

**Aus der Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**Direktor: Prof. Dr. med. L. C. Rump**

**Untersuchung zur Aldosteronresistenz nach  
Nierentransplantation in Abhängigkeit von Cyclosporin A**

**Dissertation**

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**

**Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität**

**Düsseldorf**

**vorgelegt von**

**Thuy Denise Rüther**

**2009**

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**gez: Univ.-Prof. Dr. med. J. Windolf**

**Referent: Prof. Dr. med. P. J. Heering**

**Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. R. Haas**

**Prof. Dr. med. M. Klein**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>4</b>
1.1	Nierentransplantation .....	4
1.2	Cyclosporin A (CsA) .....	5
1.2.1	Wirkung von Cyclosporin A .....	7
1.2.2	Nebenwirkungen von Cyclosporin A.....	8
1.3	Aldosteronresistenz.....	9
1.3.1	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) .....	10
1.3.2	Pseudohypoaldosteronismus .....	11
1.4	Zielsetzung der Studie.....	12
<b>2</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN</b> .....	<b>15</b>
2.1	Studiendesign.....	15
2.2	Patientenauswahl .....	15
2.3	Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems.....	17
2.3.1	Protokoll der Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems .....	17
2.3.2	Berechnung der Nettosäureausscheidung .....	18
2.4	Studienmedikation .....	19
2.4.1	Natriumsulfat .....	19
2.4.2	Fludrokortison (Astonin H®) .....	19
2.5	Methoden.....	20
2.5.1	Allgemeine Laborbestimmungen im Serum/Plasma (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, anorganisches Phosphat, Kreatinin, Harnstoff-N, Cortisol, Osmolalität) .....	20
2.5.2	Allgemeine Laborbestimmungen im Urin (Osmolalität, titrierbare Azidität, Ammonium, 24-Stunden-Sammelurin) .....	21
2.5.3	Säure-Basen-Haushalt (pH in Serum und Urin) .....	22
2.5.4	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) .....	22
2.5.5	Cyclosporin A .....	23
2.5.6	Endogene Kreatinin-Clearance (ECC) .....	24
2.5.7	Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG) .....	24
2.5.8	Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR) mittels Reverse Transkriptions-Polymere Kettenreaktion (RT-PCR).....	25
2.5.9	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) .....	27

2.6	Statistik .....	28
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>29</b>
3.1	Nierentransplantierte Patienten im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv (Gruppe A versus Gruppe B) .....	31
3.1.1	Allgemeine Laborbestimmungen .....	31
3.1.2	Säure-Basen-Haushalt .....	33
3.1.3	Aldosteron .....	34
3.1.4	Kreatinin .....	34
3.1.5	Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR).....	35
3.2	Gruppe A <sub>1</sub> : Nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose im Vergleich vor versus nach Fludrokortisongabe.....	37
3.2.1	Klinische Daten der untersuchten Patienten .....	37
3.2.2	Allgemeine Laborbestimmungen .....	38
3.2.3	Säure-Basen-Haushalt .....	40
3.2.4	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) .....	41
3.2.5	Nierenfunktion .....	42
3.2.6	Nettosäureausscheidung (NAE).....	44
3.2.7	Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG) .....	45
3.2.8	Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR).....	46
3.2.9	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) .....	47
3.3	Gruppe A <sub>2</sub> : Nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose im Vegleich vor versus nach Fludrokortisongabe .....	48
3.3.1	Klinische Daten der untersuchten Patienten .....	48
3.3.2	Allgemeine Laborbestimmungen .....	49
3.3.3	Säure-Basen-Haushalt .....	51
3.3.4	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) .....	52
3.3.5	Nierenfunktion .....	53
3.3.6	Nettosäureausscheidung (NAE).....	54
3.3.7	Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG) .....	55
3.3.8	Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR).....	56
3.3.9	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) .....	57

3.4	Gruppe A <sub>1</sub> versus Gruppe A <sub>2</sub> : Vergleich nierentransplan- tierter Patienten mit versus ohne metabolische Azidose (Klinische Daten, Kalium, Säure- Basen-Haushalt, RAAS, Nierenfunktion, NAE, TTKG, hMR) .....	58
3.4.1	Gruppe A <sub>1</sub> versus Gruppe A <sub>2</sub> Tag 1: Vergleich nierentransplan- tierter Patienten mit versus ohne metabolische Azidose vor Fludrokortisongabe .....	58
3.4.2	Gruppe A <sub>1</sub> versus Gruppe A <sub>2</sub> Tag 15: Vergleich nierentransplan- tierter Patienten mit versus ohne metabolische Azidose nach Fludrokortisongabe .....	65
3.5	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	71
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>74</b>
<b>5</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>82</b>
<b>6</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>91</b>
	<b>CURRICULUM VITAE</b> .....	<b>95</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>96</b>
	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>97</b>

## 1 Einleitung

### 1.1 Nierentransplantation

Die Idee der Organtransplantation, d.h. des Ersatzes eines Körperteils durch ein funktionsfähiges Organ oder Gewebe eines Spenders, ist schon Jahrhunderte alt. Aus dem 13. Jahrhundert stammt die erste Schilderung von Jacobus de Voragine, in der die heiligen Zwillingbrüder Kosmas und Damian ein Bein eines Verstorbenen auf das eines Geistlichen mit bösartigem Wachstum am Unterschenkel übertrugen. Weitere Versuche von menschlichem Gewebersatz ziehen sich durch die nachfolgenden Jahrhunderte. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts setzte eine stürmische Entwicklung der Transplantationschirurgie ein, als Ullmann und Carell 1902 die ersten Nierentransplantationen gelangen. Die erste experimentelle Nierentransplantation wurde vom Österreicher Emerich Ullmann in Wien an einem Hund durchgeführt. Die Urinproduktion hielt sich über fünf Tage. Nach diesen zunächst technisch gelungenen Nierentransplantationen folgten 1906 erste experimentelle Versuche der Übertragung der Nierentransplantation vom Tier auf den Menschen im Krankenhaus Hôtel-Dieu in Lyon durch Mathieu Jabouly. Diese Operationen scheiterten wegen der kurzen Transplantat-Überlebenszeit, genauso wie die experimentellen Transplantationen Ernst Ungers an der Rudolph-Virchow-Klinik in Berlin. 1933 gelang die erste Nierentransplantation mit Hilfe eines verstorbenen Spenders durch Y. Y. Voronoy in Kiew, Ukraine. Die Empfängerin überlebte vier Tage. In seinen experimentellen Studien kam Voronoy zu dem Ergebnis, dass die organische Abstoßung als ein immunologisches Ereignis zu betrachten sei. Die Spenderniere funktionierte zu keiner Zeit. Die Medizin war erst in den 50er Jahren von immunbiologischer Seite her gerüstet, Organverpflanzungen durchzuführen. Die erste erfolgreiche Nierentransplantation führte 1954 Joseph Murray in Boston bei eineiigen Zwillingen durch (Schlich 1998, Eckart 2005). Trotz aller Fortschritte auf chirurgisch technischem Gebiet und trotz der Entwicklung von Immunsuppressiva wird die klinische Anwendung der Organverpflanzung weiterhin vorwiegend begrenzt durch die

immunbiologischen Abstoßungsreaktionen des Empfängerorganismus und den Nebenwirkungen der Immunsuppressiva.

Es gibt noch kein optimales Therapieschema bezüglich der Immunsuppression in der Nierentransplantation. Die gängigsten Immunsuppressiva sind z.Z. Kortikosteroide, Azathioprin oder Mycophenolat Mofetil (MMF) und Cyclosporin A oder Tacrolimus. Rapamycin (Sirolimus) wird mehr und mehr eingesetzt (Carpenter 1990, Heldermaun 1994, Denton 1999, Halloran 2004). Z.Z. erhalten die meisten nierentransplantierten Patienten eine Dreierkombination von Immunsuppressiva (so auch in vorliegender Studie) mit einem Calcineurin-Inhibitor wie Cyclosporin A, Mycophenolat Mofetil (MMF) und Prednison als Kortikosteroid (Wong 2005).

### **1.2 Cyclosporin A (CsA)**

Die Entdeckung von Cyclosporin A begann im Sommer 1969 und damit begann eine neue Ära der Transplantationsforschung. In jenem Jahr wurden erstmals Bodenproben aus der Hardangger-Region in Norwegen nach Basel in das Mikrobiologie-Labor von Sandoz gebracht. In Basel wurden die Bodenkrümel routinemäßig aufgearbeitet. Es ließen sich Pilzstämme isolieren, die auf antibiotische oder antihelminthische Substanzen getestet wurden. Einer der Stämme war der Bodenzpilz *Tolypocladium inflatum*. Er produziert zyklische Polypeptide und weist eine Wirkung gegen Bakterien auf. Der Wirkstoff Cyclosporin A (CsA) war gefunden.

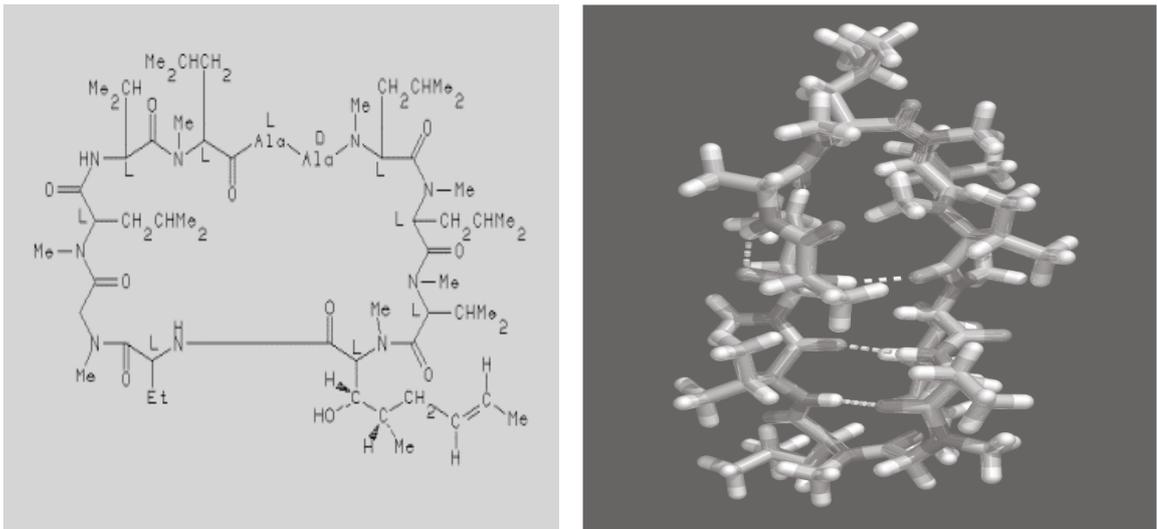


Abbildung 1: Strukturformeln von Cyclosporin A.

Auch heute noch wird die Substanz durch Fermentation aus diesem Pilz gewonnen. Das Medikament wurde in den achtziger Jahren in die Klinik eingeführt und spielt seitdem eine bedeutende Rolle bei der Immunsuppression nach Organtransplantationen (Calne 1979, Perez-Rojas 2005). Cyclosporin A löste damals die gängige Immunsuppressionskombination mit Azathoprin und Steroiden ab, nachdem die bessere Wirkung von Cyclosporin A in verschiedenen Studien nachgewiesen werden konnte (Canadian Group 1986, Ponticelli 1988, Opelz 2001). Neben der Verwendung in der Transplantationsmedizin wie z.B. bei Knochenmarkstransplantationen (Fleming 1997) hat Cyclosporin A im letzten Jahrzehnt zunehmend Bedeutung in der Therapie verschiedener Autoimmunerkrankungen gewonnen. Als Beispiel hierfür seien die rheumatoide Arthritis, Psoriasis, Uveitis (Aguilera 1992), Myasthenia gravis, Sjögren-Syndrom und verschiedene Glomerulonephritiden genannt (Feutren 1992, Mihatsch 1988, Zietze 1988, Vercauteren 1998).

CsA besteht aus elf Aminosäuren. Als lipophiles Endecapeptid liegt Cyclosporin A als Microemulsion (Neoral ®) und als Gelatin (Sandimmun ®) vor. Die intravenöse Anwendung ist somit nur möglich mit einem Stabilisator wie Castor (Cremophor) oder Olivenöl. Die Bioverfügbarkeit der oral zugeführten Menge CsA beträgt etwa 30%. Abgebaut wird Cyclosporin A über das Enzym Cytochrom p450. Die Halbwertszeit des Abbaus beträgt 6,4–8,7 Stunden, so dass die Serumspitzenkonzentration ca. 3,8 Stunden nach Einnahme erreicht

wird. Ausgeschieden wird CsA zu 90% über die Galle und zu 6% über den Urin. Eine Niereninsuffizienz beeinträchtigt somit die Cyclosporinelimination nicht. Die Clearance von CsA ist vermindert bei z.B. erhöhten Bilirubinwerten. Cyclosporin A passiert nicht die Blut-Hirn-Schranke, ist jedoch plazentagängig und in der Muttermilch nachweisbar. Fetale intrauterine Wachstumsretardierung und Frühgeburtlichkeit wurden unter Cyclosporin A-Einnahme nachgewiesen, jedoch keine angeborenen Missbildungen. Ebenso wenig wurden angeborene Defekte bei Kindern festgestellt, deren Väter Cyclosporin A einnahmen (Cockburn 1989, Armenti 1994). Es sind zahlreiche Wechselwirkung mit anderen Medikamenten bekannt, die die genaue und individuelle Einstellung von Cyclosporin A notwendig machen. Erythromycin, orale Kontrazeptiva, Calcium-Antagonisten, aber auch Grapefruitsaft z.B. erhöhen die Serumkonzentration von Cyclosporin A und machen somit eine niedrigere Dosierung von CsA notwendig. Bei Rifampizin und Benzodiazepinen z.B. verhält es sich umgekehrt. Um die therapeutische Dosierung zu bestimmen kann zum einen die Talspiegelbestimmung herangezogen werden und zum anderen die „Area under the Curve“ (AUC). Der Talspiegel wird bestimmt, indem man zwölf Stunden nach Einnahme von Cyclosporin A Blut entnimmt. Zur Bestimmung des AUC-Werts sind sieben Punktmessungen sinnvoll. Hierbei wird für die Konzentrationsbestimmung von CsA in unterschiedlichen Zeitintervallen Blut abgenommen. Eine annähernde AUC-Bestimmung wird auch bei einer 3-Punkt-Abnahme erreicht. Der AUC-Wert verhält sich umgekehrt proportional zu der Wirkstoffmenge, die in den Kreislauf gelangt. Die Talspiegelbestimmung hat sich im Klinikalltag bewährt, erlaubt aber im Gegensatz zur AUC nur eine begrenzte Abschätzung des tatsächlichen pharmakologischen Wirkstoffprofils.

### **1.2.1 Wirkung von Cyclosporin A**

Mit dem Cyclosporin A stand Ende der 70iger Jahre erstmals ein Medikament zur Verfügung, das die Funktion der T-Helfer-Zellen selektiv in einem 300x stärkeren Maße hemmt als andere Zelllinien ohne myelotoxischen Effekt wie z.B. zytotoxische Substanzen (Borel 1991). Die Erkennung des Transplantats

als fremdes Organ und der Beginn einer Abstoßungsreaktion erfolgt in erster Linie durch T-Lymphozyten. T-Helfer-Zellen sind in der Lage, Lymphokine (Botenstoffe) zu produzieren, die wichtige Steuerfunktionen bei der Regulation der Immunantwort haben. So wird u.a. Interleukin 2 (IL 2) von T-Helfer-Zellen sezerniert, welches als Wachstumsfaktor die Teilung aller Lymphozyten reguliert, auch die Teilung der T-Zellen. Außerdem fördert IL 2 die Differenzierung der T-Zellen zu spezifischen Killer-Zellen. Cyclosporin A hemmt reversibel die nukleäre Signalübertragung in aktivierten T-Zellen und beeinträchtigt intrazellulär die Gentranskription für Interleukin 2. Dies wiederum hat zur Folge, dass keine T-Helferzellen gebildet werden und keine Aktivierung und Vermehrung der T-Zellen mehr stattfindet (Borel 1977, Gordon 1979, Wheatley 1987, Kahan 1989, Schreiber 1992, Wiederrecht 1993, Halloran 1996; Marakhova 1999). Das Immunsystem wendet sich nicht gegen die Spenderniere. Der Zustand der fehlenden Abstoßungsreaktion wird als Immuntoleranz bezeichnet. Anfang der 80iger Jahre war CsA fixer Bestandteil in allen Transplantations-Protokollen weltweit. Durch den Einsatz von CsA verbesserten sich die Überlebensraten von Herz-, Leber- und Pankreastransplantationen radikal, die Problematik der Abstoßung war deutlich kleiner geworden. Bereits 1989 gelang die 100 000. Nierentransplantation am Menschen (Schlich 1998, Eckart 2005).

### **1.2.2 Nebenwirkungen von Cyclosporin A**

1978 zeigte Roy Calne et al. in Cambridge in Tierversuchen, dass Cyclosporin A eine Transplantatabstoßung sehr viel besser verhinderte als die bis dahin gebräuchliche Azathioprin-Kortikosteroid-Kombination. Später zeigte sich, dass der Einsatz bei menschlichen Transplantationen Nephrotoxizität, Häufung von Lymphomen, Hepatotoxizität durch Cholestase und Hyperbilirubinämie, ZNS-Nebenwirkungen wie Gleichgewichtsstörungen und zerebrale Krämpfe, arterielle Hypertonie, Vasokonstriktion präglomerulärer Arteriolen, Neurodermitis und ophthalmologische Nebenwirkung wie Pemphigoid mit sich brachte (Heering 1991, Canzanello 1997). Weitere mögliche Nebenwirkungen

sind Diarrhoe, Gingivahyperplasie, Erbrechen, Hirsutismus und Hypertonie (Dongari 1993, Cutolo 1997).

Als wichtigste Nebenwirkung ist die Nephrotoxizität zu nennen. Initial kommt es zu einer Vasokonstriktion, die im weiteren Verlauf zur Schädigung von Tubuli und kleineren Gefäßen führt und sich in einem Ansteigen der Retentionsparameter widerspiegelt (English 1987, Mihatsch 1988, Mason 1990, Heering 1993, Oka 1993, Caliskan 2003). Morphologisch erkennt man eine interstitielle Fibrose (McDiarmid 1996, Benigni 1999, Deppe 2002), klinisch eine arterielle Hypertonie, Hyperkaliämie und metabolische Azidose (Hamilton 1982, Adu 1983, European Multicentre Trial Group 1983, Bantle 1985, Foley 1985, Stahl 1985, Ballardie 1992, Pei 1993, Heering 1996). Auf die letztgenannten Nebenwirkungen von Cyclosporin A, nämlich die Hyperkaliämie und die hyperchlorämische metabolische Azidose soll in vorliegender Studie genauer eingegangen werden.

### **1.3 Aldosteronresistenz**

Die klinische Beobachtung von metabolischer Azidose und Hyperkaliämie führte zu der Überlegung, dass diese unerwünschte Nebenwirkungen des CsA eine Beeinflussung des gemeinsamen physiologischen Regelkreislaufes vom Säure-Basen-Haushalt und vom Elektrolythaushalt seien - nämlich des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Unter Cyclosporin A-Therapie wurden bereits von mehreren Autoren Dysregulationen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System vermutet und beschrieben (Bantle 1985, Mason 1990 und 1991, Julien 1993, Kupfermann 1994). Um die Ursache für die metabolische Azidose und die Hyperkaliämie unter Cyclosporin A-Therapie in Bezug auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System zu diskutieren, wird im Folgenden die Pathophysiologie dieses Systems dargestellt:

### 1.3.1 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Dieser Regelkreis aus Botenstoffen reguliert den Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Säure-Basenhaushalt. Das sogenannte Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) wird in Gang gesetzt bei verringertem Natriumspiegel im Serum oder herabgesetztem intravaskulären Volumen. Durch Stimulation der juxtaglomerulären  $\beta_1$ -Rezeptoren in der Wand der afferenten Arteriolen der Nieren wird Renin freigesetzt. Das Renin gelangt über das Blut in die Leber und bewirkt dort die Umsetzung von Angiotensinogen in Angiotensin 1. In der Lunge wandelt das Konvertierungsenzym Angiotensin 1 in Angiotensin 2 um, welches in der Nebenniere an einen Rezeptor bindet und schließlich die Bildung des Mineralkortikoids Aldosteron induziert.

#### **Aldosteron**

Als letzte Stufe des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems wird das Hormon Aldosteron in der Zona glomerulosa der Nebenniere über Zwischenstufen aus Cholesterin produziert. Die Nebennierenrinde eines Erwachsenen produziert etwa 0,125 mg Aldosteron am Tag. In der Leber und in der Niere umgewandelt wird es im Harn schließlich ausgeschieden. Aufgrund seiner speziellen Wirkung auf den Elektrolythaushalt wird es als Mineralkortikoid bezeichnet. Aldosteron reguliert die Elektrolytausscheidung und somit auch das intravaskuläre Volumen. Aldosteron bewirkt am distalen Nierentubulus die Natriumrückresorption und die Kaliumausscheidung auf verschiedenen Wegen: Zum einen erhöht Aldosteron die Anzahl der offenen Kanäle und beeinflusst deren Permeabilität, durch die Natrium passiv diffundiert, zum anderen wirkt es intrazellulär: Aldosteron aktiviert einen Rezeptor, der seine Konformation ändert, in den Zellkern gelangt und als Liganden-abhängiger Transkriptionsfaktor sich an diejenigen DNA-Abschnitte bindet, die die Synthese der Natrium-Kalium-ATP-ase induzieren (Lombès 1994). Diese membranständige Natrium-Kalium-Pumpe wiederum transportiert aktiv Natrium aus dem renalen tubulären Lumen in die Zellen und sezerniert im Gegenzug dazu Kaliumionen. Als Schlüsselenzym des Ionentransports wirkt Aldosteron jedoch nicht nur im klassischen Mineralkortikoid-sensitiven Gewebe wie dem

distalen Tubulus der Niere, sondern auch in dem des Colons und der Schweißdrüsen (Bonvalet 1998).

### **1.3.2 Pseudohypoaldosteronismus**

Unter Pseudohypoaldosteronismus versteht man die gestörte Endorgan-Funktionalität bei normalem Aldosteronspiegel. Man unterscheidet zwei Formen des Pseudohypoaldosteronismus:

Als Typ 1 Pseudohypoaldosteronismus wird der primäre Pseudohypoaldosteronismus bezeichnet. Er liegt bei genetisch bedingter Aldosteronresistenz an der Niere vor. Zennaro et al. beschrieben des Weiteren die Mineralkortikoidresistenz als primären Hypoaldosteronismus, welcher als erbliche Erkrankung im frühen Kindesalter mit Salzverlust, Gedeihstörung und Dehydratation auftrat (1995). Es sind eine autosomal rezessive und dominante Form beschrieben. Zugeführte Mineralkortikoide sind nicht wirksam. Die Therapie besteht in der oralen Zufuhr von Elektrolyten (Hanukoglu 1991, Bonny 2002).

Der Typ 2 Pseudohypoaldosteronismus als sekundäre Form ist gekennzeichnet durch Hypertonie, Hyperkaliämie, metabolische Azidose bei normaler Nierenfunktion, niedriger oder normal-niedriger Plasmareninaktivität und normalem Aldosteronspiegel (Schambelan 1981, Gordon 1986, Take 1991, Bonny 2002). Es sind bereits verschieden Genorte für diese autosomal dominante Form des Pseudohypoaldosteronismus gefunden worden (Mansfield 1997, Disse-Nicodeme 2000, Bonny 2002). Erstmals erwähnt wurde das Phänomen des Pseudohypoaldosteronismus von Cheek und Perry et al. (1958). De Fronzo et al. berichteten 1977 über 75 Patienten, von denen 23 innerhalb von drei Monaten nach einer Nierentransplantation eine Hyperkaliämie entwickelten. Vier dieser Patienten zeigten in der Langzeitbeobachtung eine verminderte Antwort auf Mineralkortikoide. Die Autoren vermuteten, dass für dieses Phänomen des Hypoaldosteronismus bei normalen Aldosteronspiegeln eine Störung der tubulären Funktion verantwortlich war.

Unter Cyclosporin A wurde dieses klinische Bild auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtet (Adu 1983, Bantle 1985, Kamel 1991, Jones 1993).

Heering et al. untersuchten 1991 nierengesunde Patienten, die aufgrund einer anderen Erkrankung als nach einer Nierentransplantation Cyclosporin A erhielten. Sie wiesen ebenfalls einen hyporeninämischen Hypoaldosteronismus nach. Die Aldosteronkonzentrationen in Plasma und Urin waren erhöht, ebenso die Plasmareninaktivität. Eine exogene Mineralkortikoidtherapie konnte die Symptome nicht verbessern. Obwohl ein Mineralkortikoidrezeptordefekt postuliert wurde, ist bisher kein solcher beschrieben worden. Fuiano et al. hingegen konnten nach Cyclosporin A-Einnahme weder bei Nierentransplantierten noch bei nierengesunden Kontrollprobanden eine Veränderung der Reninplasmaaktivität oder des Aldostornspegels nachweisen (1991).

