

1. Einleitung

1.1 Grundzüge der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes

Die physiologischen Regulationsmechanismen des Menschen zur Aufrechterhaltung der Flüssigkeits- und Elektrolythomöostase und zur Sicherstellung eines für die Perfusion der Gewebe adäquaten zirkulierenden Blutvolumens sind komplex und werden bisher in ihrer Vernetzung aus kardiovaskulären, neuronalen, humoralen und parakrinen Einflussfaktoren nur unvollständig verstanden. Nachfolgend seien daher nur einige wichtige Mechanismen kurz aufgezählt.

Zu den nervalen Regulationsmechanismen des Flüssigkeitshaushaltes zählen insbesondere reflexartige, unter Vermittlung von Dehnungsrezeptoren im arteriellen und venösen Kreislaufsystem geregelte Aktivitätsänderungen des vegetativen Nervensystems mit konsekutiver Variation des Tonus verschiedener Gefäßregionen [1].

Die neurohumoralen Regulationsmechanismen ergeben sich als Verstärkung der skizzierten Reflexmechanismen unter Vermittlung kardiopulmonaler und arterieller Barorezeptoren, da Aktivitätsveränderungen beider Rezeptorgruppen - unter Vermittlung medullärer Kreislaufstrukturen - die Freisetzung verschiedener Hormone (Angiotensin II, Vasopressin, Noradrenalin) variieren können (Übersicht unter [2]).

Zu den kardiozirkulatorischen Einflussfaktoren in der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes zählt insbesondere die Verknüpfung des arteriellen Blutdrucks mit der renalen Natrium- und Wasserausscheidung über den Mechanismus der sogenannten Drucknatriurese [³,4].

Die humoralen Regulationsmechanismen des Flüssigkeitshaushaltes beinhalten insbesondere die Hormone des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (RAAS) [⁵], Vasopressin [1] und die Hormone des natriuretischen Peptidsystems [⁶]. Hierbei verknüpft das Renin-Angiotensin System renalen Perfusionsdruck, Plasmanatriumkonzentration, Sympathikotonus und glomeruläre sowie proximale tubuläre Nierenfunktion und beeinflusst darüber

1. Einleitung

hinaus über die Stimulation der Aldosteronproduktion auch die distale Tubulusfunktion [5].

1.2 Das natriuretische Peptidsystem

1.2.1 Einführung

Die Entdeckung von De Bold und Mitarbeitern im Jahr 1981, dass die intravenöse Injektion eines Extraktes aus Vorhofgewebe bei Ratten eine deutliche Steigerung der Natriumausscheidung induziert [7], begründete in der Folge die Charakterisierung einer ganzen Familie natriuretischer Peptide mit hoher struktureller Ähnlichkeit, die in unterschiedlicher Ausprägung Einfluss auf die Wasser- und Elektrolythomöostase und den arteriellen Blutdruck nehmen.

In den Jahren 1983 bis 1985 erfolgte durch verschiedene Arbeitsgruppen, unabhängig voneinander und an verschiedenen Spezies, die Isolierung und Charakterisierung des auch als A-Typ der natriuretischen Peptide bezeichneten atrialen natriuretischen Peptids (ANP) [8,9]. Zwischen 1988 und 1992 erfolgte die Charakterisierung weiterer natriuretischer Peptide: des vorwiegend in den Herzkammern produzierten, aufgrund der Entdeckung im Gehirn des Schweines als 'Brain natriuretic peptide' (BNP) bezeichneten natriuretischen Peptids vom B-Typ [10], des sowohl im Gehirn als auch im Endothel nachweisbaren natriuretischen Peptids vom C-Typ (CNP) [11], des bislang nur in der Niere nachweisbaren renalen natriuretischen Peptides Urodilatin (URO) [12] und des 'Dendroaspis natriuretic peptide' (DNP), das nach der Schlangenart (*Dendroaspis angusticeps*), in der es entdeckt wurde, benannt [13] und beim Menschen bislang nur im Plasma und im Herzgewebe nachgewiesen wurde [14]. Die Bedeutung der verschiedenen Peptide des natriuretischen Peptidsystems in der Flüssigkeitshomöostase und Kreislaufregulation, aber auch insbesondere ihre Rolle als Marker für kardiale Erkrankungen sind Gegenstand intensivster Forschung.

