

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. P. Schmucker

Der Einfluss von Enalapril auf die renale Ausscheidung von NT-proBNP in
gesunden Probanden

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der medizinischen Fakultät -

vorgelegt von

Barbara Dorothea Will
aus Nürnberg

Lübeck 2006

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Heringlake
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Martin Misfeld, PhD

Tag der mündlichen Prüfung: 18.4.2007

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 18.4.2007

Gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach
-Dekan der medizinischen Fakultät

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	5
1.1. Die natriuretischen Peptide - Geschichtlicher Überblick	5
1.2. Synthese und biochemische Struktur der kardialen Peptide	5
1.3. Biologische Wirkungen und klinische Bedeutung der kardialen Peptide	6
1.4. Die natriuretischen Peptide in der Niere	7
1.5. Das Renin-Angiotensin-System als Gegenspieler der natriuretischen Peptide	8
1.6. Methodische Überlegungen	8
1.7. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	9
2. Material und Methoden	10
2.1. Versuchspersonen	10
2.1.1. Auswahl der Probanden	10
2.2.2. Ausschlusskriterien	10
2.2.3. Probandenaufklärung	10
2.2. Versuchsprotokoll	10
2.2.1. Allgemeines	10
2.2.2. Vorbereitungsphase	11
2.2.3. Untersuchungstag	11
2.3.4. Bearbeitung der Blut- und Urinproben	12
2.3. Erhobene Parameter	13
2.3.1. Hämodynamik	13
2.3.2. Klinische Chemie und Hämatokrit	13
2.3.3. Bestimmung von NT-proANP	14
2.3.4. Bestimmung von NT-proBNP	14
2.3.5. Bestimmung von ANG II	15
2.3.6. Nierenfunktionsparameter und NT-proBNP-Ausscheidung	15
2.4. Statistische Bearbeitung	15
3. Ergebnisse	16
3.1. Analyse der gesamten Gruppe	16
3.1.1. Hämodynamik	16
3.1.2. Klinische Chemie und Hämatokrit	17
3.1.3. Plasma-Hormonspiegel	20
3.1.3.1. NT-proANP und NT-proBNP	20

3.1.3.2. ANG II	21
3.1.4. Nierenfunktionsparameter	21
3.1.5. Renale Ausscheidung von NT-proBNP	23
3.2. Subgruppenanalyse	23
3.2.1. Hämodynamik	23
3.2.2. Klinische Chemie und Hämatokrit	26
3.2.3. Plasma-Hormonspiegel	26
3.2.3.1. NT-proANP und NT-proBNP	26
3.2.3.2. ANG II	26
3.2.4. Nierenfunktionsparameter	27
3.2.5. Renale Ausscheidung von NT-proBNP	28
3.3. Kumulative Ausscheidung von Urin, Natrium und NT-proBNP	29
4. Diskussion	31
4.1. Hämodynamik	31
4.2. Klinische Chemie und Hämatokrit	32
4.3. Plasma-Hormonspiegel	33
4.3.1. NT-proANP und NT-proBNP	33
4.3.2. ANG II	36
4.4. Nierenfunktionsparameter	37
4.5. Renale BNP-Freisetzung	38
5. Zusammenfassung	42
6. Literaturverzeichnis	43
7. Anhang	58
7.1. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	58
7.2. Abkürzungsverzeichnis	59
8. Danksagung	59
9. Lebenslauf	61

1. Einleitung und Fragestellung

1.1. Die natriuretischen Peptide

Die Entdeckungsgeschichte der natriuretischen Peptide begann in den 50er Jahren, als man in atrialen Zellen der Herzvorhöfe elektronenmikroskopisch Granula ausmachte, die denjenigen in endokrinen Drüsen ähnelten [Kisch 1956, Jamieson und Palade 1964]. In den 70er Jahren wurde beobachtet, dass die Bildung dieser Granula vom Volumenzustand des Kreislaufs abhing [Marie et al. 1976, De Bold 1979]. Erst im Jahr 1981 jedoch wiesen De Bold und Mitarbeiter nach, dass intravenös injiziertes Vorhofgewebe in Ratten eine deutliche Natriuresis auslöste [De Bold et al. 1981]. Als erstes Peptid dieser Gruppe natriuretischer Substanzen wurde daraufhin das atriale natriuretische Peptid ANP (atrial natriuretic peptide) beschrieben [Flynn et al. 1983, Napier et al. 1984]. Es folgte die Identifikation von BNP (Natriuretisches Peptid vom B-Typ) [Sudoh et al. 1988] sowie von CNP (Natriuretisches Peptid vom C-Typ) [Sudoh et al. 1990]. Das auch zu dieser Gruppe gehörige renale Peptid Urodilatin wurde erstmals 1988 aus dem Urin isoliert [Schulz-Knappe et al. 1988]. Über Ursprung und pathophysiologische Bedeutung von DNP (Dendroaspis natriuretic peptide), das 1992 [Schweitz et al. 1992] im Gift der Grünen Mamba (*Dendroaspis angusticeps*) und schließlich auch im menschlichen Plasma [Schirger et al. 1999] nachgewiesen wurde, ist noch wenig bekannt.

Im Laufe der Jahre wurde eine Vielzahl an biologischen Wirkungen der natriuretischen Peptide dokumentiert [Clerico et al. 2006]. Insbesondere BNP und sein N-terminales Vorläuferpeptid NT-proBNP haben zudem als diagnostische und prognostische Marker für verschiedene kardiale Erkrankungen Aufsehen erregt [Lemos et al. 2003]. Trotzdem wird die Physiologie und Pathophysiologie der natriuretischen Peptide noch nicht vollständig verstanden. Wenig Literatur ist insbesondere über die Synthese der natriuretischen Peptide in nicht-kardialem Gewebe veröffentlicht worden.

1.2. Synthese und biochemische Struktur der kardialen Peptide

Das kardiale Peptid BNP wird beim Gesunden hauptsächlich in den Vorhöfen aus Vorstufen produziert und mit diesen in sekretorischen Granula gespeichert. Vor allem unter pathophysiologischen Bedingungen, wie z.B. bei Herzinsuffizienz, findet die Expression von BNP verstärkt in den Ventrikeln statt [Goetze 2004].

Die DNA-Sequenz für das Vorläuferhormon von BNP, PräproBNP, kodiert beim Menschen für 132 Aminosäuren. Als kotranslationale Spaltung am rauen

endoplasmatischen Retikulum erfolgt noch während der Synthese die Umwandlung durch Endopeptidasen in das in das Propeptid proBNP₁₋₁₀₈ [Clerico et al. 2006]. Dieses wiederum wird in den biologisch aktiven C-terminalen Abschnitt aus 32 Aminosäuren BNP₇₇₋₁₀₈ und ein N-terminales Fragment gespalten, das sogenannte proBNP₁₋₇₆ oder NT-proBNP [Baxter 2004]. Man nimmt an, dass diese Spaltung vor der Freisetzung erfolgt [Clerico et al. 2006]. Die genauen Umstände und die beteiligten Enzyme sind jedoch noch nicht vollständig bekannt [Goetze 2004].

Auch ANP entsteht aus einem Präprohormon (151 Aminosäuren), aus dem nach proteolytischer Spaltung ein Prohormon aus 126 Aminosäuren entsteht. Nach Speicherung in den Granula der Vorhofmyokardiozyten wird dieses während der Freisetzung, die durch verschiedene mechanische oder humorale Stimuli eingeleitet werden kann, in das biologisch aktive ANP₉₉₋₁₂₆ und mehrere N-terminale Abschnitte umgewandelt [Baxter 2004]. Möglicherweise muss jedoch zwischen der atrialen und der ventrikulären sowie einer konstitutiven und einer regulierten Synthese und Freisetzung der natriuretischen Peptide unterschieden werden [Clerico et al. 2006].

Im biologisch aktiven Abschnitt findet sich in allen natriuretischen Peptiden eine durch eine Disulfidbrücke stabilisierte Ringstruktur aus 17 Aminosäuren. Der jeweils sehr ähnliche Ringteil ist für die Rezeptorbindung und biologische Wirkung zuständig. Hier unterscheiden sich die Peptide nur durch fünf Aminosäuren. Der N- und der C-terminale Abschnitt unterliegen jeweils größerer Varianz in Länge und Zusammensetzung [Lang et al. 1992a, Clerico et al. 2006].

1.3. Biologische Wirkungen, Abbau und klinische Bedeutung der kardialen Peptide

Die natriuretischen Peptide üben neben Natriurese und Diurese eine Vielzahl biologischer Effekte aus. Unter anderem wirken sie vasodilatatorisch und antiinflammatorisch auf Myokard und glatte Muskelzellen. Verschiedene vasoprotektive Eigenschaften, die zum Teil durch Hemmung des Renin-Angiotensin-Systems und des Sympathikus vermittelt werden, werden durch neurohormonale und immunologische Wirkungen ergänzt. Neuerdings ist auch die Bedeutung für Entwicklungsvorgänge verschiedener Gewebe erkannt worden [Clerico et al. 2006].

Es sind drei verschiedene spezifische Rezeptortypen beschrieben worden (NPR-A, -B und -C), die im Hirngewebe, in Blutgefäßen und vor allem in Nieren und Nebennieren exprimiert werden [Suzuki et al. 2001]. Wesentlicher Mechanismus der Signaltransduktion ist die Entstehung von zyklischem GMP über Aktivierung der Guanylatzyklase. Während

ANP und BNP vor allem über NPR-A agieren, wird der NPR-C als Clearance-Rezeptor angesehen [Lemos et al. 2003]. Der Abbau der natriuretischen Peptide erfolgt außerdem durch die neutrale Endopeptidase, eine extrazelluläre, membrangebundene Zink-Metalloproteinase, die in vielen Geweben, insbesondere im Endothel und im Bürstensaum des proximalen Tubulus in der Niere nachweisbar ist [Levin et al. 1998]. Die Beteiligung anderer Enzyme wird diskutiert [Walther et al. 2004].

Die N-terminalen Fragmente sind biologisch inaktiv, eignen sich aber aufgrund ihrer längeren Halbwertszeit zu diagnostischen Zwecken [Lang et al. 1992a]. Ihre Elimination erfolgt nach gegenwärtigem Verständnis vorwiegend renal [Sundsford et al. 1988, McCullough und Sandberg 2003].

1.4. Die natriuretischen Peptide in der Niere

Nicht nur im Herzen, auch in vielen anderen Geweben, unter anderem Endothel, Gehirn und Niere, ist die Expression natriuretischer Peptide demonstriert worden [Clerico et al. 2006]. Insbesondere Urodilatin, das in distalen Tubuluszellen dokumentiert worden ist [Herten et al. 1998], wird als renaler Vertreter der Peptidfamilie angesehen. Auch BNP wird in vitro von humanen Tubuluszellen [Mistry et al. 2001] und von humanen Glomeruluszellen [Lai et al. 1999] exprimiert und ist im Urin [Totsune et al. 1996] und in der Niere [Totsune et al. 1994, Herten et al. 1998] nachweisbar. Es wird vermutet, dass die natriuretischen Peptide als parakrine Faktoren in der Niere ihre systemische natriuretische Wirkung unterstützen [Clerico et al. 2006].

Kürzlich wurde vorgeschlagen, als diagnostische und als Screeningmethode auf Herzinsuffizienz die NT-proBNP-Konzentration im Urin zu bestimmen [Ng et al. 2004, Ng et al. 2005]. Während mechanische Faktoren und verschiedenste humorale und chemische Einflüsse wie unter anderem die Gegenwart von Angiotensin II (ANG II), Endothelin-I, Insulin, Steroidhormonen und verschiedener Zytokine für die kardiale Produktion aufgezeigt worden sind [Clerico et al. 2006], ist über die Regulation der renalen Peptide wenig bekannt. Die Synthese von Urodilatin scheint unter anderem von der Salzzufuhr abhängig zu sein [Lenz et al. 1999]. Ergebnisse, die an der isoliert perfundierten Rattenniere gewonnen wurden, deuten auf eine mögliche Verbindung des renalen Peptidsystems zum Renin-Angiotensin-System hin [Heringlake et al. 2001].

1.5. Das Renin-Angiotensin-System als Gegenspieler der natriuretischen Peptide

Aufgrund seiner vasokonstriktiven, antinatriuretischen, prohypertrophischen und profibrotischen Wirkung stellt sich das Renin-Angiotensin-System als endogener Antagonist der natriuretischen Peptide dar. Zahlreiche Interaktionen mit dem natriuretischen Peptidsystem, insbesondere in Gehirn und Niere, sind beschrieben worden [Johnston et al 1989, Unger et al. 1990, Harris und Skinner 1990]. Dabei nehmen die Bestandteile der beiden Systeme durchaus regulierend aufeinander Einfluss. Bekannt ist beispielsweise die hemmende Wirkung von ANP auf die Freisetzung von Aldosteron [Kudo und Baird 1984]. ANG II als parakriner Faktor beeinflusst zum anderen die kardiale Synthese der natriuretischen Peptide [Clerico et al. 2006].

Es ist zu bedenken, dass im Rahmen der Herzinsuffizienz und anderer Erkrankungen ACE-Hemmer außerordentlich häufig eingesetzt werden. Insofern ist der Einfluss des Renin-Angiotensin-Systems auf die Synthese der natriuretischen Peptide vor dem Hintergrund der steigenden diagnostischen und prognostischen Bedeutung von NT-proBNP, möglicherweise auch als Marker im Urin, von zunehmender klinischer Relevanz.

1.6. Methodische Überlegungen

Die wachsende Zahl an Publikationen über den diagnostischen und prognostischen Rang der natriuretischen Peptide bei verschiedenen Erkrankungen lässt leicht vergessen, dass es wesentlich ist, zuerst ihre Biologie und Physiologie im Gesunden zu verstehen. Untersuchungen an Probanden bieten hierzu ein wichtiges Hilfsmittel, sind aber durch die Komplexität des Organismus hoher Varianz und vielseitigen Störfaktoren ausgesetzt.

Variationen der Plasmaspiegel von ANG II sind am Menschen nur indirekt über Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Systems möglich, da die Substanz in Deutschland auf dem Markt nicht als Arzneimittel zur Anwendung am Menschen erhältlich ist. Ein wichtiger Störfaktor sind begleitende Blutdruckschwankungen, da sie sowohl den Hormonhaushalt als auch über den Mechanismus der Druckdiurese die Natriumausscheidung beeinflussen [Hall et al. 1990].

Als gut erforschtes, bewährtes Medikament mit akzeptablem Nebenwirkungsprofil bietet sich Enalapril zur Anwendung an gesunden Probanden an. Es handelt sich um einen oral verfügbaren, lang wirksamen Hemmer des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE), der in vivo wahrscheinlich in der Leber in seine aktive Form, das Enalaprilat hydrolysiert wird. Enalapril und Enalaprilat werden vorwiegend renal eliminiert. Die höchsten Plasmakonzentrationen werden ca. vier Stunden nach Verabreichung beobachtet. [Gomez

et al. 1986]. Ein Protokoll zur einschleichenden Gabe von Enalapril [Ferro et al. 1998] sollte in unserer Untersuchung einen signifikanten Abfall der ANG-II-Plasmakonzentration ohne begleitende Blutdruckveränderungen herbeiführen und so einen Vergleich der Natriurese und der NT-proBNP-Ausscheidung nach isotoner Kochsalzinfusion mit der Reaktion unter Kontrollbedingungen ermöglichen.

1.7. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Obwohl die Niere einen wichtigen Wirkort der natriuretischen Peptide darstellt, ist über Synthese, Freisetzung und Regulation des renalen natriuretischen Peptidsystems nur wenig bekannt. Vor dem Hintergrund der bislang bekannten Interaktionen des Renin-Angiotensin- und des natriuretischen Peptidsystems liegt es nahe, dass auch die renale Ausscheidung der natriuretischen Peptide unter Kontrolle des Renin-Angiotensin-Systems stehen könnte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Effekt von Veränderungen der Plasmakonzentration von ANG II - induziert durch die Gabe des ACE-Hemmers Enalapril - auf die renale Ausscheidung von NT-proBNP in gesunden männlichen Probanden zu untersuchen. Dabei wurde die Hypothese zugrunde gelegt, dass die unter Verabreichung von Enalapril zu erwartende Steigerung der Natriurese mit einer gesteigerten Ausscheidung von NT-proBNP im Urin assoziiert ist.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchspersonen

2.1.1. Auswahl der Probanden

Es wurden 11 gesunde männliche Probanden im Alter von 24 bis 31 Jahren für die Teilnahme an der Untersuchung rekrutiert. Ihr Durchschnittsalter betrug $26 \pm 2,1$ Jahre, Gewicht und Größe betrug $76 \pm 8,8$ kg bzw. $183 \pm 5,3$ cm. Alle Versuchsteilnehmer waren Nichtraucher und nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchung keinerlei Medikamente ein. Zum Ausschluss von Erkrankungen wurden vor dem Experiment von einem unabhängigen Allgemeinarzt Anamneseerhebung und klinische Untersuchung sowie EKG, Blutdruckmessung und eine Blutuntersuchung (kleines Blutbild, Gerinnungsparameter, Elektrolyte, Kreatinin, Gesamtbilirubin, Leberenzyme und C-reaktives Protein im Plasma) durchgeführt.

