

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. L. Seipel
Sektion für Nieren- und Hochdruckkrankheiten
Leiter: Professor Dr. T. Risler**

**Wirkung des NO-Syntheseantagonisten L-NAME
auf die renale Hämodynamik
und die Leptinspiegel
bei adipösen Probanden**

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

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

**vorgelegt von
Julia Ariane Krieger
aus
Tübingen**

2004

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen
1. Berichterstatter: Professor Dr. C. Erley
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. M. Stumvoll

Per aspera ad astra

aus "Hercules fufens", Seneca

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Veränderte Gefäßfunktion und Adipositas	1
1.1.1. Adipositas- ein Risikofaktor?	1
1.1.2. Das Hormon Leptin	1
1.1.3. Leptin und sein Bezug zur arteriellen Hypertonie	2
1.2. NO-System	5
1.2.1. Funktion des NO	5
1.2.2. Biosynthese von NO	5
1.2.3. Hemmung der NO-Wirkung	8
1.3. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System	10
1.4. Endothelin	11
1.5. Katecholamine	11
1.6. Studienziel	12
2. Material und Methoden	13
2.1. Probanden	13
2.2. Studienaufbau	15
2.3. Praktische Durchführung	16
2.4. Laborchemische Methoden	21
2.4.1. PAH- und Inulin-clearance	21
2.4.2. Hormone	22
2.4.3. Sonstiges	24
2.5. Formeln	25
2.5.1. Clearance	25
2.5.2. Glomeruläre Filtrationsrate	25
2.5.3. Effektiver renaler Plasmafluss	26
2.5.4. Filtrationsfraktion	26
2.5.5. Fraktionierte Natriumclearance	26
2.5.6. Mittlerer arterieller Blutdruck	27
2.6. Statistische Auswertung	28

3. Ergebnisse	29
3.1. Ergebnisdarstellung	29
3.2. Systemische Hämodynamik	31
3.2.1. Systolischer Blutdruck (RR sys)	31
3.2.2. Diastolischer Blutdruck (RR dias)	33
3.2.3. Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)	35
3.2.4. Herzfrequenz	37
3.3. Renale Hämodynamik	39
3.3.1. Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)	39
3.3.2. Effektiver renaler Plasmafluss (ERPF)	41
3.3.3. Filtrationsfraktion (FF)	43
3.3.4. Fraktionierte Natriumclearance (FE_{Na})	45
3.4. Hormone	47
3.4.1. Leptin	47
3.4.2. Renin	49
3.4.3. Angiotensin II	51
3.4.4. Endothelin-1	53
3.4.5. Aldosteron	55
3.4.6. Insulin	57
3.4.7. Noradrenalin	59
3.5. Nebenwirkungen von L-NAME	61
4. Diskussion	62
4.1. Systemische Hämodynamik	62
4.2. Renale Hämodynamik	63
4.3. Hormone	65
4.3.1. Leptin	65
4.3.2. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System	65
4.3.3. Endothelin-1	66
4.3.4. Insulin	66
4.3.5. Katecholamine	67
4.4. Schlussfolgerung	69

4.4.1. Systemische und renale Hämodynamik	69
4.4.2. Hormone	69
5. Zusammenfassung	71
6. Literaturnachweis	73
7. Danksagung	81
8. Lebenslauf	83

Abkürzungen

Folgende Abkürzungen werden verwendet:

Abb.	=	Abbildung
ADP	=	Adenosindiphosphat
ADH	=	Antidiuretisches Hormon
ATP	=	Adenosintriphosphat
BMI	=	Body-Mass-Index
cGMP	=	Zyklisches 3`5`-Guanosinmonophosphat
ERPF	=	Effektiver renaler Plasmafluss
ET 1,2,3	=	Endothelin 1,2,3
FE _{Na}	=	Fraktionierte Natriumclearance
FF	=	Filtrationsfraktion
GC-S	=	Guanylatcyclase
GFR	=	Glomeruläre Filtrationsrate
GTP	=	Guanosintriphosphat
KO	=	Körperoberfläche
L-NAME	=	N ^G -Nitro-L-Arginin-methylester
L-NMMA	=	N ^G -Monomethyl-L-Arginin
MAP	=	Mittlerer arterieller Druck
MW	=	Mittelwert
NaCl	=	Natriumchlorid
NO	=	Stickstoffmonoxid
NOS	=	Stickstoffmonoxid-Synthase
NPY	=	Neuropeptid Y
PAH	=	Para-Amino-Hippursäure
RAAS	=	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
Qu	=	Quartile
RR _{dias}	=	Diastolischer Blutdruck
RR _{sys}	=	Systolischer Blutdruck
SD	=	Standardabweichung

1. Einleitung

1.1. Veränderte Gefäßfunktion und Adipositas

1.1.1. Adipositas- ein Risikofaktor?

Übergewicht ist ein Teilaspekt des Metabolischen Syndroms, das sich aus Bluthochdruck, Insulinresistenz, Dyslipoproteinämie und Adipositas zusammensetzt^{1,2}. Es geht mit einem deutlich erhöhten Risiko einher, eine kardiovaskuläre Erkrankung zu erlangen³. Der genaue Zusammenhang zwischen Übergewicht und Bluthochdruck ist jedoch nach wie vor nicht bekannt. Es wird vermutet, dass viele verschiedene Hormone Hypertonie und Adipositas miteinander verbinden^{4,5}. Ein Kandidat ist das neuerdings entdeckte Leptin.

1.1.2. Das Hormon Leptin

Leptin ist ein vom obese(ob)-Gen codiertes Hormon⁶, das vor allem im weißen Fettgewebe, in geringeren Mengen jedoch auch in anderen Organen wie dem Magen⁷ oder der Plazenta⁸ gebildet wird. Es ist ein 16 kD großes Protein, das aus 167 Aminosäuren besteht⁶ und dessen Struktur große Ähnlichkeit mit den hämatopoetischen Zytokinen wie zum Beispiel dem Interleukin-6 aufweist⁹.

Der Name `Leptin` leitet sich von dem griechischen Wort `leptos` her, das übersetzt `dünn` bedeutet¹⁰. Leptin wurde 1994 von der amerikanischen Forschungsgruppe um Jeffrey Friedman entdeckt⁶ und genießt seither zunehmend wissenschaftliches Interesse.

Das Hormon passiert auf noch ungeklärtem Weg die Blut-Hirn-Schranke¹¹, wirkt dort über einen im Hypothalamus lokalisierten Leptinrezeptor¹² und hat vielfältige Funktionen: Es ist wichtig für die Steuerung von Appetit, Nahrungsaufnahme,

Energieverbrauch, Geschlechtsreife, Fruchtbarkeit, Hämatopoese und den Regelkreis zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden¹³.

Die zelluläre Wirkung von Leptin lässt sich folgendermaßen erklären: Die Bindung von Leptin an den Leptinrezeptor im Hypothalamus führt zur Aktivierung eines Kaliumkanals. Der Kaliumausstrom führt zu einer Hyperpolarisation der Zellmembran und damit zur Inaktivierung eines spannungsabhängigen Calciumkanals. Durch das Schließen dieses Calciumkanals wird der Einstrom von extrazellulärem Calcium reduziert. Die sinkende intrazelluläre Calciumkonzentration führt zur reduzierten Freisetzung des Peptidhormons Neuropeptid Y (NPY). Die verminderte Abgabe von NPY wiederum wirkt inhibierend auf die Nahrungsaufnahme¹⁴.

Die Plasmaleptinspiegel korrelieren eng mit dem Gesamtkörperfett¹⁵ und sind bei weiblichen Individuen höher als bei männlichen¹⁶. Durch Gewichtsreduktion können die Leptinspiegel deutlich gesenkt werden¹⁷. Leptin scheint Einfluß auf das Eßverhalten zu haben: Exogene Leptinzufuhr bewirkt im Tierversuch einen Gewichtsverlust¹⁸⁻²⁰.

Leptin führt zu einer erhöhten Empfindlichkeit von Insulin und hemmt die glukosevermittelte Insulinsekretion²¹. Hohe Insulinspiegel wiederum führen zur erhöhten Genexpression von Leptin in vitro²² und zu steigenden Leptinspiegeln in vivo²³. Erhöhte Leptinspiegel konnten außerdem, unabhängig vom Gesamtkörperfett, bei Insulinresistenz nachgewiesen werden²⁴.

Leptin wird hauptsächlich über die Niere ausgeschieden, was erklärt, warum bei Niereninsuffizienten höhere Plasmaleptinspiegel gefunden werden^{13,25}.

1.1.3. Leptin und sein Bezug zur arteriellen Hypertonie

Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen mittlerem arteriellen Blutdruck und den Leptinspiegeln, was die Vermutung erhärtet, dass Leptin an der Pathophysiologie der essentiellen Hypertonie beteiligt sein könnte. So konnten bei hypertensiven Patienten deutlich erhöhte Leptinspiegel nachgewiesen werden^{26,27}.

Im Tierversuch konnte demonstriert werden, dass gesteigerte Plasmaleptinspiegel zur Erhöhung des Blutdrucks führen können²⁸.

Die Infusion von humanem Leptin in die Nierenarterien von Ratten führt zu einer erhöhten Natriuresis und zu einem gesteigerten Urinvolumen, ohne den renalen Blutfluß oder die glomeruläre Filtrationsrate zu verändern²⁹. Villareal et al. konnten dieses Ergebnis bei normalgewichtigen Ratten bestätigen, dieser Effekt blieb jedoch sowohl bei adipösen als auch bei hypertensiven Ratten aus³⁰. Shek et al vermutet wiederum, dass diese Funktion des Leptins in physiologischen Spiegel nicht wirksam ist³¹.

Zusätzlich führt Leptin zu einer Stimulation des sympathischen Nervensystems³¹, die auch die sympathische Aktivierung an der Niere beinhaltet^{32,33}. Man findet bei Übergewichtigen deutlich erhöhte Plasmaspiegel von Adrenalin und Noradrenalin³⁴, die vor allem durch die Leptinwirkung im Hypothalamus verursacht werden³⁵. Haynes et al wies im Tiermodell nach, dass erhöhte Leptinspiegel zur Steigerung der Herzfrequenz und des Blutdrucks führen³⁶.

Erhöhte Leptinspiegel führen zur Stimulation des Renin-Angiotensin-Systems. So wurde bei normotensiven Männern eine positive Korrelation zwischen Angiotensinogen-Spiegeln, Leptinspiegeln und Gesamtkörperfett gefunden³⁷. Zusätzlich konnte demonstriert werden, dass Angiotensinogen im Fettgewebe sezerniert wird und dass Fettzellen das stark vasokonstringierende Angiotensin II produzieren³⁸.

Leptin steigert an isolierten Blutgefäßen die Produktion von endothelalem NO³⁹. NO führt über die Aktivierung einer Guanylatcyclase zur gesteigerten Bildung von cGMP und damit zur Vasodilatation. So wird vermutet, dass diese gefäßrelaxierende Wirkung des Leptins eventuell einen gegenregulatorischen Effekt zur sympathischen Aktivierung darstellen könnte⁴⁰. Die durch Sympathikusaktivierung verursachte Vasokonstriktion kann durch die leptininduzierte NO-Produktion jedoch nicht aufgehoben werden⁴¹. Nach Fruhbeck führt die leptin-verursachte NO-Bildung zu einer Blutdruckstabilisierung⁴². Kuo et al konnten zeigen, dass eine Blockade der

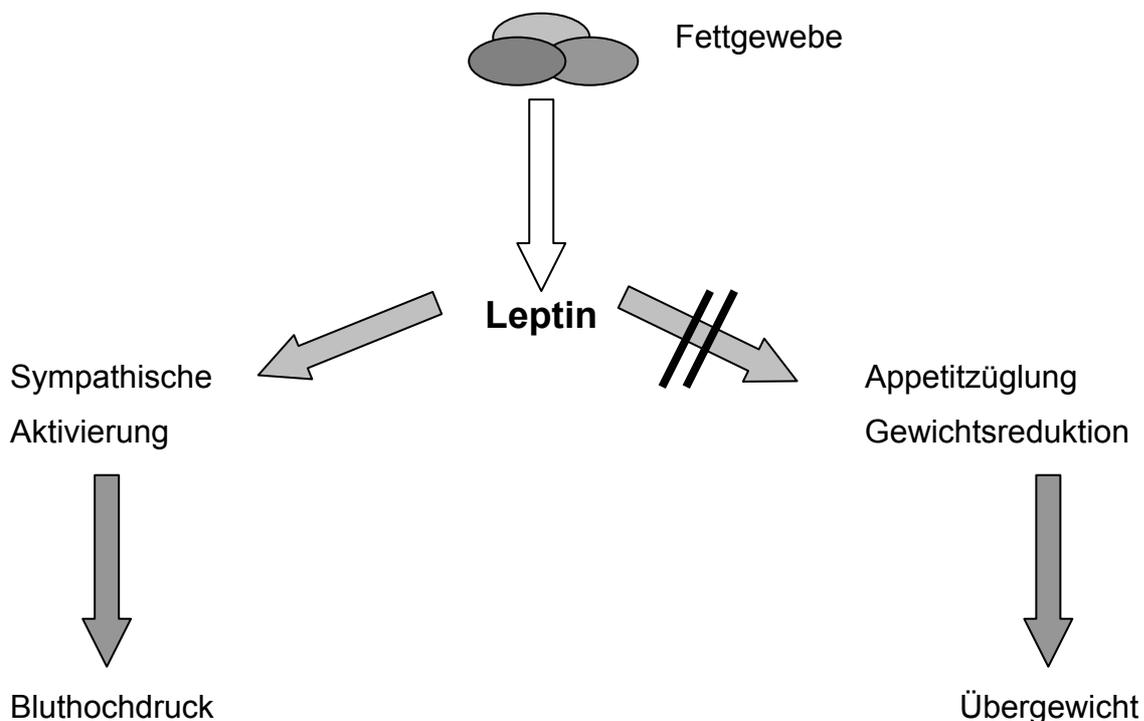
NO-Synthese die Herzfrequenz und die Wirkung von Leptin auf die renale Hämodynamik und den Blutdruck steigert⁴³: Die GFR nimmt ab und der Blutdruck steigt an.

Man fand außerdem heraus, daß Leptin zu einer Akkumulation von reaktivem Sauerstoff im Nabelschnurepithel führt. Das könnte bedeuten, dass Leptin durch oxidativen Stress zur Gefäßpathologie beiträgt⁴⁴. Es ist bekannt, dass Leptin die Angiogenese fördert. Der Mechanismus und die physiologische Bedeutung sind jedoch unklar. Auf Endothelzellen konnten jedoch Leptinrezeptoren nachgewiesen werden⁴⁵.

Erhöhte Leptinspiegel führen zu einer gesteigerten sympathischen Aktivierung, sie führen aber nicht - wie bei physiologischen Spiegel - zur Appetitzügelung und zu einem Sättigungsgefühl^{46,47}.

Aus dieser Beobachtung heraus entstand die Hypothese einer selektiven Leptinresistenz, sozusagen eine abgeschwächte Reaktion auf Leptin, vergleichbar einer Insulinresistenz.

Abb.1: Das Konzept der selektiven Leptinresistenz



1.2. NO-System

1.2.1. Funktion des NO

Stickstoffmonoxid (NO) spielt in vivo eine entscheidende Rolle in der Regulation des basalen Gefäßtonus⁴⁸. Aus diesem Grund wird NO zentrale Bedeutung in der Regulation des Blutdrucks und der renalen Hämodynamik zugesprochen. Seit seiner Entdeckung im Jahre 1980 durch Furchgott et al.⁴⁹ war NO Mittelpunkt vieler Untersuchungen.

1.2.2. Biosynthese des NO

Das Radikal NO entsteht aus der Aminosäure L-Arginin mit Hilfe des Enzyms NO-Synthase. L-Arginin wird in NO und L-Citrullin gespalten. Es gibt verschiedene Isoenzyme der NO-Synthase⁵⁰.

Die NO-Synthase I (NOS I) entfaltet ihre Funktion vor allem im zentralen und peripheren Nervensystem, wo das gebildete NO als Neurotransmitter fungiert⁵¹. In der Niere ist die NOS I vor allem in der Macula densa lokalisiert⁵².

Die NO-Synthase II (NOS II) wird durch eine Vielzahl verschiedener Stimuli exprimiert. In glatten Muskelzellen, Myokard- und Epikardzellen steigt die NOS II-Bildung durch Endotoxine⁵³. NO ist vermutlich auch an der unspezifischen Immunabwehr beteiligt, da Makrophagen und Lymphozyten ebenfalls zur gesteigerten NOS II-Bildung beitragen⁵⁴. In der Niere findet man die NOS II vor allem im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife⁵⁵.

Durch erhöhte luminale Wandspannung und gesteigerte Scherkräfte wird die NO-Synthase III (NOS III) vermehrt freigesetzt⁵⁶.

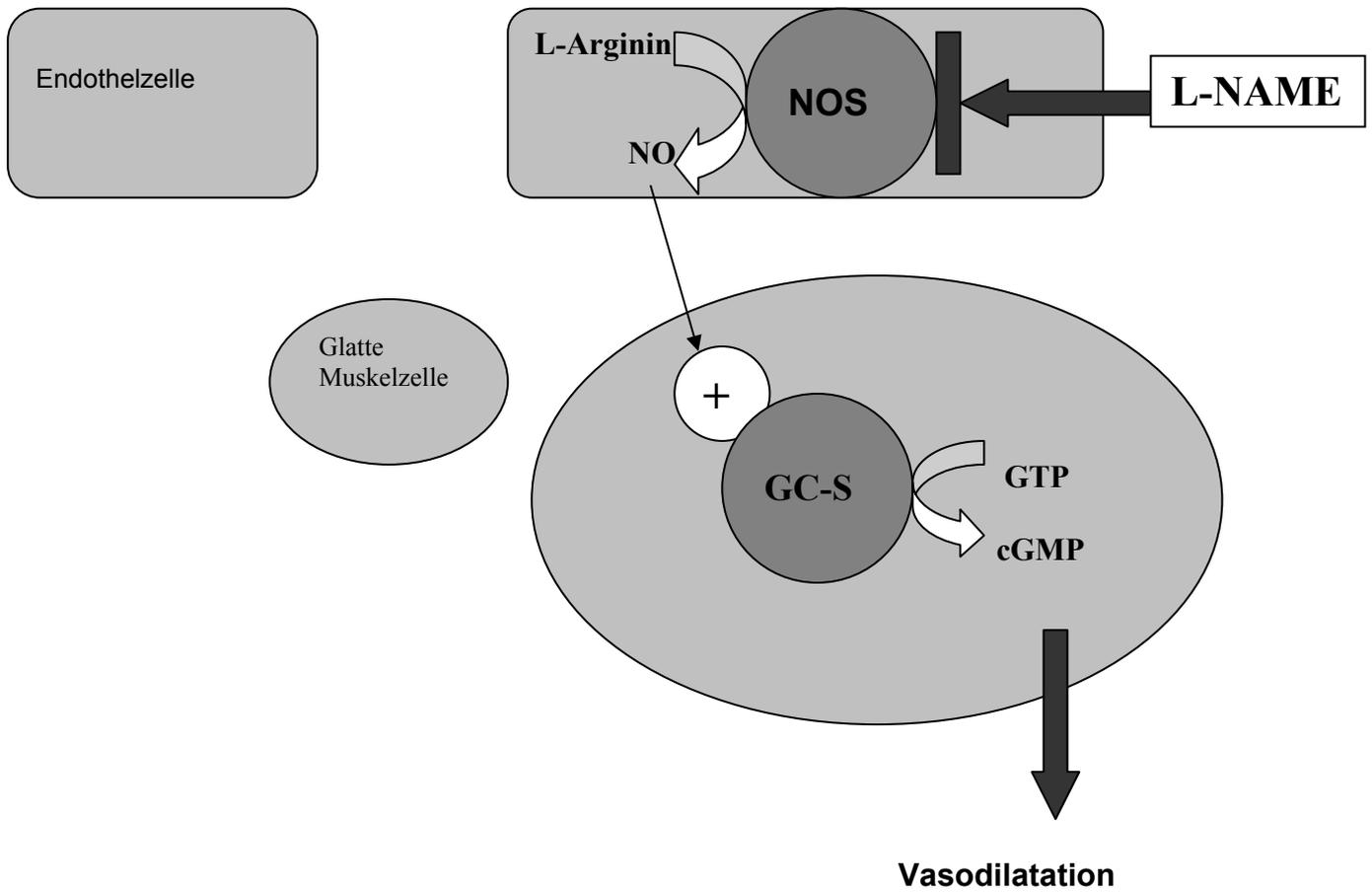
Außerdem wird NO bei Anwesenheit anderer Substanzen vermehrt gebildet. Dazu zählen neben Acetylcholin und ATP (Adenosintriphosphat) auch ADP

(Adenosindiphosphat), Adenosin, Histamin, Thrombin, Bradykinin, Serotonin und Substanz P⁵⁷. Die Bildung von NO im Endothel wird jedoch durch die exogene, intravenöse Gabe von L-Arginin, dem Substrat der NO-Synthasen, vermutlich nicht beeinflusst⁵⁸.

NO ist ein hochdiffusibles Gas, welches die Zellmembran leicht überwinden kann. Es kann durch das Endothel in das Zytoplasma nahegelegener Gefäßmuskelzellen diffundieren. Dort aktiviert NO die Guanylatcyclase und führt damit zur gesteigerten Umwandlung von Guanosintriphosphat (GPT) in den second messenger Guanosin-3`5`-Monophosphat (cGMP)⁵⁹. Dabei korreliert der cGMP-Anstieg mit der NO-Wirkung⁶⁰. Daraufhin werden durch die cGMP-abhängige Proteinkinase G verschiedene Zielproteine phosphoryliert. Daraus resultiert eine Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration⁶¹ und damit eine Dilatation der glatten Gefäßmuskelzelle. Außerdem führt NO über den gleichen Weg luminal zur Aggregations- und Adhäsionshemmung von Thrombozyten⁶².

NO hat im Organismus eine sehr kurze Halbwertszeit: Es wird innerhalb von Sekunden mit Sauerstoff und Wasser erst zu Nitrit und dann zu Nitrat oxidiert⁶³.

Abb.2: Wirkungsweise von Stickstoffmonoxid und L-NAME



Legende:

NOS= NO-Synthase

GC-S= Guanylatcyclase

GTP= Guanostriphosphat

cGMP= zyklisches 3',5'-Guanosinmonophosphat

1.2.3. Hemmung der NO-Wirkung

Weil Stickstoffmonoxid (NO) im Organismus eine sehr kurze Halbwertszeit hat, ist es kaum möglich, von NO oder dessen Abbauprodukten verlässliche Spiegelbestimmungen durchzuführen. Deshalb bedient man sich bei der Erforschung des NO-Systems in vivo der Gabe von NO-Syntheseantagonisten. Durch die Blockade der NO-Synthese schließt man dann indirekt auf die Wirkung von NO. NO-Syntheseantagonisten wurden bereits in verschiedenen Studien verwendet. Die NO-Blockade erfolgte sowohl intraarteriell am Unterarm⁶⁴, als auch systemisch peripher venös^{65,66}, meist durch N^G-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA), welches auch endogen synthetisiert wird. Dabei wurde nach systemischer Gabe ein Anstieg des Blutdrucks und eine Zunahme des peripheren Widerstands beobachtet⁶⁷. L-NAME ist Analogon der nicht essentiellen Aminosäure L-Arginin und blockiert als kompetitiver Antagonist die NO-Synthasen I, II und III. Es wird ebenfalls in Studien als NO-Syntheseantagonist eingesetzt.

