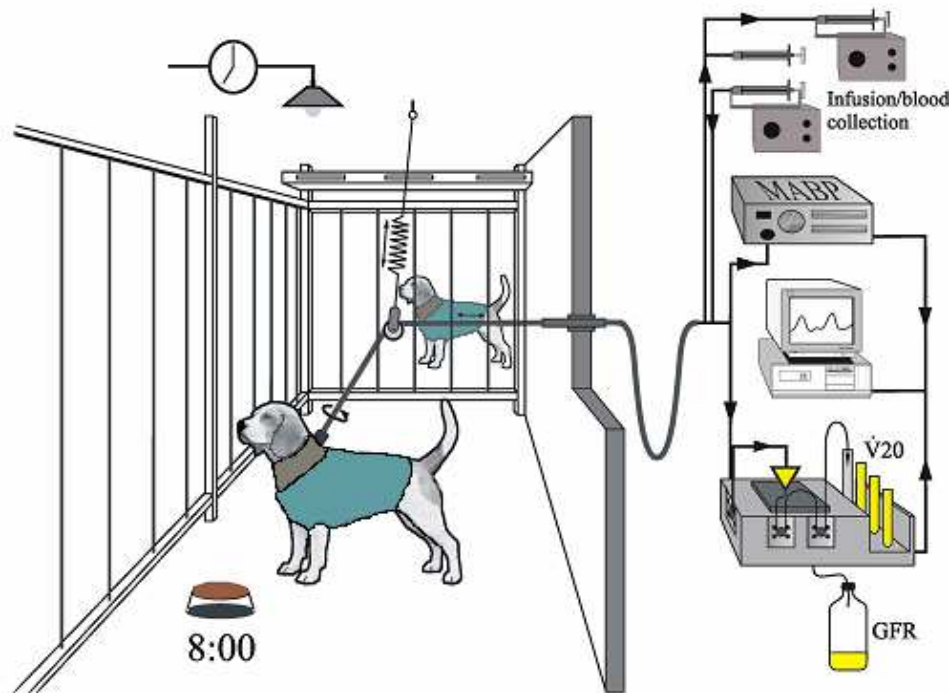


Abb. 2.1.2.5: Versuchsaufbau

MABP = mittlerer arterieller Blutdruck; **V₂₀** = Fraktionssammlung der 20-min. Urinproben;
GFR = 4h-Sammlung zur Bestimmung der GFR

Um genaue Berechnungen der Wasser- und Elektrolytbilanzen machen zu können, wurde besonderer Wert auf die Standardisierung der Umwelt-, Tierhaltungs- und Ernährungsbedingungen gelegt. Für die Versuche wurden die Hunde in einen fensterlosen Versuchsraum gebracht und dort einzeln in 9 m² großen Versuchsboxen gehalten. Die Raumtemperatur der klimatisierten Räume betrug 21°C, die Luftfeuchtigkeit ca. 55%. Über eine Zeitschaltuhr wurde ein gleichbleibender Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden Tag und 12 Stunden Nacht (6:00 bis 18:00 Uhr Tag, 18:00 bis 6:00 Uhr Nacht) mit jeweils einer 15-minütigen Dämmerperiode gewährleistet. An den Versuchstagen begann die Pflege der Hunde um 8:10 Uhr nach den oben beschriebenen Standards mit der täglichen individuellen Dokumentation der wichtigsten biologischen Parameter (Temp., BSG, Gewicht), der täglichen Katheterpflege und der Reinigung der Versuchsboxen. Am ersten Versuchstag wurden die Katheterenden an die bereits erwähnte Drehkupplung angeschlossen und blieben die gesamte Dauer der Versuchsphase - auch während der Katheterpflege - an diese angeschlossen. Einmal täglich um 8:30 Uhr erhielten die Tiere eine Standard-Diät gemäß dem entsprechendem Ernährungsschema (s. Pkt. 2.2). Wurde das Futter nicht innerhalb von 15 min. spontan gefressen,

so wurde es dem Hund über eine Magensonde zugeführt, um eine vollständige Aufnahme des Futters innerhalb einer vorgegebenen Zeitspanne zu garantieren. Dies war nötig, um die Bilanzen und Tagesverläufe genau zu erfassen und vergleichbar machen zu können. Die Hunde hatten über die gesamte Dauer der Versuche bis auf die verfütterte Diät, keinen darüber hinaus gehenden Zugang zu Wasser oder Futter. Um 9:00 war die Pflege der Hunde, die Säuberung der Versuchsboxen und die Vorbereitung der Versuche abgeschlossen. Der Versuchsraum wurde dann bis zum nächsten Morgen nicht mehr betreten, allerdings konnten die Hunde vom Nebenraum aus mit Hilfe von zwei Kameras überwacht werden. Um soziale Kontakte unter den Hunden zu ermöglichen, waren immer mindestens zwei Hunde (Beisitzer) in benachbarten Versuchsboxen im Versuchsraum untergebracht. Die Tiere blieben außerdem über die gesamte Versuchsdauer, d.h. auch während der morgendlichen Pflege, Fütterung und Messungen, an die automatisierte Messeinrichtung angeschlossen.

Die wichtigsten biologischen Parameter wie Temperatur, BSG und Körpergewicht wurden nicht wie in den versuchsfreien Intervallen nur alle zwei Tage, sondern täglich ermittelt und in den individuellen Protokollheften festgehalten. Sämtliche hygienischen Maßnahmen, sowie die Katheterpflege wurden ebenfalls täglich vorgenommen. Die Maßnahmen entsprachen dabei den oben angeführten Standards mit einer Änderung bei der Katheterpflege. Da die Katheterenden an die Drehkupplung angeschlossen waren und über diese kontinuierlich Infusionen gegeben wurden, entfiel das Spülen und Füllen der Katheter nach der „antibiotic-lock technique“.

2.2 Versuchsablauf

Es wurden insgesamt 4 verschiedene Versuchsprotokolle untersucht. Der Untersuchungszeitraum pro Versuch betrug 96 Stunden. Die äußeren Bedingungen, wie Tierhaltung, Pflege, Tagesablauf, Raumtemperatur, Datenerfassung etc. waren in allen Versuchsdurchläufen gleich, um eine Vergleichbarkeit der Daten und im besonderen eine Konstanzhaltung der extrarenalen Flüssigkeits- und Elektrolytverluste zu erreichen. Das Ernährungsregime (Diät) unterschied sich in keinem der Versuchsdurchläufe (s. Pkt. 2.2.1). Das Protokoll 1 diente als Kontrollprotokoll, in den Protokollen 2, 3 und 4 wurde durch eine Peritonealdialyse zu Beginn des ersten Versuchstages der Gesamtkörpernatriumbestand um 3,5 mmol/kg KG erniedrigt. Im Protokoll 3 (ACE-I) wurde ab dem 2. Tag zusätzlich Captopril verabreicht, im Protokoll 4 (ACE-I + MR-A) ab dem 2. Tag Captopril und Spironolacton.

2.2.1 Ernährung

Ausgehend von einer Basis-Diät während der versuchsfreien Intervalle, wurde je nach Protokoll lediglich der Natriumgehalt des Futters variiert. In der 5-tägigen Vorbereitungsphase wurde die selbe Diät gefüttert, wie am ersten Tag des darauf folgenden Versuches. Die Hunde hatten außer in der Versuchsphase freien Zugang zu Wasser. Während der Versuche wurden unterschiedliche Infusionen gegeben, die bei der Berechnung der Flüssigkeitsbilanzen berücksichtigt wurden (s. Pkt. 2.2.3.). Der Energiegehalt der Nahrung betrug 280 kJoule/kgKG.

→ Diät in den versuchsfreien Intervallen

In der versuchsfreien Zeit erhielten die Tiere keine spezifische Diät, das Futter bestand aus Reis und magerem Hackfleisch. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser.

→ Diät in der Vorbereitungsphase (natriumarme Vorernährung):

Nahrungsbestandteile	Menge
Reis	58 g/kg KG
mageres Hackfleisch	12 g/kg KG
destilliertes Wasser	ad libitum

↳ darin enthalten sind: 0,5 mmol Na⁺ und
1,5 mmol K⁺/kg KG

+ hinzugefügt wurden: 2 mmol K⁺/kg KG

Natriumgehalt gesamt	0,5 mmol/kg KG
Kaliumgehalt gesamt	3,5 mmol/kg KG

→ Diät in der Versuchsphase Tag 1-2

NaCl-arm (salzarm) = [0,5-Diät]:

Nahrungsbestandteile	Menge
Reis	58 g/kg KG
mageres Hackfleisch	12 g/kg KG
destilliertes Wasser	91 ml/kg KG

↳ darin enthalten sind: 0,5 mmol Na⁺ und
1,5 mmol K⁺/kg KG

+ hinzugefügt wurden: 2 mmol K⁺/kg KG

Natriumgehalt gesamt	0,5 mmol/kg KG
Kaliumgehalt gesamt	3,5 mmol/kg KG

→ Diät in der Versuchsphase Tag 3-4

NaCl-reich (salzreich) = [5,5-Diät]:

Nahrungsbestandteile	Menge
Reis	58 g/kg KG
mageres Hackfleisch	12 g/kg KG
destilliertes Wasser	91 ml/kg KG

↳ darin enthalten sind: 0,5 mmol Na⁺ und
1,5 mmol K⁺/kg KG

+ hinzugefügt wurden: 5 mmol Na⁺/kg KG
2 mmol K⁺/kg KG

Natriumgehalt gesamt	5,5 mmol/kg KG
Kaliumgehalt gesamt	3,5 mmol/kg KG

2.2.2 Versuchsprotokolle

Protokoll (Kontrollgruppe):

Die Kontrollgruppe bestand aus 8 Hunde. In der Vorbereitungsphase erhielten die Tiere eine [0,5-Diät]. In der Versuchsphase wurde an den ersten beiden Tage diese Diät weitergeführt und ab dem dritten Tag auf eine [5,5-Diät] gewechselt.

Protokoll (Intakt):

Zur Versuchsgruppe (Intakt) gehörten 6 Hunde. Das Ernährungsregime entsprach dem der Kontrollgruppe. Am Morgen des ersten Tages der Versuchsphase wurde eine Peritonealdialyse (PD) durchgeführt. Das RAAS war intakt.

Protokoll (ACE-I):

Zur Versuchsgruppe gehörten 6 Hunde. Das Ernährungsregime entsprach dem der Kontrollgruppe. Am Morgen des ersten Tages der Versuchsphase wurde eine Peritonealdialyse (PD) durchgeführt und ab dem 2.Tag zusätzlich der ACE-Hemmer Captopril intravenös verabreicht.

Protokoll (ACE-I + MR-A): Zur Versuchsgruppe gehörten 6 Hunde. Das Ernährungsregime entsprach dem der Kontrollgruppe. Am Morgen des ersten Tages der Versuchsphase wurde eine Peritonealdialyse (PD) durchgeführt wurde. Ab dem Abend des 1.Tages wurde täglich der Aldosteronantagonist Spironolacton per os und ab dem 2.Tag Captopril intravenös verabreicht.

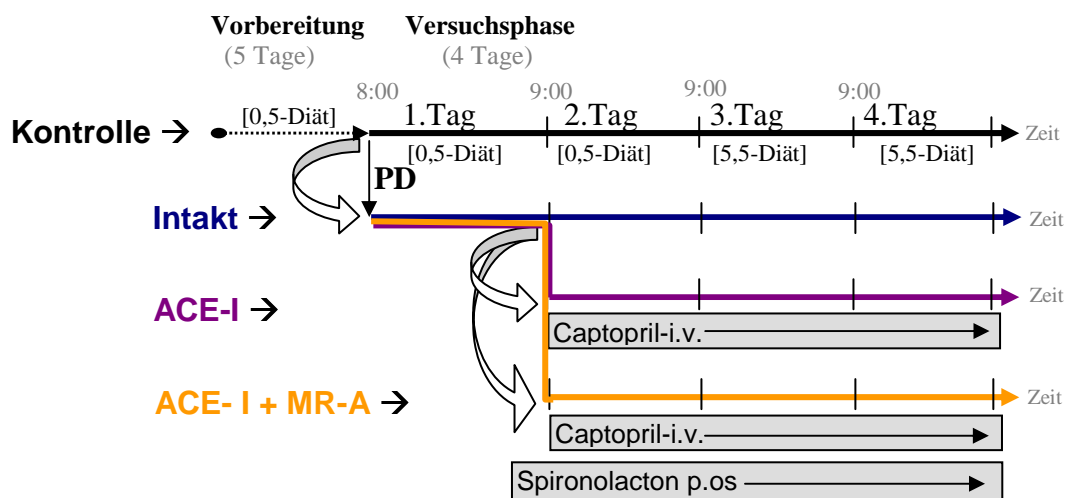


Abb. 2.2.2: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs und der Protokolle

2.2.3 Infusionen, ACE-Hemmung und Aldosteronantagonisierung

Um die Blutgerinnung an der Katheterspitzen des suprarenalen intraarteriellen Katheters zu vermeiden, wurde der Katheter die gesamte Versuchszeit über mit einer Glucose-Heparin-Lösung (20.000 I.E. Heparin in 500 ml Glucose 5%) (Liquemin® N25000, Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland; Glukose G5®, B. Braun, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über eine Perfusorpumpe mit einer Flussrate von 48 µl/min gespült, entsprechend 70 ml/Tag.

Zur Berechnung der Kreatinin-Clearance und damit Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) wurden über den infrarenalen Katheter 4,3g Kreatinin (Kreatininreinsubstanz, E. Merck, Darmstadt, Deutschland) in 60ml der Glucose-Heparin-Lösung (20.000 I.E. Heparin in 500 ml Glucose 5 %) gelöst und mit einer Flussrate von 35 µl/min (50 ml/Tag) infundiert. Zu Beginn der Versuchsphase wurde ein Kreatinin-Bolus, um von Beginn an einen genügend hohen Plasmaspiegel zu haben, verabreicht.

Die über die Infusionen zugeführten Flüssigkeitsmengen von 120 ml pro Tag wurden bei der Berechnung der Flüssigkeitsbilanzen berücksichtigt.

Die im Protokoll 3 und 4 nötige Infusion von 7 µg Captopril /kg KG (Bristol-Meyers Squibb GmbH, Regensburg, Deutschland) erfolgte durch Zusatz des Präparates zur Infusionslösung des infrarenalen Katheters. Die Dosierung des ACE-Hemmers wurde mit dem Ziel einer vollständigen Hemmung der Angiotensin-I-abhängigen Angiotensin-II-Bildung und folgenden Angiotensin-II-abhängigen Aldosteronfreisetzung gewählt. Die Vollständigkeit der ACE-Inhibition wurde durch einen fehlenden MABP-Anstieg nach Gabe eines Angiotensin-I-Bolus überprüft. Der selbe Angiotensin-I-Bolus hatte bei nicht blockiertem ACE zu einem drastischen Blutdruckanstieg geführt.

Die Gabe von 300 mg/d Spironolakton p.os (Spironolakton-ratiopharm 50 mg, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) im Protokoll 4 erfolgte wegen des bekannten verzögerten Wirkungseintritts bereits am Abend (21:00 Uhr) des ersten Versuchstages, im weiteren Verlauf 2x pro Tag. Die Dosierung des Aldosteronantagonisten wurde mit dem Ziel einer vollständigen Hemmung der renalen Aldosteronwirkung gewählt. In der Humanmedizin werden zur kompletten Aldosteronblockierung ca. 50 – 100 mg pro Tag verabreicht. Bei der von uns gewählte Dosis von 300 mg pro Tag bei einem Körpergewicht von etwa 15 kg je Versuchstier, muss von einer vollständigen Blockierung der renalen Aldosteronwirkung ausgegangen werden. Eine technische Überprüfung der vollständigen Aldosteronblockierung ist nicht möglich.

2.2.4 Peritonealdialyse

Am Morgen des ersten Versuchstages (in den Protokollen 2, 3 und 4) wurde gegen 8:00 Uhr, also noch vor der Fütterung, eine Peritonealdialyse (PD) zur Reduzierung des Gesamtkörpernatriumbestandes durchgeführt. Dazu wurde die Bauchwand paramedian im linken unteren Drittel einschließlich des Peritoneums mit 5ml Lidocain 1% anästhesiert. Über einen ca. 1 cm großen Hautschnitt wurde ein Polyurethan-Schlauch, dessen distales Ende perforiert war und dessen Außendurchmesser 2,5 cm maß, mit Hilfe eines Trokars in die Bauchhöhle eingeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass der Abschnitt mit der Perforation sicher in der Bauchhöhle lag. Anschließend wurde der PU-Schlauch mit einer Naht fixiert. Innerhalb der ca. nächsten 10 Minuten wurden 1000 ml einer angewärmten (37°C) 5 %-igen Glucose-Lösung (Glukose G5®, B. Braun, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), welche mit 4 mmol Kalium-Chlorid versetzt war über diesen Zugang in die Bauchhöhle einlaufen gelassen. Nach einer Verweildauer von 45 Minuten wurde begonnen, aus dem Dialysat Proben zu entnehmen und sofort die Natrium-Konzentration flammenphotometrisch bestimmt. Hatte die Konzentration eine Höhe erreicht, die rechnerisch einen Natrium-Entzug von 3,5 mmol/kg KG ergab, wurde das Auslaufen des Dialysats eingeleitet. Nach ca. weiteren 15 Minuten waren die 1000 ml Dialysat abgelassen und es konnte abschließend die genaue Menge des entzogenen Natriums bestimmt werden. Sofern erforderlich, wurde mit der folgenden Fütterung zuviel entzogenes Natrium, d.h. bei einem Defizit von $> 3,5$ mmol/kg KG, oral substituiert.

2.3 Messungen und Registrierungen

2.3.1 Arterielle Druckmessung & Herzfrequenzbestimmung

In die an der Segeltuchjacke befestigte Drehkupplung waren piezoresistive Druckaufnehmer (Modell 13PC055G1, Micro Switch, Freeport, IL, USA) integriert. Im Nebenraum erfolgten über die beiden arteriellen Katheter kontinuierlich fortlaufende Blutdruckmessungen. Die Messwerte der Herzfrequenz (HF) und des arteriellen Mitteldrucks (MABP) wurden von einer Messbrücke (HSE Plugsys bus system, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) elektronisch gemittelt und von einem Computer als 1-Minuten-Mittelwerte aufgezeichnet.

2.3.2 Automatische Harnsammlung

Während der gesamten Versuchsdauer erfolgte die Urinsammlung automatisch über ein Rollenpumpensystem¹⁵⁹ mittels eines rechnergesteuerten Fraktionssammlers. Alle 10 Minuten wurde eine Pumpe eingeschaltet, die den Urin aus der Blase absaugte. Bei Erreichen eines

Unterdrucks von -2 bis -5 mmHg in der Blase wurde automatisch ein Ventil in der Drehkupplung geöffnet, das ein weiteres Absaugen von Urin aus der Blase beendete und statt dessen Luft von der Drehkupplung aus durch die Katheterverlängerung saugte. Dadurch konnte die im Todraum des Systems verbleibende Urinmenge auf ein Minimum reduziert werden. Diese Einstellung war geeignet, um eine vollständige Blasenentleerung zu gewährleisten, ohne zu einer Verletzungen oder Blutung der Harnblasenmukosa zu führen.

Das Zeitintervall von 10 min. wurde gewählt, um spontanes Urinieren der Hunde, vor allem postprandial, zu verhindern. Wurde innerhalb einer Sammelperiode mehr als 10 ml Harn abgepumpt, erfolgte die nächste Urinabsaugung bereits nach 5 Minuten. Ein komplettes Sammelintervall erstreckte sich über 20 Minuten. Der in dieser Zeit gesammelte Urin wurde automatisch gewogen, eine kleine Urinprobe in ein 15ml Röhrchen abgefüllt und der Rest in ein 1 Liter großes Sammelgefäß geleitet, welches alle 4 Stunden gewechselt wurde.

2.3.3 Elektrolyt- und Volumenbestimmung des Harns

Am Ende jeder 20-minütigen Sammelperiode wurde die gesammelte Urinmenge automatisch gewogen und so dass Harnzeitvolumen ermittelt. Diese Daten wurden kontinuierlich von einem Computer aufgezeichnet. Unmittelbar nach Abschluss des Versuchstages wurde die Elektrolytbestimmung der fraktionierten Urinproben durchgeführt. Die Messungen der Natrium- und Kaliumkonzentrationen in mmol/l wurden mit Hilfe eines Flammenphotometers (AFM 5052, Firma Eppendorf) durchgeführt.

2.3.4 Blutentnahmen und Blutanalysen

Die Blutentnahmen erfolgten über den suprarenalen Katheter. Nach der Probe um 8:00 Uhr wurde ab 13:00 Uhr in 4-stündigen Intervallen bis um 5:00 Uhr des nächsten morgens weitere Proben entnommen.

Blutentnahmezeiten: 8:00 → 13:00 → 17:00 → 21:00 → 1:00 → 5:00 → 9:00 Uhr ...

Bei jeder Entnahme wurden zunächst 6ml abgezogen und verworfen, da es sich hier um das im Katheter befindliche Volumen handelte und somit Verdünnungseffekte durch die Spüllösung (s. Pkt. 2.2.3) angenommen werden mussten. Die anschließend abgenommenen 9 ml Blut dienten der Durchführung der vorgesehenen Blutanalysen. Um die Entwicklung einer Anämie vorzubeugen, erhielten die Tiere nach jeder Blutabnahme die gleiche Menge Eigenblut aus einer Konserve zurück. Die Eigenblutkonserve wurde mindestens zehn Tage vor dem Versuch abgenommen und bei $+4^{\circ}$ C in Blutbeuteln gelagert (Biopack®, Biotrans Dreieich, Deutschland). Die 9 ml Blutproben wurden unmittelbar nach der Abnahme in vorgekühlte mit

EDTA-beschichtete Röhren (EDTA-K⁺-Röhren Sarstedt®, Nümbrecht, Deutschland) gefüllt. Anschließend wurden zwei Kapillarröhren zur Hämatokritbestimmung gefüllt, bevor die Blutröhren mit 4000 G bei $\pm 0^\circ$ C zentrifugiert wurden (Varifuge RF, Heraeus sepatech GmbH, Osterode, Deutschland). Nach der Zentrifugation wurde das Plasma abpipettiert und bei -25° C bis zur Analyse gelagert.

2.3.4.1 Bestimmung des Hämatokrits (Hkt)

Der Hämatokrit (Hkt) wurde nach 5 minütige Zentrifugation (Biofuge haemo, Heraeus instruments, Osterode, Deutschland) bei 3000 U/min nach der Methode der Mikrokapillarzentrifugation bestimmt.

2.3.4.2 Bestimmung der Plasma-Elektrolytkonzentrationen (P_{Na} , P_K)

Die Plasmaelektrolyte Natrium(P_{Na}) und Kalium (P_K) wurden mit einem Flammenphotometer (AFM 5052, Firma Eppendorf) bestimmt und in **mmol/l** angegeben.

2.3.4.3 Bestimmung der Plasmaosmolarität (P_{Osmo})

Die Plasmaosmolarität (P_{Osmo}) wurde mit einem automatischen Osmometer (Osmomat 030, gonotec GmbH, Berlin, Deutschland) nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung ermittelt. Die verwendete Einheit ist **mosmol/kg_{H2O}**.

2.3.4.4 Bestimmung der Plasmaproteinkonzentration (P_{Prot})

Die Plasmaproteinkonzentration (P_{Prot}) wurde mit einem kommerziellen Kit (Boehringer Mannheim, Deutschland) nach einer modifizierten Biuret-Methode bestimmt. Die Angaben erfolgen in der Einheit **g/dl**.

2.3.4.5 Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität (PRA)

Renin wurde indirekt als Plasmapreninaktivität (PRA) bestimmt. Als Maß der PRA wird dabei die pro Zeiteinheit gebildete Menge Angiotensin-I benutzt (A-I). Die Blutprobe für die PRA-Bestimmung wurde in EDTA-beschichtete Röhren gefüllt. Nach Zentrifugation (s. Pkt. 2.3.4), wurde das Plasma anschließend in ein weiteres Röhren abpipettiert. Für die Bestimmung der PRA im Plasma wurde ein kommerzieller Radioimmunoassay-Kit (AI-¹²⁵J-Rianen®, New England Nuclear, Du Pont Company, Dreieich, Deutschland) verwendet. Die hier angegeben Einheit ist **ng AI/ml*h**.

2.3.4.6 Bestimmung der Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC)

Die Blutproben für die PAC-Bestimmung wurden in EDTA-beschichtete Röhren (EDTA-K⁺-Röhren Sarstedt®, Nümbrecht, Deutschland) gefüllt. Nach Zentrifugation, wie oben beschrieben (s. Pkt. 2.3.4), wurde das Plasma anschließend in ein weiteres Röhren abpipettiert. Die Bestimmung der PAC im Plasma erfolgte mit einem kommerziellen Radioimmunoassay-Kit (ALDOCTK-2®, Sorin biomedica, Sallugio, Italien) und wird in **pg/ml** angegeben. Die untere Erfassungsgrenze liegt bei 15 pg/ml Aldosteron.

2.3.4.7 Bestimmung der Konzentration des Atrialen-Natriuretischen-Peptids (ANP)

Die Blutproben für die Bestimmung des atrialen-natriuretischen-Peptids (ANP) wurden in EDTA-beschichtete Röhren mit 80 µl Aprotinin (Trasyolol®, Bayer Leverkusen, Deutschland) gefüllt. Nach Zentrifugation (s. Pkt. 2.3.4), wurde das Plasma anschließend in ein weiteres Röhren abpipettiert. Die Plasma-ANP-Konzentration wurde mit einem kommerzieller Radioimmunoassay-Kit (Firma IST, Wijchen, Niederlande) bestimmt und wird in **pg/ml** angegeben. Die untere Erfassungsgrenze liegt bei 0,7 pg/ml ANP.

2.3.4.8 Bestimmung der Kreatininkonzentration im Plasma und Urin und Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)

Kreatinin wurde mit einem automatischen Analysegerät (Kreatininanalyser 2, Firma Beckmann Instruments, Galway, Irland) nach dem Prinzip der Pikrinsäurereaktion nach Jaffé bestimmt. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde als exogene Kreatinin-Clearance (C_{Krea}) nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Gl. (1)} \quad C_{\text{Krea}} = \frac{[\text{Krea}]_{\text{Urin}} \times V_{\text{Urin}}}{[\text{Krea}]_{\text{Plasma}}} = \frac{\text{ml}}{\text{min} \times \text{kg KG}} = \text{GFR}$$

Gleichung 1: Berechnung der glomerulären Filtrationsrate GFR

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) beschreibt das Volumen, das pro Zeiteinheit und bezogen auf das Kilogramm-Körpergewicht in den Nieren filtrierte wird.

2.3.4.9 Bestimmung des Natrium-Load (Na-Load)

Die Berechnung des Na-Load, als Maß für die Menge der primär filtrierte Elektrolyte in einem bestimmten Zeitintervall (meist 4 Stunden), erfolgte mit folgender Gleichung:

Gl. (3)

$$\text{Na}_{\text{Load}} = \text{GFR} * [\text{Na}]_{\text{Plasma}} = \text{mmol} / 4\text{h} * \text{kgKG}$$

Gleichung 3: Berechnung des Na-Load

2.3.4.10 Berechnung der 24-h-Bilanzen für Natrium, Kalium und Wasser

Die 24h-Ausscheidung für Natrium, Kalium und Wasser setzt sich aus einem renalen und einem extrarenalen Anteil der Ausscheidung zusammen. Der extrarenale Anteil ist abhängig von der Größe der Wasser- und Elektrolytzufuhr. Um die Beeinflussung durch andere Faktoren wie physische Aktivität der Hunde, Raumtemperatur u.ä. gleich groß zwischen den einzelnen Versuchsprotokollen zu halten, waren diese Faktoren standardisiert.

Die Kontrollgruppe wurde 5 Tage vor Versuchsbeginn mit einer natriumarmen Diät ernährt (0,5 mmol/kg KG). An den ersten beiden Versuchstagen wurde diese Diät beibehalten. Zu diesem Zeitpunkt kann von einer ausgeglichenen Einfuhr- und Ausfuhrbilanz ausgegangen werden. Die extrarenalen Verluste lassen sich aus der Differenz zwischen Wasser- und Elektrolytzufuhr und renaler Ausscheidung berechnen. Auf Grund der Standardisierung der Versuche bleiben die extrarenalen Verluste für alle Protokolle für die entsprechende Wasser- und Elektrolytzufuhr gleich. Unter der Kenntnis der extrarenalen Verluste für diesen Zeitraum (Tag 1-2), können anhand der jeweiligen Ausscheidungsparameter der Protokolle 2, 3 und 4 nun die entsprechenden Wasser- und Elektrolytbilanzen und Änderungen der Natrium-, Kalium- und Wasserbestände für die Tage 1 und 2 berechnet werden.

Da am 3. Tag die Ernährung in allen Protokollen auf eine natriumreiche Ernährung umgestellt wurde, kann man auch im Kontrollprotokoll nicht mehr, wie an den Tagen 1 und 2, von ausgeglichenen Bilanzen ausgehen. Daher wurde den Tagen 3 und 4 eine andere, über 9 Tage natriumreich ernährte Kontrollgruppe, zur Berechnung der extrarenalen Verluste zu Grunde gelegt. Die Natriumausscheidung betrug hier 90,0%, die des Kaliums 83,1%, die des Wassers 86,9% der Zufuhr. Anhand dieser Daten ließen sich, wie oben beschrieben, die Bestandsänderungen der 4 Protokolle für die Tage 3 und 4 berechnen. Die Änderungen des Natrium-, Kalium- und Wasserbestandes wurden dabei innerhalb des jeweiligen Protokolls den gesamten Versuchszeitraum über addiert.

2.4 Statistik

Aus den individuellen Messwerten jeder Gruppe wurden die Mittelwerte gebildet und die Streuung als Standardabweichung (\pm SD) ermittelt. In den Graphiken sind aus Gründen der Übersichtlichkeit die Mittelwerte der Standardabweichungen (\pm SEM) dargestellt. Es erfolgte für jedes Protokoll separat die graphische Darstellung der Messwerte als Tages-Mittelwert, sowie in hoher zeitlicher Auflösung je nach Parameter als 20-Minutenwert oder 4-Stundenwert.

Für den statistischen Vergleich wurde zunächst geprüft, ob die Stichproben normalverteilt sind. Lag eine Normalverteilung vor, wurde bei den zu vergleichenden Stichproben eine Varianzanalyse (F-Test) zur Testung auf homogene Varianzen durchgeführt. Bei Normalverteilung und gleichen Varianzen, wurden die Mittelwerte mit dem t-Test für abhängige (innerhalb einer Gruppe) oder dem t-Test für unabhängige (zwischen den Gruppen) Stichproben verglichen. Im Falle einer Normalverteilung jedoch ungleichen Varianzen kam der Aspin-Welch-Test zur Anwendung. Bei nicht normalverteilten Stichproben wurde der nichtparametrische U-Test nach Mann-Whitney für abhängige Stichproben, der Wilcoxon-Rangsummentest bei unabhängigen Stichproben verwendet. Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $<0,05$ angenommen, bei mehrfachen Mittelwertvergleichen wurde der p-Wert nach dem Satz von Bonferoni adjustiert. Die statistischen Prüfungen wurden mit dem Statistikprogrammen SPSS 11.5.1 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und NCSS 6.0 („Number Cruncher Statistical System“, Dr. Jerry L. Hintze, Kaysville, Utah, USA, 1995) durchgeführt.

3. ERGEBNISSE

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Parameter jeweils als 24-h Mittelwerte (mit Darstellung signifikanter Unterschiede zwischen den Protokollen sowie im Verlauf des jeweiligen Protokolls) und in hoher zeitlicher Auflösung (20-Minutenwerte, bzw. 4-Stundenwerte, je nach Parameter, ohne Signifikanzen) dargestellt. Die Änderung der Bestände sind, da sie aus der Kummulation der 24-h-Bilanzen berechnet werden, jeweils für das Ende eines jeden Versuchstages dargestellt. Da am 1. Versuchstag in den drei Protokollen mit vermindertem Natriumbestand exakt gleiche Versuchsbedingungen und keine signifikanten Unterschiede der Ergebnisse vorlagen, wurden die Daten zusammengefasst und für diesen Zeitraum als „gepoolte“ Daten dargestellt. In den Abbildungen wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit stellenweise auf die Darstellung der SEM verzichtet.

3.1 Mittlerer arterieller Blutdruck (MABP)

3.1.1 MABP - 24-h-Mittelwerte (Abb. 3.1.1)

Kontrolle: In der Kontrollgruppe lag der 24h-Mittelwert des MABP an den ersten beiden Tagen des Versuchs bei 114,2 (SEM 1,8) mmHg bzw. 113,5 (SEM 1,8) mmHg. Mit Umstellen der Ernährung von natriumarmer (0,5 mmol/kg KG) auf natriumreiche Diät (5,5 mmol/kg KG), steigt der MABP signifikant auf 116,4 (SEM 1,8) mmHg an, am 4. Tag sinkt der MABP wieder auf Ausgangsniveau (114,8 (SEM 1,6) mmHg).

Intakt: Der MABP unterscheidet sich an keinem Tag signifikant vom Kontrollprotokoll. Innerhalb des Protokolls fällt der MABP am 2.Tag von 114,8 (SEM 2,1) mmHg auf 111,8 (SEM 2,2) mmHg ab, ist jedoch nicht signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert, steigt am 3. Tag wieder signifikant zum Vortag auf 117,8 (SEM 3,0) mmHg an, am 4. Tag bleibt er mit 117,4 (SEM 2,0) mmHg auf diesem Niveau konstant.

ACE-I.: Mit Beginn der ACE-Inhibition am 2. Tag fällt der MABP auf 98,7 (SEM 1,9) mmHg signifikant gegenüber Tag 1 ab und ist damit signifikant gegenüber der Kontrolle und dem Protokoll Intakt erniedrigt. An den Tagen 3 und 4 steigt der MABP jeweils signifikant zum Vortag auf 106,5 (SEM 2,2) mmHg und schließlich auf 110,2 (SEM 2,3) mmHg an. Er ist damit am 4. Tag nicht mehr signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert.

ACE-I + MR-A.: Mit Beginn der ACE-Inhibition und des Mineralokortikoid-Antagonismus fällt der MABP am 2. Tag signifikant gegenüber dem 1. Tag ab (98,2 (SEM 2,8) mmHg) bleibt bis zum 4. Tag auf diesem Niveau signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert und ist damit am 4. Tag auch gegenüber allen anderen Protokollen erniedrigt (98,0 (SEM 1,1) mmHg).

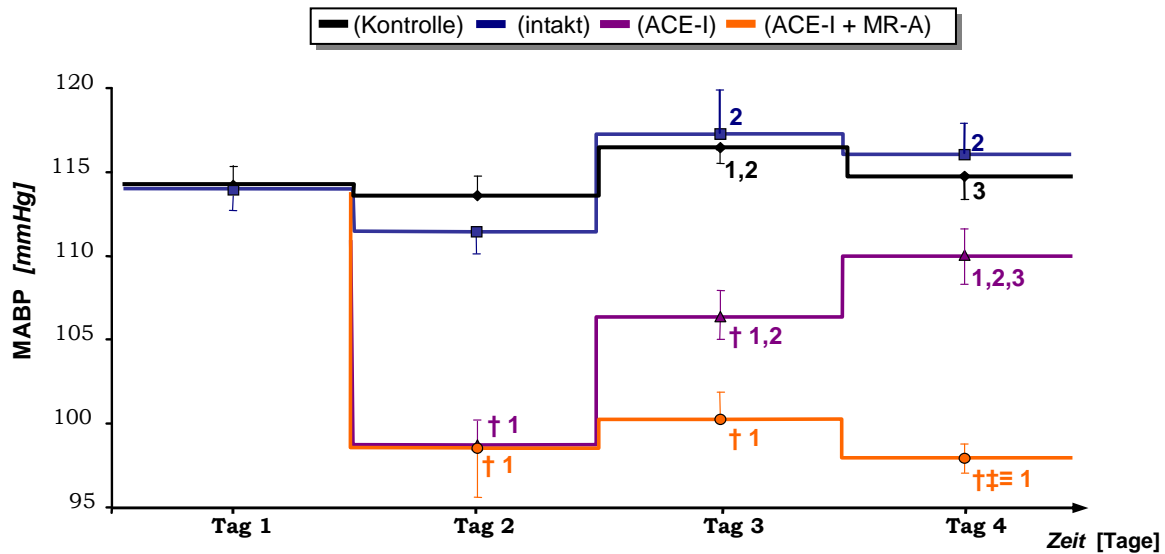


Abb. 3.1.1: 24-h – Mittelwerte des MABP

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.1.2 MABP - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.1.2)

Im Kontrollprotokoll zeigt sich an allen 4 Tagen ein charakteristischer Verlauf: Morgens zwischen 8:00 und 10:00 Uhr zeigt sich ein Blutdruckgipfel dem zunächst ein Abfall auf ein niedrigeres Blutdruckniveau bis ca. 17 Uhr folgt, zwischen 21 und 5 Uhr zeigt sich ein weiterer MABP-Gipfel, jedoch wird nicht das Niveau der morgendlichen MABP-Werte erreicht. Hieran schließt sich ein erneuter Blutdruckgipfel zw. 8:00 und 10:00 Uhr des folgenden Tages an.

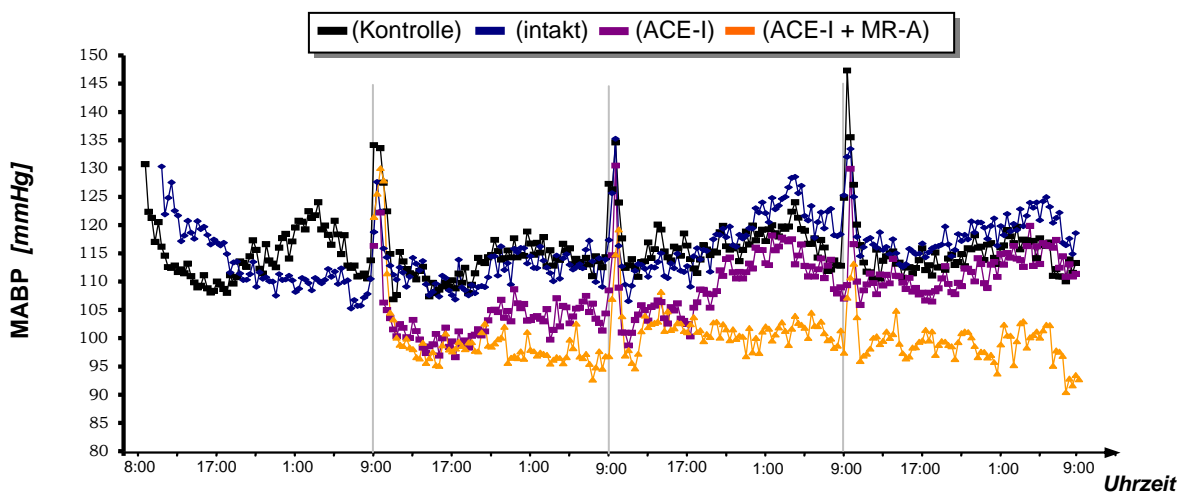


Abb. 3.1.2: hohe zeitliche Auflösung des MABP

In den Protokollen mit Verminderung des Natriumbestandes zu Beginn des 1. Versuchstages zeigen sich hierzu einigen Unterschiede: Während die MABP-Werte in der ersten Tageshälfte

des ersten Tages über denen des Kontrollprotokolls liegen, bleibt der zweite Blutdruckanstieg zwischen 21:00 und 5:00 Uhr aus und der MABP ist ab ca. 17:00 Uhr gegenüber der Kontrolle vermindert. Bei intaktem RAAS entspricht der MABP-Verlauf an den folgenden Tagen dem der Kontrolle. Mit ACE-Inhibition ab dem 2. Tag sinkt der MABP zunächst unter das Kontrollniveau und erreicht erst ab der zweiten Tageshälfte des dritten Tages wieder das Kontrollniveau. Bei vollständig blockiertem RAAS findet kein Ausgleich des Blutdruckabfalls statt und der MABP bleibt ab dem 2. Tag gegenüber der Kontrolle und dem Protokoll Intakt auf seinem erniedrigten Niveau. Ab der zweiten Hälfte des 3. Tages ist er zusätzlich gegenüber dem Protokoll ACE-I vermindert.

