

Aus dem Department für Experimentelle und Klinische
Pharmakologie und Toxikologie der Universität Tübingen
Abteilung Pharmakologie und Experimentelle Therapie
Leiter: Professor Dr. Dr. B. Nürnberg

**Renale Wirkung eines selektiven Adenosin-
A₁-Rezeptorantagonisten bei der Hydronephrose der Ratte**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard – Karls – Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Daniel Fridolin Kaiser
aus
Waiblingen

2010

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Oßwald

2. Berichterstatter: Professor Dr. F. Lang

Meinem Großvater
in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	1
1.1 Allgemeine Grundlagen	1
1.1.1 Niere: Mikroskopischer Aufbau der Niere	1
1.1.2 Physiologie der Niere	4
1.2 Adenosin	7
1.2.1 Adenosinstoffwechsel	7
1.2.2 Adenosinrezeptoren	8
1.2.3 Adenosinwirkung an der Niere	9
1.2.4 Einfluss von Adenosin auf den Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt	11
1.2.5 Der selektive Adenosin A ₁ Rezeptorantagonist FK 838	14
1.2 Hydronephrose	15
1.2.1 Grundlagen der Hydronephrose	15
1.2.2 Auswirkungen der unilateralen Ureterligatur auf die renale Hämodynamik	17
1.2.3 Auswirkungen der unilateralen Ureterligatur auf die tubuläre Funktion	18
1.2.3.1 Auswirkungen auf die Natrium- und Kaliumkonzentration	18
1.2.3.2 Folgen für die Resorption anderer Elektrolyte	19
1.2.3.3 Auswirkungen auf die Konzentrationsfähigkeit	19
1.2.4 Eigene Fragestellung	21
2 MATERIAL UND METHODEN	22
2.1 Tierexperimente	22
2.1.1 Versuchstiere	22
2.1.2 Unilaterale Ureterligatur	22
2.1.3 Präparation für die Clearanceexperimente	24
2.2 Ablauf der Experimente	31
2.2.1 Versuchsgruppen	31
2.2.2 Versuchsperioden	32
2.2.3 Verwendete Infusionslösungen	33
2.2.4 Probenentnahmen	34
2.3 Analytik	35
2.3.1 Bestimmung des Blutdruckes und der Herzfrequenz	36
2.3.2 Bestimmung des Hämatokrits	36
2.3.3 Bestimmung der [³ H]-Aktivität in Plasma und Urin	36
2.3.4 Bestimmung der Urinvolumina	37
2.3.5 Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentration in Plasma und Urin	37
2.3.6 Bestimmung der Chloridkonzentration in Plasma und Urin	38
2.3.7 Bestimmung der Osmolarität in Plasma und Urin	38

2.4 Berechnungen und Statistik	39
2.4.1 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)	39
2.4.2 Urinzeitvolumen	39
2.4.3 Glomeruläre Filtrationsrate	39
2.4.4 Absolute renale Elektrolytausscheidung	40
2.4.5 Filtriertes Elektrolyt	40
2.4.6 Fraktionelle renale Elektrolytausscheidung	40
2.4.7 Osmolale Clearance	41
2.4.7 Freiwasserclearance	41
2.4.7 Statistische Methoden	42
3 ERGEBNISSE	43
3.1 Untersuchung der Nierenfunktion bei Hydronephrose durch Ureterligatur über die Zeit	43
3.1.1 Störfaktoren	43
3.1.2 Urinzeitvolumen	44
3.1.3 Glomeruläre Filtrationsrate	45
3.1.4 Renale Natriumausscheidung	47
3.1.5 Renale Kalium- und Chloridausscheidung	50
3.1.6 Natrium–Kalium–Quotient	53
3.1.7 Osmolale Clearance	54
3.1.8 Freiwasserclearance	55
3.1.9 Übersicht und Zusammenfassung der Nierenfunktion bei Hydronephrose	56
3.2 Untersuchung der Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A₁ – Rezeptoren (FK 838)	59
3.2.1 Störfaktoren	59
3.2.2 Urinzeitvolumen	60
3.2.3 Glomeruläre Filtrationsrate	61
3.2.4 Natriumausscheidung	64
3.2.5 Renale Kalium- und Chloridausscheidung	67
3.2.6 Natrium–Kalium–Quotient	68
3.2.7 Osmolale Clearance	69
3.2.8 Freiwasserclearance	70
3.2.9 Übersicht der Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A ₁ –Rezeptoren (FK 838)	71
4 DISKUSSION	74
4.1 Ergebnisse Teil 1: Zeitabhängige Änderungen der Nierenfunktion nach UUL	74
4.1.1 Urinzeitvolumen und glomeruläre Filtrationsrate	74
4.1.2 Renale Elektrolytausscheidung	76
4.1.3 Konzentrierungsfähigkeit	77
4.2 Ergebnisse Teil 2: Wirkung des ADO–A₁–Rezeptorantagonisten FK 838 nach 24 Stunden UUL	78
4.2.1 Glomeruläre Filtrationsrate und Urinzeitvolumen, renale Elektrolytausscheidung und Konzentrierungsfähigkeit	78

5. AUSBLICK	80
6. ZUSAMMENFASSUNG	81
7. LITERATURVERZEICHNIS	IV
8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XVII
9. DANKSAGUNGEN	XX

1 EINLEITUNG

1.1 Allgemeine Grundlagen

1.1.1 Niere: Mikroskopischer Aufbau der Niere

Die funktionelle Grundeinheit der Niere bildet das Nephron (Abbildung 1). Jede Niere beim Menschen besitzt ca. 1 Million Nephrene, bestehend aus dem Glomerulum, der Bowman–Kapsel, dem proximalen Konvolut, der Henleschen Schleife und dem distalen Konvolut, das in ein Sammelrohr mündet. Dabei unterscheidet man kortikale Nephrene von juxtamedullären Nephronen. Die juxtamedullären Nephrene sind, aufgrund der bis zu 40 mm langen Henleschen Schleife, in der Lage, höher konzentrierten Urin zu bilden als die kortikalen Nephrene, die eine vergleichsweise kurze Henlesche Schleife besitzen.

Das Glomerulum (Abbildung 2 und Abbildung 3) bildet die eigentliche Filtereinheit des Nephrons. Es besitzt einen dreischichtigen Aufbau, durch den das Ultrafiltrat gebildet wird. Dabei kleiden Endothelzellen die Innenwand der Glomerulumkapillaren aus. Diese Endothelzellschicht weist Poren mit einer Größe von 50–100 nm auf. Zwischen den Kapillaren befinden sich die Mesangiumzellen, die an der Regulation der Filtration mit beteiligt sind. Des Weiteren schließt sich die Basalmembran mit den Podozyten, gefolgt vom Epithel der Bowman'schen Kapsel an. Dabei liegen die Podozyten mit ihren fußförmigen Zytoplasmaausläufern den Kapillarschlingen an. Die Podozyten wiederum sind miteinander interdigitierend verzahnt und bilden so Filtrationsschlitz, oder die sogenannte Schlitzmembran.

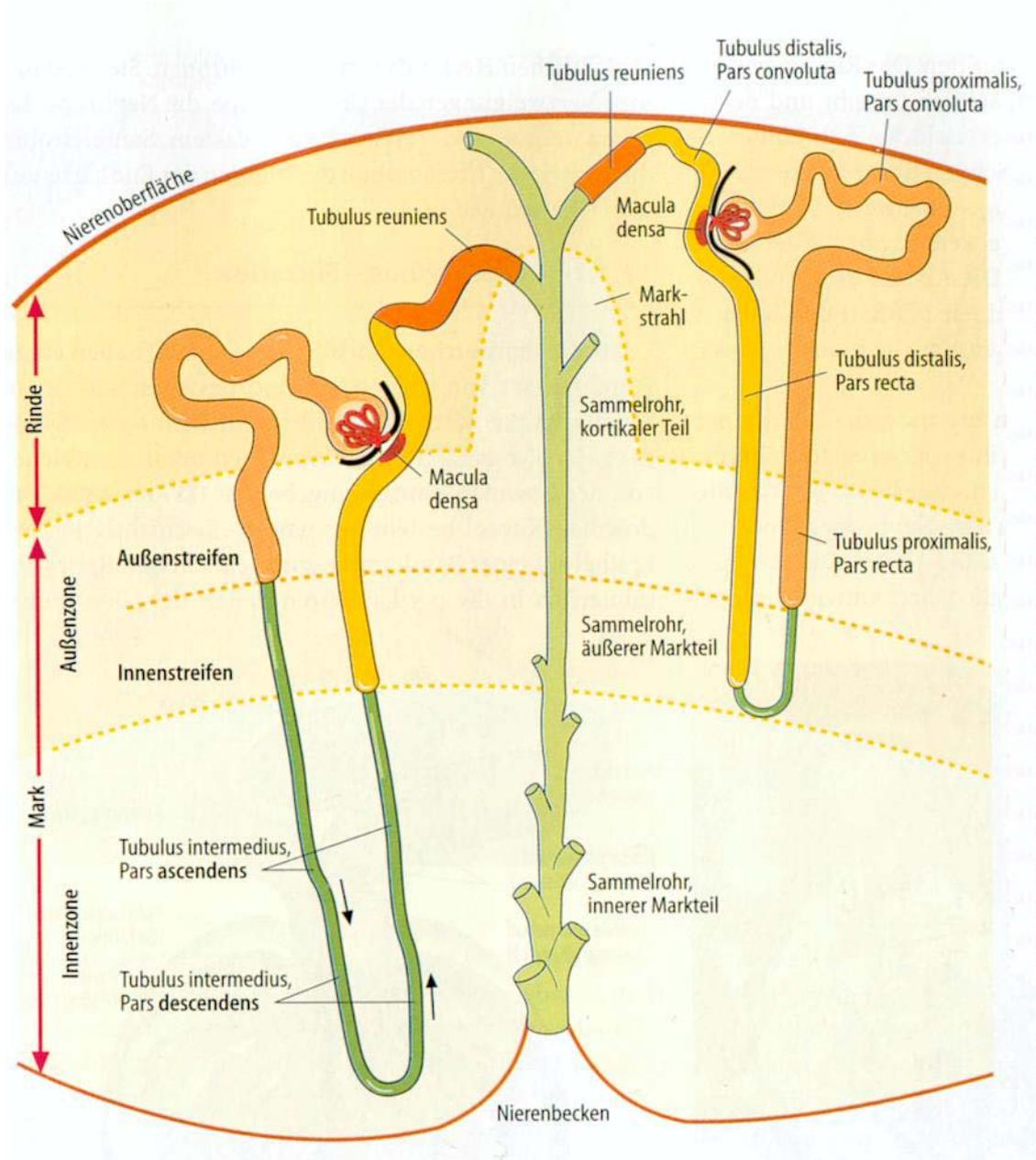


Abbildung 1: Juxtamedulläres (links) und kortikales (rechts) Nephron mit jeweils langer, bzw. kurzer Henleschen Schleife in der schematischen Darstellung. Die Grenzen von Mark und Rinde, bzw. die Zonen des Marks sind gestrichelt eingezeichnet. Das Sammelrohr und die geraden Abschnitte des proximalen und distalen Tubulus des kortikalen Nephrons liegen in einem Markstrahl, der ebenfalls durch eine gestrichelte Linie abgegrenzt ist. (Modifiziert nach Junqueira et al. 2005). (48)

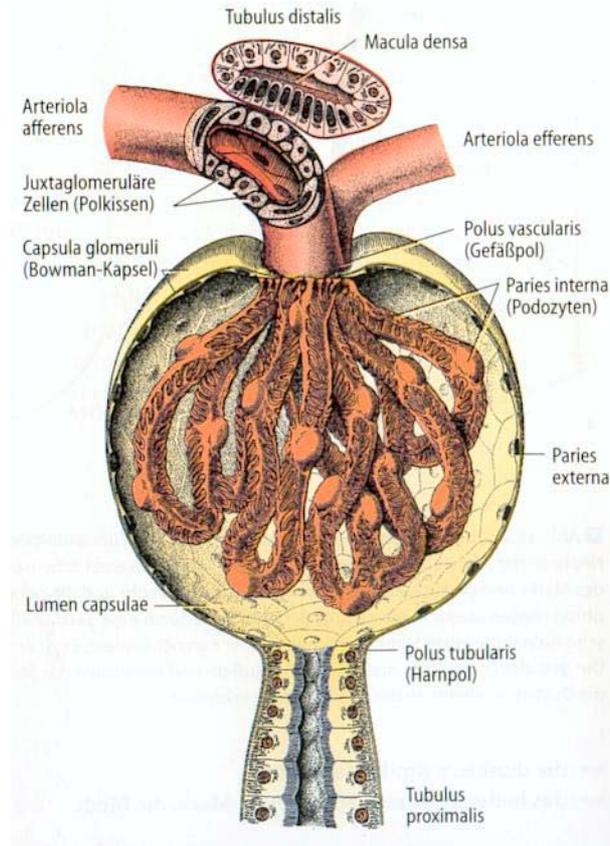


Abbildung 2: Schematischer Aufbau eines Glomerulums (Modifiziert nach Junqueira et al. 2005) (48)

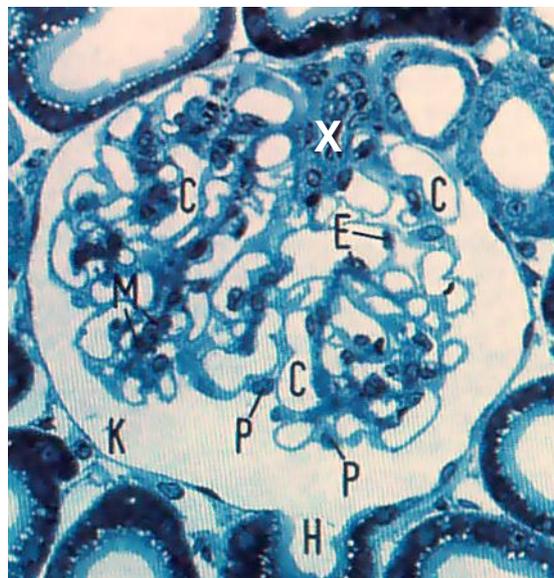


Abbildung 3: Histologischer Aufbau eines Glomerulums. Der juxtaglomeruläre Apparat (X) markiert den Gefäßpol. Gegenüber der mit (H) gekennzeichnete Harnpol. (C) Glomerulumkapillaren, (E) Kapillarendothelien, (K) Bowman-Kapselraum, (M) Mesangiumzellen, (P) Podozyten, (Modifiziert nach Junqueira et al. 2005) (48)

1.1.2 Physiologie der Niere

Die Nieren stellen das entscheidende Eliminationsorgan des Körpers dar. Durch die Anpassung der Filtration und Ausscheidung von Flüssigkeit und gelösten Stoffen, wie z.B. den Elektrolyten oder harnpflichtigen Substanzen, werden Regelgrößen wie der Wasserhaushalt, der Elektrolythaushalt, aber auch der Mineral- und Säurebasenhaushalt aufs Feinste abgestimmt und in sehr engen Grenzen gehalten. Somit werden auch der Blutdruck und die Mineralisierung des Knochens indirekt über die Niere reguliert. Aber auch die Konservierung von „Bedarfsstoffen“ wie Glucose, Aminosäuren, die Bildung von Hormonen wie Erythropoetin zählen zu den Aufgaben der Nieren. Um diese Aufgaben erfüllen zu können, unterliegt die Niere hohen energetischen und metabolischen Belastungen. Dies wird allein anhand der Nierendurchblutung deutlich: Etwa 20–25% des Herzzeitvolumens (etwa 5 l/min) erreicht die Nieren, die nur ungefähr 0,5% des Körpergewichts darstellen. Bei einem täglichen Blutdurchsatz von ungefähr 1.500 Litern durchströmen 90% die in der Nierenrinde liegenden Glomerula. In diesen wird ein fast eiweißfreies Ultrafiltrat gebildet. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) beträgt bei einem 70 kg schweren Menschen ca. 180 Liter pro Tag. Von diesen 180 Litern werden über 99% im Verlauf der Passage durch das Nephron transepithelial wieder rückresorbiert und dem zirkulierenden Blut zurückgeführt.

Das Blut gelangt über das Vas afferens in das Glomerulum. Über die oben beschriebenen Strukturen wird hier unter Zurückhaltung der Blutzellen und der großmolekularen Bestandteilen das Ultrafiltrat, bestehend aus Plasmawasser und gelösten Stoffen gebildet und in die Bowmankapsel abfiltriert. Der Strom des Blutes geschieht über das Vas efferens, der postkapillären Arteriole. In die tiefe Rinde gelangt das Blut über die Vasa recta, die in das Nierenmark bis zur Papille hinunterziehen. Hier ist das Blut an Rückresorptions- und Konzentrierungsvorgängen beteiligt, indem es die durch die Tubuli resorbierten Stoffe aufnimmt und abtransportiert.

Die Regulation der Durchblutung erfolgt hauptsächlich über den Zustand des Gefäßwiderstandes der zuführenden Arteriolen, die sich dem aktuellen

Blutdruck anpassen. Zwischen systolischen Blutdruckwerten von 90 mmHg bis 180 mmHg bleibt der renale Blutfluß konstant und somit auch der glomeruläre Filtrationsdruck bei etwa 55 mmHg. Somit ist auch die glomeruläre Filtrationsrate weitgehend unabhängig von kurzfristigen Blutdruckschwankungen. In den meisten Organen des Körpers bestimmt die zu leistende Arbeit und damit der Metabolismus die Durchblutung des betreffenden Organs. In der Niere jedoch fällt die zu leistende Arbeit und auch die metabolische Leistung erst durch die Durchblutung an. So kommt es bei einer Leistungssteigerung des Organs in den Nieren nicht wie in anderen Organen, beispielsweise im Herzen, zu einer metabolisch bedingten Vasodilatation, sondern zu einer metabolisch bedingten Vasokonstriktion um die Durchblutung zu verringern und so einer Überforderung des Organs vorzubeugen (72 ; 71).

Nach Bildung des Primärharns durch Abfiltration in die Bowmansche Kapsel gelangt dieser über den Harnpol in das Konvolut des proximalen Tubulus, in dem der Hauptanteil der Rückresorption stattfindet: Hier werden ca. 65% des Ultrafiltrats, darunter 60% des Natriums und des Wassers, 50% des Chlorids und über 90% der filtrierte Glucose wieder rückresorbiert. Die osmotische Konzentration bleibt hier unverändert. Die treibende Kraft hierbei ist die Rückresorption von Natrium und Chlorid, dem das Wasser zum osmotischen Ausgleich nachfolgt. Über den nachfolgenden intermediären Tubulus gelangt das Filtrat in den absteigenden Ast der Henleschen Schleife wo, bedingt durch den osmotischen Gradienten im Nierenmark, weitere 25% des filtrierte Wassers reabsorbiert werden. Im folgenden, weitgehend wasserundurchlässigen aufsteigenden Ast der Henleschen Schleife, werden dagegen 25% des filtrierte Natriumchlorids reabsorbiert. Somit wird die Harnkonzentrierung durch einen Gegenstrommechanismus zwischen Henlescher Schleife und Interstitium und dem daraus folgenden osmotischen Gradienten ermöglicht. Anschließend passiert der Harn den distalen Tubulus. In diesem, wie auch im nachfolgenden Sammelrohr, wird unter hormoneller Kontrolle von Adiuretin (ADH) Wasser, und unter der Wirkung von Aldosteron Natriumchlorid vermehrt rückresorbiert.

Der distale Tubulus trifft am Ende des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife auf das eigene Glomerulum, mit dem es in direktem Kontakt steht. Hier befinden sich in der Wand des distalen Tubulus spezialisierte Zellen, die im unmittelbaren Kontakt zum eigenen Glomerulum stehen. Diese Stelle des Nephrons wird Macula densa genannt. Zusammen mit der afferenten und efferenten Arteriole, den reninproduzierenden Epitheloidzellen und dem extraglomerulären Mesangium bildet sie den juxtaglomerulären Apparat. Sie hat die Funktion eines Natriumchlorid-Sensors (72 ; 71 ; 82 ; 106). Bei erhöhter Konzentration von Natriumchlorid an dieser Stelle kommt es zu einer Vasokonstriktion des Vas afferens, was mit einer Durchblutungsminderung des Glomerulums und daraus folgend mit einer Verringerung der GFR einhergeht (88). Hierbei wird nicht die Konzentration der Natriumionen, sondern der Abfall der Chloridionen-Konzentration als determinierender Faktor angenommen. Bereits 1980 wurde Adenosin als möglicher Mediator des Tubuloglomerulären Feedbacks (TGF) angenommen (72) gefolgt von anderen Autoren (77 ; 85 ; 95). Weiterhin führt eine verminderte luminale Natriumchlorid-Konzentration im Macula densa Segment zu einer Zunahme von Renin, das in den Epitheloidzellen des juxtaglomerulären Apparates produziert wird. Durch diese Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems wird eine Widerstandserhöhung der efferenten Arteriole erreicht, wobei die Filtrationsfraktion ansteigt. Auch hier kann bei erhöhter Natriumchlorid-Konzentration der umgekehrte Effekt beobachtet werden.

In dieser Arbeit soll jedoch ein besonderer Schwerpunkt auf die Rolle des Adenosins in der Physiologie und Pathophysiologie und dessen Auswirkungen auf die Nierenfunktion gelegt werden.

1.2 Adenosin

1.2.1 Adenosinstoffwechsel

Adenosin ist ein aus der Base Adenin und dem Zucker β -D-Ribose bestehendes Nukleosid. Es entsteht hauptsächlich intrazellulär nach Hydrolyse von Adenosin-5-Monophosphat (AMP) durch die enzymatische Wirkung der 5'-Nukleotidase (52 ; 53 ; 54). Da die Permeabilität der Zellmembran für Adenosin durch Nukleosid-Transporter sehr hoch ist, kann es leicht ins Interstitium gelangen und dort die membranständigen Rezeptoren aktivieren.

Aufgrund seiner sehr kurzen Halbwertszeit von 3–5 Sekunden im Blut, ist das Adenosin kein zirkulierender Stoff, sondern wird als Gewebshormon angesehen. Auch extrazellulär kann Adenosin aus AMP durch die 5'-Ectonucleotidase oder über das AMP aus cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) durch die Ecto-Phosphodiesterase gebildet werden. Eine weitere Möglichkeit der Adenosinbildung stellt die Hydrolyse von S-Adenylhomocystein (SAH) in Adenosin und Homocystein (Abbildung 4) dar. Unter physiologischen Bedingungen werden über 30% des intrazellulären Adenosins durch die SAH-Hydrolase in der NADH-Form gebunden. Bei ischämischen Zuständen der Zelle besitzt die SAH-Hydrolase in der NAD-Form eine drei bis vierfach niedrigere Affinität zu Adenosin, so dass Adenosin bei ischämischen Zuständen der Zelle freigesetzt werden kann (52 ; 53 ; 54). Bei gleichzeitiger Messung des renalen ATP-Gehalts und des Adenosingehalts bei intraaortaler Infusion hypertoner Natriumchloridlösung, was mit einer zunehmenden Transportleistung der Niere einhergeht, konnte gezeigt werden, dass sich die Gewebekonzentrationen von Adenosin und ATP streng reziprok verhalten, also der ATP-Spiegel bei Mehrarbeit der Niere abnimmt, während der Adenosinspiegel ansteigt (72). Extrazelluläres Adenosin bindet sich an spezifische Adenosin-Membranrezeptoren des Purintyps (23 ; 80). Der intrazelluläre Abbau des Adenosins erfolgt hauptsächlich durch die Adenosindesaminase (ADA).