Ein Proband brach den Versuch am ersten Untersuchungstag ab, weil es nicht gelang, spontan zu urinieren.

2.1.2. Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems sowie Leber- und Nierenerkrankungen. Frauen wurden aufgrund potentieller zyklusbedingter Unregelmäßigkeiten im Hormonhaushalt nicht rekrutiert.

2.1.3. Probandenaufklärung

Die Probanden wurden schriftlich und in einem Gespräch mit dem Untersucher ausführlich über Zweck, Ablauf und Risiken der Untersuchung aufgeklärt und willigten schriftlich in die Teilnahme ein. Zudem erhielten sie die offizielle Medikamenteninformation des Herstellers zum Studienmedikament. Für die Versuchsteilnehmer wurde eine allgemeine Probandenhaftpflichtversicherung abgeschlossen. Die Ethikkommission der Universität zu Lübeck erteilte unter dem Aktenzeichen 03-030 am 9.4.2003 ein positives Votum.

2.2. Versuchsprotokoll

2.2.1. Allgemeines

Die Probanden wurden im Crossover-Design im Abstand von mindestens zwei Wochen an zwei Tagen unter doppelblinden Bedingungen untersucht, wobei entweder das Studienmedikament Enalapril (Xanef®, MSD Sharp & Dohme, Haar, Deutschland) oder

Placebo verabreicht wurde. Das Protokoll umfasste eine einwöchige Vorbereitungsphase. Die Randomisierung und Zuordnung hinsichtlich der ersten pharmakologischen Intervention erfolgte durch einen an der Untersuchung unbeteiligten Statistiker des Instituts.

2.2.2. Vorbereitungsphase

Die Vorbereitungsphase sollte wesentlichen unerwünschten Wirkungen des Studienmedikamentes Enalapril Rechnung tragen und insbesondere einem ausgeprägten Abfall des arteriellen Blutdrucks bei der Gabe der Studienmedikation verhindern. Um eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems als Folge einer latenten Hyponatriämie zu vermeiden, wurde die Nahrung der Probanden jeweils für 7 Tage vor den Experimenten mit Kochsalz (5g/d) supplementiert. Darüber hinaus wurde ein Protokoll zur einschleichenden Anwendung von Enalapril befolgt, welches keine Beeinträchtigung des Blutdrucks in gesunden Probanden aufzeigt [Ferro et al. 1998]. Hierzu wurde das Studienmedikament Enalapril über vier Tage in den Konzentrationen 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg und 10 mg eingeschlichen. Entsprechend wurden während der Placebobehandlung über vier Tage Placebotabletten verabreicht. Die Probanden wurden im Rahmen dieser Vorbehandlung mit einem nicht-invasiven digitalen Unterarmblutdruckmessgerät (Visocor® HM, Uebe, Deutschland) ausgestattet und protokollierten Blutdruckwerte und Herzfrequenz vor sowie zwei und vier Stunden nach der morgendlichen Einnahme der Studienmedikation. Zur Kontrolle der Nierenfunktion wurden am Vortag der Untersuchung Natrium-, Kalium- und Kreatininkonzentration im Plasma bestimmt, um die Untersuchung bei einem Warnhinweis auf Nierenschädigung abbrechen zu können.

Weiterhin wurden die Versuchspersonen aufgefordert, während der Vorbehandlung auf körperliche Anstrengung zu verzichten und auf angemessene Flüssigkeitszufuhr zu achten. Am Abend vor dem Versuchstag war es ab 18:00 Uhr nicht mehr gestattet, koffein- oder alkoholhaltige Getränke einzunehmen. Bis 22:00 sollten zusätzlich 750 ml Mineralwasser getrunken werden, um eine Volumendepletion am Versuchstag möglichst auszuschließen.

2.2.3. Untersuchungstag

Die Probanden trafen morgens um 8:00 Uhr in nüchternem Zustand im temperaturkontrollierten Labor ein. Nach einer Ausgangsmiktion nahmen sie für die Dauer des Versuches eine liegende Körperposition mit 15° aufwärts geneigtem Oberkörper ein, die nur für die Miktionen verlassen werden durfte. Nach Anschluss an einen

Patientenmonitor (Infinity® Kappa, Dräger Medical, Lübeck, Deutschland), der Anlage einer 16G-Verweilkanüle (Optiva® 2, Johnson & Johnson, New Jersey, USA) am nicht-dominanten Arm, einer Ruhephase von 20 Minuten und einer Ausgangsblutentnahme erhielten die Probanden ein Frühstück (zwei Toast, Marmelade und 3ml/kg Wasser). Um 8:30 Uhr wurde je nach Randomisierung entweder Placebo oder 20 mg Enalapril eingenommen.

Nach einer Ruhephase und einer zweiten Blut- und Urinentnahme wurde von 12:00 bis 13:00 Uhr eine Infusion von NaCl 0,9% (20 ml/kg Körpergewicht, Natriumchlorid Infusionslösung 154, Berlin-Chemie AG, Berlin, Deutschland) über eine Infusionspumpe (Infusomat® fm, Braun, Melsungen, Deutschland) verabreicht. Anschließend erhielten die Probanden nach einer weiteren Blut- und Urinentnahme um 13:00 Uhr zwei Schokokekse und 2ml/kg Milch. Drei weitere Urin- und Blutproben erfolgten um 14:00, 16:00 und 18:00 Uhr.

2.2.4. Bearbeitung der Blut- und Urinproben

Die Blutentnahmen erfolgten über die Verweilkanüle aus der ungestauten Vene und wurden durch gleiches Volumen an 0,9%iger NaCl-Lösung ersetzt. Nach Zentrifugation der Blutproben bei 4°C (3000 Upm, 10 min) wurde der Überstand sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Blutprobe zur Hämatokritbestimmung wurde direkt nach Entnahme ins Hämatologielabor geschickt.

Zur Anwendung kamen gekühlte Blutentnahmeröhrchen (S-Monovette®, Sarstedt, Nürnberg, Deutschland). Es wurden Lithiumheparin- (für die klinische Chemie), Serumgel- (für die Osmolalität) und K-EDTA-Monovetten (für Hormonbestimmung und Hämatokrit) verwendet. Den EDTA-Monovetten für die Hormonbestimmung wurden vor der Blutentnahme 5000 I.E. Aprotinin (Trasylol®, Bayer, Leverkusen, Deutschland) zugesetzt, um dem Abbau der Hormone durch Proteasen entgegenzuwirken.

Nach Protokollierung des Urinvolumens wurden die Urinproben entsprechend den Blutproben zentrifugiert und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Da NT-proBNP im Urin bei Raumtemperatur zumindest in den ersten 24 Stunden stabil ist [Ng et al. 2005], erfolgte kein Zusatz von Proteasehemmern.

Vorbereitungszeit		
Tag	Ablauf	
1	2,5	mg Enalapril
2	5	mg Enalapril
3	7,5	mg Enalapril
4	10	mg Enalapril
Untersuchungstag		
Uhrzeit	Stunden	Ablauf
08:00	0	Miktion, Einnahme der Ausgangsposition, Blutentnahme
08:15	0,25	Frühstück
08:30	0,5	20 mg Enalapril
12:00	4	Blutentnahme, Miktion, NaCl 20 ml/kg (60min)
13:00	5	Blutentnahme, Miktion, Mittagessen
14:00	6	Blutentnahme, Miktion
16:00	8	Blutentnahme, Miktion
18:00	10	Blutentnahme, Miktion

Abb. 1: Ablaufschema

2.3. Erhobene Parameter

2.3.1. Hämodynamik

Am Standard-Patientenmonitor wurden viertelstündlich Blutdruck und Herzfrequenz aufgezeichnet und protokolliert.

2.3.2. Klinische Chemie und Hämatokrit

Bestimmt wurden Serum- und Urinosmolalität, die Konzentrationen von Natrium, Kalium und Kreatinin in Plasma und Urin sowie der Hämatokrit.

Die Messungen erfolgten im Institut für Klinische Chemie bzw. im Institut für Hämatologie der Universität Lübeck. Die Bestimmung der Osmolalität erfolgte nach der Methode der Gefrierpunktserniedrigung. Die Konzentrationen von Natrium und Kalium wurden mittels ionenselektiver Elektroden (ISE), die Kreatininkonzentration wurde enzymatisch bestimmt. Der Hämatokrit wurde auf Basis der Laser-Streulicht-Methodik errechnet.

2.3.3. Bestimmung von NT-proANP

NT-proANP im EDTA-Trasyllol-Plasma wurde im Institut für Klinische Biochemie im Rikshospitalet (Oslo, Norwegen) mit einem kompetitiven Solid-Phase-Radioimmunoassay bestimmt. Zur Anwendung kamen polyklonales Kaninchenserum gegen Ratten-proANP₁₁₋₃₇ als Antiserum, menschliches proANP₁₋₃₀ (Peninsula Lab, Bachem Ltd, St. Helene, UK) als Standard und durch HPLC gereinigtes humanes ¹²⁵I- proANP₁₋₃₀ als Marker [Sundsford et al. 1988].

Zur Verbesserung der Sensitivität und Präzision wurden außerdem Schaf-Antikörper gegen Kaninchen-IgG (Dynabeads® M-280 Sheep anti-Rabbit-IgG, Dynal Biotech, Oslo, Norwegen) verwendet.

Die Varianzkoeffizienten bei 425 pmol/l, 1163 pmol/l und 2490 pmol/l betragen 7,5%, 3,7% und 3,4%. Die untere Nachweisgrenze lag bei 30 pmol/l.

2.3.4. Bestimmung von NT-proBNP

Die Bestimmung von NT-proBNP im Urin und im EDTA-Trasyllol-Plasma erfolgte im Institut für Klinische Chemie der Universität zu Lübeck am Elecsys® 2010 (Elecsys proBNP Sandwich Immunoassay, Roche Diagnostics, Basel, Schweiz). Dieser automatische, nicht-kompetitive Elektrochemilumineszenz-Immunoassay verwendet spezifische polyklonale NT-proBNP-Antikörper, die gegen zwei verschiedene Epitope des Peptids gerichtet sind (Sandwich-Assay). Die Detektion N-terminaler (1-21) und zentraler Aminosäuren (39-50) in diesem Assay ermöglicht höhere Präzision als ein Assay mit nur einem N-terminalen Epitop, da mögliche kleinere Spaltprodukte von NT-proBNP in der Zirkulation nicht erfasst werden [Mueller et al. 2003].

Bei der Bestimmung von NT-proBNP bildet sich durch Inkubation der Patientenprobe mit Ruthenium-Komplex-markierten und biotinylierten polyklonalen spezifischen Antikörpern gegen die zwei verschiedenen Epitope von NT-proBNP ein Sandwich-Immunkomplex. Durch Zugabe Streptavidin-beschichteter Mikropartikel wird der Komplex über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase gebunden. Nach Überführung des Reaktionsgemisches in die Messzelle lagern sich die Mikropartikel mit den gebundenen Immunkomplexen durch magnetische Wirkung an die Elektrode an. Elektrische Spannung löst eine Chemilumineszenzemission des Ruthenium-Komplexes aus, die mit einem Fotomultiplier gemessen wird. Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt [Herstellerinformation zum Elecsys® 2010, Roche Diagnostics, Basel, Schweiz].

Die durchschnittliche Intraassay-Varianz betrug 4,3% (2,7% bis 5,9% für Proben mit einer Konzentration von 65,1 pg/ml bis 23413 pg/ml). Die Interassay-Varianz ergab 3,2%, die untere Nachweisgrenze lag bei 5 pg/ml.

2.3.5. Bestimmung von ANG II

ANG II wurde durch die Immundiagnostik AG (Bensheim, Deutschland) mittels Radioimmunoassay nach C-18-Säulenextraktion bestimmt wie bereits andernorts beschrieben [Ortiz et al. 2003]. Als Marker wurde ^{125}I -ANG II, als Standard humanes ANG II verwendet (Phoenix Pharmaceuticals, Belmont, USA). Die Intraassay- und Interassay-Varianz lagen bei 7,5% und 14%. Die untere Nachweisgrenze betrug 1 pg/ml.

2.3.6. Nierenfunktionsparameter und NT-proBNP-Ausscheidung

Natriumausscheidung, fraktionelle Natriumausscheidung, Urinfluss, Kreatininclearance und Freiwasserclearance wurden mit den Standardformeln berechnet. Die NT-proBNP-Ausscheidung im Urin wurde als Verhältnis von Hormonkonzentration und Kreatininkonzentration im Urin ($U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$) ausgedrückt. Die kumulierten Angaben umfassen den Zeitraum von 12:00 bis 18:00 Uhr.

2.4. Statistische Bearbeitung

In dieser deskriptiven Studie wurden die hämodynamischen Daten während der Vorbereitungszeit über den Tag und am Versuchstag über eine Stunde gemittelt. Die Darstellung der Werte erfolgte in den Diagrammen als Median \pm Quartildeviation, in den Tabellen und im Text als Median (Minimum - Maximum). Die Daten wurden mit Hilfe des Programms SPSS 2003 für Windows, Version 12.0 (Microsoft Co., Chicago, Illinois, USA) statistisch ausgewertet. Die graphische Aufbereitung erfolgte mit Sigma Plot 2004 für Windows, Version 9.01 (Systat Software, USA).

Für die Analyse auf intra- und interindividuelle Unterschiede im Zeitverlauf der Parameter innerhalb der beiden Gruppen wurden Friedman-Test und Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben im Vergleich mit dem Ausgangszeitpunkt angewandt. Die Analyse auf intraindividuelle Gruppenunterschiede für die kumulierten Werte erfolgte im paarweisen Vergleich mittels Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben. Es wurde keine Bonferoni-Korrektur angewandt.

Für die Gesamtheit der Probanden wurde unter Enalapril entgegen der zugrunde liegenden Hypothese nur ein Trend zu höherer kumulativer Natriumausscheidung beobachtet.

Deswegen wurde eine Untergruppe von sechs Probanden, die wie erwartet nach ACE-Hemmung eine höhere kumulative Natriumausscheidung aufwiesen, mit den oben genannten Methoden erneut analysiert (Untergruppenanalyse).

Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ angenommen.

3. Ergebnisse

3.1. Analyse der gesamten Gruppe

3.1.1. Hämodynamik

Abb. 2 zeigt den Verlauf des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP) und der Herzfrequenz (HF) während der Vorbereitungsphase in der Gesamtgruppe. An Tag 4 stieg der MAP in der Kontrollgruppe an und lag signifikant über den Werten der ACE-Hemmer-Gruppe.

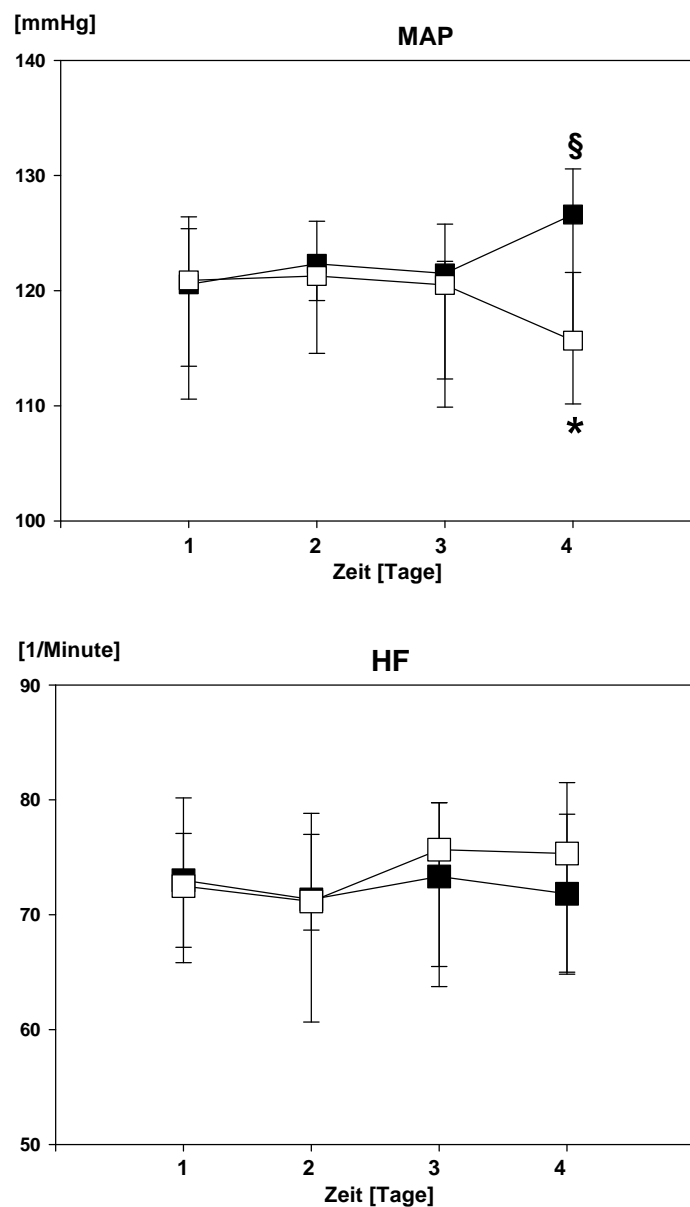


Abb. 2: Gesamte Gruppe: Hämodynamik in der Vorbereitungsphase

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation, * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; MAP: Mittlerer arterieller Blutdruck, HF: Herzfrequenz.