3.2 Herzfrequenz (HF)

3.2.1 HF - 24h-Mittelwerte (Abb. 3.2.1)

Kontrolle: Die HF bleibt an allen 4 Tagen gleich, auch die Umstellung der Ernährung am 3. Tag hat keine signifikanten Auswirkungen auf die HF.

Intakt: Die 24-h-Mittelwerte der HF sind zu keinem Zeitpunkt signifikant gegenüber dem Ausgangsniveau bzw. der Kontrolle verändert.

ACE-I.: Mit Beginn der ACE-Inhibition am 2. Tag steigt die HF signifikant gegenüber dem 1. Tag, dem Kontrollprotokoll und dem Protokoll Intakt an (121,4 (SEM 9,0) 1/min.). Innerhalb des Protokolls sinkt die HF jeweils am 4. Tag gegenüber dem Vortag signifikant ab, bleibt jedoch den gesamten Versuchszeitraum über signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll und Protokoll Intakt erhöht.

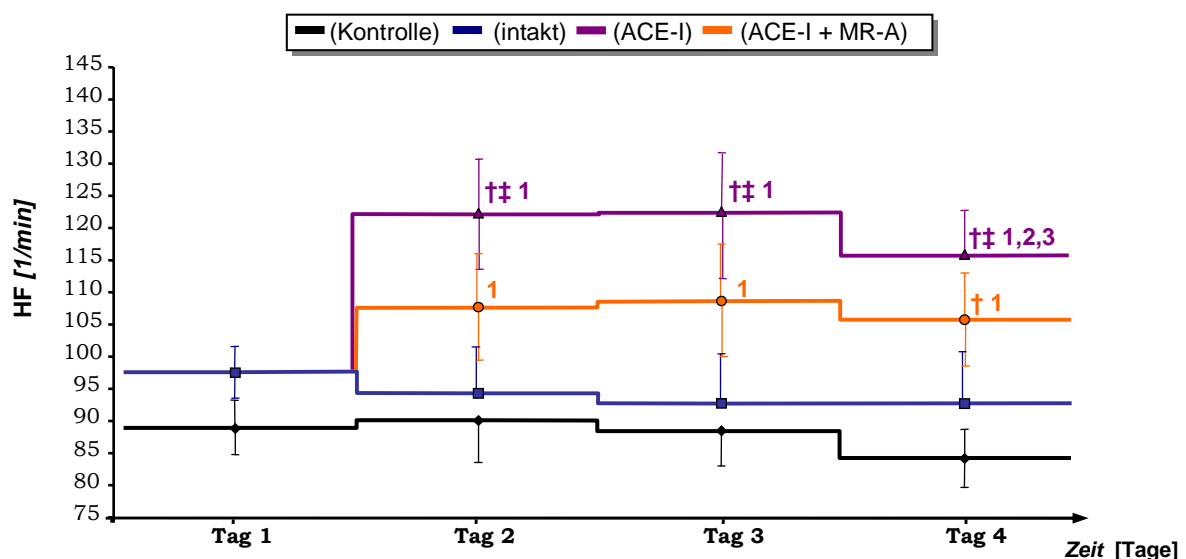


Abb. 3.2.1: 24-h – Mittelwerte der HF

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

ACE-I + MR-A.: Der Anstieg der HF am 2. Tag auf 107,7 (SEM 9,6) 1/min. ist geringer ausgeprägt als unter alleiniger ACE-Inhibition. Auf diesem Niveau bleibt die HF konstant und ist nur am 4. Tag mit 105,4 (SEM 7,3) 1/min. signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht.

3.2.2 HF - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.2.2)

An allen vier Tagen findet sich in allen Versuchsgruppen ein charakteristischer Verlauf mit den höchsten Werten zu Beginn des Tages, einem über den Tag verlaufenden stetigen Abfall und schließlich niedrigsten Werten in den Nachtstunden zwischen 1:00 und 5:00 Uhr. Von da an steigt die HF wieder bis zum nächsten Morgen an. Das charakteristische Tagesprofil bleibt in allen Versuchsgruppen bestehen, nach ACE-Hemmung allerdings auf einem erhöhtem Niveau.

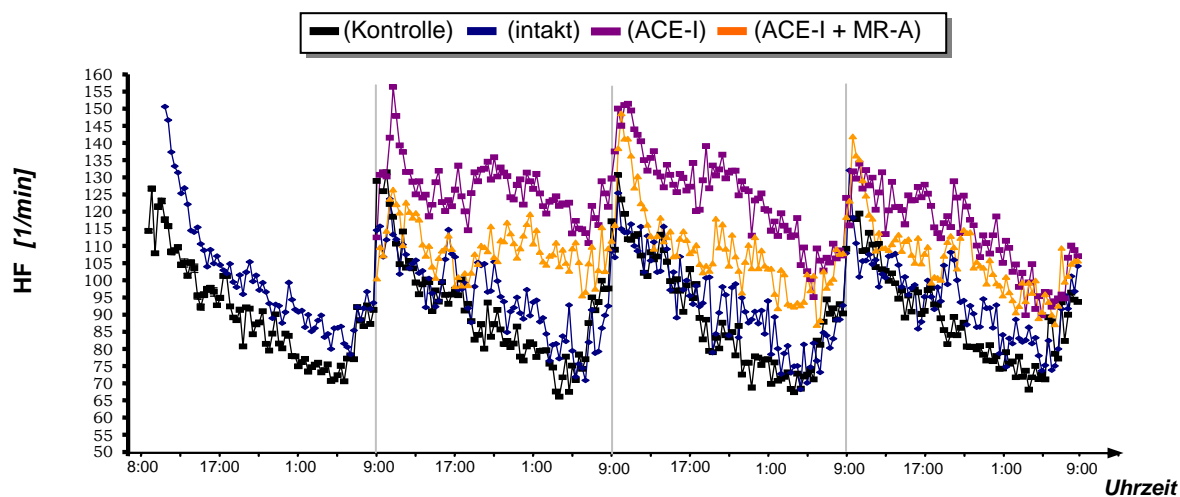


Abb. 3.2.1: hohe zeitliche Auflösung der HF

3.3 Renale Natrium-Ausscheidung (UNaV) und Änderungen des Natriumbestandes

3.3.1 UNaV und Na⁺-Bestandsänderung - 24-h-Werte (Abb.3.3.1a und 3.3.1b)

Kontrolle: Von der sehr geringen Natriumzufuhr an den ersten beiden Tagen werden innerhalb eines Tages 40,3 % (SEM 10,9) bzw. 44,6 % (SEM 14,7) des zugeführten Natriums renal ausgeschieden (entsprechend ca. 0,2 mmol/kg KG bei eine Zufuhr von 0,5 mmol/kg KG). Unter natriumreicher Ernährung werden ab dem 3. Tag 88,5 % (SEM 4,1) bzw. am 4. Tag 89,7 % (SEM 3,4), entsprechend ca. 4,9 mmol/kg KG des zugeführten Natriums, sofort ausgeschieden. Hierbei kommt es zu keinen signifikanten Änderungen des Natriumbestandes.

Intakt: Der Natriumbestand wurde mittels Peritonealdialyse zu Beginn des ersten Tages um 3,5 mmol/kg KG reduziert. Daraufhin ist die Natriumausscheidung an den Tagen 1 und 2 mit 16,5 % (SEM 1,6) bzw. 13,3 % (SEM 2,7) der Zufuhr signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll vermindert, so dass hieraus selbst unter natriumarmer Ernährung eine positive 24-h-Bilanz mit

signifikanter Abnahme des Natriumbestandsdefizits am 1. Tag auf $-3,3$ mmol/kg KG (SEM 0,05), am 2. Tag auf $-3,17$ mmol/kg KG (SEM 0,05) resultiert. Am 3. Tag ist die UNaV mit 20,7 % (SEM 3,3) weiterhin signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert. Diese unter natriumreicher Ernährung deutliche Natriumretention führt bereits am 3. Tag zu einem Ausgleich des Natriumbestandsdefizits bzw. einer gegenüber der Kontrolle nicht signifikanten Überkompensation. Am 4. Tag entspricht die UNaV praktisch der des Kontrollprotokolls, der Natriumbestand bleibt somit auf seinem gegenüber der Kontrolle etwas erhöhtem Niveau konstant.

ACE-I.: Auch unter ACE-Inhibition ab dem 2. Tag ist die UNaV wie im Protokoll Intakt mit 14,8 % (SEM 2,8) signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert, so dass hier ebenfalls selbst unter natriumarmer Ernährung ein positive 24-h-Bilanz resultiert und sich das Natriumbestandsdefizit signifikant auf $-3,16$ mmol/kg KG (SEM 0,07) vermindert. Auch am 3. Tag ist die UNaV gegenüber der Kontrolle stark vermindert (37,3 % (SEM 4,7)), es kommt zu einer deutlichen, jedoch gegenüber dem Protokoll Intakt geringer ausgeprägten Natriumretention. Das Natriumbestandsdefizit wird innerhalb von 24 Stunden vollständig ausgeglichen, es kommt aber zu keiner Überkompensation wie im Protokoll Intakt. Am 4. Tag entspricht die UNaV der Kontrolle, bei ausgeglichener 24-h-Bilanz ändert sich der Natriumbestand nicht weiter.

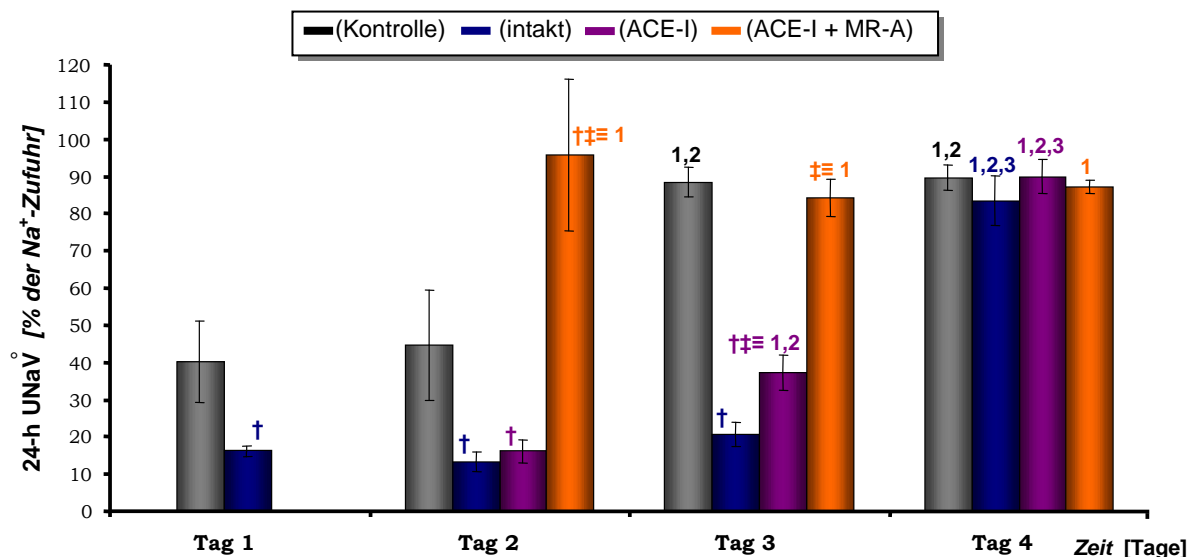


Abb. 3.3.1a: 24-h – Werte der UNaV

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

ACE-I + MR-A.: Bei vollständiger Blockierung des RAAS ist die renale Natriumausscheidung mit 95,8 % (SEM 20,5) am 2. Tag signifikant gegenüber dem 1. Tag und signifikant gegenüber

allen anderen Protokollen erhöht. Es resultiert eine negative 24-h-Bilanz mit einer weiteren signifikanten Abnahme des Natriumbestandes auf -3,65 mmol/kg KG (SEM 0,1). An den Tagen 3 und 4 entspricht die UNaV dem des Kontrollprotokolls (84,3 % bzw. 87,1 %), d.h., bei nun ausgeglichenen 24-h-Bilanzen wird kein weiteres Natrium retiniert, das Natriumbestandsdefizit wird nicht kompensiert, nimmt aber auch nicht weiter zu und bleibt bis zum Ende des 4. Tages um -3,18 mmol/kg KG (SEM 0,4) gegenüber der Kontrolle vermindert.

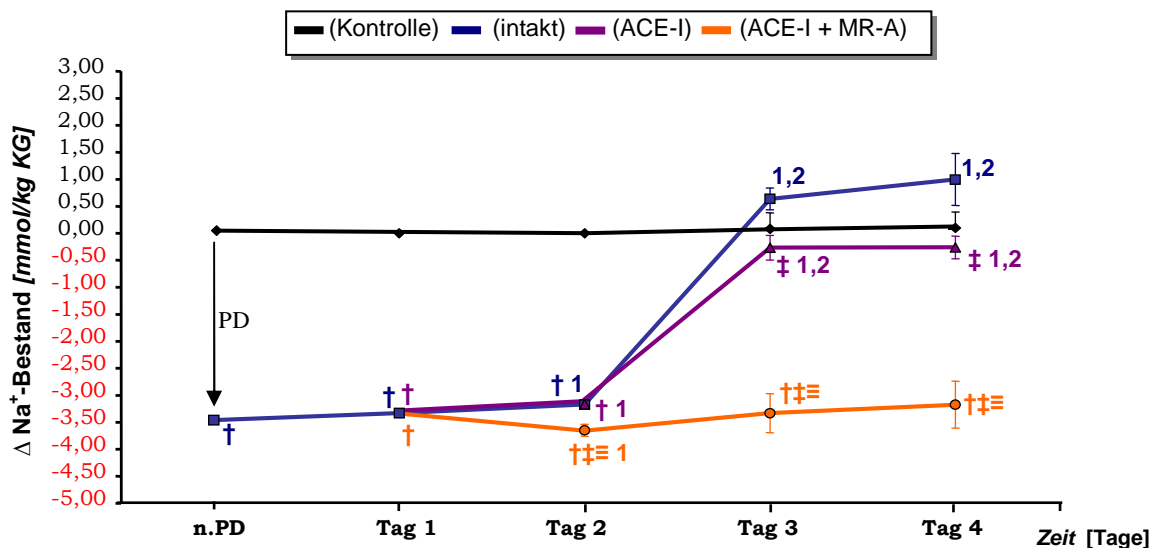


Abb. 3.3.1b: 24-h – Werte der Natriumbestandsänderungen

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.3.2 UNaV - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.3.2)

Die Natriumausscheidung zeigt in allen Protokollen einen charakteristischen Tagesverlauf: In der ersten Tageshälfte zwischen 9:00 und 21:00 Uhr werden von der Gesamtausscheidungsmenge ca. 70% ausgeschieden. Die Natriumexkretion steigt dabei postprandial in kurzer Zeit massiv an und sinkt im Folgenden sukzessive ab. Die niedrigste UNaV lässt sich zwischen 3:00 und 5:00 Uhr nachts beobachten. Zum Teil steigt die UNaV in den folgenden Stunden wieder etwas an. Schließlich kommt es wieder zu einem massiven Anstieg nach der Fütterung am Folgetag. Dieses charakteristische Ausscheidungsprofil lässt sich in allen Protokollen an allen Tagen bei jeweils unterschiedlichen Gesamtausscheidungsmengen finden. An den Tagen 1 und 2 sind die Gesamtausscheidungsmengen allerdings so niedrig, dass der beschriebene Tagesverlauf in der gewählten Skalierung nicht erkennbar ist. Zur Verdeutlichung werden die Tage 1 und 2 daher stark vergrößert als Insert innerhalb des Diagramms dargestellt.

Natriumausscheidung (UNaV) in hoher zeitlicher Auflösung

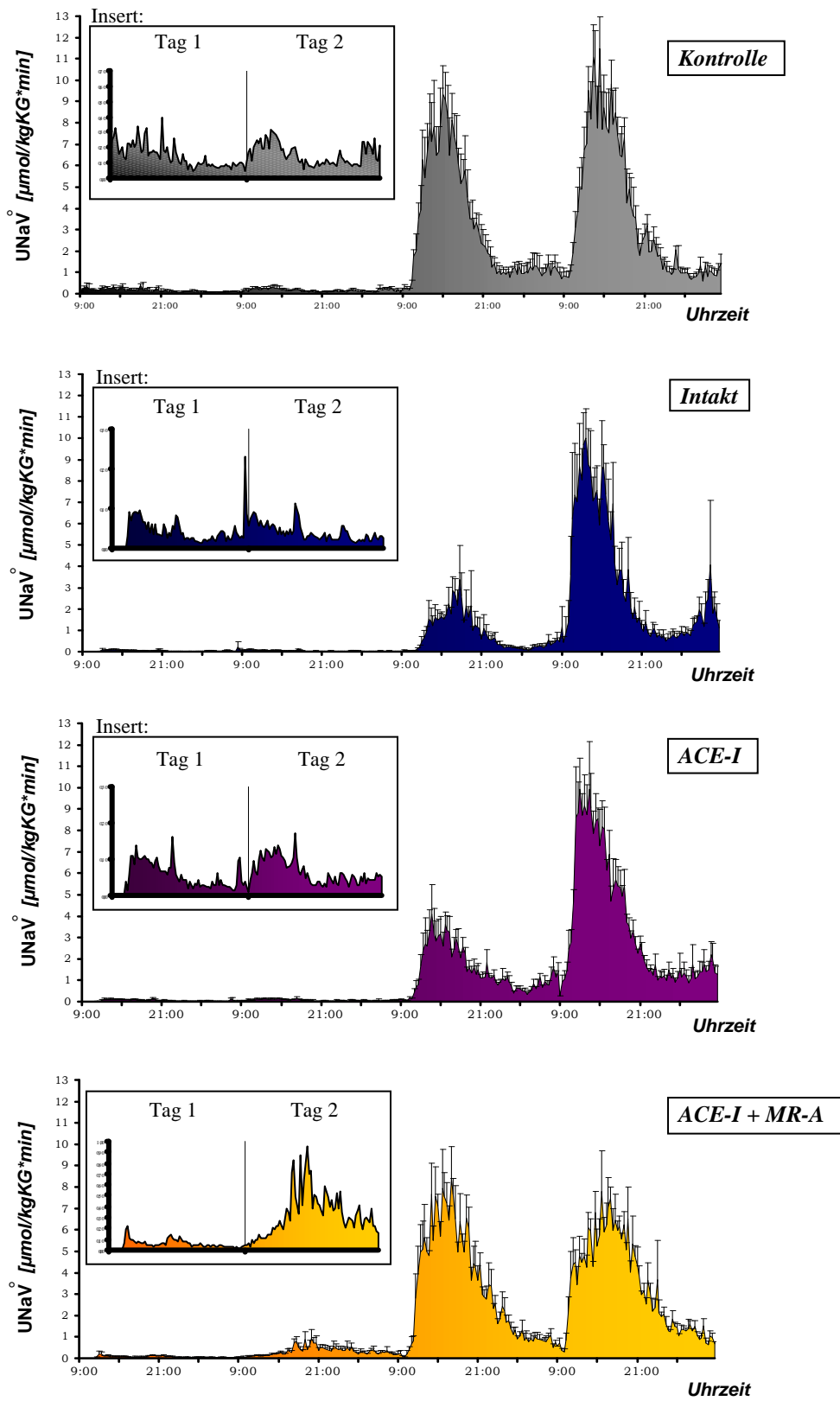


Abb. 3.3.2: hohe zeitliche Auflösung der UNaV

3.4 Renale Kalium-Ausscheidung (UKV) und Änderungen des Kaliumbestandes

3.4.1 UKV und Kaliumbestandsänderungen - 24-h-Werte (Abb. 3.4.1a und 3.4.1b)

Kontrolle: Die UKV beträgt 80-87 % der Kaliumzufuhr. An allen Tagen ist die 24-h-Bilanz ausgeglichen, es zeigen sich keine signifikanten Änderungen des Kaliumbestandes.

Intakt: Die UKV ist mit 71,8 % (SEM 3,2) am 1. Tag signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert. Die stattfindende Kaliumretention hat eine signifikante Zunahme des Kaliumbestandes um 0,51 mmol/kg KG (SEM 0,2) zur Folge. Am 2. Tag entspricht die UKV der Kontrolle, d.h., bei einer ausgeglichenen 24h-Bilanz ändert sich der Kaliumbestand nicht weiter. Schließlich ist die UKV am 3. Tag signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Die Mehrausscheidung an Kalium führt nun zu einer Abnahme des erhöhten Kaliumbestandes. Am Ende des 3. Tages ist der Kaliumbestand schließlich um -0,44 mmol/kg KG (SEM 0,2) signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert. Am 4. Tag entspricht die UKV wieder dem Kontrollniveau, d.h., bei einer ausgeglichenen 24-h-Bilanz wird das bestehende Kaliumbestandsdefizit nicht ausgeglichen und bleibt um 0,5 mmol/kg KG (SEM 0,1) signifikant vermindert.

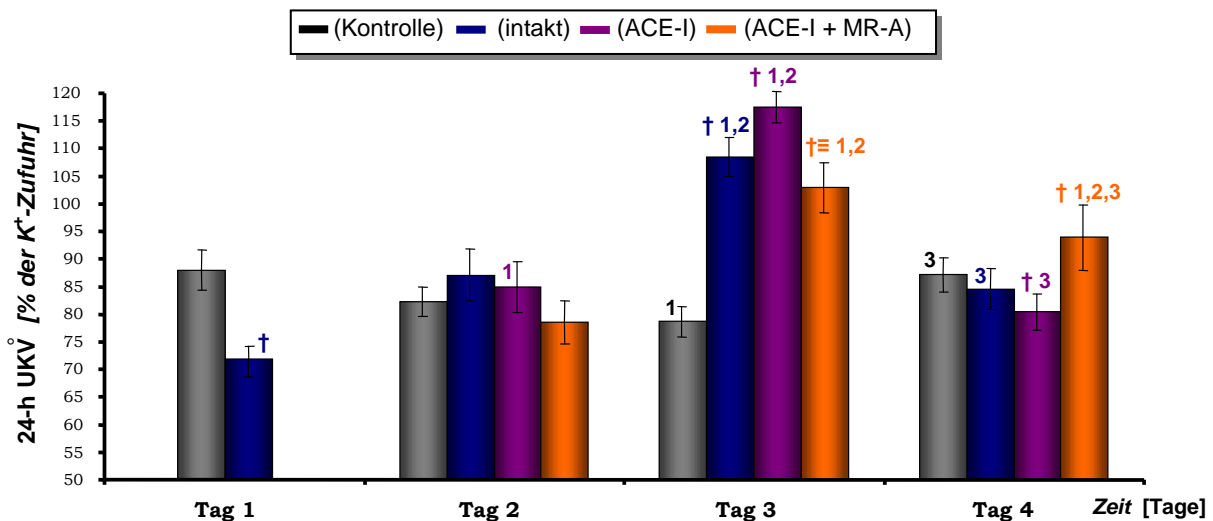


Abb. 3.3.1a: 24-h – Werte der UKV

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

ACE-I: Auch unter ACE-Inhibition ab dem 2. Tag entspricht die UKV dem des Protokolls Intakt und dem Kontrollprotokoll, d.h., die 24-h-Bilanz ist ausgeglichen, der Kaliumbestand ändert sich nicht und bleibt auf seinem vom 1. Tag gegenüber der Kontrolle erhöhten Niveau konstant. Am 3. Tag ist die UKV massiv erhöht (117,5 % (SEM 4,7)), so dass auch hier durch die Mehrausscheidung von Kalium eine Abnahme des erhöhten Kaliumbestandes resultiert. Am Ende des 3. Tages besteht somit ein Kaliumbestandsdefizit von -0,62 mmol/kg KG (SEM 0,3). Am

vierten Tag ist UKV wiederum signifikant gegenüber der Kontrolle, nicht jedoch gegenüber dem Protokoll Intakt, vermindert, so dass eine geringfügige Kaliumretention stattfindet. Das Kaliumbestandsdefizit vermindert sich dezent und liegt am Ende des 4. Tages um -0,52 mmol/kg KG (SEM 0,3) weiterhin signifikant unter dem Niveau der Kontrolle.

ACE-I + MR-A: Am 2. Tag besteht eine ausgeglichene 24-h-Bilanz und es kommt zu keinen weiteren Änderungen des vom 1. Tag gegenüber der Kontrolle erhöhten Kaliumbestandes. Am 3. Tag steigt auch hier die UKV an und ist mit 102,9 % (SEM 4,5) signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Die Mehrausscheidung führt zu einer Abnahme des erhöhten Kaliumbestandes auf Kontrollniveau. Am 4. Tag ist die UKV weiterhin signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Daraus resultiert eine negative 24-h-Bilanz mit einer weiteren Abnahme des Kaliumbestandes auf 0,45 mmol/kgKG (SEM 0,38) unterhalb des Kontrollniveaus.

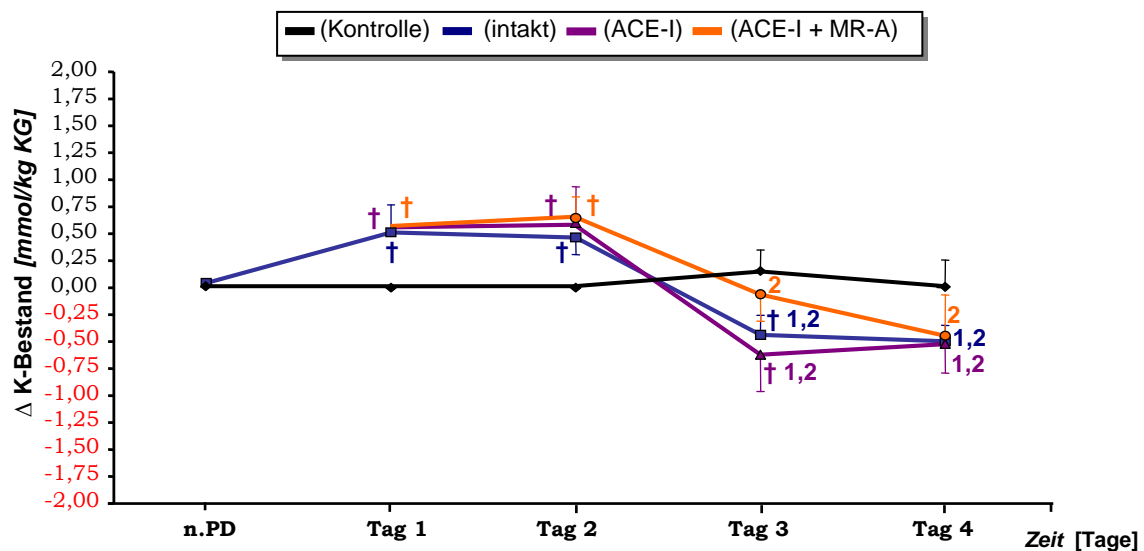


Abb. 3.3.1b: 24-h – Werte der Kaliumbestandsänderungen

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.4.2 UKV - hohe zeitliche Auflösung (Abb.3.4.2)

In allen Protokollen zeigt sich an allen Tagen ein charakteristischer tageszeitlicher Verlauf der Kaliumausscheidung bei jeweils unterschiedlicher Gesamtausscheidungsmenge: Postprandial steigt die Kaliumausscheidung rasch an, mit den Spitzenwerten um ca. 15 Uhr. In den folgenden Stunden sinkt die Kaliumausscheidung sukzessive bis zum nächsten Morgen ab. An Tagen mit geringerer Gesamtausscheidungsmenge ist der postprandiale Anstieg der Kaliumausscheidung dabei langsamer und die Spitzenwerte sind niedriger als an den Tagen mit hoher Gesamtausscheidungsmenge.

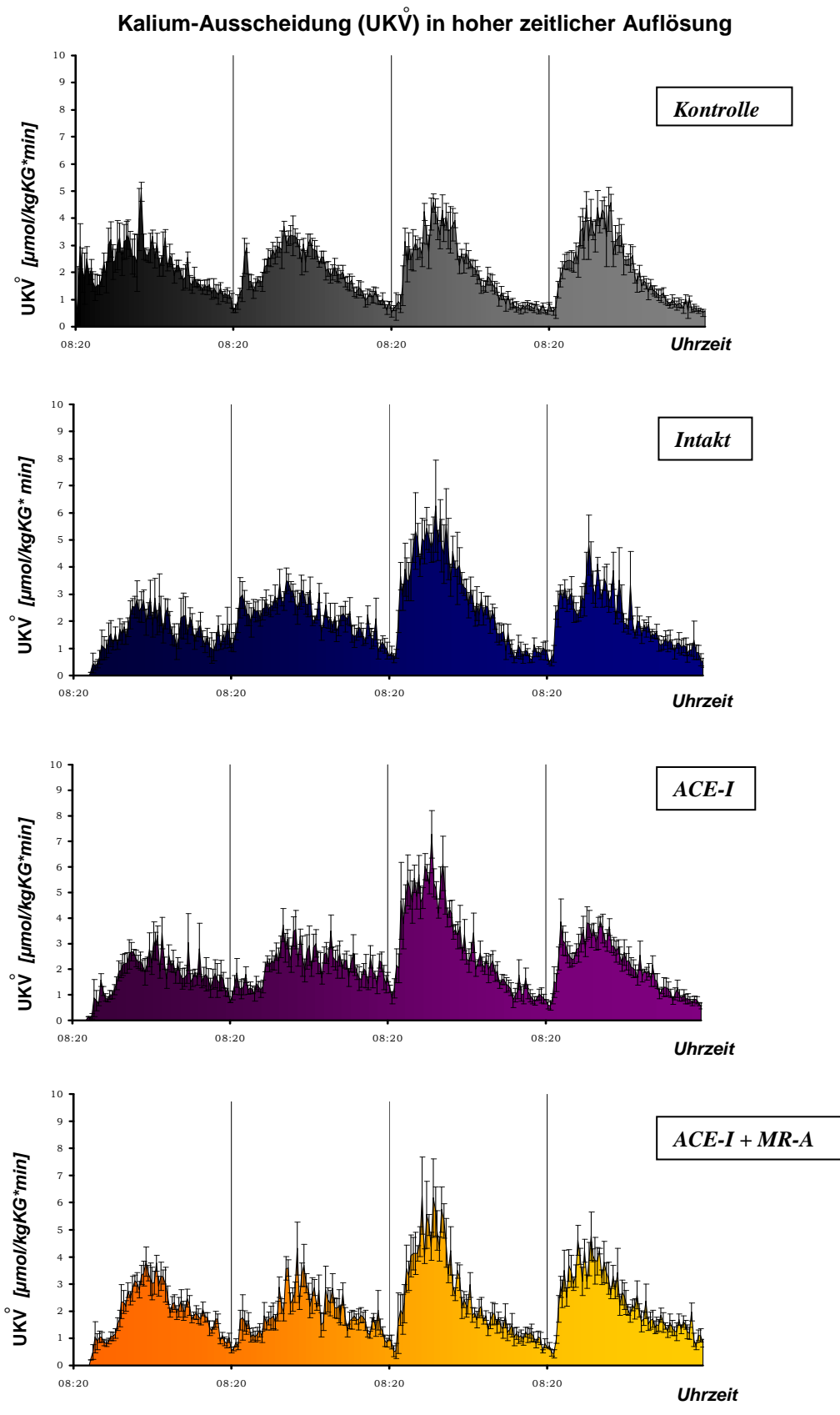


Abb. 3.4.2: hohe zeitliche Auflösung der UKV

3.5 Renale Wasser-Ausscheidung (UV) und Änderungen des Wasserbestandes

3.5.1 UV und Wasserbestandsänderungen - 24-h-Werte (Abb. 3.5.1a und 3.5.1b)

Kontrolle: Die UV beträgt am 1. Tag 88,8 % (SEM 1,9) der Wasserzufuhr. Am 2. und 3. Tag ist sie dem gegenüber signifikant vermindert (83,1 % bzw. 82,3 %), am 4. Tag entspricht sie mit 86,6 % (SEM 1,4) wieder dem Ausgangsniveau. Der Wasserbestand steigt somit am 3. Tag mit Umstellung auf eine natriumreiche Ernährung um 4,63 ml/kg KG (SEM 3,3) nicht signifikant an und bleibt bis zum Ende des 4. Tages auf diesem Niveau konstant.

Intakt: Nach PD ist die UV sowohl am 1. als auch am 2. Tag signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Es resultiert eine signifikante Abnahme des Wasserbestandes um 11,0 ml/kg KG (SEM 2,7) am 1. und eine weitere bis zum Ende des 2. Tages auf -14,68 ml/kg KG (SEM 3,9). Dem gegenüber ist die UV am 3. Tag signifikant gegenüber den Vortagen und gegenüber der Kontrolle vermindert (74,7 % (SEM 1,7)). Die Wasserretention führt zu einer vollständigen Kompensation des Wasserbestandsdefizits. Am 4. Tag steigt die UV wiederum auf Kontrollniveau, somit besteht eine ausgeglichene 24-h-Bilanz und der Wasserbestand bleibt auf dem Niveau des 3. Tages konstant.

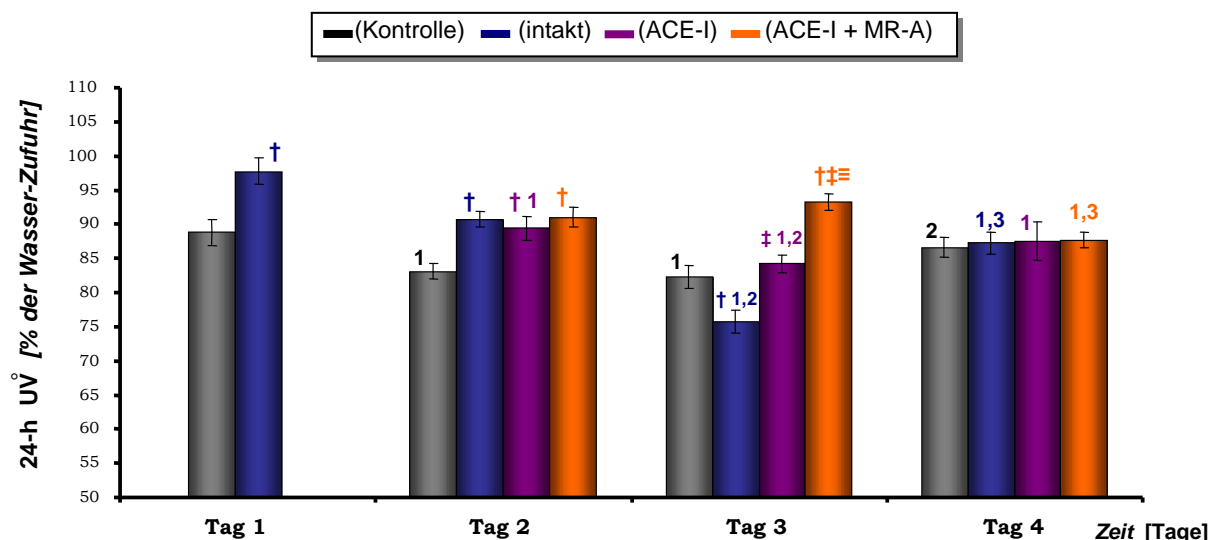


Abb. 3.5.1a: 24-h – Werte der UV

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

ACE-I: Mit ACE-Inhibition am 2. Tag ist auch hier die UV signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Die Mehrausscheidung an Wasser führt zu einer zum Vortag signifikanten Abnahme des Wasserbestandes auf -15 ml/kg KG (SEM 2,7). Anders als im Protokoll Intakt ist die UV weder am 3. noch am 4. Tag gegenüber der Kontrolle signifikant vermindert. Es kommt somit zu keiner nennenswerten Wasserretention und das bestehende Wasserbestandsdefizit wird bis zum Ende

des vierten Tags nicht ausgeglichen, nimmt allerdings bei ausgeglichenen 24-h-Bilanzen auch nicht weiter zu.

ACE-I + MR-A: Mit vollständiger Blockierung des RAAS ab dem 2. Tag ist die UV auch hier signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Der Wasserbestand sinkt auf -16,4 ml/kg KG (SEM 2,7) signifikant ab. Im Gegensatz zu den Protokollen Intakt und ACE-I, ist die UV auch am 3. Tag signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht, das Wasserbestandsdefizit nimmt nochmals signifikant zu (-22,5 ml/kg KG (SEM 3,4)). Erst am 4. Tag befindet sich die UV wieder auf Kontrollniveau, das Wasserbestandsdefizit nimmt nicht weiter zu und bleibt bei einer ausgeglichenen 24-h-Bilanz auf diesem erniedrigten Niveau konstant.

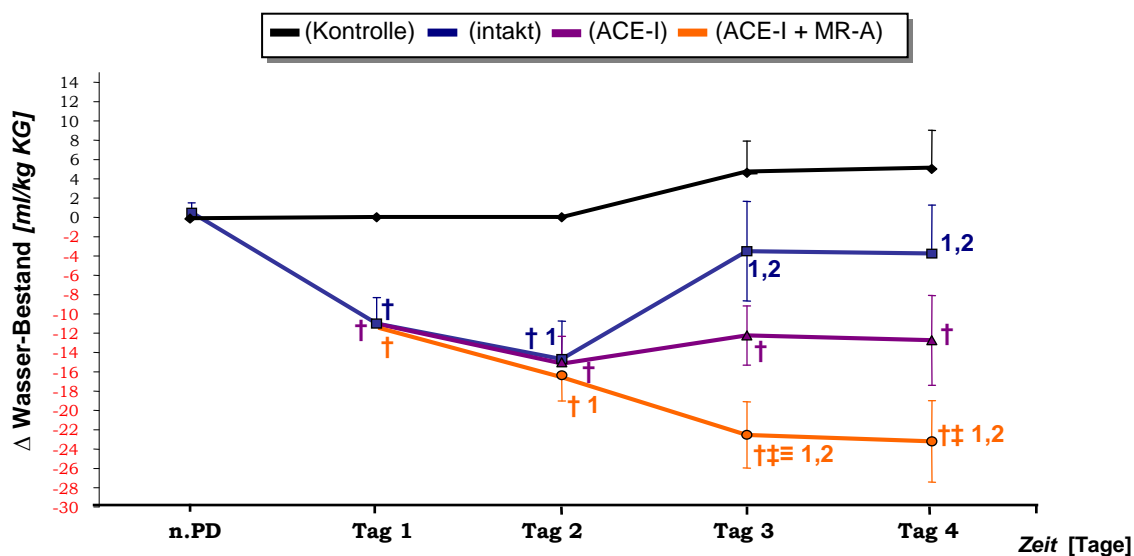


Abb. 3.5.1b: 24-h – Werte der Wasserbestandsänderungen

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 †‡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.5.2 UV - hohe zeitliche Auflösung (Abb.3.5.2)

In allen Protokollen lässt sich ein charakteristisches Ausscheidungsprofil beobachten: Die Wasserausscheidung steigt direkt postprandial bis ca. 17:00 Uhr stark an, anschließend sinkt sie bis ca. 21:00 Uhr kontinuierlich ab. Ab ca. 21:00 Uhr befindet sie sich auf einem niedrigen weitgehend konstanten Niveau. In den Stunden zwischen 3:00 und 8:00 Uhr zeigt sich mitunter ein zusätzlicher kleiner Anstieg der UV. Daraus folgt, dass ca. 70 - 80% der gesamten an einem Tag ausgeschiedenen Menge Wasser in der ersten Tageshälfte ausgeschieden wird. Dieses Ausscheidungsprofil findet sich an allen Tagen in allen Protokollen wieder, lediglich die absolute Ausscheidungsmengen differieren zwischen den Protokollen.

