

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Stefan Frantz

**Charakterisierung der Prostaglandin E₂-Transporte im
proximalen Tubulus der Niere im ischämischen akuten
Nierenversagen der Ratte unter Einfluss der Gabe von
Nebivolol und Metoprolol Tartrat**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayrischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Sigrun Heck
aus Hammelburg

Würzburg, Dezember 2017

Referent: Professor Dr. med. Christoph Wanner

Koreferent: Professor Dr. med. Kai Schuh

Dekan: Professor Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.06.2020

Die Promovendin ist Zahnärztin

Meinen Eltern

Werner und Christa Ortloff

und meiner Schwester Jutta Nagel

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Theoretische Grundlagen.....	2
2.1	Morphologie der Niere.....	2
2.2	Messparameter der Nierenfunktion	4
2.3	Ätiologie des akuten Nierenversagens	7
2.3.1	Stadieneinteilung des akuten Nierenversagens	9
2.3.2	Auslöser des akuten Nierenversagens.....	9
2.4	Diagnostik und Therapie des akuten Nierenversagens.....	12
2.5	Erläuterung spezieller Wirkmechanismen in der Niere.....	13
2.5.1	Organische Anionentransporter	13
2.5.2	Prostaglandin E ₂	14
2.6	Die Betablocker Nebivolol und Metoprolol.....	18
3.	Aktueller Forschungsstand.....	20
4.	Methodischer Ansatz.....	21
5.	Fragestellung	21
6.	Durchführung	21
6.1	Das Tiermodell	21
6.2	Operationsverfahren.....	22
6.3	Medikation mit Nebivolol und Metoprolol Tartrat	24
6.4	Unterteilung der Testgruppen.....	24
6.5	Untersuchung der Urin- und Serumproben	25
6.5.1	Inulin-Clearance	25
6.5.2	PAH-Clearance	26

6.5.3	Prostaglandin E ₂ -Messung.....	27
7.	Ergebnisse und statistische Auswertung.....	30
7.1	Die Versuchsgruppen.....	30
7.2	Urinmengen.....	31
7.3	PAH- und Inulin-Clearance.....	32
7.4	PGE ₂ -Clearance.....	35
7.5	PGE ₂ -Konzentration in Urin und Serum	36
7.6	Inulin-Konzentration im Urin	39
7.7	Quotient aus PGE ₂ - und Inulin-Konzentration im Urin (Versuchsgruppen versus Sham-Gruppe).....	40
8.	Diskussion und Schlussfolgerung	42
9.	Zusammenfassung.....	47
	Abbildungsverzeichnis	48
	Tabellenverzeichnis	49
	Abkürzungen.....	50
	Literaturverzeichnis.....	52
	Danksagung.....	
	Lebenslauf	

1. Einleitung

Die Inzidenz des akuten Nierenversagens (ANV) liegt in Krankenhäusern bei ca. 7 % (Nash, et al., 2002). Trotz einiger Fortschritte in der Prävention und Behandlung des akuten Nierenversagens bleibt es weiterhin eine Erkrankung mit sehr hoher Mortalitätsrate. Dies ist unter anderem dadurch begründet, dass das akute Nierenversagen häufig bei ohnehin geschwächten und polymorbiden Patienten eintritt. Hier liegt die Inzidenz bei bis zu 25 % (Bellomo, et al., 2004; Uchino, et al., 2005; De Mendoca, et al., 2000; Liano F, 1996). Die Mortalitätsrate liegt bei über 50 % (Uchino, et al., 2005; Brivet, et al., 1996). Bei Entlassung aus dem Krankenhaus sind noch immer etwa 13,8 % der betroffenen Patienten dialysepflichtig (Uchino, et al., 2005)

Das akute ischämische Nierenversagen stellt die häufigste Form des ANV dar (Kuhlmann, et al., 1998), es ist häufig bedingt durch eine abrupte Minderperfusion der Nierenperfusion. Als Folge der Hypoxämie wird ein Entzündungszustand in den Nieren ausgelöst, in dem polymorphkernige Zellen (Abwehrzellen) eine große Rolle spielen (Bonventre & Zuk, 2004). Durch diese inflammatorische Situation kann es zur Schädigung der Niere kommen. Eine bedeutende Rolle bei der Entstehung akuter renaler Ischämie-Reperfusionsschäden wird unter anderem auch dem Entzündungsmediator PGE₂ zugesprochen. Die Rolle der Entzündungsmediatoren ist nicht abschließend geklärt und soll unter anderem Gegenstand dieser experimentellen Dissertationsarbeit sein. Außerdem wurde die Entwicklung des Outcomes im akuten Nierenversagen unter Berücksichtigung von Applikation der Betablocker Nebivolol und Metoprolol Tartrat tierexperimentell untersucht

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Morphologie der Niere

Die Nieren sind paarig angelegt. Sie bestehen anatomisch aus einem äußeren Anteil, der Nierenrinde (Cortex renalis) und einem inneren Anteil, dem Nierenmark (Medulla renalis). Das Nierenmark teilt sich in Nierenpyramiden (Pyramidea renalis) auf, deren stumpfe Kuppen als Nierenpapillen (Papillae renales) in die Kelche des Nierenbeckens ragen. Die Blutversorgung der Nieren erfolgt durch die Arteriae renales (Lippert, 2003), wobei die Nieren ca. 20 % des Herzzeitvolumens erhalten (Welsch & Deller, 2010).

Die funktionelle Einheit der Niere ist das Nephron, wovon die menschliche Niere ca. 1,2 Millionen besitzt. Ein Nephron besteht aus Nierenkörperchen (Glomeruli) und Nierenkanälchen (Tubuli). Die Nierenkanälchen teilen sich in proximalen Tubulus, Henle Schleife (nach Friedrich Gustav Jakob Henle, Anatom in Zürich, Heidelberg und Göttingen, 1863) und distalen Tubulus auf. Proximaler und distaler Tubulus verlaufen geknäult und liegen in der Nierenrinde. Die gestreckte Henleschleife zieht in das Nierenmark - und läuft haarnadelförmig zur Rinde zurück. Aufgrund seiner zellulären Beschaffenheit wird der gewundene Teil des proximalen Tubulus in das S1- und S2- Segment unterteilt. Der Pars recta des proximalen Tubulus, der an der Grenze von äußerem zu innerem Nierenmark endet wird aufgrund seiner Beschaffenheit als S3- Segment bezeichnet (Boron & Boulpaep, 2005). Die Nierenkanälchen sind von einem feinen Kapillarnetz umgeben, wodurch ein umfassender Flüssigkeits- und Stoffaustausch ermöglicht wird. Die Wand des Glomerulums besteht aus einer mit fenestriertem Endothel ausgekleideten Basalmembran und nach außen - aus dem Epithel der Bowman-Kapsel. Die Glomeruli filtrieren ca. 180 Liter Plasmawasser pro Tag (Silbernagl & Despopoulos, 2001). Nach der Filtration des Blutes im Glomerulum entsteht der Primärharn, er ist nahezu eiweißfrei. Die Durchlässigkeit der Glomerulumbarriere ist abhängig von Filtrationsdruck, Filtrationsfläche und molekularer Siebfunktion. Bei Störung der Nierenfunktion resultiert, neben einer Funktionseinschränkung der Filtrationsrate, eine Proteinurie oder Hämaturie.

Der proximale Tubulus stellt den längsten Abschnitt des Nephrons dar, er ist in einen geknäulten und einen gestreckten Part unterteilt (Welsch & Deller, 2010). Er besitzt viele Mitochondrien und Enzyme. Die Tubuluszellen des proximalen Tubulus sind gerichtet, sie besitzen eine apikale (luminale) und eine basolaterale Seite. Die luminale Seite ist die Harnseite und die basolaterale Seite ist die Blutseite. Die Zellen sind mit einem Bürstensaum ausgestattet, um die effektive luminale Oberfläche zu vergrößern. Diese Region hat eine entsprechend sehr hohe Stoffwechsel- und Transportaktivität. An der basolateralen Seite befinden sich Na^+/K^+ -ATPasen, die aktive Transportvorgänge ermöglichen. Der distale Tubulus hat im Gegensatz dazu keinen Bürstensaum und weniger Mitochondrien und Enzyme. Nach dem Gegenstromaustauschprinzip findet eine Konzentrierung des Harns statt. Der aufsteigende Teil der Henleschleife ist für Wasser undurchlässig, verfügt aber über aktive Transportsysteme für Na^+ , Cl^- und K^+ . Dies sorgt für hyperosmolare Verhältnisse im umgebenden Bindegewebe und den begleitenden Blutgefäßen, was zu einem Wasserentzug aus dem absteigenden Teil der Henleschleife und den Sammelrohren führt. Ein weiterer Gradient für die Harnkonzentrierung ist der Harnstoff, der ADH (Antidiuretisches Hormon)-vermittelt von den papillär gelegenen Sammelrohren über das Interstitium in den absteigenden Teil der Henleschleife wandert und so zu einer Erhöhung der Osmolalität im Interstitium führt. Dies erhöht ebenfalls den Wasserentzug aus den papillären Sammelrohren (Silbernagl & Despopoulos, 2001).

Nach Durchlaufen der Nierenkanälchen und einer Vielzahl von Resorptions- und Sekretionsprozessen durch die Tubuluszellen, gelangt der Harn in das Sammelrohr. Das Sammelrohr enthält Wasserkanälchen, sogenannte Aquaporine, durch welche Konzentrationsvorgänge des Urins stattfinden. Die Wasserdurchlässigkeit der Aquaporine kann durch das Hypophysenhinterlappenhormon ADH gesteigert werden. Dieser Vorgang dient zur Regulation eines erhöhten osmotischen Druckes im Blut.

Von den Sammelrohren fließt der Harn über die Papille ins Nierenbecken und wird über den Harnleiter zur Blase geleitet (Lippert, 2003).

2.2 Messparameter der Nierenfunktion

Die Niere sorgt für die Ausscheidung wasserlöslicher, nicht proteingebundener Stoffwechselendprodukte wie Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin, konjugiertes Bilirubin, anorganische Salze (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) und körperfremder Stoffe. Diese Stoffe sind unter anderem Medikamente, Toxine und Vitamine. Die Niere ist für die Erhaltung von Volumen und Osmolarität der Körperflüssigkeiten zuständig. Des Weiteren reguliert sie gemeinsam mit der Lunge maßgeblich den Säure-Basen-Haushalt des Körpers (Welsch & Deller, 2010). Im proximalen Tubulus werden ca. 65 % der Flüssigkeit zurückresorbiert, im absteigenden Teil der Henleschleife ca. 10 % und im Endteil des distalen Tubulus sowie im Sammelrohr nochmals 20 % (Silbernagl & Despopoulos, 2001). Die Resorption des Großteils an Elektrolyten und anderer Stoffe, wie beispielsweise Harnstoff, Aminosäuren oder Glukose, erfolgt im proximalen Tubulus. In der Niere werden niedermolekulare Plasmaproteine (β_2 -Mikroglobulin, Lysozym, Retinolbindendes-Protein) und Peptidhormone (Parathormon, Insulin) abgebaut. Sie ist weiterhin der Wirkort extrarenal gebildeter Hormone wie Katecholamine, Aldosteron, Parathormon, Calcitonin, ADH, atriales natriuretisches Peptid und natriuretisches Hormon. Die endokrine Funktion der Niere besteht aus der Bildung von Renin zur Blutdruckregulation (Renin-Angiotensin-System), Calcitriol, für den komplexen Mineral- und Knochenstoffwechsel und Erythropoetin, welches zur Erythrozytenbildung im Knochenmark benötigt wird. Sie kann auch Gewebeshormone, wie die Prostaglandine synthetisieren (Welsch & Deller, 2010).

Bei der Blutdruckregulation über das RAAS- (Renin-Angiotensin-Aldosteron) System, schütten die Zellen im Vas afferens des juxtaglomerulären Apparates im Falle eines Blutdruckabfalls unter ca. 90 mmHg Renin aus, dieses bewirkt die Umwandlung von Angiotensinogen zu Angiotensin I, und dann mittels ACE (Angiotensin-Converting-Enzym), aus der Lunge, zu Angiotensin II. Dieser Vorgang dauert 30-60 Minuten. Angiotensin hat eine hohe vasokonstriktorische Wirkung und führt so zum Wiederanstieg des Blutdrucks. Desweiteren regt Angiotensin II in der Nebennierenrinde die Bildung von Aldosteron an, welches

eine erhöhte Na⁺-Retention und eine Erhöhung des Extrazellulärvolumens bewirkt. (Silbernagl & Despopoulos, 2001)

Bei Anstieg der NaCl-Konzentration und der Flussrate im distalen Tubulus wird über - den tubuloglomerulären Feedbackmechanismus die GFR am Vas afferens durch Vasokonstriktion gedrosselt. So wird verhindert, dass aufgrund reduzierter Resorptionskapazität der Tubuluszellen ungewollt Salz und Wasser in erhöhtem Masse ausgeschieden werden. (Hick & Hick, 2002; Silbernagl & Despopoulos, 2001) Dieser Rückkopplungsmechanismus wirkt auch im akuten Nierenversagen regulierend.

Im Blutdruckbereich von 80 bis 200 mmHg ist die Durchblutung und die glomeruläre Filtrationsrate fast konstant. Dies wird durch Anpassung des Gefäßwiderstandes im Vas afferens bedingt, dem sogenannten Bayliss-Effekt und intrarenalen Rückkopplungsmechanismen (Lippert, 2003). Dies wird auch als Autoregulation der Niere bezeichnet. Fällt der systolische Blutdruck auf unter 60 mmHg, kommt es zum akuten Nierenversagen mit Hypoperfusion oder einer kompletten Ischämie der Niere. Daraus resultiert ein renaler Funktionsverlust mit Abnahme der glomerulären Filtrationsrate und Reduktion der Harnausscheidung.

Zwei entscheidende Parameter zur Beurteilung der globalen Nierenfunktion sind die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und der renale Plasmafluss (RPF).

Das Flüssigkeitsvolumen, das von allen Glomeruli pro Zeiteinheit filtriert wird, ist die glomeruläre Filtrationsrate. Die GFR entspricht in etwa der Clearance von Inulin, einem Polysaccharid, das während seiner Passage durch die Niere vollständig im Glomerulus von der Blutseite in den Primärharn filtriert, aber weder resorbiert noch aktiv sezerniert, wird.

$$GFR \approx \text{Inulinclearance} = \frac{c(\text{Inulin}_{\text{Urin}}) \cdot V}{c(\text{Inulin}_{\text{Plasma}}) \cdot t}$$

Der renale Plasmafluss (RPF) in guter Näherung der PAH-Clearance. PAH wird durch die zwei Mechanismen Filtration im Glomerulus und Sekretion im Bereich des Nierentubulus vollständig ausgeschieden.

$$RPF = \frac{V \cdot (PAH)_{Urin}}{(PAH)_{Serum} \cdot t} \text{ [ml/min]}$$

2.3 Ätiologie des akuten Nierenversagens

Das akute Nierenversagen ist eine gravierende Komplikation bei 1-25 % der Intensivpatienten (Chertow, et al., 1998; De Mendoca, et al., 2000). Die Mortalitätsrate des akuten Nierenversagens liegt bei 50 % und höher. (Uchino, et al., 2005; Brivet, et al., 1996; Waikar SS, 2006). In klinischen Studien ist in etwa 47,5 % der Fälle ist eine Sepsis der Auslöser des ANV (Uchino, et al., 2005).