Mineralkortikoidrezeptoren konnten tierexperimentell in zwei unterschiedliche Typen unterschieden werden (Funder 1973, Ritz 1999). Typ I-Rezeptoren zeigten eine höhere Affinität für Aldosteron, während Typ II-Rezeptoren bevorzugt Glukokortikoide banden. Spezifische Mineralkortikoidrezeptoren sind auch in der menschlichen Niere gefunden worden (Massry 1967, Fuller 1976). Armanini et al. postulierten 1985 einen Mineralkortikoidrezeptordefekt oder –mangel, der zum Syndrom des Pseudohypoaldosteronismus führte. Der Gruppe gelang es weiterhin, die Mineralkortikoidrezeptoren in menschlichen zirkulierenden Leukozyten nachzuweisen. Sie beschrieben drei Patienten mit Hypoaldosteronismus mit verminderter oder fehlender Aldosteronbindungsfähigkeit an peripheren Leukozyten. Die molekulare Struktur des humanen Mineralkortikoidrezeptors (hMR) wurde bereits entschlüsselt. Arriza et al. gelangen es, die cDNA des hMR zu klonen (1987). Außerdem sind verschiedene Formen der mRNA identifiziert worden (Zennaro 1994).

### **1.4 Zielsetzung der Studie**

Aus den oben genannten Beobachtungen aus diversen Studien lässt sich zusammenfassen, dass man unter Cyclosporin A-Therapie neben vielen anderen Nebenwirkungen bei zahlreichen Patienten eine Hyperkaliämie und auch eine hyperchlorämische metabolische Azidose beobachten kann. Viele Autoren führen dies auf einen Pseudohypoaldosteronismus zurück, das heißt

auf die Endorganfehlfunktion des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems mit Folge einer fehlenden Wirkung von Aldosteron. Es kommt zu einer Störung des Elektrolyt- sowie des Säure-Basen-Haushalts trotz normaler Aldosteronspiegel im Blut. Man vermutet die Besserung einer Hyperkaliämie bei einem Hypoaldosteronismus durch Gabe eines Mineralkortikoids wie Fludrokortison (DeFronzo 1980).

Die Zielsetzung der hier präsentierten Forschungsarbeit ist zu zeigen, dass

- 1) Cyclosporin A tatsächlich einen Pseudohypoaldosteronismus hervorrufen kann in Form einer Aldosteronresistenz mit Elektrolytstörungen und metabolischer Azidose.
- 2) diese Patienten mit Elektrolytstörungen und metabolischer Azidose an einer gestörten renalen Tubulusfunktion leiden.
- 3) die Aldosteronresistenz die Folge einer Down-Regulation der molekularen Expression der humanen Mineralkortikoid-Rezeptoren (hMR) ist. Wir möchten dies anhand einer quantitativen Bestimmung an peripheren Leukozyten mittels Reverser-Transkriptase-PCR zeigen.
- 4) Des Weiteren postulieren wir eine Überwindung der Aldosteronresistenz durch Gabe des Mineralkortikoids Fludrokortison (Astonin H®).

Somit untersuchten wir bei nierentransplantierten Patienten die Beziehung zwischen der Transplantatfunktion unter Cyclosporin A-Therapie und dem Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt, sowie dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und der Expression der Mineralkortikoidrezeptoren. Außerdem beobachteten wir den Einfluss von Fludrokortison auf den Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt und auf die Expression der Mineralkortikoidrezeptoren bei nierentransplantierten Patienten, die eine Hyperkaliämie und metabolische Azidose aufwiesen als Zeichen einer Nebenwirkung von Cyclosporin A (Gruppe A<sub>1</sub>), und im Gegensatz dazu eine zweite Patientengruppe, die diese Nebenwirkungen unter Cyclosporin A-Therapie *nicht* aufwiesen (Gruppe A<sub>2</sub>).

Durch den Vergleich unterschiedlicher Parameter wie z.B. dem Säure-Basen-Haushalt, dem Renin-Angiotensin-System, der Nierenfunktion und der quantitativen Bestimmung der Mineralkortikoidrezeptoren auf Leukozyten

## Einleitung

---

wollten wir untersuchen, welche der beiden Patientengruppen von einer Fludrokortisontherapie profitierte.

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Um Nebenwirkungen von Cyclosporin A und die Wirkung von Fludrokortison widerzuspiegeln, wurde bei allen Patienten an Tag 1 und 15 eine Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems (mit Hilfe einer Natriumsulfatinfusion, s.u.) und eine RT-PCR (Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, s.u.) für die quantitative Bestimmung der Aldosteronrezeptoren durchgeführt. Diese Untersuchungen wurden bei allen Patienten innerhalb eines Zeitraums von sechs bis zwölf Monaten nach der Nierentransplantation durchgeführt.

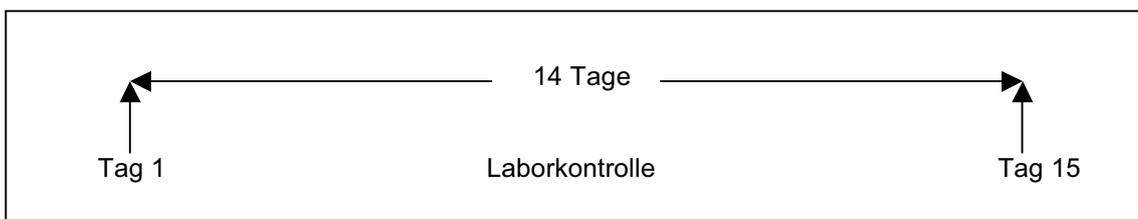


Abbildung 2: Zeitlicher Versuchsablauf Tag 1 bis Tag 15 bei Gruppe A<sub>1</sub> und Gruppe A<sub>2</sub>

### 2.2 Patientenauswahl

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine prospektive klinische Studie. Es wurden drei Gruppen miteinander verglichen. Die Patienten wurden in der Nephrologischen Ambulanz der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf behandelt. Es wurden Patienten der Transplantationsjahre 09/1999 bis 09/2000 ausgewählt.

Wir untersuchten 21 nierentransplantierte Patienten (Gruppe A) und zwölf gesunde, nicht transplantierte Kontrollen (Gruppe B). Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität vorgelegt und genehmigt. Vor Beginn der Studie wurden die

Patienten über den Ablauf der Untersuchungen informiert und gaben ihr Einverständnis.

Aufnahmekriterien waren eine immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A Sandimmun® (FA Novartis), die Patienten waren alle nierentransplantiert. Cyclosporin A wurde verabreicht mit dem Zielblutwert von 100 – 200 ng/ml. Sie hatten eine stabile Nierenfunktion, definiert über einen Kreatininwert im Serum < 2,5 mg/dl. Der Kreatininwert wurde beobachtet über einen Zeitraum von einem halben Jahr vor Untersuchungsbeginn und überstieg nicht den o.g. Grenzwert. Keiner der Patienten nahm kaliumsparende Diuretika, ACE-Hemmer oder Angiotensin 2-Rezeptor-Antagonisten ein. Es wurde keine spezielle Diät durchgeführt. Wir untersuchten 21 Patienten mit einem Durchschnittsalter von  $47 \pm 5.6$  Jahre.

Neben dem Transplantationsdatum wurden ebenfalls der Transplantationsgrund und die aktuelle Medikation der Patienten erhoben. Für spätere Clearance-Berechnungen wurde aus Körpergröße und -gewicht der Patienten die Körperoberfläche errechnet.

Die nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) wurden in zwei Untergruppen aufgeteilt: Gruppe A<sub>1</sub> wies Zeichen einer metabolischen Azidose auf in Form eines Bikarbonats im Blut von  $\leq 20$  mmol/l auf, Gruppe A<sub>2</sub> zeigte keine Azidose (Bikarbonat >20 mmol/l).

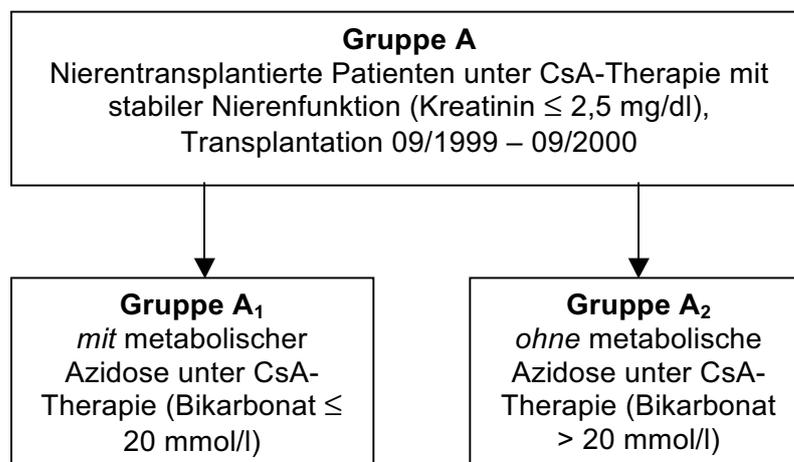


Abbildung 3: Einteilung der nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-Therapie in die Gruppen A<sub>1</sub> (mit Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne Azidose) mit Bikarbonat als

Trennkriterium (Bikarbonat  $\leq 20$  mmol/l = Gruppe A<sub>1</sub>, Bikarbonat  $> 20$  mmol/l = Gruppe A<sub>2</sub>).

Die Patienten wurden entsprechend ihres Alters und des Transplantationszeitpunktes gematcht.

Außerdem wurden zwölf gesunde, nicht transplantierte Kontrollprobanden untersucht (Gruppe B). Das Lebensalter betrug  $37 \pm 12$  Jahre.

### **2.3 Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems**

#### **2.3.1 Protokoll der Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems**

Alle Patienten, sowohl der Gruppe A<sub>1</sub> als auch der Gruppe A<sub>2</sub>, wurden an Tag 1 und Tag 15 untersucht, an beiden Tagen wurden die gleichen Untersuchungen durchgeführt. In den vierzehn Tagen zwischen beiden Untersuchungen nahmen alle Patienten das Präparat Fludrokortison à 0,2 mg/d ein. Fludrokortison entspricht dem physiologischen Aldosteron. Bei den Patienten wurde zwischen beiden Untersuchungstagen- nach einer Woche- entweder in die Nierenambulanz der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf oder bei dem zuständigen Hausarzt oder Nephrologen eine Kontrolle der Nierenwerte und des Kreatinins durchgeführt. In letzterem Fall wurden die Laborwerte telefonisch erfasst.

Einen Tag vor jeder Nierenfunktionsprüfung wurde der Urin 24 Stunden lang durch die Patienten gesammelt. An jedem Untersuchungstag wurde eine körperliche Untersuchung durchgeführt und nach Blutdruckschwankungen, Gewichtsveränderungen oder peripheren Ödemen gefragt. Außerdem wurde der Blutdruck vor und nach der Funktionsprüfung im Liegen gemessen.

Vor der Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems wurde eine Spontanurinprobe auf pH-Wert, das Bikarbonat im Urin, die titrierbare Azidität im Urin (TA), die Elektrolyte, die Nierenwerte, die Osmolalität und das Ammonium untersucht (s.u.). Außerdem wurden eine kapillare Blutgasanalyse (BGA) und Vollblutproben für Renin, Angiotensin-Converting Enzym, Aldosteron, Nierenretentionswerte und Elektrolyte entnommen (s.u.).

Hierfür und für die anstehende Infusion wurde ein Venenverweilkanüle gelegt. Nach diesen basalen Untersuchungen wurde den Patienten eine Stunde lang eine 500ml-Infusion verabreicht, die aus einer 4%-igen Natriumsulfatlösung bestand. Während der Infusion sollten möglichst 1,5 l Mineralwasser getrunken werden. Nach dieser Infusion wurden die Patienten gebeten, ihre Blase vollständig zu entleeren. Im Anschluss an eine sechzigminütige Wartezeit erfolgte die Abgabe des 1-Stunden-Sammelurins. Aus diesem wurden der pH-Wert, das Bikarbonat, die TA, die Elektrolyte, die Nierenwerte, die Osmolalität und das Ammonium bestimmt. Zu diesem Zeitpunkt wurden auch im kapillaren Blut der pH-Wert, das Bikarbonat, die Elektrolyte und die Nierenretentionswerte aus dem Serum bestimmt.

Die Patienten sollten in der Lage sein, die Säure der zuvor verabreichten Natriumsulfatinfusion wieder auszuscheiden, d.h. den Urin-pH auf unter pH 5,5 zu senken. Lag der Urin-pH unter 5,5, war die Untersuchung beendet. Waren die Patienten nach einer Stunde nicht in der Lage, den Urin-pH maximal zu senken, so wurden sie gebeten, noch eine weitere Stunde den Urin zu sammeln und es wurde erneut der pH im Urin bestimmt. Danach wurden die Patienten mit Fludrokortison für die folgenden zwei Wochen entlassen. An Tag 15 wurde dieselbe Nierenfunktionsprüfung wie an Tag 1 bei allen Patienten der Gruppen A<sub>1</sub> wie A<sub>2</sub> durchgeführt.

### 2.3.2 Berechnung der Nettosäureausscheidung

Das Maß für die Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems war die Nettosäureausscheidung (NAE). Die NAE gab Aufschluss darüber, inwieweit die Patienten in der Lage waren, die durch die Infusion verabreichte Säure über die Niere wieder auszuscheiden und somit den Säure-Basen-Haushalt wieder zu stabilisieren.

Die nötigen Laborwerte hierfür waren die titrierbare Azidität TA, das Bikarbonat aus dem 1-h-Sammelurin, die Menge des Urins nach der Infusion und das Ammonium des Sammelurins (s.u.). Für die NAE ergab sich folgende Formel:

$$\boxed{\text{NAE} = \text{NH}_4^+ + \text{TA} - \text{HCO}_3^-}$$

NAE: Nettosäureausscheidung

$\text{NH}_4^+$ : Ammonium

TA: Titrierbare Azidität

$\text{HCO}_3^-$ : Bikarbonat

Das Ergebnis in mmol/l wurde in mol/ml umgerechnet und mit der Ausscheidungsmenge des Urins multipliziert, die nach der  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Infusion 1 h lang gesammelt wurde (ml/min). Somit ergibt sich für die NAE die Einheit mol/min.

## **2.4 Studienmedikation**

### **2.4.1 Natriumsulfat**

Für die Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems wurde den Patienten eine Infusion verabreicht, die den distalen Tubulus der Niere belastet. Somit konnte man beurteilen, inwieweit die Patienten in der Lage waren, ihren Säure-Basen-Haushalt nach Erhalt dieser Infusion wieder zu stabilisieren. Die Infusion wurde in der Apotheke der Heinrich-Heine-Universität hergestellt und bestand aus 4%iger Natriumsulfatlösung in 500ml-Infusionsflaschen zur i.v.-Applikation. Natriumsulfat ist ein Salz mit einem nahezu nicht resorbierbaren Anion.

### **2.4.2 Fludrokortison (Astonin H®)**

Fludrokortison ist ein chemisches Mineralkortikoid, welches bei konstitutioneller (essentieller) Hypotonie, orthostatischem Syndrom, Morbus Addison oder Adrogenitalem Syndrom eingesetzt wird. Es entspricht dem körpereigenen Aldosteron und wurde den Patienten im Rahmen der Studie gegeben, um die Aldosteronresistenz bei ausreichendem Aldosteronspiegel deutlich zu machen.

## **2.5 Methoden**

### **2.5.1 Allgemeine Laborbestimmungen im Serum/Plasma** (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, anorganisches Phosphat, Kreatinin, Harnstoff-N, Cortisol, Osmolalität)

#### **Elektrolyte und Nierenretentionswerte**

Die Elektrolytbestimmung umfasste Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, anorganisches Phosphat, die Nierenwerte Kreatinin und Harnstoff-N. Diese Werte wurden nach zehnmütigem Zentrifugieren der mit Trenngel gefüllten Blutröhrchen über folgende Verfahren bestimmt:

Natrium, Calcium und Chlorid mittels Messung der Ionenaktivität in Lösung (indirekte Potentiometrie), Kalium mittels Messung der Elektrolytaktivität in Lösung, anorganisches Phosphat mittels Messung nach Grenzpunktverfahren mit Zeitählung, Kreatinin mittels modifizierter Jaffé-Methode und Harnstoff-N wurde enzymatisch bestimmt (alle genannten Parameter mit dem automatischen Analysegerät Synchron CX @5 der FA Beckmann Instruments, Kalifornien, USA).

#### **Cortisol**

Cortisol wurde basal entnommen und ebenfalls zehn Minuten zentrifugiert. Dieser Wert wurde durch Chemie-Luminesszenz-Assay über das Endokrinologische Labor der Heinrich-Heine-Universität bestimmt (Nichols-Institut, Bad Viebel).

#### **Osmolalität im Serum**

Die Osmolalität im Serum wurde über das Kryoverfahren an dem Osmometer gemessen (FA Knauer).

## **2.5.2 Allgemeine Laborbestimmungen im Urin (Osmolalität, titrierbare Azidität, Ammonium, 24-Stunden-Sammelurin)**

### **Osmolalität im Urin**

Die Osmolalität im Urin wurde ebenfalls über das Kryoverfahren an dem Osmometer gemessen (FA Knauer).

### **TA (titrierbare Azidität)**

Im Anschluss an die pH-Wert-Bestimmung (s.u.) im Urin wurde mit 0,1 molarer Natronlauge die titrierbare Azidität bestimmt. Die titrierbare Azidität wurde mit Hilfe einer pH-Einstabmesskette an dem Mikroprozessor pH-Meter pMX 3000 (Fa. WTW GmbH, Weilheim) gemessen. Die TA wird gemessen als Menge des 0,1 molaren NaOH, um 1ml Urin vom Wert des Urin-pH zum Wert des Blut-pH zu titrieren.

### **Ammonium**

Die Bestimmung von Ammonium im Urin erfolgte nach der Methode von Cunnaro und Weinert (1974). Die Messung wurde ebenfalls mit dem pH-Meter der Fa. WTW (s.o.) durchgeführt. Das Ammonium im Urin wurde über eine Spannungs-Elektrode gemessen. Die Elektrode enthielt eine pH-Glasmembran mit vorgeschalteter spezifischer Ammoniumelektrolytlösung. Die Messung erfolgte über eine Direkt-Potentiometrie, indem man die Spannung (mV) proportional zum Logarithmus errechnete.

### **24-Stunden-Urin**

Aus dem 24-Stunden-Sammelurin wurden die Elektrolyte und die Nierenwerte (s.o.) bestimmt.

### **2.5.3 Säure-Basen-Haushalt (pH in Serum und Urin)**

Der pH-Wert sowie die Bikarbonatwerte im kapillaren Blut und Urin wurden an einem Analysator ABL-4- (Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Das kapillare Blut wurde am hyperämisierten Ohrläppchen entnommen, indem nach einem Stich mit einer Lanzette das Blut mit einer Kapillare aufgenommen wurde. Die mit Heparin beschichtete Kapillare wurde sofort luftdicht verschlossen.

Der pH-Wert des basalen Spontanurins wurde zusätzlich zum Analysator mit Hilfe einer pH-Elektrode gemessen (pH-Meter pMX 3000 der Firma WTW GmbH, Weilheim). Für die vorgenommene Messung wurde eine pH-Einstabmesskette montiert. Auch diese Probe wurde luftdicht verschlossen, indem der Urin mit Mineralöl überschichtet wurde. Zusätzlich zum pH-Wert wurde das Bikarbonat im Urin bestimmt.

### **2.5.4 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)**

#### **Plasmareninaktivität**

Die Blutabnahme zur Bestimmung der Plasmareninaktivität wurde basal nach einer Liegezeit des Patienten von dreißig Minuten abgenommen, um Beeinflussungen durch orthostatische Veränderungen zu verhindern. Das vorgekühlte, mit EDTA-beschichtete Blutröhrchen wurde nach der Abnahme wiederum in Eis gekühlt und zehn Minuten bei + 4°C und 3000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Danach wurde das Plasma im Eisbad zu je 1 ml proportioniert und bei – 20°C eingefroren. Die Plasma-Renin-Aktivität wurde indirekt bestimmt durch quantitative Ermittlung von kompetitiv gebildetem Angiotensin I durch Radioimmunoassay (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA). Die Aktivitätsangabe erfolgte in ng/ml x h, der Normwert für die Plasmareninaktivität ist 0,12 – 1,59 ng/nl x h.

### **Aldosteron**

Die Blutproben zur Aldosteronbestimmung wurden in normalen Serumröhrchen mit Trenngel ohne Kühlung ebenfalls zu Beginn der Untersuchung abgenommen. Aldosteron wurde mit Hilfe eines im Handel gebräuchlichen Radioimmunoassays, dem „Coat-A Count“ Aldosteron-RIA (DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim) bestimmt. Nach dem Prinzip des kompetitiven Immunoassays konkurrieren das Serumaldosteron und das jodmarkierte Aldosteron um eine begrenzte Anzahl von Antikörperbindungsstellen. Die Mengenangabe des Aldosterons erfolgte in pg/ml, der Normwert für Aldosteron liegt bei 20 – 150 pg/ml.

### **ACE (Angiotensin-converting Enzyme)**

ACE ist eine Dipeptidyl-Carboxypeptidase, die von geeigneten Substraten das C-terminale Ende abspaltet (z.B. Histidin-Leucin bei Angiotensin). Bei Testdurchführung wurde als Substrat ein Tripeptid eingesetzt und mit Hilfe einer Endpunktkinetik die Umsatzrate bestimmt. Als Referenzwert wurde ein in der Aktivität bekanntes Kontrollplasma eingesetzt. ACE wurde über ein Radioassay im Nierenlabor der HHU bestimmt. Die Einheit betrug U/l, der Normwert ist 20 – 160 U/l.

### **2.5.5 Cyclosporin A**

Die Blutproben zur Messung des Cyclosporinspiegels wurden in mit EDTA versetzten Röhrchen abgefüllt und umgehend mittels eines monoklonalen Radioimmunoassays (Jod<sup>125</sup>-RIA, Cyclo Trac, Fa. INCSTAR, Minnesota, USA) bestimmt. Nach dem Prinzip des kompetitiven Immunoassays konkurrierte das nicht radioaktive Cyclosporin A in der Patientenprobe mit extern zugegebenen Cyclosporin A-Tracersubstanzen (<sup>125</sup>Jodcyclosporin). Die Isolierung der an Antikörper gebundenen Cyclosporin A-Fraktion erfolgte mit Hilfe einer Solid-Phase-Technik. Die Angabe des Cyclosporin A-Spiegels im Vollblut erfolgte in ng/ml.

### 2.5.6 Endogene Kreatinin-Clearance (ECC)

Außerdem wurde aus dem 24-h-Sammelurin die auf die Körperoberfläche korrigierte endogene Kreatinin-Clearance errechnet. Dabei wurden die gemessenen Parameter in folgende Formel gegeben:

$$\text{ECC} = (\text{Kreatinin i.U.} \times \text{Sammelmenge}) : (\text{Kreatinin i.S.} \times \text{Sammelzeit})$$

ECC: Endogene Kreatinin-Clearance

i.U.: im Urin

i.S.: im Serum

Die Einheit betrug ml/min. Dies wurde auf die Standard-Körperoberfläche von  $1,73\text{m}^2$  bezogen, indem man den Wert mit  $(1,73\text{m}^2 \text{ (Standardkörperoberfläche)} : \text{Körperoberfläche des Patienten})$  multiplizierte.

### 2.5.7 Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG)

Mit Hilfe der Osmolalität und des Kaliumwertes jeweils im 24-Stunden-Sammelurin und basalen Serums konnte man den TTKG errechnen, den transtubulären Kalium-Gradienten. Die o.g. Werte wurden in folgende Formel gegeben:

$$\text{TTKG} = (\text{Osmolalität i.S.} \times \text{Kalium i. U.}) : (\text{Osmolalität i.U.} \times \text{Kalium i.S.}).$$

TTKG: Transtubulärer Kaliumgradient

i.S.: im Serum

i.U.: im Urin

Somit ist der TTKG ein einheitsloser Wert. Er spiegelt die Exkretion von Kaliumionen im distalen Tubulus wider und dadurch indirekt die Wirkung von

Aldosteron bzw. Fludrokortison. Ein transtubulärer Kaliumgradient unter 7 ist Zeichen eines Hypoaldosteronismus (West 1986, Ethier 1995, Rose 2001).

### **2.5.8 Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR) mittels Reverse Transkriptions-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR)**

Zunächst ist eine RNA-Isolierung notwendig für die quantitative Bestimmung der Aldosteronrezeptoren auf Leukozyten. Der Vorgang wurde steril bei +4°C durchgeführt. Aus den gewonnenen 10ml Vollblut wurden Erythrozyten mit EL-Puffer (FA Qiagen) hypoton lysiert. Durch Zentrifugieren gewann man ein Leukozytenpellet. Die folgenden Arbeitsschritte wurden unter dem Abzug durchgeführt: Die Leukozytenpellets wurden mit Trizol (FA Gibeo, Karlsruhe) aufgenommen, so dass es zu einer Lyse der Zellen und Zellkerne kam. RNA wurde freigesetzt und durch RNasin (FA Promega) stabilisiert. Schließlich wurden die Lysate bei -20°C gelagert.