Urzeitvolumen (UV) in hoher zeitlicher Auflösung

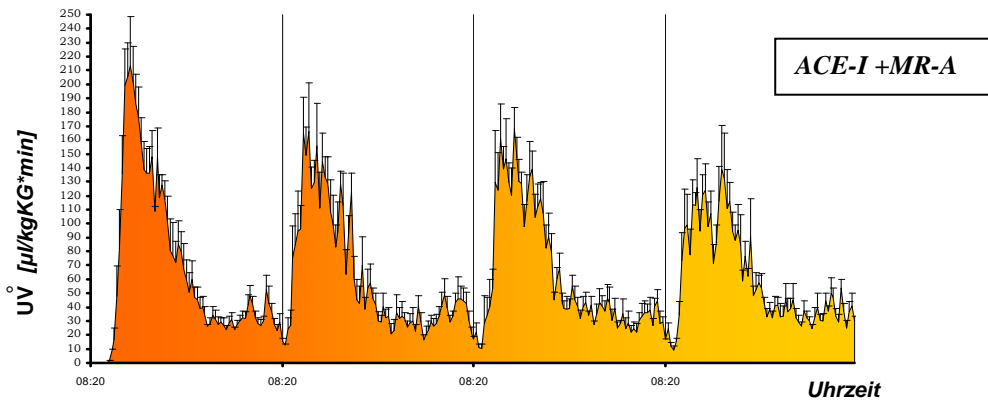
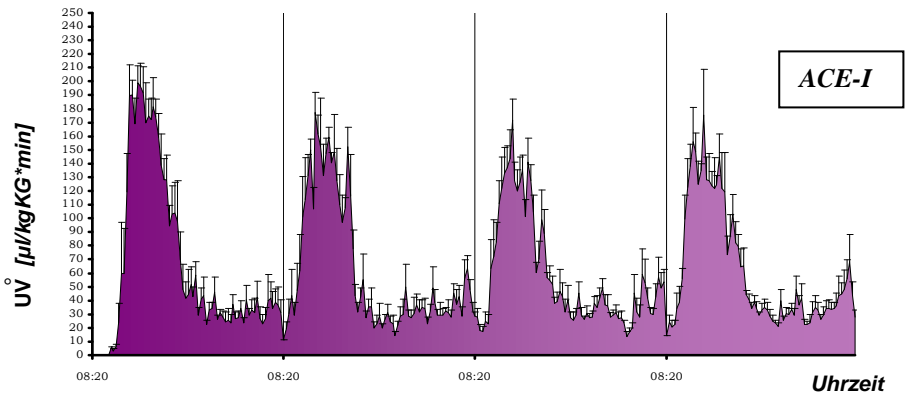
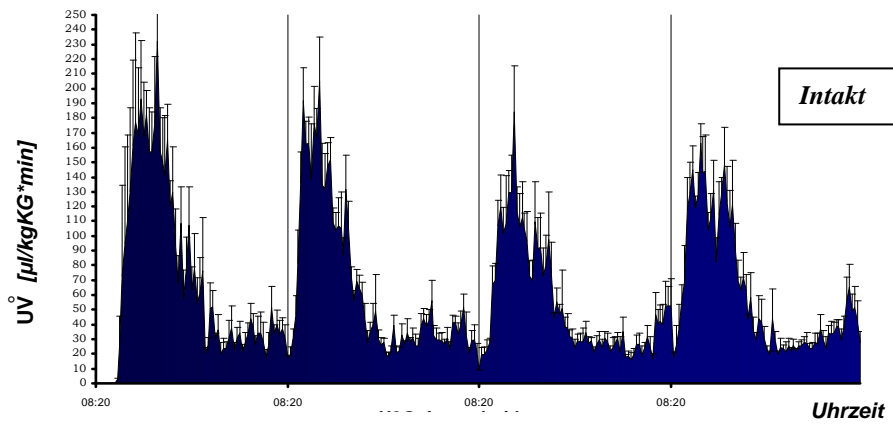
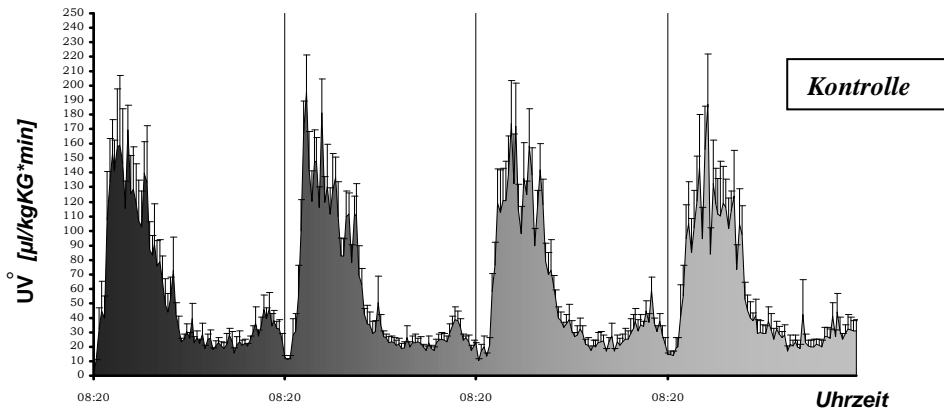


Abb. 3.5.2: hohe zeitliche Auflösung der UV

3.6 Plasma-Renin-Aktivität (PRA)

3.6.1 PRA - 24-h-Mittelwerte (Abb. 3.6.1)

Kontrolle: Unter natriumarmer Ernährung beträgt die PRA 4,56 (SEM 0,72) bzw. 5,47 (SEM 1,0) ng A-I/ml*h, sinkt am 3. Tag mit Umstellung auf eine natriumreiche Diät auf 2,93 ng A-I/ ml*h (SEM 0,4) signifikant ab und bleibt am 4. Tag auf diesem Niveau konstant.

Intakt: Der 24-h-Mittelwert der PRA ist am 1. Tag massiv gegenüber der Kontrolle erhöht (17,1 ng A-I/ml*h (SEM 1,7)). An den folgenden Tagen sinkt die PRA jeweils zum Vortag signifikant ab. Ab dem 3. Tag befindet sie sich mit 4,97 ng A-I/ml*h (SEM 2,3) wieder auf Kontrollniveau.

ACE-I: Mit ACE-Hemmung am 2. Tag und damit Unterbrechung des sog. short-loop-feedbacks steigt die PRA gegenüber dem 1. Tag extrem an (64,4 ng A-I/ml*h (SEM 11,7)), was einer etwa 13-fachen Erhöhung der PRA gegenüber der Kontrolle und etwa 6-fachen Erhöhung gegenüber Protokoll Intakt entspricht. Mit salzreicher Ernährung ab dem 3. Tag und Ausgleich des Natriumbestandsdefizits (s.o.) sinkt die PRA wieder deutlich ab, bleibt jedoch auch am 4. Tag mit 14,1 ng A-I/ml*h (SEM 3,3) signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll und Protokoll Intakt erhöht.

ACE-I + MR-A: Im gleichen Maße wie im Protokoll ACE-I steigt auch hier die PRA am 2. Tag signifikant an (65,5 ng A-I/ml*h (SEM 7,8)). Mit Ernährungsumstellung am 3. Tag (natriumreiche Diät) fällt auch hier die PRA signifikant ab, bleibt jedoch am 3. sowie am 4. Tag mit 25,0 ng A-I/ml*h (SEM 3,5) bzw. 38,3 ng A-I/ml*h (SEM 4,8) signifikant gegenüber allen anderen Protokollen erhöht.

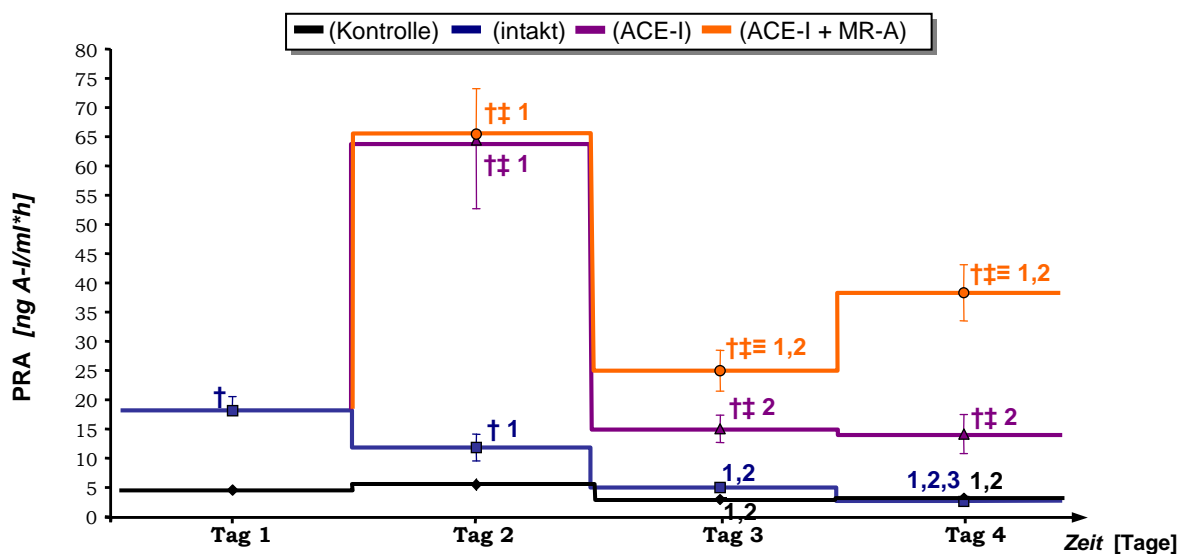


Abb. 3.6.1: 24-h – Mittelwerte der PRA

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.6.2 PRA - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.6.2)

Im Kontrollprotokoll lassen sich jeweils um 9:00 bzw. 8:00 Uhr die im Tagesgang höchsten Werte finden. Postprandial (13:00 Uhr-Wert) sinkt die PRA bei natriumarmer Ernährung auf ein niedrigeres Niveau ab, auf dem sie bis zum Ende des Tages konstant bleibt. Demgegenüber fällt die PRA unter natriumreicher Ernährung postprandial stärker ab, steigt im Verlauf wieder dezent an und erreicht im sog. postreabsorbtive-state (1:00 – 5:00 Uhr) Werte, die denen unter natriumarmer Ernährung zu den gleichen Zeitpunkten entsprechen.

Mit dem Natriumentzug durch PD steigt die PRA drastisch. Trotz leichten Rückgangs (17:00 – 5:00 Uhr) bleibt sie massiv gegenüber der Kontrolle erhöht. Ab dem 2. Tag zeigt sich bei intaktem RAAS ein ähnlicher Verlauf wie im Kontrollprotokoll mit im Tagesgang höchsten Werten um 8:00 Uhr und einem anschließenden mäßigen Rückgang auf ein konstantes Niveau für den Rest des Tages. Während sich die PRA am 2. Tag insgesamt auf einem gegenüber der Kontrolle erhöhtem Niveau befindet, ist sie ab dem 3. Tag wieder auf Kontrollniveau abgesunken. Mit ACE-Inhibition ab dem 2. Tag in den Protokollen ACE-I und ACE-I + MR-A wird das sog. Short-loop-feedback unterbrochen (s. Diskussion), deshalb wurde auf eine Aufnahme und Beschreibung des Tagesganges der PRA verzichtet.

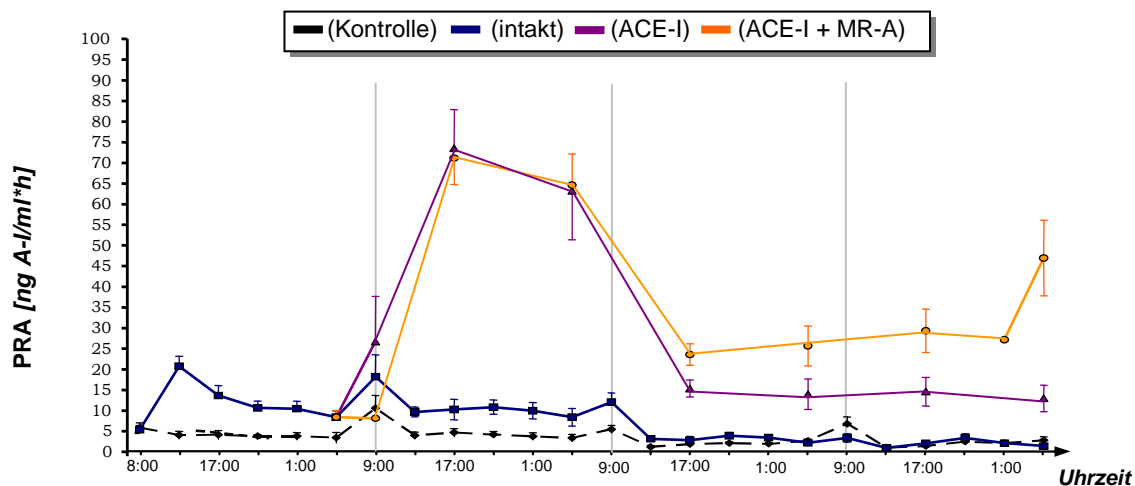


Abb. 3.6.2: hohe zeitliche Auflösung der PRA

3.7 Plasma-Aldosteronkonzentration (PAC)

3.7.1 PAC - 24-h-Mittelwerte (Abb. 3.7.1)

Kontrolle: Die PAC beträgt unter natriumarmer Diät 284,5 pg/ml (SEM 39,9) bzw. 243,6 pg/ml (SEM 45,22) und sinkt mit Umstellen der Ernährung auf eine natriumreiche Diät signifikant auf 70,16 pg/ml (SEM 9,6) bzw. 62,6 pg/ml (SEM 11,3) ab.

Intakt: Die PAC ist unter natriumarmer Diät signifikant (4-fach gegenüber den Kontrollwerten) erhöht (1147,6 pg/ml (SEM 102,3)). Mit natriumreicher Diät sinkt die PAC erheblich ab (360,3 pg/ml (SEM 41,3)) befindet sich am 3. Tag noch signifikant über dem Kontrollprotokoll und erreicht schließlich am 4. Tag wieder das Kontrollniveau.

ACE-I.: Im Gegensatz zum Protokoll Intakt sinkt die PAC mit ACE-Inhibition ab dem 2. Tag signifikant gegenüber dem massiv erhöhten Ausgangsniveau vom 1. Tag ab, ist jedoch gegenüber der Kontrolle nach wie vor signifikant (ca. 3-fach) erhöht. Am 3. Tag sinkt sie nochmals signifikant ab (158,8 pg/ml (SEM 20,9)), bleibt jedoch weiterhin gegenüber der Kontrolle erhöht, gegenüber dem Protokoll Intakt ist sie nun signifikant vermindert. Am 4. Tag befindet sich die PAC wieder auf Kontrollniveau.

ACE-I + MR-A.: Auch hier sinkt die PAC am 2. Tag signifikant gegenüber dem Ausgangsniveau vom 1. Tag ab, bleibt jedoch annähernd dreifach gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht (810,0 pg/ml (SEM 43,9)). Am 3. Tag fällt die PAC signifikant auf das Niveau des Protokolls Intakt ab (405,4 pg/ml (SEM 44,0)), bleibt also signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Im Unterschied zu den anderen Protokollen sinkt die PAC am 4. Tag jedoch nicht weiter ab und bleibt auf dem Niveau vom 3. Tag (352,4 pg/ml (SEM 38,9)) konstant und ist damit signifikant höher als in allen anderen Protokollen.

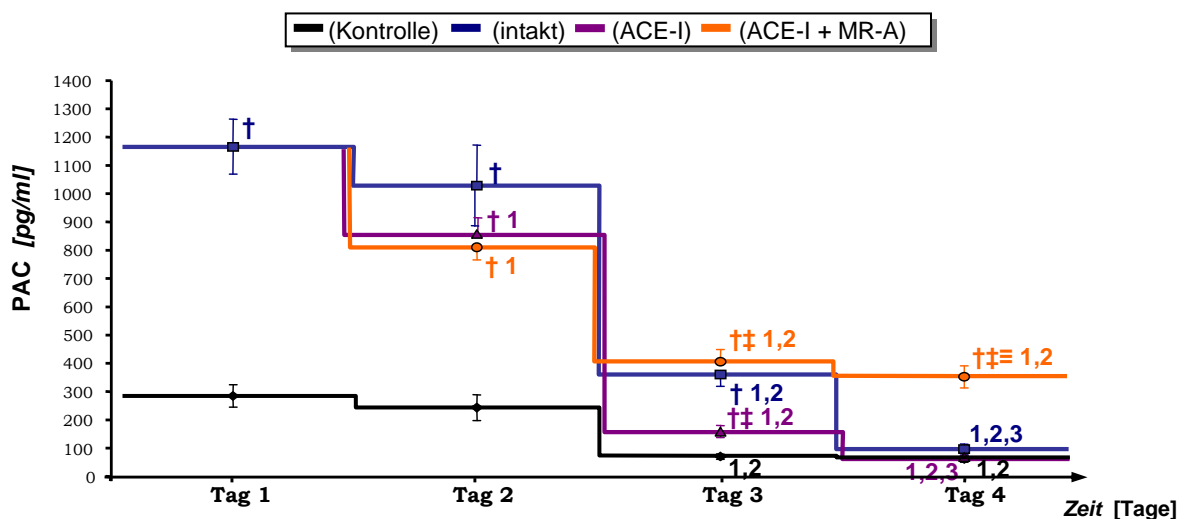


Abb. 3.7.1: 24-h – Mittelwerte der PAC

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.7.2 PAC - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.7.2)

Im Kontrollprotokoll zeigt sich an allen Tagen ein charakteristischer Verlauf: ausgehend von einem relativ niedrigen 9:00 Uhr bzw. 8:00 Uhr Wert steigt sie kontinuierlich bis ca. 17:00 Uhr an, fällt anschließend wieder kontinuierlich und erreicht um ca. 5:00 Uhr den im Tagesgang niedrigsten Wert. Unter natriumreicher Diät sind die Spitzenwerte (17:00 Uhr) deutlich niedriger. Der tageszeitliche Verlauf als solcher bleibt bestehen. Bereits in der ersten Blutabnahme nach PD ist die PAC massiv erhöht. Bei intaktem RAAS sinkt die PAC im Laufe des 3. Tages annähernd parallel zur PRA bei natriumreicher Ernährung sukzessive ab und befindet sich am 4. Tag zu allen Zeitpunkten auf Kontrollniveau. Unter alleiniger ACE-Inhibition ist die PAC am 2. Tag tendenziell niedriger als bei intaktem RAAS. Ab dem 3. Tag, d.h., bei natriumreicher Ernährung zeigt sich ein ähnlicher Verlauf wie im Protokoll Intakt mit vergleichbaren Werten. Unter vollständiger Blockierung des RAAS zeigt sich zunächst derselbe Verlauf wie bei alleiniger ACE-Inhibition, am 3. und 4. Tag bleibt die PAC massiv gegenüber den anderen Protokollen erhöht.

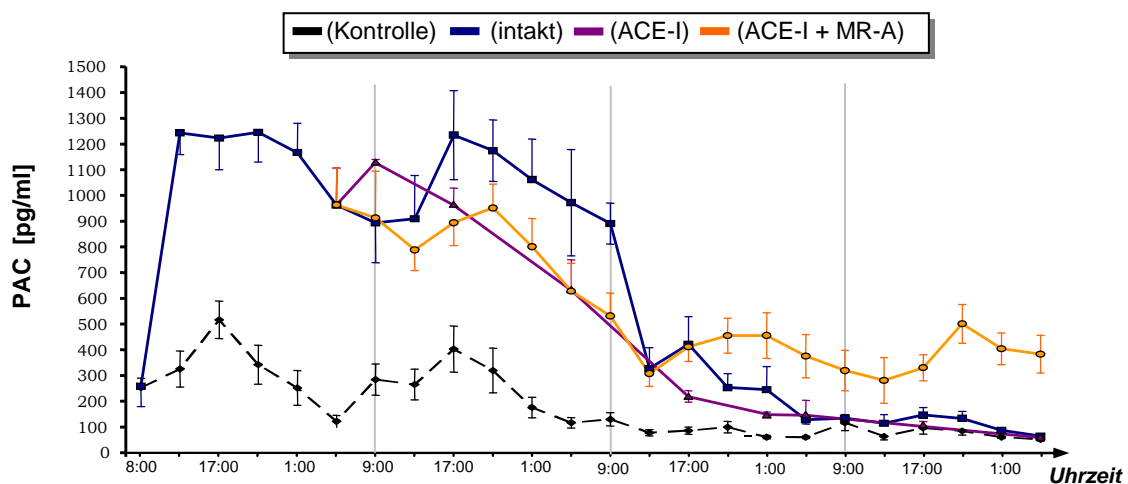


Abb. 3.7.2: hohe zeitliche Auflösung der PAC

3.8 Plasma-Konzentration des atrio-natriuretischen-Peptids (ANP)

3.8.1 ANP - 24-h-Mittelwerte (Abb.3.8.1)

Kontrolle: Im Kontrollprotokoll beträgt die ANP-Konzentration unter natriumarmer Ernährung 40,6 pg/ml (SEM 4,6) bzw. 41,8 pg/ml (SEM 4,5) Wert und steigt mit natriumreicher Ernährung am 3. Tag signifikant an (47,3 pg/ml (SEM 4,2)). Am 4. Tag ist sie wieder auf das Niveau der ersten beiden Tage abgesunken.

Intakt: Gegenüber dem Kontrollprotokoll ist die ANP-Konzentration zu keinem Zeitpunkt unterschiedlich. Ebenfalls am 3. Tag steigt die ANP-Konzentration signifikant gegenüber den Vortagen an (45,4 pg/ml (SEM 3,1)) und bleibt auf diesem Niveau.

ACE-I: Die Werte unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant vom Kontrollprotokoll und Protokoll Intakt.

ACE-I + MR-A: Die ANP-Konzentration ist auch hier zu keinem Zeitpunkt gegenüber der Kontrolle signifikant verändert, lediglich am 4. Tag ist sie gegenüber dem Protokoll Intakt (34,6 pg/ml (SEM 2,8)) signifikant vermindert.

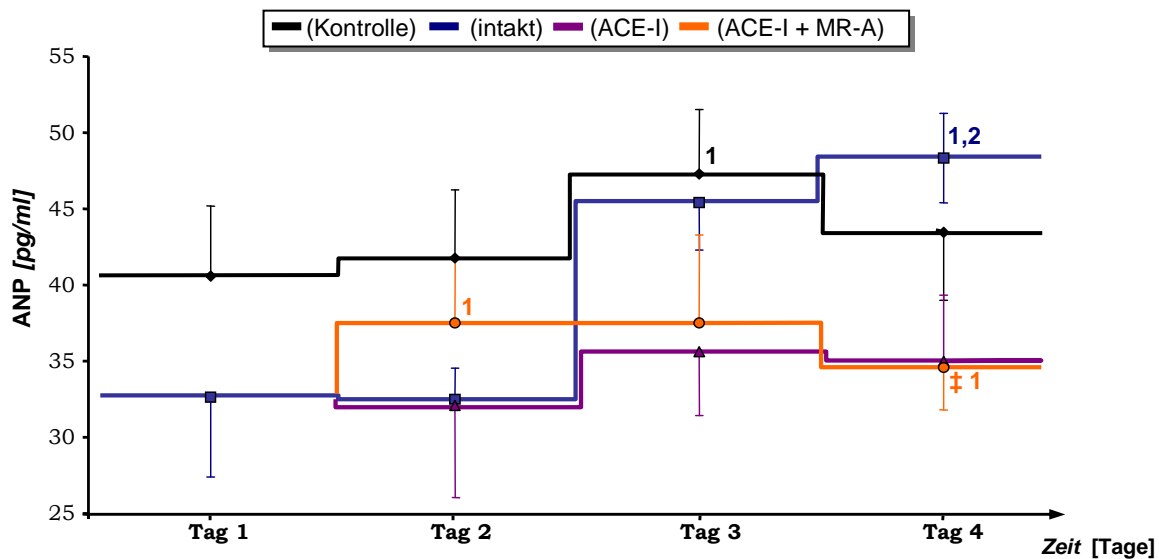


Abb. 3.8.1: 24-h – Mittelwerte der ANP-Konz.

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.8.2 ANP - hohe zeitliche Auflösung (Abb. 3.8.2)

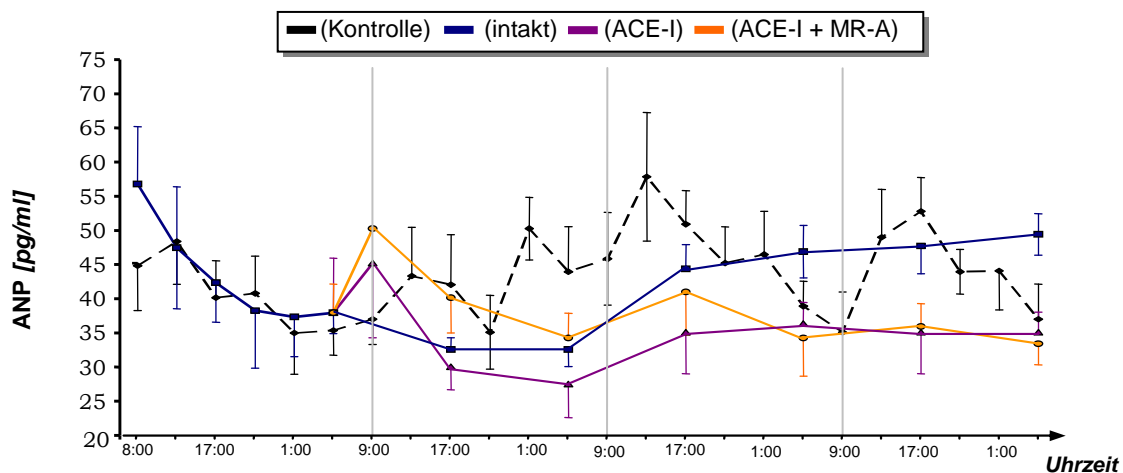


Abb. 3.8.2: hohe zeitliche Auflösung der ANP-Konz.

In keinem der Protokolle lässt sich ein charakteristischer Tagesverlauf beobachten. Innerhalb der Protokolle zeigen sich keine Unterschiede zwischen der salzarmen und der salzreichen Periode, auch nicht nach Natriumentzug mittels PD bzw. in Folge des Wiederausgleichs des Natriumbestandsdefizits.

3.9 Plasma-Natrium-Konzentration (P_{Na})

3.9.1 P_{Na} - 24-h-Mittelwerte (Abb.: 3.9.1)

Kontrolle: Die P_{Na} beträgt unter natriumarmer Ernährung ca. 146,8 mmol/l (SEM 0,2) und bleibt an allen 4 Tagen gleich, auch die Umstellung auf eine natriumreiche Ernährung führt zu keinen signifikanten Änderungen.

Intakt: Sowohl am 1. als auch am 2. Tag ist die P_{Na} gegenüber der Kontrolle signifikant vermindert (143,7 mmol/l (SEM 0,8) bzw. 142,3 mmol/l (SEM 0,9)). Mit natriumreicher Ernährung steigt die P_{Na} signifikant an (147,4 mmol/l (SEM 0,8)), so dass der 24h-Mittelwert am 3. Tag dem Kontrollniveau entspricht. Am 4. Tag kommt es zu einem weiteren zum Vortag signifikanten Anstieg der P_{Na} (150,1 mmol/l (SEM 0,7)), ist gegenüber der Kontrolle jedoch nicht signifikant erhöht.

ACE-I: Die P_{Na} an den ersten beiden Tagen entspricht den Werten des Protokolls Intakt. Mit natriumreicher Ernährung am 3. Tag steigt die P_{Na} stetig an, befindet sich am 3. Tag mit 145,1 mmol/l (SEM 1,3) noch etwas unterhalb des Kontrollniveaus (nicht signifikant). Am 4. Tag besteht kein Unterschied mehr zum Kontrollprotokoll.

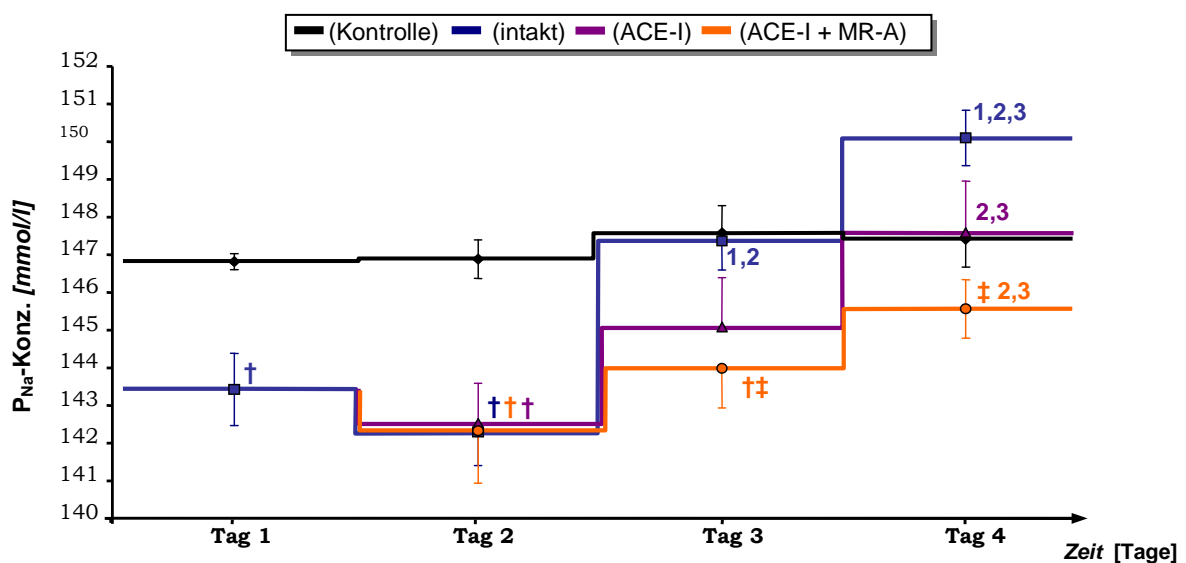


Abb. 3.9.1: 24-h - Mittelwerte der P_{Na} -Konzentration

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 †† = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

ACE-I + MR-A.: Von dem nach PD erniedrigten Niveau der P_{Na} ausgehend steigt sie bei natriumreicher Ernährung an den Tagen 3 und 4 wiederum stetig an, ist am 3. Tag jedoch noch signifikant gegenüber der Kontrolle und Protokoll Intakt vermindert (144,0 mmol/l (SEM 1,1)) und erreicht schließlich am 4. Tag wieder das Kontrollniveau.

3.9.2 P_{Na} - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.9.2)

Im Kontrollprotokoll unterscheiden sich die tageszeitlichen Verläufe zwischen der natriumarmen und natriumreichen Periode nicht. Die P_{Na} ist jeweils am Morgen der Versuchstage gegenüber dem Rest des Tages erhöht.

Ausgehend vom Kontrollniveau sinkt die P_{Na} direkt nach Natriumentzug mittels PD signifikant ab, steigt jedoch im weiteren Tagesverlauf wieder an und befindet sich um ca. 5:00 Uhr wieder auf Kontrollniveau. Zu Beginn des 2. Tages fällt die P_{Na} bei intaktem RAAS zunächst wieder ab, steigt bis zum Ende des Tages auf nahezu Kontrollniveau an. Am 3. Tag sinkt die P_{Na} am Morgen wiederum ab, wenn auch weniger stark und befindet sich bereits ab 17:00 Uhr wieder auf Kontrollniveau. Am 4. Tag ist die P_{Na} ab ca. 17:00 Uhr sogar gegenüber der Kontrolle erhöht.

Durch die ACE-Inhibition ab dem 2. Tag verändert sich der tageszeitliche Verlauf gegenüber dem Protokoll Intakt zunächst nicht. Am 3. Tag erreicht die P_{Na} allerdings erst um ca. 5:00 Uhr das Kontrollniveau, am 4. Tag gleicht der Verlauf dem des Kontrollprotokolls.

Unter vollständiger Blockierung des RAAS ist der Anstieg der P_{Na} noch weiter verzögert: die P_{Na} sinkt zu Beginn des 2. Tages ab und befindet sich erst am 4. Tag um ca. 17:00 Uhr wieder auf Kontrollniveau.

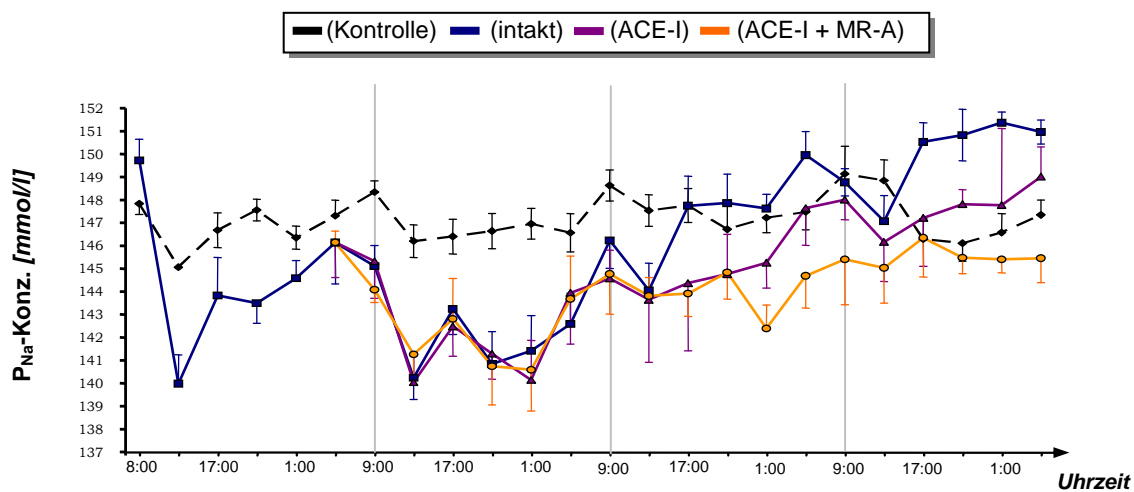


Abb. 3.9.2: hohe zeitliche Auflösung der P_{Na} -Konzentration

3.10 Plasma-Kalium-Konzentration (P_K)

3.10.1 P_K - 24-h-Mittelwerte (Abb.: 3.10.1)

Kontrolle: Es bestehen keine Unterschiede der P_K während der natriumarmen Ernährung im Vergleich zu den Werten unter natriumreicher Ernährung (ca. 4,1 mmol/l (SEM 0,1)).

Intakt: Die P_K ist an den ersten beiden Tagen signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht (ca. 4,4mmol/l (SEM 0,1)). Gegenüber Tag 2 sinkt die P_K am 3. Tag signifikant auf Kontrollniveau ab (4,0 mmol/l (SEM 0,1)) und bleibt am 4. Tag auf diesem Wert konstant.

ACE-I: Durch ACE-Inhibition ab dem zweiten Tag ändern sich die 24-h-Mittelwerte gegenüber dem Protokoll Intakt an keinem der Tage.

ACE-I + MR-A.: Ausgehend von dem nach PD signifikant erhöhten Niveau, sinkt die P_K mit natriumreicher Ernährung am 3. und 4. Tag nicht wie in den anderen Protokollen ab, sondern bleibt auf diesem signifikant gegenüber der Kontrolle und den anderen Protokollen erhöhten Niveau konstant (4,5 mmol/l (SEM 0,1)).

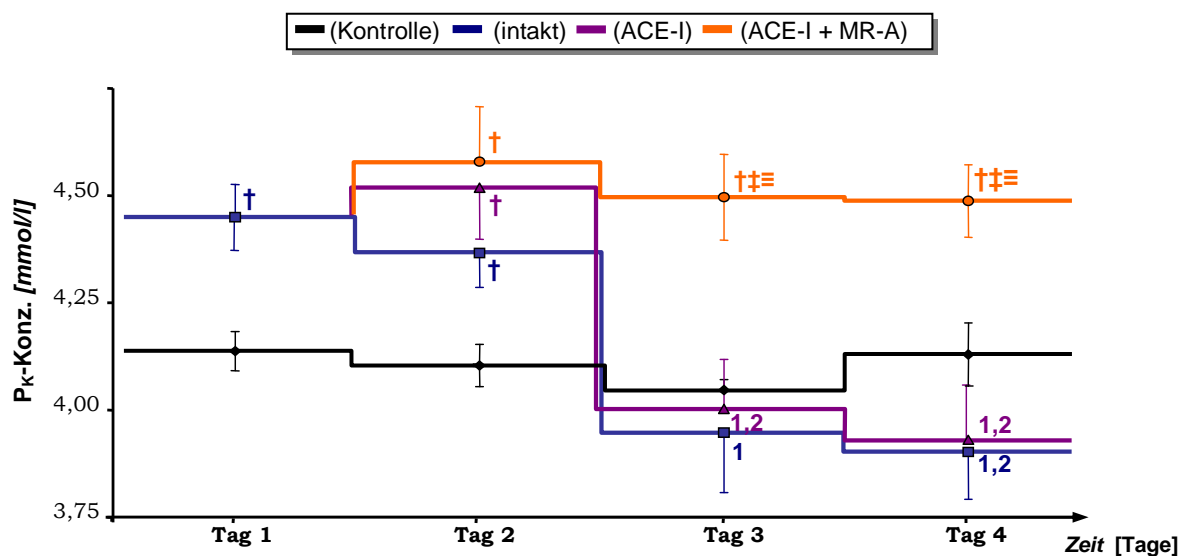


Abb. 3.10.1: 24-h – Mittelwerte der P_K -Konzentration

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.10.2 P_K - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.10.2)

In der hohen zeitlichen Auflösung lässt sich im Kontrollprotokoll ein typischer Tagesverlauf feststellen: die P_K steigt postprandial bis ca. 17:00 Uhr an, um anschließend bis zum nächsten Morgen sukzessive abzufallen. Bei intaktem RAAS und im Protokoll ACE-I findet sich ein vergleichbarer Tagesverlauf an den ersten beiden Tagen nach PD, wobei das Gesamtniveau hier erhöht ist. Im Laufe des 3. Tages sinkt die P_K von anfänglich über dem Kontrollniveau liegenden

Werten auf Werte des Kontrollniveaus bzw. darunter liegende ab. Am 4. Tag zeigt sich wieder ein dem Kontrollprotokoll entsprechender Tagesverlauf.

Bei vollständiger Blockierung des RAAS entspricht der tageszeitliche Verlauf an allen 4 Tagen dem des Kontrollprotokolls, ist aber an allen Tagen auf einem signifikant erhöhten Niveau. Interessanterweise sinken die morgendlichen P_K -Werte jeweils annähernd auf die Werte des Kontrollprotokolls ab, steigen postprandial jedoch viel stärker an. Am 3. Tag fällt die P_K nicht wie bei intaktem RAAS oder alleiniger ACE-Inhibition ab.

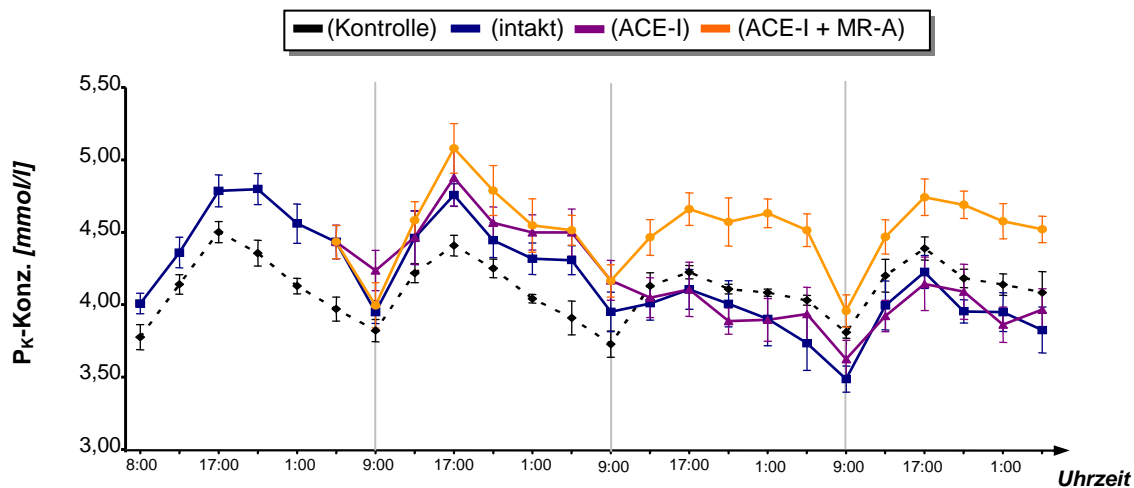


Abb. 3.10.2: hohe zeitliche Auflösung der P_K -Konzentration

3.11 Glomeruläre-Filtrations-Rate (GFR)

3.11.1 GFR – 24-h-Mittelwerte (Abb.: 3.11.1)

Kontrolle: Die GFR ist den gesamten Versuchszeitraum über konstant (3,7–3,9 ml/min*kgKG) ohne Unterschiede zwischen den Zeiträumen mit natriumarmer und natriumreicher Ernährung.

Intakt: Die GFR ist zu keinem Zeitpunkt signifikant gegenüber der Kontrolle verändert. Innerhalb des Protokolls ist die GFR am 4. Tag mit 3,4 ml/min*kg KG (SEM 0,3) signifikant gegenüber dem Vortag vermindert.

ACE-Inhib.: Auch hier ist die GFR den gesamten Versuchszeitraum über nicht gegenüber der Kontrolle verändert. Innerhalb des Protokolls ist sie lediglich am 3. Tag (3,8 ml/min*kgKG (SEM 0,3)) signifikant gegenüber dem Wert des 2. Tages erhöht. Am 4. Tag befindet sie sich wieder auf dem Niveau der ersten beiden Tage.

