

Aus der Klinik für Nephrologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. L. Christian Rump

Auswirkungen kaliumreicher und -armer Ernährung  
auf Gefäßschädigung am hypertensiven,  
hypercholesterinämien Mausmodell

Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Doron Argov  
2024

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

gez.:

Dekan/in: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: Prof. Dr. med. Johannes Stegbauer

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. rer. nat. Axel Gödecke

*Meiner Familie*

# Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen in Folge einer Atherosklerose sind die häufigste Todesursache weltweit und daher aus medizinischen, sozialen und ökonomischen Aspekten wichtig. Die Atherogenese ist noch immer nicht vollständig verstanden. Es wird von einer chronisch-inflammatorischen Erkrankung ausgegangen, die über Lipidablagerungen unter Einfluss des zellulären Immunsystems mit Bildung von Gefäßwand-Plaques einhergeht. Kalium ist das quantitativ wichtigste Kation des Intrazellularraums. Neben einer Senkung des Blutdrucks werden ihm auch direkte gefäßprotektive, anti-oxidative Effekte zugeschrieben. Ein ApoE-defizientes Mausmodell wurde in dieser Arbeit über sechs Wochen mit sich im Kaliumgehalt unterscheidenden Diäten gefüttert, um den Einfluss von Kalium auf Atherosklerose und myokardiale Fibrose zu untersuchen. Eine Gruppe erhielt eine niedrig-Kalium- (0%), eine zweite eine normal-Kalium- (0,5%) und eine dritte eine hoch-Kalium-Diät (5%). Bluthochdruck als weiterer Risikofaktor wurde durch eine permanente Infusion von Angiotensin II (500ng/kg/min) ausgeschaltet. Die Aorten der Mäuse wurden auf atherosklerotische Plaques, der Urin hinsichtlich Kalium-, Natrium- und Aldosteronsekretion und die Herzen auf eine Expression profibrotischer Proteine analysiert. Zusätzlich erfolgten kardiale MRT-Untersuchungen zwecks Bestimmungen der Dimensionen und Ejektionsfraktion. Die Ergebnisse zeigten, dass eine Kalium-arme Ernährung am Mausmodell zu einer signifikant gesteigerten Atherosklerose und zu einem dilatierten linken Ventrikel bzw. zur geringeren myokardialen Hypertrophie bei hoch signifikant erhöhter Expression von ANP im Herzen führte. Bei Kalium-reicher Diät kam es hingegen zu einer tendenziell geringeren Expression kardialer Fibrosemarker. Außerdem war bei diesen Mäusen die Aldosteron-, Kalium- und Natriumexkretion im Urin erhöht. Da der Blutdruck in den Versuchsgruppen gleich war, wird eine erhöhte Aldosteronsynthese im Sinne einer Gegenregulation auf die durch die Ernährung herbeigeführte Hyperkaliämie als Ursache postuliert.

Die hier erhobenen Daten weisen darauf hin, dass eine kaliumarme Diät bei hypertensiven, hypercholesterinämien Mäusen blutdruckunabhängig zu einem Progress der Atherosklerose und Herzfibrose führt. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind nach aktuellem Stand noch weitestgehend unbekannt und stellen ein vielversprechenden Forschungsansatz dar.

# Summary

Atherosclerotic cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide and therefore of medical, social and economic interest. The pathogenesis of atherosclerosis is still not fully understood. It is assumed to be a chronic inflammatory disease that – under the influence of the cellular immune system – involves the development of vascular wall plaques. Potassium is the quantitatively most important cation of the intracellular space. In addition to lowering blood pressure, it is also attributed direct vascular protective, anti-oxidative effects. In this study an ApoE-deficient mouse model was fed diets for six weeks differing in potassium concentration to investigate the influence of potassium on atherosclerosis and myocardial fibrosis. One group received a low-potassium (0%), a second a normal-potassium (0,5%) and a third a high-potassium diet (5%). Blood pressure – as influencing factor – was switched off by infusion of a high dose of angiotensin II (500ng/kg/min). The aortas of the mice were analyzed for atherosclerotic plaques, the urine for potassium, sodium and aldosterone secretion and the hearts for expression of profibrotic proteins. In addition, cardiac MRI examinations were performed to determine the dimensions and ejection fraction. The results showed that a potassium-poor diet in the mouse model led to a significantly increased atherosclerosis and to a dilated left ventricle or to a lower myocardial hypertrophy including a significantly increased expression of ANP in the heart. In contrast, a potassium-rich diet resulted in a tendency towards lower expression of cardiac fibrosis markers. In addition, these mice excreted significantly more aldosterone and potassium whereby an increased aldosterone synthesis – while measuring equal blood pressure levels in all three groups – was postulated as a counter-regulator to hyperkalemia with measurable effect in the urine. The high-potassium group also showed a significant increase in natriuresis.

