

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität

Tübingen

Abteilung für Pharmakologie und Experimentelle Therapie

Abteilungsleiter: Professor Dr. H. Oßwald

**Beteiligung von Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptoren an der  
Regulation der Nierenfunktion**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

RALF SCHÄFER  
aus Ludwigsburg

2004

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. Bernd Mühlbauer

2. Berichterstatter: Frau Professor Dr. C. Erley

---

Meinen Eltern

und

meiner Schwester

# Inhaltsverzeichnis

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>EINLEITUNG</b>   | <b>8</b>  |
| 1.1      | Gegenstand der Arbeit   | 8         |
| 1.2      | Bisheriger Kenntnisstand                                      | 8         |
| 1.2.1    | Das Nephron – die funktionelle Einheit                        | 8         |
| 1.2.2    | Synthese und Stoffwechsel von Dopamin                         | 10        |
| 1.2.3    | Die Dopaminrezeptoren   | 12        |
| 1.2.4    | Der Dopamin D <sub>3</sub> -Rezeptor                          | 16        |
| 1.2.5    | Funktionen von Dopamin im Organismus                          | 19        |
| 1.2.6    | Die aminosäurebedingte glomeruläre Hyperfiltration            | 21        |
| 1.2.7    | Die Stimulation des D <sub>3</sub> -Rezeptors durch 7-OH-DPAT | 25        |
| 1.3      | Fragestellung der Arbeit                                      | 26        |
| <b>2</b> | <b>MATERIAL UND METHODEN</b>                                  | <b>27</b> |
| 2.1      | Versuchsvorbereitung  | 27        |
| 2.1.1    | Versuchstiere   | 27        |
| 2.1.2    | Narkose   | 27        |
| 2.1.3    | Präparation   | 27        |
| 2.1.4    | Äquilibration   | 30        |
| 2.2      | Verwendete Infusionslösungen                                  | 30        |
| 2.2.1    | Isotone Kochsalzlösung  | 30        |
| 2.2.2    | [ <sup>3</sup> H]-markierte Inulinlösung                      | 30        |
| 2.2.3    | Aminosäurelösung  | 30        |
| 2.2.4    | 7-OH-DPAT-Lösung  | 31        |
| 2.2.5    | Lösung zur Volumenexpansion                                   | 31        |
| 2.2.6    | Dopaminhaltige Lösung   | 31        |
| 2.2.7    | BSF 201640-Lösung   | 32        |
| 2.2.8    | BSF 135170-Lösung   | 32        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>2.3</b> | <b>Experimenteller Ablauf</b> .....   | <b>32</b> |
| 2.3.1      | Clearanceversuche mit aminosäurebedingter glomerulärer Hyperfiltration.....         | 32        |
| 2.3.1.1    | Versuchsprotokoll und Probengewinnung .....   | 32        |
| 2.3.1.2    | Versuchsgruppen .....   | 34        |
| 2.3.2      | Clearanceversuche mit 7-OH-DPAT .....   | 35        |
| 2.3.2.1    | Versuchsprotokoll und Probengewinnung .....   | 35        |
| 2.3.2.2    | Versuchsgruppen .....   | 36        |
| 2.3.3      | Clearanceversuche mit Volumenexpansion .....  | 37        |
| 2.3.3.1    | Versuchsprotokoll und Probengewinnung .....   | 37        |
| 2.3.3.2    | Versuchsgruppen .....   | 38        |
| 2.3.4      | Clearanceversuche bei exogener Dopaminzufuhr.....                                   | 39        |
| 2.3.4.1    | Versuchsprotokoll und Probengewinnung .....   | 39        |
| 2.3.4.2    | Versuchsgruppen .....   | 40        |
| <b>2.4</b> | <b>Analytik</b> .....   | <b>41</b> |
| 2.4.1      | Hämatokrit (Hkt) .....  | 41        |
| 2.4.2      | Urinvolumen (UV).....   | 41        |
| 2.4.3      | Natrium und Kalium in Urin und Plasma .....   | 41        |
| 2.4.4      | [ <sup>3</sup> H]-Aktivität in Urin und Plasma .....                                | 42        |
| <b>2.5</b> | <b>Berechnete Größen</b> .....  | <b>42</b> |
| 2.5.1      | Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP).....  | 42        |
| 2.5.2      | Herzfrequenz (HF) .....   | 42        |
| 2.5.3      | Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) .....   | 43        |
| 2.5.4      | Absolute Natriumausscheidung ( $U_{Na}V$ ).....                                     | 43        |
| 2.5.5      | Fraktionelle Natriumausscheidung $FE_{Na}$ .....                                    | 43        |
| <b>2.6</b> | <b>Auswertung und Statistik</b> .....   | <b>44</b> |
| <b>3</b>   | <b>ERGEBNISSE</b> .....   | <b>45</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Clearanceversuche mit aminosäurebedingter glomerulärer Hyperfiltration</b> ..... | <b>45</b> |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 3.1.1      | Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe).....   | 45        |
| 3.1.2      | Aminosäuregruppe (VHC-AS).....   | 45        |
| 3.1.3      | BSF 201640 – Aminosäuregruppe (BSF(I)-AS).....   | 46        |
| 3.1.4      | BSF 135170 – Aminosäuregruppe (BSF(II)-AS).....  | 46        |
| <b>3.2</b> | <b>Clearanceversuche mit 7-OH-DPAT .....</b>   | <b>50</b> |
| 3.2.1      | Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe).....   | 50        |
| 3.2.2      | 7-OH-DPAT-Gruppe (VHC-DPAT).....   | 50        |
| 3.2.3      | BSF 201640 – 7-OH-DPAT-Gruppe (BSF(I)-DPAT).....   | 50        |
| 3.2.4      | BSF 135170 – 7-OH-DPAT-Gruppe (BSF(II)-DPAT).....  | 51        |
| <b>3.3</b> | <b>Clearanceversuche mit Volumenexpansion .....</b>  | <b>55</b> |
| 3.3.1      | Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe).....   | 55        |
| 3.3.2      | Volumenexpansion 2,5 % (VHC-VE) .....  | 55        |
| 3.3.3      | BSF 201640 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 % (BSF(I)-VE) .....                                       | 55        |
| 3.3.4      | BSF 135170 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 % (BSF(II)-VE) .....                                      | 56        |
| <b>3.4</b> | <b>Clearanceversuche mit exogener Dopaminzufuhr .....</b>  | <b>61</b> |
| 3.4.1      | Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe).....   | 61        |
| 3.4.2      | Dopamingruppe (VHC-DA) .....   | 61        |
| 3.4.3      | BSF 201640 – Dopamin (BSF(I)-DA).....  | 61        |
| 3.4.4      | BSF 135170 – Dopamin (BSF(II)-DA).....   | 62        |
| <b>4</b>   | <b>DISKUSSION .....</b>  | <b>69</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die aminosäurebedingte glomeruläre Hyperfiltration .....</b>     | <b>69</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die glomeruläre Hyperfiltration durch 7-OH-DPAT .....</b>        | <b>73</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die isotone Volumenexpansion.....</b>                            | <b>77</b> |
| <b>4.4</b> | <b>Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die glomeruläre Hyperfiltration durch exogenes Dopamin .....</b> | <b>82</b> |

|                                    |            |
|------------------------------------|------------|
| <b>4.5 Klinischer Bezug .....</b>  | <b>85</b>  |
| <b>5 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>     | <b>86</b>  |
| <b>6 LITERATURVERZEICHNIS.....</b> | <b>88</b>  |
| <b>Danksagung.....</b>             | <b>106</b> |
| <b>Lebenslauf.....</b>             | <b>107</b> |

# 1 Einleitung

## 1.1 Gegenstand der Arbeit

In dieser Arbeit wurde die Bedeutung des Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptors für die Regulation der Nierenfunktion untersucht. Hierfür wurde seine Rolle bei der aminosäurebedingten glomerulären Hyperfiltration, nach pharmakologischer Aktivierung durch 7-OH-DPAT sowie nach einer Volumenexpansion bestimmt. Schließlich wurde der Einfluss von exogenem Dopamin auf die Nierenfunktion in Bezug auf den D<sub>3</sub>-Rezeptor untersucht.

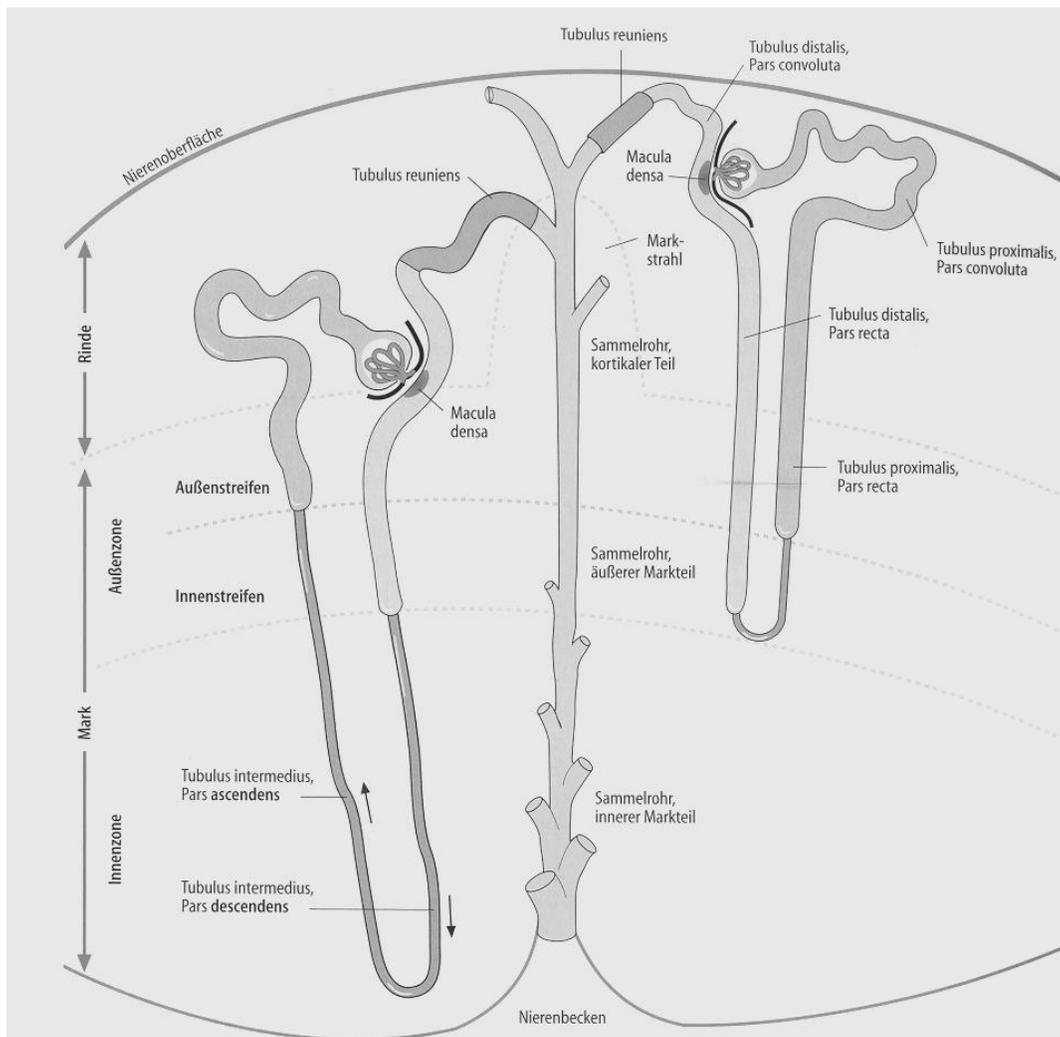
## 1.2 Bisheriger Kenntnisstand

### 1.2.1 Das Nephron – die funktionelle Einheit

Die kleinste funktionelle Einheit der Niere stellt das Nephron dar, siehe Abbildung 1. Eine menschliche Niere besteht aus annähernd 1 Million Nephren, wogegen die Rattenniere circa 30.000 Nephren besitzt. Das Nephron setzt sich zusammen aus dem Nierenkörperchen (Glomerulus und Bowman Kapsel) und dem Tubulus, welcher in das Sammelrohr mündet. Das Tubulussystem unterteilt sich in einen proximalen Teil, das Überleitungsstück mit der Henle Schleife und den distalen Tubulus. Es wird eine lange Schleife, welche bis ins innere Mark reicht, von einer kurzen Schleife, welche nur im äußeren Mark verläuft, unterschieden. Bei Spezies mit ausschließlich kurzen Schleifen (z.B. Biber) ist die Fähigkeit zur Harnkonzentrierung eingeschränkt.

Bis zu 25 % des Herzzeitvolumens (HZV) fließen pro Minute durch die Niere. Das Blut wird, vom Vas afferens kommend, im Glomerulus gefiltert, indem sie nur für Wasser und kleine Teilchen passabel ist. So entsteht der Primärharn, der dann über das Tubulussystem geleitet wird. Das Blut verlässt über das Vas

efferens und die V. renalis wieder die Niere. Die glomeruläre Filtrationsrate bei intakter Niere beträgt beim Menschen etwa 120 ml/min. Das gewonnene Ultrafiltrat ist reich an kleinen Molekülen (Elektrolyte, Glucose, Harnstoff) und arm an Eiweiß. Nach dem Abpressen dieses Primärharns untersteht er im Tubulussystem verschiedenen Resorptions- und Exkretionsvorgängen, durch welche der Großteil des Wassers und der filtrierten Stoffe rückresorbiert wird. Dies führt schließlich zur Bildung des Endharns, der ausgeschieden wird.



**Abbildung 1:** Zwei Nephronen mit jeweils einer langen und einer kurzen Schleife.

Für die glomeruläre Filtration ist ein gewisser hydrostatischer Druck notwendig. Man spricht von einem effektiven Filtrationsdruck, der durch die Autoregulation (Thurau, 1994) der Nierengefäße in einem bestimmten Rahmen (80-160 mmHg) unabhängig von dem herrschenden systemischen Blutdruck ist. Unter dieser Grenze kommt es schnell zum Nierenversagen, darüber zur Schädigung der Nierengefäße. Die Autoregulation wird zum einen durch eine myogene Reaktion (Bayliss Effekt) der präglomerulären Gefäße erreicht. Bei einer Erhöhung des arteriellen Blutdrucks kommt es durch die Wandspannung zu einer partiellen Vasokonstriktion. Zum anderen wird die Niere durch den tubuloglomerulären Feedback (TGF) autoreguliert (Steinhausen et al., 1989). Das morphologische Korrelat für den TGF bildet eine Kontaktstelle der Wand des distalen Tubulus, genauer der Macula densa mit dem Glomerulus. Diese Kontaktstelle wird mit weiteren Strukturen als juxtaglomerulärer Apparat bezeichnet. Hier wird die  $\text{Na}^+$ -Konzentration im Tubuluslumen überprüft. Ist diese zu hoch, wird das Vas afferens konstringiert und die GFR und damit die Tubulusbeladung gesenkt. Ist sie zu niedrig, wird das Vas afferens dilatiert und die GFR steigt somit an. Weiterhin wird über die Wandspannung als auch über die gemessene NaCl-Konzentration das RAA-System gesteuert. Ein Abfall des Blutdrucks oder der Salzkonzentration führt dabei zur Freisetzung des im juxtaglomerulären Apparat gebildeten Hormons Renin und darüber hinaus zur Blutdrucksteigerung über Angiotensin II und zur vermehrten Wasser- und Natriumrückresorption über Aldosteron.

### 1.2.2 Synthese und Stoffwechsel von Dopamin

Dopamin wird als biogenes Amin aus der Vorstufe L-Tyrosin gebildet. L-Tyrosin wird mit der Nahrung aufgenommen oder durch Hydroxylierung von L-Phenylalanin synthetisiert. Dopamin selbst ist ein Zwischenprodukt für weitere Katecholamine, Noradrenalin und Adrenalin. Je nach Enzymausstattung der Zelle kommt es zur Bildung des jeweiligen Neurotransmitters. Dopamin besitzt neben seiner Funktion als Zwischenprodukt ein spezifisches Rezeptorsystem und kann über dieses seine Wirkungen entfalten.

In den Zellen des zentralen Nervensystems wird Dopamin aus L-Tyrosin durch die Tyrosinhydroxylase zu L-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa) umgewandelt. Dieser Schritt wird unter anderem durch nervale Impulse über nicotinische Acetylcholinrezeptoren vermittelt (Löffler und Petrides, 1998). Anschließend wird L-Dopa durch die aromatische L-Dopadecarboxylase zu 3,4-Dihydroxyphenylethylamin decarboxyliert. L-Dopa kann dabei endogener oder exogener Herkunft sein (Suzuki et al., 1984; Mühlbauer et al., 1997c). Dieses letzte Enzym zeigt eine geringe Spezifität für aromatische L-Aminosäuren und wird deshalb auch als aromatische L-Aminosäuredecarboxylase (L-AADC) bezeichnet. Die Synthese im ZNS findet vorwiegend in den präsynaptischen Nervenendigungen statt. Hohe Konzentrationen von Dopamin kommen in den Kernarealen (Putamen, Nucleus caudatus) des extrapyramidalen Systems vor. Von hier aus dient Dopamin als Neurotransmitter. Dopamin wird nach der Ausschüttung, anders als die anderen Amine, größtenteils durch die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) und der mitochondrialen Monoaminoxidase (MAO) abgebaut (Kopin, 1972). Das Stoffwechselendprodukt, die Vanillinmandelsäure (3-Methoxy-4-Hydroxymandelsäure), wird ebenso wie unverändertes Dopamin mit dem Urin ausgeschieden.

In der Niere wird ebenfalls Dopamin gebildet. Die genaue Lokalisation ist Gegenstand der laufenden Diskussion. Der Syntheseort könnte in den Nervenendigungen (Bell et al., 1978; Ziegler et al., 1990) oder in den Tubuli lokalisiert sein (Ball und Lee, 1977; Baines und Chan, 1980). Weiterhin könnte es durch Dekonjugation von sulfatiertem Dopamin aus extrarenalem Gewebe stammen (Unger et al., 1980). Die Hypothese der renalen Utilisation von extrarenalem konjugierten Dopamins konnte in weiteren Untersuchungen jedoch nicht bestätigt werden (Akpaffiong et al., 1980). Gegen die Vermutung, dass Dopamin außerhalb der Niere gebildet wird und dann renal wirkt, spricht unter anderem, dass die Plasmaspiegel von freiem Dopamin zu niedrig sind, um die gemessenen renalen Dopaminkonzentrationen zu erklären (Da Prada und Zürcher, 1976). Adams und Adams (1995) sowie Baines (1982) fanden mit ihren Studien heraus, dass der Anteil von renalem Dopamin mit neuronaler

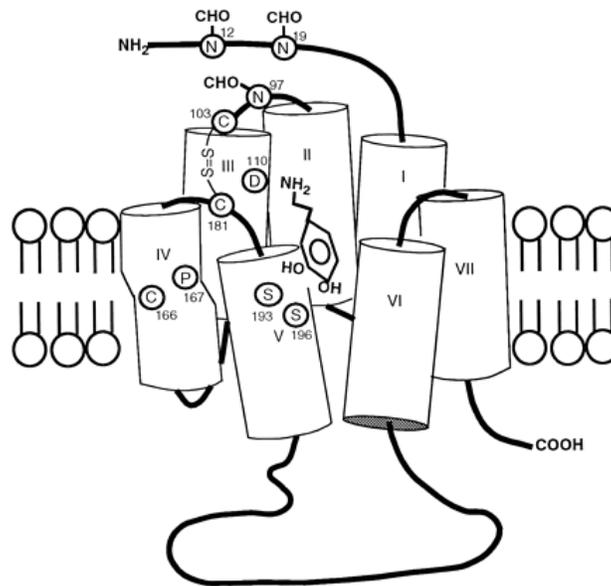
Herkunft weniger als 10 % der Gesamtmenge von Dopamin in der Niere ausmacht. Dies verstärkt die Annahme, dass der Großteil des Dopamins im Tubulussystem gebildet wird. Allerdings kann die Synthese von Dopamin in der Niere durch vagale Reize gesteigert werden (Hedge und Lokhandwala, 1992).

Nach den heutigen Erkenntnissen wird in der Niere frei filtriertes L-Dopa über einen  $\text{Na}^+$ /L-Dopa-Symport von den Zellen des proximalen Tubulus aufgenommen (Ball et al., 1982; Wahbe et al., 1982). Es wurde beobachtet, dass die Dopaminausscheidung im Urin ( $U_{\text{DAV}}$ ) mit der Menge von verabreichtem L-Dopa korreliert (Mühlbauer et al., 1997c). In den proximalen Tubuluszellen findet der größte Teil der renalen Dopaminsynthese durch die L-AADC statt (Baines und Chan, 1980; Suzuki et al., 1984; Barendregt et al., 1995). In diesem Abschnitt wurde die höchste Aktivität der L-AADC gemessen (Hayashi et al., 1991). Es zeigte sich auch, dass der Dopamingehalt in den proximalen Tubuluszellen nach renaler Denervierung nicht abnahm (Baines et al., 1985). Von hier aus (Küster und Mühlbauer, 1998) wirkt Dopamin vermutlich als parakrines Hormon an apikalen und basolateral gelegenen Rezeptoren. Es sind noch nicht alle Faktoren, welche zu einer Ausschüttung von Dopamin führen, bekannt. Gezeigt werden konnte, dass eine akute Salzladung die Dopaminausscheidung im Urin ( $U_{\text{DAV}}$ ) mehr ansteigen lässt als die interstitielle Dopaminkonzentration (Wang et al., 1997). Die Aufklärung der genauen Verteilungsmechanismen und aller möglichen Wirkorte sind Gegenstand laufender Forschung.

### 1.2.3 Die Dopaminrezeptoren

Dass Dopamin über ein eigenes Rezeptorsystem verfügt, wurde durch die Beobachtung bestätigt, dass es nicht möglich war, die blutdrucksenkende Wirkung von Dopamin bei niedriger Dosierung durch adrenerge Rezeptorblocker zu hemmen (Goldberg, 1972). Die Dopaminrezeptoren gehören zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit 7 Transmembrandomänen. Es wurde beobachtet, dass Dopaminrezeptoren im Gehirn ein differenziertes

pharmakologisches Verhaltensmuster zeigen. Eine erstmalige Unterteilung bezeichnet den D<sub>1</sub>-Rezeptor, der die Adenylatcyclase stimuliert, und den D<sub>2</sub>-Rezeptor, der die Adenylatcyclase hemmt (Kebabian und Calne, 1979). Goldberg et al., (1978) benannte die peripheren Dopaminrezeptoren außerhalb des ZNS als DA<sub>1</sub> und DA<sub>2</sub>-Rezeptoren. Diese Bezeichnung wurde wieder fallen gelassen, nachdem weitere Ähnlichkeiten im pharmakologischen und biochemischen Verhalten der zentralen und peripheren Dopaminrezeptoren beobachtet wurden (Andersen et al., 1990). Durch molekulares Klonen wurden weitere Subtypen identifiziert, die sich durch ihr pharmakologisches Verhalten (Seeman und Van Tol, 1994) ebenfalls in eine der beiden Klassifikationen zuordnen ließen. Im Einzelnen gehören der D<sub>2</sub>-Rezeptor (Chio et al., 1990), der D<sub>3</sub>-Rezeptor (Sokoloff et al., 1990) und der D<sub>4</sub>-Rezeptor (Van Tol et al., 1991) der D<sub>2</sub>-Subfamilie an. Die D<sub>1</sub>-Subfamilie beinhaltet den D<sub>1</sub>-Rezeptor (Deary et al., 1990) und den D<sub>5</sub>-Rezeptor (Sunahara et al., 1991). Trotz ihres gemeinsamen endogenen Liganden Dopamin unterscheiden sich die jeweiligen Affinitäten diesbezüglich wie folgt: D<sub>3</sub>>D<sub>5</sub>>D<sub>2</sub>>D<sub>4</sub>>D<sub>1</sub> (Jose et al., 1992). Alle 5 Rezeptortypen wurden in der Niere nachgewiesen (Missale et al., 1998). Abbildung 2 zeigt den Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptor mit der Anordnung der 7 Transmembrandomänen und der verbindenden Schleifen.



**Abbildung 2** Schematische Darstellung des Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptors. Dargestellt sind die 7 Transmembrandomänen als Zylinder, verbunden durch intra- und extrazelluläre Schleifen sowie C- und N-terminales Ende. Funktionell bedeutende Aminosäuren: Ser (193) und Ser (196) (Transmembrandomäne V), welche wahrscheinlich wichtig für H-Brücken-Bindung mit Katecholaminen sind; Asp (110) (Transmembrandomäne III) geht vermutlich eine Ionenbindung mit der Aminogruppe von Monoaminen ein; von Cys (166) Pro (167) (Transmembrandomäne IV) wird eine Bindung in der  $\alpha$ -helikalen Region angenommen; Cys (103) und Cys (181) können eine Disulfidbrücke bilden; Asparagin (Asn) (12), Asn (19), und Asn (97) repräsentieren Glykosylierungspunkte. (Levant, 1997)

Die D<sub>1</sub>-Subfamilie fasst den D<sub>1</sub>-Rezeptor und den D<sub>5</sub>-Rezeptor zusammen, welche bei Nagetieren auch als D<sub>1A</sub>- und D<sub>1B</sub>-Rezeptor bezeichnet werden. Es gilt als gesichert, dass der D<sub>1</sub>- mit dem D<sub>1A</sub>-Rezeptor sowie der D<sub>5</sub>- mit dem D<sub>1B</sub>-Rezeptor identisch ist (Jose et al., 1992; Missale et al., 1998). Die Genabschnitte dieser Rezeptoren beinhalten keine Introns. Ihr Homologiegrad innerhalb der Transmembranregionen wird mit 80 % angegeben (Civelli et al., 1993). Eine häufige Eigenschaft der an aktivierende G-Proteine (G<sub>s</sub>-Protein) gekoppelten Rezeptoren ist ein kurzer Abschnitt der dritten intrazellulären Schleife (O'Dowd, 1993), welche verantwortlich für die Bindung an das G-Protein ist. Die D<sub>1</sub>-ähnlichen Rezeptoren sind ausschließlich an der postsynaptischen Membran lokalisiert (Jose et al., 1992). Bisher konnten keine bedeutsamen pharmakologischen Unterschiede dieser Rezeptoren festgestellt werden, da die Affinitäten zu einzelnen Liganden nahezu gleich sind. Außer

einer Stimulation der Adenylatcyclase ist der  $D_1$ -Rezeptor in der Lage, die Proteinkinase C zu aktivieren (Yu et al., 1996), deren Substrat unter anderem ein  $Na^+/H^+$ -Austauscher ist (Rodewald, 2002). Eine Hemmung des  $Na^+/H^+$ -Austauschers durch Stimulation von  $D_1$ -Rezeptoren, allerdings über die Adenylatcyclase, wird durch Felder et al. (1990) unterstützt als Möglichkeit, wie Dopamin eine Natriurese auslösen könnte.

Eine weitere ist die Hemmung der  $Na^+/K^+$ -ATPase, welche wahrscheinlich durch Rezeptoren beider Subfamilien vermittelt wird (Bertorello und Aperia, 1990), obwohl auch eine monopole Stellung des Rezeptors für die Zellen des proximalen Tubulus angegeben wurde (Chen und Lokhandwala, 1993). Es wird ebenfalls eine alleinige hemmende Wirkung der  $D_1$ -ähnlichen Rezeptoren auf den  $Na^+/H^+$ -Austauscher im proximalen Tubulus propagiert. Dieser Effekt könnte auch cAMP-abhängig sein (Felder et al., 1990). So ist wahrscheinlich von einer Inaktivierung beider Ionen-Pumpen durch die Phosphorylierung über die Proteinkinase A auszugehen. Ob und welchen Einfluss die  $D_2$ -Familie besitzt ist noch ungeklärt und unter anderem Gegenstand dieser Arbeit.

Die Rezeptoren der  $D_2$ -Subfamilie besitzen eine unterschiedliche Anzahl von Introns in ihren kodierenden Abschnitten. Dies ist eher untypisch für Rezeptoren, welche an G-Proteine gekoppelt sind (Missale et al., 1998). Es wurden schon weitere Subtypen dieser Rezeptorfamilie, die durch alternatives Splicen entstehen, entdeckt. Auch hier sind die Transmembrandomänen zu einem hohen Grad gleich. Die des  $D_2$ -Rezeptors sind zu 75 % mit denen des  $D_3$ -Rezeptors identisch und zu 53 % mit denen des  $D_4$ -Rezeptors (Civelli et al., 1993). Rezeptoren dieser Familie sind sowohl präsynaptisch als auch postsynaptisch lokalisiert. Ihnen kommt somit eine Funktion als Autorezeptor als auch als metabotroper Rezeptor zu. Im Unterschied zur  $D_1$ -Familie ist die dritte intrazelluläre Schleife dieser Rezeptoren länger, eine Gemeinsamkeit der an inhibierende G-Proteine ( $G_i$ -Protein) gekoppelten Rezeptoren (O'Dowd, 1993). Die Inhibition des G-Proteins scheint jedoch mehrere Signalkaskaden auszulösen.  $D_2$ -Rezeptoren sollen Kalium-Kanäle öffnen und somit zu einer Hyperpolarisation führen. Weiterhin sollen sie Calcium-Kanäle blockieren und

die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration senken. Ein möglicher Effekt könnte in einer Autoinhibition der Dopaminausschüttung durch Hyperpolarisation liegen (Missale et al., 1998). Eine Relaxation glatter Gefäßmuskulatur wäre dadurch auf zwei Wegen erreicht. Gegensätzlich hierzu konnte in Fibroblasten durch die Gabe von Dopamin neben einem Abfall des cAMP-Spiegels auch ein Anstieg von Inositoltriphosphat ( $\text{InsP}_3$ ) gemessen werden (Vallar et al., 1990). Dies würde zu einem Anstieg des intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegels über das endoplasmatische Reticulum führen und sich mit den Ergebnissen von Luippold et al. (2000a), einer Konstriktion postglomerulärer Gefäße durch 7-OH-DPAT, decken. In Zellen der Hypophyse war dies nicht zu beobachten (Vallar et al., 1990). Dies spricht für unterschiedliche Transduktionswege eines Rezeptors, abhängig von der Zielzelle. Denkbar sind auch Varianten innerhalb einer Rezeptorfamilie. Der  $\text{D}_2$ -Rezeptor kommt tatsächlich in zwei Isoformen vor ( $\text{D}_{2S}$  und  $\text{D}_{2L}$ ), deren Unterschied ebenfalls in der Länge der dritten intrazellulären Schleife liegt, was auf funktionelle Varianz deuten könnte, was sich jedoch noch nicht bestätigen ließ. Bis auf weiteres muss die bestehende Einteilung als Erklärungsmodell genügen. Unterschiede zeigen sich bisher vor allem im Verhalten der Liganden zu ihrem Rezeptor. Abgesehen von Dopamin und einigen Ausnahmen besitzen die meisten bisher verwandten Agonisten eine höhere Affinität zum  $\text{D}_2$ - als zu dem  $\text{D}_3$ -Rezeptor (Sokoloff et al., 1990). Der  $\text{D}_4$ -Rezeptor unterscheidet sich durch sein Bindungsverhalten wenig vom  $\text{D}_2$ - und  $\text{D}_3$ -Rezeptor.