ACE-I + MR-A.: Im Vergleich zum Kontrollprotokoll ist die GFR ab dem 2. Versuchstag signifikant vermindert (2,9 ml/min*kg KG (SEM 0,1)) und erreicht zu keinem Zeitpunkt mehr das Kontrollniveau.

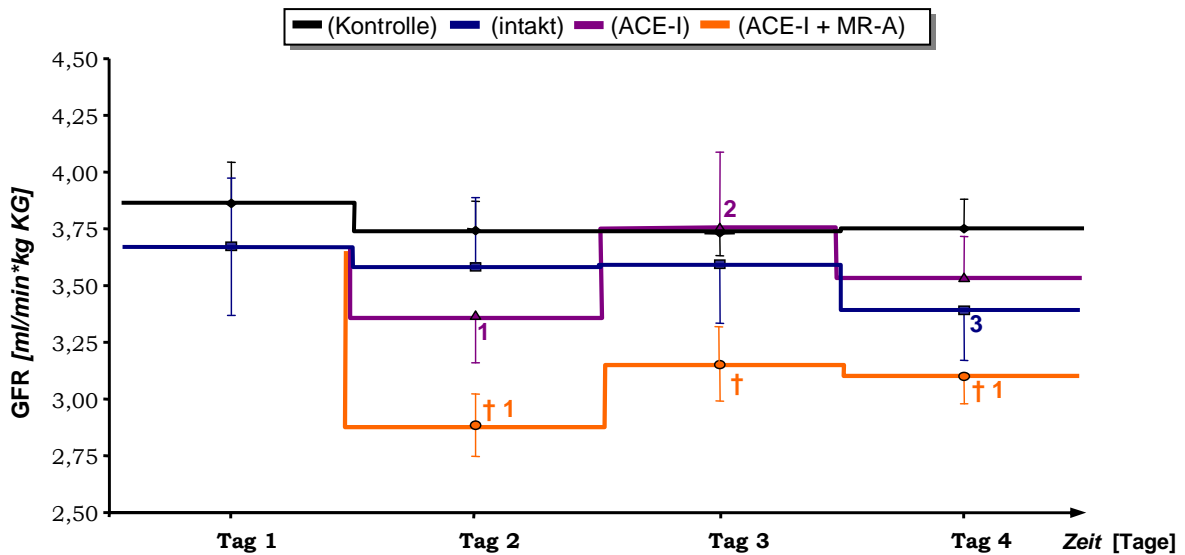


Abb. 3.11.1: 24-h – Mittelwerte der GFR

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.11.2 GFR - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.11.2)

Im Kontrollprotokoll zeigt die GFR einen charakteristischen Verlauf: In der ersten Tageshälfte, d.h., im Zeitraum zwischen der Fütterung und ca. 17 Uhr ist sie gegenüber der zweiten Tageshälfte erhöht. Bei intaktem RAAS als auch bei ACE-Inhibition lässt sich ein ähnlicher Tagesgang feststellen, bei vollständiger Blockierung des RAAS ist das Gesamtniveau auf dem sich der oben beschriebene Verlauf abbildet gegenüber dem Kontrollprotokoll erniedrigt.

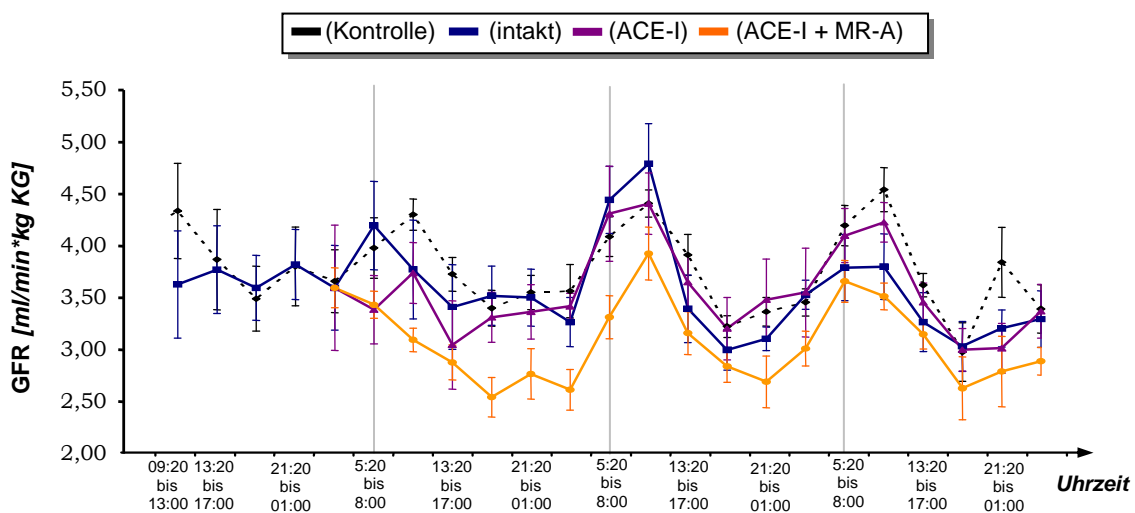


Abb. 3.11.2: hohe zeitliche Auflösung der GFR

3.12 Proximal tubuläre Natrium-Load (Na-Load)

3.12.1 Na-Load – 24 h-Mittelwerte (Abb.: 3.12.1)

Kontrolle: Das Na-Load beträgt am 1. Tag 123,1 mmol/4h*kg KG (SEM 8,1), ist am 2. Tag dem gegenüber erhöht (132,1 mmol/4h*kg KG (SEM 4,6)), dies ist jedoch nicht signifikant, im weiteren Verlauf bleibt das Na-Load auf diesem Niveau.

Intakt: Gegenüber dem Kontrollprotokoll ist der 24-h-Mittelwert über den gesamten Versuchszeitraum nicht signifikant verändert.

ACE-Inhib.: Gegenüber der Kontrolle ist das Na-Load zu keinem Zeitpunkt signifikant verändert. Innerhalb des Protokolls steigt es mit natriumreicher Ernährung am 3. Tag signifikant gegenüber dem Vortag an (130,2 mmol/4h*kg KG (SEM 10,8)) und bleibt auf diesem Niveau am 4. Tag konstant.

ACE-I + MR-A.: Unter vollständiger Blockierung des RAAS ab dem 2. Tag sinkt das Na-Load signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll ab (98,7 mmol/4h*kg KG (SEM 4,6)) und bleibt auf diesem Niveau für den Rest des Versuchszeitraums konstant.

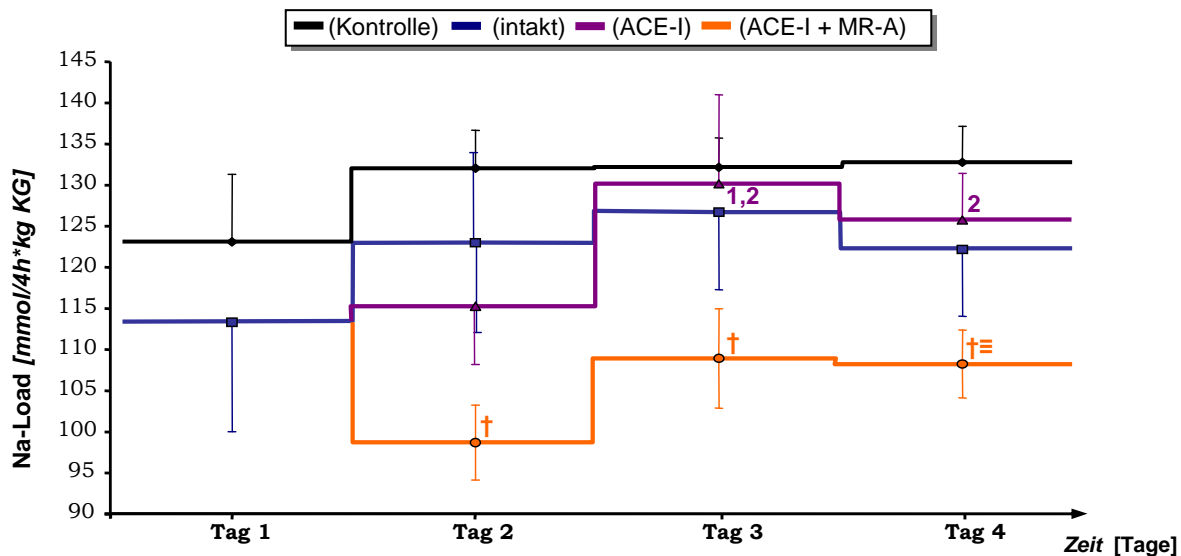


Abb. 3.12.1: 24-h – Mittelwerte des Na-Load

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.12.2 Na-Load - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.12.2)

Im Kontrollprotokoll ist der Tagesverlauf dem der GFR ähnlich (s.o.), d.h., das Na-Load ist während der ersten Tageshälfte gegenüber der zweiten erhöht. Dieser Verlauf ist in allen Protokollen ebenfalls zu beobachten. Bei vollständig blockiertem RAAS ab dem 2. Tag verbleibt

sie insgesamt auf einem gegenüber dem Kontrollprotokoll erniedrigten Gesamtniveau. Das Na-Load befindet sich dabei bereits um 17:00 Uhr des ersten Tages, d.h. nach akuter Verminderung des Natriumbestandes, auf Kontrollniveau.

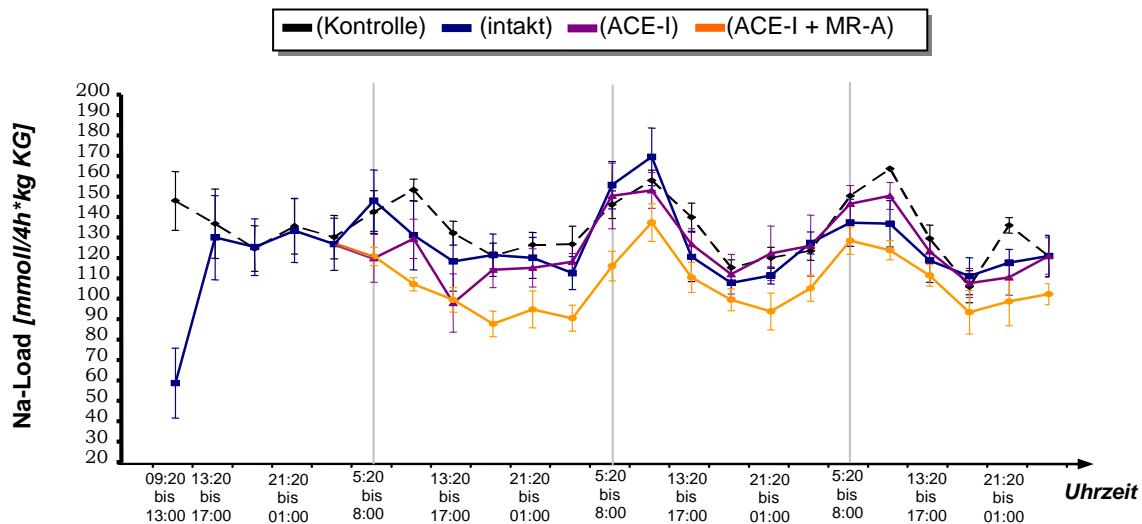


Abb. 3.12.2: hohe zeitliche Auflösung des Na-Load

3.13 Hämatokrit (Hkt)

3.13.1 Hkt – 24-h-Mittelwerte (Abb.: 3.13.1)

Kontrolle: Mit natriumreicher Ernährung sinkt der Hkt von 40,6 % (SEM1,1) bzw. 41,3 % (SEM 0,7) % auf 39,3 % (SEM 0,9) am 3. Tag und 39,9 % (SEM 0,8) am 4. Tag signifikant ab.

Intakt: Der Hkt ist an keinem der Tage signifikant gegenüber der Kontrolle verändert. Am ersten Tag ist er mit 43,2 % (SEM 1,3) nicht signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht, sinkt am 2. Tag signifikant zum Vortag ab (38,9 % (SEM 1,7)), befindet sich nun etwas unterhalb des Kontrollniveaus, dies ist jedoch nicht signifikant. An den folgenden Tagen bleibt der Hkt auf dem Niveau des 2. Tages konstant.

ACE-Inhib.: Im Gegensatz zum Protokoll Intakt sinkt der Hkt nicht am 2. Tag sondern am 3. Tag signifikant zum Vortag ab (39,1 % (SEM 1,1)), ist allerdings zu keinem Zeitpunkt signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll verändert.

ACE-I + MR-A.: Der Hkt ist ab dem 2. Tag signifikant gegenüber dem Protokoll Intakt erhöht, zu keinem Zeitpunkt jedoch signifikant gegenüber der Kontrolle verändert. Wie im Protokoll ACE-I sinkt der Hkt am 3. Tag signifikant gegenüber dem Vortag ab (42,1 % (SEM 2,0)), dies ist hier jedoch geringer ausgeprägt als im Protokoll ACE-I.

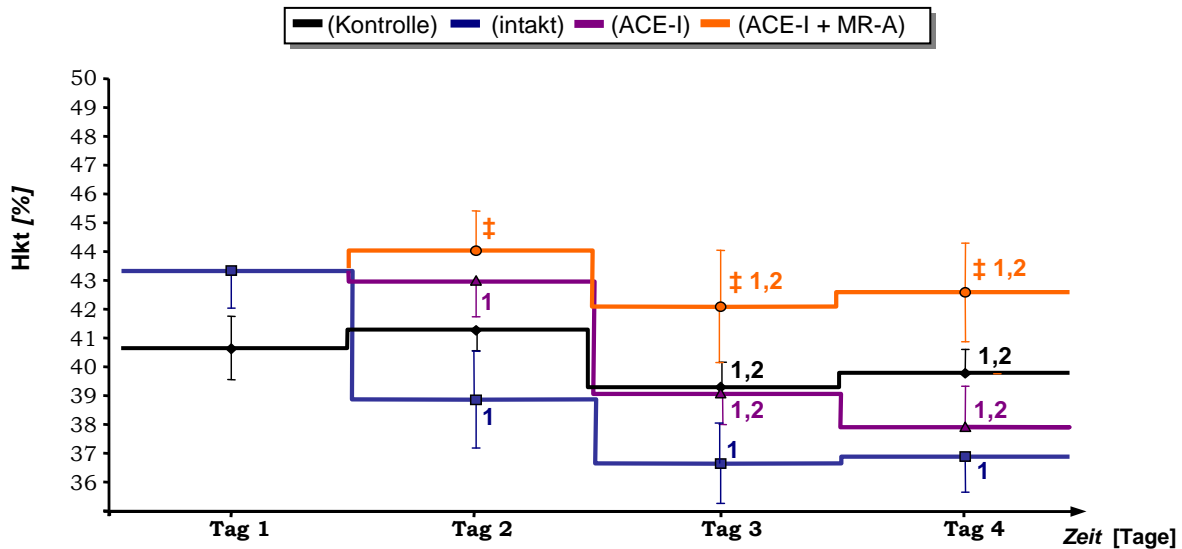


Abb. 3.13.1: 24-h – Mittelwerte des Hkt

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 1 = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.13.2 Hkt - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.13.2)

In der Kontrollgruppe zeigt sich an allen Tagen ein kurzfristiger, postprandialer Abfall des Hkt, der in den Protokollen mit primär vermindertem Natriumbestand an den Tagen 2-4 ebenfalls zu erkennen ist. Direkt nach Natriumentzug lässt sich ein kurzfristiger, deutlicher Anstieg des Hkt feststellen. Bereits um 17:00 Uhr, d.h., 8 Stunden nach PD befindet sich der Hkt bereits wieder auf Kontrollniveau.

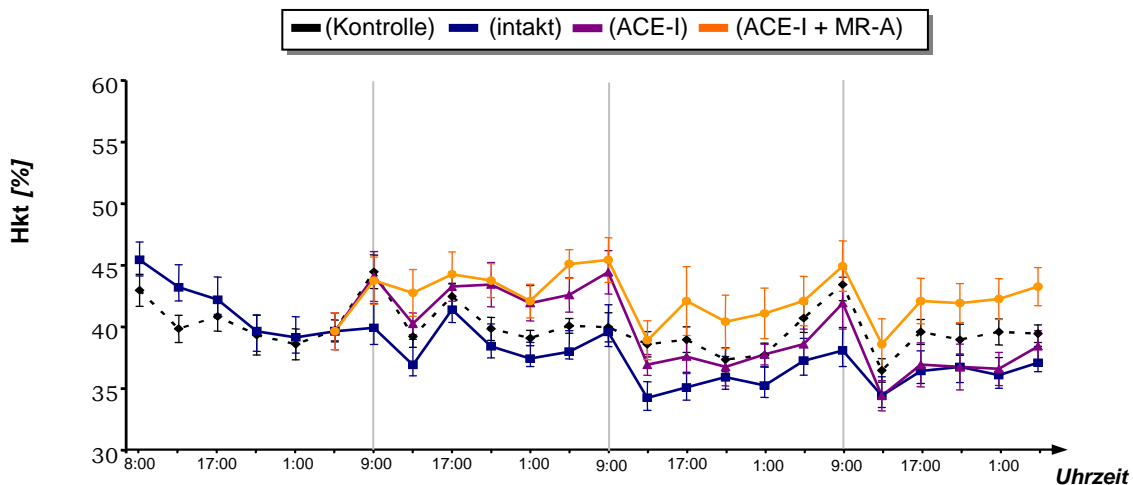


Abb. 3.13.2: hohe zeitliche Auflösung des Hkt

3.14 Plasma-Osmolarität (P_{Osmo})

3.14.1 P_{Osmo} – 24-h-Mittelwerte (Abb.: 3.14.1)

Kontrolle: Von 299,7 mosm/l (SEM 0,5) und 300,3 mosm/l (SEM 1,0) an den ersten beiden Tagen steigt die P_{Osmo} mit Umstellen der Ernährung auf ein natriumreiches Futter signifikant auf 302,7 mosm/l (SEM 0,8) am 3. Tag bzw. 303,4 mosm/l (SEM 0,6) am 4. Tag an.

Intakt: Während die P_{Osmo} am ersten Tag signifikant gegenüber der Kontrolle erniedrigt ist (298,3 mosm/l (SEM 0,8)), steigt sie am 2. Tag signifikant an (303,6 mosm/l (SEM 0,5)), ist nun signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht, steigt am 3. Tag nochmals signifikant an (305,8 mosm/l (SEM 0,8)) und bleibt bis zum Versuchsende auf diesem gegenüber dem Kontrollprotokoll signifikant erhöhten Niveau konstant.

ACE-Inhib.: Unter ACE-Inhibition zeigt sich ein ähnlicher Verlauf wie im Protokoll Intakt. Die P_{Osmo} steigt zwar am 2. Tag ebenfalls signifikant zum Vortag an (302,6 mosm/l (SEM 1,1)), jedoch weniger stark und ist somit gegenüber der Kontrolle nicht signifikant erhöht. Auch an den folgenden Tagen ist die P_{Osmo} nicht signifikant gegenüber der Kontrolle verändert.

ACE-I + MR-A.: Wiederum zeigt sich ein ähnlicher Verlauf wie in den Protokollen mit primärer Verminderung des Natriumbestandes. Im Vergleich zu den anderen Protokollen fällt der Anstieg am 2. Tag jedoch am geringsten aus (300,1 mosm/l (SEM 1,4)), so dass sich die P_{Osmo} ab dem 2. Tag auf Kontrollniveau befindet.

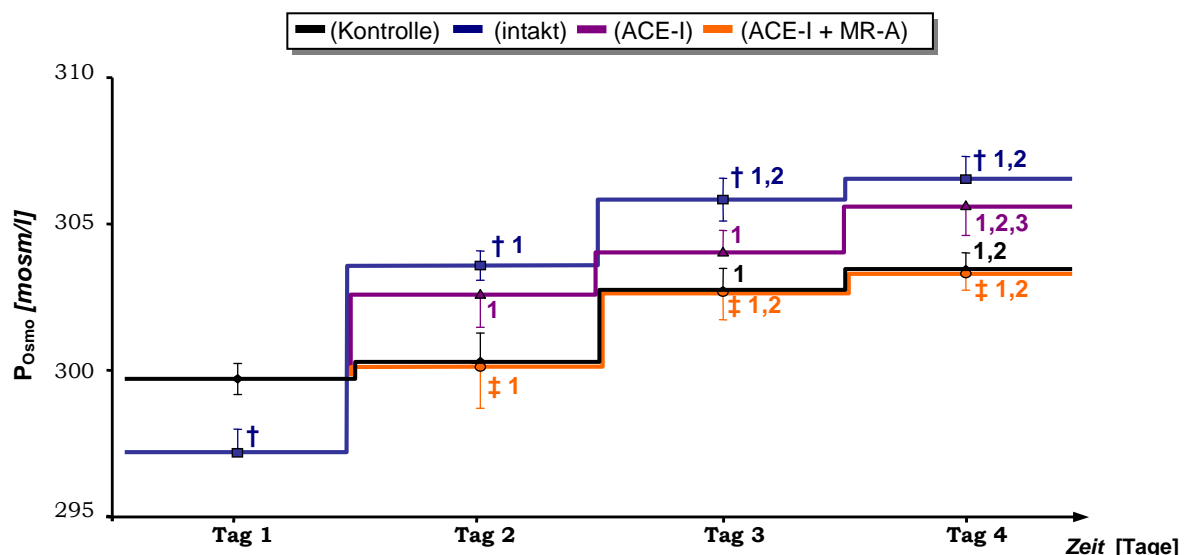


Abb. 3.14.1: 24-h – Mittelwerte der P_{Osmo}

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.14.2 P_{Osmo} - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.14.2)

Im Kontrollprotokoll erkennt man, dass die P_{Osmo} nur geringen Schwankungen innerhalb eines Tages unterliegt. Lediglich ein kurzfristiger, postprandialer Anstieg lässt sich feststellen, der unter natriumreicher Ernährung etwas ausgeprägter zu sein scheint. Nach Natriumentzug sinkt die P_{Osmo} zunächst dramatisch ab, befindet sich jedoch bereits um 17:00 Uhr des ersten Versuchstages, d.h. 8 Stunden nach PD wieder auf Kontrollniveau.

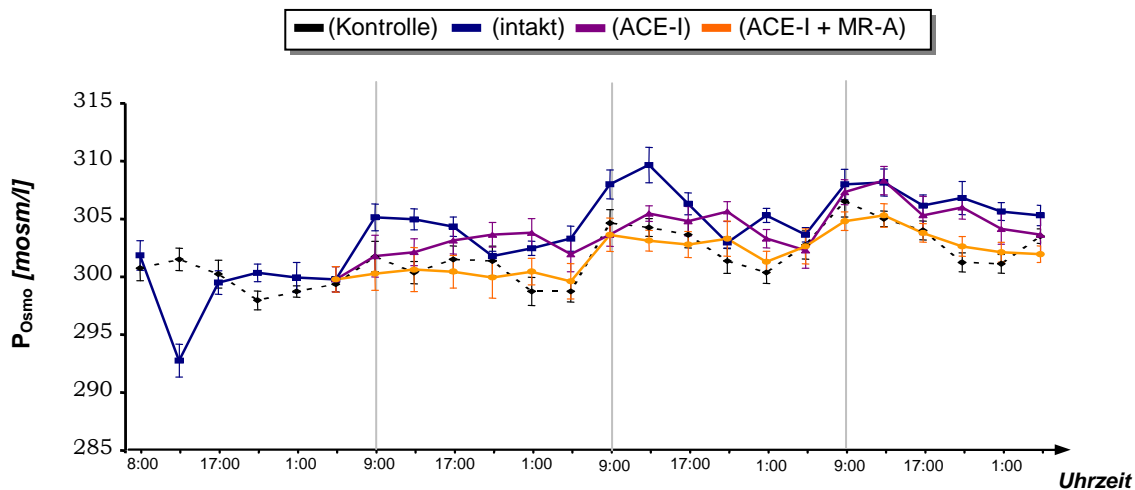


Abb. 3.14.2: hohe zeitliche Auflösung der P_{Osmo}

3.15 Plasma-Protein-Konzentration (P_{Prot})

3.15.1 P_{Prot} – 24 h-Mittelwerte (Abb.: 3.15.1)

Kontrolle: Die P_{Prot} beträgt an den ersten beiden Tagen ca. 5,4 g/dl sinkt am 3. Tag signifikant ab (5,3 g/dl (SEM 0,1)) und befindet sich am 4. Tag wieder auf dem Niveau der ersten beiden Tagen.

Intakt: Am ersten Tag ist die P_{Prot} signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht (6,8 g/dl (SEM 0,1)), sinkt an den Tagen 2 und 3 jeweils signifikant gegenüber dem jeweiligen Vortag ab (6,3 g/dl (SEM 0,1) bzw. 5,9 g/dl (SEM 0,1)), bleibt insgesamt aber bis zum 4. Tag signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht.

ACE-Inhib.: Es zeigen sich keine zum Protokoll Intakt unterschiedlichen 24-h-Mittelwerte. Die P_{Prot} ist den gesamten Zeitraum über signifikant gegenüber dem Kontrollprotokoll erhöht.

ACE-I + MR-A.: Am 2. Tag sinkt die P_{Prot} signifikant zum Vortag ab (6,7 g/dl (SEM 0,1)). Wie in den Protokollen Intakt und ACE-I sinkt sie am 3. Tag nochmals signifikant zum Vortag ab (6,5 g/dl (SEM 0,2)) jedoch weniger stark, so dass die P_{Prot} hier signifikant gegenüber allen

Protokollen erhöht ist. Am 4. Tag ist sie weiterhin signifikant gegenüber der Kontrolle und dem Protokoll ACE-I erhöht (6,5 g/dl (SEM 0,1)).

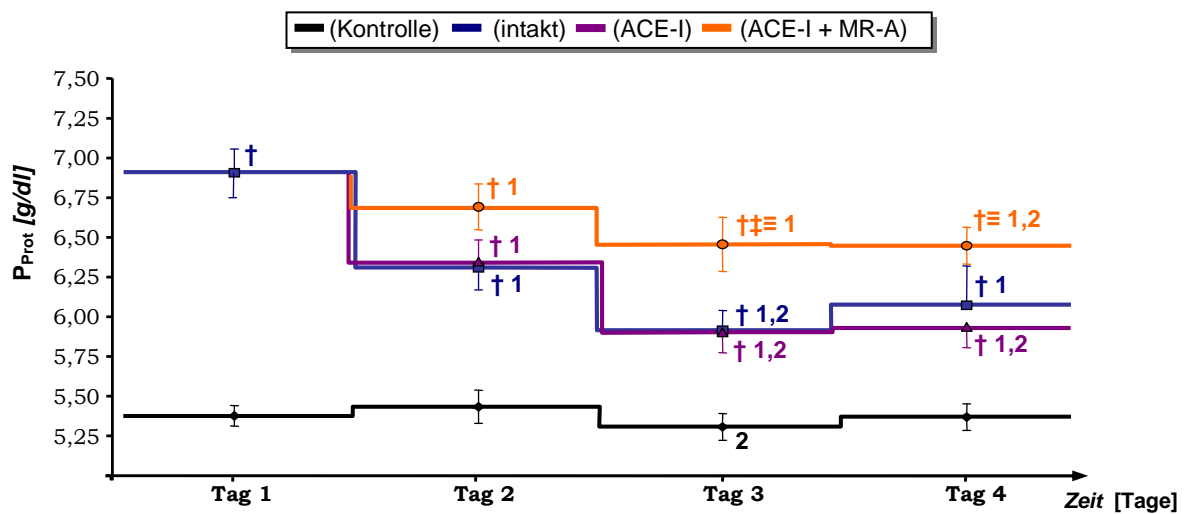


Abb. 3.15.1: 24-h – Mittelwerte der P_{Prot}

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle); ‡ = signifikant gegenüber Protokoll 2 (Intakt);
 ≡ = signifikant gegenüber Protokoll 3 (ACE-I); 1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

3.15.2 P_{Prot} - hohe zeitliche Auflösung (Abb.: 3.15.2)

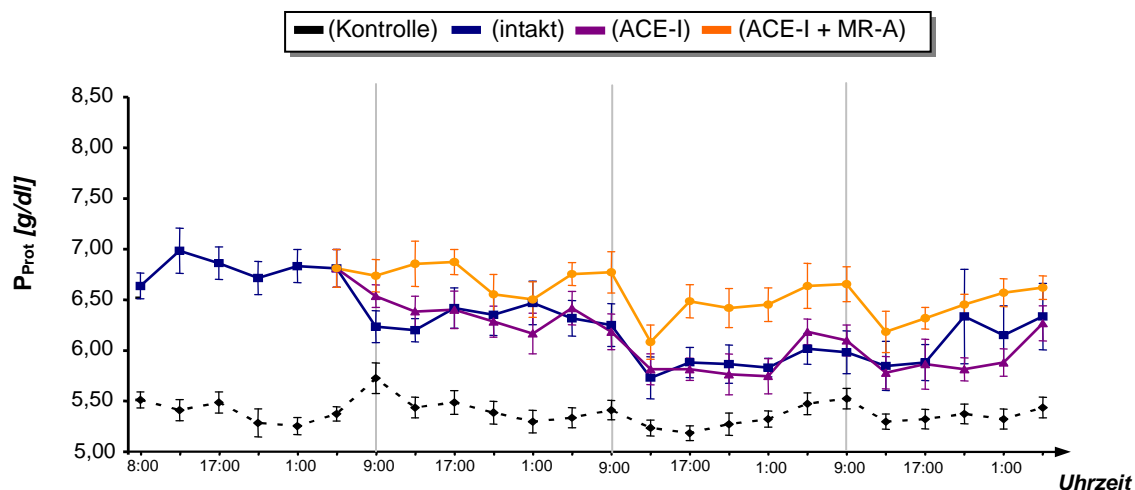


Abb. 3.15.2: hohe zeitliche Auflösung der P_{Prot}

Im Kontrollprotokoll lässt sich ein charakteristischer Kurvenverlauf darstellen. Jeweils um 8:00 Uhr hat die P_{Prot} den im Tagesgang höchsten Wert, fällt postprandial (13:00-Uhr-Wert) ab und bleibt auf diesem Niveau bis zum nächsten Morgen konstant. In den Protokollen mit Natriumentzug zu Beginn des ersten Versuchstages lässt sich kein charakteristischer Tagesverlauf feststellen. Die P_{Prot} ist nach Natriumentzug für den Rest des ersten Tages massiv erhöht, sinkt in den Protokollen Intakt und ACE-I an den folgenden Tagen sukzessive ab,

erreicht aber zu keinem Zeitpunkt das Kontrollniveau. Bei vollständig blockiertem RAAS zeigt sich an den Tagen mit natriumreicher Ernährung jeweils um 13:00 Uhr (postprandial) ein vorübergehender, signifikanter Abfall der P_{Prot} , die aber zu keinem Zeitpunkt auf Kontrollniveau sinkt.

4. DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit ist es, bei genauester Bilanzierung systematisch zu untersuchen, welchen quantitativen Beitrag die einzelnen Elemente des RAAS zur Einstellung des Blutdruckes, des Natriumhaushalts und des Wasserhaushalts, bei primär vermindertem Gesamtkörper-Natriumbestand beisteuern. Zu diesem Zweck wurden Experimente an wachen, freilaufenden Hunden über einen Zeitraum von 4 aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Am Morgen des 1. Versuchstages wurde bei den Versuchstieren durch eine Peritonealdialyse (PD) ein Natriumbestandsdefizit von 3,5 mmol/kgKG erzeugt, entsprechend 10% des rasch austauschbaren Natriumbestandes. Der Natriumbestand lässt sich in zwei Komponenten unterteilen: zum einen in das rasch austauschbare, osmotisch aktive, in nicht gebundener Form im Extra- und Intrazellulärvolumen gelöste Natrium^{175,176}, zum anderen in das langsam austauschbare, osmotisch inaktive, in der kristallinen Phase des Knochens und möglicherweise auch in der extrazellulären Matrix gebundene Natrium¹⁹⁶⁻¹⁹⁸. Die durch PD entzogene Menge Natrium stammt aus dem rasch austauschbaren, osmotisch aktiven Natriumpool. Zum Wiederausgleich dieses Defizits wird den Versuchstieren an den ersten beiden Versuchstagen lediglich eine natriumarme Diät angeboten (0,5 mmol/kg KG). Dabei ist die Menge zugeführten Natriums so gering, dass selbst wenn sie komplett retiniert werden sollte, das Natriumdefizit nicht ausgeglichen werden konnte. Ab dem dritten Tag wird ein natriumreiches Futter (5,5 mmol/kgKG) verfüttert. Ein Ausgleich des Natriumdefizits ist nun bei genügend großer Natriumretention möglich. Durch eine vollständige ACE-Hemmung (s. 2.2.1) wird die A-I-abhängige A-II-Bildung unterbunden.

Damit entfällt:

1. die direkte vasopressorische Wirkung des A-II und damit die A-II-gesteuerte volumenunabhängige Regulation des Blutdrucks,
2. die direkte Natrium retinierende, renale Wirkung des A-II, sowie
3. die A-II-abhängige Aldosteronfreisetzung und damit
4. die durch 2. und 3. bewirkte volumenabhängige Blutdruckregulation.

Durch Gabe eines Mineralokortikoidantagonisten wird:

1. die Natrium retinierende Wirkung und
2. Wasser retinierende Wirkung des Aldosterons an den Nieren (s. 2.2.1) und damit
3. die volumenabhängige Blutdruckregulation blockiert.

Die Kombination von ACE-Hemmung und Aldosteronantagonismus wird im Folgenden als komplette Blockierung des RAAS bezeichnet. Durch die systematische, stufenweise Blockierung des RAAS (1. ACE-Hemmung, 2. ACE-Hemmung in Kombination mit einer Aldosteronantagonisierung) lassen sich genaue Aussagen über die qualitative und quantitative Wirkung der einzelnen Elemente des RAAS treffen. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Regulation des Blutdrucks bei vermindertem Natrium-Bestand zum größten Teil volumenunabhängig durch A-II geschieht, ein adäquater Ausgleich des Natriumbestandsdefizits nur durch das RAAS erfolgt.

4.1 Zusammenhang zwischen dem RAAS und der Regulation des Natriumbestandes

4.1.1 Stellenwert und Wirkung des A-II bei der Regulation des Natriumbestandes

Die tubuläre Natrium retinierende Wirkung des A-II ist durch zahlreiche Untersuchungen belegt worden. A-II stimuliert Natriumtransporter entlang der gesamten Tubulussegmente wie z.B. Na^+/H^+ -Austauscher im proximalen und distalen Tubulus und im aufsteigenden Teil der Henle'schen Schleife^{21,114,136}, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ -Cotransporter im Bereich des aufsteigenden Teils der Henle'schen Schleife und der Macula densa²¹, als auch Na^+/Cl^- -Cotransporter in distalen Tubulusabschnitten^{21,166} und ENaC-Kanälen in den Sammelrohren^{9,21}. Dabei scheint die Signalkaskade über AT_1 -Rezeptoren und daran gekoppelte G-Proteine vermittelt zu sein, welche in immunhistochemischen Untersuchungen ebenfalls entlang aller Tubulussegmente nachgewiesen werden konnten^{68,95}. Auch in vivo ist die Natrium retinierende Wirkung von A-II im physiologischen Konzentrationsbereich vielfach belegt¹⁶⁰. Bei konstanten Aldosteronkonzentrationen bzw. einer Blockierung des Aldosterons konnten Kaczmarczyk et al., Eiken et al., Bie et al., Singer et al.^{36,77,184} eine Natriumretention in Folge einer A-II-Infusion beobachten. Seeliger et al. konnten die Natriumretention durch eine zu einer kontinuierlichen Aldosteroninfusion zusätzlichen A-II-Infusion weiter steigern, ohne dass die PAC weiter angestiegen war^{174,178}.

Die Aldosteron freisetzende Wirkung von A-II ist seit Anfang der 60er Jahre bekannt^{127,128} und wurde in unzähligen Versuchen in vitro und in vivo bestätigt^{91,108,109,145,190}. Durch Bindung an AT_{1b} -Rezeptoren der Glomerulosazellen⁴⁸ führt A-II über eine G-Protein vermittelte Signalkaskade zu einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration und letztlich zu einer vermehrten Synthese von Aldosteron. Eine zusätzliche Stimulation der Aldosteronsynthese wird durch eine A-II abhängige Prostaglandinsynthese in den Nebennieren vermittelt^{102,126}.

Bei intaktem RAAS wird nach Erzeugen des Natriumbestandsdefizits mittels Peritonealdialyse (PD) zu Beginn des ersten Tages trotz natriumarmer Ernährung (0,5 mmol Na⁺/kg KG), an den Tagen 1 und 2 Natrium retiniert. Das Natriumdefizit wird dadurch signifikant reduziert (s. Tab. 4.1.1: a). Die verfütterte Menge Natrium entspricht an diesen Tagen gerademal den extrarenalen Natriumverlusten unter natriumreicher Diät! Sobald eine natriumreiche Diät verfüttert wird (5,5 mmol/kg KG), kommt es zu einer massiven Natriumretention, innerhalb von 24 Stunden wird das Natriumdefizit wieder ausgeglichen (s.Tab 4.1.1: b). Dabei kommt es zu einer insignifikanten Überkorrektur des Natriumbestandes im Vergleich zum Kontrollniveau. Dies passt zu den Befunden von Behrenbeck, Reinhardt, Dörge et al.⁵. Sie hatten wachen Hunden ebenfalls eine definierte Menge Natrium entzogen (durch PD bzw. Mannitolinfusion) und beobachtet, dass die Hunde an den folgenden Tagen so lange das ihnen über die Nahrung zugeführt Natrium retinierten, bis exakt die zuvor entzogenen Menge Natrium quantitativ wieder ausgeglichen war. In diesem Zusammenhang prägten sie den Begriff des „Natrium-Gedächtnisses“. Die stark erhöhte PRA und PAC, welche an späterer Stelle genauer diskutiert werden, legen nahe, dass das RAAS eine entscheidende Rolle beim Wiederausgleich des Natriumdefizits haben könnte.

Durch ACE-Hemmung ab dem 2. Versuchstag, konnte der quantitative Beitrag des A-II zur Natriumretention nach PD gemessen werden: Trotz ACE-Hemmung kommt es am 2. Versuchstag, wie bei intaktem RAAS, zu einer dem Protokoll Intakt gegenüber unveränderten Natriumretention, so dass auch unter diesen Bedingungen eine signifikante Verminderung des Natriumbestandsdefizits resultiert (s. Abb. 4.1.1: a). Der Ausgleich des Bestanddefizits geschieht ebenfalls innerhalb von 24 Stunden (s. Abb. 4.1.1: c) nach Verfütterung der natriumreichen Diät. Die Natrium retinierende Wirkung des A-II wird bei den vorliegenden Untersuchungen durch andere Faktoren genügen kompensiert, so dass am Ende des Versuchszeitraumes kein signifikantes Natrium-Defizit verbleibt. Dabei ist es auch ohne A-II zu einer starken A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung gekommen. Anhand der Ergebnisse mit vollständig blockiertem RAAS wird ersichtlich, dass das Fehlen der Natrium retinierenden Wirkung des Angiotensin-II vor allem durch die Wirkung des Aldosterons kompensiert wurde. Während es bei intaktem RAAS zu einer nicht signifikanten Überkorrektur des Natriumbestandsdefizits gekommen ist, befindet sich der Natriumbestand unter ACE-Hemmung am 3. Versuchstag insignifikant unter dem Kontrollniveau. Die Differenz zwischen den Natriumbeständen bei intaktem RAAS und bei ACE-Hemmung ist signifikant und wird bis zum Ende des 4. Versuchstages nicht korrigiert (s. Abb. 4.1.1: d). Diese Differenz ist zum einen auf die fehlende Natrium retinierende Wirkung, zum anderen auf die fehlende Aldosteron freisetzende Wirkung

des A-II zurückzuführen. Die PAC ist unter ACE-Hemmung an den Tagen 2, 3 und 4 signifikant niedriger als bei intaktem RAAS, jedoch gegenüber der Kontrolle massiv erhöht. Die genannten Natriumbestandsunterschiede ließen sich durch das von Strauß et al. postulierte Modell (s. Abb. 1.3) erklären. Demnach stellt der höhere Wert die obere Grenze, der untere Wert den „basalen set-point“ des Natriumbestandes dar. Somit kommt es in beiden Fällen zu einem Ausgleich des Defizits innerhalb der physiologischen Grenzen.