The data collected here indicate that a potassium-poor diet in hypertensive, hypercholesterolemic mice leads to a blood pressure-independent progression of atherosclerosis and cardiac fibrosis. According to the current state of knowledge the underlying mechanisms are still largely unknown and represent a promising research approach.

# Abkürzungsverzeichnis

<b>AngII</b>	Angiotensin II
<b>AngII-Pumpenimpl.</b>	Angiotensin II-Pumpenimplantation
<b>ANP</b>	<i>atrial natriuretic peptide</i>
<b>Aldo</b>	Aldosteron
<b>Aldo/Crea-Ratio</b>	Aldosteron-Kreatinin-Ratio
<b>ANOVA</b>	<i>analysis of variance</i>
<b>AP-1</b>	<i>Activator protein-1</i>
<b>ApoE<sup>-/-</sup></b>	Apolipoprotein E- knock out
<b>arteriosklerot.</b>	Arteriosklerotisch
<b>ASCVD</b>	<i>atherosclerotic cardiovascular disease</i>
<b>AU</b>	<i>arbitrary units</i>
<b>BNP</b>	<i>brain natriuretic peptide</i>
<b>β-MHC</b>	<i>beta-myosin heavy chain</i>
<b>cDNA</b>	<i>complementary DNA</i>
<b>Col1/Coll1a</b>	<i>collagen 1</i>
<b>const.</b>	Konstant
<b>Crea</b>	Kreatinin
<b>CV</b>	<i>cardiovascular</i>
<b>CVD</b>	<i>cardiovascular disease</i>
<b>Crea-Konz.</b>	Kreatinin-Konzentration
<b>CREB-Protein</b>	<i>cAMP response element-binding protein</i>
<b>DWT</b>	<i>diastolic wall thickness</i>
<b>EDV</b>	<i>end-diastolic volume</i>
<b>EF</b>	Ejektionsfraktion
<b>EGFR</b>	<i>epidermal growth factor receptor</i>
<b>EKG</b>	Elektrokardiogramm
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
<b>ENaC</b>	epithelialer Natriumkanal
<b>ESV</b>	<i>end-systolic volume</i>
<b>FN</b>	<i>fibronectin</i>
<b>GAPDH</b>	<i>Glyceraldehyde phosphate 3-dehydrogenase primer</i>

<b>gDNA</b>	<i>genomic DNA</i>
<b>HDL</b>	<i>high-density lipoprotein</i>
<b>K<sup>+</sup></b>	Kalium
<b>K<sup>+</sup>-arm</b>	Kalium-arm
<b>Kardiale MRT</b>	Kardiale Magnetresonanztomographie
<b>K<sup>+</sup>/Crea-Ratio</b>	Kalium-Kreatinin-Ratio
<b>KCl</b>	Kaliumchlorid
<b>K<sup>+</sup>-Konz.</b>	Kalium-Konzentration
<b>K<sup>+</sup>-normal</b>	Kalium-normal
<b>K<sup>+</sup>-reich</b>	Kalium-reich
<b>LDL</b>	<i>low-density lipoprotein</i>
<b>LV</b>	linker Ventrikel, <i>left ventricle</i>
<b>LVM</b>	<i>left ventricular mass</i>
<b>mRNA</b>	messenger ribonucleic acid
<b>mmol/kg KG</b>	Millimol pro Kilogramm Körpergewicht
<b>Na<sup>+</sup></b>	Natrium
<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>Na<sup>+</sup>/Crea-Ratio</b>	Natrium-Kreatinin- Ratio
<b>NADPH</b>	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
<b>Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>Kotransport</b>	Natrium-Kalium-Zwei-Chlorid Kotransport
<b>Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase</b>	Natrium-Kalium-ATPase
<b>Na<sup>+</sup>-Konz.</b>	Natrium-Konzentration
<b>NCC</b>	Thiazid-sensitiver Na <sup>+</sup> -Cl <sup>-</sup> Transporter
<b>NF-κB</b>	<i>nuclear factor k-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid/ <i>nitric oxide</i>
<b>ORO</b>	Oil Red O
<b>PBS</b>	<i>phosphate buffer solution</i>
<b>PFA</b>	Paraformaldehyd
<b>qPCR</b>	<i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>
<b>RLT</b>	<i>RNeasy Lysis Buffer</i>
<b>SEM</b>	Standardfehler, <i>standard error of the mean</i>
<b>SWT</b>	<i>systolic wall thickness</i>
<b>ROMK</b>	<i>Renal Outer Medullary Potassium channel</i>
<b>ROS</b>	reactive Sauerstoffspezies

