

## 2. Einleitung

### 2.1. Autoregulation der renalen Perfusion

Die Blutversorgung eines Organs ist charakterisiert durch die Interaktionen von Blutdruck und Blutfluss einerseits sowie den aktuellen Funktionszustand des Organs andererseits. Diese Interaktionen sind bei keinem anderen Organ so ausgeprägt und mannigfaltig wie an der Niere.

Bei den meisten Organen wird die Blutversorgung der Funktion und damit dem Stoffwechsel des Organs durch verschiedene Mechanismen nachgeführt. Während eine Änderung von Blutdruck und Blutfluss, von den Extremfällen abgesehen, die Funktion des Organs nicht primär beeinflusst, führen die Änderungen von Blutdruck sowie Blutfluss an der Niere zu dramatischen Änderungen der Funktion. Ein Anstieg des renalen Perfusionsdrucks (RPP) bewirkt bei unverändertem renalen Gefäßwiderständen (RVR) nicht nur wie an anderen Organen eine Verbesserung der Durchblutung, sondern führt auch zum Anstieg der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und damit notwendigerweise der Rückresorptionsleistung, die ihrerseits wiederum Energie benötigt. So müssen im Normalfall 99 % der filtrierte Natriummengen mit einem energieaufwendigen Verfahren rückresorbiert werden. Die Balance zwischen diesen beiden Folgen einer Änderung der Hämodynamik ist für die Funktion der Niere unabdingbar und wird im Normalfall durch verschiedene Mechanismen gesichert [94].

Die Niere besitzt die Fähigkeit der aktiven Anpassung des Gefäßwiderstandes an Änderungen des RPP zur Aufrechterhaltung des renalen Blutflusses (RBF) und der GFR. Unter Veränderungen des RPP treten nur geringfügige Veränderungen des RBF auf. Dieses Phänomen wurde auch bei in vitro untersuchten Nieren und Nierengefäßen beobachtet und wird als **Autoregulation** bezeichnet. Diese Eigenschaft ließ sich auch an Gefäßen anderer Organe, wie beispielsweise Gehirn, Herz, Skelettmuskulatur und Intestinaltrakt nachweisen [1, 32, 114, 128], ist aber an der Niere besonders ausgeprägt.

Autoregulation ist jedoch nur in einem bestimmten Perfusionsdruckbereich möglich. Ein Über- oder Unterschreiten des autoregulierten Perfusionsdruckbereiches kann zu starken Veränderungen der renalen Perfusion führen. Ist dies der Fall, folgt die Perfusion der Niere den Blutdrücken entsprechend den passiven elastischen Eigenschaften des Gefäßbaums. Dies bedeutet, dass es bei einem RPP unterhalb des autoregulierten Perfusionsdruckbereiches zu einer

geringeren Perfusion des Organs kommt, während bei anliegendem RPP oberhalb des autoregulierten Perfusionsdruckbereiches hohe Blutflüsse zu erwarten sind. Folglich muss angenommen werden, dass die Sicherung der renalen Perfusion innerhalb eines definierten Perfusionsdruckbereiches (Autoregulationsbereich) eine aktive Eigenschaft des Organs oder/und der Gefäße darstellt.

Autoregulation bedeutet jedoch nicht eine stetige „perfekte“ Konstanz des RBF, sondern kann folgendermaßen charakterisiert werden:

- 1) Bleibt unter Abnahme des RPP der RBF konstant, bedeutet dies, dass der renale Gefäßwiderstand (renal vascular resistance = RVR) abnimmt. Ist der Quotient aus Änderung des RBF und RPP gleich Null ( $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} = 0$ ) handelt es sich um perfekte Autoregulation. Führt ein Abfall des RPP zu einer Zunahme des RBF, das heißt, ist der Quotient aus Änderung des RBF und RPP kleiner als Null ( $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \leq 0$ ), ist auch hier von Autoregulation auszugehen.
- 2) Erfolgt bei abnehmenden RPP eine Abnahme des RBF und ist die relative Änderung des RBF im Verhältnis zur Änderung des RPP aber geringer ( $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \ll 1$ ), somit kleiner als Eins, weist dies auch auf Autoregulation hin.
- 3) Führt ein Reduzierung des RPP zu einer starken Abnahme des RBF ( $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \geq 1$ ), ist dies eine Indiz dafür, dass keine Autoregulation vorliegt.

Die Intensität der Anpassung der renalen Gefäße auf Änderungen des RPP, um den RBF näherungsweise konstant zu halten, kann als Effizienz der Autoregulation des renalen Gefäßsystems bezeichnet werden [38, 74, 139].

Neben der Autoregulation der Nierenperfusion ist die Aufrechterhaltung und Regulierung der GFR funktionell von entscheidender Bedeutung. Die Autoregulation der GFR erfolgt durch Anpassung des prä- und postglomerulären Gefäßwiderstandes und ist eng mit der Autoregulation der renalen Perfusion verknüpft.

Die Autoregulation der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) und die Autoregulation des renalen Blutflusses (RBF) haben zum Teil eine gemeinsame „Endstrecke“ in den prä- und postglomerulären Arteriolen. So hat eine Änderung der renalen Durchblutung und damit Änderung der GFR Auswirkungen auf die tubulären Rückresorptionsprozesse, die wiederum auf die renale Durchblutung Einfluss nehmen. Dieses Charakteristikum der Autoregulation der

renalen Perfusion stellt eine Besonderheit dar, die zusätzlich neben der auch in anderen Organen beobachteten Anpassung an Änderungen des Blutdruckes durch einen myogenen Mechanismus vorhanden ist und als Tubuloglomerulärer Feedback Mechanismus (TGF) bezeichnet wird.

Bei dem myogenen Mechanismus handelt es sich um eine unmittelbare, nicht rückgekoppelte Anpassung des Gefäßwiderstandes der glatten Gefäßmuskelzellen der Arterien bis hin zu den Arteriolen an Änderungen des arteriellen Blutdrucks in einem bestimmten Blutdruckbereich. So führt eine rasche Zunahme des arteriellen Blutdrucks im Bereich der Arterien und Arteriolen zu einer Erhöhung des transmuralen Drucks der Gefäßwände und damit zum Anstieg der Wandspannung. Hieraus resultiert eine Erhöhung der myoplasmatischen Calciumkonzentration mit anschließender Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzellen (Vasokonstriktion) [20]. Dieses Phänomen wird als Bayliss-Effekt (1902) bezeichnet und ist Grundmechanismus der Autoregulation der Durchblutung in vielen Organen.

Der nur in der Niere vorhandene zweite Mechanismus (TGF) ist hingegen ein rückgekoppelter Mechanismus. Er benötigt mehr Zeit zur Regulation als der myogene Mechanismus und erhöht die Effizienz der RBF-Autoregulation [94]. Dies sei exemplarisch dargestellt. Bei einer Erhöhung des RPP kommt es zu einer Zunahme der GFR und dies führt wiederum zu einer erhöhten tubulären Flussrate mit Steigerung der an der Macula Densa vorbeifliessenden Solute im dicken aufsteigenden Schenkel der Henle-Schleife, vor allem von Natriumchlorid (NaCl). Hier fungieren die Macula Densa Zellen als „Sensor“. Bei einer Erhöhung der vorbeifliessenden Solute kommt es zu einer vermehrten Aufnahme von Natrium- und Chloridionen über den  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  Kotransporter aus dem Tubuluslumen in die Zellen [118]. Dies führt zum Anstoß einer Signalkaskade, die in der Endstrecke zu einer Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzellen der afferenten Arteriole führt. Es kommt zu einer Abnahme der GFR. Die Aufklärung der Signalkaskade ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und bisher nicht eindeutig geklärt. Nach heutigen Erkenntnissen könnte Adenosin eine Hauptrolle in diesem Vermittlungsprozess spielen [16, 103, 108] neben Angiotensin II [27, 94, 97, 109, 130], Adenosintriphosphat (ATP) [94, 97, 99, 100], Stickstoffmonoxid (NO) [12, 70, 75, 76, 134], Arachnoidonsäuremetaboliten [59, 80, 82, 94, 104, 105, 130] und Endothelin-1 [149]. Es ist gut bekannt, dass die Freisetzung von Renin aus den Zellen des juxtaglomerulären Apparates ebenfalls von Änderungen des RPP und von Signalen der Macula Densa gesteuert wird. Jedoch ist dies deutlich von der RBF- und GFR-Autoregulation abzugrenzen. Das Renin-Angiotensin-System ist nicht Mediator des TGF [16].

Die Kenntnis der renalen, regulativen Mechanismen der Durchblutungsregulation und ihrer Charakteristika sind für die Therapie sowohl akuter als auch chronischer Nierenerkrankungen in der medizinischen Klinik von Bedeutung. Dies soll kurz am Beispiel des Schockgeschehens bei der Sepsis mit akuter Niereninsuffizienz verdeutlicht werden. Hier führt die Freisetzung von Erregertoxinen zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität im gesamten Gefäßsystem. Es kommt zu einer Verlagerung von Blut- und Blutbestandteilen in extravasale Kompartimente mit resultierender intravasaler Hypovolämie. Auf die Hämodynamik und Funktion der Niere bezogen heißt dies, dass es zu einer Abnahme des renalen Perfusionsdrucks (RPP) kommt. Dies wiederum führt zu einer Adaption der GFR sowie des RBF durch die oben beschriebenen Mechanismen über einen weiten RPP Bereich. Es resultiert bei Änderung des RPP eine Anpassung des glomerulären Filtrationsdrucks und des RBF. Ab einem bestimmten RPP, außerhalb des autoregulierten Perfusionsbereiches, kann eine weitere Abnahme des RPP durch die benannten Mechanismen der Autoregulation nicht mehr kompensiert werden. Der RBF kann nicht mehr aufrecht erhalten werden, die renale Gefäßautoregulation ist erschöpft und der RBF fällt mit sinkendem RPP. Die GFR fällt ebenfalls über einen weiten Bereich des RPP ab, bis der zur Funktionalität des Glomerulums notwendige effektive Filtrationsdruck unterschritten wird und keine Filtration mehr möglich ist. Es resultiert eine Anurie, ein akutes Nierenversagen. Mit weiterer Abnahme des RPP als Folge des fortschreitenden Kreislaufversagens resultiert eine weitere Minderversorgung des Nierenparenchyms mit Nährstoffen und Sauerstoff, die Grundvoraussetzung für Funktionsfähigkeit und Transportprozesse an der Niere sind. Bei prolongiertem Bestehen dieses hämodynamischen Zustandes tritt eine zusätzlich hypoxiebedingte Nierenschädigung auf, die bis zur dauerhaften Einstellung der renalen Funktion führen kann (terminale Niereninsuffizienz).

Dies verdeutlicht einerseits, wie eng die RBF- und GFR-Regulation miteinander verknüpft sind. Auch zeigt das Beispiel, wie hämodynamische Änderungen der renalen Perfusion zu Veränderungen der physiologischen Funktion des Organs und diese zu pathophysiologischen Reaktionen als Folge führen. Dabei können die hämodynamischen Veränderungen sowohl Ursache als auch Folge von renalen Schäden sein.