Im Laufe des Versuchstags nahmen MAP und HF in beiden Gruppen ab (Abb. 3). Die mittleren Blutdruckwerte lagen zu allen Zeitpunkten bis auf 9:00 bis 10:00 Uhr und 17:00 bis 18:00 Uhr unter ACE-Hemmung signifikant unter den Werten der Kontrollgruppe.

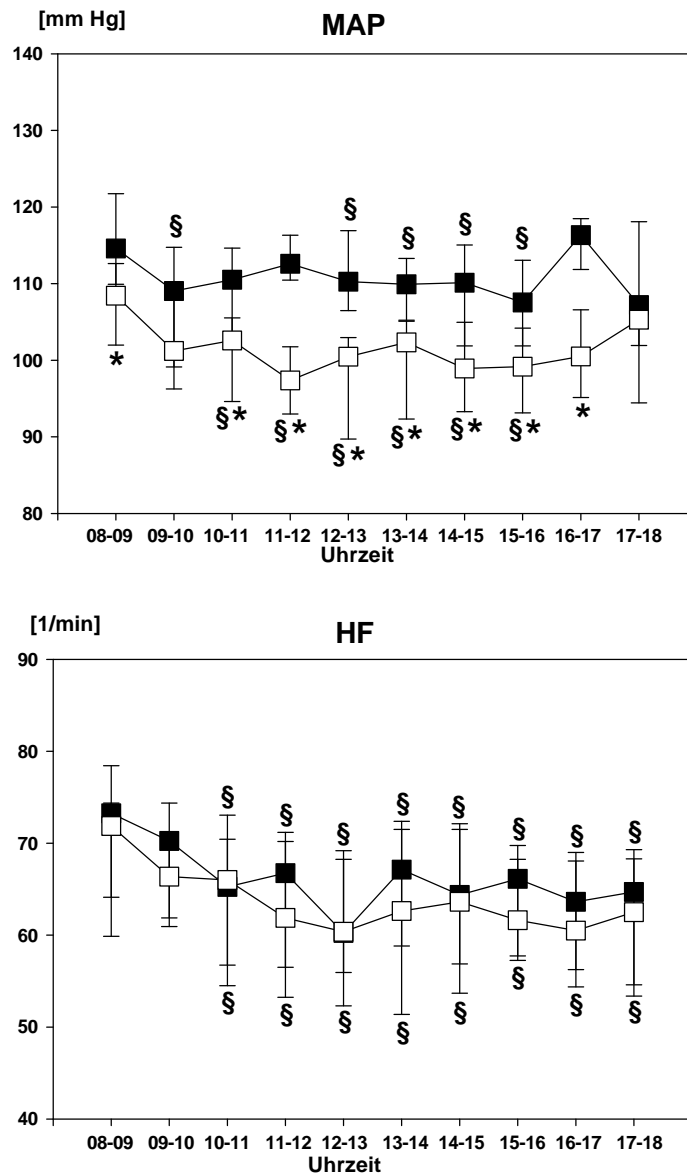


Abb. 3: Gesamte Gruppe: Hämodynamik am Untersuchungstag

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen ± Quartildeviation; * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05;MAP: Mittlerer arterieller Druck, HF: Herzfrequenz.

3.1.2. Klinische Chemie und Hämatokrit

Tabelle 1 zeigt den Verlauf von Parametern der klinischen Chemie während des Untersuchungstags. Unter ACE-Hemmung sank die Plasma-Kreatininkonzentration ab 12:00 Uhr unter den Ausgangswert ab. In der Kontrollgruppe fiel der Hämatokrit ab 13:00 Uhr unter den Ausgangswert ab.

Tabelle 1: Gesamte Gruppe: Klinische Chemie und Hämatokrit

Zeit	08:00	12:00	13:00	14:00	16:00	18:00
Na⁺ [mmol/l]						
KON	138 (136-140)	139 (136-140)	139,5 (138-142)	139 (137-141)	139 (138-141)	140 (138-140)
ACEI	138 (137-141)	138 (136-141)	138 (136-140)	139 (137-142)	139,5 (138-141)	139 (137-141)
K⁺ [mmol/l]						
KON	3,65 (3,28-4,02)	3,88 (3,56-4,37)	3,77 (3,48-4,65)	3,69 (3,55-4,07)	3,74 (3,44-4,05)	3,77 (3,58-4,21)
ACEI	3,78 (3,38-3,88)	3,86 (3,55-4,34)	3,77 (3,49-4,27)	3,69 (3,53-4,19)	3,67 (3,51-4,04)	3,74 (3,57-4,24)
Osm_S [mosm/kg]						
KON	292 (283-311)	291 (288-310)	290 (286-307)	293 (290-324)	292 (287-309)	294,5 (289-322)
ACEI	291,5 (286-303)	293 (282-303)	292 (285-330)	293,5 (287-301)	294 (285-307)	297 (287-320)
Krea [μmol/l]						
KON	80 (51-90)	77 (59-82)	75 (60-82)	76 (61-81)	73 (60-83)	74 (60-86)
ACEI	83 (62-92)	74 § (86-83)	77 § (61-82)	73 § (48-80)	76 § (56-84)	74 § (57-85)
Hkt [%]						
KON	41 (36-44)	40 (36-44)	38 § (34-41)	39 § (34-42)	39 § (33-43)	39 § (37-44)
ACEI	40 (35-45)	40 (35-44)	40 (34-42)	40 (35-43)	40 (35-43)	40 (35-45)

KON: Kontrolle, ACEI: ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen (Minimum - Maximum); § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05; Na⁺: Plasma-Natriumkonzentration, K⁺: Plasma-Kaliumkonzentration, Osm_S: Serumosmolalität, Krea: Plasma-Kreatininkonzentration, Hkt: Hämatokrit.

3.1.3. Plasma-Hormonspiegel

3.1.3.1. NT-proANP und NT-proBNP

Abb. 4 zeigt den Verlauf von NT-proANP und NT-proBNP im Plasma in allen Probanden. Die Plasmakonzentration von NT-proBNP stieg ab 12:00 Uhr in der ACE-Hemmer-Gruppe und ab 13:00 Uhr in der Kontrollgruppe kontinuierlich an.

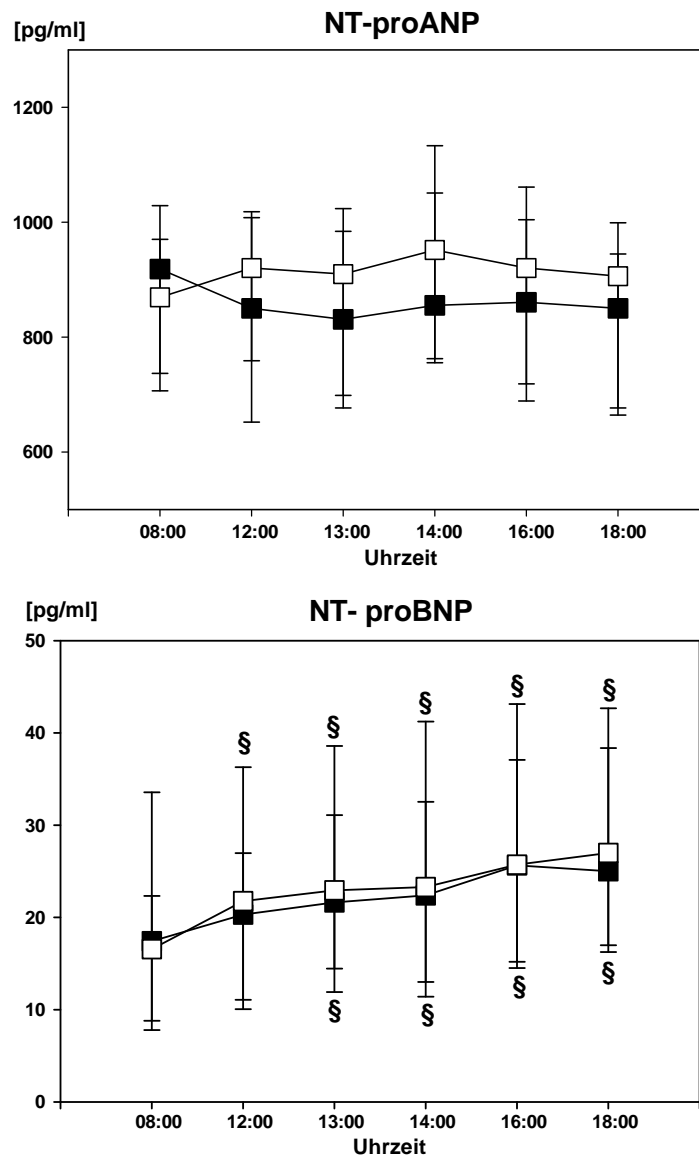


Abb. 4: Gesamte Gruppe: Verlauf von NT-proBNP und NT-proANP im Plasma

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation; § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; NT-proANP: N-terminales Prohormon von ANP, NT-proBNP: N-terminales Prohormon von BNP.

3.1.3.2. ANG II

Abb. 5 zeigt den Verlauf von ANG II im Plasma in der Gesamtgruppe. Unter Enalapril fiel ANG II signifikant auf ein Minimum um 14:00 Uhr ab, um daraufhin bis 18:00 Uhr wieder über den Ausgangswert hinaus anzusteigen. In der Kontrollgruppe wurde nach anfänglich stabilen Werten ein geringfügiger, aber signifikanter Anstieg um 18:00 Uhr verzeichnet.

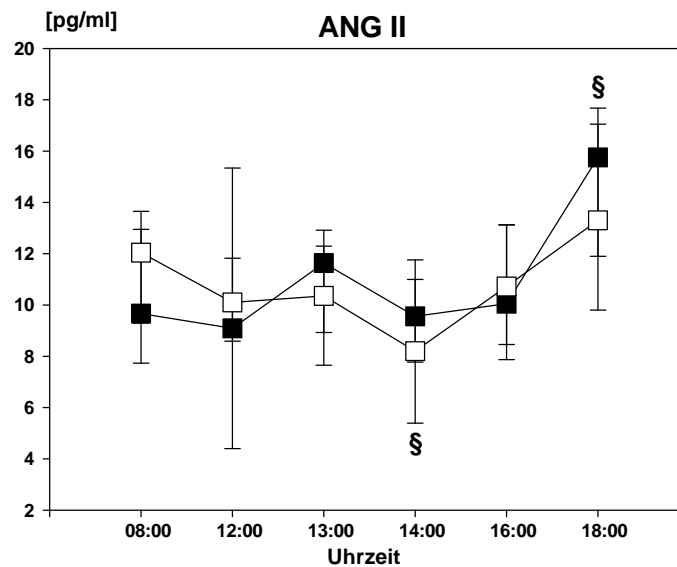


Abb. 5: Gesamte Gruppe: Verlauf der Konzentration von ANG II im Plasma

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen mit Quartilen; § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; ANG II: Angiotensin II.

3.1.4. Nierenfunktionsparameter

Den Verlauf der Nierenfunktionsparameter in der gesamten Gruppe zeigt Tabelle 2. Urinfluss (UV), fraktionelle Natriumexkretion (FE_{Na}) und Natriumausscheidung (U_{NaV}) stiegen im Verlauf in beiden Versuchsgruppen an. Die Gabe des ACE-Hemmers führte um 14:00 und 16:00 Uhr zu einer signifikant höheren U_{NaV} und um 16:00 Uhr zu einer höheren UV als unter Kontrollbedingungen.

Tabelle 2: Gesamte Gruppe: Nierenfunktionsparameter

Zeit	08:00	12:00	13:00	14:00	16:00	18:00
UV [ml/min]						
KON	0,73 (0,04-2,41)	1,83 § (1,06-3,56)	1,94 § (0,88-6,31)	1,75 § (0,83-3,67)	2,49 § (1,17-3,75)	1,96 § (0,42-3,65)
ACEI	0,74 (0,26-1,75)	2,44 § (0,63-5,09)	3,58 § (0,53-7,38)	2,58 § (0,80-5,45)	3,50 §* (1,67-5,64)	2,10 § (0,67-3,90)
FE _{Na}						
KON	0,37 (0,14-2,65)	0,82 (0,24-1,49)	1,05 § (0,31-3,13)	0,99 § (0,39-2,86)	1,34 § (0,52-2,14)	1,53 § (0,52-2,25)
ACEI	0,32 (0,14-1,09)	0,86 § (0,46-2,04)	1,20 § (0,57-2,65)	1,08 § (0,66-2,56)	1,73 § (0,81-2,83)	1,55 § (0,79-2,05)
U _{NaV} [mmol/min]						
KON	0,07 (0,01-0,19)	0,21 § (0,06-0,30)	0,23 § (0,09-1,15)	0,26 § (0,10-0,55)	0,35 § (0,15-0,48)	0,34 § (0,09-0,48)
ACEI	0,06 (0,02-0,28)	0,21 § (0,09-0,46)	0,30 § (0,10-0,68)	0,30 §* (0,17-0,62)	0,38 §* (0,14-0,62)	0,41 § (0,14-0,63)
C _{Krea} [ml/min]						
KON	155 (14-259)	184 (117-210)	201 (131-679)	185 (108-236)	200 (111-241)	168 (97-273)
ACEI	137 (100-302)	176 (144-210)	199 (126-406)	184 (139-324)	183 (127-210)	172 (118-370)
C _{H2O} [ml/min]						
KON	0,59 (0,10,2,14)	0,92 (0,22-3,13)	1,27 (0,09-9,30)	1,31 (0,74-4,08)	1,59 (0,08-4,15)	0,93 (0,15-2,91)
ACEI	0,75 (-0,15-3,32)	1,05 (-0,07-6,29)	1,54 (1,01-5,82)	0,79 (0,22-2,12)	1,09 (0,08-2,70)	1,59 (0,51-2,24)
Osm _U [mosm/kg]						
KON	645 (351-1236)	453 (322-1029)	538 (311-992)	551 (371-946)	570 (294-967)	492 (307-1003)
ACEI	571 (238-1061)	505 (290-988)	566 (331-844)	377 (327-1015)	403 (297-579)	539 (330-775)

KON: Kontrolle, ACEI: ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen (Minimum - Maximum); * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05; UV: Urinfluss, FE_{Na}: Fraktionelle Natriumausscheidung, U_{NaV}: Natriumausscheidung, C_{Krea}: Kreatininclearance, C_{H2O}: Freiwasserclearance, Osm_U: Urinosmolalität.

3.1.5. Renale Ausscheidung von NT-proBNP

Abb. 6 zeigt den Verlauf der Urinausscheidung von NT-proBNP pro mmol Kreatinin ($U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$) in der gesamten Gruppe. In beiden Versuchsgruppen wurde ab 12:00 Uhr eine signifikante Zunahme von $U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$ verzeichnet.

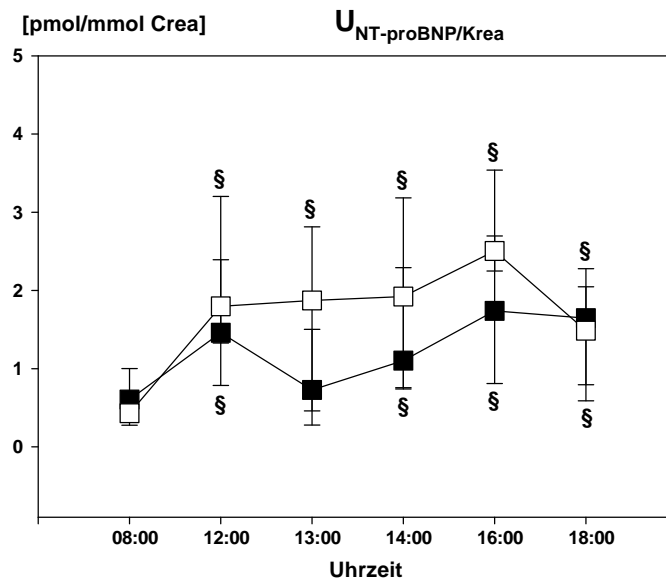


Abb. 6: Gesamte Gruppe: Verlauf der NT-proBNP-Ausscheidung im Urin

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation; § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; $U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$: Ausscheidung von NT-proBNP/Kreatinin.

Die filtrierte NT-proBNP-Menge ($\text{Filt}_{\text{NT-proBNP}}$) stieg in beiden Gruppen (ACEI ab 12:00 Uhr, KON ab 13:00 Uhr) signifikant an, während die fraktionelle NT-proBNP-Ausscheidung ($\text{FE}_{\text{NT-proBNP}}$) nur nach ACE-Hemmung ab 12:00 Uhr signifikant zunahm (Abb. 7).