<b>V<sub>Ges</sub></b>	enddiastolischen Gesamtvolumen des linken Ventrikels
<b>Vol U</b>	Urinvolumen
<b>VSMC</b>	<i>vascular smooth muscle cells</i> , glatte Gefäßmuskelzellen



# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankungen .....	1
1.2 Pathophysiologie der Atherosklerose .....	1
1.3 Bluthochdruck – Risikofaktor für Atherosklerose und therapeutische Ansätze .....	3
1.4 Kalium: Aufgabe und Wirkung .....	4
1.5 Propagierte Hypothese/Ziele der Arbeit .....	9
<b>2 Methodik</b> .....	<b>10</b>
2.1 Versuchstiere .....	10
2.2 Versuchsablauf .....	10
2.2.1 Allgemeiner Versuchsablauf und Futter .....	10
2.2.2 Präparation und Implantation der osmotischen Minipumpen .....	12
2.2.3 Kardiale MRT .....	13
2.2.4 Blutdruckmessungen .....	14
2.2.5 Euthanasie und Organentnahme .....	15
2.2.6 Blutgasanalyse .....	15
2.2.7 Aorta: Oil Red O-Färbung .....	15
2.2.8 Herz: mRNA-Quantifizierung und Auswertung durch real-time PCR (qPCR) .....	16
2.2.9 Urinasservierung und Auswertung .....	18
2.2.10 Aldosteronkonzentration im Urin mittels ELISA bestimmen .....	20
2.3 Wissenschaftliche Bildanalyse .....	21
2.4 Statistische Analyse .....	21
<b>3 Materialien</b> .....	<b>22</b>
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>24</b>
4.1 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf die Kaliumkonzentration im Blut .....	24
4.2 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Urin .....	25
4.2.1 Vergleich der Urinvolumina zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3 .....	25
4.2.2 Vergleich der K <sup>+</sup> -Ausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der drei Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3 .....	27
4.2.3 Vergleich der Na <sup>+</sup> -Ausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der drei Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3 .....	29
4.2.4 Vergleich der Aldosteronausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3 .....	30
4.3 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Blutdruck unter Ang II-Infusion .....	33
4.4 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Anteil atherosklerotischer Plaques in der Aorta .....	35
4.5 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf das Herz .....	37
4.5.1 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf Körper-, Herzgewicht und Tibialänge .....	37
4.5.2 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf die relative mRNA-Expression von Col, FN, $\beta$ - MHC, ANP und BNP .....	41
4.5.3 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf kardiale Struktur und Funktion .....	46
<b>5 Diskussion</b> .....	<b>53</b>
5.1 Mausmodell .....	53
5.2 Serumkaliumspiegel .....	53
5.3 Urin .....	54
5.3.1 Kalium .....	54
5.3.2 Aldosteron .....	55

5.3.3 Natrium.....	57
5.4 Blutdruck .....	58
5.5 Aorta und Atherosklerose .....	60
5.6 Herz .....	61
5.6.1 Fibrose .....	61
5.6.2 Fibroseentstehung im Kontext der Aldosteronausscheidung.....	63
5.6.3 Phänotyp und Pumpleistung.....	65
5.7 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen.....	67
5.8 Ausblick.....	68
<b>6 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>70</b>