Um Aufschluss über den Einfluss als auch die Wirkung der an der RBF-Autoregulation beteiligten Stoffe sowie Mediatoren auf den myogenen Mechanismus und den TGF zu erhalten, wurden verschiedene Versuchsmodelle entwickelt.

## 2.2. Modelle zur Untersuchung der Mechanismen der renalen Autoregulation

Eine Möglichkeit besteht in der Veränderung der hämodynamischen Voraussetzungen und Bestimmung des interessierenden Stoffes im Plasma oder Nierengewebe. Nishiyama et al. [100] bestimmten beispielsweise die renale, interstitielle ATP Konzentration nach stufenweiser Erniedrigung des RPP bei Hunden mittels in die Niere eingebrachter Mikrodialysesonden. Es konnte gezeigt werden, dass eine enge Beziehung zwischen Aktivitätszustand des TGF und extrazellulärer ATP Konzentration existiert. Die quantitative Bestimmung von Stoffen unter differenten hämodynamischen Bedingungen ist durch verschiedene Verfahren auch für Stoffe wie beispielsweise Endothelin-1, Angiotensin II oder NO u.v.m. möglich.

Eine weitere Option stellt die Blockade von Schlüsselenzymen in Stoffwechselwegen dar, die zur Synthese des interessierenden Stoffes/Mediators benötigt werden, wie beispielsweise durch die Applikation von ACE-Hemmern, NO-Synthetasehemmern etc. Auch die Blockade/Stimulation von Rezeptoren, wie beispielsweise der Angiotensin Typ I-Rezeptoren ( $AT_1$ ), Endothelin-Rezeptoren ETA und ETB, Adenosin Typ I und II-Rezeptoren ( $A_1AR$ -,  $A_2AR$ -), sowie purinerge- $P2X_1$ -,  $P2X_2$ -,  $P2Y_1$ - oder  $P2Y_2$ -Rezeptoren die in der Kaskade der RBF-Autoregulation eine Rolle zu spielen scheinen und in vielen Versuchsreihen in der Literatur zu finden sind, ermöglicht weitere Einblicke in die Mechanismen der Autoregulation. Unter den bisher genannten Möglichkeiten können somit einzelne Stoffe/Mediatoren und deren Einfluss auf die RBF-Autoregulation untersucht werden. Die Applikation der Stoffe kann lange vor (chronische Versuchsreihe) oder während des Versuches (akute Versuchsreihe) erfolgen. Beide Formen, besonders die chronischen Versuchsreihen, sind in der Vorbereitung und Durchführung sehr kosten- und zeitintensiv.

Einen weiteren Ansatz zur Untersuchung eines spezifischen Stoffes bietet hier die Gentechnologie durch die Möglichkeit der Ausbildung spezifischer Merkmale in vivo bereits auf Stammzellebene. Spezifische Merkmalsausprägungen, wie beispielsweise die Überexpression von ET-1 oder die Unfähigkeit der NO Bildung durch die Gen-Knock-Out Technologie, ermöglichen die Untersuchung eines spezifischen Merkmals/Stoffes. Dieses Merkmal ist von der Geburt an vorhanden und verknüpft mit chronischem Einfluss auf die RBF-Autoregulation. Lange Applikationsphasen von Stoffen entfallen somit. Änderungen des renalen Autoregulationsverhaltens sind somit auch keine Akuteffekte, wie beispielsweise bei der akuten Gabe von Stoffen. Nachteilig ist jedoch, dass bei Verwendung eines solchen Modells durch die

genetisch bedingte Überexpression oder Blockade der Bildung von Stoffen andere Stoffwechselwege und Regulationsmechanismen ab der Geburt aktiviert werden, die wiederum zusätzlich das Autoregulationsverhalten der Niere beeinflussen können.

Während eine genetische Überexpression von Stoffen sowohl bei der Spezies Maus und Ratte möglich ist, sind Untersuchungen im Knock-Out Tiermodell auf die Spezies Maus beschränkt. Grund hierfür ist die Komplexität des genetischen Codes höher entwickelter Säugetiere.

Untersuchungen zur RBF-Autoregulation an der Maus sind in der Literatur vereinzelt zu finden. Jedoch fehlen bislang Untersuchungen der Charakteristika der beteiligter Mechanismen der RBF-Autoregulation im Mausmodell.

## **2.3. Erkenntnisstand der renalen Autoregulation**

### **2.3.1. Statische Untersuchungen**

Zur Untersuchung der Autoregulation der renalen Perfusion, der daran beteiligten Mechanismen und zur Charakterisierung ihrer Effizienz sind in der Literatur verschiedene Verfahrensweisen beschrieben. Hierbei wird bei der Untersuchung der Blutdruck-Blutfluss-Beziehungen zwischen so genannten „statischen“ und „dynamischen“ Untersuchungen unterschieden.

Bei den in der Literatur beschriebenen statischen Untersuchungen handelt es sich überwiegend um experimentelle, abrupte, stufenförmige (ein- oder mehrstufige) Änderungen des renalen Perfusionsdrucks (RPP) als Eingangssignal unter nachfolgender Messung des RBF als Ausgangssignal oder videomikroskopischer Beobachtung des prä- als auch postglomerulären Widerstandes in vivo [148]. In den meisten experimentellen Untersuchungen wurde eine Erniedrigung des RPP durchgeführt, während eine Erhöhung nur selten erfolgte [2, 6, 8, 18, 27, 36, 48, 62, 64, 70, 88, 95, 96, 102, 106, 112, 139, 150].

Vor Beginn der Änderung des RPP führten alle Untersucher bei ihren Versuchsreihen die Registrierung des RPP und RBF Ausgangswertes als erstes Wertepaar durch. Nach Durchführung einer abrupten, stufenförmigen Änderung des RPP als Störsignal auf das zu untersuchende renale System und Einstellung eines neuen konstanten renalen Perfusionsdrucks (RPP), erfolgte nach Einstellung eines steady states eine Registrierung des RBF. Über einen

definierten Druckbereich und Zeitintervall fand somit die Aufzeichnung der RPP-RBF Wertepaare bis zur gegebenenfalls erneuten Durchführung einer RPP Änderung statt.

Bereits hier zeigten sich in der Durchführung der Versuchsreihen in Abhängigkeit der Arbeitsgruppe große Variabilitäten in der Änderung des RPP (ein- oder mehrstufig) von 5 mmHg bis 60 mmHg sowie Beobachtungsintervalle des RBF zwischen 90 s bis 135 min nach Durchführung einer RPP Änderung. Bei Durchführung mehrerer, stufenförmiger Änderungen des renalen Perfusionsdrucks (RPP) unter Registrierung distinkter RPP-RBF Wertepaare ergab sich somit ein diskontinuierlicher Blutdruck-Blutfluss Verlauf. Unter Verwendung dieser gemessenen distinkten Wertepaare erfolgte die Rekonstruktion einer kontinuierlichen Blutdruck-Blutfluss-Kennlinie. Aus dieser lies sich ableiten, dass der renale Blutfluss (RBF) bei stufenförmiger Erniedrigung des RPP über einen Bereich des renalen Perfusionsdrucks (RPP) näherungsweise konstant blieb. Dies wurde als Autoregulationsbereich des RBF bezeichnet ( $\Delta RBF/\Delta RPP \sim 0$ ). Der Bereich des RPP, ab dem eine experimentelle Erniedrigung des RPP zu einer parallelen Erniedrigung des RBF führte ( $\Delta RBF/\Delta RPP \geq 1$ ), wurde als subautoregulatorischer Bereich definiert [36]. Der Übergangspunkt des autoregulatorischen in den subautoregulatorischen Bereich wurde als untere Grenze der Autoregulation der renalen Perfusion definiert ( $P_{LL} = P_{\text{lower limit}}$ ). Um diesen RPP-Übergangspunkt zu quantifizieren, zeichneten die Untersucher wie beispielsweise Finke et al. [36] je eine Ausgleichsgerade in die Kennlinie des subautoregulierten und autoregulierten Bereichs visuell ein und bestimmten den RPP des Schnittpunktes beider Geraden. Sie fanden eine  $P_{LL}$  bei Hunden bei 63,9 mmHg [36] und Sorensen et al. [124] bei Ratten bei 85 mmHg. Eine Weiterentwicklung des Modells stellte die mathematische Schnittpunktermittlung der  $P_{LL}$  unter Verwendung der linearen Regressionsanalyse durch Bildung der Summe der kleinsten Abweichungsquadrate nach Gauss dar. Persson et. al [106] bestimmten auf diese Weise die untere Autoregulationsgrenze ( $P_{LL}$ ) bei Hunden, die bei  $65,0 \pm 1,4$  mmHg lag bei einem auf das Nierengewicht bezogenen Flussniveau von  $3,81 \pm 0,18$  ml/min\*g<sup>-1</sup>.

Es war jedoch aus dem Verhalten der abgeleiteten Blutdruck-Blutfluss-Kennlinie ersichtlich, dass es keinen scharfen punktuellen Übergang vom subautoregulatorischen in den autoregulierten Bereich des RBF gab, sondern dieser fließend erfolgt. Um diesen Übergangsbereich der renalen Perfusionsautoregulation besser zu charakterisieren, wurde das Modell durch Kramp et al. [72] weiterentwickelt. Kramp et al. [72] erweiterten hierzu das oben beschriebene Modell von Finke et al. [36] auf zwei mathematisch ermittelte Schnittpunkte, die

durch drei lineare Regressionsgeraden gebildet wurden. Dabei entsprach unter stufenförmiger, abrupter Erniedrigung des RPP die erste Regressionsgerade dem eigentlichen Autoregulationsbereich des RBF (RBF Variation < 3%), das heißt  $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \leq 0$ . Die zweite Regressionsgerade charakterisierte den Übergang einer aktiven in eine passive Regulation des RBF (subautoregulatorischer Bereich), das heißt, den Bereich, in dem  $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \geq 0$  bis  $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \leq 1$  ist. Die dritte Regressionsgerade reflektierte den passiven Blutdruck-Blutfluss-Verlauf, in dem kein autoregulatorisches Verhalten der Regulation des renalen Blutflusses mehr zu erkennen war, das heißt  $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \geq 1$  ist. Der Schnittpunkt der ersten und zweiten Regressionsgerade repräsentierte hier die untere Grenze der effektiven Autoregulation ( $P_{LL}$ ). Der Schnittpunkt der zweiten und dritten Regressionsgerade definierte die Grenze, ab der bei weiterer Reduktion des RPP die relative Änderung  $\Delta\text{RBF}/\Delta\text{RPP} \geq 1$  ist und somit keine Autoregulation der renalen Perfusion mehr vorlag. Bei den untersuchten Wistar-Ratten errechnete sich auf diese Weise eine effektive untere Autoregulationsgrenze ( $P_{LL}$ ) von  $99 \pm 2$  mmHg bei einem auf das Nierengewicht bezogenen Flussniveau von  $0,991 \pm 0,004$  ml/min\*g<sup>-1</sup> und eine konstatierbare Abwesenheit renaler Autoregulation des RBF unterhalb von  $81 \pm 3$  mmHg bei einem auf das Nierengewicht bezogenen Flussniveau von  $0,8471 \pm 0,061$  ml/min\*g<sup>-1</sup>.