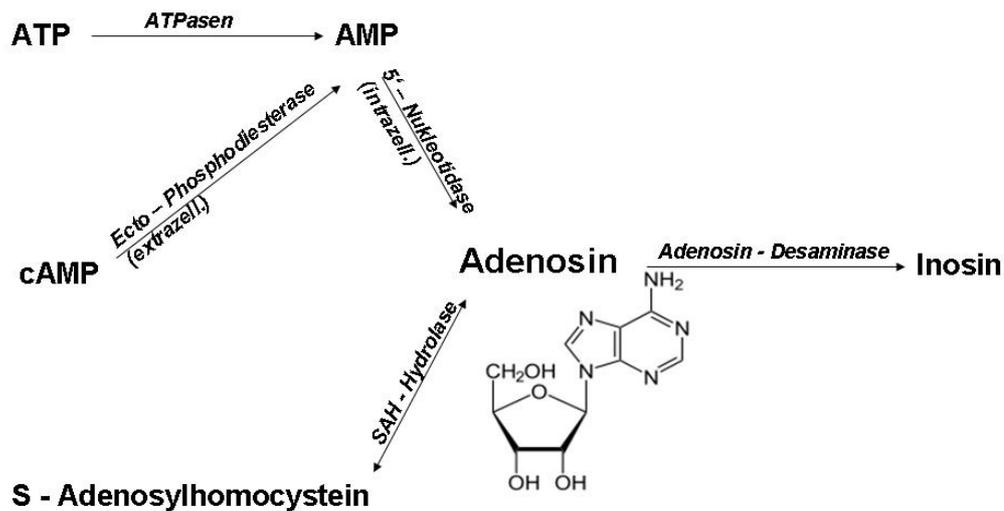


Abbildung 4: Adenosinstoffwechsel und Möglichkeiten der Adenosinsynthese. ATP = Adenosintriphosphat, AMP = Adenosinmonophosphat, cAMP = cyclisches Adenosinmonophosphat, SAH = S-Adenosylhomocystein

1.2.2 Adenosinrezeptoren

Die Adenosinrezeptoren gehören in die Gruppe der Purinrezeptoren (17) und unterteilen sich in vier verschiedene Rezeptortypen (23), die sich in der Signaltransduktion unterscheiden. Die A_1 -Rezeptoren sind an die Adenylatcyclase inhibierende G_i -Proteine und G_o -Proteine gekoppelt (24 ; 67), die in der Niere die vasokonstriktorische Wirkung von Adenosin vermitteln können. A_2 -Rezeptoren werden weiter in A_{2a} - und A_{2b} -Rezeptoren unterschieden. A_{2a} -Rezeptoren besitzen eine höhere Affinität gegenüber Adenosin als A_{2b} -Rezeptoren, was dadurch verdeutlicht wird, dass Adenosin bei A_{2b} -Rezeptoren erst bei einer wesentlich höheren Konzentration von 2-10 μM (23) zu wirken beginnt. Alle A_2 -Rezeptoren sind an die Adenylatcyclase stimulierende G_s -Proteine gekoppelt (59 ; 22). A_3 -Rezeptoren sind ähnlich wie die A_1 -Rezeptoren an die inhibitorischen G_i -Proteine gekoppelt und senken

ebenso die Aktivität der Adenylatcyclase und damit auch die intrazelluläre Konzentration von cAMP (115 ; 87). Es gibt Hinweise darauf, dass A₃-Rezeptoren am Herzmuskel eine Protektion vor Infarzierung besitzen, da sie auf die Herzmuskelzelle eine gewisse ischämische Konditionierung ausüben (69). Ebenso wurde bereits eine Protektion gegenüber Hypoperfusion und damit eine ischämische Präkonditionierung an der Niere vermutet (56). Neuere Erkenntnisse zeigen klar, dass die A_{2b}-Rezeptoren in der Mäuseniere die entscheidende Rolle bei der ischämischen Präkonditionierung spielen. (32)

1.2.3 Adenosinwirkung an der Niere

Bereits 1929 beobachteten Drury und Szent-Györgyi an einem isolierten Herz-Lungen-Nierenpräparat hypotensive Zustände durch vasodilatatorische Effekte des Adenosins. Im Gegensatz zu den meisten Organen konnte bereits hier an den Nieren eine vasokonstriktorische Wirkung von Adenosin durch einen Anstieg des renalen Gefäßwiderstandes beobachtet werden. Durch weitere Versuche konnten die Beobachtungen bei Ratten (73 ; 86 ; 75), Katzen (76), Hunden (98 ; 38 ; 103 ; 76), und Schweinen (86) bestätigt werden. Bei einer intraaortalen Injektion von Adenosin kann ein nur Sekunden dauernder Abfall des renalen Blutflusses (RBF) beobachtet werden. Durch den unselektiven Adenosinantagonisten Theophyllin kann dieser Effekt mit einer deutlich unter dem Schwellenwert der Phosphodiesterasehemmung liegenden Konzentration von 2-3 µM gehemmt werden (70). Durch Injektionen von selektiven A₁-Agonisten konnte gezeigt werden, dass die verminderte Nierendurchblutung bei Adenosineinwirkung durch eine kurz andauernde Vasokonstriktion der Vasa afferentia vor allem durch den A₁-Rezeptor ausgelöst wird (1 ; 78). Während bei einer kontinuierlichen Infusion von Adenosin der renale Blutfluss zunächst absinkt, im Verlauf allerdings über den Ausgangswert steigt (76), sinkt die glomeruläre Filtrationsrate ebenso wie der renale Gefäßwiderstand kontinuierlich deutlich ab (73 ; 76 ; 75 ; 98 ; 3 ; 93 ; 33 ; 34). Durch Mikropunktionsuntersuchungen konnte gezeigt werden, dass bei

kontinuierlicher Gabe von Adenosin eine Umverteilung der Durchblutung innerhalb der Niere, nämlich von den kortikalen oberflächlichen Arealen in die inneren, marknahen kortikalen Areale stattfindet (13 ; 57 ; 94). Die der Mikropunktion zugänglichen oberflächlichen Nephrone zeigen vor allem über den A₁-Rezeptor eine Vasokonstriktion, während die inneren marknahen kortikalen Nephrone mit einer Vasodilatation auf zunehmende Konzentration und Einwirkdauer von Adenosin zu reagieren scheinen. So konnte mit dem A₁-Adenosinagonsten N-Cyclopentyladenosin (CPA) eine global verminderte Nierendurchblutung gezeigt werden, während die Durchblutung bei Gabe eines A₂-Adenosinagonisten die medulläre Durchblutung auf das 1,8-fache anstieg (1).

Durch eine Adenosininfusion in das medulläre Interstitium konnte eine verminderte Durchblutung in den äußeren und inneren Markzonen bei verminderter Natriumausscheidung und verminderter Urinproduktion gezeigt werden. Mit dem selektiven A₂-Rezeptorantagonisten 3,7-Dimethyl-1-Propargylxanthine (DMPX) konnte dieser Effekt den A₂-Rezeptoren zugeordnet werden (116). Bei Versuchen mit dem A₁-Rezeptorantagonisten DPCPX konnte keine medulläre Verminderung der Durchblutung, wohl aber eine verbesserte Natriumausscheidung beobachtet werden, was vermuten ließ, dass endogenes Adenosin sowohl an der Regulation der Nierenmarksdurchblutung, als auch an der Regulation der ElektrolytabSORption beteiligt sein könnte. Auch an isolierten, perfundierten juxtamedullären afferenten Arteriolen konnte mit dem Adenosin-Analogen 2-Chloroadenosin eine Vasokonstriktion des Vas afferens beobachtet werden (46 ; 45). Bei „knock-out“ Mäusen, die keine Gensequenz für den Adenosin A₁-Rezeptor besaßen, konnte gezeigt werden, dass auf eine gesteigerte Natriumchloridkonzentration an der Macula densa keine Vasokonstriktion der Vasa afferentia auftrat, was beim Wildtyp der Fall gewesen wäre (96). So wird angenommen, dass Adenosin als der hauptverantwortliche Mediator gesehen werden kann, der in einem dynamischen Gleichgewicht mit Vasodilatoren in der renalen autoregulatorischen Kontrolle steht.

1.2.4 Einfluss von Adenosin auf den Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt

An Kulturen von isolierten Zellen des proximalen Tubulus von Ratten zeigte sich unter dem Einfluss von selektiven Adenosin A_1 -Rezeptor-Antagonisten eine verminderte Reabsorption von Wasser, Natrium, Phosphat und Bicarbonat (12 ; 13 ; 100). Auch an humanen Zellen konnte dieser Effekt nachgewiesen werden (101). Des Weiteren konnte durch Gabe von selektiven Adenosin A_1 -Antagonisten wie CVT-124, DPCPX oder KW-3902 eine gesteigerte Diurese und eine gesteigerte Natriumausscheidung beobachtet werden. Dieser Effekt wurde in erster Linie auf die Hemmung der im proximalen Tubulus stattfindenden Reabsorption von Wasser und Natrium zurückgeführt (55 ; 62 ; 111). Dies konnte auch beim Menschen mit dem selektiven A_1 -Antagonist FK-453 nachgewiesen werden (108 ; 6). Allgemein stimulieren natriuretische Substanzen, die proximal des aldosteronsensitiven distalen Tubulus wirken, die Kaliumsekretion im folgenden Segment und erhöhen damit die Kaliumausscheidung. Die Erkenntnis, dass Adenosin A_1 -Rezeptorantagonisten, in Verbindung mit der Expression von Adenosin A_1 -Rezeptoren im Sammelrohr (s. Tabelle 1) (60), die renale Kaliumausscheidung nicht erhöhen, führt zu der Idee, dass Adenosin A_1 -Rezeptoren auch die Kaliumsekretion im distalen Tubulus beeinflussen könnte. Bemerkenswerterweise war die basale Reabsorption von Flüssigkeit und Natrium im proximalen Tubulus von Mäusen, denen der Adenosin A_1 -Rezeptor fehlte, nicht unterschiedlich zu der von den Wildtypmäusen, was auf eine effektive Kompensation hindeutet (107). Im Gegensatz zum proximalen Tubulus hemmt die Aktivierung der A_1 -Rezeptoren im dicken aufsteigenden Ast der Henleschen Schleife die Reabsorption von Natriumchlorid. Studien an isolierten Zellen des aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife zeigten, dass durch die Aktivierung der dort vorhandenen A_1 -Rezeptoren das intrazelluläre Calcium erhöht, und somit die vasopressininduzierte Aktivierung der Adenylatcyclase gehemmt wird, was wiederum die Harnkonzentrierung beeinträchtigt (104 ; 11). Weitere Belege für die adenosinvermittelte Hemmung des Transports für

Elektrolyte konnten in weiteren Studien an isolierten Tubuluszellen von Ratten gezeigt werden. So verminderte sich die Netto Flussrate von Chlorid um 50% durch die Wirkung von Adenosin am A_1 -Rezeptor an diesen Zellen (8). Auf Zellen des distalen Konvoluts zeigten sich gegensätzliche Effekte von Adenosin. Abhängig ob A_1 -Rezeptoren oder A_2 -Rezeptoren stimuliert wurden, wurde die Magnesiumabsorption in diesem Tubulusabschnitt stimuliert oder gehemmt (8 ; 50). In Zellen des kortikalen Sammelrohrs wurde für die Kalziumreabsorption ein bislang unbekannter Mechanismus von A_1 -Rezeptoren nachgewiesen, der ohne cAMP-Bildung und ohne Kalziumfreisetzung in der Zelle einhergeht (8 ; 40).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass endogenes Adenosin unter physiologischen Bedingungen über die A_1 -Rezeptoren im kortikalen proximalen Tubulus, ein Ort hoher Sauerstoffversorgung, die Natriumchlorid-Resorption stimuliert. Im Gegensatz dazu wird im medullären Anteil des dicken aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife, ein Segment in dem eine relativ schlechte Sauerstoffversorgung vorherrscht, die Natriumchlorid-Reabsorption durch Adenosin am A_1 -Rezeptor gehemmt (106). In Tabelle 1 sind nochmals die wichtigsten Wirkungen von Adenosin auf die jeweiligen Rezeptoren zusammengefasst.

Tabelle. 1: Zusammenfassung der renalen Wirkungen von Adenosin durch Adenosinrezeptoren
(Modifiziert nach McCoy et al. 1993)

Lokalisation	Wirkung	Rezeptor - Typ
GFR	Senkung	A ₁
	Steigerung	A ₂
Vas afferens	Vasokonstriktion	A ₁
Vas efferens	Vasodilatation	A ₂
Juxtaglomerulärer Apparat	Reninausschüttung ↓	A ₁
	Reninausschüttung ↑	A ₂
Neurotransmitter- freisetzung präsynaptisch	Hemmung	A ₁
Tubuläre Sammelrohre	H ₂ O-Transport ↓	A ₁
	H ₂ O-Transport ↑	A ₂
Aufsteigender Ast der Henleschen Schleife (NaCl-Transport)	NaCl-Transport ↓	A ₁
	NaCl-Transport ↑	A ₂

1.2.5 Der selektive Adenosin A₁ Rezeptorantagonist FK 838

Bei dem selektiven Adenosin (ADO) A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 mit der Summenformel 6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinbutyrsäure (58) handelt es sich um ein Nichtpurinderivat (s. Abbildung 5). Im Vergleich zu anderen ADO A₁ Rezeptorantagonisten, wie beispielsweise DPCPX, ist FK 838 wesentlich hydrophiler, so dass kein DMSO zur Lösung des Feststoffes benötigt wird, sondern in einer pH 10 NaCl-Lösung gelöst werden kann. Nach Titration auf pH8 bleibt der ADO A1 Rezeptorantagonist FK 838 in Lösung und kann so infundiert werden. Die genaue Herstellung der FK 838-Lösung wird in 2.2.3 beschrieben.

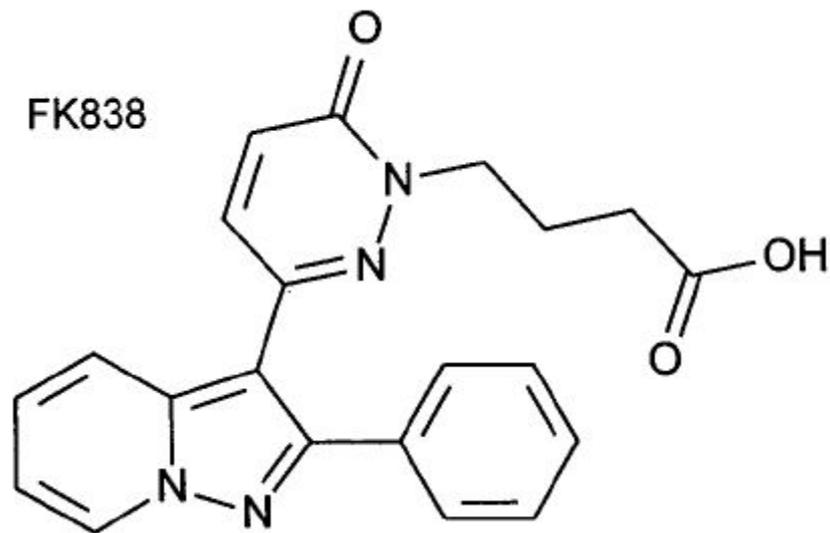


Abbildung 5: Strukturformel von FK838 (=6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinbutyrsäure)

1.2 Hydronephrose

1.2.1 Grundlagen der Hydronephrose

Die obstruktive Nephropathie ist gekennzeichnet durch eine Abflussbehinderung der ableitenden Harnwege mit daraus folgender Stauung des Harns und einem damit verbundenen progredienten Nierenfunktionsverlust. Mit zunehmendem Schweregrad und zunehmender Dauer des Harnstaus wird dieser Nierenfunktionsverlust irreversibel. Das Endstadium der obstruktiven Nephropathie stellt das Stadium der Hydronephrose (Abbildung 6, Abbildung 7 und Abbildung 8) dar, die für 2% der terminalen Niereninsuffizienz verantwortlich ist (6). Bei der Häufigkeitsverteilung der obstruktiven Nephropathie zeigt sich ein Häufigkeitsgipfel im Kindesalter und ein Häufigkeitsgipfel im späten Erwachsenenalter (18). Während die obstruktive Nephropathie im Erwachsenenalter häufig in der Urolithiasis oder in Tumoren der ableitenden Harnwege oder des Retroperitonealraumes begründet ist, sind angeborene Fehlbildungen im Kindesalter die häufigste Ursache für die obstruktive Nephropathie und der daraus folgenden Hydronephrose. Die Hydronephrose stellt dabei die häufigste Ursache für das Auftreten der terminalen Niereninsuffizienz im Kindesalter dar (9). Unabhängig von der eigentlichen Ursache kommt es bei andauernder Abflussstörung und des daraus resultierenden Harnstaus zu einer Reihe von makroskopisch und histologisch pathologischen Vorgängen der Niere, die Veränderungen der glomerulären Hämodynamik und der tubulären Funktion mit sich ziehen.

Bei akutem Harnstau kommt es zunächst zu einer Größenzunahme der Niere. Diese ist hauptsächlich durch ein ödematöses Nierenparenchym verursacht (63). Bei Fortbestehen der Obstruktion und des Harnstaus kommt es zur Druckatrophie des Nierenparenchyms und zur Ausbildung einer chronischen interstitiellen Fibrose (47 ; 49 ; 90) mit Infiltration von Entzündungszellen (89) und schließlich zu einer tubulären Atrophie (31).

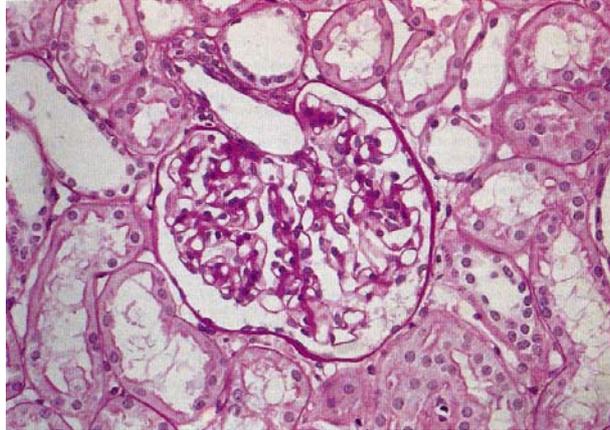


Abbildung 6: Gesundes Nierengewebe mit Glomerulum, Serumkreatinin zur Zeit der Biopsie 1,0 mg%. PAS – Reaktion. (Modifiziert nach Bohle et al. 1984).

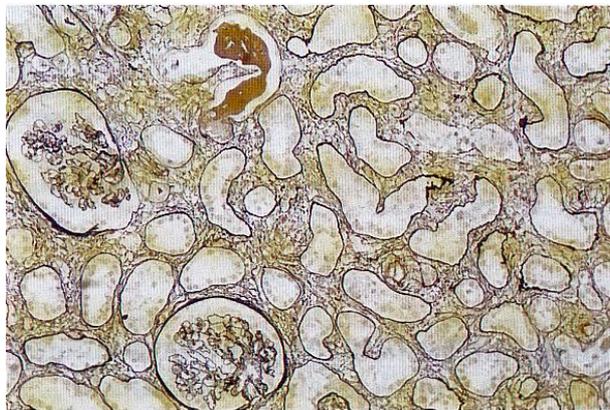


Abbildung 7: Inkomplette obstruktive Nephropathie. Chronische sklerosierende interstitielle Nephritis bei einseitiger inkompletter Ureterstenose nach Kollumkarzinombestrahlung. Im Vordergrund eine diffuse Verbreiterung des Interstitiums sowie Atrophie der Tubuli, Glomerula unauffällig. Semidünnschnitt, Versilberung nach Movat. (Modifiziert nach Bohle et al. 1984)

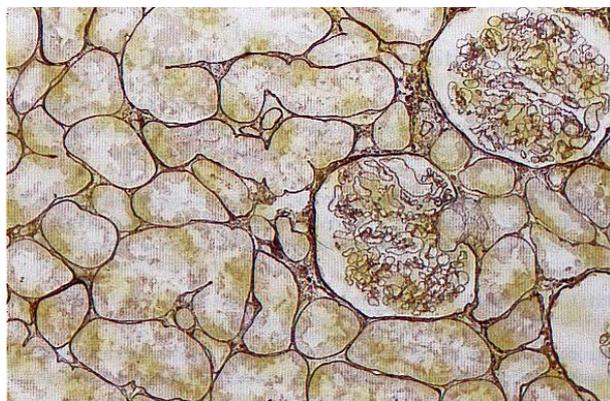


Abbildung 8: Komplette obstruktive Nephropathie. Ausschnitt aus der Nierenrinde bei einer Hydronephrose mit erweiterten Tubuli, atrophiertem Rindeninterstitium und unauffälligen Glomerula. Semidünnschnitt, Versilberung nach Movat. (modifiziert nach Bohle et al. 1984)

1.2.2 Auswirkungen der unilateralen Ureterligatur auf die renale Hämodynamik

Nach Auftreten einer einseitigen Okklusion eines Ureters treten typische Veränderungen der renalen Hämodynamik auf, die sich in drei Phasen einteilen lassen: Zunächst steigt initial der renale Blutfluss (RBF) bedingt durch eine Dilatation der renalen Gefäße an. In Zusammenhang damit steigt auch der Ureterdruck an. Nach 5 bis 8 stündiger bestehender Ureterokklusion folgt eine anhaltende Vasokonstriktion der renalen Gefäße mit Reduzierung der renalen Durchblutung um ca. 50%, während der Ureterdruck weiter zunimmt (64 ; 114). In der dritten Phase beginnt auch der Ureterdruck zu sinken, während der RBF kontinuierlich weiter abfällt (113).

Die erste Phase der hämodynamischen Veränderungen nach unilateraler Ureterligatur wird auch als die frühe hyperämische Phase bezeichnet. Allerdings ist dieser Effekt speziesspezifisch. So konnte der initiale RBF-Anstieg beim Schwein nicht nachgewiesen werden (26 ; 41). Die initial auftretende Hyperämie ergibt sich aus einer Dilatation der Vasa afferentia und einer darauf folgenden Abnahme des Widerstandes in den afferenten Gefäßen. So kommt es zunächst zu einem Anstieg des RBF (16 ; 44). Da dieser Effekt sowohl bei denervierten Nieren, als auch bei isoliert perfundierten Nieren zu beobachten ist, muss davon ausgegangen werden, dass intrarenale Vorgänge für diesen Effekt verantwortlich gemacht werden müssen (109 ; 68). Da sich der RBF-Anstieg in dieser Phase durch intravenöse Gabe von Indomethazin verhindern lässt, kann man vermuten, dass das intrarenale Prostaglandinsystem den initialen RBF-Anstieg auslöst (2 ; 29 ; 99).

Ein Abfall des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate charakterisieren die späte vasokonstriktorisches Phase nach unilateraler Ureterligatur (36 ; 64 ; 113). Diese renale Vasokonstriktion ist vor allem in einer Vasokonstriktion der Vasa afferentia begründet (4). Dabei gibt es in der ureterligierten Niere regionale Unterschiede in der Durchblutung und der vasokonstriktorisches Wirkung an den Vasa afferentia. So ist das juxtamedulläre Stromgebiet von der Vasokonstriktion nicht so stark betroffen,

wie das cortikale Blutstromgebiet (36 ; 97). Bereits nach 24-stündiger Ureterligatur sind die hämodynamischen Werte der Niere deutlich unter die Normwerte gefallen (113 ; 37 ; 16), wobei der Abfall der intrarenalen Hämodynamik zum progredienten Verlust der Nierenfunktion beiträgt. Auch für die vasokonstriktorische Phase werden Prostaglandine, speziell Thromboxan A₂, verantwortlich gemacht (65 ; 109 ; 114). Neben Angiotensin II (19 ; 113 ; 20 ; 27 ; 28) und Adenosin (74 ; 81) werden als intrarenale Vasokonstriktoren Leukotrienen, antidiuretisches Hormon (83) und Endothelin (21 ; 51 ; 66) als pathogenetische Faktoren an den hämodynamischen Veränderungen der hydronephrotischen Niere diskutiert.

1.2.3 Auswirkungen der unilateralen Ureterligatur auf die tubuläre Funktion

Die Beeinträchtigungen der Tubulusfunktion nach unilateraler Ureterligatur zeigen sich bereits während der Okklusion, jedoch deutlicher in der postobstruktiven Phase. So kommt es nach Lösung der Ligatur zu Reabsorptions- und Sekretionsstörungen. Im Wesentlichen ist der Transport von Natrium-, Kalium- und Wasserstoffionen betroffen. Daraus resultiert eine Unfähigkeit der Niere, den Urin zu konzentrieren und es lässt sich eine postobstruktive Natriurese und Diurese beobachten.

1.2.3.1 Auswirkungen auf die Natrium- und Kaliumkonzentration

Während das Urinzeitvolumen der postobstruktiven Niere normal bis etwas erhöht ist, ist die glomeruläre Filtrationsrate stark erniedrigt. Daraus resultiert eine deutlich, bis auf das 20-fach erhöhte fraktionelle Natriumausscheidung. Dies lässt sich auf einen Reabsorptionsdefekt für Natrium im proximalen

Tubulus, dem dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife und im gesamten Sammelrohr zurückführen (35 ; 92). Betroffen sind dort vor allem die zur Reabsorption nötigen Transporterproteine wie der Natrium–Kalium–2 Chlorid–Cotransporter, die Natrium–Kalium–ATPase oder der epitheliale Natriumkanal ENaC, die nach einer unilateralen Ureterligatur in der gesamten Niere herunterreguliert sind (43 ; 42). Die Kaliumexkretion ist sowohl fraktionell, wie auch absolut erniedrigt. Dies lässt sich auf eine, durch die reduzierte GFR begründete, verminderte tubuläre Flussrate und Natriummenge, sowie auf eine Störung der Kaliumsekretion im distalen Tubulus zurückführen (112 ; 102).

1.2.3.2 Folgen für die Resorption anderer Elektrolyte

Zusätzlich besteht eine Unfähigkeit der Niere, den Harn anzusäuern. Dies scheint eine Reaktion auf die Säurebelastung zu sein. Allerdings steigt die Bicarbonatausscheidung postobstruktiv nicht an, was vermuten lässt, dass dieser Ansäuerungsdefekt im distalen Tubulus zu suchen ist (84). Ergänzend dazu wurde die Entwicklung einer hyperkaliämischen hyperchlorämischen Azidose nach chronischer Ureterobstruktion beschrieben (7). Während Phosphat postobstruktiv retiniert wird, steigt die fraktionelle Ausscheidung von Magnesium an. Für die Calciumausscheidung lässt sich wiederum eine Spezifität feststellen (102 ; 10 ; 79).

1.2.3.3 Auswirkungen auf die Konzentrationsfähigkeit

Eine weitere Beeinträchtigung der Tubulusfunktion einer obstruierten Niere ist die verminderte Fähigkeit, den Urin zu konzentrieren. Dies lässt sich daran erkennen, dass die Niere nach 24–stündiger Ureterligatur einen plasmaitonen Urin ausscheidet. Begründet ist dies darin, dass die verschiedenen Mechanismen der Elektrolytrückresorption, wie die Expression der dazu notwendigen Transporter vor allem in dem dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife stark vermindert sind. Dies führt zu einer Verminderung bis zu einem Verlust des hypertonen Interstitiums im Nierenmark und damit zu

einer Störung des Gegenstromsystems. Dieser verminderte medulläre Konzentrationsgradient zusammen mit einer Reabsorptionsstörung der Sammelrohre, die auch ein vermindertes Ansprechen auf Adiuretin (ADH) zeigen, führt zur besagten verminderten Urinkonzentrierung. Die Reabsorptionsstörung im Sammelrohr ist vor allem auf eine verminderte Expression von Aquaporin-2-Proteinen im Sammelrohr zurückzuführen, die bei der nichtobstruktiven Niere unter Einwirkung von ADH im Sammelrohr in die apikale Membran eingebaut werden (25).

1.2.4 Eigene Fragestellung

Adenosin spielt in der Physiologie und Pathophysiologie der Niere eine wichtige Rolle (106). Gezeigt werden konnte dies bereits in der Pathophysiologie der renalen Hypertension, des konsekutiven Nierenversagens als Kontrastmittelreaktion oder aber auch als Reaktionen auf nephrotoxische Substanzen (15 ; 14). Auch gibt es Hinweise für die Beteiligung des Adenosins bei der Entstehung der obstruktiven Nephropathie, nicht zuletzt durch seine vasokonstriktorische Wirkung auf die afferenten Arteriolen des Glomerulums (74 ; 81).

In der vorliegenden Arbeit sollen zunächst die Veränderungen der Nierenfunktion in Abhängigkeit zur Zeit nach unilateraler Ureterligatur untersucht und dargestellt werden. Besonderes Augenmerk soll dabei auf die Veränderung der glomerulären Filtrationsrate, der Natriumausscheidung und der Konzentrierungsfähigkeit der ureterligierten Niere und der kontralateralen Niere gelegt werden.

Da es Hinweise darauf gibt, dass Adenosin als ein wichtiger Mediator und Modulator an der Pathophysiologie der Hydronephrose beteiligt ist, soll des Weiteren geprüft werden, ob durch Behandlung mit dem selektiven ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 signifikante Veränderungen der glomerulären Filtrationsrate, des Urinzeitvolumens, der Natriumausscheidung und der Konzentrierungsfähigkeit der ureterligierten Nieren oder der kontralateralen Nieren herbeigeführt werden können.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Tierexperimente

2.1.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden männliche Sprague–Dawley Ratten (Fa. Charles-River, Sulzfeld), nach Genehmigung durch das Regierungspräsidium Tübingen, mit einem Körpergewicht von 200–320 g verwendet. Nach Eintreffen der Versuchstiere, wurden diese für mindestens 3 Tage im Tierstall des Pharmakologischen Instituts in Makrodex[®] Standardkäfigen gehalten, bevor mit den Versuchsreihen begonnen wurde. Die Tierhaltung lag unter folgenden Umweltbedingungen: Künstlicher Tag–Nachtrhythmus im 12 Stunden Wechsel zur Simulation eines zirkadianen Rhythmus, Raumtemperatur von 22,5 °C und einer Luftfeuchtigkeit von ungefähr 60 g%/m³. Die Ratten wurden in Gruppen zwischen 4–6 Tieren pro Käfig gehalten. Sie erhielten Standardfutter mit einer Natriumchloridkonzentration von 0,6% (Altromin C 1320[®], Lage) und freien Zugang zu Leitungswasser.