Das akute Nierenversagen wird definiert als ein rascher Abfall der glomerulären Filtrationsrate und einem konsekutiven Anstieg der Serumharnstoff- und Serumkreatininwerte. Gleichzeitig ist eine Verschiebung im Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalt festzustellen (Lameire & Vanholder, 2005). Die Ausscheidung von Medikamenten und toxischen Substanzen ist reduziert und die endokrine Funktion, wie die Bildung von Erythropoetin, Calcitriol, Angiotensin II und Renin ist eingeschränkt. Die Beeinträchtigung der Nierenfunktion ist meist reversibel. Es wird noch nach weiteren Biomarkern gesucht, die die Diagnose ANV frühzeitig stellen lassen.

Als ein aussichtsreicher Kandidat findet sich das Neutrophil gelatinase assoziierte Lipocalin (NGAL) als Biomarker zur frühzeitigen Diagnosestellung des ANV. Es ist etwa 48 Stunden vor der klinischen Diagnosestellung in erhöhter Menge nachweisbar (Cruz, et al., 2010). Es ist ein 25 kD großes Protein, das bei Verletzung von epithelialen Geweben der Niere in erhöhter Konzentration im Urin nachgewiesen werden kann. Eine ischämische oder toxische Nierenschädigung führt zu einer gesteigerten Bildung von NGAL im Nierengewebe. Das Kidney injury molecule 1 (KIM-1) ist ebenfalls ein Biomarker für geschädigtes Nierengewebe, es wird bei akuter Tubulusnekrose (ATN) vermehrt nachgewiesen. Bei andere Arten des ANV oder bei chronischem Nierenversagen kann es hingegen nicht in erhöhtem Maße nachgewiesen werden (Han, et al., 2002). Es ist ein geeigneter Biomarker zur Diagnose von Zellschädigungen im proximalen Tubulus. Leider ist zum Erreichen einer hohen Sensitivität und Spezifität bislang der kombinierte

Einsatz einer Vielzahl von Markerproteinen notwendig, um die Validität der Diagnose mit einem daraus resultierendem klinischen Benefit zu erheben.

Der Verlauf des ANV umfasst die Initialphase, die oligo- bzw. anurische Phase, die Erholungsphase und die Regenerationsphase. Die Initialphase dauert Stunden bis Tage, sie ist gekennzeichnet durch eine noch normale Nierenfunktion. In der oligo- bzw. anurischen Phase, die Tage bis Wochen anhält, ist die Urinausscheidung verringert und die Retentionswerte im Serum sind erhöht. Durch die Wasserretention kommt es zu einer Hypertonie, peripherer Ödembildung und Lungenödemen. Weiterhin treten Störungen im Elektrolythaushalt wie Hyperkaliämie und metabolische Azidose auf. Nur bei schweren Verläufen zeigen sich Symptome wie Schwindel, Erbrechen, Verwirrtheit bis hin zu urämischem Koma.

Die Erholungsphase besteht aus einer Polyurie mit bis zu 20 Litern pro Tag. Dies ist begründet durch die immer noch eingeschränkte tubuläre Resorptionsfähigkeit bei fast völlig regenerierter Filtrationsfunktion. Hierbei treten Symptome wie schwerer Elektrolytverlust, oder auch Hypotonie im Rahmen des intravasalen Volumenmangels auf.

Die nun folgende Regenerationsphase mit einer Dauer von einigen Tagen bis selten Monaten, führt zu einer Normalisierung der Urinvolumina und Nierenfunktionsparameter. Inwieweit eine tatsächliche Restitutio ad integrum bei idealen Bedingungen erfolgen kann ist noch Gegenstand der Diskussion.

2.3.1 Stadieneinteilung des akuten Nierenversagens

Die RIFLE-Klassifikation ist die obsolete Stadieneinteilung des akuten Nierenversagens nach der zweiten internationalen Konsensuskonferenz der ADQI (Bellomo, et al., 2004). Sie klassifiziert das akute Nierenversagen in fünf Gruppen: **R**isk, **I**njury, **F**ailure, **L**oss und **E**nd Stage Renal Disease. Die Einteilung erfolgt anhand der Serumkreatininkonzentration und der Urinausscheidung pro Zeitintervall.

Diese Einteilung ist heute überholt, insbesondere, da in der RIFLE-Klassifikation (Bellomo, et al., 2004) auch die chronischen Nierenerkrankungen eingeflossen sind. Man richtet sich nun nach der AKIN-Klassifikation des Acute Kidney Injury Network (Mehta, et al., 2007).

Stadium	Serumkreatinin Anstieg	Diurese
1	≥ 0,3 mg/dl oder 50-100 %	< 0,5 ml/kg/h über 6-12 h
2	101-200 %	< 0,5 ml/kg/h über > 12 h
3	> 200 % oder Dialyse	< 0,3 ml/kg/h über > 24 h oder Anurie > 12 h

Abb. 1 AKIN-Klassifikation des Acute Kidney Injury Networks

2.3.2 Auslöser des akuten Nierenversagens

Es gibt das prärenale, intrarenale und postrenale ANV. Das prärenale akute Nierenversagen ist bedingt durch eine Minderperfusion bis zur Ischämie der

afferenten Blutgefäße der Niere, was zu einer Verminderung der Filtrationsleistung führt. Eine mögliche Ursache für die Ischämie kann eine Hypovolämie, ausgelöst durch Blutverlust oder Verlust von Extrazellulärflüssigkeit (Diuretika, Glukosurie, Diarrhö, Erbrechen, Pankreatitis, Peritonitis, Verbrennungen) sein. Durch Herzversagen oder eine massive Lungenembolie kann ein zirkulatorisches ANV, sogenannte Schockniere herbeigeführt werden. Des Weiteren kann eine toxische Situation, wie beim hepatorenenalen Syndrom zu einer Vasokonstriktion im Splanchnikus und damit einhergehender Vasokonstriktion der afferenten Blutgefäße führen.

Auslöser des intrarenalen ANV können interstitielle Erkrankungen wie Infektionen, Medikamentengabe (Penicilline, Cephalosporine, Ciprofloxacin, nichtsteroidale Antiphlogistika, Diuretika) oder die Zuführung von Kontrastmitteln (Nash, et al., 2002) sein. Des Weiteren kann es auch durch glomeruläre Erkrankungen, ausgelöst durch immunologische Faktoren, wie dem Goodpasture-Syndrom, Gasser-Syndrom oder Poststreptokokken-Glomerulonephritis, bedingt sein. Eine weitere mögliche Ursache stellt die Proteinausfällung durch Rhabdomyolyse (Sever, et al., 2002) oder Leichtkettenerkrankungen, mit sekundär renalen Beteiligungen, dar. Auch können HANTA-Virus, HIV und Leptospireninfektionen zum ANV führen.

Im intrarenalen ANV kommt es zur Schädigung der Glomeruli, Tubuli und der Gefäße des Interstitiums (Lameire, et al., 2005). Durch Hypoxie kommt es zum Verlust der Polarität der Tubuluszellen. In der Folge treten häufig morphologische Veränderungen als akute Tubulusnekrosen auf, weshalb das ANV auch oft synonym als ATN (Akute tubuläre Nekrose) bezeichnet wird. Die abgestorbenen Tubuluszellen können in höherem Ausmaß der Schädigung, als Zelldetritus das Lumen des Tubulus okkludieren, was ebenfalls zu einer verminderten Urinausscheidung führt. 75 % aller Fälle des akuten Nierenversagens sind bedingt durch renale Ischämie und nephrotoxische Medikamente (Nash, et al., 2002). Häufig hat das akute Nierenversagen allerdings ein Mischbild mehrerer Ursachen.

Das postrenale ANV kann durch Uretherobstruktion, zum Beispiel durch Steine im Harnleiter, Papillennekrosen, Blutung, Tumoren oder retroperitoneale Fibrosen verursacht werden. Auch eine Blasenaustrittsobstruktion verursacht durch Steine, Tumoren, Infektionen oder Prostataerkrankungen kann ein postrenales ANV bedingen.

2.4 Diagnostik und Therapie des akuten Nierenversagens

Als Parameter zur Diagnostik der Nierenfunktion sind die Kreatinin- und Harnstoffkonzentration in Serum und deren Clearance im Sammelurin, sowie die verminderte Urinausscheidung etabliert. Man spricht von einem ANV bei Anstieg des Serumkreatinins um 0,3 mg/dl (50 %) und einer Reduktion der Urinausscheidung unter 0,5 ml/kg/Std über einen Zeitraum von sechs Stunden. Als frühe Biomarker des ANV haben sich NGAL und KIM-1 etabliert. Sie können bei Schädigung des Nierengewebes in erhöhter Konzentration im Urin nachgewiesen werden.

Der therapeutische Ansatz sieht als Basis supportive Maßnahmen mit engmaschigem klinischem Monitoring, Kontrolle von Blutdruck, zentralem Venendruck, Laborwerten und Gewicht vor. Des Weiteren ist möglicherweise eine Kreislaufstabilisierung durch Gabe von Katecholaminen oder Blutdrucksenkern bei maligner Hypertonie indiziert.

Bei postrenaler Ursache wird zunächst die Obstruktion der ableitenden Harnwege beseitigt, gegebenenfalls durch Schienung, Katheter, Stents oder perkutane Ableitung.

Korrektur des Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes und Anpassung der Medikamentendosierungen an die aktuelle GFR sind notwendig, um eine zusätzlich medikamentös toxische Komponente zu vermeiden bzw. zu therapieren. Falls indiziert sollte eine rechtzeitige Dialysetherapie eingeleitet werden.

2.5 Erläuterung spezieller Wirkmechanismen in der Niere

2.5.1 Organische Anionentransporter

Organische Anionentransporter befinden sich in der basolateralen Membran der Zellen des proximalen Tubulus. Die klassischen renalen Anionentransporter OAT1 und 3 sind unter anderem für den tertiär aktiven Transport (Wright & Dantzler, 2004) von PAH und PGE₂, durch deren basolaterale Internalisierung und apikale Sekretion, zuständig (Kimura, et al., 2002; Wright & Dantzler, 2004). Sie transportieren des Weiteren eine Vielzahl von endogenen Stoffen wie Urat und cAMP, sowie verschiedene Medikamente wie Furosemid und Aspirin. Der aktive Transport von organischen Anionen erfolgt abhängig von einem Natriumgradienten. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt dieser Substratausscheidung ist die basolaterale Aufnahme über OAT1 und 3 (Wright & Dantzler, 2004).

Während einer Ischämiephase der Niere ist die Expression von OAT1 und OAT3 reduziert. Daraus ergibt sich eine entsprechend geringere PAH- und PGE₂-Sekretion. Da die OATs im proximalen Tubulus auch für die Sekretion toxischer Substanzen zuständig sind, steigt bei OAT- Hemmung auch die Konzentration renal exkretionspflichtiger Substanzen im Organismus (Perri, et al., 2003; Van Montfoort, et al., 2003; Sauvant, et al., 2006). Durch die Ischämie-Reperfusionsschädigung ist eine länger anhaltende Verringerung der Sekretionsleistung von OAT1 und 3 zu verzeichnen (Corrigan, et al., 1999)

Da PAH glomerulär filtriert und zu einem sehr hohen Anteil tubulär sezerniert wird, ist die PAH-Clearance, wie schon genannt ein Anhalt für die renale Durchblutung. Aus dieser Größe lässt sich zusätzlich mit Hilfe der Inulin-Sekretion des Glomerulus eine genäherte Sekretionsleistung der Organischen Anionentransporter ermitteln.

2.5.2 Prostaglandin E₂

Prostaglandine sind Gewebshormone, welche durch die Cyclooxygenasen 1 und 2 (COX-1 und 2) aus Arachidonsäure (Eicosatetraensäure) synthetisiert werden (Smith, 1992). Die Cyclooxygenase 1 ist in fast allen Zellen des Körpers vorhanden und ist ständig aktiv. Sie produziert PGE₂, PGF_{2α} und ist an der Bildung des protektiven Magenschleims sowie der Thrombozytenaggregation beteiligt (Whittle, et al., 1978; Funk, et al., 1991).

Die COX wird erst nach Induktion aktiv, die meist durch Entzündungsvorgänge erfolgt (Dubois, 1998; Miller, 2006). Die dann entstehenden Prostaglandine erhöhen die Gefäßpermeabilität, fördern somit den Flüssigkeitsaustritt ins Gewebe (Funk, 2001) und sensibilisieren die Schmerzrezeptoren im betroffenen Gebiet (Ricciotti, et al., 2011). Sie befindet sich in der Niere, im Magen und im Rückenmark (Kam & See, 2000). Im Endothel der Blutgefäße wird sie bei Scherstress synthetisiert (Topper, et al., kein Datum) und produziert Prostacyclin, welches die Thrombozytenaggregationshemmung und eine Vasodilatation hervorruft. Eine selektive Hemmung der COX-2 beeinträchtigt somit auch physiologische Funktionen. PGE₂ kann neben PGI₂ (Prostacyclin) und TXA₂ (Thromboxan A₂) intrarenal gebildet werden (Farman, et al., 1987). Prostaglandine können sehr schnell synthetisiert werden, haben teils gegensätzliche Wirkungen, eine hohe Wirkstärke und eine kurze Halbwertszeit von circa einer Minute, so dass ihre Wirkung lokal begrenzt ist. Durch die mögliche Bindung an vier unterschiedliche G-Protein-gekoppelte Membranrezeptoren (EP1, EP2, EP3 und EP4) kann PGE₂ unterschiedliche Effekte auslösen (Narumiya & FitzGerald, 2001; Beyer & Breyer, 2000).

Die Aktivierung der Rezeptoren EP2 und EP4 löst eine cAMP-Erhöhung aus, sie werden als „- ‚relaxant‘ receptors“ bezeichnet. Der EP1-Rezeptor löst eine Ca²⁺-Erhöhung aus und wird deshalb zur Gruppe der „contractile‘ receptors“ gezählt. EP3 bewirkt eine Senkung des cAMP-Spiegels und wird gehört deshalb zu den „inhibitory‘ receptors“ (Narumiya & FitzGerald, 2001).

Die COX-2 scheint einen großen Einfluss bei der postnatalen Entwicklung der Nieren zu haben. In einer Studie, wurde festgestellt, dass Mäuse, die keine COX-2 besitzen renale Fehlbildungen entwickeln (Dinchuk, et al., 1995; Morham, et al., 1995).