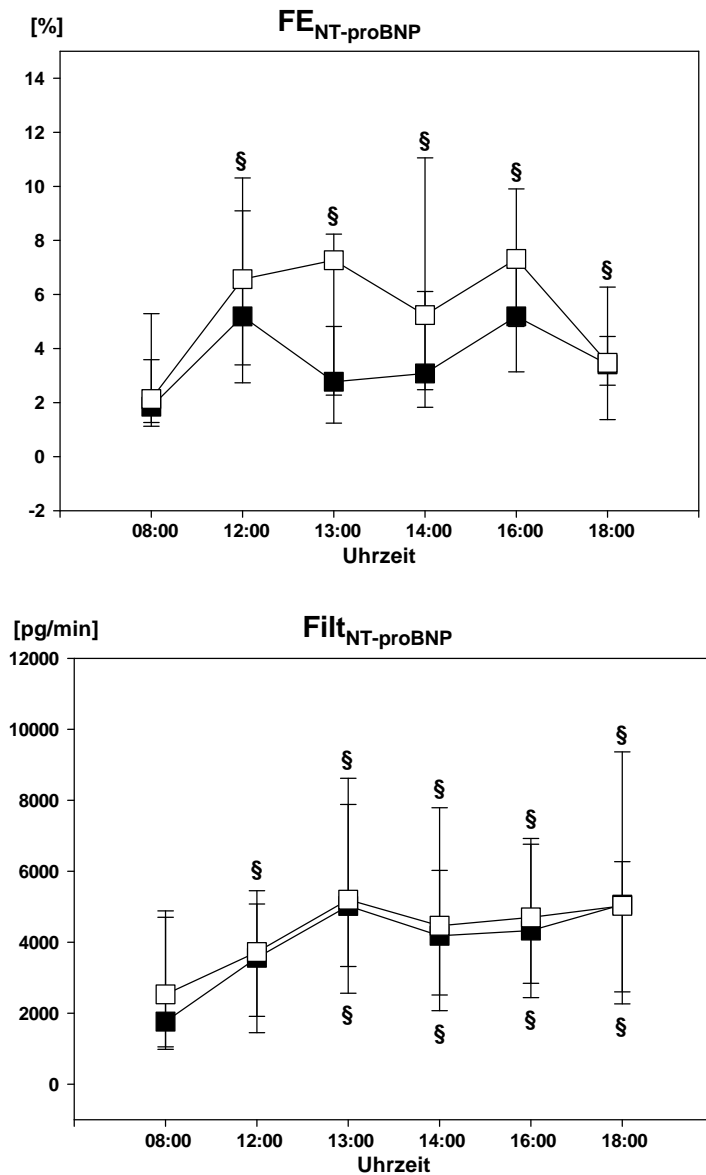


Abb. 7: Gesamte Gruppe: Filtration und fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=10; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation; § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; $FE_{NT-proBNP}$: fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP, $Filt_{NT-proBNP}$: filtrierte Menge NT-proBNP.

3.2. Subgruppenanalyse

3.2.1. Hämodynamik

In der Vorbereitungsphase gab es keinen Unterschied zur Gesamtgruppe. Der MAP an Tag 4 war signifikant niedriger unter Enalapril (Daten nicht gezeigt). Am Versuchstag lag der MAP nach Enalapril in der Subgruppe von 8:00 bis 9:00 Uhr, von 10:00 bis 13:00 Uhr, von 15:00 bis 17:00 Uhr, aber nicht zwischen 13:00 und 15:00 Uhr unter Kontrollniveau. Die Herzfrequenz war unter ACE-Hemmung von 11:00 bis 13:00 Uhr niedriger als unter Kontrollbedingungen (Abb. 8)

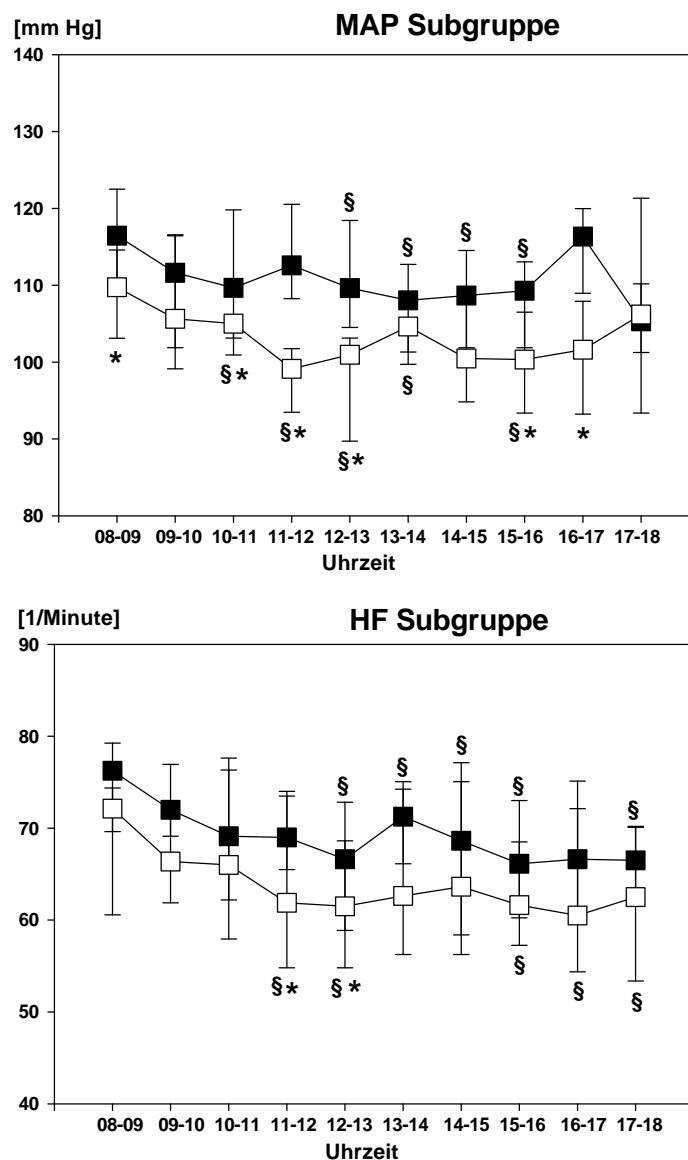


Abb. 8: Subgruppe: Hämodynamik am Untersuchungstag

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=6; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation; * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; MAP: Mittlerer arterieller Druck, HF: Herzfrequenz.

3.2.2. Klinische Chemie und Hämatokrit

In der Subgruppe lag die Plasma-Kaliumkonzentration zum Ausgangszeitpunkt mit 3,62 (3,28-3,65) mmol/l in der Kontrollgruppe geringfügig, aber signifikant niedriger als in der ACEI-Gruppe mit 3,78 (3,38-3,88) mmol/l. Es ergaben sich ansonsten keine Unterschiede zur gesamten Gruppe (Daten nicht gezeigt).

3.2.3. Plasma-Hormonspiegel

3.2.3.1. NT-proANP und NT-proBNP

Der Verlauf von NT-proANP und NT-proBNP im Plasma ergab auch in der Subgruppe keine Gruppenunterschiede und entsprach dem Verlauf in der gesamten Gruppe (Daten nicht gezeigt).

3.2.3.2. ANG II

ANG II zeigte in der Subgruppe unter Enalapril einen höheren Ausgangswert und nahm von 12:00 bis 13:00 Uhr signifikant ab, um bis 18:00 wieder etwa zum Ausgangswert zurückzukehren. Um 13:00 Uhr war die Konzentration von ANG II im Plasma unter ACE-Hemmung niedriger als in der Kontrollgruppe (Abb. 9).

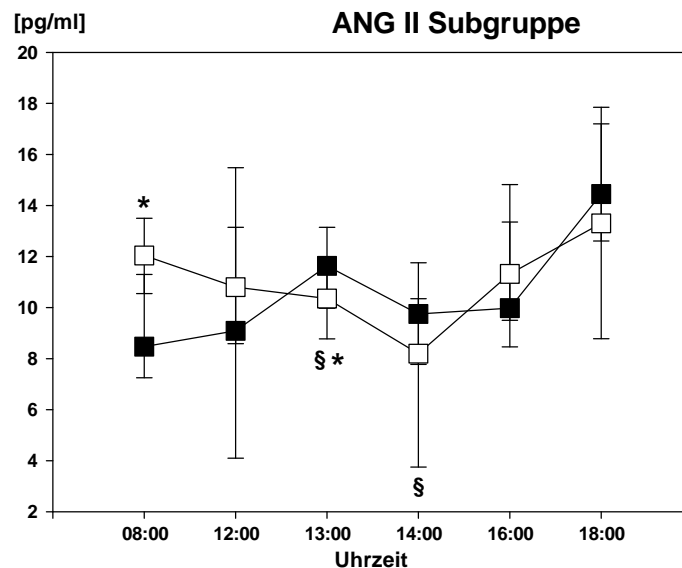


Abb. 9: Subgruppe: Verlauf der Konzentration von ANG II im Plasma

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=6; Darstellung von Medianen ± Quartildeviation; * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05; ANG II: Angiotensin II.

3.2.4. Nierenfunktionsparameter

Die Nierenfunktionsparameter in der Subgruppe unterschieden sich geringfügig von den Werten der Gesamtgruppe (Tabelle 3). UV, FE_{Na} und U_{Na}V stiegen im Verlauf jeweils in beiden Gruppen an. Um 12:00 Uhr und von 14:00 bis 18:00 Uhr fand sich signifikant höherer UV, um 12:00 und 16:00 Uhr fanden sich signifikant höhere U_{Na}V und FE_{Na} unter ACEI.

Tabelle 3: Subgruppe: Nierenfunktionsparameter

Zeit	08:00	12:00	13:00	14:00	16:00	18:00
UV [ml/min]						
KON	0,73 (0,40-2,41)	1,59 § (1,06-3,56)	3,67 § (0,88-6,31)	1,85 § (0,92-3,67)	2,07 § (1,17-3,75)	1,65 § (0,83-2,83)
ACEI	0,96 (0,49-1,75)	4,01 §* (1,79-5,09)	4,42 § (1,36-7,38)	2,73 §* (1,27-5,45)	3,58 §* (2,75-5,64)	2,21 §* (0,92-3,90)
FE_{Na}						
KON	0,31 (0,14-2,65)	0,75 (0,24-1,41)	1,21 § (0,31-3,13)	1,05 § (0,39-2,86)	1,10 (0,52-2,14)	1,40 (0,52-2,25)
ACEI	0,42 (0,21-1,09)	1,07 §* (0,66-2,04)	1,20 § (0,80-2,65)	1,31 § (0,74-2,56)	1,94 §* (0,95-2,83)	1,71 § (0,79-2,05)
U_{Na}V [mmol/min]						
KON	0,09 (0,01-0,19)	0,21 § (0,06-0,30)	0,53 § (0,09-1,15)	0,33 § (0,10-0,55)	0,31 § (0,18-0,48)	0,37 § (0,20-0,48)
ACEI	0,09 (0,03-0,28)	0,30 §* (0,16-0,46)	0,63 § (0,21-0,68)	0,41 § (0,20-0,62)	0,53 §* (0,26-0,62)	0,43 § (0,20-0,63)
C_{crea} [ml/min]						
KON	155 (42-259)	197 (128-210)	219 (196-679)	201 (141-236)	206 (161-241)	197 (138-273)
ACEI	154 (109-302)	187 (162-210)	226 (185-406)	201 (161-241)	191 (157-210)	181 (157-370)
C_{H2O} [ml/min]						
KON	0,78 (0,42-2,14)	0,81 (0,42-2,53)	1,30 (1,10-9,30)	1,31 (1,03-2,88)	1,59 (0,08-3,19)	1,90 (0,55-2,91)
ACEI	0,90 (0,08-3,32)	0,62 (-0,07-3,13)	1,31 (1,07-2,18)	1,24 (0,22-2,12)	1,54 (0,08-2,70)	1,64 (0,53-2,24)
Osm_U [mosm/kg]						
KON	645 (370-1236)	450 (322-1029)	605 (358-992)	518 (407-946)	580 (294-967)	542 (420-1003)
ACEI	571 (321-1021)	365 (290-647)	422 (331-687)	419 (335-688)	425 (297-579)	540 (330-701)

KON: Kontrolle, ACEI: ACE-Hemmer; n=6; Darstellung von Medianen (Minimum - Maximum); * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05; UV: Urinfluss, FE_{Na}: Fraktionale Natriumausscheidung, U_{Na}V: Natriumausscheidung, C_{crea}: Kreatininclearance, C_{H2O}: Freiwasserclearance, Osm_U: Urinosmolalität.

3.2.5. Renale Ausscheidung von NT-proBNP

$U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$ stieg in der Subgruppe unter ACE-Hemmung von 12:00 Uhr an über den Ausgangswert an und war um 12:00, 14:00 und 16:00 Uhr signifikant höher als unter Kontrollbedingungen. (Abb. 10).

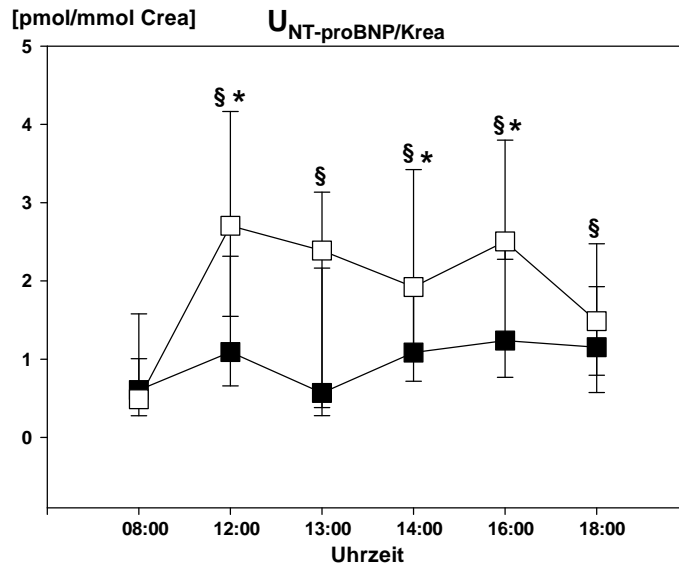


Abb. 10: Subgruppe: Verlauf der NT-proBNP-Ausscheidung im Urin

■ Kontrolle, □ ACE-Hemmer; n=6; Darstellung von Medianen \pm Quartildeviation; * Gruppenunterschied, § Unterschied zum Ausgangswert, $p < 0,05$; $U_{\text{NT-proBNP/Krea}}$: Ausscheidung von NT-proBNP/Kreatinin.

Der Verlauf von $\text{Filt}_{\text{NT-proBNP}}$ und $\text{FE}_{\text{NT-proBNP}}$ entsprach weitgehend dem Verlauf in der Gesamtgruppe (Tabelle 4). $\text{Filt}_{\text{NT-proBNP}}$ stieg in beiden Gruppen ab 13:00 Uhr an. $\text{FE}_{\text{NT-proBNP}}$ lag nur unter ACE-Hemmung von 12:00 bis 13:00 und von 14:00 bis 16:00 Uhr über dem Ausgangswert. Es wurden auch in der Subgruppe keine Gruppenunterschiede beobachtet.

Tabelle 4: Subgruppe: Filtration und fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP

Zeit	08:00	12:00	13:00	14:00	16:00	18:00
<hr/>						
FE _{NT-proBNP} [%]						
KON	4,6 (0,4-6,6)	5,6 (0,8-17,5)	2,8 (1,1-7,9)	4,4 (1,3-17,5)	5,0 (1,0-8,7)	4,0 (1,1-6,3)
ACEI	2,8 (0,8-4,4)	7,4 § (3,9-12,4)	7,7 (0,7-10,6)	5,2 § (1,0-10,8)	7,0 § (2,2-9,5)	3,2 (1,7-4,9)
Filt _{NT-proBNP} [pg/min]						
KON	1688 (579-7674)	2283 (1014-7531)	3868 § (2537-26264)	2673 § (1093-8762)	3520 § (1284-10072)	3856 § (1692-9085)
ACEI	2617 (831-6045)	4009 (2096-7099)	6449 § (3378-9465)	5203 § (2916-8384)	5231 § (2991-9145)	5487 § (2712-11898)
<hr/>						

KON: Kontrolle, ACEI: ACE-Hemmer; n=6; Darstellung von Medianen (Minimum - Maximum); § Unterschied zum Ausgangswert, p<0,05; FE_{NT-proBNP}: fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP, Filt_{NT-proBNP}: filtrierte Menge NT-proBNP.

3.3. Kumulative Ausscheidung von Urin, Natrium und NT-proBNP

In der Gesamtgruppe steigerte ACE-Hemmung den kumulativen Urinfluss (UV_{kum}) signifikant, die kumulative Natriumausscheidung ($U_{\text{Na}}V_{\text{kum}}$) jedoch nur im Trend (p=0,07, Abb. 10). Die auf die Kreatininmenge bezogene Ausscheidung von NT-proBNP im Urin ($U_{\text{NT-proBNP/Krea kum}}$) in der Gesamtgruppe zeigte nur einen Trend zu höheren Werten unter Enalapril (p=0,09, Abb. 11).