Anschließend erfolgte eine RT-PCR mit Elektrophorese. Es wurde die Gesamt-RNA durch reverse Transkription mittels RNA-spezifischer DNS-Polymerase (=Reverse Transkriptase RT) umgeschrieben in cDNS (complementary DNS), um danach durch PCR mit spezifischen Primern die Template-DNS zu amplifizieren.

Hierzu wurden 0,5 g RNA mit einer sinkenden Konzentration von competitor RNA-Molekülen (Situs-Chemicals, Düsseldorf), 40pM hMR-Antisense Primer (5'-TGTGTTGCCCTTCCACTGCT-3') und einem Synthese-Kit (Roche, Mannheim) ausgesetzt. Anschließend wurden 30 l PCR-Mix (FA Gibeo, Karlsruhe) und 40pM hMR-sense Primer (5'-GCTTTGATGGTAACTGTGAAGG-3') zugesetzt und es folgten 38 Zyklen Polymerase-Ketten-Reaktion in einem Personal Cycler (Biometra, Göttingen):

Denaturierung: Die Template-DNS wurde durch Erhitzen bis auf +94°C 30 Sekunden lang in ihre beiden Einzelstränge getrennt.

Annealing: Die Temperatur wurde auf +60°C gesenkt. Dadurch lagerten sich die Primer an die spezifische Erkennungssequenz von 472 bp (Basenpaare, entsprechend Komplementarität) der DNS (Hybridisierung), die der

Kodierungslokalisierung des hMR-Moleküls gleicht (Genbank Accession Nr. 16801). Die Polymerase wiederum lagerte sich an die Primer an. Dieser Vorgang dauerte 30 Sekunden.

Elongation: Bei +72°C verlängerte die Taq-Polymerase 30 Sekunden lang die gepaarten Oligonukleotide anhand der DNS-Matrix, so dass wieder ein doppelsträngiges DNS-Molekül entstand.

Die Primer lasen eine 472 bp-lange Sequenz, die der des hMR-Gens entsprach (Genbank-Nr. 16801, Fleming 1997). Die competitor-RNA war 373 bp lang. Die competitor RNA-Moleküle stellten eine Kontrolle dar: Die Konzentration von competitor-Molekülen war in jedem Ansatz bekannt. Sie konkurrierten mit den Primern der RNA. So konnte man in der später stattfindenden Elektrophorese (s.u.) die immer dünner werdenden Banden der competitor-RNA und mit den entsprechend immer dicker werdenden Banden der ursprünglichen hMR-RNS vergleichen.

Es wurde die extrem geringe Anzahl von  $-10^2$  bis  $-10^3$  Moleküle hMR expremiert. Für eine zusätzliche Kontrolle wurden nicht nur Ansätze mit hMR + competitor-RNA gefahren, sondern auch mit GAPDH-Primern (sense: CAACTACATGGTTTACATGTTCC;

antisense: GGACTGTGGTTCATGAGTCCT) und GAPDH competitor RNA (Situs-Chemicals, Düsseldorf). GAPDH ist ein „house-keeping“-Enzym und wird von jeder Zelle expremiert. Die GAPDH-Sequenz entsprach 416 bp und die competitor-RNA (Situs-Chemicals, Düsseldorf) 386 bp.

Bei der anschließenden Elektrophorese wurde für 5 l der PCR-Proben ein 2% Metaphor Agarose Gel (Biozym, Hessisch-Oldendorf) gegossen. Zwei Stunden lang wurden für die Trennung der Proben 100 Volt angelegt. Mittels Ethidiumbromid (Fa. Serva) wurden sie sichtbar gemacht: die nun im UV-Licht fluoreszierenden Banden wurden ab fotografiert und deren relative Dichte wurde gemessen. Es erschienen immer 2 Banden: hMR/ GAPDH und die leichteren competitor-Banden, gemessen mit Hilfe von Densiometrie (Raytest, Straubenhardt). Zur Errechnung der Anzahl der Moleküle wurde eine lineare Regressionsanalyse des Logarithmus des Quotienten aus der RNA des Patienten und der Competitor-RNA gebildet. Dies wurde korrigiert auf eine definierte Anzahl von  $1 \times 10^5$  GAPDH-Molekülen. Optimal war eine Ratio von 1, d.h. beide Banden waren gleich lang.

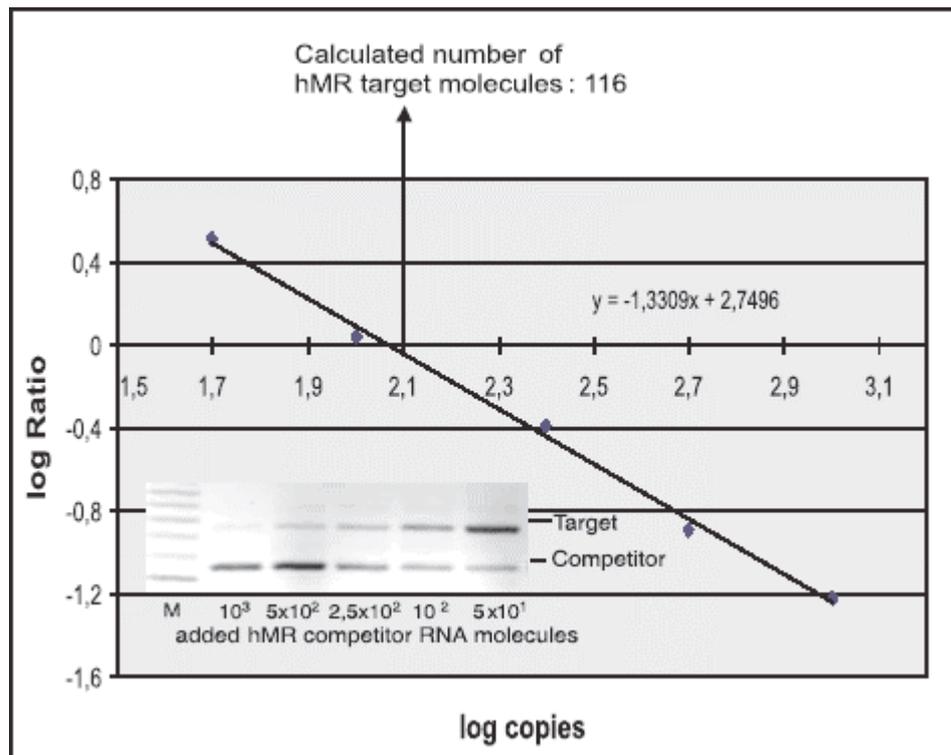


Abbildung 4: Bestimmung der Expression der humanen Mineralokortikoidrezeptoren auf Leukozyten durch kompetitive RT-PCR und Densitometrie mittels Regressionsanalyse (Heering 2004).

### 2.5.9 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Der Blutdruck wurde manuell mit Hilfe einer Blutdruckmanschette nach Riva/Rocci zu Beginn der Natriumsulfatinfusion sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten Untersuchung gemessen. Der mittlere arterielle Blutdruck wurde durch folgende Formel ermittelt:

$$RR \text{ Mittel} = (RR \text{ syst.} - RR \text{ diast.}) : 3 + RR \text{ diast.} \quad (\text{mmHg})$$

RR: Blutdruck

syst.: systolisch

diast.: diastolisch

## **2.6 Statistik**

Die statistische Berechnung des Untersuchungsmaterials erfolgte mit dem Programm SPSS. Es wurden die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte berechnet und verglichen mittels T-Test nach Student und U-Test nach Wilcoxon, Mann + Whitney. Der Wilcoxon-Test wurde für nicht gematchte Paare eingesetzt.

Um die Mittelwerte der Messdaten in den einzelnen Gruppen vergleichen zu können, wurde zunächst überprüft, ob die Messwerte normal verteilt waren.

Für die Berechnung wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % festgelegt,  $p < 0.05$  galt als signifikant.

### 3 Ergebnisse

Verglichen wurden zum einen sämtliche nierentransplantierte Patienten (Gruppe A) versus zwölf gesunde, nicht nierentransplantierte Kontrollprobanden (Gruppe B) sowie als Untergruppen der Gruppe A zwei nierentransplantierten Patientengruppen untereinander (Gruppe A<sub>1</sub> mit Azidose versus Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose).

Die Untergruppen teilten sich wie folgt auf:

Wir untersuchten sieben nierentransplantierte Patienten, die eine Azidose aufwiesen (Gruppe A<sub>1</sub>) und 14, die keine Störungen des Säure-Basen-Haushalts aufwiesen (Gruppe A<sub>2</sub>) unter der Einnahme von Cyclosporin A im Rahmen einer Immunsuppression.

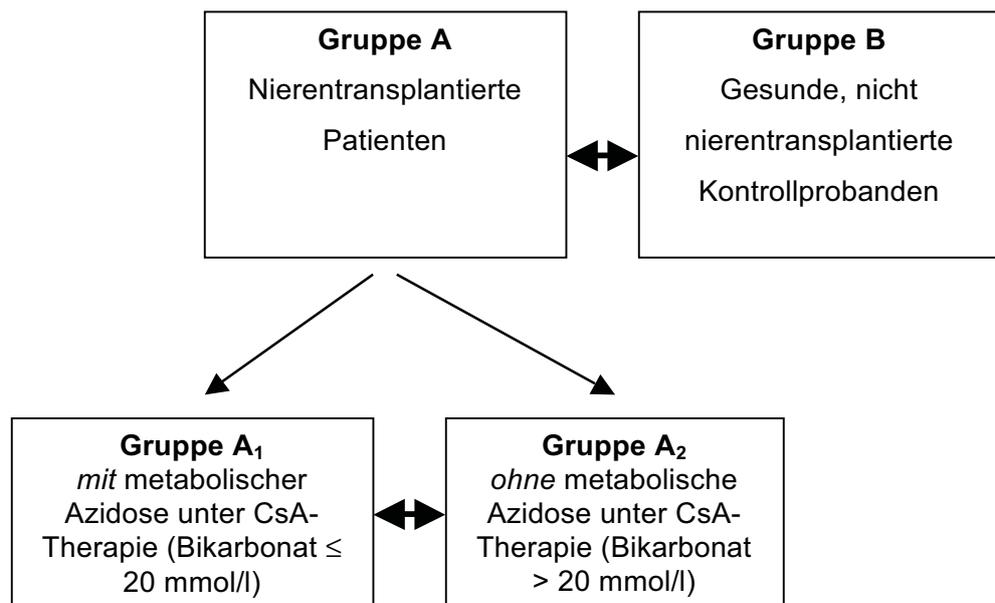


Abbildung 5: Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden alle nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) mit den gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) und als Untergruppen alle nierentransplantierten Patienten mit einer Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) mit denen ohne eine Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>).

Als Trennkriterium bezogen wir uns bei den nierentransplantierten Patienten auf das Bikarbonat im Blut. Mit einem Wert von  $\leq 20$  mmol/l definierten wir die

Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose, die Patienten mit einem Bikarbonat > 20 mmol/l bildeten die Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose.

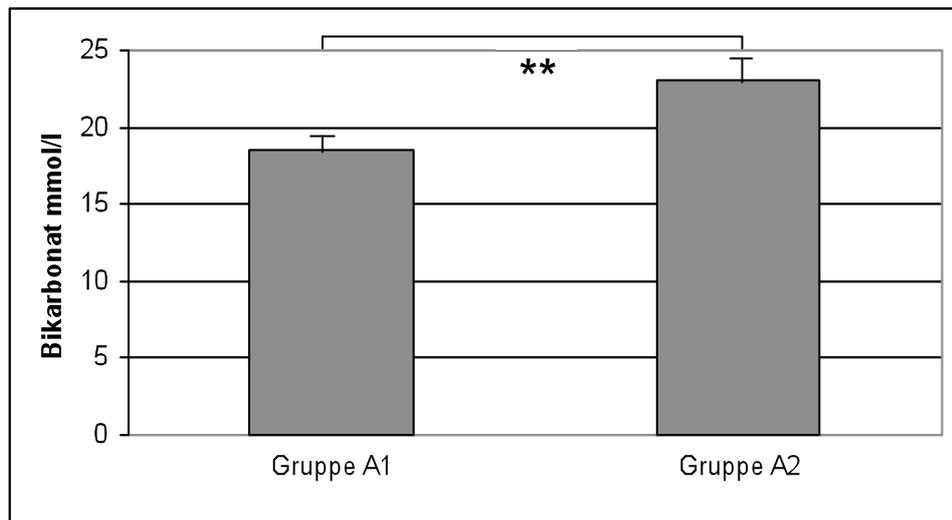


Abbildung 6: Bikarbonat im Blut der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) vs. Bikarbonat im Blut der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) Tag 1, Signifikanz von Gruppe A<sub>1</sub> nach A<sub>2</sub> berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\* p < 0,01.

### Klinische Daten

Die Patienten wurden bezüglich des Alters und des Transplantationszeitpunktes gematcht. Es gab keinen Unterschied das Geschlecht, HLA-mismatch, CMV-Status noch das Vorkommen oder Auftreten eines Diabetes mellitus oder die Dialysedauer betreffend. Keiner der Patienten zeigte Symptome eines akuten Nierenversagens, es gab keine Abstoßungen innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation oder während des Beobachtungszeitraums.

Der Cyclosporin A-Spiegel aller nierentransplantierten Patienten betrug im Durchschnitt  $162 \pm 25$  ng/ml Vollblut. Wie bereits beschrieben, unterzogen wir alle nierentransplantierten Patienten einer Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems, die wir nach einer vierzehntägigen Fludrokortisongabe wiederholten. Durch den Vergleich unterschiedlicher Parameter wie z.B. Säure-Basen-Haushalt, Renin-Angiotensin-System, Nierenfunktion und quantitative Bestimmung der Mineralkortikoidrezeptoren auf Leukozyten wollten wir untersuchen, welche der beiden Patientengruppen von einer Fludrokortisontherapie profitierte.

### 3.1 Nierentransplantierte Patienten im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv (Gruppe A versus Gruppe B)

Im folgenden Kapitel werden

1. alle nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) mit den gesunden Kontrollprobanden verglichen (Gruppe B).  
Des Weiteren wird im Detail auf den Vergleich zwischen den Untergruppen
2. nierentransplantierte Patienten *mit* Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) versus gesunde Kontrollprobanden (Gruppe B) und
3. nierentransplantierte Patienten *ohne* Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) versus gesunde Kontrollprobanden (Gruppe B) eingegangen:

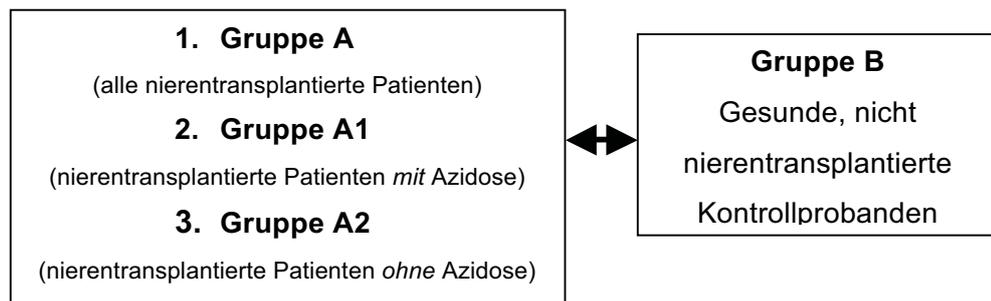


Abbildung 7: Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden alle nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B), nierentransplantierte Patienten mit Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) und nierentransplantierte Patienten ohne Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B).

#### 3.1.1 Allgemeine Laborbestimmungen

##### Kalium

1. **Gruppe A vs. Gruppe B:** Mit einem durchschnittlichen Kaliumwert von  $4,5 \pm 0,6$  mmol/l unterschieden sich alle nierentransplantierten Patienten

(Gruppe A) nicht signifikant von den gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B:  $4,1 \pm 0,2$  mmol/l).

- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Betrachtet man im Einzelnen die Patienten der Untergruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose), so zeigte sich hier im Vergleich zu den Kontrollprobanden kein signifikanter Unterschied bezüglich des Kaliums im Serum (Gruppe A<sub>1</sub>:  $4,8 \pm 0,7$  mmol/l vs. Gruppe B:  $4,1 \pm 0,2$  mmol/l), obwohl die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> eine deutliche hyperkaliämische Komponente aufwiesen.
- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Auch bei den nierentransplantierten Patienten der Untergruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) unterschied sich das Kalium im Serum nicht signifikant vom Kaliumspiegel in der Gruppe B der Kontrollprobanden (Gruppe A<sub>2</sub>:  $4,4 \pm 0,5$  mmol/l vs. Gruppe B:  $4,1 \pm 0,2$  mmol/l).

Zusammenfassend betrachtet stach zwar die Untergruppe der nierentransplantierten Patienten mit Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) mit einer hyperkaliämischen Tendenz hervor, dies war jedoch nicht statistisch signifikant. Insgesamt unterschieden sich die Kaliumspiegel zwischen nierentransplantierten Patienten und nierengesunden Kontrollprobanden nicht voneinander.

## Chlorid

- 1. Gruppe A vs. Gruppe B:** Alle Transplantierten gemeinsam betrachtet (Gruppe A) zeigten mit einem Chloridwert im Serum von  $108,1 \pm 5,2$  mmol/l zu den Kontrollprobanden (Gruppe B:  $104,8 \pm 2,4$  mmol/l) einen signifikanten Unterschied ( $p \leq 0,05$ ).
- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Das Chlorid betrug bei den Patienten der Untergruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose)  $112,7 \pm 4$  mmol/l. Mit einem Chlorid von  $104,8 \pm 2,4$  mmol/l unterschieden sich die Kontrollprobanden (Gruppe B) deutlich mit einer Signifikanz von  $p \leq 0,05$ .
- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Zwischen der Untergruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Azidose) und der Kontrollgruppe B zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des Chloridwertes im Serum (Gruppe A<sub>2</sub>:  $106,1 \pm 4,5$  mmol/l vs. Gruppe B:  $104,8 \pm 2,4$  mmol/l).

---

Mit dem Chloridwert als indirektem Marker für den Säure-Basen-Haushalt zeigte sich bei dem Vergleich der Gruppen miteinander, dass die Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose) einen signifikant höheren Chloridwert im Serum aufwies als die gesunde Kontrollgruppe. Als Untergruppe der gesamten nierentransplantierten Probanden war der Chloridwert im Durchschnitt noch derart erhöht, dass er sich auch im Vergleich Gruppe A (alle nierentransplantierten Patienten) vs. Gruppe B (nierengesunde Kontrollprobanden) signifikant erhöht darstellen ließ.

### 3.1.2 Säure-Basen-Haushalt

#### Bikarbonat

- 1. Gruppe A vs. Gruppe B:** Im Vergleich zwischen allen nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) zu nierengesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) ließen sich folgende Werte für das Bikarbonat ermitteln: Gruppe A:  $21,5 \pm 3,1$  mmol/l vs. Gruppe B:  $23,3 \pm 2,6$  mmol/l. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant.
- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Der Unterschied der Patienten der Untergruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose), zur Kontrollgruppe B bezüglich des Bikarbonats war hochsignifikant ( $p \leq 0,0001$ ) zu verzeichnen (Gruppe A<sub>1</sub>:  $18,5 \pm 1,2$  mmol/l vs. Gruppe B:  $23,3 \pm 2,6$  mmol/l).
- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Die nierentransplantierten Patienten ohne Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) wiesen auf das Bikarbonat bezogen keinen Unterschied zu den Kontrollprobanden auf (Gruppe B): Gruppe A<sub>2</sub>:  $23 \pm 2,8$ , mmol/l vs. Gruppe B:  $23,3 \pm 2,6$  mmol/l n.s.).

Diese Ergebnisse waren beim Bikarbonat zu erwarten, denn das Bikarbonat war Trennkriterium, um die beiden Untergruppen A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> zu unterscheiden. Bei der oben stehenden statistischen Betrachtung wurden jedoch nicht die beiden Untergruppen A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> gegeneinander verglichen, sondern die beiden Untergruppen und die Gesamtgruppe aller nierentransplantierten Patienten gegen die nierengesunden Kontrollprobanden der Gruppe B. Hierbei unterschied sich nur die Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) von der Gruppe B.

### 3.1.3 Aldosteron

- 1. Gruppe A vs. Gruppe B:** Der Aldosteronspiegel unterschied sich nicht signifikant zwischen den Transplantierten (Gruppe A) und den gesunden Probanden (Gruppe B):  $150 \pm 33$  pg/ml vs.  $148 \pm 33$  pg/ml, ns.
- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Auch der Vergleich des Aldosterons der Untergruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose:  $172,7 \pm 93,4$  pg/ml) mit dem der Gruppe B (nierengesunde Kontrollprobanden:  $148 \pm 33$  pg/ml) ergab keinen signifikanten Unterschied.
- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Die Untergruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Azidose) zeigte ebenso keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe B (Gruppe A<sub>2</sub>:  $139 \pm 101,4$  pg/ml vs. Gruppe B:  $148 \pm 33$  pg/ml).

Zusammenfassend zeichnete sich weder in der Betrachtung der Gruppe A (Gesamtgruppe der nierentransplantierten Patienten) gegenüber der gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) eine statistische Differenzierung ab, noch im Vergleich der Untergruppen A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose) oder A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Azidose) mit der Gruppe B.

### 3.1.4 Kreatinin

- 1. Gruppe A vs. Gruppe B:** Vergleich man die Nierenfunktion anhand des Kreatinins im Serum zwischen allen nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) und den nierengesunden Probanden (Gruppe B), so unterschied sich diese hochsignifikant ( $p \leq 0,0001$ ): Kreatinin im Serum der Gruppe A:  $2,1 \pm 0,4$  mg/dl vs. Gruppe B:  $1,1 \pm 0,2$  mg/dl.
- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Auch die einzelne Betrachtung der Nierentransplantierten in der Untergruppen A<sub>1</sub> (mit Azidose) zeigte eine hochsignifikant ( $p \leq 0,0001$ ) schlechtere Nierenfunktion als bei den gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B): Gruppe A<sub>1</sub> wies ein Kreatinin von  $2,0 \pm 0,2$  mg/dl auf vs. Gruppe B:  $1,1 \pm 0,2$  mg/dl.

- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Die Untergruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Azidose) unterschied sich ebenfalls hochsignifikant ( $p \leq 0,0001$ ) von der nierengesunden Kontrollgruppe B: Kreatinin im Serum bei Gruppe A<sub>2</sub>:  $2,2 \pm 0,5$  vs. Gruppe B:  $1,1 \pm 0,2$  mg/dl.

Insgesamt kann man eine hochsignifikant schlechtere Nierenfunktion aller drei nierentransplantierten Patientengruppen nachweisen als bei der nierengesunden Kontrollgruppe.

### 3.1.5 Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR)

- 1. Gruppe A vs. Gruppe B:** Bei der Gesamtgruppe der Nierentransplantierten (Gruppe A) war die hMR-Expression signifikant geringer als bei den gesunden Probanden (Gruppe B):  $155 \pm 78$  Moleküle/0.5 g totale RNA vs.  $427 \pm 73$  Moleküle/0.5 g totale RNA,  $p \leq 0,01$ .
- 2. Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe B:** Im Detail zeigte die Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose) eine Expression von  $173 \pm 133$  Moleküle/0.5 g totale RNA. Der Unterschied zu den nierengesunden Kontrollprobanden (Gruppe B,  $427 \pm 73$  Moleküle/0.5 g totale RNA) war mit  $p \leq 0,05$  als signifikant zu verzeichnen.
- 3. Gruppe A<sub>2</sub> vs. Gruppe B:** Die Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Azidose) wies eine Expression der humanen Mineralkortikoidrezeptoren von  $136 \pm 107$  Moleküle/0.5 g totale RNA auf. Somit war der Vergleich zwischen dieser Gruppe und der Gruppe B (gesunde Kontrollprobanden) mit  $427 \pm 73$  Moleküle/0.5 g totale RNA signifikant ( $p \leq 0,01$ ).

Alle nierentransplantierten Patientengruppen (Gruppe A = gesamt, Gruppe A<sub>1</sub> = mit Azidose, Gruppe A<sub>2</sub> = ohne Azidose) wiesen somit eine signifikant niedrigere Expression der humanen Mineralkortikoidrezeptoren auf peripheren Leukozyten auf als die nierengesunde Kontrollgruppe B.