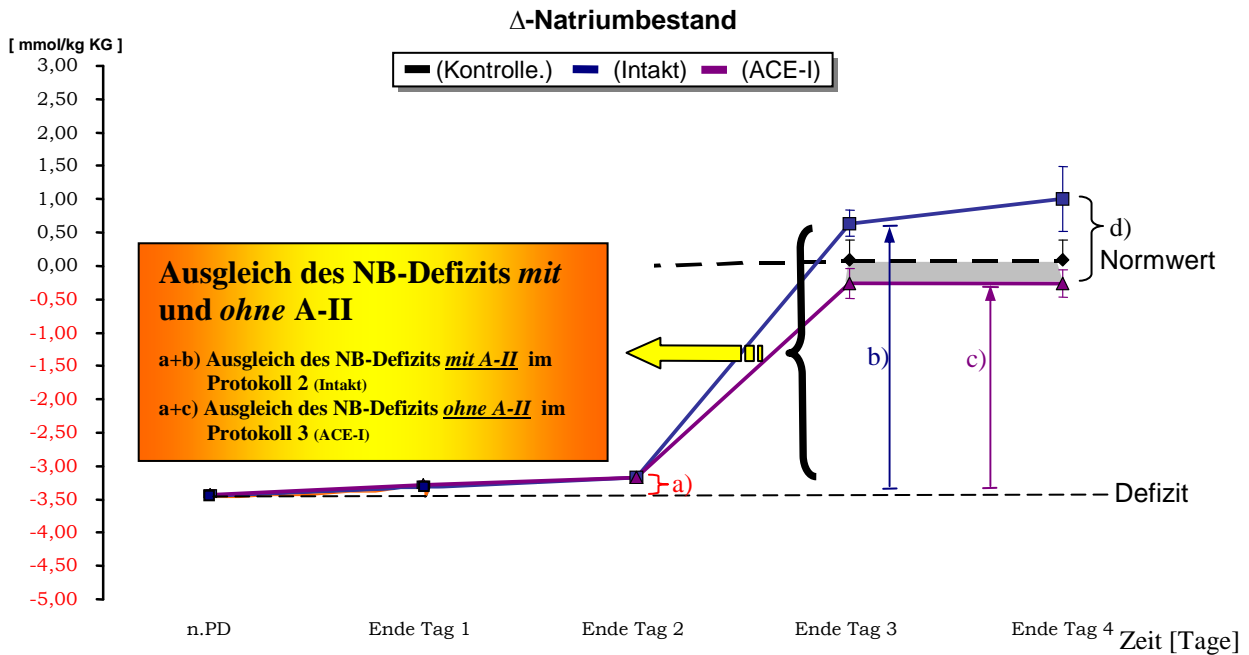


Abb.4.1.1: Ausgleich des Natriumbestandsdefizits (NB-Defizit) bei intaktem RAAS (a+b) und nach ACE-Hemmung (a+c) möglich.

4.1.2 Stellenwert und Wirkung des Aldosterons bei der Regulation des Natriumbestandes

Hauptzielorgan des Aldosterons sind die Nieren, wo es vor allem nach Bindung an Mineralokortikoid-Rezeptoren der Tubuluszellen Synthese, Einbau und Aktivität von luminalen Na⁺-Kanälen, EnaC-Kanälen und der basolateralen Natrium-Pumpe steigert und so die aktive Resorption von Natrium aus dem distalen Konvolut und den Sammelrohren erhöht²⁰⁴. Dem entsprechend zeigt sich bei den vorliegenden Untersuchungen mit vollständiger Blockierung des RAAS ab dem 2. Versuchstag eine signifikant verminderte Natriumretention. Während bei alleiniger ACE-Hemmung sogar am 2. Versuchstag trotz natriumarmer Ernährung Natrium retiniert werden konnte und das Natriumbestandsdefizit darunter signifikant abnahm, nimmt das Natriumdefizit bei vollständiger Blockierung des RAAS an diesem Tag signifikant zu (s. Abb. 4.1.2: a).

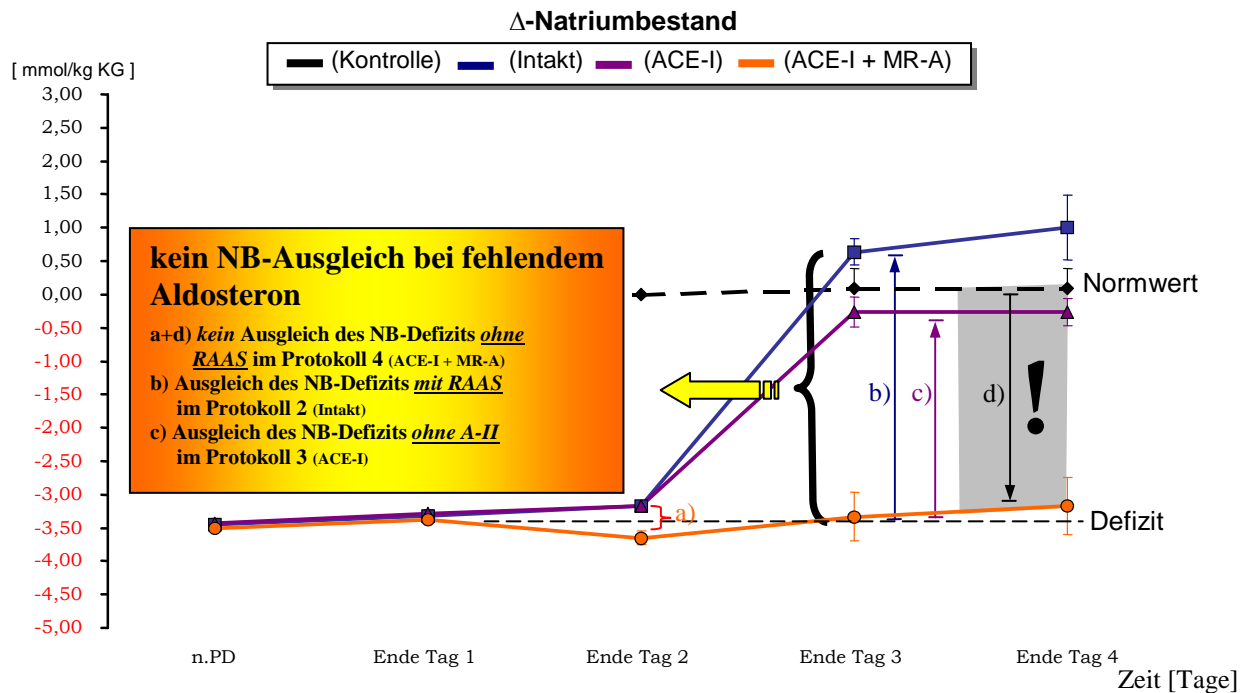


Abb. 4.1.2: Kein vollständiger Ausgleich des Natriumbestandsdefizits bei blockiertem RAAS (a+d)

NB= Natriumbestand

Unter natriumreicher Ernährung (Tag 3 und 4) bleibt das Natriumbestandsdefizit unter vollständig blockiertem RAAS nahezu konstant und kann nicht ausgeglichen werden (s. Abb. 4.1.2 d). Der unter alleiniger ACE-Hemmung messbare Ausgleich des Natrium-Defizits lässt sich somit auf die tubuläre Wirkung des A-II-unabhängig freigesetzten Aldosterons zurückführen^{117,164}. Die Tatsache, dass bei kompletter Blockade des RAAS kein Ausgleich des Natriumdefizits stattfindet, zeigt, dass das RAAS bei vermindertem Natriumbestand den wichtigsten Effektor zum Aufrechterhalten und Wiederausgleichen eines physiologischen Natriumbestandes darstellt.

Der zentrale Stellenwert des RAAS bei der Regulation der Natriumausscheidung und Aufrechterhaltung eines physiologischen Natrium-Bestandes bei primär erhöhtem Natriumbestand konnte durch die systematischen Untersuchungen von Reinhardt, Seeliger et al. geklärt werden^{15,23,153,160,161,173,174,177}. Hierbei stellen A-II und Aldosteron die wichtigsten im Organismus vorkommenden Faktoren, welche eine Natriumresorption bewirken, bzw. diese steuern, dar. Der Organismus kann zudem durch gezielte, von einander unabhängige Suppression des A-II und/oder des Aldosterons einer durch andere Ursachen bedingten und sonst zu einer deletären Situation führenden Natriumresorption entgegenwirken. Für Zustände mit primär vermindertem Natriumbestand lässt sich nun für den Stellenwert des RAAS eine vergleichbare Relevanz feststellen. Die Gesamtheit aller anderen, die Natriumausscheidung steuernden

Mechanismen sind demnach nicht potent genug ein zuvor erzeugtes Natriumdefizit auszugleichen, wenn das RAAS vollständig blockiert ist. Andererseits hat sich unter vollständiger Blockierung des RAAS das Natriumdefizit nicht vergrößert. Dies lässt darauf schließen, dass unabhängig vom RAAS, Natrium retinierende Mechanismen zur Konstanthaltung des Natriumdefizits beigetragen haben müssen, auf die im Kapitel 4.6 genauer eingegangen wird.

4.2 Zusammenhang zwischen Na⁺-, K⁺- und Wasserbestand

Wie einleitend dargestellt werden die Flüssigkeits- und Elektrolytbestände des Körpers sowie die Osmolalität der Körperflüssigkeiten in engen Grenzen konstant gehalten wie Korrelationsanalysen der eigenen Arbeitsgruppen erneut bestätigen konnten. Änderungen des Natriumbestandes (von - 10 % bis +50 % des rasch austauschbaren Natriums) korrelieren dabei über einen weiten Bereich mit denen des Wasserbestandes in einem hohen Bestimmtheitsmaß ($r^2 = 0,83$). Die Korrelation wurde noch deutlich besser, wenn Änderungen des Kaliumbestandes mit einbezogen wurden ($r^2 = 0,93$)^{176,179}. Da Änderungen des Natriumbestandes häufig mit Kaliumbestandsänderungen einhergehen, bedeutet dies, dass infolge eines Natriumentzuges (z. B. durch eine Peritonealdialyse) und daraus resultierender Verminderung des Wasserbestandes, Änderungen des Kaliumbestandes berücksichtigt werden müssen und daher in der vorliegenden Untersuchung mit erfasst wurden.

Durch die PD am Morgen des ersten Versuchstages wurde der Natriumbestand um 3,5 mmol/kg KG vermindert. Die Reduktion des Natriumbestandes betrifft dabei anfänglich nur das Extrazellulärvolumen. Sowohl die P_{Na} -Konz. als auch die P_{Osmo} sinken, entsprechend einer hypotonen Isohydratation, initial signifikant ab. Dies führt zu einer Stimulation von Osmorezeptoren mit der Folge einer vermehrten Wasserausscheidung. Die sich rechnerisch aus dem Natriumentzug ergebende Menge osmotisch freien Wassers, abzüglich der im Verlauf retinierten Mengen Natrium und Kalium, wird jedoch bis zum Abend des ersten Versuchstages nur zu 70 % quantitativ ausgeschieden. Durch die Kaliumretention an den ersten beiden Versuchstagen mit signifikantem Anstieg des Kaliumbestandes um 0,5–0,6 mmol/kg KG in allen Protokollen vermindert sich folglich die Menge des osmotisch freien Wassers, d.h., die auszuscheidende Menge Wasser ist geringer als die, die dem alleinigen Natriumentzug entspricht. Somit wurde ein Teil des rechnerisch durch Natriumentzug entstandenen osmotisch freien Wassers durch die Kaliumretention kompensiert¹⁷⁶. Zusätzlich mindern die Kaliumretention und der Anstieg der P_K -Konzentration den initialen Abfall der P_{Osmo} , der bei alleinigem Natriumentzug größer hätte ausfallen müssen. Bezogen auf die Menge des retinierten Kaliums hätte die P_K -Konzentration jedoch um ca. 2,5 mmol/l ansteigen müssen, falls die

retinierte Kaliummenge extrazellulär verblieben wäre. Tatsächlich stieg sie aber maximal nur um 0,5 mmol/l. an, d. h., eine größere Menge Kalium muss von extra- nach intrazellulär verschoben worden sein. Die anfänglich verminderte P_{Na} -Konzentration befindet sich bereits am Abend des ersten Versuchstages wieder auf Kontrollniveau, ohne dass in der selben Zeit adäquate Mengen Natrium retiniert wurden bzw. auf Grund der natriumarmen Ernährung überhaupt retiniert werden konnten. Die gegenläufige Bewegung der P_{Na} - und P_K -Konzentration ist durch einen osmotisch neutralen Natrium-Kalium-Austausch zwischen extra- und intrazellulär erklärbar^{175,176}. Zusätzlich kommt es zu einer Verschiebung von osmotisch freiem Wasser nach intrazellulär mit Abnahme des Plasmavolumens. Als indirekte Marker für ein abnehmendes Plasmavolumen direkt nach PD, noch bevor die Wasserdiurese einsetzt, können die P_{Prot} -Konzentration sowie der Hkt herangezogen werden, die direkt nach PD signifikant ansteigen. Der Hkt lässt nur eingeschränkt Rückschlüsse auf das Plasmavolumen zu, was an der Beschaffenheit der Milz der Versuchshunde liegt. Ihre sog. Speichermilz kann unter bestimmten Umständen, beispielsweise Stress, akut vermehrt Erythrozyten freisetzen. Nach initialer Erhöhung der P_{Prot} sinkt diese zwar sukzessive bis ca. 17:00 bzw. 21:00 Uhr ab, bleibt aber signifikant um 1 g/dl gegenüber der Kontrolle erhöht. Daraus lässt sich folgern, dass es bereits kurze Zeit nach PD zu einer Abnahme des Plasmavolumens gekommen sein muss.

Bereits 1967 führten Behrenbeck et al.⁶ Untersuchungen zur Einstellung der Natriumbilanz an wachen Hunden mit primärer Verminderung des Natriumbestandes mittels PD durch, deren Ergebnisse sich mit unseren decken. Der Natriumentzug führt zu folgenden Änderungen, die sowohl das extra- als auch das intrazelluläre Flüssigkeitskompartiment betreffen. Die entzogene Natriummenge stammt initial aus dem extrazellulären Natriumraum, zur Wiederauffüllung des extrazellulären Natriumbestandes wird zunächst intrazelluläres Natrium herangezogen, wofür Kalium im Austausch nach intrazellulär verschoben wird. Neben der raschen Ausscheidung von ca. 70% des osmotisch freien Wassers, fließt auf Grund des osmotischen Gefälles ein Teil des extrazellulären osmotisch freien Wassers nach intrazellulär. Die Folge ist eine Abnahme der intrazellulären Natrium-Konzentration⁶.

Wird den Versuchstieren ab dem dritten Versuchstag eine ausreichende Menge Natrium über das Futter angeboten (5,5 mmol/kg KG) wird das Natriumdefizit bei intaktem RAAS wie auch unter alleiniger ACE-Hemmung rasch ausgeglichen, der Kaliumbestand sinkt dazu spiegelbildlich. Gleichzeitig wird Wasser retiniert, so dass das Wasserbestandsdefizit abnimmt. Während der Natriumbestand am Ende des 4. Versuchstages vollkommen normalisiert wurde, verbleibt bei intaktem RAAS ein nicht signifikantes Wasserbestandsdefizit (3,5 ml/kg KG). Gleichzeitig ist der Kaliumbestand auf -0,44 mmol/kg KG gegenüber der Kontrolle gesunken. Unter ACE-

Hemmung zeigen sich die gleichen Verhältnisse, allerdings verbleibt hier ein signifikantes Wasserbestandsdefizit von ca. 12 ml/kg KG, der Kaliumbestand ist ebenfalls signifikant um -0,6 mmol/kg KG vermindert. Bei vollständiger Blockierung des RAAS kann das Natriumdefizit auch an den Tagen 3 und 4 nicht wieder ausgeglichen werden, folglich auch das Wasserbestandsdefizit nicht. Der Kaliumbestand sinkt allerdings auch in diesem Fall ab dem 3. Tag auf Normalniveau bzw. am 4. Tag auf -0,4 mmol/kg KG. Zum selben Zeitpunkt nimmt das Wasserbestandsdefizit entsprechend zu, so dass am Ende der vier Versuchstage ein signifikantes, quantitatives Wasserbestandsdefizit besteht. Das heißt, sowohl bei intaktem RAAS, bei ACE-Inhibition als auch bei vollständiger Blockierung des RAAS bleibt die Korrelation zwischen Änderungen des Wasserbestandes mit denen des Kationenbestandes (Na^+ und K^+) erhalten.

4.3 Der Zusammenhang zwischen dem RAAS und der Blutdruckregulation

Die Regulation der Elektrolyt- und Wasserbestände sind insofern eng mit der Regulation des Blutdruckes verknüpft, als dass das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen und das Plasmavolumen wesentlich durch das im Extrazellulärraum gelöste Natrium, d.h. letztlich durch den Natriumbestand determiniert werden. Ein erhöhtes Plasmavolumen ist in der Regel unter physiologischen Bedingungen mit einer Erhöhung des Blutdrucks verbunden^{24,59,60,62}. Ausnahmen wären beispielsweise ein chronische Herzinsuffizienz, Cardiomyopathien, andere strukturelle Erkrankungen des Herzens oder pulmonale Erkrankungen wie z.B. eine pulmonale Hypertonie. Ein erhöhtes Plasmavolumen führt zu einer Erhöhung der Vorlast des Herzens das via Frank-Starling-Mechanismus mit einer Erhöhung des Auswurfvolumens reagiert. Bei gleichbleibendem Abstromwiderstand erhöht sich infolge dessen der Blutdruck²⁴. Dieser Zusammenhang einer volumenabhängigen Blutdruckregulation ist bei gesunden Hunden vielfach bei Zuständen mit normalem oder erhöhtem Wasserbestand belegt worden^{16,153,174,177}: Mit Zunahme des Wasserbestandes steigt der Blutdruck volumenabhängig, wobei die Gesamtheit aller volumenunabhängigen Mechanismen den Blutdruckanstieg nicht voll kompensieren können. Gemäß dem Konzept von Guyton et al.^{24,58,60-62} besteht der Zusammenhang zwischen Wasserbestands- und Blutdruckregulation über den gesamten (patho)physiologischen Bereich. Welche Konsequenz die oben genannten Änderungen der Wasser- und Elektrolytbestände in Folge einer Verminderung des Natriumbestandes auf die Blutdruckregulation haben und welche Rolle insbesondere das RAAS in diesem Zusammenhang spielt, wurde bisher nicht systematisch untersucht. Untersuchungen von Seeliger et al. geben Hinweise darauf, dass bei vermindertem Natrium- und Wasserbestand die Korrelation zu Änderungen des Blutdrucks geringer ausgeprägt ist und vor allem volumenunabhängige Mechanismen einen Blutdruckabfall kompensiert haben

könnten¹⁷³ im Gegensatz zu dem von Guyton et al. formulierten Konzept¹⁷⁹. Die Besonderheit des RAAS besteht darin, zum einen zentrales Regulationselement des Natriumbestandes zu sein, zum anderen direkt (volumenunabhängig) und indirekt (volumenabhängig) den MABP regulierend beeinflussen zu können.

4.3.1 Stellenwert und Wirkung des A-II bei der Blutdruckregulation bei vermindertem Natriumbestand

Der Natriumentzug zu Beginn des ersten Versuchstages führt zu einer vermehrten Wasserausscheidung und einer Verminderung des Wasserbestandes um ca. 11 ml/kg KG. Das Plasmavolumen nimmt parallel dazu ab, wie Kaczmarczyk et al. in früheren Untersuchungen durch Messung des rechts atrialen Vorhofdrucks, der in Folge einer PD signifikant abfiel, belegen konnten⁸¹. Trotz des Volumenverlustes sinkt der 24h-Mittelwert des MABP am ersten Versuchstag bei intaktem RAAS jedoch nicht ab. Auch am 2. Tag ist der MABP bei weiter bestehendem Wasserbestandsdefizit nicht gegenüber der Kontrolle vermindert, d.h., das Wasserbestandsdefizit und damit der Plasmavolumenverlust können bei intaktem RAAS vollständig kompensiert werden.

Mit ACE-Hemmung ab dem 2. Versuchstages ist der MABP um ca. 15 mmHg gegenüber der Kontrolle signifikant vermindert, d.h., der Volumenverlust ist hier hinsichtlich des Blutdruckes nicht mehr durch volumenunabhängige Mechanismen kompensiert. Das Wasserbestandsdefizit ist nach PD bei intaktem RAAS und unter ACE-Hemmung etwa gleich groß (am Ende des 2. Versuchstages ca. -15 ml/kgKG), d.h., der Unterschied des MABP ist nicht durch einen unterschiedlichen Volumenhaushalt bzw. unterschiedliche Plasmavolumen zu erklären, sondern durch die fehlende vasopressorische Wirkung des A-II (s. Abb 4.3.1).

Der Wirkmechanismus des A-II wird als eine direkte Wirkung an den Gefäßmuskelzellen via A-II-Rezeptoren beschrieben²⁴. Durch Bindung des A-II an seinen Rezeptor, kommt es zu einem vermehrten Einstrom und eine vermehrte intrazelluläre Freisetzung von Ca^{++} -Ionen mit daraus resultierender Kontraktion glatter Gefäßmuskulatur^{88,104,165}. Neben einer direkten Wirkung auf die Gefäßmuskelzellen, wird auch eine indirekte Wirkung des A-II über die Stimulation des Sympathikus und Hemmung des Parasympathikus beschrieben^{102,103,144,180}, sowie durch eine zentrale Interaktion an der Area postrema, bzw. eine Stimulation adrenerger autonomer Ganglien^{107,151}. Mit der Verabreichung von ACE-Hemmern wird außerdem nicht nur die Synthese von A-II unterbrochen, sondern auch der Abbau von Bradykininen, die ihrerseits eine vasodilatierende Wirkung besitzen^{120,132}. Möglicherweise könnte sich dieser Effekt zu dem Wegfall von A-II addiert haben. Die blutdrucksenkende Wirkung der Bradykinine wird in der

Literatur jedoch eher als gering betrachtet¹¹¹ und der Wegfall des A-II als Hauptursache angesehen¹²⁰.

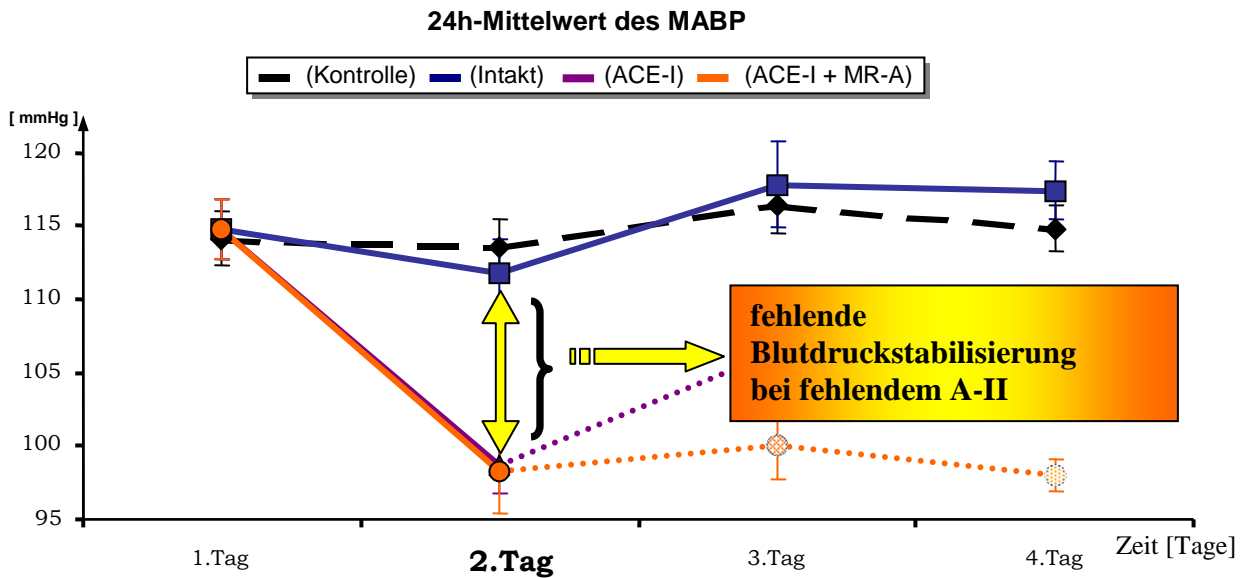


Abb. 4.3.1: Fehlende Blutdruckstabilisierung bei ACE-Hemmung ab dem 2. Tag
bei vermindertem Natrium- und Wasser-Bestand

Die blutdruckstabilisierende Wirkung des A-II scheint vor allem auf Zustände mit vermindertem Natriumbestand zuzutreffen^{43,130}. Erklärt wir dieses durch eine veränderte Sensitivität der Gefäßmuskelzellen bzw. durch eine erhöhte A-II-Rezeptor-Dichte (vor allem AT_{1b} -Rezeptoren)¹⁶⁹ unter Natriummangel⁵¹. Manche Autoren stellen sogar eine den Blutdruck stabilisierende Wirkung unter alleiniger natriumarmer Ernährung fest¹⁶². Es existieren ebenfalls Daten, die eine solche Wirkung des A-II sogar bei Zuständen mit normalem Natriumbestand beschreiben, jedoch nicht für Zustände mit erhöhtem Natriumbestand bzw. bei natriumreicher Ernährung¹³⁴. Mit natriumreicher Ernährung kommt es, trotz ACE-Hemmung durch die oben beschriebene A-II-unabhängig Stimulation der Aldosteronfreisetzung, zu einem vollständigen Auffüllen des Natriumdefizits innerhalb von 24 Stunden. Das Wasserbestandsdefizit wird jedoch nicht vollständig ausgeglichen, so dass am Ende des 4. Tages eine noch signifikante Verminderung des Wasserbestandes vorliegt (ca. 12 ml/kg KG), der MABP befindet sich hingegen wieder auf Kontrollniveau. Diese Normalisierung des MABP am 4. Versuchstag lässt sich bei noch bestehendem Wasserbestandsdefizit u.a. durch eine Zunahme des Plasmavolumens in Folge von Flüssigkeitsverschiebungen von intrazellulär nach extrazellulär bzw. intravasal erklären. Einen Hinweis hierfür geben die im Vergleich zum 2. Tag signifikant sinkende P_{Prot} -Konzentration und die Abnahme des Hkt, was als Verdünnungseffekt zu werten ist. Mit zunehmendem Ausgleich des Natriumbestandsdefizits kehren sich die oben genannten

Austauschvorgänge und Verschiebungen der Elektrolyte und Flüssigkeiten zwischen den intra- und extrazellulären Kompartimenten des Körpers wieder um, d.h., auch wenn unter ACE-Hemmung das Natriumbestandsdefizit wieder ausgeglichen wird und ein gewisses Wasserbestandsdefizit verbleibt, so scheint Flüssigkeit von intrazellulär nach extrazellulär bzw. intravasal zu fließen mit der Folge, dass sich der MABP trotz eines Flüssigkeitsdefizits am 4. Versuchstag wieder auf Normalniveau befindet. In diesem Zusammenhang wurde bei kompletter ACE-Hemmung demnach der Blutdruck zumindest teilweise über volumenabhängige Mechanismen wieder stabilisiert, sofern das Natriumbestandsdefizit wieder ausgeglichen war. Die Regulation des Plasmavolumens würde somit dem aktuellen Natriumbestand folgen. Dieser Befund untermauert den oben bereits angesprochen Zusammenhang, dass das Plasmavolumen durch das extrazellulär gelöste Natrium bestimmt wird. Die extrazelluläre Natriummenge ist dabei abhängig vom Natriumbestand.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die vorliegenden Befunde klar zeigen, dass bei vermindertem Natrium- und Wasserbestand, volumenunabhängige Mechanismen der Blutdruckregulation, darunter vor allem die vasopressorische Wirkung des A-II, den Volumenverlust voll kompensieren können. Dies steht im deutlichen Gegensatz zur Blutdruckregulation bei Zuständen mit erhöhtem Natrium- und Wasserbestand denn hier können volumenunabhängige Mechanismen einen Anstieg des Blutdrucks bei Zunahme des Wasserbestandes nicht voll kompensieren^{160,174}. Somit müssen die volumenunabhängige Mechanismen der Blutdruckregulation als über den gesamten physiologischen Bereich unsymmetrisch wirksam beschrieben werden, d.h., die Potenz der volumenunabhängigen Mechanismen steht in Abhängigkeit zu dem aktuellen Natrium- und Wasserbestand. Mit Wiederausgleich des Wasserbestandsdefizits werden die volumenunabhängigen Mechanismen zur Aufrechterhaltung des MABP zeitnah reduziert und es kommt nicht zu einer „überschießenden“ Blutdruckregulation.

4.3.2 Stellenwert und Wirkung des Aldosterons bei der Blutdruckregulation bei vermindertem Natriumbestand

Bei vollständiger Blockierung des RAAS können weder das Natrium- noch das Wasserbestandsdefizit wieder ausgeglichen werden, der MABP bleibt bis zum Ende des 4. Versuchstages um ca. 17 mmHg signifikant erniedrigt. Dies spricht für die zentrale Rolle des RAAS zur Regulation des Natriumbestandes und der langfristigen Blutdruckregulation auch bei vermindertem Natriumbestand.

Das von Guyton und Mitarbeitern formulierte Konzept des „renal body fluid pressure controlsystem“^{24,58-60} basiert auf zwei Beobachtungen:

1. Eine Natrium-Akkumulation (Zunahme des Natriumbestandes) führt generell zu einer Erhöhung des MABP, u.a. durch Zunahme des Wasserbestandes. Umgekehrt ist postuliert worden, dass eine Abnahme des Natriumbestandes den MABP vermindert.
2. Eine Erhöhung des MABP führt so lange zu einer Diurese und Natriurese, was als Drucknatriurese bezeichnet wurde, bis sich der MABP durch den Volumenverlust wieder auf Normalniveau befindet. Umgekehrt soll eine Verminderung des renalen Perfusionsdruckes (RPP) solange Natrium retinierend wirken^{24,59,60,64-66,119} bis der MABP wieder auf Kontrollniveau angestiegen ist.

Dieser Mechanismus soll eine dominierende Rolle bei der Regulation der renalen Natrium- und Wasserausscheidung besitzen und wird von ihnen als ein System extremer Regelgüte („infinite gain principle“), in allen Druckbereichen auf kleinste Druckänderungen reagierend und nicht redundant beschrieben^{61,62,136}. Auf Grund der hier vorliegenden Befunde muss das Konzept dahin gehend modifiziert werden, als dass eine Abnahme des Natrium- und Wasserbestandes eben nicht per se zu einer Abnahme des MABP führt, ferner führt der Drucknatriurese-Mechanismus bei vollständig blockiertem RAAS nicht zu einer Kompensation des Natriumbestandsdefizits und damit des MABP. Die Hypothese des „infinite gain principle“ kann somit nicht gehalten werden. Bei vollständiger Blockierung des RAAS sinkt der MABP jedoch nicht weiter ab, d.h., weitere, vom A-II unabhängige volumenunabhängige Mechanismen, sowie eine volumenabhängige Blutdruckregulation müssen die Stabilisierung des MABP auf dem signifikant erniedrigten Niveau bewirkt haben. Dieser Sachverhalt wird im Kapitel 4.6 eingehender diskutiert.

4.4 Die Plasma-Renin-Aktivität (PRA);

Ursachen und Mechanismen der gesteigerten Reninfreisetzung

4.4.1 Die Stimulation der Reninfreisetzung in der Kontrollgruppe

Es ist allgemein akzeptiert, dass eine verminderte Natriumzufuhr zu einer erhöhten Reninfreisetzung führt^{20,39,44,160,177,199}. Der Tagesmittelwert der PRA ist in der Kontrollgruppe während der natriumarmen Ernährung signifikant gegenüber den Tagen mit natriumreicher Ernährung erhöht. Anhand der hohen zeitlichen Auflösung (4-h-Werte) lässt sich ein differenzierteres Bild des tageszeitlichen Verlaufs der PRA darstellen. Der Tagesgang der PRA deckt sich mit den Ergebnissen von Seeliger et al.^{23,177}.

Unter natriumarmer Ernährung ist der 9-Uhr-Wert, d.h. unmittelbar nach Fütterung, der im Tagesgang höchste. Dem gegenüber sinkt die PRA postprandial (13-Uhr-Wert) wieder ab und bleibt über den Rest der 24 Stunden, d.h., auch im „postreabsorptiv state“ (21:00-5:00 Uhr) auf diesem Niveau konstant.

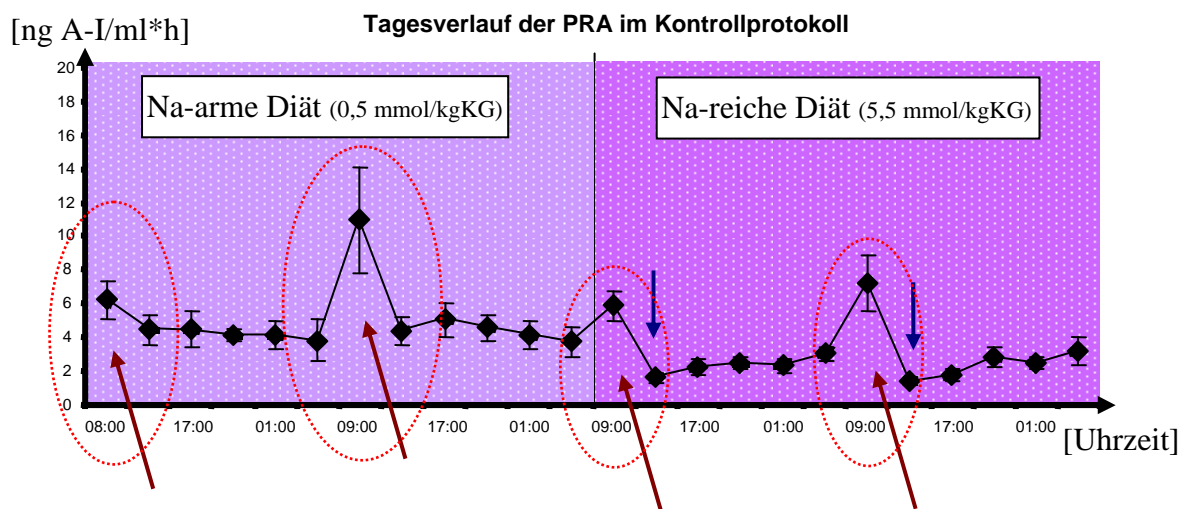


Abb. 4.4.1: Unterschiede im Tagesverlauf der PRA im Kontrollprotokoll bei natriumarmer und natriumreicher Ernährung

- Impulsantwort der PRA unter natriumarmer und natriumreicher Diät (rote Pfeile)
- Abfallen der PRA nach dem Spitzenwert nur unter Na-reicher (blaue Pfeile)

Auch unter natriumreicher Ernährung ist der 9-Uhr-Wert der im Tagesgang höchste Wert, jedoch ist dieser signifikant geringer als unter natriumarmer Diät. Der sich anschließende Verlauf unterscheidet sich deutlich von dem der natriumarmen Versuchstage: Die PRA fällt postprandial deutlicher ab (13:00 und 17:00 Uhr Werte) und ist während dieser Zeit signifikant niedriger als unter natriumarmer Ernährung (s. Abb 4.4.2, blaue Pfeile). Im Anschluss hieran steigt die PRA

wieder an, so dass im „postreabsorptive state“ (21:00-5:00 Uhr) keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen der PRA unter natriumarmer- bzw. natriumreicher Ernährung bestehen.

Im Zusammenhang mit der Beeinflussung der Reninfreisetzung durch Änderung der Natriumzufuhr werden unterschiedliche Mechanismen diskutiert:

1. Die atriale Natriuresis: Eine Veränderung des Natriumbestandes führt über Änderungen des Plasmavolumens zu einer Erhöhung bzw. Verminderung des Vorhofdrucks mit einer dazu invers korrelierenden Reninfreisetzung und Natriumausscheidung
2. Die druckabhängige Reninfreisetzung: Eine Veränderung des Natriumbestandes führt zu Änderungen des Plasmavolumens mit daraus folgenden Änderungen des renalen Perfusionsdruckes bzw. des systemischen Blutdrucks und dazu invers korrelierender Reninfreisetzung.
3. Der Macula-densa-Mechanismus: Eine Änderung der P_{Na} -Konzentration führt zu einem veränderten Natrium-Load im distalen Tubulus. Dies wird von den Macula-densa-Zellen gemessen und führt zu einer dem Na-Load inversen Reninfreisetzung.

1. Die atriale Natriuresis

Im Zusammenhang mit dem sog. „Volumen Reflex“, d.h. einer Zunahme der Wasserdiurese in Folge einer Erhöhung des links-atrialen Drucks, beschrieben Gauer und Henry⁴⁶ erstmalig in den Vorhöfen lokalisierte Dehnungsrezeptoren. Reinhardt, Kaczmarczyk et al.^{80,154-157} beobachteten, dass ca. 1 Stunde nach Nahrungsaufnahme (d.h. postprandial) der links atriale Druck ansteigt und dies eine Natriumausscheidung auslöst, welche quantitativ mit dem Vorhofdruck korreliert ist. Die Zunahme des links atrialen Drucks korrelierte zudem, bei gleich bleibender Wasseraufnahme, positiv mit der Menge des zugeführten Natriums^{81,154,157} und umgekehrt^{8,79}. Dieser Zusammenhang zwischen Natriumaufnahme, Vorhofdruck und Natriumausscheidung wurde als atriale Natriuresis (AN) bezeichnet. Die durch Vorhofdehnung ausgelöste Natriuresis ist durch eine Suppression der Reninfreisetzung und konsekutiver Verminderung der A-II-Konzentration mit nachfolgender geringerer tubulärer Natriumresorption vermittelt^{49,80,118,154,155,157}. Interessanterweise kann ab einem Gesamtkörpernatriumdefizit von ca. 10 mmol keine weitere Natriuresis durch Erhöhung des linken Vorhofdruckes erreicht werden¹⁵⁴. Das bedeutet, dass die nervalen Signale stimulierter thorakaler Dehnungsrezeptoren mit weiteren Signalen (beispielsweise dem Gesamtkörpernatriumbestand) in vegetativen Kerngebieten des Hirnstammes und dem sog. Kreislaufzentrum der Formatio reticularis mit Efferenzen anderer Hirnstrukturen (limbisches System, Kortex) verschaltet und integriert werden und daraus erst die letztendliche Reninfreisetzung resultiert. Im umgekehrten Fall, d.h. einer verminderten Dehnung

der venösen Kapazitätsgefäße und der Vorhöfe, kommt es zu einer gesteigerten Natrium- und Wasserretention. Versuche an künstlich beatmeten Tieren zeigten einen deutlichen Anstieg der Natrium- und Wasserretention mit Zunahme des eingestellten PEEP (positiv endexpiratory pressure)^{8,79}.

Die vorliegenden Befunde legen nahe, dass die beschriebenen Zusammenhänge zwischen erhöhter Natriumzufuhr, erhöhtem Plasmavolumen, erhöhtem Vorhofdruck, verminderter Renin- und damit A-II-Freisetzung und erhöhter Natriumausscheidung auch hier im Sinne der atrialen Natriuresis zu sehen sind: Bei gleicher Wasserzufuhr ist die postprandiale Natriumausscheidung unter natriumreicher Ernährung viel höher als unter natriumarmer Ernährung. Zeitgleich sinkt die PRA postprandial auf Werte unterhalb derer unter natriumarmer Ernährung. In hoher zeitlicher Auflösung erkennt man eine starke Zunahme der Natriumausscheidung in den ersten Stunden nach Futteraufnahme. Bereits um 21:00 Uhr, d.h. 12 Stunden später, befindet sich die Natriumausscheidung wieder auf ihrem niedrigen Ausgangsniveau. Dieses charakteristische Ausscheidungsprofil deckt sich mit früheren Befunden dieser Arbeitsgruppe und ist als „Impulsantwort“ auf die orale Futterbelastung („Impuls“) und die damit verbundene postprandiale Vergrößerung des Extrazellulärvolumens interpretiert worden¹⁵⁵. Die Befunde passen zu dem von Strauss, Hollenberg und Simpson beschriebenen Modell, denen zur Folge die Suppression der Natrium retinierenden Mechanismen (im wesentlichen des RAAS) positiv mit der Menge des sog. Extra-Natriums korrelieren. So ist z.B. der 13-Uhr-Wert der PRA unter natriumreicher Ernährung gegenüber dem bei natriumarmer Ernährung signifikant vermindert. Zu diesem Zeitpunkt muss auf Grund der gegenüber der natriumarmen Ernährung 11-fach erhöhten Natriumzufuhr eine viel stärkere Zunahme des sog. Extra-Natriums angenommen werden. Passend dazu ist die Reninfreisetzung zu diesem Zeitpunkt stärker supprimiert als unter natriumarmer Ernährung. Erst im postreabsorptive state, d.h., wenn sämtliche Austausch- und Ausscheidungsvorgänge größtenteils abgeschlossen sind, befindet sich die PRA wieder auf dem Niveau wie unter natriumarmer Ernährung.