In der Untergruppe von sechs Probanden, die sowohl eine signifikante Steigerung der UV_{kum} als auch der $U_{\text{Na}}V_{\text{kum}}$ aufwiesen, wurde eine signifikant höhere $U_{\text{NT-proBNP/Krea kum}}$ unter ACE-Hemmung beobachtet (Abb. 11).

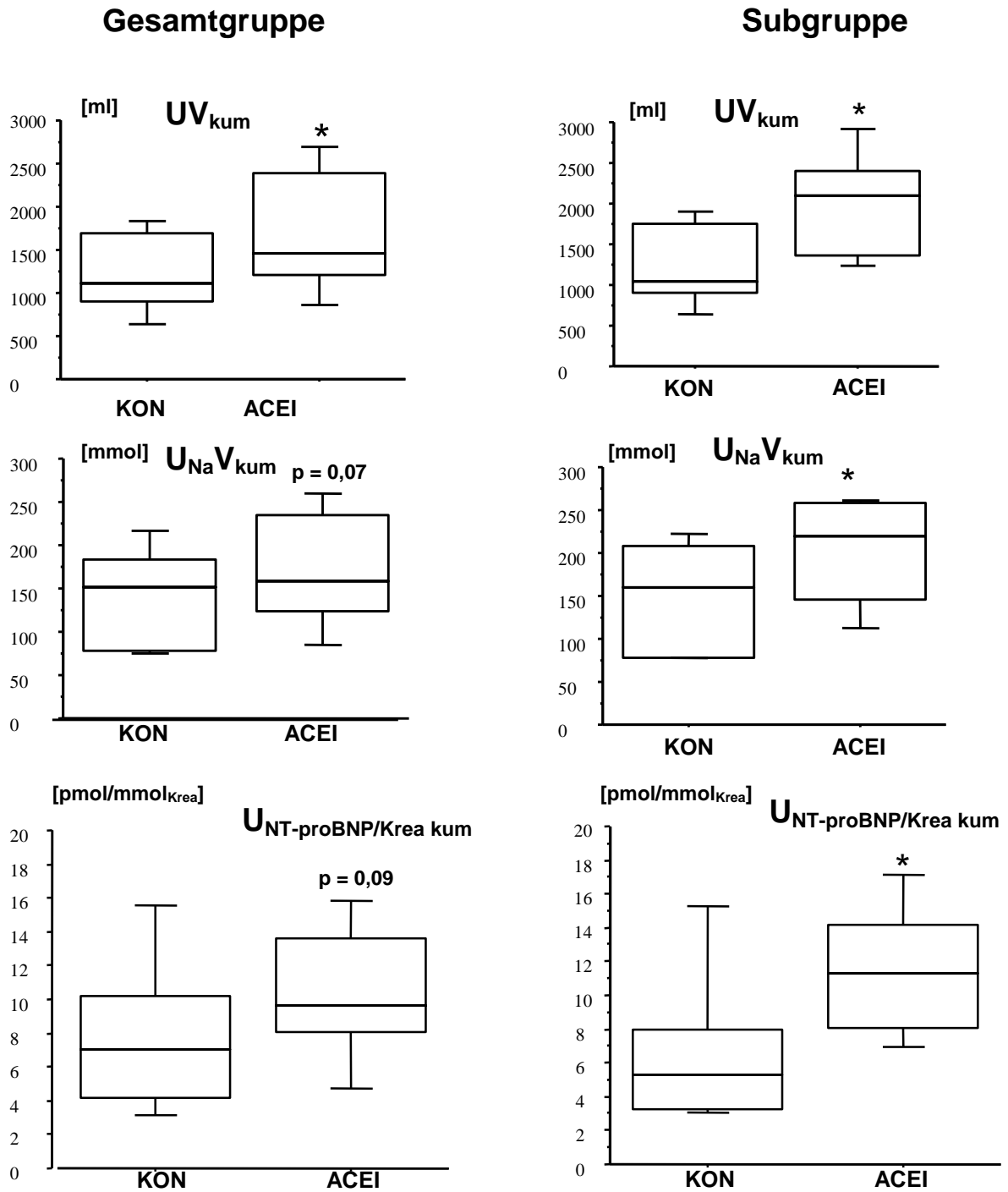


Abb. 11: Urinfluss, Natrium- und NT-proBNP-Ausscheidung kumuliert in Sub- und Gesamtgruppe n=10 (Gesamtgruppe), n=6 (Subgruppe); Darstellung von Medianen \pm Perzentilen; * Gruppenunterschied, $p < 0,05$; UV_{kum}: kumulierter Urinfluss, U_{Na}V_{kum}: kumulierte Natriumausscheidung, U_{NT-proBNP/Krea} kum: kumulierte NT-proBNP-Ausscheidung pro Kreatinin.

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluss des ACE-Hemmers Enalapril auf die renale Ausscheidung des natriuretischen Peptids NT-proBNP und auf begleitende Veränderungen in den Plasmakonzentrationen von NT-proANP und NT-proBNP zu untersuchen. Unter der Hypothese, dass ACE-Hemmung die Natriumausscheidung und, damit einhergehend, die NT-proBNP-Ausscheidung im Urin nach Kochsalzbelastung steigert, wurden 10 gesunde männliche Probanden im Crossover-Design in einer kontrollierten klinischen Studie doppelblind einschleichend mit Enalapril behandelt und am Versuchstag unter 20 mg Enalapril einer intravenösen Kochsalzbelastung (20ml/kg 0,9% NaCl über eine Stunde) ausgesetzt. Veränderungen der Hämodynamik, in Parametern des Flüssigkeitshaushalts, der Nierenfunktion und im Hormonhaushalt wurden protokolliert.

4.1. Hämodynamik

Enalapril kann in normotensiven Probanden eine signifikante Blutdrucksenkung hervorrufen [MacGregor et al. 1981], die durch vorherige Salzdepletion verstärkt wird [McNabb et al. 1986, MacFadyen et al. 1993]. Als Protokoll zur Behandlung unserer Probanden mit einem ACE-Hemmer diente deshalb eine Studie von Ferro und Mitarbeitern [Ferro et al. 1998]. Diese Arbeitsgruppe berichtet, mittels einschleichender Enalapril-Gabe die ANG-II-Plasmakonzentration am Untersuchungstag ohne begleitende Veränderungen im arteriellen Blutdruck (MAP) signifikant gesenkt zu haben. Dieser Effekt war auch für unsere Studie beabsichtigt, um mögliche pharmakologische Wirkungen des ACE-Hemmers auf die Ausscheidung der natriuretischen Peptide ohne zusätzliche Störfaktoren untersuchen zu können. Außerdem sollte hierdurch das Risiko eines Blutdruckabfalls verringert werden. Darüber hinaus wurden die Probanden sieben Tage lang neben ihrer normalen Nahrungszufuhr mit 5g Kochsalz pro Tag substituiert.

Die Ergebnisse von Ferro und Mitarbeitern ließen sich nicht reproduzieren. Bereits in der Vorbereitungsphase wich der MAP in den beiden Gruppen voneinander ab, und am Untersuchungstag wurde er durch Enalapril deutlich gesenkt.

Das Ansprechen auf ACE-Hemmer hängt von unterschiedlichen Faktoren wie Aktivierungszustand des Renin-Angiotensin-Systems, Ausgangsblutdruck, Alter und ACE-Genotyp ab und zeigt eine hohe inter- und intraindividuelle Variabilität [Donnelly et al. 1991]. Dass die Probanden von Ferro, ebenfalls männlich, deutlich älter waren (45 ± 3

Jahre) als unsere Versuchspersonen (26 ± 2 Jahre), scheint kein hinreichender Grund für die Diskrepanz zu sein. Es liegen im Gegenteil einige Untersuchungen vor, die bei älteren Probanden tendenziell eine stärkere hypotensive Wirkung verzeichnet haben [Ajayi et al. 1986, Lees und Reid 1987, Macdonald et al. 1993].

In Übereinstimmung mit dem gut erforschten Wirkprofil von Enalapril [Gomez et al. 1985] trat die beobachtete Blutdrucksenkung ohne größere Veränderung der Herzfrequenz auf.

Der leichte Anstieg des Blutdrucks in der Kontrollgruppe während der Vorbereitungsphase hängt möglicherweise mit nervöser Anspannung vor dem Versuch und mit der verstärkten Salzzufuhr zusammen. Die Abnahme von Blutdruck und Herzfrequenz über den Versuchszeitraum in beiden Gruppen erklärt sich durch die körperliche Ruhe während des Untersuchungszeitraums.

4.2. Klinische Chemie und Hämatokrit

Die Plasmakonzentrationen von Natrium und Kalium sowie die Serumosmolalität zeigten im Rahmen der akuten intravenösen Kochsalzbelastung keine Änderung. Dies steht im Einklang mit früheren Untersuchungen [Drummer et al. 1992a]. Die Gabe von Enalapril verursachte bis auf eine geringfügig höhere Plasma-Kalium-Konzentration um 8:00 Uhr in der Subgruppe erwartungsgemäß keine Unterschiede in den Gruppen. Ein vorübergehender Anstieg des Plasma-Kaliums unter ACE-Hemmern ist seit langem bekannt und aufgrund der verminderten Aldosteronwirkung nicht überraschend [Lant et al. 1984].

Die Abnahme der Plasma-Kreatinin-Spiegel ab 12:00 Uhr unter ACE-Hemmung im Untersuchungszeitraum lässt sich als Verdünnungseffekt interpretieren, der in der ACEI-Gruppe signifikant war. Nur in der Kontrollgruppe zeigte sich nach der Infusion ab 13:00 ein geringfügiger Abfall des Hämatokrits. In der ACE-Gruppe erreichte die Tendenz zur Abnahme zu keinem Zeitpunkt Signifikanz.

Ob es sich hierbei wirklich um relevante Gruppenunterschiede handelt, ist fraglich. In beiden Fällen zeigt sich in der jeweils anderen Gruppe ein entsprechender Verlauf, der die Signifikanz nur knapp verfehlt.

4.3. Plasma-Hormonspiegel

4.3.1. NT-proANP und NT-proBNP

Modulationen der Plasmaspiegel von ANP in gesunden Probanden sind insbesondere durch Volumenexpansion [Sagnella et al. 1985, Singer et al. 1987, Nguyen et al. 1988, Richards et al. 1988, Wingender et al. 1988], Positionsänderung [Hodsman et al. 1986, Hollister et al. 1986, Franco-Saenz et al. 1989, Oie et al. 1991], Änderung der Kochsalzzufuhr [Sagnella et al. 1985, Gutkowska et al. 1986, Hollister et al. 1986] und körperliche Anstrengung [Hodsman et al. 1986, Tanaka et al. 1986] herbeigeführt worden.

Einige Untersuchungen haben auch den Anstieg von NT-proANP in gesunden Probanden im Rahmen der bekannten ANP-Stimuli dokumentiert [Gerbes und Vollmar 1988, Baker et al. 1991, Arjamaa et al. 1996, Heringlake et al. 2004]. ANP wird als Prohormon in den atrialen Granula gespeichert. Im Rahmen der Freisetzung erfolgt bei myokardialer Dehnung eine Spaltung. Die Plasmakonzentration von NT-proANP übersteigt aufgrund von größerer Stabilität und längerer Halbwertszeit des Fragments die Konzentration von ANP [Sundsford et al. 1988, Levin et al. 1998].

In Übereinstimmung mit der bisher veröffentlichten Literatur zu ANP in gesunden Probanden [Doorenbos und van Brummelen 1989, Richards et al. 1989, Sala et al. 1989] fand sich kein messbarer Effekt der kurzfristigen ACE-Hemmung auf die NT-proANP-Plasmakonzentration. Zwei Studien zeigen einen Abfall des Plasma-ANP auf, der jedoch in Probanden unter Salzrestriktion [Mann et al. 1986] bzw. in älteren Patienten mit Herzinsuffizienz [Lang et al. 1992b], also unter veränderten Bedingungen, beobachtet wurde.

Die Reaktion der ANP-Plasmaspiegel auf eine isotone Kochsalzinfusion wird kontrovers diskutiert, da trotz des bekannten Volumenstimulus einige Studien zur Regulation des Elektrolyt- und Wasserhaushalts in gesunden Probanden keine Veränderung der ANP-Konzentration nach isotoner Volumenänderung beobachtet haben [Drummer et al. 1992a, Drummer et al. 1992b, Andersen et al. 1998, Andersen et al. 1999, Rasmussen et al. 2003]. In unserer Studie rief die Infusion von 20ml/kg physiologischer Kochsalzlösung innerhalb einer Stunde keine messbare Steigerung der NT-proANP-Plasmaspiegel hervor, was die Bedeutung von ANP für die Natriurese nach Kochsalzinfusion von 20ml/kg in einer Stunde in Frage stellt. Offensichtlich spielen Faktoren wie Dauer und Intensität des Stimulus, Volumenzustand des Individuums und Aktivierungsgrad des Systems der natriuretischen Peptide eine Rolle. Eine verminderte Empfindlichkeit des ANP-Systems ist im Rahmen der erhöhten Salzzufuhr denkbar, wie durch Experimente in Ratten nahe gelegt

worden ist. Hier wurde gezeigt, dass die Intensität der ANP-Freisetzung nach adäquatem Stimulus vom Grad der Salzzufuhr abhängt [Lee et al. 2004].

Die gemessenen NT-proANP Konzentrationen lagen in unserer Untersuchung trotz der erhöhten Salzzufuhr mit 261 pmol/l (entsprechend 889 pg/ml) eher unterhalb der Werte für die Normalbevölkerung. Eine mögliche Erklärung hierfür kann das jüngere Alter unserer Probanden sein, da die Plasmaspiegel von NT-proANP unabhängig von Erkrankungen mit dem Lebensalter ansteigen [Loke et al. 2003].

Die Regulation von Synthese und Freisetzung von BNP aus Vorhöfen und Ventrikeln ist aufgrund der steigenden klinischen Bedeutung des Peptids gegenwärtig Gegenstand intensivster Forschung. BNP wird wie ANP mit seinen Vorläufern und Spaltprodukten in den Vorhöfen synthetisiert und mit diesen auf Wanddehnung hin freigesetzt. Allerdings nimmt es in Gesunden einen niedrigeren Anteil im atrialen Myokard und in der Zirkulation ein als ANP. Unter pathophysiologischen Bedingungen verstärkt sich insbesondere die ventrikuläre Produktion von BNP und resultiert in stark erhöhten Plasmaspiegeln von BNP und NT-proBNP. Wie auch für ANP belegt wurde, sind myokardiale Dehnung und Ischämie wichtige Stimuli für die Freisetzung von BNP. Offensichtlich findet jedoch insbesondere im ventrikulären Myokard eine komplexe Interaktion mit humoralen und neurohormonalen Faktoren sowie dem Immunsystem statt, worauf insbesondere der Einfluss verschiedener Zytokine (TNF- α , IL-1 und IL-6) und Wachstumsfaktoren hindeutet. Diese Zusammenhänge und die Tatsache, dass Expression von BNP auch in kardialen Fibroblasten und in Koronararterien demonstriert wurde, verdeutlichten, dass noch viele Fragen zur Synthese und Freisetzung von BNP unbeantwortet sind [Clerico et al. 2006]. Erhöhung der diätetischen Salzzufuhr steigerte in gesunden Probanden [Lang et al. 1991, Ishimitsu et al. 1998] die Plasmakonzentration von BNP. Niedriger Body Mass Index [Das et al. 2005], weibliches Geschlecht und niedrige Herzfrequenz [Loke et al. 2003] sind mit höheren Konzentrationen von BNP und NT-proBNP im Plasma assoziiert. Außerdem steigt die NT-proBNP-Plasmakonzentration mit zunehmendem Lebensalter [Loke et al. 2003].

NT-proBNP hat mit 120 Minuten eine längere Halbwertszeit als BNP mit 22 Minuten und ist in größeren Konzentrationen im Blut messbar [McCullough und Sandberg 2003]. Die Elimination von NT-proBNP erfolgt wahrscheinlich zum größten Teil renal [McCullough und Sandberg 2003], es ist jedoch nicht ausgeschlossen, dass auch Abbauprozesse beteiligt sind [Goetze 2004].

Gegenwärtig ist keine Literatur zum Einfluss von ACE-Hemmern auf die Plasmaspiegel von NT-proBNP und BNP bei gesunden Probanden verfügbar. Untersuchungen an herzinsuffizienten Patienten legen jedoch nahe, dass langfristige [Tsutomoto et al. 2000, Yoshimura et al. 2002] und kurzfristige Gabe [Lang et al. 1992b] von Antagonisten des Renin-Angiotensin-Systems die plasmatische Konzentration von BNP senken können. Sheth und Mitarbeiter beobachteten in herzinsuffizienten Patienten hingegen nur einen Trend zur Verringerung der BNP-Plasmaspiegel nach mehrmonatiger Gabe eines ACE-Hemmers [Sheth et al. 2002].

Diese Veränderungen sind am ehesten im Zusammenhang mit den hämodynamischen Wirkungen und der konsekutiven kardialen Entlastung zu interpretieren. Eine Beteiligung von ACE am Metabolismus von BNP ist vermutet, aber noch nicht bestätigt worden [Vanneste et al. 1990].