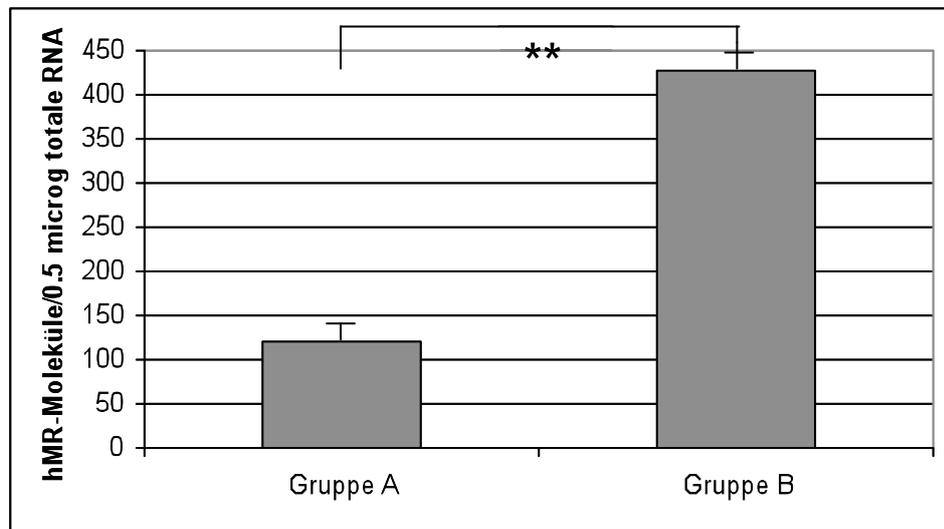


Abbildung 8: Anzahl der humanen Mineralkortikoidrezeptor-Molekülen bei Nierentransplantierten (Gruppe A) und gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B), Signifikanz von Gruppe A zu Gruppe B berechnet, Daten als  $X \pm \text{SEM}$ , Signifikanzniveau  $** p < 0,01$ .

### 3.2 Gruppe A<sub>1</sub>: Nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose im Vergleich vor versus nach Fludrokortisongabe

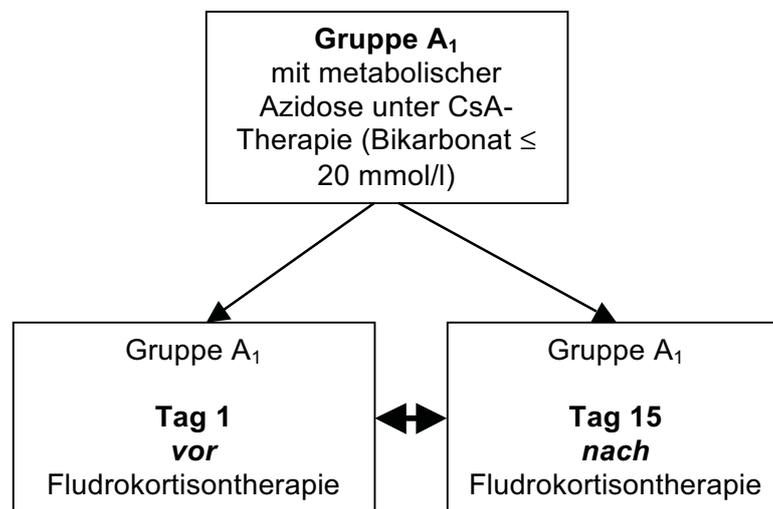


Abbildung 9: Übersicht über Daten, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil  zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden die Daten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose vor versus nach Fludrokortisongabe.

#### 3.2.1 Klinische Daten der untersuchten Patienten

In Gruppe A<sub>1</sub> wurden all diejenigen nierentransplantierten Patienten eingeteilt, die eine metabolische Azidose aufwiesen, definiert über ein Bikarbonat  $\leq 20$  mmol/l (siehe Abbildung 6, S. 29).

##### Antihypertensiva

In dieser Gruppe befanden sich sieben Patienten, fünf männliche und zwei weibliche. Drei Patienten nahmen drei Antihypertensiva ein, vier der Patienten nahmen zwei Antihypertensiva ein. Unter diesen Medikamenten waren weder kaliumsparende Diuretika noch ACE-Hemmer oder Angiotensin 2-Rezeptor-Antagonisten. Die Patienten befanden sich nicht unter einer speziellen salzarmen Diät.

### **Immunsuppressiva**

Zwei Patienten nahmen zusätzlich zu Cyclosporin A Mycophenolatmofetil (CellCept ®) ein, zwei zusätzlich Prednisolon (Decortin ® H). Drei Patienten wiesen eine Dreier-Kombination bezüglich der Immunsuppressiva auf und nahmen zusätzlich Cellcept ® und Decortin ® H ein.

### **Transplantationsgrund**

Als Transplantationsgrund wiesen zwei Patienten die IgA-Nephritis auf, ein Patient eine intra- und extrakapillare Glomerulonephritis, ein Patient eine Wegener Granulomatose. Ein Patient wurde aufgrund einer Niereninsuffizienz bei Refluxnephropathie transplantiert, ein Patient wegen polyzystischer Nierendegeneration und ein Patient aufgrund interstitieller Nephritis nach Radiatio.

### **Körpergewicht**

Das Körpergewicht zeigte zwischen Tag 1 und 15 keinen signifikanten Unterschied bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose):  $74 \pm 17$  kg vs.  $74 \pm 18$  kg.

## **3.2.2 Allgemeine Laborbestimmungen**

Im Folgenden wurden jeweils die erhobenen Daten vor der Fludrokortisongabe, also an Tag 1, mit denen nach der Fludrokortisongabe, d.h. Tag 15 verglichen.

### **Kalium**

In dieser Studiengruppe, die die Patienten zusammenfasste, die unter einer metabolischen Azidose im Rahmen der Cyclosporin A-Therapie litten (Gruppe A<sub>1</sub>), zeigte sich ein basaler Kaliumwert von  $4,8 \pm 0,7$  mmol/l. Nach

vierzehntägiger Einnahme von Fludrokortison sank der Kaliumwert im Blut mit einer Signifikanz von  $p \leq 0,05$  auf  $3,8 \pm 0,2$  mmol/l.

Somit war der hier verzeichnete Rückgang der Hyperkaliämie das erste Zeichen einer Beeinflussung des Elektrolythaushalts durch Fludrokortison.

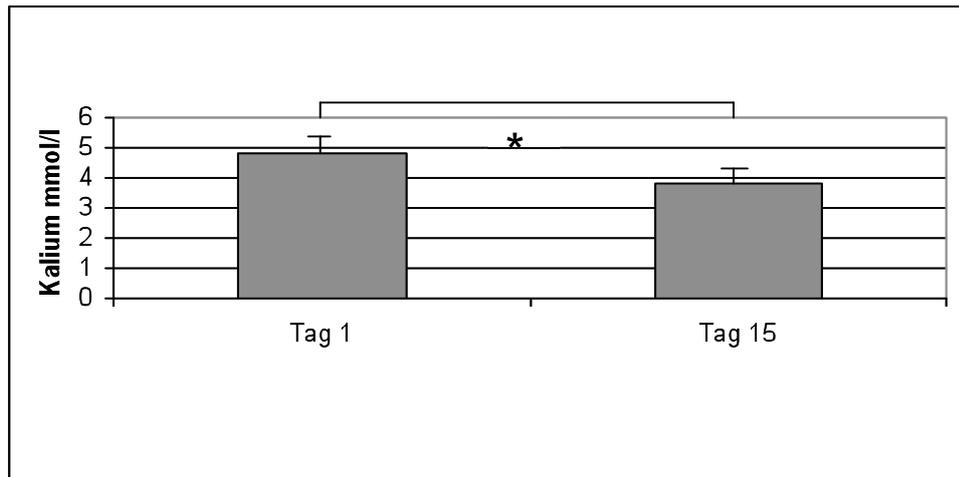


Abbildung 10: Kalium im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kalium im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $X \pm$  SEM, Signifikanzniveau \*  $p < 0,05$ .

### Chlorid

Der Chloridwert veränderte sich in der Gruppe A<sub>1</sub> wie folgt: Vor Einnahme des Fludrokortisons betrug das Chlorid im Serum  $112,7 \pm 4,0$  mmol/l. Nachdem die sieben nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) das Fludrokortison einnahmen, sank der Chloridwert auf  $108,2 \pm 2,0$  mmol/l. Auch diese Veränderung war signifikant ( $p \leq 0,05$ ).

Der Chloridwert spiegelte den Säure-Basen-Haushalt wider und machte die Tendenz zur Normalisierung des pH-Wertes bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) gut deutlich nach zweiwöchiger Fludrokortisontherapie.

### 3.2.3 Säure-Basen-Haushalt

#### pH im Blut

Der pH-Wert aus dem kapillaren Blut des Ohrläppchens der Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) betrug basal  $7,4 \pm 0,0$ . Mit einer Signifikanz von  $p \leq 0,05$  stieg der pH-Wert nach der vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme auf  $7,43 \pm 0,04$ .

Wieder zeigte die Einnahme des chemischen Mineralkortikoids die Verbesserung des Säure-Basen-Haushaltes nun in Form der Stabilisierung des pH-Werts bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose).

#### Bikarbonat im Blut

Analog zum pH-Wert wurde der Bikarbonatwert an Tag 1 und Tag 15 bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) verglichen: Er wurde hochsignifikant basischer:  $18,5 \pm 1,2$  mmol/l am ersten Untersuchungstag vs.  $23,2, \pm 2,5$  mmol/l nach Fludrokortisoneinnahme am zweiten Untersuchungstag ( $p \leq 0,01$ ).

Auch bei der Betrachtung der Veränderung beim Bikarbonat zeigte sich die positive Wirkung des Fludrokortisons für die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>.

#### pH im Urin

Nicht signifikante Veränderungen ließen sich im Urin-pH nachweisen: Bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) lag der basal Urin-pH vor Fludrokortisongabe bei  $5,5 \pm 0,6$  und danach bei  $5,5 \pm 0,5$ .

Somit unterschied sich der pH-Wert im Urin für die nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) nicht.

### 3.2.4 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

In der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose) der vorliegenden Studie wurden sowohl an Tag 1 als auch an Tag 15 die Plasmareninaktivität, das ACE (Angiotensin converting enzyme) sowie das Aldosteron im Serum bestimmt, um die Veränderungen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System nach vierzehntägiger Einnahme von Fludrokortison widerzuspiegeln:

#### **Plasmareninaktivität**

Bei den Nierentransplantierten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) betrug die Plasmareninaktivität basal  $1,8 \pm 1,3$  ng/ml x h. Nach Fludrokortisontherapie sank die Plasmareninaktivität mit einer Signifikanz von  $p \leq 0,05$  auf  $0,7 \pm 0,6$  ng/ml x h.

Dies machte die Beeinflussung des chemischen Mineralkortikoids Fludrokortison auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System gut deutlich bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose).

#### **ACE**

Beim ACE verhielt es sich im Vergleich zwischen den Untersuchungstagen 1 und 15 wie folgt: Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) wiesen an Tag 1 für das ACE einen Wert von  $64,0 \pm 25,1$  U/l auf, nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme konnte man für das Angiotensin-converting Enzym einem Wert von  $57,2 \pm 40,1$  U/l nachweisen (nicht signifikant).

Somit konnte man bei der Analyse des ACE bezüglich der Fludrokortisonwirkung keine signifikante Veränderung zwischen Tag 1 und Tag 15 nachvollziehen bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose).

### Aldosteron

Das Aldosteron lag bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) basal bei  $172,7 \pm 93,4$  pg/ml, nach Fludrokortisoneinnahme bei  $52,7 \pm 70,9$  pg/ml. Dieser Unterschied war hochsignifikant ( $p \leq 0,01$ ).

Bei der Bestimmung des Aldosterons als letztes Hormon des RAA-Systems wurde die Wirkung des chemischen Mineralkortikoids Fludrokortison deutlich: Bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) bewirkte eine Einnahme von Fludrokortison einen hochsignifikanten Rückgang von Aldosteron im Serum.

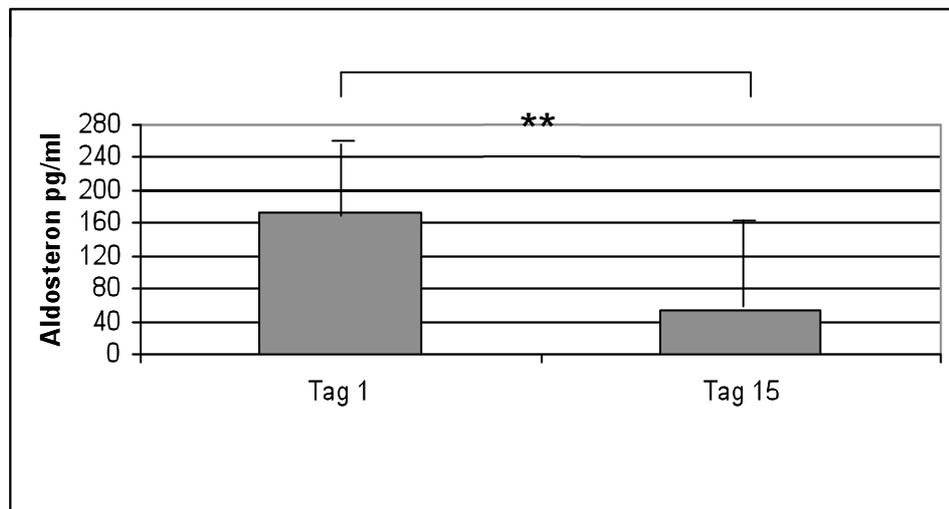


Abbildung 11: Aldosteron im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Aldosteron im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $X \pm$  SEM, Signifikanzniveau \*\*  $p < 0,01$ .

### 3.2.5 Nierenfunktion

Um die Nierenfunktion der Patienten widerzuspiegeln, wurden sowohl der Kreatininwert im Serum als auch die endogene Kreatinin-Clearance (ECC) bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) bestimmt. Die für diese Studie wichtige Nettosäureausscheidung und der transtubuläre Kaliumgradient wurden gesondert (s.u.) betrachtet.

### Kreatinin

Der mittlere Kreatininwert der Patienten in Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) betrug basal  $2,0 \pm 0,2$  mg/dl. Nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme sank der Kreatininwert hochsignifikant auf  $1,5 \pm 0,2$  mg/dl ( $p \leq 0,01$ ).

Diese Verbesserung der Nierenfunktion in Form des Kreatinins bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) ließ einen interessanten Ausblick auf eine Therapie mit Fludrokortison zu.

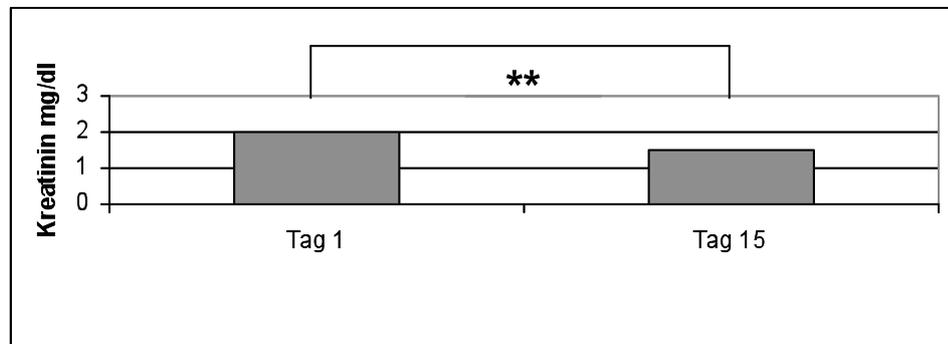


Abbildung 12: Kreatinin im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kreatinin im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $X \pm$  SEM, Signifikanzniveau \*\*  $p < 0,01$ .

### Endogene Kreatinin-Clearance (ECC)

Diese Verbesserung der Nierenfunktion spiegelte sich bei der endogenen Kreatinin-Clearance (ECC) tendenziell wider: Basal zeigten die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) eine ECC von  $47,0 \pm 10,5$  ml/h  $\times$   $1,73\text{m}^2$ , an Tag 15 nach Fludrokortisontherapie lag die Clearance bei  $56,9 \pm 13,8$  ml/h  $\times$   $1,73\text{m}^2$ .

Der Vergleich der Clearance zeigte eine signifikante Verbesserung von  $p < 0,05$ .

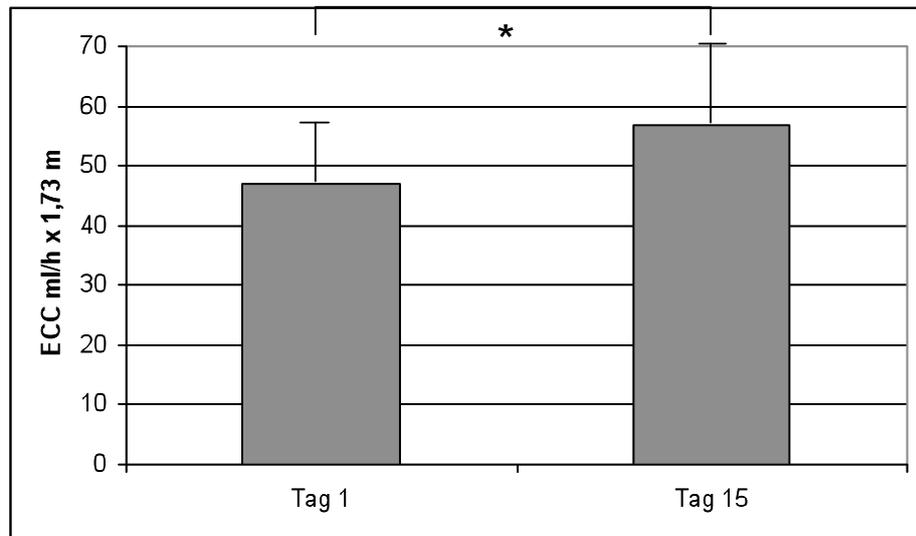


Abbildung 13: ECC (Endogene Kreatinin-Clearance) bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit ECC nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* p < 0,05.

### 3.2.6 Nettosäureausscheidung (NAE)

Die Nettosäureausscheidung als Maß für den Nierenfunktionstest des tubulären Systems wurde bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) vor Fludrokortisongabe mit  $83,5 \pm 39,4$  mol/min berechnet. Mit einer Signifikanz von  $p \leq 0,05$  sank die Nettosäureausscheidung im distalen Nierentubulus auf  $64,0 \pm 35,6$  mol/min nach Fludrokortisoneinnahme.

Somit wurde bei diesem aussagekräftigen Nierenfunktionstest die positive Wirkung von Fludrokortison für die nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) gut deutlich:

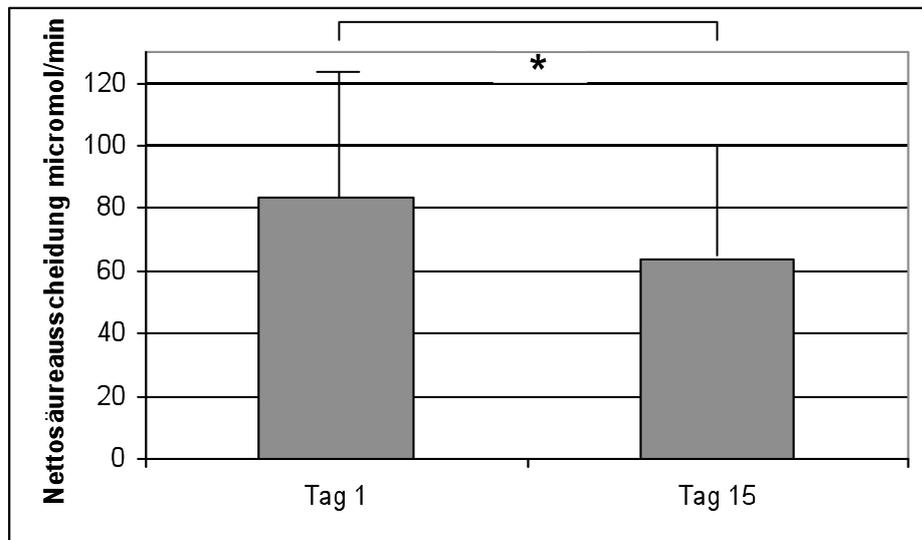


Abbildung 14: Nettosäureausscheidung im Urin bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Nettosäureausscheidung im Urin nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* < p 0,05.

### 3.2.7 Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG)

Der transtubuläre Kaliumgradient informiert über den Kaliumfluss im Nierentubulus und gibt die Exkretion bezogen auf den 24-Stunden Sammelurin wider. Da der TTKG ein Quotient aus Osmolalität und Kaliumwert aus jeweils dem Blut und dem 24-Stunden-Sammelurin ist, ist er ein einheitsloser Wert. Die Berechnung bei der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Azidose) betrug am ersten Tag  $4,8 \pm 1,3$ , an Tag 15 stieg der TTKG mit deutlicher Tendenz auf  $5,6 \pm 1,4$ . Dieser Unterschied erwies sich jedoch nicht als signifikant.

Anhand des transtubulären Kaliumgradienten als Marker für die Kaliumexkretion im distalen Nierentubulus wurde die Wirkung von Fludrokortison bereits nach vierzehn Tagen Applikation deutlich: Die Patienten mit Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) sezernierten mehr Kalium und stabilisierten dadurch ihren Elektrolythaushalt.

## Ergebnisse

Gruppe A<sub>1</sub>: Nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose im Vergleich vor versus nach Fludrokortisonapplikation

Eine Zusammenfassung der wichtigsten Nierenfunktionsparameter der Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Azidose unter Cyclosporin A-Therapie an Tag 1 und Tag 15 zeigt folgende Tabelle:

<b>Gruppe A<sub>1</sub></b> mit metabolischer Azidose			
	vor Fludrokortisonapplikation	nach Fludrokortisonapplikation	Signifikanz
Patienten (n)	7	7	
Bikarbonat HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	18,5 ± 1,2	23,2 ± 2,5	p ≤ 0,01
Kalium K <sup>+</sup> (mg/dl)	4,8 ± 0,7	3,8 ± 0,2	p ≤ 0,05
Chlorid Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	112,7 ± 4,0	108,2 ± 2,0	p ≤ 0,05
Kreatinin (mg/dl)	2,0 ± 0,2	1,5 ± 0,2	p ≤ 0,01
Kreatininclearance ECC (ml/min x 1,73 x m <sup>2</sup> )	47,0 ± 10,5	56,9 ± 13,8	p ≤ 0,05
Transtubulärer Kaliumgradient TTKG	4,8 ± 1,3	5,6 ± 1,4	n.s.

Tabelle 1: Nierenfunktionsparameter bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) im Vergleich vor versus nach Fludrokortisonapplikation

### 3.2.8 Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR)

Die Expression der humanen Mineralkortikoid-Rezeptoren wurde bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) zwischen Tag 1 und 15 wie folgt verglichen: Die Expression vor Fludrokortisongabe betrug 173 ± 133 Moleküle/0.5 g totale RNA und stieg nicht signifikant auf 224 ± 159 Moleküle/0.5 g totale RNA.

Somit wirkte sich bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) die Fludrokortisontherapie bereits nach vierzehn Tagen quantitativ auf die Expression von Mineralkortikoidrezeptoren auf peripheren Leukozyten aus.

### **3.2.9 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)**

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) betrug bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) am ersten Tag  $98 \pm 7$  mmHg, an Tag 15 nach Einnahme von Fludrokortison  $104 \pm 12$  mmHg. Der Unterschied war als nicht signifikant zu verzeichnen.

Trotz aller Wirkung auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, die wir bisher festgestellt haben, blieb der normwertige Blutdruck bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> stabil und normwertig.

### 3.3 Gruppe A<sub>2</sub>: Nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose im Vergleich vor versus nach Fludrokortisongabe

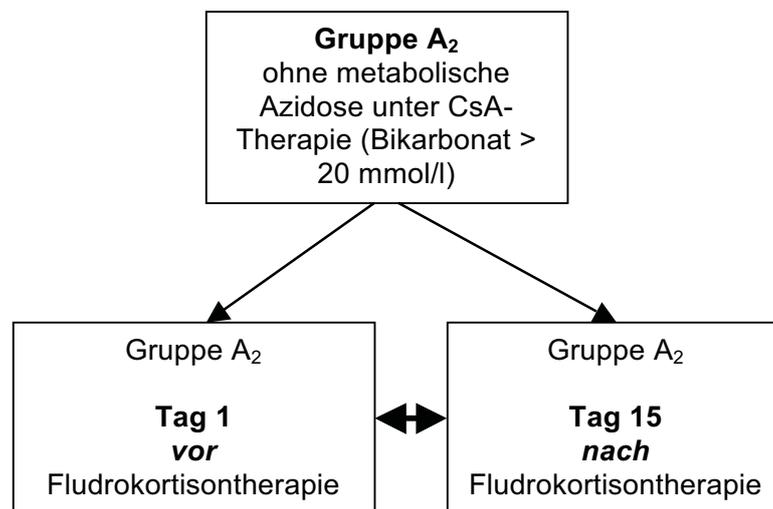


Abbildung 15: Übersicht über Daten, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil  zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden die Daten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose vor versus nach Fludrokortisongabe.

