

**Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität
Tübingen**

Abteilung Pharmakologie und Experimentelle Therapie

Leiter: Professor Dr. Dr. B. Nürnberg

**Untersuchungen zur Wirkung von exogenem und
endogenem Adenosin auf den renalen Blutfluss der
hydronephrotischen Niere**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Alexander Conrad Volck

aus

Sindelfingen

2009

Dekan:

Professor Dr. I.B. Autenrieth

1.Berichterstatter:

Professor Dr. H. Oßwald

2.Berichterstatter:

Professor Dr. T. Risler

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

1	Einleitung	1
1.1	Die Krankheitsbilder der obstruktiven Nephropathie und Hydronephrose	1
1.1.1	Pathogenese der Hydronephrose	2
1.2	Die renale Blutversorgung	2
1.2.1	Mediatoren der renalen Hämodynamik	3
1.2.2	Hämodynamische Aspekte bei der obstruktiven Nephropathie	4
1.3	Adenosin	5
1.3.1	Adenosin-Rezeptoren der Niere	6
1.3.2	Vorkommen von Adenosin in der Niere	6
1.3.3	Funktionen des Adenosins in der Niere	8
1.3.4	Vaskuläre Reaktionen der Niere auf Adenosin	9
1.4	Zusammenfassung und Fragestellung	11
2	Material und Methoden	13
2.1	Tiere	13
2.2	Unilaterale Ureterligatur (UUL-Operation)	13
2.3	Operation zur RBF-Messung	14
2.3.1	Hals	14
2.3.2	Leiste	15
2.3.3	Flanke	16
2.4	Elektromagnetische Flussmessung	18
2.4.1	Prinzip der elektromagnetischen Flussmessung	18
2.4.2	Eichung des elektromagnetischen Flowmeters	19
2.4.3	Kalibrierung des Flowmeters	20
2.4.4	Minimierung von Artefakten	20
2.5	Herstellung der Lösungen	21
2.5.1	NaCL 0,85%	21
2.5.2	FK838-Lösung	22
2.5.3	Adenosin-Verdünnungsreihe	22
2.6	Versuchsaufbau	24
2.6.1	Gruppen	24
2.6.2	Versuchsdurchführung	25

2.7	Auswertung	29
2.7.1	Versuchsprotokoll	29
2.7.2	Schreiberaufzeichnung	29
2.7.3	Datenerhebung	30
2.7.4	Statistische Auswertung	30
3	Ergebnisse	31
3.1	Störfaktoren.....	31
3.2	Versuchsreihe „RBF“	34
3.2.1	Untersuchungen zum absoluten renalen Blutfluss.....	34
3.2.2	Untersuchungen zur Adenosinwirkung bei UUL	35
3.3	Versuchsreihe „FK838“	38
3.3.1	Untersuchungen zum absoluten renalen Blutfluss.....	38
3.3.2	Exogenes Adenosin (Einzelinjektionen).....	39
3.3.3	Endogenes Adenosin.....	46
3.3.4	Hyperämie	47
4	Diskussion.....	49
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	49
4.2	Absolutfluss	49
4.3	Exogenes Adenosin	51
4.3.1	ADO-A ₁ -Rezeptorblockade mit FK838.....	56
4.4	Endogenes Adenosin	58
4.5	Hyperämie	60
5	Zusammenfassung.....	61
6	Abkürzungsverzeichnis	72
7	Danksagungen	74
8	Lebenslauf	75

1 Einleitung

1.1 *Die Krankheitsbilder der obstruktiven Nephropathie und Hydronephrose*

Die obstruktive Nephropathie ist eine Schädigung der Niere, die durch eine Abflussstörung im Bereich der harnableitenden Wege entsteht. Gründe für eine solche Abflussstörung können sehr vielfältig sein, wobei initial zwischen einer akuten und einer chronischen Obstruktion unterschieden werden muss: Eine akute Obstruktion, zum Beispiel durch ein akutes Steinleiden, führt zu einer Kolik und damit meist zu massiven Schmerzen. Bei der häufig völlig symptomlosen chronischen Obstruktion spielen im Erwachsenenalter Steine, Tumore (Nierenbecken, Blase, Harnleiter, Prostata), Narbenstrikturen nach Entzündungen oder eine Überlaufblase, im Kindesalter dagegen hauptsächlich kongenitale Fehlbildungen wie Harnröhrenklappen, Vasa accessoria oder Ureterabgangsstenosen eine wichtige Rolle. Die Inzidenz einer angeborenen Harnleiterabgangsenge liegt bei etwa 50/100.000 Neugeborenen (⁷⁶). Da die Obstruktion selbst meist symptomlos imponiert, wird die Krankheit oft erst durch Komplikationen, wie uncharakteristische Gedeihstörungen beim Säugling, Pyelonephritiden oder Urosepsen (⁴⁵) bemerkt. Die Obstruktion führt zu einem Rückstau des Harns in die Niere, einer Nierenbeckendilatation, und über verschiedene Faktoren, auf die im Laufe der Arbeit weiter eingegangen werden wird, zu einer progredienten – oft lange symptomlosen – Nierenschädigung, bis hin zum Endstadium der obstruktiven Nephropathie, dem Krankheitsbild der Hydronephrose. Im Stadium der Hydronephrose ist die Schädigung der Niere irreversibel und sie mündet in einer Reduktion der Nierendurchblutung, einer Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate und in einer verminderten Fähigkeit zur Harnkonzentrierung. Funktionell bedeutet dies häufig eine terminale Niereninsuffizienz (^{43 ; 21}). Im Kindesalter ist die Hydronephrose gar die häufigste Ursache einer terminalen Niereninsuffizienz (⁸) , beim Erwachsenen ist sie für 2% der terminalen Niereninsuffizienzen verantwortlich (¹).

1.1.1 Pathogenese der Hydronephrose

Bei der Entstehung der terminalen Niereninsuffizienz aufgrund einer obstruktiven Nephropathie sind Veränderungen in der Hämodynamik, der tubulären Funktion und der Morphologie bzw. Histologie des Nierenparenchyms zu beobachten: So führt der Harnrückstau unter anderem zu einer Schädigung der Tubuli mit einer Abnahme der Anzahl der Nephren (⁷), zu einer Infiltration des Interstitiums mit Entzündungszellen (⁶²), zum Auftreten einer irreversiblen interstitiellen Fibrose (⁶³) und letztendlich zur tubulären Atrophie (²² ; ⁶³) . Hier soll jedoch hauptsächlich auf die Veränderungen im Bereich der renalen und glomerulären Hämodynamik eingegangen werden:

1.2 Die renale Blutversorgung

Die Blutversorgung der Nieren erfolgt durch die Arteriae renalis dextra und sinistra, die jeweils direkt aus der Aorta abdominalis entspringen. Kurz vor ihrem Eintritt in die Niere am Nierenhilus, teilen sie sich in jeweils 2 Hauptäste auf, die sich dann intrarenal weiter aufzweigen, sodass in jeder Niere 5-7 getrennte Arterienäste jeweils ein Segment des Organs versorgen. Da jedes der 5 Nierensegmente pro Niere aus 2 Lappen besteht, versorgt eine Arteria segmentalis 2 Lappen, indem sie als Arteria interlobaris an der Lappengrenze entlang zieht und sich schließlich an der Mark-Rinden-Grenze in die Arteriae arcuatae verzweigt. Diese Arteriae arcuatae verlaufen quer in der Mark-Rinden-Grenze und zweigen sich noch weiter zu den Arteriae interlobularis auf, die letztendlich die Vasa afferentia der Glomerula in die Rinde abgeben und mit den Vasa efferentia das erste Kapillarnetz der Niere bilden (s. Abbildung 1). Die Vasa efferentia enthalten immer noch sauerstoffreiches Blut, da dieses erste Kapillarnetz nicht der Sauerstoffversorgung der Niere, sondern der Filtration dient. An diesem Kapillarnetz wird die Perfusion der Niere vor allem durch das präglomeruläre Vas afferens reguliert (⁷¹). Nach dem Durchlaufen des ersten Kapillarnetzes, bilden die Vasa efferentia der Glomerula das zweite peritubuläre Kapillarnetz, nun zur Sauerstoffversorgung des Organs, aus dem das Venensystem der Niere entsteht. Das deutlich weniger durchblutete Nierenmark

erhält seine Sauerstoffversorgung durch die Vasa recta, welche von den juxtamedullären Glomerula ausgehen. Ausführlichere Informationen zur Blutversorgung der Niere können den Atlanten der Anatomie entnommen werden.



Abbildung 1: Arterielle Versorgung der Niere; 1=Arteria renalis, 2=A. segmentalis, 3=A. interlobaris, 4=A. arcuata, 5=A. interlobularis, 6=Glomerula

1.2.1 Mediatoren der renalen Hämodynamik

Die Regulatoren der renalen Hämodynamik ergeben sich aus der Aufgabe der Niere: der Einstellung der Flüssigkeits- und Kochsalzhomöostase. Da die Ausscheidung von NaCl beispielsweise stark von der Filtration und die Filtration wiederum von der glomerulären Filtrationsrate (GFR) abhängt, stellt dies enorme Anforderungen an die Feinregulation des renalen Blutflusses (RBF). Es ist daher nachvollziehbar, dass hier mehrere Mediatoren in einem komplexen und bis heute noch nicht vollständig verstandenen Zusammenspiel agieren. Bekannt ist, dass die Regulation des RBF hauptsächlich an den Vasa afferentia der Glomerula, also an den kleinen Arteriolen des ersten Kapillarnetzes, stattfindet ⁽³⁵⁾. Neben der sympathischen Innervation wurden bisher als vasokonstringierende Mediatoren das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System,

insbesondere Angiotensin II (⁷⁸), das Prostaglandin-Thromboxan-System, vor allem Thromboxan A₂ (⁵⁹), und Endothelin (⁹ ; ⁵⁹) diskutiert, als vasodilatierende Gegenspieler Prostaglandine und Stickstoffoxid (NO).

1.2.2 Hämodynamische Aspekte bei der obstruktiven Nephropathie

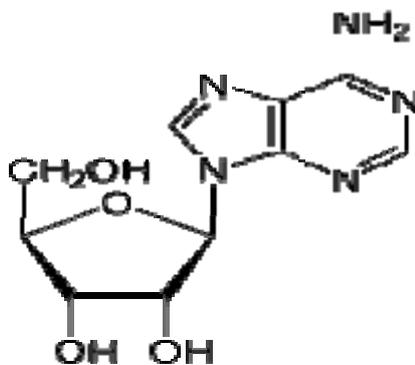
Die Obstruktion eines Ureters führt bei der betroffenen Niere zu einer Veränderung der Hämodynamik, die in 3 Phasen abläuft:

Initial kommt es zu einem Anstieg des renalen Blutflusses (¹²), der dann nach etwa 5 Stunden wieder auf das Ursprungsniveau abfällt. Schließlich sinkt er im weiteren Verlauf infolge einer Zunahme des intrarenalen Gefäßwiderstandes aufgrund einer präglomerulären Vasokonstriktion (⁵ ; ³⁰) weiter ab und führt so, wie Moody et al. spekulierten, zu einer chronisch progredienten Schädigung der Niere (⁴¹). Der anfängliche Anstieg des RBF wurde von ihnen als Zeichen eines Versuches der Niere interpretiert, den Filtrationsdruck und somit die Funktion der Niere trotz der Obstruktion aufrecht zu erhalten. Im Hundemodell wurde das Prostaglandinsystem als Mediator des postobstruktiven RBF-Anstiegs ermittelt und konnte mit Indomethazin, einem unspezifischen Prostaglandinantagonisten, gehemmt werden (³ ; ³⁵). Da dies ein transienter Effekt ist, der nur ca. 5 - 6 Stunden anhält, wurde er bisher nicht weiter untersucht und das Augenmerk vielmehr auf die vasokonstringierenden Einflüsse gelenkt. Bereits 1971 untersuchte Vaughan die Einflüsse des sympathischen Nervensystems auf den RBF bei unilateraler Obstruktion, jedoch konnte eine Denervierung den RBF-Abfall nicht abschwächen (⁷³). 1977 erforschte Moody et al. mit Hilfe von ACE-Inhibitoren und Angiotensin-Rezeptorantagonisten die Rolle des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei den hämodynamischen Veränderungen nach unilateraler Ureterligatur, wiederum ohne dass eine Blockade des Systems den RBF-Abfall verhindern konnte (⁴⁰). Angiotensin II scheint jedoch, wenn es auch bei der post-obstruktiven Hämodynamik keine Rolle zu spielen scheint, durch eine TGF- β 1-Stimulation für die Entstehung der Fibrose von Bedeutung zu sein (⁷⁹). Ebenfalls untersucht wurde bereits Thromboxan A₂ als ursächlicher Vasokonstriktor: Sowohl Thromboxan A₂-Rezeptor-Blocker als auch Thromboxan A₂-Synthese-Hemmer zeigten, dass auch Thromboxan nicht

der gesuchte Mediator ist, der bei unilateraler Obstruktion den Abfall der renalen Durchblutung bedingt (³⁶ ; ¹⁶). Neben den bisher genannten Vasokonstriktoren existiert noch ein weiterer, der als entscheidender Mediator bei der obstruktiven Nephropathie eine Rolle spielen könnte. Auf ihn soll im Folgenden extra eingegangen werden, da sich diese Arbeit hauptsächlich mit ihm beschäftigt: das Adenosin.

1.3 Adenosin

Bei dem Stoff Adenosin handelt es sich um ein Nukleosid, das aus der Base Adenin und dem Zucker β -D-Ribose besteht (s. Abbildung 2). Die chemische Summenformel lautet $C_{10}H_{13}N_5O_4$. Das Vorkommen und die Aufgaben des Adenosins im menschlichen Körper sind sehr vielfältig: Es spielt eine entscheidende Rolle im Energiehaushalt als Adenosintriphosphat (ATP), Adenosinbiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP). Zudem ist es in Form von cyclischem AMP (cAMP) entscheidend an der Signaltransduktion als Second-Messenger beteiligt. Als Adenosin selbst wirkt direkt an Adenosinrezeptoren. In vielen Organen wie Gehirn, Herzmuskel und Skelettmuskel führt Adenosin beispielsweise bei Hypoxie über einen G-Protein gekoppelten Rezeptor zu einer Vasodilatation, um eine erhöhte Sauerstoffversorgung des Organs zu gewährleisten. In dieser Arbeit soll ausschließlich auf die Wirkung des Adenosins selbst auf Adenosinrezeptoren der Niere und die damit verbundenen Änderungen der renalen Hämodynamik eingegangen werden.



Formel des

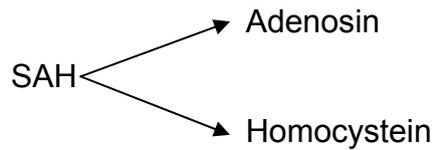
1.3.1 Adenosin-Rezeptoren der Niere

In der Niere sind bisher 4 verschiedene Rezeptoren für Adenosin bekannt. ADO-A₁-Rezeptoren, die hauptsächlich in den afferenten Arteriolen der Rinde und den Zellen des juxtaglomerulären Apparates eine entscheidende Rolle spielen, ADO-A₂-Rezeptoren, die sich in die Subtypen A_{2A} und A_{2B} mit hoher bzw. niedriger Affinität unterteilen lassen und vor allem im Bereich der Papille und im Mark vorkommen (⁶⁴ ; ⁷⁷), und ADO-A₃-Rezeptoren, die in deutlich geringerer Dichte vorkommen und zu denen bisher weitaus weniger Informationen vorliegen. Allen Adenosin-Rezeptoren ist gemeinsam, dass es sich um G-Protein gekoppelte Rezeptoren handelt, die dann über eine Hemmung oder Aktivierung der Adenylatcyclase und/oder der Phospholipase C ihre Wirkung erzielen:

ADO-A₁-Rezeptoren hemmen die Adenylatcyclase, stimulieren aber die Phospholipase C. ADO-A₂-Rezeptoren aktivieren die Adenylatcyclase. ADO-A₃-Rezeptoren hemmen sowohl die Adenylatcyclase, als auch die Phospholipase C. (¹⁷ ; ¹⁸ ; ¹⁹) . Aufgrund der verschiedenen Rezeptoren und der verschiedenen intrazellulären Signaltransduktionswege, die durch die G-Protein-Aktivierung ausgelöst werden, wird davon ausgegangen, dass Adenosin für mehrere Effekte verantwortlich, oder zumindest an mehreren Effekten beteiligt ist. Einige dieser bereits erforschten Effekte, sollen hier genannt werden, konzentriert werden soll sich in dieser Arbeit jedoch auf die vaskulär relevanten Veränderungen, die durch Adenosin hervorgerufen oder beeinflusst werden.

1.3.2 Vorkommen von Adenosin in der Niere

In der normalen gesunden Rattenniere befinden sich ca. 5 nmol Adenosin pro Gramm Nierengewicht. Dieses befindet sich zum Großteil intrazellulär an die SAH-Hydrolase gebunden, die selbst in der Lage ist, Adenosin durch Hydrolyse von SAH herzustellen:



(³¹ ; ³²)

Dieser Weg der Synthese ist nach heutigem Kenntnisstand jedoch als zweitrangig anzusehen. Sowohl intrazellulär als auch extrazellulär wird als Hauptquelle des Adenosins die Formung aus ATP, AMP und cAMP, angenommen:



(³⁸)

Quellen sind also die Freisetzung intrazellulären Adenosins und die extrazelluläre Bildung durch membranständige Nukleosidasen. Die Menge an Adenosin in einer Niere unterliegt jedoch sehr starken Schwankungen, da sie durch verschiedene Faktoren beeinflusst wird. Es ist bekannt, dass die Gewebskonzentration von Adenosin beispielsweise von der Kochsalzdiät abhängig ist: So steigt bei Ratten mit kochsalzreicher Diät die Menge des extrazellulären Adenosins auf das ca. 7-fache an, während sie bei kochsalzarmer Diät um 64% abfällt (⁶⁴). Auch systemische Hypoxie oder Ischämie beeinflusst die Adenosin-Gewebskonzentration. Nach Hypoxie konnte bei Kaninchen ein Anstieg des extrazellulären Adenosins auf das 3-fache gezeigt werden (⁴⁴). Allgemein haben Organareale mit geringer Sauerstoffversorgung einen höheren Gehalt an Adenosin. Auch in der Niere ist das Adenosin nicht überall gleich verteilt: Die Konzentration im Nierenmark ist etwa 3-4 Mal so hoch, wie die Adenosinkonzentration der Nierenrinde. Das Nierenmark ist gegenüber der Nierenrinde deutlich weniger mit Sauerstoff versorgt (siehe 1.2). Dass in schlechter durchbluteten Arealen bzw. bei Hypoxie ein Missverhältnis zwischen der geleisteten Arbeit der Zellen und der Versorgung durch Sauerstoff und andere Nährstoffe besteht, zeigt sich unter anderem in einem Abfall des lokalen ATP und einem Anstieg des AMP bzw. Adenosin Gehaltes, wie bereits an Ratten-, Hunde- und Katzenieren bestätigt werden konnte (³⁹). Auch bei vermehrter Arbeit, die beispielsweise durch die

Infusion von hypertoner Kochsalzlösung provoziert wurde, kommt es zu diesem Missverhältnis und demzufolge zum Anstieg des extrazellulären Adenosins (⁴⁹).

1.3.3 Funktionen des Adenosins in der Niere

Adenosin ist an vielen Aufgaben der Niere direkt oder indirekt, als Modulator oder Mediator beteiligt. An dieser Stelle soll nur eine kurze Zusammenfassung dieser Funktionen geboten werden, um dem Leser einen Überblick zu verschaffen.

Adenosin ist am Tubulo-Glomerulären-Feedback (TGF) beteiligt: Der nicht-selektive Adenosin-Rezeptorblocker Theophyllin blockierte beispielsweise den durch den TGF bedingten Abfall der Flussrate im proximalen Tubulus, wohingegen Agonisten die Wirkung des TGF verstärkten (^{51 ; 50}). Adenosin ist über ADO-A₁-Rezeptoren gar ein notwendiger Mediator für einen funktionierenden TGF (⁶⁹).

Adenosin moduliert die Renin-Freisetzung: Sowohl an Ratten als auch an Hunden konnte gezeigt werden, dass Adenosin über ADO-A₁-Rezeptoren und den cAMP-Adenosin-Pathway (s. 1.3.2) hemmend auf die Reninfreisetzung wirkt (^{13 ; 54}). In wie weit eine Steigerung der Reninfreisetzung über ADO-A₂-Rezeptoren physiologisch relevant ist, ist derzeit noch ungenügend erforscht.

Adenosin hemmt die Katecholaminfreisetzung aus sympathischen Nervenendigungen (^{26 ; 27}).

Adenosin spielt damit zumindest indirekt über Veränderungen in RBF, GFR (s. 1.3.4) und der Reninfreisetzung eine Rolle für den Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt. Endogenes Adenosin stimuliert über ADO-A₁-Rezeptoren die Natrium Resorption im gut mit O₂ versorgten proximalen Tubulus (^{10 ; 11 ; 68}), hemmt sie dagegen im weniger mit O₂ versorgten aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife (⁷²).

Eine der wichtigsten Funktionen des Adenosins in der Niere und Thema dieser Arbeit ist jedoch die Mitwirkung an der hämodynamischen Regulation. Dies soll im folgenden Kapitel genauer dargestellt werden.