2.1.2 Unilaterale Ureterligatur

Die Ureterligatur wurde in Narkose mit Ketaminhydrochlorid (Ketamin[®], DeltaSelect GmbH, Pfullingen) 42 mg/kgKG und Xylazinhydrochlorid (Rompun[®] 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) 9 mg/kgKG durchgeführt. Dazu wurde das Körpergewicht der Versuchstiere am Versuchstag auf einer Analogwaage (Mettler K 7 T[®], Fa. Mettler, Zürich) gewogen. Die Anästhetika wurden intraperitoneal injiziert. In Einzelfällen war eine Nachinjektion bis zum Erreichen der nötigen Narkosetiefe von 14 mg/kgKG Ketamin[®] und 3 mg/kgKG Rompun[®] nötig. Die Sicherung der Narkosetiefe erfolgte durch Überprüfung des

verminderten Muskeltonus, der ausbleibenden Reaktion auf Schmerzreize und des fehlenden Kornealreflexes.

Die narkotisierten Tiere wurden in Rückenlage auf einem beheizbaren Operationstisch (Fa. Effenberger, Pfaffing) fixiert. Durch eine rektal eingeführte Temperaturmesssonde wurde die Körperkerntemperatur kontinuierlich gemessen. Diese Messsonde war mit dem Heiztisch verbunden, welcher durch Temperaturregelung die Körpertemperatur während der Operation bei konstant 37,2 °C hielt. Um einer Austrocknung der Hornhaut durch den narkosebedingten erloschenen Lidschlussreflex und den Exophtalmus zu verhindern, wurden die Augen in regelmäßigen Abständen mit isotoner Kochsalzlösung befeuchtet.

Nach Aufbringen von Paraffinöl (Parafin M American National Can, Greenwich) wurde die Bauchhaut suprapubisch durch einen ca. 1,5 cm langen medianen Unterbauschschnitt eröffnet. Anschließend wurde das Peritoneum entlang der Linea alba schonend durchtrennt. Nach Ausrichtung der Wundhaken wurde der rechte Ureter respektive der linke Ureter sichtbar, der unter stereomikroskopischer Sicht stumpf präpariert und mit einem Seidenfaden der Stärke 5/0 USP (Seide Suprama[®], Berlin) angeschlungen und mittels chirurgischem Knoten ligiert wurde. Um den intraoperativen Flüssigkeitsverlust auszugleichen, wurden 2 ml isotoner Kochsalzlösung intraperitoneal appliziert. Anschließend wurde das Peritoneum zusammen mit der gesamten Abdominalmuskulatur inklusiv Faszien mit Einzelknopfnähten der Stärke 3/0 USP (Sicat[®], Fa. Dr. Ruhland Nachf., Neustadt a. d. Donau) und die Bauchhaut ebenso mit Einzelknopfnähten der Stärke 2/0 USP (Dermafil[®], Fa. Dr. Ruhland, Neustadt a. d. Donau) verschlossen. Die Fäden der Bauchdecke wurden dabei ca. 1 cm bis 1,5 cm lang gelassen, um ein Aufbeißen der Naht und damit eine erneute Eröffnung der Wunde zu verhindern. Bei den zur Kontrolle scheinoperierten Tieren (SHAM-operierten Tiere) wurden mit Ausnahme der Ligatur des Ureters die gleichen chirurgischen Schritte durchgeführt. Nach erneuter Befeuchtung der Augen wurden die operierten Tiere zur weiteren Überwachung zurück in den Käfig gelegt. Um einer Absenkung der Körpertemperatur der noch narkotisierten Tiere vorzubeugen, verblieben die Tiere im Käfig unter einer

Rotlichtlampe bis zum Nachlassen der Narkosewirkung, welches sich durch Auftreten von Kaubewegungen und des Kornealreflexes bemerkbar machte. Die Operationsdauer betrug 10–15 Minuten, an die sich eine individuelle Aufwachzeit von ca. einer Stunde anschloss. Die Tiere verblieben bis zum Auftreten des rattentypischen Verhaltens (Putzen, Fressen, Trinken) unter direkter Beobachtung im Labor. Vor Beginn der folgenden Clearance-Versuche konnten sich die Tiere je nach Gruppe 6, 12, 24 oder 72 Stunden von der Operation erholen. Hierzu waren sie wieder den oben genannten Bedingungen (Künstlicher Tag- Nachtrhythmus im 12 Stunden Wechsel zur Stimulierung eines zirkadianen Rhythmus, Raumtemperatur von 22,5 °C und einer Luftfeuchtigkeit von ungefähr 60 g%/m³, Standardfutter mit einer Natriumchloridkonzentration von 0,6% (Altromin C 1320[®], Lage) und freien Zugang zu Leitungswasser) ausgesetzt.

2.1.3 Präparation für die Clearanceexperimente

Für die Clearanceexperimente wurde als Anästhetikum Thiopental-Natrium (Trapanal[®], Altana) verwendet. Dieses wurde in Aqua bidest gelöst und den Versuchstieren in einer Dosierung von 80 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Nach etwa 3–6 Minuten trat in der Regel eine ausreichende Narkosetiefe ein, die an abgeschwächten Muskelreflexen, erloschenem Kornealreflex und fehlender Reaktion auf Schmerzreize wie den Zwischenzehenreflex überprüft wurde. In Einzelfällen war eine Nachinjektion von 20–40 mg/kg Körpergewicht zur ausreichenden Narkosetiefe erforderlich.

Die ausreichend narkotisierten Tiere wurden in Rückenlage auf einen beheizbaren Präparationstisch (Fa. Effenerger, Pfaffing) gelegt und an den Vorderpfoten fixiert. Die Körpertemperatur wurde ebenso wie in der Unilateralen-Ureterligatur-Operation mittels rektaler Sondenmessung konstant auf 37,2 °C gehalten.

Nach Aufbringen von Paraffinöl erfolgte ein ca. 3 cm langer suprasternaler Medianschnitt. Durch stumpfe oberflächliche Präparation mit einer Präparierschere (sämtliche Operationsinstrumente: Fa. Aesculap, Tuttlingen) wurde die lateral superficial gelegene Vena jugularis dextra aufgesucht, dargestellt und über eine Strecke von ca. 1 cm freipräpariert. Anschließend wurde diese distal ligiert, mit diesem Faden angeschlungen und proximal kurz vor der Einmündung der Vena jugularis dextra in die Vena subclavia dextra ein Knoten locker vorgelegt. Nun wurde unter stereomikroskopischer Sicht (Wild M32[®] 10x, Herrenburg, Schweiz) die Vena jugularis dextra mit der Federschere inzidiert und ein Polyethylenkatheter mit einem Außendurchmesser von 0,96 mm (alle Katheter: Portex tubing[®], Fa. Portex, Hythe Kent, Großbritannien) und einem Lumen von 0,58 mm ca. 1,5 cm in das Lumen der Vene vorgeschoben und mittels des vorgelegten Knotens fixiert. Die korrekte Lage des Katheters wurde durch Aspiration von Blut kontrolliert (Abbildung 9).

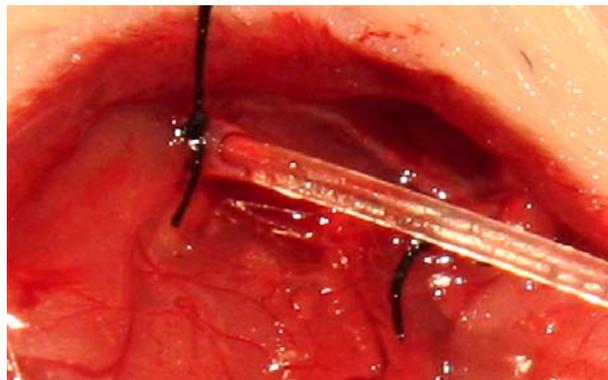


Abbildung 9: Kanülierte Vena jugularis dextra

An den Katheter wurden über T-Stücke zwei Infusionssysteme, die über zwei Perfusoren (Typ 871642/0[®] Fa. Braun-Melsungen, Melsungen und SP101 Syringe Pump[®], Fa. World Precision Instruments, Sarasota, USA) betrieben wurden, und eine Zuspritzmöglichkeit angeschlossen. Um den durch Evaporation und Perspiratio insensibilis entstandenen und im weiteren Operationsverlauf entstehenden Flüssigkeitsverlust auszugleichen, wurden über die Zuspritzmöglichkeit 2 ml 0,85 %-ige Kochsalzlösung injiziert. Über die Perfusoren wurde während des gesamten Operationsverlaufs, der

Äquilibration und des eigentlichen Versuchs 0,85%-ige Kochsalzlösung mit konstant 3 ml/h infundiert, um den Grundbedarf an Flüssigkeit zu gewährleisten und Gefäßokklusionen vorzubeugen.

Um die Atemwege zu sichern und um eine Absaugmöglichkeit zu haben, wurde im Folgenden eine Tracheotomie durchgeführt. Dazu wurden nach Aufsuchen der infrahyalen Muskulatur, die Laminae der Halsfaszie und den Mm. sternohyoidei unter Schonung des umgebenden Schilddrüsengewebes median gespalten und die darunterliegende Trachea dargestellt. Nach vorsichtigem, stumpfem Abpräparieren der die Trachea begleitenden Nerven und Gefäße, wurde die Trachea angeschlungen und ein Knoten locker vorgelegt. Mit der Federschere wurde nun die Trachea zwischen zwei Knorpelspangen etwa um die Hälfte ihres Durchmessers inzidiert. Über diese so entstandene Öffnung wurde nun ein ca. 4 cm langer Polyethylenkatheter mit einem Außendurchmesser von 2,08 mm und einem Lumen von 1,57 mm etwa einen Zentimeter in die Trachea vorgeschoben und mit dem vorgelegten Knoten fixiert. Falls etwas Wundsekret in die Trachea gelangt war, was sich durch Brodeln äußerte, wurde nun über den Trachealtubus abgesaugt, bis eine ungehinderte Spontanatmung möglich war (Abbildung 10).

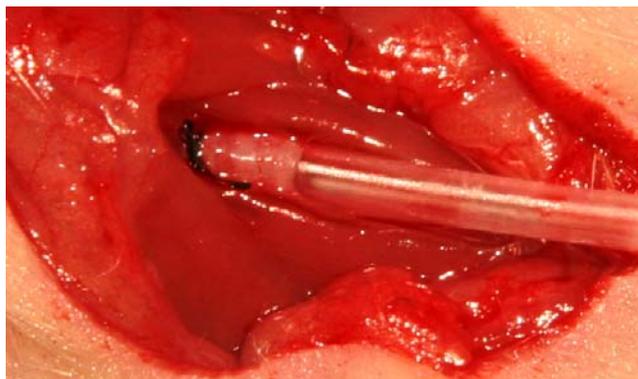


Abbildung 10: Kanülierte Trachea

Um eine Möglichkeit für die Blutentnahme zu schaffen und um den arteriellen Blutdruck kontinuierlich messen zu können, wurde im Folgenden die Arteria carotis sinistra katheterisiert. Dazu wurde die paratracheal liegende Arteria carotis sinistra aufgesucht und über eine Strecke von ca. 2 cm dargestellt.

Weiterhin wurde die Vagina carotica eröffnet und der Nervus vagus vorsichtig von der Arterie abpräpariert um eine reflektorische Asystolie durch erhöhten Vagotonus zu verhindern. Nach kranialer Ligatur der Arterie und vorübergehender kaudaler Komprimierung mit einer gefäßchirurgischen Arterienklemme wurde unter stereomikroskopischer Sicht die Arterie mit der Federschere inzidiert und wiederum ein Polyethylenkatheter mit einem Außendurchmesser von 0,96 mm und einem Lumen von 0,58 mm in Richtung der Gefäßklemme ca. 1,5 cm vorgeschoben und mittels vorgelegtem Knoten fixiert (Abbildung 11). Um ein versehentliches Herausziehen des Katheters zu verhindern, wurde ein zweiter Knoten zur Sicherheit angelegt. Der Katheter war mit 0,85%-iger Kochsalzlösung und 500 IE Heparin pro ml entlüftet. Über einen Drei-Wege-Hahn konnte der Katheter nach der Blutabnahme wieder blutfrei gespült werden. Angeschlossen war der Katheter an einen Druckaufnehmer (Blood pressure transducer BLPR[®], Fa. World Precision Instruments, Sarasota, USA), der das Signal über einen Brückenverstärker (Transbridge TBM4, Fa. World Precision Instruments, Sarasota, USA) an ein Frequenzmessgerät (Spezialanfertigung, Pharmakologisches Institut, Tübingen) und einen Schreiber (WK-280R, Fa. WKK Werkzeugbau, Kaltbrunn, Schweiz) weiterleitete, wodurch der Blutdruck während des ganzen Versuchs kontinuierlich aufgezeichnet wurde. Kalibriert wurde die Blutdruckmessung über eine verstellbare Quecksilbersäule (Type 367[®], Fa. Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten).

Nach Ende der cervikalen Operation wurden die Wundränder mit Einzelknopfnähten adaptiert, was der Verhinderung des Flüssigkeitsverlustes, aber auch der Fixierung der sich am Hals befindlichen Kathetern diente.

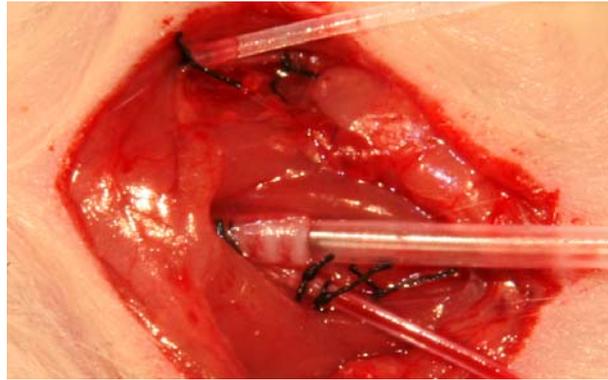


Abbildung 11: Situs nach Abschluss der cervikalen Operation

Oben: Jugulariskatheter

Mitte: kanülierte Trachea

Unten: kateherisierte A. carotis

Zur Urinsammlung wurden beide Ureteren katheterisiert. Dazu erfolgte, nach Aufbringen von Paraffinöl, eine Wiedereröffnung der Hautnaht der UUL-Operation und eine kraniale Erweiterung des Schnittes auf ca. 4 cm. Nach Eröffnung der Faszien- und Peritonealnaht wurde die Bauchdecke entlang der Lina alba mit einer groben Klemme geklemmt und so die Blutversorgung unterbrochen. Danach wurde die Bauchdecke mit einer Präparierschere entlang dieser Linie auf ebenfalls ca. 4 cm erweitert. Zuerst wurde der unligierte Ureter aufgesucht, über eine Strecke von ca. 2 cm dargestellt und von Bindegewebe befreit. Nach leichtem Anschlingen, ohne den Ureter dabei zu komprimieren und so eine Obstruktion herbeizuführen, wurde der Ureter unter stereomikroskopischer Sicht mit der Federschere inzidiert und ein Polyethylenkatheter mit einem Außendurchmesser von 0,80 mm und einem Lumen von 0,40 mm ca. einen Zentimeter in den Ureter vorgeschoben, bevor er durch einen vorgelegten Knoten fixiert wurde. Danach erfolgte eine Lagekontrolle durch die Beobachtung der Förderung von blutfreiem Urin (Abbildung 12).

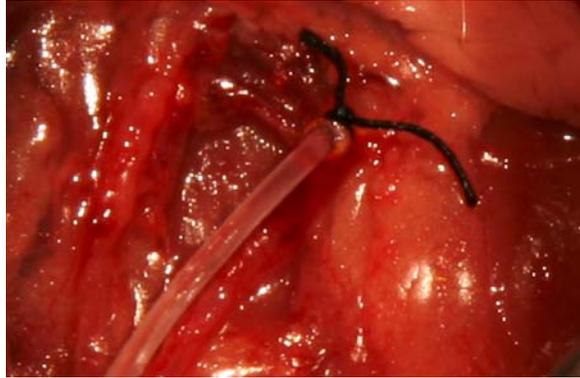


Abbildung 12: Kanülierter, unligierter Ureter. Dargestellt ist ein blutfreier, ungehinderter Urinabfluss

Durch seitlich bereitgestellte Polyethylen-Gefäße (Safe-Lock 2,0 ml[®], Fa. Eppendorf, Hamburg) in die die Katheter abgeleitet wurden, war ein ungehinderter Urinabfluss gewährleistet.

Nach Aufsuchen des ligierten und dadurch dilatierten Ureters wurde dieser ebenso von Bindegewebe freipräpariert, dann allerdings mit einer gefäßchirurgischen Klemme komprimiert, um nach Inzision des Ureters den aufgestauten Druck im Nierenbecken aufrecht zu erhalten. Ein Polyethylenkatheter mit den Maßen, wie er auch für den kontralateralen Ureter verwendet wurde, wurde mit 0,85 %-iger Kochsalzlösung entlüftet und mittels eines Knotens verschlossen, um die Wassersäule in Ureter und Katheter beizubehalten. Nach Inzision des Ureters mit der Federschere wurde dieser vorbereitete Katheter bis zur Gefäßklemme vorgeschoben und mit dem vorgelegten Knoten fixiert (Abbildung 13).

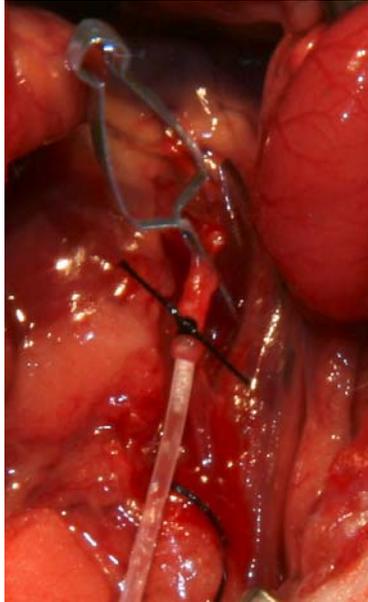


Abbildung 13: *Kanülierter, ligierter Ureter. Die Gefäßklemme dient der Aufrechterhaltung des aufgestauten Druckes im Nierenbecken bis zum Einbringen des entlüfteten Katheters*

Danach wurde die Klemme entfernt und die Wundränder der Bauchhaut zum Schutz vor Austrocknung und von Wärmeverlust mit einer fortlaufenden Naht adaptiert.

2.2 Ablauf der Experimente

2.2.1 Versuchsgruppen

Es wurden zwei Versuchsreihen gebildet:

In einer Versuchsreihe („Ureterligatur über die Zeit“) wurde die zeitabhängige Nierenfunktion bei Hydronephrose untersucht (s. Abbildung 14). Dabei wurden 4 Versuchsgruppen mit jeweils n Experimenten gebildet:

- Eine Gruppe, in der eine 6–stündige Ureterligatur bestand (n=8)
- Eine Gruppe, in der eine 12–stündige Ureterligatur bestand (n=8)
- Eine Gruppe, in der eine 24–stündige Ureterligatur bestand (n=8)
- Eine Gruppe, in der eine 72–stündige Ureterligatur bestand (n=8)

In einer folgenden Versuchsreihe („FK 838“) wurde die Nierenfunktion bei 24–stündiger Ureterligatur in Abhängigkeit von dem selektiven ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 untersucht. Dazu wurden 3 Versuchsgruppen mit jeweils n Experimenten gebildet:

- Eine Kontrollgruppe (SHAM), in der die Tiere scheinoperiert (SHAM) wurden und während den Hauptperioden (HP) FK 838 in einer Dosis von 0,036mg/h infundiert bekamen (n=9)
- Eine Gruppe (VHC), in der die Tiere ureterligiert wurden und während den Hauptperioden (HP) Vehikellösung infundiert bekamen (n=8)
- Eine Gruppe (FK 838), in der die Tiere ureterligiert wurden und während den Hauptperioden (HP) FK 838 in einer Dosis von 0.036mg/h infundiert bekamen (n=10)

2.2.2 Versuchsperioden

Nach der durchschnittlich 60 Minuten dauernden Präparation (s. 2.1.3) wurde die Narkose nochmals mit Trapanal® in einer Konzentration von ca. 20–30 mg/kg Körpergewicht über den venösen Zugang bis zum Erreichen einer Herzfrequenz von ca. 400/min und einem MAP von ca. 100 mm/Hg vertieft, um ein Abflachen der Narkose und der damit verbundenen Änderungen der Vitalparameter und der Urinausscheidung während des Versuchs zu verhindern. Danach schloss sich eine 60–90 minütige Äquilibrationsphase an, um einen Angleich der Körperfunktion an physiologische Werte zu erreichen. Diese wurden durch eine gleichmäßige Urinausscheidung und stabile Vitalparameter gekennzeichnet. Der Äquilibrationsphase folgte eine 20-minütige Totraumperiode, in der der verschlossene Katheter des ligierten Ureters eröffnet wurde, der abfließende Urin in Polyethylen-Gefäßen gesammelt werden konnte und so die Obstruktion zu diesem definierten Zeitpunkt aufgehoben wurde. Anschließend folgten 5 Perioden von je 30 Minuten, in deren Hälfte jeweils eine arterielle Blutentnahme erfolgte. Nach jeder Periode wurden die Polyethylen-Gefäße erneuert.

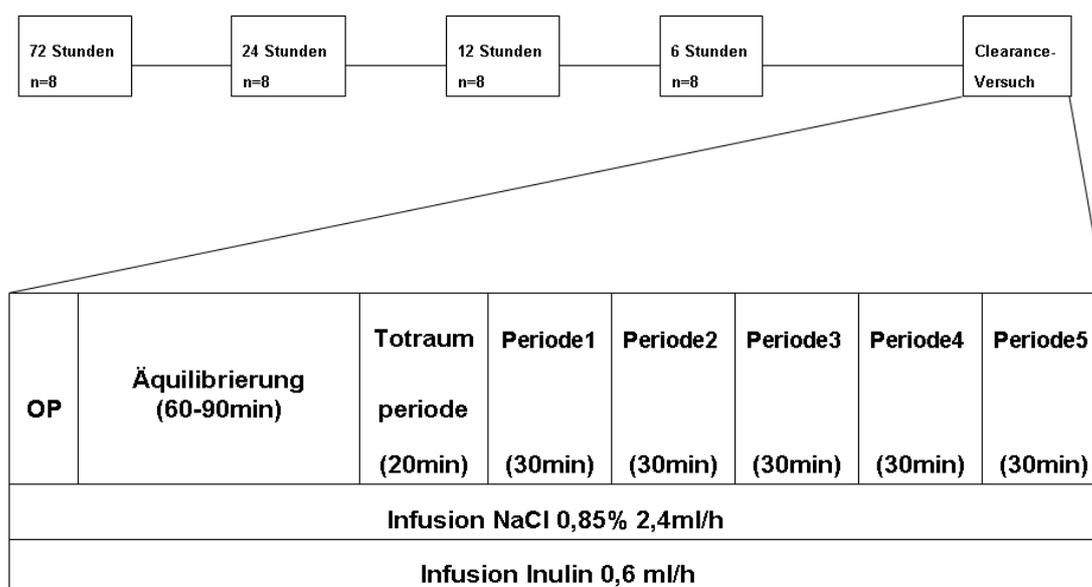


Abbildung 14: Aufbau des Versuchs und Ablauf der Clearance-Experimente der Versuchsreihe „Ureterligatur über die Zeit“; Periode 1 – 5: Clearanceperioden

Der Ablauf in der weiteren Versuchsreihe verlief ebenso wie oben beschrieben, bis auf die Perioden. Der 20-minütigen Totraumperiode schlossen sich zwei 30-minütige Vorperioden (VP) an, in denen 0,85 %-ige Kochsalzlösung über den Perfusor infundiert wurde. Anschließend folgten drei Hauptperioden (HP) in denen die Kochsalzlösung durch eine FK 838-Lösung, bzw. Vehikel-Lösung in der VHC Gruppe, ersetzt wurde (s. Abbildung 15). Jeweils nach der Hälfte einer Periode wurde wieder eine Blutabnahme vorgenommen und am Ende der jeweiligen Periode die Polyethylen-Gefäße erneuert.

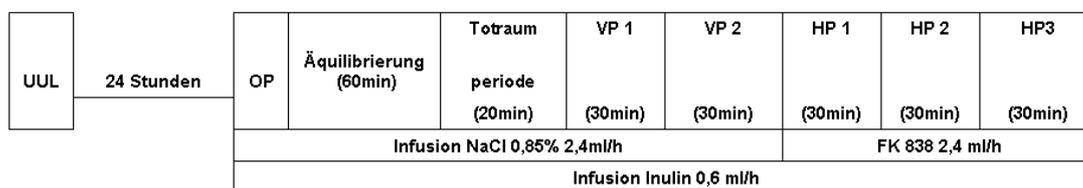


Abbildung 15: Ablauf der Clearance-Versuche mit dem ADO A_1 -Rezeptorantagonisten FK 838; VP = Vorperiode, HP = Hauptperiode

2.2.3 Verwendete Infusionslösungen

Während der Experimente wurde über den venösen Katheter kontinuierlich 0,85%-ige Kochsalzlösung mit einer Laufrate von 2,4 ml/h infundiert. Dazu wurde festes Natriumchlorid (NaCl, Fa. Merck, Darmstadt) in einer Gewichtskonzentration von 0,85 % in Aqua bidest gelöst. Zusätzlich wurde Tritium [^3H]-markiertes Inulin (Aktivität: 3 $\mu\text{Ci/ml}$) in 0,85 %-iger Kochsalzlösung gelöst und mit einer Laufrate von 0,6 ml/h während des gesamten Experiments infundiert, so dass die Gesamtflüssigkeitszufuhr 3 ml/h betrug.