#### 3.3.1 Klinische Daten der untersuchten Patienten

All diejenigen nierentransplantierten Patienten, die nicht unter einer Cyclosporin A-typischen Nebenwirkung wie der metabolischen Azidose litten, bildeten in dieser Studie die Gruppe A<sub>2</sub>. Somit lag der Bikarbonatspiegel im Blut bei diesen Patienten > 20 mmol/l (siehe Abbildung 6, S. 29).

#### Antihypertensiva

In Gruppe A<sub>2</sub> waren 14 Patienten, elf männliche und drei weibliche Patienten. Sieben Patienten nahmen drei Antihypertensiva ein, fünf der Patienten nahmen zwei Antihypertensiva ein, zwei Patienten nahmen nur eines ein. Diese Medikamente gehörten weder zu den kaliumsparenden Diuretika noch zu den

ACE-Hemmern oder Angiotensin 2-Rezeptor-Antagonisten. Die Patienten dieser Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) unterlagen keiner speziellen salzarmen Diät.

### **Immunsuppressiva**

Zusätzlich zum Cyclosporin A nahm ein Patient Mycophenolatmofetil (CellCept®) ein, sechs zusätzlich Prednisolon (Decortin® H). Sieben Patienten wiesen eine Dreier-Kombination bezüglich der Immunsuppressiva auf und nahmen zusätzlich Cellcept® und Decortin® H ein.

### **Transplantationsgrund**

Als Transplantationsgrund zeigte sich bei vier Patienten eine Schrumpfniere, zwei Patienten wiesen eine IgA-Nephritis auf, ein Patient eine Refluxerkrankung der Niere. Zwei Patienten wurden aufgrund einer membranösen Glomerulonephritis transplantiert, zwei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (Transplantierte ohne Azidose) hatten eine Niereninsuffizienz unklarer Genese und drei Patienten litten an benigner Nephrosklerose.

### **Körpergewicht**

Das Körpergewicht unterschied sich zwischen Tag 1 und Tag 15 wenig:  $77 \pm 19$  kg vs.  $78 \pm 19$  kg. Der Unterschied war bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nicht signifikant.

### **3.3.2 Allgemeine Laborbestimmungen**

Wie bei Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) wurden auch bei Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) im Folgenden jeweils die erhobenen Daten vor der Fludrokortisongabe, also an Tag 1, verglichen mit den Befunden nach der Fludrokortisongabe, d.h. an Tag 15.

### Kalium

Bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) war ein hochsignifikanter Abfall des Kaliums im Blut im Vergleich vor der Fludrokortisoneinnahme zu danach zu verzeichnen: An Tag 1 betrug das Kalium  $4,4 \pm 0,5$  mmol/l, an Tag 15  $3,8 \pm 0,5$  mmol/l ( $p \leq 0,001$ ).

Das Fludrokortison zeigte bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) insofern eine Wirkung auf den Elektrolythaushalt, als dass der Kaliumspiegel sank.

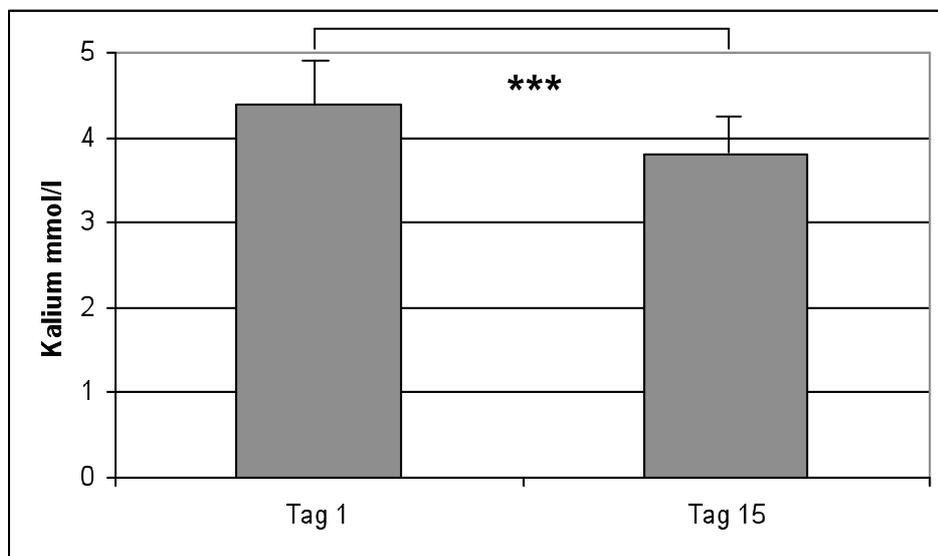


Abbildung 16: Kalium im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kalium im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $X \pm$  SEM, Signifikanzniveau \*\*\*  $p < 0,001$ .

### Chlorid

Im Gegensatz dazu veränderte sich der Chloridwert im Serum bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nicht signifikant: An Tag 1 lag der Chloridwert bei  $106,1 \pm 4,5$  mmol/l, an Tag 15 lag er bei  $104,4 \pm 5,0$  mmol/l.

Als indirekter Marker für den Säure-Basen-Haushalt wurde das Chlorid bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) durch die zweiwöchige Fludrokortisontherapie nicht beeinflusst.

### 3.3.3 Säure-Basen-Haushalt

#### pH im Blut

Der pH-Wert im Blut wurde bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) basal mit  $7,41 \pm 0,03$  gemessen und stieg nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme an auf  $7,44 \pm 0,05$  mit einem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$ .

Die Einnahme des chemischen Mineralkortikoids bewirkte eine Veränderung des Säure-Basen-Haushaltes in Form des Ansteigens des pH-Werts bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose).

#### Bikarbonat im Blut

Bei dem Bikarbonat im Blut ließ sich eine signifikante Veränderung bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) verzeichnen: Vor der Fludrokortisongabe lag der Wert des Bikarbonats bei  $23,0 \pm 2,8$  mmol/l, danach wurde ein Bikarbonat von  $25,0 \pm 3,3$  mmol/l gemessen ( $p \leq 0,05$ ).

Das Fludrokortison bewirkte bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) ein Rückgang des Bikarbonats nach vierzehn Tagen.

#### pH im Urin

Im Gegensatz zu den bisherigen Parametern des Säure-Basen-Haushalts veränderte sich der Urin-pH in der Gruppe A<sub>2</sub> der nierentransplantierten Patienten (ohne Azidose) zwischen Tag 1 und Tag 15 nicht signifikant: pH im Urin  $5,7 \pm 0,5$  vs.  $6,0 \pm 0,6$ .

Der pH im Urin war bei der Gruppe A<sub>2</sub> durch das Fludrokortison somit nicht zu beeinflussen.

### 3.3.4 Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Auch in der Gruppe der Nierentransplantierten, die keine metabolische Azidose unter Cyclosporin A-Therapie aufwiesen, nämlich in der Gruppe A<sub>2</sub>, wurde das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System genauestens untersucht.

#### **Plasmareninaktivität**

Für die Plasmareninaktivität ergaben sich in der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) folgende Werte: An Tag 1 wurde ein Wert von  $4,3 \pm 9,8$  ng/ml x h gemessen. Im Vergleich zu Tag 15 konnte mit  $1,5 \pm 1,7$  ng/ml x h ein deutlicher Abfall der Plasmareninaktivität verzeichnet werden, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

Das chemische Mineralkortikoid Fludrokortison veränderte die Plasmareninaktivität bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nicht.

#### **ACE**

Betrachtete man das Angiotensin-converting Enzyme bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose), so zeigte sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen Tag 1 und Tag 15:  $61,3 \pm 32,0$  ACE U/l wurde im Durchschnitt vor Fludrokortisoneinnahme gemessen,  $50,8 \pm 31,2$  U/l danach. Somit konnte man bei der Analyse des ACE bezüglich der Fludrokortisonwirkung keine Veränderung zwischen Tag 1 und Tag 15 nachvollziehen bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose).

#### **Aldosteron**

Beim Aldosteron jedoch zeigten die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) einen hochsignifikanten Abfall nach der Fludrokortisongabe: Basal ließ sich ein Aldosteronwert von  $139,2 \pm 101,4$  pg/ml nachweisen, danach lag der Aldosteronwert bei  $52,3 \pm 58,2$  pg/ml ( $p \leq 0,001$ ).

Bei der Bestimmung des Aldosterons wurde die Wirkung des chemischen Mineralkortikoids Fludrokortison bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) deutlich: das Aldosteron im Serum sank hochsignifikant.

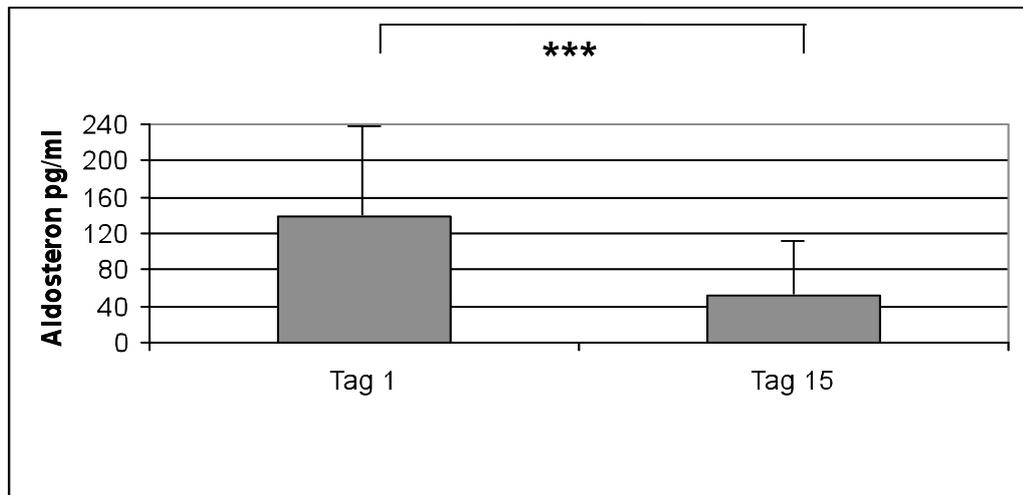


Abbildung 17: Aldosteron im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose), vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Aldosteron im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $X \pm \text{SEM}$ , Signifikanzniveau \*\*\*  $p < 0,001$ .

### 3.3.5 Nierenfunktion

#### Kreatinin

Die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose wiesen basal ein Kreatinin von  $2,2 \pm 0,5$  mg/dl auf, nach vierzehntätiger Fludrokortisoneinnahme ließ sich ein signifikanter Abfall auf  $2,0 \pm 0,7$  mmol/l verzeichnen ( $p \leq 0,05$ ).

Die Verbesserung der Nierenfunktion in Form des Kreatinins stellte auch für die nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) eine positive Wirkung dar, die auf das Fludrokortison zurückzuführen wäre.

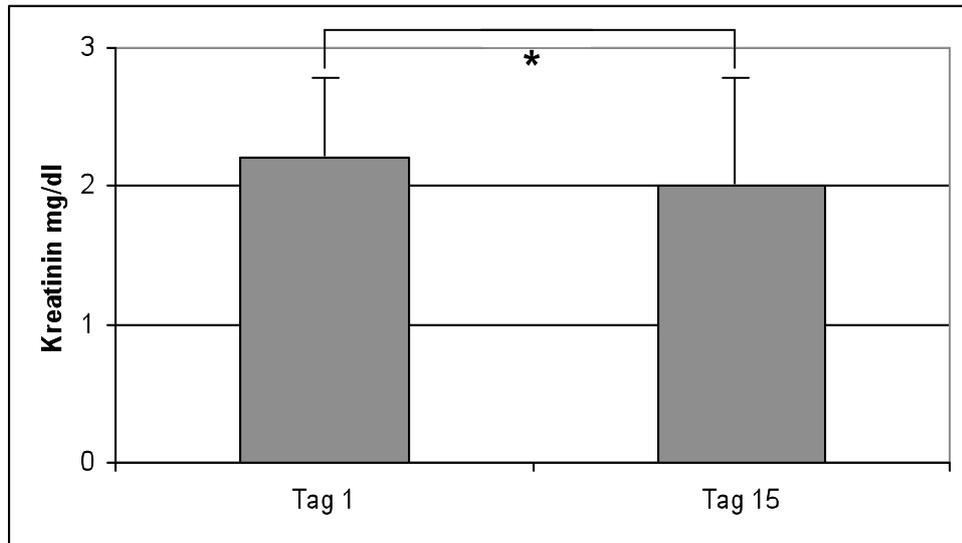


Abbildung 18: Kreatinin im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kreatinin im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , Signifikanzniveau  $* < 0,05$ .

### Endogene Kreatinin-Clearance (ECC)

Ein weiterer klinischer Parameter der Nierenfunktion war die endogene Kreatinin-Clearance. Diese lag bei den nierentransplantierten Patienten ohne metabolische Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) an Tag 1 bei  $45,1 \pm 16,5 \text{ ml/h} \times 1,73 \text{ m}^2$  und stieg nicht signifikant an Tag 15 auf  $57,7 \pm 14,1 \text{ ml/h} \times 1,73 \text{ m}^2$  an.

Fludrokortison bewirkte bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) zwar tendentiell eine verbesserte Kreatinin-Clearance, diese war jedoch nicht signifikant.

### 3.3.6 Nettosäureausscheidung (NAE)

Die Nettosäureausscheidung (NAE) des distalen Nierentubulus ließ sich bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) wie folgt berechnen: vor Fludrokortisongabe betrug die NAE  $52,9 \pm 40,2 \text{ mol/min}$ , nach der

vierzehntägigen Fludrokortisongabe stieg sie nicht signifikant auf  $68,0 \pm 34,3$  mol/min.

Bei diesem aussagekräftigen Nierenfunktionstest ließ sich im Gegensatz zur Gruppe A<sub>1</sub> keine positive Wirkung von Fludrokortison für die nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nachweisen.

### 3.3.7 Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG)

Der transtubuläre Kaliumgradient wurde auch in der Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) berechnet aus den Parametern der Osmolalitäten und des Kaliumgehalts im 24-Stunden-Sammelurin und des Blutes an Tag 1 und Tag 15. Obwohl sich bei der Gruppe A<sub>2</sub> ein tendenzieller Anstieg nach der Einnahme von Fludrokortison bemerkbar machte, so zeigte die Differenz keinen signifikanten Unterschied:  $5,1 \pm 1,5$  vs.  $6,3 \pm 2,3$ .

Anhand des transtubulären Kaliumgradienten als Marker für die Kaliumexkretion im distalen Nierentubulus wurde für die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) keine Wirkung von Fludrokortison nach vierzehn Tagen Applikation nachgewiesen.

Eine Zusammenfassung der wichtigsten Nierenfunktionsparameter der Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Hyperkaliämie und ohne hyperchlorämische Azidose unter Cyclosporin A-Therapie an Tag 1 und Tag 15 zeigt folgende Tabelle:

<b>Gruppe A<sub>2</sub></b> ohne metabolische Azidose			
	vor Fludrokortisonapplikation	nach Fludrokortisonapplikation	Signifikanz
Patienten (n)	14	14	
Bikarbonat HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	23,0 ± 2,8	25,0 ± 3,3	p ≤ 0,05
Kalium K <sup>+</sup> (mg/dl)	4,4 ± 0,5	3,8 ± 0,5	p ≤ 0,001
Chlorid Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	106,1 ± 4,5	104,4 ± 5,0	n.s.
Kreatinin (mg/dl)	2,2 ± 0,5	2,0 ± 0,7	p ≤ 0,05
Kreatininclearance ECC (ml/min x 1,73 x m <sup>2</sup> )	45,1 ± 16,5	47,7 ± 14,1	n.s.
Transtubulärer Kaliumgradient TTKG	5,1 ± 1,5	6,3 ± 2,3	n.s.

Tabelle 2: Nierenfunktionsparameter bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) im Vergleich vor versus nach Fludrokortisonapplikation

### 3.3.8 Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR)

Die Expression der humanen Mineralkortikoid-Rezeptoren wurde bei den Patienten ohne metabolische Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) quantitativ wie folgt bestimmt: Ein Anstieg wurde im Vergleich zwischen beiden Untersuchungstagen deutlich, jedoch nicht als statistisch signifikant verzeichnet. So zeigten die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> basal 136 ± 107 Moleküle/0.5 g totale RNA, nach Fludrokortisoneinnahme 142 ± 201 Moleküle/0.5 g totale RNA.

Somit wirkte sich bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) die Fludrokortisontherapie nicht auf die Expression von Mineralkortikoidrezeptoren auf peripheren Leukozyten aus.

### **3.3.9 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)**

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) betrug bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub>, die nicht unter metabolischer Azidose litten, am ersten Tag  $100 \pm 8$  mmHg und an Tag 15 ebenso  $100 \pm 8$  mmHg. Somit blieb der Blutdruck vor und nach Einnahme von Fludrokortison stabil.

### 3.4 Gruppe A<sub>1</sub> versus Gruppe A<sub>2</sub>: Vergleich nierentransplanteder

**Patienten mit versus ohne metabolische Azidose** (Klinische

Daten, Kalium, Säure-Basen-Haushalt, RAAS, Nierenfunktion, NAE,

TTKG, hMR)

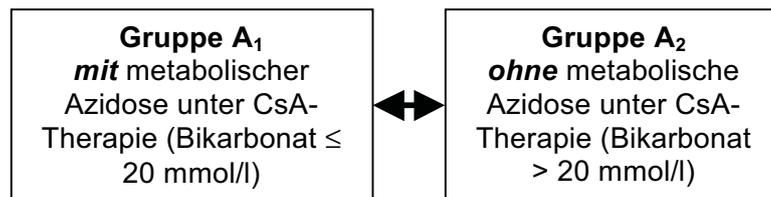


Abbildung 19: Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose.

#### 3.4.1 Gruppe A<sub>1</sub> versus Gruppe A<sub>2</sub> Tag 1: Vergleich nierentransplanteder Patienten mit versus ohne metabolische Azidose vor Fludrokortisongabe

Im Folgenden wurden zunächst die Ergebnisse beschrieben, die vor der Fludrokortisongabe, also an Tag 1 erhoben wurden. Dabei wurden im Besonderen die Ergebnisse der Gruppe A<sub>1</sub> mit denen der Gruppe A<sub>2</sub> verglichen, d.h. nierentransplantede Patienten mit metabolischer Azidose vs. Patienten ohne metabolische Azidose unter Cyclosporin A-Therapie.

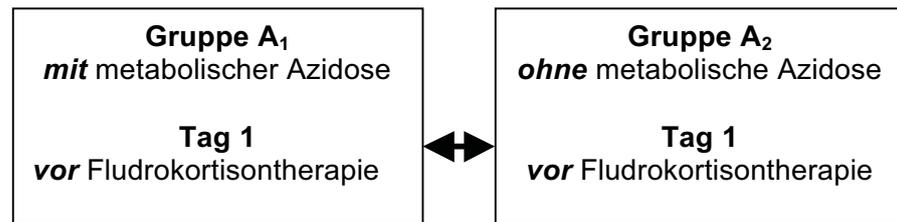


Abbildung 20: Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose vor Fludrokortisongabe.

### Kalium

Bei den sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>, die unter einer metabolischen Azidose litten, ließ sich ein Kaliumwert von  $4,8 \pm 0,7$  mmol/l nachweisen, bei den 14 Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) lag der Kaliumgehalt im Serum bei  $4,4 \pm 0,5$  mmol/l. Dieser Unterschied spiegelte ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  wider.

Hier ließ sich vermuten, dass die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) schlechter in der Lage waren Kalium zu sezernieren als die Patienten ohne Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>).

### Chlorid

Auch der Chloridwert zeigte im Vergleich zwischen den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) und der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) einen signifikanten Unterschied, hier mit  $p \leq 0,01$ : An Tag 1 wies die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose im Mittel einen Chloridwert von  $112,7 \pm 4,0$  mmol/l auf, bei der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) lag der basale Chloridwert bei  $106,1 \pm 4,5$  mmol/l.

Der Chloridwert spiegelte den Säure-Basen-Haushalt wider und bestätigte die Gruppeneinteilung der nierentransplantierten Patienten.

### **Cyclosporin A-Spiegel**

Die Spiegel des eingenommenen Immunsuppressivums Cyclosporin A unterschied sich bei beiden Patientengruppen nicht voneinander: Der durchschnittliche Wert der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) war  $147 \pm 35$  ng/ml, die Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne Azidose) zeigte einen Cyclosporin A-Spiegel von  $145 \pm 28$  ng/ml.

Die Dosierungen für Cyclosporin A waren somit in beiden Patientengruppen gut verordnet worden (siehe S. 15).

### **Säure-Basen-Haushalt**

#### **pH im Blut**

Der pH-Wert im Blut, der bei den Patienten aus dem hyperämisierten Ohrläppchen gewonnen wurde, lag bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose bei  $7,39 \pm 0,04$ . Mit einem pH-Wert von  $7,41 \pm 0,03$  unterschieden sich die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose nicht signifikant von der Gruppe A<sub>1</sub>.

Obwohl die Patienten in Gruppen mit und ohne Azidose eingeteilt wurden, so zeigte sich dies statistisch nicht bei der Betrachtung des pH-Wertes im Blut, allerdings ist die Tendenz mit einem azidotischeren Wert für die Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) gegeben und das Unterscheidungskriterium für die Gruppeneinteilung war nicht der pH-Wert, sondern das Bikarbonat.

#### **Bikarbonat im Blut**

Wie bereits erwähnt zeigte sich eine Differenz bezüglich des Bikarbonats als Unterscheidungskriterium zwischen den beiden Patientengruppen hochsignifikant mit  $p \leq 0,01$  (siehe Abbildung 6): Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose)  $18,5 \pm 1,2$  mmol/l vs. Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose)  $23,0 \pm 2,8$  mmol/l.

### **pH im Urin**

Der basale Urin-pH zeigte im Vergleich zwischen den beiden Patientengruppen in der vorliegenden Studie keinen signifikanten Unterschied: Gruppe A<sub>1</sub> mit Cyclosporin A-typischen Nebenwirkungen wies einen Urin-pH von  $5,5 \pm 0,6$  auf, Gruppe A<sub>2</sub> ohne Cyclosporin A-typische Nebenwirkungen einen von  $5,7 \pm 0,5$ . Der pH im Urin unterschied sich bei unseren zwei Gruppen mit nierentransplantierten Patienten basal somit nicht.

### **Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)**

Die Parameter des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zeigten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den beiden Gruppen der nierentransplantierten Patienten mit Azidose (A<sub>1</sub>) versus nierentransplantierte Patienten ohne Azidose (A<sub>2</sub>).

### **Plasmareninaktivität**

Die Plasmareninaktivität an Tag 1 der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose betrug im Mittelwert  $1,8 \pm 1,3$  ng/ml x h. Mit einem Wert von  $4,3 \pm 9,8$  ng/ml x h unterschied sich die Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose) deutlich von Gruppe A<sub>1</sub>, dies war jedoch nicht als signifikant zu verzeichnen.

Nierentransplantierte Patienten unter Cyclosporin A-Therapie mit Azidose scheinen eine verminderte Reninaktivität aufzuweisen im Vergleich zu Patienten ohne Azidose.

### **ACE**

Der basale Wert für das Angiotensin-converting Enzym wurde vor der Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems und vor Fludrokortisongabe bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit  $64,0 \pm 25,1$  U/l bestimmt, bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose betrug er  $61,3 \pm 32,0$  U/l (n.s.), somit unterschied sich der Wert zwischen unseren beiden Patientengruppen nicht.

### **Aldosteron**

Obwohl der Mittelwert des Aldosterons sich deutlich zwischen den beiden Patientengruppen unterschied, ließ sich statistisch keine Signifikanz nachweisen: Gruppe A<sub>1</sub> mit Azidose zeigte vor Fludrokortisoneinnahme ein Aldosteron von  $172,7 \pm 93,4$  pg/ml, Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose ein vermindertes Aldosteron im Mittel von  $139,2 \pm 101,4$  pg/ml.

### **Nierenfunktion**

#### **Kreatinin**

Der basale Kreatininwert unterschied sich zwischen den Gruppen A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose und A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose nicht signifikant: Gruppe A<sub>1</sub>  $2,0 \pm 0,2$  mg/dl vs. Gruppe A<sub>2</sub>  $2,2 \pm 0,5$  mg/dl.

Der Kreatininwert als Parameter für die Nierenfunktion ist nicht verändert im Gegensatz zum Säure-Basen-Haushalt bei den o.g. Patientengruppen.

#### **Endogene Kreatinin-Clearance (ECC)**

Als weiterer Parameter für die Nierenfunktion wurde die endogene Kreatinin-Clearance hinzugezogen, die keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen A<sub>1</sub> (Patienten mit Cyclosporin A-typischen Nebenwirkungen wie Azidose) und A<sub>2</sub> (Patienten ohne Cyclosporin A-Nebenwirkungen) zeigte. Die ECC an Tag 1 für die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> war  $47,0 \pm 10,5$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup>, für die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub>  $45,1 \pm 16,5$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup>.