1.3.4 Vaskuläre Reaktionen der Niere auf Adenosin

Um über die vaskulären Reaktionen der Niere auf Adenosin zu sprechen, muss man zwischen exogenem, also von außen in die Arteria renalis injiziertem, und endogenem, also von der Niere selbst produziertem und ins Interstitium abgegebenem, Adenosin unterscheiden. Beim exogenen Adenosin muss zusätzlich eine Dauerinfusion mit einem kontinuierlichen Adenosinzufuss von Einzelinjektionen, wie sie in dieser Arbeit durchgeführt wurden (s. 2.6.2), differenziert werden.

Wie bereits weiter oben erwähnt, finden sich vor allem in hypoxischen Stoffwechsellagen und Organen hohe Spiegel an Adenosin. In vielen Organen, wie Herz, Gehirn und Skelettmuskel, führen diese hohen Adenosinspiegel zu einer Vasodilatation und damit zu einer vermehrten Blutversorgung. Adenosin hat also einen protektiven Effekt und soll bei insuffizienter Sauerstoffversorgung eine ausreichende Durchblutung gewährleisten. Dies gilt jedoch in dieser Form zunächst nicht für die Niere. In der Niere verursacht Adenosin eine Vasokonstriktion wie 1964 zunächst an anästhesierten ⁽⁷⁰⁾, dann an wachen Hunden gezeigt und später auch an Ratten und Katzen bestätigt werden konnte. In diesen Versuchen wurden jeweils intraarterielle Einzelinjektionen von Adenosin verabreicht, was zu einer Vasokonstriktion mit einem sehr schnellen und sehr kurz andauernden Abfall des renalen Blutflusses, führte ^(46 ; 52).

Zur Untersuchung der renalen Reaktion auf endogenes Adenosin eignet sich eine 30 sekundige Okklusion der Arteria renalis mit einer Klemme, da sich in dieser Zeit der Ischämie der Adenosingehalt der Niere durch vermehrte Hydrolyse von ATP erhöht. Nach Öffnen der Klemme gelangt dieses Adenosin in die Blutbahn und kann seine Wirkung entfalten. Auch die Reaktion auf endogenes Adenosin, die post-okklusive Reduktion des RBF (POR) (s. 2.6.2.2), besteht aus jener schnell einsetzenden und kurz andauernden Vasokonstriktion ⁽⁶⁵⁾.

Eine kontinuierliche Infusion mit Adenosin führt ebenfalls zunächst zu einem Abfall des renalen Blutflusses innerhalb von 1-2 min. Daraufhin regeneriert sich der RBF jedoch trotz bestehender Infusion innerhalb weiterer 1-2 min wieder und bleibt dann auf einem Level, der sogar leicht über dem ursprünglichen ist.

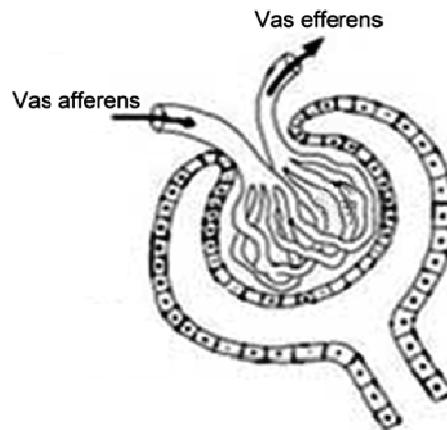
Nach Abbruch der Infusion kommt es zu einem sogenannten „overshoot“ – einem kurz andauernden Anstieg des RBF deutlich über das Ausgangsniveau (⁵⁵ ; ⁶⁷ ; ⁴). Trotz diesem z.T. erhöhten RBF bleibt die GFR jedoch während der Adenosin-Infusion erniedrigt, bedingt durch eine Konstriktion der afferenten Arteriolen (⁵⁵).

Diese Vasokonstriktion der afferenten Arteriolen, und damit auch der Abfall des RBF bei Adenosin-Einzelinjektionen bzw. PORs, wird durch die Bindung von Adenosin am ADO-A₁-Rezeptor vermittelt. Dies konnte durch Auftreten einer Vasokonstriktion im Vas afferens durch Gabe von ADO-A₁-Agonisten, ebenso wie dem Ausbleiben einer Vasokonstriktion bei Adenosin Gabe und vorheriger Hemmung des Rezeptors durch einen ADO-A₁-Antagonisten wie DPCPX, gezeigt werden (⁵⁸ ; ⁶⁰). Auch blieb die Vasokonstriktion bei Adenosingabe bei ADO-A₁ Knock-out Mäusen aus (²⁴).

Der ADO-A₂-Rezeptor dagegen führt zu einer Vasodilatation vor allem im Nierenmarkbereich und den Vasa efferentia. Ein ADO-A₂-Agonist war in der Lage, den Blutfluss im Mark um den Faktor 1,8 zu steigern (²).

Damit ist es heute als wahrscheinlich anzusehen, dass Adenosin ein Mediator der Niere ist, der den renalen Blutfluss gegen die Arbeitslast reguliert: Da im Vas afferens (s. Abbildung 3) hauptsächlich ADO-A₁-Rezeptoren lokalisiert sind, die eine Vasokonstriktion bewirken, sinkt zwar der renale Blutfluss, mit ihm aber auch der Filtrationsdruck. Besonders in Verbindung mit den ADO-A₂-Rezeptoren im Vas efferens, die zu einer Vasodilatation desselben führen, bewirkt Adenosin so, neben der Senkung des Filtrationsdruckes, auch eine Senkung der GFR und damit der Nierenarbeit. Dieses Phänomen der Niere und seiner metabolischen Eigenkontrolle wird als „negativer metabolischer Feedback“ bezeichnet (⁵³ ; ⁴⁸).

In dieser Arbeit soll jedoch ausschließlich auf die Auswirkungen von Adenosin auf den RBF, und nicht auf die Wirkungen auf die GFR, eingegangen werden, da sich mit diesem Thema eine gesonderte Arbeit befasst.



m

1.4 Zusammenfassung und Fragestellung

Adenosin spielt, wie bereits erwähnt, in der Physiologie der Niere eine wichtige Rolle. In dieser Arbeit soll untersucht werden, in wie weit Adenosin bei der obstruktiven Nephropathie eine entscheidende Rolle spielen könnte. Bisher unpublizierte Daten in unserem Institut deuten darauf hin. Es ist bekannt, dass es bei einigen anderen pathologischen Zuständen beteiligt ist, wie beispielsweise Reaktionen auf Kontrastmittel mit konsekutivem Nierenversagen, an der renalen Hypertension und an der Reaktion auf einige nephrotoxische Substanzen (¹³ ; ¹⁴ ; ⁵³). Da bereits gezeigt wurde, dass für die afferente Vasokonstriktion Adenosin-A₁-Rezeptoren verantwortlich sind, sollte sich dieser Effekt durch Infusion des selektiven ADO-A₁-Antagonisten FK838 aufheben bzw. deutlich abschwächen lassen.

Bereits an Hunden konnte gezeigt werden, dass nach 7 Tagen UUL der RBF auf ca. 26%, nach 24 h UUL auf ca. 50% des Ausgangswertes abfällt (⁶ ; ³⁴). Aufgrund unpublizierter Ergebnisse in unserem Institut sind ähnliche Ergebnisse auch bei Ratten zu erwarten.

Auch deuten diese Ergebnisse eine erhöhte Sensitivität der UUL-Niere auf Adenosin Einzelinjektionen an.

Ziel dieser Arbeit ist es, ein besseres Verständnis zum RBF-Abfall bei unilateraler Obstruktion zu erlangen, da dieser bis heute noch unvollständig verstanden ist. Es sollen daher folgende Fragestellungen untersucht und beantwortet werden:

- 1.) Wie unterscheidet sich der absolute RBF zwischen der ureterligierten, der kontralateralen und der scheinoperierten Niere und lässt sich dieser Effekt durch Applikation des selektiven ADO-A₁-Rezeptorantagonisten FK838 hemmen?
- 2.) Gibt es einen Unterschied in der Reaktion des RBF auf Adenosin-Einzelinjektionen zwischen Ratten mit 24-stündiger Ureterligatur und gesunden Ratten?
- 3.) Lässt sich dieser Unterschied oder die gesamte RBF-Reaktion auf Adenosin-Einzelinjektionen durch Applikation des selektiven ADO-A₁-Rezeptorantagonisten FK838 hemmen?
- 4.) Gibt es einen Unterschied in der Reaktion des RBF auf endogenes Adenosin zwischen Ratten mit 24-stündiger Ureterligatur und gesunden Ratten?
- 5.) Lässt sich dieser Unterschied oder die gesamte RBF-Reaktion auf endogenes Adenosin durch Applikation des selektiven ADO-A₁-Rezeptorantagonisten FK838 hemmen?

2 Material und Methoden

2.1 Tiere

Als Versuchstiere wurden männliche Sprague-Dawley (SD)-Ratten der Firma Charles River (Charles River Laboratories Inc., Wilmington, MA, U.S.A.) von 270-350 g verwendet.

2.2 Unilaterale Ureterligatur (UUL-Operation)

Zur Narkose wurde das Tier am Nacken gehalten, auf den Rücken gedreht und eine an das Tiergewicht angepasste, Ketamin-Xylazin-Mischung (42 mg/kgKG Ketamin® (Ketaminhydrochlorid, DeltaSelect GmbH, Pfullingen, Deutschland) + 9 mg/kgKG Rompun® 2% (Xylacinhydrochlorid, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) intraperitoneal injiziert. Nachdem das Tier eingeschlafen war, wurden die Augen mit 0,85 % NaCl Lösung feucht gehalten und das Tier auf einen Heiztisch (Operationstisch für Kleintiere, Klaus Effenberger Med.-Techn. Gerätebau, Pfäffing/Attel, Deutschland) in Rückenlage positioniert. Nachdem die Schutzreflexe (Zwischenzehenreflex, Schmerzreiz, Kornealreflex) erloschen waren, wurden 2 cm über der Radix penis mit Paraffinöl das Fell befeuchtet, die Haare zur Seite gekämmt und die Haut mit einem 1,5 cm langen Medianschnitt incidiert. Nun wurden mit einer stumpfen Präparierschere die beiden Bäuche des M. rectus abdominis in der Linea alba und das Peritoneum gespalten und somit die Bauchhöhle eröffnet. Die Darmschlingen wurden am Treitz'schen Band mit Hilfe von Haken auf die rechte bzw. linke Seite manövriert, je nachdem, welcher Ureter zu ligieren war. Da technisch bedingt nur RBF-Messungen an der linken Niere erfolgen konnten, wurde für die Gruppe KONTRA der rechte, für SHAM und UUL der linke Ureter aufgesucht, das Retroperitoneum stumpf eröffnet und ein 0,5 cm langes Stück des Ureters dargestellt. Für die SHAM-Gruppe wurde nun ein steriler Seidenfaden (Seidenfaden 5-0, sterilisiert, geflochten, Suprama, Berlin, Deutschland) unter dem Ureter durchgezogen und anschließend wieder entfernt. Für die anderen Gruppen wurde der Seidenfaden mit 4 festen Knoten zugezogen und somit der

Ureter ligiert. Anschließend erhielten die Tiere gegen den Flüssigkeitsverlust während der Operation einen Bolus von 1 ml 0,85 % NaCl in den eröffneten Bauchraum, bevor die Haken entfernt und zuerst das Peritoneum mit Vicryl 4-0 (Ethicon, Norderstedt/Glashütte, Deutschland) und anschließend die Haut mit Ethilon 3-0 (Ethicon, Norderstedt/Glashütte, Deutschland) verschlossen wurden. Das Tier wurde in einem Käfig mit Zugang zu Nahrung und Trinkwasser ad libitum unter eine Rotlichtlampe gelegt und zwei Stunden nach Erwachen, sofern das Tier keine Bewegungsdefizite mehr aufwies, über Nacht in einen Tierschrank gebracht.

2.3 Operation zur RBF-Messung

Zur Narkose wurde das Tier wieder am Nacken gehalten, auf den Rücken gedreht und Trapanal® (Thiopental-Natrium, Altana, Nycomed GmbH, Konstanz, Deutschland) 80 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Nachdem das Tier eingeschlafen war, wurde es wiederum auf einem Heiztisch in Rückenlage gelagert. Die RBF-Operation gliederte sich in 3 Schritte: Die Operationen an Hals, Leiste und Flanke.

2.3.1 Hals

Am Hals wurde nach Befeuchten der Haare im Schnittgebiet mit Paraffinöl ein 1,5 cm langer suprasternaler Medianschnitt durchgeführt und anschließend die rechte Vena jugularis externa stumpf dargestellt. Diese wurde nach kranial mit einem sterilen Seidenfaden ligiert, unter Spannung gesetzt, bis zur Hälfte des Durchmessers unter stereomikroskopischer Sicht incidiert, mit einem Polyethylenkatheter (Portex Polythene, 0,58 mm ID, 0,96 mm OD, SIMS Portex Ltd., Watford, U.K.) kanüliert und dieser mit 5-0 Ligatur fixiert. Über diesen Zugang erhielt das Tier 0,85 % NaCl Lösung 3 ml/h um den transitorischen Flüssigkeitsverlust während der Operation auszugleichen. Bei den FK838-Gruppen wurde über diesen Zugang außerdem das FK838 infundiert (gelöst in NaCl, ebenfalls 3 ml/h). Anschließend wurde die Trachea von ventral durch den

M. digastricus dargestellt, zur Hälfte zwischen der zweiten und dritten Knorpelspange mit der Mikrofederschere incidiert und mit einem Polyethylenkatheter (0,58 mm ID, 0,96 mm OD) kanüliert, um die Atmung während der Operation sicherzustellen. Nun wurde lateral des M. digastricus die linke A. carotis stumpf dargestellt und vorsichtig, unter Schonung des N. vagus, aus Ihrer Gefäß-Nervenscheide luxiert. Sie wurde nach kranial steril ligiert, um einen Rückstrom des Blutes durch den Circulus arteriosus zu vermeiden, unter Spannung gesetzt und proximal mit einer Gefäßklemme abgeklemmt. Nach Incision zur Hälfte ihres Durchmessers wurde auch sie mit einem Polyethylenkatheter (0,28 mm ID, 0,61 mm OD) kanüliert und dieser dann, nach Entfernung der Gefäßklemme, unter Neigung des Kopfes des Tieres auf die rechte Seite, 8 cm weit, bis 1 cm vor den Abgang der linken Arteria renalis vorgeschoben und fixiert. Eine inkorrekte Lage dieses Katheters im Herzen wurde jeweils sofort über eine Druckableitung ausgeschlossen. Post mortem wurde die korrekte Lage 1 cm oberhalb der A. renalis über eine Obduktion bestätigt. Nach dem Fixieren dieses Katheters mit Seidenfadenligatur wurde der Hals, um transitorische Flüssigkeitsverluste gering zu halten, wieder mit 4 Einzelknopfnähten mit Ethilon 4-0 verschlossen.

2.3.2 Leiste

In der Leiste wurden zunächst die Haare nach Befeuchtung mit Paraffinöl aus dem Operationsgebiet gekämmt, darauf die Haut in der Mitte der linken Leistengrube 1 cm entlang der Beinfalte incidiert und anschließend die linke Arteria femoralis von der Vena femoralis stumpf abgesetzt und auf einer Länge von ca. 2 cm dargestellt. Nach distal wurde sie kurz vor Ihrer Aufteilung steril ligiert, unter Spannung gesetzt, zur Hälfte Ihres Durchmessers unter stereomikroskopischer Sicht incidiert und mit einem Polyethylenkatheter (0,58 mm ID, 0,96 mm OD) kanüliert. Hierüber wurden die Ableitungen des Blutdruckes und der Herzfrequenz mit Hilfe eines Druckabnehmers erreicht. Anschließend wurde die Leiste wieder mit 3 Einzelknopfnähten verschlossen.

2.3.3 Flanke

Nach Abschluss der Leisten-Operation und Lagerung des Tieres auf seine rechte Seite, wurden unterhalb des linken Rippenbogens mit Paraffinöl die Haare zur Seite gekämmt. Es wurde anschließend ein 5 cm langer Rippenbogenrandschnitt gesetzt und durch die Mm. obliquus externus und internus und den M. transversus abdominis das Retroperitoneum eröffnet. Nun wurde die linke Niere stumpf aus ihrer Fettkapsel gelöst und in einem Nierenschälchen, das zuvor mit feuchten Tupfern gepolstert wurde, gelagert. Die Aorta wurde über eine kurze Strecke freipräpariert, um die korrekte Lage des durch die A. carotis eingeführten Katheters nochmals durch Tasten zu überprüfen. Nach Kontrolle der Lage wurde die Arteria renalis vorsichtig stumpf von der Vena renalis getrennt und vom umliegenden Bindegewebe befreit. Zum Abschluss wurde der Flow-Kopf des elektromagnetischen Flow-meters (Square-Wave Electromagnetic Flowmeter, Carolina Medical Electronics Inc., Carolina, U.S.A.) auf die Arteria renalis gesetzt, in seiner Position fixiert und die Erdungskabel an Tisch und Tier angebracht. Nach Abschluss der Operation wurde um die Flow-Sonde das Operationsgebiet während der Äquilibration mit Parafilm M® (American National Can, Greenwich, U.S.A.) abgedeckt, um den transitorischen Flüssigkeitsverlust zu minimieren.

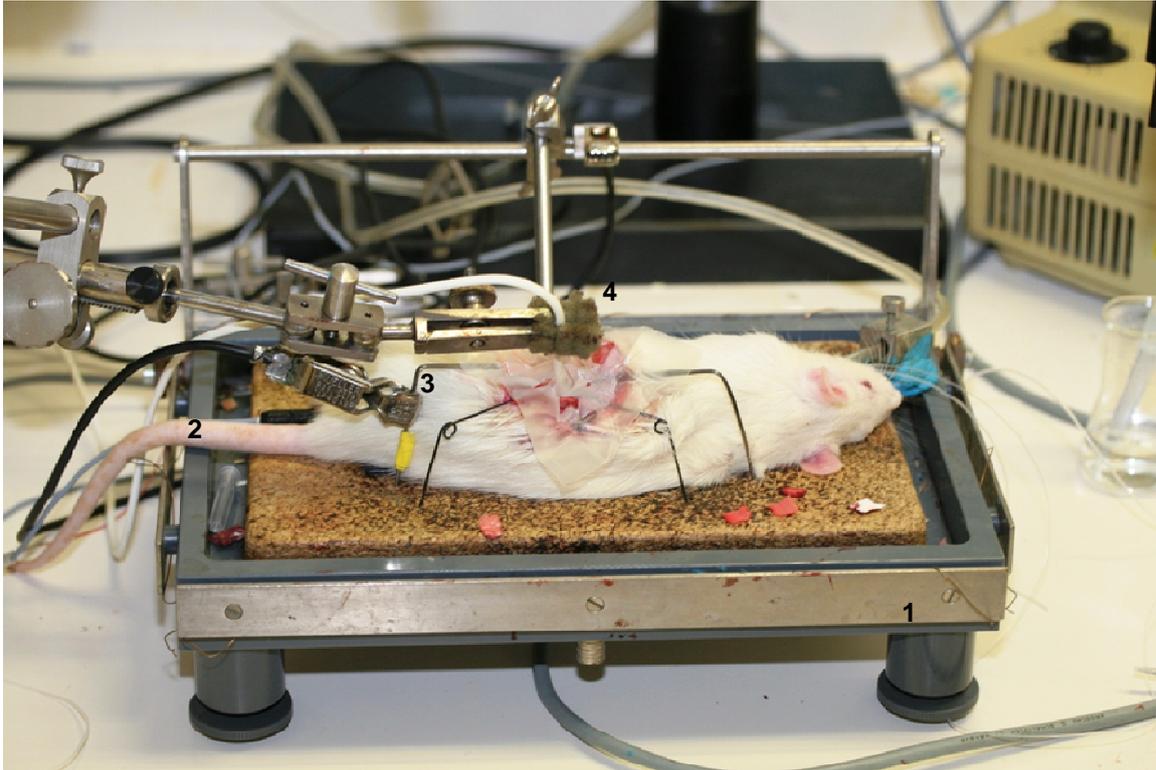


Abbildung 4: Versuchsaufbau während der Äquilibration; 1=Operationstisch, 2=Temperatursonde, 3=Erdungskabel des Flowmeters an Operationshaken, 4=Flow-Messsonde um Arteria renalis

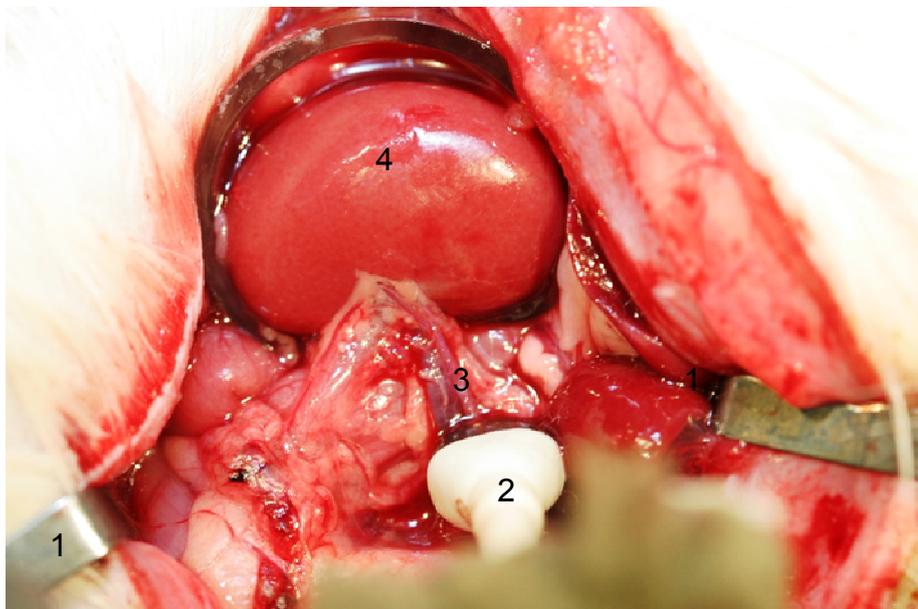


Abbildung 5 : Intraoperatives Bild: Flowsonde um A. renalis; 1=Operationshaken, 2=Flow-Messsonde, 3=Arteria renalis, 4=Niere in Nierenschälchen