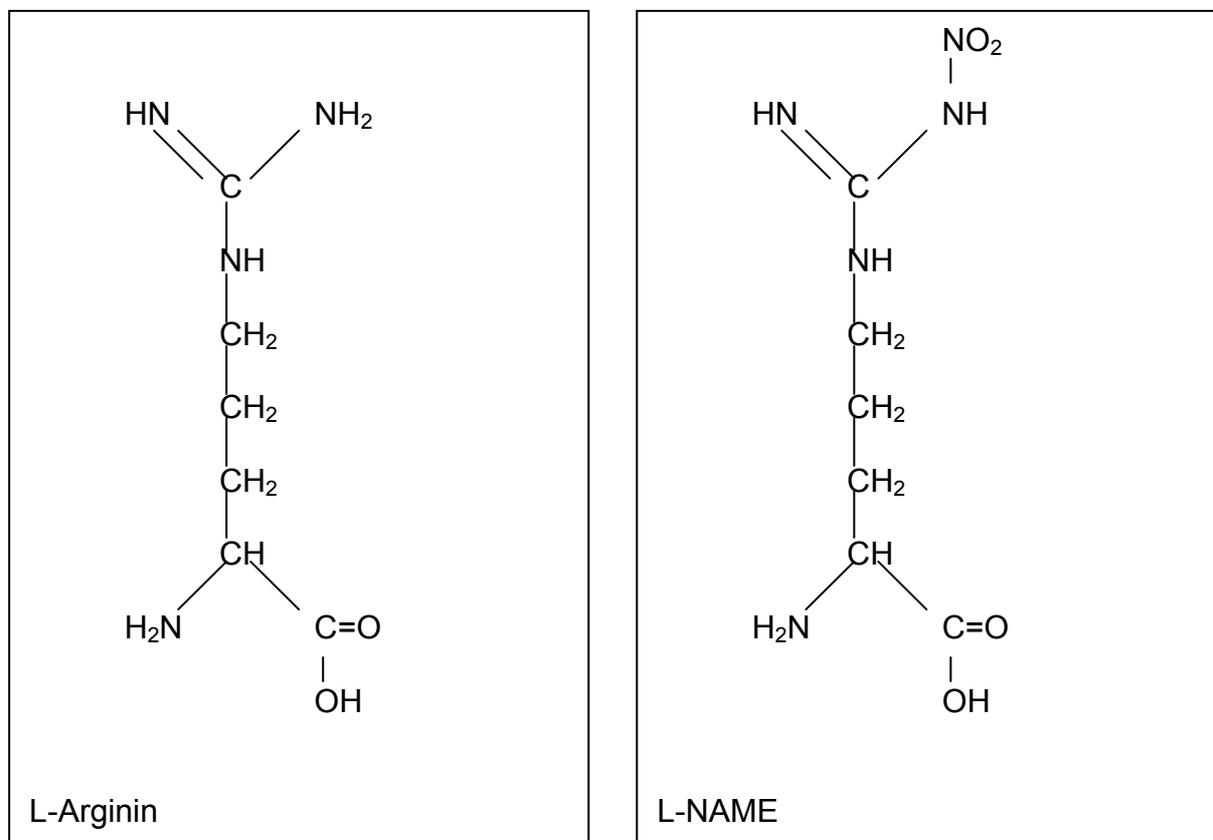
Sander et al. etablierten die Gabe von L-NAME (N^G-Nitro-L-Arginin-methyl-ester) am Menschen. L-NAME wurde in einer Dosierung von 2mg/kg Körpergewicht über 30 Minuten intravenös verabreicht. Es wurde darunter ein Anstieg des Blutdrucks, am ausgeprägtesten des diastolischen Blutdrucks, und ein Abfall der Herzfrequenz beobachtet. Außerdem vermuten sie neben der Hemmung der NO-Synthasen eine zentrale Wirkung von L-NAME, die eine Sympatikusaktivierung verursacht und damit für die protrahierte L-NAME-Wirkung verantwortlich sein könnte: 1-2 Stunden nach intravenöser Gabe war diese Wirkung am stärksten. Alle gemessenen Parameter erreichten spätestens 24 Stunden nach Gabe von L-NAME wieder ihren Ausgangswert. An unerwünschten Nebenwirkungen wurden lediglich bei 14% der Versuchsteilnehmer eine vorübergehende Übelkeit und bei 23% Müdigkeit beschrieben⁶⁸.

In unserer Studie wurde L-NAME (N^G-Nitro-L-Arginin-methyl-ester) ebenfalls in einer Dosierung von 2mg/kg KG über 30 Minuten intravenös appliziert.

Bei Gabe von L-NAME in die systemische Zirkulation wird neben des dosisabhängigen Blutdruckanstiegs und des Herzfrequenzabfalls zusätzlich ein deutlicher Abfall der glomerulären Filtrationsrate⁶⁹ und des renalen Plasmaflusses beobachtet⁷⁰. Außerdem kann eine deutlich verstärkte Gefäßreagibilität im Bereich der Nierenarterien beobachtet werden: dies macht sich in einem massiven Abfall des renalen Blutflusses bemerkbar⁷¹. Broere et al. konnten allerdings zeigen, dass das periphere und das renale Gefäßsystem gleich stark auf die NOS-Blockade reagierten⁷².

In Bezug auf die Natriumausscheidung bewirkt die NOS-Blockade sowohl am Menschen⁷² als auch in Tierversuchen⁷³ eine dosisabhängige Abnahme der Natriurese.

Abb.3: Strukturformeln von L-Arginin und L-NAME



1.3. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) besitzt im menschlichen Körper eine zentrale Funktion, weil es in der Lage ist, stabile Blutdruck- und Volumenverhältnisse aufrecht zu erhalten.

Die Protease Renin wird im juxtaglomerulären Apparat der Niere durch verschiedene Stimuli freigesetzt: Durch erniedrigten Perfusionsdruck im Vas afferens, durch verminderte NaCl-Konzentration im distalen Teil der Macula densa und durch Anstieg des Sympathikotonus⁷⁴. Renin kürzt das in der Leber synthetisierte und zur α_2 -Globulinfraktion der Serumproteine gehörende Angiotensinogen zu Angiotensin I.

Das Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) spaltet von dem Dekapeptid Angiotensin I zwei Aminosäuren ab. Daraus entsteht das hochwirksame Oktapeptid Angiotensin II. Angiotensin II regt Gefäßmuskelzellen zum Wachstum an, wirkt dort stark konstringierend und erhöht dadurch den Blutdruck. Im Zentralnervensystem stimuliert es das Kreislauf- und Durstzentrum. Angiotensin II fördert außerdem die Freisetzung von Aldosteron und antinatriuretischem Hormon (ADH)⁷⁵. In der Niere bewirkt Angiotensin II eine Konstriktion des Vas afferens und des Vas efferens. Die Vasokonstriktion am Vas efferens führt zu einem Rückgang der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und des renalen Plasmaflusses (RPF). Weil der RPF davon stärker betroffen ist als die GFR, führt dies zu einem Anstieg der Filtrationsfraktion. Außerdem verstärkt Angiotensin II die Rückresorption von Natrium im proximalen Tubulus. Aldosteron und ADH bewirken im distalen Tubulus eine Natrium- und Wasserretention.

Die Interaktionen zwischen NO und dem RAAS-System werden vielfältig diskutiert. Einige Wissenschaftler vermuten, dass Renin durch NO stimuliert wird⁷⁶. Andere gehen davon aus, dass NO die Reninfreisetzung hemmt⁷⁷; wieder andere stellen die Hypothese eines zweiphasigen Verlaufs auf: Auf eine akut hemmende Wirkung folgt eine Phase der länger andauernden Stimulation der Reninsekretion durch NO⁷⁸. Unter NO-Synthese-Inhibition fallen die Reninspiegel ab.

1.4. Endothelin

Das Hormon Endothelin ist ein aus 21 Aminosäuren aufgebautes Peptid, welches in glatten Muskelzellen und anderen Geweben synthetisiert wird. Erst vor 14 Jahren entdeckt, besitzt es eine 10-fach stärkere vasokonstringierende Wirkung als Angiotensin II ⁷⁹. Endothelin existiert in drei Isoformen, ET-1, ET-2 und ET-3, welche ihre Wirkung über zwei Rezeptortypen ET_A und ET_B entfalten ⁸⁰. ET-1 wird vor allem von Endothelzellen auf Reize wie niedriger Gefäßwiderstand, Vasopressin, Insulin, Angiotensin II, Katecholamine, transforming growth factor- β , Thrombin und low-density Proteine ausgeschüttet ⁸¹. Wahrscheinlich hemmt ET-1 dosisabhängig die Reninsynthese und stimuliert die Aldosteronsekretion ⁸². Außerdem scheint das Endothelinsystem räumlich und funktionell in enger Beziehung zum NO-System zu stehen. Endothelin stimuliert das Endothel zur Produktion und Ausschüttung von Prostacyclin und Stickstoffmonoxid (NO) ⁸³. NO hingegen hemmt die Freisetzung von Endothelin ⁸⁴.

1.5. Katecholamine

Die Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin werden in den Zellen des Hirnstamms, in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks und in den Ganglienzellen des Sympathikus aus der nicht essentiellen Aminosäure Tyrosin synthetisiert. Die Sekretion der Katecholamine unterliegt der Kontrolle vegetativer Zentren des Hypothalamus und des Stammhirns. Sie führen im Organismus zur Steigerung der Leistungsfähigkeit und –bereitschaft. Die Wirkung der Katecholamine wird über verschiedene Rezeptoren vermittelt. α_1 -Rezeptor vermittelt kommt es über einen erhöhten peripheren Gefäßwiderstand zu einem gesteigerten Blutdruck. Über β_1 -Rezeptoren wird die Lipolyse erhöht und am Herz die positiv chronotrope, inotrope und dromotrope Wirkung der Katecholamine vermittelt. Über β_2 -Rezeptoren kommt es in Muskeln und Leber zur gesteigerten Glykogenolyse ⁸⁵.

1.6.Studienziel

Die Pathogenese der arteriellen Hypertonie bei Übergewicht ist weiterhin unklar. Sie ist vermutlich multifaktoriell. Alle zuvor genannten Systeme und Hormone spielen vermutlich eine Rolle. Besonders dem Hormon Leptin kommt dabei eine bedeutende Rolle zu. Leptin könnte das Verbindungsglied zwischen Adipositas und Bluthochdruck darstellen und so auch die Teilaspekte des Syndrom X miteinander verbinden.

Zielsetzung dieser Studie war es deshalb, folgende Fragen zu klären:

1. Wie wirkt sich die intravenöse Gabe der kompetitiven NO-Synthese-Antagonisten L-NAME auf die systemische und renale Hämodynamik bei adipösen, ansonsten gesunden Probanden aus?
2. Gibt es Unterschiede in der L-NAME-Wirkung bei adipösen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen?
3. Wie verändern sich die Leptinspiegel durch L-NAME-Infusion bei adipösen und normalgewichtigen Testpersonen? Gibt es Unterschiede ?

2. Material und Methoden

2.1. Probanden

Das Probandenkollektiv setzte sich aus zehn übergewichtigen, gesunden Männern im Alter von 22 bis 37 Jahren zusammen. Die Teilnehmer wurden durch Aushänge rekrutiert. Als Vergleichsgruppe dienten elf normalgewichtige, gesunde Männer im Alter von 24 bis 38 Jahren, die an einer der Vorstudien teilnahmen. Der Studienaufbau dieser Vorstudie war identisch und wurde unter gleichen Bedingungen durchgeführt. Die Probanden mussten folgende Kriterien erfüllen:

Einschlusskriterien:

- Body-Mass-Index $> 30 \text{ kg/m}^2$ in der adipösen Probandengruppe beziehungsweise Body mass index zwischen 20-24,9 kg/m^2 in der normalgewichtigen Probandengruppe
- Normale Nierenfunktion
- Keine kardialen oder renalen Vorerkrankungen
- Männlich
- Alter: 18-40 Jahre
- Nichtraucher

Ausschlusskriterien:

- Kardiale/ Pulmonale Erkrankungen, insbesondere arterielle Hypertonie
- Manifester Diabetes mellitus
- Durchblutungsstörungen
- Herzrhythmusstörungen
- Weibliches Geschlecht
- Atopiker
- Angioneurotisches Ödem, C1-Esterase-Inhibitormangel
- Alkohol-/ Drogen-Abusus
- Raucher

Abbruchkriterien:

- Blutdruckanstieg auf > 200/100 mmHg oder 50% des Ausgangswertes
- Tachykardie über 100/min
- EKG-Veränderungen
- Pektanginöse Beschwerden
- Dyspnoe
- Übelkeit
- Andere Beschwerden seitens des Probanden

Tabelle 1 gibt einen Überblick über das adipöse, Tabelle 2 über das normalgewichtige Probandenkollektiv.

Tabelle 1: Charakteristik des adipösen Probandenkollektivs

Probanden Nr.	Alter [Jahre]	Größe [m]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m²]	KO [m²]
1	32	1,75	92	30,04	2,07
2	22	1,74	91	30,06	2,06
3	26	1,76	99	31,96	2,15
4	29	1,72	89	30,08	2,02
5	27	1,81	99	30,22	2,19
6	28	1,80	100	30,86	2,19
7	22	1,85	110	32,14	2,33
8	27	1,77	94	30,00	2,11
9	37	1,74	93	30,72	2,07
10	24	1,85	132	38,57	2,52
MW	27,4	1,77	99,9	31,46	2,17
SD	4,57	0,04	12,81	2,61	0,15

Tabelle 2: Charakteristik des normalgewichtigen Probandenkollektivs

Probanden Nr.	Alter [Jahre]	Größe [m]	Gewicht [kg]	BMI [kg/m²]	KO [m²]
1	27	1,87	75	21,45	2,00
2	24	1,78	63	19,88	1,79
3	29	1,84	75	22,15	1,97
4	38	1,74	60	19,82	1,72
5	26	1,84	82	24,22	2,05
6	33	1,72	68	22,99	1,80
7	26	1,70	70	24,22	2,05
8	29	1,68	58	20,55	1,66
9	25	1,87	80	22,88	2,05
10	26	1,80	76	23,46	1,95
11	27	1,94	75	19,93	2,05
MW	28,18	1,79	71,09	21,95	1,89
SD	4,07	0,08	7,99	1,72	0,14

2.2. Studienaufbau

Bei der Studie handelt es sich um eine klinische Studie, die an zwei verschiedenen Tagen im Abstand von zwei Wochen stattfand, um mögliche Überlappungseffekte auszuschließen.

1-2 Wochen vor Studienbeginn fanden die Voruntersuchungen statt, die die körperliche Untersuchung, Familien- und Eigenanamnese beinhalteten. Außerdem wurden folgende Sicherheitslaborparameter bestimmt: Spontanurinteststreifen, Natrium, Kalium, Calcium, Kreatinin, CK/CK-MB, Leptin, Laktat, Harnstoff, Harnsäure, γ -GT, GOT, GPT, Lipase, Gesamteiweiß, Albumin, Bilirubin gesamt, Cholesterin, Triglyceride, CRP, LDH, AP, Quick, PTT, kleines Blutbild, TSH, FT4, Hb-A1_c, Blutzucker. Zum Ausschluss einer diabetischen Stoffwechsellage wurde ein

oralen Glukose-Toleranztest durchgeführt. Dabei zeigten alle Übergewichtigen eine gestörte Glukosetoleranz, wobei noch keine Insulinresistenz vorlag. Der 24-Stundensammelurin wurde auf Proteinurie und Albuminurie untersucht und die Kreatininclearance errechnet. Zusätzlich wurden Ruhe- und Belastungs-EKG sowie eine Echokardiographieuntersuchung zur Überprüfung und möglicher Aufdeckung von Ausschlusskriterien durchgeführt.

Das Studienprotokoll wurde der Tübinger Ethikkommission vorgelegt, von ihr überprüft und genehmigt. Alle Probanden erhielten eine genaue Aufklärung über den Ablauf der Studie sowie mögliche Risiken bei der Durchführung, bevor sie ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme gaben. Für alle Teilnehmer wurde eine spezielle Studienversicherung bei der Ecclesia Versicherungs-GmbH abgeschlossen.

2.3. Praktische Durchführung

Vor Beginn des Studientages um 8 Uhr musste von den Teilnehmern eine 12-stündige Nahrungskarenz eingehalten werden. Es durfte 24 Stunden zuvor keinen Alkohol mehr getrunken werden. Am Morgen des Versuchstages durften die Probanden weder Kaffee noch Schwarztee, keinen Zucker und keine Milch zu sich nehmen. Außerdem wurden die Teilnehmer darauf hingewiesen, zwei Wochen vor Studienbeginn keine Cyclooxygenasehemmer einzunehmen und bei nicht völligem körperlichen Wohlbefinden den Studientag abzusagen. Zusätzlich sollte am Morgen des Versuchstages körperliche Anstrengung vermieden werden.

Nach dem Eintreffen der Versuchspersonen auf der Probandenstation der Klinischen Pharmakologie in der Medizinischen Klinik mussten diese als Erstes ihre Harnblase entleeren, um aus dem Urin die Leerwerte für die PAH- und Inulin-Clearance zu bestimmen.

Danach wurde in jeden Unterarm eine Venenverweilkanüle der Firma Braun gelegt. Über den einen Arm erfolgte sowohl die Infusion von Inulin und p-Aminohippursäure

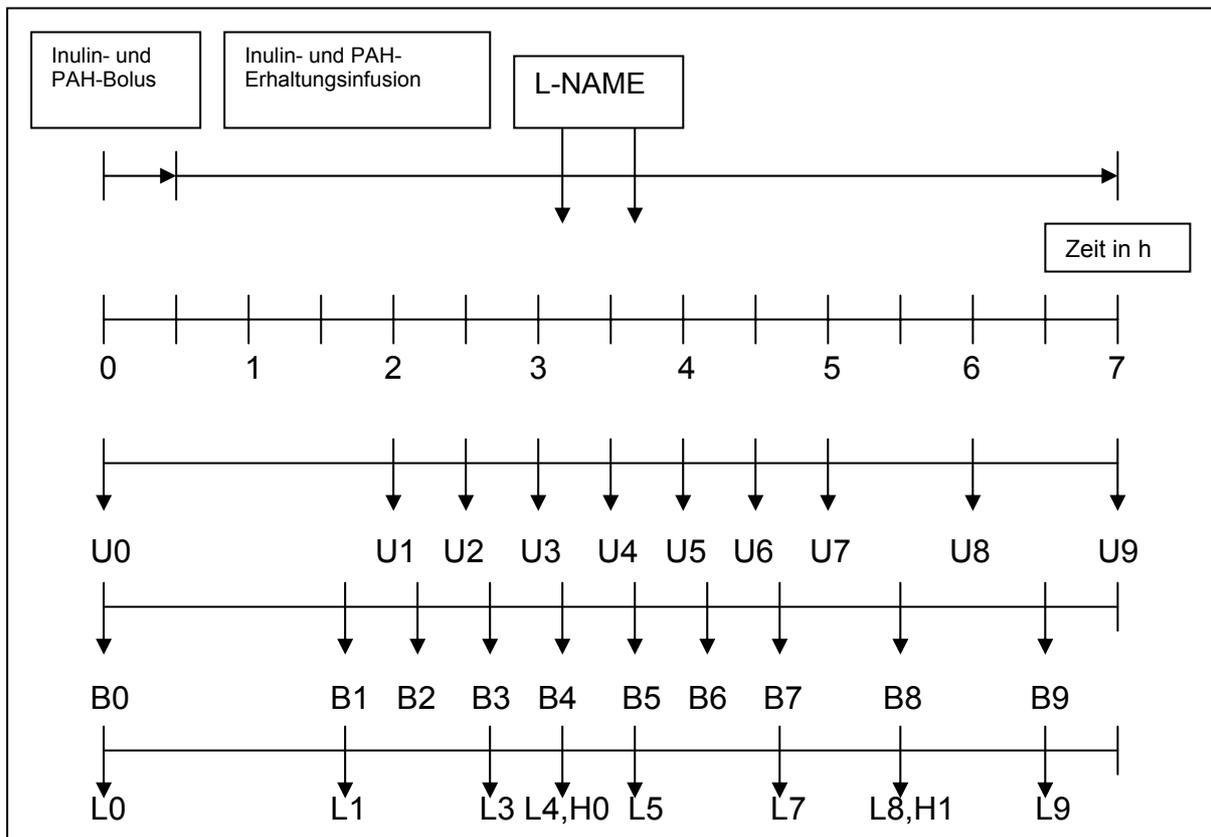
mit Hilfe des Infusiomaten IVAC StarFlow als auch die Kurzinfusion von L-NAME/ Placebo mit dem Perfusor Injectomat cp-IS. Am anderen Arm wurde Blut abgenommen sowie der Blutdruck und Puls kontrolliert. Die Blutdruckmessung erfolgte automatisch nach dem Prinzip der Oszillometrie mit einer Mortara-Überwachungsanlage, Modell Surveyor der Firma Mortara, Essen.

Vor den Blutentnahmen wurde 2 ml Blut aspiriert, welches verworfen wurde. Nach jeder Benutzung wurde der Zugang mit 5 ml isotoner Kochsalzlösung durchgespült.

Der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden bis zum Start von L-NAME/ Placebo in 15-Minuten-Abständen gemessen. Während und nach L-NAME/ Placebo-Gabe erfolgte die Messung alle 5 Minuten.

Die Studienteilnehmer mussten während des gesamten Studientages liegen. Die Urinabgabe erfolgte am Bett in eine Urinflasche.

Abb. 4: Studiendesign



Wie in Abb. 4 dargestellt, erfolgte zum Zeitpunkt 0 eine Blutentnahme (B0) und eine Urinabgabe (U0). Diese beiden Proben dienten zur Messung des Leerwertes vor Beginn der PAH- und Inulininfusion. Außerdem wurden kleines Blutbild, Natrium, Kalium, Kreatinin, Glukose, Leptin, Erythropoetin, sowie im Urin Natrium, Kalium und Albumin gemessen.

Danach begann die 30minütige Bolusinfusion (500ml/min) von PAH und Inulin, gefolgt von der Erhaltungsinfusion (50ml/min) der beiden Substanzen, die bis zum Ende des Untersuchungstages infundiert wurde. Dadurch konnte ein konstanter Plasmaspiegel an PAH und Inulin aufgebaut und erhalten werden. Über die Clearances der beiden Substanzen konnte der effektive renale Plasmafluß (PAH) und die glomeruläre Filtrationsrate (Inulin) berechnet werden.

90 Minuten nach Beginn des Studientages mussten die Probanden erneut ihre Harnblase entleeren. Dieser Urin wurde verworfen. Zu diesem Zeitpunkt bestand ein Steady State der PAH- und Inulin-Blutkonzentration. Es konnte jetzt mit der Clearancebestimmung begonnen werden.

Zum Zeitpunkt 105 Minuten erfolgte eine Blutentnahme (B1), aus der Natrium, Kalium, Kreatinin und Leptin bestimmt wurden. Zusätzlich wurde eine PAH- und Inulinprobe entnommen. 15 Minuten später mussten die Studienteilnehmer eine Urinprobe abgeben, aus der Inulin, PAH, Albumin, Natrium und Kalium bestimmt wurde.

Im 30-Minuten-Takt erfolgten jetzt die einzelnen Blutentnahmen (B2 und B3); 15 Minuten versetzt wurde Urin abgegeben (U2 und U3). Bei B2 entfiel die Leptinbestimmung.

Im selben Abstand folgte nun B4 und U4. Bei der Blutentnahme wurde zusätzlich ein Hormonprofil erstellt, bestehend aus Renin, Angiotensin II, Endothelin-1, Aldosteron, Insulin, Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin.

Der Beginn der 30-minütigen, intravenösen L-NAME-/Placebo-Gabe erfolgte 210 Minuten nach Studienbeginn. Die Randomisierung wurde von der Universitätsapotheke Tübingen durchgeführt. Somit war bis zum Ende der Studie weder den Durchführenden noch den Probanden bekannt, welche Substanz (L-NAME oder Placebo) appliziert wurde. Die Entblindung erfolgte nach Studienende. Während der Kurzinfusion wurde 225 Minuten nach Untersuchungsbeginn erneut Blut (B5) entnommen und am Ende der L-NAME /Placebo-Infusion 15 Minuten später Urin (U5).

Es folgten B6 und B7 sowie U6 und U7 nach dem üblichen Schema, wobei bei U6 erneut kein Leptin bestimmt wurde.

Zum Zeitpunkt 330 Minuten folgte eine Blutentnahme (B8) sowie die Abnahme eines weiteren Hormonprofils, welches mit der ersten Hormonabnahme übereinstimmte. Die zugehörige Urinabgabe fand nach 360 Minuten statt.

Nach 390 Minuten wurde erneut Blut (B9) entnommen. Mit der Urinabgabe U9 nach 420 Minuten endete der Studientag.

Während des Studientages wurden die Probanden dazu angehalten, stündlich 0,7l Mineralwasser zu trinken, um eine ausreichende Diurese zu gewährleisten.

Alle Blutentnahmen wurden mit Monovetten der Firma Sarstedt durchgeführt. Das Blut für die PAH- und Inulin-Bestimmung wurde in Serum-Monovetten abgenommen und während des Studientages 10 Minuten bei 4000 UpM zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und ebenso wie die Urinproben in Eppendorff-Cups bei -20°C eingefroren, um sie bis zur Bestimmung aufzubewahren.

Insulin wurde ebenfalls in Serum-Röhrchen entnommen, die anderen Hormonabnahmen erfolgten in EDTA-Monovetten. Die Monovetten für die Endothelin- und Angiotensin II- Bestimmung enthielten außerdem 50µl Phenantrolin und 100µl Trasylool. Die vorgekühlte Hormonröhrchen wurden direkt nach der Blutentnahme auf Eis gekühlt und innerhalb von 15 Minuten 10 Minuten bei 4000UpM zentrifugiert, abpipettiert und umgehend bei -20°C bis zur Bestimmung

eingefroren. Insulin und Katecholamine wurden zur Bestimmung in das Zentrallabor der Universitätsklinik gebracht. Die Blutprobe zur Bestimmung der Katecholamine wurden ebenfalls auf Eis gekühlt.