#### 1.2.4 Der Dopamin $\text{D}_3$ -Rezeptor

Das Verteilungsmuster des  $\text{D}_3$ -Rezeptors unterscheidet sich erheblich von dem des  $\text{D}_2$ -Rezeptors, wenn auch beide sowohl zentral als auch peripher exprimiert werden. Auch wurde das Vorkommen beider Rezeptoren in dopaminergen Neuronen gezeigt, was für ihre Funktion als Autorezeptoren spricht (Sokoloff et al., 1990). Zentral wurde der  $\text{D}_3$ -Rezeptor im Gegensatz zum  $\text{D}_2$ -Rezeptor nur vereinzelt im Striatum nachgewiesen. Areale mit hoher  $\text{D}_3$ -Rezeptordichte sind das Tuberculum olfactorium (Inseln von Calleja), Neurone der Stria terminalis

sowie der Nucleus accumbens (Sokoloff et al., 1992). Dies sind Gebiete des limbischen Systems und dessen Verbindung zum Hypothalamus (Trepel, 1995), was auf eine Beteiligung des D<sub>3</sub>-Rezeptors an kognitiven, emotionalen und endokrinen Funktionen schließen lässt.

In der Niere wird der D<sub>3</sub>-Rezeptor an mehreren Stellen exprimiert. In einer immunhistochemischen Arbeit konnte er durch einen Antikörper, der gegen die dritte intrazelluläre Schleife gerichtet ist, nachgewiesen werden (O'Connell et al., 1998). Dieser Rezeptor kommt vor allem in der Nierenrinde vor. Im Einzelnen wurde er im proximalen und distalen Tubulus sowie den Sammelrohren erkannt. Innerhalb der Glomeruli war eine Anfärbung vor allem an den Podozyten zu sehen. Die Media und Adventitia der renalen Gefäße war ebenfalls markiert. Nicht nachzuweisen war er im Nierenmark. Im Tubulus waren die Markierungen auf den apikalen Teil beschränkt (O'Connell et al., 1998). Er war also nicht an der basolateralen Seite nachzuweisen, wo er eine hemmende Wirkung auf die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase ausüben soll. Sanada et al., (1997) vermutete den D<sub>3</sub>-Rezeptor ebenfalls im juxtaglomerulären Apparat.

Der D<sub>3</sub>-Rezeptor wird bei Mäusen noch in zwei anderen Formen exprimiert, welche sich durch eine kürzere Kette vom Originaltranskript unterscheiden. Diesen Varianten wird keine funktionelle Rolle beigemessen, da sie keine Bindungsaffinität für Dopamin zeigen (Giros et al., 1991). Der menschliche D<sub>3</sub>-Rezeptor besitzt einen hohen Homologiegrad zu dem der Ratte. Der Hauptunterschied betrifft die dritte intrazelluläre Schleife (Sokoloff et al., 1992). Die Gensequenz für diesen Rezeptor liegt auf Chromosom 3, Bande 13.3 (Giros et al., 1990).

Pharmakologisch unterscheidet sich der D<sub>3</sub>-Rezeptor im Vergleich zum D<sub>2</sub>-Rezeptor hauptsächlich im Bindungsverhalten von Liganden. Dies soll am Beispiel des D<sub>3</sub>-Agonisten 7-OH-DPAT veranschaulicht werden. Dopamin besitzt eine 20fach höhere Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor als zum D<sub>2</sub>-Rezeptor (Sokoloff et al., 1990). Die Selektivität von 7-OH-DPAT bezüglich des D<sub>3</sub>-Rezeptors wurde schon in mehreren Studien untersucht. So ließen sich die durch 7-OH-DPAT ausgelösten Effekte durch U99194A, einem zentral und

peripher wirkenden D<sub>3</sub>-Antagonisten, vollständig hemmen, dagegen hatte S(-)-Sulpirid, einem zentral und peripher wirkenden D<sub>2</sub>-Antagonisten, keinen Einfluss (Luippold et al., 1998c; Luippold et al., 1999a). An klonierten Rezeptoren der D<sub>2</sub>-Subfamilie in Fibroblasten besaß 7-OH-DPAT die höchste Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor (Tang et al., 1994a). In anderen Untersuchungen wurden unterschiedliche Rezeptoraffinitäten von 7-OH-DPAT angegeben. Dieser Agonist soll eine 100fach höhere Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor versus, dem D<sub>2</sub>-Rezeptor, besitzen (Kurashima et al., 1995). Freedman et al. (1994a) gab eine 35fach stärkere Affinität von 7-OH-DPAT bezüglich des D<sub>3</sub>-Rezeptors an. Die Selektivität von 7-OH-DPAT zu dem D<sub>3</sub>-Rezeptor ist entscheidend von den Milieubedingungen abhängig. In vitro Studien zeigten, dass, um eine D<sub>2</sub>-Rezeptorbindung möglichst zu unterbinden, die Mg<sup>2+</sup>-Ionen Konzentration gering sein soll. In Gegenwart von EDTA steigt die Affinität von Dopamin zum D<sub>3</sub>-Rezeptor weiter an (Levesque, 1996).

Burris et al. (1995) fanden heraus, dass die Selektivität von 7-OH-DPAT zwischen dem D<sub>3</sub>-Rezeptor und dem D<sub>2</sub>-Rezeptor nicht immer gleich ist. Diese ist abhängig davon, ob der D<sub>2</sub>-Rezeptor an sein G-Protein gekoppelt ist oder nicht. Eine Kopplung des D<sub>2</sub>-Rezeptors an sein G-Protein zeigte eine 7fach höhere Affinität von 7-OH-DPAT zum D<sub>3</sub>- im Vergleich zum D<sub>2</sub>-Rezeptor. Im ungekoppelten Zustand des D<sub>2</sub>-Rezeptors ist diese Affinität von 7-OH-DPAT zum D<sub>3</sub>-Rezeptor um das 130fache höher. Umgekehrt steigt ebenfalls die Affinität des D<sub>3</sub>-Rezeptors zu seinem Agonisten durch Kopplung an ein G-Protein, wodurch diese Kopplung auch gefestigt wird (Sartania und Strange, 1999). Andererseits gibt es Arbeiten, welche die Selektivität von 7-OH-DPAT in Frage stellen. So zeigte sich, dass K<sup>+</sup>-Kanäle in Gehirnarealen mit hoher D<sub>3</sub>-Rezeptordichte durch 7-OH-DPAT mit der gleichen Potenz aktiviert werden als in Gehirnarealen mit niedriger D<sub>3</sub>-Rezeptordichte (Freedman et al., 1994b).

In in vivo-Experimenten wurden die mit 7-OH-DPAT erzielten Effekte durch den hochselektiven D<sub>3</sub>-Agonisten PD 128,907 ebenfalls erreicht. Dieser Agonist wird mit einer 54fach (Sautel et al., 1995) bis 940fach (Patel et al., 1995) höheren Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor versus dem D<sub>2</sub>-Rezeptor angegeben. Durch die Verabreichung von PD 128,907 in einer Dosierung von 1,0 µg/kg/min zeigte

sich eine deutliche GFR-Steigerung sowie eine gesteigerte Diurese und Natriurese. Die ausgelösten Veränderungen ließen sich durch den peripher wirksamen D<sub>3</sub>-Antagonisten BSF 135170 vollständig hemmen (Eisel, 2001).

### 1.2.5 Funktionen von Dopamin im Organismus

Dopamin besitzt durch seine unterschiedlichen Rezeptoren und deren spezifische Verteilungsmuster eine Reihe von Funktionen. Im zentralen Nervensystem verteilen sich die Rezeptoren vor allem auf das Striatum und den Hippocampus sowie die Substantia nigra (Sokoloff und Schwartz, 1995). Somit übernimmt Dopamin hauptsächlich Einfluss auf das Extrapyramidale und das limbische System. Durch Einflussnahme auf dopaminerge Regelkreise des ZNS zeigten sich Abweichungen des Antriebs auf Bewegungsabläufe. Kognitive Fähigkeiten wie das Lernen und Gedächtnis und das Verhalten unterliegen ebenfalls dopaminergem Steuerung (Missale, 1998).

Die Auswirkungen von Dopamin auf die Niere sind vielfältig. Obgleich bei jungen Ratten durch eine Dopaminrezeptorblockade eine Natriurese ausgelöst wurde (Felder et al., 1989), gilt es seit langem erwiesen, dass endogenes Dopamin die Na<sup>+</sup>-Ausscheidung steigert (Goldberg und Weder, 1981, Hansell et al., 1998). Dopamin erhöht den RBF und steigert die GFR. Weiterhin verteilt es den intrarenalen Blutfluss um und hemmt den tubulären Na<sup>+</sup>-Transport (Lee, 1982, Bello-Reuss et al., 1982). Wie diese Effekte auf zellulärer Ebene reguliert werden, ist noch unklar. Die GFR muss hauptsächlich über eine Regulation der Lumenweite der glomerulären Gefäße beeinflusst werden. Grundsätzlich führt eine Vasodilatation des präglomerulären Gefäßes zu einer Steigerung der GFR. Da durch Dopaminrezeptoren gegensätzliche Signalwege in Gang gesetzt werden, kann dies auf zwei Möglichkeiten geschehen. Erstens könnten die postsynaptischen D<sub>1</sub>-ähnlichen Rezeptoren über die Proteinkinase A zu einer Vasodilatation führen (Hedge et al., 1988). Durch die Phosphorylierung der Myosinkinase wird deren Affinität zum Calcium-Calmodulin-Komplex verändert. Es sind nun höhere Konzentrationen intrazellulären Calciums für eine

Kontraktion nötig. Zweitens könnten präsynaptische D<sub>2</sub>-ähnliche Rezeptoren durch einen negativen Feedback-Mechanismus auf die Freisetzung von Noradrenalin die Vasokonstriktion hemmen (Gao et al., 1994). Über diesen Mechanismus wird offensichtlich eine GFR-Steigerung über die glomerulären Gefäße vermittelt. Steinhausen et al. (1986) vertrat die Meinung, dass eine Vasodilatation der prä- und postglomerulären Gefäße diesen Effekt vermittelt, wobei diese im Vas afferens ausgeprägter sei. Eine häufig vertretene Meinung war, dass diese hauptsächlich vom D<sub>1</sub>-Rezeptor ausging (Frederickson et al., 1985). Abhängig von der Dosierung wurden auch gegensätzliche Effekte beobachtet. Bei niedriger Dosierung kam es durch Stimulation von vorwiegend Dopaminrezeptoren zur Vasodilatation (Edwards, 1985; Schwartz und Gewertz, 1988). Wird Dopamin in höheren Dosierungen ( $\geq 3 \mu\text{g/kg/min}$ ) verabreicht, werden ebenso  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren stimuliert und eine Vasokonstriktion ist die Folge (Schwartz und Gewertz, 1988). Überraschend sind die Erkenntnisse einer Mikropunktionsstudie, bei welcher die Druckverhältnisse in den renalen Gefäßen und im Tubulus nach Dopamin D<sub>3</sub>-Rezeptor-Stimulation durch 7-OH-DPAT gemessen wurden. Ergebnis war eine Erhöhung des Stop-Flow-Drucks im frühen proximalen Tubulus um 8,5 %. Gleichzeitig nahm der hydrostatische Druck im Vas efferens um 14 % ab. Dies spricht für eine glomeruläre Hyperfiltration aufgrund postglomerulärer Vasokonstriktion. Die ebenso beobachtete Abnahme des renalen Blutflusses wäre durch eine solche präglomeruläre Vasokonstriktion zu erklären (Luippold et al., 2000a). Dies muss nicht widersprüchlich zu den obigen Erläuterungen sein. Die Proteinkinase A kann im aktivierten Zustand spannungsabhängige Ca<sup>2+</sup>-Kanäle phosphorylieren und so für einen Anstieg der intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration sorgen. Durch inhibierende D<sub>2</sub>-ähnliche Rezeptoren kann es somit zu einer verminderten Vasokonstriktion kommen.

Daraus könnte man folgern, dass die tubuläre Funktion vor allem durch Dopamin, welches in den Zellen des proximalen Tubulus synthetisiert wurde, geregelt wird. Tatsächlich ist der Einfluss des tubulären Dopamins auf die Funktion des Tubulus jedoch umstritten. Manche Autoren wollen einen Zusammenhang des tubulären Dopamins auf die Natriumausscheidung erkannt haben

(Wang et al., 1997). Dopamin soll dabei über apikale Rezeptoren, wie den D<sub>1</sub>-Rezeptor oder D<sub>3</sub>-Rezeptor, den Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauscher hemmen. Desweiteren soll auch die basolateral gelegene Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase über zumindest den D<sub>1</sub>-Rezeptor hemmbar sein (Jose et al., 1992).

Andere sehen in der U<sub>DA</sub> eher einen Weg, renal Katecholamin-Vorstufen zu eliminieren (Mühlbauer et al., 1997c). Hinweise für einen Zusammenhang gibt die Tatsache, dass eine physiologische U<sub>DAV</sub> an perfundierten Rattennieren allein durch eine L-Dopa Gabe analog seiner Plasmakonzentration erreicht werden konnte (Suzuki et al., 1984). Vor der Entdeckung des D<sub>3</sub>-Rezeptors wurde die Interaktion von Dopamin mit dem D<sub>1</sub>- und dem D<sub>2</sub>-Rezeptor für die Reaktionen am Tubulus verantwortlich gemacht (Seri und Aperia, 1988; Siragy et al., 1990). Nach der Klonierung weiterer Dopamin-Rezeptoren diskutierte man erstmals die Beteiligung weiterer Rezeptorsubtypen, wie den D<sub>3</sub>-Rezeptor (Gao et al., 1994) oder den D<sub>4</sub>-Rezeptor (Matsumoto et al., 1995). Auch ging man vermehrt von additiven Effekten der Rezeptorsubtypen aus (Seeman und Van Tol, 1994). Dass mindestens zwei Mechanismen Einfluss auf die Nierenfunktion unter Dopamin-Gabe haben, zeigte sich auch bei gleichzeitiger D<sub>2</sub>-Blockade und einer renalen Denervierung. Dadurch verstärkten sich die singulären Effekte (Luippold et al., 1998b). Man beobachtete auch eine Zunahme der kardiovaskulären Effekte durch Dopamin während einer D<sub>2</sub>-Blockade. Dies könnte an einer verstärkten Noradrenalin-Freisetzung liegen, da seine präsynaptische Hemmung unterdrückt wird (Rump et al., 1992). Wahrscheinlich wird schon allein über den D<sub>2</sub>-Rezeptor die Nierenfunktion über mehr als einen Weg reguliert; prä- und postsynaptisch. Für den D<sub>3</sub>-Rezeptor sind durch sein Verteilungsmuster in der Niere ebenfalls mehrere Mechanismen für seine Regulation der Nierenfunktion anzunehmen.

#### 1.2.6 Die aminosäurebedingte glomeruläre Hyperfiltration

Dass nach dem Verzehr von Fleisch der renale Blutfluss (RBF) und die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) beim Menschen ansteigen, ist schon seit langem bekannt. Diese Effekte sind nicht durch den Gehalt von Kohlenhydrate

oder Fett in der Nahrung bedingt. Sie lassen sich allein auf den Proteingehalt zurückführen (Shannon et al., 1932, Hostetter, 1986). Daraufhin wurden mehrere mögliche auslösende Mechanismen wie Hormonsignale durch Insulin und Glukagon, das RAA-System, Prostaglandine und Hypophysenhormone in Betracht gezogen (Castellino et al., 1990).

Da nach einer proteinreichen Nahrung die Konzentration von Aminosäuren im Plasma ansteigt (DeSanto et al., 1992), wurde versucht die renalen Effekte durch die intravenöse Gabe von Aminosäuren zu erzielen. Woods et al. (1986) konnte bei betäubten Hunden die GFR durch die Gabe von vier verschiedenen Aminosäuren erhöhen. Sie machte dafür den tubuloglomerulären Feedback-Mechanismus verantwortlich, da sie gleichzeitig eine erhöhte  $\text{Na}^+$ -Rückresorption registrierte. Bei 3-4 Monate jungen Ratten wurde eine GFR-Steigerung schon durch die Gabe einer Glycin-Infusion erreicht (Baylis et al., 1990). Arginin löste beim Menschen ebenfalls eine erhöhte GFR aus (Hirschberg et al., 1988). Die Infusion von Alanin oder verzweigtkettigen Aminosäuren erzeugte am Menschen nur einen leichten Effekt auf die renale Hämodynamik (Castellino et al., 1990). In weiteren Studien wurde gezeigt, dass durch die Infusion einer 10%igen Aminosäurelösung die glomeruläre Filtrationsrate bei narkotisierten Ratten steigt. Auch wurde eine erhöhte Natriurese und Diurese ausgelöst (El Sayed et al., 1991; Woods, 1993b; Mühlbauer et al., 1993; Lang et al., 1995). Luippold et al. (2002a) veranschaulichten, dass diese GFR-Steigerung bei jungen Mäusen stärker ausgeprägt ist als bei älteren. El Sayed et al. (1991) konnte die aminosäurebedingte Beeinflussung der Nierenfunktion auf verschiedenste Weise abschwächen und machte deshalb ein Zusammenspiel verschiedenster Faktoren, wie Renin, Prostaglandine, Stickstoffmonoxid und Dopamin, dafür verantwortlich. Einen Einfluss des RAA-Systems konnte durch die Versuche von Woods (1993b) dagegen nicht bestätigt werden. Anderen Beobachtungen, die eine Beteiligung propagieren (Chagnac et al., 1989), fehlt es an Kontrollgruppen und lassen sich, so Woods (1993b), wahrscheinlich auf eine Blutdrucksenkung auf Werte unterhalb der Autoregulation der Niere zurückführen. Da Glukagon nach einer proteinreichen Mahlzeit vermehrt ausgeschüttet wird, versuchten Johannesen et al. (1977) durch eine

Verabreichung von Glukagon die gleiche Erhöhung der GFR wie durch Aminosäuren zu erzielen. Levi (1975) zeigte, dass eine Dopaminrezeptorblockade die GFR-Steigerung durch Glukagon nicht beeinflusst. Am Hund blieb die Glukagon-Gabe in die A. renalis ohne Folge. Erst die Infusion in die V. portae ließen die GFR steigen. Es waren auch höhere Konzentrationen nötig, als die nach Proteinverabreichung gemessenen (Premen, 1985). Alvestrand und Bergström (1984) vertraten die These, dass durch den erhöhten Spiegel an Aminosäuren oder Glucagon durch die Leber eine Substanz (Glomerulopressin) ausgeschüttet wird, welche über Prostaglandine vasoaktive Effekte vermittelt. Dass Prostaglandine die Wirkung von Glukagon vermitteln, wurde durch Vanrenterghem et al. (1988), nachdem er diese, durch Vorbehandlung mit Indomethacin, bei gesunden Probanden abschwächen konnte, unterstützt. Die renalen Einflüsse von Arginin wurden durch den Cyclooxygenase-Hemmer jedoch nicht sonderlich beeinträchtigt (Hirschberg et al., 1988). Einige Untersucher sind sich einig, dass EDRF (NO) einen funktionellen Anteil an der renalen Vasodilatation durch Aminosäuren besitzt (Tolins und Raji, 1991; Chen et al., 1992), wobei Mundel et al. (1992) ein nur schwaches Vorkommen der NO-Synthase in renalen Gefäßen registrierte.

Durch Quinpirol, einem Agonisten der D<sub>2</sub>-Subfamilie, waren nahezu die gleichen Effekte wie durch das Gemisch einer 10%igen AS-Lösung zu erzeugen. Durch S(-)-Sulpirid, einem zentral und peripher wirkenden D<sub>2</sub>-Antagonisten, konnten diese Effekte vollständig gehemmt werden, während die Gabe des D<sub>1</sub>-Antagonisten SCH 23390 sich nicht auf die glomeruläre Hyperfiltration durch Aminosäuren auswirkte (Mühlbauer et al., 1994b; Luippold et al., 1998b). Durch Domperidon, einem peripher wirkenden D<sub>2</sub>-Antagonisten, ergab sich bei diabetischen Tieren (Luippold et al., 2001b) und bei gesunden Freiwilligen (Luippold et al., 2001a) nur eine teilweise Hemmung dieser Effekte. Die Effektabschwächung durch S(-)-Sulpirid und Domperidon legen nahe, dass der D<sub>2</sub>-Rezeptor eine hauptsächliche Rolle in der Regulation der renalen Hämodynamik spielt und dass diese zentral wie peripher gesteuert wird (Luippold und Mühlbauer, 1998a; Mühlbauer et al., 1994b). Der Einfluss neuronaler Strukturen wird auch durch ein Ausbleiben der glomerulären

Hyperfiltration nach unilateraler (Méndez et al., 1991) oder bilateraler (Mühlbauer et al., 1997) renaler Denervierung gestützt. Nach Infusion einer AS-Lösung mit der Dopaminvorstufe L-Tyrosin nahm die Dopaminausscheidung im Urin ( $U_{DAV}$ ) zu. Die  $U_{DAV}$  stieg dagegen nicht durch die Infusion einer Aminosäurelösung ohne diese Vorstufen an (Mühlbauer et al., 1997a). Die Steigerung der GFR war unabhängig von dem Angebot an Dopaminvorstufen. Bei alleiniger Gabe von Dopaminvorstufen (L-Dopa, L-Tyrosin) erhöhte sich die  $U_{DAV}$ , aber nicht die GFR (Mühlbauer et al., 1997c). Der GFR-Anstieg sowie die erhöhte  $U_{DAV}$  ließen sich durch den Dopaminsynthesehemmer Benserazid hemmen (Mühlbauer et al., 1994b). Es wurde vermutet, dass es sich wahrscheinlich um Dopamin unterschiedlicher Herkunft handelt, welches einerseits im proximalen Tubulus gebildet wird und andererseits zu einer GFR-Erhöhung führt. Eine bilaterale, renale Denervierung hatte keine Auswirkung auf die basale  $U_{DAV}$ . Allerdings zeigte sie nach einer AS-Infusion einen weniger starken Anstieg als vergleichsweise bei Tieren mit innervierten Nieren (Mühlbauer und Osswald, 1994a). Demnach steht die  $U_{DAV}$  offensichtlich nicht so stark unter zentralem Einfluss, wie man es von der GFR vermutet. Auch blieb die  $U_{DAV}$  durch die Vorbehandlung mit S(-)-Sulpirid unbeeinflusst. Für verschiedene Regelkreise spricht die Beobachtung, dass sich die GFR durch die Gabe von ausschließlich Dopaminvorstufen nicht ändert (Mühlbauer et al., 1997c).

Unter der Annahme, dass die aminosäurebedingte Hyperfiltration unter anderem durch Dopamin vermittelt wird, stellt sich die Frage, über welche Rezeptoren dies geschieht? Dass diese Effekte nicht nur  $D_2$ -Rezeptor vermittelt sind, deutet ein Ausbleiben der GFR-Steigerung bei Dopamin- $D_3$ -knockout Mäusen an (Luippold et al., 2000b). Jedoch ließ sich eine durch den  $D_3$ -Agonisten 7-OH-DPAT induzierte glomeruläre Hyperfiltration durch S(-)-Sulpirid nicht hemmen (Luippold et al., 2000a), was für eine hauptsächlich über den  $D_2$ -Rezeptor vermittelte GFR-Steigerung durch Aminosäuren sprechen würde. Durch den hohen Homologie-Grad des  $D_3$ -Rezeptors mit dem  $D_2$ -Rezeptor von 52 %, wovon 75 % in der Transmembrandomäne bestehen (Levant, 1997), ist eine vollständige Trennung ihrer pharmakologischen Eigenschaften schwierig.

### 1.2.7 Die Stimulation des D<sub>3</sub>-Rezeptors durch 7-OH-DPAT

In Vorversuchen zeigte sich, dass 7-OH-DPAT eine glomeruläre Hyperfiltration bewirkt. Außerdem löste dieser Agonist eine Diurese aus und erhöhte die Salzausscheidung. Diese Veränderungen waren vergleichbar und dosisabhängig mit denen, die durch Infusionen von Aminosäuren ausgelöst wurden, (Luippold et al., 1998c). Bei einer Dosierung von 1,0 µg/kg/min zeigte die Nieren eine deutliche Reaktion, der MAP wurde dadurch noch nicht beeinträchtigt (Luippold et al., 1998c).

Die Affinität von 7-OH-DPAT zu den einzelnen D-Rezeptoren wird kontrovers diskutiert. An klonierten Rezeptoren der D<sub>2</sub>-Subfamilie in Fibroblasten besaß 7-OH-DPAT die höchste Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor (Tang et al., 1994a).

Voraussetzung für die Auslösung der glomerulären Hyperfiltration sowie den Einfluss auf die tubuläre Funktion durch 7-OH-DPAT ist eine intakte renale Innervation (Luippold et al. 1999b; Mühlbauer et al., 2000). Es wurde diskutiert, ob präsynaptische Rezeptoren der D<sub>2</sub>-Subfamilie die Noradrenalin-Freisetzung hemmen und somit auf die tubuläre Natriumregulation einwirken (Mühlbauer et al., 2000). In vitro wurde gezeigt, dass D<sub>2</sub>- und D<sub>3</sub>-Rezeptorstimulation präsynaptisch die Noradrenalinausschüttung hemmen (Tang et al., 1994b). So könnte die Aktivierung der basolateralen Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase über adrenerge Rezeptoren durch Noradrenalin nicht mehr vermittelt werden, was die tubuläre Natriumrückresorption vermindern würde (Luippold, 2002b). Wie weiter oben bereits beschrieben, wird davon ausgegangen, dass eine postglomeruläre Vasokonstriktion für den erhöhten Filtrationsdruck im Glomerulum verantwortlich ist (Luippold et al., 2000a). Außer den peripheren Wirkungen durch 7-OH-DPAT sind aufgrund der Blut-Hirnschranken-Gängigkeit dieses Agonisten auch zentrale Einflüsse denkbar.

### 1.3 Fragestellung der Arbeit

Mit der vorliegenden Arbeit wurde die physiologische Rolle des D<sub>3</sub>-Rezeptors bei der Regulation der Nierenfunktion untersucht.

Hierzu wurden 4 Versuchsansätze gewählt:

- Vermittelt der D<sub>3</sub>-Rezeptor die aminosäurebedingte Hyperfiltration?
- Welche renalen Ausscheidungsparameter werden bei selektiver Stimulation dieses Rezeptors verändert?
- Kann die Aktivierung des D<sub>3</sub>-Rezeptors einer Volumenexpansion entgegenwirken?
- Welche Auswirkung besitzt exogenes Dopamin auf diesen Rezeptorsubtyp?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchsvorbereitung

#### 2.1.1 Versuchstiere

Für alle Experimente wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten (Charles River, Sulzfeld) verwendet. Das Gewicht der Tiere lag am Versuchstag zwischen 260g und 300 g. Die Tiere waren im institutseigenen Tierstall untergebracht. Dort befanden sie sich zu Vierergruppen jeweils in Makrodex<sup>®</sup>-Standardkäfigen (Fa. Ehret, Freiburg) und hatten freien Zugang zu Standardfutter (Altromin 1324) und Leitungswasser.

#### 2.1.2 Narkose

Die Tiere wurden präoperativ auf einer Analogwaage (K7T, Mettler, Zürich, Schweiz) gewogen und bekamen anschließend 80 mg/kg KG in Aqua bidest gelöstes Thiopental-Natrium (Trapanal<sup>®</sup>, Byk-Gulden, Konstanz) intraperitoneal verabreicht. Nach circa 10 Minuten wurde die Narkosetiefe durch Auslösung des Kornealreflexes und Setzen eines Schmerzreizes überprüft. Bei Bedarf erfolgte eine Nachinjektion (10-20 mg/kg KG), anschließend wurde mit der Operation begonnen. Gegebenenfalls wurden während des Versuchs weitere Nachinjektionen (ca. 10 mg/kg KG) intravenös verabreicht.

#### 2.1.3 Präparation

Die ausreichend narkotisierte Ratte wurde in Rückenlage auf einem beheizten Präparationstisch (Effenberger, München) gelagert. Die Extremitäten wurden mit Klebeband (Tesa<sup>®</sup>, Beiersdorf, Hamburg) fixiert. Die relaxierte Zunge wurde mit einer Pinzette (alle Operationsinstrumente: Aesculap, Tuttlingen) zur seitlichen Maulöffnung gelegt, um die Atemwege freizuhalten. Die Rektaltemperatur

wurde mittels eingeführter Sonde (Effenberger, München) fortwährend gemessen. Die Konstanthaltung der Körpertemperatur auf 37,2°C erfolgte durch einen internen Thermostatregelskreis.

Nach einem circa 2 cm langem Medianschnitt in der Halsregion wurde der rechte Hautlappen mit einer Klemme fixiert und anschließend durch stumpfe Präparation die rechte Vena jugularis externa dargestellt. Das Gefäß wurde mobilisiert, kranial ligiert und durch eine Klemme axial gespannt. Kaudal wurde eine Ligatur vorgelegt und das Gefäß unter stereomikroskopischer Sicht (Leica Wild M10/ M3C, Leica, Heerbrugg, Schweiz) mit einer Mikro-Federschere querinzidiert. Anschließend wurde ein Polyethylen(PE)-Katheter (Außendurchmesser (AD) 0,96 mm; alle Katheter: Portex Tubing<sup>®</sup>, Portex, Hythe Kent, Großbritannien) eingeführt und durch die Ligaturen fixiert. Über diesen Katheter wurde während der Präparation isotone Natriumchloridlösung infundiert. Während des Versuchs gelangten darüber die verwendeten Infusionslösungen (siehe Kapitel 2.2) in den Kreislauf.

Um die Verlegung der Atemwege zu verhindern, wurde ein Tracheostoma angelegt. Hierzu wurde die Trachea nach stumpfer Freipräparation der prätrachealen Längsmuskulatur und unter Schonung der benachbarten Strukturen dargestellt. Nach Mobilisation wurde eine kaudale Ligatur vorgelegt. Nach Querinzision wurde ein circa 4 cm langer PE-Katheter (AD 2,08 mm) etwa 0,5 cm weit eingeführt und fixiert.

Durch Spreizung des M. sternocleidomastoideus von der übrigen Halsmuskulatur zeigte sich in der Tiefe die A. carotis. Nach vorsichtiger Eröffnung der Gefäß-Nervenscheide ließ sich unter Schonung des N. vagus das Gefäß auf einer Länge von 1,5 cm gut darstellen. Kranial wurde über an einer Ligatur angebrachten Klemme das Gefäß axial gespannt. Kaudal wurden 2 Ligaturen vorgelegt und weiter kaudal eine Gefäßklemme gesetzt. Die Querinzision erfolgte unter stereomikroskopischer Sicht. Dann wurde in das Gefäß ein PE-Katheter (AD 0,96 mm) eingebracht und durch die kaudalen Ligaturen zweifach gesichert. Anschließend wurde die Gefäßklemme entfernt.