Somit scheint auch die Clearance als Zeichen der Nierenfunktion keinen Unterschied darzustellen zwischen den azidotischen Nierentransplantierten (Gruppe A<sub>1</sub>) und den Nierentransplantierten ohne metabolische Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>).

### **Nettosäureausscheidung (NAE)**

Die Nettosäureausscheidung als Maß für die Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems ergab im Vergleich zwischen den beiden Patientengruppen in der vorliegenden Studie keinen statistisch signifikanten Unterschied, jedoch eine deutliche Tendenz. Die NAE für die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose betrug  $83,5 \pm 39,4$  mol/min, die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose zeigten eine NAE von  $52,9 \pm 40,2$  mol/min.

Die nierentransplantierten Patienten mit Azidose hatten also mehr Säure im Urin ausgeschieden als die Patienten ohne Azidose.

### **Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG)**

Mit einem Wert von  $4,8 \pm 1,3$  wiesen die sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose vor Fludrokortisontherapie einen transtubulären Kaliumgradienten auf, der sich nicht signifikant von den vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose unterschied:  $5,1 \pm 1,5$ .

Mit diesem einheitslosen Quotienten beurteilt man die Fähigkeit, Kaliumionen über den Nierentubulus zu sezernieren. Dass die Patienten mit einer Azidose und Hyperkaliämie tendentiell weniger Kalium sezernieren können, wird durch den niedrigeren TTKG-Wert bestätigt.

### **Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR)**

Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) zeigten eine basale quantitative Expression der Mineralkortikoidrezeptoren von  $173 \pm 133$  Moleküle/0.5 g totale RNA. Die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub>, die nicht unter einer metabolischen Azidose litten, zeigten eine niedrigere Expression von  $136 \pm 107$  Moleküle/0.5 g totale RNA. Diese Daten vom ersten Untersuchungstag unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

## Ergebnisse

Gruppe A<sub>1</sub> versus A<sub>2</sub>: Vergleich nierentransplantierten Patienten mit versus ohne metabolische Azidose vor Fludrokortisonapplikation

Eine Zusammenfassung der wichtigsten biochemischen Laborparameter der transplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose und der Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose unter Cyclosporin A-Therapie an Tag 1 zeigt folgende Tabelle:

Tag 1	Gruppe A <sub>1</sub> mit metabolischer Azidose	Gruppe A <sub>2</sub> ohne metabolische Azidose	Signifikanz
Patienten (n)	7	14	
Bikarbonat HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	18,5 ± 1,2	23,0 ± 2,8	p ≤ 0,01
Kalium K <sup>+</sup> (mg/dl)	4,8 ± 0,7	4,4 ± 0,5	p ≤ 0,05
Chlorid Cl <sup>-</sup> (mmol/l)	112,7 ± 4,0	106,1 ± 4,5	p ≤ 0,01
Kreatinin (mg/dl)	2,0 ± 0,2	2,2 ± 0,5	n.s.
Kreatininclearance ECC (ml/min x 1,73 x m <sup>2</sup> )	47,0 ± 10,5	45,1 ± 16,5	n.s.
Cyclosporin A (ng/ml)	147 ± 35	145 ± 28	n.s.
Aldosteron (pg/ml)	173,7 ± 93,4	139,2 ± 101,4	n.s.
Mineralkortikoidrezeptoren (Moleküle/0.5 g totale RNA)	173 ± 133	136 ± 107	n.s.
Transtubulärer Kaliumgradient TTKG	4,8 ± 1,3	5,1 ± 1,5	n.s.

Tabelle 3: Biochemische Laborparameter bei nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) im Vergleich zu Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisontherapie.

### 3.4.2 Gruppe A<sub>1</sub> versus Gruppe A<sub>2</sub> Tag 15: Vergleich nierentransplantierten Patienten mit versus ohne metabolische Azidose nach Fludrokortisongabe

In diesem Kapitel werden nun die Befunde beschrieben, die bei den nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> nach vierzehntägiger oraler Wirkung von Fludrokortison erhoben wurden, also an Tag 15. Dabei wurden wiederum die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>, die unter der Cyclosporin A-spezifischen Nebenwirkung wie metabolischer Azidose litten, und die der Gruppe A<sub>2</sub>, die im Rahmen der immunsuppressiven Therapie mit Cyclosporin A keine Nebenwirkungen zeigten, verglichen.

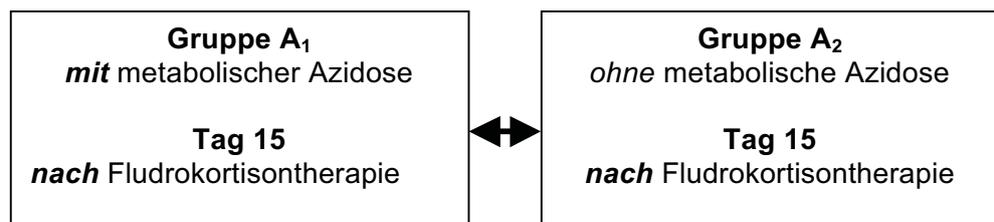


Abbildung 21: Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose nach Fludrokortisongabe.

#### Kalium

Die sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose zeigten im Mittel einen Kaliumwert von  $3,8 \pm 0,2$  mmol/l nach vierzehntägiger Fludrokortisonapplikation. Die vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose wiesen ebenso einen Kaliumwert von  $3,8 \pm 0,5$  mmol/l auf, n.s.

## **Säure-Basen-Haushalt**

### **pH im Blut**

Auch der aus dem hyperämisierten Ohrläppchen gewonnene pH-Wert des Blutes zeigte keinen signifikanten Unterschied unter Fludrokortisontherapie im Vergleich der Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) zur Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne Azidose):  $7,43 \pm 0,04$  vs.  $7,44 \pm 0,05$ . Somit war bei beiden Patientengruppen nach der Therapie mit Fludrokortison der pH-Wert stabil und im Normbereich.

### **Bikarbonat im Blut**

Das Bikarbonat basal als Unterscheidungskriterium für die Gruppeneinteilung wurde jetzt nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme bestimmt: Es unterschied sich im Gegensatz zum Tag 1 nicht signifikant im Vergleich zwischen Gruppe A<sub>1</sub> und Gruppe A<sub>2</sub>: Gruppe A<sub>1</sub> zeigt einen Mittelwert von  $23,2 \pm 2,5$  mmol/l, der Bikarbonatwert der Gruppe A<sub>2</sub> lag bei  $25,0 \pm 3,3$  mmol/l. Das Bicarbonat als indirektes Zeichen des Säure-Basen-Haushaltes spiegelt wie der oben erwähnte pH-Wert eine stabile Situation in beiden Patientengruppen nach Fludrokortisontherapie wider.

### **pH im Urin**

Der Urin-pH unterschied sich im Vergleich zwischen der Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) zur Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose) am zweiten Untersuchungstag nicht signifikant: Die sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> hatten einen Urin-pH-Wert von  $5,5 \pm 0,5$ , die vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> wiesen einen Urin-pH von  $6,0 \pm 0,6$  auf. Auch wenn statistisch nicht relevant, so zeichnet sich doch zumindest der Trend ab, dass die Patienten ohne metabolische Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) einen basischeren Urin nach der Fludrokortisoneinnahme hatten.

### **Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)**

Wie die statistische Auswertung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems am ersten Untersuchungstag, so zeigte auch der Vergleich zwischen der Gruppe A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose vs. ohne metabolische Azidose) am zweiten Untersuchungstag keine signifikanten Unterschiede:

### **Plasmareninaktivität**

Bei den sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Cyclosporin A-Nebenwirkung lag die mittlere Reninaktivität bei  $0,7 \pm 0,6$  ng/ml x h. Die vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose zeigten nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme zwar einen doppelt so hohen Reninwert ( $1,5 \pm 1,7$  ng/ml x h), diese Differenz war jedoch statistisch nicht signifikant. Bezieht man diesen allerdings deutlichen Trend – Gruppe A<sub>1</sub> mit dem deutlich niedrigeren Plasmareninwert nach Fludrokortisoneinnahme als Gruppe A<sub>2</sub> – auf die Definition des Typ 2 Pseudohypoaldosteronismus (s. 1.3.2, S. 11), so deckt sich der verminderte Plasmareninspiegel mit der postulierten Störung des Renin-Angiotensin Aldosteronsystems für die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>.

### **ACE**

Das Angiotensin-converting Enzym gemessen in der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose zeigte einen Mittelwert von  $57,2 \pm 40,1$  U/l. Mit  $50,8 \pm 31,2$  U/l lag der Wert für die Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose) an Tag 15 nach vierzehntägiger Fludrokortisonapplikation zwar deutlich niedriger, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

### **Aldosteron**

Ebenso wenig signifikant war der Vergleich das Aldosteron betreffend: Nach zweiwöchiger Fludrokortisoneinnahme zeigten die sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Azidose einen Aldosteronwert von  $52,7 \pm 70,9$  pg/ml, mit geringem

Unterschied lag der Aldosteronwert der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose bei  $52,3 \pm 58,2$  pg/ml.

### **Nierenfunktion**

#### **Kreatinin**

Einen signifikanten Unterschied zeigte der Vergleich zwischen Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit Hyperkaliämie und metabolischer Azidose) und Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne Hyperkaliämie und Azidose) bei dem Kreatininwert als einem Parameter der Nierenfunktion: Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> wiesen nach vierzehntägiger Einnahme von Fludrokortison ein Kreatinin von  $1,5 \pm 0,2$  mg/dl auf, der Kreatininwert der Gruppe A<sub>2</sub> lag nach vierzehn Tagen bei  $2,0 \pm 0,7$  mg/dl ( $p \leq 0,05$ ). Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> scheinen demnach gut von dem Fludrokortison zu profitieren: Die Nierenfunktion das Kreatinin betreffend besserte sich.

#### **Endogene Kreatinin-Clearance (ECC)**

Die auf die Körperoberfläche bezogene endogene Kreatinin-Clearance aus dem 24-Stunden-Sammelurin unterschied sich bei beiden Patientengruppen folgendermaßen: Die nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> hatten an Tag 15 nach Fludrokortisontherapie eine Clearance von  $56,9 \pm 13,8$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup>, die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> zeigten an Tag 15 eine Clearance von  $47,7 \pm 14,1$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup> ( $p \leq 0,05$ ). Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) zeigt also eine signifikant bessere Nierenfunktion auf als Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nach der 14-tägigen Einnahme von Fludrokortison.

#### **Nettosäureausscheidung (NAE)**

Die Nettosäureausscheidung, die aus dem Quotienten aus der titrierbaren Azidität TA, aus dem Bikarbonat des 1-Stunden-Sammelurins nach Natriumsulfatinfusion und dessen Menge und aus dem Ammoniumgehalt des

Sammelurins errechnet wird, zeigte im Vergleich zwischen der Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) und der Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose) an Tag 15 keinen signifikanten Unterschied:  $64,0 \pm 35,6$  mol/min vs.  $68,0 \pm 34,3$  mol/min. Somit unterschieden sich die beiden Patientengruppen bezüglich der Säureausscheidung über den Urin nach der Fludrokortisontherapie nicht voneinander, im Gegensatz zu den basalen Erhebungen: Am Tag 1 war für die Gruppe A<sub>1</sub> (Patienten mit metabolischer Azidose) eine deutliche Tendenz zu verzeichnen mehr Säure über den Urin auszuscheiden als die Gruppe A<sub>2</sub> (Patienten ohne metabolische Azidose).

### **Transtubulärer Kaliumgradient (TTKG)**

Der einheitslose transtubuläre Kaliumgradient betrug bei den sieben nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose  $5,6 \pm 1,4$ . Nach vierzehn Tagen Fludrokortisonapplikation zeigten die vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose einen etwas höheren Mittelwert des TTKG von  $6,3 \pm 2,3$  (n.s.). Die Fähigkeit, Kaliumionen über den Nierentubulus auszuscheiden ist somit nach erfolgter Therapie mit Fludrikortison bei beiden Patientengruppen ähnlich.

### **Quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR)**

Die humanen Mineralkortikoidrezeptoren, die quantitativ auf den Leukozyten bestimmt wurden, lagen bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Cyclosporin A-typischen Nebenwirkungen) am Tag 15 bei  $224 \pm 159$  Moleküle/0.5 g totale RNA. Mit  $142 \pm 201$  Moleküle/0.5 g totale RNA war der Mittelwert der Gruppe A<sub>2</sub> deutlich niedriger, jedoch statistisch nicht signifikant.

Eine Zusammenfassung der wichtigsten biochemischen Laborparameter der Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit metabolischer Azidose) und

## Ergebnisse

Gruppe A<sub>1</sub> versus A<sub>2</sub>: Vergleich nierentransplanteder Patienten mit versus ohne metabolische Azidose nach Fludrokortisonapplikation

der Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) unter Cyclosporin A-Therapie an Tag 15 zeigt folgende Tabelle:

Tag 15	Gruppe A <sub>1</sub> mit metabolischer Azidose	Gruppe A <sub>2</sub> ohne metabolische Azidose	Signifikanz
Patienten (n)	7	14	
Bikarbonat HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	23,2 ± 2,5	25,0 ± 3,3	n.s.
Kalium K <sup>+</sup> (mg/dl)	3,8 ± 0,2	3,8 ± 0,5	n.s.
Kreatinin (mg/dl)	1,5 ± 0,2	2,0 ± 0,7	p ≤ 0,05
Kreatininclearance ECC (ml/min x 1,73 x m <sup>2</sup> )	56,9 ± 13,8	47,7 ± 14,1	p ≤ 0,05
Aldosteron (pg/ml)	52,7 ± 70,9	52,3 ± 58,2	n.s.
Mineralkortikoidrezeptoren (Moleküle/0.5 g totale RNA)	224 ± 159	142 ± 201	n.s.
Transtubulärer Kaliumgradient TTKG	5,6 ± 1,4	6,3 ± 2,3	n.s.

Tabelle 4: Biochemische Laborparameter bei nierentransplanteden Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) im Vergleich zu Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) nach Fludrokortisontherapie.

### 3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Im folgenden sollen die Ergebnisse aus dem Vergleich zwischen den nierentransplantierten Patienten und den gesunden Kontrollprobanden sowie aus den beiden Patientengruppen A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit metabolischer Azidose) und A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) unter Cyclosporin A-Therapie an Tag 1 und Tag 15, d.h. vor und nach der Fludrokortisontherapie zusammengefasst werden. Dabei wollen wir uns auf die wichtigsten Parameter des Säure-Basen-Haushaltes, des Elektrolythaushaltes und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems beschränken.

Bei dem Gesamtkollektiv der nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) fiel natürlich auf, dass sie eine geringere Nierenfunktion aufwiesen als die gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B), dies spiegelte sich ganz deutlich im Kreatininwert wider.

Das Kalium betreffend unterschieden sich die beiden Patientengruppen A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) und A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose) nicht von den gesunden Probanden.

Betrachtete man jedoch den Chloridwert, so beobachteten wir dass die azidotischen Patienten (Gruppe A<sub>1</sub>) einen signifikant höheren Wert aufwiesen als die gesunden Probanden und als die Nierentransplantierten der Gruppe A<sub>2</sub> – hier spiegelt sich unsere Gruppeneinteilung in eine azidotische und nicht azidotische Patientengruppe wider (anhand des Bikarbonats im Blut), es zeigte sich jedoch auch, dass alle unsere untersuchten Nierentransplantierten einen signifikant höheren Chloridwert zu verzeichnen hatten als die gesunden Kontrollprobanden. Hinsichtlich des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems untersuchten wir noch das Aldosteron, welches keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den Patientengruppen und den Probanden zeigte.

Die quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren auf den Leukozyten ergab, dass sowohl das Gesamtkollektiv aller nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) als auch die einzelnen Patientengruppen A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> eine signifikant geringere Expression aufwiesen.

Geht man nun in die detaillierte Betrachtung der Nierentransplantierten, so fällt eine Hyperkaliämie bei den azidotischen Patienten (Gruppe A<sub>1</sub>) auf, die bei der Gruppe A<sub>2</sub> nicht gegeben ist. Nach vierzehntägiger Einnahme von Fludrokortison, welches alle Patienten beider Gruppen erhielten, normalisierte sich die Hyperkaliämie der Gruppe A<sub>1</sub>, der Kaliumwert der Gruppe A<sub>2</sub> war zwar rückläufig, blieb aber im Normalbereich.

Der Chloridwert fiel auch mit einer signifikanten Veränderung auf: Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) hatten einen höheren Chloridwert als die Patienten ohne Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) und nach der Fludrokortisontherapie war der Chloridwert bei der Gruppe A<sub>1</sub> auch noch signifikant rückläufig.

Andere Parameter des Säure-Basen-Haushaltes, des Elektrolythaushaltes und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zeigten z.T. deutliche Veränderungen, die sich jedoch nicht immer signifikant niederschlugen:

Die Kreatininclearance als Zeichen der Nierenfunktion besserte sich nur bei der Patientengruppen A<sub>1</sub> signifikant, bei der Gruppe A<sub>2</sub> gab es keinen Unterschied zwischen dem Zeitpunkt vor zu nach Einnahme des Fludrokortisons. Ein besonderer Benefit unter Fludrokortisontherapie zeigte sich somit für die Nierentransplantieren der Gruppe A<sub>1</sub>: die glomeruläre Filtrationsrate erhöhte sich signifikant bereits nach 14 Tagen: ECC Tag 1:  $47,0 \pm 10,5 \text{ ml/h} \times 1,73 \text{ m}^2$  vs. Tag 15:  $56,9 \pm 13,8 \text{ ml/h} \times 1,73 \text{ m}^2$  ( $p < 0,05$ ).

Auch der TTKG (transtubuläre Kaliumgradient) stieg bei beiden Patientengruppen im Vergleich von Tag 1 zu Tag 15 (nach der Fludrokortisonapplikation) als Zeichen einer verbesserten Kaliumsezernierung, dies war jedoch nicht signifikant.

Beim Aldosteron hingegen konnte man signifikante Veränderungen festhalten: Bei beiden Patientengruppen war der Rückgang des Aldosterns nach vierzehntägiger Fludrokortisontherapie signifikant.

Die Plasmareninaktivität ging jedoch nur bei Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) signifikant zurück nach Fludrokortisontherapie.

Eine deutliche Tendenz ergab sich aus der Betrachtung der Expression der humanen Mineralkortikoidrezeptoren: Nach der Fludrokortisontherapie wurden bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) mehr Rezeptoren auf der

Oberfläche der Leukozyten exprimiert als bei der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose – die folgende Graphik spiegelt dies eindrücklich wider:

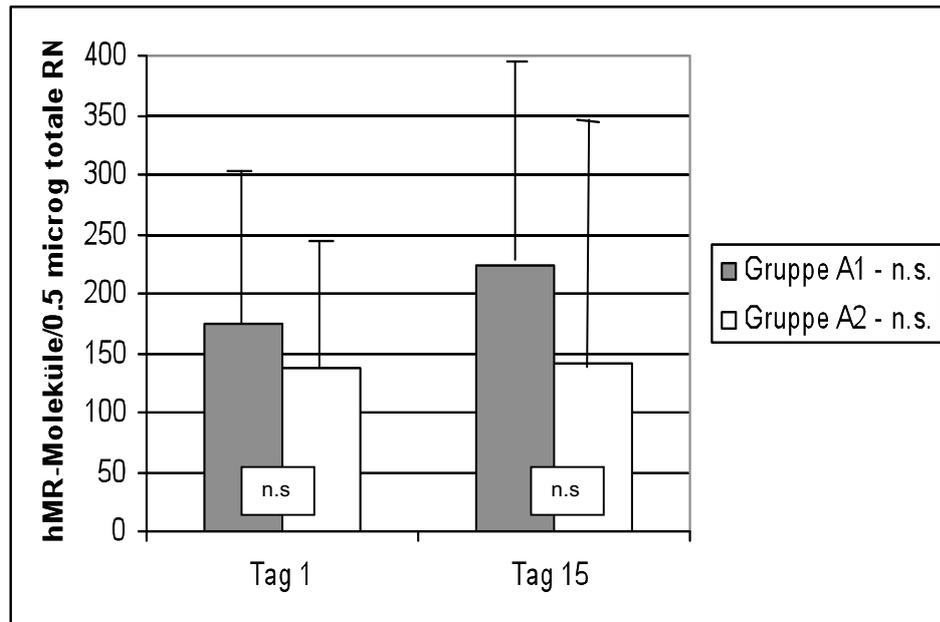


Abbildung 22: Anzahl der humanen Mineralkortikoidrezeptor-Moleküle bei nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne Azidose): Signifikanzen von Tag 1 (vor Fludrokortisonapplikation) nach Tag 15 (nach Fludrokortisonapplikation) berechnet, Daten als X +/- SEM, n.s.: nicht signifikant.

## 4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es, die durch Cyclosporin A hervorgerufene Aldosteronresistenz bei nierentransplantierten Patienten deutlich zu machen und neue Aspekte und Perspektiven zur Therapie der Aldosteronresistenz unter Immunsuppression mit Cyclosporin A zu erhalten. Somit untersuchten wir bei nierentransplantierten Patienten zum einen die Beziehung zwischen der Transplantatfunktion unter Cyclosporin A-Therapie und dem Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt sowie zum anderen den Zusammenhang zwischen dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und der Expression der Mineralkortikoidrezeptoren. Außerdem beobachteten wir den Einfluss von Fludrokortison auf den Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt und auf die Expression der Mineralkortikoidrezeptoren, um die partielle Aldosteronresistenz bei ausreichendem Aldosteronspiegel deutlich zu machen.

Cyclosporin A kann die Symptome eines Pseudypoaldosteronismus mit Zeichen einer Aldosteronresistenz hervorrufen in Form von Hyperkaliämie und metabolischer Azidose (DeFronzo 1980, White 1987, Hanukoglu 1991, Ulick 1992, Rose 2001). Als Ursache der metabolischen Azidose und Hyperkaliämie wurden verschiedene Pathomechanismen diskutiert. Zahlreiche Autoren berichteten über das Auftreten eines Pseudohypoaldosteronismus (Adu 1983, Bantle 1985, Mason 1990, Kamel 1991, Jones 1993), also einer verminderten Aldosteronwirkung bei normalen oder sogar erhöhten Aldosteronspiegeln. Shoker et al. stellten 1996 in einem Fallbeispiel eine nierengesunde 21jährige Patientin vor, die eine hyperkaliämische, hyperchlorämische und renal tubuläre Azidose entwickelte. Ihre Ergebnisse ließen auf einen Pseudohypoaldosteronismus schließen, ausgelöst durch eine erhöhte Chloridresorption. Unter Cyclosporin A wurde dieses klinische Bild auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtet. Bantle et al. untersuchten 1985 zehn nierentransplantierte Patienten, die mit Cyclosporin A und Prednisolon therapiert wurden. Die Kontrollgruppe stellte zehn Patienten dar, die statt Cyclosporin Azathioprin erhielten. Diese Daten sprachen für eine reduzierte Plasmareninaktivität unter Cyclosporin A mit resultierender tubulärer Aldosteronresistenz. 1997 berichteten Fleming et al. über zwei Patienten, die nach einer Knochenmarktransplantation eine Hyperkaliämie entwickelten. Sie

fürten dies auf eine Aldosteronresistenz zurück. Deray et al. beobachteten dieses Phänomen bei Patienten mit idiopathischer Uveitis 1992. Dieses Ergebnis bei nicht nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-Therapie war insofern interessant, als dass jegliche Einschränkung der Nierenfunktion eine direkte Wirkung durch das Cyclosporin A vermuten ließ, da man bei diesen nicht nierentransplantierten Patienten von einer normalen Nierenfunktion vor Cyclosporin A-Therapie ausging.

Betrachtet man nun die vorangestellten Zielsetzungen der hier präsentierten Forschungsarbeit und ihre Ergebnisse, so wird deutlich, dass es unter den nierentransplantierten Patienten unter Immunsuppression mit Cyclosporin A solche Patienten gab, die unter einer Hyperkaliämie und metabolischen Azidose litten (Gruppe A<sub>1</sub>) und es grenzte sich eine Patientengruppe ab, die diese Nebenwirkung von Cyclosporin A nicht aufwies (Gruppe A<sub>2</sub>). Zu klären wäre, warum nicht alle nierentransplantierten Patienten die Zeichen eines Pseudohypoaldosteronismus in Form von der dargestellten Aldosteronresistenz aufwiesen. Bei diesen Patienten war die Hyperkaliämie und Azidose z.T. recht ausgeprägt, jedoch unter Fludrokortisontherapie gut rückläufig. Die Gruppeneinteilung erfolgte durch das Bicarbonat als Trennkriterium: Bikarbonat  $\leq 20$  mmol/l = Gruppe A<sub>1</sub>, Bikarbonat  $> 20$  mmol/l = Gruppe A<sub>2</sub>. (Bicarbonat Gruppe A<sub>1</sub>  $18,5 \pm 1,2$  vs. Gruppe A<sub>2</sub>  $23,0 \pm 2,8$  mmol/l,  $p \leq 0,01$ ). Betrachtet man das Kalium, so unterschied es sich signifikant zwischen den Gruppen A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) und A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose):  $4,8 \pm 0,7$  vs.  $4,4 \pm 0,5$  mg/dl,  $p \leq 0,05$ . Dies bestätigt, dass Nierentransplantierte mit einer Azidose auch unter Elektrolytstörungen in Form einer Hyperkaliämie leiden.