Zusammensetzung der verschiedenen Infusionslösungen

- Bolusinfusion:

Aufsättigungsdosis zur Durchführung der Inulin- und PAH-Clearance:

- 18ml Inulinlösung/m² Körperoberfläche
(5g Sinistrin, 0,268g Natriumlaktatlösung, gelöst in 16,614g Aqua ad injectionem, Inutest® 25%-Ampullen der Firma Fresenius)
- 3ml 20%ige PAH-Lösung/m² Körperoberfläche
(aminohippursäures Na-Salz, 1,1g gelöst in 5,1ml H₂O(20%),Clinalfa AG.
- Beide Substanzen wurden in 250ml 5%iger Glukose-Lösung der Firma Fresenius gelöst und intravenös infundiert
- Infusionsgeschwindigkeit: 50ml/h
- Infusionsdauer: 30 Minuten

- Erhaltungsinfusion

- 25ml Inulinlösung/m² Körperoberfläche (Zusammensetzung siehe oben)
- 8ml PAH-Lösung/m² Körperoberfläche (Zusammensetzung siehe oben)
- Die Substanzen wurden in 375ml 5%iger Glukose-Lösung der Firma Fresenius gelöst und intravenös infundiert.
- Infusionsgeschwindigkeit: 50ml/h
- Infusionsdauer: 390 Minuten

- L-NAME-Infusion

- L-NAME. HCl. Clinalfa AG, Schweiz
Eine Ampulle enthält 99,5mg pyrogenfreie, sterile Trockensubstanz
- Dosierung: 2mg/kg Körpergewicht, gelöst in 50ml NaCl der Firma Delta Pharma

- Infusionsgeschwindigkeit: 99,9ml/h
- Infusionsdauer: 30 Minuten

- Placeboinfusion

- 50ml NaCl-Lösung der Firma Delta Pharma
- Infusionsgeschwindigkeit: 99,9ml/h
- Infusionsdauer: 30 Minuten

2.4. Laborchemische Methoden

2.4.1. PAH- und Inulinclearance

Folgende Reagenzien wurden zur PAH- und Inulin-Clearance-Bestimmung in Blut und Urin benötigt:

- 1) 10%ige ZnSO₄-Lösung
- 2) 0,5N NaOH
- 3) 0,1N HCl
- 4) 0,1%ige NaNO₂-Lösung
- 5) 0,5%ige Amidosulfonsäure
- 6) 0,1N N-Ethyl- α -Naphthylaminhydrobromid
- 7) Resorchin-Reagenz (0,1g Resorchin mit 0,25g Thioharnstoff in 100ml 99,7%iger Essigsäure gelöst, lichtgeschützt gelagert)
- 8) 30%ige HCl-Lösung

2.4.1.1. Inulin-Clearance

Durchführung der Inulinbestimmung:

1. Enteiweißung der Proben: 0,5ml Serum bzw. Urin mit 0,5ml Reagenz (1), 0,5ml Reagenz (2) und 1ml H₂O mischen.
2. 10 Minuten stehen lassen, dann bei 4000UpM 10 Minuten zentrifugieren.

3. Urinverdünnungsreihe mit dem Faktor 1:10 herstellen.
4. Zu 0,25ml der Serumenteweißung bzw. der Urinverdünnung werden 0,125ml Reagenz (7) und 1ml Reagenz (8) hinzugegeben.
5. Dann werden die Proben im Wasserbad auf 80°C erwärmt, bis die geringste Standardkonzentration eine leichte Färbung aufweist.
6. Danach umgehende Kühlung im Eisbad.
7. Umfüllen der Proben in Plastikkuvetten der Firma Sarstedt und photometrische Messung gegen die Standardreihe mit dem Spektrophotometer Beckman DU-600 bei 546nm Wellenlänge.

2.4.1.2. PAH-Clearance

Durchführung der PAH-Bestimmung:

1. Probenenteiweißung (siehe Inulin).
2. 10 Minuten stehen lassen, dann bei 4000UpM 10 Minuten zentrifugieren.
3. Urinverdünnung 1:100 herstellen.
4. jeweils 0,5ml aus der Serumenteweißung bzw. der Urinverdünnung mit 0,1ml Reagenz (3) und 0,05ml Reagenz (4) mischen und 5 Minuten warten.
5. Hinzufügen von 0,05ml Reagenz (5), schütteln und erneut 5 Minuten stehen lassen.
6. Zugabe von 0,5ml Reagenz (6), nochmals mischen.
7. Nach 40minütiger Wartezeit Umfüllen der Proben in Sarstedt-Plastikküvetten, danach photometrische Messung bei 528nm Wellenlänge mit dem Spektrophotometer Beckman DU-600.

2.4.2. Hormone

Renin:

Zur Bestimmung von Renin im Serum diente der Testsatz RENIN MAIA von Biochem Immunosystems (Radioimmunoassay mit Magnettrenntechnik).

Angiotensin II:

Angiotensin II wurde mit dem Angiotensin II RIA-Kit von DRG Instruments GmbH, Germany nach folgendem Prinzip nachgewiesen:

1. 1ml der Probe mit 0,1ml ¹²⁵I-Angiotensin II mischen, 0,3ml Assay Puffer und 5ml Ethanol hinzufügen.
2. Nach 30 Minuten Pause jede Probe 2 Minuten vortexen
3. 15 Minuten bei 2000UpM zentrifugieren
4. Überstand in hitzefeste Röhrchen dekantieren
5. Abdampfen unter Stickstoffbegasung bei 37°C
6. Hinzugeben des Puffers
7. Lagerung bei -20°C bis zur endgültigen Analyse

Endothelin:

Endothelin wurde mit dem RIK 6901 Testansatz von Peninsula Laboratories, INC nach dem RIA-Prinzip bestimmt. Zuvor wurden die Proben auf Säulen der Firma Bodachrom unter Vakuum wie folgt aufgearbeitet:

1. Nacheinander hinzufügen von 1ml Methanol, 2ml Aqua dest. und 1ml Probe
2. Säulenauswaschung mit 1ml Ethanol
3. Bei 37°C abdampfen unter Stickstoffbegasung
4. Hinzufügen der Pufferlösung
5. Aufbewahrung bis zur endgültigen Weiterverarbeitung bei -20°C

Aldosteron:

Bestimmung von Aldosteron im Serum mit Hilfe des Coated-Tube-Radioimmunoassays von der Firma Diagnostic Systems Laboratories Deutschland GmbH.

Insulin:

Bestimmung durch einen Insulin-Assay mit Hilfe eines ADVIA Centaur® Systems.

Noradrenalin, Adrenalin, Dopamin:

Die Katecholamine wurden mittels HPLC gemessen.

TSH, FT₄:

Analyse mittels kompetitivem Immunoassay mittels eines ADVIA Centaur® FrT4 Tests.

2.4.3. Sonstiges:

Leptin wurde nach dem ELISA-Prinzip mit dem Gerät BEP 2000 der Firma Dade Behring Marburg durch einen Enzymimmunoassay der Firma DSL Deutschland GmbH quantitativ bestimmt.

Die Bestimmung des Blutbilds mit dem H3 der Firma Technikon.

Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, γ-GT, Gesamteiweiß, Albumin, Gesamtcholesterin, Triglyceride, Glukose, Laktat, Lipase, AP, CRP und LDH wurden im Serum bzw. im Urin mit dem Mehrfachanalyser Hitachi 917 und Reagenzien der Firma Roche bestimmt.

Die Bestimmung von GPT, GOT und Gesamtbilirubin erfolgte mittels Hitachi 747 und Reagenzien der Firma Roche.

Der Hb-A_{1c} wurde mittels HPLC untersucht.

Die Gerinnungsparameter Quick und PTT wurden mit Innovin® bzw. Actina® der Firma Dade Behring Marburg GmbH gemessen.

2.5. Formeln

2.5.1. Clearance

Die Clearance C ist diejenige Menge, die pro Zeiteinheit von einer bestimmten Substanz befreit wird. Die renale Clearance ist ein Maß für die exkretorische Nierenleistung. Sie wird nach folgender Formel berechnet:

$$C \text{ [ml/min]} = (U \cdot V) / P$$

U= Urinkonzentration der Testsubstanz [mg/ml]

V= Volumen pro Zeiteinheit [ml/min]

P= Plasmakonzentration der Testsubstanz [mg/ml]

2.5.2. Glomeruläre Filtrationsrate

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist das Produkt aus dem effektiven Filtrationsdruck im Glomerulum und dem Ultrafiltrationskoeffizienten. Zur Bestimmung der GFR wurde Inulin gewählt, da es bei parenteraler Zufuhr nicht metabolisiert, fast vollständig glomerulär filtriert und in den Nierentubuli weder sezerniert noch rückresorbiert wird.

Zur Berechnung der GFR dient folgende Formel:

$$\text{GFR [ml/min/1,73m}^2\text{]} = U_{\text{Inulin}} \cdot V \cdot 1.73\text{m}^2 / (P_{\text{Inulin}} \cdot \text{KO})$$

U_{Inulin} = Inulin-Konzentration im Urin

V = ausgeschiedenes Urinvolumen in ml

P_{Inulin} = Inulin-Konzentration im Plasma

KO = Körperoberfläche des Probanden

2.5.3. Effektiver renaler Plasmafluss

Zur Bestimmung des effektiven renale Plasmaflusses (ERPF) wurde p-Aminohippursäure (PAH) verwendet, weil diese vollständig glomerulär filtriert und im proximalen Tubulus der Niere sezerniert wird.

Der ebenfalls auf die Standardkörperoberfläche bezogene ERPF errechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{ERPF [ml/min/1,73m}^2\text{]} = (\text{U}_{\text{PAH}} \cdot \text{V} \cdot 1,73\text{m}^2) / (\text{P}_{\text{PAH}} \cdot \text{KO})$$

U_{PAH} = PAH-Konzentration im Urin

V = ausgeschiedenes Urinvolumen in ml

P_{PAH} = PAH-Konzentration im Plasma

KO = Körperoberfläche des Probanden

2.5.4. Filtrationsfraktion

Die Filtrationsfraktion FF ist der Anteil des renalen Plasmaflusses, der im Glomerulum filtriert wird:

$$\text{FF [\%]} = \text{GFR} / \text{ERPF} \cdot 100$$

2.5.5. Fraktionierte Natriumclearance

Die fraktionierte Clearance FCL einer Substanz ist definiert als der Anteil der ausgeschiedenen Substanz an der glomerulär filtrierten Substanz. Die fraktionierte Natriumclearance gibt daher Auskunft über die renale Natriumausscheidung in Relation zur GFR.

$$\text{FCL}_{\text{Na}} [\%] = (\text{U}_{\text{Natrium}} / \text{P}_{\text{Natrium}}) \cdot (\text{P}_{\text{Inulin}} / \text{U}_{\text{Inulin}}) \cdot 100$$

2.5.6. Mittlerer arterieller Blutdruck

Der mittlere arterielle Blutdruck MAP berechnet sich aus den Mittelwerten des systolischen und diastolischen Blutdrucks jeder Messung durch folgende Formeln:

$$\text{MAP [mmHg]} = P_D + ((P_S - P_D) / 3) \quad \text{oder} \quad \text{MAP [mmHg]} = (2 * P_D + P_S) / 3$$

P_S = Systolischer Blutdruck [mmHg]

P_D = Diastolischer Blutdruck [mmHg]

2.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Computerprogramm JMP® in der Version 4.0 mit Unterstützung des Instituts für medizinische Informationsverarbeitung in Tübingen.

2.6.1. Mittelwert, Standardfehler, Median und Quartile

Die Auswertung erfolgte in Form einer beschreibenden Statistik. Zur Ergebnisdarstellung wurden Mittelwerte (MW) berechnet. Bei normalverteilten Werten wurde zusätzlich die Standardabweichung (SD), bei nicht normalverteilten Werten 25%-Quartile, Median und 75%-Quartile dargestellt.

2.6.2. Prüfung auf signifikante Unterschiede

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe eines Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung geprüft. Bei normalverteilten Werten erfolgte die Durchführung eines T-Tests. Bei nicht normalverteilten Werten wurde ein Wilcoxon-Test durchgeführt.

Die untersuchten Parameter stellten die Zielgröße, das Gewicht bzw. die L-NAME-Gabe die Einflussgröße dar. Ein Effekt wurde als signifikant angesehen, wenn der p-Wert kleiner als 0,05 war.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisdarstellung

Die graphische Darstellung der systemischen Hämodynamik beinhaltet den zeitlichen Verlauf von systolischem und diastolischem Blutdruck, mittlerem arteriellen Blutdruck und Herzfrequenz vor, während und nach L-NAME-Infusion der übergewichtigen und normalgewichtigen Probanden dar. Der Wert 0 ist der Mittelwert aus den 16 Einzelmessungen vor L-NAME-Applikation, die in 15-Minuten-Abständen erfolgten. Die folgenden Werte stellen Mittelwerte von Einzelmessungen dar, die während und nach L-NAME in 5-Minuten-Abständen gemessen wurden. Es wird der Verlauf bis 60 Minuten nach Medikation dargestellt. In der nachfolgenden Tabellen werden die Mittelwerte der Messungen bis zum Beginn der L-NAME-Gabe mit dem Mittelwert der 6 Einzelmessungen im Zeitraum von 0 bis 30 Minuten nach Medikation verglichen.

Die Abbildungen zur Darstellung der renalen Hämodynamik zeigen bei übergewichtigen und normalgewichtigen Versuchspersonen einen Mittelwert der drei Messungen nach Erreichen des Steady State vor L-NAME-Applikation. Dieser wird mit dem Minimum der Messungen 15 und 45 Minuten nach Medikamenten-Infusion verglichen. Die darauffolgenden Tabellen beinhalten neben den Mittelwerten vor und nach L-NAME zusätzlich bei normalverteilten Werten die Standardabweichung, bei nicht normalverteilten Werten 25%-Quartile, Median und 75%-Quartile.

Die Diagramme zur Darstellung der Veränderung der Hormonplasmaspiegel enthalten die Mittelwerte der Messung vor und nach L-NAME-Gabe. Bei den Leptinwerten beinhaltet der Wert vor L-NAME die 3 Einzelmessungen vor Medikation. Der Wert nach L-NAME ist der Wert 30 Minuten nach Ende der Infusion.

Alle Balkendiagramme stellen die entsprechenden Differenzen der Mittelwerte vor und nach Substanzgabe unterteilt nach den beiden Gruppen in Prozent dar. Die abgebildeten Abweichung repräsentieren bei normalverteilten Werten die Standardabweichung. Bei nicht normalverteilten Mittelwerten stellen sie die 25%-Quartile und die 75%-Quartile dar.

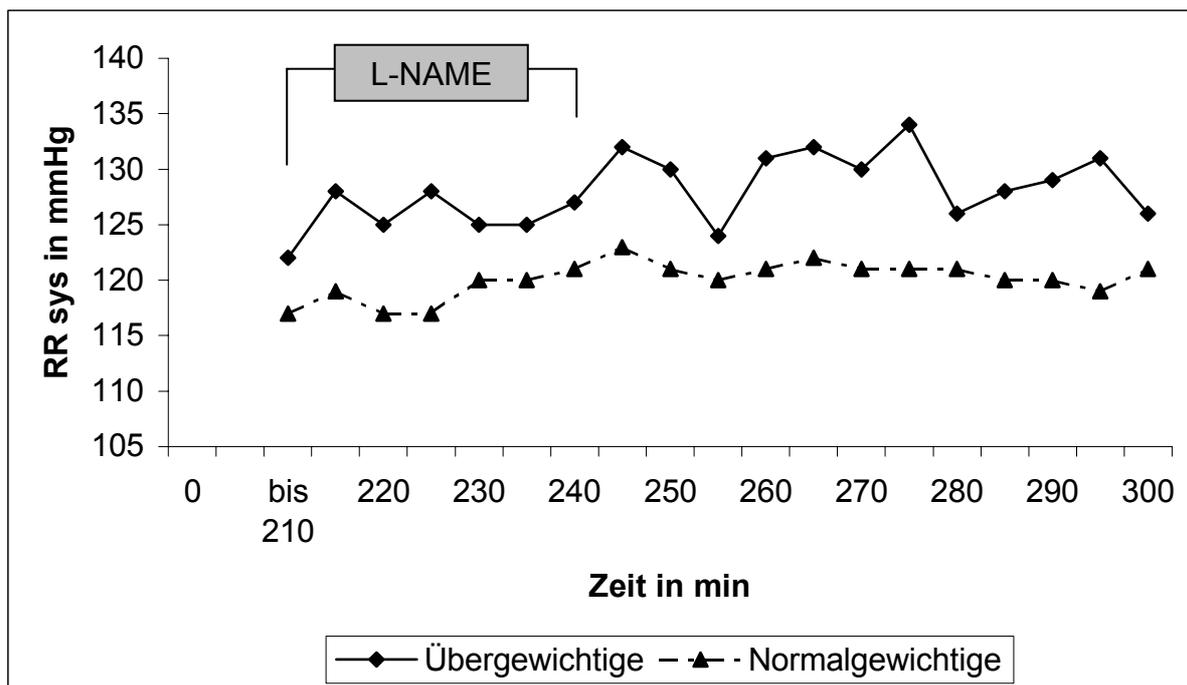
In der nachfolgenden Tabelle sind zur Verdeutlichung die prozentuale Unterschiede (Delta%) vor und nach Medikation dargestellt. Zusätzlich werden bei normalverteilten Mittelwerten die Standardabweichung (SD), bei nicht normalverteilten Mittelwerten die 25%-Quartile, der Median und die 75%-Quartile von Delta% aufgeführt.

Auf die Darstellung der Placebowerte wurde der besseren Übersicht wegen verzichtet, da diese durch die Infusion erwartungsgemäß unbeeinflusst blieben.

3.2. Systemische Hämodynamik

3.2.1. Systolischer Blutdruck (RR sys)

Abb. 5: Veränderung des systolischen Blutdrucks durch L-NAME

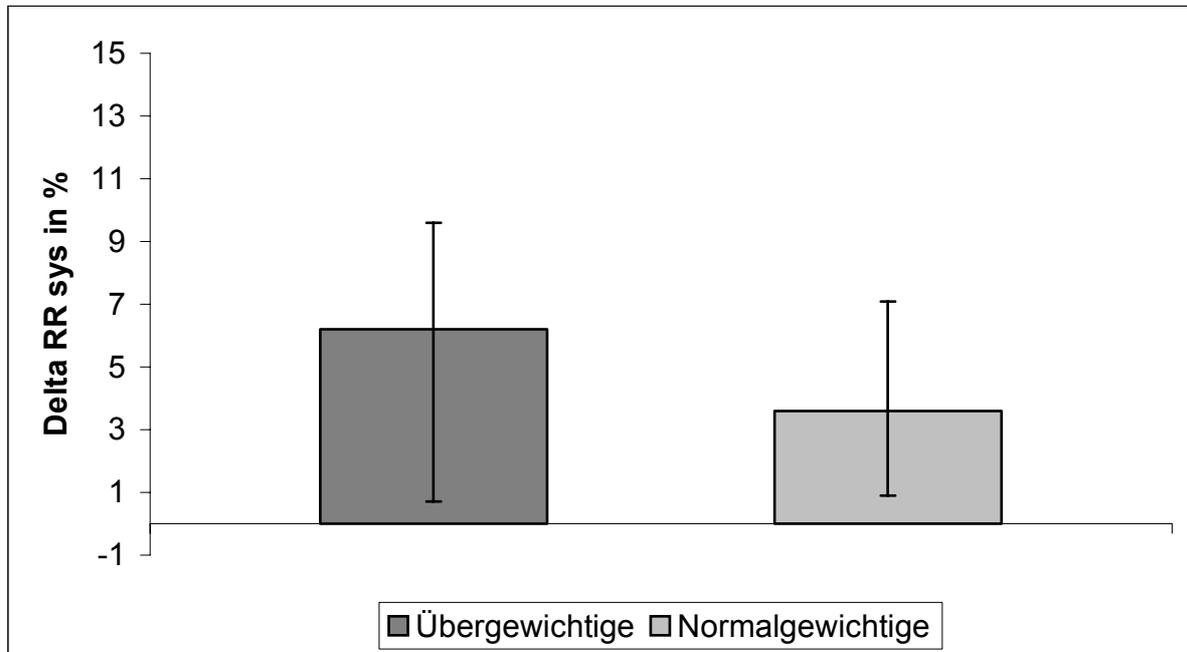


Die L-NAME-Gabe bewirkte in beiden Gruppen nach kurzer Zeit einen signifikanten Anstieg von RR sys ($p < 0,05$)

Tabelle 3: Veränderung des systolischen Blutdrucks durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	122	120,6	123	127,0	130	123,5	132	136,8	0,008
Normalgewichtige	117	109,0	118	125,0	122	114,0	121	125,0	0,027

Abb. 6: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung des systolischen Bludrucks durch L-NAME



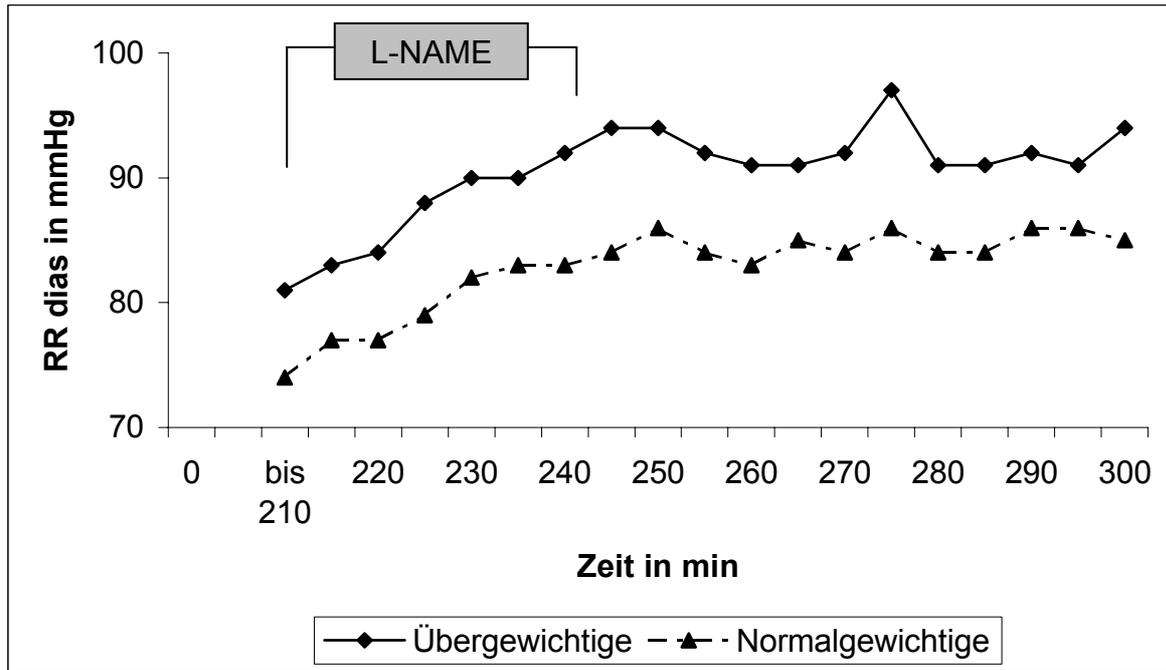
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 4: Einfluss des Körpergewichts auf den systolischen Blutdruck

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	6,2	0,71	5,14	9,59	0,6220
Normalgewichtige	3,6	0,89	3,39	7,08	