Katheter und Gefäß wurden dann mit circa 0,3 ml isotoner Kochsalzlösung über einen Drei-Wege-Hahn gespült, wobei 2 ml dieser NaCl-Lösung mit 50 µl einer heparinisierten Stammlösung (50 IE Heparin/ml, Braun, Melsungen) versetzt waren. Über diesen Katheter wurde fortlaufend der Blutdruck sowie die Herzfrequenz über einen Frequenzmesser (Eigenbau des Instituts) gemessen. Der Blutdruck wurde fortlaufend von einem Schnellschreiber (WK 280, WKK, Kaltbrunn, Schweiz) aufgezeichnet, wobei er den Impuls durch einen Druckaufnehmer (TBM 4, WPI, Heidelberg) erhielt, der durch einen Brückenverstärker (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten) verstärkt wurde.

Des Weiteren diente der Katheter der Blutentnahme während des Versuchs, wobei anschließend mit Heparin gespült wurde. Zum Schluss erfolgte eine situative Hautnaht mit zwei Einzelknopfnähten durch chirurgisches Nahtmaterial (1 metric 3-0 Ethicon, Johnson + Johnson, Norderstedt).

Die Haut des Unterbauchs wurde circa 1,5 cm median längsinzidiert. Nach Darstellung der Linea alba wurde diese als auch das Peritoneum 1,5 cm in Längsrichtung eröffnet. Am unteren Schnitttrand zeigte sich die oft leicht gefüllte Harnblase. Der Apex wurde mit einer Klemme fixiert. Basal wurde ein Ligatur vorgelegt. Nach Inzision der Blase und ihrer Entleerung wurde ein konischer PE-Katheter (AD 1,27 cm) eingelegt und durch die Ligatur fixiert. Nach Reposition der Blase wurde die Bauchhaut mit einer Einzelknopfnahnt verschlossen.

Das Versuchstier wurde nach der OP auf die Seite umgelagert. Unter Fixation der Extremitäten und Reklination des Kopfes erfolgte die Äquilibration. Der Urin wurde in einem Kunststoffgefäß (Safe-Lock 2,0 ml, Eppendorf, Hamburg) gesammelt.

#### 2.1.4 Äquilibration

Nach der Operation, die circa 30-45 Minuten dauerte, hatten die Versuchstiere 1-1,5 h Zeit zu äquilibrieren. In dieser Phase wurden der Blutdruck und die Pulsfrequenz sowie der Kornealreflex überprüft, um durch eventuell weitere Narkotikuminjektionen eine optimale Narkosetiefe zu gewährleisten. Außerdem wurde darauf geachtet eine basale Urinausscheidung von mindestens 10 µl/min/100g zu erhalten.

### 2.2 Verwendete Infusionslösungen

#### 2.2.1 Isotone Kochsalzlösung

Nach Abwiegen von 8,5 g Natriumchlorid (NaCl, Rotipuran<sup>®</sup>, Roth, Karlsruhe) auf einer Digitalwaage (Precisa<sup>®</sup> 100A-300M, PAG Oerlikon, Zürich) wurde dieses in 1000 ml Aqua bidest gelöst. Die isotone Kochsalzlösung diente als Vehikel sowie als Lösungsmittel für alle weiteren Substanzen.

#### 2.2.2 [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung

60 µl einer vorgefertigten Inulinstammlösung (100 µCi/ml in 500 µl isotoner NaCl-Lösung) wurden in 5 ml NaCl-Lösung pipettiert. Die Lösung wurde entweder als Vehikel oder in Kombination mit BSF 201640 (2.2.7) oder BSF 135170 (2.2.8) verabreicht.

#### 2.2.3 Aminosäurelösung

Die Aminosäurelösung (AS-Lösung) stand in einer 15%igen Stammlösung (Thomaeamin<sup>®</sup> n 15 %, Delta-Pharma, Pfullingen) zur Verfügung. In einem Liter dieser AS-Lösung waren folgende Aminosäuren enthalten: Acetyltyrosin 0,492 g, Alanin 14,3 g, Aminoessigsäure 7,7 g, Arginin 9,2 g, Cystein 0,7 g,

Edetinsäure 0,078 g, Glutaminsäure 9,9 g, Histidin 4,4 g, Isoleucin 3,8 g, Leucin 6,6 g, Lysinmonoacetat 9,313 g, Methionin 2,8 g, Ornithinacetat 1,033 g, Ornithinaspartat 3,587 g, Phenylalanin 4,1 g, Prolin 9,2 g, Pyridoxinhydrochlorid 0,01 g, Serin 5,9 g, Threonin 4,6 g, Tryptophan 1,2 g, Tyrosin 0,2 g und Valin 4,1 g. Diese Stammlösung wurde durch NaCl-Lösung am Versuchstag auf 10 % verdünnt.

#### 2.2.4 7-OH-DPAT-Lösung

R(+)-7-Hydroxy-Dipropyl-Aminotetralin (Fa. Tocris, Bristol, GB) ist ein selektiver D<sub>3</sub>-Rezeptor Agonist. Von dieser Substanz wurde die erforderliche Menge für die Dosierung 1,0 µg/kg/min abgewogen und mit isotoner NaCl-Lösung versetzt.

#### 2.2.5 Lösung zur Volumenexpansion

Zur Volumenexpansion wurde die Infusionsrate des über die V. jugularis externa infundierten Volumen von 1 % auf 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers erhöht.

#### 2.2.6 Dopaminhaltige Lösung

Dopamin (Sigma<sup>®</sup>, Taufkirchen) wurde in der Dosierung 1,0 µg/kg/min bei einer Infusionsrate von 2,4 ml/h verabreicht. Hierzu wurde die erforderliche Menge für 1000 ml abgewogen und mit 100 ml NaCl-Lösung versetzt. Bei –20°C wurde die auf Eppendorfgeläße verteilte Stammlösung aufbewahrt. Am Versuchstag wurde die benötigte Menge um das 10fache verdünnt. Die Lösungen wurden lichtgeschützt aufbewahrt.

### 2.2.7 BSF 201640-Lösung

Dieser sowohl zentral als auch peripher wirkende Dopamin D<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonist (Knoll AG, Ludwigshafen) wurde in einer Konzentration von 30 µg/kg/min oder 60 µg/kg/min verabreicht. Hierzu wurde am Versuchstag die jeweils benötigte Menge abgewogen und mit 50 µl einer NaOH-Lösung (1 mol/l) alkalisiert. Nun erfolgte die Verdünnung mit NaCl-Lösung auf 5 ml und anschließend die Zugabe der Inulinstammlösung. Die Verabreichung erfolgte mit einer Infusionsrate von 0,6 ml/h.

### 2.2.8 BSF 135170-Lösung

Dieser selektive Dopamin D<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonist (Knoll AG, Ludwigshafen), der die Blut-Hirn-Schranke nicht überwindet, wurde in der Konzentration 30 µg/kg/min oder 60 µg/kg/min verabreicht. Hierzu wurde die benötigte Menge für zehn Versuche auf einer Digitalwaage in einem durch Aluminiumfolie lichtgeschütztem Eppendorfgefäß (2 ml) abgewogen. Nach Ansäuerung mit 100 µl 100%iger Essigsäure und Zugabe von 1,4 ml NaCl-Lösung wurden je 150 µl in Eppendorfgefäßen eingefroren und am Versuchstag bis auf 5 ml verdünnt. Anschließend wurden 60 µl Inulinstammlösung zugegeben. Die Verabreichung erfolgte mit einer Infusionsrate von 0,6 ml/h.

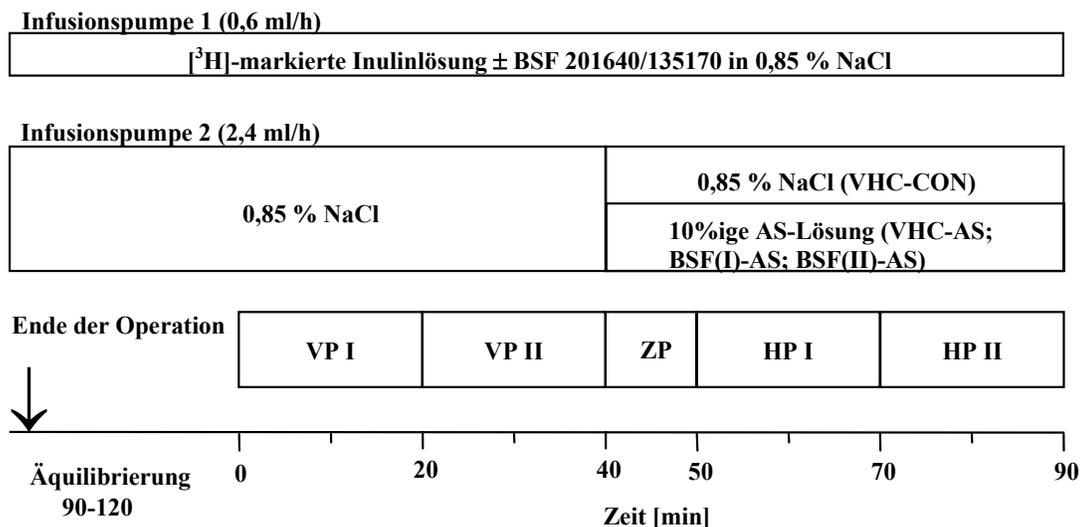
## 2.3 Experimenteller Ablauf

### 2.3.1 Clearanceversuche mit aminosäurebedingter glomerulärer Hyperfiltration

#### 2.3.1.1 Versuchsprotokoll und Probengewinnung

Das Infusionsvolumen, welches über zwei Perfusoren (Perfusor, Braun, Melsungen) gegeben wurde, betrug insgesamt 3 ml/h. Die Leitungen waren über ein T-Stück verbunden. Der Versuch beinhaltete 4 Perioden zwei Vorperioden (VP I+II) und zwei Hauptperioden (HP I+II) von je 20 Minuten Dauer

(siehe Abbildung 3). Dazwischen lag eine 10 minütige Zwischenperiode (ZP). Unmittelbar nach der Operation wurde mit einer Infusionsrate von 0,6 ml/h über ein Perfusor (PI) die [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung verabreicht, wobei diese Lösung bei der VHC-CON Gruppe und der VHC-AS Gruppe als Vehikel diente. Bei der BSF(I)-AS Gruppe wurde die Lösung mit BSF 201640 und bei der BSF(II)-AS Gruppe mit BSF 135170 versetzt. Über den zweiten Perfusor (PII) wurde postoperativ und bis zur ZP, bei den VHC-CON Gruppen den gesamten Versuch über, isotone NaCl-Lösung mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 2,4 ml/h appliziert. Ab Beginn der ZP lief hierüber die 10%ige Aminosäurelösung (AS-Lösung) mit gleicher Infusionsgeschwindigkeit (siehe Abbildung 3). Der Urin wurde in Eppendorfgläsern aufgefangen. Nach 10 Minuten jeder Periode wurde die Herzfrequenz notiert und über den Arteria carotis Katheter circa 180 µl Blut entnommen, wobei dieses in NH<sub>4</sub>-heparinisierten Glaskapillaren (Mikrohämatokritröhrchen, Roland Vetter, Ammerbuch) aufgefangen wurde. Am Ende des Versuchs wurde dem Tier zur Auslösung eines sofortigen Herzstillstandes eine gesättigte Kaliumchloridlösung intravenös verabreicht.



**Abbildung 3** *Versuchsablauf der Clearanceversuche zur Untersuchung des Einflusses des D<sub>3</sub>-Rezeptors auf die aminosäurebedingte glomeruläre Hyperfiltration. VP = Vorperiode, ZP = Zwischenperiode, HP = Hauptperiode (siehe 2.3.1.2)*

### 2.3.1.2 Versuchsgruppen

#### Zeitkontrolle

Die Zeitkontrollgruppe (VHC-CON, n = 9) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) und durchgehend isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h), siehe Abbildung 3.

#### Aminosäuregruppe

Die Aminosäuregruppe (VHC-AS, n = 8) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) und bis zur ZP isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h). Zu Beginn der ZP wurde die 10%ige AS-Lösung (2.3.3) über PII (2,4ml/h) infundiert, siehe Abbildung 3.

#### BSF 201640 – Aminosäuregruppe

Diese Gruppe (BSF(I)-AS, n = 6) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h), welche mit BSF 201640 (2.2.7) so versetzt war, dass die Dosis 60 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die 10%ige AS-Lösung (2.3.3) ersetzt, siehe Abbildung 3.

#### BSF 135170 – Aminosäuregruppe

Diese Gruppe (BSF(II)-AS, n = 6) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h), welche mit BSF 135170 (2.2.8) so versetzt war, dass die Dosis 30 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die 10%ige AS-Lösung (2.3.3) ersetzt, siehe Abbildung 3.

**VHC-CON:** Zeitkontrolle

**VHC-AS:** ab der HP 10%ige AS-Lösung

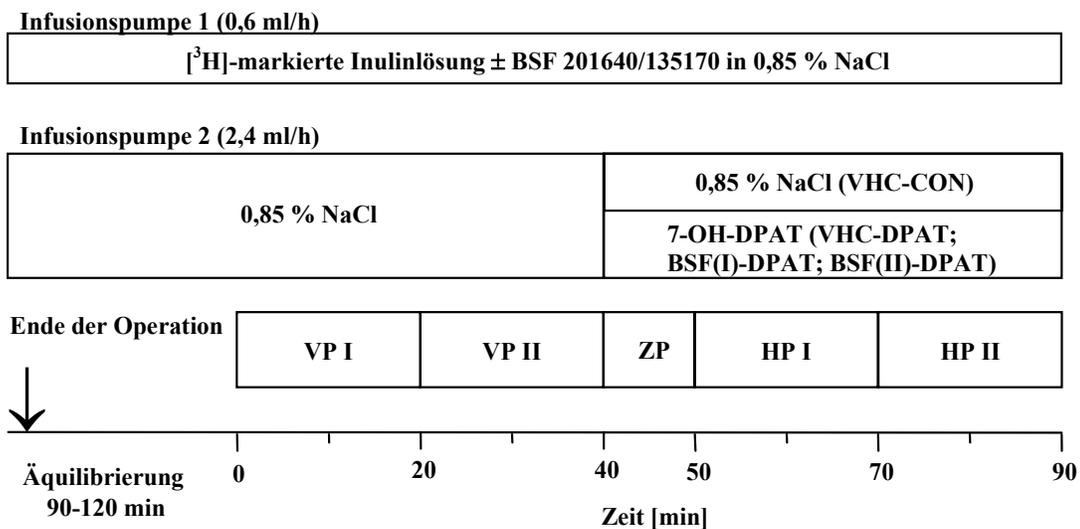
**BSF(I)-AS:** Vorbehandlung mit BSF 201640, ab der HP 10%ige AS-Lösung

**BSF(II)-AS:** Vorbehandlung mit BSF 135170, ab der HP 10%ige AS-Lösung

## 2.3.2 Clearanceversuche mit 7-OH-DPAT

### 2.3.2.1 Versuchsprotokoll und Probengewinnung

In dieser Gruppe wurde ebenfalls ein Infusionsvolumen von 3,0 ml/h über zwei Perfusoren infundiert. Auch hier war der Versuch in 4 Perioden (VP I+II und HP I+II) zu je 20 Minuten gegliedert. Zwischen VP und HP lag eine 10 minütige Zwischenperiode, siehe Abbildung 4. Über PI (0,6 ml/h) wurde [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung verabreicht. Diese Lösung war in der BSF(I)-DPAT- und der BSF(II)-DPAT Gruppe mit dem jeweiligen D<sub>3</sub>-Antagonisten versetzt (siehe 2.3.2.2). Bei der VHC-DPAT-, der BSF(I)-DPAT- und der BSF(II)-DPAT Gruppe wurde ab der ZP die isotone NaCl-Lösung, über PII (2,4 ml/h) durch 7-OH-DPAT in einer Dosierung von 1,0 µg/kg/min, ersetzt. Der Urin wurde in Eppendorfgefäßen aufgefangen. In 10 minütigem Abstand wurde abwechselnd die Herzfrequenz notiert und Blut abgenommen. Am Versuchsende wurde ein Herzstillstand durch eine intravenöse Gabe einer gesättigten Kaliumchlorid-lösung ausgelöst.



**Abbildung 4** Versuchsablauf der Clearanceversuche zum Einfluss des D<sub>3</sub>-Rezeptors bei der Stimulation mit 7-OH-DPAT (1,0 µg/kg/min) in 0,85 % NaCl. VP = Vorperiode, ZP = Zwischenperiode, HP = Hauptperiode (siehe 2.3.2.2).

### 2.3.2.2 Versuchsgruppen

#### Zeitkontrolle

Die Zeitkontrollgruppe (VHC-CON, n = 9) bekam [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) und durchgehend isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h), siehe Abbildung 4.

#### 7-OH-DPAT-Gruppe

Der 7-OH-DPAT-Gruppe (VHC-DPAT, n = 7) wurde [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) verabreicht und bis zur ZP isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h). Zu Beginn der ZP wurde die DPAT-Lösung (2.2.4) mit der Dosierung 1,0 µg/kg/min über PII infundiert, siehe Abbildung 4.

#### BSF 201640 – 7-OH-DPAT-Gruppe

Diese Gruppe (BSF(I)-DPAT, n = 8) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h), welche mit BSF 201640 (2.2.7) so versetzt war, dass die Dosis 30 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die DPAT-Lösung (2.2.4) mit der Dosierung 1,0 µl/kg/min ersetzt, siehe Abbildung 4.

#### BSF 135170 – 7-OH-DPAT-Gruppe

Diese Gruppe (BSF(II)-DPAT, n = 6) bekam [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) (0,6 ml/h) infundiert, welche mit BSF 135170 (2.2.8) so versetzt war, dass die Dosis 30 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die DPAT-Lösung (2.2.4) mit der Dosierung 1,0 µg/kg/min ersetzt, siehe Abbildung 4.

**VHC-CON:** Zeitkontrolle

**VHC-DPAT:** ab der HP DPAT (1,0 µg/kg/min) in 0,85 % NaCl

**BSF(I)-DPAT:** ab der VP mit BSF 201640, ab der HP DPAT (1,0 µg/kg/min)

**BSF(II)-DPAT:** ab der VP mit BSF 135170, ab der HP DPAT (1,0 µg/kg/min)

### 2.3.3 Clearanceversuche mit Volumenexpansion

#### 2.3.3.1 Versuchsprotokoll und Probengewinnung

Der Versuch bestand aus insgesamt 6 Perioden, zwei Vorperioden (VP I+II) und vier Hauptperioden (HP I+II+III+IV), von je 20 Minuten Dauer. Nach VP II folgte eine 10minütige Zwischenperiode (ZP), siehe Abbildung 5. Bei der VHC-CON Gruppe blieb die Zusammensetzung der Infusionslösungen unverändert. Das Infusionsvolumen beider Perfusoren betrug zunächst 3,0 ml/h. Über PI (0,6 ml/h) wurde in den beiden VHC-Gruppen durchgehend 0,85%ige NaCl-Lösung verabreicht. In der BSF(I)-VE Gruppe wurde über PI BSF 201640, in der BSF(II)-VE Gruppe über PII BSF 135170 verabreicht. Bei der VHC-VE-, der BSF(I)-VE- und der BSF(II)-VE Gruppe wurde ab der ZP das Infusionsvolumen von PII (2,4 ml/h) auf 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers erhöht (6,5-7,2 ml/h), siehe 2.3.3.2. Während des Versuchs wurden der Urin wiederum in Eppendorfgefäßen gesammelt, die Herzfrequenz alle 20 Minuten notiert, sowie alternierend Blut abgenommen.

#### Infusionspumpe 1 (0,6 ml/h)

|   |
|---|
| $[^3\text{H}]$ -markierte Inulinlösung $\pm$ BSF 201640/135170 in 0,85 % NaCl |
|---|

#### Infusionspumpe 2 (2,4 ml/h / VE)

|             |   |
|-------------|---|
| 0,85 % NaCl | 0,85 % NaCl (VHC-CON)                       |
|             | VE 2,5 % (VHC-VE;<br>BSF(I)-VE; BSF(II)-VE) |

Ende der Operation

|      |       |    |      |       |        |       |
|------|-------|----|------|-------|--------|-------|
| VP I | VP II | ZP | HP I | HP II | HP III | HP IV |
|------|-------|----|------|-------|--------|-------|



Äquilibrierung

0

20

40

50

70

90

110

130

90-120 min

Zeit [min]

**Abbildung 5** Versuchsablauf der Clearanceversuche zum Einfluss des  $D_3$ -Rezeptors bei der Volumenexpansion. VP = Vorperiode, ZP = Zwischenperiode, HP = Hauptperiode, (siehe 2.3.3.2)

### 2.3.3.2 Versuchsgruppen

#### Zeitkontrolle

Die Zeitkontrollgruppe (VHC-CON, n = 9) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) und durchgehend isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h), siehe Abbildung 5.

#### Volumenexpansion 2,5 %

Der Volumenexpansionsgruppe (VHC-VE, n = 7) wurde [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) infundiert und bis zur ZP isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h). Zu Beginn der ZP wurde die Infusionsrate (2.2.5) von PII auf 6,5-7,2 ml/h entsprechend 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers erhöht, siehe Abbildung 5.

#### BSF 201640 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 %

Diese Gruppe (BSF(I)-VE, n = 7) bekam [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) verabreicht, welche mit BSF 201640 (2.2.7) so versetzt war, dass die Dosis 60 µg/kg/min betrug. Zu Beginn der ZP wurde die Infusionsrate (2.2.5) von PII auf 6,5-7,2 ml/h entsprechend 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers erhöht, siehe Abbildung 5.

#### BSF 135170 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 %

Diese Gruppe (BSF(II)-VE, n = 8) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h), welche mit BSF 135170 (2.2.8) so versetzt war, dass die Dosis 30 µg/kg/min betrug. Zu Beginn der ZP wurde die Infusionsrate (2.2.5) von PII auf 6,5-7,2 ml/h entsprechend 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers erhöht, siehe Abbildung 5.

**VHC-CON:** Zeitkontrolle

**VHC-VE:** ab der HP VE entsprechend 2,5 ml/100g

**BSF(I)-VE:** ab der VP mit BSF 201640, ab der HP VE auf 2,5 ml/100g

**BSF(II)-VE:** ab der VP mit BSF 135170, ab der HP VE auf 2,5 ml/100g

## 2.3.4 Clearanceversuche bei exogener Dopaminzufuhr

### 2.3.4.1 Versuchsprotokoll und Probengewinnung

Der Versuch bestand aus insgesamt 6 Perioden, zwei Vorperioden (VP I+II) und vier Hauptperioden (HP I+II+III+IV), von je 20 Minuten Dauer. Nach VP II folgte eine zehnmünütige Zwischenperiode (ZP). Der VHC-CON Gruppe wurde über beide Perfusoren PI (0,6 ml/h) [ $^3\text{H}$ ]-markierte Inulinlösung und PII (2,4 ml/h) 0,85 % NaCl-Lösung infundiert, siehe Abbildung 6.

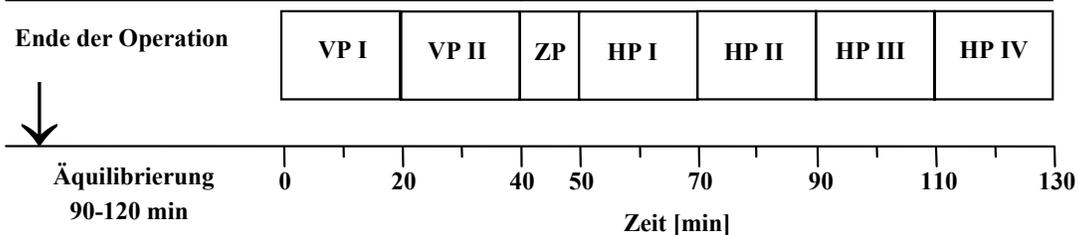
Bei der VHC-DA-, der BSF(I)-DA- und der BSF(II)-DA Gruppe wurde ab der ZP die isotone NaCl-Lösung über PII durch die Dopaminlösung in der Dosierung 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  ersetzt. BSF 201640 wurde über PI der BSF(I)-DA Gruppe mit 60  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  verabreicht. In der BSF(II)-DA Gruppe wurde BSF 135170 über PI in der Dosis 30  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$  verabreicht, siehe 2.3.4.2. Diesen Versuchstieren wurde alternierend alle 10 Minuten Blut abgenommen und die Herzfrequenz notiert. Der Urin wurde in Eppendorfgefäßen aufgefangen.

#### Infusionspumpe 1 (0,6 ml/h)

|   |
|---|
| $^3\text{H}$ -markierte Inulinlösung $\pm$ BSF 201640/135170 in 0,85 % NaCl |
|---|

#### Infusionspumpe 2 (2,4 ml/h)

|             |  |
|-------------|--|
| 0,85 % NaCl | 0,85 % NaCl (VHC-CON)                      |
|             | Dopamin (VHC-DA;<br>BSF(I)-DA; BSF(II)-DA) |



**Abbildung 6** Versuchsablauf der Clearanceversuche zum Einfluss des  $D_3$ -Rezeptors bei exogener Dopaminzufuhr (1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). VP = Vorperiode, ZP = Zwischenperiode, HP = Hauptperiode, (siehe 2.3.4.2).

### 2.3.4.2 Versuchsgruppen

#### Zeitkontrolle

Die Zeitkontrollgruppe (VHC-CON, n = 9) bekam [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) verabreicht und durchgehend isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h), siehe Abbildung 6.

#### Dopamingruppe

Die Dopamingruppe (VHC-DA, n = 9) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) und bis zur ZP isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h). Zu Beginn der ZP wurde die DA-Lösung (2.2.6) mit der Dosierung 1,0 µg/kg/min über PII infundiert, siehe Abbildung 6.

#### BSF 201640 – Dopamin-Gruppe

Dieser Gruppe (BSF(I)-DA, n = 7) wurde [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h) infundiert, welche mit BSF 201640 (2.2.7) so versetzt war, dass die Dosis 60 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die DA-Lösung (2.2.6) mit der Dosierung 1,0 µl/kg/min ersetzt, siehe Abbildung 6.

#### BSF 135170 – Dopamin-Gruppe

Diese Gruppe (BSF(II)-DA, n = 7) erhielt [<sup>3</sup>H]-markierte Inulinlösung (2.2.2) über PI (0,6 ml/h), welche mit BSF 135170 (2.2.7) so versetzt war, dass die Dosis 60 µg/kg/min betrug. Die isotone NaCl-Lösung (2.2.1) über PII (2,4 ml/h) wurde ab der ZP durch die DA-Lösung (2.2.6) mit der Dosierung 1,0 µl/kg/min ersetzt, siehe Abbildung 6.

**VHC-CON:** Zeitkontrolle

**VHC-DA:** ab der HP Dopamin (1,0 µg/kg/min) in 0,85 % NaCl

**BSF(I)-DA:** ab der VP mit BSF 201640, ab der HP Dopamin (1,0 µg/kg/min)

**BSF(II)-DA:** ab der VP mit BSF 135170, ab der HP Dopamin (1,0 µg/kg/min)

## 2.4 Analytik

### 2.4.1 Hämatokrit (Hkt)

Die mit arteriellem Blut gefüllten heparinisierten Kapillaren wurden mit Hkt-Versiegelungskit (Fa. Brand, Wertheim) einseitig verschlossen und fünf Minuten in einer Hkt-Zentrifuge (Hettich, Tuttlingen) zentrifugiert. Der Hkt wurde schließlich an einer Hkt-Skala abgelesen. Das Plasma wurde anschließend für die GFR-Bestimmung asserviert.

### 2.4.2 Urinvolumen (UV)

Das UV wurde durch die Differenz zwischen dem Leergewicht des jeweiligen Eppendorfgefäßes und dem Gewicht desselben Gefäßes nach der 20 minütigen Periode ermittelt. Die von Wasser abweichende Dichte wurde vernachlässigt.

### 2.4.3 Natrium und Kalium in Urin und Plasma

Für die Elektrolytkonzentrationsbestimmung im Urin wurden pro Periode 10 µl mit einer Mikropipette (Transferpettor 10 µl, Brand, Wertheim) in ein Eppendorfgefäß, in welchem sich 2 ml Lithium-Lösung (5 mmol/l, Eppendorf, Hamburg) befand, pipettiert. 10 µl des Plasmas pro Periode wurde in ein Eppendorfgefäß mit 1 ml Lithium-Lösung pipettiert. Von jeder Probe wurden Doppelwerte bestimmt.

Diese vorbereiteten Proben wurden mit einem Flammenphotometer (ELEX 6361, Fa. Eppendorf, Hamburg) gemessen. Die Kalibrierlösung für den Urin wurde aus 10 µl einer Standardlösung ( $\text{Na}^+$  143,5 mmol/l,  $\text{K}^+$  100 mmol/l,  $\text{Ca}^{2+}$  5 mmol/l, Eppendorf, Hamburg) in 2 ml Lithium-Lösung hergestellt. Die Kalibrierlösung für das Plasma bestand aus 10 µl Standardlösung ( $\text{Na}^+$  143,5 mmol/l,  $\text{K}^+$  3,84 mmol/l,  $\text{Ca}^{2+}$  2,5 mmol/l,  $\text{PO}_4^{3-}$  0,97 mmol/l, Eppendorf,

Hamburg) in 1 ml Lithium-Lösung. Zu Beginn der Messung und nach jeweils 24 Proben wurde kalibriert.

#### 2.4.4 [<sup>3</sup>H]-Aktivität in Urin und Plasma

Zur Bestimmung der GFR wurde die [<sup>3</sup>H]-markierte-Inulinaktivität mittels Flüssigkeitszintillationszähler (2550 TR, Canberra Packard, Frankfurt) bestimmt. Je 20 µl von Urin und Plasma wurden in Doppelproben in Szintillationsmeßgefäße (Midi-Vial, Fa. Canberra Packard, Frankfurt) pipettiert. Diese waren mit 5 ml einer Szintillationsflüssigkeit (Ultima Gold, Packard, Groningen, Niederlande) gefüllt. Die Ergebnisse wurden wieder gemittelt.

## 2.5 Berechnete Größen

### 2.5.1 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Nach jedem Versuch wurde aus der durch den Schnellschreiber aufgezeichneten Blutdruckkurve der systolische und diastolische Blutdruckwert pro Periode abgelesen. Aus diesen Werten wurde der MAP entsprechend der folgenden Formel berechnet:

$$MAP [mmHg] = \frac{1}{3} (Systole[mmHg] - Diastole[mmHg]) + Diastole[mmHg]$$

### 2.5.2 Herzfrequenz (HF)

Die HF wurde kontinuierlich durch ein Frequenzmesser (Eigenbau des Instituts) registriert und unmittelbar vor jeder Blutentnahme protokolliert.