Unsere Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass unter physiologischen Bedingungen die Konzentration von NT-proBNP im Plasma nicht durch ACE-Hemmung beeinflusst wird. Dies steht im Einklang mit einer Studie an gesunden Probanden, in der nach ANG-II-Infusion die Plasmakonzentration von BNP unbeeinflusst blieb [Cargill et al. 1994]. Allerdings kam es hier zu einem deutlichen Blutdruckanstieg, der einen Vergleich mit unserer Untersuchung erschwert. Auch in einer tierexperimentellen Studie bewirkte Antagonisierung des Renin-Angiotensin-Systems keine Veränderung der Plasmaspiegel von BNP [Sata et al. 2003]. Da allerdings für BNP große strukturelle und funktionelle Spezifität besteht [Suzuki et al. 2001], bedarf es weiterer Untersuchungen in gesunden Probanden in einem Modell ohne Einfluss hämodynamischer Störfaktoren, um diese These zu bestärken.

Mit 21,72 pg/ml (entsprechend 2,57 pmol/l) liegen die gemessenen Konzentrationen von NT-proBNP deutlich unter den bislang dokumentierten Werten für die Normalbevölkerung, was angesichts der starken Alters- und Geschlechtsabhängigkeit des Peptids nicht überrascht [Loke et al. 2003]. In gesunden jungen Männern berichten Schou und Mitarbeiter über Plasmakonzentrationen von $1,2 \pm 0,19$ pmol/l, die etwas niedriger sind als in unserer Untersuchung [Schou et al. 2005].

Während des Untersuchungszeitraums wurde ein signifikanter, kontinuierlicher langsamer Anstieg der NT-proBNP-Konzentration im Plasma verzeichnet. Über eine zirkadiane Rhythmik von BNP ist wenig bekannt. Eine mögliche Erklärung ist die horizontale Körperlage der Probanden [La Villa et al. 1993]. Mit Latenz von drei Stunden ist außerdem eine Zunahme der Plasmakonzentration nach Kochsalzinfusion dokumentiert worden

[Heringlake et al. 2004]. Insofern ist wahrscheinlich, dass in unserer Untersuchung ab 16:00 Uhr auch die NaCl-Infusion zum Anstieg der NT-proBNP-Plasmaspiegel beigetragen hat.

4.3.2. *ANG II*

ACE-Hemmung kann in gesunden Probanden innerhalb weniger Stunden zu einem Abfall der ANG-II-Spiegel führen [Brunner et al. 1981, MacGregor et al. 1981]. Dies erscheint als die logische Folge einer verminderten ACE-Aktivität mit konsekutiv verminderter Bildung des Oktapeptids ANG II aus dem Dekapeptid Angiotensin I.

Man nimmt heute an, dass der limitierende Faktor für die Plasmaspiegel von ANG II nicht ACE, sondern die Plasma-Renin-Aktivität ist [Ingert et al. 2002]. Diese wird unter anderem von der diätetischen Salzzufuhr beeinflusst: Je niedriger die Salzlast, desto höher ist die Reninaktivität und der Aktivierungsgrad des Systems, wie an Probanden [Sagnella et al. 1989] und tierexperimentell [Cholewa und Mattson 2001, Kjolby et al. 2005] nachvollzogen wurde. Die Plasmaspiegel von ANG II hängen aber auch von der Verfügbarkeit des Glykoproteins Angiotensinogen ab, das das Substrat von Renin darstellt [Cholewa und Mattson 2005].

Wie erwartet kam es in unserer Studie nach Gabe von Enalapril zu einem Abfall der ANG-II-Plasmakonzentration. Trotz dieser Abnahme ließ sich der erwartete signifikante Unterschied in Kontroll- und ACEI-Gruppe nur in der Subgruppenanalyse nachweisen.

Für diese Beobachtung lässt sich möglicherweise die verstärkte Salzaufnahme im Vorfeld unserer Untersuchung in Betracht ziehen, denn hier unterscheidet sich unser Protokoll vom Vorgehen von Ferro [Ferro et al. 1998]. Unterlegt wird diese These durch eine Studie, die die Reaktion des Renin-Angiotensin-Systems auf verschiedene Dosen von Enalapril in gesunden Probanden unter kochsalzärmer und kochsalzreicher Diät verglichen hat [Shoback et al. 1983]. Unter hoher Kochsalzzufuhr kam es wie in unserer Studie zu einem signifikanten Blutdruckabfall, der jedoch nicht von einer Veränderung der ANG-II-Spiegel begleitet wurde. Unter kochsalzärmer Diät hingegen wurde die Plasma-ANG-II-Konzentration deutlich unterdrückt.

Als weitere Erklärung ist außerdem ein sogenannter "Angiotensin-Escape" denkbar, der unter ACE-Hemmer-Gabe auftreten kann und durch reaktive Hyperreninämie oder Biosynthese von ANG II durch andere Enzyme begründet wird [Mooser et al. 1990]. Zudem ist die Beobachtung von Bedeutung, dass die Plasma-ANG-II-Konzentration nicht uneingeschränkt die Situation des Renin-Angiotensin-System in speziellen Geweben wie

Myokard oder Niere widerspiegelt, die die BNP-Produktion eher beeinflussen könnte. Für unsere Hypothese spricht, dass offensichtlich geringere Dosen von Enalapril zur Senkung der lokalen ANG-II-Konzentration in der Niere vonnöten sind als zur Senkung der Plasmakonzentration [Campbell 1996].

Der signifikante Anstieg der ANG-II-Werte in der Kontrollgruppe um 18:00 Uhr ist überraschend. Im Rahmen einer Kochsalzinfusion würde man eher eine Abnahme der plasmatischen ANG-II-Konzentration erwarten [Duggan und Ye 1998]. In der Literatur findet sich hierfür keine plausible Erklärung.

4.4. Nierenfunktionsparameter

Bekannt ist, dass Enalapril in der Niere gesunder Probanden Steigerung des renalen Blutflusses und der Natriurese bei unveränderter glomerulärer Filtrationsrate (GFR) hervorruft [Davies et al. 1984, Burnier und Brunner 1996]. Die natriuretische Wirkung wird als biphasisch beschrieben und zeigt ein Maximum während ein bis zwei und vier bis acht Stunden nach Verabreichung des Medikamentes [McNabb et al. 1985, Lant et al. 1984]. Da die Wirkung auf die Aldosteronsynthese erst mit Latenz einsetzt, lässt sich die prompte Natriurese vermutlich auf eine direkte Hemmung der Reabsorptionskapazität im proximalen Tubulus zurückführen. Mittels epithelialer Rezeptoren beeinflusst ANG II dort den Natrium-Bikarbonat-Transport [Burnier und Brunner 1996]. Die natriuretische Wirkung von Captopril geht mit Expression bestimmter Transportproteine einher [Leong et al. 2005].

Auch isotone Kochsalzinfusion hat in gesunden Probanden eine Steigerung von Natriumausscheidung ($U_{Na}V$) und Urinfluss (UV) zur Folge, die bereits in den ersten drei Stunden nach Volumenbelastung einsetzt und über zwei Tage anhalten kann [Drummer et al. 1992b].

Unsere Ergebnisse dokumentieren in beiden Versuchsgruppen erwartungsgemäß den Anstieg von $U_{Na}V$ und UV. Beginnend nach vier Stunden, also vor Beginn der Kochsalzinfusion, bildet sich offensichtlich zuerst der Einfluss der Nahrungsaufnahme und einer zirkadianen Rhythmik [Drummer et al. 1992a] ab. Erst nach frühestens fünf Stunden ist von einem Beitrag der Volumenbelastung zur Natriurese auszugehen. Die Wirkung von Enalapril spiegelt sich einerseits in einer signifikanten Steigerung von UV über den Kontrollwert nach acht Stunden und der $U_{Na}V$ nach sechs und acht Stunden. Außerdem wurde unter Enalapril bereits nach vier Stunden eine erhöhte fraktionelle Natriumausscheidung (FE_{Na}) beobachtet, d.h. früher als in der Kontrollgruppe. Dass

entgegen der Erwartung nur im Trend eine Steigerung der kumulativen Natriumausscheidung unter Enalaprilgabe ($p=0,07$) festgestellt werden konnte, ist wahrscheinlich auf den signifikant niedrigeren Blutdruck in der ACEI-Gruppe zurückzuführen. Ein Abfall des arteriellen Blutdrucks wirkt über Verminderung des Druckdiurese-Mechanismus der Natriumausscheidung entgegen [Hall et al. 1990]. Außerdem ist beobachtet worden, dass der natriuretische Effekt von ACE-Hemmern in Subjekten mit gesteigerter Salzzufuhr proportional geringer ausfällt [Burnier und Brunner 1996]. Dass in der Untergruppe die Natriumausscheidung deutlicher gesteigert wurde, ist möglicherweise also im Zusammenhang mit den geringeren Blutdruckdifferenzen in dieser Gruppe zu sehen.

Die GFR blieb während des Untersuchungszeitraums unverändert. Dies steht im Einklang mit dem pharmakodynamischen Profil von Enalapril [Davies et al. 1984, Burnier und Brunner 1996] und mit Untersuchungen zum Einfluss isotoner Kochsalzinfusion auf die Nierenfunktion [Andersen et al. 1998].

4.5. Renale BNP-Freisetzung

In zahlreichen Untersuchungen ist belegt worden, dass die natriuretischen Peptide beim Menschen in der Niere präsent sind und mit dem Urin ausgeschieden werden. Die Expression des renalen Peptids Urodilatin wurde in Zellen, die mit humanen distalen Tubuluszellen verwandt sind, demonstriert [Lenz et al. 1999, Drummer 2001]. Immunzytochemisch sind BNP [Totsune et al. 1994, Herten et al. 1998] und Urodilatin [Herten et al. 1998] in der Niere v. a. im distalen Tubulus nachgewiesen worden. Auch CNP wird in Tubuluszellen synthetisiert [Herten et al. 1998] und ist in der Niere und im Urin dokumentiert worden [Cataliotti et al. 2002]. Ruhende humane epitheliale und mesangiale Glomeruluszellen exprimieren BNP-mRNA, und BNP als Genprodukt lässt sich im Überstand der Zellkultur nachweisen [Lai et al. 1999]. Es ist auch dokumentiert worden, dass BNP in vitro von proximalen Tubuluszellen synthetisiert wird [Mistry et al. 2001]. 1996 wurde erstmals immunreaktives BNP im Urin gesunder und niereninsuffizienter Probanden nachgewiesen, wobei eine Abnahme der Nierenfunktion mit erhöhter BNP-Ausscheidung einherging [Totsune et al. 1996].

Nach einer isotonen Kochsalzinfusion in gesunden Probanden wurde ein Anstieg der renalen NT-proBNP-Ausscheidung beobachtet, der zeitlich unabhängig vom Verlauf der Plasmakonzentration des Hormons war [Heringlake et al. 2004]. Dieser Verlauf ließ auf eine unabhängige Regulation der kardialen und renalen NT-proBNP-Freisetzung schließen.

Allerdings liegt bislang keine Literatur zu einer möglichen humoralen Kontrolle der renalen NT-proBNP-Freisetzung vor.

Es gibt Hinweise darauf, dass das Renin-Angiotensin-System als funktioneller Gegenspieler der natriuretischen Peptide in deren Regulation involviert ist [Johnston et al. 1989]. An der isoliert perfundierten Rattenniere verringerte ANG-II-Behandlung die Ausscheidung von Urodilatin [Heringlake et al. 2001].

In unserer Studie war eine Hemmung des Renin-Angiotensin-Systems in der Gesamtgruppe mit signifikant höherer Diurese (UV_{kum}) assoziiert als unter Placebo. Die kumulative NT-proBNP-Ausscheidung pro mmol Kreatinin zeigte einen Trend ($p=0,09$) zu höheren Werten unter ACE-Hemmer. Durch Bezugnahme auf die ausgeschiedene Kreatininmenge sollen Fehlkalkulationen durch Verdünnungseffekte im Urin verringert werden. Die kumulative Natriumausscheidung ($U_{\text{Na}}V_{\text{kum}}$) wurde in der Gesamtgruppe, vermutlich aufgrund der verknüpften Blutdrucksenkung, nur im Trend gesteigert. Deswegen wurden in einer weiteren Analyse nur diejenigen Probanden betrachtet, die auf Enalapril wie erwartet mit einem Anstieg der $U_{\text{Na}}V_{\text{kum}}$ reagiert haben. Der niedrigeren ANG-II-Werte unter ACE-Hemmer und der Anstieg der $U_{\text{Na}}V_{\text{kum}}$ waren in dieser Subgruppe, die auch geringere Blutdruckdifferenzen aufwies, mit signifikant höherer $U_{\text{NT-proBNP/Krea kum}}$ assoziiert.

Diese Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass die renale NT-proBNP Produktion durch das Renin-Angiotensin-System beeinflusst bzw. durch ANG II inhibiert wird. Es ist somit ebenfalls denkbar, dass die höhere Diurese und die höhere Natriumausscheidung unter ACE-Hemmer zu einem Teil durch die Wirkung von BNP vermittelt werden.

Kürzlich wurde von Ng und Mitarbeitern vorgeschlagen, Messung der Konzentration von NT-proBNP im Urin als einfaches Verfahren zur Diagnostik der Herzinsuffizienz heranzuziehen [Ng et al. 2004]. Die Korrelation von Urin- und Plasma-NT-proBNP-Konzentration in dieser Untersuchung sowie das geringe Molekulargewicht von NT-proBNP von ca. 8 kD legen nahe, dass zu einem Teil filtrierte NT-proBNP plasmatischen Ursprungs im Urin erscheint. Die NT-proBNP-Ausscheidung im Urin korrelierte aber andererseits auch mit der Plasma-Kreatininkonzentration, die im Allgemeinen mit Abnahme der Filtrationsleistung zunimmt. In einer Screeninguntersuchung auf Herzinsuffizienz konnte außerdem weder eine Korrelation der Plasmaspiegel noch der Kreatininclearance mit der Urinkonzentration von NT-proBNP belegt werden [Ng et al. 2005].

Diese Ergebnisse sprechen für eine zusätzliche renale Produktion von NT-proBNP. Die Ergebnisse unserer Untersuchung bestärken die Hypothese einer renalen Herkunft des Peptids im Urin: Die GFR blieb im Verlauf der Untersuchung unverändert, während in der Plasmakonzentration von NT-proBNP ein langsamer, kontinuierlicher Anstieg verzeichnet wurde. Entsprechend zeigt sich ein langsamer Anstieg der filtrierten NT-proBNP-Menge. Der Anteil der filtrierten Menge, die im Urin erschien ($FE_{NT-proBNP}$), blieb unter Placebo unverändert und stieg unter Enalapril signifikant an. Zu welchen Anteilen tubuläre Sekretion, tubuläre Rückresorption oder auch Abbau des Peptids im Bürstensaum des Tubulusepithels oder im Gefäßendothel die $FE_{NT-proBNP}$ beeinflussen, lässt sich in unserer Untersuchung nicht quantifizieren. Dass der Verlauf der NT-proBNP-Ausscheidung im Urin bei unveränderter GFR jedoch deutlich vom plasmatischen Verlauf und vom Verlauf der filtrierten Menge abwich, deutet auf einen zusätzlichen renalen Ursprung der Substanz hin.

Neue Studien von Schou und Goetze haben die Konzentrationen von NT-proBNP in Nierenarterie und -vene verglichen und geben erstmals Auskunft über die renale Extraktion von NT-proBNP in gesunden jungen Männern [Schou et al. 2005] und in Patienten mit Bluthochdruck und Leberzirrhose [Goetze et al. 2006]. Die berichteten Raten von 15-20% bzw. 16% liegen deutlich über der $FE_{NT-proBNP}$ in unseren Ergebnissen, die bei einem Median von 5% zwischen 1% und 18% variierte. Dies zeigt, dass offensichtlich nur ein Teil der von der Niere aus dem Blut extrahierten Menge von NT-proBNP im Urin erscheint und Abbauprozesse beteiligt sein dürften.

Der Abbau der natriuretischen Peptide erfolgt hauptsächlich durch den Clearance-Rezeptor NPR-C und die neutrale Endopeptidase [Stoupakis und Klapholz 2003]. Sowohl murines als auch humanes BNP wurden in vitro bei Inkubation mit Nierengewebe innerhalb von einer Stunde vollständig degradiert [Walther et al. 2004]. Da humanes BNP größere Stabilität gegenüber der hydrolytischen Aktivität der neutralen Endopeptidase zeigt als ANP [Smith et al. 2000, Kishimoto et al. 2001, Walther et al. 2004] und die Affinität von BNP zum Clearance-Rezeptor NPR-C verhältnismäßig gering ist [Suga et al. 1992], wird mindestens ein weiteres Enzym diskutiert, das am Abbau der natriuretischen Peptide beteiligt sein könnte [Walther et al. 2004].