3.2.2. Diastolischer Blutdruck (RR dias)

Abb. 7: Veränderung des diastolischen Blutdrucks durch L-NAME

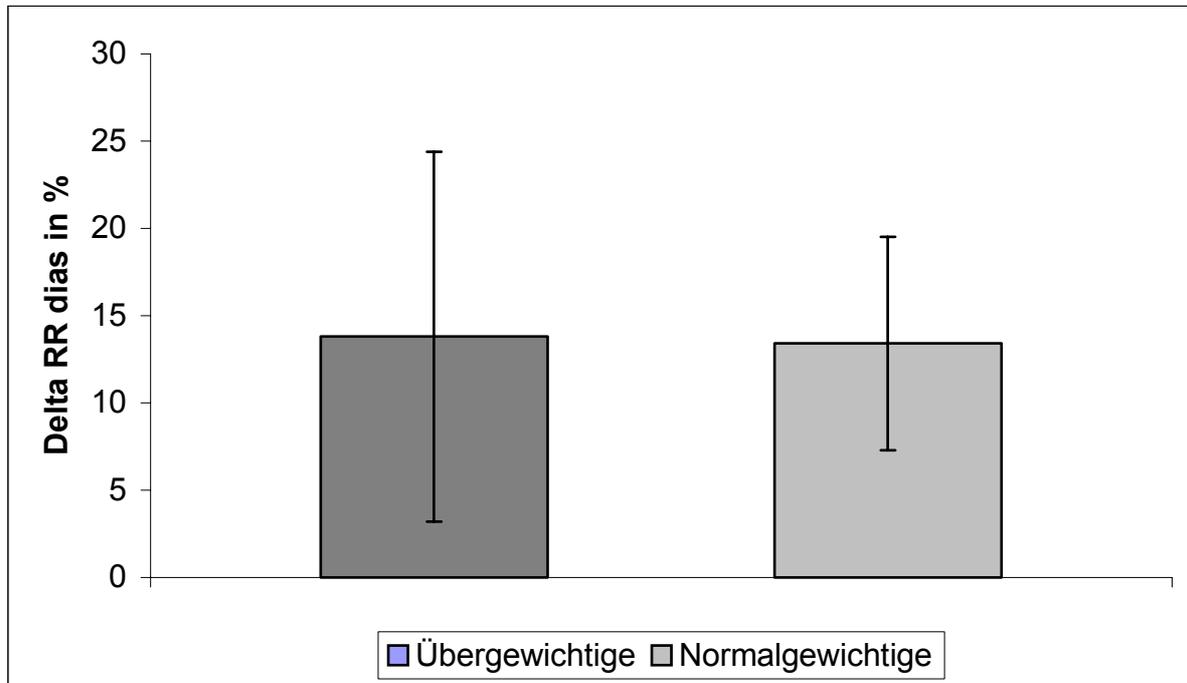


Die L-NAME-Gabe bewirkte in beiden Gruppen nach kurzer Zeit einen signifikanten Anstieg von RR dias ($p < 0,05$)

Tabelle 5: Veränderung des diastolischen Blutdrucks durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	81	±8,4	92	±10,8	0,0027
Normalgewichtige	75	±7,0	84	±7,7	<0,0001

Abb. 8: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung des diastolischen Blutdrucks durch L-NAME



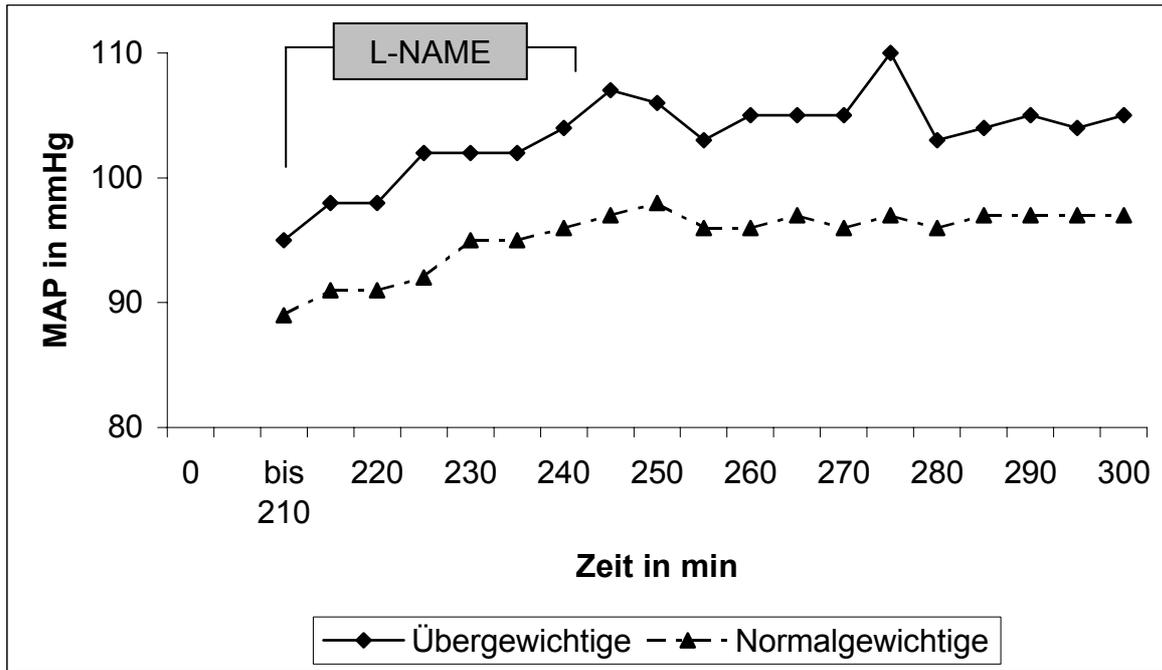
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 6: Einfluss des Körpergewichts auf den diastolischen Blutdruck

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	13,8	±10,6	0,9179
Normalgewichtige	13,4	±6,1	

3.1.3. Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Abb. 9: Veränderung des MAP durch L-NAME

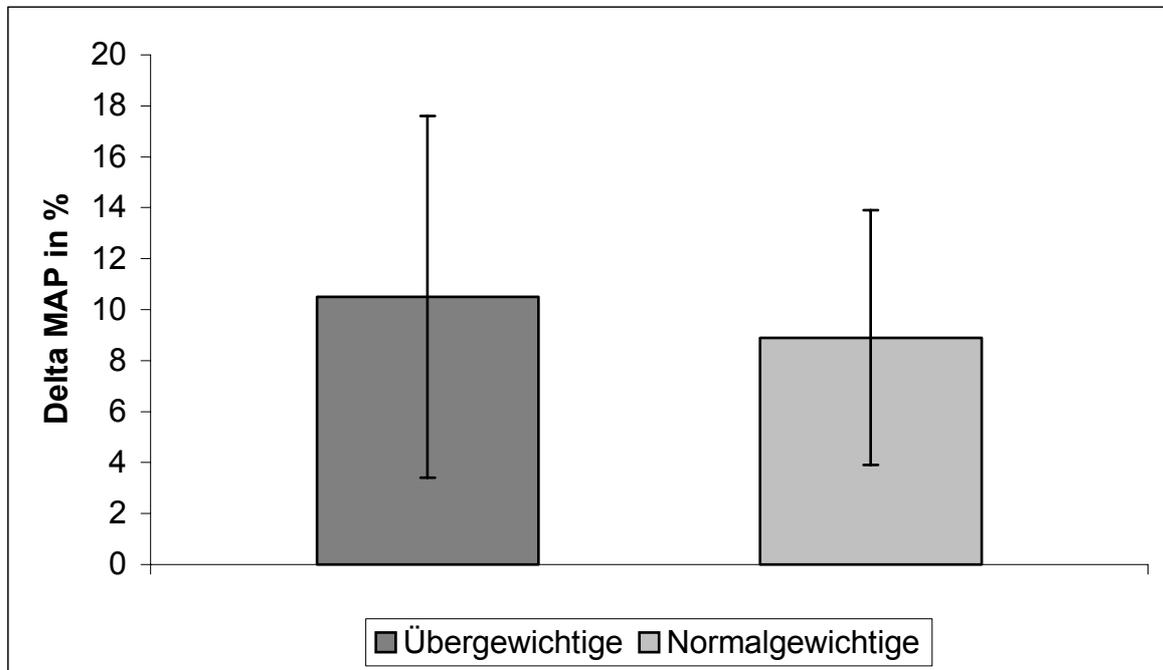


Die L-NAME-Gabe bewirkte in beiden Gruppen nach kurzer Zeit einen signifikanten Anstieg des MAP ($p < 0,05$)

Tabelle 7: Veränderung des MAP durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	95	±7,0	105	±10,8	0,0012
Normalgewichtige	89	±7,1	97	±7,6	0,0001

Abb. 10: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung des MAP durch L-NAME



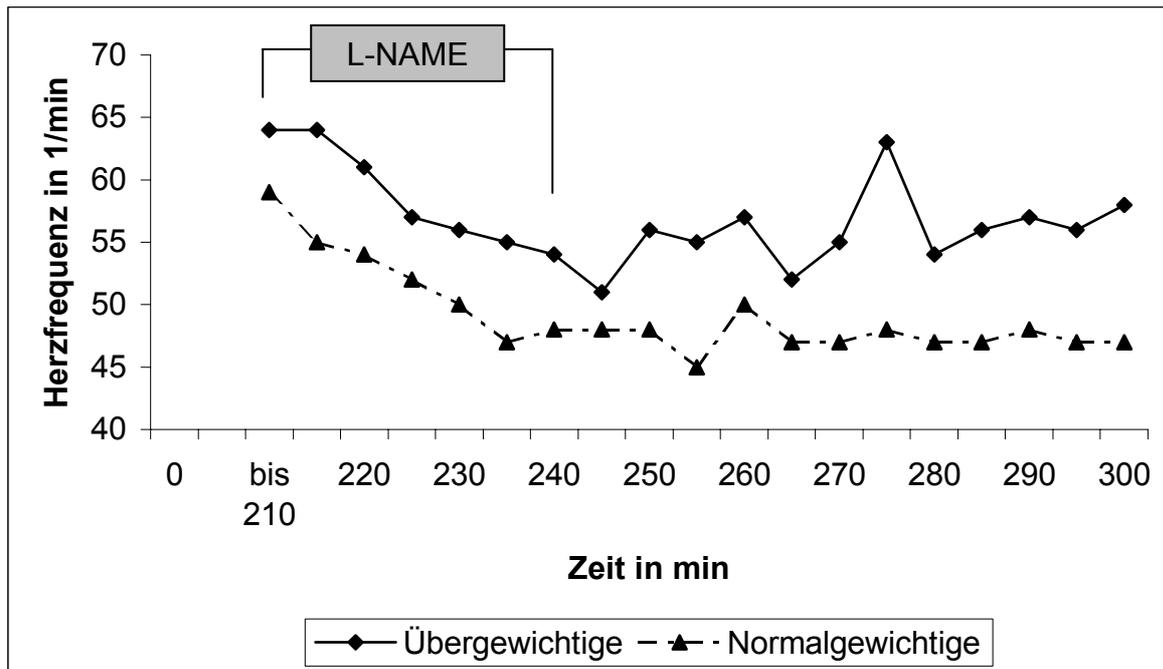
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 8: Einfluss des Körpergewichts auf den MAP

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	10,5	±7,1	0,5696
Normalgewichtige	8,9	±5,0	

3.2.4. Herzfrequenz

Abb. 11: Veränderung der Herzfrequenz durch L-NAME



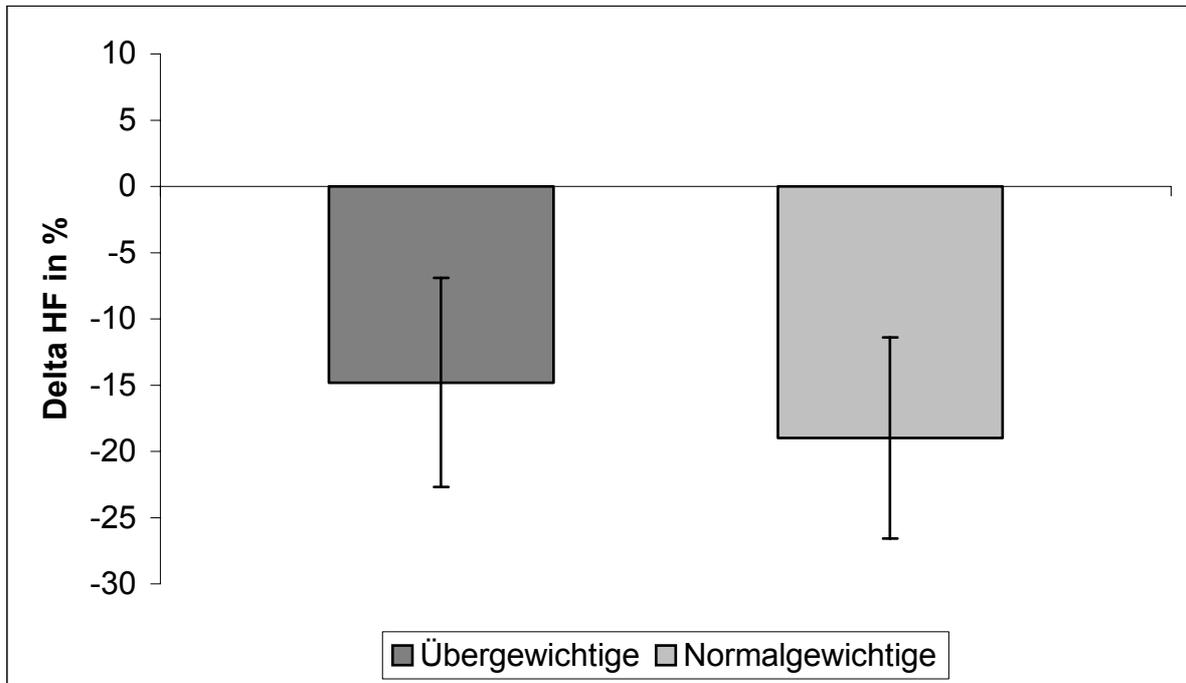
Die L-NAME-Gabe bewirkte in beiden Gruppen nach kurzer Zeit einen signifikanten Abfall der Herzfrequenz ($p < 0,05$)

Tabelle 9: Veränderung der Herzfrequenz durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	64	±4,6	55	±7,1	0,0002
Normalgewichtige	59	±5,0	48	±5,0	<0,0001

Die Herzfrequenz-Ausgangsmittelwerte der beiden Gruppen unterschieden sich signifikant ($p = 0,0262$)

Abb. 12: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung der Herzfrequenz durch L-NAME



Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

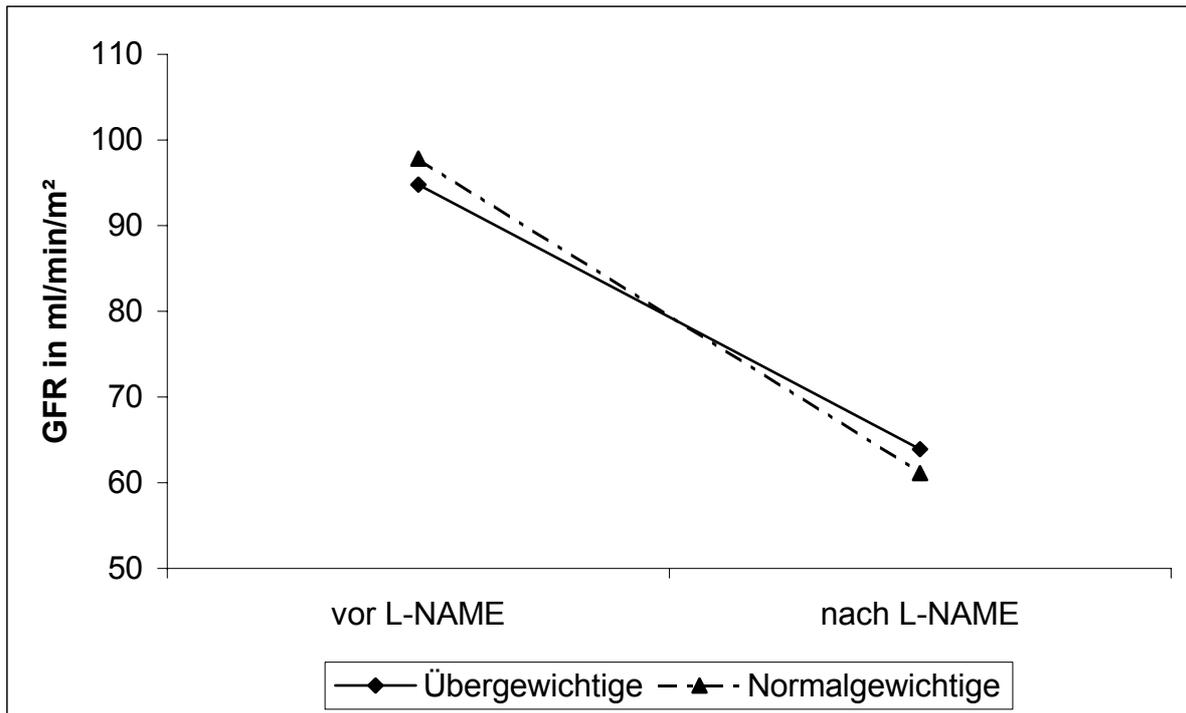
Tabelle 10: Einfluss des Körpergewichts auf die Herzfrequenz

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	-14,8	±7,9	0,2271
Normalgewichtige	-19,0	±7,6	

3.3. Renale Hämodynamik

3.3.1. Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Abb. 13: Veränderung der GFR durch L-NAME

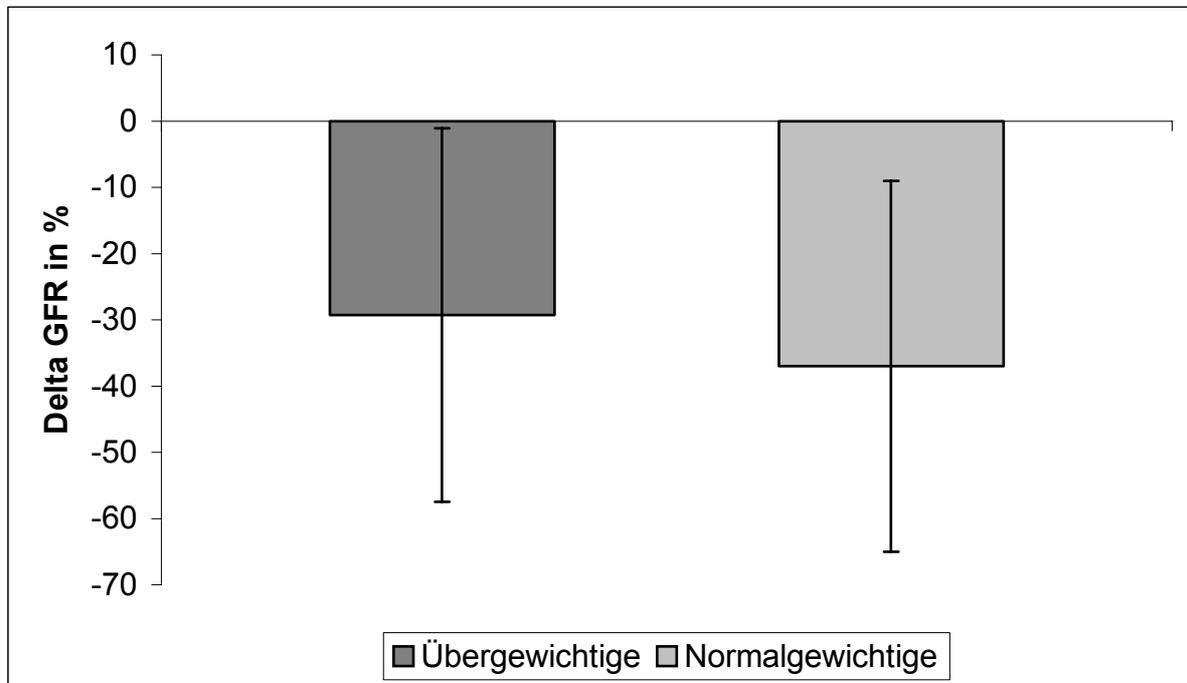


Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant.

Tabelle 11: Veränderung der GFR durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	94,8	±19,6	63,9	±21,8	0,0095
Normalgewichtige	97,8	±27,1	61,1	±26,9	0,0014

Referenzbereich: 90-150 ml/min/1,73m²

Abb. 14: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung der GFR durch L-NAME

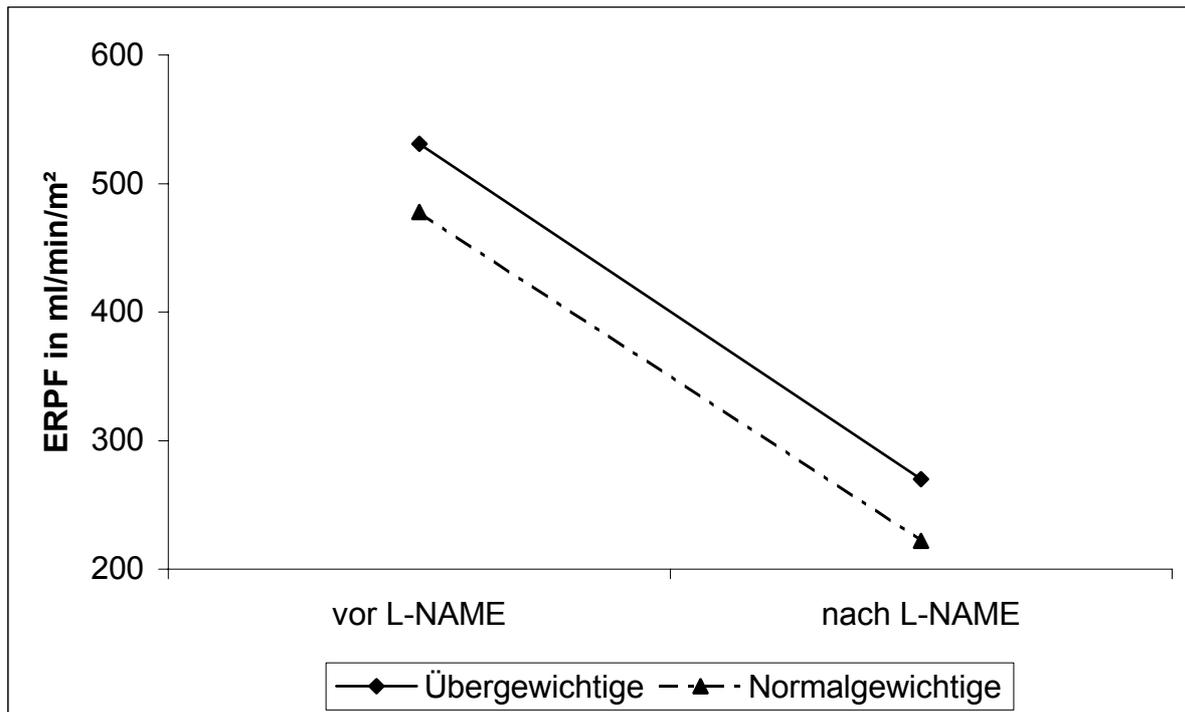
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 12: Einfluss des Körpergewichts auf die GFR

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	-29,3	±28,2	0,5332
Normalgewichtige	-37,0	±28,0	

3.3.2. Effektiver Renaler Plasmafluß (ERPF)

Abb. 15: Veränderung des ERPF durch L-NAME

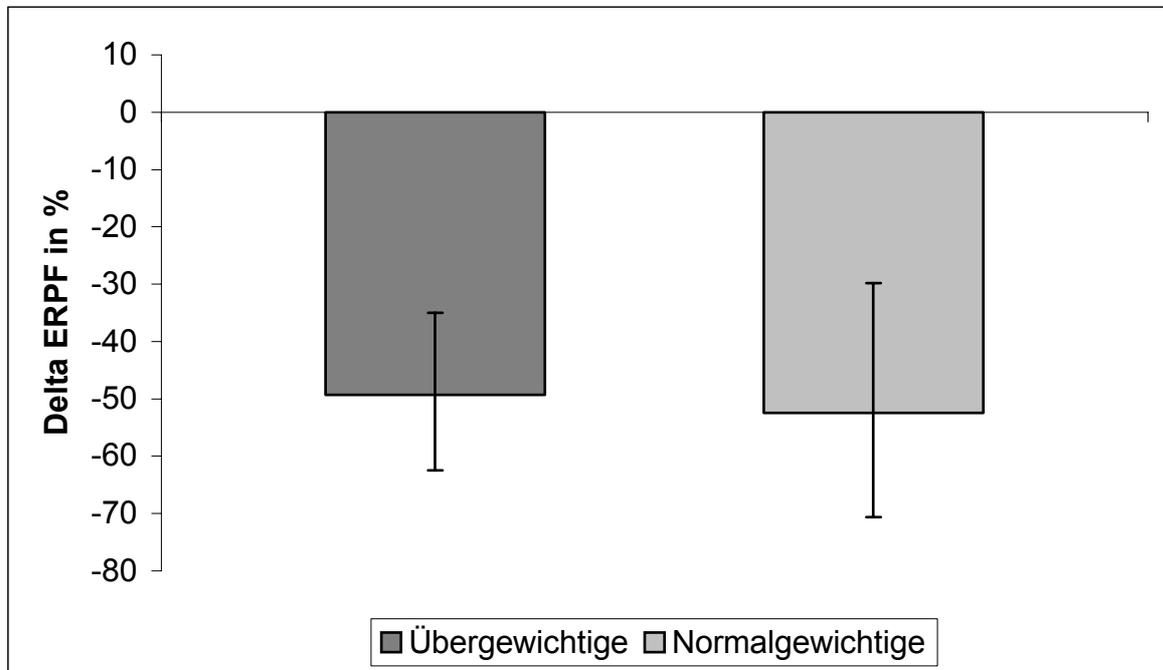


Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant

Tabelle 13: Veränderung des ERPF durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	531	455	553	603	270	198	240	346	0,002
Normalgewichtige	478	375	421	654	222	159	264	303	0,001