# 1 Einleitung

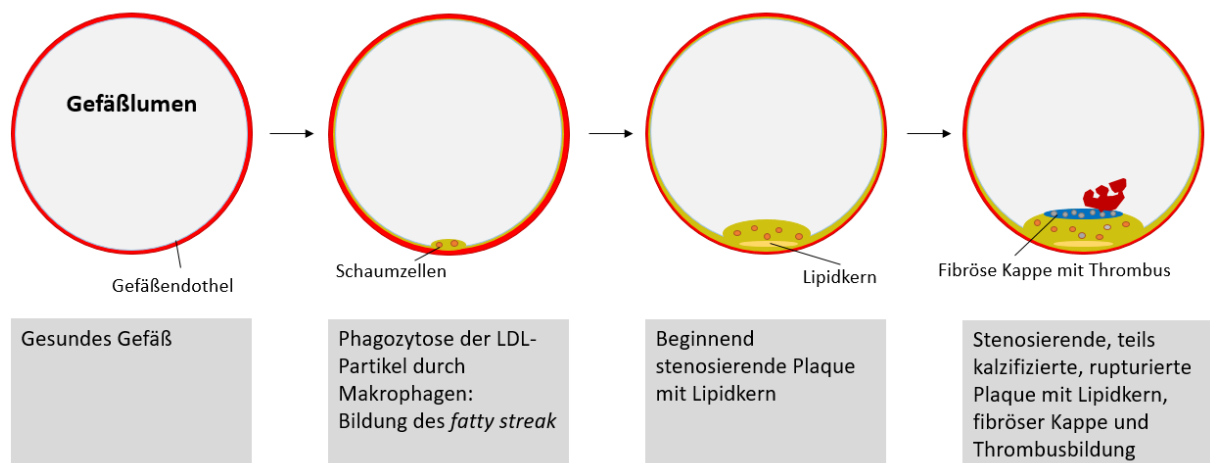
## 1.1 Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankungen

Obwohl in den letzten Jahrzehnten ein deutlicher Rückgang an Todesfällen in Verbindung mit atherosklerotisch-bedingten, kardiovaskulären Erkrankungen (*ASCVD*, *atherosclerotic cardiovascular diseases*) verzeichnet werden konnte, bleiben diese – noch vor Krebserkrankungen – die häufigste Todesursache weltweit. Exemplarisch sei auf die „*cardiovascular disease statistics*“ verwiesen, in der die *European Society of Cardiology* dies für ihre Mitgliedsstaaten belegt. Hauptverantwortlich sind ischämische Herzerkrankungen und Schlaganfälle [1]. Es wird erwartet, dass die durch *ASCVD* verursachten Kosten für das Gesundheitssystem allein in den Vereinigten Staaten von Amerika von 318 Milliarden im Jahr 2015 auf 749 Milliarden im Jahr 2035 steigen werden [2]. Vor diesem ökonomischen, sozialen und politischen Hintergrund erklärt sich das Interesse der Politik, Wirtschaft und Wissenschaft für die Behandlung und besonders die Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen.

## 1.2 Pathophysiologie der Atherosklerose

Die wichtigsten pathophysiologischen und genetischen Komponenten, die bei der Entstehung atherosklerotischer Erkrankungen eine Rolle spielen, sind bis dato noch nicht vollständig verstanden [3]. Atherosklerose ist eine sich in aller Regel über Jahrzehnte entwickelnde, chronisch inflammatorische Erkrankung, die mit Lipidablagerungen und Bildung fibrotischer Plaques in den Wänden des arteriellen Gefäßsystems einhergeht. Eine Dyslipidämie sowie Störungen in den die Immunantwort steuernden Signalwegen sind hierbei von essenzieller Bedeutung [3, 4]. Die in diesem Zusammenhang bedeutendsten Lipoproteine im Fettstoffwechsel sind das *high-density lipoprotein* (HDL) und das *low-density lipoprotein* (LDL). Die Hauptaufgabe der HDL-Partikel ist der Cholesterin-Rücktransport aus den peripheren Zellen durch das Blut hin zur Leber. Dort finden die weitere Verstoffwechslung und Ausscheidung statt. In der Literatur spricht man vom „*major antiatherogenic effect of HDL*“ [5, 6]. LDL-Moleküle transportieren Lipide durch das Blut hin zu den peripheren Zellen und tragen somit hauptsächlich zur Akkumulation von Fettzellen in den Gefäßwänden bei. Erhöhte LDL-Konzentrationen im Blut sorgen zu Beginn der Atherogenese für eine gesteigerte Permeabilität des Gefäßendothels für LDL-Cholesterin, welches oxidiert und damit zu proinflammatorischen Partikeln modifiziert wird [7]. Diese werden phagozytiert und dann Schaumzellen genannt. Dafür verantwortlich sind