Die Synthese von ANP: Beim Gesunden wird ANP insbesondere von in den Herzvorhöfen lokalisierten myoendokrinen Zellen produziert. In geringen Gewebekonzentration ist ANP allerdings auch im Myokard der Herzkammern sowie in verschiedenen extrakardialen Geweben (Lunge, Gehirn, Nebennieren, Niere) nachweisbar. Die Synthese des Peptides er-

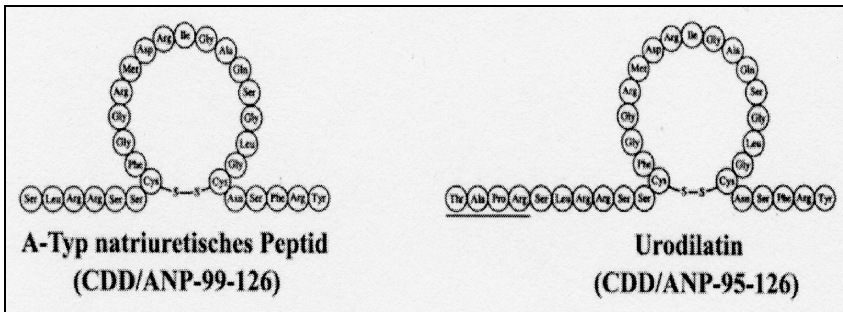


Abb. 1: Die Aminosäuresequenz des atrialen natriuretischen Peptids (= A-Typ natriuretisches Peptid) und Urodilatin (nach [17]).

folgt über ein Prohormon (proANP-1-126), welches in Sekretgranula gespeichert und durch posttranslationale Modifizierung bei exozytotischer Freisetzung in das aktive, zirkulierende Peptid ANP-99-126, auch als 'atrialer natriuretischer Faktor' bezeichnet, sowie die N-terminale Vorstufe proANP-1-98 gespalten wird. Im Plasma wird proANP-1-98 rasch durch Proteasen in verschiedene Peptidfragmente (proANP-1-30 (long acting natriuretic peptide); proANP-31-67 (vessel dilator); proANP-68-98 (kaliuretic peptide)) gespalten, denen ebenfalls natriuretische und vasodilatierende Eigenschaften zugeschrieben werden (Übersicht unter 15).

Die Biosynthese von ANP kann durch Glucocorticoide und Thyroxin gesteigert werden [6], darüber hinaus wird eine vermehrte Synthese von proANP-1-126 bei chronischer Volumen- bzw. Druckbelastung des Herzens im Rahmen einer Myokardinsuffizienz beobachtet. Da in dieser Situation ANP auch vermehrt im Ventrikelmuskel exprimiert wird, wurde - ähnlich wie für BNP beschrieben - die Plasmakonzentration von ANP als potentieller Marker zur 'laborchemischen' Diagnose und Verlaufskontrolle der Herzinsuffizienz eingesetzt [6].

Als wesentlicher Stimulus der Freisetzung von ANP wird eine Dehnung des Vorhofgewebes betrachtet [16]. Daneben scheinen weitere Faktoren modulierend in die ANP-Freisetzung einzugreifen. Die Fülle der hierzu publizierten Daten macht es jedoch schwierig, alle potentiellen Kofaktoren aufzulisten und adäquat zu wichten. Dies gilt insbesondere, da es nur schwer möglich ist, zwischen der primären hormonellen, neurohumoralen bzw. pharmakologischen Wirkung und einer etwaigen gleichzeitigen Beeinflussung der atrialen Dehnung, z.B. im Rahmen der Gabe von Sym-

1. Einleitung

pathomimetika zu differenzieren. In aktuellen Übersichtsarbeiten werden zu diesem Thema angeführt: stimulierende Effekte exogen applizierter Katecholamine (Noradrenalin, Adrenalin), tonisch - inhibitorische Einflüsse arterieller Barorezeptoren sowie stimulierende Effekte von Vasopressin, Angiotensin II und Endothelin-1 [Übersichten unter 6 und 15].