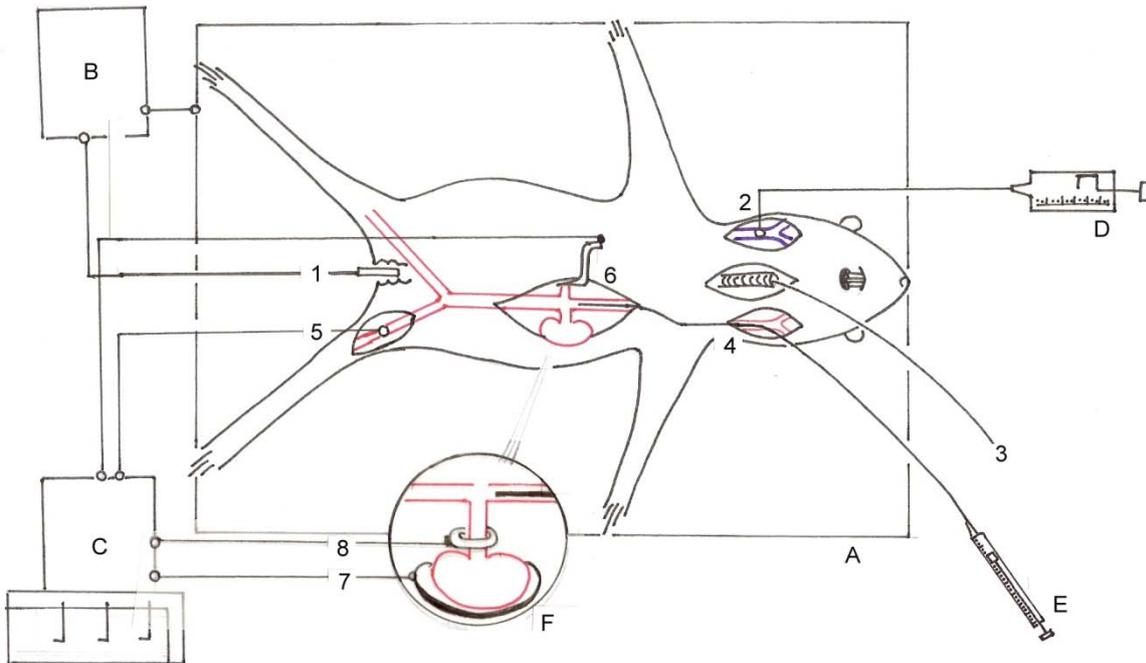


Abbildung 6: Skizze des Versuchsaufbaus nach Abschluss der Operation: A=OP-Heiztisch, B=Heizungssteuergerät, C=Druckaufnehmer und Flow-Meter an Mehrkanalschreiber, D=Perfusor, E=Mikroliterspritze, F=vergrößerte Detailansicht. Zahlen 1-8 in OP-Reihenfolge: 1=Thermometer, 2=kanülierte V.jugularis dextra, 3=Katheter in Tracheostoma, 4=kanülierte A.carotis communis sinistra mit Katheter bis kurz vor A. renalis, 5=kanülierte A.femoralis sinistra, 6=Flankenschnitt mit geerdetem Wundhaken, 7=Nierenschälchen, geerdet, 8=Flowsonde um A.renalis sinistra

2.4 Elektromagnetische Flussmessung

Zur Messung des renalen Blutflusses wurde ein elektromagnetisches Flowmeter (Square-Wave Electromagnetic Flowmeter, Carolina Medical Electronics Inc., King, North-Carolina, U.S.A.) mit einer elektromagnetischen Flow-Sonde (Mod. Nr. EP102.5, Lumengröße 2.5mm) verwendet.

2.4.1 Prinzip der elektromagnetischen Flussmessung

Die elektromagnetische Flussmessung basiert auf dem Prinzip des Faraday'schen magnetischen Induktionsgesetz, das besagt, dass ein bewegter elektrischer Leiter in einem Magnetfeld einen Strom erzeugt. Bei der Blutflussmessung wird durch die Sonde ein statisches Magnetfeld von definierter Stärke um ein Gefäß (hier die A. renalis) aufgebaut. Blut als Leiter

(besonders die Erythrozyten) bewegen sich durch dieses statische Magnetfeld und induzieren einen Strom, der proportional zur magnetischen Feldstärke und zur Geschwindigkeit der Bewegung - also des Flusses - ist. Da die magnetische Feldstärke bekannt ist, kann das Flowmeter die Geschwindigkeit des Flusses, also die Flussmenge pro Minute mithilfe des induzierten Stromes berechnen.

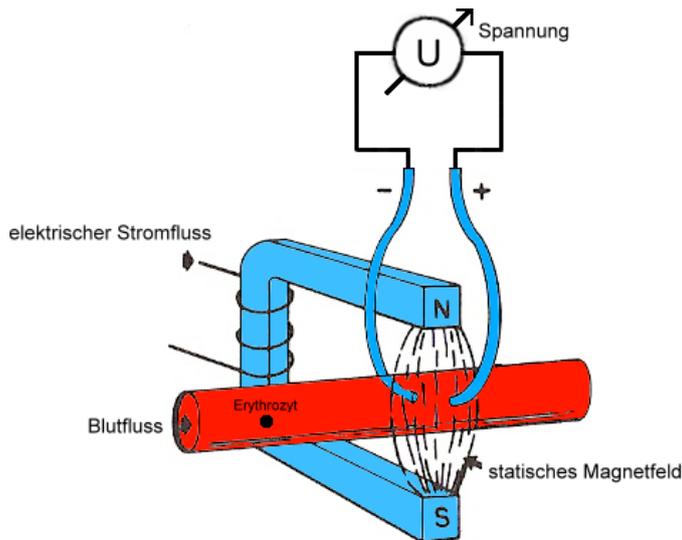


Abbildung 7: Prinzip der elektromagnetischen Flussmessung: Induzierte Spannung U durch Bewegung eines Leiters in einem statischen Magnetfeld; N=Nordpol, S=Südpol des Magneten.

2.4.2 Eichung des elektromagnetischen Flowmeters

Zur Eichung des Geräts wurde aus einer männlichen SD Ratte ein 2,5 cm langer Abschnitt der Arteria carotis präpariert, dieses auf beiden Seiten mit Polyethylenkathetern (0,58 mm ID, 0,96 mm OD) kanüliert und diese mit 4-0 Ligaturen fixiert. Dieser Gefäßabschnitt wurde nun in einer mit 0,85 % NaCl gefüllten Glasschale fixiert. Der Flow-Kopf wurde um die Zirkumferenz der Arterie angebracht und die Erdung des Flowmeters in die Glasschale eingebracht und fixiert. Am Flowmeter selbst wurde nach dem Einschalten des Gerätes nun mit „Null“ der Nullwert justiert. Nach Einschalten der Sonde wurde

über „Balance“ nochmals der korrekte Nullpunkt überprüft. Nun wurde mit Hilfe eines Perfusors (Genie, Kent Scientific Corporation, Torrington, Connecticut, U.S.A.) die Arterie mit Blut in definierten Flussgeschwindigkeiten von 1 bis 10 ml/min perfundiert und diese Flussmenge jeweils mit dem „Probe-Faktor“ am Flowmeter eingestellt. Dabei ist die Messung von der Anzahl der Leiter, also den Erythrozyten und damit vom Hämatokrit abhängig. Der Hämatokrit wurde bei operierten Tieren ermittelt und betrug durchschnittlich 45. Daher wurde zur Eichung des Gerätes Blut mit einem solchen Hämatokrit, also heparinisieretes Blut eines operierten Tieres, verwendet.

2.4.3 Kalibrierung des Flowmeters

Nach Anschalten des Gerätes wurde bei noch ausgeschalteter Sonde der Nullpunkt überprüft und gegebenenfalls mit dem Nullregler justiert. Nach Einschalten der Sonde wurde vor jeder Messung im Rahmen eines Versuches nach Anbringung und Erdung die Arteria renalis für etwa 30 Sekunden mit einer Klemme distal des Flowkopfes abgeklemmt und dann der Fluss mit dem „Balance“ Regler auf „0“ feinjustiert.

2.4.4 Minimierung von Artefakten

Um Störfaktoren zu minimieren, wurden sowohl das Tier über einen Operationshaken als auch der Operationstisch geerdet. Eine interferenzfreie Aufzeichnung des RBF wurde vor Beginn jedes Versuches getestet, indem die Schreibergeschwindigkeit hochgesetzt und eine pulssynchrone Aufzeichnung des RBF mit einem Minimum an Artefakten sichergestellt wurde. In Abbildung 8 ist eine solche interferenzfreie Aufzeichnung zu sehen, in der der RBF pulsatil neben dem systemischen Blutdruck aufgezeichnet wurde. Interferenzen wären Störungen, die die typische Flusskurve überlagern diese pulssynchrone Darstellung verhindern würden. Sie entstehen beispielsweise durch eine fehlerhafte Erdung. Es ist wichtig, immer wieder während des Versuches solche Interferenzkontrollen durchzuführen, da Interferenzen die wirkliche Flussrate

verfälschen und während der nicht-pulsatilen Aufzeichnung des Versuches nicht nachgewiesen werden können.

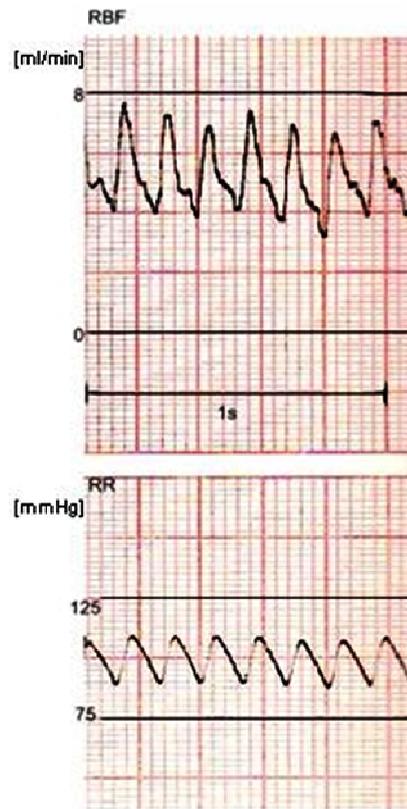


Abbildung 8: Originalaufzeichnung einer Interferenzkontrolle: Pulssynchrone Aufzeichnung des renalen Blutflusses (oben) mit dem systemischen Blutdruck (unten) ohne Interferenzartefakte.

2.5 Herstellung der Lösungen

2.5.1 NaCL 0,85%

Für die 0,85 prozentige Kochsalzlösung wurden 8,50 g Kochsalz mit einer Feinwaage abgewogen und in einem Liter Aqua bidest. gelöst.

2.5.2 FK838-Lösung

Bei FK838 handelt es sich um einen spezifischen ADO-A₁-Rezeptorblocker, der nicht aus der Gruppe der Purinderivate stammt (s. Abbildung 9). Die chemische Summenformel von FK838 lautet 6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinbutyrsäure (³⁷). Die Besonderheit von FK838 im Gegensatz zu anderen ADO-A₁-Antagonisten wie DPCPX besteht darin, dass FK838 deutlich hydrophiler, und damit in NaCl mit pH=8 lösbar, ist und somit kein Vehikel wie DMSO benötigt. Um es zu lösen und in korrekter Dosis zu infundieren, wurde zunächst NaCl 0,85% mit NaOH auf pH=10 titriert, da hier das FK838 seine beste Löslichkeit besitzt. Anschließend wurde das Versuchstier gewogen und 0,3 mg FK838 (FR120838, LOT Nr. 102142P, Astellas Pharma Inc., Tokyo, Japan) pro 50 g Tiergewicht in 100 ml NaCl 0,85% pH=10 gelöst. Sobald das FK838 vollständig gelöst war, wurde die Lösung wieder mit HCl auf pH=8,0 titriert. Die fertige FK838-Lösung pH=8,0 wurde bis zum Beginn des Versuches lichtgeschützt und im Kühlschrank aufbewahrt.

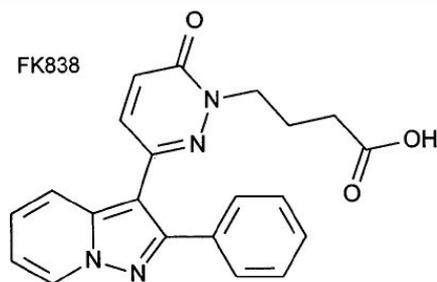


Abbildung 9: Strukturformel von FK838 (=6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinbutyrsäure)

2.5.3 Adenosin-Verdünnungsreihe

Bei den Adenosininjektionen handelte es sich um Dosen von 0,01 bis 100 Nanomole, wobei sich die gewünschte Dosis jeweils in 30 µl für die

Injektion befand. Dazu wurde zuerst eine Lösung hergestellt, in der in 30 μl genau 100 Nanomole sind, die also 3,33 mMol/l hat bzw. 0,03 molar ist. Dazu wurden 88,9 mg Adenosin (Molekulargewicht=267 g/mol, Summenformel $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$, CAS-Nr. 58-61-7) in 100 ml NaCl 0,85% gelöst. Von dieser Stock-Lösung wurde nun eine Verdünnungsreihe hergestellt, indem immer abwechselnd 700 μl und 600 μl NaCl 0,85% vorgelegt und mit 300 μl der vorhergegangenen Konzentration aufpipetiert wurden (s. Abbildung 10).

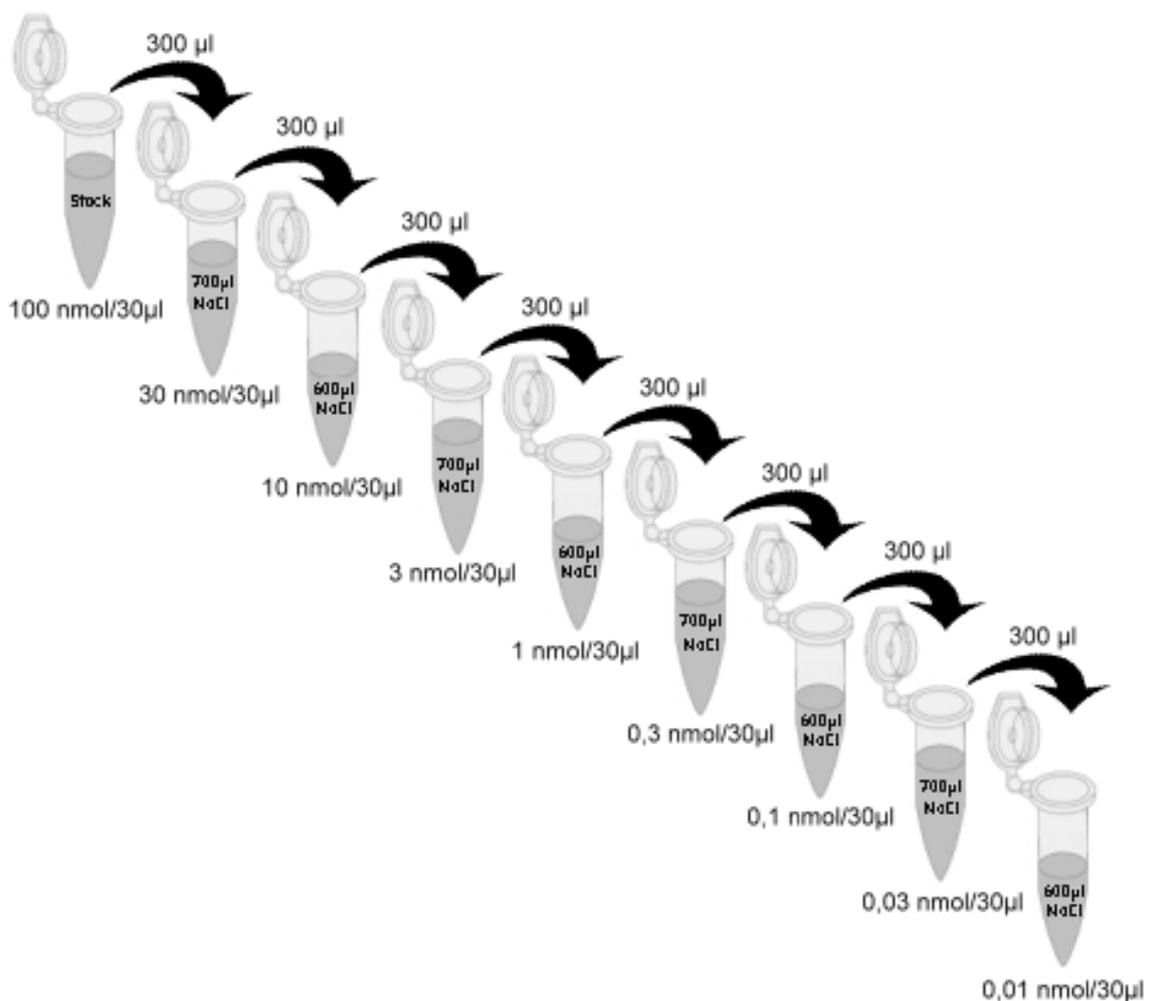


Abbildung 10: Verdünnungsreihe Adenosindosen

2.6 Versuchsaufbau

Insgesamt wurden 2 unterschiedliche Versuchsreihen durchgeführt: Die Versuchsreihe „RBF“ und die Versuchsreihe „FK838“. In der Versuchsreihe „RBF“ wurden der absolute renale Blutfluss und die Wirkung von Adenosin auf den renalen Blutfluss in den unterschiedlichen Gruppen untersucht. In der Versuchsreihe „FK838“ wurde ein spezifischer Adenosin-A₁-Rezeptorantagonist (FK838) appliziert und daraufhin die Wirkung von exogenen Adenosininjektionen und endogenen Adenosinausschüttungen untersucht.

2.6.1 Gruppen

Für die Versuchsreihe „RBF“ wurden, wie in Abbildung 11 dargestellt, drei Gruppen angelegt:

Eine SHAM-Gruppe, bei der eine Scheinoperation durchgeführt wurde, um durch Operationsstress herbeigeführte Einflüsse als Störfaktoren auszuschließen.

Eine KONTRA Gruppe, bei der der kontralaterale Ureter der untersuchten Niere ligiert wurde. Diese Gruppe dient als Kontrollgruppe.

Eine UUL Gruppe, bei der eine unilaterale Ureterligatur auf der linken Seite, also auf der Seite der untersuchten Niere, erfolgte, um eine Obstruktion und damit ein Tiermodell einer obstruktiven Hydronephrose herbeizuführen.

▪ UUL	24h	n=8
▪ KONTRA	24h	n=8
▪ SHAM	24h	n=6

Abbildung 11: Gruppen der Versuchsreihe „RBF“; 24h gibt die Zeitspanne zwischen UUL bzw. SHAM Operation und RBF Messung an; n=Anzahl der operierten Tiere pro Gruppe.

Für die Versuchsreihe „FK838“ wurden, wie in Abbildung 12 veranschaulicht, ebenfalls 3 Gruppen angelegt:

Eine SHAM + FK838-Gruppe, die nach der Scheinoperation das Medikament FK838 bekam.

Eine UUL + VHC-Gruppe, die nach unilateraler Ureterligatur links lediglich ein Vehikel, bestehend aus 0,85% NaCl mit demselben pH=8 wie das Medikament FK838, verabreicht bekam, als Kontrollgruppe.

Eine UUL + FK838-Gruppe, die eine Ureterligatur links und anschließend das Medikament FK838 erhielt.

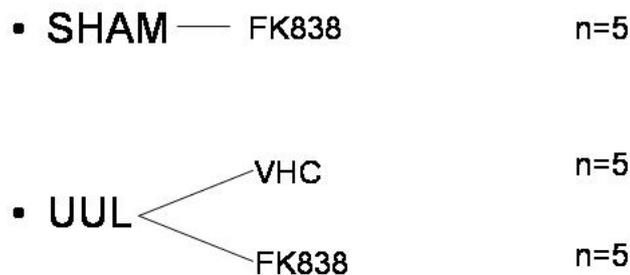


Abbildung 12: Gruppen der Versuchsreihe „FK838“

2.6.2 Versuchsdurchführung

2.6.2.1 Untersuchungen zum basalen renalen Blutfluss und der Wirkung von Adenosin

In der ersten Versuchsreihe „RBF“ wurden der basale renale Blutfluss bestimmt und Adenosindosen von 0,01 bis 100 nmol injiziert und deren Wirkung auf den renalen Blutfluss in den verschiedenen Gruppen untersucht. In Abbildung 13 sieht man eine Originalaufzeichnung eines typischen, nicht einmal eine

Sekunde andauernden, RBF-Abfalls mit anschließender Hyperämie und Rückkehr zum ursprünglichen basalen RBF.