Während es als gesichert gilt, dass der N.vagus den afferenten Signalweg der AN darstellt^{118,155} ist jedoch bis heute unklar, über welchen efferenten Signalweg die AN die Reninfreisetzung beeinflusst. Prinzipiell bestehen 3 Möglichkeiten:

- a) Über ein veränderten Blutdruck (MABP) bzw. renalen Perfusionsdruck (RPP)
- b) Über eine veränderte Aktivität der sympathischen Nieren-Nerven
- c) via Freisetzung von ANP (atrio-natriuretische-Peptid)

zu a) Eine alleinige Vermittlung der AN über den RPP konnten Reinhardt, Kaczmarczyk et al. jedoch ausschließen. Eine Erhöhung des Vorhofdruckes führte auch bei konstant gehaltenem RPP zu einer unveränderten Verminderung der PRA und A-II-Konzentration¹⁵⁷ und Erhöhung der Natriurese. Möglicherweise könnte eine Veränderung nicht des renalen Perfusionsdruckes, sondern des systemischen arteriellen Drucks, der beispielsweise von Barorezeptoren in der Aorta und Carotis-sinus detektiert wird, zu einer Beeinflussung der Reninfreisetzung führen.

In den hier vorliegenden Untersuchungen unterscheidet sich der systemische MABP und damit der RPP zwischen den Tagen mit natriumarmer und natriumreicher Ernährung zu keinem Zeitpunkt, somit ist hier eine Vermittlung der AN durch den systemischen MABP bzw. den RPP sehr unwahrscheinlich.

zu b) Die im Zusammenhang mit der AN stehende Reninfreisetzung könnte über die sympathischen Nierennerven gesteuert werden^{31,32,49,83,96,97,100,101,155,194}. Befunde von Kaczmarczyk et al. sprechen jedoch gegen eine essentielle Rolle der Nierennerven unter diesen Bedingungen, denn auch nach renaler Denervation wurde bei ausreichendem Natriumangebot ein zuvor erzeugtes Natriumbestandsdefizit innerhalb kürzester Zeit wieder ausgeglichen, die PRA war dabei unabhängig von der renalen Denervation⁷⁸. Die infolge einer intravenösen Natrium- und Wasserzufuhr zu beobachtende Suppression der Reninfreisetzung und Steigerung der Natriumausscheidung verändert sich auch durch eine pharmakologische Blockade von β_1 -Adrenorezeptoren nicht¹¹. Anhand der vorliegenden Befunde kann die Rolle der Nierennerven in diesem Zusammenhang nicht weiter differenziert werden.

zu c) Die Entdeckung des ANP, dessen Sekretion durch Dehnung der Vorhöfe ausgelöst wird, sowie seine bei stark erhöhter Plasmakonzentration natriuretische Wirkung ließen vermuten, dass das ANP der Vermittler der AN sei²⁷. Da eine cardiale Denervation die AN jedoch verhinderte, bedeutet dies, dass die AN an intakte vagale Afferenzen gebunden und unabhängig vom ANP ist^{49,118,154,155}. Die in den vorliegenden Versuchen gemessenen ANP-Spiegel lassen ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen ANP-Spiegeln und der Natriumausscheidung erkennen.

Anhand der vorliegenden Befunde kann der efferente Signalweg, über den die AN die Reninfreisetzung in diesem Zusammenhang beeinflusst, nicht näher differenziert werden.

2. Die druckabhängige Reninfreisetzung

Seit längerem ist bekannt, dass die Reninfreisetzung durch einen intrarenalen barorezeptorähnlichen Mechanismus kontrolliert wird¹⁸⁵. Dabei besteht eine inverse Beziehung zwischen dem renalen Perfusionsdruck und der Reninfreisetzung^{35,38-40,42,83,84,177}. Hinsichtlich des genauen Mechanismus dieser druckabhängigen Reninfreisetzung bestehen noch Unklarheiten. Lange Zeit wurde vermutet, dass die reninhaltigen Zellen selbst eine

Barorezeptorfunktion besitzen⁶³. Analog zur myogenen Autoregulation des renalen Blutflusses⁷⁵ würde ein segmentales Ansprechen der aus glatten Gefäßmuskelzellen transformierten reninhaltigen Zellen zu einer dem Perfusionsdruck entsprechenden Reninfreisetzung führen³⁹. Neuen Studien zufolge sollen die Gefäßendothelzellen als primärer Mechanosensor fungieren und auf Änderungen des intravasalen Blutdrucks mit einer veränderten Freisetzung von Botenstoffen wie NO und cytosolischem Calcium reagieren. Über sog. Connexin40-abhängige „gap junctions“ kommunizieren die Endothelzellen vermutlich mit den reninbildenden Zellen u.a. über einen Austausch von Ionen und second messengers^{19,92,201}. Die reninbildenden Zellen stammen dabei nicht von Myozyten der Gefäßwand, sondern von einer gemeinsamen Vorläuferzellen, den sog. metanephrischen mesenchymalen Zellen ab¹⁴¹.

In den hier durchgeführten Untersuchungen entspricht der systemische MABP dem an den Nieren wirkenden Perfusionsdruck. Im Kontrollprotokoll unterscheidet sich der Tagesmittelwert des MABP/RPP zu keinem Zeitpunkt zwischen den Tagen mit natriumarmer und natriumreicher Ernährung. In der hohen zeitlichen Auflösung (20-Minuten-MW) zeigt sich sowohl unter natriumarmer als auch unter natriumreicher Ernährung der von Seeliger et al. bereits beschriebene charakteristische tageszeitliche Verlauf des Blutdruckes. Es bestehen zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Tagen mit natriumarmer und natriumreicher Ernährung insbesondere nicht zu den Zeitpunkten 9:00, 13:00 und 17:00 Uhr. Die zu diesen Zeiten gemessenen unterschiedlichen PRA können somit nicht auf einem über den MABP/RPP vermittelten Mechanismus beruhen.

Kirchheim, Fahri, Seeliger, Persson, Finke et al.^{35,38-40,42,83,84,177} führten zahlreiche Untersuchungen zur quantitativen Beschreibung der druckabhängigen Reninfreisetzung (pressure dependend renin release = PDRR) durch. Frühe Befunde von Fahri et al. deuteten auf eine Verstärkung der PDRR durch eine natriumarme Ernährung³⁹ hin. Seeliger et al.³⁵ zeigten jedoch, dass sich die aus einer schrittweisen Reduktion des renalen Perfusionsdruckes (RPP) resultierenden Reninfreisetzung bei natriumreicher und natriumarmer Ernährung nicht unterschied, allerdings führten sie die Untersuchungen im „postreabsorptive state“ durch, einem Zeitpunkt, bei dem die PRA auch in den hier durchgeführten Untersuchungen zwischen natriumarmer und natriumreicher Ernährung gleich waren. Weiterführende Untersuchungen von Seeliger et al. zeigten, dass die PDRR durch eine Verminderung des Natriumbestandes verstärkt wird. Eine Verminderung des Natriumbestandes führt selbst bei konstantem, normalem renalen Perfusionsdruck zu einer gesteigerten Reninfreisetzung³⁵. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden Änderungen des Natriumbestandes durch die genaue Bilanzierung der Natriumeinfuhr und -ausfuhr berechnet. Bei ausgeglichenen Ein- und Ausfuhrbilanzen an allen Tagen im

Kontrollprotokoll kann davon ausgegangen werden, dass bei Umstellen von der natriumarmen auf die natriumreiche Ernährung keine größeren Mengen Natrium retiniert wurden, so dass sich hier bei den Versuchshunden kein „echtes“ Natriumbestandsdefizit unter natriumarmer Ernährung ausgebildet hatte und somit eine Verstärkung der PDRR durch einen verminderten Natriumbestand, der theoretisch eine Rolle hätte spielen könnte, ausgeschlossen werden kann. Zusammenfassend lassen sich die Unterschiede der PRA im Kontrollprotokoll unter natriumarmer und natriumreicher Ernährung nicht durch ein verändertes MABP, RPP oder Natriumbestand erklären.

3. Der Macula densa – Mechanismus (MD)

Der MD-Mechanismus beschreibt den Zusammenhang zwischen dem von den MD-Zellen detektierten Signal, dem Na-Load zu Beginn des distalen Konvoluts und der Reninfreisetzung. Die Macula densa-Zellen sind Teil des juxtaglomerulären Apparates und den reninbildenden Zellen direkt benachbart. Über einen Na-K-2Cl-Transporter können die MD-Zellen das Na-Load im distalen Tubulus messen. Dabei werden Natrium, Kalium und Chlorid durch die MD-Zellen aufgenommen^{89,135,140,171}.

Dies führt:

- zu einer Veränderung der Elektrolytkonzentration der MD-Zellen (der intrazellulären Natrium, Kalium- und Chloridkonzentration), einer Änderung des pH-Wertes und des Membranpotentials,
- zu einer Änderung der interstitiellen Elektrolytzusammensetzung mit Veränderung der Chloridkonzentration und der Osmolarität und
- zu einer veränderten Produktion und Freisetzung von parakrinen Mediatoren durch die MD-Zellen wie z.B. Adenosin-Triphosphat (ATP), Adenosin, Stickstoffmonoxid (NO) und Prostaglandinen (PGE2).

An den benachbarten reninbildenden Zellen bewirkt dies eine Änderung der intrazellulären Calciumkonzentration, des Membranpotentials, des Zellvolumens und eine Aktivierung von second messengers, mit der Folge einer gesteigerten Reninsynthese und -freisetzung bei vermindertem distalen NaCl-Load und einer verminderten Synthese bei erhöhtem Load^{63,89,135,140,200}.

In den hier durchgeführten Untersuchungen unterschieden sich die GFR und die Plasma-Natriumkonzentration im Kontrollprotokoll in den Zeiträumen mit natriumarmer und natriumreicher Ernährung zu keinem Zeitpunkt voneinander, folglich ist auch das proximale Natriumload nicht unterschiedlich. Gleiches kann unter den genannten Versuchsbedingungen,

vorausgesetzt es gibt keine vom Renin-Angiotensin-System unabhängige Faktoren, welche die proximale tubuläre Natriumresorption verändern, für das distale Natrium-Load angenommen werden. Daraus folgt, dass die MD in diesem Zusammenhang im Kontrollprotokoll nicht verantwortlich für die unterschiedlichen PRA unter natriumarmer und natriumreicher Ernährung sein kann.

Unabhängig von der Na-Zufuhr, sind die morgendlichen PRA-Werte die im Tagesverlauf höchsten Werte. Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist dies auch auf die Versuchsbedingungen/-durchführung zurückzuführen. Wie im Kapitel Material und Methodik beschrieben, findet jeweils morgens die Fütterung der Tiere, Säuberung der Käfige und Kalibrierung der Messinstrumente statt, was insgesamt Aufregung für die Versuchstiere darstellt und sich in erhöhten Blutdruckwerten und einer erhöhten HF zu diesem Zeitpunkt widerspiegelt. Eine Stimulation der Reninfreisetzung durch diese Faktoren ist seit langem bekannt^{34,38,84,121,143}. Analog zu den Befunden von Seeliger et al. 1999, scheint es unter natriumarmer Ernährung zu einer Steigerung der Sensibilität der Reninfreisetzung auf solche Faktoren wie Stress, Katecholamine usw. gekommen zu sein, was zu den hier messbaren erhöhten morgendlichen Peak-Werten unter natriumarmer Ernährung geführt haben könnte. Eine Ursache für die gesteigerte Sensibilität ist derzeit jedoch nicht bekannt, sicherlich ist sie aber multifaktorieller Genese.

Zusammenfassend kann die unter natriumarmer Ernährung zu beobachtende erhöhte PRA funktionell durch das Modell von Strauss, Hollenberg und Simpson erklärt werden. Der charakteristische Verlauf der PRA entspricht den Befunden anderer Arbeiten^{23,177} und lässt sich mit dem Modell einer über den Vorhofdruck gesteuerten Reninfreisetzung vereinbaren, wengleich der efferente Schenkel dieses integrativen Mechanismus derzeit noch nicht geklärt ist.

4.4.2 Die Stimulation der Reninfreisetzung nach Erzeugen des Natriumbestandsdefizits

Nach Erzeugen eines echten Natriumbestandsdefizits von 3,5 mmol/kg KG lässt sich, wie in früheren Untersuchungen bereits beschrieben^{81,177} eine massive (hier: 12-17fache) Erhöhung der PRA bereits zum ersten Messzeitpunkt ca. 30-45 Minuten nach Natriumentzug feststellen. Die vorliegenden Befunde zeigen eine eindeutige Korrelation der PRA mit dem Natriumbestand: Unmittelbar nach PD (Natriumbestandsdefizit -3,5 mmol/kg KG) ist die Reninfreisetzung massiv stimuliert und bleibt dies bis zum Wiederausgleich des Natriumbestandsdefizits am 3.Tag. Mit Ausgleich des Natriumbestandsdefizits (natriumreiche Ernährung ab dem 3.Tag) bei intaktem

RAAS bzw. unter ACE-Hemmung sinkt die PRA praktisch zeitgleich. Unter vollständiger Blockierung des RAAS kann das Natriumbestandsdefizit nicht ausgeglichen werden, die PRA bleibt bis zum Ende des vierten Versuchstages signifikant erhöht.

Unter ACE-Hemmung sowie bei der vollständigen Blockierung des RAAS korreliert die PRA mit dem MABP und dem Natriumbestand, so dass hier von einer zusätzlichen vom Druck abhängigen Reninfreisetzung auszugehen ist. Zudem fehlt unter ACE-Hemmung das vom A-II ausgehende negative Feedback auf die Reninfreisetzung („short-feedback-loop“), was zusätzlich zu einer Erhöhung der PRA beigetragen haben muss.

1. Die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung

Der Begriff „Natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung“ wurde durch systematische Studien zum Einfluss von veränderter Natriumzufuhr und von experimentellen Änderungen des Natriumbestandes auf die basale und druckabhängige Reninfreisetzung im „postreabsorptive state“ geprägt¹⁷⁷. Eine alleinige Änderung der Natriumzufuhr blieb dabei ohne signifikanten Einfluss auf die Reninfreisetzung, ein Natriumbestandsdefizit steigerte die Reninfreisetzung drastisch, während ein stark erhöhter Natriumbestand diese fast vollständig supprimierte. Bis heute konnte nicht geklärt werden, über welche Signalwege die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung vermittelt wird und wie der Organismus den Gesamtkörpernatriumbestand überhaupt misst. Sowohl Volumen- als auch Osmorezeptoren konnten bisher im Organismus identifiziert werden, so dass eine Berechnung des Natriumbestandes durch den Organismus als Produkt aus Volumen und Natriumkonzentration theoretisch denkbar wäre. Aus den folgenden genannten Gründen müsste die Berechnung sehr ungenau sein, wenn nicht sogar unmöglich:

Die einzelnen Flüssigkeitskompartimente des Organismus unterliegen ständigen, raschen Elektrolyt- und Wasserverschiebungen und unterscheiden sich in der Natriumkonzentration und Flüssigkeitsmenge erheblich¹⁷⁹. Auch die P_{Na} kann Änderungen unterliegen, die nicht unmittelbar auf Änderungen des Gesamtkörpernatriums zurückzuführen sind. Die Volumenrezeptoren messen die Vorhofdehnung als ein vom Intravasalvolumen abhängige Größe, d.h., es wird nur ein Teilvervolumen des Organismus detektiert. Gleiches gilt für die Natriumkonzentration. Die Osmolarität, überwiegend von der Natriumkonzentration abhängig, kann von den Osmorezeptoren gemessen werden, jedoch befinden sich diese ebenfalls nicht in allen Kompartimenten des Organismus, so dass, ein blinder Bereich existiert und, wie oben erwähnt, die theoretisch denkbare Berechnung des Natriumbestandes durch den Organismus in der Praxis nicht wahrscheinlich erscheint. Dennoch ist es wahrscheinlich, dass Veränderungen bestimmter Größen wie etwa des Blutvolumens, des Vorhofdrucks oder des arteriellen Drucks,

die durch Änderungen des Natriumbestandes ausgelöst oder zumindest damit verbunden sind, die Reninfreisetzung steuern.

Der hinter der Bezeichnung „Natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung“ stehende Mechanismus konnte bisher nicht abschließend geklärt werden. Die im Kapitel 4.4.2 genannten Mechanismen der Reninfreisetzung spielen bei der Vermittlung der natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung u.a. wiederum eine Rolle.

➤ Die vorliegenden Befunde erlauben den Rückschluss auf eine zum verminderten Natriumbestand korrelierende Verminderung des Plasmavolumens, mit daraus resultierender Abnahme des Vorhofdruckes und Steigerung der Reninfreisetzung. Somit könnte die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung über den Mechanismus der AN vermittelt sein, wenn auch der efferente Signalweg der AN ebenfalls bisher noch nicht geklärt werden konnte. Kaczmarczyk et al. zeigten allerdings, dass die Reninfreisetzung auch nach cardialer Denervation⁸¹ massiv erhöht blieb und dass das zuvor erzeugte Natriumbestandsdefizit wieder „aufgefüllt“ werden konnte. Sie folgerten daraus, dass die Abnahme des atrialen Drucks in Bezug auf die Natriumkonservierung ein redundantes Signal darstellt und der Wegfall der über den Vorhofdruck vermittelten Reninfreisetzung durch andere Mechanismen ausreichend kompensiert werden kann.

➤ Änderungen des Plasmavolumens können zu Änderungen des MABP und des RPP führen. Seeliger et al. untersuchten den Einfluss unterschiedlicher Natriumbestände auf die Reninfreisetzung unter Servokontrolle des RPP und zeigten, dass die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung nicht über den RPP vermittelt wird¹⁷⁷. Allerdings könnten Änderungen des systemischen MABP, detektiert von Barorezeptoren der Aorta oder Carotissinus, hier involviert gewesen sein. Bei in gleichem Maße erhöhtem MABP führte eine Bestandserhöhung von 9 mmol/kgKG zu einer stärkeren Suppression der Reninfreisetzung als eine Erhöhung auf nur 3 mmol/kgKG, so dass eine Vermittlung der natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung allein über arterielle Barorezeptoren bei erhöhtem Natriumbestand ausgeschlossen werden konnte. Inwiefern dies für Zustände mit vermindertem Natriumbestand zutrifft, wurde bisher nicht untersucht. Bei intaktem RAAS und bestehendem Natriumbestandsdefizit befindet sich der MABP bei den hier durchgeführten Untersuchungen allerdings zu allen Zeitpunkten auf Kontrollniveau, während das RAAS massiv stimuliert ist. Eine Beteiligung der arteriellen Barorezeptoren an der natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung erscheint in diesem Fall somit nicht wahrscheinlich. Unter ACE-Hemmung bzw. vollständiger Blockierung des RAAS ist der MABP hingegen ebenfalls signifikant erniedrigt gewesen, so lange der Natriumbestand vermindert war. Insofern lässt sich hier nicht ausschließen, dass die natriumbestandsabhängige

Reninfreisetzung z.T. durch arterielle Barorezeptoren und/oder über einen intrarenalen Barorezeptor-Mechanismus mit vermittelt wurde. Der Zusammenhang zwischen Blutdruck und Reninfreisetzung wird im folgenden Abschnitt eingehender diskutiert.

➤ Bemerkenswerterweise können Änderungen des Natriumbestandes die Reninfreisetzung nicht nur ohne Änderungen des RPP, sondern auch unter bestimmten Voraussetzungen unabhängig von Änderungen des Plasmavolumens steuern¹⁷⁷. In der Regel sind Änderungen des Natriumbestandes von osmotisch adäquaten Änderungen des Wasserbestandes begleitet. Unter bestimmten Bedingungen kann dieser Zusammenhang zumindest partiell aufgehoben sein, z.B. wenn die Änderungen des Natriumbestandes durch Änderungen des Kaliumbestandes osmotisch kompensiert werden¹⁷⁹. In einer Studie von Seeliger et al. wurden Natriumbestandsänderungen von +3 und +9 mmol/kg KG induziert. Im Falle der 9 mmol/kgKG wurden jedoch 6 mmol/kg KG durch einen Kaliumverlust osmotisch kompensiert, so dass die Wasserbestandsänderungen in beiden Experimenten gleich groß waren. Die PRA war in diesem Zusammenhang weiterhin vom Natriumbestand, jedoch nicht vom Wasserbestand abhängig¹⁷⁷. Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stützen dies: Unter vollständiger Blockierung des RAAS kam es am 3. Versuchstag zu einer Abnahme der PRA, während MABP und Natriumbestand konstant erniedrigt bleiben, der Wasserbestand aber sogar signifikant um ca. 7 ml/kg KG absank. Sollte der Wasserbestand einen Einfluss auf die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung besitzen, hätte die PRA in diesem Zusammenhang jedoch nicht abfallen dürfen. Somit kann die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung auch bei vermindertem Natriumbestand unabhängig von Änderungen des Wasserbestandes/Plasmavolumens stattfinden.

➤ Als ein vom Plasmavolumen unabhängiger Mechanismus könnte die Macula densa in die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung involviert sein. Während die GFR und das proximale Na-Load am 2. Tag unter vollständiger Blockierung des RAAS allerdings signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert sind, ist die PRA im Vergleich zum Protokoll mit alleiniger ACE-Hemmung nicht erhöht, sondern gleich. Am 3. Versuchstag nimmt die PRA bei vollständig blockiertem RAAS bei konstanten Ausscheidungsparametern und unverändertem MABP signifikant ab, während die GFR und das Na-Load signifikant vermindert bleiben. Insgesamt lassen diese Befunde vermuten, dass die über den MD-Mechanismus vermittelte Reninfreisetzung in diesem Zusammenhang eine eher untergeordnete Rolle zu spielen scheint. Zudem sind unter ACE-Hemmung bzw. bei intaktem RAAS die GFR und das proximale Na-Load an den Tagen 2, 3 und 4 nicht signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert.

➤ Beim klassischen Macula-densa-Mechanismus stellen transmembranöse Ionenbewegungen an den MD-Zellen eine entscheidende Rolle bei der Vermittlung der Reninfreisetzung

dar^{63,89,140,171,172}. Die infolge der PD auftretenden raschen und umfangreichen Elektrolyt- und Wasserverschiebungen (Abnahme der intrazellulären Natriumkonzentration, Zunahme der intrazellulären Kaliumkonzentration, Einströmen von Wasser von extra- nach intrazellulär, Zunahme der P_K -Konzentration und des Gesamtkörperkaliumbestandes) ließen Seeliger et al. vermuten, dass eben solche Ionenshifts auch an den Macula-densa-Zellen stattgefunden haben und so auch ohne Verminderung des distalen Na-Loads zu einer vermehrten Reninfreisetzung geführt haben könnten^{160,177}. Dieser Zusammenhang muss auch bei den hier vorliegenden Untersuchungen vermutet werden, wobei sich die Frage stellt, ob die Ionenbewegungen selbst oder die letztendlich veränderten intra- und extrazellulären Elektrolytkonzentrationen zu den Veränderungen der Reninfreisetzung geführt haben. Letzteres würde eine längerfristige Stimulation der Reninfreisetzung auch am 2. Versuchstag erklären können.

➤ Bei isoliert perfundierten Nieren konnte zum Teil die Reninfreisetzung durch alleiniges, drastisches Senken der Natriumkonzentration des Perfusionsmediums gesteigert werden (25 mmol Natrium/l)^{1,44}, jedoch liegen diese Veränderungen weit außerhalb möglicher (patho)physiologischer Zustände. Andere Untersuchungen an Zellsuspensionen konnten keinen Hinweis auf eine erhöhte Reninfreisetzung durch Verminderung der Natriumkonzentration des Nährmediums beobachten¹³¹. Eine direkte Wirkung der P_{Na} -Konzentration auf die Reninfreisetzung ist experimentell schwer zu untersuchen, da sich in vivo Änderungen der P_{Na} ohne Änderungen des Intravasavolumens, der Osmolarität und des proximalen Natriumloads mit entsprechenden Konsequenzen für die MD nicht herstellen lassen, d.h., es liegen keine Untersuchungen vor, welche dies weiter differenzieren könnten. Seeliger et al.¹⁷⁷ zeigten, dass die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung nicht an Änderungen der P_{Na} -Konzentration geknüpft war. Ihre Untersuchungen beziehen sich allerdings auf das postreabsorptive state. Von einer Beeinflussung der Reninfreisetzung durch Änderung der P_{Na} -Konzentration muss aber unter bestimmten Umständen eben über Veränderungen der oben genannten Parameter ausgegangen werden^{3,37}.

2. Die druckabhängige Reninfreisetzung in Protokoll ACE-I und ACE-I+MR-A

Der Mechanismus der druckabhängigen Reninfreisetzung ist seit längerem bekannt und durch zahlreiche Studien experimentell untersucht worden. Unter ACE-Hemmung bzw. vollständiger Blockierung des RAAS (ab Tag 2) ist der MABP (24-h-Werte) nach der PD signifikant vermindert, woraus eine massive Stimulation des RAAS, zusätzlich zur natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung, resultiert. Die Erhöhung der PRA wird unter ACE-Hemmung auch durch das fehlende „short-loop-feedback“ des A-II auf die Reninfreisetzung mitverursacht. Während bei vollständiger Blockierung des RAAS der MABP

bis zum Ende des 4. Versuchstages signifikant erniedrigt und somit der druckabhängige Stimulus für die Reninfreisetzung bestehen bleibt, steigt unter alleiniger ACE-Hemmung der MABP mit Ausgleich des Natriumbestandsdefizits ab dem 3. Tag wieder an, die PRA und PAC sinken dazu spiegelbildlich. Während sich für den genannten Zeitraum unter ACE-Hemmung sowie unter vollständiger Blockierung des RAAS eine Beteiligung des MABP an der Reninfreisetzung nachvollziehen lässt, gelingt dies bei intaktem RAAS aus folgendem Grund nicht: In der hohen zeitlichen Auflösung des MABP (20-Minuten-Werte) ist kurze Zeit nach der PD gegenüber der Kontrolle noch keine signifikante Abnahme des MABP/RPP zu messen. Zu diesem Zeitpunkt ist die PRA bereits massiv erhöht und entspricht dem Tageshöchstwert. Davon ausgehend, dass die A-II-Konzentration zur PRA korreliert, ist diese dementsprechend ebenfalls massiv erhöht. Die druckabhängige Reninfreisetzung spielt vermutlich zu diesem frühen Zeitpunkt noch keine wesentliche Rolle, allerdings könnten die hohen A-II-Konzentrationen ein signifikantes Absinken des MABP bereits kompensiert/maskiert haben. Die Versuchbedingungen mit einer kontinuierlichen Registrierung des MABP und der Messung der PRA alle vier Stunden reicht zur Klärung dieser Fragestellung nicht aus, so dass hier nicht weiter zwischen Ursache und Wirkung differenziert werden kann. D.h., zu diesem Zeitpunkt könnte

a) die Abnahme des Intravasalvolumens zu einem Absinken des MABP und RPP geführt haben. Die resultierende druckabhängige Reninfreisetzung und A-II-Bildung hat den MABP augenblicklich stabilisiert, so dass das Absinken des MABP messtechnisch nicht erfasst werden konnten, oder

b) die Abnahme des Plasmavolumens nach PD hatte zu einer Abnahme des Vorhofdruckes mit der Folge einer vermehrten Reninfreisetzung via AN geführt.

In den folgenden Stunden nach PD (ab 13:00 Uhr), mit verstärktem Einsetzen der Wasserausscheidung, nimmt der Wasserbestand kontinuierlich ab, so dass am Ende des ersten Tages ein Defizit von ca. 11 ml/kg KG entstanden ist. Mit Abnahme des Wasserbestandes ist es auch zu einer hämodynamisch wirksamen Abnahme des Intravasalvolumens gekommen, der MABP wird zu diesem Zeitpunkt jedoch weiterhin durch die vasokonstriktorische Wirkung des A-II nahezu perfekt stabilisiert, so dass auch im weiteren Verlauf keine Differenzierung zwischen den beiden oben genannten Möglichkeiten möglich ist, wahrscheinlicher erscheint jedoch die über ein vermindertes Plasmavolumen/Vorhofdruck vermittelte natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung.

Zusammenfassend lässt sich die Stimulation der Reninfreisetzung unmittelbar nach der PD auf die natriumbestandsabhängige Reninfreisetzung zurückführen, wobei sie wie Seeliger et al. bereits postulierten, über den Macula densa Mechanismus bzw. über Ionenshifts an den MD-

Zellen und/oder über eine Abnahme des Plasmavolumens/Vorhofdruckes vermittelt sein könnte. Neben Zeitpunkten zu denen das proximale Na-Load signifikant gegenüber der Kontrolle vermindert ist und eine über den MD-Mechanismus vermittelte, wenn auch geringe Reninfreisetzung angenommen werden muss, gibt es Zeitpunkte, zu denen sich das Na-Load auf Kontrollniveau befindet. Einzig bei vollständig blockiertem RAAS ist das Na-Load den gesamten Versuchszeitraum über vermindert.

Die Beteiligung der sympathischen Nierennerven als Efferenz integrativer Renin freisetzender Mechanismen lässt sich anhand der vorliegenden Untersuchungen nicht näher quantifizieren. Vorarbeiten von Reinhardt, Kaczmarczyk et al.^{78,81,154} konnten eine bedeutende Natrium konservierende Rolle der Nierennerven bei vermindertem Natriumbestand nicht bestätigen. Auf Grunde der hohen Redundanz der Regulationselemente des Natriumbestandes und der Reninfreisetzung ist es wahrscheinlich, dass in ihren Untersuchungen der Wegfall der Nierennerven durch andere Regelemente mindestens teilweise kompensiert und damit maskiert wurden. Eine Beteiligung der druckabhängigen Reninfreisetzung nach PD lässt sich unter ACE-Hemmung bzw. vollständiger Blockierung des RAAS klar nachvollziehen, bei intaktem RAAS lässt sich dieser Zusammenhang selbst in der hohen zeitlichen Auflösung des MABP nicht abbilden. Möglicherweise ist sie durch die rasche Stabilisierung des MABP durch das A-II maskiert worden.

Eine Zusammenhang zwischen der ANP-Konzentration und der PRA besteht während der gesamten Versuchsdauer in keinem der Protokolle.

4.5 Die Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC);

Ursachen und Mechanismen der gesteigerten Aldosteronfreisetzung

Aldosteron stellt das wichtigste mineralokortikoide Hormon des menschlichen Organismus dar. Auf die Möglichkeit einer engen funktionellen Beziehung zwischen dem Renin-Angiotensin-System und Aldosteron hatte Gross bereits 1956 hingewiesen⁵⁴. Die Entdeckung des Zusammenhangs zwischen Renin, A-II und Aldosteron führte unter anderem dazu, dass das RAAS als eine starre Achse angesehen wurde und eine erhöhte PAC vielfach nur in Verbindung mit einer erhöhten PRA gebracht wurde. Zahlreiche Studien zeigten immer wieder die Korrelation zwischen erhöhtem A-II und erhöhtem Aldosteron bei natriumarmer Ernährung bzw. einer Verminderung des Aldosterons unter Verabreichung eines ACE-Hemmers^{72,124,190,192}, bzw. beschreiben eine essentielle Rolle des RAS in Bezug auf die Aldosteronfreisetzung¹¹⁰. Unbestritten besteht eine enge funktionelle Beziehung zwischen dem Renin und A-II einerseits und dem Aldosteron andererseits, jedoch zeigen zahlreiche Untersuchungen, dass neben dem

RAS auch weitere Mechanismen und Signale die Aldosteronfreisetzung A-II-unabhängig steuern können, zudem kann es unter bestimmten (patho)physiologischen Zuständen zu einer „Dissoziation“ des RAAS kommen^{122,123}. Eine endogenen Suppression der Aldosteronfreisetzung, trotz erhöhter PRA und A-II-Konzentration, lässt sich z.B. beobachten, wenn durch eine experimentell erzeugte, chronische Verminderung des RPP die Reninfreisetzung massiv stimuliert wird (druckabhängige Reninfreisetzung) und zu einer deutlichen Erhöhung der Natrium- und Wasserbestände geführt hatte^{174,178}. Blair-West et al. zeigten in ihren Untersuchungen an Schafen, dass für den Ausgleich eines zuvor erzeugten Natriumbestandsdefizits einzig und allein Aldosteron verantwortlich gewesen ist und dieses nicht mit den gemessenen Werten und den Zeitgängen der PRA und A-II-Konzentration korrelierte¹²⁻¹⁴. Anhand der Versuchen mit Angiotensinogen-knock-out-Mäusen, die kein A-II synthetisieren können, zeigte Okubo et al.¹³³, dass A-II nicht essentiell für eine der Situation des Natriumhaushaltes adäquaten Aldosteronsynthese ist^{94,113,116,204}.

4.5.1 Die Stimulation der Aldosteronfreisetzung im Kontrollprotokoll

Die PAC im Kontrollprotokoll ist der Natriumzufuhr und -ausfuhr adäquat, d.h., unter natriumarmer Ernährung (Tag 1 und 2) ist die PAC signifikant gegenüber der an den Tagen mit natriumreicher Ernährung (Tag 3 und 4) erhöht. Die Anpassung der PAC an die Natriumzufuhr bewirkt, dass der Gesamtkörperrnatriumbestand konstant gehalten wird und es weder zu einem Absinken des Natriumbestandes unter den sog. basalen set-point unter natriumarmer Ernährung, noch bei dem Wechsel auf die natriumreiche Ernährung zu einem deutlichen Anstieg des Bestandes kommt. Die PRA ist unter alleiniger natriumarmer Ernährung ebenfalls signifikant gegenüber den Tagen mit natriumreicher Ernährung erhöht, im Besonderen im Zeitraum von 9:00 bis 21:00 Uhr, d.h., die PAC ist an den Tagen 1 und 2 durch eine vermehrte Freisetzung von Renin und A-II bedingt. Zusätzlich ist aber der PAC/PRA-Quotient (Tagesmittelwert) als Maß für eine Änderung der Sensitivität der A-II-abhängigen Aldosteronfreisetzung an den ersten beiden Versuchstagen signifikant gegenüber dem Quotienten der Tage 3 und 4 erhöht.

PAC / PRA-Quotient (24-h Mittelwerte)						
	Kontrolle			Intakt		
	MW	SEM	sig	MW	SEM	sig
1.Tag	70,03	8,06		94,64	8,40	
2.Tag	51,11	11,07		106,97	16,41	† 1
3.Tag	28,20	3,18	1,2	80,93	11,90	†
4.Tag	27,18	4,85	1,2	52,66	9,34	† 1,2,3

Abb.: 4.5:

PAC/PRA-Quotient,

Kontrolle vs. Protokoll Intakt

MW = Mittelwert; sig = Sgnifikanz;

† = signifikant gegenüber Protokoll 1 (Kontrolle);

1,2,3 = signifikant gegenüber dem Tag 1/2/3

Dies ließe sich:

- a) durch eine gesteigerte Sensitivität der Aldosteron produzierenden Zellen gegenüber A-II unter natriumarmer Ernährung erklären oder
- b) durch eine (zusätzliche) A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung.

A-II selbst führt über Bindung an AT₁-Rezeptoren zu einem vermehrten Einstrom von Calcium nach intrazellulär und zur Aktivierung von Signalkaskaden, wodurch die Synthese und Freisetzung von Aldosteron verstärkt wird^{45,108}. Die P_{Na}-Konzentration bzw. eine natriumarme Diät hat jedoch keinen direkten Effekt auf die Aldosteronfreisetzung, sondern führt neben einer gesteigerten Reninfreisetzung zu einem vermehrten Einbau von AT₁-Rezeptoren in den Zellen der Zona glomerulosa und so zu einer Verstärkung der Renin-A-II-abhängigen Aldosteronfreisetzung. Dies wird auch als Sensitivierung der Aldosteron produzierenden Zellen gegenüber A-II beschrieben^{45,94,102,125,163}. Im Kontrollprotokoll unterscheiden sich die P_{Na}-Konzentrationen an den Tagen unter natriumarmer Ernährung selbst in der hohen zeitlichen Auflösung nicht von denen der Tage mit natriumreicher Ernährung. Somit ist die unter natriumarmer Ernährung im Verhältnis zur Reninfreisetzung überproportional erhöhte Aldosteronfreisetzung (erhöhter PAC/PRA-Quotient) nicht auf eine von der P_{Na} abhängigen Sensitivierung der Nebennieren gegenüber A-II zurückzuführen. Eine A-II-unabhängige Aldosteronfreisetzung muss hier in Betracht gezogen werden. Letztlich können die genauen Zusammenhänge anhand der vorliegenden Untersuchungen nicht weiter differenziert werden.

Möglicherweise hat die natriumarme Vorerernährung von 5 Tagen zu einer chronischen Erhöhung der PAC am Morgen der Versuchstage 1 und 2 geführt. In der hohen zeitlichen Auflösung erkennt man deutlich, dass die PAC bereits um 9 Uhr an den Versuchstage 1 und 2 ca. 2-fach gegenüber den morgendlichen Werten an den Tagen 3 und 4 erhöht ist. Da der morgendliche PAC-Wert (9:00-Uhr-Wert) am 3. Tag, d.h. kurze Zeit nach erstmaliger Fütterung der natriumreichen Ernährung bereits gegenüber den Werten der Tage 1 und 2 vermindert ist, spricht dies jedoch gegen eine chronische Erhöhung der PAC und für eine rasche Adaptation der PAC an die orale Natriumzufuhr.

Zusammenfassend lässt sich im Kontrollprotokoll die Aldosteronfreisetzung überwiegend durch eine unter natriumarmer Ernährung erhöhte PRA und A-II-Konzentration, sowie durch eine Sensitivierung der Nebennieren gegenüber A-II erklären. Eine, wenn auch geringe, Beteiligung von A-II-unabhängiger Faktoren kann anhand des Kontrollprotokolls nicht ausgeschlossen und nicht weiter differenziert werden.

4.5.2 Die Stimulation der Aldosteronfreisetzung nach Erzeugen des Natriumbestandsdefizits

Mit Verminderung des Natriumbestandes durch die PD kommt es zu einer massiven Stimulation der Reninfreisetzung und zu einer ebenfalls massiven Freisetzung von Aldosteron. Den gesamten Versuchszeitraum über ist die Aldosteronfreisetzung sowohl bei intaktem RAAS als auch bei ACE-Hemmung adäquat zum aktuellen Natrium-Defizit: Bereits in der ersten Blutabnahme nach PD, d.h. ca. 30-45 Minuten nach Erzeugen des Bestandsdefizits, befindet sich die PAC auf ihrem höchsten Niveau im Vergleich zum restlichen Versuchstag. Mit Ausgleich des Natriumdefizits am 3.Tag sinken PRA und PAC parallel innerhalb von 24 h wieder auf Normalniveau. Wird am 2. Tag nach PD eine vollständige ACE- Hemmung etabliert und damit die A-II-abhängige Aldosteronfreisetzung unterbrochen, ergibt sich ein überraschender Befund: Zwar ist bekannt, dass eine basale Aldosteronproduktion unter ACE-Hemmung (ohne A-II) stattfindet^{15,16,145}, allerdings kommt es in den hier vorliegenden Untersuchungen nach PD trotz ACE-Hemmung zu einer massiven, A-II-unabhängigen Stimulation der Aldosteronfreisetzung, in deren Folge die PAC trotz ACE-Inhibition nur insignifikant kleiner als bei intaktem RAAS ist, d.h., der Wegfall der A-II-abhängigen Stimulation der Aldosteronfreisetzung kann fast vollständig kompensiert werden. Was könnte in diesem Zusammenhang zu dieser A-II-unabhängigen Stimulation der Aldosteronfreisetzung geführt haben?