Für die Versuchsreihe mit dem Adenosinantagonisten FK 838 wurde eine Vehikellösung hergestellt, indem 0,85 %-ige Kochsalzlösung mit 1M Natronlauge (NaOH) mit dem pH-Meter (digital pH millivolt meter 611[®], Orion Research, Cambridge, USA) auf pH10 titriert wurde. In dieser wurde nun der Feststoff FK 838 (FR120838 LOT Nr. 102142P, Astellas Pharma Inc, Tokyo,

Japan) in einer Konzentration von 0,015 mg/ml gelöst. Danach wurde die Lösung mit 1M Salzsäure (HCl) auf pH8 titriert. Diese Lösung diente als Infusionslösung, die mit einer Laufrate von 2,4 ml/h infundiert wurde und so eine Dosis von 0,036 mg/h verabreichte.

Als Negativkontrolle wurde dieselbe Vehikellösung ohne die Zugabe des Feststoffes FK 838 hergestellt und statt dieser in den Hauptperioden (HP) der Versuchsreihe infundiert.

2.2.4 Probenentnahmen

Während den Versuchsperioden wurden Blut- und Urinproben für die spätere Analytik entnommen:

- Nach der Hälfte jeder Versuchsperiode wurden aus dem in der Arteria carotis liegenden Katheter 3 Blutproben mit Ammonium-heparinisierten Glaskapillaren (Mikro-Hämatokritröhrchen[®], Fa. Brand, Wertheim) á 75 µl entnommen und mit Hämatokrit - Versiegelungskitt (Hämatokrit-Versiegelungskitt, Fa. Brand, Wertheim) verschlossen.
- Der Urin wurde in Polyethylen-Gefäßen á 2 ml über die Versuchsperiode hinweg gesammelt.
- Der während der Äquilibrierungsphase gesammelte Urin wurde verworfen.
- Der gesammelte Urin der Totraumperiode wurde zur weiteren Analytik verwendet.

2.3 Analytik

Gemessene Parameter in den Clearanceversuchen:

- Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) in Millimeter Quecksilbersäule (mmHg)
- Herzfrequenz (HF) (1/min)
- Hämatokrit (Hkt) in (%)
- [³H]–Inulin in Plasma und Urin (dpm)
- Urinvolumina der Sammelperioden in (ml)
- Urinzeitvolumen (UZV) in (µl/min/100g Körpergewicht)
- Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) in (µl/min/100g Körpergewicht)
- Natriumkonzentration in Plasma und Urin in (mmol/l)
- Natriumausscheidung ($U_{Na}V$) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Filtriertes Natrium (F_{Na}) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Fraktionelle Natriumausscheidung (FE_{Na}) in (%)
- Kaliumkonzentration in Plasma und Urin in (mmol/l)
- Kaliumausscheidung (U_KV) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Filtriertes Kalium (F_K) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Fraktionelle Kaliumausscheidung (FE_K) in (%)
- Natrium–Kalium–Quotient
- Chloridkonzentration in Plasma und Urin in (mmol/l)
- Chloridausscheidung ($U_{Cl}V$) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Filtriertes Chlorid (F_{Cl}) in (µmol/min/100g Körpergewicht)
- Fraktionelle Chloridausscheidung (FE_{Cl}) in (%)
- Osmolarität von Plasma und Urin in (mosmol/kg)
- Osmolale Clearance in (µl/min/100g)
- Freiwasserclearance in (ml/min)

2.3.1 Bestimmung des Blutdruckes und der Herzfrequenz

Der systolische und der diastolische Blutdruck sowie die Herzfrequenz wurden während des Experiments kontinuierlich gemessen und über einen Schreiber (WKK–280R, Kaltbrunn, Schweiz) aufgezeichnet. Vor jedem Experiment wurde das System zur Blutdruckmessung mit einer Quecksilbersäule (Type 367[®], Hugo Sachs Elektronik, March–Hugstetten) kalibriert.

2.3.2 Bestimmung des Hämatokrits

Nach Zentrifugation der Hämatokritröhrchen in der Hämatokritzentrifuge (Hettich Hämatokrit, Fa. Hettich, Tuttlingen) bei 12000 U/min erfolgte die Hämatokritbestimmung mit Hilfe einer Hämatokritschablone. Die Höhe der korpuskulären Blutbestandteile nach Zentrifugation im Verhältnis zu der Gesamtblutsäule ergibt den prozentualen Wert des Hämatokrits (Hkt) in Vol%. Danach wurde der nichtkorpuskuläre Anteil in 0,5 ml Polyethylen–Gefäße überführt. Diese dienten im Anschluss der GFR-, Natrium- und Kaliumbestimmung. Der Rest der Proben wurde gepoolt und zur Chloridmessung und zur Messung der Osmolarität im Plasma herangezogen. Der korpuskuläre Anteil wurde verworfen.

2.3.3 Bestimmung der [³H]–Aktivität in Plasma und Urin

Die gewonnenen Plasma- und Urinproben enthielten das zur GFR–Bestimmung benötigte Tritium–markierte Inulin. Für die [³H]–Aktivitätsbestimmung wurden jeweils Doppelproben von Plasma und Urin der jeweiligen Versuchsperiode angesetzt. Aus den Ergebnissen der Doppelproben wurde der Mittelwert bestimmt, der für die weiteren Berechnungen verwendet wurde. Es wurden je 10 µl Plasma bzw. Urin in Szintillationsmeßgefäße (MIDI–VIAL[®], Fa. Packard, Groningen, Niederlande) pipettiert und mit 5 ml Szintillationsflüssigkeit (Ultima

Gold[®], Fa. Packard, Groningen, Niederlande) aufgefüllt. Die Szintillationsflüssigkeit diente dabei der Umwandlung, der beim radioaktiven Zerfall von [³H] frei werdenden Energie in Lichtblitze, die von einem Szintillationszähler (2250TR, Fa. Packard, Meriden, USA) registriert und aufgezeichnet wurden. Die Messdauer der Proben richtete sich nach der Aktivität und wurde so lange fortgeführt, bis der zufällige Messfehler unter 3% lag. Wegen der, im Vergleich zu den Urinproben, niedrigen Aktivität der Plasmaproben betrug die Messdauer für diese ca. 20 min, für die Messung der Urinproben wurde meist nur eine Minute benötigt.

2.3.4 Bestimmung der Urinvolumina

Vor Beginn der Experimente wurde das Leergewicht der Polyethylengefäße (Safe-Lock 2,0 ml, Fa. Eppendorf, Hamburg) gemessen, die im Versuch zur Urinsammlung dienten. Dazu wurde eine Präzisionswaage (Precisa 100A-300M, Fa. Oerliko, Zürich, Schweiz) verwendet. Im Anschluss an die Experimente wurden die mit Urin gefüllten Gefäße erneut gewogen und das Leergewicht subtrahiert. Der Differenzwert wurde mit dem Urinvolumen in μl gleichgesetzt. Der durch das differierende spezifische Gewicht entstandene Fehler wurde dabei nicht berücksichtigt.

2.3.5 Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentration in Plasma und Urin

Zur Natrium- und Kaliumbestimmung wurden je 10 μl Plasma, respektive 10 μl Urin in ein 2,0 ml Polyethylengefäß pipettiert. Es wurden dabei jeweils Doppelproben angesetzt, aus denen später der Mittelwert errechnet wurde, der in die weiteren Berechnungen einging. Zu den Plasmaproben wurde 1 ml Lithium-Lösung (Li^+ -Lösung, Fa. Eppendorf, Hamburg) und zu den Urinproben 2 ml der Lithium-Lösung pipettiert. In den so vorbereiteten Proben wurden im Flammenphotometer (ELEX 6361[®], Fa. Eppendorf, Hamburg) die Natrium- und

Kaliumkonzentrationen bestimmt. Die ermittelten Werte wurden in mmol/l angegeben. Vor jeder Messreihe wurde das Flammenphotometer mit Lösungen definierten Elektrolytgehaltes geeicht.

2.3.6 Bestimmung der Chloridkonzentration in Plasma und Urin

Zur Bestimmung der Chloridkonzentration wurde das Plasma eines Experimentes gepoolt. Die Urinproben wurden jedoch entsprechend der Versuchsperiode bestimmt. Dazu wurden je 50 µl Plasma bzw. Urin in ein 0,5 ml Polyethylengefäß pipettiert. Der Chloridgehalt wurde durch ein coulometrisches Verfahren mit dem Chloridmeter (Chloridmeter 6610[®], Fa. Eppendorf, Hamburg) bestimmt. Nach Kalibrierung des Chloridmeters mit einer definierten Standardlösung (100 mmol/l KCl) wurden in eine Basislösung (15 ml Essigsäure (1,02 mol/l), Salpetersäure (92,4 mmol/l) und 1 ml Gelatinelösung (12,33 mol/l Methanol, 6,7 mmol/l Thymol, 2,1 mol/l Thymolblau und 0,007 mmol/l Gelatine)) je 50 µl Plasma bzw. Urin pipettiert. Die Chloridkonzentration der Probe wurde in mmol/l angezeigt.

2.3.7 Bestimmung der Osmolarität in Plasma und Urin

Auch zur Messung der Osmolarität wurde das Plasma eines Experimentes gepoolt und die Urinproben entsprechend der Versuchsperiode bestimmt. Dazu wurden 54 µl der zu bestimmenden Probe in 0,5 ml Polyethylengefäße pipettiert. Diese Polyethylengefäße wurden nun in den Osmometer (Osmomat[®] 300, Gonotec GmbH, Berlin) gegeben, der mittels des Verfahrens der Gefrierpunktniedrigung, die Osmolarität bestimmte. Dieses Verfahren beruht auf der Abhängigkeit der Gefrierpunktniedrigung von der Osmolarität der Probe. Vor Beginn der Messungen wurde das Osmometer mit definierten Standardlösungen kalibriert.

2.4 Berechnungen und Statistik

2.4.1 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Die Mittelwerte des systolischen (P_{sys}) und diastolischen (P_{dia}) Blutdrucks während einer Versuchsperiode wurden graphisch aus den Aufzeichnungen des Schreibers ermittelt. Der MAP wurde nach folgender Formel berechnet:

$$MAP = P_{\text{dia}} + \frac{P_{\text{sys}} - P_{\text{dia}}}{3}$$

2.4.2 Urinzeitvolumen

Das Urinzeitvolumen (UZV) gibt das ausgeschiedene Urinvolumen (UV in ml) pro Versuchsperiode an und wird auf 100 g des Körpergewichts (KG) bezogen:

$$UZV = \frac{UV \cdot 100}{KG}$$

2.4.3 Glomeruläre Filtrationsrate

Die GFR jeder Versuchsperiode wurde anhand der gemessenen [^3H] – Aktivitäten im Plasma (A_{Plasma}) und im Urin (A_{Urin}) sowie anhand des Urinvolumens (UV) errechnet, das auf Tiergewicht und Sammeldauer bezogen nach folgender Formel berechnet wurde:

$$GFR = \frac{A_{\text{Urin}}}{A_{\text{Plasma}}} \cdot UV$$

2.4.4 Absolute renale Elektrolytausscheidung

Für die nachfolgenden Berechnungen der Elektrolytausscheidung wurde exemplarisch das Elektrolyt Natrium ausgewählt. Ebenso gelten die folgenden Formeln für die Berechnungen der Elektrolyte Kalium und Chlorid.

Nach Bestimmung der Urinkonzentration von Na^+ (Na_{Urin}) und Urinzeitvolumen im Clearanceversuch erfolgte die Berechnung der absoluten renalen Natriumexkretion ($U_{\text{Na}}V$ in $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g KG}$) nach folgender Formel:

$$U_{\text{Na}}V = [\text{Na}_{\text{Urin}}] \cdot \text{UZV}$$

2.4.5 Filtriertes Elektrolyt

Das filtrierte Natrium (F_{Na}) gibt die glomerulär filtrierte Menge von Natrium an und wurde mit folgender Formel berechnet:

$$F_{\text{Na}} = [\text{Na}_{\text{Plasma}}] \cdot \text{GFR}$$

2.4.6 Fraktionelle renale Elektrolytausscheidung

Die fraktionelle renale Natriumausscheidung (FE_{Na}) gibt die Natriumausscheidung in Prozent der Gesamtmenge des filtrierten Natriums an. Sie stellt ein Maß für die tubuläre Resorptionsleistung der Niere dar und wird wie folgt berechnet:

$$FE_{\text{Na}} = \frac{U_{\text{Na}}V \cdot 100}{\text{Na}_{\text{Plasma}} \cdot \text{GFR}}$$

2.4.7 Osmolale Clearance

Mit der Osmolaren Clearance (C_{Osmol}) wurde die Clearance für die Gesamtheit der gelösten Teilchen nach folgender Formel berechnet:

$$C_{Osmol} = \frac{osmol_{Urin}}{osmol_{Plasma}} \cdot UZV$$

2.4.7 Freiwasserclearance

Die freie Wasserclearance (C_{H_2O}) ist die Menge von Wasser, die aus dem Urin entfernt werden muss oder zu dem Urin dazugegeben muss, um ihn isoosmolal mit dem Plasma zu machen. Sie ist somit ein Maß für die Konzentrationsfähigkeit der Niere und wurde mit folgender Formel ermittelt:

$$T_{H_2O} = UZV - C_{Osmol}$$

2.4.7 Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung der Versuchsdaten wurden für die Gruppenvergleiche zwischen den Gruppen die ANOVA Methode („One-way analysis of variance“) angewendet. Um Aussagen über die Signifikanz machen zu können, wurde zusätzlich der Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test angewendet. Als Maß für die statistische Signifikanz diente der p-Wert, der die Überschreitungswahrscheinlichkeit gegenüber der Nullhypothese anzeigt. Als Nullhypothese galt, dass die Abweichungen innerhalb der zufälligen Streubreite der Werte lägen. Abweichungen wurden als Signifikant angesehen, wenn die beidseitige Überschreitungswahrscheinlichkeit gegenüber der Nullhypothese das Signifikantniveau von $\alpha=0,05$ unterschritt ($p<0,05$). Als statistisch hochsignifikant wurden p-Werte $< 0,0001$ angesehen. Alle Mittelwerte, sowohl in den Tabellen wie auch in den Abbildungen, wurden als Mittelwerte \pm SEM (standard error of the mean) angegeben. Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe der Computerprogramme Office Excel 2003[®] (Fa. Microsoft) und JMP 7.0[®] (SAS Institute) erstellt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Untersuchung der Nierenfunktion bei Hydronephrose durch Ureterligatur über die Zeit

Ziel dieser Versuche war es, Veränderungen der Nierenfunktion in Abhängigkeit zur Dauer nach unilateraler Ureterligatur zu erkennen. Dazu wurden 4 verschiedene Versuchsgruppen gebildet. Die Clearanceversuche wurden, wie in 2.2.1 beschrieben, nach 6-stündiger Ureterligatur, nach 12-stündiger Ureterligatur, nach 24-stündiger Ureterligatur und nach 72-stündiger Ureterligatur vorgenommen.

3.1.1 Störfaktoren

Die Versuchsgruppen wurden miteinander verglichen hinsichtlich der möglichen Störfaktoren, wie OP-Dauer bei der unilateralen Ureterligatur, OP für die Clearanceversuche, Registrierung des mittleren arteriellen Blutdrucks als auch für die Hämatokritmessung und in Tabelle 2 dargestellt.

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) einer Gruppe gegenüber den übrigen Versuchsgruppen wurden mit Δ gekennzeichnet.

Dabei fallen in der Gruppe der 24-stündig ureterligierten Nieren vor allem eine längere OP-Dauer bei den Clearanceversuchen, ein signifikant geringerer mittlerer arterieller Druck und ein signifikant geringerer Hämatokrit-Wert auf.

Tabelle 2: Übersicht über die möglichen Störfaktoren in den Clearanceversuchen. Signifikante Unterschiede einzelner Gruppen im Vergleich zu den übrigen Versuchsgruppen wurden mit Δ gekennzeichnet. Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM

$\Delta p < 0,05$ versus die übrigen Versuchsgruppen

Störfaktoren	6 Stunden UUL	12 Stunden UUL	24 Stunden UUL	72 Stunden UUL
OP – Dauer UUL [min]	10,00 \pm 0,28	10,00 \pm 0,00	11,25 \pm 0,24	11,87 \pm 0,27
OP – Dauer Clearance [min]	51,87 \pm 0,48	58,12 \pm 0,68	71,87 \pm 1,53 Δ	53,28 \pm 0,61
MAP [mmHg]	98,87 \pm 0,77	96,66 \pm 0,65	87,24 \pm 1,24 Δ	103,67 \pm 1,66
Hämatokrit [%]	47,62 \pm 0,18	46,52 \pm 0,14	44,49 \pm 0,25 Δ	47,23 \pm 0,26

3.1.2 Urinzeitvolumen

In allen Versuchsgruppen war das Urinzeitvolumen der ureterligierten Nieren nahezu identisch (s. Abbildung 16). Die Urinzeitvolumina lagen dabei zwischen 0,92 \pm 0,08 und 1,69 \pm 0,18 μ l/min/100g. Hierbei konnte ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der 6–stündig ligierten Niere und der 12–stündig ligierten Niere beobachtet werden.

Die Urinzeitvolumina der kontralateralen Niere zeigen einen hochsignifikanten Unterschied ($p < 0,0001$) in der Gruppe der 72–Stunden ligierten Tiere mit 12,41 \pm 1,32 μ l/min/100g zu den kontralateralen Nieren nach 6, 12 und 24–stündiger Ligatur mit 3,50 \pm 0,32 μ l/min/100g.

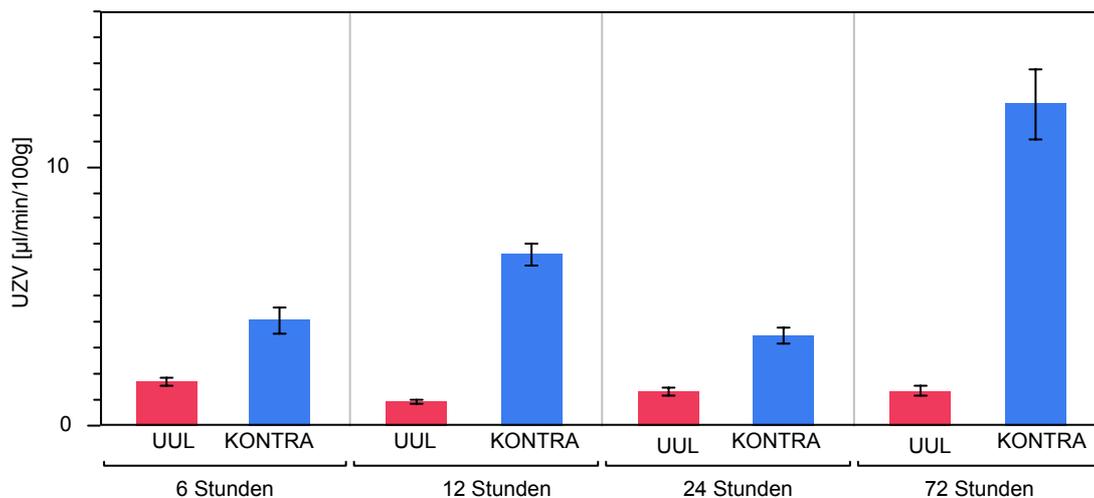


Abbildung 16: Vergleich der Urinzeitvolumina (UZV) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA)

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Zu sehen ist jeweils ein signifikanter Unterschied zwischen der UUL-Seite und der KONTRA-Seite. Zudem ist ein signifikanter Anstieg des UZV der kontralateralen Nieren mit einem Maximum nach 72h erkennbar.

3.1.3 Glomeruläre Filtrationsrate

Im Vergleich der glomerulären Filtrationsrate der ureterligierten Nieren konnte ein signifikanter Abfall ($p < 0,0001$) bei den Nieren nach 6-stündiger Ureterligatur mit $372,01 \pm 16,27$ µl/min/100g, den Nieren nach 12-stündiger Ureterligatur mit $264,29 \pm 12,96$ µl/min/100g zu den Nieren nach 24- und 72-stündiger Ureterligatur mit $79,77 \pm 7,81$ µl/min/100g festgestellt werden. Somit lässt sich ein Abfall der GFR an den ureterligierten Nieren bis 24h feststellen, auf deren Niveau sie dann verbleibt (s. Abbildung 17 und Abbildung 18).

Dagegen konnten an den Nieren der kontralateralen Seite kein nennenswerter zeitabhängiger Unterschied in der glomerulären Filtrationsrate festgestellt

werden. Lediglich die kontralateralen Nieren der Gruppe nach 24-stündiger Ureterligatur weisen einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zu den übrigen Gruppen auf.

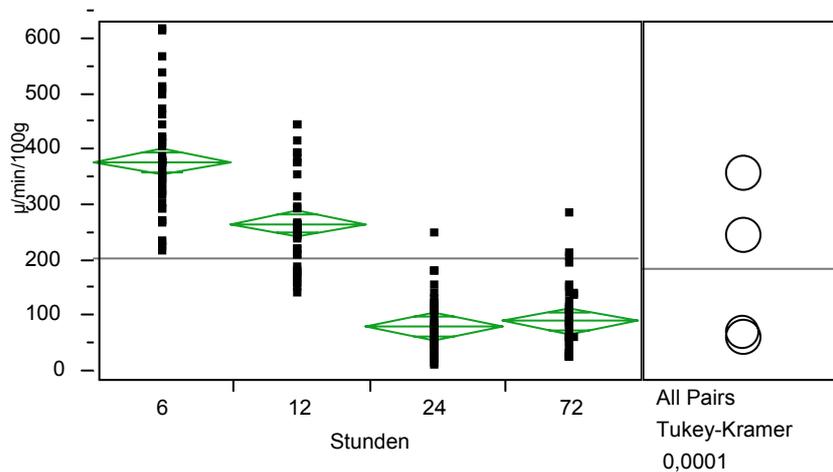


Abbildung 17: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate (GFR) der ureterligierten Nieren nach Wiedereröffnung aller Versuchsgruppen ANOVA / Tukey – Kramer.

Es lässt sich eine signifikante Abnahme der GRF feststellen, die ihren gleichbleibenden Tiefpunkt nach 24 Stunden erreicht.

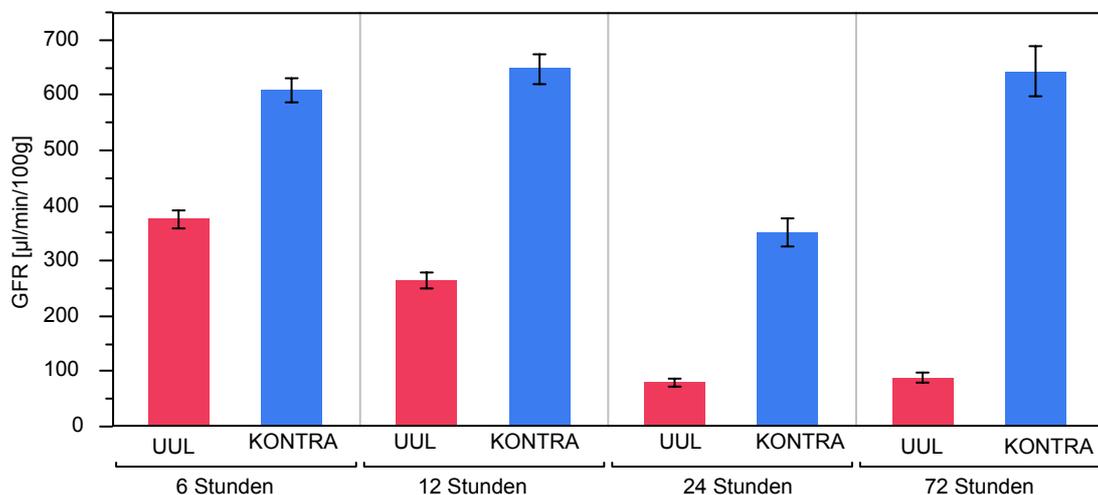


Abbildung 18: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA)

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Dabei ist ein stetiger Abfall der GFR auf der UUL-Seite zu beobachten, während die GFR auf der KONTRA-Seite, mit Ausnahme der 24h Messung, konstant zu bleiben scheint.

3.1.4 Renale Natriumausscheidung

Bezüglich der renalen Natriumausscheidung zeigten sich wesentliche Unterschiede zwischen der gesamten Natriumausscheidung, dem filtrierten Natrium und der fraktionellen Natriumausscheidung, also der Menge Natrium, die filtriert, jedoch nicht rückresorbiert wird.

So konnte eine signifikante Abnahme der Natriumausscheidung (U_{NaV}) an der ureterligierten Niere nach 6 Stunden von $0,23 \pm 0,02 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ zu den übrigen Versuchsgruppen von $0,06 \pm 0,009 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ beobachtet werden (s. Abbildung 19). An den kontralateralen Nieren konnten dagegen keine hochsignifikanten Unterschiede gezeigt werden. Lediglich bei den Nieren der kontralateralen Seite nach 24–stündiger Ureterligatur ist ein signifikanter Unterschied zu den übrigen Gruppen zu erkennen.

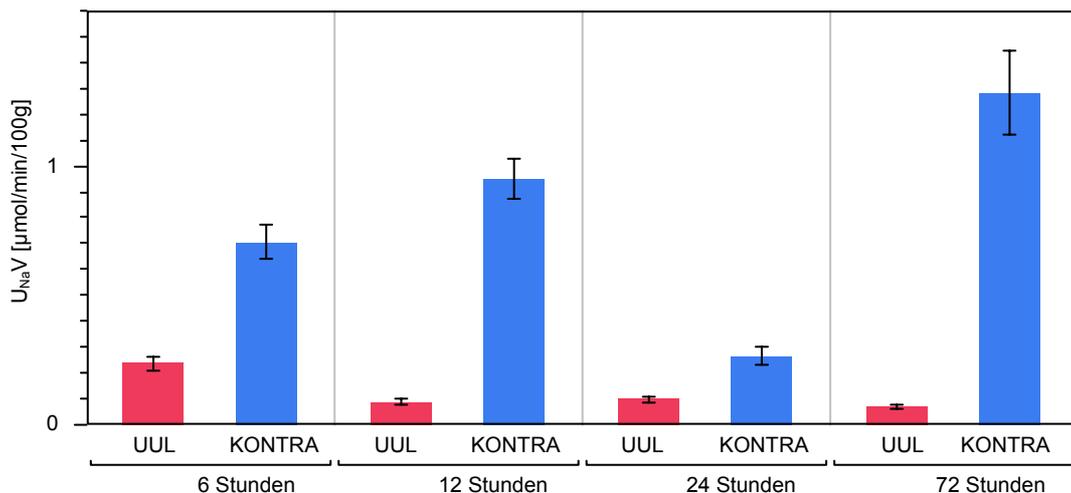


Abbildung 19: Vergleich der renalen Natriumausscheidung (U_{NaV}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA)

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Bereits nach 6 Stunden zeigt sich ein signifikanter Unterschied des U_{NaV} zwischen den UUL- und den kontralateralen Nieren. Außerdem lässt sich, mit Ausnahme der 24h-Gruppe, eine Zunahme des U_{NaV} an den kontralateralen Nieren vermuten.