Turkstra et al. [132] führten Versuchsreihen an Ratten zur Bestimmung der  $P_{LL}$  mit unterschiedlichen Methoden durch. Einerseits erfolgte die Bestimmung der  $P_{LL}$  visuell, wie bereits oben beschrieben, durch Anlage von zwei Ausgleichsgeraden in die gemessene Blutdruck-Blutfluss Kennlinie und andererseits durch mathematische nicht-lineare Regressionsanalyse über die Auswertung der Blutdruck-Blutfluss Kurve nach abrupter, stufenförmiger Änderung des RPP. Im Gegensatz zu den bisherigen linearen Verfahren, wählten Turkstra et al. [132] ein mathematisches nicht-lineares Modell zur Bestimmung der  $P_{LL}$ . Hier wurden die gemessenen distinkten Wertepaare von Blutdruck und Blutfluss zuerst mit einer Polynomfunktion gefittet, die einen sigmoidalen Kurvenverlauf ergab. Im Anschluss daran erfolgte die Berechnung des Nulldurchgangs der 3. Ableitung der Polynomfunktion, der der  $P_{LL}$  des RBF entsprach. Die visuell geschätzte  $P_{LL}$  wies in Abhängigkeit vom Untersucher (n=6) eine hohe Variabilität auf und lag bei  $95 \pm 3$  mmHg (Variabilität im Mittel  $10 \pm 2$  mmHg). Die mit der Polynomfunktion ermittelte  $P_{LL}$  lag bei  $78 \pm 3$  mmHg. Diese war somit 17 mmHg niedriger als die visuell geschätzte  $P_{LL}$  und 21 mmHg niedriger als die von Kramp et al. [72] ermittelte  $P_{LL}$ .



Turkstra et al. [132] konnten mit diesem Vergleich der Verfahrensweisen zur Ermittlung der unteren Grenze der Autoregulation ( $P_{LL}$ ) nachweisen, dass deutliche Variabilitäten auftreten bei visueller Schätzung der  $P_{LL}$  und Berechnung der  $P_{LL}$  mit einem mathematischen nicht-linearen Modell. Ursache hierfür ist beispielsweise ein erheblich subjektiver Faktor bei visueller Schätzung der  $P_{LL}$  in Abhängigkeit vom Untersucher und gewählter Methodik. Es lassen sich somit nur sehr ungenaue Aussagen über die untere Grenze der RBF-Autoregulation ableiten. Des Weiteren gingen Turkstra et al. [132] nicht von einem punktuellen Übergang der „passiven“ in „aktive“ Regulation des RBF auf Änderungen des RPP aus, der mit den oben erwähnten Modellen versucht wurde zu erfassen und zu charakterisieren, sondern nahmen einen Druckbereich an, in dem überlappend diese Zustände wechseln.

Neben der Bestimmung der  $P_{LL}$  unter stufenweiser, abrupter Senkung des RPP durch die beschriebenen Verfahrensweisen wurde versucht, eine Möglichkeit der Quantifizierung der Effektivität der renalen Autoregulation des RBF zu finden. Dies wurde angestrebt, um eine Vergleichbarkeit der gewonnenen Ergebnisse zwischen den verschiedenen Versuchsbedingungen, Spezies und Untersuchungen unter pathophysiologisch erzeugten Bedingungen zu erzielen.

Van Dokkum et al. [135] errechneten zur Charakterisierung der Effizienz der renalen RBF-Autoregulation bei Messungen an wachen Ratten einen Autoregulationsindex (AI) nach der Formel  $AI = RBF_{\text{autoregulatory index}} = [(RBF_2 - RBF_1) / RBF_1] / [(RPP_2 - RPP_1) / RPP_1]$ , basierend auf dem Modell von Semple et al. [121]. Hierbei entsprach  $RPP_1$  dem Ausgangsperfusiondruck und  $RPP_2$  dem erniedrigten Perfusiondruck nach Durchführung einer Änderung des RPP. Ein  $AI = 0$  weist hierbei auf perfekte Autoregulation des RBF hin. Bei einem Autoregulationsindex = 1 ist der renale Gefäßwiderstand (RVR) bei abnehmendem RPP unverändert, dies bedeutet aber bei elastischen Gefäßen, dass eine imperfekte Autoregulation zu verzeichnen ist. Ein Autoregulationsindex  $> 1$  weist hingegen auf ein Gefäßsystem hin, bei dem der RVR in dem Maße fällt, wie sich der RPP ändert. Das heißt, es liegt ein druckpassives Verhalten und somit keine RBF-Autoregulation vor. Unter diesen Annahmen zeigte sich bei Ratten eine effektive Autoregulation des RBF in einem Perfusiondruckbereich von 100 mmHg bis 150 mmHg. In Anlehnung an dieses Modell fanden Rahgozar et al. [150] bei der Untersuchung isolierter Mausnieren ein Autoregulationsbereich zwischen 65 mmHg bis 85 mmHg.

Strick et al. [127] errechneten zur Beurteilung der Effektivität der RBF-Autoregulation einen Autoregulationsindex nach der Formel  $AI = \Delta RBF/\Delta RPP$ . Die Deutung des Autoregulationsindex erfolgte nach den oben erläuterten Annahmen von Van Dokkum et al. [135]. Bei der Untersuchung anästhesierter Hunde unter stufenförmiger, abrupter Änderung des RPP und Beobachtung des RBF, zeigte sich ein effektiver Autoregulationsbereich des RBF von 80 mmHg bis 120 mmHg bei einem auf das Nierengewicht bezogenen Flussniveau bis  $89 \pm 4\%$  vom Ausgangswert ( $2.58 \pm 0.33 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

Um die Effizienz der renalen Perfusionsautoregulation zu charakterisieren, wählten Turkstra et al. [132] einen differenten Ansatz zu den bisher bekannten und erläuterten Modellen. Wie bereits oben dargestellt, erfolgte die Approximation der distinkten Wertepaare von RPP und RBF durch eine Polynomfunktion. Dies ergab einen sigmoidalen RPP-RBF Kurvenverlauf. Zusätzlich wurde von der sigmoidalen Kurve die Anstiegssteilheit der 1. Ableitung durch die Funktion  $k'(x)$  an distinkten Druckwerten (60 mmHg bis 100 mmHg in 10 mmHg Schritten) bestimmt. Die Interpretation des errechneten Anstiegs erfolgte dann analog den Autoregulationsindizes. Dies bedeutet, ist der Quotient aus  $k'(x)/(RBF(x)/RPP(x)) = 1$  ist keine Autoregulation vorhanden. Ist dieser Quotient  $k'(x)/(RBF(x)/RPP(x)) = 0$  ist von einer perfekten Autoregulation auszugehen. Turkstra et al. [132] verwendeten diesen Quotienten als „Index“ zur Quantifizierung des Einflusses von NO-Synthaseintensität bei der Untersuchung 2K1C (2 kidney 1 clip) hypertensiver Ratten auf die renale Perfusionsautoregulation des RBF.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die statischen Untersuchungen zur Quantifizierung der Grenzen und der Effizienz der RBF-Autoregulation durch lineare als auch nicht-lineare Verfahrensweisen zwischen den Arbeitsgruppen stark variieren [132]. In der Literatur sind unter stufenweiser, abrupter Änderung des RPP RBF-Autoregulationsgrenzen bei Hunden in einem RPP Bereich zwischen 55 mmHg bis 160 mmHg [18, 79, 83, 106, 112], bei Ratten zwischen 70 mmHg bis 145 mmHg [8, 27, 139] und bei Mäusen zwischen 65 mmHg bis 85 mmHg [150] bestimmt worden. Dies deutet auf Variabilitäten der Spezies untereinander hin. Weiterhin ist aufgrund der Vielfalt der verwendeten Verfahrensweisen zur Ermittlung der Kennwerte der RBF-Autoregulation eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse schwierig. Dies wird noch deutlicher bei Betrachtung der unterschiedlichen Untersuchungsabläufe der Arbeitsgruppen vor allem a) der starken Variabilität in Höhe als auch Länge der stufenförmigen Änderung des RPP, b) Dauer der Phase des konstanten Perfusionsdrucks nach Änderung des RPP, c) des verwendeten Tiermodells sowie d) der vorliegenden Untersuchungsvoraussetzungen (Messung anästhesierter

versus wacher Tiere, akute versus langzeit-untersuchte Tiere). Wie noch ausführlich besprochen wird, führt diese uneinheitliche Änderung des RPP in Stufenhöhe und -länge als Eingangssignal wegen der unterschiedlichen Frequenzinhalte zu einem differenten RBF Ausgangssignal und damit zu Differenzen der abgeleiteten Kennwerte, wie vorhergehende Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe gezeigt haben [38].

Des Weiteren sind mit den vorgestellten Modellen keine Aussagen über Anteile und Frequenzinhalte des myogen Mechanismus und TGF sowie eventuell weiterer beteiligter Mechanismen ableitbar. Auch ist eine Bestimmung des Perfusionsdruckbereiches in dem der Übergang „passiver“ in „aktive“ Anteile der RBF-Autoregulation erfolgt mit den hier vorgestellten Modellen nicht ableitbar. Die vorgestellten Modelle erlauben die Beurteilung der RBF-Autoregulation als komplexes System ohne jedoch auf die beteiligten Mechanismen schließen zu können. Es kann mit diesen Methoden nur das Vorliegen von RBF-Autoregulation als solche beschrieben werden.

Für die Spezies Maus gab es zum Zeitpunkt der Durchführung der vorliegenden Experimente nur wenige Angaben über die Lage und Effizienz der Autoregulation. Kenntnisse darüber sind diese jedoch für eine Vergleichbarkeit und Komplettierung der bisherigen veröffentlichten Ergebnisse wichtig, da die Spezies Maus in vielen experimentellen Ansätzen als Tiermodell dient. Diesem Punkt soll in dieser Arbeit nachgegangen werden.

### **2.3.2. Dynamische Untersuchungen**

Dynamische Untersuchungen der RBF-Autoregulation haben erst in jüngerer Zeit an Bedeutung gewonnen. Aus früheren, tierexperimentell gewonnenen Untersuchungsergebnissen zur RBF-Regulation in vivo sowie in vitro war bekannt, dass die an der RBF-Autoregulation beteiligten Mechanismen (myogen, TGF) einen unterschiedlichen Zeitbedarf im Ansprechverhalten und Anregungsfrequenzen besitzen [86].