Referenzbereich: $> 500 \text{ ml/min/1,73m}^2$

Abb.16: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung der ERPF durch L-NAME

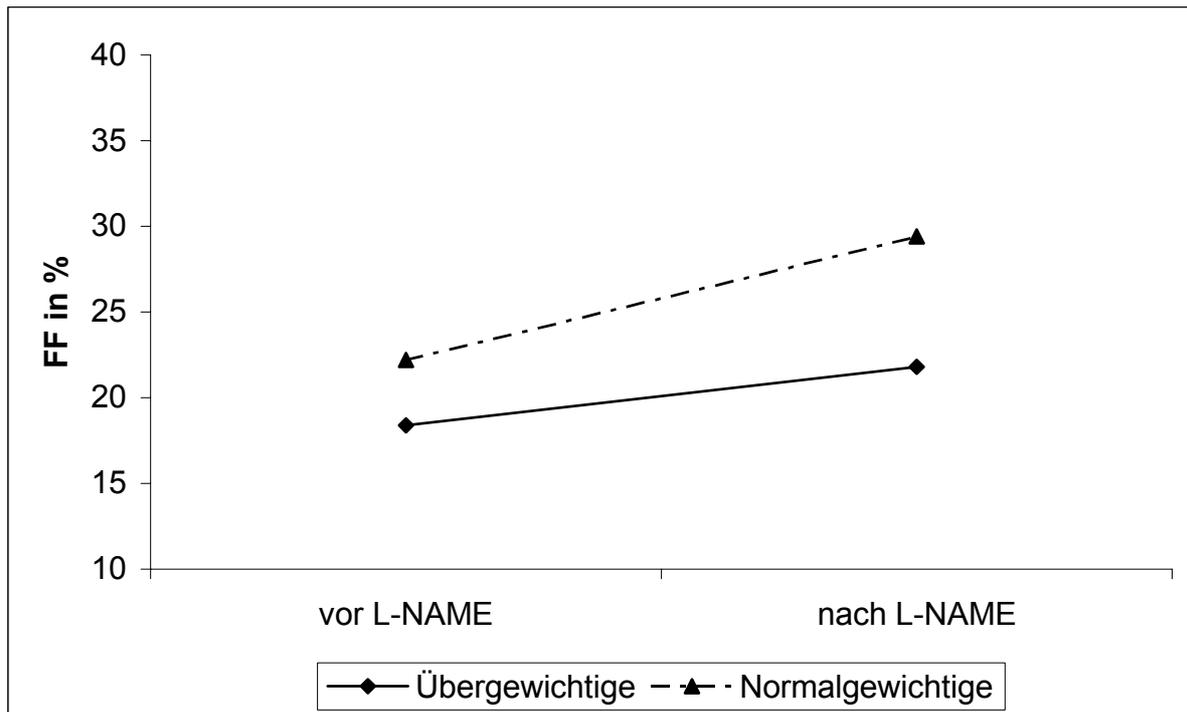
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 14: Einfluss des Körpergewichts auf den ERPF

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	-49,3	-62,5	-57,2	-35,0	0,6472
Normalgewichtige	-52,4	-70,6	-61,0	-29,8	

3.3.3. Filtrationsfraktion (FF)

Abb. 17: Veränderung der FF durch L-NAME

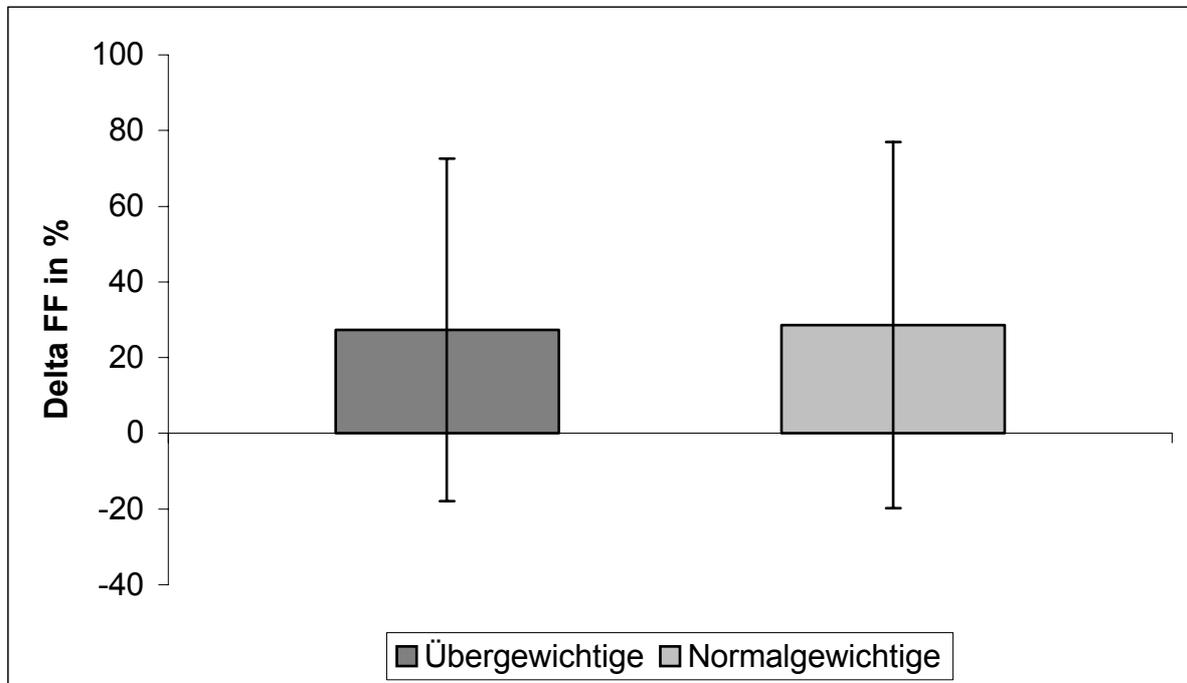


Die L-NAME-Wirkung war mit $p > 0,05$ in beiden Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 15: Veränderung der FF durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	18,4	±5,0	21,8	±5,6	0,0892
Normalgewichtige	22,2	±7,0	29,4	±20,9	0,0788

Referenzbereich: 10-25%

Abb. 18: Einfluss des Körpergewichts auf die FF durch L-NAME

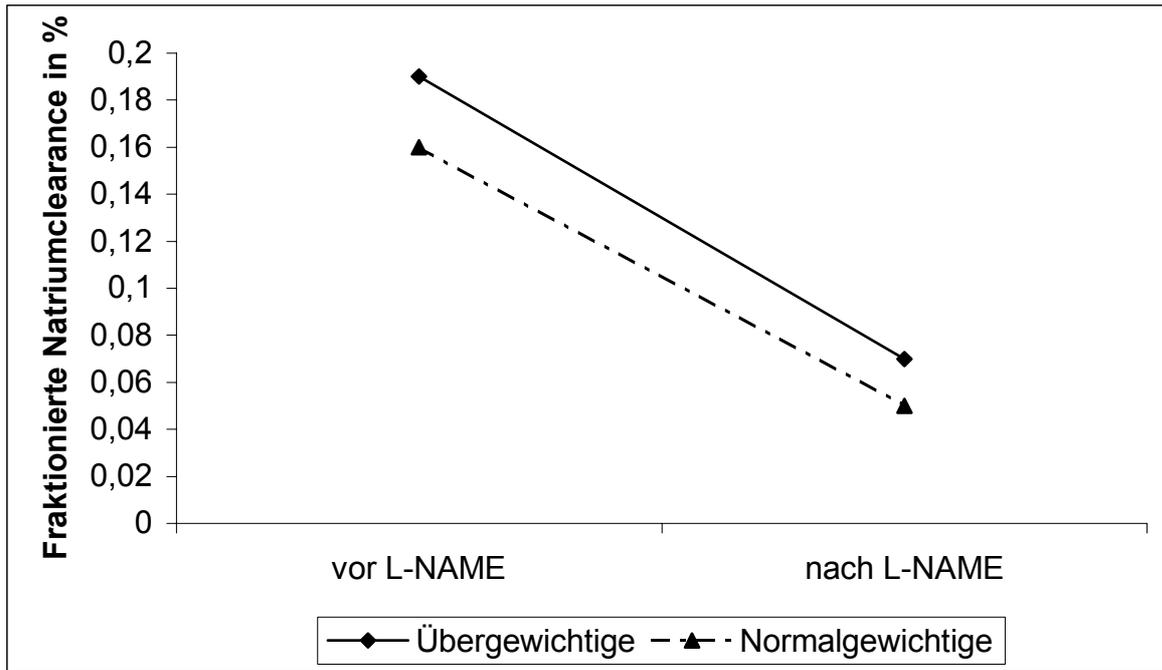
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 16: Einfluss des Körpergewichts Auf die FF

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	27,3	±45,3	0,9506
Normalgewichtige	28,6	±48,4	

3.3.4. Fraktionierte Natriumclearance (FE_{Na})

Abb. 19: Veränderung der fraktionierten Natriumclearance durch L-NAME



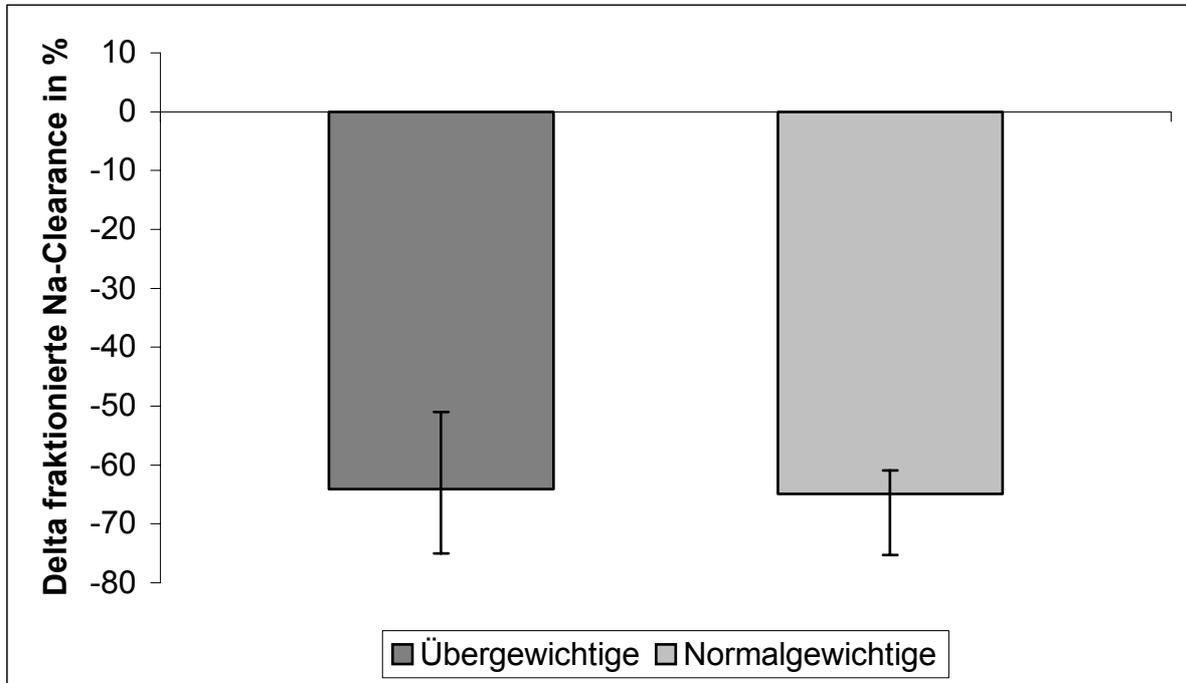
Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant.

Tabelle 17: Veränderung der fraktionierten Natriumclearance durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	0,19	0,15	0,18	0,23	0,07	0,04	0,06	0,07	0,002
Normalgewichtige	0,16	0,1	0,19	0,21	0,05	0,02	0,04	0,07	0,002

Referenzbereich: 0,4-1,3%

Abb. 20: Einfluss des Körpergewichts auf die fraktionierte Natriumclearance



Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

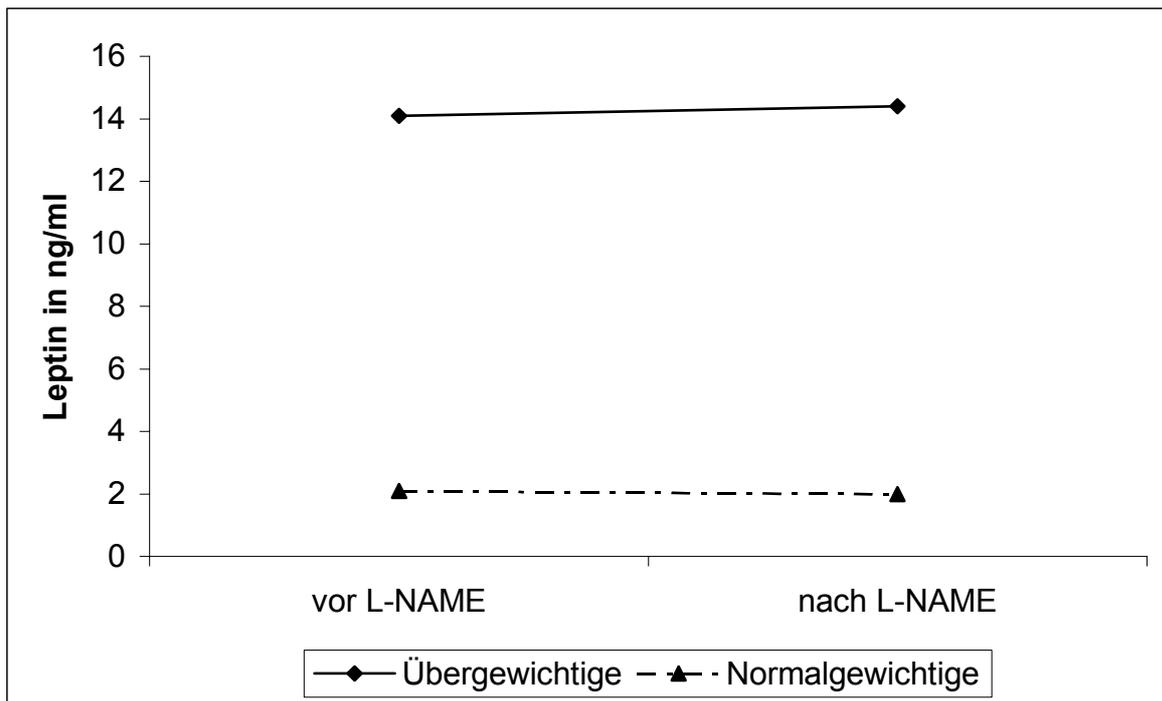
Tabelle 18: Einfluss des Körpergewichts auf die fraktionierte Natriumclearance

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	-64,1	-75,0	-72,3	-51,0	0,9719
Normalgewichtige	-64,9	-75,3	-70,6	-68,9	

3.4. Hormone

3.4.1. Leptin

Abb. 21: Effekt der Medikation auf die Leptinspiegel



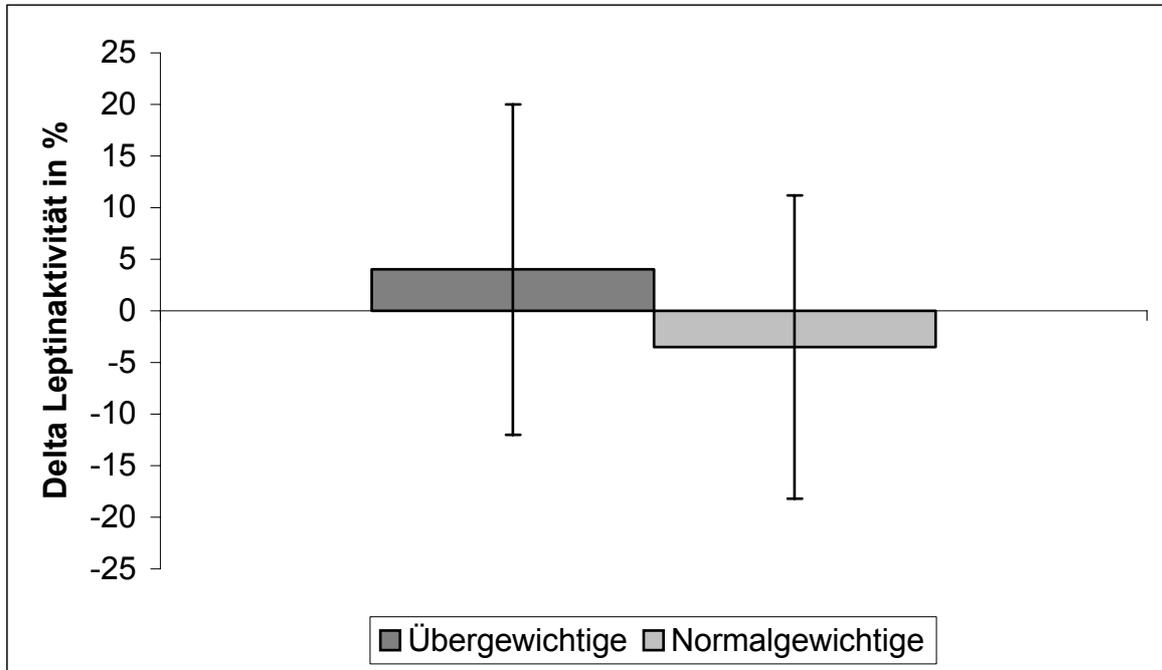
Die L-NAME-Wirkung war mit $p > 0,05$ in beiden Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 19: Veränderung der Leptinspiegel durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	14,1	±12,7	14,4	±6,0	0,4464
Normalgewichtige	2,1	±0,96	2,0	±1,05	0,4419

Die Leptin-Ausgangsmittelwerte der beiden Gruppen unterschieden sich signifikant ($p = 0,0006$)

Abb. 22: Einfluss des Körpergewichts auf die Leptinspiegel



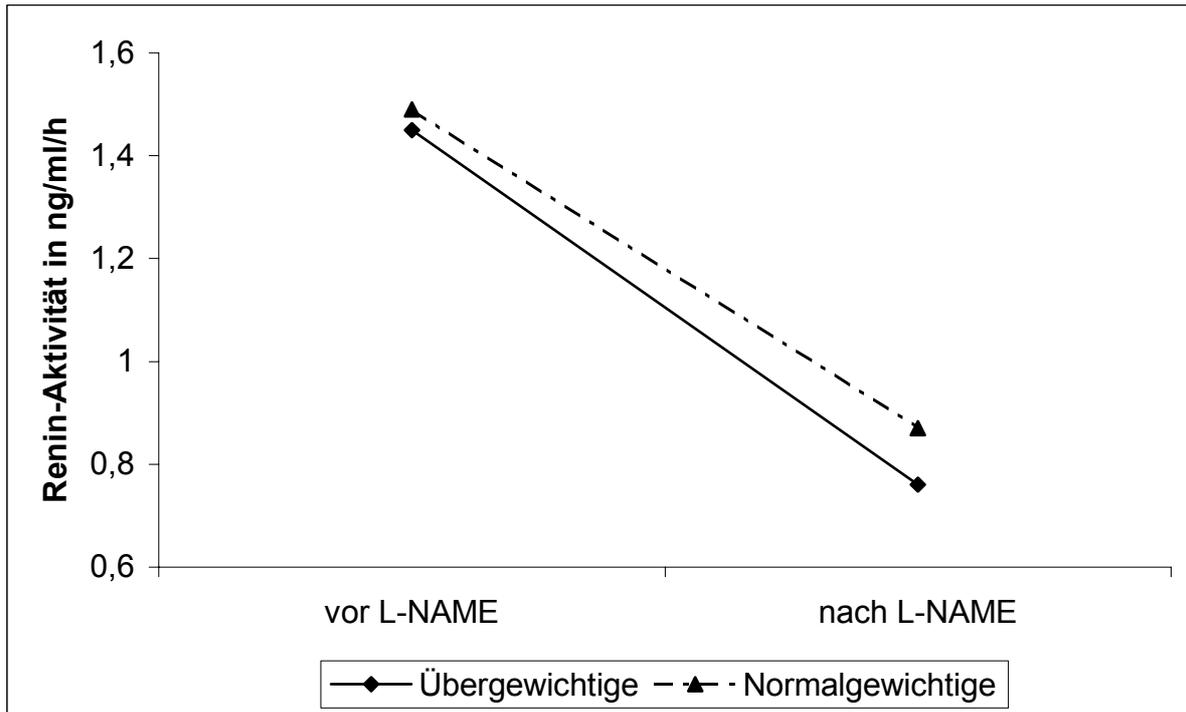
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 20: Einfluss des Körpergewichts auf die Leptinspiegel

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	4,0	±16,0	0,9440
Normalgewichtige	-3,5	±14,7	

3.4.2. Renin

Abb. 23: Effekt der Medikation auf den Reninplasmaspiegel

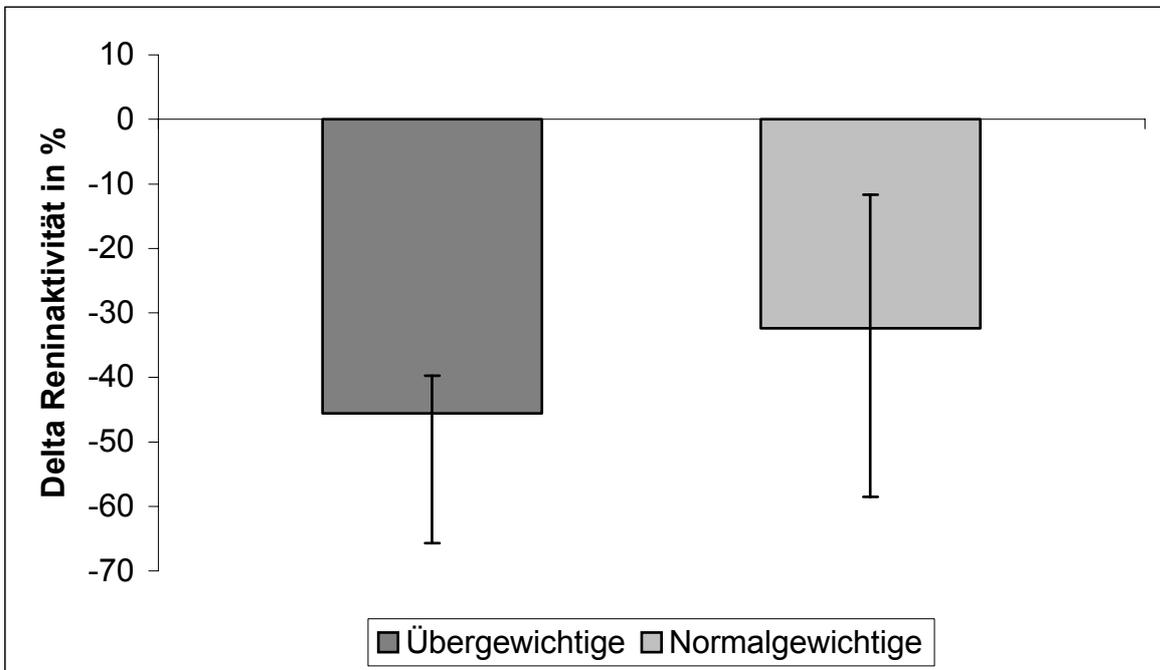


Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant.