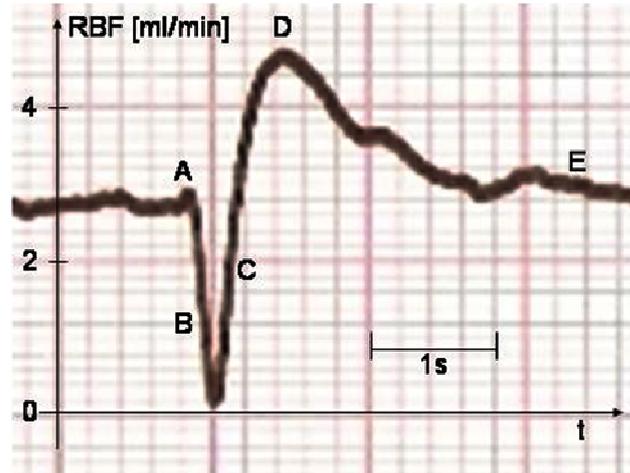


Abbildung 13: Originalaufzeichnung einer Reaktion auf eine Adenosin-Einzelinjektion: A=Injektionsartefakt, B=schnell eintretender Abfall des RBF, C=beinahe sofortiger Wiederanstieg mit D=reaktiver Hyperämie und E=Rückkehr zum basalen RBF

Nach der UUL-Operation (siehe 2.2) gemäß der Gruppen SHAM, KONTRA und UUL erfolgte am darauffolgenden Tag (nach 24h) die RBF-Operation (siehe 2.3). Vor Beginn der Messungen wurde eine Äquilibrationszeit von 40 min abgewartet, während der sich das Tier vom Operationsstress erholen und stabilisieren konnte. Anschließend wurde durch Abklemmen der A. renalis distal des Flow-Kopfes der Nullfluss ermittelt und die Klemme wieder gelöst. Die Adenosininjektionen erfolgten mit Dosen von 0,01 bis 100 nmol in jeweils 30 µl mit der niedrigsten Konzentration beginnend, wobei jede Dosis drei Mal injiziert und der gemessene Effekt in der Auswertung gemittelt wurde. Zwischen den einzelnen Injektionen wurde jeweils 30 Sekunden gewartet, so dass sich der RBF wieder auf den basalen Wert normalisiert hatte (siehe Abbildung 14: Versuchsdurchführung der Versuchsreihe „RBF“). Nach Abschluss der drei Injektionen einer jeden Dosis wurde der Katheter zunächst mit 50 µl der folgenden Konzentration gespült, um den Totraum des Katheters mit der neuen Konzentration zu füllen. Adenosin Injektionen von 0,01 bis 10 nmol hatten stets nur Einfluss auf den RBF, nicht auf den systemischen arteriellen Blutdruck.

Höhere Dosen (30 und 100 nmol) hatten zum Teil einen leichten Abfall des systemischen Blutdrucks zur Folge, jedoch erst nachdem die RBF-Reaktion schon fast vollständig vorüber war.

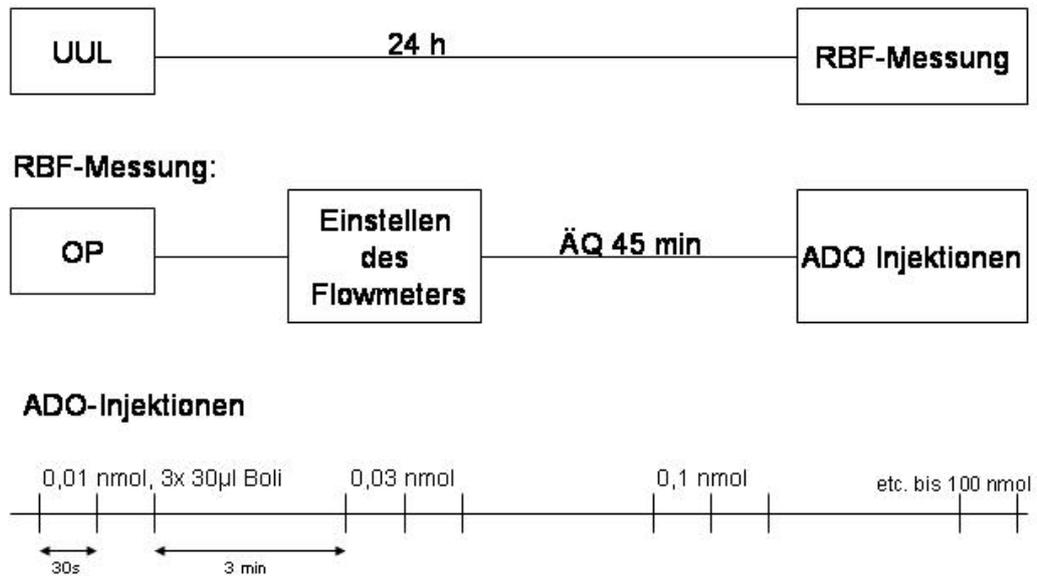
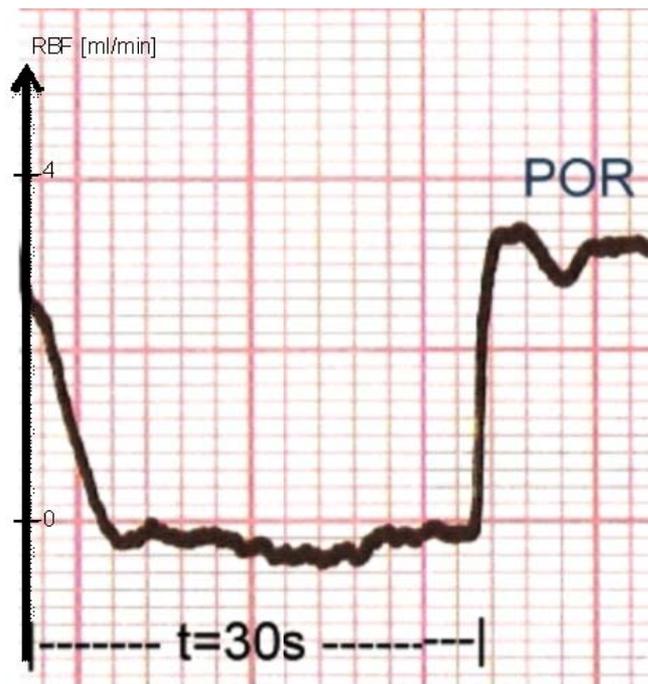


Abbildung 14: Versuchsdurchführung der Versuchsreihe „RBF“; UUL=Operation der Ureterligatur; RBF=renaler Blutfluss, ÄQ=Äquilibration, ADO=Adenosin

2.6.2.2 Untersuchung zu endogenem und exogenem Adenosin bei ADO-A₁-Rezeptorblockade (FK838)

In dieser Versuchsreihe „FK838“ wurde zunächst der linke (UUL-Gruppen) bzw. kein (SHAM-Gruppe) Ureter ligiert. Am darauffolgenden Tag (nach 24h) erfolgte die RBF-Operation gefolgt von einer 45 minütigen Äquilibration. Der anschließende Versuch gliederte sich in 3 Perioden: Einer Vorperiode (VP) bei der in jeder Gruppe lediglich NaCl 0,85% pH 7,4 infundiert wurde und zwei Hauptperioden (HP1 und HP2) in denen statt NaCl entweder das Medikament FK838 oder das Vehikel (NaCl 0,85% pH=8) infundiert wurde. Zwischen der VP und der HP1 wurde eine zweite Äquilibration von 25 min, zwischen HP1 und HP2 eine dritte von 20 min eingehalten. Die Umstellung von NaCl auf FK838 bzw. Vehikel erfolgte vor Beginn der zweiten Äquilibration.

Um die Wirkung des endogenen Adenosins auf den RBF zu messen, wurden jeweils zu Beginn einer Periode zwei sogenannte post obstruktive Reaktionen (PORs) untersucht. Dabei wurde die A. renalis distal des Flow-Kopfes jeweils für 30 Sekunden abgeklemmt. In dieser Zeit konnte das produzierte endogene Adenosin die Niere nicht erreichen und kummulierte. Nach 30 Sekunden wurde die Gefäßklemme geöffnet und die POR des renalen Blutflusses aufgezeichnet.



s führt
i einer

Nach den zwei PORs erfolgten, wie in 2.6.2.1 aufgeführt, jeweils die Perioden mit den exogenen Adenosininjektionen.

Tabelle 1: Versuchsdurchführung der Versuchsreihe „FK838“

Vorperiode (VP)	Hauptperiode 1 (HP1)	Hauptperiode 2 (HP2)
NaCl 0,85% 3ml/h	FK838 0,036 mg/h/100g Tier	

2.7 Auswertung

2.7.1 Versuchsprotokoll

In den Versuchsprotokollen wurden neben Tiernummer und Datum die möglichen Störfaktoren Tiergewicht, Operationsdauer UUL, Operationsdauer RBF, Ketamin-Narkosekonzentration, Trapanal-Narkosekonzentration und Menge an infundierten Flüssigkeiten festgehalten. Ebenfalls wurde nach Versuchsende die untersuchte Niere entnommen, mit Zellstoff getrocknet, durch Auspressen von Urinresten befreit und das Nierengewicht notiert.

2.7.2 Schreiberaufzeichnung

Sobald in der RBF-Operation (s. 2.3.2) der Femoraliskatheter gelegt wurde, begann die Aufzeichnung der Herzfrequenz und des Blutdrucks über einen Druckaufnehmer und einen Mehrkanalschreiber (Linear Corder MARK VII, Western Graphtec, Santa Ana, CA, U.S.A.). Nach Abschluss der Flankenoperation wurde zusätzlich auch der renale Blutfluss über das elektromagnetische Flowmeter auf dem dritten Kanal aufgezeichnet (s. Abbildung 6). Die Aufzeichnungsgeschwindigkeit betrug während den Äquilibrierungsphasen 5 mm/min, während den Versuchen (PORs bzw. Adenosininjektionen) 500 mm/min.

2.7.3 Datenerhebung

Alle Daten des Versuchsprotokolls und die durch den Schreiber aufgezeichneten Informationen (Herzfrequenz, Blutdruck und die Veränderungen des renalen Blutflusses auf Adenosin) wurden für jedes Tier auf einem gesonderten Datenblatt in eine Microsoft Excel®-Tabelle eingetragen. Dabei wurde für jede Adenosininjektion bzw. POR der basale RBF vor Injektion, das Tal mit dem tiefsten Punkt bei der Injektion und der höchste Punkt bei der anschließenden Hyperämie notiert. Über die Tabelle wurden dann Mittelwerte für jede Dosis gebildet und jeweils der absolute delta RBF, als auch delta RBF in Prozent vom Ausgangswert berechnet.

$$\text{dRBF [\%]} = (\text{RBF}_{\text{basal}} - \text{RBF}_{\text{minimum}}) / \text{RBF}_{\text{basal}}$$

2.7.4 Statistische Auswertung

Mit Hilfe von JMP 7© wurden für die gesammelten Werte ein 4-Parameter-Modell einer Dosis-Wirkungs-Kurve der Formel $\text{Bottom} + \frac{(\text{Top} - \text{Bottom})}{\left(1 + \left(\frac{\text{ADO}}{\text{EC50}}\right)^{\text{Hill}}\right)}$

erstellt. Dabei gilt: Bottom=minimaler dRBF, Top=maximaler dRBF, ADO=Dosis der Adenosininjektion, EC50=Adenosinkonzentration des halbmaximalen dRBF und Hill=Hill-Koeffizient.

Diese Parameter wurden nun zwischen den Gruppen bzw. zwischen den Perioden mit dem Tukey-Kramer HSD Test verglichen. Als signifikant wurden Unterschiede mit $p < 0.05$ angesehen. Zur besseren Darstellung wurden mit Sigma Plot 10 © Kurven gefittet. Alle Angaben in Tabellen oder Schaubildern entsprechen Mittelwerten \pm SEM.

3 Ergebnisse

3.1 Störfaktoren

Die Gruppen der Versuchsreihe „RBF“ wurden hinsichtlich der Störfaktoren Tiergewicht, Herzfrequenz während der OP, MAP, Ketaminkonzentration bei der UUL-Operation, Dauer der UUL-Operation, Trapanalkonzentration der RBF-Operation, Dauer der RBF-Operation, Temperatur und Kochsalzinfusion verglichen und in

Tabelle 2 zusammengefasst. Für die Gruppen der Versuchsreihe „FK838“ (s. Tabelle 3) wurde zusätzlich als Störfaktor die infundierte Menge FK838 berücksichtigt und die Gruppen nach Perioden aufgeschlüsselt. In der Gruppe 2, in der kein FK838 sondern Vehikel gegeben wurde, entspricht der Wert in der Tabelle der Menge des infundierten Vehikels! Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppen wurden mit einem * markiert, signifikante Unterschiede innerhalb der Perioden mit einem †. So zeigte sich für die Versuchsreihe „RBF“ lediglich für die Operationszeit, die in der UUL-Gruppe im Mittel 5 min länger war, verglichen mit der KONTRA-Gruppe bzw. 8 min, verglichen mit der SHAM-Gruppe. Auch benötigte diese Gruppe im Schnitt etwas mehr Ketamin, als die beiden anderen Gruppen.

In der Versuchsreihe „FK838“ fiel auf, dass es über die Perioden und damit über die Dauer der Operation in allen drei Gruppen zu einem Anstieg des MAP im Vergleich zur Vorperiode der jeweiligen Gruppe kam.

Ergebnisse

Tabelle 2: Störfaktoren für Versuchsreihe „RBF“: Auflistung aller beobachteten möglichen Störfaktoren als Mittelwerte +/- Standard Error of the Mean;
* p<0,05 versus Gruppe 1 (=SHAM)

Gruppe	Tiergewicht [g]	MAP [mmHg]	HF [1/s]	Tmp [°C]	NarKet [%]	NarTra [mg/kgKG]	OpRBF [min]	OpUUL [min]	NaCl [ml]
1	312,5 +/- 23,98	107,83 +/- 8,94	345,83 +/- 23,39	37,2 +/- 0	60 +/- 0	106,67 +/- 19,03	100,33 +/- 9,41	15,17+/- 3,32	9,45+/-2,18
2	315,63 +/- 27,17	108,75 +/- 12,18	348,13 +/- 24,14	37,2 +/- 0	60 +/- 0	106,25 +/- 13,26	105,5 +/- 16,03	14,63+/- 3,45	9,44+/-1,81
3	306,25 +/- 22,06	111,63 +/- 8,66	352,5 +/- 21,36	37,2 +/- 0	67,5 +/- 9,75 *	111,25 +/- 25,39	108,5 +/- 19,36*	15,88+/- 3,88	9,69+/-2,06

Tabelle 3: Störfaktoren für Versuchsreihe „FK838“: Auflistung aller beobachteten möglichen Störfaktoren als Mittelwerte +/- Standard Error of the Mean;

* p<0,05 versus Gruppe 2 (=Vehikel) in der jeweiligen Periode; † p<0,05 versus Periode 1 der jeweiligen Gruppe

Gruppe	Periode	Tiergewicht [g]	HF [1/s]	MAP [mmHg]	Tmp [°C]	NarKet [%]	NarTra [mg/kgKG]	OpUUL [min]	OpRBF [min]	NaCl [ml]	FK838 [ml]
1	1	302 +/- 17,1	323 +/- 24,69	96,2 +/- 7,74	37,2+/-0	60+/-0	108 +/- 9,91	13,2 +/- 3,29	92,6 +/- 8,45	8,1 +/- 0,67	7,1 +/- 0,67
	2	302 +/- 17,1	311 +/- 39,99	99,2 +/- 6,11	37,2+/-0	60+/-0	108 +/- 9,91	13,2 +/- 3,29	92,6 +/- 8,45	8,1 +/- 0,67	7,1 +/- 0,67
	3	302 +/- 17,1	324 +/- 22,93	104 +/- 16,43 †	37,2+/-0	60+/-0	108 +/- 9,91	13,2 +/- 3,29	92,6 +/- 8,45	8,1 +/- 0,67	7,1 +/- 0,67
2	1	298 +/- 22,97	322 +/- 24,27	94 +/- 2,79	37,2+/-0	60+/-0	112 +/- 9,91	13,6 +/- 1,98	88,4 +/- 16,25	8,1 +/- 0,67	7 +/- 0,55
	2	298 +/- 22,97	309 +/- 16,74 †	99,6 +/- 6,42 †	37,2+/-0	60+/-0	112 +/- 9,91	13,6 +/- 1,98	88,4 +/- 16,25	8,1 +/- 0,67	7 +/- 0,55
	3	298 +/- 22,97	320 +/- 22,16	105,8 +/- 13,44 †	37,2+/-0	60+/-0	112 +/- 9,91	13,6 +/- 1,98	88,4 +/- 16,25	8,1 +/- 0,67	7 +/- 0,55

Ergebnisse

3	1	302 +/- 16,49	328 +/- 11,79	94,6 +/- 7,42	37,2+/-0	60+/-0	110 +/- 11,08	12 +/- 4,24	83 +/- 4,05	8,1 +/- 0,74	7,3 +/- 0,61
	2	302 +/- 16,49	323 +/- 9,91 *	100 +/- 7,94 †	37,2+/-0	60+/-0	110 +/- 11,08	12 +/- 4,24	83 +/- 4,05	8,1 +/- 0,74	7,3 +/- 0,61
	3	302 +/- 16,49	323 +/- 14,86	101,8 +/- 11,92 †	37,2+/-0	60+/-0	110 +/- 11,08	12 +/- 4,24	83 +/- 4,05	8,1 +/- 0,74	7,3 +/- 0,61

3.2 Versuchsreihe „RBF“

3.2.1 Untersuchungen zum absoluten renalen Blutfluss

Bei den Untersuchungen zum absoluten renalen Blutfluss wurden zwischen allen drei Gruppen (SHAM, KONTRA und UUL) signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ festgestellt:

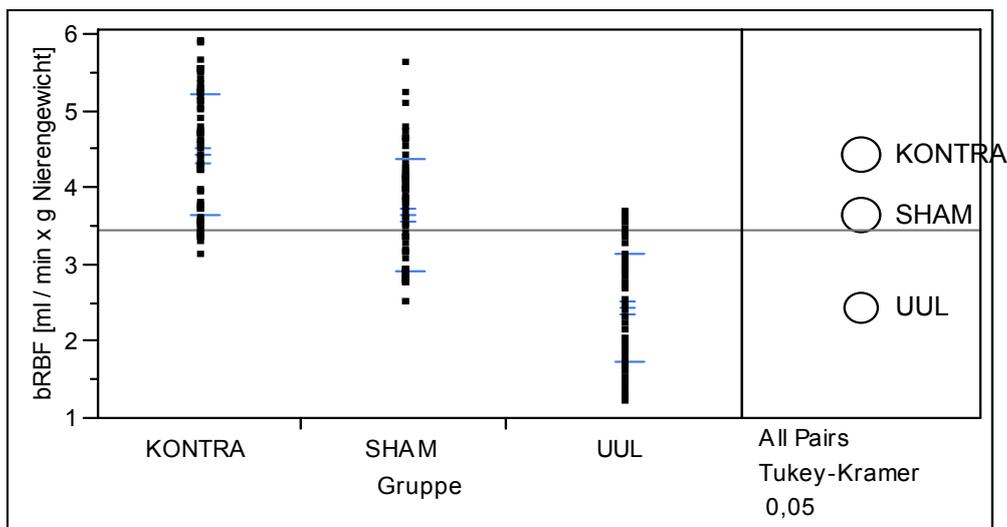


Abbildung 16: Analyse des basalen RBF nach Gruppen: Die KONTRA Gruppe mit dem höchsten durchschnittlichen Fluss, gefolgt von der SHAM-Gruppe und schließlich mit dem niedrigsten Fluss die UUL-Gruppe. Markiert sind jeweils Mittelwert, SEM und die 95% Konfidenzintervalle; rechts: Vergleich der Gruppen nach Tukey-Kramer

Die SHAM-Gruppe, also die scheinoperierte Gruppe, hat einen durchschnittlichen basalen RBF von $3,75 \pm 0,72$ ml / min x g Nierengewicht. Nach Ligatur des Ureters zeigte sich in der UUL-Gruppe nach 24h ein deutlicher Abfall des RBF auf durchschnittlich $2,43 \pm 0,71$ ml / min x g Nierengewicht, was einem Abfall auf 64,8 % entspricht. Kontralateral zur Ureterligatur konnte, wie in der KONTRA Gruppe gezeigt wurde, ein Anstieg des RBF auf durchschnittlich $4,25 \pm 0,88$ ml / min x g Nierengewicht nachgewiesen werden, was im Vergleich zum unligierten Tier ein Plus von 13,3

%, im Vergleich zum UUL-Tier gar ein Plus von 74,9 % bedeutet (s. Abbildung 16).

3.2.2 Untersuchungen zur Adenosinwirkung bei UUL

Untersucht wurde die Wirkung von Adenosin Einzelinjektionen auf den renalen Blutfluss. Hier zeigte sich bei der ureterligierten Gruppe eine deutlich stärkere Reaktion auf die injizierten Adenosindosen als in den Gruppen KONTRA und SHAM. In Abbildung 17 ist der Unterschied zwischen den Gruppen im Vergleich anhand einer Originalaufzeichnung dargestellt:

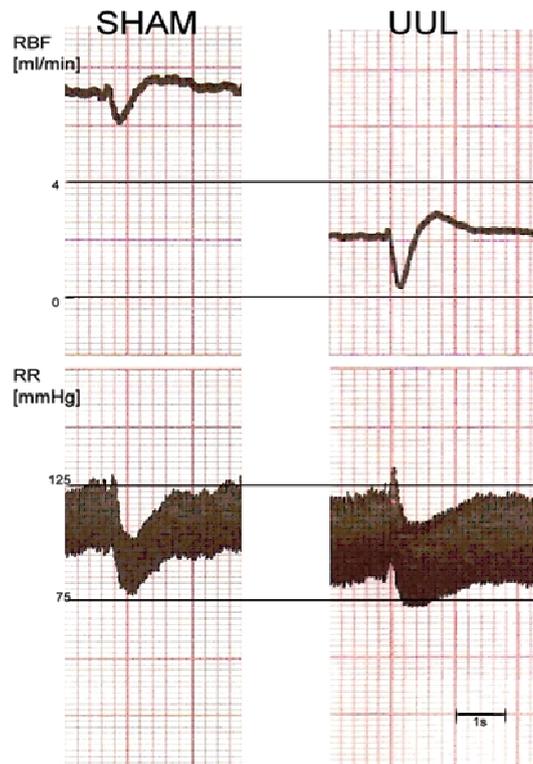


Abbildung 17: Originalaufzeichnungen zweier Adenosin-Einzelinjektionen jeweils der Adenosin-Dosis 10nmol: Links das Tier aus der SHAM-Gruppe hat einen deutlich höheren basalen RBF als das UUL-Tier rechts. Das UUL-Tier reagiert durch einen deutlich stärkeren RBF-Abfall auf die Injektion derselben Dosis Adenosin (10 nmol) als das SHAM-Tier.