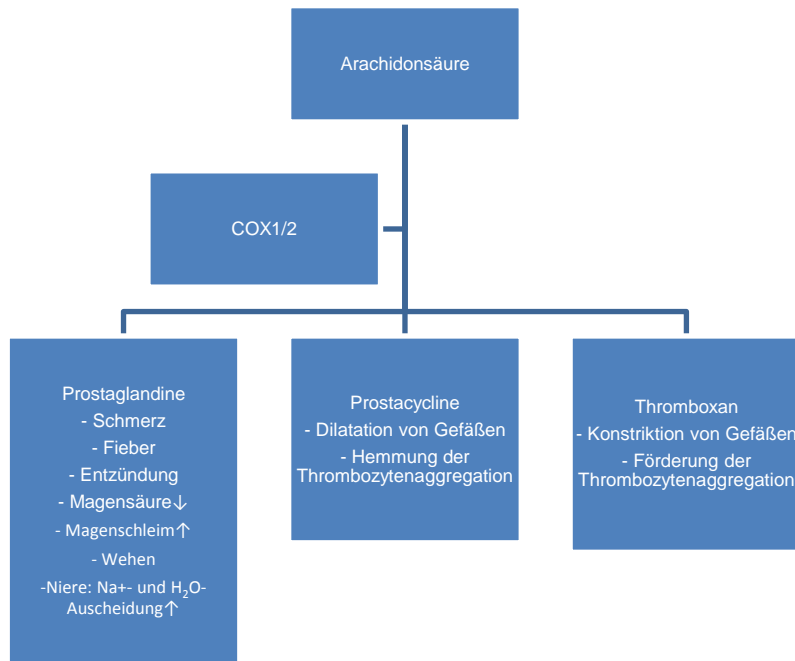


Abb. 2 Arachidonsäuremetabolismus. und Wirkungen der Eicosanoide (Lüllmann, 2003)

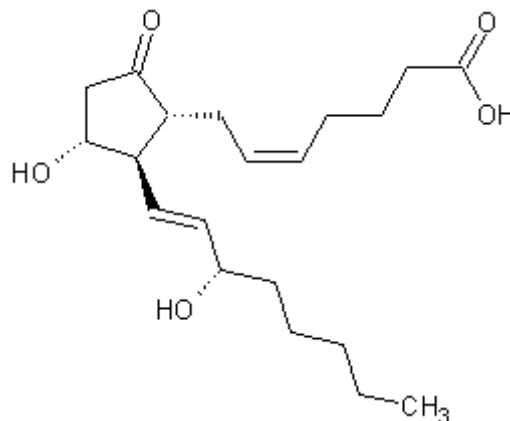


Abb. 3 Chemische Struktur von Prostaglandin E₂ (7-[3-Hydroxy-2-(3-hydroxyoct-1-enyl)-5-oxo-cyclopentyl]hept-5-ensäure) gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In

PGE₂ wird beim ANV vermehrt synthetisiert. PGE₂ kann die Expression der basolateralen Transportproteine für organische Anionen hemmen. Da PGE₂ selbst ein organisches Anion ist, wird die eigene renale Sekretion stark reduziert und es kommt in Verbindung mit der erhöhten Bildung und Aktivität der COX₂ zu einem starken Anstieg des intrarenalen PGE₂. Somit wird möglicherweise die inflammatorische Situation in der Niere verstärkt. Durch diese entzündungsverstärkende Wirkung des PGE₂, könnte die Entstehung von Ischämie-Reperfusionsschäden gefördert werden. PGE₂ hat vermutlich auch einen großen Einfluss auf die Aufrechterhaltung der intrarenalen Hämodynamik im akuten, wie auch chronischen Nierenversagen (Tokuyama, et al., 2002).

PGE₂ führt im Entzündungsprozess zur Erhöhung der Gefäßpermeabilität, und somit zur Gewebeschwellung. PGE₂ ist an der Entstehung der Hypervaskularisierung (Rubor) beteiligt und verstärkt den Schmerz, indem es nozizeptive Nervenendigungen sensibilisiert (Funk, 2001; Ferreira, 1972). Makrophagen und Monozyten können ebenfalls PGE₂ ausscheiden. Durch negative Rückkopplung wird dann die Stärke der Entzündungsreaktion begrenzt. Ein weiterer entzündungseindämmender Effekt von PGE₂ ist die Hemmung der Interleukin-2- und Interferon- γ -Bildung durch die T-Lymphozyten (Betz & Fox, 1991) sowie die Hemmung der Interleukin-1 β -Freisetzung und TNF α -Freisetzung aus Makrophagen (Kunkel, et al., 1986a; Kunkel, et al., 1986b; Kunkel, et al., 1988).

Da ebenfalls diverse Tumorzellen in der Lage sind PGE₂ zu bilden, wird vermutet, dass dadurch das Immunsystem bei Krebspatienten gehemmt wird (Benett, et al., 1977). Es wird beschrieben, dass PGE₂, durch Induktion des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors Gefäßneubildungen hervorrufen kann (Harada, et al., 1994; Ben-Av, et al., 1995), was im Rahmen von Tumorerkrankungen, aber auch im Rahmen einer Organschädigung wie dem akuten Nierenversagen von Bedeutung sein könnte.

PGE₂ ist ein Schlüsselhormon mit vielen funktionellen Einflüssen auf regulative Prozesse, welches in der Nierenrinde gebildet wird (Farman, et al., 1987).

Daneben werden PGI_2 und kleine Mengen TXA_2 gebildet. Das Nierenmark produziert jedoch bis zu 20 Mal mehr PGE_2 als die Nierenrinde (Zusman & Keiser, 1977). Da PGE_2 renal eliminiert wird, kann man von der Konzentration an PGE_2 im Urin auf die PGE_2 -Bildung in der Niere schließen (Patrono & Dunn, 1987).

Das in der Nierenrinde gebildete PGE_2 , sowie Prostacyclin sorgt für eine erhöhte Reninfreisetzung (Osborn, et al., 1984) und somit Blutdruckerhöhung im Organismus.

PGE_2 und Prostacyclin haben in der Niere eine gefäßerweiternde und durchblutungssteigernde Funktion. Die Durchblutung der Nieren ist bei verschiedenen Grundkrankheiten wie Herzinsuffizienz, Leberzirrhose oder Niereninsuffizienz abhängig von PGE_2 und Prostacyclin. Daher besteht bei diesen Patienten das Risiko einer schwerwiegenden Nierendurchblutungsstörung, wenn die Prostaglandinsynthese durch NSAIDs gehemmt wird (Simmons, et al., 2004).

PGE_2 spielt eine große Rolle bei der tubulären Wiederaufnahme von Elektrolyten und Wasser. Es trägt dazu bei den renalen Gefäßwiderstand aufrecht zu erhalten und sichert die glomeruläre Durchblutung. (Kimura, et al., 2002). Somit wird der Erhalt der Nierendurchblutung bei Dehydratation gewährleistet.

PGE_2 sorgt zunächst für eine Aktivierung von OAT1 (Sauvant, et al., 2003) und OAT3 (Soodvilai, et al., 2004), genau wie der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) und mitogen aktivierte Proteinkinasen (Sauvant, et al., 2001). Diese PGE_2 -vermittelte Aktivierung erfolgt über Adenylatcyclase und die Proteinkinase A (Sauvant, et al., 2004; Sauvant, et al., 2002). Bei längerem Einfluss auf die Anionentransporter von 24-72 h bewirkt PGE_2 allerdings eine Hemmung des Transports organischer Anionen in den Zellen des proximalen Tubulus (Sauvant, et al., 2006), durch die Hemmung der Expression von OAT1 und 3. Die halbmaximale inhibitorische Konzentration (IC_{50}) liegt bei ca. 30 nM und

kann bei lokalen Entzündungen durchaus erreicht werden (Sauvant, et al., 2006).

2.6 Die Betablocker Nebivolol und Metoprolol

Nebivolol und Metoprolol sind negativ inotrop, chronotrop, dromotrop, bathmotrop wirkende Medikamente, die zur Gruppe der Betablocker gehören. Betablocker wurden 1964 erstmals durch den britischen Pharmakologen Sir James Black etabliert.

Betablocker hemmen die Funktion der betaadrenergen Rezeptoren. Es gibt β_1 - und β_2 - Rezeptoren. β_1 - Rezeptoren befinden sich am Herzen, in der Niere und im Fettgewebe. Die Gruppe der Adrenorezeptoren wird vor allem durch Adrenalin aktiviert. Am Herzen bewirken sie eine Steigerung der Herzaktivität, die Erweiterung der koronaren Blutgefäße und in den Nieren eine erhöhte Freisetzung von Renin, welches über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System einen blutdrucksteigernden Effekt hat.

β_2 - Rezeptoren befinden sich in der Peripherie. Ihre Aktivierung bewirkt unter anderem eine Entspannung der glatten Muskulatur in Bronchien und Blutgefäßen. Des Weiteren bewirken sie eine vermehrte Insulinausschüttung im Pankreas. Sie fördern somit die Glykogenolyse und Glukoneogenese und erhöhen den Blutzuckerspiegel. Im Fettgewebe fördern sie die Lipolyse.

Nebivolol und Metoprolol sind Betablocker der dritten Generation. Sie sind β_1 -selektiv (kardioselektiv). Durch ihre spezifische Wirkung auf die β_1 -Rezeptoren wird eine Senkung der Herzfrequenz (negativ chronotrop), eine Verlangsamung der Erregungsleitung (negativ dromotrop), eine Senkung der Kontraktionskraft des Herzmuskels und somit eine Senkung des Herzzeitvolumens (negativ inotrop) und eine Reduzierung der Erregbarkeit des Herzens (negativ bathmotrop) bewirkt. Durch die verringerte Reninausschüttung in der Niere, wird eine Blutdrucksenkung induziert.

Für Nebivolol ist zusätzlich beschrieben, dass es eine vasodilatierende Wirkung, durch eine Induktion der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthetase,

(eNOS) hat (Broeders, et al., 2000; Georgescu, et al., 2005). Das so freigesetzte NO wiederum besitzt antientzündliche, antiproliferative, antiatherogene (Atherosklerose reduzierende) und antithrombotische Wirkungen und könnte somit im akuten Nierenversagen positive Effekte hervorrufen.

Nebivolol verliert in höheren Konzentrationen, ab 10 mg absolut, seine Selektivität und wirkt auch am β_2 -Rezeptor (Mangrella, et al., 1998; Prisant, 2008; Moen & Wagstaff, 2006; Weiss, 2006)

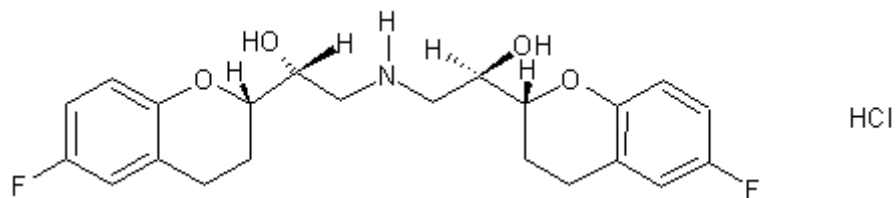


Abb. 4 Strukturformel von d-Nebivolol, gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In

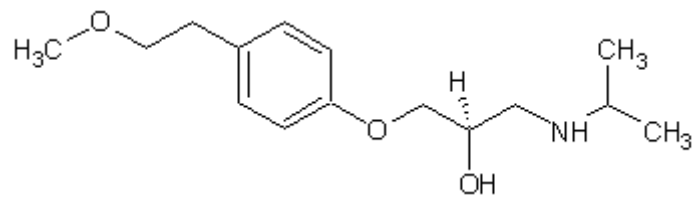


Abb. 5 Strukturformel von (R)- Metoprolol, gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In

3. Aktueller Forschungsstand

Die renale Ischämie und Reperfusion, herbeigeführt durch suprarenales Abklemmen der Aorta, veränderte die intrarenale Ausschüttung von PGE₂ in Nierenmark und Nierenrinde nicht (Myers, et al., 2005). PGE₂ beeinflusst den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Sekretion organischer Anionen durch Hemmung der Expression basolateraler Transportproteine OAT1 und 3 (Sauvant, et al., 2006). Die OATs sind für die Ausscheidung organischer Anionen (wie Paraaminohippurat, Penicillin, Barbiturate, Diuretika) sowie auch PGE₂ selbst zuständig. Durch die Hemmung der OATs wird somit die Ausscheidung von organischen Anionen und PGE₂ reduziert (Schneider, et al., 2009). In einem Ischämie-Modell der Ratte, mit 45 min Ischämie und anschließender Reperfusion, konnte gezeigt werden, dass es im ischämischen ANV zu einer starken Verminderung der PAH-Clearance kommt (Schneider, et al., 2003; Raff, et al., 2005). Außerdem wurde nachgewiesen, dass es im ANV zu einer Verminderung der relativen Expression von OAT1 und 3 kommt (Sauvant, et al., 2004). Es wurde gezeigt, dass die Konzentration an PGE₂ in der Nierenrinde nach einem akuten Nierenversagen erhöht ist (Myers, et al., 2005; Tokuyama, et al., 2003). Da die ischämieinduzierte Expressionsminderung und Exkretionsfunktion von OAT1 und 3 durch den Cyclooxygenaseinhibitor Indomethacin im in-vivo Ischämie-/Reperfusionsmodell wieder vollständig aufgehoben werden konnte, scheint ein PGE₂-vermittelter Effekt vorzuliegen.

Die im Akuten Nierenversagen erhöhte Expression von COX 2 und die verminderte Sekretion von PGE₂ führen zu einem fulminanten Anstieg der PGE₂ –Konzentration in der Niere selbst. Es kommt somit zu einer verstärkten inflammatorischen Situation, aber im Gegenzug auch zu einer verbesserten renalen mikrovaskulären Blutversorgung (Myers, et al., 2005).

Es wurde ebenfalls bereits nachgewiesen, dass die Verminderung der renalen PGE₂ – Konzentration das renale Outcome nach dem inflammatorischen akuten Nierenversagen verbessert (Feitoza, et al., 2005).

4. Methodischer Ansatz

Im Rahmen dieser Studie wurde im Tiermodell ein akutes ischämisches Nierenversagen operativ herbeigeführt. Die Testgruppen bekamen eine Medikation mit den Betablockern Nebivolol oder Metoprolol Tartrat.

Nach 24 h erfolgte die Analyse der durchgeführten Operation, unter anderem durch die Ermittlung von Inulin- und PAH-Clearance. Die postoperativ gewonnenen Urin- und Serumproben wurden mittels eines ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) auf die Höhe der Konzentration an PGE₂ untersucht.

5. Fragestellung

In dieser Studie wurde untersucht, ob die durch Ischämie induzierte Herunterregulation der Sekretion organischer Anionen, wie postuliert, zu einer verminderten Ausscheidung von PGE₂ führt und wie sich die Relation zu Inulin und PAH-Clearance verhält.

Es wurde weiterhin untersucht, ob die Medikation mit Nebivolol oder Metoprolol Tartrat einen positiven Effekt auf das renale Outcome, unter Berücksichtigung des Einflusses auf die PGE₂-Ausscheidung, hat.

6. Durchführung

6.1 Das Tiermodell

Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche CD-Ratten (Sprague Dawley®). Das Körpergewicht betrug zwischen 170 – 200 g. Die Tiere stammten von der Firma Charles River Deutschland GmbH. Alle operativen Eingriffe sowie die Unterbringung der Tiere erfolgten nach den Vorgaben des Tierschutzgesetzes. Die Versuchstiere wurden vor der ersten Operation mindestens 24 Stunden im Tierstall gehalten. Dort herrschte ein Hell-Dunkel-

Zyklus von 12:12 Stunden. Zur Fütterung wurde Standardfutter der Firma Altromin GmbH & CoKG aus Lage/Deutschland gegeben. Des Weiteren erhielten sie Trinkwasser ad libitum.

6.2 Operationsverfahren

Die Operationen wurden von einem versierten Operateur der Induktion des akuten Nierenversagens im Tiermodell durchgeführt. Die Tiere wurden hierbei zweizeitig operiert. In der ersten Operation (Induktionsoperation) wurde ein ANV herbeigeführt. Die zweite Operation (Entnahmeoperation und Probengewinnung) diente zu Analyse-zwecken.

Bei den Control Tieren wurde nur die Entnahmeoperation durchgeführt. Bei den anderen Tieren wurde die Induktionsoperation mit definierter Ischämie der Niere und Gabe von Nebivolol oder Metoprolol Tartrat durchgeführt.