Die Elimination der N-terminalen Fragmente wird ebenfalls noch nicht vollständig verstanden. Die negative Korrelation ihrer Plasmaspiegel mit der Kreatininclearance [Bonarjee et al. 1995, Hunt et al. 1997, Vickery et al. 2005], die Akkumulation bei Niereninsuffizienz [Itoh et al. 1988, Sundsfjord et al. 1988, Vickery et al. 2005] sowie

Studien zur renalen Extraktion [Hunt et al. 1997, Schou et al. 2005, Goetze et al. 2006] legen nahe, dass ihre Clearance vorwiegend renal erfolgt. Unbekannt ist jedoch, welche Mechanismen dabei zugrunde liegen. Die neutrale Endopeptidase kann nach neueren Erkenntnissen durch Antagonisierung des Renin-Angiotensin-Systems gehemmt werden [Walther et al. 2002]. Die geringe Extraktion von NT-proBNP im peripheren Gewebe [Goetze et al. 2006] und die längere Halbwertszeit im Vergleich zu BNP [Pemberton et al. 2000] sprechen jedoch für eine untergeordnete Bedeutung des Abbaus von NT-proBNP durch den Clearance-Rezeptor NPR-C oder durch die neutrale Endopeptidase. Entsprechend ist die ACEI-vermittelte Hemmung des Abbaus von NT-proBNP durch die neutrale Endopeptidase vermutlich nicht der wesentliche Mechanismus für die beobachteten Änderungen der NT-proBNP Konzentration im Urin.

Zusammenfassend liefern diese Ergebnisse Hinweise auf einer renale Produktion von NT-proBNP unter Kontrolle des Renin-Angiotensin-Systems in gesunden Probanden. Eine Begrenzung der Studie findet sich in der Tatsache, dass die Assoziation zwischen ACEI und NT-proBNP-Ausscheidung nur in einer a posteriori definierten Subgruppe dokumentiert wurde, weshalb die Ergebnisse als deskriptiv anzusehen sind. Die genauen Mechanismen, die an der beobachteten Steigerung der kumulativen NT-proBNP-Ausscheidung beteiligt sind, bleiben in unserem Modell offen. Formale Belege für eine direkte Inhibition der NT-proBNP-Ausscheidung durch ANG II oder eine Beteiligung von BNP an der natriuretischen Wirkung von Enalapril können und sollten erst Untersuchungen in einem Modell ohne koexistente Blutdruckschwankungen liefern.

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluss des ACE-Hemmers Enalapril auf die renale Ausscheidung des N-terminalen Prohormons des natriuretischen Peptids vom B-Typ (NT-proBNP) in gesunden männlichen Probanden zu untersuchen.

Nach einer einwöchigen Vorbereitungsphase, die kochsalzreiche Diät und viertägige einschleichende Behandlung mit Enalapril umfasste, wurden 10 Versuchspersonen doppelblind im Crossover-Design nach Verabreichung von 20 mg Enalapril (ACEI) oder Placebo (KON) über einen Zeitraum von 10 Stunden untersucht. Nach vier Stunden erfolgte eine intravenöse Volumenbelastung mit 20ml/kg isotoner Kochsalzlösung über 60 Minuten. Protokolliert wurde der Verlauf der Hämodynamik, der Nierenfunktion, die hormonelle Antwort des N-terminalen natriuretischen Peptids vom A-Typ (NT-proANP), von NT-proBNP und von Angiotensin II im Plasma sowie von NT-proBNP im Urin. Die Hormonbestimmungen erfolgten mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (NT-proBNP) bzw. Radioimmunoassay (NT-proANP und Angiotensin II).

Ab dem vierten Tag der Vorbereitungsphase bis zum Ende der Beobachtungsphase war der arterielle Blutdruck in der ACEI-Gruppe niedriger als unter Kontrollbedingungen. Die Angiotensin-II-Plasmakonzentration zeigte unter Enalapril am Untersuchungstag einen signifikanten Abfall. Dies war assoziiert mit höherem Urinfluss und einem Anstieg der fraktionellen NT-proBNP-Ausscheidung in der ACEI-Gruppe. Die kumulative Natriumausscheidung und die auf die Ausscheidung von Kreatinin normalisierte NT-proBNP-Ausscheidung zeigten unter Enalapril nur einen Trend zu höheren Werten. Vor dem Hintergrund, dass einige Probanden – mutmaßlich aufgrund des niedrigeren Blutdrucks – nach ACEI keine Steigerung der Natriumexkretion zeigten, wurde zusätzlich eine Subgruppenanalyse durchgeführt. Bei Betrachtung der sechs Probanden, die unter ACE-Hemmung wie erwartet eine höhere kumulative Natriumausscheidung aufwiesen, zeigte sich, dass dies im Vergleich zur Kontrolle mit niedrigeren Angiotensin-II-Spiegeln, höherem kumulativen Urinfluss und einer höheren kumulativen NT-proBNP-Ausscheidung verknüpft war.

Diese Beobachtungen legen nahe, dass das renale BNP-System unter Einfluss des Renin-Angiotensin-Systems steht. Formale Belege für eine direkte Inhibition der NT-proBNP-Ausscheidung durch Angiotensin II oder eine Beteiligung von BNP an der natriuretischen Wirkung von Enalapril sollten weiterführende Untersuchungen in einem Modell ohne koexistente Blutdruckschwankungen liefern.

6. Literaturverzeichnis

Ajayi AA, Hockings N, Reid JL: Age and the pharmacodynamics of angiotensin converting enzyme inhibitors enalapril and enalaprilat.

Br J Clin Pharmacol. 1986, 21, 349-357

Andersen LJ, Norsk P, Johansen LB, Christensen P, Engstrom T, Bie P: Osmoregulatory control of renal sodium excretion after sodium loading in humans.

Am J Physiol. 1998, 275, R1833-1842

Andersen LJ, Jensen TU, Bestle MH, Bie P: Isotonic and hypertonic sodium loading in supine humans.

Acta Physiol Scand. 1999, 166, 23-30

Arjamaa O, Karlqvist K, Vainionpaa V, Leppaluoto J, Vuolteenaho O: Atrial plasma ANP and NH₂-terminal proANP during right atrial pressure increase in humans.

Acta Physiol Scand. 1996, 157, 481-485

Baker BJ, Wu WCL, Winters CJ, Dinh H, Wyeth R, Sallman AL, Vesely DL: Exercise increases the circulating concentration of the N-terminus of the atrial natriuretic factor prohormone in normal individuals.

Am Heart J. 1991, 122, 1395-1402

Baxter GF: The natriuretic peptides.

Basic Res Cardiol. 2004, 99, 71-75

Bonarjee VV, Omland T, Nilsen DW, Caidahl K, Sundsfjord JA, Dickstein K: Plasma proatrial natriuretic factor (1-98) concentration after myocardial infarction: relation to indices of cardiac and renal function.

Br Heart J. 1995, 73, 511-516

Brunner DB, Desponds G, Biollaz J, Keller I, Ferber F, Gavras H, Brunner HR, Schelling JL: Effect of a new angiotensin converting enzyme inhibitor MK 421 and its lysine analogue on the components of the renin system in healthy subjects.

Br J Clin Pharmacol. 1981, 11, 461-467

Burnier M, Brunner HR: Renal effects of angiotensin II receptor blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition in healthy subjects.

Exp Nephrol. 1996, 4 Suppl. 1, 41-46

Campbell DJ: Endogenous angiotensin II levels and the mechanism of action of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor type 1 antagonists.

Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl. 1996, 3, S125-131

Cargill RI, Coutie WJ, Lipworth BJ: The effects of angiotensin II on circulating levels of natriuretic peptides.

Br J Clin Pharmacol. 1994, 38, 139-142

Cholewa BC, Mattson DL: Role of the renin-angiotensin system during alterations of sodium intake in conscious mice.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001, 281, R987-993

Cholewa BC, Mattson DL: Influence of elevated renin substrate on angiotensin II and arterial blood pressure in conscious mice.

Exp Physiol. 2005, 90, 607-612

Cataliotti A, Giordano M, De Pascale E, Giordano G, Castellino P, Jougasaki M, Costello LC, Boerrigter G, Tsuruda T, Belluardo P, Lee SC, Huntley B, Sandberg S, Malatino LS, Burnett JC Jr: CNP production in the kidney and effects of protein intake restriction in nephrotic syndrome.

Am J Physiol Renal Physiol. 2002, 283, F464-472

Clerico A, Recchia FA, Passino C, Emdin M: Cardiac endocrine function is an essential component of the homeostatic regulation network: physiological and clinical implications.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006, 290, H17-29

Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, Canham RM, Chung AK, Leonard D, Wians FH Jr, de Lemos JA: Impact of body mass and body

composition on circulating levels of natriuretic peptides: results from the Dallas Heart Study.

Circulation. 2005, 112, 2163-2168

Davies RO, Gomez HJ, Irvin JD, Walker JF: An overview of the clinical pharmacology of enalapril.

Br J Clin Pharmacol. 1984, 18 Suppl. 2, 215S-229S

De Bold AJ: Heart atria granularity effects of changes in water-electrolyte balance.

Proc Soc Exp Biol Med. 1979, 161, 508-511

De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats.

Life Sci. 1981, 28, 89-94

Donnelly R, Meredith PA, Elliott HL: The description and prediction of antihypertensive drug response: an individualised approach.

Br J Clin Pharmacol. 1991, 31, 627– 634

Doorenbos CJ, van Brummelen P: The effect of acute ACE inhibition on atrial natriuretic peptide.

Br J Clin Pharmacol. 1989, 27 Suppl. 2, 243S-247S

Drummer C, Gerzer R, Heer M, Molz B, Bie P, Schlossberger M, Stadaeger C, Rocker L, Strollo F, Heyduck B: Effects of an acute saline infusion on fluid and electrolyte metabolism in humans.

Am J Physiol. 1992a, 262, F744-754

Drummer C, Heer M, Baisch F, Blomqvist CG, Lang RE, Maass H, Gerzer R: Diuresis and natriuresis following isotonic saline infusion in healthy young volunteers before, during, and after HDT.

Acta Physiol Scand Suppl. 1992b, 604, 101-111

Drummer C: Involvement of the renal natriuretic peptide urodilatin in body fluid regulation.

Semin Nephrol. 2001, 21, 239-243

Duggan KA, Ye VZ: Mechanisms underlying the decrease in circulating angiotensin II concentration after sodium loading.

Clin Exp Pharmacol Physiol. 1998, 25, 818-819

Ferro J, Spratt C, Haynes WG, Webb DJ: Inhibition of neutral endopeptidase causes vasoconstriction of human resistance vessels in vivo.

Circulation. 1998, 97, 2323-2330

Flynn TG, de Bold ML, de Bold AJ: The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties.

Biochem Biophys Res Commun. 1983, 117, 859-865

Franco-Saenz R, Harper D, Mulrow PJ: Effect of posture on the plasma levels of atrial natriuretic factor.

Clin Exp Hypertens A. 1989, 11, 337-347

Gerbes AL und Vollmar AM: Water immersion increases the concentration of the immunoreactive N-terminal fragment of proatrial natriuretic factor in human plasma.

Biochem Biophys res commun. 1988, 156, 228-232

Goetze JP: Biochemistry of Pro-B-Type Natriuretic Peptide-Derived Peptides: The Endocrine Heart Revisited.

Clinical Chemistry. 2004, 50, 1503–1510

Goetze JP, Jensen G, Moller S, Bendtsen F, Rehfeld JF, Henriksen JH: BNP and N-terminal proBNP are both extracted in the normal kidney.

Eur J Clin Invest. 2006, 36, 8-15

Gomez HJ, Cirillo VJ, Irvin JD: Enalapril: a review of human pharmacology.

Drugs. 1985, 30 Suppl. 1, 13-24

Gutkowska J, Schiffrin EL, Cantin M, Genest J: Effect of dietary sodium on plasma concentration of immunoreactive atrial natriuretic factor in normal humans.

Clin Invest Med. 1986, 9, 222-224

Hall JE, Guyton AC, Mizelle HL: Role of the renin-angiotensin system in control of sodium excretion and arterial pressure.

Acta Physiol Scand Suppl. 1990, 591, 48-62

Harris PJ, Skinner SL: Intra-renal interactions between angiotensin II and atrial natriuretic factor.

Kidney Int Suppl. 1990, 30, S87-91

Heringlake M, Bahlmann L, Klaus S, Wagner K, Schmucker P, Pagel H: Effects of angiotensin II and the AT(1) receptor antagonist losartan on the renal excretion of urodilatin.

Kidney Blood Press Res. 2001, 24, 79-83

Heringlake M, Heide C, Bahlmann L, Eichler W, Pagel H, Schmucker P, Wergeland R, Armbruster FP, Klaus S: The effects of tilting and volume-loading on plasma levels and urinary excretion of relaxin, NTproANP, and NTproBNP in male volunteers.

J Appl Physiol. 2004, 97, 173-179

Herten M, Lenz W, Gerzer R, Drummer C: The renal natriuretic peptide urodilatin is present in human kidney.

Nephrol Dial Transplant. 1998, 13, 2529-2535

Hodsman GP, Phillips PA, Ogawa K, Johnston CI: Atrial natriuretic factor in normal man: effects of tilt, posture, exercise and haemorrhage.

J Hypertens Suppl. 1986, 4, S503-505

Hollister AS, Tanaka I, Imada T, Onrot J, Biaggioni I, Robertson D, Inagami T: Sodium loading and posture modulate human atrial natriuretic factor plasma levels.

Hypertension. 1986, 8, II106-111

Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA:
Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP): a new marker
of cardiac impairment.

Clin. Endocrinol. 1997, 47, 287–296

Inger C, Grima M, Coquard C, Barthelmebs M, Imbs JL: Effects of dietary salt changes
on renal renin-angiotensin system in rats.

Am J Physiol Renal Physiol. 2002, 283, F995-1002

Ishimitsu T, Minami J, Nishikimi T, Kawano Y, Takishita S, Kangawa K, Matsuo H,
Matsuoka H: Responses of natriuretic peptides to acute and chronic salt loading in
normotensive and hypertensive subjects.

Hypertens Res. 1998, 21, 15-22

Itoh H, Nakao K, Sugawara A, Saito Y, Mukoyama M, Morii N, Yamada T, Shiono S,
Arai H, Hosoda K: Gamma-atrial natriuretic polypeptide (gamma ANP)-derived peptides
in human plasma: cosecretion of N-terminal gamma ANP fragment and alpha ANP.

J Clin Endocrinol Metab. 1988, 67, 429-437

Jamieson JD, Palade GE: Specific granules in atrial muscle cells.

J Cell Biol. 1964, 23, 151-172

Johnston CI, Hodsman PG, Kohzuki M, Casley DJ, Fabris B, Phillips PA: Interaction
between atrial natriuretic peptide and the renin angiotensin aldosterone system.

Endogenous antagonists.

Am J Med. 1989, 87, 24S-28S

Kisch B: Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig.

Exp Med Surg. 1956, 14, 99-112

Kishimoto I, Hamra FK und Garbers DL: Apparent B-type natriuretic peptide selectivity in
the kidney due to differential processing.

Can J Physiol Pharmacol. 2001, 79, 715-722

Kjolby MJ, Kompanowska-Jeziarska E, Wamberg S, Bie P: Effects of sodium intake on plasma potassium and renin angiotensin aldosterone system in conscious dogs.

Acta Physiol Scand. 2005, 184, 225-34

Kudo T, Baird A: Inhibition of aldosterone production in the adrenal glomerulosa by atrial natriuretic factor.

Nature. 1984, 312, 756-757

Lai KN, Leung JC, Yandle TG, Fisher S, Nicholls MG: Gene expression and synthesis of natriuretic peptides by cultured human glomerular cells.

J Hypertens. 1999, 17, 575-583

Lang CC, Coutie WJ, Khong TK, Choy AM, Struthers AD: Dietary sodium loading increases plasma brain natriuretic peptide levels in man.

J Hypertens. 1991, 9, 779-782

Lang CC, Choy AM, Struthers AD: Atrial and brain natriuretic peptides: a dual natriuretic peptide system potentially involved in circulatory homeostasis.

Clin Sci (Lond). 1992a, 83, 519-527

Lang CC, Motwani JG, Rahman AR, Coutie WJ, Struthers AD: Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on plasma brain natriuretic peptide levels in patients with heart failure.

Clin Sci (Lond). 1992b, 83, 143-147

Lant AF, McNabb RW, Noormohamed FH: Kinetic and metabolic aspects of enalapril action.

J Hypertens Suppl. 1984, 2, S37-42

La Villa G, Vena S, Conti A, Fronzaroli C, Brat A, Lazzeri C, Tosti Guerra C, Madiati S, Marra N, Franchi F: Plasma levels of brain natriuretic peptide in healthy subjects and patients with essential hypertension: response to posture.