Der maximale Abfall des RBF im Vergleich zum Ausgangswert betrug bei maximaler Dosis Adenosin (100 nmol) in der UUL-Gruppe durchschnittlich $84,77 \pm 15,2 \%$, in der KONTRA Gruppe $49,6 \pm 11,5 \%$ und in der SHAM-Gruppe $49,29 \pm 14,2 \%$. Damit ergab sich ein hochsignifikant stärkerer Abfall des RBF auf Adenosininjektionen in der UUL-Gruppe hinsichtlich des Maximalwerts, während sich zwischen den Gruppen SHAM und KONTRA kein signifikanter Unterschied zeigte (s. Abbildung 19). In der SHAM-Gruppe zeigte sich ein Abfall des RBF um 20 % erst bei 1,1 nmol Adenosin, bei der Gruppe KONTRA bei 0,83 nmol und bei der Gruppe UUL dagegen bereits bei der Injektion von 0,18 nmol Adenosin. Dies entspricht zwischen den Gruppen UUL und SHAM um eine Rechtsverschiebung. Die Dosis, die zu einem RBF-Abfall um die Hälfte des Maximalwertes führte (EC_{50}) betrug $2,69 \pm 0,2$ nmol Adenosin in der SHAM-Gruppe vs. nur $0,82 \pm 0,2$ nmol in der UUL-Gruppe und war damit ebenfalls mit $p < 0,01$ signifikant verschieden. Deutlich auffälliger, als die Rechtsverschiebung ist jedoch die Änderung des maximal erreichten dRBF: Abbildung 19 konzentriert sich auf die Darstellung des hochsignifikanten Unterschied des maximalen RBF-Abfalls zwischen der UUL-Gruppe und den beiden anderen Gruppen, also bei der höchsten Adenosin-Dosis von 100 nmol. In Abbildung 18 ist eine Dosis-Wirkungs-Kurve dargestellt, in der man den Abfall des RBF bei den jeweiligen Adenosin-Dosen sehen kann. Hier wird deutlich, dass die Linie für die UUL-Gruppe deutlich über den beiden anderen, die fast identisch sind, liegt und sich sowohl in Maximalwert als auch in der Steigung von ihnen unterscheidet.

Ergebnisse

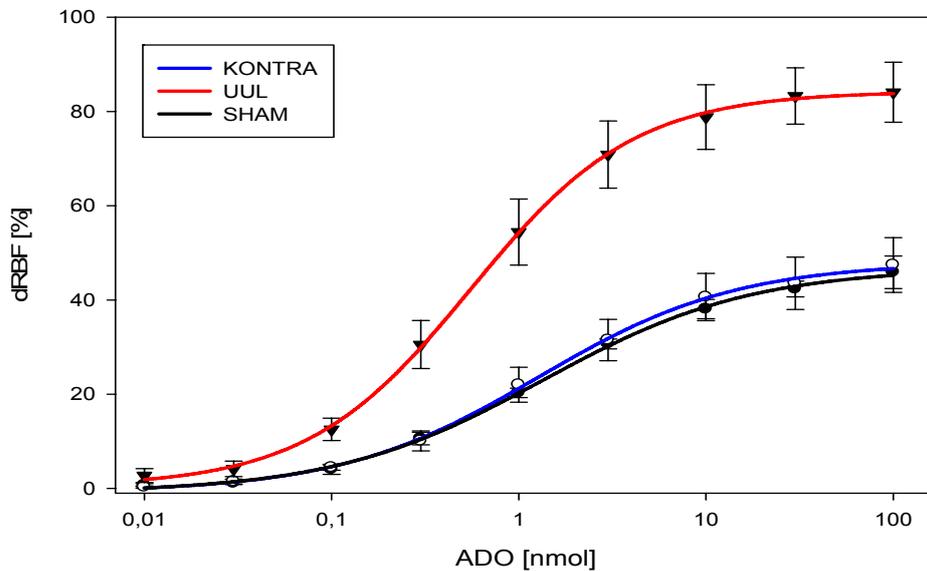


Abbildung 18: Overlay Plot der Dosis-Wirkungs-Kurve Adenosin-delta RBF: Auf der X-Achse ist die Konzentration der Adenosin-Injektionen, auf der Y-Achse der Abfall des renalen Blutflusses im Vergleich zum Ausgangswert aufgetragen. Abweichungen als SEM.

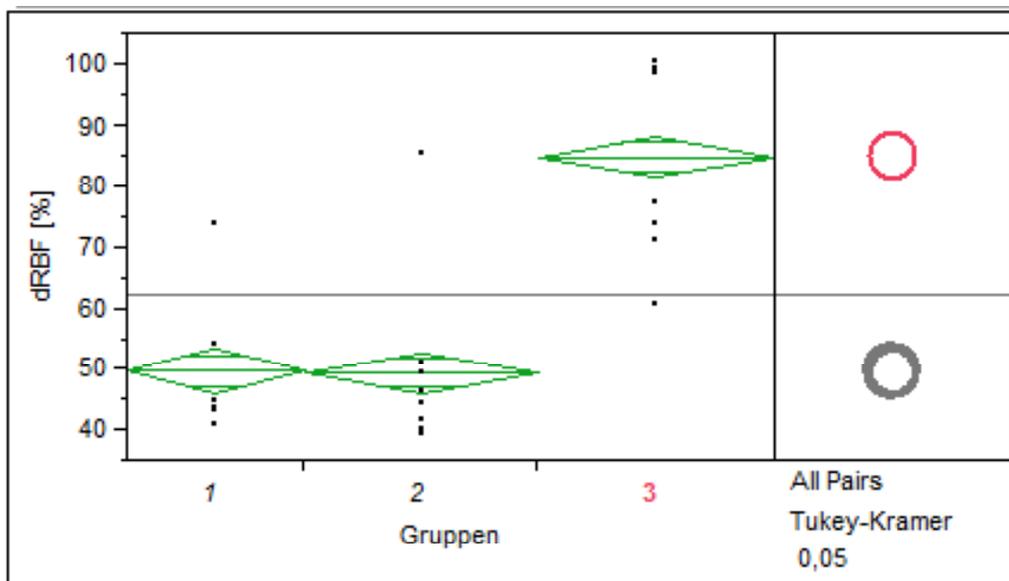


Abbildung 19: Vergleich des maximalen dRBF in % bei Adenosin=100 nmol; Hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) des maximalen dRBF zwischen Gruppe 3 (UUL) und Gruppen 1 (SHAM) und 2 (KONTRA); rechts: Signifikanzanalyse anhand Tukey-Kramer HSD

Der Hill-Koeffizient betrug in der SHAM-Gruppe $0,86 \pm 0,13$, in der KONTRA Gruppe $0,96 \pm 0,2$ und in der UUL-Gruppe $1,13 \pm 0,12$ und war damit in der UUL-Gruppe mit $p < 0,05$ gegen die beiden anderen Gruppen signifikant verschieden.

3.3 Versuchsreihe „FK838“

3.3.1 Untersuchungen zum absoluten renalen Blutfluss

In der Versuchsreihe „RBF“ (s. 3.3.1) wurde bereits gezeigt, dass die UUL in einem verminderten basalen RBF resultiert. Hier soll nun der absolute RBF über die Perioden der FK838-Gabe im Gegensatz zum Vehikel betrachtet werden. In Abbildung 20 zeigt sich in der Vehikelgruppe keine signifikante Änderung des basalen Absolutflusses über die Perioden. In Abbildung 21 wurden die beiden FK838-Gruppen SHAM + FK838 und UUL + FK838 zusammen genommen und der durchschnittliche basale RBF über die Perioden dargestellt. Hier zeigte sich ein leichter Abfall des bRBF in den Perioden, in denen FK838 infundiert wurde, der in der HP2 mit $p < 0,05$ zur VP signifikant ist.

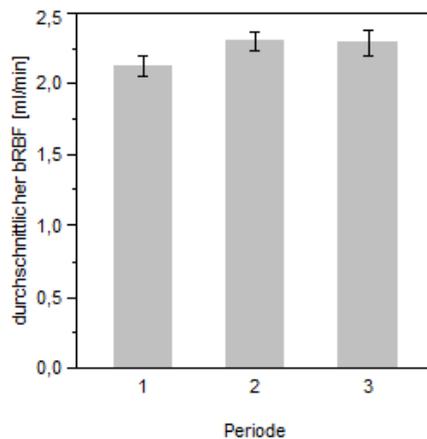


Abbildung 20: durchschnittlicher basaler RBF in der Gruppe UUL + VHC über die Perioden (1=VP, 2=HP1, 3=HP2)

Der bRBF von durchschnittlich $3,17 \pm 1,2$ ml/min aus der VP sank durch die Medikamentengabe auf $3,00 \pm 1,2$ ml/min in der HP1 und $2,7 \pm 1,1$ ml/min in der HP2.

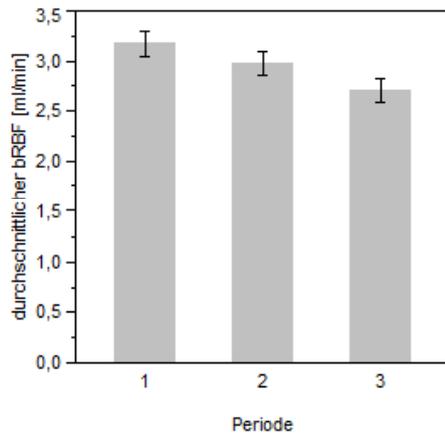


Abbildung 21: durchschnittlicher basaler RBF in den FK838-Gruppen über die Perioden (1=VP, 2=HP1, 3=HP2)

3.3.2 Exogenes Adenosin (Einzelinjektionen)

In dieser Versuchsreihe wurden ebenfalls die Reaktionen des RBF auf Adenosin-Einzelinjektionen beobachtet. Diese sollen zunächst jeweils innerhalb der Gruppen-also die Vorperiode, ohne Applikation von FK838, mit den beiden Hauptperioden mit Medikament-verglichen werden. Anschließend sollen die Perioden selbst betrachtet, und so die Gruppen untereinander verglichen werden.

3.3.2.1 Betrachtung der Gruppen

- SHAM + FK838

In der scheinoperierten Gruppe sieht man, wie in Abbildung 22 dargestellt, in der Vorperiode einen stärkeren Abfall des RBF pro injizierter Adenosin-Dosis, als in den beiden Hauptperioden, in denen FK838 infundiert wurde. Dabei ist sowohl eine Änderung des maximal erreichten RBF-Abfalls von $36,71 \pm 8,9 \%$ auf $9,38 \pm 6,7 \%$ zu beobachten als auch eine deutliche Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve um den Faktor 22. Der Hill-Koeffizient betrug in der VP $0,89 \pm 0,09$, in der HP2 dagegen $2,26 \pm 1,54$. Betrachtet man die Dosis von Adenosin, die benötigt wurde, um einen RBF-Abfall um 20% zu erreichen, so wurden dafür in der VP 2,94 nmol Adenosin

benötigt. Nach Applikation des Medikamentes konnte wie in Abbildung 22 zu sehen, auch bei hohen Adenosin-Dosen kein dRBF von 20% mehr erreicht werden.

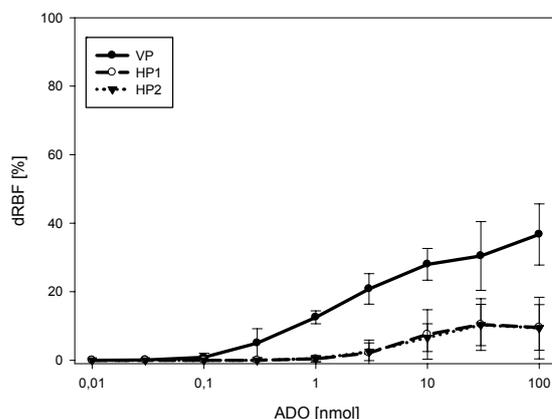


Abbildung 22: Dosis-Wirkungs-Kurve der Gruppe SHAM + FK838: Zu sehen ist der stärkere RBF-Abfall in der Vorperiode verglichen zu den beiden Hauptperioden über alle Adenosin-Dosen.

- UUL + VHC

In dieser ureterligierten Gruppe konnte, wie in Abbildung 23 dargestellt, durch Gabe des Vehikels keine Änderung in der Reaktion des RBF auf die injizierten Adenosin-Dosen über die Perioden beobachtet werden. Während als Maximalreaktion bei der Injektion von 100nmol Adenosin in der Vorperiode ein dRBF von $73,71 \pm 13,3$ % erreicht wurde, bleibt der Maximalwert in der Hauptperiode 1 bei $dRBF=72,75 \pm 10,4$ % und steigt in der Hauptperiode 2 auf $dRBF=82,72 \pm 16,2$ %. Der Hill-Koeffizient änderte sich ebenfalls nicht signifikant. Auch die Dosis von Adenosin, die in dieser Gruppe benötigt wurde, um einen RBF-Abfall von 20% zu erreichen, blieb mit 0,14 nmol in der VP gegenüber 0,16 bzw. 0,13 nmol in den beiden HP weitgehend konstant.

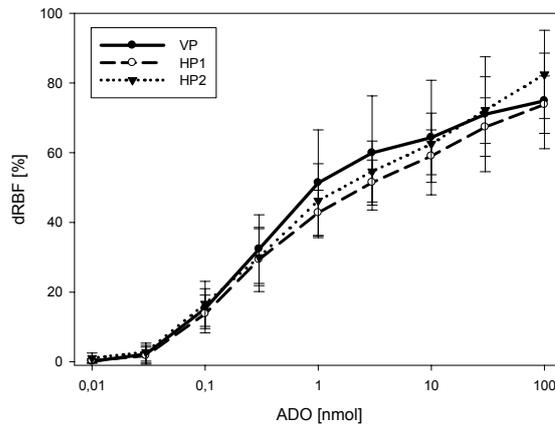


Abbildung 23: Dosis-Wirkungs-Kurve der Gruppe UUL + VHC: Die Dosis-Wirkungskurve wurde durch Applikation des Vehikels keinen signifikanten Änderungen unterworfen.

- UUL + FK838

In dieser ureterligierten Gruppe konnte, wie in Abbildung 24 dargestellt, durch die Gabe die Applikation von FK838 in den beiden Hauptperioden, wie schon in der Gruppe SHAM + FK838, eine Änderung des prozentualen RBF-Abfalls pro injizierter Adenosin-Dosis beobachtet werden. Der maximale RBF-Abfall auf eine Adenosin-Dosis von 100 nmol sank von $76,52 \pm 25,3 \%$ in der VP auf $58,47 \pm 16,3 \%$ in der HP1 und $54,98 \pm 15 \%$ in der HP2. Auch bewirkte das Medikament eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve um den Faktor 10. Der Hill-Koeffizient betrug in der VP $0,89 \pm 0,2$, in den HP dagegen $1,54 \pm 0,4$ und $1,43 \pm 0,39$. In dieser Gruppe zeigte sich auch bei der Betrachtung der Adenosin-Dosis, die für einen RBF-Abfall von 20% benötigt wurde, ein signifikanter Unterschied zwischen der VP und den beiden HP. Die Gabe des Medikamentes bewirkte eine Rechtsverschiebung der Dosis von 0,15 nmol in der VP auf 1,60 bzw 1,78 nmol in den HP1 und HP2.

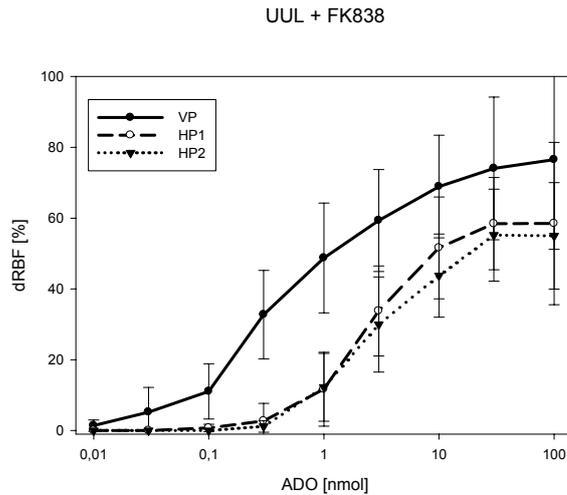


Abbildung 24: Dosis-Wirkungs-Kurve der Gruppe UUL + FK838: Zu sehen ist der stärkere RBF-Abfall in der Vorperiode verglichen zu den beiden Hauptperioden über alle Adenosin-Dosen.

3.3.2.2 Betrachtung der Perioden

- Vorperiode

Zunächst sollen die Gruppen in der Vorperiode untereinander verglichen werden. Da hier noch kein Medikament appliziert wurde, gleicht der Versuchsaufbau der Versuchsreihe „RBF“ (siehe 2.6.1) mit dem Unterschied, dass nun zwei ureterligierte einer scheinoperierten Gruppe gegenüberstehen. Die UUL-Gruppen UUL + VHC und UUL + FK838 unterscheiden sich in der VP daher noch nicht und sind bis zum Beginn von HP1 praktisch identisch. Wie bereits in den Ergebnissen der Versuchsreihe „RBF“ (siehe 3.2.2), fand sich auch hier in den UUL-Gruppen ein deutlich höherer Abfall des RBF pro injizierter Adenosin-Dosis, als in der Kontrollgruppe. Abbildung 25 zeigt diesen stärkeren prozentualen RBF-Abfall über alle Adenosin-Dosen von 0,01 bis 100 nmol.

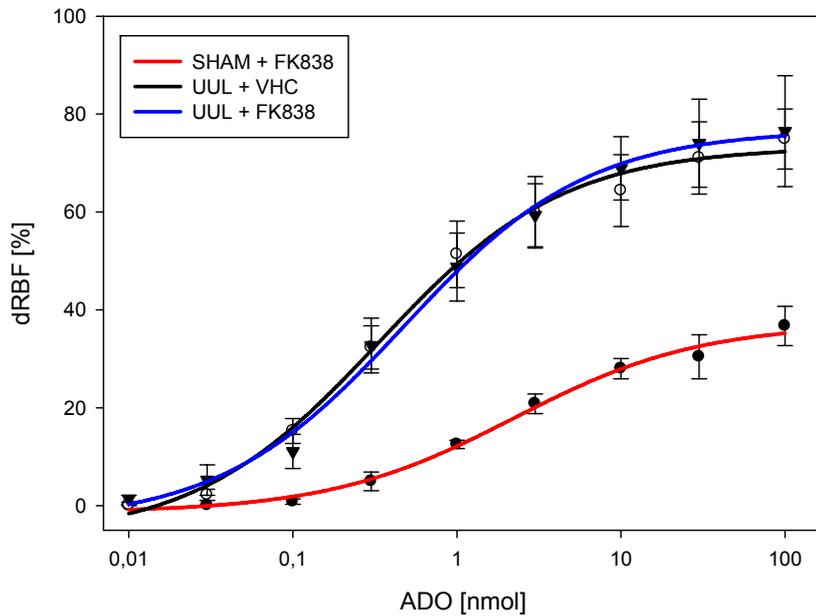


Abbildung 25: Dosis-Wirkungs-Kurve in der Vorperiode: Der prozentuale RBF-Abfall ist bei den UUL-Gruppen signifikant höher, als bei der SHAM-Gruppe.

Auch hier zeigt sich neben einer Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve durch die Ureterligatur um etwa Faktor 18 eine deutlich steilere Kurve bei den UUL-Gruppen mit einem höheren maximalen dRBF. Der maximal erreichte $dRBF_{max}$ bei der Injektion von 100 nmol Adenosin betrug in den UUL-Gruppen $73,71 \pm 13,3 \%$ bzw. $77,65 \pm 19,2 \%$ gegenüber $37,38 \pm 9,4 \%$ in der SHAM-Gruppe. Dieser hochsignifikante Unterschied soll in Abbildung 26 noch einmal verdeutlicht dargestellt werden.