Des Weiteren wurde in der Sham-Gruppe die Induktionsoperation ohne Herbeiführen einer Ischämie der Nieren durchgeführt.

Die Narkose erfolgte mit Ketavet 10 mg/kg KG (Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen/Deutschland) und Rompum 100 mg/kg KG (Bayer Vital GmbH, Aachen/Deutschland), welche intraperitoneal injiziert wurden.

Zunächst wurden die Tiere gewogen, die Flanken rasiert und anschließend in Seitenlage auf einer Wärmeplatte (Typ 12511 Medax, Nagel GmbH Kiel/Deutschland) fixiert. So wurde eine konstante Körpertemperatur von 37 °C gewährleistet. Um die Augen vor dem Austrocknen zu schützen, wurden sie mit Bepanthenalbe Firma La-Roche AG abgedeckt. Die Desinfektion des Operationsgebietes erfolgte mit Braunol (B. Braun Melsungen AG, Melsungen/Deutschland).

Als erster Schritt erfolgte die paravertebrale Eröffnung mittels eines 2 cm langen Schnittes und das Einsetzen eines Retraktors. Die Niere wurde sorgsam aus ihrer Fettkapsel gelöst. Die Arteria renalis wurde dargestellt und mit einem Ligaturfaden umschlungen. Für die Zeit der Operation auf der kontralateralen

Seite wurde das Wundgebiet mit einem sterilen Pflaster (Tefaderm, 3M Health Care, Neuss/Deutschland) abgedeckt.

Nach der Präparation der kontralateralen Arteria renalis wurden beide Arterien mittel Klemmen (Biemer Mikro Clip 8mm Seidel/Deutschland) über die Ligaturfäden abgeklemmt, so dass die Perfusion unterbrochen wurde (Clamp). Die Dauer des Clamps betrug 45 Minuten. Bei den Clamp-Tieren wurde nach 25 Minuten 250 µl/100g KG NaCl 0,9 % intraperitoneal injiziert. Zehn Minuten vor Lösen der Arterienklemmen erfolgte die Gabe von Nebivolol und Metroprolol Tartrat. Dieselben Injektionen erfolgten auch bei den Sham-Tieren, bei diesen wurde lediglich das Abklemmen der Arteriae renales und die Gabe der Betablocker unterlassen. Nach 45 Minuten wurden die beiden Klemmen entfernt und die Wunde wieder verschlossen, mit Braunol desinfiziert und mit Kompressen abgedeckt. In der Aufwachphase wurden jedem Tier 200 µg/100g KG Tramal (Grünenthal GmbH, Aachen/Deutschland) als Schmerzprophylaxe und 250 µl/100g KG NaCl 0,9 % subkutan verabreicht. Im Rahmen der Entnahmeoperation wurde das Tier gewogen, analog zur Voroperation narkotisiert und anschließend in Rückenlage auf einer Wärmeplatte fixiert. Danach wurde die Vena inguinalis eröffnet und ein vorher heparinisierter (Liquimin N25000 Hoffmann-La Roche AG, Eisenach/Deutschland) Katheter (Polyethylen, 1 mm, Außendurchmesser) eingebracht und fixiert. Es wurde einmalig eine PAH-Inulin-Infusion von 15 ml/100g KG einer PAH-Inulin-Infusion (0,4 mg PAH und 2,4 mg Inulin in 1 ml NaCl) mittels Perfusor (Braun Melsungen AG/Deutschland) mit 0,12 ml/min infundiert. Nun erfolgte die Freilegung der Harnblase mittels eines ca. 1 cm langen Schnittes proximal der Symphyse. Die Harnblase wurde durch einen ca. 2 mm langen Schnitt eröffnet, um einen Urinkatheter einzubringen. Nach ca. 30 Minuten und Erreichen der Äquilibrationsphase wurde eine Messpipette an den Blasenkatheter angebracht. Nun wurde 20 Minuten lang Urin abgenommen. Dieser wurde in ein Reagenzglas gefüllt und abzentrifugiert.

Abschließend erfolgte die finalisierende Analgosedierung mittels Pentobarbital.

Nun konnte die Entnahme der Proben erfolgen, wie Punktion der Aorta abdominalis. Das Blut wurde in heparinisierten Glasröhrchen gesammelt und sofort zentrifugiert (10 min bei 4000 u/min bei 5 °C Megafuge 1.OR, Firma Heraeus, Osterode/Deutschland). Die Serum- und Urinproben wurden bei -20 °C eingefroren.

6.3 Medikation mit Nebivolol und Metoprolol Tartrat

Die Tiere in den Clamp mit Nebivolol und Clamp mit Metoprolol Tartrat-Gruppen erhielten zehn Minuten vor Lösen der Gefäßklemmen, noch während- der bereits erzeugten 35-minütigen Ischämie 2,5 mg, 5 mg oder 10 mg Nebivolol beziehungsweise 47,5 mg des vergleichenden Betablockers Metoprolol Tartrat.

6.4 Unterteilung der Testgruppen

Gruppenbezeichnung	Behandlung
Control	Kontrollgruppe ohne Behandlung
Sham	Induktionsoperation ohne Abklemmen der Nierenarterien
CI-0	Induktionsoperation mit Abklemmen der Nierenarterien
CI-Nb2,5, CI-Nb5, CI-Nb10 CI-Mp	wie Clamp-Gruppe plus zusätzlich Gabe von Nebivolol in drei Konzentrationen und Metoprolol Tartrat.

Abb. 6 Unterteilung der Testgruppen

Die Versuchstiere wurden in fünf Testgruppen eingeteilt. Die Tiere in der Kontrollgruppe wurden nur der Entnahmeoperation unterzogen. Bei der Sham-Gruppe (Sham: englische Bezeichnung für Scheinoperation) wurde der Ablauf der Induktionsoperation durchgeführt ohne jedoch ein akutes Nierenversagen

herbeizuführen. Bei der CI-0-Gruppe (CI steht für Clamp: englische Bezeichnung für Abklemmen) wurde die Induktionsoperation mit Abklemmen der Nierenarterien und die Entnahmeoperation nach 24 Stunden durchgeführt.

Die CI-Nb2,5 wurde zusätzlich zur Clamp-Operation mit 2,5 mg Nebivolol behandelt. Die CI-Nb5 - bekam 5 mg Nebivolol, und die CI-Nb10 bekam 10 mg Nebivolol. Die Gruppe mit der Bezeichnung CI-Mp bekam 47,5 mg Metoprolol Tartrat zusätzlich zur durchgeführten Clamp-Operation. Nach 24 h erfolgte die Entnahmeoperation.

6.5 Untersuchung der Urin- und Serumproben

6.5.1 Inulin-Clearance

Die Inulin-Clearance wurde ebenfalls durch den Operateur Martin Otremba ermittelt.

Die Inulin-Clearance errechnet sich aus

$$\text{Inulin - Clearance} = \frac{c(\text{Inulin}_{\text{Urin}}) * V}{c(\text{Inulin}_{\text{Plasma}}) * t}$$

$c(\text{Inulin}_{\text{Urin}})$ = Inulin-Konzentration im Urin [mg/ml]

$c(\text{Inulin}_{\text{Plasma}})$ = Inulin-Konzentration im Plasma [mg/ml]

V = Harnvolumen [ml]

t = Zeit [min]

Die Inulin-Clearance entspricht in etwa der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und sie wird in der Einheit ml/min angegeben. Die GFR ist Ausdruck der Filtrationsleistung aller Nephrone der Niere. Sie beträgt beim Menschen ca. 120 ml/min/1,73 m² Körperoberfläche oder ca. 180 l/Tag (Silbernagl & Despopoulos, 2001).

Um die Inulin-Konzentrationen im Urin und Serum zu bestimmen wurde jede Einzelprobe 1:500 in Meßpuffer (TES 1,15 g, MES 1,0 g, 1 l Aqua dest., 1N Natronlauge, pH 7,4) verdünnt und am Fluoreszenz-Photometer (Victor² 1420

Multilabel counter, Wallac Oy, 20101 Turku/Finnland) mit einer Wellenlänge von 480 nm gemessen. Die gemessene Emissionswellenlänge betrug 520 nm.

Ist die Clearance reduziert, ist dies ein Zeichen für Niereninsuffizienz.

6.5.2 PAH-Clearance

Da para-Aminohippurat (PAH) von der Niere frei filtriert und in einem sehr hohen Prozentsatz sezerniert wird, entspricht die mit dem Urin ausgeschiedene PAH-Menge näherungsweise der auf arterieller Seite beider Nieren angebotenen PAH-Menge. Die Sekretion erfolgt mittels OAT1 und 3.

Daraus ergibt sich, dass die PAH-Clearance bei uneingeschränkter Nierenfunktion in Annäherung dem renalen Plasmafluss gleichgesetzt werden darf.

Die PAH-Clearance errechnet sich aus

$$PAH - Clearance = \frac{c(PAH_{Urin}) * V}{c(PAH_{Plasma}) * t}$$

$c(PAH_{Urin})$ = PAH-Konzentration im Urin [mg/ml]

$c(PAH_{Plasma})$ = PAH-Konzentration im Plasma [mg/ml]

V = Harnvolumen [ml]

t = Zeit [min]

Die Einheit der PAH-Clearance ist ebenfalls ml/min. Die Bestimmung erfolgte durch den Operateur. Um die Konzentrationen von PAH im Urin und Serum zu bestimmen, wurden die durch Perchlorsäure denaturierten Proben in mehreren Schritten nach der modifizierten Anthron-Methode mit Azokopplung zu einem stabilen Azofarbstoff verarbeitet. Dabei bildete die Kupplungsreagenz mit dem farblosen PAH einen violetten Komplex, der im Photometer (MRX Dynatech Deutschland GmbH, Deulendorf, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 550 nm gemessen werden konnte. Die Farbintensität des violetten Komplexes war Ausdruck der PAH-Konzentration.

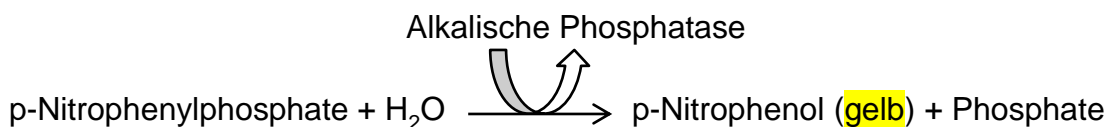
Wie schon bei der Inulinmessung wurde auch bei der PAH-Messung eine normierte Standardreihe zur Mengen- und Konzentrationsbestimmung verwendet. Ist die PAH-Clearance reduziert, ist dies ein Zeichen für Niereninsuffizienz.

6.5.3 Prostaglandin E₂-Messung

Zur Bestimmung der PGE₂-Konzentration in Urin und Serum wurde das Correlate-EIA PGE₂ Enzyme Immunosorbent Kit der Firma Assay Designs (Ann Arbor, Michigan 48108/USA) gewählt. Dieser Test ist sensitiv auf kleinste PGE₂ Mengen (13,4 pg/ml) im Probenmaterial und spezifisch für Urinproben von Ratten getestet.

Es handelt sich hierbei um einen kompetitiven Elisa (Enzyme linked immunosorbent assay). Die Testplatte hat in ihren Vertiefungen (Wells) einen Antikörper (coat antibody) gebunden, der spezifisch an PGE₂ bindet. Nach Zugabe der Proben und eines markierten Kompetitor-Antigens (blaues Konjugat), das ebenfalls an den Well-Antikörper bindet, wird die Platte inkubiert. Nach dem Waschen der Platte sind in den Wells nur noch die Antikörper-PGE₂ und Antikörper-Kompetitorantigen Verbindungen vorhanden.

Das Kompetitor-Antigen hat ein Markerenzym (alkalische Phosphatase= ALP) gebunden, welches das Substrat para-Nitrophenylphosphat zu para-Nitrophenol umsetzt und einen gelben Farbumschlag bewirkt. Je weniger PGE₂ in den Proben enthalten ist, desto mehr Kompetitor-Antigen kann binden und die gelbe Farbintensität ist stärker ausgeprägt (Goldsby, R.A., Kindt, T.J., Osborne, B.A. & Kuby, J.,2003).



Zur Durchführung des ELISAs wurde eine Standardreihe angesetzt. Dazu wurde in Glasröhrchen Assay Puffer (Tris buffered saline) und in entsprechenden Verdünnungsfractionen Standardlösung pipettiert.

Anschließend wurden 100 µl Assay Puffer in NSB (Non specific bounding) und die jeweiligen Standards doppelt in benachbarte Wells pipettiert. Die zu untersuchenden Proben wurden 1:10 mit Assay Puffer verdünnt und 100 µl auf die Testplatte doppelt aufgetragen. 50 µl Assay Puffer wurde in NSB wells einpipettiert.

50 µl blue PGE₂-Conjugate wurden in jedes Well, außer TA (Total Activity) und Blank einpipettiert. 50 µl gelber monoklonaler PGE₂-Antikörper in alle, außer Blank, TA (beide farblos) und NSB (blau) → alle anderen Wells waren nun grün. Dann wurde die Platte zwei Stunden bei Raumtemperatur auf dem Plattenrüttler inkubiert und anschließend ausgeleert.

Nach dieser Einwirkzeit wurde der Waschpuffer (tris buffered saline mit Detergenzien) zugefügt, und die Wells anschließend dreimal gewaschen.

Daraufhin wurden 5 µl blue Conjugate zu den Wells total activity und 200 µl pNpp (=p-nitrophenyl Phosphat in Pufferlösung) zu allen Wells zugegeben. Nach Herstellerangaben wurde 45 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Als Stopplösung wurde eine vorgegebene Lösung von Trisodium Phosphat in H₂O zugegeben.

Das Messen der Farbintensität erfolgte mit dem Spektrographen Spectra Rainbow (Firma Tecan, Crailsheim, Deutschland), Readertyp Rainbow. Die Messung erfolgte 5 s bei 20 °C und einer Wellenlänge von 405 nm. Der Referenzfilter entsprach 570 nm.

Die Auswertung der Daten erfolgte mittels SigmaPlot (Systat Software Inc., San José, Kalifornien/USA) und Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Germany).

Außerdem wurde die PGE₂-Clearance wie folgt berechnet.

$$PGE_2\text{-Clearance} = \frac{c[PGE_2\text{Urin}] * V_{Urin}}{c[PGE_2\text{Serum}] * t}$$

Clearance = [ml/min]

V_{Urin} = Urinmenge [ml]

t = 20 [min]

$c [PGE_2\text{Urin}]$ = PGE_2 -Konzentration im Urin [pg/ml]

$c [PGE_2\text{Serum}]$ = PGE_2 -Konzentration im Serum [pg/ml]

7. Ergebnisse und statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit MEDAS (C. Grund, Margetshöchheim, 2016). Das Signifikanzniveau wurde nach den allgemein üblichen Werten festgelegt mit $p < 0,05$ = signifikant (*) und $p > 0,05$ = nicht signifikant.

7.1 Die Versuchsgruppen

Diese Studie beschreibt 49 Tiere, die in sieben verschiedene Gruppen unterteilt wurden. Die Gruppen unterscheiden sich in der durchgeführten Behandlung. Die Control Gruppe ist mit neun Tieren die größte Gruppe, Clamp mit fünf Tieren die kleinste Gruppe.