➤ Eine dem Natriumdefizit adäquate Aldosteronfreisetzung auch unter ACE-Hemmung könnte zum Teil durch eine ACE-unabhängige A-II-Synthese, wie sie Hollenberg et al.^{71,72} beschrieben haben, verursacht sein. Eine unzureichende ACE-Hemmung durch Captopril ist in den hier durchgeführten Versuchen in Anbetracht der deutlich verminderten MABP nicht wahrscheinlich, zudem wurde die Vollständigkeit der A-II-Hemmung getestet, in dem nach ACE-Hemmung eine Test-Dosis A-I verabreicht wurde. Ein fehlender Anstieg des MABP wurde als vollständige ACE-Hemmung interpretiert.

➤ Unter der Kenntnis der Existenz eines vollständigen intraadrenalen RAAS^{47,125} stellt sich die Frage, ob es auch zu einer vollständigen intraadrenalen ACE-Hemmung gekommen ist. Bei Untersuchungen zur Rolle des intraadrenalen-RAS in Bezug auf die kaliumabhängige Aldosteronfreisetzung konnten Nakamaru et al.¹²⁹ in invitro Studien eine Abnahme der intraadrenalen A-II-Konzentration unter systemischer Captoprilgabe beobachten, was darauf hindeutet, dass das Captopril auch intraadrenal das RAAS blockiert. Zudem ist fraglich, ob das intraadrenale RAAS bzw. die intraadrenale A-II-Bildung überhaupt durch die Änderung der systemischen PRA gesteuert wird.

➤ Derzeit sind über 20 verschiedenen Substanzen bekannt, die eine direkte stimulierende Wirkung auf die Aldosteronsynthese besitzen. Die Wirkung der meisten Substanzen konnte bisher nur in invitro Studien nachgewiesen werden und ihr Stellenwert im lebenden Organismus ist noch nicht geklärt. Zudem bestehen, sofern invivo Untersuchungen durchgeführt wurden, erhebliche Unterschiede in der Methodik der Untersuchungen. Oftmals findet keine saubere Trennung zwischen natriumarmer Diät, erniedrigter P_{Na} -Konzentration und echtem Natriumbestandsdefizit statt, außerdem ist in einigen Fällen die Bilanzierung der Ein- und Ausfuhr nicht präzise, Speziesunterschiede erschweren die Vergleichbarkeit zusätzlich. Die Liste der reninunabhängigen bzw. A-II-unabhängigen Aldosteronstimulatoren umfasst Peptide wie A-III, Corticotropin, alpha-MSH, Prolaktin, Oxytocin, ADH, ANP, VIP, Neuropeptid Y, Endothelin, Kationen wie K^+ , H^+ -Protonen, NH_4^+ , Amine wie Serotonin und Histamin, aber auch Acetylcholin, Dopamin, Prostaglandine und Katecholamine^{28,123,125,205}. Die Vielzahl der bekannten Aldosteronstimulatoren lässt es möglich erscheinen, dass noch weitere, derzeit noch unbekannte Substanzen eine ähnliche aldosteronstimulierende Wirkung ausüben können.

➤ Allgemein akzeptiert ist, dass vor allem die extrazelluläre bzw. die Plasma-Kaliumkonzentration der wichtigste Faktoren der A-II-unabhängigen Regulation der Aldosteronfreisetzung darstellt^{45,203,205}. Anhand von Untersuchungen von Angiotensinogen-knock-out-Mäusen zeigte Okubo¹³³, dass bei Volumen- und Natriumdepletion eine erhöhte P_K -Konzentration eine genügend hohe Aldosteronsekretion bewirkte, um trotz geringer Natrium- und Wasserzufuhr eine ausreichend Retention und damit Stabilisierung des MABP zu gewährleisten. Bei gleichen Versuchsbedingungen aber erniedrigten P_K -Spiegeln blieb diese Aldosteronfreisetzung aus und führte sogar zum Tod mancher Versuchstiere. Ähnliche Versuche mit AT_1 -Rezeptor-Gen-knock-out-Mäusen von Takaya¹⁹¹ zeigten bei Na-Restriktion und Volumendefizit ebenfalls eine genügend große Aldosteronfreisetzung durch erhöhte P_K -Spiegel. Himathongkam infundierte gesunden Probanden eine Kaliumlösung und konnte in Abhängigkeit der infundierten Kaliummenge erhöhte Aldosteronkonzentrationen bei unveränderter PRA und ausgeglichenen Natrium- und Flüssigkeitsbilanzen messen⁶⁹. Den Befunden gemeinsam ist, dass sie einen direkten Effekt der P_K -Konzentration auf die Aldosteronfreisetzung beschreiben. Es wird angenommen, dass eine erhöhte P_K zu einem vermehrten Einstrom von Calcium nach intrazellulär führt^{45,108,148,202}. Auch bei intaktem RAAS scheint die Aldosteronfreisetzung zumindest teilweise von der P_K abhängig zu sein^{133,145}.

Da bei den vorliegenden Untersuchungen die P_K -Konzentration nach PD unter ACE-Hemmung in gleichem Maße wie bei intaktem RAAS erhöht ist, kann der Beitrag der K^+ -abhängigen/A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung nicht weiter differenziert werden, allerdings zeigt sich unter

ACE-Hemmung als auch unter vollständiger Blockierung des RAAS eine enge Korrelation zwischen den Verläufen der P_K -Konzentration und der PAC sowohl bei den Tagesmittelwerten, als auch in hoher zeitlicher Auflösung. Unter ACE-Hemmung wird im Laufe des 3. Tages das Natriumbestandsdefizit wieder ausgeglichen, die P_K -Konzentration befindet sich ab 13:00 Uhr wieder auf Normalniveau, die PAC sinkt ebenfalls, allerdings mit einer gewissen Latenz und befindet sich erst in den frühen Morgenstunden (4:00 Uhr) des Folgetages wieder auf Normalniveau. Daraus folgt, dass neben der P_K in diesem Zusammenhang weitere A-II-unabhängige Faktoren die Aldosteronfreisetzung beeinflusst haben müssen. Unveröffentlichte Befunde dieser Arbeitsgruppe mit vergleichbarem Versuchsablauf, d.h. mit Verminderung des Natriumbestandes am Morgen des ersten Versuchstages durch eine PD und anschließender natriumarmer Ernährung und ACE-Hemmung ab dem 2.Tag, jedoch kaliumarmer Ernährung ab dem ersten Tag (1,5 mmol/kg KG) zeigten eindeutig, dass ein Teil der A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung durch die erhöhte P_K -Konzentration bedingt war, ein anderer Teil der Aldosteronfreisetzung jedoch auf davon unabhängige Faktoren zurückzuführen ist.

➤ Wie bereits erwähnt, zählt ACTH zu den Substanzen, die unabhängig von Renin eine Aldosteronfreisetzung bewirken können⁶⁷. ACTH führt über die Bildung von cAMP und Aktivierung sog. L-type- Ca^{2+} -Kanäle zu einem vermehrten Einstrom von Calcium in die Zelle. Bei der Signalkaskade bestehen zahlreiche Querverbindungen mit den durch A-II gebildeten second messengers, was letztendlich zu einer gegenseitigen Verstärkung der ACTH- und A-II-Wirkung führen kann. Williams et al. stellen fest, dass durch ACTH Aldosteron direkt freigesetzt werden kann, dies aber nur zu einem sehr viel geringeren Maße als es durch A-II der Fall ist²⁰⁵. Die Potenz des ACTH bezogen auf die Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ist viel geringer, als die des A-II, wodurch diese Beobachtungen gestützt werden¹⁸⁶. Andererseits ist ACTH hauptverantwortlich für die intrazelluläre Bildung von steroidhormonbindenden Transportproteinen, welche essentiell für die Synthese des Aldosterons aus den Vorstufen (Cholesterol → Pregenolon usw.) sind¹⁸⁶. In der Literatur wird der Stellenwert der ACTH-abhängigen Aldosteronfreisetzung kontrovers diskutiert. Die Ansichten reichen von einer essentiellen Rolle des ACTH^{57,67,112,187} über eine nur permissive Wirkung bei der A-II-abhängigen Aldosteronfreisetzung bzw. eine im Verhältnis zum A-II sehr viel schwächeren Wirkung^{186,205} bis hin zu einer fehlenden Wirkung des ACTH auf die Aldosteronfreisetzung^{12,109,181,190}. Ursächlich für die unterschiedlichen Befunde sind die Teils kaum miteinander vergleichbaren Untersuchungsgegenstände und Methoden. Beobachtungen aus invitro-Studien differieren oftmals zu denen von invivo-Untersuchungen, da systemische, möglicherweise beeinflussende Faktoren oder Regelmechanismen fehlen und nicht mit

untersucht werden. Demgegenüber können bei *in vivo*-Untersuchungen ungewollte, bzw. nicht gemessene Beeinflussungen auf die Ergebnisse aufgetreten sein und können nicht ausgeschlossen werden. Auf Grund aktueller Untersuchungsergebnisse muss von einer Beteiligung des ACTH bei der Aldosteronfreisetzung ausgegangen werden^{186,203}, dessen Stellenwert bei unterschiedlichen (patho)physiologischen Bedingungen variieren kann. In den hier vorliegenden Versuchen wurde die ACTH-Konzentration nicht gemessen, so dass eine Beeinflussung der A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung nicht beurteilt werden kann.

➤ Möglicherweise spielen Elektrolyt- und Wasserverschiebungen mit Änderung der intrazellulären Natrium- und Kalium-Konzentrationen, sowie der Zellvolumina, wie sie infolge einer PD auftreten, bei der A-II-unabhängigen Aldosteronfreisetzung eine Rolle. Wang et al. beobachteten, bei *in vitro*-Versuchen zur Untersuchung der K^+ -abhängigen Aldosteronfreisetzung, dass es durch einen Einstrom von Calcium-, Kalium- und Chlorid-Ionen zu einer Zunahme des intrazellulären Volumens mit folgender vermehrter Aldosteronsynthese gekommen war²⁰². Sie konnten dabei zeigen, dass durch die Zellschwellung sog. dehnungssensitive Ca^{2+} -Kanäle geöffnet wurden. Dies führte zu einer Zunahme der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration mit einer messbar erhöhten Aldosteronsynthese. Ebenfalls eine vermehrte Aldosteronsynthese bei alleiniger Verminderung der Plasmaosmolarität beobachteten beispielsweise Radke, Schneider et al.^{148,170}. Auf zellulärer Ebene spielen bei der Stimulation der Aldosteronsynthese und Freisetzung Veränderungen von Elektrolytkonzentrationen und Veränderung von Membranpotentialen eine zentrale Rolle¹⁸⁶. Eine vermehrte Aldosteronfreisetzung könnte z.B. auch durch ein verändertes Verhältnis zwischen intra- und extrazellulärem Natriumbestand bedingt sein¹⁷⁹.

Unter vollständiger Blockierung des RAAS sinkt der Kaliumbestand im Laufe des dritten Versuchstages signifikant ab, während die P_K -Konzentration konstant bleibt. Dies könnte zu einer Abnahme der intrazellulären Kaliumkonzentration und damit Abnahme der PAC am dritten Tag geführt haben, denn weder der Wasser- und Natriumbestand noch der MABP veränderten sich im selben Zeitraum.

➤ Während DeLean et al.²⁸, Pratt^{73,147} und Horiuchi¹⁴⁶ in *in vitro* Studien, eine eindeutige direkte Aldosteron stimulierende Wirkung von Katecholaminen auf die Nebennierenrinde nachweisen konnten, scheint dieser Zusammenhang *in vivo* keine dominierend Rolle zu spielen. In den genannten Arbeiten wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass man derzeit noch nicht sagen kann, welchen Stellenwert dieser Mechanismus im lebenden Organismus hat. Ferner ist nicht geklärt, von wo aus die Katecholamine die Nebennierenrinde erreichen, ob sie z.B. aus dem Nebennierenmark oder aus den in der Zona glomerulosa nachgewiesenen Nervenendigungen⁷³

stammen, bzw. aus dem arteriellen Blut. Es wird vermutet, dass es eine β -adrenerge Verstärkung der A-II-abhängigen Aktivierung sog. L-type-Calzium-Kanäle mit daraus folgender Aldosteronfreisetzung existiert^{146,186}, eine direkte Aldosteron freisetzende Wirkung von Katecholaminen konnte bisher *in vivo* nicht beobachtet werden. In den hier durchgeführten Experimenten wurden keine Adrenalin- und Noradrenalin-Konzentrationen gemessen. Auf einen erhöhten Sympathikotonus kann, mit gewissen Einschränkungen, eine erhöhte HF wie unter ACE-Hemmung zu beobachten, hindeuten, lässt jedoch eine genauere Aussage zur Beziehung zwischen erhöhtem Sympathikotonus und Aldosteronfreisetzung nicht zu.

➤ Die enge Korrelation zwischen Natriumbestandsdefizit und PAC bei vollständiger ACE-Hemmung lässt vermuten, dass analog zu der natriumbestandsabhängigen Reninfreisetzung eine natriumbestandsabhängige Aldosteronfreisetzung existiert. Zur direkten Wirkung des Natriumbestandes auf die Aldosteronfreisetzung und mögliche Mechanismen existieren derzeit noch keine weiteren Untersuchungen, so dass eine abschließende Beurteilung auch dieser Fragestellung nicht möglich ist und einer natriumbestandsabhängigen Aldosteronfreisetzung rein hypothetisch bleibt. Blair-West stellte fest, dass bei vermindertem Natriumbestand das A-II in Bezug auf die Aldosteronfreisetzung eine nur permissive Wirkung besitzt¹⁴. Nach dem sie ausgeschlossen hatten, dass weder ACTH, noch die P_{Na^-} , bzw. P_K -Konzentration die erhöhten Aldosteronspiegel verursacht haben konnten, vermuteten sie daher einen zu dieser Zeit noch unbekanntem Faktor, der die Aldosteronfreisetzung bewirkt haben müsste.

Zusammenfassend lässt sich nach Erzeugen des Natriumbestandsdefizits die A-II-unabhängige Aldosteronfreisetzung hauptsächlich auf die P_K -Konzentration zurückführen, während Elektrolytverschiebungen ebenfalls zur Aldosteronfreisetzung beigetragen haben könnten. Eine natriumbestandsabhängige Aldosteronfreisetzung bleibt hypothetisch. Es ist anzunehmen, dass nicht nur ein Faktor, sondern das Zusammenwirken mehrerer gleichzeitig, zu den hier beobachteten hohen A-II-unabhängigen PAC geführt haben. Interessanterweise ist deren gemeinsame Potenz so stark, dass der Verlust der A-II-abhängigen Aldosteronfreisetzung fast vollständig kompensiert werden kann.

4.6 Mechanismen zur Konstanthaltung des Natriumbestandsdefizits und des arteriellen Drucks bei vollständig blockiertem RAAS

Interessanterweise sinken der MABP als auch das Natriumbestandsdefizit unter vollständiger Blockierung des RAAS im Verlauf der vier Versuchstage nicht kontinuierlich ab, so dass hier vom RAAS unabhängige Mechanismen, wenn auch nicht zu einer Kompensation, zumindest zu einer Stabilisierung der genannten Parameter auf einem erniedrigten Niveau geführt haben müssen. In der folgenden Diskussion wird nur auf die Mechanismen eingegangen, für die ein Regelkreis bzw. größere Teile eines Regelkreises identifiziert wurden. Auf die Wirkung der vielzähligen, lokalen Signale/Hormone wird nicht eingegangen, es sei denn sie sind eben Teil eines der genannten Regulationssysteme.

4.6.1 Beteiligung der Drucknatriurese zur Stabilisierung von Natriumbestandsdefizit und arteriellem Blutdruck

Nach dem von Guyton und Mitarbeitern formulierten Konzept des „renal body fluid pressure control system“ kommt dem Druck(anti)natriurese Mechanismus ein einzigartiger Stellenwert als Regelement des Natriumbestandes bzw. des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und damit der längerfristigen Einstellung des MABP zu. Der zugrunde liegende intrarenale Mechanismus der Druck(anti)natriurese konnte derzeit noch nicht geklärt werden^{25,26,52,105,106} Untersuchungen u.a. von Reinhardt, Seeliger et al. haben zu einer mehrfachen Modifikation des von Guyton formulierten Konzepts geführt: Eine langfristige Reduktion des RPP um -20% und damit im Autoregulationsbereich der GFR, führt nur über den Mechanismus der druckabhängigen Reninfreisetzung zu einer verstärkten Natriumresorption¹⁶. Bei anhaltender Absenkung des RPP erhöht sich der Natrium- und Wasserbestand kontinuierlich, folglich auch der MABP (+15%). Obwohl der erhöhte MABP an den Nieren nicht wirksam werden konnte, kam es entgegen dem o.g. Konzept nicht zu einer fortdauernden Natriumretention. Bereits nach 24 Stunden sind die Ein- und Ausfuhrbilanzen auf einem erhöhtem Niveau wieder ausgeglichen^{153,160,161,174}. Hauptursache für das als „pressure escape“ bezeichnete Phänomen ist die vom Natriumbestand ausgehende endogene Suppression des RAAS^{174,177}. Nur bei einer langfristigen Erhöhung des RPP um >20% führt der Drucknatriurese-Mechanismus zu einer Teilkompensation des erhöhten MABP mit vermehrter Natrium- und Wasserausscheidung, ist jedoch nicht potent genug den Natrium- und Wasserbestand und damit den MABP wieder auf Normalniveau zu bringen¹⁷⁹. D.h., nur bei deutlich erhöhtem RPP ist der Drucknatriurese-Mechanismus wirksam^{174,178,178}. Wie unter 4.3 genannt muss das von Guyton et al. formulierte Konzept des „renal body fluid pressure control system“^{24,60-62} auch für Zustände mit vermindertem Natriumbestand in dem

Sinne modifiziert werden, als dass es in diesem Zusammenhang keine Rolle zu spielen scheint und das RAAS hauptverantwortlich für die Aufrechterhaltung des Natriumbestandes und des Blutdrucks ist.

Analog zu den Befunden bei erhöhtem Natriumbestand und Blutdruck¹⁷⁸, könnte der Drucknatriurese-Mechanismus ein weiteres Absinken des Natriumbestandes und des MABP bei vollständig blockiertem RAAS verhindert haben. Nach Guyton et al. soll der Drucknatriurese-Mechanismus bereits bei geringsten Abweichungen des MABP und damit noch innerhalb des Druckbereichs der Autoregulation, d.h. bei konstantem renalen Blutfluss und konstanter, nicht veränderter GFR, die Natrium- und Wasserausscheidung beeinflussen. Das bedeutet aber auch, dass der Drucknatriurese-Mechanismus nicht über einer Änderung der GFR vermittelt sein kann. In dem hier vorliegenden Fall ist der MABP um 15%, d.h. unter den optimalen Autoregulationsbereich der Nieren abgesunken: die GFR ist nach PD für ca. 8 Stunden, unter vollständiger Blockade des RAAS sogar den gesamten Versuchszeitraum über signifikant vermindert. Daher ist es wahrscheinlicher, dass die nach PD zu beobachtende Verminderung der Natriumausscheidung direkte Folge der verminderten Filtrationsleistung der Nieren und weniger durch den Drucknatriurese-Mechanismus bedingt ist.

Ein Resetten des Drucknatriurese-Mechanismus wird von vielen Autoren als entscheidender Pathomechanismus bei der arteriellen Hypertonie angesehen. Durch das Resetten verschiebt sich ihrer Meinung nach der Punkt der sog. „renal-function curves“ an dem die Natriumeinfuhr und -ausfuhr wieder ausgeglichen sind in Bezug auf den MABP^{24,26,52,60,64,66,136}. Die Wirksamkeit des Mechanismus, bei unterschiedlich hoher Na^+ -Zufuhr den Natriumbestand und den MABP ohne Regelfehler wieder auf diesen neuen set-point hin zu regeln bliebe dabei erhalten (infinite gain principle). Dieser Zusammenhang soll dabei über den gesamten (patho)physiologischen Druckbereich bestehen. Da bei den vorliegenden Untersuchungen ein verminderter Natriumbestand, sofern das RAAS nicht blockiert wurde, innerhalb kürzester Zeit wieder ausgeglichen wird und damit auch der MABP wieder auf Kontrollniveau steigt, muss hier davon ausgegangen werden, dass es nicht zu einem Resetten des Drucknatriurese-Mechanismus gekommen ist.

4.6.2 Beteiligung eines erhöhten Sympathikotonus zur Stabilisierung des MABP

Die Änderung des MABP, hier im Sinne einer Abnahme, wird von den arteriellen Barorezeptoren detektiert, an das Kreislaufzentrum übermittelt und führt zu einer Aktivierung des Sympathikus. Infolge dessen kommt es zu einer Kontraktion der arteriellen Widerstandsgefäße und der venösen Kapazitätsgefäße sowie zu einer Steigerung der

Herzfrequenz und –kraft. Schließlich resultiert ein Anstieg des MABP bzw. wird einem weiteren MABP-Abfall entgegen gewirkt. Während die HF bei den vorliegenden Untersuchungen direkt nach PD nicht signifikant erhöht ist, steigt sie mit ACE-Inhibition und signifikantem Abfall des MABP deutlich an. Die Chronotropiesteigerung kann als Zeichen eines erhöhten Sympathikotonus gedeutet werden. Somit kann auf eine gleichzeitige Steigerung der Inotropie rückgeschlossen werden, was den Blutdruckabfall zu einem gewissen Anteil kompensiert haben könnte. Bei vollständiger Blockierung des RAAS hätte man für den zweiten Versuchstag eine ähnliche Steigerung der HF annehmen können, tatsächlich ist die HF am zweiten Tag aber gegenüber der Kontrolle nicht signifikant erhöht, lediglich am 4. Tag ist die HF-Steigerung signifikant.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine Erhöhung der Sympathikusaktivität mit den oben genannten Veränderungen für Herz und Blutgefäße sehr wahrscheinlich ist und dies vermutlich u.a. zu einer Teilkompensation bzw. Stabilisierung des Blutdruckabfalls bei vollständig blockiertem RAAS beigetragen hat. Es ist anzumerken, dass allein aus einem Anstieg der HF nicht auf eine Sympathikusaktivierung geschlossen werden kann und beispielsweise trotz fehlendem HF-Anstieg eine über den Sympathikus vermittelte Vasokonstriktion und Inotropiesteigerung möglich ist.

4.6.3 Beteiligung der Nierennerven zur Stabilisierung des Natriumbestandsdefizits

Die Tatsache, dass sympathische, efferente Nervenendigungen in direkter Nachbarschaft zur Basalmembran von renalen Tubuluszellen nachgewiesen werden konnten⁴, ließ es wahrscheinlich erscheinen, dass das renale Nervensystem eine direkte Wirkung auf die Natriumausscheidung besitzt. DiBona et al. postulierten, dass die Nierennerven (NN) eine wichtige Natrium konservierende Wirkung vor allem bei natriumarmer Ernährung haben³³. Einige Autoren gehen davon aus, dass durch die Stimulation arterieller Barorezeptoren und cardiopulmonaler Volumenrezeptoren Signale auf nervalem Wege zu im ZNS gelegenen Integrations- und Steuerzentren des vegetativen Nervensystems, wie dem Hypothalamus oder dem Kreislaufzentrum der Formatio reticularis gelangen und von dort aus über die sympathischen Nierennerven als Efferenz und verbindendes Element die Natriumausscheidung gesteuert wird^{96,99}. Prinzipiell werden in der Literatur drei Mechanismen beschrieben, über den die sympathischen Nierennerven die Natriumausscheidung beeinflussen können:

1. durch eine Veränderung der GFR und renalen Durchblutung durch Ansteuerung intrarenaler Gefäße^{31, 83}
2. durch eine direkte Wirkung auf die tubuläre Natrium Resorption^{30,32,98,100} und

3. durch eine direkte Beeinflussung der Reninfreisetzung³¹.

Zur Diskussion der Zusammenhänge zwischen Reninfreisetzung und Nierenervenaktivität s. Kapitel 4.3. In dem vorliegenden Fall kann unter vollständiger Blockierung des RAAS die Renin freisetzende Wirkung der Nierenerven nicht zur Stabilisierung des Natriumbestandsdefizits beigetragen haben. Somit bleiben die direkt renalen Wirkmechanismen übrig. Der physiologische Stellenwert der Nierenerven als Vermittler Natrium konservierender Signale ist bis heute nicht völlig geklärt. Reinhardt und Kaczmarczyk et al. konnten bei zuvor renal denervierten Hunden keine veränderte Natriumausscheidung feststellen. Auch nach Verminderung des Natriumbestandes waren die Natrium- und Wasserbilanzen in Folge einer renalen Denervation gegenüber denen der Kontrolltiere nicht verändert. Zudem konnte das zuvor erzeugte Natriumbestandsdefizit nach cardialer sowie auch nach renaler Denervation bei ausreichendem Natriumangebot innerhalb kürzester Zeit wieder ausgeglichen werden, allerdings war bei diesen Untersuchungen das RAAS intakt gewesen. Ähnlich Befunde beschreiben Bencsáth et al.⁷: Weder bei verminderter, normaler oder erhöhter oraler Natriumzufuhr konnten sie bei zuvor bilateral denervierten Tieren Unterschiede der Natriumausscheidung beobachten. Gleiches gilt für Untersuchung von Mizelle et al.¹¹⁸. In sog. „split-bladder“-Versuchen mit einseitiger renaler Denervation und chirurgischer Teilung der Harnblase zur seitengetrennten Messung der Ausscheidungsparameter beobachteten sie ebenfalls keine unterschiedliche Natriumausscheidung. In aktuellen Untersuchungen von Bie et al. konnte ebenfalls keine unterschiedliche Natriumausscheidung vor und nach renaler Denervation in Bezug auf eine akute Natriumzufuhr (intravenöse Natriuminfusion) festgestellt werden¹⁰. Im Gegensatz dazu haben Lohmeier und Kollegen aufgrund neuerer Untersuchungen mit unilateraler renaler Denervation (split-bladder-technique) den Nierenerven eine wesentliche Rolle für die Na⁺-Eliminierung zugesprochen. Sie beobachteten, dass bei hoher Na⁺-Zufuhr die Na⁺-Ausscheidung der denervierten Niere geringer war als die der kontralateralen innervierten Niere⁹⁸ und leiteten daraus ab, dass die Nierenervenaktivität einen Beitrag zur Bilanzierung einer hohen Na⁺-Zufuhr leistet, die unabhängig von ihrem Einfluss auf die Reninfreisetzung ist. In ähnlicher Weise haben diese Autoren den Befund gedeutet, dass bei erhöhtem Natriumbestand (hervorgerufen durch längerfristige A-II-Infusion) die Na⁺-Ausscheidung der denervierten Niere geringer war als die der innervierten Niere. Ihrer Auffassung nach belegt dies, dass den Nierenerven, zumindest bei erhöhtem Natriumbestand, eine bedeutende Na⁺-eliminierende Potenz zukommt^{96,98,100}. Eine Kombination der „split-bladder-technique“ mit einer Durchtrennung vagaler Afferenzen von cardialen und sinuortalen Rezeptoren ließ Lohmeier et al. vermuten, dass eine renale Sympathikusinhibition durch den Baroreflex-Mechanismus vermittelt sein könnte und die

sympathische Nierennerven das Bindeglied zwischen Barorezeptoren und Nierenfunktion darstellen. Damit ließe sich ein Regelkreis der langfristigen Blutdruckregulation durch eine volumenabhängige Steuerung der Nierenfunktion beschreiben⁹⁶. In aktuellen Untersuchungen von Lohmeier et al.^{97,99} beobachteten sie jedoch vor bzw. nach renaler Denervation eine gleichbleibende Abnahme des MABP und der PRA infolge einer dauerhaften elektrischen Stimulation sinuortaler Barorezeptoren. Somit muss das von den Barorezeptoren detektierte Signal über andere Efferenzen als die Nierennerven an die Nieren vermittelt worden sein. Unabhängig von arteriellen Barorezeptoren wird eine mögliche Beteiligung der Nierennerven im Zusammenhang mit der über den Vorhofdruck (AN) vermittelte Reninfreisetzung diskutiert. Somit ist hypothetisch denkbar, dass bei vollständig blockiertem RAAS die Natriumausscheidung über eine direkt tubuläre Wirkung der Nierennerven über die Afferenz atrialer Dehnungsrezeptoren vermittelt worden ist.

Grund für die widersprüchlichen Befunde zur Rolle der Nierennerven ist neben den stark differierenden experimentellen Methodiken und Speziesunterschieden die Tatsache, dass nicht alleine das Plasmavolumen den MABP beeinflusst, sondern noch weitere Mechanismen existieren wie z.B. das RAAS, welches über die Natriumbestandsregulation und die direkte vasopressorische Wirkung des A-II regulierend auf den MABP wirkt. Werden, wie bei den Versuchen von Lohmeier et al.⁹⁷, die Nierennerven durchtrennt, stehen dem Organismus weitere Mechanismen zur adäquaten Blutdruckregulation zur Verfügung. Der Verlust der sympathischen Nierennerven könnte dadurch kompensiert worden sein.

Letztlich bleibt die genaue Rolle der Nierennerven in Bezug auf die Regulation des Natriumhaushaltes ungeklärt. Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei dem Regelsystem des Natriumhaushalts mindestens zu Teilen um redundante Systeme. Somit ist denkbar, dass unter physiologischen Bedingungen die natriumkonservierende Wirkung der Nierennerven durch andere Regulationsmechanismen maskiert ist und diese erst bei Wegfall, z.B. des RAAS, wie in dem hier vorliegenden Fall, einen deutlichen, messbaren Effekt auf die Natriumausscheidung ausübt. Die direkte Natrium retinierende Wirkung der Nierennerven, zusammen mit allen anderen vom RAAS unabhängigen Mechanismen, reicht jedoch nicht aus, einen Ausgleich des Natriumdefizits zu erreichen. Diese Fragestellung könnte durch die Kombination einer vollständigen Blockierung des RAAS mit einer renalen Denervation geklärt werden.

4.6.4 Beteiligung des ANP zur Stabilisierung des Natriumbestandsdefizits

Mit der Entdeckung des ANP 1981 durch DeBold²⁷ war man ursprünglich davon ausgegangen, ein Hormon gefunden zu haben, das einen wesentlichen Einfluss auf die Natriumausscheidung hat und die Efferenz des cardiorenenalen Reflexes darstellen könnte. ANP hemmt die Freisetzung von Aldosteron und supprimiert das RAAS^{115,189}. Bereits Untersuchungen aus den 80iger Jahren konnten zeigen, dass die zu einer Erhöhung des Plasmavolumens/Vorhofdrucks korrelierende Natriumausscheidung nicht durch ANP vermittelt wird^{49,149,157}. Zudem besitzt ANP in physiologischen Dosen eine nur äußerst geringe natriuretische und diuretische Wirkung. Selbst die Infusion hoher ANP-Konzentrationen führte unter physiologischen Zuständen nicht zu einer vermehrten Natriurese und Diurese¹⁵⁵. Mittlerweile verdichten sich die Beweise dafür, dass das ANP bei der Regulation der Natriumausscheidung kaum eine Bedeutung hat. Die ANP-Spiegel der hier durchgeführten Versuche zeigen keine Korrelation mit der Natriurese. Außerdem sind die ANP-Spiegel zu keinem Zeitpunkt in keinem der Protokolle gegenüber dem Kontrollprotokoll signifikant verändert, so dass eine Beteiligung des ANP an der Regulation des Natriumhomöostase, unter den hier vorliegenden pathophysiologischen Bedingungen, weitgehend ausgeschlossen werden kann.

4.6.5 Beteiligung der intrazellulären Natriumkonzentration zur Stabilisierung des Natriumbestandsdefizits

Wie oben beschrieben, finden nach PD umfangreiche Elektrolyt- und Wasserverschiebungen zwischen den einzelnen Kompartimenten des Körpers statt. Folge dieser Elektrolyt- und Wasserverschiebungen ist eine Abnahme der intrazellulären Na^+ -Konzentration. Behrenbeck et al. postulierten, dass die intrazelluläre Na^+ -Konzentration die Natriumausscheidung (mit)steuert. Anhand der beschriebenen Wasser- und Elektrolytverschiebungen lässt sich eine Korrelation der Natriumausscheidung mit der intrazellulären Na^+ -Konzentration erkennen. Als mögliche Mechanismen nannten Behrenbeck et al.⁶ eine Änderung der Na^+ -Permeabilität, der Na^+ -spezifischen ATPase-Aktivität, die Neubildung von Enzymsubstratkomplexen oder die Änderung des intrazellulären pH-Wertes. Ob unter vollständiger Blockierung des RAAS eine veränderte intrazelluläre Na^+ -Konzentration an der Konstanthaltung des Natriumdefizits beteiligt ist, bleibt spekulativ.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass alle oben genannten, vom RAAS unabhängigen Mechanismen, ein weiteres Absinken des Natriumdefizits und des MABP verhindert haben könnten und dies wahrscheinlich auf ein multifaktorielles Geschehen zurückzuführen ist. Die

Potenz aller diese Mechanismen zusammen ist jedoch nicht groß genug, um bei blockiertem RAAS das zuvor erzeugte Natrium- und Wasserbestandsdefizit und den MABP wieder auszugleichen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es ist bekannt, dass das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen und Plasmavolumen wesentlich durch den Natriumbestand determiniert wird. Eine längerfristige Erhöhung des Natriumbestandes führt bei ansonsten gesunden Versuchstieren zu einer Erhöhung des arteriellen Blutdrucks. Untersuchungen von Seeliger et al. geben Hinweise darauf, dass die Korrelation zwischen dem Natrium- und Wasserbestand und dem arteriellen Blutdruck bei vermindertem Natrium- und Wasserbestand geringer ausgeprägt ist und in diesem Zusammenhang vor allem volumenunabhängige Mechanismen an der Blutdruckregulation (Konstanthaltung des Blutdrucks) beteiligt sind.

Das RAAS kann in zweierlei Hinsicht an der Regulation des Blutdruckes beteiligt sein:

- zum einen über die Regulation des Natrium- und Wasserbestandes durch die Natrium retinierende Wirkung von Angiotensin-II und Aldosteron (→ volumenabhängige Blutdruckregulation),
- zum anderen durch die vasokonstriktive Wirkung des Angiotensin-II (→ volumenunabhängige Blutdruckregulation).

Es existieren derzeit keine Untersuchungen, ob die Mechanismen der volumenunabhängigen Blutdruckregulation den Volumenmangel infolge eines verminderten Natriumbestandes voll oder nur teilweise kompensieren können. Zudem existieren ebenfalls keine systematischen Untersuchungen zur Rolle der einzelnen Elemente des RAAS in diesem Zusammenhang in Bezug auf die langfristige Blutdruckregulation und in Bezug auf den Ausgleich des Natriumbestandsdefizits.

Zur Klärung dieser Fragestellung wurden Bilanzuntersuchungen an wachen, chronisch instrumentierten Hunden, über eine Dauer von 4 Tagen durchgeführt. Zu Beginn des ersten Tages wurde der Natriumbestand mittels einer Peritonealdialyse um 3,5 mmol/kg KG reduziert. An den ersten beiden Tagen erhielten die Hunde eine natriumarme Diät (0,5 mmol Na⁺/kg KG), an den Tagen 3 und 4 ein natriumreiches Futter (5,5 mmol Na⁺/kg KG). Im Protokoll 1 (Intakt) war das RAAS intakt, in Protokoll 2 (ACE-I) wurde ab dem 2. Tag eine ACE-Hemmung etabliert, im Protokoll 3 (ACE-I + MR-A) wurde ab dem 2. Tag zum ACE-Hemmer ein Mineralocorticoidrezeptor-Antagonist verabreicht, im Folgenden als vollständige Blockierung des RAAS bezeichnet.

Unter natriumarmer Ernährung konnte das Natriumbestandsdefizit von 3,5 mmol/kg KG, selbst wenn die über das Futter angebotene Menge Natrium vollständig resorbiert worden wäre, nicht ausgeglichen werden. Aufgrund der innerhalb enger Grenzen stattfindenden Osmoregulation kam es infolgedessen zu einer stark erhöhten Wasserausscheidung mit signifikanter Abnahme des Wasserbestandes bis zum Ende des ersten Tages.

Im Gegensatz zu Zuständen mit normalem oder erhöhtem Natrium- und Wasserbestand korrelierte der Blutdruck nun nicht mit dem aktuellen Wasserbestand, sondern nahm bei intaktem RAAS trotz des bestehenden Wasserbestandsdefizits nicht ab. Dies ist auf die vasokonstriktive Wirkung des A-II zurückzuführen (volumenunabhängige Blutdruckregulation), denn unter ACE-Hemmung (Protokoll ACE-I) fiel der Blutdruck signifikant ab.

Das bestehende Natriumbestandsdefizit wurde bei intaktem RAAS mit ausreichendem Natriumangebot über das Futter ab dem dritten Tag sofort ausgeglichen.

Auch unter ACE-Hemmung fand ab dem dritten Tag ein vollständiger Ausgleich des Natriumbestandsdefizits innerhalb kurzer Zeit statt, was auf eine A-II-unabhängige Stimulation der Aldosteronfreisetzung zurückzuführen ist. Die nahezu unveränderte Aldosteronfreisetzung ist dabei vermutlich zu einem großen Teil auf eine kaliumabhängige Aldosteronfreisetzung zurückzuführen. Parallel zum Wiederausgleich des Natriumbestandes wurde das Wasserbestandsdefizit ebenfalls ausgeglichen und der Blutdruck stieg auf Kontrollniveau an.

Unter vollständiger Blockierung des RAAS kam es zu keinem Ausgleich des Natriumbestandsdefizits, folglich auch nicht des Wasserbestandsdefizits. Der Blutdruck blieb bis zum Ende des vierten Tages signifikant vermindert.

Daraus folgt, dass das RAAS bei moderat vermindertem Natrium- und Wasserbestand den wichtigsten Mechanismus in Bezug auf die Regulation des Natriumbestandes und des Blutdrucks darstellt:

1. Durch die vasokonstriktive Wirkung des A-II wird der Volumenverlust, wie bei den hier vorliegenden pathophysiologischen Zuständen, vollständig kompensiert und damit einem Blutdruckabfall entgegengewirkt (volumenunabhängige Blutdruckregulation).
2. Die massive Stimulation der Reninfreisetzung, der A-II-Bildung und der (auch vom A-II unabhängigen) Aldosteronfreisetzung ist essentiell für den Wiederausgleich des Natrium- und Wasserbestandsdefizits mit entsprechender (volumenabhängiger) Konsequenz für den Blutdruck.

Die nach Senkung des Natriumbestandes einsetzende massive Reninfreisetzung ist hauptsächlich durch die integrativen Mechanismen der natriumbestandabhängigen und der druckabhängigen Reninfreisetzung erklärbar. In diesem Zusammenhang ist weder geklärt, wie der Organismus den

Natriumbestand messen, noch über welche efferenten Signalwege ein veränderter Natriumbestand die Reninfreisetzung steuern kann. Es wird vermutet, dass die natriumbestandabhängige Reninfreisetzung über Änderungen des Plasmavolumens und Änderungen der Vorhofdrücke vermittelt wird. Die sympathischen Nierenerven könnten den efferenten Signalweg hierbei darstellen, ihr physiologischer Stellenwert wird jedoch in der Literatur kontrovers diskutiert und kann an dieser Stelle nicht weiter verifiziert werden. Die natriumbestandabhängige Reninfreisetzung könnte auch über den sog. Macula-densa-Mechanismus vermittelt sein: Nach Erzeugen eines Natriumbestandsdefizits kommt es zu massiven Verschiebungen von Elektrolyten und Flüssigkeiten zwischen den einzelnen Kompartimenten des Körpers und zu einer Mehrausscheidung von Wasser. Initial fallen die P_{Na} -Konzentration und das proximale Na-Load signifikant ab. Es ist davon auszugehen, dass das distale Na-Load gleichermaßen signifikant abfällt. Eine Abnahme des distalen Na-Loads führt bekanntermaßen zu einer erhöhten Reninfreisetzung. Zum anderen könnten Elektrolytverschiebungen, Änderungen von Membranpotentialen u.ä. an den MD-Zellen direkt auch ohne Änderungen des distalen Na-Loads die Reninfreisetzung beeinflussen haben. Um diese Sachverhalte weiter zu klären, sind weitere Untersuchungen notwendig.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. **Acuna D, Alba F, Garcia-Torres L et al.**
“Calcium and renin release: inhibition of low sodium-induced renin secretion by high calcium concentration in rat kidney perfusion”
Rev Esp Fisiol. 1982;38:167-170.
2. **Adams KF, Jr.**
“Pathophysiologic role of the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems in heart failure”
Am J Health Syst Pharm. 2004;61 Suppl 2:S4-13.
3. **Andersen LJ, Andersen JL, Pump B et al.**
“Natriuresis induced by mild hypernatremia in humans”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2002;282:R1754-R1761.
4. **Barajas L.**
“Innervation of the renal cortex”
Fed Proc. 1978;37:1192-1201.
5. **Behrenbeck DW, Dorge A, Reinhardt HW.**
“Adjustment of sodium balance in conscious dogs. 3. Balances of electrolytes and sodium rejection after acute sodium depletion by peritoneal dialysis or repeated infusion of mannitol”
Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere. 1968;300:226-243.
6. **Behrenbeck DW, Reinhardt HW.**
“Studies in the awake dog on the regulation of the sodium balance. II. Postprandial electrolyte and water balance in different sodium chloride supplies”
Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere. 1967;295:280-292.
7. **Bencsath P, Fekete MI, Kanyicska B et al.**
“Renal excretion of sodium after bilateral renal sympathectomy in the anaesthetized and conscious rat”
J Physiol. 1982;331:443-450.
8. **Berry AJ, Geer RT, Marshall C et al.**
“The effect of long-term controlled mechanical ventilation with positive end-expiratory pressure on renal function in dogs”
Anesthesiology. 1984;61:406-415.
9. **Beutler KT, Masilamani S, Turban S et al.**
“Long-term regulation of ENaC expression in kidney by angiotensin II”
Hypertension. 2003;41:1143-1150.
10. **Bie P.**
“Blood volume, blood pressure, and total body sodium: internal signalling and output control” *Acta Physiol (Oxf).* 2008.
11. **Bie P, Molstrom S, Wamberg S.**
“Normotensive sodium loading in conscious dogs: regulation of renin secretion during beta-receptor blockade”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2009;296:R428-R435.
12. **Blair-West JR, Cain MD, Catt KJ et al.**
“The dissociation of aldosterone secretion and systemic renin and angiotensin II levels during the correction of sodium deficiency”
Acta Endocrinol (Copenh). 1971;66:229-247.