Es wurde bereits in in-vitro-Studien gezeigt, dass Cyclosporin A auf verschiedenen Wegen die Kaliumausscheidung im Nierentubulus beeinflusst: Die Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase (Tumlin 1993) und des luminalen Kalium-Kanals (Ling 1993) wird verringert, außerdem erfolgt eine erhöhte Chloridresorption, die ein lumen-negatives Potential und eine daraus resultierende erhöhte Kaliumausscheidung zusätzlich verhindert (Kamel 1991, Wu 2000). Der transtubuläre Kaliumgradient TTKG als Zeichen der Exkretion von Kaliumionen im distalen Nierentubulus und als Zeichen der Wirkung von Aldosteron bzw. Fludrokortison (Mayan 2001) war basal bei unseren

nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Zeichen einer Hyperkaliämie) tendenziell niedriger als bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Hyperkaliämie:  $4,8 \pm 1,3$  vs.  $5,1 \pm 1,5$ . Bei beiden Gruppen lag dieser einheitslose Wert zudem unter dem Normwert. Unsere Ergebnisse stimmen mit vorangegangenen Studien über die Hyperkaliämie bzw. einen erniedrigten TTKG bei nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-Therapie überein (Laine 1996). Der transtubuläre Kaliumgradient stieg jedoch nach Fludrokortisongabe deutlich an bei unseren nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose und Hyperkaliämie), dieser Unterschied war jedoch nicht als signifikant zu verzeichnen: Tag 1:  $4,8 \pm 1,3$  vs. Tag 15:  $5,6 \pm 1,4$  (Gruppe A<sub>1</sub>). Bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose und Hyperkaliämie) konnte man einen Anstieg nicht so deutlich nachweisen: Tag 1:  $5,1 \pm 1,5$  vs. Tag 15:  $6,3 \pm 2,3$  (Gruppe A<sub>2</sub>, n.s.).

Somit konnten wir, wie in der ersten unserer Zielsetzungen formuliert, zeigen, dass Cyclosporin A bei nierentransplantierten Patienten einen Pseudohypoaldosteronismus in Form von Hyperkaliämie und metabolischer Azidose hervorrufen kann.

Eine Verschlechterung der Nierenfunktion unter Cyclosporin A-Therapie wurde sowohl in klinischen Studien als auch in tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt (English 1987, Mihatsch 1988, Mason 1990, Heering 1993, Oka 1993). Analysiert man nun die erhobenen Daten der vorliegenden Studie der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit Hyperkaliämie und metabolischer Azidose) im Vergleich zur Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne Hyperkaliämie und metabolischer Azidose) unter Cyclosporin A-Therapie, so ergibt sich erstaunlicherweise, dass die Nierenfunktion der Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> nicht signifikant schlechter ist als die der Gruppe A<sub>2</sub>. Dies spiegelte sich im Wert des Kreatinins im Serum wider:  $2,0 \pm 0,2$  vs.  $2,2 \pm 0,5$  mg/dl und auch in der glomerulären Filtrationsrate ECC: Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe A<sub>2</sub>:  $47,0 \pm 10,5$  vs.  $45,1 \pm 16,5$  ml/min x 1,73 m<sup>2</sup>. Dieses Ergebnis bestätigt unsere zweite Hypothese, nämlich, dass die Patienten mit Elektrolytstörungen und metabolischer Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) eine schlechtere Nierenfunktion aufweisen als die Nierentransplantierten ohne Hyperkaliämie und Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>), nicht. Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> profitierten sehr gut von der Fludrokortisontherapie:

Nach 14 Tagen verbesserte sich der Kreatininwert im Serum hochsignifikant : Tag 1:  $2,0 \pm 0,2$  vs. Tag 15:  $1,5 \pm 0,2$  mg/dl (Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,01$ ) im Gegensatz zum Kreatininwert der Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Hyperkaliämie und Azidose, wo der Unterschied zwar signifikant, jedoch nicht in einem so augenscheinlichen Maße deutlich wurde: Tag 1:  $2,2 \pm 0,5$  vs. Tag 15:  $2,0 \pm 0,7$  mg/dl (Gruppe A<sub>2</sub>,  $p \leq 0,05$ ). Zieht man zu diesem Vergleich die Kreatininclearance ECC hinzu, so zeigt sich im Gegensatz zum basalen Wert vor Fludrokortisoneinnahme am Tag 15 bei der Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) eine signifikant ( $p \leq 0,05$ ) bessere Filtrationsrate als bei der Gruppe A<sub>2</sub> (Nierentransplantierte ohne Azidose): Gruppe A<sub>1</sub> vs. Gruppe A<sub>2</sub>:  $56,9 \pm 13,8$  vs.  $47,7 \pm 14,1$  ml/min  $\times$   $1,73$  m<sup>2</sup>. Ein besonderer Benefit unter Fludrokortisontherapie zeigte sich somit für die Nierentransplantieren der Gruppe A<sub>1</sub> mit Azidose und Hyperkaliämie: die glomeruläre Filtrationsrate erhöhte sich signifikant und die Patienten profitierten von einer Therapie mit Fludrokortison bereits nach 14 Tagen.

Die Veränderungen des transtubulären Kaliumgradienten (s.o.) spiegelten die Aldosteronresistenz wider, die wir bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> postulierten: Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Hyperkaliämie waren nicht in der Lage ausreichend Kaliumionen als Aldosteronwirkung am Endorgan Niere zu sezernieren – deutlich zu sehen auch im Serum das Kalium betreffend: Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> hatten einen signifikanten Benefit von der Fludrokortisontherapie, die Hyperkaliämie besserte sich so dass Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) nach der nur vierzehntägigen Fludrokortisoneinnahme sogar normwertige Kaliumspiegel im Serum aufwiesen: Tag 1:  $4,8 \pm 0,7$  vs. Tag 15:  $3,8 \pm 0,2$  mg/dl (Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,05$ ). Obwohl die Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) nicht unter einer Hyperkaliämie als Nebenwirkung einer Cyclosporin A-Therapie litten, so konnte man auch bei ihnen einen signifikanten Rückgang des Kaliums im Serum beobachten: Tag 1:  $4,4 \pm 0,5$  vs. Tag 15:  $3,8 \pm 0,5$  mg/dl (Gruppe A<sub>2</sub>,  $p \leq 0,001$ ).

Vergleicht man bei den zwei Patientengruppen in dieser vorliegenden Studie - auf der einen Seite nierentransplantierte Patienten unter Cyclosporin A-Therapie mit metabolischer Azidose und Hyperkaliämie (Gruppe A<sub>1</sub>), auf der anderen Seite nierentransplantierte Patienten ohne diese Nebenwirkung von Cyclosporin

A (Gruppe A<sub>2</sub>) - nun die Anzahl der Mineralkortikoidrezeptoren, so ergab sich folgende Beobachtung: Bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose und Hyperkaliämie kam es zu einer Down-Regulation der Mineralkortikoidrezeptoren im Gegensatz zu nierengesunden Kontrollprobanden (Gruppe B): Gruppe A<sub>1</sub> 173 ± 133 vs. Gruppe B 427 ± 73 Moleküle/0.5 g totale RNA,  $p \leq 0,05$ . Entgegen unserer Vermutung unterschieden sich die Gruppen A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> bezüglich der Expression der Mineralkortikoidrezeptoren nicht voneinander. Unsere Untersuchungsergebnisse wurden bestätigt durch Deppe et al., die 2002 in einer experimentellen Arbeit zeigen konnten, dass humane Mineralkortikoidrezeptoren, die mit Cyclosporin A behandelt wurden, bereits nach drei Tagen eine verminderte Transkriptionsaktivität aufwiesen und sich dies in einer Störung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zeigte mit verminderter Aldosteronwirkung. Es ist sehr schwierig, die exakte Anzahl der Mineralkortikoidrezeptoren im renalen Gewebe zu bestimmen ohne eine perkutane Nierenbiopsie. Deswegen führten wir eine quantitative Bestimmung auf peripheren Leukozyten durch, die aus dem Vollblut gewonnen wurden. Dies spiegelt jedoch nicht unmittelbar die Anzahl der Mineralkortikoidrezeptoren im renalen Gewebe wider – unsere Ergebnisse sind hiernach repräsentativ für die peripheren Leukozyten, nicht jedoch bedingungslos für renales Gewebe wie Tubuluszellen.

Hyperkaliämie und metabolische Azidose als Zeichen einer tubulären Nierentoxizität sind die häufigsten Nebenwirkungen einer Cyclosporin A-Therapie (Adu 1983, Stahl 1986, Heering 1988, Perez-Rojas 2005). Nierentransplantierte, die mit einem Immunsuppressivum wie Cyclosporin A behandelt werden, entwickeln Zeichen einer partiellen Aldosteronresistenz, die klinisch relevant und therapiebedürftig sein kann (Heering 1996, Fleming 1997, Govindan 1998, Fuse 2000, Takami 2005). Vorangegangene Studien über das Renin-Angiotensin-System unter Cyclosporin A-Therapie deckten erniedrigte Aldosteronkonzentrationen mit simultanen erhöhten inaktiven Reninspiegeln auf (Adu 1983, Bantle 1985, Heering, 1991, Kamel 1991, Jones 1993). Julien et al. untersuchten 1993 21 Patienten nach Herztransplantationen sowie zwölf Patienten, die eine Spenderleber erhalten hatten, sämtliche Patienten unter Cyclosporin A-Therapie, und verglichen deren Kreatinin-, Renin-, Aldosteron-

und- Angiotensinwerte mit denen gesunder Kontrollprobanden und stellten fest, dass die Reninwerte bei den transplantierten Patienten erhöht waren, während die Aldosteronwerte im Normbereich lagen. Caliskan et al. untersuchten 2003 vier Patienten mit Leukämie, die aufgrund ihrer Stammzell-Transplantation zur Immunsuppression Cyclosporin A erhielten. Die Patienten entwickelten eine Hyperkaliämie mit normaler Nierenfunktion. Cyclosporin A war in dieser Studie das einzige Medikament, welche diese Elektrolytstörung hervorrufen konnte. Hierfür machten die Autoren eine renale tubuläre Dysfunktion aufgrund eines Hypoaldosteronismus verantwortlich. Diese Beobachtungen stimmen mit unseren erhobenen Daten überein. Auch wir beobachteten unter Cyclosporin A-Therapie bei Nierentransplantierten einen Pseudohypoaldosteronismus mit den Folgen einer Hyperkaliämie und metabolischen Azidose. Interessanterweise waren die Hyperkaliämie und die metabolische Azidose unter Therapie mit Fludrokortison wieder reversibel. Im Hinblick auf unsere vierte Zielsetzung bestätigte sich somit die postulierte Reversibilität der Down-Regulation unter Fludrokortisongabe in dem Sinne dass alle Symptome einer Aldosteronresistenz wie Hyperkaliämie und metabolische Azidose als Zeichen einer Inbalance des Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts rückäufig waren, und dies innerhalb von vierzehn Tagen. So zeigte sich bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> nach Fludrokortisoneinnahme, nämlich genau bei denjenigen Patienten, die unter den Nebenwirkungen von Cyclosporin A litten, ein signifikanter Rückgang der Hyperkaliämie (s.o.) sowie als Zeichen der Normalisierung der metabolischen Azidose ein signifikanter Rückgang der Hyperchloridämie (Chlorid, Tag 1:  $112 \pm 4,9$  vs. Tag 15:  $108,2 \pm 2,0$  mmol/l, Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,05$ ) und des pH-Wertes im kapillären Blut (pH Tag 1:  $7,40 \pm 0,02$  vs. Tag 15:  $7,43 \pm 0,04$ , Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,05$ ). Ein hochsignifikanter Anstieg des Bikarbonats (Tag 1:  $18,5 \pm 1,2$  vs. Tag 15:  $23,2 \pm 2,5$  mmol/l, Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,01$ ) sowie der Nettosäureausscheidung (Tag 1:  $83,5 \pm 39,4$  vs. Tag 15:  $64,0 \pm 35,6$  mol/ml, Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,05$ ) unterstrichen den Rückgang der Hyperkaliämie und der Azidose bei den Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>. Letzteres gab Aufschluss darüber, dass die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Hilfe von Fludrokortison wieder in der Lage waren, ihren Säure-Basen-Haushalt durch Ausscheiden von Säure im Urin zu normalisieren. All diese Veränderungen unter der vierzehntägigen Fludrokortisongabe waren

bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> nicht in einer solchen Deutlichkeit nachzuvollziehen.

Fludrokortison wurde bereits in einer Studie von Arai et al. eingesetzt bei Pseudohypoaldosteronismus (1994). Dass nach der vierzehntägigen Fludrokortisontherapie sowohl die Plasmareninaktivität als auch die Aldosteronspiegel im Serum bei unseren beiden Patientengruppen rückläufig waren, mag an dem negativen Rückkopplungsmechanismus des Fludrokortisons liegen. Detailliert betrachtet war bei beiden Patientengruppen A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne Azidose) der Rückgang des Aldosterons von Tag 1 (basal) zu Tag 15 (nach vierzehntägiger Fludrokortisontherapie) hochsignifikant, im Vergleich der Gruppen untereinander A<sub>1</sub> zu A<sub>2</sub> an den beiden Untersuchungstagen ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede: Gruppe A<sub>1</sub> Tag 1:  $172,7 \pm 93,4$  vs. Tag 15:  $52,7 \pm 70,9$  pg/ml,  $p \leq 0,01$ ; Gruppe A<sub>2</sub> Tag 1:  $139,2 \pm 101,4$  vs. Tag 15:  $52,3 \pm 58,2$  pg/ml,  $p \leq 0,001$ . Bei der Plasmareninaktivität zeigte sich ein signifikanter Rückgang bei der Gruppe A<sub>1</sub> (Nierentransplantierte mit Azidose Tag 1:  $1,8 \pm 1,3$  vs. Tag 15:  $0,7 \pm 0,6$  ng/ml x h,  $p \leq 0,05$ ), nicht jedoch bei der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Aziose Tag 1:  $4,3 \pm 9,8$  vs. Tag 15:  $1,5 \pm 1,7$  ng/ml x h, n.s.) im Verlauf der Untersuchung. Bei den sieben Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Cyclosporin A-Nebenwirkung lag die mittlere Reninaktivität bei  $0,7 \pm 0,6$  ng/ml x h. Die vierzehn Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Azidose zeigten nach vierzehntägiger Fludrokortisoneinnahme zwar einen doppelt so hohen Reninwert ( $1,5 \pm 1,7$  ng/ml x h), diese Differenz war jedoch statistisch nicht signifikant. Bezieht man diesen allerdings deutlichen Trend – Gruppe A<sub>1</sub> mit dem deutlich niedrigeren Plasmareninwert nach Fludrokortisoneinnahme als Gruppe A<sub>2</sub> – auf die Definition des Typ 2 Pseudohypoaldosteronismus (s. 1.3.2, S. 11), so deckt sich der verminderte Plasmareninspiegel mit der postulierten Störung des Renin-Angiotensin Aldosteronsystems für die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub>.

Die Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> mit Hyperkaliämie und metabolischer Azidose wiesen basal eine erniedrigte Mineralkortikoidrezeptor-Transkriptionsaktivität auf, die nach der vierzehntägigen Fludrokortisoneinnahme eindrücklich anstieg, jedoch nicht signifikant war (Tag 1:  $173 \pm 133$  vs. Tag 15:  $224 \pm 159$  Moleküle/0.5 g totale RNA, Gruppe A<sub>1</sub>). Bei den Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne Hyperkaliämie und metabolische Azidose war kaum ein Unterschied bezüglich

der Mineralkortikoidrezeptor-Transkriptionsaktivität zu verzeichnen (Tag 1:  $136 \pm 107$  vs. Tag 15:  $142 \pm 201$  Moleküle/0.5 g totale RNA, Gruppe A<sub>2</sub>). Auch dieses Ergebnis ist als Zeichen der postulierten Aldosteronresistenz zu werten, die durch die Gabe von Fludrokortison reversibel ist.

Aus all den vorangegangenen Untersuchungsergebnissen schließen wir, dass Patienten mit Zeichen einer Aldosteronresistenz unter Cyclosporin A-Immunsuppression sehr gut von einer Fludrokortisontherapie profitieren können und somit ist unsere letzte Hypothese bestätigt.

Unsere Beobachtungen geben einen sehr guten Einblick in die Regulationsmechanismen des Renin-Angiotensin-Systems und eine klare Richtung für klinische Impulse und mögliche Therapien bei Aldosteronresistenz unter Cyclosporin A-Therapie. Vorher veröffentlichte experimentelle Studien zeigten eine metabolische Azidose und Hyperkaliämie nur nach Langzeittherapie mit Cyclosporin A (Bantle 1985, Kamel 1992). Unseres Wissens nach ist dies die erste Studie, die eine Down-Regulation der humanen Mineralkortikoidrezeptoren innerhalb von sechs bis zwölf Monaten bei nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-Therapie zeigt.

Unsere Studien haben ergeben, dass das klinische Bild einer Aldosteronresistenz mit metabolischer Azidose und Hyperkaliämie zumindest zum Teil aufgrund einer verminderten Expression der Mineralkortikoidrezeptoren besteht. Diese Ergebnisse eröffnen interessante therapeutische Perspektiven: So haben nierentransplantierte Patienten unter Cyclosporin A-Therapie mit dem klinischen Bild eines Pseudohypoaldosteronismus einen klaren Benefit von einem Mineralkortikoid-Agonisten wie dem in unserer Studie eingesetzten Fludrokortison: Die metabolische Azidose und Hyperkaliämie sind unter Fludrokortisonapplikation rasch, nämlich bereits innerhalb von vierzehn Tagen, reversibel, ohne jedoch – und dies ist für die Klinik durchaus von großer Bedeutung – Einfluss auf den Blutdruck und das Körpergewicht zu haben. Besonders die Patienten mit Azidose und Hyperkaliämie profitierten von der Einnahme des Fludrokortisons: die glomeruläre Filtrationsrate verbesserte sich signifikant. Unsere Ergebnisse geben somit neue Einblicke in den Regulationsmechanismus des Renin-Angiotensin-Systems und demonstrieren neue Aspekte in der Therapie der Aldosteronresistenz unter Immunsuppression mit Cyclosporin A.

## 5 Literaturverzeichnis

- 1 Adu D, Michael J, Turney J, McMaster P. Hyperkalemia in cyclosporin-treated renal allograft recipients. *Lancet* 1983; ii: 370-372
- 2 Aguilera S, Deray G, Desjobert H, Benhmida M, Hoang PL, Jacobs C. Effects of cyclosporine on tubular acidification function in patients with idiopathic uveitis. *Am J Nephrol* 1992; 12: 425-430
- 3 Arai K, Tsigos C, Suzuki Y, et al. Physiological and molecular aspects of mineralocorticoid action in pseudohypoaldosteronism: A responsiveness test and therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1019
- 4 Armanini D, Kuhnle U, Strasser T, Dorr H, Butenandt I, Weber PC, Stockigt JR, Pearce P, Funder JW. Aldosterone-receptor deficiency in pseudohypoaldosteronism. *New Eng J Med* 1985; 313: 1178-1181
- 5 Armanini D, Strasser T, Weber PC. Characterization of aldosterone binding sites in circulating human mononuclear leukocytes. *Am J Physiol* 1985; 248: 388-390
- 6 Armenti VT, Ahlswede KM, Ahlswede BA, et al. National transplantation pregnancy registry outcomes of 154 pregnancies in cyclosporine-treated female kidney transplant recipients. *Transplantation* 1994; 57: 502
- 7 Arriza JL, Weinberger C, Cerelli G, Glaser TM, Handelin BL, Housman DE, Evans RM. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DAN: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. *Science*: 1987; 237: 268-275
- 8 Ballardie FW, Edwards BD, Hows J, Jones L, Peters AM. Disturbance in renal haemodynamics and pathophysiology in bone marrow transplant. *Nephron*. 1992; 60(1): 17 - 24
- 9 Bantle JP, Nath KA, Sutherland DER, Najarian JS, Ferris TF. Effects of cyclosporine on the renin-angiotensin-aldosterone system and potassium excretion in renal transplant recipients. *Arch Intern Med* 1985; 145: 505-508
- 10 Benigni A, Bruzzi I, Mister M, Azzollini N, Gasparri F, Perico N, Gotti E, Bertani T, Remuzzi G. Nature and mediators of renal lesions in kidney transplant patients given cyclosporine for more than one year. *Kid Int*. 1999; 55: 674-685
- 11 Bonny O, Rossier BC. Disturbances of Na/K balance:

- Pseudohypoaldosteronism revisited. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2399
- 12 Bonvalet JP. regulation of sodium transport by steroid hormones. *Kidney Int Suppl* 1998; 65:S49 - 56
- 13 Borel JF, Feurer C, Magnee C, Stahelin H. Effects of the new antilymphocytic peptide cyclosporine A in animals. *Immunology* 1977; 32: 1017-1025
- 14 Borel JF. Mechanism of action of cyclosporin A and rationale for use in nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 1991; 35 (Suppl 1): S23 – S30
- 15 Caliskan Y, Kalayoglu-Besisik S, Sargin D, Ecker T. Cyclosporine-associated hyperkalemia: report of four allogeneic blood stem-cell transplant cases. *Transplantation* 2003; 75 (7): 1069-72
- 16 Calne RY, Rolles K, Thiru S, McMaster P, Craddock GN, Aziz S, White DJG, Evans DB, Dunn DC, Henderson RG, Lewis P. Cyclosporin A initially as the onla immunosuppressant in 34 recipients of cadavric organs: 32 kidneys, 2 pancreas and 2 livers. *The Lancet* 1979; 2: 1033 - 1036
- 17 Canzanello VJ, Schwartz L, Taler SJ, Textor SC, Wiesner RH, Porayko MK, Krom RA. Evolution of cardiovascular risk after liver transplantation: a comparison of cyclosporine A and tacrolimus (FK 506). *Liver Transpl Surg* 1997; 3(1): 1 - 9
- 18 Carpenter CB. Immunosuppression in organ transplantation. *N Engl J Med* 1990; 322: 1224
- 19 Cheek DB, Perry IW. A salt wasting syndrome in infancy. *Arch Dis Child* 1958; 33: 252-256
- 20 Cockburn I, Krupp P, Monka C. Present experience of Sandimmune in pregnancy. *Transplant Proc* 1989; 21: 3730
- 21 Cunnaro JM, Weinert WM. A comparison of methods for measuring urinary ammonium. *Kidney Int* 1974; 5: 303 - 305
- 22 Cutolo M, Villaggio B, Barone A, et al. Testosterone metabolism and cyclosporine A treatment in rheumatoid arthritis. *Br J rheumatol* 1997; 36: 433
- 23 De Fronzo R. Hyperkalemia and hyporeninemic hypoaldosteronism. *Kidney Int* 1980; 17: 118-134
- 24 De Fronzo RA, Goldberg M, Cooke CR, Barker C, Grossman RA, Agnus ZS. Investigations into the mechanism of hyperkalemia following renal

- transplantation. *Kidney Int* 1977; 11: 357-365
- 25 DeFronzo RA. Hyperkalemia in hyporeninemic hypoaldosteronism. *Kidney Int* 1980; 117: 118
- 26 Denton MD, Magee CC, sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; 353: 1083
- 27 Deppe CE, Heering PJ, Viengchareun V, Grabensee B, Farman N, Lombès M. Cyclosporin A and FK506 Inhibit Transcriptional Activity of the human mineralkortikoid receptor: A cell-based Model to investigate partial Aldosterone resistance in Kidney Transplantation. *Endocrinology* 2002; 143, 1932-1941
- 28 Deray G, Benhmida M, Le Hoang P, et al. Renal function and blood pressure in patients receiving long-term, low-dose cyclosporine therapy for idiopathic autoimmune uveitis. *Ann Intern Med* 1992; 117: 578
- 29 Disse-Nicodeme S, Achard JM, Desitter I, et al. a new locus on chromosome 12p13.3 for pseudohypoaldosteronism type II, an autosomal dominant form of hypertension. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 302
- 30 Dongari A, McDonnell HAT, Langlais RP. Drug induced gingival overgrowth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 543
- 31 Eckart, WU. *Geschichte der Medizin*. Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2005
- 32 English J, Evan A, Houghton DC, Benett WM. Cyclosporine-induced acute renal dysfunction in the rat. Evidence of arteriolar vasoconstriction with preservation of tubular dysfunction. *Transplant* 1987; 44: 135-141
- 33 Ethier JH, Kamel KS, Magner PO, et al. The transtubular potassium concentration in patients with hypokalemia and hyperkalemia. *Am J Kidney Dis* 1990; 15: 309
- 34 European Multicentre Trial Group. Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 1983; II: 986 - 989
- 35 Feutren G, Mihatsch MJ. Risk factors of cyclosporine- induced nephropathy in patients with autoimmune diseases. *N Engl J Med* 1992; 326: 1654 - 1660
- 36 Fleming DR, Ouseph R, Herrington J. Hyperkalemia associated with cyclosporine (Cyclosporin A) use in bone marrow transplantation. *Bone*

- marrow Transplant 1997; 19: 289 – 29
- 37 Foley RJ, Hamner RW, Weinman EJ. Serum potassium concentration in cyclosporine- and azathioprine-treated renal transplant patients. *Nephron* 1985; 40: 280 - 285
- 38 Fuiano G, Conte G, Sepe V, Balletta M, Cianfrone P, Libetta C, Romano G, Sabbatini M, Bisesti V. Acute effects of ciclosporin on renal hemodynamics and urinary protein excretion in patients with the nephrotic syndrome. *Nephron* 1991; 59(3): 369 - 74
- 39 Fuller PJ, Funder JW. Mineralcorticoid and glucocorticoid receptors in human kidney. *Kidney Int* 1976; 10: 154-157
- 40 Funder JW, Feldman D, Edelman IS. Glucocorticoid receptors in rat kidney: the binding of tritiated-dexamethasone. *Endocrinol* 1973; 92: 1005-1013
- 41 Funder JW, Feldman D, Edelman IS. The roles of plasma binding and receptor specificity in the mineralcorticoid action of aldosterone. *Endocrinol* 1973; 92: 994-1004
- 42 Fuse H, Kitagawa H, Kato S. Characterization of transactivational property and coactivator mediation of rat mineralcorticoid receptor activation function-1 (AF-1). *Mol Endocrinol* 2000; 14: 889-899
- 43 Gordon MY, Singer JW. selective effects of cyclosporin A on colony-forming lymphoid and myeloid cells in man. *Nature* 1979; 279: 433-434
- 44 Gordon RD: Syndrome of hypertension and hyperkalemia with normal glomerular filtration rate. *Hypertension* 1986; 8: 93+B76
- 45 Govindan MV, Warriar N. Reconstitution of the N-terminal transcription activation function of human mineralcorticoid receptor in a defective human glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1998; 273: 24439-24447
- 46 Halloran PF. Drug therapy: Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004; 351: 2759
- 47 Halloran PF. Molecular mechanism of new immunosuppressants. *Clin Transplantation* 1996; 10: 118-123
- 48 Hamilton CV, Evans DB, Henderson RG, Thiru S, Calne RY, White DJG. Long-term nephrotoxicity of cyclosporin A in transplantation. *dial Transplant* 1982; 11: 146, 159 - 160
- 49 Hanukoglu A. Type I pseudohypoaldosteronism includes two clinically and genetically distinct entities with either renal or multiple target organ defects.