Bisherige dynamische Untersuchungen zur RBF-Autoregulation umfassen die Beobachtung spontaner Fluktuationen von RPP und RBF, sowie die Applikation standardisierter Eingangsreize auf den RPP und Erfassung der dynamischen Antwort des renalen Blutflusses (RBF) [1, 7, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 37, 39, 54, 55, 56, 57, 61, 64, 67, 137]. Des Weiteren wurde versucht, ausgehend von experimentell gewonnenen Daten, das Autoregulationsverhalten des

RBF mathematisch zu modulieren, um das Verhalten des RBF auf Änderungen des Perfusionsdrucks vorhersehbar zu machen [54, 55, 56]. Bei beiden Ansätzen wurde die RBF-Autoregulation als kybernetisches System betrachtet. Um Aufschluss über dieses System und den unterschiedlichen Zeitbedarf, Anregungsfrequenz und regulatorische Effizienz der an der RBF-Autoregulation beteiligten Mechanismen zu erhalten, ist ein standardisiertes Eingangssignal (RPP) sowie die gleichzeitige Betrachtung des Ausgangssignals (RBF) Voraussetzung. Ein- und Ausgangssignal besitzen charakteristische Amplituden- und Frequenzspektren sowie Phasenlagen zueinander.

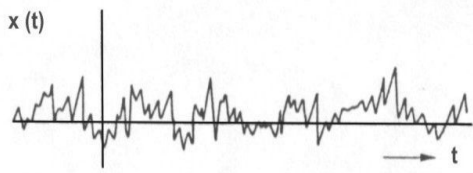
Durch Applikation standardisierter Eingangsreize auf den RPP mit bestimmten Frequenzcharakteristika ist es möglich, den myogenen Mechanismus und den TGF differenziert anzuregen. Aufgrund der Unterschiede hinsichtlich des Zeitbedarfs, Anregungsfrequenz, Amplitude und Phasenlage können diese im Ausgangssignal identifiziert werden. Auf diese Weise lassen sich Aussagen über die regulatorische Effizienz der einzelnen renalen Mechanismen ableiten. Standardisierte Testreize, die als Eingangssignal verwendet werden können, um Aufschluss über die RBF-Autoregulation zu erhalten, sind a) Rauschsignal, b) Sinusschwingungen, c) Anstiegsfunktion d) Kombinationen von Anstiegsfunktion und Sinusschwingung, e) Stossfunktion und f) Sprungfunktion [101]. Diese sollen im einzelnen näher erörtert werden.

Im Gegensatz zu den statischen Untersuchungen, bei denen der RBF erst nach einer Änderung des RPP sowie Einstellung eines neuen steady states gemessen wurde, erfolgt bei den dynamischen Untersuchungen die Messung des RBF über ein Zeitintervall während und/oder unmittelbar nach Änderung des RPP.

Im Folgenden sollen besonders die Frequenzcharakteristika der oben genannten standardisierten Eingangssignale zur Untersuchung der RBF-Autoregulation, nebst durchgeführten experimentellen Versuchreihen und technische Anwendbarkeit dargestellt werden. Zudem werden die Grenzen der Durchführbarkeit sowie der Aussagekraft erörtert.

#### **a) Rauschsignal**

Ein Rauschsignal stellt regellose Schwankungen einer Größe  $x$  über die Zeit  $t$  dar, beispielsweise des Blutdruckes oder Blutflusses, in dem Teilschwingungen verschiedener Frequenzen enthalten sind (Abbildung 1).



**Abbildung 1**

Dargestellt ist ein zeitlicher Verlauf eines regellosen Signals  $x$  über die Zeit  $t$ , ein Rauschsignal  $x(t)$  aus [101]

Ein Charakteristikum des Rauschens ist die regellose Verteilung der Amplituden- und Phasenlagen der Teilschwingungen. Trotzdem können bestimmte Aussagen über die Verteilung der Teilschwingungen gemacht werden, die sich jedoch nicht auf den Verlauf  $x(t)$  selbst beziehen, sondern Mittelwerte der Teilschwingungen betreffen, wie N. Wiener und A.N. Kolmogorow [140,71] gezeigt haben.

Zur Analyse wird ein definierter, endlicher Zeitabschnitt der Länge  $T$  des Verlaufes  $x(t)$  des Rauschsignals betrachtet und dieser durch Fourier-Analyse in einzelne Teilschwingungen verschiedener Frequenzen aufgetrennt. Im Anschluss können beispielsweise die Amplituden dieser Teilschwingungen bei der dazugehörigen Frequenz ermittelt und aufgetragen werden (Amplitudenspektrum). Durch Quadrierung der Mittelwerte der Amplituden der Teilschwingungen kann über die Verteilung der Amplitudenquadrate für die Frequenz ein Leistungsdichtespektrum angegeben werden. Dies ist möglich, da die Leistung dem Amplitudenquadrat direkt proportional ist. Beim Rauschsignal bleibt das Leistungsdichtespektrum mit zunehmender Kreisfrequenz über einen großen Frequenzbereich konstant, bevor es bei weiterer Zunahme des Kreisfrequenzbereiches abfällt.

Bei der Verwendung eines solchen Eingangsreizes (RPP) ist es nicht möglich zu gewährleisten, dass schnelle sowie langsame Komponenten der RBF-Autoregulation (myogen, TGF), aufgrund des unterschiedlichen Zeitbedarfs im Ansprechverhalten und unterschiedlicher Anregungsfrequenz, parallel einheitlich gleich stark angeregt bzw. ausgelenkt werden. Auch werden nur einzelne zeitliche Teilabschnitte der Länge  $T$  und nicht der zeitliche gesamte Verlauf betrachtet. Besonders nachteilig ist die Untersuchung langsam arbeitender Mechanismen der RBF-Autoregulation mit großem Zeitbedarf, wie der TGF, mit einer Anregungsfrequenz zwischen 0,03 Hz bis 0,05 Hz und somit wesentlich längerem Zeitbedarf als der myogene Mechanismus (0,1 Hz - 0,2 Hz). Aufgrund seines Leistungsdichtespektrums eignet sich das Rauschsignal somit nur begrenzt zur Untersuchung der RBF-Autoregulation.

Eine Sonderstellung unter den Rauschsignalen stellt das „weiße Rauschen“ dar. Sein Leistungsdichtespektrum ist über den gesamten Frequenzbereich konstant. Um dieses zu erzeugen, muss eine unendlich hohe Leistung aufgebracht werden. Dies ist technisch nicht durchführbar. In der Literatur wird deshalb für dynamische Untersuchungen auf die Erzeugung von Breitbandfluktuationen auf ein Eingangssignal, beispielsweise den arteriellen Blutdruck, zurückgegriffen und das Antwortverhalten des RBF untersucht [67, 85,145]. Zu beachten ist jedoch bei Verwendung von Breitbandfluktuationen als Eingangsfunktion, dass auch hier im Vergleich zum „weißen Rauschen“ das Leistungsdichtespektrum nicht konstant ist.

Beispielsweise führten Daniels et al. [31] dynamische Untersuchungen der RBF-Autoregulation unter Applikation von Breitbandfluktuationen an spontan, hypertensiven Ratten (SHR) durch. Die Breitbandfluktuationen des RPP wurden in diesen Versuchsreihen durch einen linksatrial platzierten Katheter, der Vorhofflimmern induzierte, erzeugt. Nach Fourier-Analyse der kontinuierlich aufgezeichneten RPP und RBF Signale wurde zur Beschreibung der Autoregulation die Übertragungsfunktion („transfer function“) berechnet. Anschließend wurde die errechnete Verstärkung („admittance gain“) der Transferfunktion sowie der Phasenwinkel („admittance phase“) über einen großen Frequenzbereich aufgetragen.

In der dynamischen Frequenzdomänenanalyse entspricht die vaskuläre Admittanz (vascular admittance = vaskulärer Leitwert) dem Kehrwert des renalen Widerstandes, dem vaskulären Leitwert (Leitwert = mittlerer Blutfluss/mittleren Blutdruck). Der Phasenwinkel (admittance phase = Phase des Leitwertes) beschreibt die Differenz der Phase zwischen Druck- und Flussszillation. Das „admittance gain“ (Verstärkung des Leitwertes) entspricht hier dem oben bereits bei den statischen Untersuchungen beschriebenen Autoregulationsindex, einem Index zur Beurteilung der Effizienz der RBF-Autoregulation. Ist das Gain = 0 liegt perfekte dynamische Autoregulation vor. Dies bedeutet, dass Fluktuationen des RPP nicht in Fluktuationen des RBF übertragen werden. Hingegen weist ein Gain > 1 auf keine Autoregulation hin. Dies bedeutet, dass Fluktuationen des RPP direkt auf Fluktuationen des RBF übertragen werden. Ist das Gain hingegen zwischen 0 und 1 bedeutet dies, dass eine teilweise Übertragung der Fluktuationen des Blutdruckes auf den Blutflusses erfolgt und somit Autoregulation vorliegt [31, 67].

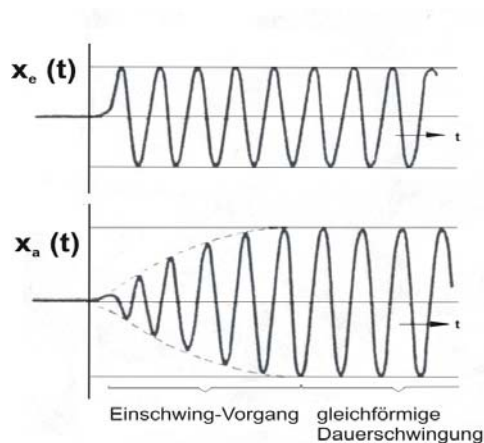
Zusammenfassend konnten Daniels et al. [31] zeigen, dass unter Ausgangsbedingungen eine RBF-Autoregulation in einem Frequenzbereich unterhalb von 0,2 Hz (Gain <1) vorhanden ist. In Frequenzbereichen > 0,2 Hz (Gain > 1) zeigte sich kein autoregulatives Verhalten des RBF. Das

Verhalten des Gain war gekennzeichnet durch 2 distinkte Schultern und die ermittelte Phase der Admittanz durch 2 Maxima im Frequenzbereich zwischen 0,01 Hz und 0,2 Hz. Daniels et al. [31] schlossen hier auf 2 aktive autoregulative Mechanismen des RBF, einem schnellen Antwortsystem in einem Frequenzbereich von 0,1 Hz bis 0,2 Hz (myogene Antwort) mit einer Antworthalbwertszeit von 1 s sowie einem langsamer arbeitenden System in einem Frequenzbereich zwischen 0,01 Hz und 0,04 Hz (TGF) mit einer Antworthalbwertszeit von 10 s. Unter Ausgangsbedingungen tendierte die Flussoszillation dazu der Druckoszillation voranzugehen (positive Admittance Phase). Nach urethraler Obstruktion und somit Blockade des TGF war keine Schulter des Gain im niedrigen Frequenzbereich sowie kein Maximum der Phase mehr nachweisbar, als Ausdruck der TGF Blockade. Ferner war in einem Frequenzbereich zwischen 0,05 Hz und 0,1 Hz eine negative Admittance Phase zu beobachten. Daraus schlossen Daniels et al [31], dass es trotz Blockade des TGF nur zu einem geringen Verlust der autoregulatorischen Effizienz des RBF kommt und der TGF nur geringen Einfluss an der RBF-Autoregulation hat. Da sich die autoregulatorische Effizienz unter TGF Blockade nur gering änderte, nahmen Daniels et al. [31] einen erhöhten Einfluss des myogenen Mechanismus an, der dazu führte, dass die Flussoszillation jetzt hinter der Druckoszillation lag. Hieraus folgt, dass die RBF-Autoregulation eine kombinierte Interaktion von myogener Antwort und TGF ist.