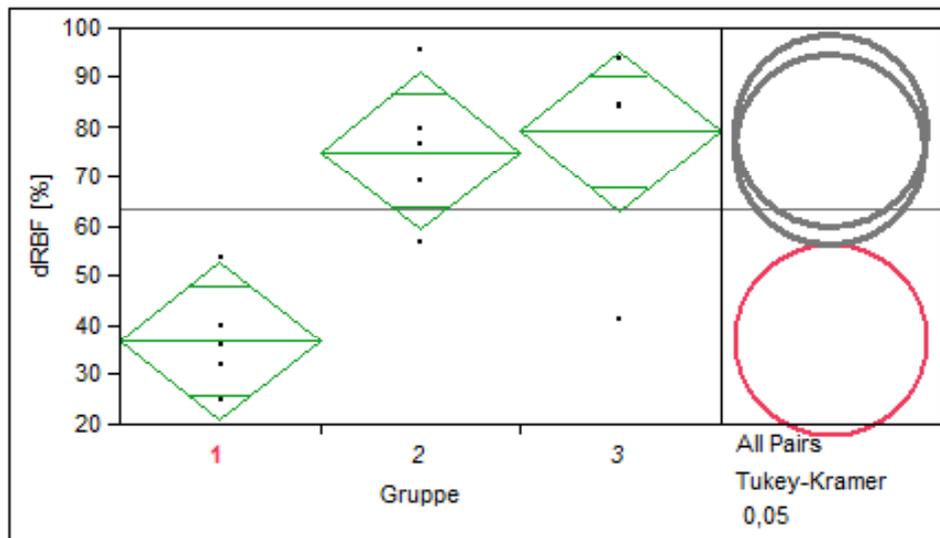


Abbildung 26: Vorperiode; Vergleich des maximalen dRBF in % bei Adenosin=100 nmol der Gruppen SHAM (1), UUL + VHC (2) und UUL + FK838 (3).

- Hauptperioden

In den beiden Hauptperioden 1 und 2 wurden nun in der SHAM-Gruppe und in einer UUL-Gruppe FK838 infundiert. Die andere UUL-Gruppe wurde mit dem Vehikel behandelt. In beiden Hauptperioden zeigte sich das gleiche Bild, wie Abbildung 27 verdeutlichen soll: Die geringste Reaktion auf die Adenosininjektion in Form eines RBF-Abfalls zeigt die Gruppe SHAM + FK838. Mit dem stärksten RBF-Abfall reagiert weiterhin die Gruppe UUL + VHC auf die Injektionen, zwischen diesen beiden Gruppen steht die Gruppe UUL + FK838. Während in Abbildung 25 die Kurven der UUL-Gruppen, die zu diesem Zeitpunkt noch dieselbe Behandlung erfahren haben, zusammenfallen, erkennt man in Abbildung 27, wie sich die UUL + FK838-Gruppe von der UUL + VHC-Gruppe entfernt und neben einer Rechtsverschiebung und einer steileren Steigung einen niedrigeren Maximalwert aufweist.

Ergebnisse

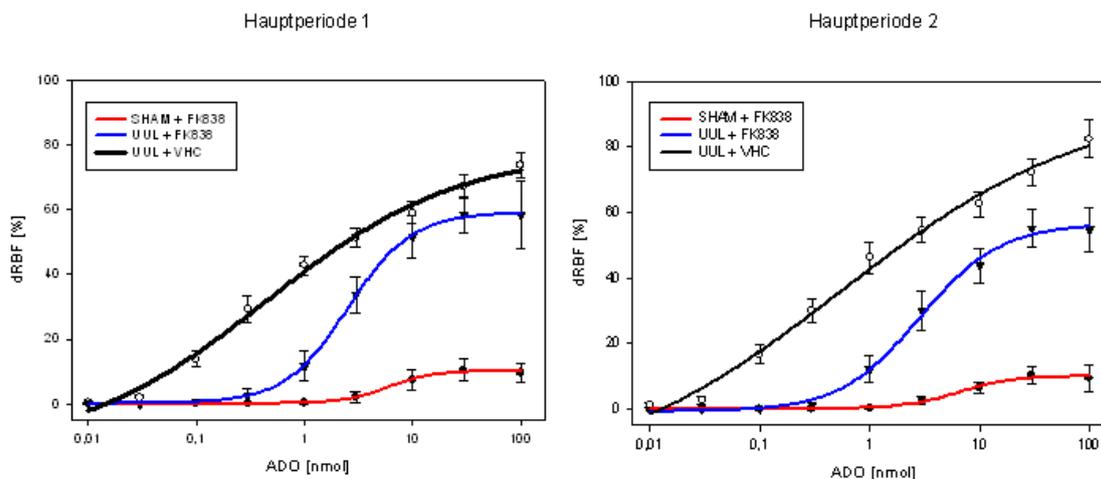


Abbildung 27: Dosis-Wirkungs-Kurven der Hauptperioden 1 und 2 während FK838- bzw. Vehikel-Infusion im Vergleich: Auf der x-Achse ist jeweils die Konzentration der Adenosin-Injektionen, auf der y-Achse der RBF-Abfall aufgetragen

Damit waren hinsichtlich des erreichten $dRBF_{max}$ alle 3 Gruppen mit $p < 0,05$ voneinander signifikant verschieden.

3.3.2.3 Betrachtung von Gruppen und Perioden

Vergleicht man nun sowohl die Gruppen untereinander, als auch deren zeitlichen Verlauf, zeigt sich wie oben beschrieben in den beiden FK838-Gruppen jeweils ein mit $p < 0,05$ signifikanter Unterschied zwischen dem erreichten $dRBF_{max}$ in der Vorperiode und dem $dRBF_{max}$ in den beiden Hauptperioden. Ein Unterschied zwischen den beiden Hauptperioden besteht jeweils nicht. Ebenso besteht kein signifikanter Unterschied zwischen VP, HP1 und HP2 in der Vehikel-Gruppe.

Die Konzentration von Adenosin, bei der der halbmaximale Effekt (EC_{50}) – also der halbmaximale $dRBF$ - erzielt wird, variiert in der Vorperiode zwischen der SHAM-Gruppe ($EC_{50} = 2,69 \pm 0,61$ nmol) und den UUL-Gruppen ($EC_{50} = 0,56 \pm 0,45$ nmol) um den Faktor 4,7. Während der EC_{50} über die 3 Perioden in der Vehikelgruppe (UUL + VHC) nicht signifikant auf 0,84 nmol ansteigt, steigt er in den FK838-Gruppen von 2,69 nmol auf $7,80 \pm 1,1$ nmol

(SHAM + FK838) bzw. von 0,56 nmol auf 4,59 nmol (UUL + FK838) und ist damit in der UUL-Gruppe mit $p < 0,05$ signifikant gegen die Vorperiode.

Der Hill-Koeffizient war in der VP bei allen Gruppen vergleichbar (ca. 0,9), stieg dann in den Perioden HP1 und HP2 in den FK838-Gruppen jedoch deutlich an (HP1: $2,21 \pm 0,8$ (SHAM + FK838), $1,54 \pm 0,4$ (UUL + FK838); HP2: $2,26 \pm 0,54$ (SHAM + FK838), $1,32 \pm 0,43$ (UUL + FK838) und war damit signifikant verschieden von der Vehikelgruppe, in der er annähernd unverändert blieb (siehe oben).

3.3.3 Endogenes Adenosin

In der Untersuchung des endogenen Adenosins konnte sich nach Durchführung einer POR (s. 2.6.2.2), ebenfalls, wie bei den Einzelinjektionen, die typische Reaktion des RBF auf Adenosin reproduzieren lassen (siehe Abbildung 15, Seite 28).

Während der durchschnittliche dRBF auf eine POR in der Vorperiode 32,52 % (UUL + FK838), 29,96 % (SHAM + FK838) bzw. 28,61 % (UUL + VHC) betrug, fiel dieser in der Hauptperiode 1 auf 9,64 % (UUL + FK838), 5,38 % (SHAM + FK838) bzw. 26,10 % (UUL + VHC), in der Hauptperiode 2 auf 0,80 % (UUL + FK838), 1,9 % (SHAM + FK838) und 24,10 % (UUL + VHC). Damit ergeben sich in den FK838-Gruppen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ % zwischen den Vorperioden und den Hauptperioden. Diese Verminderung des RBF-Abfalls ist in Abbildung 28 veranschaulicht. In der VP liegen alle Gruppen zusammen. Ab der HP1 ist in den FK838-Gruppen ein deutlicher Abfall des dRBF, also der Reaktion auf endogenes Adenosin, zu beobachten.

Zwischen den Hauptperioden selbst und in der Vehikelgruppe besteht jeweils kein Unterschied. In der Vorperiode besteht zwischen der SHAM-Gruppe und der UUL + FK838-Gruppe ein signifikanter Unterschied, nicht jedoch von der SHAM-Gruppe zu der UUL + VHC-Gruppe.

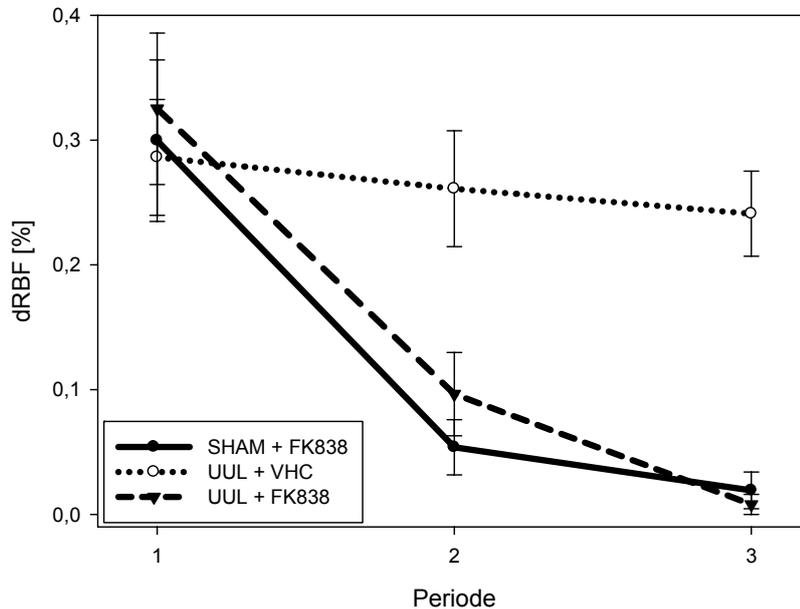


Abbildung 28: Abfall des RBF in % auf endogenes Adenosin (POR): In den beiden FK838-Gruppen ist ab Periode 2, also der ersten Hauptperiode, ein signifikant niedrigerer dRBF zu beobachten als in der Vehikelgruppe.

3.3.4 Hyperämie

Bei der Untersuchung der Hyperämie, die den jeweiligen Adenosin-Einzelinjektionen folgt, also des diesmal positiven dRBF – also einer Zunahme des renalen Blutflusses (s. auch Abbildung 13, S.26) – wurde eine Änderung durch Infusion des FK838 beobachtet. Wie in Abbildung 29 zu sehen, zeigte sich in der Gruppe UUL + FK838 eine signifikante Steigerung der Hyperämie in den Hauptperioden, in denen das Medikament infundiert wurde. In der VP betrug die $dRBF_{max}$ $22,87 \pm 7,64$ % und stieg dann in den Hauptperioden auf $32,32 \pm 6,3$ % in HP1 und $33,75 \pm 8,9$ % in HP2.

Ergebnisse

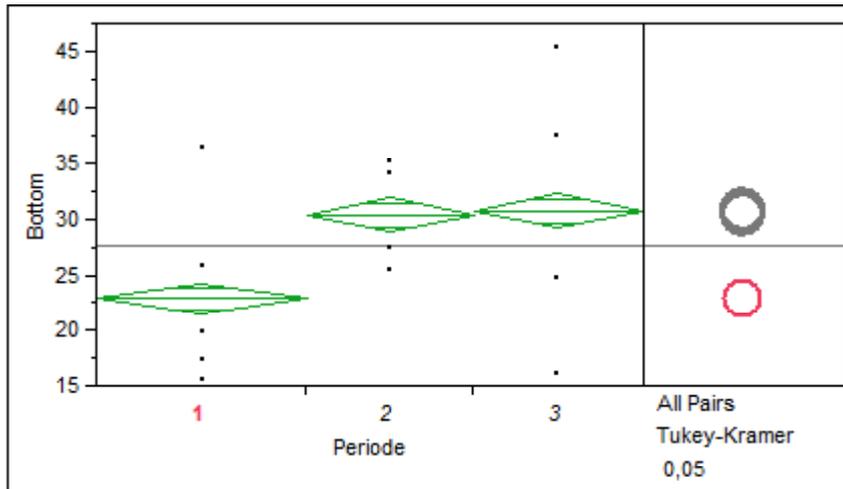


Abbildung 29: $dRBF_{max}$ der Gruppe UUL + FK838: Durch Gabe des FK838 stieg die Hyperämie nach Injektion der maximalen Adenosin-Dosis (100nmol) signifikant an.

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In unseren Versuchen konnte gezeigt werden, dass bereits eine 24 stündige vollständige Obstruktion eines Harnleiters zu einem signifikanten Abfall der Nierendurchblutung auf 64,8 %, im Vergleich zur Kontrolle, führt. Außerdem steigert die unilaterale Obstruktion die Reaktion des RBF auf exogenes Adenosin: Die UUL-Gruppen reagierten mit einem weitaus deutlicheren RBF-Abfall auf Adenosin-Einzelinjektionen als die SHAM-Gruppe: Während bei den UUL-Gruppen der RBF bei Injektion von 100 nmol Adenosin um etwa 75% abfällt, fiel er bei der SHAM-Gruppe bei der selben Adenosindosis nur um ca. 37%. Auch die Tatsache, dass die präglomeruläre afferente Vasokonstriktion durch ADO-A₁-Rezeptoren vermittelt wird, konnte bestätigt werden, da unter FK838-Infusion die Reaktionen auf Adenosin-Injektionen deutlich abgeschwächt wurden. Auch die Abhängigkeit der POR, also der Auswirkung der metabolischen Adenosinfreisetzung vom ADO-A₁-Rezeptor, konnte gezeigt werden, da die PORs unter FK838 deutlich geringer ausgeprägt waren als in der jeweiligen Vorperiode und in der Vehikelgruppe. Hinsichtlich der Hyperämie, die einer Adenosin-Reaktion folgt, konnte eine Steigerung der Hyperämie bei FK838-Gabe beobachtet werden.

4.2 Absolutfluss

Die Flussreduktion nach 24 stündiger UUL von $3,75 \pm 0,72$ auf $2,43 \pm 0,71$ ml/min x g Nierengewicht, verglichen mit der Kontrolle, bestätigt die Ergebnisse bisheriger Forschungen von Wahlberg, der einen Fluss von 65% der Kontrolle (⁷⁴) und Hope, der 70% (²⁹) des renalen Blutflusses im Vergleich zur Kontrolle nach 24 h vollständiger Obstruktion eines Ureters beobachtete. Der durch uns

beobachtete RBF-Abfall ist damit nicht so stark wie er in einer Arbeit unseres Institutes festgestellt wurde, bei der die UUL-Niere nach 24 h nur noch etwa 50% des RBFs der Kontrolle hatte (⁶¹). Ein derartiger Abfall um 50% ist nach dem aktuellen Kenntnisstand als zu extrem anzusehen und lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass bei diesen Experimenten der RBF auf Gramm Nierenfeuchtgewicht bezogen wurde. Nach 24 h kompletter Obstruktion des Harnleiters nimmt die Niere jedoch durch den Rückstau des Harns an Größe und Gewicht zu, wodurch vermutlich zu geringe Flusswerte pro Gramm Nierengewicht resultierten. Zudem wurden in dieser Arbeit die UUL-Nieren mit den KONTRA-Nieren verglichen, anstatt mit den SHAM-Nieren, wie es in dieser Arbeit der Fall ist. Es lässt sich also festhalten, dass eine 24 stündige Obstruktion des Harnleiters eine Reduktion der Durchblutung der betroffenen Niere auf ca. 65-70% des Ausgangswertes bzw. der Kontrolle mit sich bringt, die auf eine anhaltende gesteigerte Vasokonstriktion in der gesamten Niere zurückgeführt werden kann.

Diese gesteigerte Vasokonstriktion konnte am einzelnen Nephron bereits 1974 als Folge einer 24-stündigen Obstruktion beobachtet werden und wurde damals als tubulo-glomerulärer Feedback beschrieben (⁵). Auch ein weiterer Teil des tubulo-glomerulären Feedbacks, die Anpassungsreaktion der Filtrationsleistung hauptsächlich durch das Vas afferens auf eine veränderte NaCl-Konzentration an der Macula densa, wird durch Adenosin vermittelt (⁵¹ ; ⁴⁸). Demnach könnte angenommen werden, dass unsere Ergebnisse der Durchblutungssenkung nach 24 stündiger UUL durch Adenosin hervorgerufen wurden.

Was gegen Adenosin als hauptsächliche Ursache des erniedrigten RBF in der UUL-Niere spricht, ist, dass es in unseren Versuchen (s. 3.3.1) nach Applikation des selektiven ADO-A₁-Rezeptorantagonisten FK838 zu keiner Steigerung des spontanen RBF kam. Dies verwundert besonders, da der absolute RBF trotz Steigerung des systemischen MAP tendenziell eher abzusinken schien (s. Abbildung 21, S.39). Ursächlich hierfür könnte entweder sein, dass an der Abnahme des RBF bei UUL weitere Transmitter neben dem Adenosin beteiligt sind oder dass die Zeit über die zwei Perioden, in denen FK838 infundiert wurde, nicht ausreichte, um den langfristigen Effekt zu antagonisieren.

Weiterhin könnte der erniedrigte Fluss infolge des erhöhten Gefäßtonuses aus einer Unterfunktion von Vasodilatoren in der UUL-Niere resultieren. Auf die mögliche Unterfunktion von Vasodilatoren wird ausführlicher weiter unten im Kapitel 4.3 „Exogenes Adenosin“ eingegangen. Ob tatsächlich eine physiologisch relevante Änderung in der Produktion von Vasodilatoren in der UUL-Niere besteht, bleibt Thema weiterer Studien.

Die kontralaterale Niere ist bei 24 stündiger UUL einer Niere bisher weniger erforscht. Wahlberg berichtet, eine leichte Steigerung der Durchblutung beobachtet zu haben. Auch hier wurde, mit einer Steigerung von 21,43 %, im Vergleich zur Kontrolle, ein signifikanter Anstieg des RBF beobachtet. Dies könnte auf eine kompensatorische Mehrarbeit der gesunden Niere hinweisen. Hauser et al. konnten beispielsweise eine vermehrte Transkriptionsarbeit, im Sinne einer kompensatorischen Hypertrophie, in der kontralateralen Niere feststellen, die unter anderem in einem vermehrten Einbau von Transportern wie Aquaporinen besteht ⁽²⁵⁾. Welche Rezeptoren und Mediatoren für diese Durchblutungssteigerung verantwortlich sind, bleibt zu erforschen.

4.3 Exogenes Adenosin

In den Versuchen konnte gezeigt werden, dass bei einer einseitigen UUL nach 24 Stunden eine gesteigerte Reaktion, im Sinne eines RBF-Abfalls, dieser Niere für exogenes Adenosin besteht. Da die Adenosininjektionen direkt in die Aorta thoracica oberhalb der Arteria renalis erfolgten, kann es sich bei der kurzen Vasokonstriktion nicht um eine systemische Reaktion, bedingt durch eine systemische Adenosinwirkung, sondern nur um eine lokale Reaktion handeln. In Abbildung 30 ist außerdem zu sehen, dass der systemische Blutdruck-Abfall, gemessen in der A. femoralis, zeitlich nach dem RBF-Abfall stattfindet und diesen daher nicht verursachen kann.

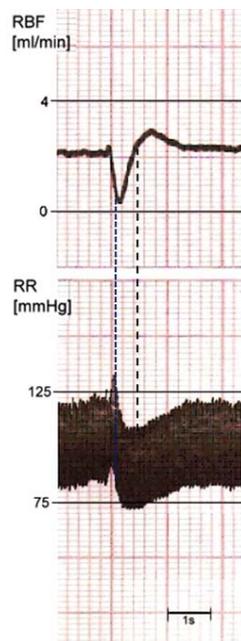


Abbildung 30: Zeitliche Abfolge der Adenosinreaktion: Der maximale RBF-Abfall (gepunktete Linie) findet zeitlich vor dem maximalen systemischen Blutdruckabfall (gestrichelte Linie) statt.

Bei gleicher Dosis einer Adenosin Bolusinjektion reagierte die UUL-Niere in unseren Versuchen mit einem prozentual deutlich stärkeren RBF-Abfall als die SHAM-Niere (s. 3.2.2). Diese Ergebnisse lassen sich mit Untersuchungen bei anderen pathologischen Prozessen vergleichen, wie z.B. beim Nierenversagen nach Kontrastmittelinjektion, bei denen Adenosin als entscheidender Mediator nachgewiesen wurde. So zeigte Osswald bereits 1995, dass das akute Nierenversagen auf eine Kontrastmittelreaktion durch eine Infusion des unspezifischen Adenosin-Rezeptor-Antagonisten Theophyllin abwendbar ist ⁽⁴⁷⁾. Auch bei anderen Krankheitsbildern, wie beispielsweise dem Diabetes mellitus, konnte von Pflueger und Osswald eine erhöhte Reaktion des RBF auf exogenes Adenosin beobachtet werden. So stellten sie bei Ratten mit Streptozotocin induziertem Diabetes eine Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurve bei Adenosin-Einzelinjektionen um den Faktor 30 fest ⁽⁵⁸⁾. Obwohl bei den Untersuchungen zum Absolutfluss (s. 4.2) die Vermutung nahe

lag, dass Adenosin nicht als entscheidender Faktor für den langfristig erniedrigten renalen Absolutfluss verantwortlich zu sein scheint, reagiert die UUL-Niere mit einem stärkeren RBF-Abfall auf die Adenosin-Einzelinjektionen. Daher muss entweder eine erhöhte Adenosinproduktion in der obstruierten Niere stattfinden oder die Empfindlichkeit auf Adenosin enorm gesteigert sein. Eine Arbeit von Recker untersuchte die Gewebsgehalte von ATP, ADP und AMP nach 24 h UUL und stellte zwar einen Abfall der ATP Konzentration, jedoch keinen Anstieg der energiearmen Äquivalente ADP und AMP fest, was auch gegen einen höheren Spiegel von Adenosin in der UUL-Niere sprechen würde (siehe 1.3.2). Tatsächlich wurde damals jedoch eine geringe Steigerung der Adenosinkonzentration in der UUL-Niere von 9 auf 11 nmol / g Nierenfeuchtgewicht beobachtet (⁶¹). Diese wäre jedoch zu gering, um den beobachteten Effekt erklären zu können.