Operationsmethode	Anzahl	%
Control	9	18.37
Sham	8	16.33
Cl-0	5	10.20
Cl-Nb2,5	8	16.33
Cl-Nb5	7	14.29
Cl-Nb10	6	12.24
Cl-Mp	6	12.24

Tab. 1 Anzahl und Prozentsatz der Tiere nach Operationsmethoden

Die Kontrollgruppe dient als Referenzwert, da diese Tiere nur der Entnahmeoperation unterzogen wurden. Die Tiere der Sham-Gruppe waren neben der Entnahmeoperation auch noch dem Narkosestress bei der Scheinoperation, ohne Clamping der Arteriae renales und anschließender Reperfusion, ausgesetzt. Alle Tiere, die einer operativen Ischämie unterzogen wurden, werden in der Folge als Clamp-Gruppen bezeichnet. Diese wurden eingeteilt in eine Gruppe ohne Medikation und in Clamp-Gruppen mit unterschiedlichen Medikationen (2,5 mg, 5 mg, 10 mg Nebivolol und 47,5 mg Metoprolol Tartrat).

7.2 Urinmengen

Gruppe	n	MW	ST	Urinmenge [ml/20 min]		
				Median	68 %-CI	p
Control	9	1.00333	0.466744	1,000	0,557	1,445
Sham	8	0.87125	0.530537	0,825	0,354	1,359
CI-0	5	0.95600	0.483870	0,840	0,635	1,297
CI-Nb2,5	8	0.85500	0.491644	0,750	0,549	1,146
CI-Nb5	7	0.66143	0.603612	0,450	0,209	1,029
CI-Nb10	6	0.77500	0.632922	0,730	0,190	1,197
CI-Mp	6	0.36667	0.183376	0,300	0,210	0,555

Tab. 2 Gesammelte Urinmenge nach 20 min. MW= Mittelwert, ST= Standardabweichung, p aus der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis

Es zeigt sich global kein Unterschied der Urinmenge zwischen den Gruppen. Die mit durchschnittlich ca. 0,37 ml kleinste Urinmenge pro 20 Minuten Sammelzeit zeigt die CI-Mp-Gruppe. Der höchste Durchschnittswert wurde mit 1,00 ml bei den unbehandelten Control-Tieren gemessen.

Median Urin [ml/20 min]

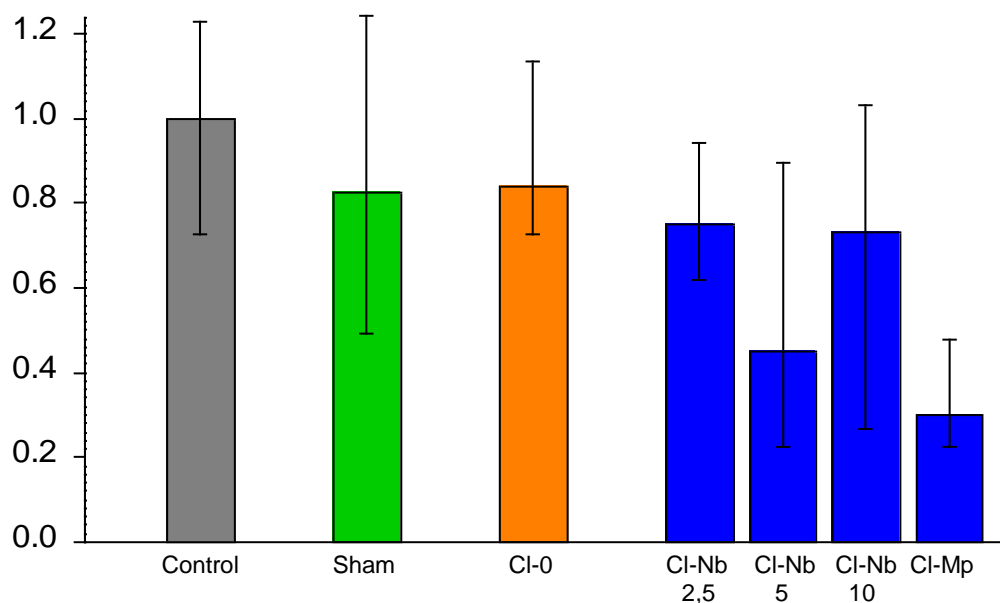


Abb. 7 Mediane der Urinmenge pro 20 Minuten in den verschiedenen Untersuchungsgruppen

7.3 PAH- und Inulin-Clearance

Die PAH- und Inulin-Clearance wurden aus einer vorangegangenen Analyseserie übernommen.

Gruppe	n	PAH-Clearance [ml/min]					p
		MW	ST	Median	68 %-CI		
Control	8	2.13125	1.449911	1.580	1.174	2.668	
Sham	6	2.12667	0.648280	2.050	1.466	2.835	
CI-0	4	0.22000	0.152315	0.170	0.119	0.326	
CI-Nb2,5	7	0.81286	0.659867	0.770	0.218	1.498	0.00079***
CI-Nb5	6	0.36500	0.196036	0.335	0.225	0.494	
CI-Nb10	5	0.25800	0.206567	0.290	0.046	0.448	
CI-Mp	5	0.73000	0.750999	0.320	0.142	1.536	

Tab. 3 PAH-Clearance

Die PAH-Clearances der einzelnen Gruppen sind hochsignifikant verschieden. Es ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen der Control- und der Sham-Gruppe. Ebenfalls konnte kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den fünf Clamp-Gruppen dargestellt werden.

Mediane der PAH-Clearance [ml/min]

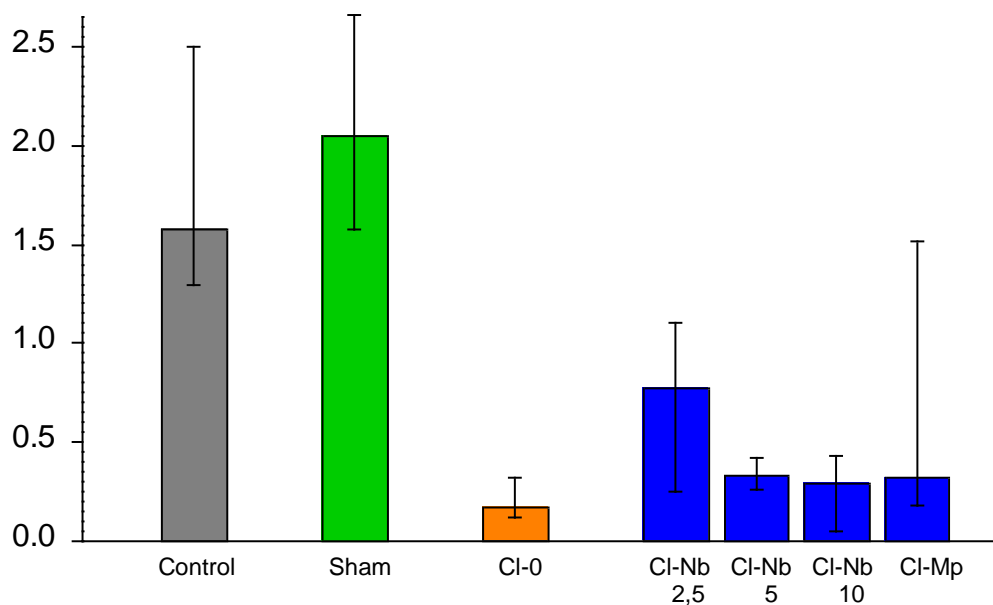


Abb. 8 Darstellung der Mediane der PAH-Clearance

Die PAH- Clearance sinkt bei den Clamp-Gruppen im Vergleich zu Control und Sham-Gruppe deutlich ab. Wobei die mit 2,5 mg Nb behandelte Gruppe unter den Clamp-Gruppen im Median die höchste PAH-Clearance aufweist.

Gruppe	Inulin-Clearance [ml/min]					
	n	MW	ST	Median	68 %-CI	p
Control	8	0.65625	0.408969	0.465	0.381	0.901
Sham	6	0.56167	0.116862	0.540	0.470	0.655
CI-0	4	0.05750	0.028723	0.045	0.040	0.076
CI-Nb2,5	4	0.35000	0.147648	0.345	0.237	0.463
CI-Nb5	6	0.15667	0.098522	0.140	0.060	0.252
CI-Nb10	5	0.09000	0.067454	0.110	0.020	0.145
CI-Mp	5	0.22600	0.206228	0.130	0.067	0.436

Tab. 4 Inulin-Clearance

Die Inulin-Clearances der einzelnen Testgruppen unterscheiden sich hochsignifikant voneinander. Im Vergleich der Gruppen zwischen Control und Sham ergab sich kein signifikanter Unterschied. Zwischen den fünf Clamp-Gruppen besteht ein signifikanter Unterschied mit $p = 0.047^*$. Unter den vier mit Nb und Mp behandelten Clamp-Gruppen zeigt sich kein Unterschied.

Mediane der Inulin-Clearance [ml/min]

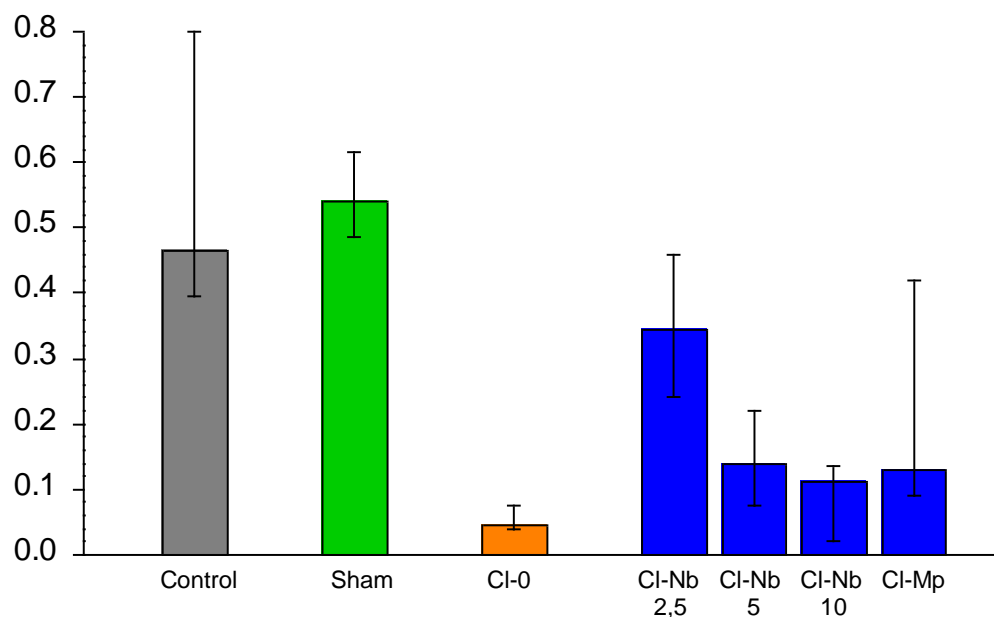


Abb. 9 Darstellung der Mediane Inulin-Clearance

Die unbehandelte Clamp-Gruppe hat die niedrigste Inulin-Clearance. Im Vergleich zu den ebenfalls verminderten Inulin-Clearances der mit Nb und Mp behandelten Clamp-Gruppen hat die Gruppe mit 2,5 mg Nebivolol die höchste Inulin-Clearance.

7.4 PGE₂-Clearance

Gruppe	n	PGE ₂ -Clearance [ml/min]				p
		MW	ST	Median	68 %-CI	
Control	5	0,044	0,021	0,051	0,022	0,060
Sham	6	0,024	0,022	0,018	0,008	0,039
CI-0	5	0,004	0,001	0,003	0,003	0,005
CI-Nb2,5	7	0,029	0,029	0,019	0,007	0,046
CI-Nb5	6	0,007	0,003	0,008	0,003	0,009
CI-Nb10	5	0,003	0,002	0,003	0,002	0,005
CI-Mp	4	0,008	0,003	0,008	0,005	0,010

Tab. 5 PGE₂-Clearance

Die PGE₂-Clearance ist bei CI-Nb10 mit 0,003 ml/min im Durchschnitt am kleinsten und in der Control-Gruppe mit 0,044 ml/min am höchsten. Bei den Medianen stellen sich CI-0 und CI-Nb10 als die niedrigsten Werte und die Control-Gruppe mit 0,051 als höchster Wert dar. Es zeigt sich zwischen allen Gruppen ein signifikanter Unterschied von 0,021.

Mediane der PGE₂-Clearance [ml/min]

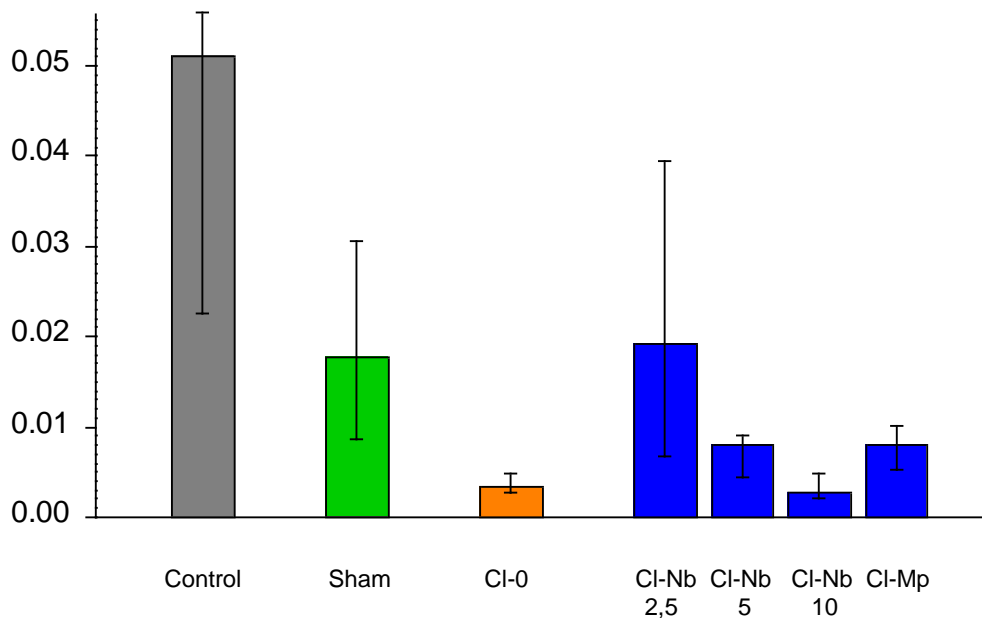


Abb. 10 Darstellung der Mediane PGE₂-Clearance

Die PGE₂-Clearance sinkt bei der Sham-Gruppe ab. Am niedrigsten ist sie bei Clamp und CI-Nb10.

7.5 PGE₂-Konzentration in Urin und Serum

Gruppe	n	MW	PGE ₂ im Urin [pg/ml]			p
			ST	Median	68 %-CI	
Control	9	8999.54	8.4·10 ³	5131.320	3971.528 17738.715	
Sham	8	7292.46	1.0·10 ⁴	2700.575	1063.033 10834.508	
CI-0	5	820.83	5.5·10 ²	579.510	562.497 1040.147	
CI-Nb2,5	8	3588.47	3.5·10 ³	1842.050	697.790 8126.846	0.011*
CI-Nb5	7	1740.91	1.1·10 ³	1211.440	721.469 2681.292	
CI-Nb10	6	3301.19	2.7·10 ³	2963.280	694.958 5830.696	
CI-Mp	6	2023.00	9.1·10 ²	1779.595	1445.738 2666.289	

Tab. 6 PGE₂-Konzentration im Urin

Die Konzentration an PGE₂ in den Urinproben war bei der CI-0-Gruppe mit durchschnittlich 820,83 pg/ml am geringsten und in der Referenzgruppe mit 8999,54 pg/ml am höchsten. Unter den mit steigenden Nebivolol-Konzentrationen behandelten Tieren, stellt sich die CI-Nb5-Gruppe mit 1740,91 pg/ml PGE₂, als die Gruppe mit der niedrigsten PGE₂-Konzentration heraus. Die Clamp-Gruppen liegen mit ihren Mittelwerten der PGE₂-Konzentrationen alle deutlich unter den Konzentrationen der Control und der Sham-Gruppe. Betrachtet man allerdings die Mediane, so zeigt sich, dass der Median von CI-Nb10 knapp über dem Median der Sham-Gruppe liegt.