Clin Sci (Lond). 1993, 85, 411-416

Lee KS, Kim SY, Han JH, Kim YA, Cao C, Kim SZ, Cho KW, Kim SH: Different responses of atrial natriuretic peptide secretion and its receptor density to salt intake in rats. *Exp Biol Med* (Maywood). 2004, 229, 65-71

Lees KR, Reid JL: Age and the pharmacokinetics and pharmacodynamics of chronic enalapril treatment. *Clin Pharmacol Ther*. 1987, 41, 597-602

Lemos JA de, McGuire DK, Drazner MH: B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003, 362, 316–322

Lenz W, Hertzen M, Gerzer R, Drummer C: Regulation of natriuretic peptide (urodilatin) release in a human kidney cell line. *Kidney Int*. 1999, 55, 91-99

Leong PK, Devillez A, Sandberg MB, Yang LE, Yip KP, Klein JB, McDonough AA: Effects of ACE inhibition on proximal tubule sodium transport. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006, 290, F854-863

Levin ER, Gardner DG, Samson WK: Natriuretic peptides. *N Engl J Med*. 1998, 339, 321–328

Loke I, Squire IB, Davies JE, Ng LL: Reference ranges for natriuretic peptides for diagnostic use are dependent on age, gender and heart rate. *Eur J Heart Fail*. 2003, 5, 599-606

Macdonald NJ, Sioufi A, Howie CA, Wade JR, Elliott HL: The effects of age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of single oral doses of benazepril and enalapril. *Br J Clin Pharmacol*. 1993, 36, 205-209

MacFadyen RJ, Elliott HL, Meredith PA, Reid JL: Haemodynamic and hormonal responses to oral enalapril in salt depleted normotensive man.

Br J Clin Pharmacol. 1993, 35, 299-301

MacGregor GA, Markandu ND, Bayliss J, Roulston JE, Squires M, Morton JJ: Non-sulfhydryl-containing angiotensin-converting enzyme inhibitor (MK421): evidence for role of renin system in normotensive subjects.

Br Med J (Clin Res Ed). 1981, 283, 401-403

Mann FE, Lang RE, Leidig M, Ritz E: Effect of angiotensin I converting enzyme inhibition on circulating atrial natriuretic peptide in humans.

Klin Wochenschr. 1986, 64 Suppl. 6, 13-15

Marie JP, Guillemont H, Hatt PY: Le degré de granulation des cardiocytes auriculaires. Etudes planimétriques au cours de différents apports d'eau et de sodium chez le rat.

Pathol Biol (Paris). 1976, 24, 549-554

McCullough PA, Sandberg KR: Sorting out the evidence on natriuretic peptides.

Rev Cardiovasc Med. 2003, 4 Suppl. 4, S13-19

McNabb WR, Noormohamed FH, Lant AF: The effects of enalapril on blood pressure and the kidney in normotensive subjects under altered sodium balance.

J Hypertens. 1986, 4, 39-47

Mistry SK, Hawksworth GM, Struthers AD, McLay JS: Differential expression and synthesis of natriuretic peptides determines natriuretic peptide receptor expression in primary cultures of human proximal tubular cells.

J Hypertens. 2001, 19, 255-262

Mooser V, Nussberger J, Juillerat L, Burnier M, Waeber B, Bidiville J, Pauly N, Brunner HR: Reactive hyperreninemia is a major determinant of plasma angiotensin II during ACE inhibition.

J Cardiovasc Pharmacol. 1990, 15, 276-282

Mueller T, Gegenhuber A, Poelz W, Haltmayer M: Comparison of the Biomedica NT-proBNP enzyme immunoassay and the Roche NT-proBNP chemiluminescence

immunoassay: implications for the prediction of symptomatic and asymptomatic structural heart disease.

Clin Chem. 2003, 49, 976-979

Napier MA, Dewey RS, Albers-Schonberg G, Bennett CD, Rodkey JA, Marsh EA, Whinnery M, Seymour AA, Blaine EH: Isolation and sequence determination of peptide components of atrial natriuretic factor.

Biochem Biophys Res Commun. 1984, 120, 981-988

Ng LL, Geeranavar S, Jennings SC, Loke I, O'Brien RJ: Diagnosis of heart failure using urinary natriuretic peptides.

Clin Sci (Lond). 2004, 106, 129-133

Ng LL, Loke IW, Davies JE, Geeranavar S, Khunti K, Stone MA, Chin DT, Squire IB: Community screening for left ventricular systolic dysfunction using plasma and urinary natriuretic peptides.

J Am Coll Cardiol. 2005, 45, 1043-1045

Nguyen PV, Smith DL, Leenen FH: Acute volume loading, atrial natriuretic peptide release and cardiac function in healthy men. Effects of beta-blockade.

Life Sci. 1988, 43, 821-830

Oie BK, Skadberg BT, Myking OL, Aakvaag A, Ohm OJ: The influence of supine relaxation on blood pressure, heart rate and atrial natriuretic peptide in normal subjects.

Scand J Clin Lab Invest. 1991, 51, 329-333

Ortiz RM, Wade CE, Ortiz CL, Talamantes F: Acutely elevated vasopressin increases concentrations of cortisol and aldosterone in fasting northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) pups.

J Exp Biol. 2003, 206, 2795-2802

Pemberton CJ, Johnson ML, Yandle TG, Espiner EA: Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload.

Hypertension. 2000, 36, 355-359

Rasmussen MS, Simonsen JA, Sandgaard NC, Hoilund-Carlsen PF, Bie P: Mechanisms of acute natriuresis in normal humans on low sodium diet.

J Physiol. 2003, 546, 591-603

Richards AM, Tonolo G, Polonia J, Montorsi P: Contrasting plasma atrial natriuretic factor concentrations during comparable natriuresis with infusions of atrial natriuretic factor and saline in normal man.

Clin Sci (Lond). 1988, 75, 455-462

Richards AM, Rao G, Espiner EA, Yandle T: Interaction of angiotensin converting enzyme inhibition and atrial natriuretic factor.

Hypertension. 1989, 13, 193-199

Sagnella GA, Markandu ND, Shore AC, MacGregor GA: Effects of changes in dietary sodium intake and saline infusion on immunoreactive atrial natriuretic peptide in human plasma.

Lancet. 1985, 2, 1208-1211

Sagnella GA, Markandu ND, Buckley MG, Miller MA, Singer DR, MacGregor GA: Hormonal responses to gradual changes in dietary sodium intake in humans.

Am J Physiol. 1989, 256, R1171-5

Sala C, Bragato R, Ardeleani G, Pulzzani E, Morganti A, Zanchetti A: Reciprocal changes in atrial natriuretic factor and aldosterone during angiotensin converting enzyme inhibition in man.

J Hypertens Suppl. 1989, 7, S240-241

Sata N, Tanaka Y, Suzuki S, Kamimura R, Mifune H, Nakamura K, Miyahara K und Arima T: Effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II receptor blocker on atrial natriuretic peptide.

Circ J. 2003, 67, 1053-1058

Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, Lisy O, Jougasaki M, Wennberg PW, Burnett JC Jr: Presence of Dendroaspis natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma and its increase during human heart failure.

Mayo Clin Proc. 1999, 74, 126-130

Schou M, Dalsgaard MK, Clemmesen O, Dawson EA, Yoshiga CC, Nielsen HB, Gustafsson F, Hildebrandt PR, Secher NH: Kidneys extract BNP and NT-proBNP in healthy young men.

J Appl Physiol. 2005, 99, 1676-1680

Schulz-Knappe P, Forssmann K, Herbst F, Hock D, Pipkorn R, Forssmann WG: Isolation and structural analysis of "urodilatin", a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine.

Klin Wochenschr. 1988, 66, 752-759

Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M: A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*).

J Biol Chem. 1992, 267, 13928-13932

Sheth T, Parker T, Block A, Hall C, Adam A, Pfeffer MA, Stewart DJ, Qian C, Rouleau JL: Comparison of the effects of omapatrilat and lisinopril on circulating neurohormones and cytokines in patients with chronic heart failure.

Am J Cardiol. 2002, 90, 496-500

Shoback DM, Williams GH, Swartz SL, Davies RO, Hollenberg NK: Time course and effect of sodium intake on vascular and hormonal responses to enalapril (MK 421) in normal subjects.

J Cardiovasc Pharmacol. 1983, 5, 1010-1018

Singer DR, Shore AC, Markandu ND, Buckley MG, Sagnella GA, MacGregor GA. Dissociation between plasma atrial natriuretic peptide levels and urinary sodium excretion after intravenous saline infusion in normal man.

Clin Sci (Lond). 1987, 73, 285-289

Smith MW, Espiner EA, Yandle TG, Charles CJ, Richards AM: Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase.

J Endocrinol 2000, 167, 239–246

Stoupakis G, Klapholz M: Natriuretic peptides: biochemistry, physiology, and therapeutic role in heart failure.

Heart Dis. 2003, 5, 215-223

Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H: A new natriuretic peptide in porcine brain.

Nature. 1988, 332, 78-81

Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H: C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain.

Biochem Biophys Res Commun. 1990, 168, 863-870

Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G, Arai H, Saito Y, Kambayashi Y, Inouye K, Imura H: Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide.

Endocrinology. 1992, 130, 229-239

Sundsford JA, Thibault G, Laroche P, Cantin M: Identification and plasma concentrations of the N-terminal fragment of proatrial natriuretic factor in man.

J Clin Endocrinol Metab. 1988, 66, 605-610

Suzuki T, Yamazaki T, Yazaki Y: The role of the natriuretic peptides in the cardiovascular system.

Cardiovasc Res. 2001, 51, 489-494

Tanaka H, Shindo M, Gutkowska J, Kinoshita A, Urata H, Ikeda M, Arakawa K: Effect of acute exercise on plasma immunoreactive-atrial natriuretic factor.

Life Sci. 1986, 39, 1685-1693

Totsune K, Takahashi K, Murakami O, Satoh F, Sone M, Saito T, Sasano H, Mouri T, Abe K: Natriuretic peptides in the human kidney.

Hypertension. 1994, 24, 758-762

Totsune K, Takahashi K, Satoh F, Sone M, Ohneda M, Satoh C, Murakami O, Mouri T:
Urinary immunoreactive brain natriuretic peptide in patients with renal disease.

Regul Pept. 1996, 63, 141-147

Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, Ohnishi M, Sawaki M, Fujii M, Matsumoto T, Kinoshita M: Angiotensin II type 1 receptor antagonist decreases plasma levels of tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and soluble adhesion molecules in patients with chronic heart failure.

J Am Coll Cardiol. 2000, 35, 714-721

Unger T, Badoer E, Gareis C, Girchev R, Kotrba M, Qadri F, Rettig R, Rohmeiss P:
Atrial natriuretic peptide (ANP) as a neuropeptide: interaction with angiotensin II on volume control and renal sodium handling.

Br J Clin Pharmacol. 1990, 30 Suppl. 1, 83S-88S

Vanneste Y, Pauwels S, Lambotte L, Deschodt-Lanckman M: In vivo metabolism of brain natriuretic peptide in the rat involves endopeptidase 24.11 and angiotensin converting enzyme.

Biochem Biophys Res Commun. 1990, 173, 265-271

Vickery S, Price CP, John RI, Abbas NA, Webb MC, Kempson ME, Lamb EJ: B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy.

Am J Kidney Dis. 2005, 46, 610-620

Walther T, Siems WE, Hauke D, Spillmann F, Dendorfer A, Krause W, Schultheiss HP, Tschöpe C: AT1 receptor blockade increases cardiac bradykinin via neutral endopeptidase after induction of myocardial infarction in rats.

FASEB J. 2002, 16, 1237-1241

Walther T, Stepan H, Pankow K, Becker M, Schultheiss HP, Siems WE: Biochemical analysis of neutral endopeptidase activity reveals independent catabolism of atrial and brain natriuretic peptide.

Biol Chem. 2004, 385, 179-184

Wingender W, Neurser D, Weber H, Morich FJ, Horstmann R, Kuhlmann J: Increase in plasma atrial natriuretic factor and right atrial area during endogenous and exogenous volume loading in healthy volunteers: effect on plasma renin activity, aldosterone and antidiuretic hormone.

J Hypertens Suppl. 1988, 6, S314-316

Yoshimura M, Mizuno Y, Nakayama M, Sakamoto T, Sugiyama S, Kawano H, Soejima H, Hirai N, Saito Y, Nakao K, Yasue H, Ogawa H: B-type natriuretic peptide as a marker of the effects of enalapril in patients with heart failure.

Am J Med. 2002, 112, 716-720

7. Anhang

7.1. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Gesamte Gruppe: Klinische Chemie und Hämatokrit	19
Tabelle 2: Gesamte Gruppe: Nierenfunktionsparameter	22
Tabelle 3: Subgruppe: Nierenfunktionsparameter	27
Tabelle 4: Subgruppe: Filtration und fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP	29
Abb. 1: Ablaufschema	13
Abb. 2: Gesamte Gruppe: Hämodynamik in der Vorbereitungsphase	17
Abb. 3: Gesamte Gruppe: Hämodynamik am Untersuchungstag	18
Abb. 4: Gesamte Gruppe: Verlauf von NT-proBNP und NT-proANP im Plasma	20
Abb. 5: Gesamte Gruppe: Verlauf der Konzentration von ANG II im Plasma	21
Abb. 6: Gesamte Gruppe: Verlauf der NT-proBNP-Ausscheidung im Urin	23
Abb. 7: Gesamte Gruppe: Filtration und fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP	24
Abb. 8: Subgruppe: Hämodynamik am Untersuchungstag	25
Abb. 9: Subgruppe: Verlauf der Konzentration von ANG II im Plasma	26
Abb. 10: Subgruppe: Verlauf der NT-proBNP-Ausscheidung im Urin	28
Abb. 11: Urinfluss, Natrium- und NT-proBNP-Ausscheidung kumuliert in Sub- und Gesamtgruppe	30

7.2. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACEI	ACE-Hemmer-Gruppe
ANG II	Angiotensin II
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
BNP	Natriuretisches Peptid vom B-Typ
CNP	Natriuretisches Peptid vom C-Typ
DNP	Natriuretisches Peptid vom D-Typ
C_{H_2O}	Freiwasserclearance
C_{Krea}	Kreatininclearance
FE_{Na}	Fraktionelle Natriumausscheidung
$FE_{NT-proBNP}$	Fraktionelle Ausscheidung von NT-proBNP
$Filt_{NT-proBNP}$	Filtrierte Menge NT-proBNP
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
HF	Herzfrequenz
KON	Kontrollgruppe
Krea	Kreatinin
$U_{Na}V$	Natriumausscheidung
$U_{Na}V_{kum}$	kumulative Natriumausscheidung
NT-proANP	N-terminales Prohormon von ANP
NT-proBNP	N-terminales Prohormon von BNP
$U_{NT-proBNP/Krea}$	Ausscheidung von NT-proBNP pro Kreatinin
$U_{NT-proBNP/Krea kum}$	kumulative Ausscheidung von NT-proBNP pro Kreatinin
Osm_S	Serumosmolalität
Osm_U	Urinosmolalität
UV	Urinfluss
UV_{kum}	kumulativer Urinfluss

8. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. P. Schmucker für die Überlassung des Arbeitsplatzes und die Möglichkeit zur Dissertation. Ganz besonders danke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Heringlake für die Annahme als Doktorandin und die Überlassung des Themas sowie für die intensive Betreuung, freundliche Unterstützung und kompetente Beratung während des Projekts. Für die wertvolle Hilfe während der Ausführung der Versuche danke ich herzlich Frau Baumgart, Frau Olsson und Frau Strahlendorf stellvertretend für alle Mitarbeiter aus der Klinik für Anästhesiologie, die mir behilflich waren. Weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. phil. M. Hüppe für die Hilfe bei der Randomisierung der Probanden, Herrn Dr. med. M. Miodek, der die Versuchsteilnehmer allgemeinärztlich untersucht hat, sowie Herrn Dr. L. Dibbelt für die freundliche Beratung. Ich danke auch den Probanden herzlich für ihre Teilnahme an den Versuchen.

Zum Schluss möchte ich mich auch bei meiner Familie und meinen Freunden, im besonderen bei Herrn Dr. med. Kilian Haase bedanken, die mich während der Zeit mit Wort und Tat unterstützt haben.

9. Lebenslauf

Barbara Dorothea Will

Dovestr. 18

90459 Nürnberg

Geburtsdatum: 27. Dezember 1979

Geburtsort: Nürnberg

- 1999 Abitur am Sgund-Schuckert-Gymnasium Nürnberg
- 1999-2002 Studium der Humanmedizin an der Bayerischen Julius-Maximilians-
Universität Würzburg
- 8/2001 Ärztliche Vorprüfung
- 2002-2005 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck
- 8/2002 Erster Teil der Ärztlichen Prüfung
- 9/2004 Zweiter Teil der Ärztlichen Prüfung
- 11/2004 bis Praktisches Jahr:
- 9/2005 Sana Kliniken Lübeck (Innere Medizin, Gastroenterologie, Onkologie)
Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Lübeck
Hôpital des Cadolles, Neuchâtel, Schweiz (Chirurgie)
- 11/2005 Ärztliche Prüfung
- Seit 5/2006 Assistenzärztliche Tätigkeit in der Medizinischen Klinik 8, Klinikum
Nürnberg Süd (Kardiologie)
- 7/2003 bis
- 9/2004 Datenerhebung an der Klinik für Anästhesiologie der Universität
Lübeck zum Einfluss von Enalapril auf die renale Ausscheidung von NT-
proBNP in gesunden Probanden

Nürnberg, den 16. 10. 2006