Tabelle 21: Veränderung des Reninplasmaspiegel durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	1,45	0,63	1,44	2,05	0,76	0,26	0,77	1,14	0,006
Normalgewichtige	1,49	0,69	1,09	2,24	0,87	0,33	0,72	1,29	0,010

Referenzbereich: 0,12-1,59ng/ml/h

Abb. 24: Einfluss des Körpergewichts auf die Veränderung der Reninplasmaspiegel

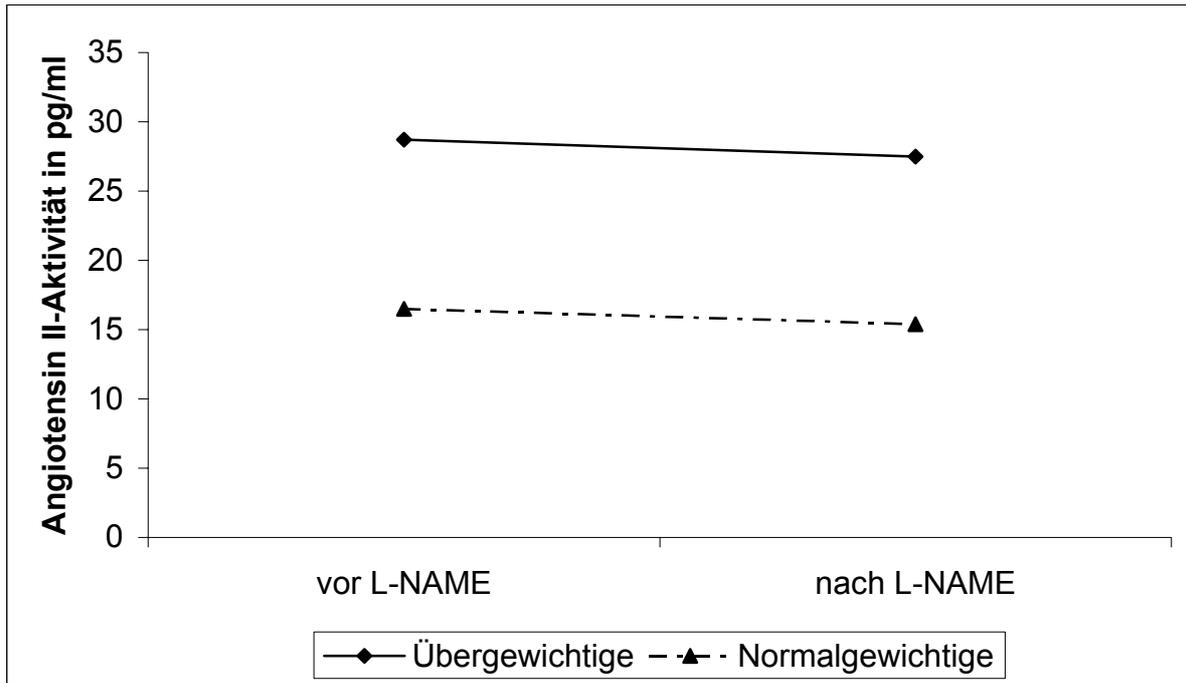
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 22: Einfluss des Körpergewichts auf den Reninplasmaspiegel

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	-45,6	-65,7	-46,6	-39,7	0,3072
Normalgewichtige	-32,4	-58,5	-44,2	-11,7	

3.4.3. Angiotensin II

Abb. 25: Effekt der Medikation auf den Angiotensin II-Plasmaspiegel



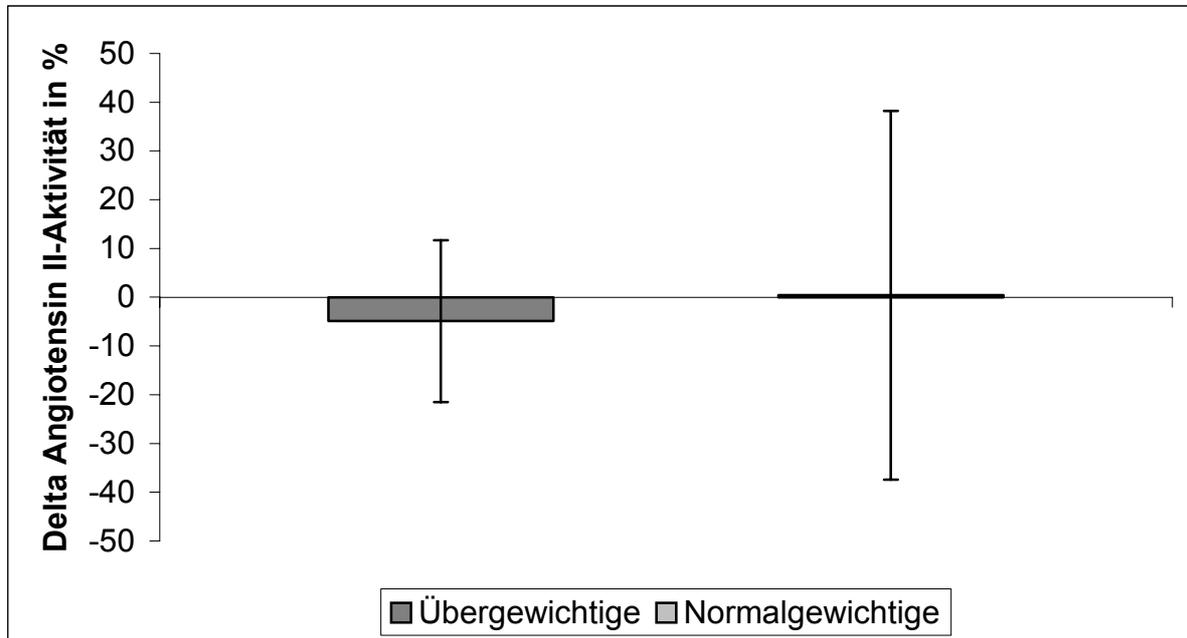
Die L-NAME-Wirkung war mit $p > 0,05$ in beiden Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 23: Veränderung des Angiotensin II-Plasmaspiegel durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	28,7	±11,2	27,5	±12,4	0,3765
Normalgewichtige	16,5	±9,0	15,4	±7,5	0,9740

Referenzbereich: 0-14pg/ml

Abb. 26: Einfluss des Körpergewichts auf den Angiotensin II-Plasmaspiegel



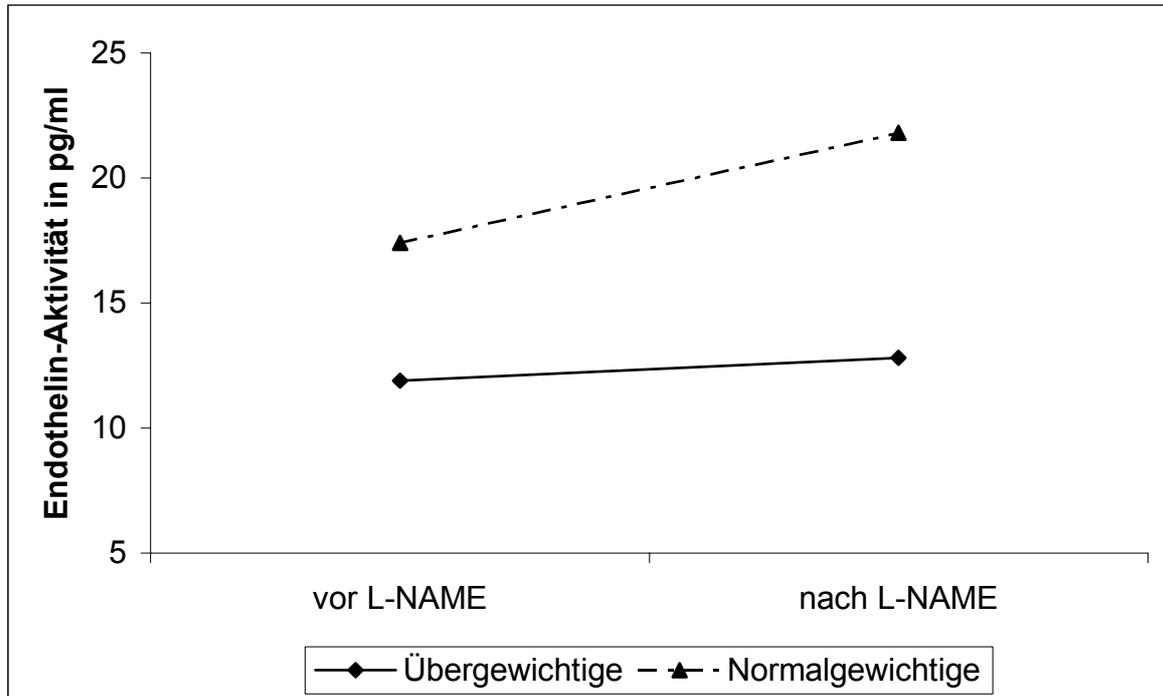
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 24: Einfluss des Körpergewichts auf den Angiotensin II-Plasmaspiegel

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	-4,9	±16,6	0,6913
Normalgewichtige	+0,4	±37,8	

3.4.4. Endothelin-1

Abb. 27: Effekte der Medikation auf den Endothelinspiegel



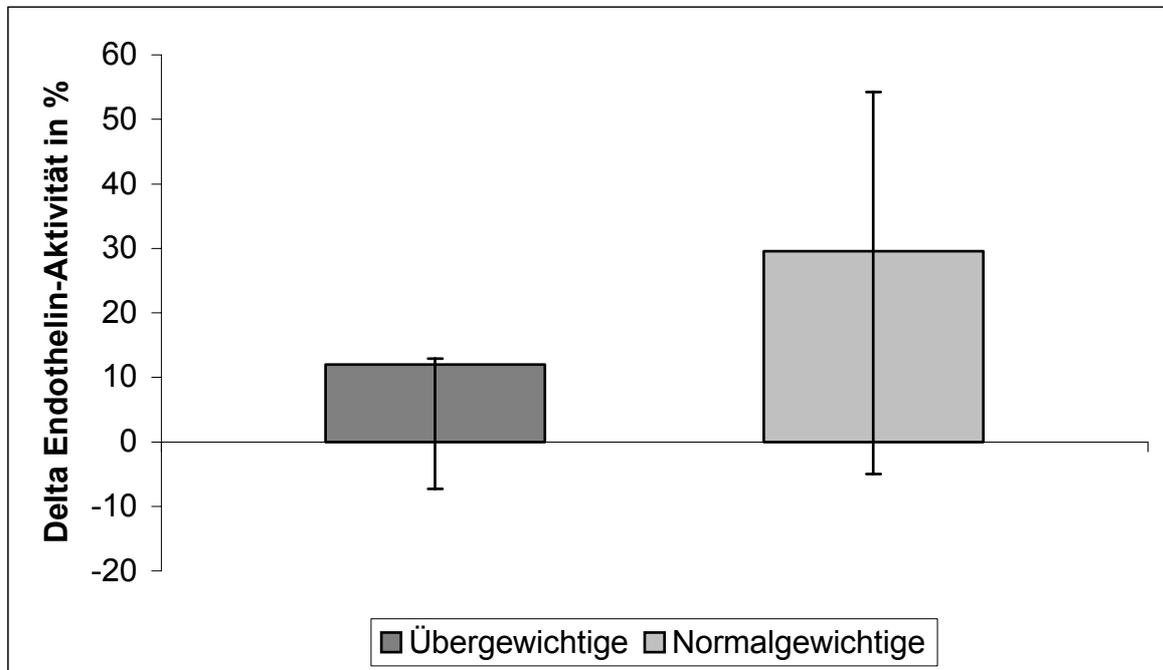
Die L-NAME-Wirkung war mit $p > 0,05$ in beiden Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 25: Veränderung des Endothelinspiegels durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	11,9	7,65	12,6	15,1	12,8	7,78	13,3	17,10	0,492
Normalgewichtige	17,4	8,3	13,0	19,1	21,8	11,3	12,8	33,90	0,067

Referenzbereich: 10-13pg/ml

Abb. 28: Einfluss des Körpergewichts auf den Endothelinplasmaspiegel



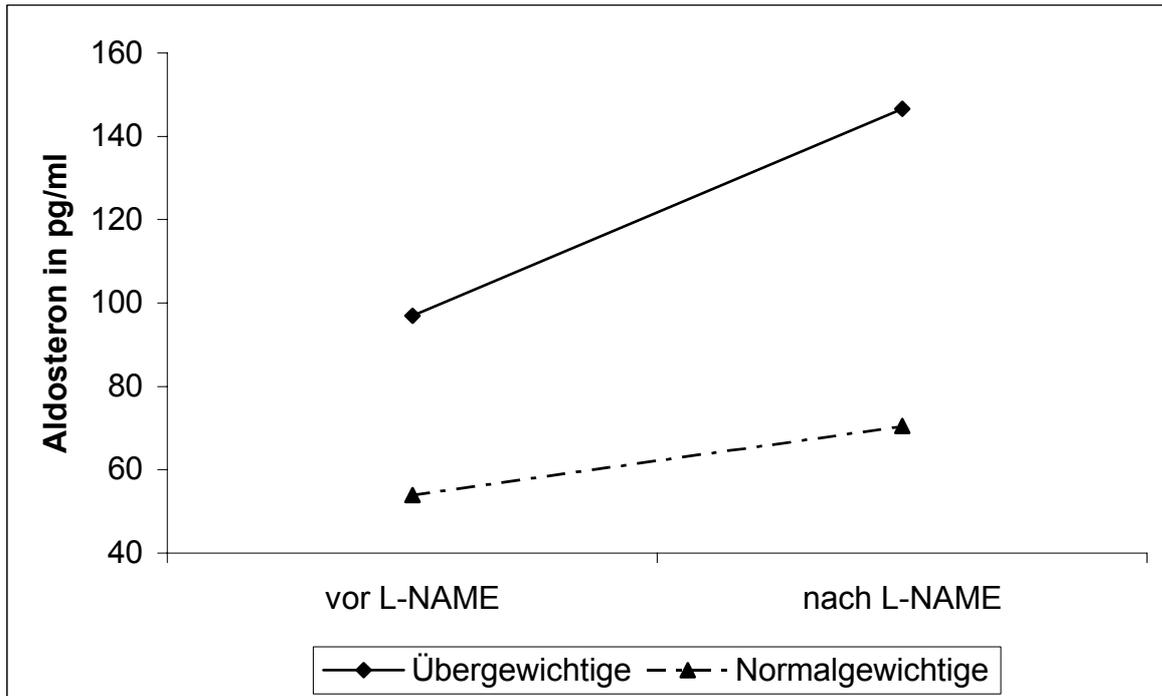
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 26: Einfluss des Körpergewichts auf den Endothelinplasmaspiegel

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	12,0	-7,34	2,17	12,87	0,2751
Normalgewichtige	29,6	-5,00	12,57	54,22	

3.4.5. Aldosteron

Abb. 29: Effekt der Medikation auf den Aldosteronplasmaspiegel



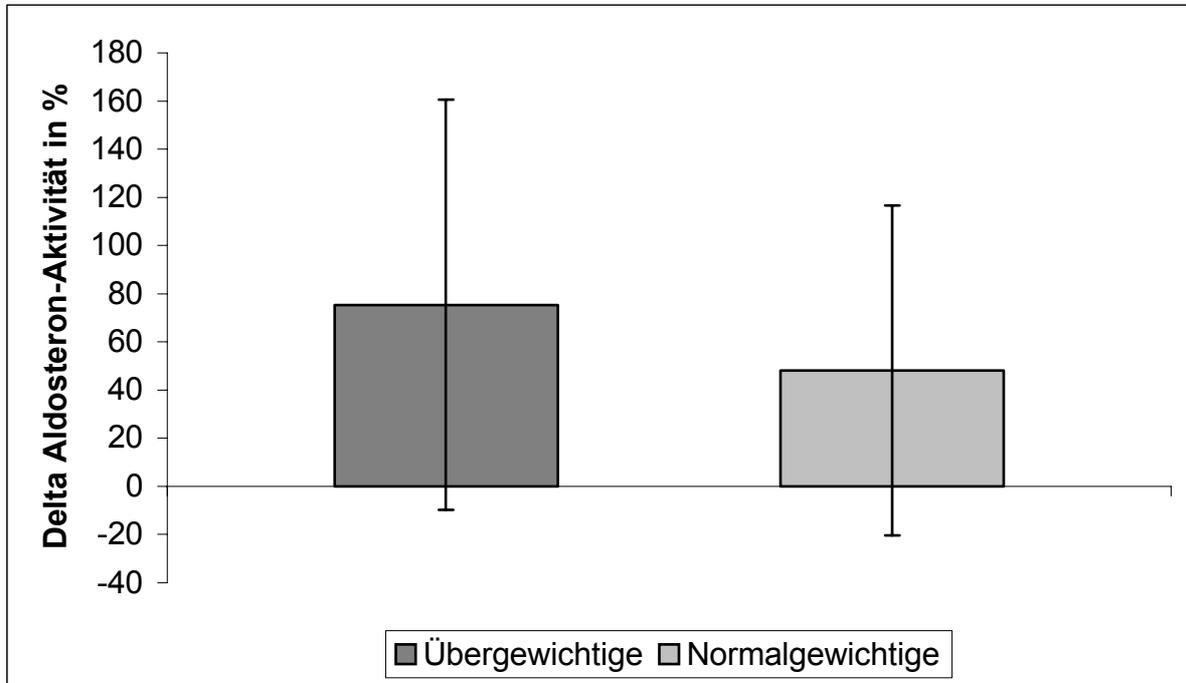
Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant.

Tabelle 27: Veränderung des Aldosteronplasmaspiegels durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME		nach L-NAME		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Übergewichtige	97,0	±66,8	146,6	±113,2	0,0208
Normalgewichtige	53,9	±36,2	70,5	±31,4	0,0418

Referenzbereich: 10-160 pg/ml

Abb. 30: Einfluss des Körpergewichts auf den Aldosteronplasmaspiegel



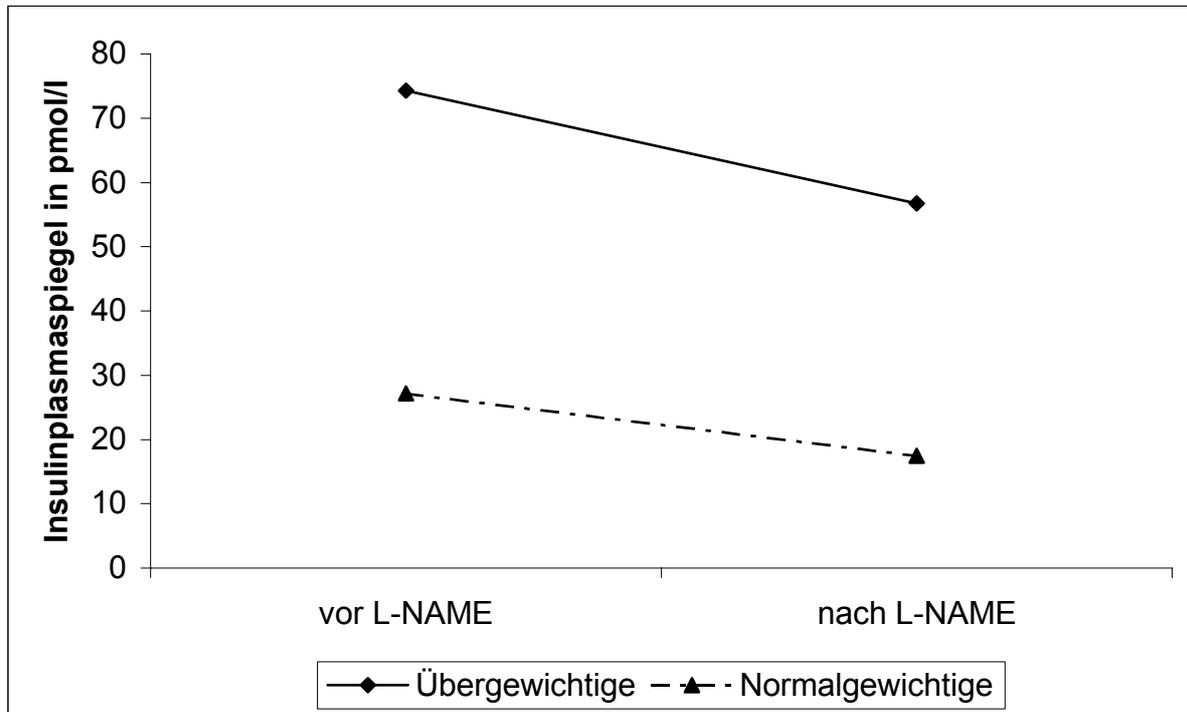
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 28: Einfluss des Körpergewichts auf den Aldosteronplasmaspiegel

Gruppe	Delta%	SD	p-Wert
Übergewichtige	75,4	±85,2	0,4286
Normalgewichtige	48,2	±68,5	

3.4.6. Insulin

Abb. 31: Effekte der Medikation auf den Insulinplasma Spiegel



Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in beiden Gruppen signifikant.

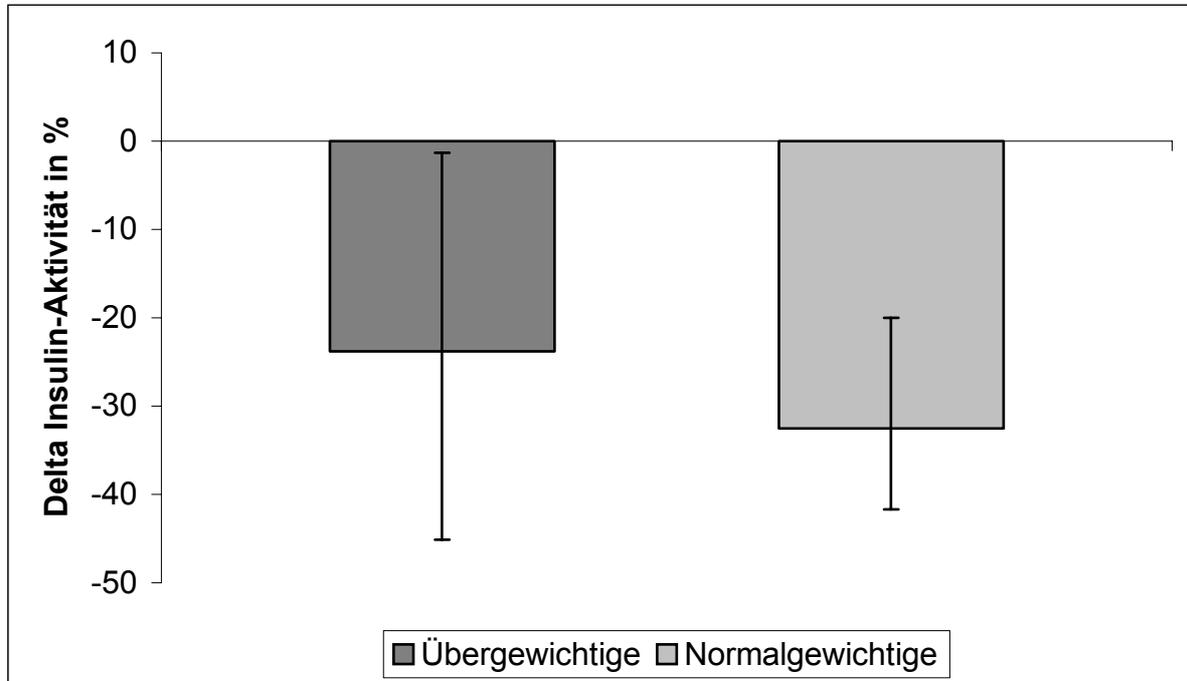
Tabelle 29: Veränderung des Insulinplasma Spiegels durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	74,3	57,5	67,0	85,5	56,7	38,0	47,0	71,3	0,020
Normalgewichtige	27,2	17,0	28,0	30,0	17,5	20,0	16,0	13,0	0,001

Referenzbereich (nüchtern): 30-100pmol/l

Die Insulin-Ausgangsmittelwerte in den beiden Gruppe unterschieden sich signifikant ($p=0,0002$).