In der Literatur finden sich weitere Untersuchungen und Analysen der Frequenzdomäne spontaner Fluktuationen von RPP und RBF. Diese bestätigen die Untersuchungen von Daniels et al. [31]. Eine effektive RBF-Autoregulation ist in der Literatur in einem Frequenzbereich zwischen 0,1 Hz – 0,2 Hz (5-10 s/Schwingung) sowie in einem Frequenzbereich zwischen 0,026 Hz bis 0,05 Hz (20-30 s/Schwingung) beschrieben, die dem myogenen Mechanismus und TGF zugeordnet werden [4, 28, 29, 54, 57, 65, 67].

### ***b) Sinusschwingung***

Eine dem RPP überlagerte Sinusschwingung als Eingangssignal (Abbildung 2) unter Beobachtung des RBF als Ausgangssignal stellt eine weitere Möglichkeit zur Beschreibung der RBF-Autoregulation dar. Um die RBF-Autoregulation vollständig zu erfassen, sind viele Schwingungen über einen breiten Frequenzbereich nötig.



**Abbildung 2**

Sinusschwingung als Eingangsverlauf  $x_e(t)$  und zugehörige Antwort  $x_a(t)$  über die Zeit (t) des Regelkreisgliedes aus [101]

Mit diesem Testreiz ist es möglich, Aussagen über Differenzen von Ein- und Ausgangsschwingung in Bezug auf die Frequenz, Amplitude und Phasenlage zu erhalten. Dies ist beispielsweise durch eine Fourier-Analyse der gewonnenen Daten möglich - wie bereits oben beschrieben.

Die erzeugte und erhaltene Schwingung haben in der Regel die gleiche Frequenz. Die erhaltene Schwingung ist gegenüber der anregenden Schwingung durch eine Amplitude und Phasenlage gekennzeichnet. Da es sich um Schwingungen mit bekannten Charakteristika wie Frequenz, Amplitude und Phasenlage handelt, ist eine Beschränkung auf Mittelwerte nicht notwendig. Um das zu untersuchende System, die RBF-Autoregulation, vollständig zu erfassen, sind in separaten Teiluntersuchungen nacheinander einzelne Schwingungen verschiedener Frequenz über einen breiten Frequenzbereich zu applizieren. Dies erfordert einen immensen Zeitaufwand und notwendigerweise lange Beobachtungsintervalle des RBF. Folglich können mit diesem Eingangsreiz nicht alle Komponenten der RBF-Autoregulation (myogener Mechanismus und TGF) parallel gleich stark ausgelenkt werden. Technisch ist dieser Testreiz gut durchführbar.

In der Literatur sind viele tierexperimentelle Untersuchungen mit schwingungsförmigen Änderungen des Blutdruckes als Eingangssignal unter Beobachtung des RBF als Ausgangssignal zu finden [57, 123, 141].

Beispielsweise untersuchten Wittmann et al. [141] die RBF-Autoregulation an Hunden, in dem sie dem RPP Sinusschwingungen mit einem Frequenzbereich zwischen 0,0031 Hz bis 0,08 Hz und einer Amplitude mit 10 mmHg überlagerten. Unter Kontrollbedingungen zeigte sich in der Analyse der Frequenzbereiche eine bessere RBF-Autoregulation zwischen 0,0031 Hz und 0,02



Hz als zwischen 0,04 Hz und 0,08 Hz. Im Frequenzbereich zwischen 0,0031 Hz und 0,02 Hz trat eine positive Phasenverschiebung zwischen RPP und RBF auf, bei einem Gain der Transferfunktion  $<1$ . Dies wurde als Aktivität des TGF interpretiert. Im Frequenzbereich oberhalb von 0,02 Hz bis 0,08 Hz war das Gain  $> 1$  und eine Phasenverschiebung nicht mehr nachweisbar. Nach Blockade des TGF durch Furosemid kam es zu einer deutlichen Abnahme des Phasenwinkels zwischen RPP und RBF, jedoch war dieser nicht gleich Null. Wittmann et al. [141] schlossen aus ihren Beobachtungen auf nur einen durch Furosemid blockierbaren und nachweisbaren Mechanismus, der an der RBF-Autoregulation beteiligt ist. Sie nahmen zudem an, dass die Phasenwinkeldifferenz nach Gabe von Furosemid in einem Frequenzbereich zwischen 0,04 Hz und 0,08 Hz durch einen weiteren, beteiligten Mechanismus bedingt sein könnte.

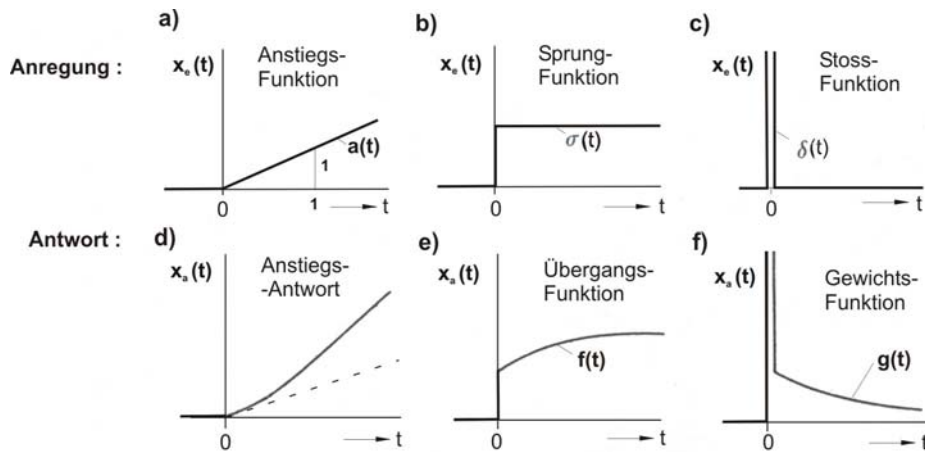
Holstein-Rathlou et al. [57] untersuchten *in vitro* an isolierten Rattennieren bei konstantem Mitteldruck dem RPP überlagerte Breitbandfluktuationen sowie einzelne Sinusschwingungen (0,05 Hz bis 0,2 Hz) mit unterschiedlichen Amplituden (0,4 – 15 mmHg). Die gewonnenen Ergebnisse verglichen sie mit einem mathematischen Modell zur Beschreibung der RBF-Autoregulation [55]. Hierbei fanden sie eine Vorhersehbarkeit von Gain und Phase im niedrigen Frequenzbereich zwischen 0,033 Hz und 0,05 Hz (TGF) durch das mathematische Modell. Bei Überlagerung des RPP mit Frequenzen von 10, 33 und 100 mHz beobachteten Holstein-Rathlou et al [57] Unterschiede in den Antwortamplituden des RBF. Bei gleicher Amplitude des Perfusionsdrucks und einer Frequenz von 33 mHz waren die gemessenen Amplituden des RBF signifikant größer als bei den Frequenzen von 10 mHz sowie 100 mHz. In diesem Frequenzbereich schlossen sie auf die RBF-Regulation durch den TGF. Die experimentell gewonnenen Daten wiesen auch auf einen zweiten beteiligten Mechanismus in einem Frequenzbereich zwischen 0,10 Hz und 0,15 Hz hin, der sich mit dem entworfenen mathematischen Modell nicht vorhersehen ließ. In diesem Frequenzbereich schlossen Holstein-Rathlou et al [57] auf die Aktivität des myogenen Mechanismus. Weiterhin stellten die Autoren [57] bei der Analyse der RBF Antwortkurven eine Schwingung gleicher Frequenz fest, die gegenläufig zu den überlagerten Perfusionsdruckschwingungen verlief. Eine Vergrößerung der Eingangsamplitude bei 33 mHz auf 15 mmHg führte zu einer Antwortschwingung im gemessenen RBF-Signal mit Veränderung der Frequenz. Diese Änderung könnte, wie von Holstein-Rathlou et al [57] angenommen, sowohl von der Frequenz und/oder der Amplitude der Druckschwankungen abhängen sowie von der absoluten Druckhöhe des RPP.

Aus diesen Untersuchungen folgt, dass unter Verwendung einzelner applizierter Sinusschwingungen als Eingangssignal, nicht alle notwendigen Frequenzen zur Anregung der beteiligten Mechanismen der RBF-Autoregulation parallel appliziert werden können, um diese gleich stark anzuregen, sondern nur distinkte Frequenzen. Technisch ist die Erzeugung von Sinusschwingungen gut realisierbar.

### ***c) Anstiegsfunktion***

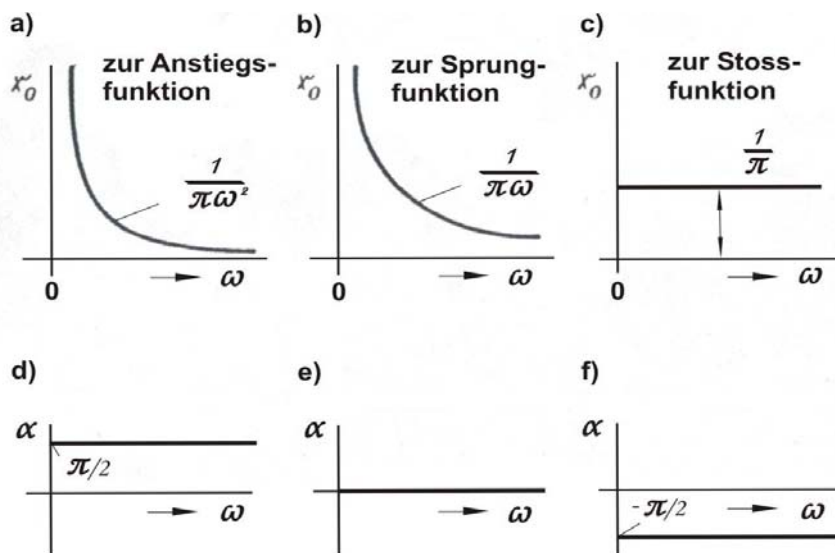
Einen weiteren Testreiz stellt die Anstiegsfunktion als Eingangssignal dar, die auch als „Rampenfunktion“ bezeichnet wird. Die Antwortfunktion dieses Reizes heißt Anstiegsantwort (Abbildung 3 a, d). Unter konstanter Änderungsgeschwindigkeit erfolgt die Erniedrigung oder Erhöhung des Eingangssignals (RPP) bei kontinuierlicher Messung des Ausgangssignals (RBF) (Abbildung 3a). Für diesen nichtperiodischen Eingangsreiz lassen sich beispielsweise nach Fourier-Zerlegung in Teilschwingungen Amplitudenspektren angeben [73].