Wie in Abbildung 1 dargestellt, unterscheidet sich das nach gegenwärtigem Verständnis nur in der Niere gebildete und nur im Urin und nicht im Plasma nachweisbare URO von ANP lediglich durch eine N - terminale Verlängerung um 4 Aminosäuren. Die Synthese von Urodilatin erfolgt ebenso wie die von ANP-99-126 aus dem gemeinsamen Prohormon ANP-1-126. Allerdings wird das Prohormon nicht, wie im Vorhofgewebe, zunächst in Granula gespeichert und auf einen bestimmten Stimulus hin freigesetzt, sondern wahrscheinlich direkt durch posttranslationale Modifikation des Prohormons in aktives Urodilatin (URO:ANP-95-126) umgewandelt [17]. Die präzisen intrazellulären Mechanismen, die zu einer gesteigerten Urodilatinsynthese führen, sind bislang noch nicht näher aufgedeckt. Nach den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von Drummer scheinen sowohl eine Aktivierung der Proteinkinase C als auch der Adenylatzyklase mit konsekutiver Steigerung der intrazellulären cAMP - Konzentration an der Freisetzung von URO aus Nierenzellen beteiligt zu sein [18]. Nach gegenwärtiger Vorstellung wird URO im distalen Tubulussystem der Niere produziert, luminal sezerniert und entfaltet seine Effekte im inneren medulären Sammelrohrbereich und muss somit als parakrines Hormonsystem aufgefasst werden [17,19]. Dies gründet sich vor allem darauf, dass - mit Ausnahme einer später noch eingehend zu diskutierenden Untersuchung - ein Nachweis systemisch zirkulierenden Urodilatins bislang nicht gelungen ist. Die physiologischen und pathophysiologischen Einflussfaktoren in der Regulation des renalen Urodilatinsystems werden unter 1.2.4 ausführlich erörtert.

Die Wirkung von ANP und URO auf zellulärer Ebene wird vor allem durch natriuretische Peptidrezeptoren vom Typ A (NPR-A) vermittelt [20]. Hierbei handelt es sich um transmembranöse Proteine mit einer extrazellulären Bindungsstelle und intrazellulären Proteinkinase und Guanylylzyklase-Domänen. Die Aktivierung des Rezeptors durch Bindung des natriuretischen Peptides induziert die Bildung von cyclischem Guanosinmonophosphat (cGMP) als 'second-messenger' [21]. Ein Anstieg von cGMP vermittelt wiederum, je nach Zielgewebe, unterschiedliche zelluläre Effekte. An glatter Gefäßmuskelzellen kommt es unter Vermittlung cGMP - abhängiger Proteinkinasen zu einer gesteigerten Aufnahme zytosolischen

Kalziums in das sarkoplasmatische Retikulum, was wiederum zu einer Vasodilatation führt. An medullären Sammelrohrzellen der Niere werden unter Vermittlung von cGMP sowohl Amilorid-sensitive Natriumkanäle gehemmt als auch Chloridkanäle aktiviert, was konsekutiv eine Hemmung der tubulären Natriumresorption und eine gesteigerte Diurese induziert. Darüber hinaus können cGMP-stimulierte Phosphodiesterasen auch über eine Reduktion des intracellulären cAMP – Gehaltes die Natriumresorption hemmen [21].

Der Abbau im Blut zirkulierenden ANPs erfolgt auf zwei Arten. Über natriuretische Peptidrezeptoren vom Typ C (NPR-C=Clearance-Rezeptoren) - transmembranöse Rezeptoren ohne spezifische Kopplung an ein zytosolisches second-messenger System – erfolgt nach Bindung und Internalisierung die lysozymale Hydrolyse des gebundenen Peptides [22]. Darüber hinaus wird zirkulierendes ANP durch die neutrale Endopeptidase 24.11. (NEP) in verschiedenen Geweben abgebaut [22]. Dabei ist bemerkenswert, dass die höchsten Gewebekonzentrationen dieser Endopeptidase im Bürstensaum des proximalen Tubulussystems der Niere nachweisbar sind. Glomerulär filtriertes ANP wird daher tubulär gespalten und fragmentiert ausgeschieden. Im Unterschied zu ANP wird URO aufgrund der N-terminalen Verlängerung um 4 Aminosäuren nicht durch Endopeptidasen abgebaut [23]. Aufgrund des spezifischen Bildungsmechanismus als tubulär produziertem und luminal sezerniertem Hormon und der spezifischen Verteilung von NPR-C entfällt auch dieser Abbauweg mit der Folge, dass URO im wesentlichen unverändert im Urin ausgeschieden wird. Somit unterscheiden sich die beiden natriuretischen Peptidhormone ANP und URO - trotz der skizzierten strukturellen Ähnlichkeiten - in ihrer Eliminationskinetik deutlich.