Abb. 32: Einfluss des Körpergewichts auf die Insulinplasmaspiegel



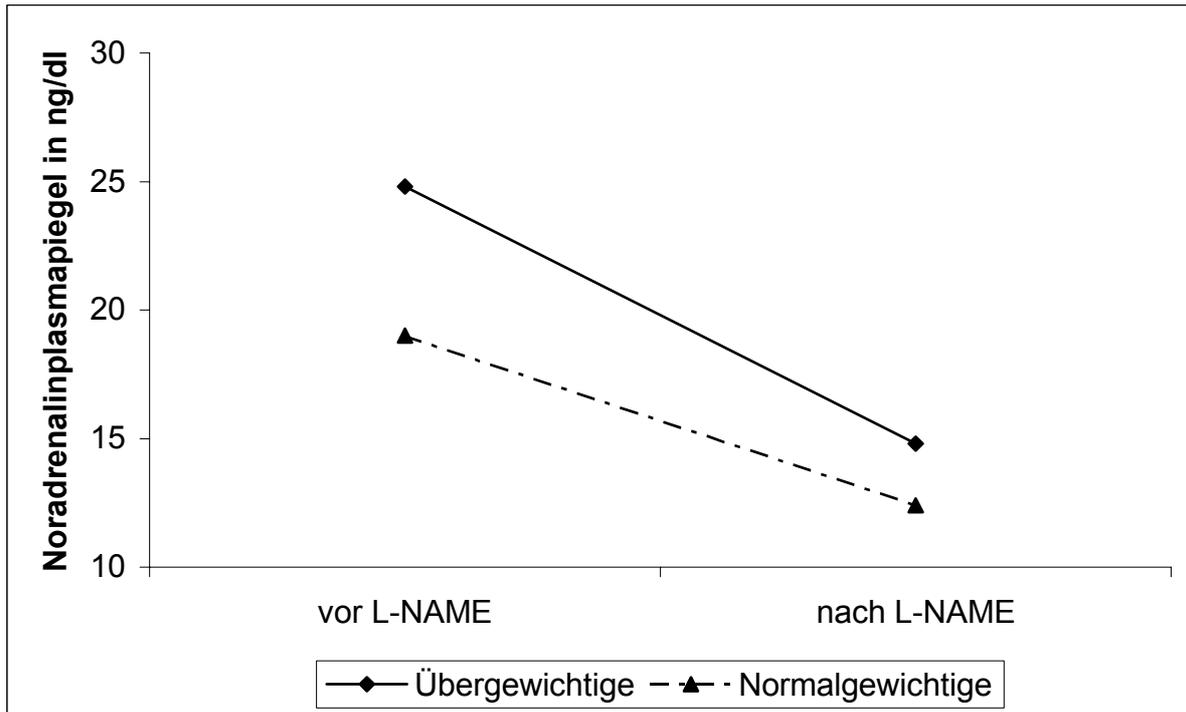
Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 30: Einfluss des Körpergewichts auf die Insulinplasmaspiegel

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	-23,8	-45,1	-31,4	-1,3	0,8053
Normalgewichtige	-32,5	-41,7	-31,0	-20,0	

3.4.7. Noradrenalin

Abb. 33: Effekt der Medikation auf den Noradrenalinplasmaspiegel



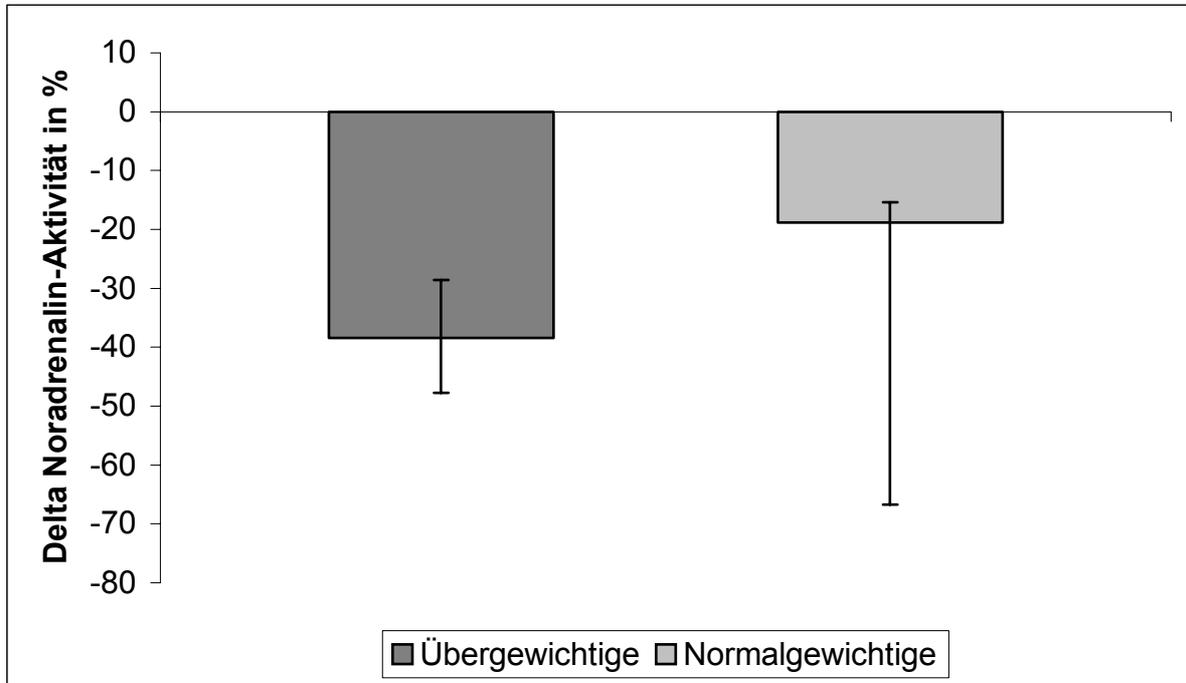
Die L-NAME-Wirkung war mit $p < 0,05$ in der Übergewichtigen-Gruppe signifikant.

Tabelle 31: Veränderung des Noradrenalinplasmaspiegel durch L-NAME

Gruppe	vor L-NAME				nach L-NAME				p-Wert
	MW	25% Qu	Median	75% Qu	MW	25% Qu	Median	75% Qu	
Übergewichtige	24,8	19,0	22,0	32,5	14,8	12,5	14,0	17,3	0,004
Normalgewichtige	19,0	16,0	18,0	21,0	12,4	7,0	10,0	19,0	0,310

Referenzbereich: 10-60 ng/ml

Abb. 34: Einfluss des Körpergewichts auf die Noradrenalinplasmaspiegel



Das Körpergewicht hatte mit $p > 0,05$ keinen signifikanten Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

Tabelle 32: Einfluss des Körpergewichts auf die Noradrenalinplasmaspiegel

Gruppe	Delta%	25%Qu	Median	75%Qu	p-Wert
Übergewichtige	-38,4	-47,7	-41,5	-28,6	0,7609
Normalgewichtige	-18,8	-66,7	-44,4	-22,2	

Auf eine Darstellung der **Adrenalin-** und **Dopamin**werte wurde verzichtet, da in beiden Gruppen der überwiegende Anteil der Hormonwerte unter der Nachweisgrenze lag.

3.5. Nebenwirkungen von L-NAME

Aus der Studie von Sander et al sind vorübergehende Übelkeit (14%) und Müdigkeit (23%) bekannt⁶⁸. Übelkeit trat bei keinem der Probanden auf. Etwa 40% der übergewichtigen und 50% der normalgewichtigen Versuchsteilnehmer bemerkten jedoch eine deutliche Müdigkeit.

Ansonsten wurde die L-NAME-Medikation von allen Probanden problemlos toleriert.

4. Diskussion

4.1. Systemische Hämodynamik

Die in verschiedenen Studien sowohl im Tiermodell durch Fortepiani et al⁸⁶ als auch durch Sander et al am Menschen⁶⁸ gezeigte Erhöhung des Blutdrucks und Senkung der Herzfrequenz durch NO-Synthese-Hemmung konnte in unserer Studie reproduziert werden. Den Abfall der Herzfrequenz erklärt man durch Stimulation des Baroreflexes bei Blutdruckanstieg⁸⁷. Sowohl systolischer und diastolischer Blutdruck, MAP wie auch die Herzfrequenz veränderten sich nach L-NAME-Applikation signifikant. Die diastolischen Blutdruckwerte und die Herzfrequenz zeigten die stärksten Veränderungen.

Bezüglich der Veränderung des Blutdrucks bei Übergewicht wurden bisher verschiedene Beobachtungen gemacht:

Suter et al. stellten an 29 normotensive Patienten eine positive Korrelation zwischen Body-Mass-Index und Anstieg des arteriellen Blutdrucks fest⁸⁸.

Umemura et al. beobachteten erhöhte systolische, diastolische und mittlere arterielle Blutdruckwerte bei übergewichtigen im Vergleich zu normalgewichtigen Patienten⁸⁹.

Auch konnte im Tierversuch an Sprague-Dawley Ratten demonstriert werden, dass niedrigdosierte chronische Infusion von Leptin den mittleren arteriellen Blutdruck und die Herzfrequenz erhöht³¹.

Unsere Messungen zeigten ebenfalls eine signifikant erhöhte Herzfrequenz bei Übergewichtigen, wohingegen die Ausgangs-Blutdruckwerte bei Übergewichtigen zwar durchschnittlich höher lagen, jedoch nicht signifikant erhöht waren und noch keine arterielle Hypertonie vorlag.

Bezüglich einer unterschiedlichen Reaktion auf NOS-Blockade kann folgendes gesagt werden: Übergewichtige reagierten auf die NOS-Hemmung in unserer Studie nicht mit einem stärkeren Blutdruckanstieg und Pulsabfall, obwohl die Reaktion stärker hätte ausfallen müssen, wenn man davon ausgeht, dass Übergewichtige

erhöhte NO-Plasmakonzentrationen besitzen, wie von Lembo et al. postuliert ³⁹. Fruhbeck et al. konnten an Wistar Ratten zeigen, dass die Infusion von Leptin zu erhöhten Serumkonzentrationen von NO führt ⁴². Sie infundierten Ratten Leptin unter NOS-Blockade und konnten darauf hin einen deutlich höheren systolischen und mittleren arteriellen Druck sowie eine höhere Herzfrequenz messen.

Kuo et al. demonstrierten an Ratten, dass hohe Leptinplasmaspiegel zu einem stärkeren Blutdruckanstieg nach L-NAME-Gabe führen als L-NAME ohne gleichzeitige Leptininfusion ⁴³.

Wongmekiat et al. stellten an adipösen Ratten bei zwar erhöhten Ausgangsmitteldruck-Werten eine gleich starke Erhöhung des MAP nach L-NAME-Gabe fest ⁹⁰. Diese Beobachtung stimmt mit unseren eigenen überein.

4.2. Renale Hämodynamik

Die GFR ist das Produkt aus effektiven Filtrationsdruck im Glomerulum und Ultrafiltrationskoeffizienten, wobei der Ultrafiltrationskoeffizient der Permeabilität des glomerulären Filters entspricht. In tierexperimentellen Studien konnte man zeigen, dass eine NO-Synthasen-Blockade eine Kontraktion in Mesangiumzellen verursacht, die zu einer Reduktion des Ultrafiltrationkoeffizienten führt ^{91,92}. Auf diese Weise ist der Abfall der GFR bei beiden Probandengruppen unserer Studie erklärbar. Die L-NAME-Wirkung verursachte bei Normalgewichtigen einen stärkeren Abfall der GFR, welcher jedoch noch nicht signifikant war. Eventuell könnte dies ein Zeichen für ein reduziertes Ansprechen der Übergewichtigen auf L-NAME sein.

Aus Studien an Ratten ⁹³ und am Menschen ⁷¹ weiß man, dass die NO-Synthese-Hemmung zu einer signifikanten Steigerung der FF bei reduzierter GFR und ERPF führt. Davon kann abgeleitet werden, dass die Steigerung der FF bei gleichzeitiger Erniedrigung des Ultrafiltrationskoeffizienten wahrscheinlich ein Zeichen eines gesteigerten effektiven Filtrationsdrucks ist. Bei reduziertem ERPF kann eine Zunahme des Filtrationsdrucks nur durch stärkere Vasokonstriktion des Vas efferens gegenüber dem Vas afferens verursacht sein. Man kam deshalb zu der Vermutung,

dass die NO-Konzentration in den präglomerulären Gefäßen niedriger sein muß als in den postglomerulären. Deshalb kann L-NAME seine Wirkung stärker am Vas efferens entfalten ⁹⁴.

Diese Hypothese konnte durch unsere Studie nur teilweise bestätigt werden, da der Anstieg der FF in beiden Gruppen nicht statistisch signifikant war.

In Bezug auf die fraktionierte Natriumclearance(FE_{Na}) stimmen unsere Resultate mit Ergebnissen von Bech et al. überein ⁷¹: Auch dort führte die NO-Synthesen-Hemmung zum Abfall der fraktionierten Natriumclearance.

Sowohl in Tierversuchen an Hunden ⁹⁵ und Ratten ⁹⁶ als auch am Menschen ⁹⁷ findet man bei Übergewicht eine Erhöhung des Ausgangswertes der glomerulären Filtrationsrate und des effektiven renalen Plasmaflusses. Diese Beobachtungen stehen im Widerspruch zu den von uns gemessenen Werten. Dort gibt es bezüglich der Ausgangs-GFR kaum Unterschiede zwischen den Gruppen und der ERPF lag bei Übergewichtigen nur unwesentlich höher.

Bezüglich der renalen Hämodynamik gibt es bisher folgende Erkenntnisse:

Lembo et al. gehen davon aus, dass Übergewichtige Leptin-vermittelt höhere NO-Spiegel besitzen ³⁹ und somit eine Hemmung der NOS bei ihnen eine stärkere Wirkung besitzt.

Kuo et al zeigten im Tiermodell, dass L-NAME in Anwesenheit erhöhter Leptin-Plasmaspiegel die GRF und den ERPF stärker reduziert als L-NAME ohne zusätzliche Leptininfusion ⁴³.

Somit wäre auch bei unseren übergewichtigen Probanden, die deutlich erhöhte Leptinspiegel zeigten, eine ausgeprägtere Reaktion auf NOS-Blockade als bei Normalgewichtigen zu erwarten gewesen. Dass dies nicht der Fall war, könnte darauf zurück zuführen sein, dass durch die mögliche Leptinresistenz der Übergewichtigen die stärkere Leptinwirkung auf die Niere nicht eintreten kann. Auch wäre daran zu denken, dass die Fallzahl zu niedrig gewählt war oder der Gewichtsunterschied zu klein war und somit kein Unterschied erkennbar wurde.

4.3. Hormone

4.3.1. Leptin

Die Leptin-Ausgangswerte waren bei Übergewichtigen statistisch signifikant höher als bei Normalgewichtigen, was sich mit den Beobachtungen von Considine et al deckt ¹⁵. Sie zeigten eine positive Korrelation zwischen Plasma-Leptinspiegeln und Gesamtkörperfett. Unter L-NAME-Gabe veränderten sich weder bei Normalgewichtigen, noch bei Übergewichtigen die Leptinspiegel wesentlich.

4.3.2. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Der Abfall der Reninplasmawerte nach Medikation lässt sich auf einen erhöhten Perfusionsdruck im Vas afferens durch L-NAME zurückführen. Bei gesteigerten Druckverhältnissen in den Nierengefäßen kommt es über einen parakrinen Mechanismus zur erniedrigten Reninfreisetzung ⁹⁸. Diese Reaktion ließ sich in beiden Probandenkollektiven gleichermassen beobachten. Der Unterschied war nicht signifikant.

Im Vergleich zu den Reninwerten lässt sich bei Angiotensin II ein geringerer Abfall der Plasmaspiegel nach L-NAME erkennen, was durch eine reninunabhängige Synthesemöglichkeit im Gewebe erklärbar ist ⁹⁹. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass die lokalen Angiotensin II-Werte durch intravenöse Abnahme nur ungenügend erfasst werden. Dies konnten wir bei unseren Probanden ebenfalls beobachten, wobei zwischen den beiden Kollektiven kein Unterschied erkennbar war.

L-NAME hatte in beiden Gruppen eine statistisch signifikante Auswirkung auf die Aldosteron-Plasmaspiegel. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant in Bezug auf die Reaktion auf L-NAME.

In Bezug auf die Beeinflussung des RAAS-System durch Übergewicht gibt es kontroverse Diskussionen. Rocchini et al. fanden bei übergewichtigen Hunden eine unveränderte Reninaktivität bei erhöhten Aldosteronkonzentrationen ¹⁰⁰, Tuck et al.

dagegen stellten bei übergewichtigen Patienten sowohl erhöhte Renin- als auch Aldosteronwerte fest¹⁰¹.

Bezüglich Angiotensin II konnte von Karlson et al. gezeigt werden, dass Fettzellen Angiotensin II synthetisieren. Dies würde bei Übergewicht höhere Angiotensin II-Basalwerte erwarten lassen³⁸.

In unserem adipösen Probandenkollektiv konnten die erhöhten Aldosteronspiegel reproduziert werden, waren jedoch nicht signifikant erhöht, wohin gegen sich die Reninwerte der Übergewichtigen kaum von denen der Normalgewichtigen unterschieden. Auch bei den Angiotensin II-Werten war kein nennenswerter Unterschied der Basalwerte der beiden Kollektive erkennbar.

Der fehlende Unterschied zwischen übergewichtigen und normalgewichtigen Probanden in Bezug auf das RAAS erklärt sich möglicherweise durch den zu gering gewählten BMI der Übergewichtigen, so dass kein Unterschied erkennbar wurde.

4.3.3. Endothelin-1

Die Endothelinwerte stiegen durch L-NAME-Applikation zwar an, war jedoch statistisch nicht signifikant. Die steigenden Endothelinspiegel nach NO-Synthase-Blockade wurden in Vorstudien dadurch erklärt, dass NO die Produktion und Freisetzung von Endothelin hemmt⁸⁴. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Probandenkollektiven.

4.3.4. Insulin

Bezüglich der Interaktion zwischen NOS-Blockade und Insulinsekretion gibt es vielfältige Ansichten. Unsere Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen von Coiro et al. Sie erforschten an gesunden Probanden den Einfluss von L-NAME und L-Arginin auf die Insulinausschüttung. Die Insulinfreisetzung war dabei nach L-Arginin-Applikation deutlich höher als nach zusätzlicher L-NAME-Infusion. Demnach ist die Insulinsekretion nach L-Arginin-Gabe zumindest teilweise NO-vermittelt, da

nach NOS-Hemmung ein verminderter Insulinstieg auf L-Arginin-Applikation zu verzeichnen ist ¹⁰². Durch diese Beobachtung wäre auch der Abfall der Insulinwerte nach L-NAME in unserer Studie erklärbar.

Andererseits konnten andere Arbeitsgruppen im Tiermodell keine Veränderung der Insulinspiegel durch NO-Synthase-Hemmung beobachten ¹⁰³.

Die Ausganginsulinspiegel unterschieden sich in den beiden Gruppen statistisch signifikant. Sie lagen bei Übergewichtigen deutlich höher als bei Normalgewichtigen. Dies könnte möglicherweise durch die bereits gestörte, jedoch noch nicht pathologische Glukosetoleranz erklärbar sein, welche auf eine beginnende Insulinresistenz hindeuten könnte. Die erhöhten Plasmainsulinspiegel bei Übergewicht könnten auch durch eine mögliche partielle Leptinresistenz erklärt werden, da Leptin normalerweise die Insulinsekretion hemmt und zu einer erhöhten Insulinempfindlichkeit führt ²¹.

Die Insulinwerte sanken durch L-NAME-Gabe in beiden Gruppen statistisch signifikant ab. Das Gewicht hatte keinen deutlichen Einfluss auf die L-NAME-Wirkung.

4.3.5. Katecholamine

Im Gegensatz zu den von uns gewonnenen Daten steht die Studie von Sander et al, in der es durch L-NAME-Einfluss zur Steigerung der Katecholamin-Plasmaspiegel kam ¹⁰⁴. Außerdem führt die verspätete Blockade der neuronalen NO-Synthase durch L-NAME zur Sympathikusaktivierung und zur gesteigerten Katecholaminfreisetzung ⁶⁸. Die Hormonabnahme fand in unserer Studie bereits 90 Minuten nach Ende der L-NAME-Gabe statt. Es ist jedoch ein Katecholamin-Anstieg zu einem späteren Zeitpunkt denkbar, der daher von uns nicht erfasst wurde.

Die Noradrenalin-Basalwerte bei Übergewichtigen lagen etwas höher als bei Normalgewichtigen, unterschieden sich jedoch nicht signifikant. Die höheren Noradrenalinwerte decken sich mit den Beobachtungen von Scherer et al., die bei Übergewichtigen erhöhte Adrenalin- und Noradrenalin-Werte demonstrieren

konnten³³. Möglicher Erklärungsversuch der höheren Noradrenalinwerte ist eine Sympatikus-Aktivierung durch Hyperleptinämie.

Wegen größtenteils unter der Nachweisgrenze liegender Werte von Adrenalin und Dopamin in beiden Gruppen lies sich keine Aussage über die L-NAME-Wirkung und den Einfluss des Gewichts auf diese Hormone machen.

4.4. Schlussfolgerung

4.4.1. Systemische und renale Hämodynamik

Nach intravenösen Applikation des kompetitiven NO-Synthase-Antagonisten L-NAME kam es sowohl bei übergewichtigen als auch bei normalgewichtigen Probanden zu einer statistisch signifikanten Steigerung des systolischen, diastolischen und mittleren arteriellen Drucks. Die Herzfrequenz fiel in beiden Gruppen nach L-NAME-Gabe statistisch signifikant ab.

Auch bei der renalen Hämodynamik war eine deutliche Wirkung von L-NAME zu verzeichnen. Die GFR, der ERPF und die fraktionierte Natriumclearance nahmen in beiden Probandenkollektiven statistisch signifikant ab. Die Filtrationsfraktion zeigte eine deutliche Zunahme, die jedoch statistisch nicht signifikant war. Die Gruppe der Übergewichtigen unterschied sich in ihrem Reaktionsvermögen auf L-NAME-Applikation nicht statistisch signifikant von der Gruppe der Normalgewichtigen. Einzig die Basalwerte der Herzfrequenz waren bei Übergewichtigen signifikant höher.

Zwischen den beiden Gruppen lies sich weder in Bezug auf die systemische noch auf die renale Hämodynamik ein signifikanter Unterschied in der Reaktion auf L-NAME erkennen. Somit konnte die Vermutung nicht bestätigt werden, dass gesunde, normotensive, adipöse Probanden bereits ein verändertes Reaktionsvermögen der systemischen und renalen Hämodynamik auf NOS-Blockade besitzen.

4.4.2. Hormone

Die Leptinwerte vor Medikamentengabe waren bei den übergewichtigen Probanden im Vergleich zu den normalgewichtigen erwartungsgemäß signifikant erhöht. Die Plasmaleptinspiegel änderten sich durch NOS-Blockade nur geringfügig. Die Gruppen unterschieden sich in Bezug auf die L-NAME-Wirkung nicht.

Bei den Hormonen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zeigte sich in beiden Gruppen ein statistisch signifikante Veränderung der Renin- und Aldosteron-Plasmaspiegel. Die Reninwerte fielen dabei deutlich ab, wohingegen die

Aldosteronwerte anstiegen. Die Angiotensin II-Werte blieben von der Medikation fast unbeeinflusst, was auf einen reninunabhängigen Syntheseweg im Gewebe schließen lässt. Möglicherweise können die lokalen Angiotensin II-Spiegel durch die intravenöse Abnahme auch nur ungenügend erfasst werden. Die beiden Gruppen unterschieden nur unwesentlich in ihrer Reaktion auf L-NAME-Applikation.

Die Endothelin-Werte stiegen nach NOS-Blockaden in beiden Gruppen an, wobei der Anstieg statistisch nicht signifikant war. Zwischen den Gruppen war kein deutlicher Unterschied erkennbar.

Bei den Insulin-Plasmaspiegeln waren bei Übergewichtigen statistisch signifikant erhöhte Basalwerte erkennbar, was sich möglicherweise durch das Konzept der selektiven Leptinresistenz erklären lässt. Nach L-NAME-Gabe zeigten beide Gruppen einen statistisch signifikanten Abfall der Insulinwerte. Das Reaktionsvermögen auf die Medikation unterschied sich in den beiden Gruppen jedoch nicht.

Bei Noradrenalin zeigte sich in beiden Kollektiven durch L-NAME eine Abnahme der Plasmaspiegel, wobei diese Abnahme nur bei Übergewichtigen signifikant war. Das Gewicht hatte keinen wesentlichen Einfluss. Die Adrenalin- und Dopaminspiegel lagen zumeist unter der Nachweisgrenze und konnten somit nicht beurteilt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auch in Bezug auf die Hormonprofile kein nennenswerter Unterschied zwischen übergewichtigen und normalgewichtigen Probanden erkennbar ist.

5. Zusammenfassung

Adipositas stellt einen wichtigen Risikofaktor für das Entstehen einer kardiovaskulären Erkrankung dar. Das Hormon Leptin, welches von Fettzellen produziert wird, rückt als mögliches Verbindungsglied zwischen arterieller Hypertonie und Übergewicht immer mehr in den Vordergrund.

Ziel dieser Studie war es deshalb zu klären, ob bei übergewichtigen, aber ansonsten gesunden, normotensiven, männlichen Probanden bereits eine veränderte Reaktion auf systemische kompetitive NO-Synthase-Hemmung mittels L-NAME vorliegt. Neben systemischer und renaler Hämodynamik erfolgte die Untersuchung von vasoaktiven Hormonen und Leptin.

10 übergewichtigen Versuchspersonen mit einem BMI > 30 kg/m² absolvierten je zwei Studientage, wobei doppelblind an einem L-NAME und am anderen eine Placebo-Gabe erfolgte. Als Vergleichsgruppe dienten 11 normalgewichtige Probanden aus einer Vorstudie, welche den identischen Versuchsaufbau besaß. Während des Studientages erhielten die Probanden über 30 Minuten 2mg/kg Körpergewicht L-NAME bzw. Placebo intravenös verabreicht. Die Entblindung erfolgte erst nach Studienende. Somit war das Studiendesign randomisiert, doppelblind und intraindividuell. Blutdruck und Herzfrequenz wurden in 15-minütigem Abstand automatisch gemessen, GFR- und ERPF-Bestimmungen erfolgten alle 30 Minuten mittels PAH- und Inulin-Clearance.