Durch Verwendung verschiedener Änderungsgeschwindigkeiten des RPP wird das Amplitudenspektrum des Eingangssignals modifiziert, wodurch die Mechanismen der RBF-Autoregulation different angeregt werden können. Durch diese Verfahrensweise ist es möglich, Mechanismen der RBF-Autoregulation über differente Änderungsgeschwindigkeiten des RPP ( $dp/dp$ ) anzuregen und über die geschwindigkeitsabhängige bzw. zeitliche Regulierung des RBF im RBF-Antwortverhalten zu identifizieren [38, 39]. Um auf den Perfusionsdruckbereich der Autoregulation schließen zu können, wurden eigene Versuchsreihen unter RPP Erniedrigung als auch Erhöhung die absoluten und relativen Leitwerte über den gesamten RPP Bereich errechnet und deren Maxima als Indikator der maximalen Effizienz der RBF-Autoregulation ermittelt [38, 39]. In den Ergebnissen zeigte sich, dass mit zunehmender Änderungsgeschwindigkeit des RPP ( $dp/dt$ ) sowohl bei abfallendem als auch aufsteigendem RPP eine Zunahme des Maximums der absoluten und relativen Leitwert (bei aufsteigendem RPP mehr als bei abfallendem RPP) als Indikator der RBF Autoregulation zu messen war [38, 39].



**Abbildung 3**

Dargestellt sind die Anstiegs-  $f=a(t)$ , Sprung-  $f=\sigma(t)$  und Stossfunktion  $f=\delta(t)$  und das dazugehörige Antwortverhalten  $x_a(t)$  (Anstiegsantwort, Übergangsfunktion  $f(t)$ , Gewichtsfunction  $g(t)$ ) auf einen Eingangsreiz  $x_e(t)$  in Abhängigkeit von der Zeit, aus [101].



**Abbildung 4**

Dargestellt sind die Amplitudenspektren (Amplitude  $x_0$  über die Kreisfrequenz  $\omega$  -Abbildung a, b, c) und die Phasenwinkelspektren (Phasenwinkel  $\alpha$  über die Kreisfrequenz  $\omega$  - Abbildung d, e, f) der Sprung-, Stoss- und Anstiegsfunktion aus [101].

Mit zunehmender Änderungsgeschwindigkeit des RPP fand sich bei abfallendem RPP eine Verschiebung des Maximums der relativen Leitwerten von 87 mmHg auf 72 mmHg und bei ansteigendem RPP von 72 mmHg auf 62 mmHg [38]. Diese Versuchsreihen verdeutlichen eine starke Abhängigkeit der effektiven RBF-Autoregulation von der Stärke der Änderung des RPP

und damit des Störsignals. Aufgrund des unterschiedlichen Zeitbedarfs der myogenen Antwort und des TGF im Ansprechverhalten haben diese Mechanismen in Abhängigkeit von der Änderung des RPP unterschiedliche Aktivitätszustände und damit unterschiedliche Anteile an der RBF-Autoregulation. Anzunehmen ist, dass bei hohen Änderungsgeschwindigkeiten des RPP ( $dp/dt$ ) der myogene Mechanismus stärker im Antwortverhalten des RBF involviert ist, während dies der TGF bei niedrigen RPP Änderungen ist.

Ferner deutet der größere absolute und relative Leitwert bei Erhöhung des RPP, im Vergleich zum abfallenden RPP, auf eine mögliche Involvierung humoraler parakriner und autokriner Stoffe, wie beispielsweise Adenosin, Angiotensin II, NO oder Endothelin hin, die zusätzlich die RBF-Autoregulation beeinflussen. So zeigen beispielsweise Untersuchungen von Cupples et al. [27] bei stufenförmigen Änderungen des RPP und anschließender Freigabe des RPP ein überschießendes Verhalten des Leitwertes, das durch Applikation von ACE-Hemmern blockiert werden kann. Der Einfluss der anderen genannten Stoffe auf die RBF-Autoregulation wird weiter unten noch erläutert.

Aus dem Amplitudenspektrum der Anstiegsfunktion geht hervor (Abbildung 4 a), dass vor allem niedrige Frequenzen angestoßen werden, während der Amplitudenanteil der höheren Frequenzen rasch abnimmt (Abbildung 4 a, d). Nachteilig bei Verwendung einer solchen Reizform zur Untersuchung der RBF-Autoregulation ist, dass auch hier nicht alle Frequenzen parallel gleich stark ausgelenkt bzw. angestoßen werden können. Versuchstechnisch ist dieser Testreiz gut durchführbar [38].

Quantitative Aussagen über Frequenzbereich, Amplituden oder Phasenlage des myogenen Mechanismus oder TGF sind mit einer Rampenfunktion nicht möglich. Es zeigte sich jedoch, dass das Antwortverhalten des RBF entscheidend vom Eingangssignal des RPP abhängt [38].

#### ***d) Rampenfunktion und Sinusschwingung***

Eine weitere Möglichkeit zur Untersuchung der RBF-Autoregulation stellt die Kombination einer rampenförmigen Änderung des RPP mit zusätzlicher Überlagerung einer Sinusschwingung dar. Hierdurch können neben Aussagen über die Effizienz der RBF-Autoregulation durch Ermittlung der absoluten und relativen Leitwerte sowie deren Abhängigkeit vom mittleren Perfusionsdruck, weiterhin Aussagen über die Frequenz, Amplitude und Phasenlage der Schwingungen im RBF Signal gewonnen werden.

Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe wurden an Ratten mit kontinuierlicher Änderung des Perfusionsdrucks (Erniedrigung und Erhöhung des renalen Perfusionsdrucks (RPP)) bei mittlerer Änderungsgeschwindigkeit ( $dp/dt$ ) durchgeführt. Zusätzlich wurden dem RPP Signal nacheinander Sinusschwingungen verschiedener Frequenz (0,005 Hz/0,01 Hz/0,02 Hz) überlagert, die dem RPP-Signal gegenphasig ( $\sim 180^\circ$ ) waren. Der RPP fungierte als Eingangssignal und als Ausgangssignal der RBF. Die Ermittlung des relativen Leitwertes sowie dessen Maximum und des korrespondierenden Perfusionsdrucks diente, wie bereits oben beschrieben, der Festlegung des RBF-Autoregulationsbereiches und der Effektivität [120].

In der Antwortschwingung wurde bei allen überlagerten Frequenzen eine Zunahme der Amplitude mit steigender Frequenz bei abfallendem RPP und Abnahme der Amplitude bei Erhöhung des RPP beobachtet. Es fiel bei sinkenden RPP bei allen applizierten Frequenzen auf, dass ab einem mittleren Perfusionsdruck, ein Übergang der initial gegenphasigen Schwingung ( $\varphi \sim 180^\circ$ ) von RPP und überlagerter Schwingung des RPP, in eine gleichartige Schwingung ( $\varphi \sim 0^\circ$ ) auftrat. Dies war bis zur maximalen Reduktion des RPP zu beobachten. Weiterhin zeigte sich mit zunehmender Reduktion des RPP ein Anstieg der Amplitude der Antwortschwingung. Bei Erhöhung des RPP erfolgte ab einem mittleren Perfusionsdruck ein Umschlagen der gleichartigen Sinusschwingung ( $\varphi \sim 0^\circ$ ) in die gegenphasige Schwingung ( $\varphi \sim 180^\circ$ ). Hierbei war mit zunehmendem mittleren Perfusionsdruck eine Abnahme der Amplitude der Antwortschwingung zu beobachten, die unterhalb der Ausgangswerte lag. Dieses Phänomen des Phasenwechsels bei abfallendem/ansteigendem RPP kann als Übergang von „passiver“ in „aktive“ renale Gefäßregulation interpretiert werden. Ferner fiel auf, dass bei abfallendem RPP die mittleren renalen Perfusionsdrücke, an denen die Amplituden der relativen Leitwerte ihr Maximum erreichten, beim RBF mit steigender Frequenz von 58 mmHg auf 46 mmHg abfielen.

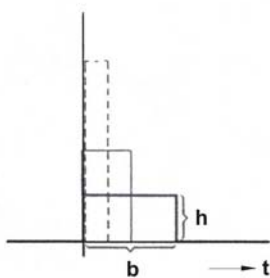
Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass wie oben erwähnt, durch Anwendung einer rampenförmigen Änderung des RPP mit unterschiedlichen Änderungsgeschwindigkeiten sowie eine dem RPP Signal zusätzlich überlagerte Sinusschwingung Aussagen über die Lage und Effizienz der RBF-Autoregulation gewonnen werden können. Angaben über die Frequenz, Amplitude und Phasenlage der Schwingungen im RBF Signal sind dadurch möglich. Über diese Charakteristika kann die RBF-Autoregulation besser charakterisiert werden im Vergleich zu den bisher beschriebenen Testreizen. Auch eignet sich die Rampenfunktion als Eingangsreiz, da aus

ihrem Amplitudenspektrum hervorgeht (siehe Abbildung 4 a, d), dass durch sie vor allem die niedrigeren Frequenzen angestoßen werden, während der Amplitudenanteil in höheren Frequenzen rasch abnimmt. Jedoch werden durch diesen Testreiz auch hier nicht alle Frequenzen parallel gleich stark ausgelenkt bzw. angestoßen. Technisch ist die Durchführung einer Änderung des RPP und zusätzliche Überlagerung mit einer Sinusschwingung ebenfalls gut zu realisieren.

#### **e) Stossfunktion**

Die Stossfunktion stellt einen weiteren möglichen Eingangsreiz zur Untersuchung renaler Antwortmechanismen der Blutflussregulation dar. Sie entsteht aus einem Impuls der Höhe (h) und der Dauer (b) (siehe Abbildung 5). Durch Anstieg der Sprunghöhe (h) und unendliche Verkürzung der Dauer (b), bei Konstanz der Impulsfläche ( $h \cdot b = 1$ ), kann aus einer Impulsfunktion eine Stossfunktion entstehen (siehe Abbildung 5).

Die Antwortfunktion auf eine einheitliche Stoßfunktion wird als Gewichtsfunktion bezeichnet (siehe Abbildung 3 f). Bei der Betrachtung des Amplitudenspektrums der Stossfunktion fällt auf (Abbildung 4 c, f), dass alle Frequenzen mit gleicher Intensität ausgelenkt werden. Die enthaltenen Teilschwingungen gleicher Amplitude sind in ihrer Phasenlage so geordnet, dass sie sich zum Zeitpunkt  $t=0$  s addieren, zu allen anderen Zeitpunkten auslöschen und damit die Stoßfunktion aufbauen.



**Abbildung 5** Entstehung der Stossfunktion  $f=\sigma(t)$  aus einem Impuls der Höhe h und der Breite b, t = Zeit, aus [101].

Somit wäre diese Testreizform theoretisch ideal für Untersuchungen, da alle beteiligten Mechanismen der renalen Blutflussregulation mit gleicher Intensität ausgelenkt werden würden. Durch Zerlegung der Antwortfunktion (RBF Signal) in einzelne Teilschwingungen könnte eine genaue Charakteristik der an der RBF-Autoregulation beteiligten Mechanismen erfolgen. Aufgrund der Beschaffenheit biologischer Gewebe und technischer Limitierung ist diese Reizformapplikation jedoch für tierexperimentelle Versuchsreihen nicht geeignet und somit nicht durchführbar.