1.2.2 Die pharmakologischen Wirkungen von ANP und Urodilatin

Die pharmakologischen Effekte von ANP beinhalten sowohl vaskuläre als auch direkte und indirekte humorale Effekte [6]. Zu den kardiovaskulären Effekten von ANP zählen insbesondere eine direkte Vasodilatation und eine Steigerung der Kapillarpermeabilität [24] mit konsekutivem venösen Pooling, einer Abnahme des peripheren Gefäßwiderstandes [25] und des zirkulierenden Volumens [26]. Zu den direkten humoralen Effekten zählen

1. Einleitung

eine Hemmung der Freisetzung von Renin aus dem juxtaglomerulären Apparat der Niere sowie eine Hemmung der Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde [27]. Darüber hinaus reduziert ANP zusätzlich – über eine an multiplen Punkten des sympathischen Nervensystems vermittelte Hemmung des Sympathikotonus und der sympathischen Neurotransmission - den Tonus der peripheren Gefäßmuskulatur und die Konzentration systemisch zirkulierender Katecholamine [28,29].

Hinsichtlich der natriuretischen und diuretischen Effekte von ANP lassen sich sowohl hämodynamische als auch tubuläre Effekte unterscheiden. Die relative Bedeutung der einzelnen Faktoren für die Wirkung von ANP ist allerdings immer noch nicht abschließend geklärt. Auf glomerulärer Ebene vermittelt ANP eine Vasodilatation des Vas afferens, eine - geringer ausgeprägte - Vasokonstriktion des Vas efferens und eine Hemmung der Kontraktion mesangialer Zellen mit konsekutiver Steigerung der Filtrationsfraktion [30]. Je nach Modell kommt es – in Abhängigkeit vom Verlauf des arteriellen Blutdrucks nach Gabe von ANP – zu einer Steigerung des renalen Blutflusses (RBF) und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) (bei konstantem Perfusionsdruck) [31] oder einer Abnahme des RBF bei gleichbleibender GFR (bei absinkendem Blutdruck) [32]. Ein gesteigerter renaler Blutfluss kann darüber hinaus mit einem ‘Auswaschen’ medullärer Hypertonizität und, konsekutiv, einer Reduktion medullärer Solutresorption einhergehen [33].

Die tubulären Effekte von ANP sind in aktuellen Übersichtsarbeiten [34] ausführlich dargestellt worden und lassen sich dahingehend zusammenfassen, dass der wesentliche Wirkort dieses Peptides im inneren medullären Sammelrohrbereich liegt, da hier die höchste Dichte an NPR-A beobachtet worden ist [17]. Dies ist insofern bemerkenswert, als dieser Tubulusbereich als der wesentliche Wirkort von Urodilatin angesehen wird. Im proximalen und distalen Tubulusbereich ließen zwar sich in verschiedenen Untersuchungen auch die Natriumreabsorption hemmende Effekte von ANP darstellen; diese werden aber wahrscheinlich vor allem über eine Antagonisierung der natriumkonservierenden Effekte von Angiotensin II [35] und Aldosteron [36], eine Aktivierung des intrarenalen Dopaminsystems [37] sowie als Folge des oben skizzierten Auswascheffektes vermittelt [33]. Untersuchungen beim Hund, bei denen vor Gabe von ANP der renale Perfusionsdruck durch ‘Clamping’ einer Nierenarterie gesenkt wurde, zeigen, dass die natriuretische Wirkung dieses Peptides, im Vergleich zur nicht ‘geclampten’ Seite, nahezu aufgehoben wird. Die Beobachtung, dass diese Hemmung der ANP-Wirkung mit einem Ausbleiben

eines Anstieges der GFR bei erhaltener Ansprechbarkeit gegenüber der diuretischen Wirkung des tubulär angreifenden Schleifendiuretikums Furosemid verbunden ist, legt nahe, dass den renal-hämodynamischen Effekten eine größere Bedeutung für die natriuretische und diuretische Wirkung von ANP zukommt als den direkten tubulären Effekten [38]. Zudem unterstreicht diese Untersuchung, wie noch weiter zu diskutieren sein wird, die Bedeutung des renalen Perfusionsdruckes in der natriuretischen Wirksamkeit dieses Peptides.