zum Großteil motile Makrophagen als Vertreter des zellulären Immunsystems. Durch Anlagerung der Schaumzellen an das Gefäßendothel und die glatte Gefäßmuskulatur formt sich ein sogenannter *fatty streak* als Frühform der atherosklerotischen Plaque. Da die Makrophagenmobilität nach Phagozytose der LDL-Partikel reduziert ist, halten sie die lokale Inflammation aufrecht [8]. Sie produzieren reaktive Sauerstoffspezies und proinflammatorische Moleküle wie beispielsweise  $\text{TNF}\alpha$  und aktivieren T-Zellen unter anderem durch Antigenpräsentation über MHC-Klasse II-Moleküle [9]. Sowohl CD4-positive T-Helferzellen als auch zytotoxische CD8-positive T-Zellen sind bekanntermaßen bei der Ausbildung der Arteriosklerose beteiligt [10, 11]. In der fortschreitenden Atherogenese kommt es dann auf komplexe Weise zur weiteren Proliferation glatter Muskelzellen sowie Ausbildung eines Lipidkerns. Eine fibröse Kappe stabilisiert zunächst die wachsende Läsion. Durch die zunehmende Größe der Plaqueformation aufgrund des stetig größenprogredienten Lipidkerns steigt der Druck auf die bindegewebige Kappe, die letztendlich einreißt (sogenannte Plaqueruptur) und in Verbindung mit dem Arterienlumen zur Gerinnung bzw. Thrombusbildung führt [12]. Eine mögliche klinische Präsentation ist der akute Myokardinfarkt.



**Abb. 1: Schematische Entstehung der Atherosklerose**

Dargestellt wird schematisch die Entstehung der Atherosklerose. Erhöhte LDL-Konzentrationen im Blut sorgen für eine gesteigerte Permeabilität des Gefäßendothels für LDL-Cholesterin, welches oxidiert und damit zu proinflammatorischen Partikeln modifiziert wird. Diese werden phagozytiert und dann Schaumzellen genannt. Durch Anlagerung der Schaumzellen an das Gefäßendothel und die glatte Gefäßmuskulatur formt sich ein sogenannter *fatty streak*. Im Laufe der Zeit kommt es dann zur weiteren Proliferation glatter Muskelzellen sowie Ausbildung eines Lipidkerns. Eine fibröse Kappe stabilisiert zunächst die wachsende Läsion. Durch zunehmende Größe der Plaqueformation aufgrund des stetig größenprogredienten Lipidkerns steigt der Druck auf die bindegewebige Kappe; es kommt letztendlich zur Plaqueruptur und in Verbindung mit dem Arterienlumen zur Gerinnung bzw. Thrombusbildung.

### 1.3 Bluthochdruck – Risikofaktor für Atherosklerose und therapeutische Ansätze

Die arterielle Hypertonie – durch die *European Society of Cardiology* und *European Society of Hypertension* definiert als Messwerte oberhalb 140mmHg (systolisch) beziehungsweise über 90mmHg (diastolisch) – gilt neben der Hypercholesterinämie als der wichtigste Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen [13, 14]. Für die Mehrheit der an arterieller Hypertonie leidenden Menschen, nämlich 90%, findet sich keine auslösende Erkrankung; man spricht von einer primären oder essenziellen arteriellen Hypertonieform. In fünf bis zehn Prozent der Fälle ist eine Grunderkrankung eruierbar, die für die erhöhten Blutdruckwerte verantwortlich zu machen ist und in der Regel kausal therapiert werden kann. An erster Stelle sind dabei endokrine Ursachen, vorrangig der Hyperaldosteronismus, aber auch die Hyperthyreose, ein Hypercortisolismus und das Phäochromozytom zu nennen [15]. Daneben zählen zu den Entitäten dieser sogenannten sekundären Hypertonie das (obstruktive) Schlafapnoesyndrom, die Aortenisthmusstenose, renoparenchymatöse sowie renovaskuläre Erkrankungen. Die Genese der häufigen, essenziellen arteriellen Hypertonie ist noch nicht vollständig geklärt, wird aber im Allgemeinen als multifaktoriell angesehen. Begünstigende Faktoren sind unter anderem eine hohe Kochsalzzufuhr, Adipositas, Dyslipidämie, Insulinresistenz und Nikotinabusus [13, 16].