Während beim filtrierte Natrium (F_{Na}) auf der ureterligierten Niere hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,0001$) zwischen der Gruppe nach 6-stündiger Ureterligatur mit $52,94 \pm 2,27 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$, der Gruppe nach 12-stündiger Ureterligatur mit $37,01 \pm 1,79 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ und den übrigen Gruppen nach 24- und 72-stündiger Ureterligatur mit $12,45 \pm 1,13 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ zu beobachten waren (s. Abbildung 20), konnte an den kontralateralen Nieren eine Signifikanz ($p < 0,05$) nach 24-stündiger Ureterligatur von $50,39 \pm 3,48 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ zu den übrigen Gruppen erkannt werden (s. Abbildung 21).

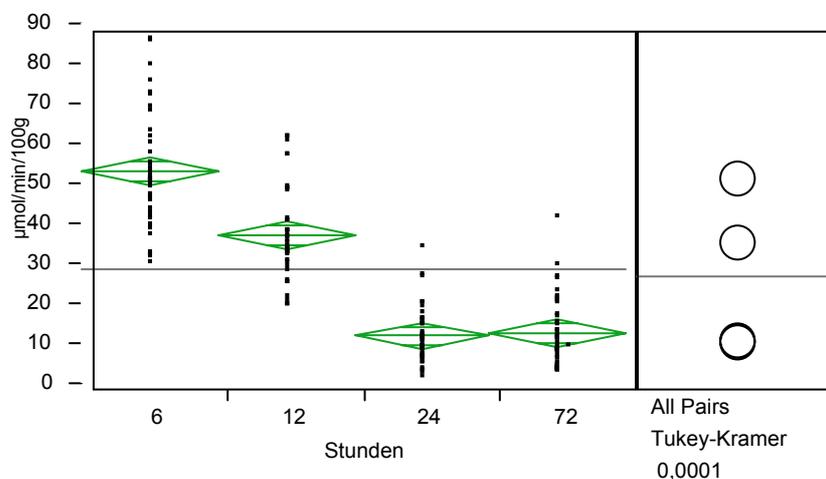


Abbildung 20: Vergleich des filtrierte Natriums (F_{Na}) der ureterligierten Nieren nach Wiedereröffnung aller Versuchsgruppen.

Wie schon bei der GFR lässt sich ein stetiger Abfall des F_{Na} feststellen, dessen Niveau nach 24h erreicht ist.

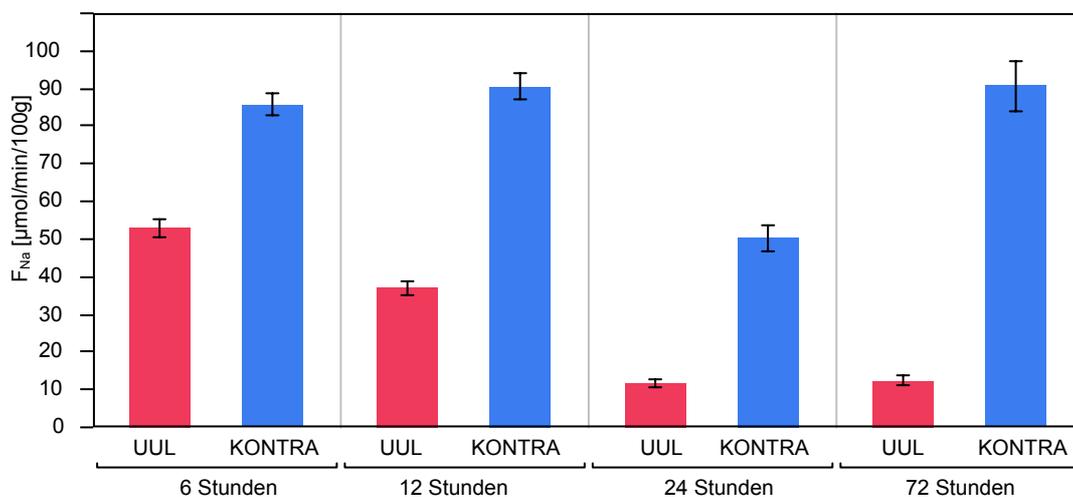


Abbildung 21: Vergleich des filtrierte Natriums (F_{Na}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Während die kontralaterale Seite in etwa konstant bleibt, ist auf der ureterligierten Seite ein stetiger Abfall des F_{Na} bis 24h zu beobachten.

Bei der Betrachtung der fraktionellen Natriumausscheidung (FE_{Na}) fällt eine hochsignifikante Abweichung ($p < 0,0001$) der ureterligierten Nieren nach 6- und 12-stündiger Ureterligatur mit $0,26 \pm 0,04$ % von den Gruppen nach 24- und 72-stündiger Ureterligatur mit $1,00 \pm 0,11$ % auf (s. Abbildung 22). Auch hier wiederum unterscheidet sich auf der kontralateralen Seite die Gruppe nach 72-stündiger Ureterligatur signifikant ($p < 0,0001$) von den übrigen mit $1,65 \pm 0,24$ % versus $0,55 \pm 0,08$ %.

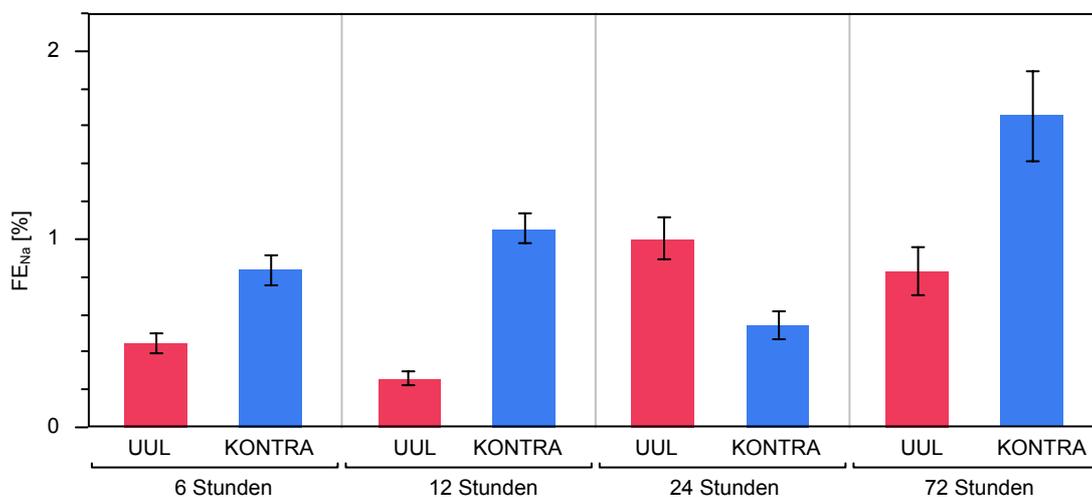


Abbildung 22: Vergleich der fraktionellen Natriumausscheidung (FE_{Na}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

3.1.5 Renale Kalium- und Chloridausscheidung

In der weiteren Betrachtung der Urinelektrolytausscheidung fällt bei der Kaliumausscheidung (U_{KV}) der ureterligierten Niere eine signifikant ($p < 0,0002$) höhere Kaliumausscheidung nach 6 Stunden mit $0,12 \pm 0,01 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ gegenüber den 12-stündig ureterligierten Nieren mit $0,049 \pm 0,003 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ auf (s. Abbildung 23). An der Kaliumausscheidung der kontralateralen Nieren wird dagegen eine hochsignifikant höhere Kaliumausscheidung bei der Versuchsgruppe nach 72-stündiger Ureterligatur erkennbar. Es wird hier eine doppelt so hohe Kaliumausscheidung von $0,99 \pm 0,10 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ gegenüber $0,43 \pm 0,02 \mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ deutlich.

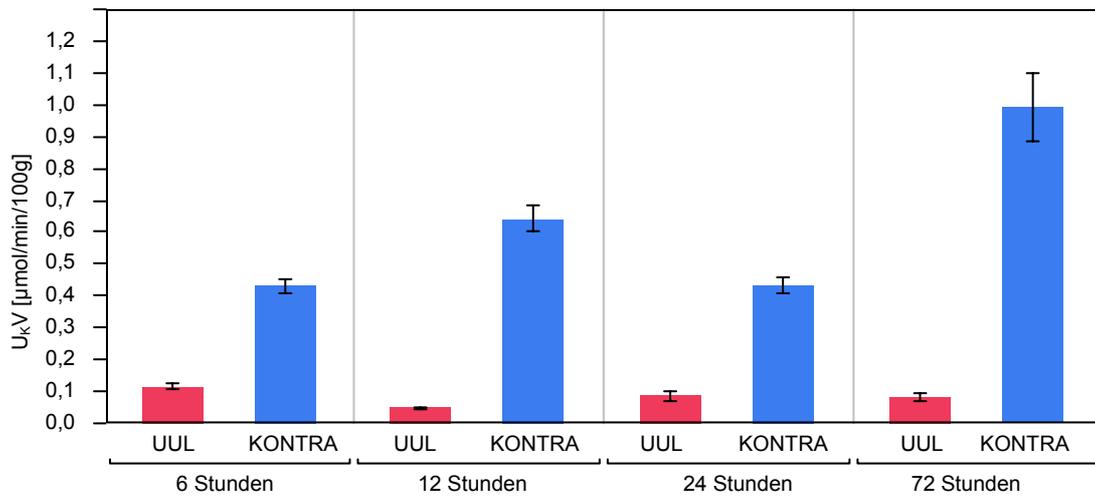


Abbildung 23: Vergleich der Kaliumausscheidung (U_{K^+V}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Es fällt eine kontinuierliche Abnahme des filtrierte Kalium (F_K) an den ureterligierten Nieren auf (s. Abbildung 24). An den kontralateralen Nieren lassen sich dagegen weitgehend konstante Werte beobachten. Lediglich die kontralateralen Nieren nach 24-stündiger Ureterligatur weisen ein geringeres filtrierte Kalium auf.

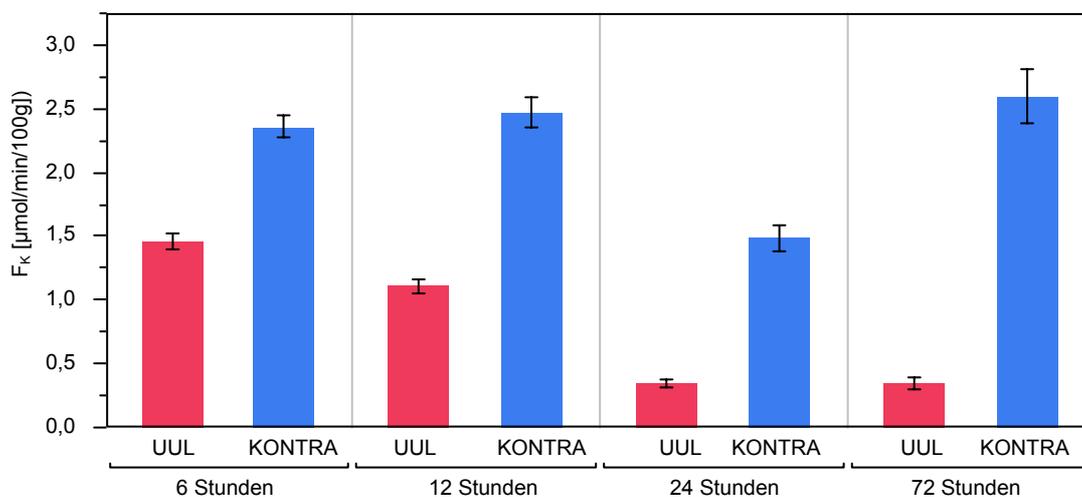


Abbildung 24: Vergleich des filtrierte Kaliums (F_K) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Auch bei der fraktionellen Kaliumausscheidung (FE_K) können signifikante Unterschiede, sowohl bei der ureterligierten Niere, als auch auf der kontralateralen Niere festgestellt werden. Dabei liegt die höchste fraktionelle Kaliumausscheidung auf der ureterligierten Seite bei $27,46 \pm 3,81$ % nach 24-stündiger Ureterligatur mit hoher Signifikanz ($p < 0,0001$) zu den Nieren nach 72-stündiger Ureterligatur mit $16,42 \pm 2,19$ %. Auf der kontralateralen Seite kann eine abhängig von der Zeit steigende fraktionelle Kaliumausscheidung beobachtet werden.

Bei der Betrachtung der renalen Chloridausscheidung fällt auf der ureterligierten Seite ein stetiger Abfall des filtrierte Chlorids (F_{Cl}) in Abhängigkeit von der Zeit nach Ureterligatur auf (s. Abbildung 25). Auch in der Chloridausscheidung (U_{ClV}) sticht die Gruppe der ureterligierten Nieren nach 6-stündiger

Ureterligatur mit einer hochsignifikant ($p < 0,0001$) höheren Chloridausscheidung von $0,34 \pm 0,04 \mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ gegenüber den übrigen Versuchsgruppen heraus.

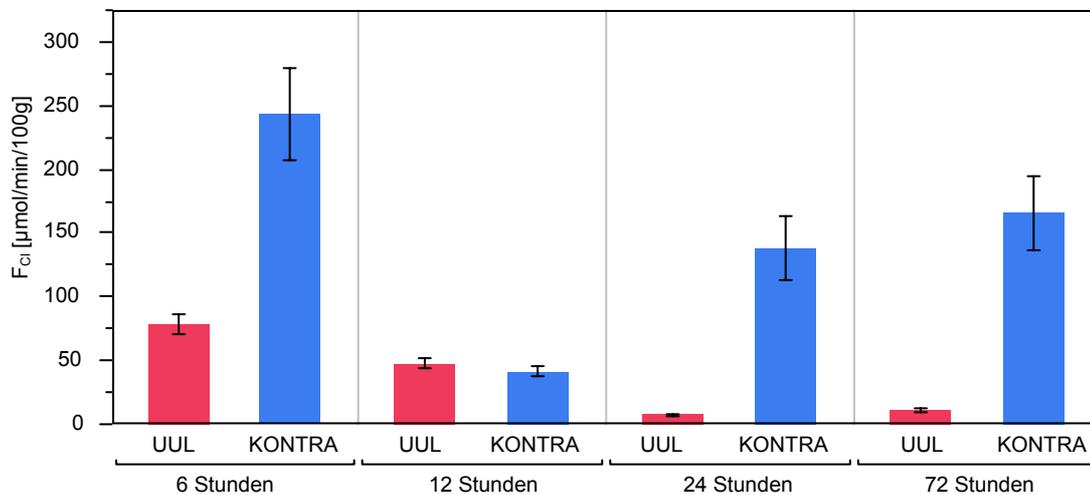


Abbildung 25: Vergleich des filtrierten Chlorids (F_{Cl}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

3.1.6 Natrium–Kalium–Quotient

Im Vergleich des Natrium–Kalium–Quotienten, also dem Verhältnis zwischen im ausgeschiedenen Natrium zum im Urin ausgeschiedenen Kalium, zwischen den Versuchsgruppen fällt ein hochsignifikant ($p < 0,0001$) 3–fach niedrigerer Wert der 72 Stunden ureterligierten Nieren gegenüber den übrigen Versuchsgruppen auf. So stehen sich $0,57 \pm 0,08$ nach 72–stündiger Ureterligatur $1,78 \pm 0,18$ der übrigen Versuchsgruppen gegenüber (s Abbildung 26).

Bei den Nieren der kontralateralen Seite fällt lediglich ein signifikanter Unterschied zwischen der kontralateralen Niere nach 6–stündiger Ureterligatur mit $1,71 \pm 0,15$ und der kontralateralen Niere nach 24–stündiger Ureterligatur mit $0,62 \pm 0,07$ auf.

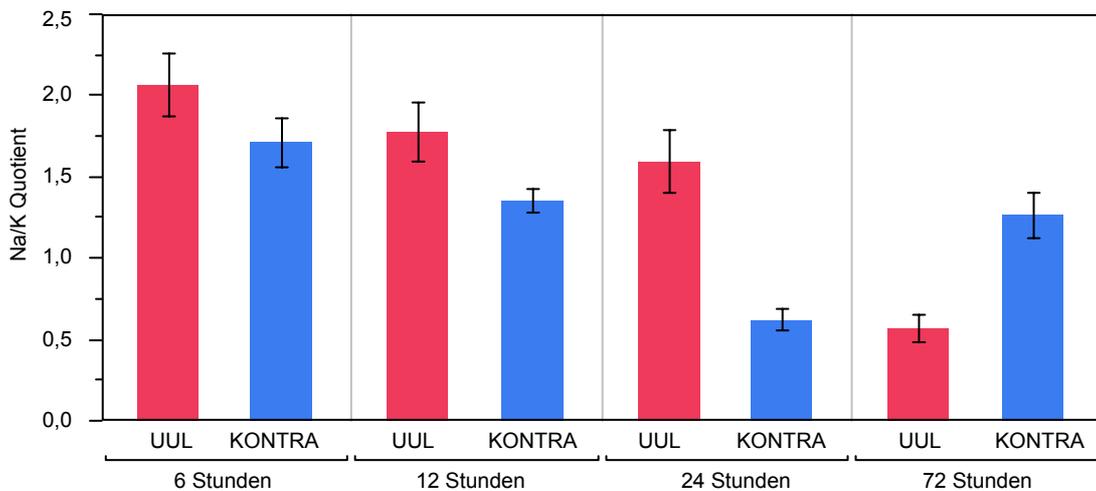


Abbildung 26: Vergleich des Natrium–Kalium–Quotienten aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

3.1.7 Osmolare Clearance

Bei der Betrachtung der osmolalen Clearance (C_{osmol}) zeigt sich eine hochsignifikant ($p < 0,0001$) höhere osmolale Clearance von $4,38 \pm 0,35$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ der ureterligierten Nieren nach 6–stündiger Ureterligatur gegenüber den übrigen Versuchsgruppen (s. Abbildung 27). Unter den ureterligierten Nieren nach 12–, 24– und 72–stündiger Ureterligatur zeigten sich jedoch keinerlei signifikante Unterschiede in der osmolalen Clearance.

Auf der kontralateralen Seite der ureterligierten Nieren zeigt sich jedoch, mit Ausnahme der kontralateralen Nieren nach 24–stündiger Ureterligatur, eine stetige Erhöhung der osmolalen Clearance in Abhängigkeit zur Zeit.

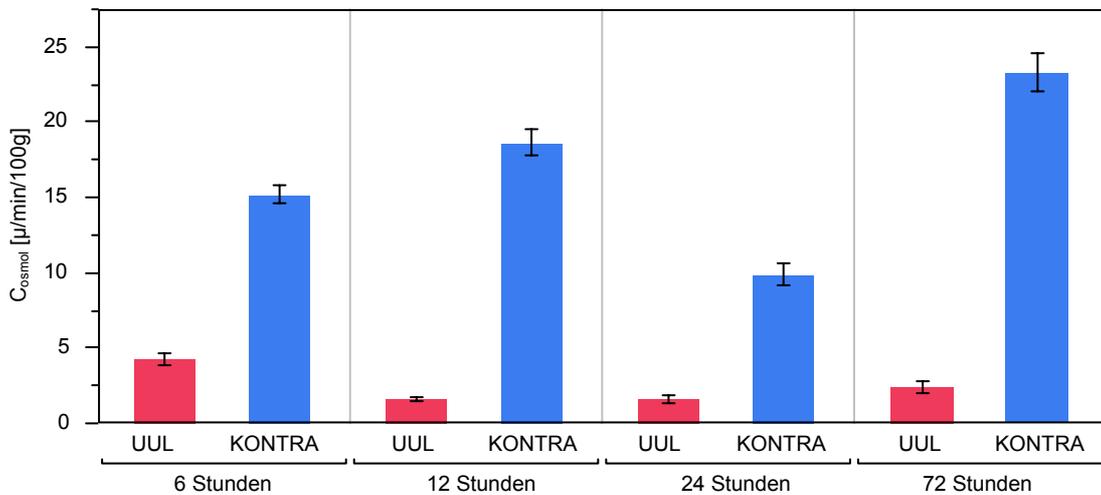


Abbildung 27: Vergleich der osmolalen Clearance (C_{osmol}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Nach 6-stündiger UUL zeigt sich bereits eine signifikante Abnahme der C_{osmol} , wobei sich auf der kontralateralen Seite eine Zunahme der C_{osmol} abzuzeichnen scheint.

3.1.8 Freiwasserclearance

Die Freiwasserclearance (C_{H_2O}), die als Indikator für die Konzentrationsfähigkeit der Niere dient, zeigt einen stetigen Abfall der C_{H_2O} auf der ureterligierten Seite (s. Abbildung 28). So haben unligierte Nieren, wie beispielsweise die kontralateralen Nieren, bei denen sich, wiederum mit Ausnahme der kontralateralen Nieren nach 24-stündiger Ureterligatur, keinerlei Unterschiede in Abhängigkeit zur ureterligierten Zeit zeigen, eine durchschnittliche Freiwasserclearance von $-11,96 \pm 0,51$ ml/min, während die 6 Stunden ureterligierte Niere lediglich noch $-2,69 \pm 0,23$ ml/min C_{H_2O} besitzt und die übrigen Versuchsgruppen keine nennenswerte Freiwasserclearance zwischen $-0,28 \pm 0,06$ ml/min und $-0,63 \pm$ ml/min mehr zeigen.

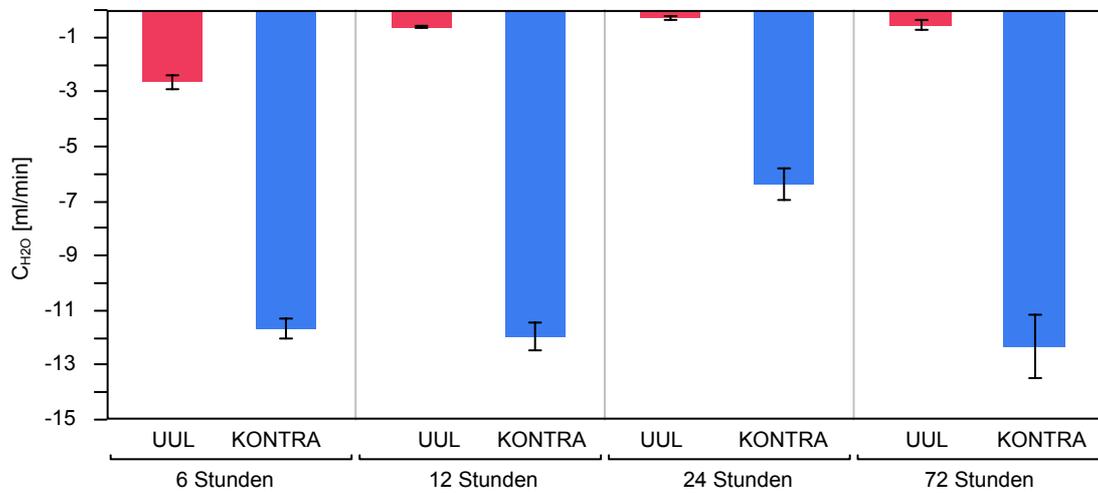


Abbildung 28: Vergleich der Freiwasserclearance (C_{H_2O}) aller Versuchsgruppen, sowohl der ureterligierten Nieren (UUL) nach Wiedereröffnung, als auch der kontralateralen Nieren (KONTRA).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Es lässt sich eine wesentliche Abnahme der C_{H_2O} an den UUL Nieren erkennen, während an den kontralateralen Nieren nahezu gleichbleibende Werte zu beobachten sind.

3.1.9 Übersicht und Zusammenfassung der Nierenfunktion bei Hydronephrose

Eine Übersicht und Zusammenfassung der Nierenfunktion in den Clearanceversuchen in Abhängigkeit von der Zeit nach unilateraler Ureterligatur ist in Tabelle 3 dargestellt.