Da die physiologischen und pharmakologischen Effekte von ANP und URO auf die Bindung an einen gemeinsamen Rezeptor (NPR-A) zurückzuführen sind, lassen sich Unterschiede zwischen beiden Peptiden nur in direkten pharmakologischen Vergleichsuntersuchungen ermitteln. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind widersprüchlich und zeigen entweder im Vergleich mit ANP stärkere natriuretisch-diuretisch Effekte [39] oder ausgeprägtere vasodilatierende Effekte nach Bolusgabe von URO [40]. Hinsichtlich der hormonellen Effekte – einer Hemmung der Renin- und Aldosteronfreisetzung – scheinen beide Peptide vergleichbar effektiv zu sein, wobei unter kontinuierlicher Infusion von URO bzw. ANP diese Effekte nur in niedrigen, nicht blutdruckwirksamen Dosen beobachtet werden. In höheren Dosen, die mit einem Abfall des arteriellen Blutdrucks verbunden sind, kann es zu gegenregulatorischen Aktivitätszunahmen in der Aktivität des RAAS kommen [41].

1.2.3 Die physiologische Bedeutung von ANP

Aufgrund der skizzierten pharmakologischen Effekte von ANP liegt es nahe, diesem Peptid grundlegende Bedeutung in der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes beizumessen. Präzise Aufschlüsse hinsichtlich der Bedeutung von ANP im Zusammenhang der Flüssigkeitsregulation – insbesondere in Abgrenzung von URO - zu erlangen, gestaltet sich allerdings außerordentlich schwer. Dies gründet sich vor allem auf die Bindung an ein gemeinsames Rezeptorsystem (NPR-A), aber auch auf die Synthese aus einem gemeinsamen Prohormon. Somit ergeben sich v.a. deskriptive Untersuchungsansätze, um die relative Bedeutung dieser Peptide in der Flüssigkeitsregulation näher zu eruieren. Eine in dieser Hinsicht grundlegende Untersuchung wurde von Goetz und Drummer publiziert, die an instrumentierten Hunden – dem klassischen Henry-Gauer-Prinzip [1] folgend –

1. Einleitung

einen Ballon im linken Vorhof aufgeblasen und die Wirkung auf Natriurese, Diurese, renale Exkretion von URO und die Plasmakonzentration von ANP untersucht haben [42,42]. Die Beobachtung, dass nur in kardial intakten, nicht aber in kardial denervierten Tieren ein mit einer Steigerung der URO-Exkretion vergesellschafteter Natriurese- und Diureseanstieg zu verzeichnen war, während die Plasmakonzentration von ANP in beiden Fällen anstieg, impliziert, dass a.) die renale Exkretion von Urodilatin unter dem Einfluss kardiopulmonaler Rezeptoren steht und b.) die renalen Effekte bei Vorhofdehnung nicht über ANP vermittelt werden. Diese Untersuchungen legen den Schluß nahe, dass URO eine größere Bedeutung in der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes zukommen könnte als ANP.