Die Mechanismen für die atherogene Wirkung des erhöhten Blutdrucks sind auf zellulärer Ebene zu suchen. Arterielle Hypertonie führt zur vermehrten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine [17]. In der Folge werden Gefäßwand-ständige Enzyme – u.a. die *reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase*, die Xanthinoxidase und die *endothelial nitric oxide (NO) synthase* – aktiviert, die reaktive Sauerstoffspezies produzieren [18]. Der infolgedessen vermehrte oxidative Stress führt zu einer verringerten NO-Produktion im Endothel und damit zu einer gestörten Vasorelaxation mit endothelialer Dysfunktion. Zusätzlich kommt es zur unkontrollierten Zellproliferation, Apoptose-Neigung und gesteigerten Zellpermeabilität [19]. Die geschilderten, atherogenen Prozesse führen wiederum selbst zu einer weiteren Blutdrucksteigerung – und damit zur Ausbildung eines *circulus vitiosus* [17].

Die ausgelöste endotheliale Dysfunktion kann jedes Organ betreffen [20]. Neben einer Makro- und Mikroangiopathie der Koronararterien ist als kardiale Folgeerscheinung die hypertensive Kardiomyopathie zu nennen. Die anhaltende Druckbelastung im Sinne einer linksventrikulären Nachlasterrhöhung führt zu einer zunächst konzentrischen, später auch exzentrischen Myokardhypertrophie. Die klinische Herzinsuffizienz wird durch eine

diastolische, linksventrikuläre Dysfunktion geprägt. Im meist fortgeschrittenen Stadium kann auch eine systolische Dysfunktion beobachtet werden [21]. Andere, klinisch relevante Folgen unzureichend behandelter, arterieller Hypertonie sind Aortenaneurysmata und -dissektionen, zerebrale Mikroangiopathien und Schlaganfälle sowie hypertensive Nephro- und Retinopathien [22-25]. Es scheint unter dem Eindruck der zahlreichen und schweren, kardiovaskulären Folgeerkrankungen also umso erstaunlicher, dass nicht einmal die Hälfte aller medikamentös Behandelten einen adäquat kontrollierten arteriellen Blutdruck aufweisen [26-28].

Vor dem Einsatz pharmakologischer Substanzen steht in der leitliniengerechten Bluthochdrucktherapie eine sogenannte *Lifestyle*-Modifikation [29]. Dazu gehört kurzgefasst eine Reduktion der Kochsalz-, Zucker- und Alkoholfuhr sowie eine gesteigerte Aufnahme von ungesättigten Fettsäuren, Obst und Gemüse. Diese Maßnahmen, die auch in der sogenannten, kaliumreichen *Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-diet* zur Anwendung kommen, sind bei konsequenter Anwendung geeignet, den Blutdruck bei Hypertonikern zu senken und wirken bei Gesunden präventiv hinsichtlich der Entstehung einer arteriellen Hypertonie [30, 31]. Neben adäquater Ernährung spielt die Nikotinkarenz, die Regulierung des eventuell erhöhten Körpergewichts und eine regelmäßige, moderate aerobe Belastung eine große Rolle.

Die zweite Säule der Behandlung der arteriellen Hypertonie stellt eine adäquate medikamentöse Therapie dar. Routinemäßig werden fünf Substanzklassen eingesetzt, üblicherweise direkt als mindestens zweifache Kombinationstherapie [29]. Darunter befinden sich ACE-Hemmer, Angiotensin-II Rezeptorblocker, Betablocker, Calciumkanalblocker und Thiaziddiuretika. Die Empfehlung fußt auf der nachgewiesenen Blutdrucksenkung sowie Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse.