### 2.5.3 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Die GFR wurde anhand der Clearanceformel berechnet:

$$GFR [ml / min] = \frac{A_{Urin}[cpm] * UV[ml / 20min] * 100}{A_{Plasma}[cpm] * 20min * KG[g]}$$

### 2.5.4 Absolute Natriumausscheidung ( $U_{Na}V$ )

Die  $U_{Na}V$  wurde aus der gemessenen Natriumkonzentration im Urin und dem Urinvolumen entsprechend der Formel berechnet:

$$U_{Na}V [\mu mol / min / 100g] = \frac{Na_{Urin}[mmol / l] * UV[ml / 20min] * 100g * 20min}{KG[g]}$$

### 2.5.5 Fraktionelle Natriumausscheidung $FE_{Na}$

Die  $FE_{Na}$  wird in Prozent der absoluten Natriumausscheidung angegeben. Sie ist ein Maß für die tubuläre Resorptionsquote der Niere. Sie wurde aus den ermittelten Werten anhand der Formel berechnet:

$$FE_{Na} [\%] = \frac{U_{Na}V[\mu mol / min / 100g] * 100}{Na_{Plasma} * GFR[ml / min / 100g]}$$

## 2.6 Auswertung und Statistik

Die Daten jedes Versuchstiers wurden in ein standardisiertes Versuchsprotokoll eingetragen. Mit dem Tabellenkalkulationsprogramm MS-Excel 5.0 (Microsoft Inc, USA) wurden die Mittelwerte jeder Periode  $\pm$  SEM (standard error of means) berechnet. Mit Hilfe des Students t-Test wurde untersucht, ob sich innerhalb einer Gruppe die Daten der HP signifikant von denen der VP unterscheiden.

Die weitere statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm InStat Version 3.0 (Graphpad Software Inc, San Diego, USA). Mit Hilfe der One-way Analysis of Variance (Varianzanalyse nach ANOVA) wurden die Mittelwerte zweier Vorperioden mit denen der Kontroll-Gruppe verglichen. Innerhalb einer Population (z.B. AS-Gruppe) wurden ebenfalls die VP untereinander verglichen. Die individuellen Unterschiede der Effekte in den HP's innerhalb einer Population wurden mit dem ungepaarten t-Test auf ihre Signifikanz geprüft.

Als Maß für signifikante Unterschiede wurde der p-Wert ermittelt. Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit für die Überschreitung der Nullhypothese ( $H_0$ ) an.

Die  $H_0$  besagt, dass in der Grundgesamtheit kein Effekt existiert. Wenn diese Wahrscheinlichkeit gering ist ( $p < 0,05$ ), wird  $H_0$  verworfen und das Ergebnis als signifikant betrachtet. Als hochsignifikant wurden die Ergebnisse bei  $p < 0,01$  angesehen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Clearanceversuche mit aminosäurebedingter glomerulärer Hyperfiltration

##### 3.1.1 Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe)

Die Daten dieser Gruppe (2.3.1.2), die über die gesamte Versuchsdauer isotone NaCl-Lösung infundiert bekam, sind in der Tabelle 5 zusammengefasst. Im Verlauf des Versuches waren keine signifikanten Änderungen der ermittelten Parameter zu beobachten, was für stabile Versuchsbedingungen spricht. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), die Herzfrequenz (HF) sowie der Hämatokrit (Hkt) blieben den Versuch über in engen Grenzen. Auch veränderten sich die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ , sowie die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte nicht auffällig. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) zeigte keine signifikanten Abweichungen während des Versuchs. Das Urinvolumen (UV), die absolute Natriumausscheidung ( $\text{U}_{\text{NaV}}$ ) und die fraktionale Natriumausscheidung ( $\text{FE}_{\text{Na}}$ ) stiegen im Verlauf des Versuchs an, wobei dieser Anstieg jedoch nicht signifikant war und sich auf einen Zeiteffekt zurückführen lässt.

##### 3.1.2 Aminosäuregruppe (VHC-AS)

Durch die Gabe einer 10%igen AS-Lösung (2.2.3) in der VHC-AS Gruppe (2.3.1.2) ließen sich die in Tabelle 1 angegebenen Werte ermitteln. Der MAP, die HF und der Hkt änderten sich im Versuchsverlauf kaum. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte waren stabil. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte fielen etwas ab. Dagegen stiegen das UV um 63 % und die GFR um 14 % im Vergleich zu den gemittelten VP. Die  $\text{U}_{\text{NaV}}$  stieg auf das 2,4fache und die  $\text{FE}_{\text{Na}}$  um 125 %. Dabei erreichten die GFR- und die  $\text{U}_{\text{NaV}}$ -Steigerung Signifikanzniveau. In den Abbildungen 7+8 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Dabei werden die VP I+II sowie die HP I+II jeweils zur besseren Übersichtlichkeit zusammengefasst. Im Vergleich zur VHC-CON

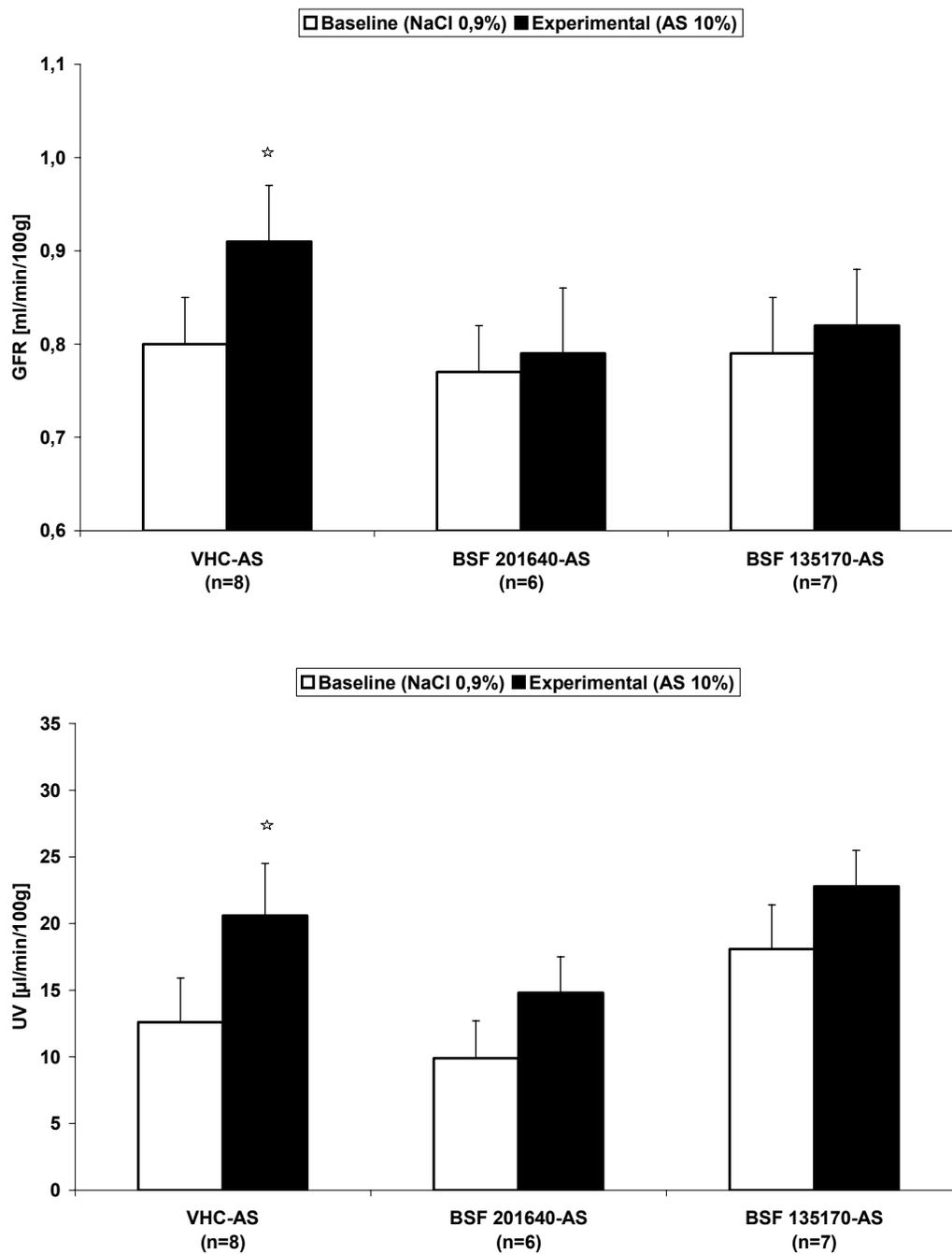
Gruppe (Tabelle 5) waren keine signifikanten Unterschiede in der VP der VHC-AS Gruppe zu beobachten.

### 3.1.3 BSF 201640 – Aminosäuregruppe (BSF(I)-AS)

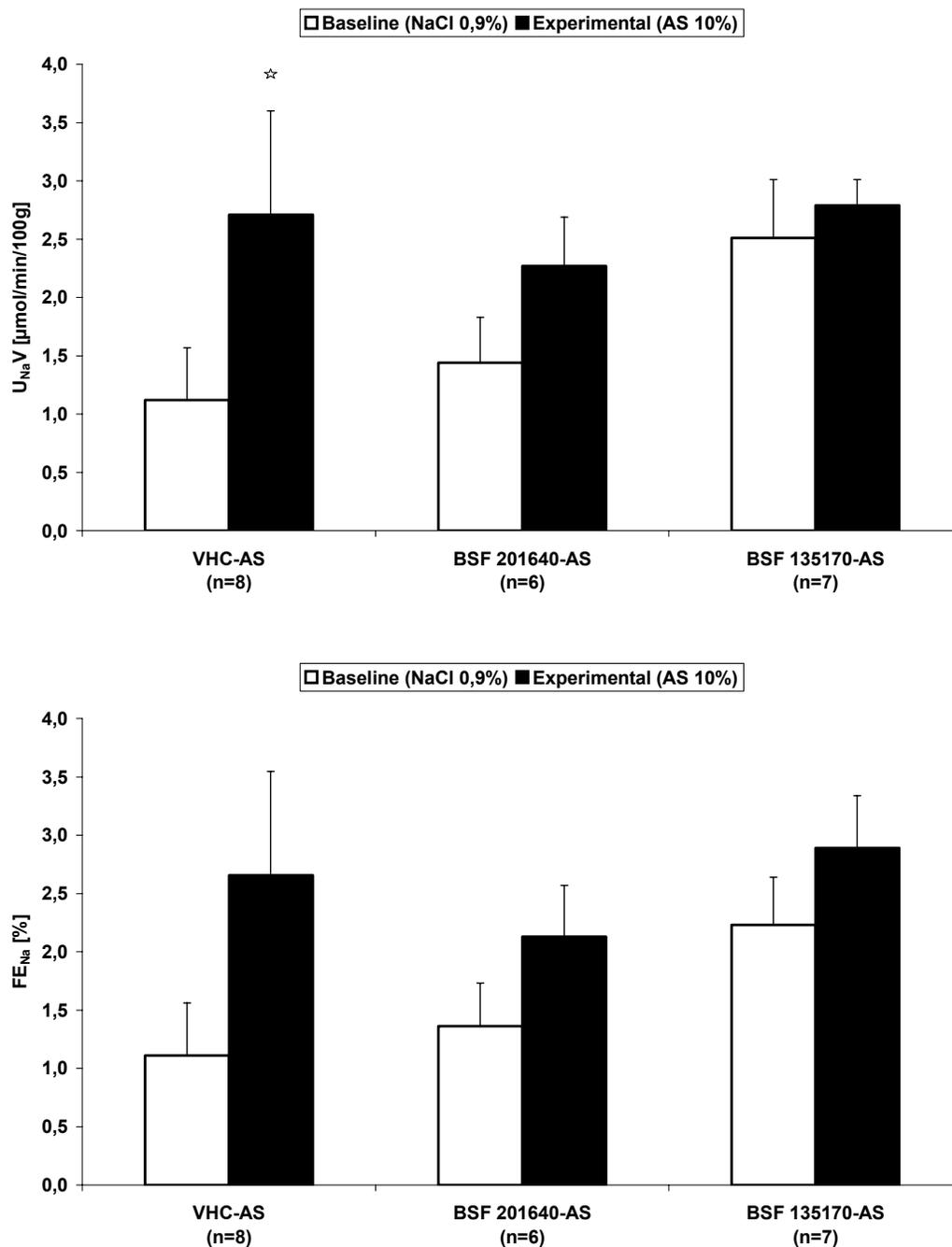
Diese Gruppe erhielt die 10%ige AS-Lösung unter Vorbehandlung mit dem D<sub>3</sub>-Antagonist BSF 201640 (60 µg/kg/min) (2.2.7) infundiert. Die ermittelten Werte zeigt Tabelle 1. MAP, HF und Hkt zeigten keine gravierenden Veränderungen. Die Na<sub>Plasma</sub>- als auch die K<sub>Plasma</sub>-Werte blieben in konstantem Rahmen. Die GFR blieb stabil. Das UV stieg in der HP um 50 %. Die U<sub>NaV</sub> und die FE<sub>Na</sub> stiegen beide um 57 %. Alle Veränderungen sind jedoch nicht signifikant. Die Abbildungen 7+8 zeigen die Ergebnisse in graphischer Form. Auch wichen die VP sowie die HP der BSF(I)-AS Gruppe nicht signifikant von denen der VHC-AS Gruppe ab.

### 3.1.4 BSF 135170 – Aminosäuregruppe (BSF(II)-AS)

Diese Gruppe (2.3.1.2) erhielt die 10%ige AS-Lösung unter Vorbehandlung mit BSF 135170 (30µg/kg/min) (2.2.8). Die Werte sind in der Tabelle 1 verzeichnet. Die systemischen Parameter, MAP und Hkt blieben auf konstantem Niveau. Auffällig war jedoch, dass die HF seit der Gabe von BSF 135170 basal auf einem niederen Niveau lag als bei den anderen beiden AS-Gruppen und auch im weiteren Verlauf absank. Die Na<sub>Plasma</sub>-Werte blieben stabil, wohingegen die K<sub>Plasma</sub>-Werte leicht abfielen. Die GFR verzeichnete einen Anstieg um lediglich 14 %. Das UV stieg um 26 %. Die U<sub>NaV</sub> stieg im Vergleich zu den anderen beiden AS-Gruppen nur um geringe 11 % an, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, dass in der BSF(II)-AS Gruppe die basale U<sub>NaV</sub> schon um 82 % höher lag als in der VHC-AS Gruppe. Die FE<sub>Na</sub> stieg um 30 % in den HP im Vergleich zu den VP an, wobei auch dieser Parameter basal um 81 % höher lag als in der VHC-AS Gruppe. Statistische Signifikanzen innerhalb dieser Gruppe kamen nicht vor. Auch gab es keine signifikanten Unterschiede in der HP im Vergleich zur VHC-AS Gruppe. Die Abbildungen 7+8 zeigen die Graphik.



**Abbildung 7** Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und Urinvolumen (UV) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit 10%iger AS-Lösung in der Hauptperiode I+II, die zusammengefasst wurden (Experimental). In der BSF 201640-AS Gruppe wurden die Tiere ab der Vorperiode (Baseline) mit BSF 201640 (60 µg/kg/min) vorbehandelt. In der BSF 135170-AS Gruppe wurden die Tiere ab der Vorperiode (Baseline) mit BSF 135170 (30 µg/kg/min) vorbehandelt.



**Abbildung 8** Absolute Natriumausscheidung ( $U_{NaV}$ ) und fraktionale Natriumausscheidung ( $FE_{Na}$ ) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit 10%iger AS-Lösung in der Hauptperiode I+II, die zusammengefasst wurden (Experimental). In der BSF 201640-AS Gruppe wurden die Tiere ab der Vorperiode (Baseline) mit BSF 201640 ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) vorbehandelt. In der BSF 135170-AS Gruppe erfolgte die Vorbehandlung der Tiere ab der Vorperiode (Baseline) mit BSF 135170 ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ).

| Gruppe                                    |        | VHC-AS<br>(n = 8) | BSF(I)-AS<br>(n = 6) | BSF(II)-AS<br>(n = 7) |
|---|--------|-------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>MAP</b><br>(mmHg)                      | VPI+II | 103 ±3,3          | 107 ±3,6             | 111 ±3,1              |
|   | HPI    | 107 ±3,1          | 110 ±3,5*            | 109 ±2,6              |
|   | HPII   | 108 ±3,1          | 110 ±4,1             | 111 ±3,8              |
| <b>HF</b><br>(1/min)                      | VPI+II | 350 ±34           | 378 ±7               | 336 ±7                |
|   | HPI    | 348 ±35           | 378 ±7               | 319 ±6*               |
|   | HPII   | 348 ±35           | 387 ±7               | 328 ±5                |
| <b>Hkt</b><br>(%)                         | VPI+II | 43 ±0,6           | 43 ±0,4              | 45 ±0,9               |
|   | HPI    | 43 ±0,7           | 43 ±0,3              | 44 ±0,8               |
|   | HPII   | 43 ±0,6           | 43 ±0,4              | 44 ±0,6               |
| <b>Plasma<sub>Na</sub></b><br>(mmol/l)    | VPI+II | 141 ±1,4          | 143 ±0,9             | 142 ±1,0              |
|   | HPI    | 140 ±1,1          | 139 ±1,4*            | 140 ±0,7*             |
|   | HPII   | 140 ±1,4          | 140 ±1,6             | 137 ±1,4*             |
| <b>Plasma<sub>K</sub></b><br>(mmol/l)     | VPI+II | 4,2 ±0,32         | 4,1 ±0,1             | 4,6 ±0,12             |
|   | HPI    | 3,5 ±0,2*         | 3,6 ±0,1*            | 3,8 ±0,1**            |
|   | HPII   | 3,5 ±0,1          | 4,7 ±0,7             | 3,9 ±0,2*             |
| <b>GFR</b><br>(ml/min/100g)               | VPI+II | 0,80 ±0,05        | 0,77 ±0,05           | 0,79 ±0,06            |
|   | HPI    | 0,95 ±0,08**      | 0,80 ±0,07           | 0,84 ±0,05            |
|   | HPII   | 0,93 ±0,04        | 0,78 ±0,07           | 0,84 ±0,08            |
| <b>UV</b><br>(µl/min/100g)                | VPI+II | 12,6 ±3,3         | 9,9 ±2,8             | 18,1 ±3,3             |
|   | HPI    | 21,7 ±4,4*        | 14,8 ±2,9            | 28,0 ±2,5             |
|   | HPII   | 21,7 ±3,8         | 14,7 ±2,8            | 17,7 ±3,4             |
| <b>U<sub>Na</sub>V</b><br>(µmol/min/100g) | VPI+II | 1,26 ±0,45        | 1,44 ±0,39           | 2,30 ±0,53            |
|   | HPI    | 3,18 ±1,02*       | 2,63 ±0,53           | 3,22 ±0,34            |
|   | HPII   | 2,80 ±0,94*       | 1,91 ±0,32           | 2,35 ±0,27            |
| <b>FE<sub>Na</sub></b><br>(%)             | VPI+II | 1,11 ±0,45        | 1,37 ±0,37           | 2,14 ±0,47            |
|   | HPI    | 2,58 ±0,97        | 2,48 ±0,59           | 2,99 ±0,41            |
|   | HPII   | 2,73 ±0,95        | 1,79 ±0,29           | 2,18 ±0,34            |

**Tabelle 1** Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzfrequenz (HF), Hämatokrit (Hkt), Plasma-Natriumkonzentration (Plasma<sub>Na</sub>), Plasma-Kaliumkonzentration (Plasma<sub>K</sub>), Glomeruläre Filtrationsrate (GFR), Urinvolumen (UV), Absolute Natriumausscheidung (U<sub>Na</sub>V) und Fraktionelle Natriumausscheidung (FE<sub>Na</sub>). Gabe von 10%iger AS-Lösung bei VHC-AS, zusätzlich BSF 201640 (60µg/kg/min) bei BSF(I)-AS oder BSF 135170 (30µg/kg/min) bei BSF(II)-AS. Aufgeführt sind Mittelwerte ±SEM. \* = p<0,05 gegen VP und \*\* = p<0,01 gegen VP. # = p<0,05 gegen VP (VHC-AS) und ## = p<0,01 gegen VP (VHC-AS).

## 3.2 Clearanceversuche mit 7-OH-DPAT

### 3.2.1 Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe)

Siehe 3.1.1.

### 3.2.2 7-OH-DPAT-Gruppe (VHC-DPAT)

Dieser Gruppe (2.3.2.2) wurde in der HP I+II der D<sub>3</sub>-Agonist 7-OH-DPAT (1,0 µg/kg/min) (2.2.4) verabreicht. Es zeigte sich im Verlauf des Versuchs keine entscheidende Abweichung von MAP und Hkt (Tab.2). Die HF sank während der Hauptperioden auf ein signifikantes Niveau im Vergleich zu den Basal-werten. Die Na<sub>Plasma</sub>-Werte waren stabil. Die K<sub>Plasma</sub>-Werte fielen in der HP II etwas ab. Die GFR stieg um 16 %. Das UV erhöhte sich um 89 %. Hochsignifikant war die GFR-Steigerung, signifikant die UV-Steigerung. Hochsignifikant war ebenfalls die 6fache Steigerung der basalen U<sub>NaV</sub> und die Steigerung der basalen FE<sub>Na</sub>, auch um das 6fache. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8+9 graphisch dargestellt. Die VP I+II sowie die HP I+II sind jeweils zur besseren Übersichtlichkeit zusammengefasst. Im Vergleich zur VHC-CON Gruppe (Tabelle 5) waren keine signifikanten Unterschiede in der VP der VHC-DPAT Gruppe zu beobachten.

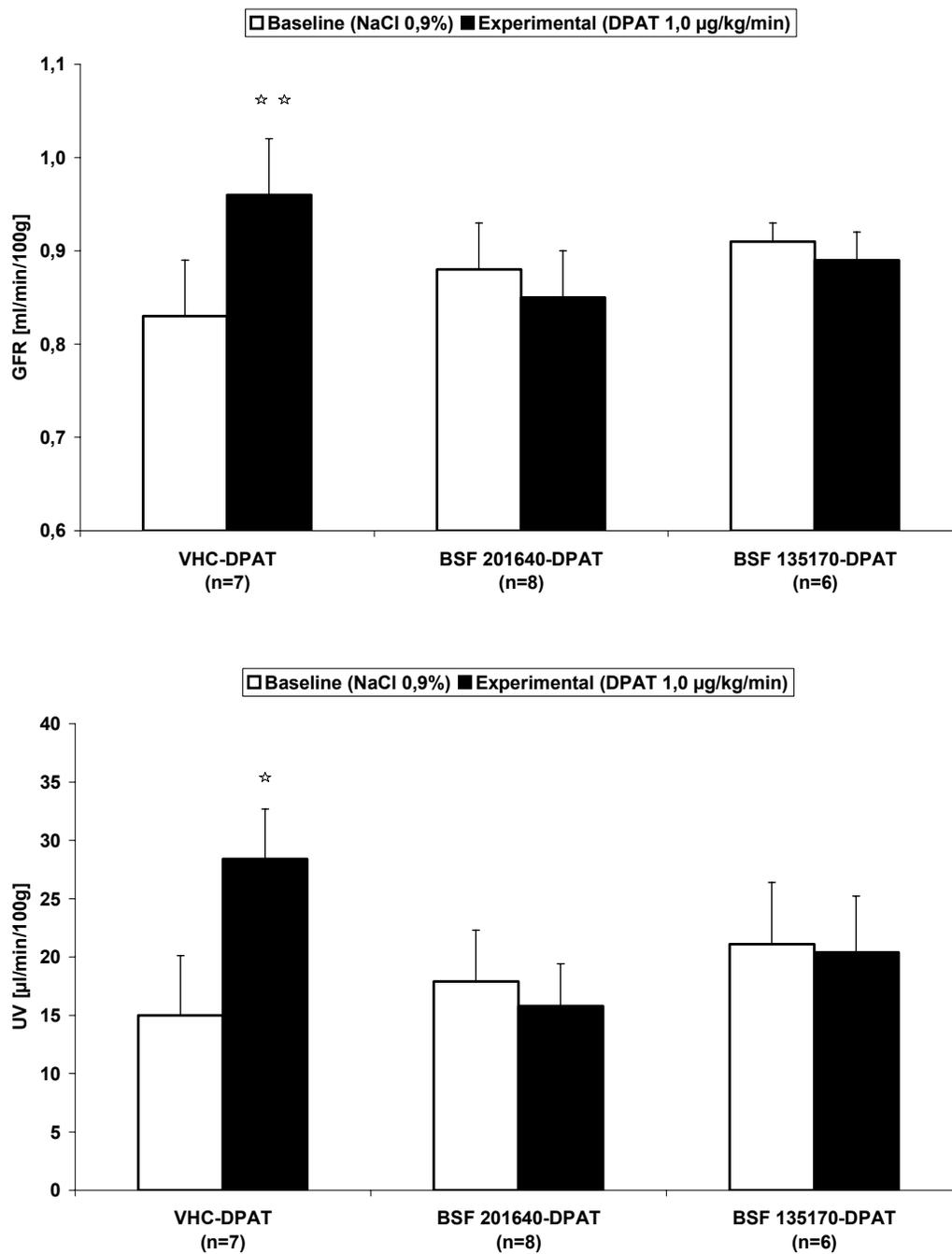
### 3.2.3 BSF 201640 – 7-OH-DPAT-Gruppe (BSF(I)-DPAT)

Diese Gruppe (2.3.2.2) erhielt unter Vorbehandlung 7-OH-DPAT (1,0 µg/kg/min), mit dem D<sub>3</sub>-Antagonisten BSF 201640 (30µg/kg/min) (2.2.7) behandelt. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse. Die systemischen Parameter, wie MAP und Hkt, blieben auch in dieser Gruppe stabil. Auch hier zeigte sich ein signifikantes Absinken der HF im Versuchsverlauf. Die Na<sub>Plasma</sub>- wie auch die K<sub>Plasma</sub>-Werte blieben weitgehend stabil. Die GFR fiel um 7 %, das UV um 18 % im Vergleich zu den Basalwerten. Im Gegensatz dazu stiegen die U<sub>NaV</sub> um 63 % und die FE<sub>Na</sub> um 28 %. Als signifikant ist keine der Änderungen zu

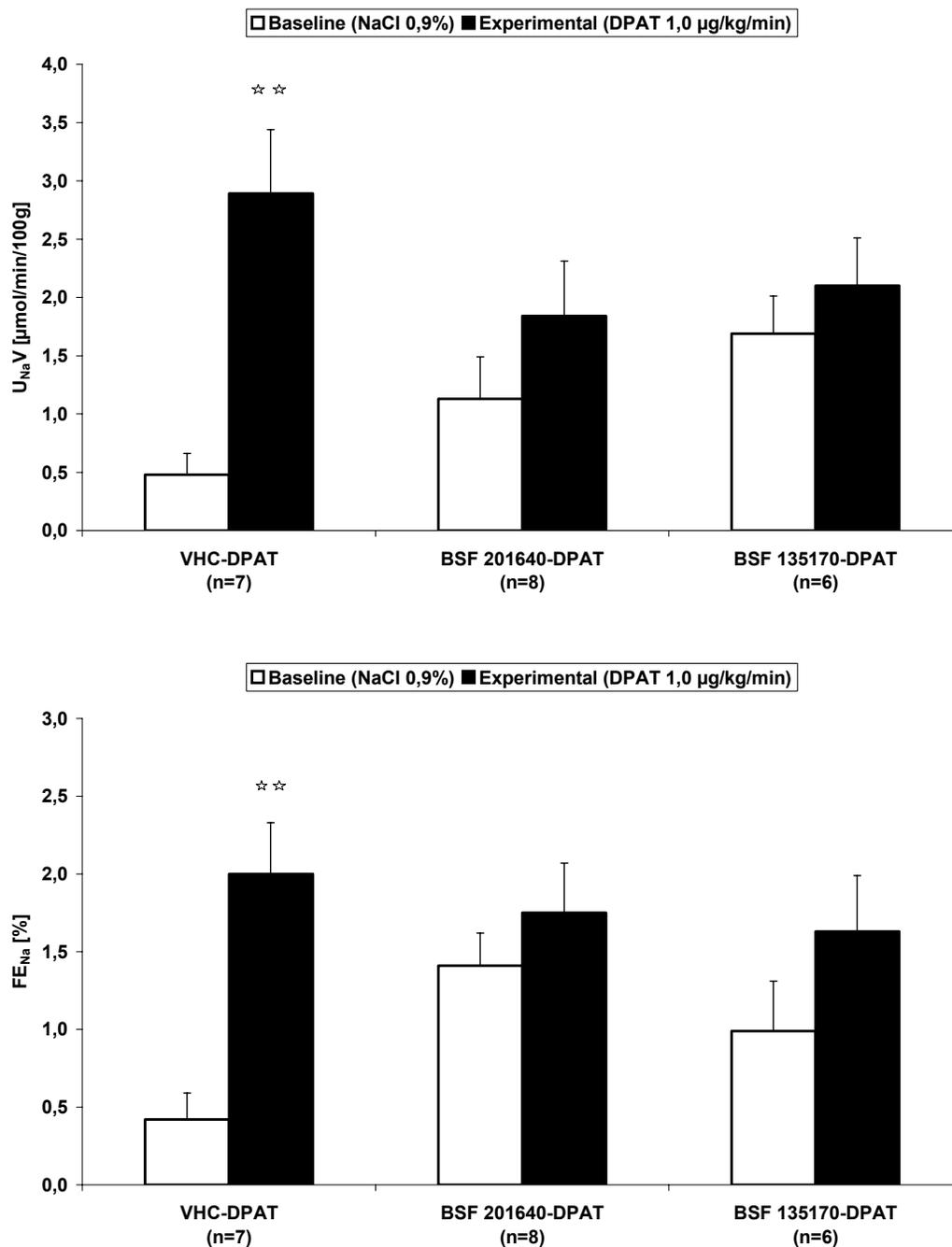
betrachten. In den Abbildungen 9+10 kann man die Ergebnisse in der graphischen Darstellung betrachten. Die VP und die HP der BSF(I)-DPAT Gruppe zeigten keine signifikanten Abweichungen von den Ergebnissen der jeweiligen Perioden der VHC-DPAT Gruppe.

### 3.2.4 BSF 135170 – 7-OH-DPAT-Gruppe (BSF(II)-DPAT)

Diese Gruppe (2.3.2.2) erhielt 7-OH-DPAT (1,0 µg/kg/min) unter der Vorbehandlung mit dem D<sub>3</sub>-Antagonisten BSF 135170 (30µg/kg/min) (2.2.8). Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zu sehen. MAP, Hkt blieben auf konstantem Niveau. Auch hier zeigte sich wie bei der BSF(II)-AS Gruppe (3.1.4), dass die HF seit der Gabe von BSF 135170 basal auf einem niederen Niveau lag als bei den anderen beiden DPAT-Gruppen und einen weiteren signifikanten Abfall verzeichnete. Wobei wahrscheinlich der HF-Abfall durch 7-OH-DPAT wie in den anderen sich hier addiert. Die Na<sub>Plasma</sub>- wie auch die K<sub>Plasma</sub>-Werte blieben weitgehend stabil. Die GFR sank um 2 %, während das UV um 3 % abfiel. Ebenfalls stieg hier die U<sub>Na</sub>V im Vergleich zu den anderen beiden DPAT-Gruppen nur um 24 % an, womit sich hier nur ein signifikanter Unterschied im Vergleich zu den Basalwerten der VHC-DPAT Gruppe zeigt, da auch hier die Basalwerte schon um das 2,5fache höher lagen als in der VHC-DPAT Gruppe. Die HP zeigte keine Signifikanz im Vergleich zur VHC-DPAT Gruppe. Die FE<sub>Na</sub> stieg um 24 % in den HP im Vergleich zu den Basalwerten an, wobei auch dieser Parameter basal das 3,6fache des Vergleichwertes der VHC-DPAT Gruppe betrug. Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb dieser Gruppe kamen nicht vor.