Es zeigt sich zwischen Control und Sham mit $p = 0.081$ kein signifikanter Unterschied. Die Sham-Gruppe unterscheidet sich mit $p = 0.053$, auch knapp nicht signifikant von der CI-0-Gruppe. Die fünf Clamp-Gruppen zeigen mit $p = 0.18$ keinen signifikanten Unterschied. Insgesamt zeigt sich ein signifikanter Unterschied aller Gruppen mit $p = 0,011$ in der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.

Mediane PGE₂ im Urin [pg/ml]

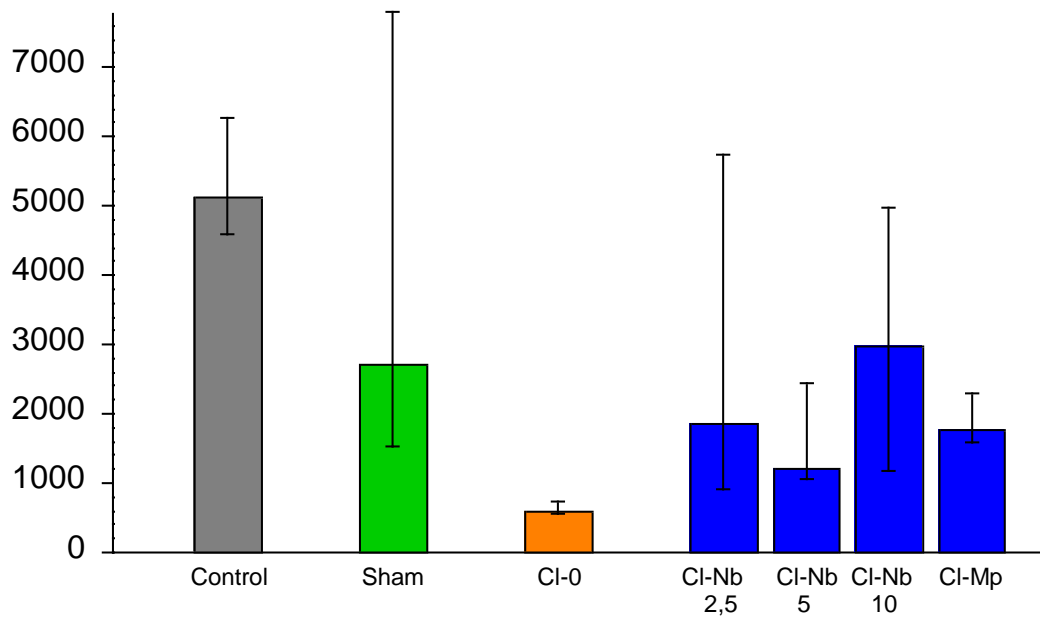


Abb. 11 Darstellung Mediane der PGE₂-Konzentration im Urin.

Die PGE₂-Konzentration ist bei der Control-Gruppe am höchsten. Ein leichter Rückgang ist bei der Sham-Gruppe zu sehen. Deutlich sinkt die PGE₂-Konzentration im Urin bei der Clamp-Gruppe ab.

Die Tiere, denen neben der Clamp-Operation Nebivolol verabreicht wurde, liegen zwischen den Clamp- und Sham-Gruppen, wobei die CI-Nb5 den niedrigsten PGE₂-Median aufweist. CI-Mp ist im Median in etwa mit der CI-Nb2,5 vergleichbar.

Gruppe	n	MW	PGE ₂ im Serum [pg/ml]				p
			ST	Median	68 %-CI		
Control	9	164207	4.3·10 ³	8801.060	5931.407	26352.879	
Sham	7	12889	1.4·10 ⁴	6432.325	5255.391	21183.322	
CI-0	5	9265	3.9·10 ²	8604.210	6989.956	11590.583	
CI-Nb2,5	8	160385	4.4·10 ³	5845.320	4002,513	11524.706	0.096
CI-Nb5	7	20347	3.8·10 ³	6273.350	5453.168	12527.514	
CI-Nb10	6	226932	5.0·10 ³	28142.785	12799.641	289937.964	
CI-Mp	6	14407	2.4·10 ²	5880.665	3198.663	18045.290	

Tab. 7 PGE₂-Konzentration im Serum

CI-0 hat den niedrigsten MW mit 9265 pg/ml. CI-Nb10 hat mit 226932 pg/ml den höchsten Mittelwert. Betrachtet man die Mediane, so hat CI-Mp den niedrigsten und die CI-Nb10 ebenfalls den höchsten Wert. Der Unterschied zwischen Control und Sham-Gruppe ist mit $p = 0.30$ nicht signifikant. Die Sham-Gruppe unterscheidet sich nicht signifikant von CI-0 mit $p = 0,32$. Die fünf Clamp-Gruppen hingegen unterscheiden sich mit $p=0.049^*$ signifikant voneinander. Die drei Extremwerte traten auf in den Gruppen Control, CI-Nb2,5 und CI-Nb10.

Mediane PGE₂ im Serum [pg/ml]

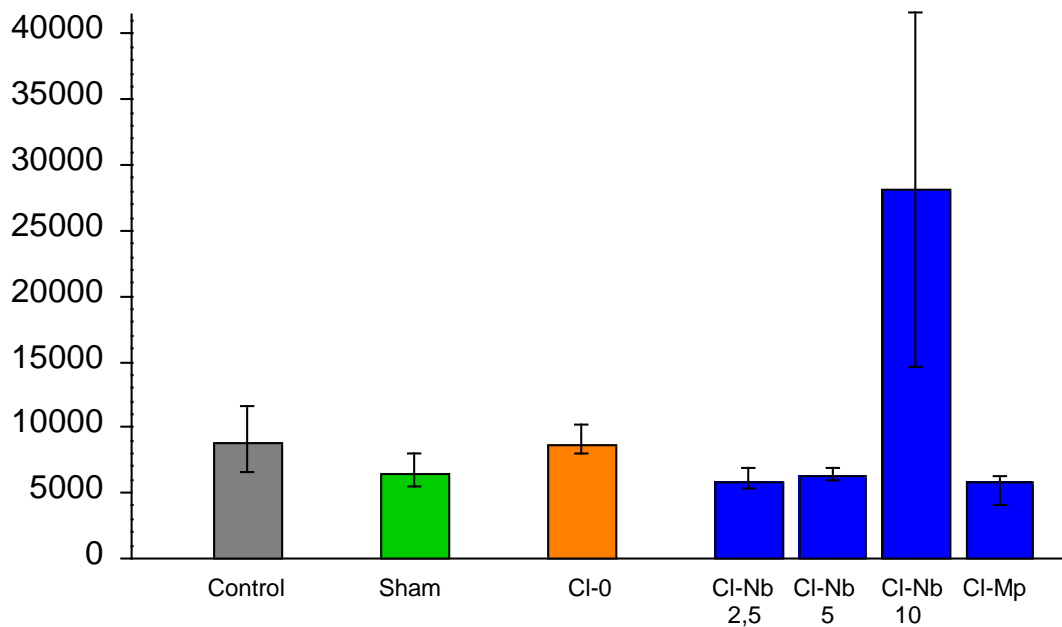


Abb. 12 Darstellung der Mediane der PGE₂-Konzentration im Serum

Im Serum sollte sich kein großer Unterschied zwischen den Gruppen zeigen. CI-Nb10 weist hier einen unerwartet hohen Wert auf.

7.6 Inulin-Konzentration im Urin

Gruppe	n	Inulin im Urin [$\mu\text{g/ml}$]					p
		MW	ST	Median	68 %-CI		
Control	9	4430,92	2051,59	3887,47	2738,694	5483,047	0,1
Sham	8	4185,29	2073,91	3766,42	2197,387	6312,21	
CI-0	5	1700,01	583,53	1329,59	1285,414	2227,254	
CI-Nb2,5	8	3923,59	3042,47	3187,145	1649,642	4974,316	
CI-Nb5	7	4476,31	3692,95	3629,44	1282,288	8185,997	
CI-Nb10	6	2367,18	1028,93	2310,665	1352,085	3240,399	
CI-Mp	6	3545,44	1806,21	3684,49	1812,373	5410,155	

Tab. 8 Inulin-Konzentration im Urin

Mediane der Inulin-Konzentration im Urin [$\mu\text{g/ml}$]

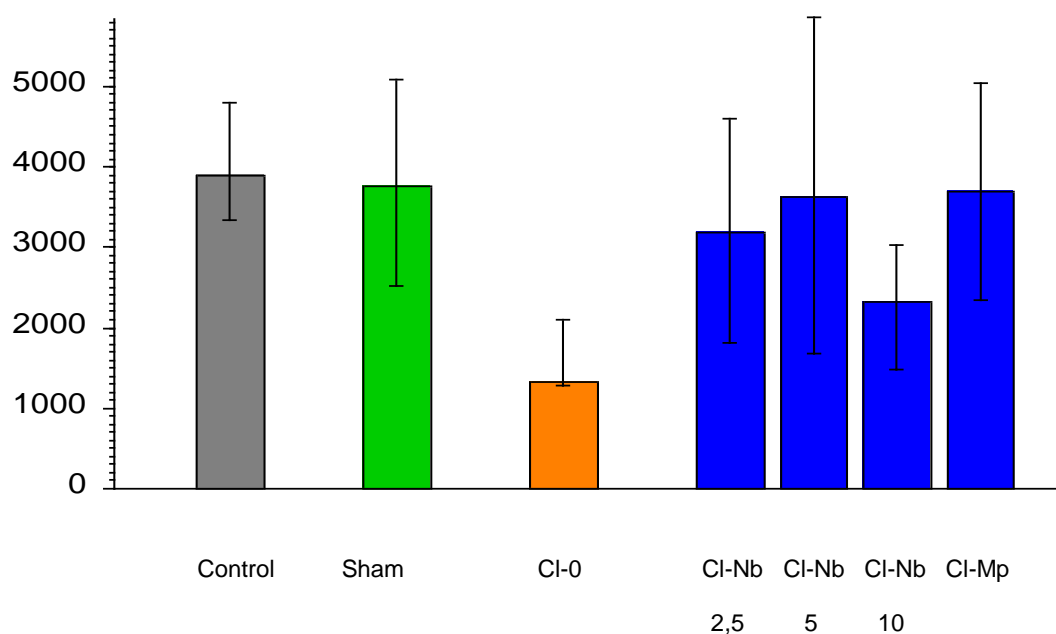


Abb. 13 Darstellung der Mediane der Inulin-Konzentration im Urin

Die Inulin-Konzentration im Urin ist bei CI-0 deutlich am niedrigsten, gefolgt von CI-Nb10. Die anderen Gruppen liegen in etwa auf einer Höhe.

7.7 Quotient aus PGE₂- und Inulin-Konzentration im Urin (Versuchsgruppen versus Sham-Gruppe)

Um die Nierenfunktion genauer zu quantifizieren, wurde die Konzentration von PGE₂ und Inulin im Urin zueinander ins Verhältnis gesetzt. Anschließend wurden die Quotienten der einzelnen Gruppen dem Quotienten der Sham-Gruppe gegenübergestellt.

	n	MW *10 ⁻⁹	ST *10 ⁻⁹	Median *10 ⁻⁹	68 %-CI *10 ⁻⁹		P _x
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,13
Control	9	0,191	0,109	0,164	0,085	0,296	
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,2
CI-0	5	0,049	0,025	0,045	0,034	0,062	
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,83
CI-Nb2,5	8	0,118	0,147	0,051	0,029	0,167	
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,14
CI-Nb5	7	0,056	0,037	0,049	0,021	0,075	
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,26
CI-Nb10	6	0,142	0,092	0,179	0,029	0,212	
Sham	8	0,14	0,147	0,124	0,028	0,157	0,71
CI-Mp	6	0,083	0,068	0,053	0,032	0,162	0,13

Tab. 9 Quotienten [PGE₂]_{Urin}/[Inulin]_{Urin}

Den höchsten Mittelwert weist die Control-Gruppe mit 0,191 auf. Die zweithöchsten Mittelwerte zeigen die Sham- und die CI-Nb10-Gruppen mit 0,14. Gefolgt von CI-Nb2,5 mit 0,118. Die niedrigsten Mittelwerte beim Quotienten zeigen die Gruppen CI-Mp mit 0,083, CI-0 und CI-Nb5 mit 0,05.

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen und Sham. Die Gesamtsignifikanz aller Gruppen ist mit 0,094 auch nicht signifikant.

Mediane Quotient $[PGE_2]_{\text{Urin}}/[Inulin]_{\text{Urin}} * 10^{-9}$

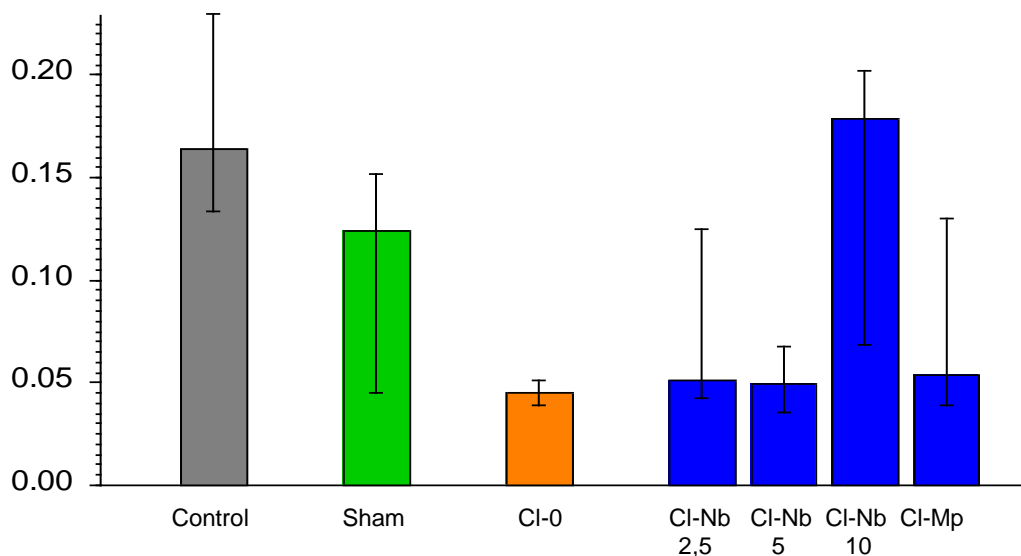


Abb. 14 Mediane Quotient $[PGE_2]_{\text{Urin}}/[Inulin]_{\text{Urin}} * 10^{-9}$

Im Vergleich zum Median des Quotienten der Control-Gruppe liegt der Median des Quotienten der CI-Nb10-Gruppe leicht höher, gefolgt von der Sham-Gruppe. Alle anderen Clamp-Gruppen haben einen niedrigeren Quotientenmedian mit ca. 0,05. Der Verlauf des Quotienten ähnelt dem Verlauf der PGE_2 -Konzentration, da die Inulin-Konzentration im Urin, mit Ausnahme von CI-0, das ebenfalls sehr niedrig ist, annähernd konstant verläuft.