- J Clin Endocrinol Metab 1991; 73: 936
- 50 Heering P. Untersuchung zur Pathophysiologie der ciclosporin induzierten Nephrotoxizität. Habilitationsschrift, Universität Düsseldorf, 1991
- 51 Heering P, Degenhardt S, Grabensee B. Tubular Dysfunction following Kidney Transplantation. Nephron 1996; 74: 501-511
- 52 Heering PJ, Klein-Vehne N, Fehsel, K. Decreased mineralocorticoid receptor expression in blood cells of kidney transplant recipients undergoing immunosuppressive treatment: cost efficient determination by quantitative PCR. Journal of Clin. Pathology 2004; 57: 33-36
- 53 Heering PJ, Kurschat C, Vo TD, et al. Aldosterone resistance in kidney transplantation is in part induced by a down-regulation of mineralocorticoid receptor expression. Clin Transplant 2004; 18: 186
- 54 Heering P, Kutkuhn B, Kreuzpaintner G, Reinhard T, Sundmacher R, Grabensee B. Untersuchungen zur Nierenfunktion nierengesunder Patienten unter Ciclosporin. Klin. Wochenschr. 1991; 69: 880-886
- 55 Heering P, Schadewaldt P, Bach D, Grabensee B. Nephrotoxicity of cyclosporine in humans: effects of cyclosporine on glomerular filtration and proximal tubular reabsorption. Clin Invest 1993; 71: 1010-1015
- 56 Heering P, Westhoff A, Bach D, Sprenger KBG, Passlick J, Helmchen U, Grabensee B. Renin aldosterone system and renal function under cyclosporine A. Transplant Proc 1988; 20(suppl 3): 556-562
- 57 Helderma JH, Van Buren DH, Amend WJ Jr, Pirsch JD. Chronic immunosuppression of the renal transplant patient. J Am Soc Nephrol 1994; 4: S2
- 58 Jones JW, Gruessner RW, Gores PF, Matas AJ. Hypoaldosteronemic hyporeninemic hyperkalemia after renal transplantation. Transplantation 1993; 56:1013-1015
- 59 Julien J, Farge D, Kreft-Jais C, Guyene TT, Plouin PF, Houssin D, Carpentier A, Corvol P. Cyclosporine-induced stimulation of the renin-angiotensin system after liver and heart transplantation. Transplantation 1993; 56: 885-891
- 60 Kamel KS, Ethier JH, Quaggin S, Levin A, Albert S, Carlisle JF, Halperin ML. Studies to determine the basis for hyperkalemia in recipients of a renal transplant who are treated with cyclosporine. J Am Soc Nephrol 1991; 2:

1279-1284

- 61 Kahan BD. Drug therapy: Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989; 321: 1725
- 62 Kupfermann JC, Beaudoin R, Carr R, Hay D, Casellas D, Kaskel FJ, Moore LC. Activation of the renal renin-angiotensin system by cyclosporine A and FK 506 in the rat. *Transplant Proc* 1994; 26: 2891-2893
- 63 Laine J, Holmberg C. Tubular Effects of Cyclosporine in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc* 1996; 28:B97 2104-2106
- 64 Ling BN, Eaton DC. Cyclosporin A inhibits apical secretory K<sup>+</sup> channels in rabbit cortical collecting tubule principal cells. *Kidney Int* 1993; 44: 974
- 65 Lombès M, Binart N, Delahaye F, Baulieu EE, Rafestin-Oblin ME. Differential intracellular localization of human mineralcorticosteroid receptor on binding of agonists and antagonists. *Biochem.J.* 1994; 302:191 - 197
- 66 Mansfield TA, Simon DB, Farfel Z, et al. Multilocus linkage of familial hyperkalaemia and hypertension, pseudohypoaldosteronism type II, to chromosomes 1q31-42 and 17p11-q21. *Nat Genet* 1997; 16: 202
- 67 Marrakhova AE, Ivanova FV, Toropova AA, Vereninov TA. Functional expression of the Na/K pump is controlled via a cyclosporin A-sensitive signalling pathway in activated human lymphocytes. *FEBS Letters* 1999; 456: 285 - 289
- 68 Mason J. Preclinical and clinical research, Sandoz Pharma Ltd, CH-4002 Basle, Switzerland. The pathophysiology of Sandimmune (cyclosporine) in man and animals. *Pediatr Nephrol* 1990; 4: 554 - 574, 4: 686 - 704
- 69 Mason J, Müller-Schweinitzer E, Dupont M, Casellas D, Mihatsch M, Moore L, Kaskel F. Cyclosporine and the renin-angiotensin system. *Kidney Int* 1991; 32: 28-32
- 70 Massry SG, Preuss HG, Maher JF, Schreiner GE. Renal tubular acidosis after cadaver kidney homotransplantation. *Am J Med* 1967; 42: 284-292
- 71 Mayan H, Kantor R, Farfel Z. Trans-tubular potassium gradient in patients with drug-induced hyperkalemia. *Nephron* 2001; 89(1): 56-61
- 72 McDiarmid SV. Renal function in pediatric liver transplant patients. *Kindney Int Suppl* 1996; 53: 77-84
- 73 Mihatsch MJ. Die morphologische Klassifikation der Cyclosporin A-Toxizität. *Info-Dienst Nephrologie*, Heft 2, 1988, S17- 25
- 74 Mihatsch MJ, Steiner K, Abeywickrama KH, Landmann J, Thiel G. Risc

- factors for the development of chronic cyclosporine-nephrotoxicity. Clin Nephrol 1988; 29: 165-175
- 75 Oka K, Shimodaira H, Hirano T, Sakurai E, Tamaki T, Kozaki M. Comparison of adrenal functions in kidney transplant recipients with different longterm immunosuppressive treatments- prednisolone and azathioprine versus prednisolone and cyclosporine. Transplant 1993; 56: 603-609
- 76 Opelz G, Dohler B. Cyclosporine and long-term kidney graft survival. Transplantation 2001; 72: 1267
- 77 Pei Y, Richardson R, Greenwood C, Math M, Wong PY, Baines A. Extrarenal Effect of Cyclosporine A on Potassium Homeostasis in Renal Transplant Recipients. Am J Kidney Dis 1993; 22: 314-319
- 78 Perez-Rojas JM, Bobadilla NA. Novel Action of aldosterone in Cyclosporin A nephrotoxicity. Rev Invest Clin., 2005; 57 (2): 147-55
- 79 Ponticelli C, Minetti L, Di Palo FQ, et al. The Milan clinical trial with cyclosporine in cadavric renal transplantation: A three year follow-up. Transplantation 1988; 45: 908
- 80 Ritz M, Botha J, Pontin AR, Pascoe MD, Kahn D. Does cyclosporine influence the outcome in patients with acute tubular necrosis after renal transplantation. Transplant Proc 1999; 31: 303
- 81 Rose BD, Post TW. Clinical physiology of acid-based and electrolyte disorders, 5th ed, McGraw-Hill, New York, 2001; pp.900-901+B92
- 82 Schambelan M, Sebastian A, Rector FC jr. Mineralkortikoid-resistance renal hyperkalemia without salt-wasting (type II pseudohypoaldosteronism): Role of increased renal chloride reabsorption. Kidney Int 1981; 19: 716+B35
- 83 Schlich, T. Transplantation. Beck Verlag, 1998
- 84 Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporine A and FK506. Immunol Today 1992; 13: 136
- 85 Shoker A, Morris G, Skomro R, Laxdal V. Pseudohypoaldosteronism with normal blood pressure. Clin Nephrol 1996; 46: 105-111
- 86 Stahl RAK, Kanz L, Kudelka S, Maier B, Schollmeyer P. Der Einfluß von Cyclosporin A (CyA) auf die renale Prostaglandin-E2 (PGE2)-Produktion und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System bei Patienten nach

- Nierentransplantation. *Nierenhochdruckkr* 1985; 14: 417
- 87 Stahl RAK, Kanz L, Maier B, Schollmeyer P. Hypercloremic metabolic acidosis with high serum potassium in renal transplant recipients: A cyclosporine A associated side effect. *Clin Nephrol* 1986; 25: 245-248+B21
- 89 Takami A, Asakura H, Takamatsu H, Yamazaki H, Arahata M, Hayashi T, Shibayama M, Orito M, Yoshida T, Namiki M, Nakao S. Isolated hyperkalemia associated with cyclosporine administration in allogenic stem cell transplantation for renal cell carcinoma. *Int J Hematol*. 2005; 81 (2): 159-61
- 88 Take C, Ikeda K, Kurasawa T, Kurokawa K. Increased chloride reabsorption as an inherited renal tubular defect in familial type II pseudohypoaldosteronism. *N Engl J Med* 1991; 324: 472
- 90 The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. *N Engl J Med* 1986; 314: 1219
- 91 Tumlin JA, Sands, JM. Nephron segment-specific inhibition Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/ATPase activity by cyclosporin A. *Kidney Int* 1993; 43: 246
- 92 Ulick S, Wang JZ, Morton DH. The biochemical phenotypes of two inborn errors in the biosynthesis of aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1415
- 93 Vercauteren SB, Bosmans JL, Elseviers MM, Verpooten GA, Broe de ME. A metaanalysis and morphological review of cyclosporine-induced nephrotoxicity in auto-immune disease. *Kid Int* 1998; 54: 536 - 545
- 94 Wehling M, Eisen C, Christ M. Aldosterone-specific membrane receptors and rapid non-genomic actions of mineralcorticoids. *Mol Cell Endocrinol* 1992; 90: C5–C9
- 95 West ML, Marsden PA, Richardson RM, et al. New clinical approach to evaluate disorders of potassium excretion. *Miner Electrolyte Metab* 1986; 12: 234+B18
- 96 Wheatley HC, Datzman M, Williams JW, Miles DE, Hatch FE. Longterm effects of cyclosporine on renal function in liver transplant recipients. *Transplant* 1987; 43: 641-647
- 97 White PC, New MI, Dupont B. Congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J*

- Med 1987; 316: 1519
- 98 Wiederrecht G, Lam E, Hung s, et al. The mechanism of action of FK506 an cyclosporine A. Ann NY Acad Sci 1993; 696:9
- 99 Wong W, Venetz JP, Tolhoff-Rubin N, Pascual M. 2005 immunosuppressive strategies in kidney transplantation: which role for the calcineurin inhibitors?. Transplantaion 2005; 80: 289
- 100 Wu MS, Yang CW, Bens M, Peng KC, Yu HM, Vandewalle A. Cyclosporine stimulates Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl-cotransport activity in cultured mouse medullary thick ascending limb cells. Kidney Int 2000; 58: 1652 - 1663
- 101 Zennaro MC, Borenzstein P, Jeunemaitre X, Armanini D, Soubrier F. No alteration in the primary structure of the mineralcorticoid receptor in a family with pseudohypoaldosteronism. L Clin Endocrinol Metab 1994; 79: 32-38
- 102 Zennaro MC, Keightley MC, Kotelevtsev Y, Conway GS, Soubrier F, Fuller PJ. Human mineralcorticoid receptor genomic structure and identification of expressed isoforms. J Biol Chem 1995; 270: 21016-21020
- 103 Zietze R, Wenting GJ, Kramer P, Mulder P, Schalekamp MA, Weimar W. Contrasting response to cyclosporin in refractory nephrotic syndrome. Clin Nephrol 1989; 31: 22 - 25

Abbildung 1, S. 5:

<http://www.biorama.ch/meetingp/diploma/tacro/img/tacro005.gif>

<http://www.chemicalgraphics.com/Custom/images/cyclosporin.jpg>

Zuletzt geprüft am 22.06.2008

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 (S. 5): Strukturformeln von Cyclosporin A.

Abbildung 2 (S. 14): Zeitlicher Versuchsablauf Tag 1 bis Tag 15 bei Gruppe A<sub>1</sub> und Gruppe A<sub>2</sub>.

Abbildung 3 (S. 15): Einteilung der nierentransplantierten Patienten unter Cyclosporin A-Therapie in die Gruppen A<sub>1</sub> (mit Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne Azidose) mit Bikarbonat als Trennkriterium (Bikarbonat  $\leq$  20 mmol/l = Gruppe A<sub>1</sub>, Bikarbonat  $>$  20 mmol/l = Gruppe A<sub>2</sub>).

Abbildung 4 (S. 26): Bestimmung der Expression der humanen Mineralkortikoidrezeptoren auf Leukozyten durch kompetitive RT-PCR und Densiometrie mittels Regressionsanalyse.

Abbildung 5 (S. 28): Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil  zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden alle nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) mit den gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) und als Untergruppen alle nierentransplantierten Patienten mit einer Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) mit denen ohne eine Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>).

Abbildung 6 (S. 29): Bikarbonat im Blut der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) vs. Bikarbonat im Blut der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne Azidose) Tag 1, Signifikanz von Gruppe A<sub>1</sub> nach A<sub>2</sub> berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\* p < 0,01.

Abbildung 7 (S. 30): Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden alle nierentransplantierten Patienten (Gruppe A) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B), nierentransplantierte Patienten mit Azidose (Gruppe A<sub>1</sub>) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B) und nierentransplantierte Patienten ohne Azidose (Gruppe A<sub>2</sub>) vs. gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B).

Abbildung 8 (S. 35): Anzahl der humanen Mineralkortikoidrezeptor-Molekülen bei Nierentransplantierten (Gruppe A) und gesunden Kontrollprobanden (Gruppe B), Signifikanz von Gruppe A zu Gruppe B berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\* p < 0,01.

Abbildung 9 (S. 36): Übersicht über Daten, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil  zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden die Daten der Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose vor versus nach Fludrokortisongabe.

Abbildung 10 (S. 38): Kalium im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kalium im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* p < 0,05.

Abbildung 11 (S. 41): Aldosteron im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Aldosteron im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\* p < 0,01.

Abbildung 12 (S. 42): Kreatinin im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kreatinin im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\* p < 0,01.

Abbildung 13 (S. 43): ECC (Endogene Kreatinin-Clearance) bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit ECC nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* p < 0,05.

Abbildung 14 (S. 44): Nettosäureausscheidung im Urin bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Nettosäureausscheidung im Urin nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* < p 0,05.

Abbildung 15 (S. 47): Übersicht über Daten, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil

## Abbildungsverzeichnis

---

 verbindet die zu vergleichenden Gruppen, dünner Pfeil  zeigt die Untergruppe an. Verglichen werden die Daten der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose vor versus nach Fludrokortisongabe.

Abbildung 16 (S. 49): Kalium im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kalium im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\*\* p < 0,001.

Abbildung 17 (S. 52): Aldosteron im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose), vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Aldosteron im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \*\*\* p < 0,001.

Abbildung 18 (S. 53): Kreatinin im Serum bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisonapplikation verglichen mit Kreatinin im Serum nach Fludrokortisongabe, Signifikanz von Tag 1 nach Tag 15 berechnet, Daten als X +/- SEM, Signifikanzniveau \* p < 0,05.

Abbildung 19 (S. 57): Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose.

Abbildung 20 (S. 58): Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose vor Fludrokortisongabe

Abbildung 21 (S. 64) : Übersicht über Gruppen, die verglichen werden. Dicker Doppelpfeil  verbindet die zu vergleichenden Gruppen. Verglichen werden die Gruppe A<sub>1</sub> mit metabolischer Azidose mit der Gruppe A<sub>2</sub> ohne metabolische Azidose nach Fludrokortisongabe.

Abbildung 22 (S.72): Anzahl der humanen Mineralkortikoidrezeptor-Moleküle bei nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne Azidose):

## Abbildungsverzeichnis

---

Signifikanzen von Tag 1 (vor Fludrokortisonapplikation) nach Tag 15 (nach Fludrokortisonapplikation) berechnet, Daten als X +/- SEM, n.s.: nicht signifikant.

Tabelle 1 (S. 45): Nierenfunktionsparameter bei Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (nierentransplantierte Patienten mit metabolischer Azidose) im Vergleich vor versus nach Fludrokortisonapplikation

Tabelle 2 (S. 55): Nierenfunktionsparameter bei Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (nierentransplantierte Patienten ohne metabolische Azidose) im Vergleich vor versus nach Fludrokortisonapplikation

Tabelle 3 (S. 63): Biochemische Laborparameter bei nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) im Vergleich zu Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) vor Fludrokortisontherapie.

Tabelle 4 (S. 69): Biochemische Laborparameter bei nierentransplantierten Patienten der Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) im Vergleich zu Patienten der Gruppe A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) nach Fludrokortisontherapie.

## Curriculum Vitae

Thuy Denise Rüther, geborene Vo  
tdvo00@hotmail.com

**Geburtsdatum:** 13. Oktober 1975

**Geburtsort:** Aachen, Deutschland

**Schullaufbahn:** 1982 – 1986 Grundschule Zehntenweg, Langenfeld  
1986 – 1995 Konrad-Adenauer-Gymnasium, Langenfeld

**Studium:** 1995 – 2002 Humanmedizin, Heinrich-Heine-Universität,  
Düsseldorf  
1998 Physikum  
1999 I. Staatsexamen  
2001 II. Staatsexamen  
2002 III. Staatsexamen  
Famulaturen und PJ u.a. in Californien, USA (Innere Medizin,  
Kinderheilkunde), Vinzenz Pallotti Hospital, Bensberg und  
Kantonsspital Winterthur, Schweiz (Geburtshilfe und  
Gynäkologie)

**Weiterbildung:** seit 2003 Geburtshilfe und Gynäkologie, Städtisches  
Klinikum Solingen

**Zusatzausbildung:** 2004-2005 Akupunkturausbildung, DÄGfA (Deutsche  
Ärztegesellschaft für Akupunktur e.V.)  
seit 2007 Shiatsu Ausbildung, Freie Shiatsu Schule  
U. Röhm, Düsseldorf

**Zertifizierte Weiterbildung:** 2008 Onkologische Diagnostik und Therapie in der  
Gynäkologie, AGO (Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische  
Onkologie e.V.)

## **Danksagung**

Großen Dank möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Heering aussprechen, der mich jederzeit bedingungslos unterstützt hat und mich durch unsere gemeinsamen Diskussionen dazu angeregt hat, die vorliegende Studie umzusetzen.

Des Weiteren danke ich dem Team der Nephrologischen Ambulanz und des Nephrologischen Labors der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, ganz besonders und herzlich Frau Nicola Kuhr, die mich in die Labortechnik einwies und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ich danke meiner Chefärztin Frau Dr. Jovanovic und ehemaligen Oberärztin Frau Dr. Lange, die mich während meiner gynäkologischen Weiterbildung immer wieder an die Nephrologie erinnerten.

Lieben Dank meiner Familie und meinen Freunden, die mich begleitet und unterstützt haben, ganz besonderer Dank geht an Tina Menzel, die mir u.a. die neue Rechtschreibung zumindest ein Stückchen näherbrachte.

Diese Arbeit widme ich meinem Mann Till Rüter.

## **Abstract**

**Einleitung:** Nach Nierentransplantationen kommt es unter dem Immunsuppressivum Cyclosporin A (CsA) zu metabolischer Azidose sowie Hyperkaliämie durch Aldosteronresistenz im Sinne eines Pseudohypoaldosteronismus. Wir untersuchten bei nierentransplantierten Patienten (NP) die Transplantatfunktion unter CsA-Therapie, den Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt sowie das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und die Expression von Mineralkortikoidrezeptoren.

**Methode:** Hierzu wurden 21 nierentransplantierte Patienten (Gruppe A) - eingeteilt in eine Gruppe A<sub>1</sub> (mit metabolischer Azidose) und A<sub>2</sub> (ohne metabolische Azidose) - sowie zwölf gesunde nicht transplantierte Kontrollprobanden (Gruppe B) untersucht. Gruppe A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> erhielten vierzehn Tage lang Fludrokortison (Astonin H®). Es wurde eine quantitative Bestimmung der humanen Mineralkortikoidrezeptoren (hMR) auf peripheren Leukozyten mittels PCR sowie eine Nierenfunktionsprüfung des tubulären Systems durchgeführt.

**Ergebnisse:** Gruppe A<sub>1</sub> (NP mit Azidose, Bicarbonat  $18,5 \pm 1,2$  mmol/l) unterschieden sich in ihrer Nierenfunktion nicht signifikant von der Gruppe A<sub>2</sub> (NP ohne Azidose,  $23,0 \pm 2,8$  mmol/l): Kreatinin  $2,0 \pm 0,2$  vs.  $2,2 \pm 0,5$  mg/dl, n.s. Im Gegensatz dazu zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied bei der quantitativen Bestimmung der hMR: Bei Gruppe A bestimmte man  $155 \pm 78$  Moleküle/0.5 g totale RNA vs.  $427 \pm 73$  Moleküle/0.5 g totale RNA bei Gruppe B ( $p \leq 0,01$ ). Die Gruppe A<sub>1</sub> profitierte hochsignifikant von der Fludrokortisontherapie: Zeichen der Azidose waren rückläufig: Chlorid Tag 1:  $112 \pm 4,9$  vs. Tag 15:  $108,2 \pm 2,0$  mmol/l,  $p \leq 0,05$ ; pH-Wert im kapillären Blut Tag 1:  $7,40 \pm 0,02$  vs. Tag 15:  $7,43 \pm 0,04$ ,  $p \leq 0,05$ . Ausserdem war auch die Hyperkaliämie nach vierzehn Tagen Fludrokortisongabe signifikant rückläufig (Tag 1:  $4,8 \pm 0,7$  vs. Tag 15:  $3,8 \pm 0,2$  mg/dl, Gruppe A<sub>1</sub>,  $p \leq 0,05$ ). Ein besonderer Benefit zeigte sich unter Fludrokortisontherapie für die NP der Gruppe A<sub>1</sub>: die glomeruläre Filtrationsrate erhöhte sich signifikant bereits nach 14 Tagen: ECC Tag 1:  $47,0 \pm 10,5$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup> vs. Tag 15:  $56,9 \pm 13,8$  ml/h x  $1,73$  m<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ).

**Schlussfolgerung:** Unsere Studien haben ergeben, dass das klinische Bild einer Aldosteronresistenz mit metabolischer Azidose und Hyperkaliämie zumindest zum Teil aufgrund einer verminderten Expression der Mineralkortikoidrezeptoren besteht. Nierentransplantierte mit metabolischer Azidose und Hyperkaliämie profitieren signifikant von einer Therapie mit Fludrokortison, dies zeigt sich u.a. in einer Verbesserung der glomeruläre Filtrationsrate.