**Abbildung 9** Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und Urinvolumen (UV) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit dem  $D_3$ -Agonisten 7-OH-DPAT (1,0 µg/kg/min) in der Hauptperiode I+II, die zusammengefasst wurden (Experimental). Der  $D_3$ -Antagonist BSF 201640 (60 µg/kg/min) wurde in der BSF 201640-DPAT Gruppe vorgegeben. BSF 135170 (30 µg/kg/min) bekamen die Tiere in der BSF 135170-DPAT Gruppe ab der VP.



**Abbildung 10** Absolute Natriumausscheidung ( $U_{NaV}$ ) und fraktionelle Natriumausscheidung ( $FE_{Na}$ ) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit dem  $D_3$ -Agonisten 7-OH-DPAT (1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) in der Hauptperiode I+II, die zusammengefasst wurden (Experimental). Die BSF 201640-DPAT Gruppe erhielt vorweg BSF 201640 (60  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Die BSF 135170-DPAT Gruppe bekam BSF 135170 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) vorinfundiert.

| Gruppe                                    |        | VHC-DPAT<br>(n = 7) | BSF(I)-DPAT<br>(n = 8) | BSF(II)-DPAT<br>(n = 6) |
|---|--------|---------------------|------------------------|-------------------------|
| <b>MAP</b><br>(mmHg)                      | VPI+II | 107 ±2,1            | 108 ±3,5               | 111 ±6,0                |
|   | HPI    | 104 ±3,2            | 99 ±4,2*               | 105 ±6,4                |
|   | HPII   | 104 ±3,7            | 98 ±3,5*               | 106 ±6,6                |
| <b>HF</b><br>(1/min)                      | VPI+II | 386 ±14             | 393 ±7                 | 348 ±12                 |
|   | HPI    | 362 ±13*            | 369 ±9*                | 322 ±11**               |
|   | HPII   | 359 ±11**           | 368 ±8*                | 323 ±11**               |
| <b>Hkt</b><br>(%)                         | VPI+II | 43 ±0,4             | 45 ±0,5                | 45 ±1,2                 |
|   | HPI    | 42 ±0,4*            | 44 ±0,6*               | 45 ±1,2                 |
|   | HPII   | 42 ±0,5*            | 44 ±0,7                | 45 ±1,3                 |
| <b>Plasma<sub>Na</sub></b><br>(mmol/l)    | VPI+II | 146,3 ±3,1          | 145,2 ±3,0             | 139,7 ±1,3              |
|   | HPI    | 146,3 ±3,3          | 143,3 ±2,3             | 140,5 ±0,8              |
|   | HPII   | 144,7 ±2,4          | 138,2 ±4,3             | 138,7 ±0,8              |
| <b>Plasma<sub>K</sub></b><br>(mmol/l)     | VPI+II | 4,7 ±0,4            | 4,8 ±0,3               | 4,3 ±0,2                |
|   | HPI    | 4,3 ±0,5            | 4,7 ±0,3               | 3,8 ±0,1                |
|   | HPII   | 3,8 ±0,2*           | 4,3 ±0,3               | 4,0 ±0,2                |
| <b>GFR</b><br>(ml/min/100g)               | VPI+II | 0,83 ±0,06          | 0,89 ±0,05             | 0,92 ±0,02              |
|   | HPI    | 0,94 ±0,05*         | 0,84 ±0,06             | 0,93 ±0,05              |
|   | HPII   | 0,99 ±0,07**        | 0,85 ±0,05             | 0,85 ±0,02*             |
| <b>UV</b><br>(µl/min/100g)                | VPI+II | 15,1 ±5,1           | 17,9 ±4,4              | 21,1 ±5,3               |
|   | HPI    | 28,1 ±4,3*          | 16,8 ±3,9              | 22,7 ±5,7               |
|   | HPII   | 28,7 ±4,7*          | 14,7 ±3,5              | 18,1 ±3,9               |
| <b>U<sub>Na</sub>V</b><br>(µmol/min/100g) | VPI+II | 0,47 ±0,18          | 1,27 ±0,36             | 1,69 ±0,32#             |
|   | HPI    | 2,66 ±0,55**        | 2,35 ±0,57             | 2,11 ±0,48              |
|   | HPII   | 3,12 ±0,59**        | 1,76 ±0,44             | 2,08 ±0,35              |
| <b>FE<sub>Na</sub></b><br>(%)             | VPI+II | 0,34 ±0,17          | 0,98 ±0,32             | 1,48 ±0,24#             |
|   | HPI    | 1,89 ±0,42*         | 1,84 ±0,43             | 1,70 ±0,40              |
|   | HPII   | 2,16 ±0,33**        | 1,43 ±0,34             | 1,77 ±0,31              |

**Tabelle 2** Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzfrequenz (HF), Hämatokrit (Hkt), Plasma-Natriumkonzentration (Plasma<sub>Na</sub>), Plasma-Kaliumkonzentration (Plasma<sub>K</sub>), Glomeruläre Filtrationsrate (GFR), Urinvolumen (UV), Absolute Natriumausscheidung (U<sub>Na</sub>V) und Fraktionelle Natriumausscheidung (FE<sub>Na</sub>). Gabe von DPAT (1,0µg/kg/min) bei VHC-DPAT, zusätzlich BSF 201640 (60µg/kg/min) bei BSF(I)-DPAT oder BSF 135170 (30µg/kg/min) bei BSF(II)-DPAT. Aufgeführt sind Mittelwerte ±SEM. \* = p<0,05 gegen VP und \*\* = p<0,01 gegen VP. # = p<0,05 gegen VP (VHC-DPAT) und ## = p<0,01 gegen VP (VHC-DPAT).

### 3.3 Clearanceversuche mit Volumenexpansion

#### 3.3.1 Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe)

Siehe 3.1.1.

#### 3.3.2 Volumenexpansion 2,5 % (VHC-VE)

Bei dieser Gruppe (2.3.3.2) wurde in der HP I-IV die Infusionsrate von PII so erhöht, dass das zugeführte Volumen 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers betrug (2.2.5). In Tabelle 3 sind die zusammengefassten Daten zu entnehmen. Im Verlauf des Versuchs ließen sich keine entscheidenden Abweichungen von MAP, HF und Hkt erkennen. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte zeigten keine Auffälligkeiten. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte zeigten jedoch signifikante Abweichungen. Die GFR stieg um 7 % an. Das UV stieg hochsignifikant auf das 2,5fache. Hochsignifikant war ebenfalls die Steigerung der basalen  $\text{U}_{\text{NaV}}$  um 170 % und die Steigerung der basalen  $\text{FE}_{\text{Na}}$  um 173 %. In den Abbildungen 11+12 wurden die Ergebnisse in einer Graphik dargestellt. Die VP I+II wurden zusammengefasst sowie jeweils 2 Hauptperioden (HP I+II und HP III+IV). Der Vergleich der Vorperioden von der VHC-CON Gruppe (Tabelle 5) und der VHC-VE Gruppe erweist außer der Abweichung des basalen Wertes des Plasma-Natriums keine signifikanten Unterschiede.

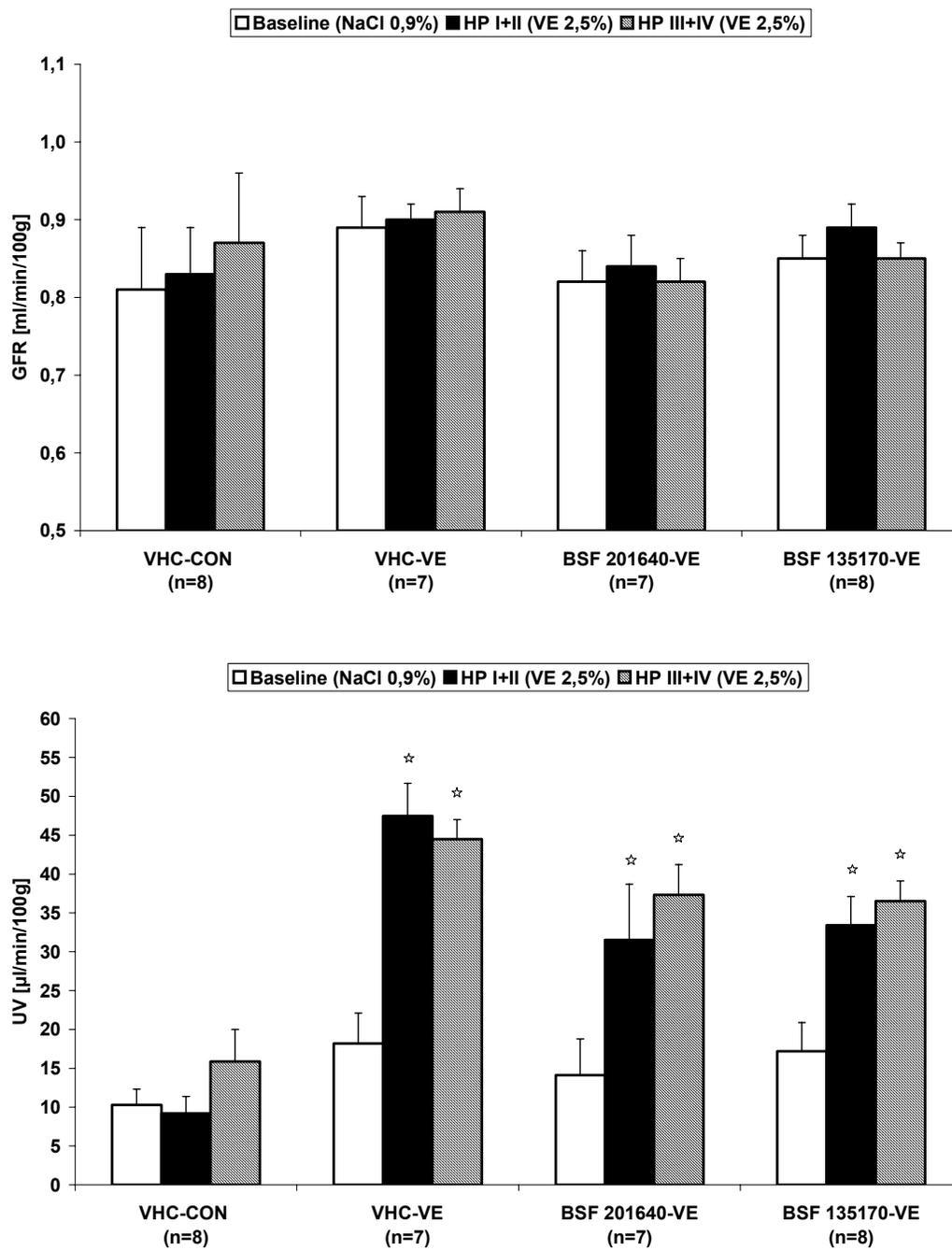
#### 3.3.3 BSF 201640 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 % (BSF(I)-VE)

Auch dieser Gruppe (2.3.3.2) wurde in der HP I-IV die Infusionsrate von PII entsprechend erhöht, um das zugeführte Volumen auf 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers zu erhöhen (2.2.5). Zuvor wurden diese Tiere mit dem  $\text{D}_3$ -Antagonisten BSF 201640 ( $30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) (2.2.7) behandelt. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse. Änderungen der systemischen Parameter, wie MAP, HF und Hkt, waren minimal. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede untereinander. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte fielen

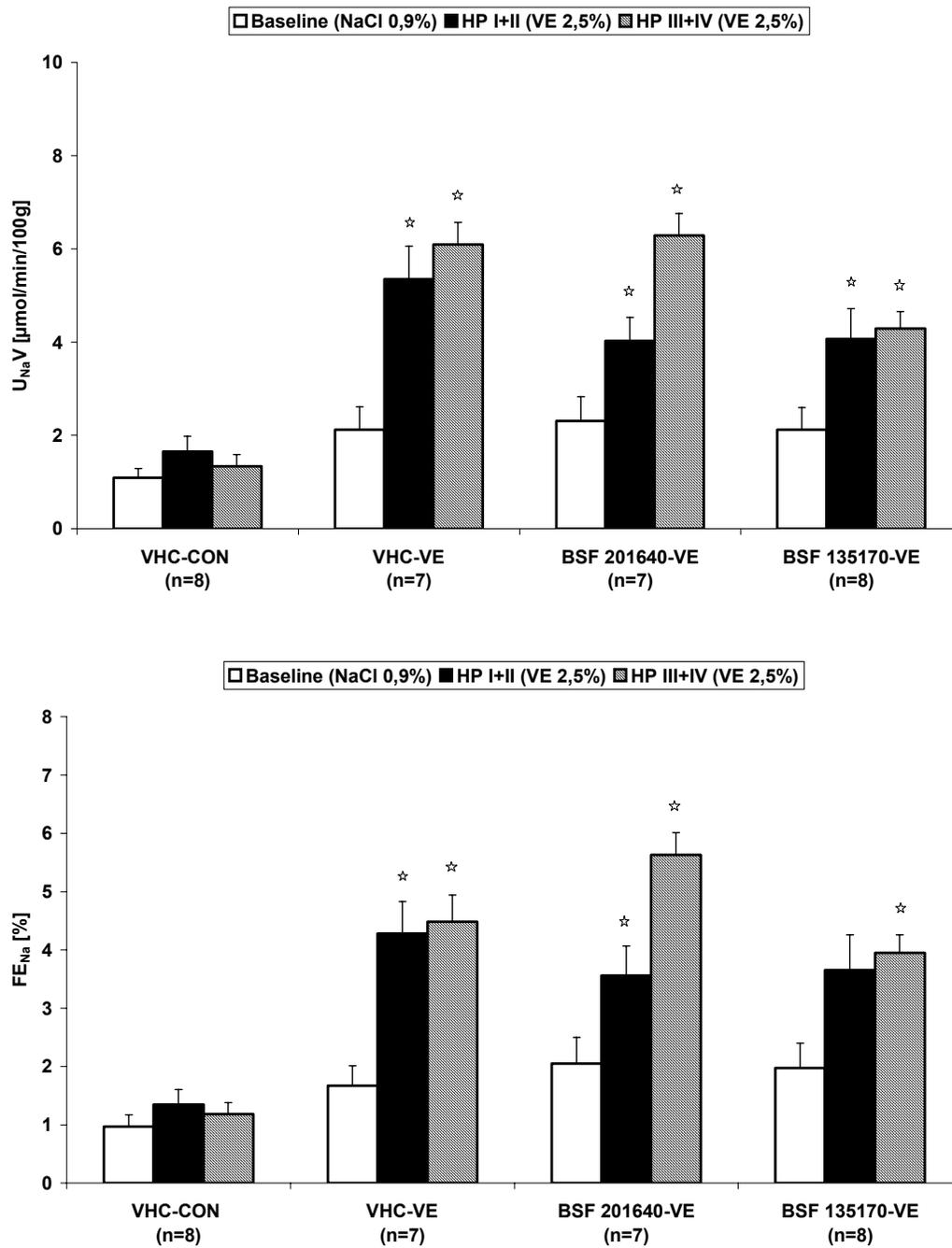
hingegen leicht ab. Die GFR stieg um 1 %. Das UV stieg um signifikante 144 % im Vergleich zu den Basalwerten. Die  $U_{NaV}$  stiegen um 123 % und die  $FE_{Na}$  um 124 %. Beide Änderungen sind hochsignifikant. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Effekte in der HP zur VHC-VE Gruppe. Die graphische Darstellung der Ergebnisse ist den Abbildungen 11+12 zu entnehmen. Die VP der BSF(I)-VE Gruppe zeigten keine Abweichungen von den Ergebnissen der VHC-VE Gruppe.

### 3.3.4 BSF 135170 – Volumenexpansionsgruppe 2,5 % (BSF(II)-VE)

Der Grad der Volumenexpansion während der HP I-IV entsprach in dieser Gruppe (2.3.3.2) ebenfalls 2,5 % des Körpergewichts des jeweiligen Versuchstiers (2.2.5). Die Vorbehandlung mit einem  $D_3$ -Antagonisten bestand in der Gabe von BSF 135170 (30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) (2.2.8). Der MAP und der Hkt blieben auf nahezu konstant. Die HF war ab der Gabe von BSF 135170 basal auf einem niedrigen Niveau, fiel jedoch im Verlauf nur wenig ab. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ - wie auch die  $K_{\text{Plasma}}$ -Werte blieben in engem Rahmen stabil. Die GFR erhöhte sich nur um 2 %. Das UV stieg um 103 %. Die UV-Erhöhung war hochsignifikant. Die Basalwerte unterschieden sich nicht signifikant von der VHC-VE Gruppe. Interessant war die Tatsache, dass die  $U_{NaV}$  sich basal auf gleichem Niveau wie die anderen beiden VE-Gruppen bewegte und um 89 % anstieg. Die  $FE_{Na}$  stieg um 93 % in den HP im Vergleich zu den Basalwerten an. Auch sie zeigte basal keine großen Unterschiede zur VHC-VE Gruppe. Beide Steigerungen sind signifikant. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu denen in der BSF(II)-AS Gruppe und der BSF(II)-DPAT Gruppe. Ebenfalls ließen die Anstiege in der HP keinen signifikanten Unterschied zur VHC-VE Gruppe erkennen.



**Abbildung 11** Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und Urinvolumen (UV) bei narkotisierten Ratten bei 2,5%iger Volumenexpansion in der Hauptperiode I-IV, die zusammengefasst wurden. Der  $D_3$ -Antagonist BSF 201640 ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) wurde der BSF 201640-VE Gruppe verabreicht. Mit BSF 135170 ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) wurde die BSF 135170-VE Gruppe vorbehandelt.



**Abbildung 12** Absolute Natriumausscheidung ( $U_{NaV}$ ) und fraktionale Natriumausscheidung ( $FE_{Na}$ ) bei narkotisierten Ratten bei 2,5%iger Volumenexpansion in der Hauptperiode I-IV, die zusammengefasst wurden. Die BSF 201640-VE Gruppe erhielt vorweg BSF 201640 ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Der BSF 135170-VE Gruppe wurde BSF 135170 ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) vorinfundiert.

| Gruppe                                 |        | VHC-VE<br>(n = 7) | BSF(I)-VE<br>(n = 7) | BSF(II)-VE<br>(n = 8) |
|--|--------|-------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>MAP</b><br>(mmHg)                   | VPI+II | 108 ±1,9          | 110 ±3,4             | 105 ±3,6              |
|  | HPI    | 109 ±1,7          | 108 ±3,8             | 106 ±4,1              |
|  | HPII   | 110 ±2,2          | 106 ±4,3             | 105 ±4,4              |
|  | HPIII  | 109 ±2,0          | 106 ±4,1             | 104 ±3,5              |
|  | HPIV   | 110 ±2,3          | 107 ±3,9             | 103 ±4,2              |
| <b>HF</b><br>(1/min)                   | VPI+II | 377 ±11,9         | 374 ±12,2            | 354 ±7,6              |
|  | HPI    | 380 ±13,4         | 366 ±8,8             | 349 ±8,7              |
|  | HPII   | 381 ±13,9         | 357 ±5,6             | 347 ±9,3              |
|  | HPIII  | 377 ±10,8         | 364 ±8,3             | 343 ±9,8              |
|  | HPIV   | 383 ±12,4         | 364 ±8,3             | 343 ±10,3             |
| <b>Hkt</b><br>(%)                      | VPI+II | 45 ±0,7           | 46 ±0,6              | 47 ±0,6               |
|  | HPI    | 44 ±0,9*          | 45 ±0,6*             | 45 ±0,8               |
|  | HPII   | 44 ±0,8           | 44 ±0,9*             | 44 ±0,8**             |
|  | HPIII  | 44 ±0,8           | 43 ±0,7*             | 44 ±0,8**             |
|  | HPIV   | 43 ±0,8**         | 43 ±0,7*             | 43 ±0,8**             |
| <b>Plasma<sub>Na</sub></b><br>(mmol/l) | VPI+II | 136 ±1,2          | 137 ±1,0             | 132 ±4,1              |
|  | HPI    | 139 ±0,9*         | 138 ±0,9             | 131 ±4,5              |
|  | HPII   | 139 ±0,8*         | 138 ±1,3             | 131 ±3,9              |
|  | HPIII  | 140 ±1,2**        | 137 ±1,4             | 132 ±4,0              |
|  | HPIV   | 140 ±1,5*         | 138 ±1,1             | 132 ±4,0              |
| <b>Plasma<sub>K</sub></b><br>(mmol/l)  | VPI+II | 3,8 ±0,2          | 4,1 ±0,2             | 3,9 ±0,3              |
|  | HPI    | 3,3 ±0,2*         | 3,5 ±0,1**           | 3,5 ±0,2*             |
|  | HPII   | 3,2 ±0,2*         | 3,5 ±0,1*            | 3,7 ±0,4              |
|  | HPIII  | 3,5 ±0,3          | 3,4 ±0,1**           | 3,4 ±0,2*             |
|  | HPIV   | 3,4 ±0,2*         | 3,3 ±0,1*            | 3,3 ±0,2*             |
| <b>GFR</b><br>(ml/min/100g)            | VPI+II | 0,89 ±0,04        | 0,82 ±0,04           | 0,85 ±0,03            |
|  | HPI    | 0,92 ±0,02        | 0,83 ±0,03           | 0,92 ±0,04            |
|  | HPII   | 0,88 ±0,02        | 0,84 ±0,05           | 0,87 ±0,03            |
|  | HPIII  | 0,92 ±0,04        | 0,84 ±0,04           | 0,83 ±0,03            |
|  | HPIV   | 0,91 ±0,02        | 0,80 ±0,03           | 0,87 ±0,03            |
| <b>UV</b><br>(µl/min/100g)             | VPI+II | 18,2 ±5,9         | 14,1 ±4,7            | 17,2 ±3,7             |
|  | HPI    | 46,9 ±3,5*        | 28,1 ±7,5            | 31,7 ±4,7*            |
|  | HPII   | 48,2 ±3,5*        | 34,9 ±7,3            | 35,1 ±2,9**           |
|  | HPIII  | 45,8 ±2,8*        | 37,4 ±4,4*           | 36,7 ±1,9**           |
|  | HPIV   | 43,1 ±2,9*        | 37,2 ±3,8*           | 36,3 ±4,3**           |

|  |        |                   |                   |                 |
|--|--------|-------------------|-------------------|-----------------|
| <b>U<sub>NaV</sub></b><br>( $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ) | VPI+II | 2,12 $\pm$ 0,49   | 2,31 $\pm$ 0,52   | 2,21 $\pm$ 0,48 |
|  | HPI    | 4,67 $\pm$ 0,79** | 3,70 $\pm$ 0,64   | 3,68 $\pm$ 0,76 |
|  | HPII   | 6,03 $\pm$ 0,72** | 4,36 $\pm$ 0,39*  | 4,33 $\pm$ 0,74 |
|  | HPIII  | 6,11 $\pm$ 0,52** | 6,40 $\pm$ 0,60** | 4,19 $\pm$ 0,48 |
|  | HPIV   | 6,06 $\pm$ 0,54** | 6,18 $\pm$ 0,62** | 4,41 $\pm$ 0,37 |
| <b>FE<sub>Na</sub></b><br>(%)  | VPI+II | 1,67 $\pm$ 0,34   | 2,05 $\pm$ 0,45   | 1,97 $\pm$ 0,43 |
|  | HPI    | 3,64 $\pm$ 0,60** | 3,27 $\pm$ 0,59   | 3,33 $\pm$ 0,64 |
|  | HPII   | 4,92 $\pm$ 0,56** | 3,86 $\pm$ 0,46   | 3,96 $\pm$ 0,61 |
|  | HPIII  | 4,85 $\pm$ 0,49** | 5,62 $\pm$ 0,52** | 3,92 $\pm$ 0,37 |
|  | HPIV   | 4,84 $\pm$ 0,47** | 5,65 $\pm$ 0,55** | 3,98 $\pm$ 0,27 |

**Tabelle 3** Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzfrequenz (HF), Hämatokrit (Hkt), Plasma-Natriumkonzentration (Plasma<sub>Na</sub>), Plasma-Kaliumkonzentration (Plasma<sub>K</sub>). 2,5%iger Volumenexpansion bei VHC-VE, zusätzlich BSF 201640 (60 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) bei BSF(I)-VE oder BSF 135170 (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) bei BSF(II)-VE. Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$ SEM. \* =  $p < 0,05$  gegen VP und \*\* =  $p < 0,01$  gegen VP. # =  $p < 0,05$  gegen VP (VHC-VE) und ### =  $p < 0,01$  gegen VP (VHC-VE).

### 3.4 Clearanceversuche mit exogener Dopaminzufuhr

#### 3.4.1 Zeitkontrollgruppe (VHC-CON Gruppe)

Siehe 3.1.1.

#### 3.4.2 Dopamingruppe (VHC-DA)

In dieser Gruppe (2.3.4.2) wurde in den HP I-IV die Gabe von Dopamin (1,0 µg/kg/min) (2.2.6) vorgenommen. Zusammengefasst sind die dabei gewonnenen Daten der Tabelle 4 zu entnehmen. Durch den Versuch hinweg waren keine entscheidenden Abweichungen von MAP, HF und Hkt zu beobachten. Änderungen der  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte waren unauffällig. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte zeigten hingegen signifikante Abweichungen. Die GFR stieg um 1 %. Das UV erhöhte sich signifikant auf das 2,6fache. Signifikant war ebenfalls die Steigerung der  $\text{U}_{\text{NaV}}$  um 74 % und die Steigerung der basalen  $\text{FE}_{\text{Na}}$  auf das 2,9fache. Gegenüber der VHC-DA Gruppe können die Änderungen des UV und der  $\text{U}_{\text{NaV}}$  als signifikant angesehen werden. Die Abbildungen 13+14 stellen die Ergebnisse in graphischer Form dar. Die VP I+II wurden ebenso wie jeweils 2 Hauptperioden (HP I+II und HP III+IV) zusammengefasst. In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der VP der VHC-DA Gruppe im Vergleich zur VHC-CON Gruppe dargestellt. Signifikante Unterschiede zeigten sich bei den basalen Plasma-werten von Natrium und Kalium.

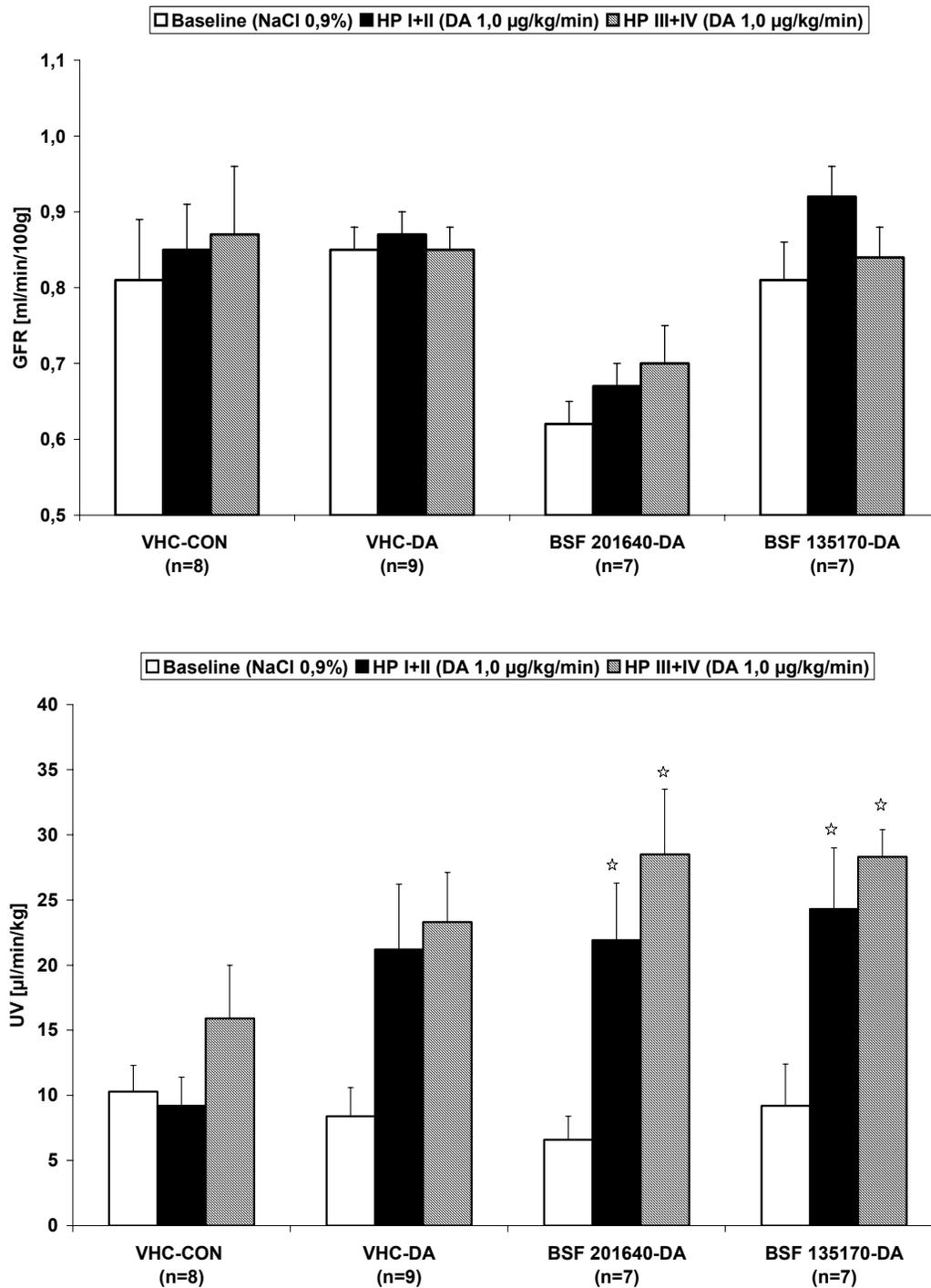
#### 3.4.3 BSF 201640 – Dopamin (BSF(I)-DA)

Dieser Gruppe (2.3.4.2) wurde ebenfalls Dopamin (1,0 µg/kg/min) (2.2.6) in der Hauptperiode I-IV infundiert. Eine Vorbehandlung dieser Tiere erfolgte mit BSF 201640 (30 µg/kg/min) (2.2.7). Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse. Eine Stabilität der systemischen Parameter wie der HF und des Hkt war weitgehend gewährleistet. Der MAP stieg im Versuchsverlauf etwas an. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte fielen leicht ab. Die

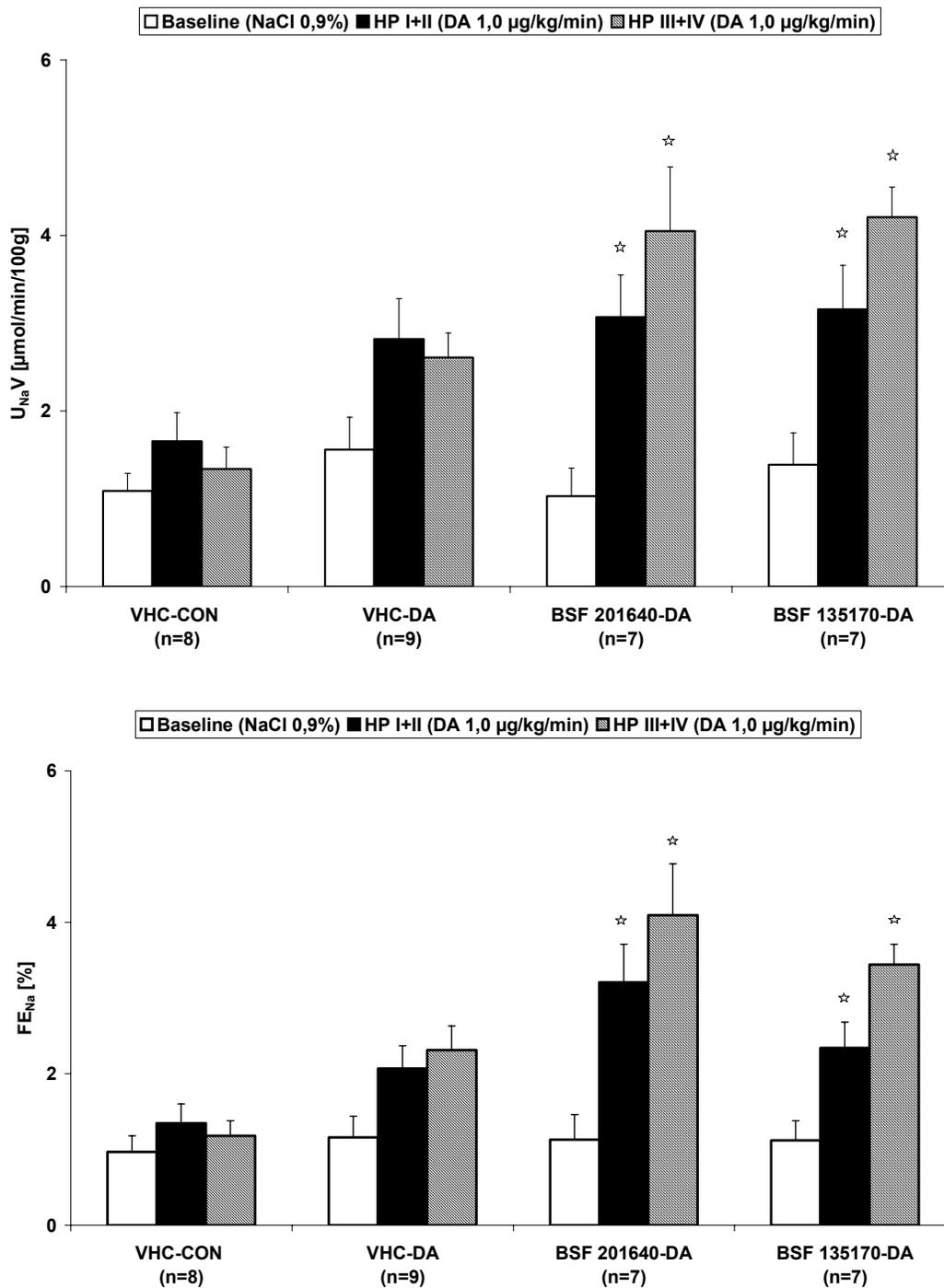
GFR stieg um 10 %. Das UV erhöhte sich signifikant auf das 3,8fache im Vergleich zu den Basalwerten. Die  $U_{Na}V$  stieg auf das 3,4fache und die  $FE_{Na}$  auf das 3,2fache. Beide Änderungen waren hochsignifikant. Die Abbildungen 13+14 zeigen die graphische Darstellung. Die VP I+II sind hierbei zusammengefasst sowie jeweils 2 Hauptperioden (HP I+II und HP III+IV). Die VP der BSF(I)-DA Gruppe ließ keine Abweichungen von den Ergebnissen der VHC-DA Gruppe erkennen. Die Veränderungen in der HP zeigten ebenfalls keine Signifikanz im Vergleich zur VHC-DA Gruppe.