3. ERGEBNISSE

Tabelle 3: Ergebnisse der Nierenfunktion in den Clearanceversuchen in Abhängigkeit der Zeit nach unilateraler Ureterligatur. Alle Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Die Bezeichnungen der untersuchten Parameter s. Kapitel 2.3. UUL = Ureterligierte Nieren, KONTRA = Kontralaterale Nieren

■ = $p < 0,05$ versus 6h

□ = $p < 0,05$ versus 12h

● = $p < 0,05$ versus 24h

○ = $p < 0,05$ versus 72h

	UUL 6h	UUL 12h	UUL 24h	UUL 72h	KONTRA 6h	KONTRA 12h	KONTRA 24h	KONTRA 72h
UZV ($\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$)	1,69 \pm 0,17 □	0,92 \pm 0,07 ■	1,32 \pm 0,16	1,34 \pm 0,16	4,07 \pm 0,48 ○	6,61 \pm 0,45 ○	3,49 \pm 0,32 □,○	12,41 \pm 1,32 ■,□,●
GFR ($\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$)	372,00 \pm 16,26 □,●,○	264,29 \pm 12,96 ■,○	79,76 \pm 7,81 ■,□,●	88,52 \pm 9,65 ■,□	608,12 \pm 21,37 ●	648,36 \pm 27,29 ●	352,40 \pm 25,88 ■,□,○	641,52 \pm 45,30 ●
U_{Na}V ($\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$)	0,22 \pm 0,02 □,●,○	0,08 \pm 0,01 ■	0,09 \pm 0,01 ■	0,07 \pm 0,01 ■	0,70 \pm 0,06 ●,○	0,95 \pm 0,08 ●	0,26 \pm 0,03 ■,□,○	1,2 \pm 0,14 ●
F_{Na} ($\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$)	52,93 \pm 2,27 □,●,○	37,00 \pm 1,79 ■,●,○	11,53 \pm 1,13 ■,□	12,45 \pm 1,37 ■,□	85,59 \pm 2,94 ●	90,57 \pm 3,64 ●	50,39 \pm 3,48 ■,□,○	90,77 \pm 6,84 ●
FE_{Na} (%)	0,44 \pm 0,05 ●,○	0,26 \pm 0,04 ●,○	1,00 \pm 0,11 ■,□	0,83 \pm 0,12 ■,□	0,84 \pm 0,07 ○	1,05 \pm 0,08 ●,○	0,55 \pm 0,08 ○	1,65 \pm 0,24 ■,□,●
U_KV ($\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$)	0,12 \pm 0,01 □	0,05 \pm 0,003 ■	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,43 \pm 0,02 ○	0,64 \pm 0,04 ○	0,44 \pm 0,22 ○	0,99 \pm 0,09 ■,□,●
F_K ($\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$)	1,46 \pm 0,07 □	12,79 \pm 2,61 ■,●,○	0,35 \pm 0,03 □	2,65 \pm 0,91 □	2,36 \pm 0,08 □	27,80 \pm 4,39 ■,●,○	1,49 \pm 0,10 □	6,63 \pm 1,77 □

3. ERGEBNISSE

	UUL 6h	UUL 12h	UUL 24h	UUL 72h	KONTRA 6h	KONTRA 12h	KONTRA 24h	KONTRA 72h
FE_K (%)	7,88±0,54 ●,○	2,80±0,35 ●,○	27,46±3,81 ■,□,○	16,42±2,19 ■,□,●	18,85±0,93 ○	15,27±2,64 ●,○	31,78±1,86 □	40,71±6,00 ■,□
U_{Cl}V (μmol/min/100g)	0,33±0,44 □,●,○	0,09±0,01 ■	0,09±0,01 ■,□	0,19±0,03 ■,□	0,98±0,77 □,●,○	1,52±0,12 ■,●	0,45±0,04 ■,□,○	1,91±0,21 ■,●
F_{Cl} (μmol/min/100g)	78,43±7,70 □,●,○	47,72±4,39 ■,●,○	7,20±0,78 ■,□	10,85±1,57 ■,□	243,84±36,23 □,●	41,12±3,85 ■,●,○	137,71±25,26 ■,□	165,82±29,21 □
FE_{Cl} (%)	0,63±0,09 ●,○	0,18±0,02 ●,○	1,71±0,21 ■,□	2,51±0,49 ■,□	1,10±0,17 □	5,59±0,76 ■,●,○	0,69±0,14 □	2,77±0,54 □,●
Na/K Ratio	2,06±0,19 ○	1,77±0,18 ○	1,59±0,19 ○	0,56±0,08 ■,□,●	1,71±0,15 ●,○	1,35±0,07 ●	0,61±0,07 ■,□,○	1,26±0,13 ■,●
C_{osmol} (μl/min/100g)	4,38±0,35 □,●,○	1,56±0,11 ■	1,60±0,22 ■	2,41±0,37 ■	15,19±0,61 □,●,○	18,64±0,89 ■,●,○	9,86±0,71 ■,□,○	23,29±1,29 ■,□,●
C_{H2O} (ml/min)	-2,68±0,23 □,●,○	-0,63±0,04 ■	-0,28±0,06 ■	-0,55±0,18 ■	-11,66±0,37 ●	-11,96±0,51 ●	-6,37±0,55 ■,□,○	-12,30±1,15 ●

3.2 Untersuchung der Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A₁ – Rezeptoren (FK 838)

In diesem experimentellen Teil sollte die Abhängigkeit der Nierenfunktion von der ADO A₁ Rezeptorblockade durch den selektiven ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK838 untersucht werden. Dazu wurde eine Gruppe mit einer SHAM Operation 24 Stunden vor dem Clearanceversuch voroperiert und während der Hauptperioden mit FK 838 behandelt. Zwei weitere Gruppen erhielten, ebenso 24 Stunden vor dem Clearanceversuch, eine unilaterale Ureterligatur. Davon wurde eine Gruppe während der Hauptperioden mit FK 838 behandelt und die andere Gruppe mit einer Vehikellösung (s. Kapitel 2.2.1).

3.2.1 Störfaktoren

Die Versuchsgruppen wurden hinsichtlich der möglichen OP – Dauer sowohl der unilateralen Ureterligatur (UUL) als auch der OP für die Clearanceversuche, mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) und Hämatokrit miteinander verglichen und in Tabelle 4 dargestellt.

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) einer Gruppe gegenüber den übrigen Versuchsgruppen wurden mit Δ gekennzeichnet.

Hierbei fällt lediglich auf, dass in der Versuchsgruppe der ureterligierten Tiere, denen während den Hauptperioden der selektive ADO A₁ Rezeptorantagonist FK 838 infundiert wurde, die Operation der Ureterligatur am Vortag des Clearanceversuchs signifikant länger dauerte.

Tabelle 4: Übersicht über die möglichen Störfaktoren in den Clearanceversuchen. Signifikante Unterschiede einzelner Gruppen im Vergleich zu den übrigen Versuchsgruppen wurden mit Δ gekennzeichnet. Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM

$\Delta p < 0,05$ versus die übrigen Versuchsgruppen

Störfaktoren	SHAM + FK 838	UUL + VHC	UUL + FK 838
OP – Dauer UUL [min]	11,25 \pm 0,38	11,25 \pm 0,55	15,50 \pm 0,95 Δ
OP – Dauer Clearance [min]	63,12 \pm 2,65	71,87 \pm 3,53	75,50 \pm 6,77
MAP [mmHg]	101,14 \pm 1,93	86,39 \pm 2,87	93,63 \pm 3,31
Hämatokrit [%]	46,04 \pm 0,28	44,79 \pm 0,56	46,10 \pm 0,41

3.2.2 Urinzeitvolumen

In den Vorperioden ist im Vergleich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ersichtlich (s. Abbildung 29). Dagegen wird eine signifikante Erhöhung des Urinzeitvolumens, sowohl in der SHAM–Gruppe von 2,36 \pm 0,40 auf 12,71 \pm 2,37 μ l/min/100g, als auch auf der kontralateralen Niere von 5,02 \pm 1,44 auf 12,17 \pm 3,00 μ l/min/100g nach Gabe von FK 838 deutlich. Keine signifikante Erhöhung des Urinzeitvolumens zeigt sich dagegen an der ureterligierten Niere nach Gabe des ADO A₁ Rezeptorantagonisten. Auch gibt es keine signifikante Änderung in der Versuchsgruppe, in der die Vehikellösung infundiert wurde.

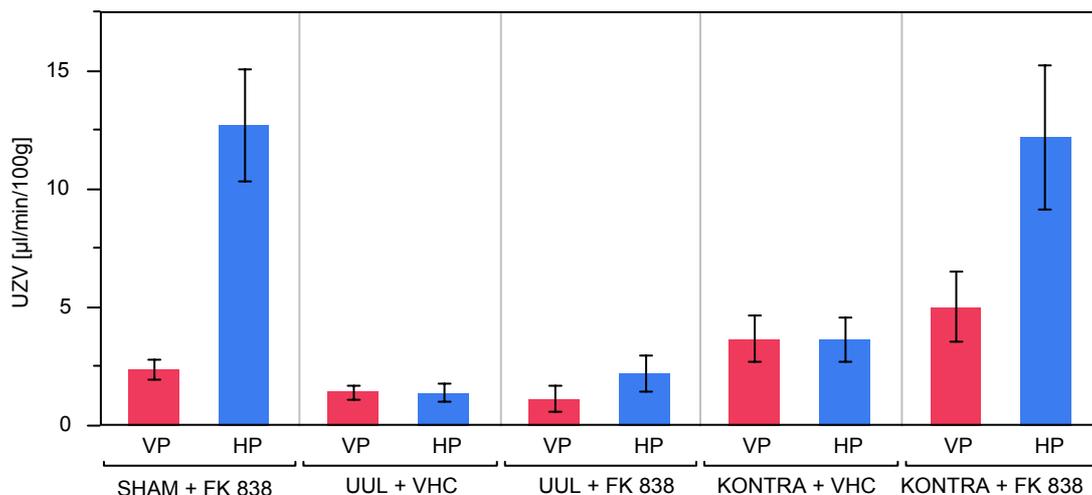


Abbildung 29: Vergleich des Urinzeitvolumens (UZV) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP).

Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Es lässt sich eine signifikante Zunahme des UZV in der Gruppe der SHAM – operierten Nieren und bei den kontralateralen Nieren erkennen, die mit FK 838 behandelt wurden.

3.2.3 Glomeruläre Filtrationsrate

Die glomeruläre Filtrationsrate, als wichtigster Parameter für die Nierenfunktion, zeigt in den Vorperioden keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen der unligierten und den ureterligierten Nieren (s. Abbildung 30). Der Anstieg der glomerulären Filtrationsrate erreicht bei den SHAM–operierten Tieren nicht das Signifikanzniveau (s. Abbildung 31). Bei den ureterligierten Nieren und auch bei den kontralateralen Nieren kann ein hochsignifikanter ($p < 0,0001$) Anstieg der glomerulären Filtrationsrate an der ureterligierten Niere von $81,18 \pm 19,31$ auf $179,83 \pm 36,06$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ (s. Abbildung 32) und an der kontralateralen Niere von $306,92 \pm 23,95$ auf $458,99 \pm 53,26$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ unter

dem Einfluss von FK 838 beobachtet werden (s. Abbildung 33). Wiederum gibt es in der Gruppe mit Infusion der Vehikellösung während den Hauptperioden keine nennenswerten Veränderungen zwischen den Vorperioden und den Hauptperioden.

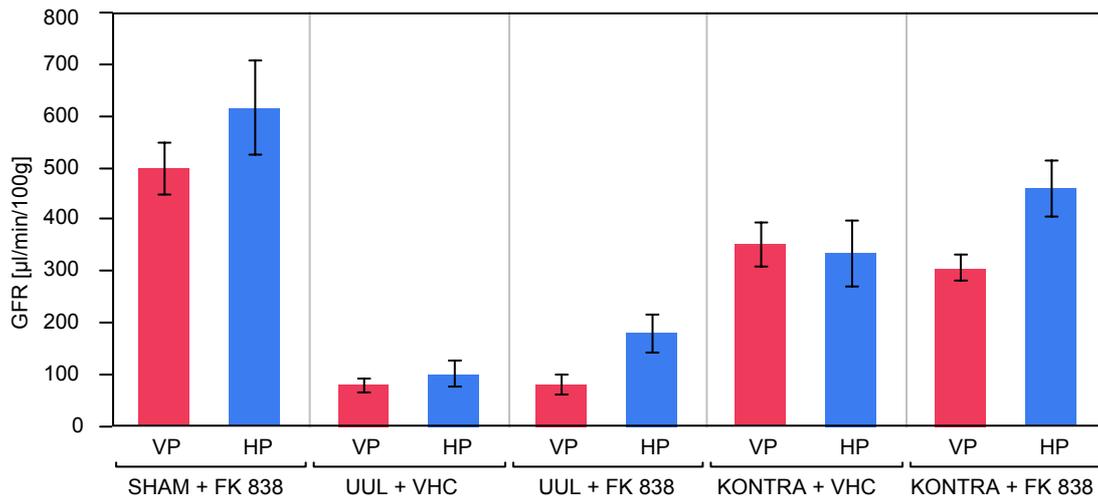


Abbildung 30: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate (GFR) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte ± SEM. Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg der GFR bei den UUL- und bei den KONTRA-Nieren, die mit FK 838 behandelt wurden.

3. ERGEBNISSE

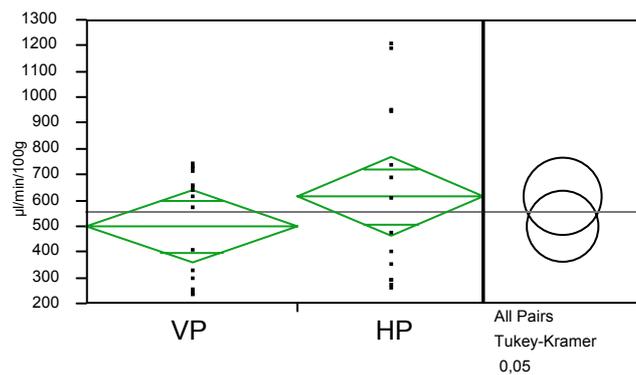


Abbildung 31: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate (GFR) der SHAM operierten Versuchsgruppe zwischen Vorperiode (VP) und der Hauptperiode (HP), in der der selektive ADO A₁ Rezeptorantagonist FK 838 infundiert wurde. ANOVA / Tukey – Kramer

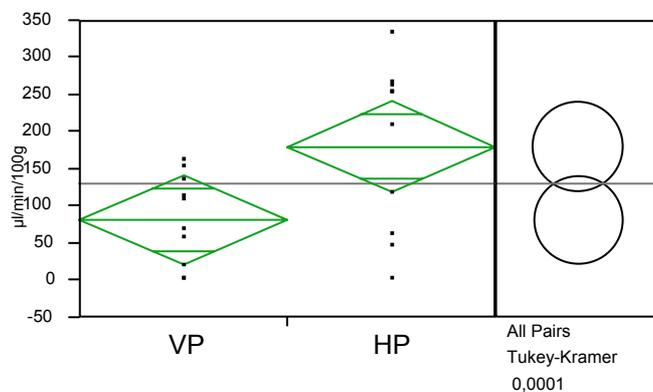


Abbildung 32: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate (GFR) der 24h ureterligierten Nieren zwischen Vorperiode (VP) und der Hauptperiode (HP), in der der selektive ADO A₁ Rezeptorantagonist FK 838 infundiert wurde. ANOVA / Tukey – Kramer

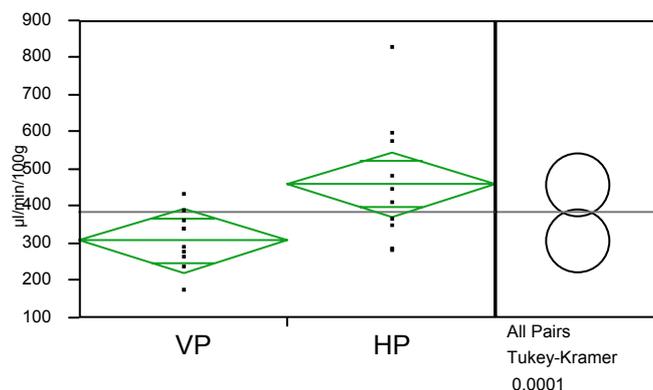


Abbildung 33: Vergleich der glomerulären Filtrationsrate (GFR) der kontralateralen Nieren zwischen Vorperiode (VP) und der Hauptperiode (HP), in der der selektive ADO A₁ Rezeptorantagonist FK 838 infundiert wurde. ANOVA / Tukey – Kramer

3.2.4 Natriumausscheidung

Bei Betrachtung der Natriumausscheidung (U_{NaV}) gibt es in den Vorperioden keinerlei signifikante Unterschiede zwischen sämtlichen Versuchsgruppen. Dagegen fällt nach Gabe von FK 838 in der Hauptperiode eine hochsignifikante ($p < 0,0001$) Erhöhung der Natriumausscheidung bei den SHAM operierten Nieren von $0,19 \pm 0,03$ auf $1,68 \pm 0,30$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$, bei den kontralateralen Nieren von $0,36 \pm 0,30$ auf $1,74 \pm 0,51$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ auf (s. Abbildung 34). Kein Signifikanzniveau dagegen erreicht die Erhöhung der Natriumausscheidung der ureterligierten Nieren, ebenso wenig bei den Nieren, bei denen während der Hauptperiode die Vehikellösung infundiert wurde.

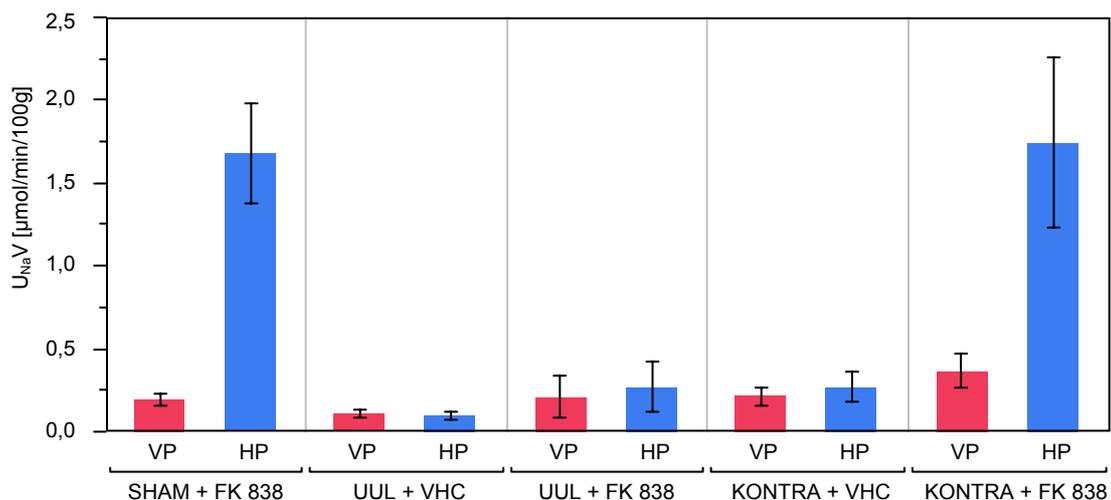


Abbildung 34: Vergleich der Natriumausscheidung (U_{NaV}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

Zu sehen ist eine signifikante Erhöhung der U_{NaV} in der Gruppe der SHAM-operierten und der kontralateralen Nieren nach FK 838 Infusion.

Wiederum interessante Ergebnisse sind bei der Beobachtung des filtrierte Natriums (F_{Na}) zu erkennen. In allen Gruppen, außer den Kontrollgruppen mit Infundierung der Vehikellösung, kommt es zu einem Anstieg des filtrierte Natriums (s. Abbildung 35). Die Erhöhung des filtrierte Natriums erreicht jedoch ausschließlich bei den ureterligierten Nieren und den kontralateralen Nieren das Signifikanzniveau, nicht jedoch in der Gruppe der SHAM operierten Nieren. So kommt es bei den ureterligierten Nieren zu einem signifikanten Anstieg des filtrierte Natriums von $10,69 \pm 3,31$ auf $27,85 \pm 5,60$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ und bei den kontralateralen Nieren zu einem signifikanten Anstieg von $44,87 \pm 3,35$ auf $69,86 \pm 8,86$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$.

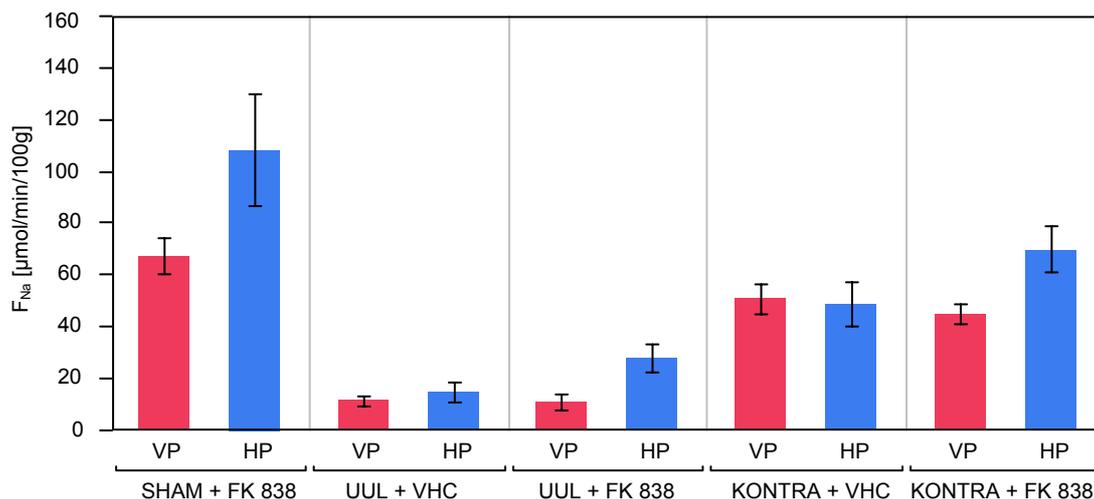


Abbildung 35: Vergleich des filtrierte Natriums (F_{Na}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A_1 Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM. Eine signifikante Änderung des F_{Na} zeigt sich in der UUL- und der KONTRA-Gruppe nach FK 838 Infusion

Dagegen sind im Vergleich der fraktionellen Natriumausscheidung (FE_{Na}) wieder signifikante Anstiege bei den SHAM operierten Nieren von $0,27 \pm 0,04$ %

auf $1,73 \pm 0,31$ % und bei den kontralateralen Nieren in der Gruppe der mit FK 838 behandelten Nieren von $0,81 \pm 0,21$ % zu erkennen (s. Abbildung 36). Kein signifikanter Anstieg der fraktionellen Natriumausscheidung ist dagegen bei den ureterligierten Nieren nach Behandlung mit FK 838 erkennbar, ebenso wenig und auch bei den Nieren, die während den Hauptperioden mit der Vehikellösung behandelt wurden.

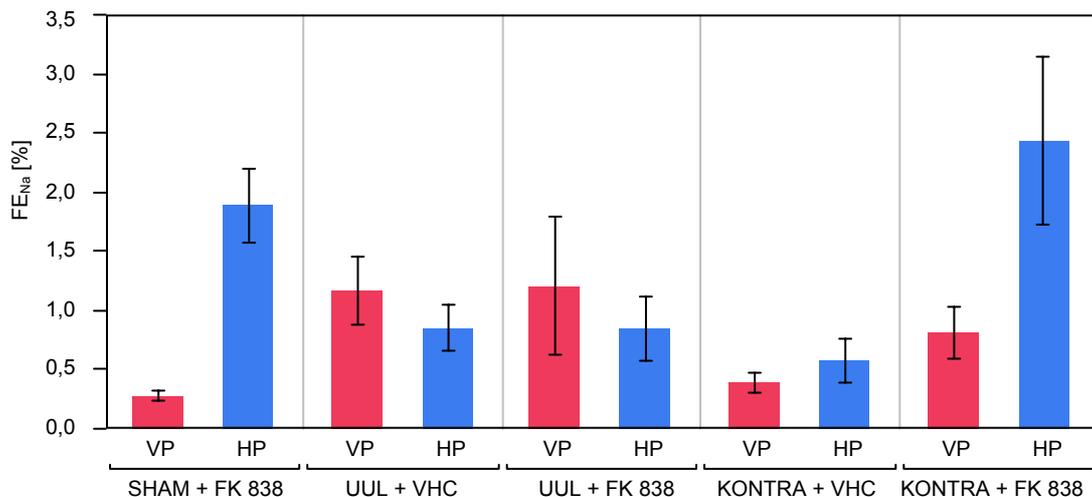


Abbildung 36: Vergleich der fraktionellen Natriumausscheidung (FE_{Na}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A_1 Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM. Ein signifikanter Anstieg der FE_{Na} ist in der Gruppe der SHAM – operierten und in der Gruppe der kontralateralen Nieren zu sehen.

3.2.5 Renale Kalium- und Chloridausscheidung

Im Vergleich der weiteren renalen Elektrolytausscheidung konnten keine wesentlichen Veränderungen festgestellt werden. Steigerungen der Elektrolytausscheidung konnten lediglich bei der Kaliumausscheidung (U_{K^+V}) in der SHAM-Versuchsgruppe beobachtet werden (s. Abbildung 37). Hier stieg die Kaliumausscheidung von $0,49 \pm 0,06$ auf $0,84 \pm 0,10$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$.

Ebenso tauchte dieser Effekt auch bei der Chloridausscheidung (U_{Cl^-V}) von $0,54 \pm 0,09$ auf $2,14 \pm 0,33$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ auf. Hier allerdings ist auch eine signifikante Steigerung der Chloridausscheidung von $0,76 \pm 0,11$ auf $2,15 \pm 0,48$ $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ bei den kontralateralen Nieren der Versuchsgruppe mit FK 838-Infundierung zu erkennen (s. Abbildung 38).

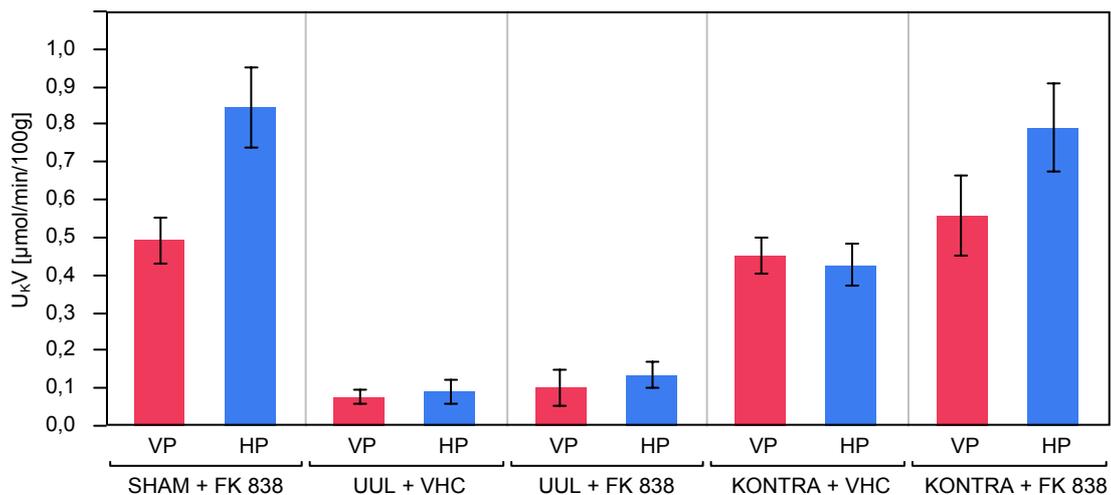


Abbildung 37: Vergleich der Kaliumausscheidung (U_{K^+V}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A_1 Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

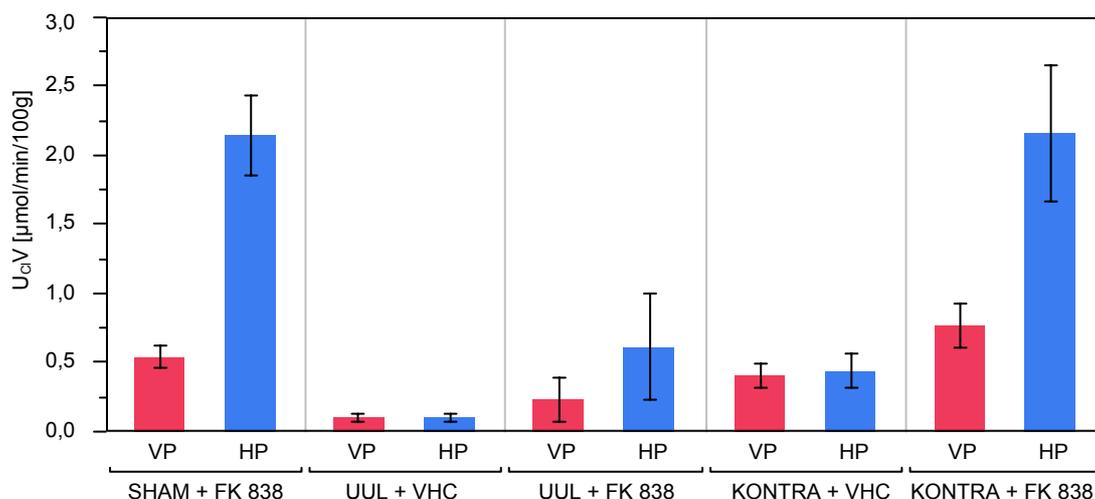


Abbildung 38: Vergleich der Chloridausscheidung ($U_{Cl}V$) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = ureterligierte Niere, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A_1 Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

3.2.6 Natrium–Kalium–Quotient

Auch bei der Betrachtung der Veränderungen des Natrium–Kalium–Quotienten konnten keine wesentlichen Unterschiede in den Versuchsgruppen mit unilateraler Ureterligatur beobachtet werden. Hier war wieder lediglich eine Erhöhung der Natrium–Kalium–Ratio mit Signifikanzniveau in der Gruppe der SHAM–operierten Nieren von $0,40 \pm 0,05$ auf $2,17 \pm 0,44$ zu beobachten (s. Abbildung 39). Die Erhöhung der Natrium–Kalium–Ratio in der Versuchsgruppe der behandelten kontralateralen Nieren mit FK 838 erreichte kein Signifikanzniveau.