Bei der CI-0-Gruppe resultiert ein niedriger Quotient aus der im Verhältnis sehr viel niedrigeren PGE_2 -Konzentration, wobei die Inulin-Konzentration auch niedrig ist. Bei CI-Nb10 trifft auf eine niedrige Inulin-Konzentration eine hohe gemessene PGE_2 -Konzentration, was zu einem hohen Quotienten führt.

Eine Korrelation von hohen bzw. niedrigen Inulin- und hohen bzw. niedrigen PGE_2 -Werten im Urin kann somit nicht festgestellt werden.

8. Diskussion und Schlussfolgerung

Die Urinmengen der Clamp-Gruppen sollten, aufgrund der reduzierten Nierenfunktion, im Vergleich zu den unbehandelten Tieren reduziert sein. Dies konnte jedoch in den Messungen nicht signifikant bestätigt werden.

Einige Ergebnisse waren nicht signifikant. Als mögliche Ursachen für die zum Teil nicht signifikanten Ergebnisse könnten die lange Lagerzeit der Proben oder Ungenauigkeiten bei den Messungen zu Grunde liegen. Diese Messabweichungen können auf Pipettierfehler oder geringe Restvolumina der Proben zurück zu führen sein. Aufgrund mehrerer bereits durchgeführte Untersuchungen standen zum Teil nur noch geringe Mengen an Serum- und Urinproben zur Verfügung, es ergaben sich aber durchaus auch einige hochsignifikante Ergebnisse.

Betrachtet man zum Beispiel die PAH-Clearance, so zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied aller Gruppen von 0,00079. Die PAH-Clearance sank bei den Clamp-Gruppen im Vergleich zu Control und Sham-Gruppe deutlich ab, wobei die mit 2,5 mg Nb behandelte Gruppe unter den Clamp-Gruppen im Median die höchste PAH-Clearance aufwies. Die hohe PAH-Clearance bei CI-Nb2,5 lässt auf ein besseres Outcome der Niere unter der Gabe von 2,5 mg Nebivolol schließen.

Ebenso verhielt es sich mit der Inulin-Clearance, auch hier wies die CI-0-Gruppe den niedrigsten Wert auf. Im Vergleich zu den ebenfalls verminderten Inulin-Clearances der mit Nebivolol und Metoprolol Tartrat behandelten Clamp-Gruppen hatte wiederum, wie auch schon bei der PAH-Clearance CI-Nb2,5 die höchste Inulin-Clearance. Dies lässt ebenfalls auf ein verbessertes Outcome der Niere, bei der Gabe von Nebivolol 2,5 mg schließen.

Den höchsten Medianwert bei der PGE₂- Clearance zeigte die Control- Gruppe. Der Median der PGE₂-Clearance war bei CI-0 und CI-Nb10 am niedrigsten. Bei CI-Nb2,5 erreichte sie etwa den Wert der Sham Gruppe. CI-Nb5 und CI-Mp

lagen knapp unter der CI-Nb2,5- Gruppe. Dies korreliert mit der hohen PAH- und Inulin-Clearance bei der CI-Nb2,5- Gruppe.

In der weiteren Analyse der Daten wurde untersucht, ob eine Korrelation zwischen PGE₂-Clearance und PAH-Clearance besteht.

Korrelation PGE₂-Clearance mit der PAH-Clearance			
	n	tau	p
alle Versuche	40	0.2674	0.015 *
Control	7	-0.6190	0.051
Sham	6	-0.2000	0.57
CI-0	4	-0.3333	0.50
CI-Nb2,5	7	0.5238	0.099
CI-Nb5	6	0.2000	0.57
CI-Nb10	5	-0.2000	0.62
CI-Mp	5	0.4000	0.33

Tab. 10 Korrelation der PGE₂-Clearance mit der PAH-Clearance für alle Versuche gepoolt und getrennt nach Versuch. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation

Die Korrelation der PGE₂-Clearance mit der PAH-Clearance ist nur bei CI-Nb2,5 signifikant. Ein Unterschied der Einzelgruppen bezüglich der Korrelation von PGE₂-Clearance und PAH-Clearance liegt nicht vor.

Ebenso besteht eine signifikante Korrelation von PGE₂-Clearance und der Inulin-Clearance aller Gruppen.

Korrelation PGE₂-Clearance mit der Inulin-Clearance

	n	tau	p
alle Versuche	37	0.2347	0.041 *
Control	7	-0.7143	0.024 *
Sham	6	0.2000	0.57
CI-0	4	-0.1826	0.71
CI-Nb2,5	4	0.0000	1.00
CI-Nb5	6	-0.2760	0.44
CI-Nb10	5	-0.1054	0.80
CI-Mp	5	0.2000	0.62

Tab. 11 Korrelation der PGE₂-Clearance mit der Inulin-Clearance für alle Versuche gepoolt und getrennt nach Versuch. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation

Die Daten lieferten die Möglichkeit PGE₂- und PAH-Clearance gegenüber zu stellen:

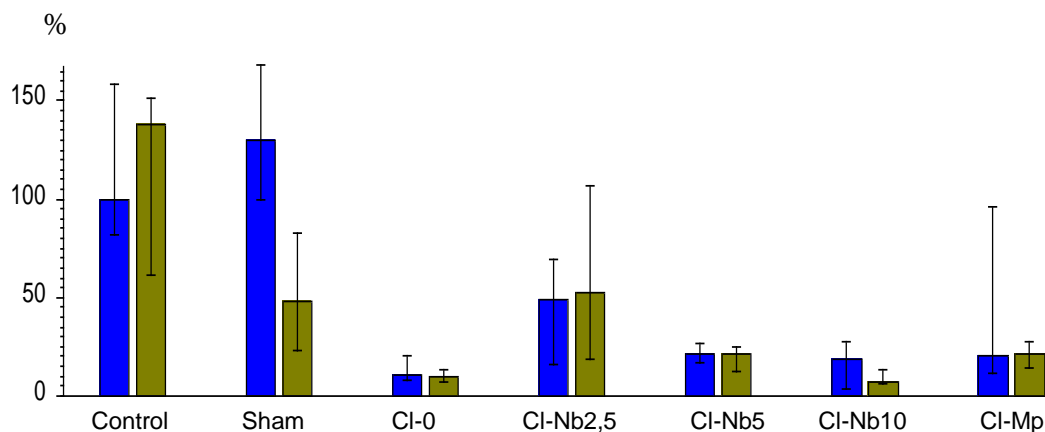


Abb. 15 Prozente vom Mittelwert der Control-Werte. **Links** PAH-Clearance und **rechts** PGE₂-Clearance

Hierbei zeigt sich ein ähnliches Verhalten aller Gruppen, mit Ausnahme von Sham. Dies bekräftigt die Theorie der identischen Regulationsbeeinflussung der OATs bei der Ausscheidung von PGE₂ und PAH. Somit wird die Annahme bestätigt, dass PGE₂ und PAH über denselben Transportweg ausgeschieden werden.

Betrachtet man die Inulin-Konzentration im Urin war diese bei der CI-0- Gruppe am niedrigsten gefolgt von CI-Nb10. Die anderen Gruppen wiesen eine

annähernd gleiche Inulin-Konzentration im Urin auf. Dies deutet auf ein besseres Outcome bei den mit Betablockern behandelten Tieren im Vergleich zur unbehandelten Clamp-Gruppe hin.

Die PGE₂-Konzentration im Urin war ebenso bei der CI-0-Gruppe am niedrigsten. Bei der Control-Gruppe war sie am höchsten. Von den mit Blutdrucksenkern behandelten Clamp-Gruppen wies die CI-Nb5-Gruppe den niedrigsten PGE₂-Median auf. CI-Mp war in etwa mit der CI-Nb2,5- Gruppe im Median vergleichbar und den höchsten Wert an PGE₂ im Urin wies die CI-Nb10-Gruppe auf. CI-Nb10 hatte aber sowohl eine der niedrigsten Inulin- als auch PAH-Clearances, was auf ein ungünstiges Outcome hinweist.

Ein Zusammenhang zwischen einem verbesserten Outcome, gemessen an der Inulin-Clearance und der Höhe der PGE₂-Konzentration im Urin konnte hier somit nicht nachgewiesen werden.

Bei den PGE₂-Konzentration im Serum entspricht das Ergebnis der CI-Nb10-Gruppe nicht den Erwartungen. Die anderen Gruppen liegen im Median in etwa auf einer Höhe.

Um einen Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und PGE₂-Ausscheidung zu verifizieren wurde der Quotient $\frac{[PGE_2]_{\text{Urin}}}{[Inulin]_{\text{Urin}}}$ berechnet. So kann man die Menge an ausgeschiedenem PGE₂, im Verhältnis zum ausgeschiedenen Inulin darzustellen. Anschließend wurden die Mittelwerte der Quotienten aller Clamp-Gruppen und der Control- Gruppe mit dem Quotienten der Sham-Gruppe verglichen. Es zeigt sich beim Quotienten ein vergleichbarer Verlauf wie bei der PGE₂-Konzentration, da die Inulinwerte bei allen Gruppen in etwa auf einer Höhe lagen. Ausnahmen sind die Clamp und die CI-Nb10-Gruppen. Bei der Clamp-Gruppe war die PGE₂-Konzentration sehr niedrig und bei der CI-Nb10-Gruppe sehr hoch. Ansonsten lagen die Inulin-Konzentrationen im Urin ja ungefähr auf einem Level und ein identisches Verhalten von Inulin- und PGE₂-Ausscheidung war nicht nachweisbar.

Es konnte bestätigt werden, dass das Outcome, gemessen an der Höhe der Inulin-Clearance, bei den Tieren mit einer erhöhten PGE₂-Ausscheidung, verbessert war. Die Mediane der PGE₂-Clearance und der Inulin-Clearances korrelieren bis auf die Sham- Gruppe miteinander.

Das am meisten zu beachtende Ergebnis dieser Studie ist, dass das Outcome bei den mit Blutdrucksenkern behandelten Gruppen, im Vergleich zur reinen Clamp-Gruppe, verbessert war. Unter den mit Nebivolol in steigender Konzentration und Metoprolol Tartrat behandelten Gruppen, zeigte die Cl-Nb2,5- Gruppe das beste Outcome,

Um diese zunächst nur tendenziellen Ergebnisse weiter zu bestätigen, sollte über eine Erweiterung der Gruppengrößen und eine Erweiterung der Nachuntersuchungszeit nachgedacht werden. Es sind noch weitergehende Untersuchungen zur Auswirkung der Gabe von Nebivolol und Metoprolol Tartrat im akuten Nierenversagen notwendig, um somit eventuell irgendwann Menschen, die ein akutes Nierenversagen erleiden, bessere Heilungschancen zu ermöglichen.

9. Zusammenfassung

In der Studie wurde das Outcome nach operativ herbeigeführtem akutem Nierenversagen, unter Einfluss der Gabe von Nebivolol und Metoprolol Tartrat, untersucht. Es wurde dabei weiterhin die Ausscheidung des Entzündungsmediators Prostaglandin E₂ quantifiziert.

Generell ist ein besseres renales Outcome bei den mit Nebivolol und Metoprolol Tartrat behandelten Tieren zu erkennen. Besonders ausgeprägt war dieser Effekt bei der Gruppe CI-Nb2,5-Gruppe zu erkennen. Sollte sich in weiteren Studien ein positiver Einfluss der Medikation mit Nebivolol bestätigen, wäre dessen Verabreichung bei Patienten, die ein akutes Nierenversagen erleiden, dem Metoprolol vorzuziehen.

Falls es gelänge das Outcome der Patienten, die ein Akutes Nierenversagen erleiden zu verbessern, wäre dies ein bedeutender Schritt in der Therapie von Intensivpatienten. Ziel ist es die Überlebensrate der Patienten zu erhöhen und kostenintensive Liegezeiten sowie Nierentransplantationen und Dialysepflichten zu verringern.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 AKIN-Klassifikation des Acute Kidney Injury Networks	9
Abb. 2 Arachidonsäuremetabolismus. und Wirkungen der Eicosanoide (Lüllmann, 2003)	15
Abb. 3 Chemische Struktur von Prostaglandin E ₂ (7-[3-Hydroxy-2-(3- hydroxyoct-1-enyl)-5-oxo-cyclopentyl]hept-5-ensäure) gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In	15
Abb. 4 Strukturformel von d-Nebivolol, gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In	19
Abb. 5 Strukturformel von (R)- Metoprolol, gezeichnet mit Microsoft Chemistry Add In	19
Abb. 6 Unterteilung der Testgruppen	24
Abb. 7 Mediane der Urinmenge pro 20 Minuten in den verschiedenen Untersuchungsgruppen	31
Abb. 8 Darstellung der Mediane der PAH-Clearance	32
Abb. 9 Darstellung der Mediane Inulin-Clearance	33
Abb. 10 Darstellung der Mediane PGE ₂ -Clearance	35
Abb. 11 Darstellung Mediane der PGE ₂ -Konzentration im Urin.....	37
Abb. 12 Darstellung der Mediane der PGE ₂ -Konzentration im Serum	38
Abb. 13 Darstellung der Mediane der Inulin-Konzentration im Urin.....	39
Abb. 14 Mediane Quotient $[PGE_2]_{\text{Urin}}/[Inulin]_{\text{Urin}} * 10^{-9}$	41
Abb. 15 Prozente vom Mittelwert der Control-Werte. Links PAH-Clearance und rechts PGE ₂ -Clearance	44

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Anzahl und Prozentsatz der Tiere nach Operationsmethoden	30
Tab. 2 Gesammelte Urinmenge nach 20 min. MW= Mittelwert, ST= Standardabweichung, p aus der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis.....	31
Tab. 3 PAH-Clearance	32
Tab. 4 Inulin-Clearance	33
Tab. 5 PGE ₂ -Clearance.....	35
Tab. 6 PGE ₂ -Konzentration im Urin.....	36
Tab. 7 PGE ₂ -Konzentration im Serum.....	37
Tab. 8 Inulin-Konzentration im Urin	39
Tab. 9 Quotienten [PGE ₂] _{Urin} /[Inulin] _{Urin}	40
Tab. 10 Korrelation der PGE ₂ -Clearance mit der PAH-Clearance für alle Versuche gepoolt und getrennt nach Versuch. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation.....	43
Tab. 11 Korrelation der PGE ₂ -Clearance mit der Inulin-Clearance für alle Versuche gepoolt und getrennt nach Versuch. tau und p aus der Kendallschen Rangkorrelation.....	44

Abkürzungen

ACE	Angiotensin-Converting-Enzym
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
ANV	Akutes Nierenversagen
ATN	Akute tubuläre Nekrose
CI	Clamp
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
COX	Cyclooxygenase
ELISA	Enzym linked immunosorbent assay
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthetase
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
KIM-1	Kidney Injury Molecule-1
Mp	Metoprolol
Nb	Nebivolol
NGAL	Neutrophil gelatinase assoziiertes Lipocalin
OAT1	Organischer Anionentransporter 1
OAT3	Organischer Anionentransporter 3
OLVT	Organum vasculosum laminae terminalis
PAH	Paraaminohippurat
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}

PGI ₂	Prostaglandin I ₂ , Prostacyclin
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIFLE	Risk, Injury, Failure, Loss of Kidney Function, Endstage Kidney disease
RPF	Renaler Plasmafluss
TXA ₂	Thromboxan A ₂

Literaturverzeichnis

- 1 Bellomo, R., Ronco, C. & Kellum, J., 2004. *Acute renal failure-definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs*. s.l., s.n., pp. R204-R212.
- 2 Ben-Av, P., Crofford, L. J., Wilder, R. L. & Hla, T., 1995. Induction of endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin 1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett*, Issue 372, pp. 83-87.
- 3 Benett, A., Del Tacca, M., Stamford, I. F. & Zebro, T., 1977. Prostaglandins from tumors of human large bowel. *Br J Cancer*, Issue 35, pp. 881-884.
- 4 Betz, M. & Fox, B. S., 1991. Prostaglandin E2 inhibits the production of Th1 lymphokines but not Th2 lymphokines. *J Immunol*, Issue 146, pp. 108-113.
- 5 Beyer, M. & Breyer, R., 2000. Prostaglandin receptors: their role in regulation renal function. *Current opinion in nephrology and hypertension*, Issue 9, pp. 23-29.
- 6 Bonventre, J. V. & Zuk, A., 2004. Ischemic acute renal failure: An inflammatory disease?. *Kidney Int*, Issue 66, pp. 480-485.
- 7 Boron, W. F. & Boulpaep, E. L., 2005. *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. s.l.:Elsevier/Saunders.
- 8 Brivet, F., Kleinknecht, D., Lorait, P. & Landais, P., 1996. *Acute renal failure in intensive care units: Causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality: A prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure. Crit Care Med 24: 19*. s.l.:PubMed.