#### 3.4.4 BSF 135170 – Dopamin (BSF(II)-DA)

Auch diese Tiere (2.3.4.2) bekamen in der Hauptperiode HP I-IV Dopamin (1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) verabreicht. Diese Gruppe wurde mit BSF 135170 (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) (2.2.8) vorbehandelt. Der MAP und Hkt blieben auf konstantem Niveau. Auffällig war jedoch auch hier wie bei der anderen BSF(II)-Gruppen, dass die HF seit der Gabe von BSF 135170 basal niedriger lag als bei den anderen beiden DA-Gruppen und einen weiteren signifikanten Abfall verzeichnete. Die  $\text{Na}_{\text{Plasma}}$ -Werte blieben auf konstantem Niveau. Die  $\text{K}_{\text{Plasma}}$ -Werte sanken leicht ab. Die GFR verzeichnete einen Anstieg von 7 %. Das UV stieg hochsignifikant auf 2,8fache, während die  $U_{Na}V$  und die  $FE_{Na}$  auf das 2,6fache im Vergleich zu den Basalwerten anstiegen. Beide Anstiege waren hochsignifikant. Abweichungen der VP der BSF(II)-DA Gruppe zu den Ergebnissen der VHC-DA Gruppe ließen keine Signifikanz erkennen. Signifikante Unterschiede beim Vergleich der HP zur VHC-DA Gruppe zeigten sich auch nicht. Auf den Abbildungen 13+14 sind die Ergebnisse in graphischer Form zu betrachten. Die VP I+II sowie die HP I+II und III+IV wurden zusammengefasst.



**Abbildung 13** Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und Urinvolumen (UV) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit Dopamin ( $1,0 \mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ ) in der Hauptperiode I-IV, die zusammengefasst wurden. Die BSF 201640-DA Gruppe erhielt den  $D_3$ -Antagonisten BSF 201640 ( $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Die BSF 135170-DA Gruppe wurde mit BSF 135170 ( $30 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) vorbehandelt.



**Abbildung 14** Absolute Natriumausscheidung ( $U_{NaV}$ ) und fraktionale Natriumausscheidung ( $FE_{Na}$ ) bei narkotisierten Ratten unter Behandlung mit Dopamin (1,0 µg/kg/min) in der Hauptperiode I+IV, die zusammengefasst wurden. Mit BSF 201640 (60 µg/kg/min) wurde die BSF 201640-DA Gruppe vorbehandelt. Den  $D_3$ -Antagonist BSF 135170 (30 µg/kg/min) bekam die BSF 135170-DA Gruppe vorinfundiert.

| Gruppe                                 |        | VHC-DA<br>(n = 9) | BSF(I)-DA<br>(n = 7) | BSF(II)-DA<br>(n = 7) |
|--|--------|-------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>MAP</b><br>(mmHg)                   | VPI+II | 108 ±1,6          | 102 ±1,3             | 102 ±3,2              |
|  | HPI    | 108 ±1,7          | 106 ±1,7             | 102 ±4,0              |
|  | HPII   | 109 ±1,8          | 109 ±1,9*            | 103 ±3,9              |
|  | HPIII  | 112 ±1,6          | 108 ±2,0*            | 103 ±2,8              |
|  | HPIV   | 111 ±1,6          | 110 ±2,7*            | 104 ±2,4              |
| <b>HF</b><br>(1/min)                   | VPI+II | 401 ±13           | 384 ±10,2            | 350 ±13,2             |
|  | HPI    | 402 ±15,6         | 379 ±11,3            | 330 ±14,0**           |
|  | HPII   | 391 ±13,8         | 380 ±10,3            | 326 ±12,6**           |
|  | HPIII  | 396 ±12,3         | 380 ±10,7            | 324 ±12,8**           |
|  | HPIV   | 396 ±8,5          | 389 ±10,8            | 327 ±9,2*             |
| <b>Hkt</b><br>(%)                      | VPI+II | 44 ±0,5           | 43 ±0,5              | 44 ±0,5               |
|  | HPI    | 44 ±0,4           | 43 ±0,6              | 44 ±0,6               |
|  | HPII   | 43 ±0,4           | 43 ±0,6              | 44 ±0,6               |
|  | HPIII  | 43 ±0,4           | 42 ±0,6              | 43 ±0,6               |
|  | HPIV   | 43 ±0,7           | 42 ±0,7              | 43 ±0,5*              |
| <b>Plasma<sub>Na</sub></b><br>(mmol/l) | VPI+II | 148 ±1,0          | 146 ±1,8             | 148 ±1,1              |
|  | HPI    | 149 ±1,5          | 145 ±1,2             | 148 ±0,8              |
|  | HPII   | 150 ±1,6          | 145 ±1,5             | 148 ±1,0              |
|  | HPIII  | 146 ±0,8*         | 144 ±1,3             | 145 ±1,3              |
|  | HPIV   | 147 ±0,9          | 142 ±1,5*            | 148 ±1,1              |
| <b>Plasma<sub>K</sub></b><br>(mmol/l)  | VPI+II | 4,5 ±0,2          | 5,0 ±0,12            | 4,5 ±0,2              |
|  | HPI    | 3,9 ±0,2**        | 4,3 ±0,1**           | 3,9 ±0,2**            |
|  | HPII   | 4,0 ±0,2**        | 4,2 ±0,1**           | 3,7 ±0,1**            |
|  | HPIII  | 3,8 ±0,2**        | 3,9 ±0,1**           | 3,8 ±0,1*             |
|  | HPIV   | 3,7 ±0,1**        | 3,8 ±0,1**           | 4,1 ±0,4*             |
| <b>GFR</b><br>(ml/min/100g)            | VPI+II | 0,85 ±0,03        | 0,62 ±0,03           | 0,81 ±0,05            |
|  | HPI    | 0,87 ±0,04        | 0,67 ±0,04           | 0,86 ±0,05            |
|  | HPII   | 0,86 ±0,02        | 0,66 ±0,03           | 0,90 ±0,04            |
|  | HPIII  | 0,85 ±0,03        | 0,71 ±0,06           | 0,83 ±0,03            |
|  | HPIV   | 0,84 ±0,04        | 0,68 ±0,04           | 0,85 ±0,05            |
| <b>UV</b><br>(µl/min/100g)             | VPI+II | 8,4 ±2,2          | 6,6 ±1,8             | 9,2 ±3,2              |
|  | HPI    | 23,9 ±6,8**       | 21,0 ±4,4            | 23,5 ±5,7*            |
|  | HPII   | 18,2 ±3,9**       | 22,7 ±4,5*           | 25,0 ±3,7*            |
|  | HPIII  | 20,0 ±3,4**       | 28,8 ±4,8**          | 29,7 ±1,9**           |
|  | HPIV   | 22,0 ±3,9**       | 28,1 ±5,5**          | 26,9 ±2,3**           |

|  |        |                   |                   |                   |
|--|--------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>U<sub>NaV</sub></b><br>( $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ) | VPI+II | 1,56 $\pm$ 0,37   | 1,03 $\pm$ 0,32   | 1,39 $\pm$ 0,36   |
|  | HPI    | 2,60 $\pm$ 0,46** | 2,78 $\pm$ 0,67   | 2,87 $\pm$ 0,52   |
|  | HPII   | 2,93 $\pm$ 0,47** | 3,35 $\pm$ 0,43*  | 3,44 $\pm$ 0,50*  |
|  | HPIII  | 3,24 $\pm$ 0,48** | 3,81 $\pm$ 0,55*  | 3,90 $\pm$ 0,20** |
|  | HPIV   | 2,67 $\pm$ 0,35** | 4,29 $\pm$ 0,93** | 4,52 $\pm$ 0,58** |
| <b>FE<sub>Na</sub></b><br>(%)  | VPI+II | 1,16 $\pm$ 0,28   | 1,13 $\pm$ 0,33   | 1,12 $\pm$ 0,26   |
|  | HPI    | 2,01 $\pm$ 0,34** | 2,91 $\pm$ 0,65   | 2,00 $\pm$ 0,27   |
|  | HPII   | 2,29 $\pm$ 0,36** | 3,52 $\pm$ 0,45*  | 2,69 $\pm$ 0,42** |
|  | HPIII  | 2,64 $\pm$ 0,39** | 3,79 $\pm$ 0,53*  | 3,26 $\pm$ 0,21** |
|  | HPIV   | 2,20 $\pm$ 0,31** | 4,40 $\pm$ 0,88** | 3,62 $\pm$ 0,45** |

**Tabelle 4** Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzfrequenz (HF), Hämatokrit (Hkt), Plasma-Natriumkonzentration (Plasma<sub>Na</sub>), Plasma-Kaliumkonzentration (Plasma<sub>K</sub>). Gabe von Dopamin (1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) bei VHC-DA, zusätzlich BSF 201640 (60 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) bei BSF(I)-DA oder BSF 135170 (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) bei BSF(II)-DA. Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$ SEM. \* =  $p < 0,05$  gegen VP und \*\* =  $p < 0,01$  gegen VP. # =  $p < 0,05$  gegen VP (VHC-DA) und ## =  $p < 0,01$  gegen VP (VHC-DA).

| Gruppe                                 |        | VHC-CON<br>(n = 8) | VHC-VE<br>(n = 7) | VHC-DA<br>(n = 9) |
|--|--------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b>MAP</b><br>(mmHg)                   | VPI+II | 103 ±2,6           | 108 ±1,9          | 108 ±1,6          |
|  | HPI    | 99 ±3,1            | 109 ±1,7          | 108 ±1,7          |
|  | HPI    | 97 ±3,6            | 110 ±2,2          | 109 ±1,8          |
|  | HPII   | 101 ±4,6           | 109 ±2,0          | 112 ±1,6          |
|  | HPIV   | 100 ±4,5           | 110 ±2,3          | 111 ±1,6          |
| <b>HF</b><br>(1/min)                   | VPI+II | 382 ±7,5           | 377 ±11,9         | 401 ±13,0         |
|  | HPI    | 382 ±7,7           | 380 ±13,4         | 402 ±15,6         |
|  | HPII   | 373 ±10,5          | 381 ±13,9         | 391 ±13,8         |
|  | HPII   | 371 ±13,3          | 377 ±10,8         | 396 ±12,3         |
|  | HPIV   | 374 ±13,3          | 383 ±12,4         | 396 ±8,5          |
| <b>Hkt</b><br>(%)                      | VPI+II | 44 ±0,4            | 45 ±0,7           | 44 ±0,5           |
|  | HPI    | 44 ±0,6            | 44 ±0,9*          | 44 ±0,4           |
|  | HPII   | 44 ±0,5            | 44 ±0,8           | 43 ±0,4           |
|  | HPIII  | 44 ±0,6            | 44 ±0,8           | 43 ±0,4           |
|  | HPIV   | 44 ±0,5            | 43 ±0,8**         | 43 ±0,7           |
| <b>Plasma<sub>Na</sub></b><br>(mmol/l) | VPI+II | 143 ±1,5           | 136 ±1,2##        | 148 ±1,0#         |
|  | HPI    | 142 ±1,5           | 139 ±0,9*         | 149 ±1,5          |
|  | HPII   | 142 ±1,6           | 139 ±0,8*         | 150 ±1,6          |
|  | HPIII  | 141 ±1,6           | 140 ±1,2**        | 146 ±0,8*         |
|  | HPIV   | 142 ±2,1           | 140 ±1,5*         | 147 ±0,9          |
| <b>Plasma<sub>K</sub></b><br>(mmol/l)  | VPI+II | 3,7 ±0,2           | 3,8 ±0,2          | 4,5 ±0,2##        |
|  | HPI    | 3,6 ±0,1           | 3,3 ±0,2*         | 3,9 ±0,2**        |
|  | HPII   | 3,7 ±0,1           | 3,2 ±0,2*         | 4,0 ±0,2**        |
|  | HPIII  | 3,4 ±0,1           | 3,5 ±0,3          | 3,8 ±0,2**        |
|  | HPIV   | 3,6 ±0,2           | 3,4 ±0,2*         | 3,7 ±0,1**        |
| <b>GFR</b><br>(ml/min/100g)            | VPI+II | 0,81 ±0,08         | 0,89 ±0,04        | 0,85 ±0,03        |
|  | HPI    | 0,85 ±0,07         | 0,92 ±0,02        | 0,87 ±0,04        |
|  | HPII   | 0,84 ±0,05         | 0,88 ±0,02        | 0,86 ±0,02        |
|  | HPIII  | 0,85 ±0,08         | 0,92 ±0,04        | 0,85 ±0,03        |
|  | HPIV   | 0,88 ±0,10         | 0,91 ±0,02        | 0,84 ±0,04        |
| <b>UV</b><br>(µl/min/100g)             | VPI+II | 10,3 ±2,0          | 18,2 ±5,9         | 8,4 ±2,2          |
|  | HPI    | 8,6 ±1,9           | 46,9 ±3,5         | 23,9 ±6,8         |
|  | HPII   | 9,8 ±2,5           | 48,2 ±3,5         | 18,2 ±3,9         |
|  | HPIII  | 15,6 ±2,9          | 45,8 ±2,8         | 20,0 ±3,4         |
|  | HPIV   | 16,2 ±5,3          | 43,1 ±2,9         | 22,0 ±3,9         |

|  |        |                 |                 |                 |
|--|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>U<sub>NaV</sub></b><br>( $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{g}$ ) | VPI+II | 1,09 $\pm$ 0,20 | 2,12 $\pm$ 0,49 | 1,49 $\pm$ 0,37 |
|  | HPI    | 1,44 $\pm$ 0,28 | 4,67 $\pm$ 0,79 | 2,60 $\pm$ 0,46 |
|  | HPII   | 1,87 $\pm$ 0,37 | 6,03 $\pm$ 0,72 | 2,93 $\pm$ 0,47 |
|  | HPIII  | 1,25 $\pm$ 0,30 | 6,11 $\pm$ 0,52 | 3,24 $\pm$ 0,48 |
|  | HPIV   | 1,43 $\pm$ 0,20 | 6,06 $\pm$ 0,54 | 2,67 $\pm$ 0,35 |
| <b>FE<sub>Na</sub></b><br>(%)  | VPI+II | 0,97 $\pm$ 0,21 | 1,67 $\pm$ 0,34 | 1,16 $\pm$ 0,28 |
|  | HPI    | 1,16 $\pm$ 0,19 | 3,64 $\pm$ 0,60 | 2,01 $\pm$ 0,34 |
|  | HPII   | 1,53 $\pm$ 0,32 | 4,92 $\pm$ 0,56 | 2,29 $\pm$ 0,36 |
|  | HPIII  | 1,18 $\pm$ 0,23 | 4,85 $\pm$ 0,49 | 2,64 $\pm$ 0,39 |
|  | HPIV   | 1,18 $\pm$ 0,17 | 4,84 $\pm$ 0,47 | 2,20 $\pm$ 0,31 |

**Tabelle 5** Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), Herzfrequenz (HF), Hämatokrit (Hkt), Plasma-Natriumkonzentration (Plasma<sub>Na</sub>), Plasma-Kaliumkonzentration (Plasma<sub>K</sub>), Glomeruläre Filtrationsrate (GFR), Urinvolumen (UV), Absolute Natriumausscheidung (U<sub>NaV</sub>) und Fraktionelle Natriumausscheidung (FE<sub>Na</sub>). Gabe von 0,9%iger NaCl-Lösung bei VHC-CON, 2,5%ige Volumenexpansion bei VHC-VE und Gabe von Dopamin(1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ). Aufgeführt sind Mittelwerte  $\pm$ SEM. \* =  $p < 0,05$  gegen VP und \*\* =  $p < 0,01$  gegen VP. # =  $p < 0,05$  gegen VP (VHC-CON) und ## =  $p < 0,01$  gegen VP (VHC-CON).

## 4 Diskussion

### 4.1 Der $D_3$ -Rezeptor und die aminosäurebedingte glomeruläre Hyperfiltration

Mehrere Mechanismen der seit Jahrzehnten als Phänomen bekannten aminosäurebedingten glomerulären Hyperfiltration wurden in Betracht gezogen. Da die glomeruläre Filtrationsrate vor allem von der Weite der glomerulären Gefäße abhängt, wurde anfänglich das RAA-System als wesentliches Regelsystem diskutiert. Woods (1993) konnte jedoch eine GFR-Steigerung durch eine proteinreiche Nahrung an Hunden nicht in Verbindung mit dem RAA-System bringen. Weder eine Stimulation durch Salzzufuhr noch eine Blockade durch Captopril änderten die renale Reaktion auf die Aminosäuren.

Die Beobachtung, dass sich nach der Zufuhr von Aminosäuren die Dopaminausscheidung im Urin ( $U_{DAV}$ ) erhöht und dass exogenes Dopamin per se ebenfalls eine Steigerung der GFR verursacht, ließen einen Zusammenhang beider Phänomene vermuten. Die Hypothese, dass die aminosäurebedingte Hyperfiltration eng mit dem dopaminergen System verknüpft ist, wurde dadurch verstärkt, dass sie durch Dopaminsynthesehemmer (Benserazid) und Dopaminantagonisten (S(-)-Sulpirid) zu verhindern ist (Mühlbauer et al., 1994b).

Durch spätere Untersuchungen wurde die Verknüpfung mit dem dopaminergen System zwar nicht widerlegt, die unmittelbare Kausalität der  $U_{DAV}$  mit der renalen Hämodynamik jedoch in Frage gestellt. Die Infusion von L-Dopa ließ die  $U_{DAV}$  ansteigen, wohingegen sich die GFR nicht änderte (Mühlbauer et al., 1997c). Ein Zusammenhang zwischen dem renal gebildeten Dopamin und den aminosäureinduzierten Effekten am Glomerulus ist somit fraglich. Trotz des geringen Anteils neuronalen Dopamins an der renalen Gesamtmenge (Baines, 1982) könnten zentrale Faktoren eine Rolle spielen, da die Erhöhung der GFR an denervierten Nieren nicht auslösbar war (Mühlbauer et al., 1997a). Dies gibt Grund zur Vermutung, dass die Auswirkungen von Aminosäuren auf die renale

Hämodynamik nicht nur einem Regelkreis innerhalb der Niere unterworfen ist, sondern dass auch zentrale Einflüsse beteiligt sind.

Eine bisher völlig ungeklärte Frage ist, über welche Rezeptoren Dopamin diese Wirkung an der Niere vermittelt. Bisher wurde der Einfluss des D<sub>1</sub>- und des D<sub>2</sub>-Rezeptors näher untersucht. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass Dopamin die GFR über den D<sub>2</sub>-Rezeptor reguliert (Mühlbauer et al., 1994). Es besteht jedoch Grund zur Annahme, dass weitere Rezeptorsubtypen in diesen Prozeß involviert sind, da die bisher verwendeten Liganden wie S(-)-Sulpirid auch Affinität zu weiteren Rezeptoren der Dopamin-Familie besitzen (Levant, 1997). Mit der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwiefern der Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptor bei der aminosäurebedingten Hyperfiltration eine Rolle spielt und inwieweit zentrale Dopaminrezeptoren einen Einfluss darauf haben. Hierzu wurden die Versuchstiere jeweils mit zwei D<sub>3</sub>-Rezeptorblockern vorbehandelt, BSF 201640, das zentral und peripher wirkt und BSF 135170, das nur peripher wirkt.

Die Zeitkontrolle (VHC-CON) für diese experimentelle Serie zeigte einen stabilen Verlauf der beobachteten Parameter von Kreislauf- und Nierenfunktion und schloss damit Zeiteffekte aus.

Der bekannte GFR-Anstieg durch die Gabe einer 10%igen AS-Lösung ließ sich in der VHC-AS Gruppe reproduzieren. Diese Steigerung im Verlauf der Hauptperioden ist eindeutig auf die Gabe der AS-Lösung zurückzuführen. Das UV und die U<sub>Na</sub>V stiegen ebenfalls stark an, was nicht allein auf die Steigerung der GFR zu beziehen ist. Dopamin, welches in den Zellen des proximalen Tubulus aus Vorstufen gebildet wird, interagiert hier möglicherweise mit verschiedenen Rezeptorarten. Dies lässt sich noch deutlicher an der FE<sub>Na</sub> als Maß der tubulären Funktion ablesen. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen in anderen Studien, in welchen ein Zusammenhang mit der Gabe von Aminosäuren und der U<sub>Na</sub>V gefunden wurde (Mühlbauer et al., 1997b et 1997c).

In der BSF(I)-Gruppe stieg die GFR in der Hauptperiode nur unwesentlich an. Dies bedeutet eine deutliche Hemmung der glomerulären Hyperfiltration durch Antagonisierung des D<sub>3</sub>-Rezeptors, wobei unklar bleibt, ob hier ausschließlich periphere D<sub>3</sub>-Rezeptoren ausschlaggebend sind, oder ob sich eine Unterdrückung zentraler Einflüsse addiert. Das UV erhöhte sich jedoch stärker als in der VHC-AS Gruppe. Das U<sub>NaV</sub> und die FE<sub>Na</sub> stiegen ebenfalls deutlich an. Hier spielen offensichtlich tubuläre Resorptionsvorgänge eine Rolle, welche nicht nur über den D<sub>3</sub>-Rezeptorsubtyp vermittelt werden.

In der BSF(II)-Gruppe zeigte sich in früheren Versuchen, dass die Herzfrequenz (HF) bei hohen Dosierungen zu sehr absank (Eisel, 2001). Auch in der hier eingesetzten Dosierung lag die HF schon auf niedrigerem Niveau als in den anderen drei Gruppen, lag aber noch im physiologischen Bereich. Der GFR-Anstieg ließ sich durch die Gabe der AS-Lösung nicht vollständig hemmen. Dies kann an einer zu geringen Dosierung von BSF 135170 liegen oder an der ausschließlich peripheren Wirksamkeit. Die UV war schon basal erhöht, so dass ein hemmender Effekt schwer zu beurteilen ist, obwohl sich in der Hauptperiode nur noch ein geringer Anstieg zeigte. Ähnliches zeigte sich auch bei der U<sub>NaV</sub> sowie bei der FE<sub>Na</sub>. Für den geringen Hemmeffekt könnte wiederum die Dosierung verantwortlich sein. Als weitere Erklärung kann die ausschließlich periphere Wirkung von BSF 135170 dienen, die auch die Ergebnisse der BSF(I)-Gruppe stützt. Die geringere Hemmung auf die tubuläre Funktion stimmt mit den Ergebnissen von Eisel (2001) überein.

Wenn man aufgrund der Ergebnisse annimmt, dass die Hemmung von zentralen und peripheren Rezeptoren durch einen D<sub>3</sub>-Antagonisten eine weiterreichende Hemmwirkung besitzt als eine ausschließlich periphere Blockade, so kann gefolgert werden, dass die Hyperfiltration durch Aminosäuren auch einem zentralen Einfluss untersteht. Die GFR-Steigerung war durch BSF 201640 fast vollständig zu hemmen, während durch BSF 135170 die Hemmung weniger stark ausgeprägt war. Vergleichbare Ergebnisse wurden auf D<sub>2</sub>-Rezeptor-Ebene mit S(-)-Sulpirid und Domperidon erzielt (Luippold und

Mühlbauer, 1998a). Diese ähnlichen Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass die renale Hämodynamik peripheren als auch zentralen Einflüssen unterliegt. Eine ausschließlich zentrale Vermittlung ist angesichts der vorhandenen Beeinflussung nur peripher wirkender Antagonisten unwahrscheinlich.

Des Weiteren kann die stärkere Hemmwirkung von BSF 201640 durch eine effektivere Dosis begründet sein. Die Dosierung von BSF 201640 war angelehnt an vorige Versuchsreihen. In der vorliegenden Arbeit wurden keine weiteren Dosierungen geprüft. Es steht also offen, ob die Dosierungen äquieffektiv waren, genügend Rezeptoren zu inhibieren. Als weitere mögliche Ursache des stärkeren Hemmeffekts von BSF 201640 könnte diskutiert werden, dass teilweise andere Dopaminrezeptoren als der D<sub>2</sub>-Rezeptor besetzt werden. Die Affinität von BSF 201640 zu anderen Subtypen der D<sub>2</sub>-Subfamilie ist jedoch weitaus geringer als zum D<sub>3</sub>-Rezeptor (Zimmermann, 2001). Die Affinität von BSF 135170 zum D<sub>3</sub>-Rezeptor ist 50mal höher als zum D<sub>2</sub>-Rezeptor (Luippold et al., 2001c). Somit ist von einer weitgehend selektiven D<sub>3</sub>-Rezeptorbesetzung auszugehen.

Die Tatsache, dass sich bei D<sub>3</sub>-knockout Mäusen durch eine AS-Lösung keine GFR-Steigerung erzielen ließ (Luippold et al., 2000b), unterstützt die Ergebnisse dieser Versuchsreihen. Dies spricht für eine wesentliche Beteiligung des D<sub>3</sub>-Rezeptors an der glomerulären Hyperfiltration durch Aminosäuren. Zu klären bleibt die Höhe der benötigten Dosis eines Antagonisten am peripheren glomerulären D<sub>3</sub>-Rezeptor und ob auch hier unterschiedliche Rezeptoren vermittelnd wirken.

## 4.2 Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die glomeruläre Hyperfiltration durch 7-OH-DPAT

Um die Einflüsse des Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptors auf die renale Hämodynamik und die tubuläre Funktion näher zu untersuchen, wurde in einer zweiten Versuchsgruppe der selektive D<sub>3</sub>-Rezeptoragonist R(+)-7-hydroxy-dipropylaminotetralin (7-OH-DPAT) mit der Dosierung 1,0 µg/kg/min verabreicht.

Die Selektivität von 7-OH-DPAT für den D<sub>3</sub>-Rezeptor wurde schon in mehreren Studien untersucht. Die durch diesen Agonisten ausgelösten renalen Effekte ließen sich durch U99194A, einem zentral und peripher wirkendem D<sub>3</sub>-Antagonisten, vollständig hemmen. S(-)-Sulpirid hatte, als D<sub>2</sub>-Antagonist keinen Einfluss darauf (Luippold et al., 1998c; Luippold et al., 1999a). Versus dem D<sub>2</sub>-Rezeptor soll 7-OH-DPAT eine 35fach (Freedman et al., 1994a) beziehungsweise 100fach (Kurashima et al., 1995) höhere Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor besitzen. Andererseits gibt es Veröffentlichungen, die Vorbehalt über die Selektivität von 7-OH-DPAT äußern und unter verschiedenen Bedingungen eine Bindung an weiteren Rezeptorsubtypen für möglich halten (Freedman et al., 1994b).

Um die Zuordnung der 7-OH-DPAT-Effekte zu dem D<sub>3</sub>-Rezeptor zu manifestieren, wurde versucht, die durch 7-OH-DPAT erzielten in vivo Effekte durch den noch selektiveren D<sub>3</sub>-Agonisten PD 128,907 zu reproduzieren. Dieser Agonist wird mit einer 54fach (Sautel et al., 1995) bis 940fach (Patel et al., 1995) höheren Affinität zum D<sub>3</sub>-Rezeptor versus dem D<sub>2</sub>-Rezeptor angegeben. Bei einer Dosierung von 1,0 µg/kg/min zeigte sich ebenfalls eine Erhöhung der GFR sowie eine gesteigerte Diurese und Natriurese. Die ausgelösten Veränderungen ließen sich durch den peripher wirkenden D<sub>3</sub>-Antagonisten BSF 135170 vollständig hemmen (Eisel, 2001). Diese Befunde sprechen für eine hohe Selektivität von 7-OH-DPAT bezüglich des D<sub>3</sub>-Rezeptors in der Niere. Somit wurden die hier beobachteten renalen Auswirkungen als vorwiegend über den D<sub>3</sub>-Rezeptor vermittelt angesehen.