In den letzten Jahren konnten diverse Studien eine blutdrucksenkende Wirkung durch erhöhte Kaliumaufnahme zeigen [32-34]. Eine Empfehlung zur Kaliumsubstitution der entsprechenden Fachgesellschaften gibt es bis dato allerdings noch nicht.

#### 1.4 Kalium: Aufgabe und Wirkung

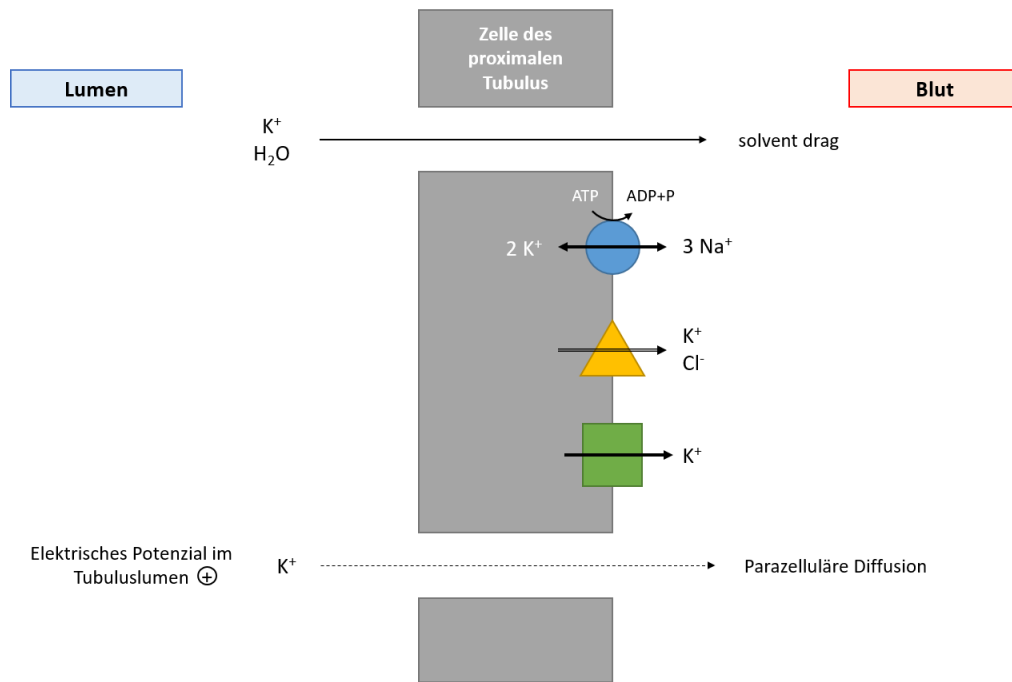
Kalium ( $K^+$ ) ist das quantitativ wichtigste osmotisch wirksame Kation des Intrazellularraumes und somit für die Regulation des Zellvolumens von essenzieller Bedeutung. Die Gesamtkaliummenge des menschlichen Körpers liegt bei 40 bis 50 mmol/kg Körpergewicht. Davon befinden sich ca. 98% im Intrazellularraum. Die intrazelluläre

Kaliumkonzentration divergiert geringgradig zwischen den verschiedenen Zellarten, liegt jedoch im Mittel bei etwa 140 mmol/l [35].

Das amerikanische *Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine* empfiehlt – entsprechend der *DASH-diet* – eine tägliche Kaliumaufnahme von 4700mg [36]. Die Empfehlung der deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. ist vergleichbar und beträgt zwischen 3550 und 4700mg [37]. Trotzdem werden diese Mengen in der Regel nicht erreicht. Im Durchschnitt nimmt ein Amerikaner  $2591 \pm 9$  mg am Tag zu sich. Die Diskrepanz zwischen empfohlener und aufgenommener Kaliummenge wurde bereits 2016 durch die *Dietary Guidelines for Americans* beschrieben [38].