Damit bliebe eine Steigerung der Sensitivität der UUL-Niere auf Adenosin anzunehmen, die verschiedene Ursachen haben könnte: Sowohl eine Hochregulation des ADO-A₁-Rezeptors, eine Verbesserung der Signaltransduktion im ADO-A₁-Rezeptor oder aber auch eine Unterfunktion der Gegenspieler, also der Vasodilatoren wie NO und PGI₂, könnten für eine Steigerung der Adenosin bedingten Vasokonstriktion bei Hydronephrose verantwortlich sein. Zusätzlich zu diesen drei (patho-) physiologischen Ansätzen der Erklärung könnte jedoch ein physikalisches Gesetz eine entscheidende Rolle an der Steigerung des RBF-Abfalls durch die UUL spielen: Das Strömungsgesetz nach Hagen-Poiseuille.

Unterfunktion von Vasodilatoren

Es gibt tatsächlich Studien, die für eine solche Minderproduktion von NO sprächen: So wurde bei Blockade der NO und Prostaglandinsynthese durch N-nitro-arginin und Indomethacin eine deutlich gesteigerte Sensitivität gegenüber Adenosin beobachtet, die zu einer Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve, vergleichbar derer bei den Versuchen mit Diabetes-Ratten, führte (⁵⁷ ; ⁵⁶). In wie weit eine Unterfunktion bzw. Minderproduktion vasodilatorisch wirkender Substanzen als Ursache einer gesteigerten Sensitivität gegenüber

Adenosin - besonders hier im Falle einer Hydronephrose - anzusehen ist, bleibt in zukünftigen Studien zu erforschen.

Verstärkung der Signaltransduktion im ADO-A₁-Rezeptor

Eine erhöhte Empfindlichkeit auf exogenes Adenosin könnte im Zusammenhang mit einer Verstärkung des intrazellulären Signaltransduktionsweges stehen, die letztendlich zu einer erhöhten Calciumkonzentration im Zytosol der glatten Muskelzellen der Arteriolen und damit zu einer gesteigerten Vasokonstriktion führt. Tatsächlich wurde von Lai erst kürzlich postuliert, dass die Adenosin bedingte Vasokonstriktion in der afferenten Arteriole über eine Angiotensin II vermittelte Sensitivierung der leichten Myosinketten der glatten Gefäßmuskulatur gegenüber Calcium funktionieren würde (³³). Diese Entdeckung, dass ein Synergismus von Adenosin und Angiotensin II für die vasokonstringierende Wirkung von Adenosin verantwortlich bzw. nötig ist, zeigten bereits in der Vergangenheit Versuche, in denen Ratten mit hohem Angiotensin II Spiegel auf eine 10 nmol Adenosin-Bolusinjektion mit einem deutlich stärkeren RBF-Abfall (40%) als Ratten mit niedrigem Angiotensin II-Spiegel (2%) reagierten. Durch Angiotensin II-Infusion konnte bei diesen Tieren eine stärkere Reaktion auf Adenosin wieder hergestellt werden (⁵²). Angiotensin II Antagonisten waren in der Lage sowohl die Reaktion auf endogenes als auch auf exogenes Adenosin nahezu vollständig zu verhindern (⁶⁶ ; ²³). Eine detaillierte Zusammenfassung des Synergismus zwischen Adenosin und Angiotensin II ist in einer Arbeit von Weihprecht diskutiert (⁷⁵).

Hochregulation des ADO-A₁-Rezeptors

Die dritte Möglichkeit der Erklärung einer gesteigerten Sensitivität stellt eine Hoch-Regulation der Rezeptoranzahl, also eine höhere Rezeptordichte bei einer obstruktiven Nephropathie, dar. Die Ergebnisse in dieser Arbeit zur unilateralen Ureterligatur zeigen keine Parallelverschiebung der Adenosin-RBF-Dosis-Wirkungs-Kurve, wie sie bei allen anderen hier genannten Studien beschrieben wurde, sondern eine Verschiebung mit einer gleichzeitigen

Zunahme des Maximalwertes. Während in der Versuchsreihe „RBF“ bei der SHAM-Gruppe und der KONTRA Gruppe eine Sättigung der Dosis-Wirkungs-Kurve bei ca. 46 % bzw. 47% RBF-Abfall erreicht wurde und auch bei Injektion von höheren Dosen Adenosin keine weitere Steigerung mehr zu beobachten war, betrug der höchstmögliche RBF-Abfall in der UUL-Gruppe über 84 %. Die Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve in der Versuchsreihe „RBF“ um lediglich den Faktor 3,3 hinsichtlich des EC₅₀ spricht gegen eine physiologisch relevante Änderung der Rezeptorenzahl. Die Abweichung des Hill-Koeffizienten zwischen der UUL Gruppe und den beiden anderen Gruppen könnte auf die Beteiligung eines weiteren Mechanismus, wie z.B. des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), der an der Änderung des RBF nach UUL beteiligt sein könnte, hindeuten. Die geringe Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve um den Faktor 3,3 hinsichtlich des EC₅₀ könnte durch eine leichte Hochregulation der ADO-A₁-Rezeptoren zwar erklärt werden, nicht jedoch die starke Änderung des erreichbaren Maximalwertes dRBF_{max}. Damit erscheint uns eine Hochregulierung der Rezeptordichte als entscheidende Begründung des gesteigerten RBF-Abfalls auf Adenosin als unwahrscheinlich.

Das Strömungsgesetz nach Hagen-Poiseuille

Dieses Gesetz besagt, dass das Durchflussvolumen eines Rohres (hier das Blutflussvolumen durch ein Gefäß) von der vierten Potenz des Radius des Rohres abhängt. Damit hängt der Strömungswiderstand- und so auch der RBF- extrem vom Radius der A. renalis ab. Betrachtet man den oben gezeigten verminderten Absolutfluss der UUL Niere im Vergleich zur gesunden Niere und führt diesen auf einen erhöhten Dauertonus des Gefäßes (s. 4.2) zurück, so lässt sich der höhere RBF-Abfall durch eine weitere Konstriktion des bereits verkleinerten Gefäßlumens erklären. Unsere Ergebnisse zeigen eine starke Änderung des Maximalwertes, also des maximalen RBF-Abfalls, jedoch eine sehr geringe Änderung des EC₅₀ um lediglich den Faktor 3,3. Daher erscheint diese physikalische Erklärung sehr plausibel: Bei jeder Hochregulation der Rezeptorenzahl oder Veränderung in der Signaltransduktion würde man eine Änderung des Wertes erwarten, in dem ein halbmaximaler Effekt erzielt wird.

Da dies in unseren Ergebnissen nur in sehr geringem Ausmaß der Fall war, sprächen diese für die physikalische Erklärung durch den erhöhten Gefäßtonus und den daraus resultierenden niedrigeren Gefäßdiameter, anstelle oder zusätzlich zu einer gesteigerten Sensitivität der UUL-Niere durch die oben genannten Faktoren. Da zu diesem angenommenen Mechanismus keine Untersuchungen vorliegen, bleibt die Bedeutung des Hagen-Poiseuille'schen Gesetzes spekulativ.

Unsere Ergebnisse deuten also darauf hin, dass sich die durch die UUL hervorgerufene gesteigerte Empfindlichkeit der RBF-Regulation gegenüber Adenosin, im Sinne des höheren maximalen RBF-Abfalls, durch ein multifaktorielles Modell, möglicherweise das Strömungsgesetz nach Hagen-Poiseuille beinhaltend, erklären lässt. Die geringe Änderung des EC50 spricht deutlich gegen eine physiologisch relevante Änderung der Rezeptorenzahl.

4.3.1 ADO-A₁-Rezeptorblockade mit FK838

Durch die Versuchsreihe „RBF“ konnte gezeigt werden, dass der durch die Adenosin-Einzelinjektionen hervorgerufene erhöhte Abfall des RBF bei der ureterligierten Niere auch einer dosisabhängigen Gesetzmäßigkeit folgt.

An Hunden konnte bereits bewiesen werden, dass die adenosinvermittelte Vasokonstriktion des Vas afferens über ADO-A₁-Rezeptoren vermittelt wird. Sowohl der unspezifische Adenosin-Rezeptorantagonist Theophyllin als auch der spezifische ADO-A₁-Rezeptorantagonist DPCPX waren in der Lage, die Adenosin bedingte Vasokonstriktion und den damit verbundenen RBF-Abfall abzuschwächen bzw. zu verhindern (⁴⁶ ; ⁴² ; ⁶⁷). Auch bei den Versuchen von Pflueger konnte die bei Diabetes-mellitus-Ratten gesteigerte Reaktion auf Adenosin mit DPCPX antagonisiert werden (⁵⁸). Da DPCPX nicht hydrophil genug ist um es in NaCl zu lösen, wurde bisher stets DMSO als Lösungsmittel benötigt. In dieser Arbeit wurde erstmals in RBF-Versuchen zur selektiven ADO-A₁-Blockade das hydrophile FK838 gewählt, das in NaCl gelöst werden

konnte und so eine reine Beobachtung der Wirkung des Medikamentes, ohne eine mögliche Störung durch DMSO, ermöglichte. Unsere Versuche ergaben, dass der spezifische ADO-A₁-Antagonist FK838 auch bei der obstruktiven Nephropathie in der Lage war, die vasokonstriktive Wirkung des Adenosins zu antagonisieren: Während in der Vehikelgruppe keine Veränderung der Reagibilität auf Adenosin nachweisbar war, sank der $dRBF_{max}$ auf die maximale Dosis von 100 nmol Adenosin in der UUL + FK838-Gruppe von 76,52 % in der Vorperiode unter FK838-Gabe auf 54,98 % in der Hauptperiode 2 (siehe 3.3.2). Damit ist die Reaktion zwar deutlich geringer als in der unbehandelten UUL + VHC-Gruppe, jedoch immer noch größer als in der SHAM-Gruppe.

Betrachtet man wieder die EC50-Konzentration, bei der der halbmaximale Effekt erreicht wird, ergibt sich in der UUL + FK838-Gruppe eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve von etwa Faktor 8 (von $0,56 \pm 0,4$ nmol Adenosin in VP zu $4,59$ nmol in HP2).

Da es sich hierbei wiederum nicht lediglich um eine Parallelverschiebung handelt, sondern sich ebenfalls wieder der Maximalwert ändert, scheint es hier sinnvoller, die jeweilige Adenosindosis zu betrachten, bei der sich ein delta RBF von 20% ergibt. Diese Dosis betrug in der UUL-Gruppe in der VP noch $0,15$ nmol Adenosin, in der HP2 waren dazu bereits $1,78$ nmol Adenosin nötig. Hier zeigt sich also eine Dosisänderung etwa um den Faktor 12. Diese Betrachtungsweise erscheint hier, im Gegensatz zur alleinigen Betrachtung des EC50, realistischer, da die Rechtsverschiebung durch Änderung des Maximalwertes auf diese Weise nicht relativiert wird. In der SHAM + FK838-Gruppe wurde der Maximalwert durch FK838 so stark verändert, dass selbst bei hohen Adenosin Dosen kein RBF-Abfall von mehr als 10% mehr erreicht werden konnte.

Damit wurde gezeigt, dass auch bei der Hydronephrose die Reaktion des RBF auf Adenosininjektionen ein ADO-A₁-Rezeptor vermitteltes Phänomen darstellt und diese durch Gabe des ADO-A₁-Antagonisten FK838 bereits in einer Dosis von $0,036 \text{ mg} / \text{h} * 100\text{g}$ Tiergewicht in einer Art antagonisieren lässt, dass eine etwa 12-fach höhere Adenosin Dosis gebraucht wurde, um denselben Effekt wie ohne das Medikament zu erreichen. Im Gegensatz zu den Beobachtungen

der Versuchsreihe „RBF“ zeigte sich hier neben der Änderung des Maximalwertes eine deutlich stärkere Verschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve hinsichtlich des EC50. Diese war hier auch zu erwarten, da durch die Blockierung der ADO-A₁-Rezeptoren durch FK838 die Anzahl der an der Reaktion beteiligen Rezeptoren gesenkt und damit der Effekt einer künstlichen Downregulation der Rezeptorenzahl erzielt wird. Die erwartete Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve durch die Applikation von FK838 konnte durch unsere Ergebnisse gezeigt werden.

Die schon in der Versuchsreihe „RBF“ gezeigte Änderung des Maximalwertes des RBF-Abfalls lässt sich hier nicht durch das Strömungsgesetz nach Hagen-Poiseuille erklären, da der absolute RBF zwischen der Vorperiode ohne Medikament und den Hauptperioden mit Medikament keiner Änderung unterworfen ist und daher auch der Gefäßdurchmesser konstant bleibt. Da hier jedoch durch die Blockade der ADO-A₁-Rezeptoren durch FK838 weniger an der Reaktion beteiligte freie Rezeptoren existieren, sich also die Rezeptorenzahl ändert, sind wahrscheinlich auch weitere, von der Rezeptordichte unabhängige Faktoren beteiligt, sichtbar an der Verminderung der maximalen RBF Abnahme $dRBF_{max}$.

4.4 Endogenes Adenosin

Wie bereits in 2.6.2.2 erwähnt, dient die Abklemmung der Arteria renalis für 30 Sekunden und die Beobachtung der post-obstruktiven Reaktionen des renalen Blutflusses (PORs) der Untersuchung des endogenen metabolischen Adenosins. Osswald et al. konnten zeigen, dass nach einer Abklemmung der Nierenarterie für 30 Sekunden die Gewebsspiegel von Adenosin um das 3 fache ansteigen (⁵³), da die Adenosinproduktion der Niere bei Hypoxie stimuliert und mehr ATP zu ADP, AMP und schließlich zu Adenosin hydrolysiert wird (siehe auch 1.3.2). Die Beobachtungen zu PORs in der Literatur decken sich in etwa mit unseren Ergebnissen. So konnten Osswald et al. ein $dRBF$ von etwa 30% auf eine 30 sekundige Okklusion der Nierenarterie zeigen, Pflueger et al.

stellten ebenfalls bei Ratten ein durchschnittliches dRBF von etwa 35% fest (⁵³ ; ⁵⁸ ; ⁵⁶).

Während bei Pflueger in Ratten mit induziertem Diabetes mellitus ein deutlich gesteigerter dRBF als POR beobachtet wurde (zwischen 65% und 75%), konnte in unseren Untersuchungen, obwohl die renale Vasokonstriktion durch exogen injiziertes Adenosin bei UUL gegenüber der SHAM-Niere deutlich stärker ausgeprägt war, kein Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich der Gefäßreagibilität auf endogen gebildetes Adenosin gezeigt werden.

Durch Antagonisierung von PORs durch Theophyllin und DPCPX konnte bei Pflueger gezeigt werden, dass es sich auch bei der POR um ein Adenosin bzw. ADO-A₁-Rezeptor vermitteltes Phänomen handelt (⁴⁶ ; ⁵⁸). Ebenso scheint die POR, wie auch die Vasokonstriktion durch exogene Adenosininjektionen, auf dem Synergismus zwischen Adenosin und Angiotensin II zu beruhen, da sie durch Angiotensin II Antagonisten komplett antagonisiert werden konnte (⁶⁶). Unsere Ergebnisse zeigen, dass auch der selektive ADO-A₁-Antagonist FK838 die POR signifikant reduzieren bis nahezu vollständig verhindern konnte (s. 3.3.3), während die Vehikelgruppe keine signifikante Änderung aufzeigte. Damit konnte deutlich gezeigt werden, dass auch bei der obstruktiven Nephropathie die POR über ADO-A₁-Rezeptoren vermittelt wird.

Dass zwischen der SHAM-Gruppe und den UUL-Gruppen kein deutlicherer Unterschied in der Vorperiode hinsichtlich der POR besteht, steht in einem leichten Widerspruch zu den weiter oben beschriebenen Ergebnissen hinsichtlich der exogenen Adenosininjektionen. Aufgrund der möglichen Erklärungen für die gesteigerte Empfindlichkeit der UUL-Niere auf Adenosin - sowohl eine Unterfunktion von Vasodilatoren, als auch das physikalische Strömungsgesetz nach Hagen-Poiseuille - würde man auch bei der POR einen Unterschied zwischen den Gruppen erwarten. Bei der gleichen Menge, in 30 Sekunden akkumuliertem, endogenem Adenosin müsste die UUL-Niere aufgrund ihres geringeren Absolutflusses, damit ihres geringeren Gefäßdurchmessers, einen prozentual höheren dRBF aufweisen. Die unterschiedlichen basalen Flussraten und damit die unterschiedlichen

Gefäßdurchmesser finden sich also auch hier. Als Gründe für das Fehlen eines Unterschiedes zwischen der UUL- und der SHAM-Gruppe könnte eine verminderte Adenosinproduktion in den 30 Sekunden Ischämie der UUL-Niere in Frage kommen und eventuell eine Steigerung der Adenosinproduktion nicht in dem Maße möglich sein, wie bei der gesunden Niere. Weiterhin könnten andere, den Adenosineffekt maskierende Faktoren, eine Rolle spielen. Ob nun eine verminderte Adenosinsynthese während der 30 Sekunden Ischämie, maskierende Faktoren, oder eine zu geringe Fallzahl ursächlicher Faktor ist, der einen eventuell vorhandenen Unterschied der POR auf endogenes Adenosin hier verschleiert haben könnte, bleibt Thema weiterer Studien.

4.5 Hyperämie

Wie bereits in der Einleitung dargestellt wurde, spielt Adenosin als Mediator des „negativen metabolischen Feedbacks“ die entscheidende Rolle. Nachdem in dieser Arbeit hauptsächlich auf den ADO-A₁-Rezeptor eingegangen wurde, scheint für die reaktive Hyperämie, die einer adenosinbedingten Vasokonstriktion folgt (s. Abbildung 13, D), der ADO-A₂-Rezeptor verantwortlich zu sein, der vor allem an den Vasa afferentia und efferentia lokalisiert und für eine Dilatation der efferenten postglomerulären Arteriolen verantwortlich ist (¹⁵ ; ²⁰ ; ²⁸).

Unsere Ergebnisse zeigen zum einen eine deutliche Zunahme der hyperämischen Reaktion in den Hauptperioden, in denen FK838 infundiert wurde und zwar um etwa 68% in UUL + FK838. Diese Beobachtung ist doch auffällig, besonders, da sie in der Vehikelgruppe nicht zu beobachten war. Dieser Beobachtung könnte zugrunde liegen, dass durch den ADO-A₁-Antagonisten die ADO-A₁-Rezeptoren zu einer gewissen Anzahl blockiert werden und dadurch das Gleichgewicht zwischen ADO-A₁-Konstriktion und ADO-A₂-Dilatation in Richtung ADO-A₂-Dilatation verschoben wird, was in einer Hyperämie resultiert.

5 Zusammenfassung

Das Krankheitsbild der Hydronephrose ist im Kindesalter die häufigste Ursache einer Niereninsuffizienz und auch bei Erwachsenen für etwa 2 % der terminalen Niereninsuffizienzen verantwortlich. Die Durchblutung der betroffenen Niere ist durch eine ausgeprägte afferente Vasokonstriktion gekennzeichnet. Da unter vielen möglichen Kandidaten das Adenosin eine ausgeprägte afferente Vasokonstriktion in der Niere auslöst, wurde in dieser Arbeit untersucht, ob exogenes oder endogenes Adenosin an der Reduktion der Durchblutung der hydronephrotischen Niere beteiligt ist. Im Tiermodell wurde zur Induktion einer experimentellen Hydronephrose bei Ratten eine unilaterale Ureterligatur für 24h Stunden durchgeführt. Der renale Blutfluss wurde mit einem elektromagnetischen Flowmeter gemessen. Zur selektiven Inhibition von Adenosin-A₁-Rezeptoren haben wir einen wasserlöslichen Antagonisten (FK838) verwendet, der nicht zur Gruppe der Purinderivate gehört. Zur Untersuchung der hämodynamischen Antwort auf endogen gebildetes Adenosin wurde die A. renalis für 30 sec okkludiert und die postokklusive Durchblutung gemessen. Zur Untersuchung von exogenem Adenosin erfolgten über einen intra-aortalen Katheter Adenosin-Einzelinjektionen in Dosen von 0,01 - 100 nmol. Aufgezeichnet wurde jeweils die resultierende Reduktion des RBF.

Der RBF sank nach 24 h Ureterligatur in der ligierten Niere auf durchschnittlich 65% des Ausgangswertes und war mit $2,43 \pm 0,71$ ml/min x g Niere signifikant von der Kontrolle mit $3,75 \pm 0,72$ ml/min x g Niere verschieden. Die Adenosin-Einzelinjektionen bei SHAM ligierten Ureteren bewirkten eine maximale RBF Abnahme um 49%, während bei UUL Tieren der RBF um 85% abfiel. Bei den Untersuchungen zur post-okklusiven Reduktion des RBF zeigte sich jedoch kein Unterschied zwischen den Gruppen SHAM und UUL. Unter Kontrollbedingungen wurde der basale RBF durch die Gabe von FK838 nicht verändert, während die vasokonstriktive Antwort der Niere auf exogen appliziertes und endogen gebildetes Adenosin durch FK838 antagonisiert werden konnte.