### *f) Sprungfunktion*

Die Sprungfunktion ist eine weitere mögliche Form der Änderung des RPP als Eingangsreiz zur Untersuchung des renalen Regulationsverhaltens des Blutflusses. In der Literatur lassen sich zahlreiche tierexperimentelle Versuchreihen unter Änderung des RPP in Form einer Sprungfunktion und Beobachtung des RBF Verhaltens finden [28, 30, 64, 65]. Die Sprungfunktion ist Null für Zeiten  $t < 0$  s, springt zum Zeitpunkt  $t = 0$  s auf den Wert 1 und behält diesen Wert für einen definierten Zeitraum  $t > 0$  s bei (Abbildung 3 b). Die Antwortfunktion wird als Übergangsfunktion ( $f = f(t)$ ) bezeichnet (Abbildung 3 e).

Aus dem Amplituden- und Phasenwinkelspektrum der Sprungfunktion (siehe Abbildung 4 b, e) ist erkennbar, dass diese Reizform vor allem niedrige Frequenzbereiche anstößt, während der Amplitudenanteil der höheren Frequenzen rasch abnimmt. Dies ist jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei der Anstiegsfunktion (Abbildung 4 a, d versus b, e).

Just et al. [64, 65] untersuchten die RBF-Autoregulation an wachen Hunden durch Änderung des RPP in Form einer Sprungfunktion. Hierzu wurde der RPP auf 50 mmHg für 60 s oder 5 min durch eine um die A. renalis platzierte sufflierbare Manschette aus Silikon reduziert. Anschließend folgte ein schnelle Desufflation der Manschette mit Freigabe des RPP und kontinuierlicher Registrierung des RBF Verhaltens. Im Anschluss wurde der renale vaskuläre Widerstand (RVR) über den gesamten Zeitverlauf errechnet und die Transferfunktion sowie ihre Charakteristika ermittelt. Die Untersucher beobachteten nach Freigabe des RPP einen Anstieg des RVR bis zum ersten Maximum nach 10 s. Anschließend ging der RVR in ein Plateau über und stieg erneut nach 20 s bis 30 s bis zu einem zweiten Maximum nach 40 s an. Dann erreichte er nach 45 s ein drittes Maximum, bevor das Ausgangsniveau erreicht wurde. Just et al. [64, 65] interpretierten den ersten Anstieg des RVR nach 10 s als Reaktion der myogenen Mechanismus und den zweiten Anstieg des RVR nach 20-30 s als Reaktion des TGF auf die RPP Änderung. Unter Blockade des TGF durch Furosemid zeigte sich im RVR Verlauf ein stärkerer Anstieg des ersten Maximums, kein zweites Maximum und ein bestehendes drittes Maximum im Verlauf des RVR im Vergleich zu den Ausgangsbedingungen. Die Zunahme des ersten Maximums wurde von Just et al. [64] als kompensatorische Verstärkung des myogenen Mechanismus interpretiert, während für das dritte Maximum ein durch metabolische Faktoren prolongierter Mechanismus angenommen wurde.

Die Beurteilung der autoregulatorischen Effizienz der Blutdruck-Blutfluss-Beziehung erfolgte über die Ermittlung der Transferfunktion. Hier war eine effiziente Autoregulation ( $\text{Gain} < 1$ ) in einem Frequenzbereich von 0,01 Hz bis 0,2 Hz zu beobachten. Oberhalb dieses Frequenzbereiches war das  $\text{Gain} > 1$  und wies somit auf schwache oder keine effektive RBF-Autoregulation hin. Der Frequenzbereich zwischen 0,01 Hz und 0,2 Hz war charakterisiert durch 2 Eckfrequenzen bei 0,026 Hz und 0,12 Hz, die dem myogenen Mechanismus und dem TGF zugeordnet wurden [65]. Diese Ergebnisse bestätigten die Beobachtungen der RBF Autoregulation vieler Untersucher, wie bereits oben erwähnt und weisen zusätzlich auf die Beteiligung eines 3. Mechanismus hin.

Aufgrund der guten technischen Durchführbarkeit und geeignetem Amplituden- als auch Frequenzspektrum, ist neben der Rampenfunktion die Sprungfunktion als Testreiz zur Untersuchung beteiligter Mechanismen an der RBF-Autoregulation verfügbar. Bei diesem Testreiz werden alle Frequenzen beteiligter Mechanismen der RBF-Autoregulation parallel gleich stark ausgelenkt bzw. angestoßen. Durch Analyse des RBF Signals können detaillierte Aussagen über Effizienz und Frequenzcharakteristik der einzelnen Mechanismen gewonnen werden, wie bereits bei der Rampenfunktion erwähnt.

#### **2.4. Einflussfaktoren auf die RBF-Autoregulation**

Die RBF-Autoregulation ist ein System, das über Adaption des renalen Gefäßwiderstandes auf Änderungen des Perfusionsdrucks in einem bestimmten Perfusionsdruckbereich zur Aufrechterhaltung der Organfunktion reagieren kann. Die Anpassung des renalen Gefäßwiderstandes erfolgt nicht nur über den myogenen Mechanismus und TGF sondern über weitere Stoffe bzw. Mediatoren, die zu einer Vasokonstriktion (beispielsweise Endothelin-1, Angiotensin II, Adenosin) oder einer Vasodilatation (beispielsweise NO, Prostaglandine) führen. Außerdem haben diese Mediatoren unterschiedlichen Einfluss auf die Effizienz der RBF-Autoregulation oder die einzelnen Mechanismen. Hier soll etwas genauer über den aktuellen Stand des Einflusses von ET-1 und NO auf die Autoregulation eingegangen werden.

Endothelin (ET-1) ist ein vom Gefäßendothel produziertes Peptid mit starker vasokonstriktorischer Potenz und wurde von Yanagisawa [144] entdeckt. Zahlreiche in vivo sowie in vitro Untersuchungen sind in der Literatur nach akuter als auch chronischer Applikation



beschrieben. Die Wirkung von Endothelin-1 (ET-1) erfolgt über rezeptorsabhängige Transmissionswege, beispielsweise über ETA/B Rezeptoren [51].

Beobachtete hämodynamische Effekte nach Applikation von ET-1 sind eine deutliche Erhöhung des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) [15], Erhöhung [77, 113, 131] als auch Erniedrigung [11,45,138] des renalen Gefäßwiderstandes (RVR), eine starke Erniedrigung des cortikalen renalen Blutflusses (CBF) [34, 138] und eine Erniedrigung des renalen Blutflusses (RBF) [11, 78, 93, 113]. Auch zeigten Untersuchungen nach Applikation von ET-1 eine deutliche Abnahme der Reninaktivität [49, 138]. Stimulatoren, die zu einer vermehrten Endothelin-1-Freisetzung führen, sind beispielsweise erhöhte Scherkräfte an den Gefäßwänden (shear stress), Angiotensin-II (AT-II), Arginin, Vasopressin, Tumornekrosefaktor alpha (TNF-alpha), Thrombin, Interleukine, Phorbol ester oder Calcium Ionophore [92, 117]. Ferner können Substanzen wie Stickstoffmonoxid (NO), Prostaglandin ( $PGI_2$ ), EDHF (endothelial hyperpolarizing factor) [10, 58] sowie selektive als auch nicht-selektive ETA- und ETB-Rezeptorenblocker die Wirkung von Endothelin-1 teilweise oder ganz aufheben.

Welchen Einfluss akute oder chronische Aktivierung/Gabe von Endothelin-1 und NO auf den myogenen Mechanismus, den TGF, bzw. die Effizienz der RBF-Autoregulation bei der Maus haben, ist bislang nicht vollständig geklärt. Kramp et al. [149] konnte in Versuchsreihen an Ratten in vivo unter stufenweiser Reduktion des spontanen RPP und NO-Hemmung durch L-NAME sowie anschließender Blockade der ETA- und ETB-Rezeptoren als auch durch selektive Blockade der ETA- oder ETB-Rezeptoren den durch Rezeptoren vermittelten Einfluss von Endothelin-1 auf die Autoregulation untersuchen. Hierbei wurde die Autoregulation in 3 Bereiche eingeteilt: 1) in einen Druckbereich mit maximaler autoregulatorischer Effizienz, 2) in einen subautoregulatorischen Bereich und 3) in einen Bereich ohne Autoregulation, wie bereits unter 2.3.1. beschrieben. Unter Verwendung der linearen Regressionsanalyse durch Bildung der Summe der kleinsten Abweichungsquadrate nach Gauss, anlehnend an die Untersuchungen von Kramp et al [72], konnte die untere Autoregulationsgrenze ( $P_{LL}$ ) und die Grenze, an der keine Autoregulation mehr stattfindet ( $P_0$ ), ermittelt werden. Unter Ausgangsbedingungen ermittelte sich eine  $P_{LL}$  bei 100 mmHg und eine  $P_0$  bei 79 mmHg. Nach L-NAME Gabe allein kam es zu einer Verschiebung des autoregulatorischen Plateaus in niedrigere Perfusionsdruckbereiche, die errechnete  $P_{LL}$  lag bei 81 mmHg und die  $P_0$  bei 68 mmHg. Unter L-NAME und gleichzeitige Rezeptorenblockade der ETA- und ETB-Rezeptoren konnte kein Einfluss auf die RBF-Autoregulation beobachtet werden ( $P_{LL} = 97$  mmHg,  $P_0 = 77$  mmHg). Eine kombinierter

Blockade von ETA-Rezeptoren und der NO-Synthese zeigte das gleiche RBF-RPP Verhalten wie unter L-NAME allein, die  $P_{LL}$  lag bei 83 mmHg und die  $P_0$  bei 71 mmHg. Erstaunlich waren jedoch die Beobachtungen unter NO-Hemmung durch L-NAME und selektiver Blockade der ETB-Rezeptoren. Im RBF-RPP-Verhalten zeigte sich ein eher druckabhängiges Verhalten des RBF unter stufenweiser Senkung des RPP. Auch die errechnete untere Grenze der Autoregulation ( $P_{LL}$ ) lag wie die  $P_0$  deutlich in höhere Perfusionsdruckbereiche verlagert ( $P_{LL}=103$  mmHg,  $P_0=72$  mmHg).

Während Aktivierung von ETA-Rezeptoren zu einer preglomerulären Vasokonstriktion führt, findet sich unter Stimulation von ETB-Rezeptoren neben einer preglomerulären auch eine postglomeruläre Vasokonstriktion, wie Untersucher zeigten [149]. Ferner finden sich ETB-Rezeptoren im Gefäßendothel und werden durch NO oder Prostaglandine ( $PGI_2$ ) aktiviert. Sie wirken auch dilatatorisch. Unter anderem werden ETB-Rezeptoren in tubulären Segmenten der Niere exprimiert, wie beispielsweise im dicken aufsteigenden Teil der Henle-Schleife. Es ist bekannt, daß die dortige Absorption von Chlorid-Ionen durch Endothelin über ETB-Rezeptoren und damit Freisetzung von NO gehemmt werden kann. Kramp et al [149] gehen bei ihren Beobachtungen der Autoregulation unter Blockade der NO-Bildung durch L-NAME als auch der selektiven Blockade der ETB-Rezeptoren von einer über ETB-Rezeptoren vermittelten erhöhten Aktivität und Reaktivität des TGF unter Blockade der NO-Bildung aus. Versuchsreihen anderer Untersucher konnten eine Erhöhung der TGF Antwort unter Angiotensin-II-Applikation [94, 98, 119] zeigen. Kramp et al. [149] gehen jedoch davon aus, dass Endothelin in der Beeinflussung der Autoregulation eine wichtigere Position gegenüber Angiotensin II hat, da es das Reninsystem hemmen kann.