7-OH-DPAT beeinflusst die Niere sowohl in der glomerulären als auch tubulären Funktion. In vorangegangenen Studien wurde durch diesen Agonisten

eine dosisabhängige Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) bis zu 20 % erreicht. Das Urinvolumen (UV) stieg um mehr als die Hälfte an. Die Natriumausscheidung ( $U_{Na}V$ ) erhöhte sich ebenfalls. Die bewirkte Steigerung der fraktionellen Natriumausscheidung ( $FE_{Na}$ ) lässt auf tubuläre Effekte von 7-OH-DPAT schließen (Luippold et al., 1998c). Durch die jetzigen Versuche wurde untersucht, inwiefern die vermittelten Änderungen der glomerulären und tubulären Funktion durch 7-OH-DPAT vom  $D_3$ -Rezeptor ausgehen und inwieweit sie sich zentralen oder peripheren Ursprungs zuordnen lassen. Hierzu wurde den Tieren vor der 7-OH-DPAT Gabe der peripher und zentral wirksame  $D_3$ -Antagonist BSF 201640 und der nur peripher wirksame  $D_3$ -Antagonist BSF 135170 verabreicht.

7-OH-DPAT verursachte eine deutliche Steigerung der GFR und des UV. Nach einer Blockade des  $D_3$ -Rezeptors durch einen der beiden Antagonisten war dies nicht mehr zu erzielen. Die ausgelöste Natriuresis ließ sich nicht im vollen Umfang blockieren. Dies zeigte sich ebenso bei der  $FE_{Na}$  als Maß für die tubuläre Funktion.

In der VHC-DPAT Gruppe ließen sich die aus bisherigen Versuchen bekannten Effekte von 7-OH-DPAT reproduzieren. Die Dosierung wurde so gewählt, dass eine Wirkung auf die Niere erreicht wurde und gleichzeitig wenig systemische Nebenwirkungen auftraten (Luippold et al., 1998c). Die GFR- und UV-Steigerung war eindeutig und auf 7-OH-DPAT zurückzuführen. Die Erhöhung der  $FE_{Na}$  zeigt, dass dieser Agonist auch auf die tubuläre Funktion Einfluss nimmt. Dies heißt, dass der  $D_3$ -Rezeptor sowohl die glomeruläre Funktion als auch tubuläre Transportvorgänge beeinflusst.

Bezogen auf die VHC-CON Gruppe bestand eine Abweichung der HF. Diese war bereits in der Versuchsperiode niedriger. Der MAP blieb dagegen stabil. Daraus resultiert, dass die Nierendurchblutung entweder konstant blieb oder abnahm. Da eine Zunahme der GFR zu beobachten war, ist von einer vermehrten glomerulären Durchblutung, z.B. durch intrarenale Autoregulation,

auszugehen. Damit sind Ursachen der Diurese vermutlich glomerulären Ursprungs. Luippold et al., (2000) folgerten durch die Stabilität des MAP ebenfalls ausschließlich intrarenal ausgelöste glomeruläre und tubuläre Effekte durch 7-OH-DPAT. Wie schon früher gezeigt, nimmt der RBF durch Gabe dieses  $D_3$ -Agonisten ab (Luippold et al., 2000). Zum einen kann durch ein Absinken der HF eine verminderte Nierendurchblutung resultieren. Vor allem marknahe Nephrone sind, da diese weniger autoreguliert werden (Sibernagl, 1996), vermehrt vom systemischen Blutdruck abhängig. Zum anderen wäre eine schon postulierte präglomeruläre Vasokonstriktion eine mögliche Erklärung für die Abnahme des RBF (Luippold et al., 2000).

Durch die Gabe von BSF 201640 in der BSF(I)-DPAT Gruppe konnten die glomerulären und tubulären Effekte von 7-OH-DPAT abgeschwächt werden. Im Vergleich zu den Tieren, denen die AS-Lösung infundiert wurde, stellt sich die Frage, ob 7-OH-DPAT zusätzlich über andere Rezeptoren der  $D_2$ -Subfamilie wirkt, da die ausgelösten Effekte nicht vollständig zu hemmen waren. Eine mögliche Erklärung dafür wäre die Besetzung anderer Dopaminrezeptoren durch diesen Agonisten (Levesque, 1996).

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in der BSF(II)-DPAT Gruppe, in der versucht wurde, der Stimulation der  $D_3$ -Rezeptoren durch 7-OH-DPAT mit BSF 135170 entgegenzuwirken. Der auch hier beobachtete Abfall der HF entsprach vom Betrag her dem der anderen beiden Gruppen. Es scheint sich hier also ungewöhnlicherweise um additive blutdrucksenkende Effekte von BSF 135170 und 7-OH-DPAT zu handeln. Die Basalwerte der glomerulären und tubulären Effekte lagen über denen der Kontrollgruppe. Die GFR und das UV fielen jedoch in den Versuchsperioden wieder ab. Somit ist hier ebenfalls, trotz des initial erhöhten Wertes, ein Hemmeffekt durch den  $D_3$ -Antagonisten zu erkennen. Somit blieb auch hier ein Anstieg durch 7-OH-DPAT aus. Stärker erhöht waren basal die  $U_{Na}V$  und die  $FE_{Na}$ . Die weitere Steigerung dieser Parameter konnte durch BSF 135170 nicht unterdrückt werden, obwohl sie nicht adäquat zu den Änderungen der VHC-DPAT Gruppe sind. Diese tubulären

Änderungen sind offensichtlich durch 7-OH-DPAT an anderen Rezeptoren vermittelt. Die Hauptperioden zeigten in dieser Gruppe größere Steigerungen der  $FE_{Na}$  durch 7-OH-DPAT. Zum einen kann dies wiederum daran liegen, dass die Besetzung der  $D_3$ -Rezeptoren durch den Antagonisten dazu führt, dass 7-OH-DPAT vermehrt an anderen Dopaminrezeptoren wirkt. Andererseits kann es an der zentralen wie auch peripheren Wirksamkeit von 7-OH-DPAT liegen, da hier nur periphere Rezeptoren geblockt wurden.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Effekte von 7-OH-DPAT über Dopamin- $D_3$ -Rezeptoren vermittelt werden. Dass 7-OH-DPAT eine zentrale und periphere Wirkung entfaltet, konnte in Bezug auf die glomeruläre Funktion durch die zwei Antagonisten nachvollzogen werden. Auch stützen diese Beobachtungen die These, dass der  $D_3$ -Rezeptor eine hauptsächliche Rolle bei der Regulation der renalen Hämodynamik spielt. Die Ergebnisse legen auch nahe, dass tubuläre Resorptionsvorgänge über mindestens zwei dopaminerge Rezeptor-subtypen reguliert werden. Die Salzausscheidung, besonders die  $FE_{Na}$ , zeigte sich durch eine zentrale Blockierung weniger beeinflusst. Somit könnten zentrale Einflüsse auf die renale Hämodynamik denkbar sein, während sie bei der Regulation der tubulären Funktion eher eine untergeordnete Rolle zu spielen scheinen.

### 4.3 Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die isotone Volumenexpansion

Durch Volumenexpansion werden physiologische Regelkreise aktiviert. In Abhängigkeit von der absoluten Menge der infundierten Infusionslösung erfolgt eine Erhöhung bestimmter Parameter, wie der GFR, des UV und der  $U_{NaV}$  (Sonnenberg, 1976).

Mit den vorliegenden Versuchen sollte zunächst die Erhöhung dieser Ausscheidungsvariablen nach Infusion einer isotonen Natriumchloridlösung reproduziert und durch Dopaminantagonisten moduliert werden. In vorangegangenen Studien wurde die Beteiligung des dopaminergen Systems vor allem in unteren Bereichen einer Volumenexpansion beobachtet (Hansell und Fasching, 1991). Das Ausmaß der Volumenexpansion wurde aus diesem Grund auf ein weitgehend physiologisches Maß beschränkt.

Durch die isotone Volumenexpansion ließ sich im Vergleich zur VHC-CON Gruppe eine deutliche Diurese auslösen, welche im Versuchsverlauf auf stabilem Niveau blieb. Der deutliche Anstieg der Diurese in der VHC-VE Gruppe ist eindeutig eine renale Reaktion auf die akute Volumenüberladung. Beide D<sub>3</sub>-Antagonisten minderten die Urinausscheidung gleichermaßen. Die GFR zeigte trotz der Steigerung des Intravasalvolumens keine Abweichung vom Basiswert. Verspohl (1990) beschrieb ebenfalls, dass die Steigerung der GFR durch eine VE nicht immer reproduzierbar ist, während sich eine Natriurese immer einstellte. Eine Natriurese war durch die Volumenbelastung in den hier beschriebenen Versuchen ebenfalls zu beobachten. Der Hemmeffekt durch die beiden D<sub>3</sub>-Antagonisten zeigte eine unterschiedliche Charakteristik.

Die Behandlung mit dem D<sub>3</sub>-Antagonisten BSF 201640 zeigte eine eindeutige Hemmung der expansionsbedingten Diurese. Ein ähnlicher Effekt war auch schon in Vorversuchen bei 3-wöchiger Behandlung mit diesem Antagonisten erkennbar (Zimmermann, 2001). Vor allem war der starke initiale Anstieg in der ersten Versuchsperiode gemindert. Dies würde für ein dopaminerges System

sprechen, welches schnell auf Volumenänderungen reagiert. Anfänglich bewegt sich die Volumenzufuhr im moderaten Bereich, an dessen Kompensation Dopaminrezeptoren beteiligt sein sollen (Hansell und Fasching 1990). Durch die Blockade der  $D_3$ -Rezeptoren könnte eine verminderte Ausscheidung zu einer Kumulation des zugeführten Volumens führen. Zu überlegen ist, ob die weiteren Regulationsmechanismen einer VE von ihrem Ausmaß abhängig sind. Der beobachtete weitere Anstieg des UV spricht für ein Greifen zusätzlicher Kompensationsmechanismen. Eine zweite Möglichkeit könnte darin bestehen, dass die verwendete Dosierung des Antagonisten nicht ausreichend war. Eine zentrale Wirkung auf eine Volumengabe bestätigt sich auch in der BSF(II)-Gruppe nicht. Naheliegend ist eine verminderte Ausschüttung von Renin und eine verminderte Salzretention über das RAA-System. Bei der  $FE_{Na}$  war ebenfalls in den ersten beiden Hauptperioden eine abgeschwächte Reaktion zu erkennen. Im weiteren Verlauf stiegen diese jedoch an. Somit ist es wahrscheinlich, dass durch die Rezeptorblockade die tubuläre Antwort auf die Volumengabe abgeschwächt wurde.

In der dritten Versuchsgruppe wurde mit dem nur peripher wirksamen  $D_3$ -Antagonisten BSF 135170 vorbehandelt. Der Verlauf des UV war analog der BSF(I)-Gruppe den gesamten Versuch über abgeschwächt. Der vermutete Einfluss zentraler Dopaminrezeptoren wird durch diese Ergebnisse weniger wahrscheinlich. Die Steigerung der gesamten Ausscheidungsparameter verlief kontinuierlich anstatt sprunghaft. Die  $U_{NaV}$  und die  $FE_{Na}$  stiegen schwächer an und waren durchgängig stabil. Ein stufenhafter Anstieg wie in der BSF(I)-Gruppe war also nicht zu beobachten. Nicht eindeutig ist, warum der Anstieg nicht größer war als in der BSF(I)-Gruppe. Die verminderte Potenz von BSF 135170 ließe sich, wie oben bereits erläutert, durch die nur periphere Wirksamkeit oder durch die nicht äquieffektive Dosierung erklären. Die ausschließlich periphere  $D_3$ -Blockade durch BSF 135170 könnte zu einer relativ höheren renalen Konzentration des Antagonisten führen und so die Folgen einer VE durch endogenes Dopamin kompensieren.

Wie groß der Einfluss ist, den die einzelnen Rezeptorsubtypen besitzen, ist noch ungeklärt. Hedge et al. (1989) konnte durch eine Rezeptorblockade des D<sub>1</sub>-Rezeptors die Diurese und Natriurese abschwächen und postulierte, dass endogenes Dopamin während einer Volumenexpansion über D<sub>1</sub>-Rezeptoren wirkt. Hansell und Fasching (1990) beobachteten ebenfalls eine stärkere Blockade durch SCH 23390 als durch den eher an Rezeptoren der D<sub>2</sub>-Familie wirksamen Antagonisten Haloperidol. In sehr frühen Versuchen an Hunden konnte überhaupt keine blockierende Wirkung durch Haloperidol auf eine akute Volumenzufuhr beobachtet werden (Carrière et al., 1978). Die durchaus vorhandene Hemmwirkung der D<sub>3</sub>-Antagonisten bei den vorliegenden Versuchen macht die geforderte funktionelle Monopolstellung des D<sub>1</sub>-Rezeptors unwahrscheinlich.

Deckungsgleich mit bisherigen Beobachtungen sind diese Ergebnisse, was die Theorie einer Beteiligung des dopaminergen Systems an einer VE im physiologischen Bereich angeht, wie durch Hansell und Fasching (1990) beschrieben. Sehr wahrscheinlich ist deshalb von einer Kooperativität mehrerer Regelkreise auszugehen. Dabei ist es denkbar, dass diese unterschiedlich, abhängig vom Ausmaß der VE bei der Gegenregulation beteiligt sind. Sicherlich ist von einer Verknüpfung mit dem RAA-System auszugehen. Neue Aspekte liefert die Beteiligung des D<sub>3</sub>-Rezeptors, da bisher eine hauptsächliche Vermittlung durch den D<sub>1</sub>-Rezeptor postuliert wurde. Möglicherweise sind hier beide Rezeptorsysteme ausschlaggebend.

Ein bisher ungeklärter Punkt ist die funktionelle Verknüpfung der Volumenexpansion mit dem Dopaminrezeptor. Viele Arbeiten diskutierten als erste Reaktion des Organismus auf eine erhöhte Infusionsrate die Ausschüttung von ANF (Hirth et al., 1986; Khraibi et al., 1987). ANF besitzt eine Reihe biologischer Wirkungen, es bewirkt eine Erhöhung der Natriurese und der Diurese und senkt unter anderem dadurch den Blutdruck (Khraibi et al., 1987; Verspohl, 1990). ANF besitzt die Eigenschaft eine GFR-Erhöhung herbeizuführen, ohne dabei die Nierendurchblutung zu verändern. Dies ist durch eine präglomeruläre Vasodilatation und einer postglomerulären Vasokonstriktion möglich (Verspohl, 1990; Brenner et al., 1990). Strittig ist, ob

dies allein für die renale Antwort ausschlaggebend ist. Weitere Studien konzentrierten sich auf Dopamin als Teil der durch ANF ausgelösten hormonellen Kaskade und deren Wirkung auf die Niere. Frühe Studien mit Haloperidol als Dopaminantagonisten maßen der  $D_1$ -Subfamilie ein hauptsächlich Bedeutung am natriuretischen Effekt von ANF zu (Marin-Grez et al., 1985). Im Vergleich mit Metoclopramid, einem  $D_2$ -Antagonist und SCH 23390, einem  $D_1$ -Antagonist, verursachte eine  $D_2$ -Blockade im Gegensatz zur  $D_1$ -Blockade keinen Einfluss auf die ausgelöste Natriuresis (Marin-Grez et al., 1987). Dies spricht dafür, dass die Natriuresis hauptsächlich über den  $D_1$ -Rezeptor vermittelt wird.

Bei narkotisierten und wachen Tieren konnte Petterson et al., (1989) die Effekte von ANF durch eine Stimulation präsynaptischer  $D_2$ -Rezeptoren und Blockade von adrenergen  $\alpha_2$ -Rezeptoren abschwächen. Diese Ergebnisse lassen weiter auf eine Verknüpfung von ANF mit dem renalen dopaminergen System schließen und auf Verbindung mit einer Katecholaminwirkung. ANF könnte intrarenal die Freisetzung oder verstärkte Synthese bestimmter Katecholamine, vor allem Dopamin, bewirken. Denkbar ist auch, dass ANF einen Teil seiner Wirkungen direkt über ANF- oder Dopamin-Rezeptoren vermittelt (Hedge et al., 1989). Konträr dazu, dass ANF das einzige Bindeglied sein soll, verhält sich die Tatsache, dass ANF eine Steigerung der GFR bewirkt. Durch eine Volumenexpansion ist dies, wie in der vorliegenden Arbeit und weiteren Veröffentlichungen (Hedge et al., 1989), nicht immer nachvollziehbar. ANF soll durch präglomeruläre Vasodilatation und postglomeruläre Vasokonstriktion eine GFR-Steigerung herbeiführen, wobei die Nierendurchblutung dadurch nicht zunimmt (Brenner et al., 1990). Salazar et al. (1986) war schon vorher der Meinung, dass sich eine GFR-Steigerung erst durch eine vermehrte Ausschüttung von ANF einstellt. Wenn man davon ausgeht, dass ANF in niedrigen Dosierungen hauptsächlich eine tubuläre Wirkung ausübt, so ist dies konform mit den vorliegenden Ergebnissen.

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen im Einklang mit bereits veröffentlichten Arbeiten dafür, dass Dopamin an der renalen Antwort auf eine akute

Volumenbelastung beteiligt ist. Zusätzlich geben sie Hinweis darauf, dass nicht nur Rezeptoren der D<sub>1</sub>-Subfamilie daran beteiligt sind, sondern dass hier auch der D<sub>3</sub>-Rezeptor eine nicht unerhebliche funktionelle Stellung einnimmt.

#### **4.4 Der D<sub>3</sub>-Rezeptor und die glomeruläre Hyperfiltration durch exogenes Dopamin**

Die Wirkung endogenen Dopamins auf renale Dopaminrezeptoren wird durch die beobachtete funktionelle Änderung nach Gabe eines Agonisten nur teilweise wiedergegeben. Dies liegt vor allem an der unterschiedlichen Bindungsaffinität eines Agonisten zu einem bestimmten Rezeptorsubtyp. Aus diesem Grund ist es schwierig, die vermittelten Wirkungen einem spezifischen Rezeptor zuzuordnen. Durch die Gabe von exogenem Dopamin werden zunächst alle Rezeptorsubtypen stimuliert. Veränderungen an der Niere, die dadurch erzielt werden, dienen der Interpretation anderer Versuchsgruppen mit ähnlichen oder gleichen Veränderungen. Gelingt es nun, diese Effekte, die sich unter der Dopamingabe einstellen, durch einen selektiven Antagonisten abzuschwächen, sagt dies etwas über die qualitative und quantitative Beteiligung differenzierter Rezeptoren aus. Ferner können durch analoge Beobachtungen in anderen Versuchsgruppen während einer Rezeptorblockade Rückschlüsse auf die dort beteiligten Rezeptoren gezogen werden.

In dieser Arbeit wurde die Wirkung von exogenem Dopamin auf die Nierenfunktion mit und ohne D<sub>3</sub>-Rezeptorblockade untersucht, um Rückschlüsse auf die Beteiligung dieses Rezeptors ziehen zu können.

Bei den Versuchstieren war eine deutliche Zunahme der Urinausscheidung in Abhängigkeit der Dopamininfusion zu erkennen. Diese war von einer erhöhten Salzausscheidung begleitet. Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den Ergebnissen voriger Studien (Luippold et al., 1998). Die beiden verwendeten D<sub>3</sub>-Antagonisten zeigten keine Abschwächung dieser renalen Effekte.

Der MAP sowie die Herzfrequenz zeigten unter Dopamingabe nur minimale Schwankungen. Die Dosierung wurde so gewählt um eine ausschließliche Dopaminrezeptor-Stimulation ohne Aktivierung von adrenergen Rezeptoren zu erreichen. Erstaunlicherweise war die oft beschriebene GFR-Steigerung nicht

zu beobachten. Im Verlauf blieb diese weitgehend konstant. Missale et al. (1998) berichtete ebenfalls nicht von einer GFR-Erhöhung im unteren Dosisbereich. Das Urinvolumen hingegen zeigte ab der Hauptperiode einen starken Anstieg. Eine dopamininduzierte Natriurese war ebenfalls zu beobachten. Eine Wirkung exogen zugeführten Dopamins auf die Glomerulumfunktion wird hierdurch nicht bestätigt. Eine GFR-Steigerung unter Dopaminzufuhr wurde jedoch häufig beschrieben. Die Gründe dafür könnten die Verwendung anderer Dosierungen und einer Beteiligung adrenerger Rezeptoren sein (Mühlbauer et al., 1997c; Luippold et al., 1998). Intravasales Dopamin scheint seine Wirkung eher am tubulären Rezeptor zu entfalten und hier für eine verminderte Rückresorption von  $\text{Na}^+$ -Ionen zu sorgen. Es wurde allerdings beobachtet, dass die Gabe von L-Dopa die Dopaminausscheidung stark ansteigen lässt, im Unterschied zur Dopamininfusion die tubuläre Ausscheidung jedoch nicht erhöht (Mühlbauer et al., 1997c).

Die GFR in der BSF(I)-Gruppe blieb im Verlauf konstant. Das UV ließ durch die Rezeptorblockade keine Abschwächung erkennen. Die Natriurese zeigte bis zum Versuchsende keinen Abfall oder eine Plateauphase. Dieser höhere Anstieg der Ausscheidungsparameter in den BSF(I)-Gruppen gegenüber der VHC-DA Gruppe besitzt eventuell Artefaktcharakter. Ein Ausbleiben der Hemmwirkung an sich kann Zeichen für eine verstärkte Wirkung des exogenen Dopamins an anderen Rezeptoren, außer dem  $\text{D}_3$ -Rezeptor, sein. Versuche an Hunden zeigten, dass durch die Gabe eines Antagonisten der  $\text{D}_2$ -Familie im Gegensatz zu denen der  $\text{D}_1$ -Familie keine Abschwächung der Diurese und Natriurese durch exogenes Dopamin erreicht werden kann (Frederickson et al., 1985). Eine weitere Erklärung für diesen verstärkenden Effekt wäre eine vornehmliche  $\text{D}_1$ -Stimulierung durch Dopamin nach  $\text{D}_3$ -Blockade. Als Folge würden die basolaterale  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase als auch der apikale  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiport gehemmt werden. Die bisherigen Beobachtungen einer Einflussnahme des  $\text{D}_1$ -Rezeptors auf die tubuläre Funktion (Hedge et al., 1989; Aperia et al., 1994; Missale et al., 1998) wäre damit unterstützt. Ein Erklärungsansatz bietet auch die zentral wie periphere Wirkung des verwendeten Antagonisten. Es wurde

gezeigt, dass eine Stimulierung präsynaptischer zentraler  $D_3$ -Rezeptoren die Freisetzung von Noradrenalin sowie von Dopamin reduziert (Piercey et al., 1996). Durch eine Blockade dieser zentralen Rezeptoren könnte eine verstärkte Dopaminfreisetzung resultieren.

Bei der BSF(II)-Gruppe lagen die Werte der systemischen Hämodynamik auf niedrigerem Niveau. Vor allem zeigte sich dies an der Herzfrequenz. Analog zur BSF(I)-Gruppe stieg die Urinausscheidung fortwährend an. Keine hemmende Wirkung auf die dopaminbedingte Natriurese zeigte sich bei der  $U_{NaV}$ . Die  $FE_{Na}$  als tubuläre Variable war auch ansteigend, jedoch geringer als mit BSF 201640. Die Erklärungsansätze der BSF(I)-Gruppe sind hier ebenso gültig. Der Unterschied liegt vermutlich in der nur peripheren Wirksamkeit von BSF 135170 und der nicht äquieffektiven Dosierung. Die vermehrte Freisetzung endogenen Dopamins durch fehlenden zentralen Feedback-Mechanismus ist durch BSF 135170 nicht möglich, dies würde der beobachteten vermehrten tubulären  $Na^+$ -Rückresorption entsprechen. Eine Erklärung wäre auch hier die Stimulation anderer Rezeptorsubtypen, vornehmlich des apikalen und basolateralen  $D_1$ -Rezeptors.

## 4.5 Klinischer Bezug

### Diabetes mellitus

Eine der schwerwiegendsten Organschäden durch Diabetes mellitus ist die diabetische Nephropathie. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass neben der Hyperglykämie mehrere weitere Faktoren, wie z.B. Hypertonie, eiweißreiche Ernährung sowie Übergewicht diese renale Degeneration beschleunigen. Da sich der systemische Hypertonus bei fehlender Autoregulation in einer glomerulären Hypertonie äußert, wird davon ausgegangen, dass diese unter anderem ursächlich für die glomerulären Veränderungen ist. Die diabetische Nephropathie ist die häufigste Ursache für ein dialysepflichtiges Nierenversagen. Ob die dopaminergen Rezeptoren damit in Zusammenhang stehen, deuten mehrere Arbeiten der letzten Jahre an. Die Parallelität der aminosäurebedingten Hyperfiltration und die Hemmung durch Dopamin-Rezeptoren-Antagonisten legt dies nahe. Im Hinblick auf eine therapeutische Anwendung beim Menschen wurde in vorangehenden Studien unserer Arbeitsgruppe geprüft, ob die pharmakologische Inhibierung der D<sub>3</sub>-Rezeptoren zu einer Verminderung der pathophysiologisch relevanten glomerulären Hyperfiltration beim Diabetes mellitus führt. In der Tat konnte durch Blockierung der D<sub>3</sub>-Rezeptoren die Diabetes-bedingte Steigerung der GFR gehemmt werden, so dass der D<sub>3</sub>-Rezeptor als pharmakologisch manipulierbare Zielstruktur zur Behandlung der diabetischen Hyperfiltration in Frage kommt. Es zeigte sich somit, dass D<sub>3</sub>-Rezeptoren eine wichtige Rolle für die Regulation der glomerulären Filtrationsrate nicht nur unter physiologischen Bedingungen, sondern auch bei Krankheitszuständen, wie dem experimentellen Diabetes mellitus, spielen. Die klinische Implikation dieser Daten besteht in der Vorstellung, dass selektiv wirkende D<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten geeignet sein könnten, pathologischen Formen der glomerulären Hyperfiltration entgegenzuwirken.

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beteiligung des Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptors an der Regulation der Nierenfunktion untersucht. In 4 Versuchsgruppen wurden an narkotisierten männlichen Sprague Dawley Ratten unter physiologischen Bedingungen Clearance-Versuche durchgeführt. Die Nierenfunktion wurde durch die exogene Zufuhr einer 10%igen Aminosäurelösung, der Infusion von 7-OH-DPAT, einem selektiven D<sub>3</sub>-Agonisten sowie durch eine isotone Volumenexpansion und schließlich durch Verabreichung von Dopamin beeinflusst. Danach wurde untersucht, inwieweit die beobachteten Effekte durch D<sub>3</sub>-Antagonisten wie BSF 135170 und BSF 201640 moduliert werden. Es sollte somit die Beteiligung des D<sub>3</sub>-Rezeptors an der Veränderung der renalen Funktion nach Aminosäurezufuhr und nach isotoner Volumenexpansion geklärt werden. Durch die Zufuhr von exogenem Dopamin sollte der funktionelle Stellenwert des D<sub>3</sub>-Rezeptors innerhalb der Dopaminrezeptor-Familie beurteilt werden.

Die pharmakologische Aktivierung des D<sub>3</sub>-Rezeptors führte zu einer Steigerung der glomerulären Filtrationsrate und einer verstärkten Natriuresis. Die Ergebnisse legen daher nahe, dass dieser Rezeptor seine Wirkung nicht nur am Glomerulum entfaltet. Der Anstieg der fraktionellen Natriumausscheidung spricht für eine verminderte Natriumrückresorption im Tubulus. Eine D<sub>3</sub>-Rezeptorblockade konnte diese Effekte fast vollständig unterdrücken.

Die gleichen Beobachtungen wurden im Rahmen der Gabe einer Aminosäurelösung gemacht. Die aminosäurebedingte GFR-Steigerung war nach Rezeptorblockade wiederum aufgehoben. Die Diuresis und die Natriuresis waren jedoch nur im geringen Ausmaß abzuschwächen.

Durch eine Volumenexpansion wurde erwartungsgemäß die GFR wenig beeinflusst. Im Gegensatz dazu ergab sich eine massive Steigerung der Salzausscheidung und ein ebenso erhöhtes Urinvolumen. Vermutlich ist der D<sub>3</sub>-Rezeptor auch hierbei involviert, da der D<sub>3</sub>-Antagonist hier eine abschwächende Wirkung zeigte. Allerdings ist hier von einem komplexeren

Regelkreis mit mehreren nacheinander schaltenden Systemen auszugehen, da die Steigerung der Ausscheidungswerte lediglich verzögert war.

Durch die Gabe von exogenem Dopamin wurden die vorangehenden Beobachtungen bestätigt. Die hemmende Wirkung des D<sub>3</sub>-Antagonisten ließ sich bei der GFR-Messung zeigen. Die Blockade an tubulären D<sub>3</sub>-Rezeptoren wurde jedoch offensichtlich durch die Dopaminwirkung an weiteren Rezeptor-subtypen kompensiert, da sich kein Hemmeffekt erkennen ließ.

Diese Ergebnisse sprechen für eine Beteiligung des D<sub>3</sub>-Rezeptors an der Regulation der glomerulären Filtrationsrate sowie der Salzausscheidung.