Die NOS-Blockade bewirkte sowohl bei übergewichtigen als auch normalgewichtigen Probanden eine statistisch signifikante Änderung aller Parameter der systemischen Hämodynamik. Bei Übergewichtigen stieg der systolische Blutdruck um 6,2% (p=0,008), bei Normalgewichtigen um 3,6% (p=0,027). Der diastolische Blutdruck stieg um 13,8% (p=0,0027) bzw. 13,4% (p<0,0001), der MAP um 10,5% (p=0,0012) bzw. 8,9% (p=0,0001). Die Herzfrequenz fiel bei den übergewichtigen Versuchspersonen um 14,8% (p=0,0002), bei den normalgewichtigen Probanden um 19,0% (p<0,0001). Der BMI hatte in Bezug auf die systemische Hämodynamik

keinen wesentlichen Einfluss auf die L-NAME-Wirkung. Die Basal-Herzfrequenz lag jedoch bei Normalgewichtigen signifikant niedriger ($p=0,0262$).

In Bezug auf die renale Hämodynamik war die L-NAME-Wirkung in beiden Probandenkollektiven bei allen Parametern außer der Filtrationsfraktion statistisch signifikant. Die GFR sank bei Übergewichtigen um 29,3% ($p=0,0095$), bei Normalgewichtigen um 37,0% ($p=0,0014$). Der ERPF verhielt sich ähnlich und sank um 49,3% ($p=0,002$) bzw. 52,4% ($p=0,001$). Die FF stieg um 27,3% ($p=0,0892$) bzw. 28,6% ($p=0,0788$). Die fraktionierte Natriumclearance fiel bei Übergewichtigen Probanden um 64,1% ($p=0,002$), bei normalgewichtigen Versuchspersonen um 64,9% ($p=0,002$). Die beiden Gruppen unterschieden sich in ihrer Reaktion auf L-NAME-Infusion bei den Parametern der renalen Hämodynamik nicht signifikant.

Sowohl die Leptin- ($p=0,0006$) als auch Insulin-Spiegel ($p=0,0002$) waren bei Übergewichtigen noch gesunden Probanden signifikant erhöht. Ansonsten unterschieden sich die Hormonbasalwerte in den beiden Gruppen nicht wesentlich. Auch in der Reaktion auf L-NAME gab es zwischen Übergewichtigen und normalgewichtigen Probanden kaum Unterschiede. Die Leptinwerte änderten sich in beiden Gruppen durch Medikation nicht. Durch L-NAME-Gabe sanken in beiden Gruppen die Reninwerte signifikant ab, die Aldosteronwerte stiegen signifikant und die Angiotensin II-Werte blieben nahezu unverändert. Die Endothelinwerte stiegen durch L-NAME leicht an. Sowohl die Insulin- als auch die Noradrenalin-Spiegel sanken durch die Medikation in beiden Gruppen signifikant.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die L-NAME-Applikation sowohl bei Übergewichtigen als auch bei Normalgewichtigen signifikante Auswirkungen auf die systemische und renale Hämodynamik besitzt. Der Body-Mass-Index und die Leptinspiegel der Versuchspersonen hatte dabei keinen signifikanten Einfluss. Man kann gemäß dieser Ergebnisse also nicht von einer bereits veränderten Gefäßfunktion bei Übergewicht sprechen. Auch in Bezug auf die Hormone gibt es nach systemischer NOS-Blockade keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven.

Eine mögliche Ursache für den ausbleibenden Unterschied könnte ein eventuell zu geringer Gewichtsunterschied sein. Möglicherweise war auch die L-NAME-Applikation zeitlich zu kurz um einen signifikanten Unterschied aufzudecken.

6. Literaturnachweis

- ¹ Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607
- ² Landsberg L. Diet, obesity and hypertension: an hypothesis involving insulin, the sympathetic nervous system, and adaptive thermogenesis. *Q J Med* 1986; 236: 1081-1090
- ³ Kannel WB; Zhang T; Garrison RJ. Is obesity – related hypertension less of a cardiovascular risk? The Framingham Study . *Am Heart J* 1990; 120: 1195-1201
- ⁴ Haynes WG; Sivitz WI; Morgan DA; Walsh SA; Mark AL. Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension* 1997; 30: 619-623
- ⁵ Stenvinkel P. Leptin and blood pressure - is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1115- 1117
- ⁶ Zhang Y; Proenca R; Maffei M; Barone M; Leopold L; Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and ist human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432
- ⁷ Bado A; Levasseur S;Attoub S; Kermorgant S; Laigneau JP; Bortoluzzi MN; Moizo L; Lehy T; Guerre-Millo M; Le Marchand-Brustel Y; Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394: 790-793
- ⁸ Masuzaki H; Ogawa Y; Sagawa N; Hosoda K; Matsumoto T; Mise H; Nishimura H; Yoshimasa Y; Tanaka I; Mori T; Nakao K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nature Med* 1997; 3: 1029-1033
- ⁹ Friedman JM; Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770
- ¹⁰ Girard J. Is leptin the link between obesity and insulin resistance? *Diabetes & Metabolism* 1997; 23: 16-24
- ¹¹ Joost HG; Becker W. Klinische Bedeutung von Leptin. *Dtsch Med Wschr* 2000; 125: 746-748
- ¹² Fei H; Okano HJ; Li C; Lee GH; Zhao C; Darnell R; Friedman JM. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 7001-7005
- ¹³ Wiecek A; Kokot F; Chudez J; Adamczak M. The adipose tissue- a novel endocrine organ of interest to the nephrologist. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 191-195

- ¹⁴ Spanswick D; Smith MA; Groppi VE; Logan SD; Ashford MLJ. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature* 1997; 390: 521-525
- ¹⁵ Considine RV; Sinha MK; Heiman ML; Kriauciunas A; Stephens TW; Nyce MR; Ohanessian JP; Marco CC; McKee LJ; Bauer TL; et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295
- ¹⁶ Rosenbaum M; Nicolson M; Hirsch J; Heymsfield SB; Gallagher D; Chu F; Leibel RL. Effects of gender, body composition and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3424-3427
- ¹⁷ Maffei M; Halaas J; Ravussin E; Pratley RE; Lee GH; Zhang Y; Fei H; Kim S; Lallone R; Ranganathan S; et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and Ob-RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1: 1155-1161
- ¹⁸ Halaas JL; Gajiwala KS; Maffei M; Cohen SL; Chait BT; Rabinowitz D; Lallone RL; Burley SK; Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasmaprotein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269: 543-546
- ¹⁹ Pelleymounter MA; Cullen MJ; Baker MB; Hecht R; Winters D; Boone T; Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540-543
- ²⁰ Tartaglia LA; Dembski M; Weng X; Deng N; Culpepper J; Devos R; Richards GJ; Campfield LA; Clark FT; Deeds J; et al. Identification and expression of cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83: 1263-1271
- ²¹ Emilsson V; Liu YL; Cawthorne MA; Morton NM; Davenport M. Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes* 1997; 46: 313-316
- ²² Saladin R; De Vos P; Guerre-Millo M; Leturque A; Girard J; Staels B; Auwerx J. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377: 527-529
- ²³ Boden G; Chen X; Kolaczynski JMP. Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Invest* 1997; 100: 1107-1113
- ²⁴ Segal KR; Landt M; Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 1996; 45: 988-991
- ²⁵ Merabet E; Dagogo-Jack S; Coyne DW et al. Increased plasma leptin concentration in end-stage renal disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 847-850

- ²⁶ Agata J; Masuda A; Takada M; Higashiura K; Murakami H; Shimamoto K. High plasma immunoreactive leptin level in essential hypertension. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1171-1174
- ²⁷ Ückaya G; Ozata M; Sonmez A; Kinalp C; Eyiletten T; Bingol N; Kok B; Kocabalkan F; Ozdemir C. Plasma leptin levels strongly correlate with plasma renin activity in patients with essential hypertension. *Horm Metab Res* 1999; 31: 435-438
- ²⁸ Aizawa-Abe M; Orgawa Y; Masuzaki H; Ebihara K; Satoh N; Iwai H;; Matsuoka N; Hayashi T; Hosoda K; Inoue G; Yoshimasa Y; Nakao K. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *J Clin Invest* 2000; 105: 1243-1252
- ²⁹ Jackson EK; Li P. Leptin has natriuretic activity in rat. *Am J Physiol* 1997; 272: F333-F338
- ³⁰ Villarreal D; Reams G; Freeman RH; Taraben A. Renal effects of leptin in normotensive, hypertensive, and obese rats. *Am J Physiol* 1998; 275: R2056-2060
- ³¹ Shek EW; Brands MW; Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertens* 1998; 31: 409-414
- ³² Rumantir MS; Vaz M; Jennings GL; Collier G; Kaye DM; Seals DR; Wiesner GH; Brunner-La Rocca HP; Esler MD. Neural mechanisms in human obesity-related hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 1125-1133
- ³³ Dunbar JC; Hu Y; Lu H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. *Diabetes* 1997; 46: 2040-2043
- ³⁴ Scherer U; Randin D; Tappy L; Vollenweider P; Jequier E; Nicod P. Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects. *Circulation* 1994; 89: 2634-2640
- ³⁵ Satoh N; Ogawa Y; Katsuura G; Numata Y; Tsuji T; Hayase M; Ebihara K; Masuzaki H; Hosoda K; Yoshimasa Y; Nakao K. Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus. Leptin-induced increase in catecholamine secretion. *Diabetes* 1999; 48: 1787-1793
- ³⁶ Haynes WWG; Morgan DA; Walsh SA; Mark AL; Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest* 1997; 100: 270-278
- ³⁷ Schorr U; Blaschke K; Turan S; Distler A; Sharma AM. Relationship between angiotensinogen, leptin and blood pressure levels in young normotensive men. *J Hypertens* 1998; 16: 1475-1480
- ³⁸ Karlson C; Lindell K; Ottoson M; Sjöström L; Carlsson B; Carlsson LM. Human adipose tissue expresses angiotensinogen and enzymes required for its conversion to angiotensin II. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3925-3929

- ³⁹ Lembo G; Vecchione C; Fratta L; Marino G; Santic DD; Trimarco B. Leptin induces nitric-oxide mediated vasorelaxation in aortic-rings of WKY rats. *Hypertension* 1998; 32: 599. Abstract
- ⁴⁰ Mark A; Correia M; Morgan DA; Shaffer RA; Haynes WG. Obesity-induced hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 537-541
- ⁴¹ Jalali A; Morgan DA; Sivitz WI; Correia MLG; Mark AL; Haynes WG. Does leptin cause functional peripheral sympatholysis? *Am J Hypertens* 2001; 14: 615-618
- ⁴² Fruhbeck G. Pivotal role of nitric oxide in the control of blood pressure after leptin administration. *Diabetes* 1999; 48: 903-908
- ⁴³ Kuo JJ; Jones OB; Hall JE. Inhibition of NO synthesis enhances chronic cardiovascular and renal actions of leptin. *Hypertension* 2001; 37: 670-676
- ⁴⁴ Bouloumie A; Marumo T; Lafontan M; Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13: 1231-1238
- ⁴⁵ Sierra-Honigmann MR; Nath AK; Murakami C; Garcia-Cardena G; Papapetropoulos A; Sessa WC; Magde LA; Schechner JS; Schwaab MB; Polverini PJ; Flores-Riveros JR. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683-1686
- ⁴⁶ Morgan DA; Rahmouni K; Mark AL; Haynes WG. Selective leptin resistance during high fat diet in mice: preservation of sympathetic activation despite attenuation of metabolic responses. *Hypertens* 2001; 38: 478
- ⁴⁷ Correia MLG; Haynes WG; Rahmouni K; Morgan DA; Sivitz WI; Mark AL. The concept of selective leptin resistance: evidence from agouti yellow obese mice. *Diabetes* 2002; 51: 439-442
- ⁴⁸ Fleming I; Busse R. NO: the primary EDRF. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 5-14
- ⁴⁹ Furchgott RF; Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376
- ⁵⁰ Förstermann U; Closs EL; Pollock JS; Nakane M; Schwarz P; Gath I; Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-1131
- ⁵¹ Franklin H; Epstein MB. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *The New England Journal of Medicine* 1993 Dec; 2003-2011
- ⁵² Bachmann S; Bosse HM; Mundel P. Topographie of the nitric oxide synthesis by localizing constitutive NO synthase in mammalian kidney. *Am J Physiol* 1995; 268(5PT2): F885-898

- ⁵³ Schulz R; Nava E; Moncada S. Induction and potential biological relevance of a Ca²⁺-independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 575-580
- ⁵⁴ Green LC; Tannebaum SR; Goldman P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. *Science* 1981; 212: 56-58
- ⁵⁵ Morrissey JJ; McCracken R; Kaneto H; Vehaskari M; Montani D; Klahr S. Location of an inducible nitric oxide synthase mRNA in the normal kidney. *Kidney Int* 1994; 45: 998-1005
- ⁵⁶ Amal JF; Dinh-Xuan AT; Pueyo M; Darblade B; Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55(8-9): 1078-1087
- ⁵⁷ Furchgott RF; Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3(9): 2007-2018
- ⁵⁸ Feletou M; Vanhoutte PM. The third pathway: endothelium-dependent hyperpolarisation. *J Physiol Pharmacol* 1999; 50(4): 525-534
- ⁵⁹ Karow T; Lang R. Einführung NO/Nitrate. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie* 2001(9. Auflage): 146-147
- ⁶⁰ Siragy HM; Johns RA; Peach MJ; Carey RM. Nitric oxide alters renal function and guanosine 3'5'-cyclic monophosphate. *Hypertension* 1992; 19(6 PT 2): 775-779
- ⁶¹ Waldman SA; Murad F. Biochemical mechanism underlying vascular smooth muscle relaxation: the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 12:Suppl 5: 115-118
- ⁶² Randomski MW; Moncada S. Biological role of nitric oxide in platelet function. In: Moncada S; Higgs EA; Berrazute JR; eds. Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system. *EPICOMPLET* 1991: 45-56
- ⁶³ Kelm M; Feelisch M; Grube R; Motz W; Strauber BE. Metabolism of endothelium-derived nitric oxide in human blood. In: Moncada S; Marletta M; Higgs JB Jr; Higgs EA; eds. The biology of nitric oxide. Vol 1. London: *Portland Press* 1992: 319-322
- ⁶⁴ Calver A; Collier J; Moncada S; Vallance P. Effect of Local intra-arteriell N^G-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992; 10(9): 1025-1031
- ⁶⁵ Haynes WG; Noon JP; Walker BR; Webb DJ. Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans. *J Hypertens* 1993; 11(12): 1375-1380
- ⁶⁶ Hansen J; Jacobsen TN; Victor RG. Is nitric oxide involved in the tonic inhibition of central sympathetic outflow in humans? *Hypertension* 1994; 24(4): 439-444

- ⁶⁷ Haynes WG; Noon JP; Walker BR; Webb DJ. L-NMMA increases blood pressure in man. *Lancet* 1993; 342: 931-932
- ⁶⁸ Sander M; Chavoshan B; Victor RG. A large blood pressure-raising effect of nitric oxide synthase inhibition in humans. *Hypertension* 1999; 33: 937-942
- ⁶⁹ Haynes WG; Hand MF; Dockrell ME; Eadington DW; Lee MR; Hussein Z; Benjamin N; Webb DJ. Physiological role of nitric oxide in regulation of renal function in humans. *Am J Physiol* 1997; 272: F364-371
- ⁷⁰ Wang X; Salevsky FC; Cupples WA. Nitric oxide, atrial natriuretic factor and dynamic renal autoregulation. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77: 777-786
- ⁷¹ Bech JN; Nielsen CB; Pedersen EB. Effects of systemic NO synthesis inhibition on RPF, GFR, UNa and vasoactive hormones in healthy humans. *Am J Physiol* 1996; 270: F845-851
- ⁷² Broere A; van den Meiracker AH; Boomsma F; Derkx FHM; Man in't Veld AJ; Schalekamp MADH. Human renal and systemic hemodynamic, natriuretic and neurohumoral responses to different doses of L-NAME. *Am J Physiol* 1998; 275: F870-877
- ⁷³ Lahera V; Salom MG; Miranda-Guardiola F; Moncada S; Romero JC. Effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. *Am J Physiol* 1991; 261: F1033-1037
- ⁷⁴ Herold G. (1997) Endokrinologie, 576-643 in Herold G. Innere Medizin
- ⁷⁵ Silbernagl S; Despopoulos A. Taschenatlas der Physiologie. *Georg Thieme*, Stuttgart, New York, 4. überarbeitete Auflage 1991: 152-153
- ⁷⁶ Gardes J; Gonzales MF; Alhenc-Gelas F; Menard J. Influence of sodium diet on L-NAME effects on renin release and renal vasoconstriction. *Am J Physiol* 1994; 267: F798-804
- ⁷⁷ Vidal MJ; Romero JC; Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing factor inhibits renin release. *Eur J Pharmacol* 1988; 149(3): 401-402
- ⁷⁸ Navar LG; Inscho EW; Majid SA; Imig DJ; Harrison-Bernard LM; Mitchell KD. Paracrine regulation of the renal microcirculation. *Physiol Rev.* 1996; 76(2): 425-536
- ⁷⁹ Yanagisawa M; Kurihara H; Kimura S; Tomobe Y; Kobayashi M; Mitusi J; Yasaki Y; Goto K; Maki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415
- ⁸⁰ Sakurai T; Yanagisawa M; Takuwa H; Kimura S; Goto K; Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelium receptor. *Nature* 1990; 348: 732-735

- ⁸¹ Schiffrin EL. Endothelin: potential role in hypertension and and vascular hypertrophy. *Hypertension* 1995; 25: 1135-1143
- ⁸² Rossi GP; Sacchetto A; Cesari M; Pessina AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 300-307
- ⁸³ Schiffrin EL; Touyz R. Vascular Biology of Endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32(3): 2-13
- ⁸⁴ D'Amours M; Lebel M; Grose JH; Lairviere R. Renal and vascular effects of chronic nitric oxide synthase inhibition: involvement of endothelin 1 and angiotensin II. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77(1): 8-16
- ⁸⁵ Karow T; Lang R. Autonomes Nervensystem. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie* 2001(9. Auflage): 42
- ⁸⁶ Fortepiani LA; Rodrigo E; Ortiz CM; Cachofeiro V; Atucha NM; Ruilope LM; Lahera V; Garcia-Estan J. Pressure natriuresis in nitric oxide-deficient hypertensive rats: Effect of antihypertensive treatments. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 21-27
- ⁸⁷ Huszaka M; Kaplar M; Retjo L; Tornai I; Palatka K; Laszlo K; Udvardy M. The association of reduced endothelium derived relaxing factor-NO production with endothelial damage and increased in vivo platelet activation in patients with diabetes mellitus. *Thromb Res* 1997; 86: 173-180
- ⁸⁸ Suter PM; Locher R; Häsler E; Vetter W. Is there a role for the ob gene product leptin in essential hypertension? *Am J Hypertens* 1998, 11: 1305-1311
- ⁸⁹ Umemura S; Nyui N; Tamura K; Hibi K; Yamaguchi S; Nakamaru M; Ishigami T; Yabana M; Kihara M; Inoue S; Ishii M. Plasma angiotensinogen concentrations in obese patients. *Am J Hypertens* 1997; 10: 629-633
- ⁹⁰ Wongmekiat O; Johns EJ. Interaktion between nitric oxide and renal nerves in the excretion of saline load in obese Zucker rats. *Clin Sci* 2001; 101: 275-283
- ⁹¹ Zatz R; de Nucci G. Effects of acute nitric oxide inhibition on rat glomerular microcirculation. *Am J Physiol* 1991; 261: F360-363
- ⁹² Deng A; Baylis C. Locally produced EDRF controls preglomerular resistance and ultrafiltration coefficient. *Am J Physiol* 1993; 264: F212-215
- ⁹³ Guarasci GR; Kline RL. Pressure natriuresis following acute and chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *Am J Physiol* 1996; 270: R469-478
- ⁹⁴ Treeck B; Aukland K. Effect of L-NAME on glomerular filtration rate in deep and superficial layers of rat kidney. *Am J Physiol* 1997; 272: F312-318

- ⁹⁵ Henegar JR; Bigler SA; Henegar LK; Tyagi SC; Hall JE. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1211-1217
- ⁹⁶ Carrol JF; Huang M; Hester RL; et al. Hemodynamic alterations in obese rabbits. *Hypertension* 1995; 26: 465-470
- ⁹⁷ Reisin E; Messerli FH; Ventura HO; Frohlich ED. Renal hemodynamics in obese and lean essential hypertensive patients. In Messerli FH(ed). *Kidney in Essencial Hypertension*. Marius Nihoff, Boston 1984: pp 125-129
- ⁹⁸ Knoblich PR; Freeman RH; Villarreal D. Pressure dependant renin-release during chronic blockade of nitric oxide synthase. *Hypertension* 1996; 28: 738-742
- ⁹⁹ Boddi M; Poggesi L; Coppo M; Zarone N; Sacchi S; Tania C; Neri Seneri GG. Human vascular renin-angiotensin system and its functional changes in relation to different sodium intakes. *Hypertension* 1998; 31: 836-842
- ¹⁰⁰ Rocchini AP; Moorehead CP; DeRemer S; Bondie D. Pathogenesis of weight related changes in blood pressure in dogs. *Hypertension* 1989; 13: 922-928
- ¹⁰¹ Tuck ML; Sowers J; Dornfield L; Kledzik G; Maxwell M. The effect of weight reduction on blood pressure, plasma renin activity, and plasma aldosterone levels in obese patients. *N Eng J Med* 1981; 304: 930-933
- ¹⁰² Coiro V; Volpi R; Capretti L; Speroni G; Caffari G; Chiodera P. Involvement of nitric oxide in arginine, but not glucose, induced insulin secretion in normal men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997; 46: 115-119
- ¹⁰³ Bursztyrn M; Raz I; Merkler J; Ben-Ishay D. Effect of acute N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) hypertension on glucose tolerance, insulin levels, and [3H]-deoxyglucose muscle uptake. *Am J Hypertens* 1997; 10: 683-686
- ¹⁰⁴ Sander M, Hansen PG; Victor RG. Sympathetically mediated hypertension caused by chronic inhibition of nitric oxide. *Hypertension* 1995; 26: 691-695

7. Danksagung

Das Gelingen dieser Arbeit wäre ohne die Hilfe vieler Personen nicht möglich gewesen. Ihnen möchte ich auf diese Weise meinen Dank aussprechen:

- Frau Prof. Dr. Christiane Erley für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas, die hervorragenden Betreuung sowie die gute Atmosphäre innerhalb des Doktorandenkreises.
- Frau Dr. Elke Berger und Frau Dr. Birgit Bader für die tatkräftige Unterstützung während der Planung, Durchführung und Auswertung der Studie
- Herrn Dr. Stefan Freudenthaler und Frau Dr. Gitta Walz von der Abteilung Klinische Pharmakologie für die großartige Hilfe bei der praktischen Durchführung der Studientage.
- Frau Smykowsky und Frau Raiser für die geduldige und freundliche Hilfestellung bei allen labortechnischen und –chemischen Fragen sowie für die Bestimmung der Hormonwerte.
- Herrn Meissner und Frau Guenon vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung (IMI) für die ausführliche Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung.
- Allen Probanden, ohne deren Zuverlässigkeit und Geduld die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.
- Meinen lieben Eltern, die mir mein Medizinstudium überhaupt ermöglichten und mir bei allen Höhen und Tiefen zur Seite standen.



8. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Julia Ariane Krieger
Geburtsdatum: 12. Februar 1978
Geburtsort: Tübingen
Eltern: Dr. med. Albert Krieger, Neurologe und Psychiater
Gabriele Krieger, Grundschullehrerin

Schulbildung und Studium:

1984-1988 Grundschule auf der Wanne Tübingen
1988-1997 Geschwister-Scholl-Schule Tübingen
Juni 1997 Abitur
Oktober 1997 Beginn des Medizinstudiums in Tübingen
August 1999 Ärztliche Vorprüfung
August 2000 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2003 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11. Mai 2004 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Famulaturen:

Februar-März 2000 Unfallchirurgie in der BG Unfallklinik Tübingen
Februar-März 2001 Intensivstation der Medizinischen Klinik Tübingen
März-April 2001 Gastroenterologie im DRK-Klinikum Westend Berlin
August-September 2001 Intensivstation der Medizinischen Klinik Tübingen
Februar-März 2002 Anästhesiologie in der BG Unfallklinik Tübingen
Mai-Juni 2002 Innere Medizin Praxis Prof. Jakober Tübingen

Praktisches Jahr:

April-Juni 2003 Neurologie im Inselspital Bern, Schweiz
Juli-August 2003 Neurologie in der Universitätsklinik Tübingen
August- Dezember 2003 Innere Medizin in der Universitätsklinik Tübingen
Dezember 2003-März 2004 Chirurgie im Universitätsspital Zürich, Schweiz