Endotheliale Stimulation, zum Beispiel durch erhöhten shear stress, führt zu einer Stimulation der Guanylatcyclase und damit Bildung sowie Freisetzung von NO aus dem Gefäßendothel der glatten Muskelzellen. Die Folge ist eine Vasodilatation. Die NO-Freisetzung kann beispielsweise durch Antagonisten wie N-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) oder N-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) blockiert werden. Hämodynamische Effekte nach Applikation von L-NAME sind eine Erhöhung des Blutdruckes und damit des renalen Perfusionsdruckes, ein Anstieg des RVR sowie ein Abfall des renalen Blutflusses (RBF). Beierwaltes et al. [147] konnten diese hämodynamischen Effekte in Versuchsreihen an anästhesierten Ratten nach Gabe von L-NAME unter Ausgangsbedingungen beobachten. Nach Applikation von L-NAME kam es im Vergleich zu Werten unter Ausgangsbedingungen ohne L-NAME zu einem Anstieg des

Blutdruckes um 20 % (22 mmHg), einen Abfall der Herzfrequenz um 5 % (13 Schläge/min), einen Anstieg des RVR (185%) und einen Abfall des RBF um 33 %. Weiterhin konnten Untersuchungen von Baumann et al. [146] an chronisch-instrumentierten wachen Hunden die gleichen hämodynamischen Effekte nach L-NAME Applikation unter Ausgangsbedingungen beobachten. Hier stieg der MAP nach L-NAME Gabe um  $30 \pm 3$  mmHg (Kontrolle:  $98 \pm 2$  mmHg versus L-NAME-Gabe:  $128 \pm 3$  mmHg), die Herzfrequenz sank um  $40 \pm 5$  Schläge/min, der RVR stieg an und der RBF fiel um  $42 \pm 6$  % im Vergleich zu den Werten unter Ausgangsbedingungen. Auch Kramp et al [149] beobachtete beispielsweise nach L-NAME Applikation an anästhesierten Ratten unter Ausgangsbedingungen einen Anstieg des Blutdruckes um 20 - 25 mmHg sowie einen Anstieg des RVR mit Abfall des RBF um 50% und bestätigte die Aussagen von Beierwaltes et al. [147] und Baumann et al. [146]. Ferner untersuchte Beierwaltes et al. [147] und auch Baumann et al. [146] den Einfluss von NO auf die Effizienz der RBF-Autoregulation. Dazu führten sie in ihren Versuchsreihen eine stufenweise Reduktion des spontanen RPP bis 35 mmHg an anästhesierten Ratten [147] und bis 40 mmHg an wachen Hunden [146] durch. Beierwaltes et al. [147] bestimmten die untere Grenze der Autoregulation sowie einen Autoregulationsindex in Anlehnung an das Modell von Semple et al. [121], wie bereits oben dargestellt. Hier lag unter Ausgangsbedingungen die effektive untere Grenze der Autoregulation bei Ratten bei  $95 \text{ mmHg} \pm 2 \text{ mmHg}$ . Unter L-NAME Applikation kam es, wie bereits oben erwähnt, zu einer Erhöhung des Blutdruckes, Anstieg des RVR sowie Abfall des RBF, jedoch nicht zu einer Beeinflussung der effektiven unteren Grenze der Autoregulation ( $92 \text{ mmHg} \pm 2 \text{ mmHg}$ ) oder Verschiebung des Autoregulationsbereiches. Baumann et al. [146] errechneten die untere Grenze der Autoregulation ( $P_{LL}$ ) in Anlehnung an das Modell von Persson et al. [106] unter Verwendung der linearen Regressionsanalyse durch Bildung der Summe der kleinsten Abweichungsquadrate nach Gauss. Baumann et al. [146] ermittelten nach diesem Modell eine untere Grenze der RBF- und GFR-Autoregulation ( $RBF-P_{LL}$  und  $GFR-P_{LL}$ ) bei Hunden. Unter Ausgangsbedingungen lag die  $RBF-P_{LL}$  bei  $63 \pm 3$  mmHg ( $GFR-P_{LL}$  bei  $67 \pm 1$  mmHg) und nach L-NAME Applikation bei der  $RBF-P_{LL}$  bei  $64 \pm 5$  mmHg ( $GFR-P_{LL}$  bei  $74 \pm 2$  mmHg).

Beierwaltes et al. [147] schlossen aus ihren Untersuchungsergebnissen, dass 1) NO als Vasodilatator an der Regulation des basalen Tonus der glatten Gefäßmuskulatur beteiligt ist zur Anpassung des renalen Gefäßwiderstandes (RVR) und damit Aufrechterhaltung des RBF, jedoch 2) keinen Einfluss auf die Effizienz der RBF-Autoregulation hat. Baumann et al. [146] schlossen aus ihren Beobachtungen auch, dass NO keinen Einfluss auf den effektiven RBF-

Autoregulationsbereich ( $P_{LL}$ ) hat. Jedoch wird nach Aussagen Baumanns et al. [146] die Autoregulation durch den TGF beeinflusst und NO scheint dabei eine Rolle zu spielen. Welche Rolle es ist, bleibt noch offen. Auch die Verschiebung der GFR-Autoregulation nach L-NAME Gabe in niedrigere Druckbereiche, ohne die Beeinflussung der effizienten RBF-Autoregulation, könnte durch eine direkt vermittelte erhöhte Aktivierung sympathischer renaler Nerven über L-NAME an den efferenten Gefäßen ausgelöst sein [146].

Aufgrund der gewählten Methodik von Kramp et al [149], Baumann et al. [146] und Beierwaltes et al. [147] zur Untersuchung des Einflusses von NO auf die RBF-Autoregulation konnten keine Aussagen über die Aktivität der einzelnen Mechanismen unter Hemmung der NO-Bildung durch L-NAME gemacht werden. Hierzu sind dynamische Untersuchungen notwendig.

Wronski et al. [142] führten dynamische Untersuchungen an Ratten nach nicht-selektiver Blockade der NO Bildung durch L-NAME sowie nach Blockade des TGF mittels Furosemid durch. Hierbei wurde nach Gabe der Wirkstoffe jeweils der RPP für 30 s durch Abklemmung unterbrochen und anschließend freigegeben. Die regulatorische Effizienz der einzelnen Mechanismen der RBF-Gesamtregulation wurde nach einem mathematischen Verfahren ermittelt. Unter Blockade der NO-Bildung (L-NAME) war eine Zunahme der myogenen Antwort an der RBF-Gesamtregulation zu beobachten. Auch bestätigten die Untersuchungen einen dritten an der RBF-Autoregulation beteiligten Mechanismus mit einer Periodendauer von ca. 100s (0,01 Hz). Diese Ergebnisse deuten bereits den Einfluss von NO auf das regulatorische Verhalten der Mechanismen sowie Effizienz der RBF-Autoregulation an. Auch dynamische Untersuchungen von Wang et al. [152] an anästhesierten Ratten konnten zeigen, dass es im RBF-Antwortverhalten unter Hemmung der NO-Freisetzung durch L-NAME zu einer Verstärkung des myogenen Mechanismus in der RBF-Autoregulation kommt und NO somit eine wesentliche Rolle in der Regulierung der effizienten Autoregulation spielen muss. Die Signalkaskade in der Endstrecke des TGF zwischen Macula densa, post- und präglomerulären Arteriolen ist weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung. Besonderes Augenmerk soll hier auf NO gerichtet werden. Untersuchungen konnten zeigen, dass die in den Macula densa Zellen vorhandene nNOS Aktivität die vasokonstriktorische Wirkung von Adenosin abschwächen kann, jedoch ist die Regulation der nNOS Freisetzung und Wirkung auf den TGF noch nicht geklärt [151]. Auch ist derzeit offen, wie stark die einzelnen Mechanismen an der RBF-Gesamtregulation nach Blockade des TGF als auch NO-Synthase bei der Maus aktiviert sind.

Um Aufschluss über die Regulation und Effizienz von myogenem Mechanismus sowie TGF zu erhalten, wurde versucht die Mechanismen durch selektive Blockade getrennt zu untersuchen. Hierzu sind in der Literatur vorwiegend Untersuchungen unter Blockade des TGF beschrieben, da die Blockade des myogenen Mechanismus (beispielsweise durch Calciumantagonisten) nicht nur an den Nierengefäßen erfolgt. Unter diesen Konditionen werden somit auch andere glatte Gefäßmuskelzellen in ihrer Funktion beeinträchtigt, das wiederum auch zu einer Veränderung des Regulationsverhaltens des TGF führt. Solche Einflüsse sind unter selektiver Blockade des TGF nicht zu beobachten. Eine effektive Blockade des TGF kann erreicht werden beispielsweise durch urethrale Obstruktion [31], die Applikation von Furosemid [4, 64] oder durch Volumenexpansion [13, 40, 60]. Unter Volumenexpansion wird neben der Blockade des TGF ein erhöhter shear stress auf das Gefäßendothel ausgeübt, das zu einer erhöhten Freisetzung von Mediatoren des Gefäßendothels führt, wie beispielsweise NO oder Endothelin-1. Dies erfolgt bei den anderen genannten Verfahren der TGF Blockade nicht. Nach anschließender Blockade der systemischen NO-Synthetase (beispielsweise Gabe von L-NAME) können nach Analyse des RPP-RBF-Verhaltens Aussagen über die regulatorische Effizienz der myogenen Antwort an der RBF-Autoregulation gewonnen werden.

Um den Einfluss von ET-1 auf die Effizienz und die regulierenden Mechanismen der RBF-Autoregulation zu klären, wurden ET-1 überexprimierende Mäuse unter TGF-Blockade sowie Blockade der NO-Freisetzung durch L-NAME untersucht.

## **2.5. Fragestellungen**

Aus der Analyse des Wissenstandes wurden folgende Fragestellungen abgeleitet.:

- Sind Untersuchungen der RBF-Autoregulation im Mausmodell durchführbar ?
- In welchem Perfusionsdruckbereich ist der RBF-Autoregulationsbereich lokalisiert und wie effektiv arbeitet diese bei der Spezies Maus ?
- Unterscheidet sich die Autoregulation der Maus im Vergleich zu bereits untersuchten Tierspezies ?
- Kann durch Analyse der Flussantwort auf einen Blutdrucksprung bei der Spezies Maus auf die beteiligten Mechanismen der RBF-Autoregulation geschlossen werden ?
- Wie ändert sich das Regulationsverhalten der RBF-Autoregulation unter der Blockade des TGF und Hemmung der NO-Synthetase bei ET-1 Überexpression ?