## 6 Literaturverzeichnis

Adam WR, Adam BA. Production and excretion of dopamine by the isolated perfused rat kidney. *Renal Physiol* 8: 150-158, 1985

Akpaffiong MJ, Redfern PH, Woodward B. Factors affecting the release and excretion of dopamine in the rat. *J Pharm Pharmacol* 32: 839-843, 1980

Alvestrand A, Bergström J. Glomerular hyperfiltration after protein ingestion, during glucagon infusion, and in insulin-dependent diabetes is induced by a liver hormone: Deficient production of this hormone in hepatic failure causes hepatorenal syndrome. *The Lancet* 1: 195-197, 1984

Andersen PH, Gingrich JA, Bates MD, Dearry A, Falardeau P, Senogles SE, Caron MG. Dopamine receptor subtypes: beyond the D<sub>1</sub>/ D<sub>2</sub> classification. *Trends Pharmacol Sci* 11: 231-236, 1990

Aperia A, Holtbäck U, Syrén ML, Svensson LB, Fryckstedt J, Greengard P. Activation/deactivation of renal Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase : a final common pathway for regulation of natriuresis. *Faseb J* 8 : 436-439, 1994

Baines AD, Chan W. Production of urine free dopamine from dopa; a micro-puncture study. *Life Sci* 26: 253-259, 1980

Baines AD. Effects of salt intake and renal denervation on catecholamine catabolism and excretion. *Kidney Int* 21: 316-322, 1982

Baines AD, Drangova R, Hatcher C. Dopamine production by isolated glomeruli and tubules from rat kidneys. *Can J Physiol Pharmacol* 63 (2): 155-158, 1985

Baines AD, Drangova R. Neural not tubular dopamine increases glomerular rate in perfused rat kidneys. *Am J Physiol* 250: F674-F679, 1986

Ball SG, Lee MR. The effect of carbidopa administration on urinary sodium excretion in man. Is dopamine an intrarenal natriuretic hormone? *British J Clin Pharmacol* 4: 115-119, 1977

Ball SG, Gunn IG, Douglas IH. Renal handling of dopa, dopamine, norepinephrine, and epinephrine in the dog. *Am J Physiol* 242: F56-F62, 1982

Barendregt JN, Muizert Y, van Nispen tot Pannerden LL, Chang PC. Intrarenal production of dopamine and natriuresis following dopa and saline infusions in healthy human volunteers. *J Hum Hypertens* 9 (3): 187-194, 1995

Baylis C, Fredericks M, Wilson C, Munger K, Collins R. Renal vasodilatory response to intravenous glycine in the aging rat kidney. *Am J Kidney Dis* 15 (3): 244-251, 1990

Bell C, Lang WJ, Laska J. Dopamine containing vasomotor nerves in the dog kidney. *J Neurochem* 31: 77-83, 1978

Bello-Reuss E, Higashi Y, Kaneda Y. Dopamine decreases fluid reabsorption in straight portions of rabbit proximal tubule. *Am J Physiol* 242: F634-F640, 1982

Bertorello A, Aperia A. Inhibition of proximal tubule  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase activity requires simultaneous activation of  $\text{DA}_1$  and  $\text{DA}_2$  receptors. *Am J Physiol* 259: F924-F928, 1990

Brenner BM, Ballermann BJ, Gunning ME, Zeidel ML. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol Rev* 3: 665-699, 1990

Briggs JP, Steipe B, Schubert G, Schnermann J. Micropuncture studies of the renal effects of atrial natriuretic substance. *Pfluegers Arch* 395(4): 271-276, 1982

Burris KD, Pacheco MA, Filtz TM, Kung MP, Kung HF, Molinoff PB. Lack of discrimination by agonists for D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> dopamine receptors. *Neuropsychopharmacol* 12 (4): 335-345, 1995

Carrière S, Lalumière A, Daigneault A, De Champlain J. Sequential changes in catecholamine plasma levels during isotonic volume expansion in dogs. *Am J Physiol* 235(2): F119-F125, 1978

Castellino P, Levin R, Shohat J, DeFronzo RA. Effect of specific amino acid groups on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 258: F992-F997, 1990

Castro SW, Strange PG. Coupling of D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> dopamine receptors to G-Proteins. *FEBS Lett.* 315 (3): 223-226, 1993

Chagnac A, Gafter U, Zevin D, Hirsch Y, Markovitz I, Levi J. Enalapril attenuates glomerular hyperfiltration following a meat meal. *Nephron* 51: 466-469, 1989

Chamienia AL, Johns EJ. The influence of angiotensin II on the renal actions of atrial natriuretic peptides in the anaesthetized rat. *Birmingham Meeting B15 2TT: 87*, 1990

Chen C, Mitchell KD, Navar LG. Role of endothelium-derived nitric oxide in the renal hemodynamic response to amino acid infusion. *Am J Physiol* 263: R510-R516, 1992

Chen C, Lokhandwala MF. Inhibition of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in rat renal proximal tubules by dopamine involved DA-1 receptor activation. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 347: 289-295, 1993

Chio CL, Hess GF, Graham RS, Huff RM. A second molecular form of D<sub>2</sub> dopamine receptor in rat and bovine caudate nucleus. *Nature* 343: 266-269, 1990

Chio CL, Lajiness ME, Huff RM. Activation of heterologously expressed D<sub>3</sub> dopamine receptors: comparison with D<sub>2</sub> dopamine receptors. *Mol Pharmacol* 45: 51-60, 1994

Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 32: 281-307, 1993

Da Prada M, Zürcher G. Simultaneous radioenzymatic determination of plasma and tissue adrenaline, noradrenaline and dopamine within the femtomol range. *Life Sci* 19: 1161-1174, 1976

Dearry A, Gingrich JA, Falardeau P, Fremeau RT Jr, Bates MD, Caron MG. Molecular cloning and expression of the gene for a human D<sub>1</sub> dopamine receptor. *Nature (Lond)* 347: 72-76, 1990

DeSanto N, Capasso G, Anastasio P, Coppola S, De Tommaso G, Coscarella G, Bellini L, Spagnuolo G, Barba G, Lombardi A, Alfieri R, Iacone R, Strazzullo P. Renal handling of sodium after an oral protein load in adult humans. *Renal Physiol Biochem* 15: 41-52, 1992

Edwards RM. Response of isolated renal arterioles to acetylcholine, dopamine, and bradykinin. *Am J Physiol* 248: F183-F189, 1985

Eisel RG. Einfluß von peripheren Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptoren und intrarenalem Dopamin-Metabolismus auf die physiologische Regulation der Nierenfunktion. Dissertation, Tübingen 2001

El Sayed AA, Haylor J, El Nahas AM. Mediators of the direct effects of amino acids on the rat kidney. *Clin Sci* 81: 427-432, 1991

Felder CC, Campbell T, Albrecht F, Jose PA. Dopamine inhibits Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger activity in renal BBMV by stimulation of adenylate cyclase. *Am J Physiol* 259: F297-F303, 1990

Felder RA, Felder CC, Eisner GM, Jose PA. The dopamine receptor in adult and maturing kidney. *Am J Physiol* 257: F315-F327, 1989

Frederickson ED, Bradley T, Goldberg LI. Blockade of renal effects of dopamine in the dog by the DA<sub>1</sub> antagonist SCH 23390. *Am J Physiol* 249: F236-F240, 1985

Freedman S, Patel S, Marwood R, Emms F, Seabrook GR, Knowless MR, McAllister G. Expression and pharmacological characterization of the human D<sub>3</sub> dopamine receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 417-426, 1994a

Freedman JE, Waszczak BL, Cox RF, Lin JC, Greif GJ. The dopamine D<sub>3</sub> receptor and 7-OH-DPAT. *Trends Pharmacol Sci* 15: 173-174, 1994b

Gao DQ, Canessa LM, Mouradian MM, Jose PA. Expression of the D<sub>2</sub> subfamily of dopamine receptor genes in kidney. *Am J Physiol* 266: F646-F650, 1994

Giros B, Martres MP, Sokoloff P, Schwartz JC. Gene cloning of human dopaminergic D<sub>3</sub> receptor and identification of its chromosome. *C R Acad Sci III* 311(13): 501-508, 1990

Giros B, Martres MP, Pilon C, Sokoloff P, Schwartz JC. Shorter variants of the D<sub>3</sub> dopamine receptor produced through various patterns of alternative splicing. *Biochem Biophys Res Commun* 175: 1584-1591, 1991

Goldberg LI. Cardiovascular and renal actions of dopamine potential clinical applications. *Pharmacol Rev* 24: 1-23, 1972

Goldberg LI, Volkmann PH, Kohli JD. A comparison of the vascular dopamine receptors with other dopamine receptors. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 18: 57-79, 1978

Goldberg LI, Weder AB. Connections between endogenous dopamine, dopamine receptors and sodium excretion: evidence and hypotheses. *Rec Adv Clin Pharmacol*: 149-166, 1981

Hansell P, Fasching A, Sjoquist M, Anden NE, Ulfendahl HR. The dopamine receptor antagonist haloperidol blocks natriuretic but not hypotensive effects of the atrial natriuretic factor. *Acta Physiol Scand* 130(3): 401-407, 1987

Hansell P, Fasching A. The effect of dopamine receptor blockade on natriuresis is dependent on the degree of hypervolemia. *Kidney Int* 39: 253-258, 1991

Hansell P, Odland C, Mannistö PT. Different renal effects of two inhibitors of catechol-O-methylation in the rat: Entacapone and CGP 28014. *Acta Physiol Scand* 162: 489-494, 1998

Hartupée DA, Trapani AJ, Koepke JP, Blaine EH. Role of nerves in the Potentiation of atriopeptin-induced natriuresis by vasopressin. *Circ Res* 64: 370-375, 1989

Hayashi M, Yamaji Y, Kitajima W. Effects of high salt intake on dopamine production in rat kidney. *Am J Physiol* 260: E675-E679, 1991

Hedge SS, Lokhandwala MF. Involvement of cyclic-AMP in the hypotensive response to fenoldopam but not to quinpirole in the anesthetized rat. *J Auton Pharmacol* 2: 63-68, 1988

Hedge SS, Jadhav AL, Lokhandwala MF. Role of kidney dopamine in the natriuretic response to volume expansion in rats. *Hypertension* 13: 828-834, 1989

Hedge SS, Lokhandwala MF. Stimulation of renal dopamine production during acute volume expansion requires the presence of intact vagi but not renal nerves. *Clin Exp Hypertens* 14: 1169-1187, 1992

Hirschberg RR, Zipser RD, Slomowitz LA, Kopple JD. Glucagon and prostaglandins are mediators of amino acid-induced rise in renal hemodynamics. *Kidney international* 33: 1147-1155, 1988

Hirth C, Stasch JP, John A, Kazda S, Morich F, Neuser D, Wohlfeil S. The renal response to acute hypervolemia is caused by atrial natriuretic peptides. *J Cardiovasc Pharmacol* 8: 268-275, 1986

Hostetter TH. Human renal response to meat meal. *Am J Physiol* 250: F613-F618, 1986

Jose PA, Raymond JR, Bates MD, Aperia A, Felder RA, Carey RM. The renal dopamine receptors. *J Am Soc Nephrol* 2: 1265-1278, 1992

Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277: 93-96, 1979

Khraibi AA, Granger JP, Burnett JC, Walker KR, Knox FG. Role of atrial natriuretic factor in the natriuresis of acute volume expansion. *Am J Physiol* 252: R921-R927, 1987

Kopin IJ, Metabolic degradation of catecholamins. The relative importance of different pathways under physiological conditions and after administration of drugs. In: Catecholamines (Blaschko HKF, Muscholl E) *Handbuch der Experimentellen Pharmakologie*, Vol 33. Springer-Verlag, Berlin: 271-282, 1972

Kopp U, Bradley T, Hjemdahl P. Renal venous outflow and urinary excretion of norepinephrine, epinephrine, and dopamine during graded renal nerve stimulation. *Am J Physiol* 244: E52-E60, 1983

Küster E, Mühlbauer B. Dopamine formed in the kidney is also released into the renal vein. *Pflügers Arch* 435: R87 (Abstract)

Kurashima M, Yamada K, Nagashima M, Shirakawa K, Furakawa T. Effects of putative dopamine D<sub>3</sub> receptor agonists, 7-OH-DPAT, and quinpirole, on yawning stereotypy, and body temperature in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 52 (3): 503-508, 1995

Lang F, Öttl I, Häussinger D, Deetjen P, Ahloulay M, Bankir L. Renal hemodynamic response to intravenous and oral amino acids in animals. *Semin Nephrol* 15: 415-418, 1995

Lee MR. Dopamine and the kidney. *Clin Sci* 62: 439-448, 1982

Levant B. The D<sub>3</sub> dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacol Rev* 49 (3): 231-252, 1997

Levesque D. Aminotetralin drugs and D<sub>3</sub> receptor functions. What may partially selective D<sub>3</sub> receptor ligands tell us about dopamine D<sub>3</sub> receptor functions?. *Biochem Pharmacol* 23: 508-511, 1996

Levi M. Further observations on the response of the glomerular filtration rate to glucagon: comparison with secretion. *Can J Physiol Pharmacol* 53: 81-85, 1975

Löffler G. Endokrine Gewebe II: Die schnelle Stoffwechselregulation. In: Löffler G, Petrides PE (Hrsg.). *Biochemie und Pathobiochemie*. 6.Aufl.; Springer, Berlin, Kap 28 S. 803, 1998

Löffler G. Endokrine Gewebe IV: Regulation des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes. In: Löffler G, Petrides PE (Hrsg.). *Biochemie und Pathobiochemie*. 6.Aufl.; Springer, Berlin, Kap 30 S. 868, 1998

Luippold G, Mühlbauer B. Dopamine D<sub>2</sub> receptors mediate glomerular hyperfiltration due to amino acids. *J Pharm Exp Ther* 286: 1248-1252, 1998a

Luippold G, Osswald H, Mühlbauer B. Renal effects of exogenous dopamine: modulation by renal nerves and dopamine receptor antagonists. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 358(4): 445-451, 1998b

Luippold G, Küster E, Joos TO, Mühlbauer B. Dopamine D<sub>3</sub> receptor activation modulates renal function in anesthetized rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 358: 690-693, 1998c

Luippold G, Küster E, Vallon V, Osswald H, Mühlbauer B. Dopamine D<sub>3</sub> receptors in the rat kidney: glomerular and tubular actions. *Nephrol Dial Transplant* 14 [Suppl 4]: 24-25, 1999a (Abstract)

Luippold G, Makri S, Osswald H, Mühlbauer B. Role of renal nerves in the dopamine D<sub>3</sub> receptor-induced renal changes in anesthetized rats. *Pluegers Arch Eur J Physiol* 437: R187, 1999b (Abstract)

Luippold G, Schneider S, Vallon V, Osswald H, Mühlbauer B. Postglomerular vasoconstriction induced by dopamine D<sub>3</sub> receptor activation in anesthetized rats. *Am J Renal Physiol* 278: F570-F575, 2000a

Luippold G, Pech B, Lemaire HG, Höger T, Gross G, Mühlbauer B. Absence of amino acid-induced glomerular hyperfiltration in dopamine D<sub>3</sub> receptor deficient mice. 2000b, (Abstract)

Luippold G, Schneider S, Stefanescu A, Benöhr P, Mühlbauer B. Dopamine D<sub>2</sub>-like receptors and amino acid-induced glomerular hyperfiltration in humans. *Br J Clin Pharmacol* 51: 415-421, 2001a

Luippold G, Beilharz M, Mühlbauer B. Reduction of glomerular hyperfiltration by dopamine D<sub>2</sub>-like receptor blockade in experimental diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 16: 1350-1356, 2001b

Luippold G, Zimmermann C, Mai M, Kloor D, Starck D, Gross G, Mühlbauer M. Dopamine D<sub>3</sub> receptors and salt-dependent hypertension. *J Am Soc Nephrol* 12: 2272-2279, 2001c

Luippold G, Pech B, Schneider S, Osswald H, Mühlbauer B. Age dependency of renal function in CD-1 mice. *Am J Physiol* 282: F886-F890, 2002a

Luippold G. Die Bedeutung der renalen Dopamin D<sub>3</sub>-Rezeptoren für die Physiologie und Pathophysiologie der Niere. Habilitation, Tübingen 2002b

Marin-Grez M, Briggs JP, Schubert G, Schnermann J. Dopamine receptor antagonists inhibit the natriuretic response to atrial natriuretic factor (ANF). *Life Sci* 36(22): 2171-2176, 1985 (Abstract)

Marin-Grez M, Angchanpen P, Gambaro G, Schnermann J, Schubert G, Briggs JP. Evidence for an involvement of dopamine receptors in the natriuretic response to atrial natriuretic peptide. *Klin Wochenschr* 65 Suppl 8: 97-102, 1987

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors from structure to function. *Physiol Rev* 78: 189-225, 1998

Matsumoto M, Hidaka K, Tada S, Tasaki Y, Yamaguchi T. Fulllength cDNA cloning and redistribution of human dopamine D<sub>4</sub> receptor. *Mol Brain Res* 29: 157-162, 1995

Méndez RE, López R, López G, Martí MS, Martínez-Maldonado M. Effects of dopamine-receptor antagonists and renal denervation on amino acid-induced hyperfiltration. *Am J Physiol* 261: F70-F75, 1991

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78: 189-225, 1998

Mühlbauer B, Osswald H. Feeding-induced increase in urinary dopamine excretion is independent of renal innervation and sodium intake. *Am J Physiol* 266: F563-F567, 1994a

Mühlbauer B, Hartenburg E, Osswald H. Renal response to amino acid infusion in rats: effect of dopamine receptor antagonists and benserazide. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 349: 244-249, 1994b

Mühlbauer B, Spöhr F, Schmidt R, Osswald H. Role of renal nerves and endogenous dopamine in amino acid-induced glomerular hyperfiltration. *Am J Physiol* 273: F144-F149, 1997a

Mühlbauer B, Mickeler C, Schenk F. Protein-induced increase in urinary dopamine in normal and diabetic rats: role of catecholamine precursors. *Am J Physiol* 273: R80-R85, 1997

Mühlbauer B, Gleiter CH, Gies C, Luippold G, Löschmann PA. Renal response to infusion of dopamine precursors in anaesthetized rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 356: 838-845, 1997c

Mühlbauer B, Küster E, Luippold G. Dopamine D<sub>3</sub> receptors in the rat kidney: role in physiology and pathophysiology. *Acta Physiol Scand* 168: 219-223, 2000

Mundel P, Bachmann S, Bader M, Fischer A, Kummer W, Mayer B, Kriz W. Expression of nitric oxide synthase in kidney macula densa cells. *Kidney Int* 42: 1017-1019, 1992

O'Connell DP, Vaughan CJ, Aherne AM, Botkin SJ, Wang ZQ, Felder RA, Carey RM. Expression of the dopamine D<sub>3</sub> receptor protein in the rat kidney. *Hypertension* 32: 886-895, 1998

O'Dowd BF. Structure of dopamine receptors. *J Neurochem* 60: 804-816, 1993

Ogawa T, Bruneau BG, Yokota N, de Bold ML, de Bold AJ. Tissue-specific regulation of renal and cardiac atrial natriuretic factor gene expression in deoxycorticosterone acetate salt rats. *Hypertension* 30: 1342-1347, 1997 (Abstract)

Patel S, Marwood R, Chapman KI, Emms F, Freedman SB. In vitro characterization of [<sup>3</sup>H]PD128,907 as a selective radioligand for the dopamine D<sub>3</sub> receptor. *Br J Pharmacol* 114, 347P, 1995

Petterson A, Hedner J, Hedner T. Relationship between renal sympathetic activity and diuretic effects of atrial natriuretic peptide (ANP) in the rat. *Acta Physiol Scand* 135: 323-333, 1989

Piercey MF, Hoffmann WE, Smith MW, Hyslop DK. Inhibition of dopamine neuron firing by pramipexole, a dopamine D<sub>3</sub> receptor-preferring agonist: comparison to other dopamine receptor agonists. *Eur J Pharmacol* 312 (1): 35-44, 1996

Premen AJ. Importance of the liver during glucagon-mediated increases in canine renal hemodynamics. *Am J Physiol* 249 : F319-F322, 1985

Rodewald M. Molekulare Wirkmechanismen des Zytokins MIF bei der Interaktion testikulärer Zellen. Dissertation, Marburg 2002

Rump LC, Wilde K, Bohmann C, Schollmeyer PJ. Effects of the novel dopamine DA<sub>2</sub>-receptor agonist carmoxirole (EMD 45609) on noradrenergic and purinergic neurotransmission in rat isolated kidney. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 345: 300-308, 1992

Salazar FJ, Fiksen-Olsen MJ, Opgenorth TG, Granger JP, Burnett JC, Romero JC. Renal effects of ANP without changes in glomerular filtration rate and blood pressure. *Am J Physiol* 251: F532-F536, 1986

Sanada H, Yao L, Jose PA, Carey RM, Felder RA. Dopamine D<sub>3</sub> receptors in rat juxtaglomerular cells. *Clin Exp Hypertens* 19 (1-2): 93-105, 1997

Sartania N, Strange PG. Role of conserved serine residues in the interaction of agonists with D<sub>3</sub> dopamine receptors. *J Neurochem* 72: 2621-2624, 1999

Sautel F, Griffon N, Levesque D, Pilon C, Schwartz JC, Sokoloff P. A functional test identifies dopamine agonists selective for D<sub>3</sub> versus D<sub>2</sub> receptors. *Neuroport* 6 (1): 329-332, 1995

Schwartz LB, Gewertz BL. The renal response to low dose dopamine. *J Surg Res* 45: 574-588, 1988

Seeman P, Van Tol HHM. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 15: 264-270, 1994

Seri I, Aperia A. Contribution of dopamine<sub>2</sub> receptors to dopamine-induced increase in glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 254: F196-F201, 1988

Shannon JA, Jolliffe N, Smith HW. The excretion of urine in the dog. IV. The effect of maintenance, diet, feeding, etc. upon the quantity of glomerular filtrate. *Am J Physiol* 101: 625-638, 1932

Silbernagl S. Die Funktion der Niere. In: Klinke R, Silbernagl S. *Lehrbuch der Physiologie*. 2.Aufl.; Thieme, Stuttgart, Kap 12 S. 292, 1996

Siragy HM, Felder RA, Howell NL, Chevalier RL, Peach MJ, Carey RM. Evidence that dopamine-2 mechanisms control renal function. *Am J Physiol* 259: F793-F800, 1990

Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Barthenet ML, Schwartz JC. Molecular cloning and characterisation of a novel dopamine receptor (D<sub>3</sub>) as a target for neuroleptics. *Nature* 347: 146-151, 1990

Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Andrieux M, Besancon R, Pilon C, Bouthenet ML, Souil E, Schwartz JC. Localization and function of the D<sub>3</sub> dopamine receptor. *Arzneimittelforschung* 42: 224-230, 1992

Sokoloff P, Schwartz JC. Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends Pharmacol Sci* 16: 270-275, 1995

Sonnenberg H. Collecting duct function in deoxycorticosterone acetate-escaped, normal, and salt deprived rats. Response to hypervolemia. *Circ Res* 39 (2): 282-228, 1976

Sonnenberg H. Effect of adrenalectomy on medullary collecting-duct function in rats before and during blood volume expansion. *Pfluegers Arch* 368 (1-2): 55-62, 1977

Sonnenberg H, Chong CK, Veress AT. Cardiac atrial factor – an endogenous diuretic? *Can J Physiol Pharmacol* 59 (12): 1278-1279, 1981

Sonnenberg H. Mechanisms of release and renal tubular action of atrial natriuretic factor. *Fed Proc* 45 (7): 2106-2110, 1986

Sowers JR, Crane PD, Beck FW, McClanahan M, King ME, Mohanty PK. Relationship between urinary dopamine production and natriuresis after acute intravascular volume expansion with sodium chloride in dogs. *Endocrinology* 115(6): 2085-2090, 1984

Stasch JP, Hirth C, Kazda S, Wohlfeil S. The elevation of cyclic GMP as a response to acute hypervolemia is blocked by a monoclonal antibody directed against atrial natriuretic peptides. *Eur J Pharmacol* 129 (1-2): 165-168, 1986

Steinhausen M, Weis S, Fleming J, Dussel R, Parekh N. Responses of in vivo renal microvessels to dopamine. *Kidney Int* 30 (3): 361-370, 1986

Steinhausen M, Blum M, Fleming JT, Holz FG, Parekh N, Weigman DL. Visualization of renal autoregulation in the split hydronephronic kidney of rats. *Kidney Int* 35: 1151-1160, 1989

Sunahara RK, Guan HC, O'Dowd BF, Seeman P, Laurier LG, George SR, Torchia J, Van Tol HH, Niznik HB. Cloning of the gene for a human dopamine D<sub>5</sub> receptor with higher affinity for dopamine than D<sub>1</sub>. *Nature* 350 (6319): 614-619, 1991

Suzuki H, Nakane H, Kawamura M, Yoshizawa M, Takeshita E, Saruta T. Excretion and metabolism of dopa and dopamine by isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 247: E285-E290, 1984

Tang L, Todd RD, Heller A, O'Malley KL. Pharmacological and functional characterization of D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> and D<sub>4</sub> dopamine receptors in fibroblast and dopaminergic cell lines. *J Pharmacol Exp Ther* 268 (1): 495-502, 1994a

Tang L, Todd RD, O'Malley KL. Dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptors inhibit dopamine release. *J Pharmacol Exp Ther* 270 (2): 475-479, 1994b

Thureau K. Renal hemodynamics. *Am J Med* 36: 698-719, 1994

Tolins JP, Raj L. Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics. Role of endothelium-derived relaxing factor. *Hypertens* 17 (6 Pt 2): 1045-1051, 1991

Trepel M. Zwischenhirn (Diencephalon). In: Trepel M. *Neuroanatomie (Struktur und Funktion)* 1. Aufl.; Urban & Schwarzenberg, München, Kap 8 S. 166, 1995

Undesser KP, Hasser EM, Haywood JR, Johnson AK, Bishop VS. Interaction of vasopressin with the area postrema in arterial baroreflex function in conscious rabbits. *Circ Res* 56: 410-417, 1985

Unger T, Buu NT, Kuchel O. Conjugated dopamine: peripheral origin, distribution and response to acute stress in the dog. *Can J Physiol Pharmacol* 58: 22-27, 1980

Vallar L, Muca C, Magni M, Albert P, Bunzow J, Meldolesi J, Civelli O. Differential coupling of dopaminergic D<sub>2</sub> receptors expressed in different cell types. *J Biol Chem* 265: 10320-10326, 1990

Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. Cloning of the gene for a human dopamine D<sub>4</sub> receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 350 (6319): 610-614, 1991

Vanrenterghem YFC, Verberckmoes RKA, Roels LM, Michielsen PJ. Role of prostaglandins in protein-induced glomerular hyperfiltration in normal humans. *Am J Physiol* 23: F463-F469, 1988

Veress AT, Sonnenberg H. Right atrial appendectomy reduces the renal response to acute hypervolemia in the rat. *Am J Physiol* 247 (3 Pt 2): R610-R613, 1984

Verspohl E. Atriale natriuretische Peptide: Entdeckung, Therapie- und Diagnosemöglichkeiten. *Med Mo Pharm* 4: 104-111, 1990

Wahbe F, Hagege J, Loreau N. Endogenous dopamine synthesis and dopa-decarboxylase activity in rat renal cortex. *Mol Cell Endocrinol* 27: 45-54, 1982

Wang ZQ, Siragy HM, Felder RA, Carey RM. Intrarenal dopamine production and distribution in the rat. Physiological control of sodium excretion. *Hypertension* 29 (1Pt2): 228-234, 1997

Woods LL, Mizelle HL, Montani JP, Hall JE. Mechanisms controlling renal hemodynamics and electrolyte excretion during amino acids. *Am J Physiol* 251: F303-F312, 1986

Woods LL. Mechanisms of renal hemodynamic regulation in response to protein feeding. *Kidney Int* 44: 659-675, 1993a

Woods LL. Mechanisms of renal vasodilation after protein feeding: role of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 264:R601-R609, 1993b

Yu PY, Eisner GM, Yamaguchi I, Mouradian MM, Felder RA, Jose PA. Dopamine D<sub>1A</sub> receptor regulation of phospholipase C isoforms. *J Biol Chem* 271: 19503-19508, 1996

Ziegler MG, Morrissey EC, Kennedy B, Elayan H. Sources of urinary catecholamines in renal denervated transplant recipients. *J Hypertens* 8 (10): 927-931, 1990

Zimmermann C. Die Bedeutung des Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptors in der Niere für die Entstehung der salzabhängigen Hypertonie. Dissertation, Tübingen 2001

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Tübingen.

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Oßwald für die Bereitstellung der Doktorandenstelle danken.

Für die unkomplizierte Darlegung der Thematik ist Herr Prof. Dr. Bernd Mühlbauer verantwortlich. Nicht zuletzt ist es ihm zu verdanken, dass ich mich für die familiäre Atmosphäre seiner Arbeitsgruppe entschieden habe.

Für die meist reibungslose Durchführung des praktischen Teils und die ständige Bereitschaft, sich für Fragen und Anliegen Zeit zu nehmen, bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. Gerd Luippold. Eigenen Ideen gegenüber war er stets aufgeschlossen und gab durch Diskussionen weitere Anregungen. Zudem leistete er große Hilfestellung bei der Literatursuche.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Swetlana Schneider. Ihre fast aufopfernde Bereitschaft, bei meiner Einarbeitung und während der Fortsetzung meiner Arbeit, sowie die Zurückdrängung eigener Belange, sofern dies möglich war, ließ mich immer wieder staunen. Unermüdlich sorgte sie für eine kollegiale Umgebung, während sie ebenfalls konstruktive Kritik übte. Danke.

Kerstin Richter danke ich für die Erläuterung der labortechnischen Arbeitsweisen.

Marie-Luise Stapf danke ich für die Durchsicht und Korrektur des formalen Inhalts.

Alexander Passaro danke ich für die Hilfestellung beim Layout.

Mitverantwortlich für das hauptsächlich gute Klima waren meine Kommilitonen, was dafür sorgte, dass die Arbeit in der Pharmakologie mehr ein Dürfen als ein Müssen war.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie Dank aussprechen. Sie hat während meiner Doktorarbeit und vor allem während meines Studiums immer an mich geglaubt und mich unterstützt.

## Lebenslauf

|                       |   |   |
|-----------------------|---|---|
| <b>Name:</b>          | Ralf Schäfer  |   |
| <b>Geboren:</b>       | 21.03.1975 in Ludwigsburg   |   |
| <b>Eltern:</b>        | Gerd Schäfer, kaufmännischer Angestellter<br>Rita Schäfer, geb. Schnalke, Verkäuferin               |   |
| <b>Schulbildung:</b>  | 1981-1985   | Grundschule in Remseck (Kreis Ludwigsburg)  |
|                       | 1985-1993   | Lise-Meitner Gymnasium in Remseck   |
|                       | 1993-1995   | Friedrich Schiller Gymnasium in Ludwigsburg   |
| <b>Berufsbildung:</b> | 1995-1996   | 1 Jahr Ausbildung zum Krankenpfleger  |
|                       | 1996-1997   | Freiwilliges Soziales Jahr an der Karlshöhe in Ludwigsburg  |
| <b>Studium:</b>       | 10/97-08/00   | Studium der Medizin, an der Hochschule in Rostock   |
|                       | 09/1999   | Ärztliche Vorprüfung (Physikum)   |
|                       | 09/2000   | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung   |
|                       | 10/00-04/04   | Studium der Medizin, an der Universität Tübingen  |
|                       | 01/01-03/02   | Experimentelle Doktorarbeit am Institut der Pharmakologie und Toxikologie der Universität Tübingen  |
|                       | 04/2003   | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  |
|                       | 04/03-04/04   | Praktisches Jahr: Klinikum Stuttgart, als Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen (Wahlfach: Anästhesie)   |
|                       | 04.05.2004  | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  |
| <b>Praktika:</b>      | 1998  | OP-Praktikum im Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart  |
| <b>Famulaturen:</b>   | 2000-2002   | Famulaturen in München (Traumatologie), Tübingen (Klinische Pharmakologie), Ludwigsburg (Kardiologie), Friedolfing (Chirurgie) und Reutlingen (Gastroenterologie) |
| <b>Sonstiges:</b>     | Tätigkeit als freier Journalist für das Redaktionsbüro Medizin & Wirtschaft in Schönaich            |   |
|                       | Regelmäßige Nachwachendienste auf der Kardiologie der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen |   |
|                       | Lehrtätigkeit im Fach Anatomie an der Altenpflegeschule der AWO in Böblingen                        |   |