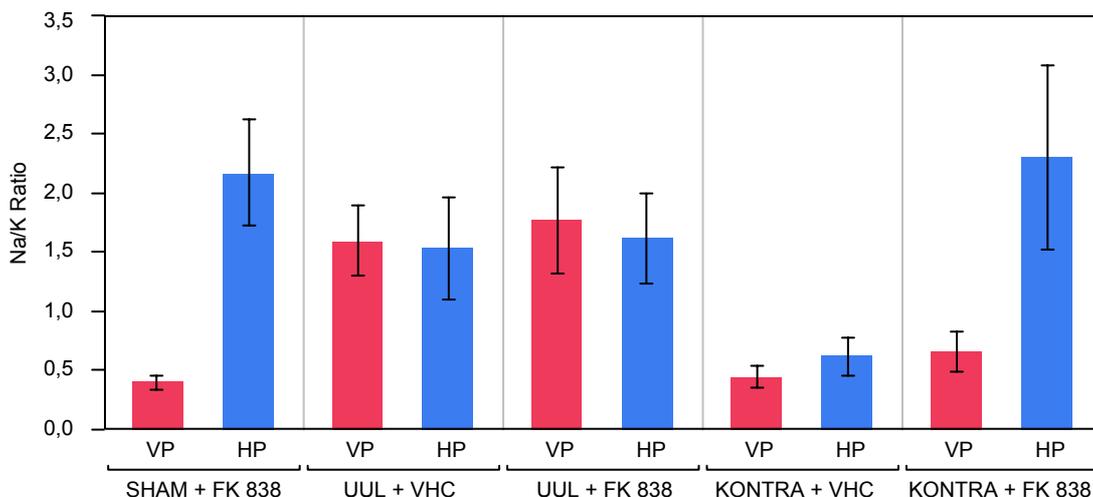


Abbildung 39: Vergleich der Natrium – Kalium - Ratio aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte ± SEM.

3.2.7 Osmolale Clearance

Auch bei der Osmolalen Clearance (C_{Osmol}) zeigt sich ein ähnliches Bild. So kommt es auch hier in der Gruppe der SHAM-operierten Nieren zu einer signifikanten Erhöhung der Osmolalen Clearance von $9,18 \pm 1,23$ auf $22,36 \pm 2,51$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$ (s. Abbildung 40). Ebenso erreicht die Erhöhung der Osmolalen Clearance in der Gruppe der behandelten kontralateralen Nieren das Signifikanzniveau mit einer Erhöhung von $15,24 \pm 1,58$ auf $26,88 \pm 3,65$ $\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$.

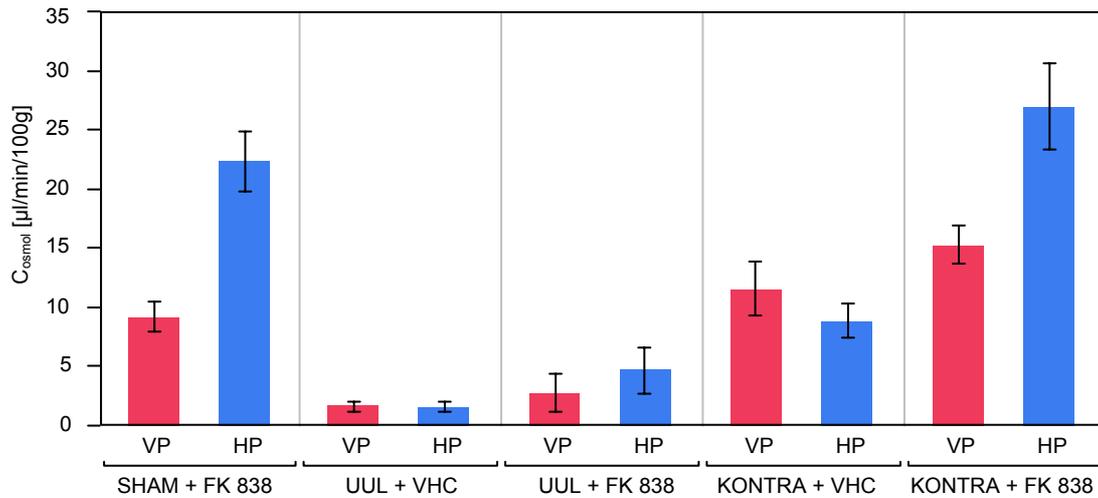


Abbildung 40: Vergleich der Osmolalen Clearance (C_{osmol}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A_1 Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM.

3.2.8 Freiwasserclearance

Eine signifikante Veränderung der Freiwasserclearance konnte hier ausschließlich in der Gruppe der kontralateralen Nieren erkannt werden. (s. Abbildung 41). So kam es zu einem Anstieg der Freiwasserclearance und damit zu einer Steigerung der Konzentrierungsfähigkeit der Niere von $-10,07 \pm 0,77$ auf $-17,96 \pm 3,48$ ml/min. Eine mäßige Steigerung der Konzentrierungsfähigkeit konnte auch bei allen anderen Versuchsgruppen, die mit FK 838 behandelt wurden, beobachtet werden. Diese Steigerung der Konzentrierungsfähigkeit erreichte jedoch nur in der Versuchsgruppe der kontralateralen Nieren das Signifikanzniveau.

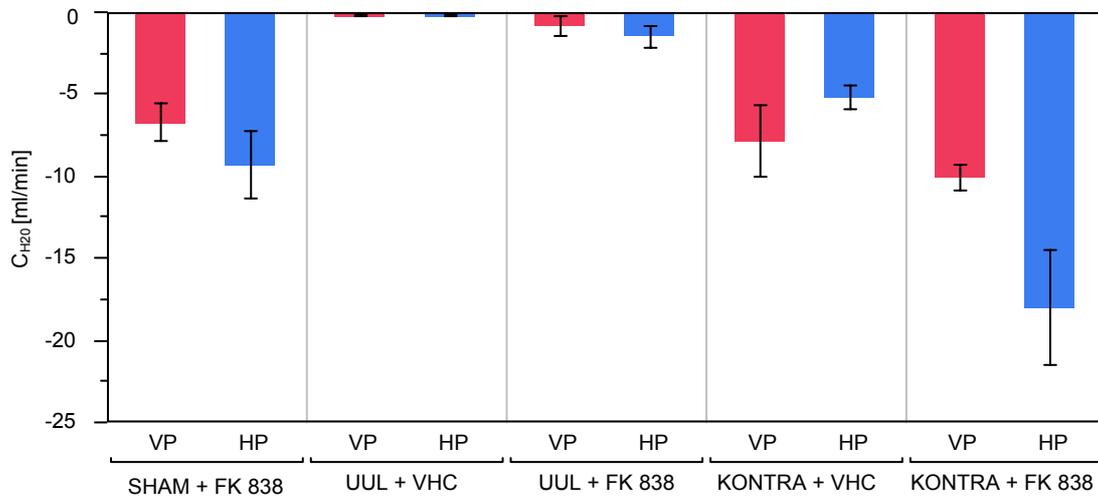


Abbildung 41: Vergleich der Freiwasserclearance (C_{H_2O}) aller Versuchsgruppen (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = 24h ureterligierte Niere nach Wiedereröffnung, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden), jeweils auch zwischen Vorperiode (VP) und Hauptperiode (HP). Sämtliche Werte als Mittelwerte \pm SEM. Zu sehen ist ein signifikanter Anstieg der Freiwasserclearance in der Gruppe der kontralateralen Nieren nach FK 838 Infusion.

3.2.9 Übersicht der Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A₁-Rezeptoren (FK 838)

Eine Übersicht und Zusammenfassung der Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A₁-Rezeptoren in den Clearanceversuchen, in Abhängigkeit von FK 838, ist in Tabelle 5 dargestellt.

3. ERGEBNISSE

Tabelle 5: Übersicht über die Nierenfunktion bei Hydronephrose mit Blockade der ADO A₁ – Rezeptoren (FK 838) in den Clearanceversuchen. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. Die Bezeichnungen der untersuchten Parameter s. Kapitel 2.3. (SHAM = Kontrollgruppe, UUL = ureterligierte Niere, KONTRA = kontralaterale Niere, VHC = Infusion von Vehikellösung während den Hauptperioden, FK 838 = Infusion des ADO A₁ Rezeptorantagonisten FK 838 während den Hauptperioden. Δ = p<0,05 versus VP

	SHAM + FK 838		UUL + VHC		UUL + FK 838		KONTRA + VHC		KONTRA + FK 838	
	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP
UZV (µl/min/100g)	2,37±0,4	12,71±2,37 Δ	1,40±0,32	1,38±0,36	1,12±0,55	2,17±0,77	3,66±0,98	3,61±0,92	5,02±1,44	12,17±3,00 Δ
GFR (µl/min/100g)	498,32±51,33	842,99±174,94	80,03±13,21	102,01±26,38	81,19±19,31	179,83±36,06 Δ	353,48±42,65	334,52±62,58	306,92±23,95	458,99±53,26 Δ
U_{Na}V (µmol/min/100g)	0,19±0,03	1,68±0,30 Δ	0,10±0,02	0,096±0,02	0,20±0,12	0,27±0,14	0,21±0,05	0,27±0,09	0,36±0,09	1,74±0,51 Δ
F_{Na} (µmol/min/100g)	67,25±6,70	108,32±21,71	11,53±1,88	14,94±3,78	10,69±3,31	27,85±5,60 Δ	50,80±5,81	48,34±8,52	44,87±3,53	69,86±8,86 Δ
FE_{Na} (%)	0,27±0,04	1,73±0,31 Δ	1,16±0,28	0,85±0,19	1,20±0,58	0,83±0,27	0,38±0,07	0,57±0,18	0,81±0,21	2,43±0,71 Δ
U_KV (µmol/min/100g)	0,49±0,06	0,84±0,10 Δ	0,076±0,010	0,090±0,021	0,099±0,044	0,13±0,03	0,45±0,04	0,42±0,05	0,55±0,10	0,79±0,11
F_K (µmol/min/100g)	2,07±0,19	2,43±0,34	0,32±0,05	0,43±0,10	2,75±1,66	5,95±1,02	1,43±0,15	1,39±0,21	1,29±0,11	9,51±0,25
FE_K (%)	20,24±2,07	36,25±7,10	22,21±4,03	24,74±7,23	8,43±4,68	15,48±3,16	30,45±1,42	32,41±4,01	33,67±2,84	36,64±1,28
U_{Cl}V (µmol/min/100g)	0,54±0,09	2,14±0,33 Δ	0,10±0,01	0,09±0,02	0,22±0,02	0,61±0,49	0,40±0,08	0,44±0,12	0,76±0,11	2,15±0,48 Δ

3. ERGEBNISSE

	SHAM + FK 838		UUL + VHC		UUL + FK 838		KONTRA + VHC		KONTRA + FK 838	
	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP	VP	HP
F_{Cl} ($\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$)	164,14 \pm 52,17	572,44 \pm 61,74	6,87 \pm 1,58	9,28 \pm 2,83	8,79 \pm 2,94	25,26 \pm 10,34	112,85 \pm 26,80	127,52 \pm 57,09	56,38 \pm 18,34	92,17 \pm 18,54
FE_{Cl} (%)	0,81 \pm 0,17	1,96 \pm 0,56 Δ	1,92 \pm 0,36	1,55 \pm 0,39	1,63 \pm 0,37	1,82 \pm 1,40	0,50 \pm 0,18	0,79 \pm 0,37	1,66 \pm 0,45	2,68 \pm 0,67
Na/K Ratio	0,40 \pm 0,05	2,17 \pm 0,44 Δ	1,59 \pm 0,30	1,53 \pm 0,43	1,77 \pm 0,44	1,61 \pm 0,37	0,44 \pm 0,08	0,61 \pm 0,16	0,65 \pm 0,16	2,30 \pm 0,77
C_{osmol} ($\mu\text{l}/\text{min}/100\text{g}$)	9,18 \pm 1,23 Δ	22,36 \pm 2,51	1,61 \pm 0,38	1,57 \pm 0,43	2,77 \pm 1,57	4,66 \pm 1,94	11,55 \pm 2,28	8,85 \pm 1,46	15,24 \pm 1,58	26,88 \pm 3,65 Δ
C_{H2O} (ml/min)	-6,71 \pm 1,14	-9,29 \pm 2,00	-0,28 \pm 0,07	-0,19 \pm 0,06	-0,83 \pm 0,57	-1,50 \pm 0,69	-7,89 \pm 2,17	-5,24 \pm 0,73	-10,07 \pm 0,77	-17,96 \pm 3,48 Δ

4 DISKUSSION

4.1 Ergebnisse Teil 1: Zeitabhängige Änderungen der Nierenfunktion nach UUL

Die Untersuchungen der Nierenfunktion in Abhängigkeit zur Zeit nach unilateraler Ureterligatur konnten zeigen, dass bereits nach 6 Stunden Okklusion die GFR auf 61% gegenüber der unligierten Niere abfällt. Bereits nach 12 Stunden beträgt die GFR lediglich noch 40% der Ausgangswerte und fällt nach 24 Stunden Ureterligatur noch weiter auf 23% ab. Nach 3 Tagen hat die Niere ihre Funktion fast vollständig eingestellt, was sich in der GFR, die noch 14% im Vergleich zur Kontrollniere zeigt, widerspiegelt. Auch bei der Betrachtung der Freiwasserclearance fällt auf, dass bereits nach 6 Stunden Ureterligatur die Konzentrationsfähigkeit der Niere um 77% gesunken ist. Im Gegensatz zur GFR, die nach 12 Stunden noch 40% beträgt, ist die Konzentrationsfähigkeit der Niere zu diesem Zeitpunkt bereits nahezu verloren gegangen und es wird ein plasmatischer Urin ausgeschieden. Damit sind die in der Literatur publizierten Daten auch für die Rattenniere bestätigt und vervollständigt. Somit stellt die Kontrollgruppe der Versuche des ersten Teils eine zuverlässige Ausgangslage zur Erfassung der Veränderungen der Nierenfunktion durch den ADO-A₁-Rezeptorantagonisten FK 838 dar.

4.1.1 Urinzeitvolumen und glomeruläre Filtrationsrate

Die *Urinzeitvolumina* der ureterligierten Nieren weisen in den verschiedenen Versuchsgruppen kaum relevante Unterschiede auf. Sie lagen jedoch durchschnittlich unterhalb der Normalwerte. Im Vergleich zur Literatur wäre vielmehr eine Diurese zu erwarten gewesen (35 ; 92). Dies könnte darin begründet sein, dass die Zeit vom Lösen der Okklusion bis zum letztendlichen

Erreichen des endgültigen Flusses innerhalb der Tubuli zu kurz gewesen sein könnte, so dass die zu erwartenden erhöhten Urinzeitvolumina nicht erreicht werden konnten. Um dies zu überprüfen, müsste in weiteren Versuchen die Anzahl der Versuchsperioden und damit die Zeit nach Lösung der Okklusion erhöht werden, um eine eventuelle Zunahme der Urinzeitvolumina zu erkennen. Dagegen ist an den kontralateralen Nieren eine kontinuierliche Zunahme des Urinzeitvolumens in der Zeit nach der Wiedereröffnung der Ureterligatur erkennbar. Davon weicht lediglich die Gruppe der kontralateralen Nieren nach 24-stündiger Ureterligatur ab. Bei Betrachtung der Störfaktoren fällt in dieser Gruppe jedoch eine erhöhte Operationsdauer, ein erniedrigter mittlerer arterieller Blutdruck, wie auch ein erniedrigter Hämatokrit auf, was für einen mehr traumatisierenden Operationsverlauf, verglichen mit den übrigen Versuchsgruppen, spricht. Da die Versuchsgruppe der 24-stündig ureterligierten Tiere die Gruppe der anfänglichen Versuche darstellt, kann diese Vermutung als wahrscheinlich angenommen werden.

Es kann somit von einer progredienten Zunahme des Urinzeitvolumens der kontralateralen Nieren ausgegangen werden. Dies könnte auf einen Kompensationsmechanismus der kontralateralen Nieren hinweisen. So stellte bereits Wahlberg bei seinen Versuchen eine Steigerung der Durchblutung und der Filtrationsleistung der kontralateralen Nieren fest (110). Auch Hauser hatte Hinweise auf Kompensationsmechanismen durch eine vermehrte Expression der kontralateralen Nieren nach Ureterligatur mit erhöhter Expression von Zellzyklusproteinen im Sinne einer kompensatorischen Hypertrophie (39). Die progrediente Zunahme des Urinzeitvolumens mit maximaler Adaption nach 72-stündiger Ureterligatur der kontralateralen Niere, könnte ein weiterer Hinweis auf Kompensationsmechanismen sein, der die Grundlage weiterer Forschung darstellen könnte.

Bei der Betrachtung der *glomerulären Filtrationsrate* lässt sich eine progrediente Abnahme bei den ureterligierten Nieren feststellen. Während sie bereits nach 6-stündiger Ureterligatur noch 60% der kontralateralen Nieren beträgt, fällt sie bis auf 14% nach 72-stündiger Ureterligatur ab. Wie bereits von Moody und Yarger postuliert, tritt bereits nach 5 bis 8 stündiger Ureterokklusion

eine anhaltende Vasokonstriktion mit reduzierter Nierendurchblutung ein (64 ; 114). Außerdem sinkt zum renalen Blutfluß ebenso die glomeruläre Filtrationsrate (36 ; 113). Dafür ist vor allem die Vasokonstriktion der Vasa afferentia der Glomerula, begleitet von einem Abfall des hydrostatischen Druckes in den glomerulären Kapillaren, verantwortlich (4 ; 97). Somit kann angenommen werden, dass die mit der Zeit progredient verminderte GFR in der veränderten Hämodynamik mitbegründet liegt. Da es sich bei dieser Arbeit um Messungen in der postobstruktiven Phase handelt, wäre es weiterhin interessant zu erforschen, ob es sich hierbei um eine reversible Abnahme der Nierenfunktion handelt. Dazu wurde im zweiten Teil dieser Arbeit untersucht, ob mit Blockierung der ADO-A₁-Rezeptoren diese Abnahme der glomerulären Filtrationsrate vermindert werden kann. Auf diese Ergebnisse wird im späteren Verlauf noch genauer eingegangen.

Im Unterschied zum Urinzeitvolumen lässt sich bei der glomerulären Filtrationsrate der kontralateralen Nieren keine Änderung über die Zeit feststellen. Das bedeutet, dass die Kompensationsmechanismen der kontralateralen Niere nicht auf hämodynamischen Mechanismen beruhen.

4.1.2 Renale Elektrolytausscheidung

Die Natriumausscheidung nach Wiedereröffnung der Ureterligatur zeigt eine Verminderung parallel zur Dauer der Ligatur. Damit gehen sie auch dem Abfall der GFR parallel. Die fortschreitende Verminderung der tubulären Natriumreabsorption, sichtbar an der leichten Zunahme der fraktionellen Natriumausscheidung, zeigt - parallel zur Dauer der Ureterligatur - eine Resorptionsschwäche der Tubuli an. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der in der Literatur beschriebenen verminderten Transportleistung der Tubuli bei Hydronephrose (35 ; 43 ; 42 ; 92).

Die Ausscheidung von Kalium nach UUL ändert sich nicht signifikant mit der Dauer der Ureterligatur. Der Natrium-Kalium-Quotient im Urin nimmt daher signifikant ab. Die Chloridausscheidung geht der Natriumausscheidung weitgehend parallel. Der deutliche Anstieg der fraktionellen Natriumaus-

scheidung nach 12-stündiger Ureterligatur von 0,26% auf 1,00% nach 24-stündiger Ureterligatur könnte auf die generalisierte Herunterregulation der für die Natriumreabsorption nötigen Transportproteine, wie der Na-K-2 Cl-Cotransporter, die Na-K-ATPase oder den epithelialen Natriumkanal ENaC zurückzuführen sein (42 ; 43).

Die Kaliumausscheidung der UUL-Niere ändert sich parallel zur Natriumausscheidung. Diese Beobachtung entspricht der Ergebnissen der Literatur (102 ; 112).

Zusammengefasst bestätigen unsere Ergebnisse die in der Literatur beschriebene Abschwächung des tubulären Elektrolyttransportes bei Ureterligatur.

4.1.3 Konzentrierungsfähigkeit

Die Konzentrierungsfähigkeit der Niere gemessen in der vorliegenden Arbeit an der osmolalen- und Freiwasser- Clearance nimmt schon nach 6 Stunden Ureterligatur bereits deutlich ab. Nach 12 Stunden UUL scheidet die Niere nur noch plasmaisotonen Urin aus.

Die Verminderung des Elektrolyttransports im aufsteigenden Ast der Henleschen Schleife, sowie die Herunterregulation der Aquaporine 2 (25) wird als Ursache für den Verlust der Konzentrierungsfähigkeit der ureterligierten Niere angesehen.

In allen Gruppen der kontralateralen Nieren fallen bei der Untersuchung der Freiwasser clearance und damit der Konzentrierungsfähigkeit nahezu identische Werte auf, so dass davon ausgegangen werden muss, dass die oben angesprochenen Adaptations- und Kompensationsmechanismen keine Auswirkungen auf die Konzentrierungsfähigkeit der kontralateralen Nieren haben.

4.2 Ergebnisse Teil 2: Wirkung des ADO-A₁- Rezeptorantagonisten FK 838 nach 24 Stunden UUL

In unseren Versuchen hat sich gezeigt, dass durch die Behandlung der 24 Stunden ureterligierten Nieren mit FK 838 eine signifikante Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate und damit des filtrierte Natriums erreicht werden kann. Bei den kontralateralen Nieren kommt es ebenso, wie auch bei den ureterligierten Nieren, zu einer signifikanten Steigerung der glomerulären Filtrationsrate. Zusätzlich kommt es bei den kontralateralen Nieren zu einem signifikanten Anstieg des Urinzeitvolumens, der absoluten, sowie der fraktionellen Natriumausscheidung, der Chloridausscheidung und der Freiwasserclearance. Damit zeigt die kontralaterale Niere die erwartete induzierte Diurese, die durch ADO-A₁-Rezeptor-Antagonisten (KW 3902, CVT-124, FK 453, FK 838) bei gesunden Tieren (5 ; 61 ; 111) und Menschen (6 ; 30 ; 91 ; 105) gezeigt werden konnte.

4.2.1 Glomeruläre Filtrationsrate und Urinzeitvolumen, renale Elektrolytausscheidung und Konzentrierungsfähigkeit

Wie in der Einleitung ausgeführt wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) intrarenal durch den tubuloglomerulären Feedback (TGF) gesteuert. Als Mediator dieser vaskulären Antwort auf tubuläre Ereignisse (Natrium-, Kalium- und Chloridkonzentration in der Tubulusflüssigkeit an der Macula densa) wird das Adenosin angesehen, das über ADO-A₁-Rezeptoren eine präglomeruläre Vasokonstriktion in den Vasa afferentia hervorruft. Daraus lässt sich vermuten, dass FK 838 als selektiver ADO-A₁-Rezeptor-Antagonist die endogene vaskuläre Adenosinwirkung hemmt. Auf die verstärkte Vasokonstriktion in der 24 Stunden UUL übertragen lässt sich vermuten, dass ein Spasmus der afferenten Arteriolen vorliegt. Diese Annahme wird unterstützt von den Mikropunktionsuntersuchungen an Ratten mit 24 Stunden UUL (4). Die Zunahme der GFR bei UUL durch FK 838 beträgt prozentual auf die

Ausgangslage 220%, während die GFR der kontralateralen Nieren nur um das 1,5-fache ansteigt. Das kann bedeuten, dass der TGF besonders stark bei UUL aktiviert ist.

Trotz erhöhter GFR bei UUL ist die FK 838 induzierte Diurese nicht signifikant angestiegen (im Gegensatz zur kontralateralen Niere). Das bedeutet, dass die tubuläre Transportleistung für Natrium nach FK 838 bei UUL nicht vermindert ist. Unsere Versuche waren nicht dazu ausgelegt, die diuretische Wirkung von FK 838 auf einzelne Tubulusabschnitte zu differenzieren. Dennoch kann man annehmen, dass der proximale Tubulus bei UUL so geschädigt ist, dass die Hemmung auf die tubuläre Transportleistung nicht mehr eintreten kann. Alternativ ist möglich, dass die verbesserte Mikrozirkulation im Markrindbereich die Kompensationsmechanismen für erhöhte tubuläre Beladung (Erhöhung der GFR) bei UUL verbessert.

Die schwache und nicht signifikante Zunahme der Freiwasserclearance (C_{H_2O}) und der osmolalen Clearance (C_{osmol}) durch FK 838 bei UUL kann verstanden werden, durch die Annahme einer geschwächten Transportleistung des Sammelrohrsystems für die kurze Zeit von 150 min nach Wiedereröffnen der Ureterligatur. Die Frage, wie stark bei längerer Wiedererholungszeit auch die Funktion der Sammelrohre Normalwerte erreicht, müsste in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

5. AUSBLICK

Eine therapeutische Option aus den hier beschriebenen Versuchen könnte sich bei folgender Konstellation ergeben:

Ein Patient mit Urolithiasis musste sich in früheren Zeiten einer steinbedingten Nephrektomie unterziehen. Jetzt entwickelt er wieder einen Stein in der verbleibenden Niere, der zu einem vollständigen Verschluss des Ureters führt („stumme Niere“). Wenn der Patient wenige Tage später zur Steinentfernung in die Klinik kommt, kann seine Nierenfunktion, ähnlich wie in den vorliegenden Untersuchungen, schon stark eingeschränkt sein. Um eine genügend schnelle Erholung der Nierenfunktion nach Wiedereröffnung des obstruierten Ureters erreichen zu können (um eine mögliche Dialysepflichtigkeit zu vermeiden), könnte mit einem selektiven ADO-A1-Rezeptorantagonisten wie z.B. KW 3902 (Rolofylline) die Erholung der Nierenfunktion beschleunigt werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Hydronephrose ist im Erwachsenenalter in 2% die Ursache der terminalen Niereninsuffizienz. Im Kindesalter stellt sie sogar die häufigste Ursache dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese getestet, dass Adenosin an den hämodynamischen Veränderungen der Niere bei Hydronephrose vermitteln könnte. Hierzu verwendeten wir ein Modell der Hydronephrose durch unilaterale Ureterligatur bei Ratten. Die Nierenfunktion wurde nach 6, 12, 24 und 72 Stunden (h) Ureterligatur untersucht. Es zeigte sich, dass nach Wiedereröffnung des ligierten Ureters die GFR ab 6 h bei 61% und nach 72 h UUL nur noch bei 14% der Ausgangswerte lag. Die tubuläre Elektrolytreabsorption und die Konzentrierungsfähigkeit der Niere waren ebenfalls deutlich durch UUL reduziert. Um die Bedeutung der adenosinbedingten Konstriktion der afferenten Arteriolen über ADO-A₁-Rezeptoren bei der UUL-induzierten GFR-Abnahme zu prüfen, applizierten wir i.v. den hoch-selektiven ADO-A₁-Antagonisten FK 838 mit einer Infusion von 100µg/kg/h.