- 9 Broeders, M. et al., 2000. Nebivolol: A third generation betablocker that augments vascular nitric oxide release: Endothelial beta(2)-adrenergic receptor-mediated NO-production. *Circulation*, Issue 102, pp. 677-4.
- 10 Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K. & Watanabe, Y., 1998. Cyclooxygenase-2 is induced in brain blood vessels during fever evoked by peripheral or central administration of tumor necrosis factor. *Mol Brain Res*, Issue 56, pp. 45-56.
- 11 Carmicheal, P. & Carmicheal, A., 2003. Acute renal failure in the surgical setting. *ANZ J Surg*, Issue 73(3), pp. 144-53.
- 12 Chertow, G. et al., 1998. Independent association between acute renal failure and mortality following cardiac surgery. *JAMA*, Issue 104, pp. 343-348.
- 13 Corrigan, G. et al., 1999. PAH extraction and estimation of plasma flow in human postischemic acute renal failure. *Am j Physiol*, Issue 277, pp. F312-318.
- 14 Cruz, D. et al., 2010. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population. *Intensive Care Med.*, Issue 36(3), pp. 444-51.
- 15 De Mendoca, A. et al., 2000. Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluation by SOFA score. *Intensive Care Med*, Issue 26, pp. 915-921.
- 16 Dinchuk, J., Car, B. & Focht, R., 1995. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature*, Issue 378, pp. 406-409.
- 17 Dubois, R., 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb J*, Issue 12, pp. 1063-1073.

- 18 Farman, N., Pradelles, P. & Bonvalet, J., 1987. *Am J Physiol*, Issue 252, pp. F53-F59.
- 19 Feitoza, C. et al., 2005. Cyclooxygenase 1 and/or 2 blockade ameliorates the renal tissue damage triggered by ischemia and reperfusion injury. *International Immunopharmacology*, Issue 5, pp. 79-84.
- 20 Feitoza, C. et al., 2002. Pretreatment with indomethacin protects from acute renal failure following ischemia-reperfusion injury.. *Transplant Proc*, Issue 34, pp. 2979-2980.
- 21 Ferreira, S. H., 1972. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nature (Lond)*, Issue 240, pp. 200-203.
- 22 Funk, C., 2001. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*, Issue 294, pp. 1871-1875.
- 23 Funk, C. et al., 1991. Human Platelet/erythrocyte cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. *Faseb J*, Issue 5, pp. 2304-2312.
- 24 Georgescu, A. et al., 2005. The cellular mechanisms involved in the vasodilator effect of nebivolol on the renal artery. *Eur J Pharmacol*, Issue 508, pp. 159-66.
- 25 Goldsby, R., Kindt, T., Osborne, B. & Kuby, 2003. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Immunology, 5th ed., pp. 148-150..* New York: W. H. Freeman.
- 26 Han, W. et al., 2002. Kidney injury molecule-1(KIM-1):A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int*, Issue 62, pp. 237-244.
- 27 Harada, S. et al., 1994. Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *J Clin Investig*, Issue 93, pp. 2490-2496.

- 28 Hick, C. & Hick, A., 2002. *Kurzlehrbuch Physiologie*. s.l.:Urban & Fischer.
- 29 Kam, P. & See, A., 2000. Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia*, Issue 55, pp. 442-449.
- 30 Kimura, H. et al., 2002. Human organic anion transporters and human organic cation transporters mediate renal transport of prostaglandines. *J Pharmacol Exp Ther*, Issue 301, pp. 293-298.
- 31 Kuhlmann, U., Walb, D. & C, L. F., 1998. *Nephrologie Pathophysiologie-Klinik- Praxis*. Stuttgart: Thieme.
- 32 Kunkel, S. L., Chensue, S. W. & Phan, S. H., 1986a. Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production. *J Immunol*, Issue 136, pp. 186-192.
- 33 Kunkel, S. L., Spengler, M., Larrick, J. & Remick, D., 1988. Prostaglandin E2 regulates macrophage-derived tumor necrosis factor gene expression. *J BiolChem*, Issue 263, pp. 5380-5384.
- 34 Kunkel, S. L., Wiggins, R. C., Chensue, S. W. & Larrick, J., 1986b. Regulation of macrophage tumor necrosis factor production by Prostaglandin E2. *Biochem Biophys Res Commun*, Issue 137, pp. 404-410.
- 35 Lameire, N., Van Biesen, W. & Vanholder, R., 2005. Acute renal failure. *Lancet*, Issue 365(9457), pp. 417-30.
- 36 Lameire, N. & Vanholder, R., 2005. Pathophysiology and prevention. In: *Oxford textbook of clinical nephrology 3rd ed.* Oxford(UK): Oxford University Press, pp. 1445-64.
- 37 Liano F, P. J., 1996. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study, The Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int*, Issue 50, pp. 811-818.

- 38 Lippert, H., 2003. *Lehrbuch Anatomie*, S.355-368. s.l.:Urban&Fischer Verlag.
- 39 Lüllmann, H., Mohr, K. & Hein, L., 2003. *Pharmakologie und Toxikologie*, S. 287. s.l.:Thieme.
- 40 Mangrella, M., Rossi, F. & Fici, F., 1998. Pharmacology of nebivolol. *Pharmacol Res*, Issue 38, pp. 419-431.
- 41 Mehta, R. et al., 2007. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*, Issue 11(R31).
- 42 Metnitz, P. et al., 2002. *Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. Crit Care Med* 30:2051-2058. s.l.:PubMed: 12352040.
- 43 Miller, S., 2006. Prostaglandins in health and disease: an overview. *Seminars in arthritis and rheumatism*, Issue 36, pp. 37-49.
- 44 Moen, M. & Wagstaff, A., 2006. Nebivolol: A review of its use in management of hypertension and chronic heart failure. Issue 66, pp. 1389-1409.
- 45 Morham, S., Langenbach, R. & Loftin, C., 1995. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. *Cell*, Issue 83, pp. 473-382.
- 46 Myers, S., Wang, L., Liu, F. & Bartula, L., 2005. Suprarenal aortic clamping and reperfusion decreases medullary and cortical blood flow by decreased endogenous renal nitric oxide and PGE2 synthesis. *J Vasc Surg*, Issue 42, pp. 524-531.
- 47 Nakao, A., Neto, J., Kanno, S. & al., e., 2005. Protection against ischemia/reperfusion injury in cardiac and renal transplantation with carbon monoxide, biliverdin and both. *Am J Transplant*, Issue 5(2), pp. 282-91.

- 48 Narumiya, S. & FitzGerald, G., 2001. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *The Journal of clinical investigation*, Issue 108, pp. 25-30.
- 49 Nash, K., Hafeez, A. & Hou, S., 2002. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis*, Issue 39(5), pp. 930-6.
- 50 Nishibori, T., Matsuoka, Y. & Matsumoto, T., 1973. Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of 11 β -3-H-prostaglandin E2 (3H-PGE2) in rats. *Appl Pharmacol*, Issue 8, pp. 797-805.
- 51 Osborn, J. et al., 1984. Interactions among renal nerves, prostaglandins, and renal arterial pressure in the regulation of renin release. *Am J Physiol*, Issue 247, pp. F706-F713.
- 52 Patrono, C. & Dunn, M., 1987. The clinical significance of inhibition of renal prostaglandin synthesis. *Kidney Int*, Issue 32, pp. 1-12.
- 53 Perri, D., Ito, S., Roswell, V. & Shear, N., 2003. The kidney-the body's playground for drugs: an overview of renal drug handling with selected clinical correlates. *Can J Clin Pharmacol*, Issue 10, pp. 17-23.
- 54 Prisant, L., 2008. Nebivolol: Pharmacologic profile of an ultra-selective, vasodilatory beta1-blocker. Issue 48, pp. 225-239.
- 55 Pullig, F., 2008. *Das akute Nierenversagen: Effekte des Hämoxygenaseinhibitors Zinn-Mesoporphyrin auf die Nierenfunktion beim akuten ischämischen Nierenversagen der Ratte.* s.l.:s.n.
- 56 Raff, U. et al., 2005. L-Arginine does not affect renal morphology and cell survival in ischemic acute renal failure in rats. *Nephrol Physiol*, Issue 101, pp. p39-50.
- 57 Ricciotti, E., Garret, A. & Fietzgerald, M., 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, Issue 31(5), pp. 986-1000.

- 58 Sauvant, C., Holzinger, H. & Gekle, M., 2001. Modulation of the basolateral and apical step of transepithelial organic anion secretion in proximal tubular OK cells: Acute Effect of EGF and MAPK. *J Biol Chem*, Issue 276, pp. 14695-14703.
- 59 Sauvant, C., Holzinger, H. & Gekle, M., 2002. Short-term regulation of basolateral organic anion uptake in proximal tubular OK cells:EGF acts via MAPK, PLA(2), and COX1. *J Am Soc Nephrol*, Issue 13, pp. 1981-1991.
- 60 Sauvant, C., Holzinger, H. & Gekle, M., 2003. Short-term regulation of basolateral organic anion uptake in proximal tubular OK cells:Prostaglandin E2 acts via receptor mediated activation of PKA. *J Am Soc Nephrol*, Issue 14, pp. 3017-3026.
- 61 Sauvant, C., Holzinger, H. & Gekle, M., 2006. Prostaglandin E2 inhibits its own renal transport by downregulation of organic anion transporters rOAT1 and rOAT3. *J Am Soc Nephrol*, Issue 17, pp. 46-53.
- 62 Sauvant, C. et al., 2004. Expression of OAT1 and OAT is reduced in a rat model of ischemic acute renal failure. *Kidney Blood Press Res*, Issue 27, p. 347.
- 63 Schneider, R. et al., 2009. Low-dose indomethacin after ischemic acute kidney injury prevents downregulation of Oat 1/3 and improves renal outcome). *Am J Physiol Renal Physiol*, Issue 297.
- 64 Schneider, R. et al., 2003. L- Arginine counteracts nitric oxide deficiency and improves the recovery phase of ischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int*, Issue 64, pp. 216-225.
- 65 Sever, M., Erek, E., Vanholder, R. & al, e., 2002. Lessons learned from the Marmara disaster: Time period under the rubble. *Crit Care Med*, Issue 30(11), pp. 2443-9.

- 66 Silbernagl, S. & Despopoulos, A., 2001. *Taschenatlas der Physiologie*. Stuttgart, New York: Thieme.
- 67 Simmons, D., Bottning, R. & Hla, T., 2004. Cyclooxygenase Isoenzymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacological Reviews*, Issue 56, pp. 307-437.
- 68 Smith, W., 1992. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *The American journal of physiology*, Issue 263, pp. F181-191.
- 69 Soodvilai, S. et al., 2004. Acute regulation of OAT3-mediated estrone sulfate transport in isolated rabbit renal proximal tubules. *Am j Physiol Renal Physiol*, Issue 287, pp. F1021-1029.
- 70 Tesuka, T. et al., 1994. Cross talk between cyclooxygenase and nitric oxide pathways: Prostaglandin E2 negatively modulates induction of nitric oxide synthase by interleukin-1. *Proc Natl Acad Sci*, Issue 91, pp. 12168-12172.
- 71 Textor, S. C., 2004. Ischemic Nephropathy: Where are we now?. *J Am Soc Nephrol*, Issue 15, pp. 1974-1982.
- 72 Tokuyama, H. et al., 2002. Stenosis-dependent role of nitric oxide and prostaglandins in chronic renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol*, Issue 282, pp. F859-865.
- 73 Tokuyama, H. et al., 2003. Role of nitric oxide and prostaglandin E2 in acute renal hypoperfusion. *Nephrology (Carlton)*, Issue 8, pp. 65-71.
- 74 Topper, J. N., Cai, J., Falb, D. & Gimbrone, M. A. J., kein Datum Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, managenese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci*, Issue 93, pp. 10417-10422.

- 75 Uchino, S. et al., 2005. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *Jama*, Issue 294, pp. 813-818.
- 76 Van Montfoort, J. et al., 2003. Drug uptake system in liver and kidney. *Curr Drug Metab*, Issue 4, pp. 185-211.
- 77 Waikar SS, C. G. W. R. M. E. C. G., 2006. *Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. J. Am. Soc. Nephrol. 2006;17:1143-50.* s.l.:PubMed.
- 78 Weiss, R., 2006. Nebivolol: A novel beta-blocker with nitric oxide-induced vasodilation. *Vascular Health Risk Manage*, Issue 2, pp. 303-308.
- 79 Welsch, U. & Deller, T., 2010. *Lehrbuch Histologie*. München: Elsevier Verlag.
- 80 Whittle, B., Boughton-Smith, N., Moncada, S. & JR, V., 1978. Actions of prostacyclin (PGI₂) and its products, 6-oxo-PGF₁α on the rat gastric mucosa in vivo and in vitro.. *Prostaglandins*, Issue 15, pp. 955-967.
- 81 Wright, S. & Dantzler, W., 2004. Molecular and Cellular Physiology of Renal Organic Cation and Anion Transport. *Physiol Rev*, Issue 84, pp. 987-1049.
- 82 Zusman, R. & Keiser, H., 1977. Prostaglandin biosynthesis by rabbit renomedullary interstitial cells in tissue culture. Stimulation by angiotensin II, bradykinin, and arginine vasopressin. *J Clin Investig*, Issue 60, pp. 215-223.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Wanner gilt mein Dank für die Bereitstellung des Themas und der für die Durchführung der Arbeit benötigten Mittel.

Meinem Doktorarbeitsbetreuer Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Reinhard Schneider, danke ich herzlich für die freundliche und engagierte Betreuung bei der Planung, Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit, sowie seine Anregungen und die konstruktive Kritik bei der Korrektur.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Sylvia Renker bedanken, die durch ihre Mitarbeit und ihr Fachwissen im nephrologischen Labor, sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ich danke Frau Dr. Imme Haubitz für die fachliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Und nicht zuletzt danke ich meinem Schwiegervater Herrn Dr. Thomas Heck für das Korrekturlesen der Arbeit.