Untersuchungen an transgenen, ANP-überexprimierenden sowie an ANP-Gen-‘Knockout’-Modellen zeigen auf, dass ANP vor allem in der Regulation des arteriellen Blutdrucks erhebliche Bedeutung zukommt. ANP-überexprimierende Mäuse haben im Vergleich zu genetisch unveränderten Tieren einen 20 bis 30 mmHg niedrigeren arteriellen Blutdruck bei acht- bis zehnfach erhöhten Plasmaspiegeln von ANP; homozygote ANP-Gen-‘Knockout’-Mäuse weisen hingegen arterielle Blutdruckwerte auf, die 20 bis 30 mmHg über denen normaler Wildtyp-Mäuse liegen [44]. Hinsichtlich Natrium- und fraktioneller Wasserausscheidung unterscheiden sich jedoch die ANP-überexprimierenden Mäuse nicht vom Wildtyp. Diese Beobachtung deutet an, dass der niedrigere arterielle Blutdruck dieser Tiere nicht auf Änderungen des Extrazellulärvolumens und der Nierenfunktion, sondern auf chronische kardiovaskuläre Effekte von ANP zurückzuführen ist. Hinsichtlich dieser kardiovaskulären Effekte scheinen dabei Tonusänderungen der Aktivität des sympathischen Nervensystems von Bedeutung zu sein. Homozygote ANP-Knockout Mäuse weisen neben einem höheren Blutdruck auch eine höhere Herzfrequenz sowie deutlich gesteigerte Plasmakatecholaminkonzentrationen auf. Die Beobachtung, dass alle genannten Parameter durch Behandlung mit dem Angiotensin II-Typ 1-(AT₁)-Rezeptorantagonisten Losartan auf das Niveau der Wildtyptiere zurückgeführt werden können, deutet an, dass die Steigerung des Sympathikotonus in den ANP-Gen-‘Knockout’-Tieren zumindestens partiell über Veränderungen der Plasmakonzentration von Angiotensin II vermittelt werden [45, sowie ausführliche Übersicht unter 44]. Andererseits kann die renale Antwort auf eine akute Natriumüberladung die mit einer Steigerung der Plasmakonzentration von ANP einhergeht, nach Gabe von Mineralokortikoiden – das sog. ‘mineralocorticoid escape phenomenon’ – durch Behandlung mit dem NPR-A Antagonisten HS-142-1 erheblich redu-

ziert werden [46]. Dies weist darauf hin, dass NPR-A Agonisten durchaus für die Regulation des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes von Bedeutung sind, lässt aber offen, ob dabei ANP und/oder URO, oder andere natriuretische Peptide involviert sind.

1.2.4 Die physiologische Bedeutung von Urodilatin

Die physiologische Bedeutung von URO für die Regulation des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes und seine Einbindung in die klassischen Systeme der Flüssigkeitshomöostase werden noch nicht vollständig verstanden. Als gesichert gilt, dass die renale Urodilatinexkretion ($U_{URO}V$) durch kurz- und mittelfristige Veränderungen der Plasmanatriumkonzentration beeinflusst wird [47,48]. Darüber hinaus korrelieren zirkadiane Schwankungen der Natriumexkretion gleichsinnig mit der renalen Urodilatinexkretion [47]. Unklar ist bislang, ob die natriuminduzierte Steigerung der $U_{URO}V$ lediglich auf Veränderungen der Natriumkonzentration im interstitiellen oder tubulären Milieu - mit konsekutiver Synthesesteigerung URO-produzierender Zellen des distalen Tubulus [18] - oder auf hormonelle resp. nervale Regulationsvorgänge zurückzuführen ist. So kann z. B. beim Hund durch isolierte Steigerung der cerebralen Natriumkonzentration eine Zunahme der $U_{URO}V$ induziert werden, die auch nach Denervierung der Niere, aber auch bei Behandlung mit Enalapril und dem Aldosteronantagonisten Canrenoat, nachweisbar bleibt. Somit scheinen weitere, noch nicht näher definierte humorale Faktoren für die Regulation der $U_{URO}V$ relevant zu sein [49,50]. Neben den skizzierten Effekten einer Steigerung der $U_{URO}V$ durch Natriumbelastung deuten - neben den Studien von Goetz und Mitarbeitern [43] - weitere Untersuchungen auf eine Bedeutung des thorakalen Blutvolumens für die Regulation der $U_{URO}V$ hin. So beobachteten Norsk und Mitarbeiter in einer Untersuchung an gesunden Probanden, einen engen Zusammenhang zwischen dem Verlauf der $U_{URO}V$ und Natriurese während thermoneutraler Wasserimmersion [51]. Auch Nakamitsu und Mitarbeiter untersuchten den Einfluss von Wasserimmersion auf Natriurese und Diurese gesunder Probanden und beobachteten einen Anstieg von Plasma - ANP und renaler Urodilatinexkretion sowie eine Abnahme von Plasma-Renin-Aktivität, Aldosteron und Vasopressin [52]. In dieser Untersuchung fand sich ein engerer Zusammenhang zwischen Natriurese und $U_{URO}V$ als zwischen Natriurese und ANP - Konzentration im Plasma.