Es zeigte sich bei den Tieren mit 24 h UUL, dass FK 838 gegenüber den Vehikelkontrollen die GFR signifikant um das 2,2-fache erhöhte, während das Harnzeitvolumen und die Elektrolytausscheidung nur geringfügig zunahmen. Die scheinoperierten Tiere (SHAM) reagierten wie erwartet auf die Gabe von FK 838 mit einer deutlich ausgeprägten Steigerung der Elektrolytausscheidung. Diese Ergebnisse führen zu dem Schluss, dass ADO-A₁-Rezeptoren an der hämodynamischen Antwort der Niere auf Ureterligatur beteiligt sind. Das Fehlen einer tubulären Wirkung des ADO-A₁-Antagonisten FK 838 bei UUL spricht dafür, dass bei UUL die adenosinsensitiven Transportproteine nicht mehr intakt sind. Die Steigerung der GFR bei UUL durch den ADO-A₁-Antagonisten könnte eine therapeutische Option darstellen, um nach Wiedereröffnung einer Ureterobstruktion z.B. bei Urolithiasis die Erholung der Nierenfunktion zu beschleunigen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. 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
2. 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
3. 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
4. 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
5. Bak, M. und Thomsen, K. (2004)
Effects of the adenosine A1 receptor inhibitor FK 838 on proximal tubular fluid output in rats
Nephrol.Dial.Transplant. 19, 1077-1082
6. Balakrishnan, V. S., Coles, G. A., und Williams, J. D. (1993)
A potential role for endogenous adenosine in control of human glomerular and tubular function
Am.J.Physiol 265, F504-F510
7. Battle, D. C., Arruda, J. A., und Kurtzman, N. A. (1981)
Hyperkalemic distal renal tubular acidosis associated with obstructive uropathy
N.Engl.J.Med. 304, 373-380
8. Beach, R. E. und Good, D. W. (1992)
Effects of adenosine on ion transport in rat medullary thick ascending limb
Am.J.Physiol 263, F482-F487
9. Benfield, M. R., Stablein, D., und Tejani, A. (1999)
Trends in immunosuppressive therapy: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS)
Pediatr.Transplant. 3, 27-32

10. Buerkert, J., Martin, D., und Head, M. (1979)
Effect of acute ureteral obstruction on terminal collecting duct function in the weanling rat
Am.J.Physiol 236, F260-F267
11. Burnatowska-Hledin, M. A. und Spielman, W. S. (1991)
Effects of adenosine on cAMP production and cytosolic Ca²⁺ in cultured rabbit medullary thick limb cells
Am.J.Physiol 260, C143-C150
12. 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
13. 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
14. Churchill, P. C. und Bidani, A. (1987)
Renal effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats
Am.J.Physiol 252, F299-F303
15. Churchill, P. C. und Bidani, A. K. (1982)
Hypothesis: adenosine mediates hemodynamic changes in renal failure
Med.Hypotheses 8, 275-285
16. Dal, Canton A., Stanziale, R., Corradi, A., Andreucci, V. E., und Migone, L. (1977)
Effects of acute ureteral obstruction on glomerular hemodynamics in rat kidney
Kidney Int. 12, 403-411
17. Dalziel, H. H. und Westfall, D. P. (1994)
Receptors for adenine nucleotides and nucleosides: subclassification, distribution, and molecular characterization
Pharmacol.Rev. 46, 449-466
18. Dunn, M. J. (1990)
The National Kidney and Urologic Diseases Advisory Board report
J.Am.Soc.Nephrol. 1, 7-8
19. Eide, I., Loyning, E., Langard, O., und Kiil, F. (1977)
Mechanism of renin release during acute ureteral constriction in dogs
Circ.Res. 40, 293-299

20. el-Dahr, S. S., Gomez, R. A., Gray, M. S., Peach, M. J., Carey, R. M., und Chevalier, R. L. (1990)
In situ localization of renin and its mRNA in neonatal ureteral obstruction
Am.J.Physiol 258, F854-F862
21. Feldman, D. L., Mogelesky, T. C., Chou, M., und Jeng, A. Y. (2000)
Enhanced expression of renal endothelin-converting enzyme-1 and endothelin-A-receptor mRNA in rats with interstitial fibrosis following ureter ligation
J.Cardiovasc.Pharmacol. 36, S255-S259
22. Feoktistov, I., Murray, J. J., und Biaggioni, I. (1994)
Positive modulation of intracellular Ca²⁺ levels by adenosine A_{2b} receptors, prostacyclin, and prostaglandin E₁ via a cholera toxin-sensitive mechanism in human erythroleukemia cells
Mol.Pharmacol. 45, 1160-1167
23. 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
24. Freissmuth, M., Schutz, W., und Linder, M. E. (1991)
Interactions of the bovine brain A₁-adenosine receptor with recombinant G protein alpha-subunits. Selectivity for rG_i alpha-3
J.Biol.Chem. 266, 17778-17783
25. Frokiaer, J., Christensen, B. M., Marples, D., Djurhuus, J. C., Jensen, U. B., Knepper, M. A., und Nielsen, S. (1997)
Downregulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction
Am.J.Physiol 273, F213-F223
26. Frokiaer, J., Djurhuus, J. C., Nielsen, M., und Pedersen, E. B. (1996)
Renal hemodynamic response to ureteral obstruction during converting enzyme inhibition
Urol.Res. 24, 217-227
27. Frokiaer, J., Knudsen, L., Nielsen, A. S., Pedersen, E. B., und Djurhuus, J. C. (1992)
Enhanced intrarenal angiotensin II generation in response to obstruction of the pig ureter
Am.J.Physiol 263, F527-F533

28. Frokiaer, J., Nielsen, A. S., Knudsen, L., Djurhuus, J. C., und Pedersen, E. B. (1993)
The effect of indomethacin infusion on renal hemodynamics and on the renin-angiotensin system during unilateral ureteral obstruction of the pig
J.Urol. 150, 1557-1563
29. Frokiaer, J., Nielsen, A. S., Knudsen, L., Djurhuus, J. C., und Pedersen, E. B. (1993)
The effect of indomethacin infusion on renal hemodynamics and on the renin-angiotensin system during unilateral ureteral obstruction of the pig
J.Urol. 150, 1557-1563
30. Givertz, M. M., Massie, B. M., Fields, T. K., Pearson, L. L., und Dittrich, H. C. (2007)
The effects of KW-3902, an adenosine A1-receptor antagonist, on diuresis and renal function in patients with acute decompensated heart failure and renal impairment or diuretic resistance
J.Am.Coll.Cardiol. 50, 1551-1560
31. 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
32. Grenz, A., Osswald, H., Eckle, T., Yang, D., Zhang, H., Tran, Z. V., Klingel, K., Ravid, K., und Eltzhig, H. K. (2008)
The reno-vascular A2B adenosine receptor protects the kidney from ischemia
PLoS.Med. 5, e137-
33. Hall, J. E. und Granger, J. P. (1986)
Renal hemodynamics and arterial pressure during chronic intrarenal adenosine infusion in conscious dogs
Am.J.Physiol 250, F32-F39
34. 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
35. Hanley, M. J. und Davidson, K. (1982)
Isolated nephron segments from rabbit models of obstructive nephropathy
J.Clin.Invest 69, 165-174
36. Harris, R. H. und Gill, J. M. (1981)
Changes in glomerular filtration rate during complete ureteral obstruction in rats
Kidney Int. 19, 603-608

37. Harris, R. H. und Yarger, W. E. (1974)
Renal function after release of unilateral ureteral obstruction in rats
Am.J.Physiol 227, 806-815
38. Hashimoto, K., Kumakura, S., Tanemura, I. (1964)
Mode of action of adenine, uridine and cytidine nucleotides and 2,6-bis(diethanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimidino(5,4-D)pyrimidine on the coronary, renal and femoral arteries
Arzneimittelforschung. 14, 1252-1254
39. 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
40. Hoenderop, J. G., Hartog, A., Willems, P. H., und Bindels, R. J. (1998)
Adenosine-stimulated Ca²⁺ reabsorption is mediated by apical A1 receptors in rabbit cortical collecting system
Am.J.Physiol 274, F736-F743
41. 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
42. Hwang, S. J., Haas, M., Harris, H. W., Jr., Silva, P., Yalla, S., Sullivan, M. R., Otuechere, G., Kashgarian, M., und Zeidel, M. L. (1993)
Transport defects of rabbit medullary thick ascending limb cells in obstructive nephropathy
J.Clin.Invest 91, 21-28
43. Hwang, S. J., Harris, H. W., Jr., Otuechere, G., Yalla, S., Sullivan, M. R., Kashgarian, M., Benos, D. J., Kleyman, T. R., und Zeidel, M. L. (1993)
Transport defects of rabbit inner medullary collecting duct cells in obstructive nephropathy
Am.J.Physiol 264, F808-F815
44. Ichikawa, I. (1982)
Evidence for altered glomerular hemodynamics during acute nephron obstruction
Am.J.Physiol 242, F580-F585
45. Inscho, E. W. (1996)
Purinoreceptor-mediated regulation of the renal microvasculature
J.Auton.Pharmacol. 16, 385-388

46. Inscho, E. W., Carmines, P. K., und Navar, L. G. (1991)
Juxtamedullary afferent arteriolar responses to P1 and P2 purinergic stimulation
Hypertension 17, 1033-1037
47. Ishidoya, S., Morrissey, J., McCracken, R., und Klahr, S. (1996)
Delayed treatment with enalapril halts tubulointerstitial fibrosis in rats with obstructive nephropathy
Kidney Int. 49, 1110-1119
48. Junqueira, L und Carneiro, J (2005)
Histologie, 6. Auflage
320-336
49. Kaneto, H., Morrissey, J., McCracken, R., Reyes, A., und Klahr, S. (1994)
Enalapril reduces collagen type IV synthesis and expansion of the interstitium in the obstructed rat kidney
Kidney Int. 45, 1637-1647
50. Kang, H. S., Kerstan, D., Dai, L. J., Ritchie, G., und Quamme, G. A. (2001)
Adenosine modulates Mg(2+) uptake in distal convoluted tubule cells via A(1) and A(2) purinoceptors
Am.J.Physiol Renal Physiol 281, F1141-F1147
51. Khan, M. A., Dashwood, M. R., Thompson, C. S., Mumtaz, F. H., Mikhailidis, D. P., und Morgan, R. J. (1999)
Time-dependent up-regulation of endothelin-A receptors and down-regulation of endothelin-B receptors and nitric oxide synthase binding sites in the renal medulla of a rabbit model of partial bladder outlet obstruction: potential clinical relevance
BJU.Int. 84, 1073-1080
52. Kloor, D., Kurz, J., Fuchs, S., Faust, B., und Osswald, H. (1996)
S-adenosylhomocysteine-hydrolase from bovine kidney: enzymatic and binding properties
Kidney Blood Press Res. 19, 100-108
53. 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
54. Kloor, D. und Osswald, H. (2004)
S-Adenosylhomocysteine hydrolase as a target for intracellular adenosine action
Trends Pharmacol.Sci. 25, 294-297

55. Knight, R. J., Bowmer, C. J., und Yates, M. S. (1993)
The diuretic action of 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine, a selective A1 adenosine receptor antagonist
Br.J.Pharmacol. 109, 271-277
56. Lee, H. T. und Emala, C. W. (2000)
Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors
Am.J.Physiol Renal Physiol 278, F380-F387
57. Macias, J. F., Fiksen-Olsen, M., Romero, J. C., und Knox, F. G. (1983)
Intrarenal blood flow distribution during adenosine-mediated vasoconstriction
Am.J.Physiol 244, H138-H141
58. 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
59. Maenhaut, C., Van, Sande J., Libert, F., Abramowicz, M., Parmentier, M., Vanderhaegen, J. J., Dumont, J. E., Vassart, G., und Schiffmann, S. (1990)
RDC8 codes for an adenosine A2 receptor with physiological constitutive activity
Biochem.Biophys.Res.Comm. 173, 1169-1178
60. McCoy, D. E., Bhattacharya, S., Olson, B. A., Levier, D. G., Arend, L. J., und Spielman, W. S. (1993)
The renal adenosine system: structure, function, and regulation
Semin.Nephrol. 13, 31-40
61. Miracle, C. M., Rieg, T., Blantz, R. C., Vallon, V., und Thomson, S. C. (2007)
Combined effects of carbonic anhydrase inhibitor and adenosine A1 receptor antagonist on hemodynamic and tubular function in the kidney
Kidney Blood Press Res. 30, 388-399
62. Mizumoto, H. und Karasawa, A. (1993)
Renal tubular site of action of KW-3902, a novel adenosine A1-receptor antagonist, in anesthetized rats
Jpn.J.Pharmacol. 61, 251-253
63. Moody, T. E., Vaughan, E. D., Jr., und Gillenwater, J. Y. (1977)
Comparison of the renal hemodynamic response to unilateral and bilateral ureteral occlusion
Invest Urol. 14, 455-459

64. 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
65. Morrison, A. R., Moritz, H., und Needleman, P. (1978)
Mechanism of enhanced renal prostaglandin biosynthesis in ureter obstruction. Role of de novo protein synthesis
J.Biol.Chem. 253, 8210-8212
66. Muller, D. N., Mervaala, E. M., Schmidt, F., Park, J. K., Dechend, R., Genersch, E., Breu, V., Loffler, B. M., Ganten, D., Schneider, W., Haller, H., und Luft, F. C. (2000)
Effect of bosentan on NF-kappaB, inflammation, and tissue factor in angiotensin II-induced end-organ damage
Hypertension 36, 282-290
67. Munshi, R., Pang, I. H., Sternweis, P. C., und Linden, J. (1991)
A1 adenosine receptors of bovine brain couple to guanine nucleotide-binding proteins Gi1, Gi2, and Go
J.Biol.Chem. 266, 22285-22289
68. Navar, L. G. und Baer, P. G. (1970)
Renal autoregulatory and glomerular filtration responses to graded ureteral obstruction
Nephron 7, 301-316
69. Olsson, R. A. und Pearson, J. D. (1990)
Cardiovascular purinoceptors
Physiol Rev. 70, 761-845
70. Osswald, H. (1975)
Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline in dogs
Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 288, 79-86
71. 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
72. 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

73. 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
74. 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
75. 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
76. 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
77. Pawlowska, D., Granger, J. P., und Knox, F. G. (1987)
Effects of adenosine infusion into renal interstitium on renal
hemodynamics
Am.J.Physiol 252, F678-F682
78. 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
79. Purkerson, M. L., Rolf, D. B., Chase, L. R., Slatopolsky, E., und Klahr, S.
(1974)
Tubular reabsorption of phosphate after release of complete ureteral
obstruction in the rat
Kidney Int. 5, 326-336
80. Ralevic, V. und Burnstock, G. (1998)
Receptors for purines and pyrimidines
Pharmacol.Rev. 50, 413-492
81. Recker, F. (1983)
Untersuchungen zur Pathophysiologie der postobstruktiven
Hydronephrose der Ratten-Niere
36-42
82. Reid, I. A., Morris, B. J., und Ganong, W. F. (1978)
The renin-angiotensin system
Annu.Rev.Physiol 40, 377-410

83. Reyes, A. A., Lefkowitz, J., Pippin, J., und Klahr, S. (1992)
Role of the 5-lipoxygenase pathway in obstructive nephropathy
Kidney Int. 41, 100-106
84. Ribeiro, C. und Suki, W. N. (1986)
Acidification in the medullary collecting duct following ureteral obstruction
Kidney Int. 29, 1167-1171
85. Rossi, N., Churchill, P., Ellis, V., und Amore, B. (1988)
Mechanism of adenosine receptor-induced renal vasoconstriction in rats
Am.J.Physiol 255, H885-H890
86. Sakai, K., Aono, J., und Haruta, K. (1981)
Species differences in renal vascular effects of dipyridamole and in the
potentiation of adenosine action by dipyridamole
J.Cardiovasc.Pharmacol. 3, 420-430
87. Salvatore, C. A., Jacobson, M. A., Taylor, H. E., Linden, J., und Johnson, R.
G. (1993)
Molecular cloning and characterization of the human A3 adenosine
receptor
Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 90, 10365-10369
88. Schnermann, J., Briggs, J. P., und Weber, P. C. (1984)
Tubuloglomerular feedback, prostaglandins, and angiotensin in the
autoregulation of glomerular filtration rate
Kidney Int. 25, 53-64
89. 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
90. Sharma, A. K., Mauer, S. M., Kim, Y., und Michael, A. F. (1993)
Interstitial fibrosis in obstructive nephropathy
Kidney Int. 44, 774-788
91. Slawsky, M. T. und Givertz, M. M. (2009)
Rolofylline: a selective adenosine 1 receptor antagonist for the treatment
of heart failure
Expert.Opin.Pharmacother. 10, 311-322
92. Sonnenberg, H. und Wilson, D. R. (1976)
The role of the medullary collecting ducts in postobstructive diuresis
J.Clin.Invest 57, 1564-1574

93. Spielman, W. S. (1984)
Antagonistic effect of theophylline on the adenosine-induced decreased
in renin release
Am.J.Physiol 247, F246-F251
94. Spielman, W. S., Britton, S. L., und Fiksen-Olsen, M. J. (1980)
Effect of adenosine on the distribution of renal blood flow in dogs
Circ.Res. 46, 449-456
95. Spielman, W. S. und Thompson, C. I. (1982)
A proposed role for adenosine in the regulation of renal hemodynamics
and renin release
Am.J.Physiol 242, F423-F435
96. Sun, D., Samuelson, L. C., Yang, T., Huang, Y., Paliege, A., Saunders, T.,
Briggs, J., und Schnermann, J. (2001)
Mediation of tubuloglomerular feedback by adenosine: evidence from
mice lacking adenosine 1 receptors
Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 98, 9983-9988
97. Sweeney, P., Young, L. S., und Fitzpatrick, J. M. (2001)
An autoradiographic study of regional blood flow distribution in the rat
kidney during ureteric obstruction--the role of vasoactive compounds
BJU.Int. 88, 268-272
98. Tagawa, H. und Vander, A. J. (1970)
Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in
dogs
Circ.Res. 26, 327-338
99. Takahashi, H., Kimura, M., Hishida, A., und Nishimura, M. (1999)
Ureteral obstruction reverses glomerular proliferation in immune complex
glomerulonephritis
J.Lab Clin.Med. 133, 289-301
100. Takeda, M., Yoshitomi, K., und Imai, M. (1993)
Regulation of Na(+)-3HCO₃⁻ cotransport in rabbit proximal convoluted
tubule via adenosine A1 receptor
Am.J.Physiol 265, F511-F519
101. Tang, Y. und Zhou, L. (2003)
Characterization of adenosine A1 receptors in human proximal tubule
epithelial (HK-2) cells
Receptors.Channels 9, 67-75
102. Thirakomen, K., Kozlov, N., Arruda, J. A., und Kurtzman, N. A. (1976)
Renal hydrogen ion secretion after release of unilateral ureteral
obstruction
Am.J.Physiol 231, 1233-1239

103. Thurau, K. (1964)
Renal haemodynamics
Am.J.Med. 36, 698-719
104. Torikai, S. (1987)
Effect of phenylisopropyladenosine on vasopressin-dependent cyclic AMP generation in defined nephron segments from rat
Ren Physiol 10, 33-39
105. Vallon, V., Miracle, C., und Thomson, S. (2008)
Adenosine and kidney function: potential implications in patients with heart failure
Eur.J.Heart Fail. 10, 176-187
106. Vallon, V., Muhlbauer, B., und Osswald, H. (2006)
Adenosine and kidney function
Physiol Rev. 86, 901-940
107. 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
108. Buren van, M., Bijlsma, J. A., Boer, P., van Rijn, H. J., und Koomans, H. A. (1993)
Natriuretic and hypotensive effect of adenosine-1 blockade in essential hypertension
Hypertension 22, 728-734
109. 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
110. 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
111. Wilcox, C. S., Welch, W. J., Schreiner, G. F., und Belardinelli, L. (1999)
Natriuretic and diuretic actions of a highly selective adenosine A1 receptor antagonist
J.Am.Soc.Nephrol. 10, 714-720
112. Wilson, D. R. (1980)
Pathophysiology of obstructive nephropathy
Kidney Int. 18, 281-292

113. Yarger, W. E. und Griffith, L. D. (1974)
Intrarenal hemodynamics following chronic unilateral ureteral obstruction
in the dog
Am.J.Physiol 227, 816-826
114. 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
115. Zhou, Q. Y., Li, C., Olah, M. E., Johnson, R. A., Stiles, G. L., und Civelli, O.
(1992)
Molecular cloning and characterization of an adenosine receptor: the A3
adenosine receptor
Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 89, 7432-7436
116. Zou, A. P., Nithipatikom, K., Li, P. L., und Cowley, A. W., Jr. (1999)
Role of renal medullary adenosine in the control of blood flow and
sodium excretion
Am.J.Physiol 276, R790-R798

8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°	Grad
A	Arteria
ADA	Adenosindesaminase
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADO	Adenosin
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosindiphosphaht
bidest.	bedestillatus
bzw	beziehungsweise
C	Celsius
ca	circa
cAMP	cyclisches AMP
C _{H2O}	freie Wasserclearance
Ci	Curie
Cl	Chlorid
cm	Zentimeter
C _{Osmol}	Osmolare Clearance
CPA	Cyclopentyladenosin
dia	diastolisch
DMPX	Dimethyl-Propargylxanthine
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPCPX	Cyclopentyl-Dipropylxanthine
dpm	decays per minute
ENaC	epithelialer Natriumkanal
et al	Et alii (und andere)
Fa	Firma

F _{Cl}	filtriertes Chlorid
FE _{Cl}	fraktionelle Chloridausscheidung
FE _K	fraktionelle Kaliumausscheidung
FE _{Na}	fraktionelle Natriumausscheidung
F _K	filtriertes Kalium
F _{Na}	filtriertes Natrium
g	Gramm
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
h	hours (Stunden)
HCl	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
HF	Herzfrequenz
Hg	Quecksilber
Hkt	Hämatokrit
HP	Hauptperiode
ID	Innendurchmesser
K	Kalium
kg	Kilogramm = 10 ³ Gramm
KG	Körpergewicht
KONTRA	kontralateral
l	Liter
μ	mikro = Faktor 10 ⁻⁶
m	Meter
m	milli = Faktor 10 ⁻³
M	Musculus
M	Mol
MAP	Mean arterial pressure
min	Minuten
N	Nervus
n	Anzahl der Versuchstiere in einer Gruppe

n	nano = Faktor 10^{-9}
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NAD	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid
NaOH	Natriumhydroxid
O ₂	Sauerstoff
PAS	Periodic Acid Schiff
RBF	renal blood flow (renaler Blutfluss)
s	siehe
SAH	S-Adenosyl-L-Homocystein
SD	Sprague-Dawley
SEM	Standard error of the mean
sys	systolisch
TGF	tubulo-glomerulärer Feedback
U _{Cl} V	Chloridausscheidung
U _K V	Kaliumausscheidung
U _{Na} V	Natriumausscheidung
USP	United States Pharmacopeia
UUL	unilaterale Ureterligatur
UV	Urinvolumen
UVZ	Urinzeitvolumen
VHC	Vehikel
VP	Vorperiode

9. DANKSAGUNGEN

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Hartmut Oßwald für die Überlassung des Themas und die wissenschaftliche Anregung, Diskussion und Begleitung der Arbeit, sowie der Teilhabe an seinem enormen Repertoire von wertvollen, wissenschaftlichen Erfahrungen, die das Zustandekommen der Arbeit maßgeblich beeinflussten.

Allen voran möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. Sara Laszlo für das kaum zu übertreffende, überdurchschnittliche Engagement und die Geduld bedanken, mit der sie mir das Präparieren der Tiere beibrachte, für die Einarbeitung in die Analytik und die unschätzbare Hilfe in Excel und JMP. Von Anfang an stand sie bei allen aufkommenden Fragen und Problemen mit Rat und Tat zur Seite. Ihre fachliche Kompetenz und Unterstützung hat zum Gelingen dieser Arbeit entscheidend beigetragen.

Meinen großen Dank möchte ich allen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe aussprechen: Vor allem meinem Kommilitonen, Freund und „Doktorbruder“ Alexander Volck für die gemeinsame Arbeit mit überaus angenehmem Arbeitsklima im Labor, die aufbauenden Gespräche bei Misserfolgen, die oft nötigen Pausen in frischer Luft und die stets zur Verfügung stehende Hilfe bei allen Problemen, die die Erstellung dieser Arbeit mit sich brachte.

Aber auch bei Christine Piesch und Dr. Ammar Tawosh bedanke ich mich sehr herzlich für ihre wertvolle und aufmunternde Unterstützung bei den experimentellen Untersuchungen und für die organisierten gemeinsamen Unternehmungen. All dies trug dazu bei, dass die Arbeit viel Spaß bereitete und Abwechslung mit sich brachte.

Ein Dankeschön möchte ich auch den Tierpflegern für die tägliche Pflege und Versorgung meiner Tiere im Tierstall und im Institut aussprechen.

Ferner möchte ich mich bei Herrn Sigi Dannecker für die professionelle Bildbearbeitung bedanken, die er trotz seiner mangelnden Zeit als frischgebackener Vater für mich in seiner Freizeit angefertigt hat.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Ulrich Kaiser für die Photoaufnahmen der Operationen und die fachfremde Korrektur.

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

Ich bedanke mich schließlich bei Katrin und Frank Waldbüßer, die mich nicht nur tatkräftig unterstützt haben, sondern mich stets aufbauten und für die erforderliche Abwechslung sorgten.