13. **Blair-West JR, Coghlan JP, Denton DA et al.**
 "The renin-angiotensin-aldosterone system in sodium depletion"
Med J Aust. 1967;2:290-293.
14. **Blair W, Coghlan JP, Cran E et al.**
 "Increased aldosterone secretion during sodium depletion with inhibition of renin release"
Am J Physiol. 1973;224:1409-1414.
15. **Boemke W, Palm U, Mohnhaupt R et al.**
 „Influence of captopril on 24-hour balances and the diurnal patterns of urinary output, blood pressure, aldosterone and atrial natriuretic peptide in conscious dogs"
Ren Physiol Biochem. 1995;18:35-48.
16. **Boemke W, Seeliger E, Rothermund L et al.**
 "ACE inhibition prevents Na and water retention and MABP increase during reduction of renal perfusion pressure"
Am J Physiol. 1995;269:R481-R489.
17. **Boivin V, Jahns R, Gambaryan S et al.**
 "Immunofluorescent imaging of β_1 - and β_2 -adrenergic receptors in rat kidney"
Kidney Int. 2001;59:515-531.
18. **Braun-Menendez E, Fasciolo JC, Leloir LF et al.**
 "The substance causing renal hypertension"
J Physiol. 1940;98:283-298.
19. **Brisset AC, Isakson BE, Kwak BR.**
 "Connexins in vascular physiology and pathology"
Antioxid Redox Signal. 2009;11:267-282.
20. **Brown JJ, Davies DL, Lever AF et al.**
 "Influence of sodium loading and sodium depletion on plasma-renin in man"
Lancet. 1963;2:278-279.
21. **Burns KD, Li N.**
 "The role of angiotensin II-stimulated renal tubular transport in hypertension"
Curr Hypertens Rep. 2003;5:165-171.
22. **Cockcroft JR, O'Kane KP, Webb DJ.**
 "Tissue angiotensin generation and regulation of vascular tone"
Pharmacol Ther. 1995;65:193-213.
23. **Corea M, Seeliger E, Boemke W et al.**
 "Diurnal pattern of sodium excretion in dogs with and without chronically reduced renal perfusion pressure"
Kidney Blood Press Res. 1996;19:16-23.
24. **Cowley AW, Jr.**
 "Long-term control of arterial blood pressure"
Physiol Rev. 1992;72:231-300.
25. **Cowley AW, Jr.**
 "Role of the renal medulla in volume and arterial pressure regulation"
Am J Physiol. 1997;273:R1-15.
26. **Cowley AW, Jr., Mattson DL, Lu S et al.**
 "The renal medulla and hypertension"
Hypertension. 1995;25:663-673

27. **de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT et al.**
 “A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats”
Life Sci. 1981;28:89-94.
28. **De Lean A, Racz K, McNicoll N et al.**
 “Direct beta-adrenergic stimulation of aldosterone secretion in cultured bovine adrenal subcapsular cells”
Endocrinology. 1984;115:485-492.
29. **Deane HW, Shaw JH, Greep RO.**
 “The effect of altered sodium or potassium intake on the width and cytochemistry of the zona glomerulosa of the rat's adrenal cortex”
Endocrinology. 1948;43:133-153.
30. **Dibona GF.**
 “Neural control of renal tubular solute and water transport”
Miner Electrolyte Metab. 1989;15:44-50.
31. **Dibona GF.**
 “Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;279:R1517-R1524.
32. **Dibona GF, Kopp UC.**
 “Neural control of renal function”
Physiol Rev. 1997;77:75-197.
33. **Dibona GF, Sawin LL.**
 “Renal nerves in renal adaptation to dietary sodium restriction”
Am J Physiol. 1983;245:F322-F328.
34. **Ehmke H, Persson P, Fischer S et al.**
 “Resetting of pressure-dependent renin release by intrarenal alpha 1-adrenoceptors in conscious dogs”
Pflugers Arch. 1989;413:261-266.
35. **Ehmke H, Persson P, Kirchheim H.**
 “Pressure-dependent renin release: the kidney factor in long-term control of arterial blood pressure in conscious dogs”
Clin Exp Hypertens A. 1987;9 Suppl 1:181-195.
36. **Eiken P, Emmeluth C, Schutten HJ et al.**
 „Vasopressin and angiotensin II in the conscious dog: synergistic effects on renal excretory parameters?”
Clin Sci (Lond). 1992;83:467-475.
37. **Emmeluth C, Schutten HJ, Knigge U et al.**
 “Increase in plasma sodium enhances natriuresis in response to a sodium load unable to change plasma atrial peptide concentration”
Acta Physiol Scand. 1990;140:119-127.
38. **Farhi ER, Cant JR, Barger AC.**
 “Interactions between intrarenal epinephrine receptors and the renal baroreceptor in the control of PRA in conscious dogs”
Circ Res. 1982;50:477-485.

39. **Farhi ER, Cant JR, Barger AC.**
 “Alteration of renal baroreceptor by salt intake in control of plasma renin activity in conscious dogs”
Am J Physiol. 1983;245:F119-F122.
40. **Farhi ER, Cant JR, Paganelli WC et al.**
 “Stimulus-response curve of the renal baroreceptor: effect of converting enzyme inhibition and changes in salt intake”
Circ Res. 1987;61:670-677.
41. **Fink GD, Arthur C.**
 “Sympathetic activity, vascular capacitance, and long-term regulation of arterial pressure”
Hypertension. 2009;53:307-312.
42. **Finke R, Gross R, Hackenthal E et al.**
 „Threshold pressure for the pressure-dependent renin release in the autoregulating kidney of conscious dogs”
Pflugers Arch. 1983;399:102-110.
43. **Fiselier TJ, Monnens LA, Lameire NH et al.**
 “Effects of angiotensin II blockade in the canine puppy under different salt-intake”
Kidney Int. 1984;26:823-829.
44. **Fray JC, Park CS.**
 “Influence of potassium, sodium, perfusion pressure, and isoprenaline on renin release induced by acute calcium deprivation”
J Physiol. 1979;292:363-372.
45. **Gambaryan S, Butt E, Tas P et al.**
 “Regulation of aldosterone production from zona glomerulosa cells by ANG II and cAMP: evidence for PKA-independent activation of CaMK by cAMP”
Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;290:E423-E433.
46. **Gauer OH, Henry JP.**
 „Homeostasis of extraarterial blood circulation; volume regulation as an independent physiologic parameter”
Klin Wochenschr. 1956;34:356-366.
47. **Giacchetti G, Opocher G, Sarzani R et al.**
 “Angiotensin II and the adrenal”
Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl. 1996;3:S119-S124.
48. **Gigante B, Rubattu S, Russo R et al.**
 “Opposite feedback control of renin and aldosterone biosynthesis in the adrenal cortex by angiotensin II AT1-subtype receptors”
Hypertension. 1997;30:563-568.
49. **Goetz KL, Wang BC, Geer PG et al.**
 „Atrial stretch increases sodium excretion independently of release of atrial peptides”
Am J Physiol. 1986;250:R946-R950.
50. **Goldblatt H, Lynch J, Hanzel RF et al.**
 „The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia”
J Exp Med. 1934;59:347-379

51. **Gordon MS, Williams GH, Hollenberg NK.**
 “Renal and adrenal responsiveness to angiotensin II: influence of beta adrenergic blockade”
Endocr Res. 1992;18:115-131.
52. **Granger JP, Alexander BT.**
 “Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: role of nitric oxide”
Acta Physiol Scand. 2000;168:161-168.
53. **Gross F.**
 “Adrenal cortex and water and sodium metabolism with special reference to aldosterone”
Klin Wochenschr. 1956;34:929-941.
54. **Gross F.**
 “Experimental analysis of the effects of aldosterone and other corticosteroids on water and salt metabolism”
Rev Iber Endocrinol. 1956;3:603-625.
55. **Gross F.**
 “Renin and hypertension, physiological or pathological agents?”
Klin Wochenschr. 1958;36:693-706.
56. **Gross R, Hackenberg HM, Hackenthal E et al.**
 “Interaction between perfusion pressure and sympathetic nerves in renin release by carotid baroreflex in conscious dogs”
J Physiol. 1981;313:237-250.
57. **Gupta P, Franco-Saenz R, Mulrow PJ.**
 “Regulation of the adrenal renin angiotensin system in cultured bovine zona glomerulosa cells: effect of catecholamines”
Endocrinology. 1992;130:2129-2134.
58. **Guyton AC.**
 “Dominant role of the kidneys and accessory role of whole-body autoregulation in the pathogenesis of hypertension”
Am J Hypertens. 1989;2:575-585.
59. **Guyton AC.**
 “Long-term arterial pressure control: an analysis from animal experiments and computer and graphic models”
Am J Physiol. 1990;259:R865-R877.
60. **Guyton AC.**
 “Renal function curves and control of body fluids and arterial pressure”
Acta Physiol Scand Suppl. 1990;591:107-113.
61. **Guyton AC.**
 “The surprising kidney-fluid mechanism for pressure control--its infinite gain!”
Hypertension. 1990;16:725-730.
62. **Guyton AC.**
 “Blood pressure control-special role of the kidneys and body fluids”
Science. 1991;252:1813-1816.
63. **Hackenthal E, Paul M, Ganten D et al.**
 “Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion”
Physiol Rev. 1990;70:1067-1116.
64. **Hall JE, Guyton AC, Brands MW.**
 “Pressure-volume regulation in hypertension” *Kidney Int Suppl.* 1996;55:S35-S41.

65. **Hall JE, Guyton AC, Coleman TG et al.**
 “Regulation of arterial pressure: role of pressure natriuresis and diuresis”
Fed Proc. 1986;45:2897-2903.
66. **Hall JE, Mizelle HL, Hildebrandt DA et al.**
 “Abnormal pressure natriuresis. A cause or a consequence of hypertension?”
Hypertension. 1990;15:547-559.
67. **Hanke CJ, Bauer-Dantoin AC.**
 “Teaching aldosterone regulation and basic scientific principles using a classic paper by Dr. James O. Davis and colleagues”
Adv Physiol Educ. 2006;30:141-144.
68. **Harris PJ, Hiranyachattada S, Antoine AM et al.**
 “Regulation of renal tubular sodium transport by angiotensin II and atrial natriuretic factor”
Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl. 1996;3:S112-S118.
69. **Himathongkam T, Dluhy RG, Williams GH.**
 “Potassium-aldosterone-renin interrelationships”
J Clin Endocrinol Metab. 1975;41:153-159.
70. **Hollenberg NK.**
 “Set point for sodium homeostasis: surfeit, deficit, and their implications”
Kidney Int. 1980;17:423-429.
71. **Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA.**
 “Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue: evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system”
Hypertension. 1998;32:387-392.
72. **Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA et al.**
 “Effect of ACE inhibition on pressor, renal vascular, and adrenal responses to infusion of angiotensin I in normal subjects eating a low-salt diet”
Am J Hypertens. 2000;13:498-503.
73. **Horiuchi T, Tanaka K, Shimizu N.**
 “Effect of catecholamine on aldosterone release in isolated rat glomerulosa cell suspensions”
Life Sci. 1987;40:2421-2428.
74. **Hostetter TH, Rosenberg ME, Ibrahim HN et al.**
 “Aldosterone in progressive renal disease”
Semin Nephrol. 2001;21:573-579.
75. **Johnson PC.**
 “Autoregulation of blood flow”
Circ Res. 1986;59:483-495.
76. **Kaczmarczyk G, Eigenheer F, Gatzka M et al.**
 “No relation between atrial natriuresis and renal blood flow in conscious dogs”
Pflugers Arch. 1978;373:49-58.
77. **Kaczmarczyk G, Marx M, Lee K et al.**
 “Acute effects of angiotensin II in intact and adrenalectomized conscious dogs”
J Physiol (Paris). 1984;79:491-495.
78. **Kaczmarczyk G, Mohnhaupt R, Reinhardt HW.**
 “Renal sodium handling in intact and renal denervated dogs”
Pflugers Arch. 1986;407:382-387.

79. **Kaczmarczyk G, Rossaint R, Altmann C et al.**
 “ACE inhibition facilitates sodium and water excretion during PEEP in conscious volume-expanded dogs”
J Appl Physiol. 1992;73:962-967.
80. **Kaczmarczyk G, Schimmrich B, Mohnhaupt R et al.**
 “Atrial pressure and postprandial volume regulation in conscious dogs”
Pflugers Arch. 1979;381:143-150.
81. **Kaczmarczyk G, Schmidt E.**
 “Sodium homeostasis in conscious dogs after chronic cardiac denervation”
Am J Physiol. 1990;258:F805-F811.
82. **Kim SM, Chen L, Faulhaber-Walter R et al.**
 „Regulation of renin secretion and expression in mice deficient in beta1- and beta2-adrenergic receptors”
Hypertension. 2007;50:103-109.
83. **Kirchheim H, Ehmke H, Persson P.**
 “Sympathetic modulation of renal hemodynamics, renin release and sodium excretion”
Klin Wochenschr. 1989;67:858-864.
84. **Kirchheim HR, Finke R, Hackenthal E et al.**
 “Baroreflex sympathetic activation increases threshold pressure for the pressure-dependent renin release in conscious dogs”
Pflugers Arch. 1985;405:127-135.
85. **Kjolby M, Bie P.**
 “Chronic activation of plasma renin is log-linearly related to dietary sodium and eliminates natriuresis in response to a pulse change in total body sodium”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008;294:R17-R25.
86. **Kjolby MJ, Kompanowska-Jeziarska E, Wamberg S et al.**
 “Effects of sodium intake on plasma potassium and renin angiotensin aldosterone system in conscious dogs”
Acta Physiol Scand. 2005;184:225-234.
87. **Klinke R, Silbernagl S.**
 „Lehrbuch der Physiologie“
Thieme Verlag 1996;2.Auflage, S. 151-155 und 162-164.
88. **Kobayashi N, Matsuoka H.**
 “Interaction between angiotensin II and other local vasoactive substances”
Nippon Rinsho. 1999;57:1110-1116.
89. **Komlosi P, Fintha A, Bell PD.**
 “Current mechanisms of macula densa cell signalling”
Acta Physiol Scand. 2004;181:463-469.
90. **Kompanowska-Jeziarska E, Wolff H, Kuczeriszka M et al.**
 “Renal nerves and nNOS: roles in natriuresis of acute isovolumetric sodium loading in conscious rats”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008;294:R1130-R1139.
91. **Kramer RE, Robinson TV, Schneider EG et al.**
 “Direct modulation of basal and angiotensin II-stimulated aldosterone secretion by hydrogen ions”
J Endocrinol. 2000;166:183-194.

92. **Krattinger N, Capponi A, Mazzolai L et al.**
 “Connexin40 regulates renin production and blood pressure”
Kidney Int. 2007;72:814-822.
93. **Kuhlen R, Seibt H, Engel R et al.**
 “Interactions of physiological and pharmacological concentrations of ANP and angiotensin II in conscious dogs”
Am J Physiol. 1992;263:R537-R543.
94. **Lehoux JG, Bird IM, Rainey WE et al.**
 “Both low sodium and high potassium intake increase the level of adrenal angiotensin-II receptor type 1, but not that of adrenocorticotropin receptor”
Endocrinology. 1994;134:776-782.
95. **Li Y, Yamada H, Kita Y et al.**
 “Roles of ERK and cPLA2 in the angiotensin II-mediated biphasic regulation of Na⁺-HCO₃⁻ transport”
J Am Soc Nephrol. 2008;19:252-259.
96. **Lohmeier TE.**
 “The sympathetic nervous system and long-term blood pressure regulation”
Am J Hypertens. 2001;14:147S-154S.
97. **Lohmeier TE, Hildebrandt DA, Dwyer TM et al.**
 “Renal denervation does not abolish sustained baroreflex-mediated reductions in arterial pressure”
Hypertension. 2007;49:373-379.
98. **Lohmeier TE, Hildebrandt DA, Hood WA.**
 “Renal nerves promote sodium excretion during long-term increases in salt intake”
Hypertension. 1999;33:487-492.
99. **Lohmeier TE, Hildebrandt DA, Warren S et al.**
 “Recent insights into the interactions between the baroreflex and the kidneys in hypertension”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2005;288:R828-R836.
100. **Lohmeier TE, Lohmeier JR, Haque A et al. «**
 “Baroreflexes prevent neurally induced sodium retention in angiotensin hypertension”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;279:R1437-R1448.
101. **Lohmeier TE, Reinhart GA, Mizelle HL et al.**
 “Influence of the renal nerves on sodium excretion during progressive reductions in cardiac output”
Am J Physiol. 1995;269:R678-R690.
102. **Lumbers ER.**
 “Angiotensin and aldosterone”
Regul Pept. 1999;80:91-100.
103. **Lumbers ER, McCloskey DI, Potter EK.**
 “Inhibition by angiotensin II of baroreceptor-evoked activity in cardiac vagal efferent nerves in the dog”
J Physiol. 1979;294:69-80.
104. **Luscher TF.**
 “Angiotensin, ACE-inhibitors and endothelial control of vasomotor tone”
Basic Res Cardiol. 1993;88 Suppl 1:15-24.

105. **Majid DS, Omoro SA, Chin SY et al.**
“Intrarenal nitric oxide activity and pressure natriuresis in anesthetized dogs”
Hypertension. 1998;32:266-272.
106. **Manning RD, Jr., Hu L, Reckelhoff JF.**
“Role of nitric oxide in the arterial pressure and renal adaptations to long-term changes in sodium intake”
Am J Physiol. 1997;272:R1162-R1169.
107. **Matsukawa S, Reid IA.**
“Role of the area postrema in the modulation of the baroreflex control of heart rate by angiotensin II”
Circ Res. 1990;67:1462-1473.
108. **Matsumoto M, Gotoh T, Suzuki-Kusaba M et al.**
“Effect of angiotensin II on aldosterone secretion in canine adrenal gland in situ”
J Cardiovasc Pharmacol. 2000;36:71-76.
109. **Mazzocchi G, Malendowicz LK, Markowska A et al.**
“Role of adrenal renin-angiotensin system in the control of aldosterone secretion in sodium-restricted rats”
Am J Physiol Endocrinol Metab. 2000;278:E1027-E1030.
110. **McCaa RE.**
“Role of the renin-angiotensin system in the regulation of aldosterone biosynthesis and arterial pressure during sodium deficiency”
Circ Res. 1977;40:I157-I162.
111. **McCaa RE.**
“Role of the renin-angiotensin-aldosterone and kallikrein-kinin systems in the control of fluid and electrolyte metabolism, renal function, and arterial blood pressure”
Clin Exp Hypertens A. 1982;4:1593-1611.
112. **McCaa RE, Langford HG, Montalvo JM et al.**
“Regulation of aldosterone biosynthesis during sodium deficiency. Evidence for an essential role of the pituitary gland”
Hypertension. 1981;3:I74-I80.
113. **McCaa RE, McCaa CS, Read DG et al.**
“Increased plasma aldosterone concentration in response to hemodialysis in nephrectomized man”
Circ Res. 1972;31:473-480.
114. **McDonough AA, Leong PK, Yang LE.**
“Mechanisms of pressure natriuresis: how blood pressure regulates renal sodium transport”
Ann N Y Acad Sci. 2003;986:669-677.
115. **McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ.**
“The endocrine function of the heart”
Trends Endocrinol Metab. 2005;16:469-477.
116. **Mendelsohn FA, Johnston CI, Doyle AE et al.**
“Renin, angiotensin II, and adrenal corticosteroid relationships during sodium deprivation and angiotensin infusion in normotensive and hypertensive man”
Circ Res. 1972;31:728-739.

117. **Meneton P, Loffing J, Warnock DG.**
 “Sodium and potassium handling by the aldosterone-sensitive distal nephron: the pivotal role of the distal and connecting tubule”
Am J Physiol Renal Physiol . 2004;287:F593-F601.
118. **Mizelle HL, Hall JE, Woods LL et al.**
 “Role of renal nerves in compensatory adaptation to chronic reductions in sodium intake”
Am J Physiol. 1987;252:F291-F298.
119. **Mizelle HL, Montani JP, Hester RL et al.**
 “Role of pressure natriuresis in long-term control of renal electrolyte excretion”
Hypertension. 1993;22:102-110.
120. **Morton JJ, Tree M, Casals-Stenzel J.**
 “Effect of infused captopril on blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system in normal dogs subjected to varying sodium balance”
Am J Cardiol. 1982;49:1395-1400.
121. **Morton KD, Johnson MD, Van de Kar LD.**
 “Serotonin and stress-induced increases in renin secretion are not blocked by sympathectomy/adrenal medullectomy but are blocked by beta antagonists”
Brain Res. 1995;698:185-192.
122. **Muller J.**
 “Does a renin-angiotensin-aldosterone system exist?”
Schweiz Med Wochenschr. 1972;102:1105-1112.
123. **Muller J, Lauber M.**
 “Regulation of aldosterone biosynthesis: a continual challenge”
Am J Hypertens. 1991;4:280-282.
124. **Muller J, Lund EG, Hofstetter L et al.**
 “Stimulation of aldosterone biosynthesis by sodium sequestration: role of angiotensin II”
Am J Physiol. 1982;243:E450-E457.
125. **Mulrow PJ.**
 “Renin-angiotensin system in the adrenal”
Horm Metab Res. 1998;30:346-349.
126. **Mulrow PJ.**
 “Angiotensin II and aldosterone regulation”
Regul Pept. 1999;80:27-32.
127. **Mulrow PJ, Ganong WF.**
 “Stimulation of aldosterone secretion by angiotensin. II. A preliminary report”
Yale J Biol Med. 1961;33:386-395.
128. **Mulrow PJ, Ganong WF, Cera G et al.**
 “The nature of the aldosterone-stimulating factor in dog kidneys”
J Clin Invest. 1962;41:505-518.
129. **Nakamaru M, Misono KS, Naruse M et al.**
 “A role for the adrenal renin-angiotensin system in the regulation of potassium-stimulated aldosterone production”
Endocrinology. 1985;117:1772-1778.

130. **Newby DE, Masumori S, Johnston NR et al.**
“Endogenous angiotensin II contributes to basal peripheral vascular tone in sodium deplete but not sodium replete man”
Cardiovasc Res. 1997;36:268-275.
131. **O'Dea RF, Jr., Hansen JA, Mirkin BL.**
“Effect of calcium, sodium and isoproterenol on renin secretion from disaggregated rat renal cortical cells”
Res Commun Chem Pathol Pharmacol. 1984;46:187-205.
132. **Ohman KP, Karlberg BE, Nilsson OR et al.**
“Captopril in primary hypertension. Effects related to the renin-angiotensin-aldosterone and kallikrein-kinin systems”
Acta Med Scand Suppl. 1981;646:98-105.
133. **Okubo S, Niimura F, Nishimura H et al.**
“Angiotensin-independent mechanism for aldosterone synthesis during chronic extracellular fluid volume depletion”
J Clin Invest. 1997;99:855-860.
134. **Olsen ME, Hall JE, Montani JP et al.**
“Angiotensin II natriuresis and antinatriuresis: role of renal artery pressure, renal hemodynamics, and tubular reabsorption”
Acta Med Scand Suppl. 1985;693:81-88.
135. **Oppermann M, Mizel D, Huang G et al.**
“Macula densa control of renin secretion and preglomerular resistance in mice with selective deletion of the B isoform of the Na,K,2Cl co-transporter”
J Am Soc Nephrol. 2006;17:2143-2152.
136. **Osborn JL.**
“Relation between sodium intake, renal function, and the regulation of arterial pressure”
Hypertension. 1991;17:I91-I96.
137. **Page IH.**
“The discovery of angiotensin”
Perspect Biol Med. 1975;18:456-462.
138. **Palm U, Boemke W, Bayerl D et al.**
“Prevention of catheter-related infections by a new, catheter-restricted antibiotic filling technique”
Lab Anim. 1991;25:142-152.
139. **Palm U, Boemke W, Reinhardt HW.**
“Rhythmicity of urinary sodium excretion, mean arterial blood pressure, and heart rate in conscious dogs”
Am J Physiol. 1992;262:H149-H156.
140. **Persson AE, Ollerstam A, Liu R et al.**
“Mechanisms for macula densa cell release of renin”
Acta Physiol Scand. 2004;181:471-474.
141. **Persson PB.**
“Renin: origin, secretion and synthesis”
J Physiol. 2003;552:667-671

142. **Peters TK, Kaczmarczyk G.**
 “Plasma renin activity during hypotensive responses to electrical stimulation carotid sinus nerves in conscious dogs”
Clin Exp Pharmacol Physiol. 1994;21:1-8.
143. **Porter JP.**
 “Stress can enhance the renin response to reduced renal perfusion pressure”
Am J Physiol. 1989;256:R554-R559.
144. **Potter EK, Reid IA.**
 “Intravertebral angiotensin II inhibits cardiac vagal efferent activity in dogs”
Neuroendocrinology. 1985;40:493-496.
145. **Pratt JH.**
 “Role of angiotensin II in potassium-mediated stimulation of aldosterone secretion in the dog”
J Clin Invest. 1982;70:667-672.
146. **Pratt JH, McAteer JA.**
 “Beta-adrenergic enhancement of angiotensin II-stimulated aldosterone secretion”
Life Sci. 1989;44:2089-2095.
147. **Pratt JH, Turner DA, McAteer JA et al.**
 “Beta-adrenergic stimulation of aldosterone production by rat adrenal capsular explants”
Endocrinology. 1985;117:1189-1194.
148. **Radke KJ, Clendenin RE, III, Taylor RE, Jr. et al.**
 “Calcium dependence of osmolality-, potassium-, and angiotensin II-induced aldosterone secretion”
Am J Physiol. 1989;256:E760-E764.
149. **Rasmussen MS, Simonsen JA, Sandgaard NC et al.**
 “Mechanisms of acute natriuresis in normal humans on low sodium diet”
J Physiol. 2003;546:591-603.
150. **Rayner B.**
 “Primary aldosteronism and aldosterone-associated hypertension”
J Clin Pathol. 2008;61:825-831.
151. **Reid IA.**
 “Actions of angiotensin II on the brain: mechanisms and physiologic role”
Am J Physiol. 1984;246:F533-F543.
152. **Reinhardt HW, Boemke W, Palm U et al.**
 “What causes escape from sodium retaining hormones?”
Acta Physiol Scand Suppl. 1990;591:12-17.
153. **Reinhardt HW, Corea M, Boemke W et al.**
 “Resetting of 24-h sodium and water balance during 4 days of servo-controlled reduction of renal perfusion pressure”
Am J Physiol. 1994;266:H650-H657.
154. **Reinhardt HW, Eisele R, Kaczmarczyk G et al.**
 “The control of sodium excretion by reflexes from the low pressure system independent of adrenal activity. Experiments on conscious dogs”
Pflugers Arch. 1980;384:171-176.

155. **Reinhardt HW, Hey A, Mohnhaupt R et al.**
“Control of sodium excretion: atrial natriuresis and mineralocorticoid escape: some new aspects”
Biomed Biochim Acta. 1987;46:965-971.
156. **Reinhardt HW, Kaczmarczyk G, Eisele R et al.**
“Left atrial pressure and sodium balance in conscious dogs on a low sodium intake”
Pflugers Arch. 1977;370:59-66.
157. **Reinhardt HW, Kaczmarczyk G, Mohnhaupt R et al.**
“Atrial natriuresis under the condition of a constant renal perfusion pressure: experiments on conscious dogs”
Pflugers Arch. 1980;389:9-15.
158. **Reinhardt HW, Kaczmarczyk G, Mohnhaupt R et al.**
“The control of sodium metabolism to maintain”
Klin Wochenschr. 1982;60:1240-1244.
159. **Reinhardt HW, Palm U, Mohnhaupt R et al.**
“Computer-assisted long-term measurements of urinary output and other biological data”
Am J Physiol. 1990;258:R274-R280.
160. **Reinhardt HW, Seeliger E.**
“Toward an Integrative Concept of Control of Total Body Sodium”
News Physiol Sci. 2000;15:319-325.
161. **Reinhardt HW, Seeliger E, Lohmann K et al.**
“Changes of blood pressure, sodium excretion and sodium balance due to variations of the renin-angiotensin-aldosterone system”
J Auton Nerv Syst. 1996;57:184-187.
162. **Rogacz S, Hollenberg NK, Williams GH.**
“Role of angiotensin II in the hormonal, renal, and electrolyte response to sodium restriction”
Hypertension. 1987;9:289-294.
163. **Rogacz S, Williams GH, Hollenberg NK.**
“Time course of enhanced adrenal responsiveness to angiotensin on a low salt diet”
Hypertension. 1990;15:376-380.
164. **Rozansky DJ.**
“The role of aldosterone in renal sodium transport”
Semin Nephrol. 2006;26:173-181.
165. **Rush JW, Aultman CD.**
“Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity”
Appl Physiol Nutr Metab. 2008;33:162-172.
166. **Sandberg MB, Riquier AD, Pihakaski-Maunsbach K et al.**
“ANG II provokes acute trafficking of distal tubule Na⁺-Cl⁻ cotransporter to apical membrane”
Am J Physiol Renal Physiol. 2007;293:F662-F669.
167. **Sandgaard NC, Andersen JL, Bie P.**
“Hormonal regulation of renal sodium and water excretion during normotensive sodium loading in conscious dogs”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;278:R11-R18.

168. **Sandgaard NC, Andersen JL, Holstein-Rathlou NH et al.**
“Saline-induced natriuresis and renal blood flow in conscious dogs: effects of sodium infusion rate and concentration”
Acta Physiol Scand. 2005;185:237-250.
169. **Schmid C, Castrop H, Reitbauer J et al.**
“Dietary salt intake modulates angiotensin II type 1 receptor gene expression”
Hypertension. 1997;29:923-929.
170. **Schneider EG, Radke KJ, Ulderich DA et al.**
“Effect of osmolality on aldosterone secretion”
Endocrinology. 1985;116:1621-1626.
171. **Schnermann J.**
“Juxtaglomerular cell complex in the regulation of renal salt excretion”
Am J Physiol. 1998;274:R263-R279.
172. **Schricker K, Kurtz A.**
“Role of membrane-permeable ions in renin secretion by renal juxtaglomerular cells”
Am J Physiol. 1995;269:F64-F69.
173. **Seeliger E, Andersen JL, Bie P et al.**
“Elevated renal perfusion pressure does not contribute to natriuresis induced by isotonic saline infusion in freely moving dogs”
J Physiol. 2004;559:939-951.
174. **Seeliger E, Boemke W, Corea M et al.**
“Mechanisms compensating Na and water retention induced by long-term reduction of renal perfusion pressure”
Am J Physiol. 1997;273:R646-R654.
175. **Seeliger E, Ladwig M, Reinhardt HW.**
“Are large amounts of sodium stored in an osmotically inactive form during sodium retention? Balance studies in freely moving dogs”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2006;290:R1429-R1435.
176. **Seeliger E, Ladwig M, Reinhardt HW.**
“Reply to Dr. Weschler's Letter to the Editor”
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2006.
177. **Seeliger E, Lohmann K, Nafz B et al.**
“Pressure-dependent renin release: effects of sodium intake and changes of total body sodium”
Am J Physiol. 1999;277:R548-R555.
178. **Seeliger E, Safak E, Persson PB et al.**
“Contribution of pressure natriuresis to control of total body sodium: balance studies in freely moving dogs”
J Physiol. 2001;537:941-947.
179. **Seeliger E, Wronski T, Ladwig M, Rebeschke T, et al.**
“The 'body fluid pressure control system' relies on the Renin-Angiotensin-aldosterone system: balance studies in freely moving dogs”
Clin Exp Pharmacol Physiol. 2005;32:394-399.
180. **Seidelin PH, Collier JG, Struthers AD et al.**
“Angiotensin II augments sympathetically mediated arteriolar constriction in man”
Clin Sci (Lond). 1991;81:261-266.

181. **Seifert C, Oelkers W.**
“Aldosterone response to sodium deprivation and angiotensin II in patients with hypopituitarism”
Acta Endocrinol (Copenh). 1981;96:361-369.
182. **Simpson FO.**
“Sodium intake, body sodium, and sodium excretion”
Lancet. 1988;2:25-29.
183. **Simpson SA, Tait JF, Wettstein A et al.**
“Isolation from the adrenals of a new crystalline hormone with especially high effectiveness on mineral metabolism”
Experientia. 1953;9:333-335.
184. **Singer DR, Markandu ND, Morton JJ et al.**
“Angiotensin II suppression is a major factor permitting excretion of an acute sodium load in humans”
Am J Physiol. 1994;266:F89-F93.
185. **Skinner SL, McCubbin JW, Page IH.**
“renal baroreceptor control of renin secretion”
Science. 1963;141:814-816.
186. **Spat A, Hunyady L.**
“Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways”
Physiol Rev. 2004;84:489-539.
187. **Spielman WS, Davis JO.**
“The renin-angiotensin system and aldosterone secretion during sodium depletion in the rat”
Circ Res. 1974;35:615-624.
188. **Strauss MB, Lamdin E, Smith WP et al.**
“Surfeit and deficit of sodium; a kinetic concept of sodium excretion”
AMA Arch Intern Med. 1958;102:527-536.
189. **Suttner SW, Boldt J.**
“Natriuretic peptide system: physiology and clinical utility”
Curr Opin Crit Care. 2004;10:336-341.
190. **Swartz SL, Williams GH, Hollenberg NK et al.**
“Primacy of the renin-angiotensin system in mediating the aldosterone response to sodium restriction”
J Clin Endocrinol Metab. 1980;50:1071-1074.
191. **Takaya J, Matsusaka T, Katori H et al.**
“In situ demonstration of angiotensin-dependent and independent pathways for hyperaldosteronism during chronic extracellular fluid volume depletion”
Mol Endocrinol. 2001;15:2229-2235.
192. **Tarjan E, Spat A, Balla T et al.**
“Role of the renin-angiotensin system in the adaptation of aldosterone biosynthesis to sodium restriction in the rat”
Acta Endocrinol (Copenh). 1980;94:381-388.
193. **Taugner R, Buhle CP, Hackenthal E et al.**
“Morphology of the juxtaglomerular apparatus and secretory mechanisms”
Contrib Nephrol. 1984;43:76-101.

194. **Thrasher TN.**
 “Baroreceptor regulation of vasopressin and renin secretion: low-pressure versus high-pressure receptors”
Front Neuroendocrinol. 1994;15:157-196.
195. **Tigerstedt R, Bergmann PG.**
 „Niere und Kreislauf“
Skand Arch Physiol. 1898;8:223-271.
196. **Titze J, Bauer K, Schaffhuber M et al.**
 “Internal sodium balance in DOCA-salt rats: a body composition study”
Am J Physiol Renal Physiol. 2005;289:F793-F802.
197. **Titze J, Lang R, Ilies C et al.**
 “Osmotically inactive skin Na⁺ storage in rats”
Am J Physiol Renal Physiol. 2003;285:F1108-F1117.
198. **Titze J, Shakibaei M, Schaffhuber M et al.**
 “Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na⁺ storage in the skin”
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004;287:H203-H208.
199. **Vander AJ.**
 “Control of renin release”
Physiol Rev. 1967;47:359-382.
200. **Vander AJ, Miller R.**
 “control of renin secretion in the anesthetized dog”
Am J Physiol. 1964;207:537-546.
201. **Wagner C, de Wit C, Kurtz L et al.**
 “Connexin40 is essential for the pressure control of renin synthesis and secretion”
Circ Res. 2007;100:556-563.
202. **Wang W, Schneider EG.**
 “Potassium-induced aldosterone secretion involves a Cl(-)-dependent mechanism”
Am J Physiol. 1997;272:R183-R187.
203. **Willenberg HS, Schinner S, Ansurudeen I.**
 “New mechanisms to control aldosterone synthesis”
Horm Metab Res. 2008;40:435-441.
204. **Williams GH.**
 “Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action”
Heart Fail Rev. 2005;10:7-13.
205. **Williams JS, Williams GH.**
 “50th anniversary of aldosterone”
J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:2364-2372.
206. **Wolf G.**
 “The renin-angiotensin-aldosterone system -- more complex as previously thought”
Med Klin (Munich). 2005;100:471-477.
207. **Wolf G.**
 “Novel aspects of the renin-angiotensin-aldosterone-system”
Front Biosci. 2008;13:4993-5005.

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACE	Angiotensin converting enzym
ACE-I	Angiotensin converting enzym - inhibition
A-I	Angiotensin-I
A-II	Angiotensin-II
AN	Atriale Natriurese
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HF	Herzfrequenz
Hkt	Hämatokrit
KG	Körpergewicht
MABP	mean arterial blood pressure; mittlerer arterieller Blutdruck
MD	Macula densa
MW	Mittelwert
PAC	Plasma-Aldosteron-Konzentration
PD	Peritonealdialyse
P_{Na} / P_K	Plasmanatrium- bzw. Plasmakalium-Konzentration
P_{Osmo}	Plasma-Osmolarität
P_{Prot}	Plasmaprotein-Konzentration
PRA	Plasma-Renin-Aktivität
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RAS	Renin-Angiotensin-System
RPP	renal perfusion pressure; renaler Perfusionsdruck
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
TBS	total body sodium = Gesamtkörpernatriumbestand
$U_{Na}V / U_KV$	renale Natrium- bzw. Kaliumausscheidung pro Zeitintervall
UV	Urinzeitvolumen

Versuchsprotokollbezeichnungen

co	Kontrollgruppe
Intakt	medikamentös nicht beeinflusstes RAAS nach Peritonealdialyse (intaktes RAAS)
ACE-I	mit ACE-Inhibition ab dem 2. Tag nach Peritonealdialyse (teilblockiertes RAAS)
ACE-I + MR-A	mit ACE-Inhibition + Mineralocorticoidantagonismus ab dem 2. Tag nach Peritonealdialyse (vollständig blockiertes RAAS)

8. LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf
wird aus datenschutzrechtlichen Gründen
in der elektronischen Version meiner Arbeit
nicht veröffentlicht

9. PUBLIKATIONEN

- Erschienen bei "Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology"; Jan 2005
Seeliger E., Wronski T., Ladwig M., **Rebeschke T.**, Persson P., Reinhardt HW.

"The Body Fluid Pressure Control System Relies On The Renin-Angiotensin-Aldosteron-System: Balance Studies In Freely Moving Dogs"

- Erschienen bei "Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology"; Nov 2009
Seeliger E., **Lunenburg T.**, Ladwig M., Reinhardt HW.

"Role of the renin-angiotensin-aldosterone system for control of arterial blood pressure following moderate deficite in total-body sodium – balance studies in freely moving dogs"

10. ERKLÄRUNG

“Ich, Till Lunenburg geb. Rebeschke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

**„Bilanzuntersuchungen an chronisch instrumentierten Hunden
zur Rolle der Elemente des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems
für die Einstellung von Natriumbestand und arteriellem Druck
bei primär vermindertem Natriumbestand“**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe“.

Datum

Unterschrift