Adenosin scheint also nicht der für den erniedrigten spontanen RBF der hydronephrotischen Niere hauptsächlich verantwortliche Mediator zu sein. Es konnte jedoch eine gesteigerte Sensitivität der UUL-Niere auf exogenes Adenosin im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden. Bei der post-okklusiven Reduktion des RBF zeigte sich mit unseren Methoden kein Unterschied zwischen den Gruppen. FK838 war in der Lage die ADO-A₁-vermittelte Reaktion des renalen Blutflusses sowohl auf exogenes und endogenes Adenosin zu antagonisieren.

Literaturverzeichnis

1. Incidence and prevalence of ESRD. United States Renal Data System (1998)
Am.J.Kidney Dis. 32, S38-S49
2. Agmon, Y., Dinour, D., und Brezis, M. (1993)
Disparate effects of adenosine A1- and A2-receptor agonists on
intrarenal blood flow
Am.J.Physiol 265, F802-F806
3. Allen, J. T., Vaughan, E. D., Jr., und Gillenwater, J. Y. (1978)
The effect of indomethacin on renal blood flow and uretral pressure in
unilateral ureteral obstruction in a awake dogs
Invest Urol. 15, 324-327
4. Arend, L. J., Haramati, A., Thompson, C. I., und Spielman, W. S. (1984)
Adenosine-induced decrease in renin release: dissociation from
hemodynamic effects
Am.J.Physiol 247, F447-F452
5. Arendshorst, W. J., Finn, W. F., und Gottschalk, C. W. (1974)
Nephron stop-flow pressure response to obstruction for 24 hours in the
rat kidney
J.Clin.Invest 53, 1497-1500
6. Balint, P. und Laszlo, K. (1985)
Renal haemodynamics in chronic unilateral ureteral obstruction in the
dog
Acta Physiol Hung. 65, 407-414
7. Becker, A. und Baum, M. (2006)
Obstructive uropathy
Early Hum.Dev. 82, 15-22
8. Benfield, M. R., McDonald, R. A., Bartosh, S., Ho, P. L., und Harmon, W.
(2003)
Changing trends in pediatric transplantation: 2001 Annual Report of the
North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study
Pediatr.Transplant. 7, 321-335
9. Bhangdia, D. K., Gulmi, F. A., Chou, S. Y., Mooppan, U. M., und Kim, H.
(2003)
Alterations of renal hemodynamics in unilateral ureteral obstruction
mediated by activation of endothelin receptor subtypes
J.Urol. 170, 2057-2062

10. Cai, H., Batuman, V., Puschett, D. B., und Puschett, J. B. (1994)
Effect of KW-3902, a novel adenosine A1 receptor antagonist, on sodium-dependent phosphate and glucose transport by the rat renal proximal tubular cell
Life Sci. 55, 839-845
11. Cai, H., Puschett, D. B., Guan, S., Batuman, V., und Puschett, J. B. (1995)
Phosphate transport inhibition by KW-3902, an adenosine A1 receptor antagonist, is mediated by cyclic adenosine monophosphate
Am.J.Kidney Dis. 26, 825-830
12. Chevalier, R. L., Thornhill, B. A., und Chang, A. Y. (2000)
Unilateral ureteral obstruction in neonatal rats leads to renal insufficiency in adulthood
Kidney Int. 58, 1987-1995
13. Churchill, P. C. und Bidani, A. (1987)
Renal effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats
Am.J.Physiol 252, F299-F303
14. Churchill, P. C. und Bidani, A. K. (1982)
Hypothesis: adenosine mediates hemodynamic changes in renal failure
Med.Hypotheses 8, 275-285
15. Dietrich, M. S. und Steinhausen, M. (1993)
Differential reactivity of cortical and juxtamedullary glomeruli to adenosine-1 and adenosine-2 receptor stimulation and angiotensin-converting enzyme inhibition
Microvasc.Res. 45, 122-133
16. Felsen, D., Loo, M. H., Marion, D. N., und Vaughan, E. D., Jr. (1990)
Involvement of platelet activating factor and thromboxane A2 in the renal response to unilateral ureteral obstruction
J.Urol. 144, 141-145
17. Feoktistov, I., Murray, J. J., und Biaggioni, I. (1994)
Positive modulation of intracellular Ca²⁺ levels by adenosine A2b receptors, prostacyclin, and prostaglandin E1 via a cholera toxin-sensitive mechanism in human erythroleukemia cells
Mol.Pharmacol. 45, 1160-1167
18. Fredholm, B. B. (1982)
Adenosine receptors
Med.Biol. 60, 289-293
19. Fredholm, B. B., IJzerman, A. P., Jacobson, K. A., Klotz, K. N., und Linden, J. (2001)
International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and

- classification of adenosine receptors
Pharmacol.Rev. 53, 527-552
20. Gabriels, G., Endlich, K., Rahn, K. H., Schlatter, E., und Steinhausen, M. (2000)
In vivo effects of diadenosine polyphosphates on rat renal microcirculation
Kidney Int. 57, 2476-2484
21. Gillenwater, J. Y., Westervelt, F. B., Jr., Vaughan, E. D., Jr., und Howards, S. S. (1975)
Renal function after release of chronic unilateral hydronephrosis in man
Kidney Int. 7, 179-186
22. Gobe, G. C. und Axelsen, R. A. (1987)
Genesis of renal tubular atrophy in experimental hydronephrosis in the rat. Role of apoptosis
Lab Invest 56, 273-281
23. Hall, J. E., Granger, J. P., und Hester, R. L. (1985)
Interactions between adenosine and angiotensin II in controlling glomerular filtration
Am.J.Physiol 248, F340-F346
24. Hansen, P. B., Castrop, H., Briggs, J., und Schnermann, J. (2003)
Adenosine induces vasoconstriction through Gi-dependent activation of phospholipase C in isolated perfused afferent arterioles of mice
J.Am.Soc.Nephrol. 14, 2457-2465
25. Hauser, P., Kainz, A., Perco, P., Bergmeister, H., Mitterbauer, C., Schwarz, C., Regele, H. M., Mayer, B., Meyer, T. W., und Oberbauer, R. (2005)
Transcriptional response in the unaffected kidney after contralateral hydronephrosis or nephrectomy
Kidney Int. 68, 2497-2507
26. Hedqvist, P. und Fredholm, B. B. (1976)
Effects of adenosine on adrenergic neurotransmission; prejunctional inhibition and postjunctional enhancement
Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 293, 217-223
27. Hedqvist, P., Fredholm, B. B., und Olundh, S. (1978)
Antagonistic effects of theophylline and adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit kidney
Circ.Res. 43, 592-598
28. Holz, F. G. und Steinhausen, M. (1987)
Renovascular effects of adenosine receptor agonists
Ren Physiol 10, 272-282

29. Hope, A. und Clausen, G. (1983)
Renal blood flow during unilateral ureteral obstruction. Effects of reduced perfusion pressure, acetylcholine, and thromboxane A2 blockers in obstructed and unobstructed rat kidneys
Acta Physiol Scand. 119, 327-334
30. Hvistendahl, J. J., Pedersen, T. S., Jorgensen, H. H., Rehling, M., und Frokiaer, J. (1996)
Renal hemodynamic response to graded ureter obstruction in the pig
Nephron 74, 168-174
31. Kloor, D., Ludtke, A., Stoeva, S., und Osswald, H. (2003)
Adenosine binding sites at S-adenosylhomocysteine hydrolase are controlled by the NAD⁺/NADH ratio of the enzyme
Biochem.Pharmacol. 66, 2117-2123
32. Kloor, D. und Osswald, H. (2004)
S-Adenosylhomocysteine hydrolase as a target for intracellular adenosine action
Trends Pharmacol.Sci. 25, 294-297
33. Lai, E. Y., Martinka, P., Fahling, M., Mrowka, R., Steege, A., Gericke, A., Sendeski, M., Persson, P. B., Persson, A. E., und Patzak, A. (2006)
Adenosine restores angiotensin II-induced contractions by receptor-independent enhancement of calcium sensitivity in renal arterioles
Circ.Res. 99, 1117-1124
34. Laszlo, K., Juszko, J., und Balint, P. (1978)
Renal haemodynamics prior to and after release of 24 hr unilateral ureteral ligation in the dog
Acta Physiol Acad.Sci.Hung. 52, 71-86
35. Leahy, A. L., Ryan, P. C., McEntee, G. M., Nelson, A. C., und Fitzpatrick, J. M. (1989)
Renal injury and recovery in partial ureteric obstruction
J.Urol. 142, 199-203
36. Loo, M. H., Marion, D. N., Vaughan, E. D., Jr., Felsen, D., und Albanese, C. T. (1986)
Effect of thromboxane inhibition on renal blood flow in dogs with complete unilateral ureteral obstruction
J.Urol. 136, 1343-1347
37. Maemoto, T., Finlayson, K., Olverman, H. J., Akahane, A., Horton, R. W., und Butcher, S. P. (1997)
Species differences in brain adenosine A1 receptor pharmacology revealed by use of xanthine and pyrazolopyridine based antagonists
Br.J.Pharmacol. 122, 1202-1208

38. Mi, Z. und Jackson, E. K. (1998)
Evidence for an endogenous cAMP-adenosine pathway in the rat kidney
J.Pharmacol.Exp.Ther. 287, 926-930
39. Miller, W. L., Thomas, R. A., Berne, R. M., und Rubio, R. (1978)
Adenosine production in the ischemic kidney
Circ.Res. 43, 390-397
40. Moody, T. E., Vaughan, E. D., Jr., Wyker, A. T., und Gillenwater, J. Y. (1977)
The role of intrarenal angiotensin II in the hemodynamic response to unilateral obstructive uropathy
Invest Urol. 14, 390-397
41. Moody, T. E., Vaughn, E. D., Jr., und Gillenwater, J. Y. (1975)
Relationship between renal blood flow and ureteral pressure during 18 hours of total unilateral urethral occlusion. Implications for changing sites of increased renal resistance
Invest Urol. 13, 246-251
42. Murray, R. D. und Churchill, P. C. (1985)
Concentration dependency of the renal vascular and renin secretory responses to adenosine receptor agonists
J.Pharmacol.Exp.Ther. 232, 189-193
43. Nilsson, S., Aurell, M., und Bratt, C. G. (1979)
Maximum urinary concentration ability in patients with idiopathic hydronephrosis
Br.J.Urol. 51, 432-436
44. Nishiyama, A., Miyatake, A., Aki, Y., Fukui, T., Rahman, M., Kimura, S., und Abe, Y. (1999)
Adenosine A(1) receptor antagonist KW-3902 prevents hypoxia-induced renal vasoconstriction
J.Pharmacol.Exp.Ther. 291, 988-993
45. Oliveira, E. A., Diniz, J. S., Rabelo, E. A., Silva, J. M., Pereira, A. K., Filgueiras, M. T., Soares, F. M., und Sansoni, R. F. (2000)
Primary megaureter detected by prenatal ultrasonography: conservative management and prolonged follow-up
Int.Urol.Nephrol. 32, 13-18
46. Osswald, H. (1975)
Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline in dogs
Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 288, 79-86
47. Osswald, H., Gleiter, C., und Muhlbauer, B. (1995)
Therapeutic use of theophylline to antagonize renal effects of adenosine
Clin.Nephrol. 43 Suppl 1, S33-S37

48. Osswald, H., Hermes, H. H., und Nabakowski, G. (1982)
Role of adenosine in signal transmission of tubuloglomerular feedback
Kidney Int.Suppl 12, S136-S142
49. Osswald, H., Muhlbauer, B., und Schenk, F. (1991)
Adenosine mediates tubuloglomerular feedback response: an element of
metabolic control of kidney function
Kidney Int.Suppl 32, S128-S131
50. Osswald, H., Muhlbauer, B., und Vallon, V. (1997)
Adenosine and tubuloglomerular feedback
Blood Purif. 15, 243-252
51. Osswald, H., Nabakowski, G., und Hermes, H. (1980)
Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular
filtration rate
Int.J.Biochem. 12, 263-267
52. Osswald, H., Schmitz, H. J., und Heidenreich, O. (1975)
Adenosine response of the rat kidney after saline loading, sodium
restriction and hemorrhagia
Pflugers Arch. 357, 323-333
53. Osswald, H., Schmitz, H. J., und Kemper, R. (1977)
Tissue content of adenosine, inosine and hypoxanthine in the rat kidney
after ischemia and postischemic recirculation
Pflugers Arch. 371, 45-49
54. Osswald, H., Schmitz, H. J., und Kemper, R. (1978)
Renal action of adenosine: effect on renin secretion in the rat
Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 303, 95-99
55. Osswald, H., Spielman, W. S., und Knox, F. G. (1978)
Mechanism of adenosine-mediated decreases in glomerular filtration rate
in dogs
Circ.Res. 43, 465-469
56. Pflueger, A. C., Gross, J. M., und Knox, F. G. (1999)
Adenosine-induced renal vasoconstriction in diabetes mellitus rats: role
of prostaglandins
Am.J.Physiol 277, R1410-R1417
57. Pflueger, A. C., Osswald, H., und Knox, F. G. (1999)
Adenosine-induced renal vasoconstriction in diabetes mellitus rats: role
of nitric oxide
Am.J.Physiol 276, F340-F346
58. Pflueger, A. C., Schenk, F., und Osswald, H. (1995)
Increased sensitivity of the renal vasculature to adenosine in

- streptozotocin-induced diabetes mellitus rats
Am.J.Physiol 269, F529-F535
59. Purkerson, M. L. und Klahr, S. (1989)
Prior inhibition of vasoconstrictors normalizes GFR in postobstructed kidneys
Kidney Int. 35, 1305-1314
60. Ramos-Salazar, A. und Baines, A. D. (1986)
Role of 5'-nucleotidase in adenosine-mediated renal vasoconstriction during hypoxia
J.Pharmacol.Exp.Ther. 236, 494-499
61. Recker, F. (1983)
Untersuchungen zur Pathophysiologie der postobstruktiven Hydronephrose der Ratten-Niere
Medizinische Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, 36-42
62. Schreiner, G. F., Harris, K. P., Purkerson, M. L., und Klahr, S. (1988)
Immunological aspects of acute ureteral obstruction: immune cell infiltrate in the kidney
Kidney Int. 34, 487-493
63. Sharma, A. K., Mauer, S. M., Kim, Y., und Michael, A. F. (1993)
Interstitial fibrosis in obstructive nephropathy
Kidney Int. 44, 774-788
64. Siragy, H. M. und Linden, J. (1996)
Sodium intake markedly alters renal interstitial fluid adenosine
Hypertension 27, 404-407
65. Spielman, W. S. und Osswald, H. (1978)
Characterization of the postocclusive response of renal blood flow in the cat
Am.J.Physiol 235, F286-F290
66. Spielman, W. S. und Osswald, H. (1979)
Blockade of postocclusive renal vasoconstriction by an angiotensin II antagonists: evidence for an angiotensin-adenosine interaction
Am.J.Physiol 237, F463-F467
67. Tagawa, H. und Vander, A. J. (1970)
Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs
Circ.Res. 26, 327-338

68. Takeda, M., Yoshitomi, K., und Imai, M. (1993)
Regulation of Na(+)-3
Am.J.Physiol 265, F511-F519
69. Thomson, S., Bao, D., Deng, A., und Vallon, V. (2000)
Adenosine formed by 5'-nucleotidase mediates tubuloglomerular
feedback
J.Clin.Invest 106, 289-298
70. Thurau, K. (1964)
RENAL HEMODYNAMICS
Am.J.Med. 36, 698-719
71. Thurau, K. und WOBBER, E. (1962)
[On the localization of autoregulative resistance changes in the kidneys.
Micropuncture measurements of the pressure in the tubules and
peritubular capillaries of the rat kidney in changes of arterial pressure.]
Pflugers Arch.Gesamte Physiol Menschen.Tiere. 274, 553-566
72. Vallon, V., Richter, K., Huang, D. Y., Rieg, T., und Schnermann, J. (2004)
Functional consequences at the single-nephron level of the lack of
adenosine A1 receptors and tubuloglomerular feedback in mice
Pflugers Arch. 448, 214-221
73. Vaughan, E. D., Jr., Shenasky, J. H., und Gillenwater, J. Y. (1971)
Mechanism of acute hemodynamic response to ureteral occlusion
Invest Urol. 9, 109-118
74. Wahlberg, J., Karlberg, L., und Persson, A. E. (1984)
Total and regional renal blood flow during complete unilateral ureteral
obstruction
Acta Physiol Scand. 121, 111-118
75. Weihprecht, H., Lorenz, J. N., Briggs, J. P., und Schnermann, J. (1994)
Synergistic effects of angiotensin and adenosine in the renal
microvasculature
Am.J.Physiol 266, F227-F239
76. Woodward, M. und Frank, D. (2002)
Postnatal management of antenatal hydronephrosis
BJU.Int. 89, 149-156
77. Yamaguchi, S., Umemura, S., Tamura, K., Iwamoto, T., Nyui, N., Ishigami,
T., und Ishii, M. (1995)
Adenosine A1 receptor mRNA in microdissected rat nephron segments
Hypertension 26, 1181-1185
78. Yarger, W. E., Schocken, D. D., und Harris, R. H. (1980)
Obstructive nephropathy in the rat: possible roles for the renin-

angiotensin system, prostaglandins, and thromboxanes in
postobstructive renal function
J.Clin.Invest 65, 400-412

79. Yoo, K. H., Thornhill, B. A., und Chevalier, R. L. (2000)
Angiotensin stimulates TGF-beta1 and clusterin in the hydronephrotic
neonatal rat kidney
Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol 278, R640-R645

6 Abkürzungsverzeichnis

A	Arteria
ADO	Adenosin
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
bidest.	bidestillatus
bRBF	basaler RBF
bzw	beziehungsweise
ca	circa
cAMP	cyclic AMP
cm	Zentimeter
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPCPX	8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin
dRBF	delta RBF = Änderung des renalen Blutflusses
dRBF _{max}	maximale Änderung des renalen Blutflusses
EC50	Effektive Konzentration, bei der ein halbmaximaler Effekt beobachtet wird
et al.	Et alii = und andere
g	Gramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
h	hours = Stunden
HCl	Chlorwasserstoff=Salzsäure
HF	Herzfrequenz
HP	Hauptperiode
HSD	Honestly Significant Differences
ID	Inner diameter = Innendurchmesser
kg	Kilogramm = 10 ³ Gramm
l	Liter
μ	Faktor 10 ⁻⁶ (micro-)

Abkürzungsverzeichnis

m	Meter
m	Faktor 10^{-3} (milli-)
M.	Musculus
MAP	Mean arterial pressure
min	Minuten
N.	Nervus
n	Anzahl der Versuchstiere in einer Gruppe
n	Faktor 10^{-9} (nano-)
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
NarKet	Ketaminkonzentration, die über die Narkose verwendet wurde
NarTra	Trapanalkonzentration, die über die Narkose verwendet wurde
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
OD	Outer diameter = Außendurchmesser
OP	Operation
POR	post occlusive reduction of the RBF
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RBF	renal blood flow = renaler Blutfluss
s.	siehe
s	Sekunden
SAH	S-Adenosyl-L-Homocystein
SD	Sprague-Dawley
SEM	Standard error of the mean
TGF	tubulo-glomerulärer Feedback
TGF- β 1	transforming growth factor
Tmp	Temperatur
UUL	unilateral Ureterligatur
VHC	Vehikel
VP	Vorperiode
z.T.	zum Teil

7 Danksagungen

Ich danke Herrn Professor Dr. H. Oßwald für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung meines Arbeitsplatzes im pharmakologischen Labor und seine begeisterte freundliche Art in unseren gemeinsamen Gesprächen.

Ich danke Herr Professor Dr. K. Dietz für seine ausführliche Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Allen voran möchte ich mich bei meiner Betreuerin Dr. Sara Laszlo für ihre, weit über das übliche Maß hinausgehende, hervorragende Betreuung bedanken, dafür, dass sie zu jeder Zeit hilfsbereit für mich da war, für das Einlernen in die Operationstechnik, für die Hilfe mit Excel und JMP, für den Vorschlag, das Flowmeter vor jedem Versuch zu eichen, für unsere kulinarischen Höhenflüge und die gemeinsamen fachbezogenen und fachfremden Gespräche in der Tübinger Wilhelmstraße, die mich nicht nur pharmakologisch weitergebildet haben.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei den anderen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe: Bei meinem Kommilitonen, „Doktorbruder“ und Freund Daniel Kaiser für die gemeinsame Arbeit im Labor, die motivierenden Aufmunterungen nach Rückschlägen und die musikalische Untermalung der Operationen. Bei Christine Piesch und Amar Tawosch für die nette kollegiale Zusammenarbeit und die gemeinsamen Unternehmungen.

Ich danke meinen Eltern, die mich immer unterstützt haben und denen ich nahezu alles verdanke, was ich bis heute erreicht habe.

Dank auch an meine Verlobte Kathrin Endler für das inhaltliche und formale Korrekturlesen.

8 Lebenslauf

- 03.09.1982 Geburt im Kreiskrankenhaus Sindelfingen, als zweiter Sohn von Dr. Hartmut Volck, Facharzt für Urologie, und Birgit Volck, Lehrerin
- 1989-1993 Besuch der Grund und Hauptschule Döffingen
- 1994-2002 Besuch des Gymnasium Unterrieden in Sindelfingen-Maichingen
- 08/98-11/98 Auslandsaustausch mit Toronto, Kanada
- 18.06.2002 Abitur
- 01.07.2002-
31.03.2003 Wehrdienst im 8. Sanitätsregiment /10 in Horb und der Sanitätsakademie in München
- Seit 2003 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls Universität Tübingen
- 13.09.2005 Erstes Staatsexamen
- 08/2006 Beginn der Promotionsarbeit am pharmakologischen Institut
- 06.11.2009 Ärztliche Prüfung (2. Staatsexamen)