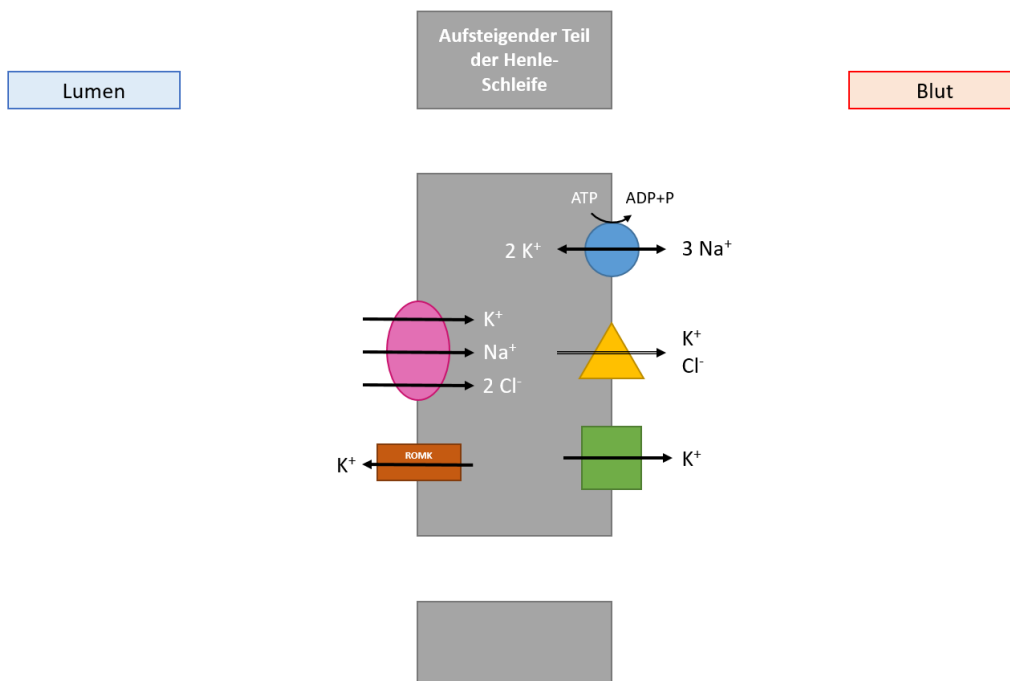
Die Niere ist aufgrund ihrer Regulation der Kaliumabgabe und –rückresorption das entscheidende Organ für eine Kaliumhomöostase im menschlichen Körper.  $K^+$  wird zunächst frei vom Glomerulum filtriert, anschließend allerdings zu etwa 90 Prozent zurückresorbiert. Im proximalen Tubulus erfolgt 65% der Rückresorption, wobei diese vor allem passiv via *solvent drag* stattfindet. Für diese parazelluläre Resorption wirkt das lumenpositive Potenzial der Tubulusflüssigkeit unterstützend (Abb. 2.a). Die 25% des Kaliums, die im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife rückresorbiert werden, werden größtenteils mittels des sekundär aktiven  $Na^+K^+2Cl^-$ -Kotransport transportiert. Die apikal gelegenen *Renal Outer Medullary Potassium channels* (ROMK) sorgen dafür, dass  $K^+$  von der Zelle zurück ins Lumen gelangen kann. Die Sicherstellung einer ausreichenden Menge von  $K^+$  im Lumen hält die Funktion des  $Na^+K^+2Cl^-$ -Kotransport aufrecht. Der beschriebene  $K^+$ -*shift* über die ROMK baut einen lumenpositiven Spannungsgradienten auf, der treibende Kraft für einen passive, parazelluläre  $K^+$ -Reabsorption ist [39] (Abb. 2.b).

Die renale  $K^+$ -Sekretion in den Verbindungstubuli und Sammelrohren ist von der externen Zufuhr und vor allem Aldosteron-abhängig. Aldosteron reguliert den Kaliumhaushalt, indem es indirekt über die Natriumresorption die Sekretion von  $K^+$  steuert. Die Aldosteronsekretion aus der Nebennierenrinde wiederum wird durch Angiotensin II (AngII) oder durch Anstieg der Kaliumkonzentration im Blut stimuliert. Erhöhte Kaliumspiegel führen also zur gesteigerten Aldosteron-Ausschüttung. Konsekutiv wird die Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase und damit die Kaliumsekretionsrate in den Sammelrohren erhöht [40]. Bei normaler Ernährung werden etwa zehn Prozent des filtrierten Kaliums mit dem Urin ausgeschieden [39] (Abb. 3.c).



**Abb. 2.a: Mechanismen der Kaliumrückresorption im proximalen Tubulus**

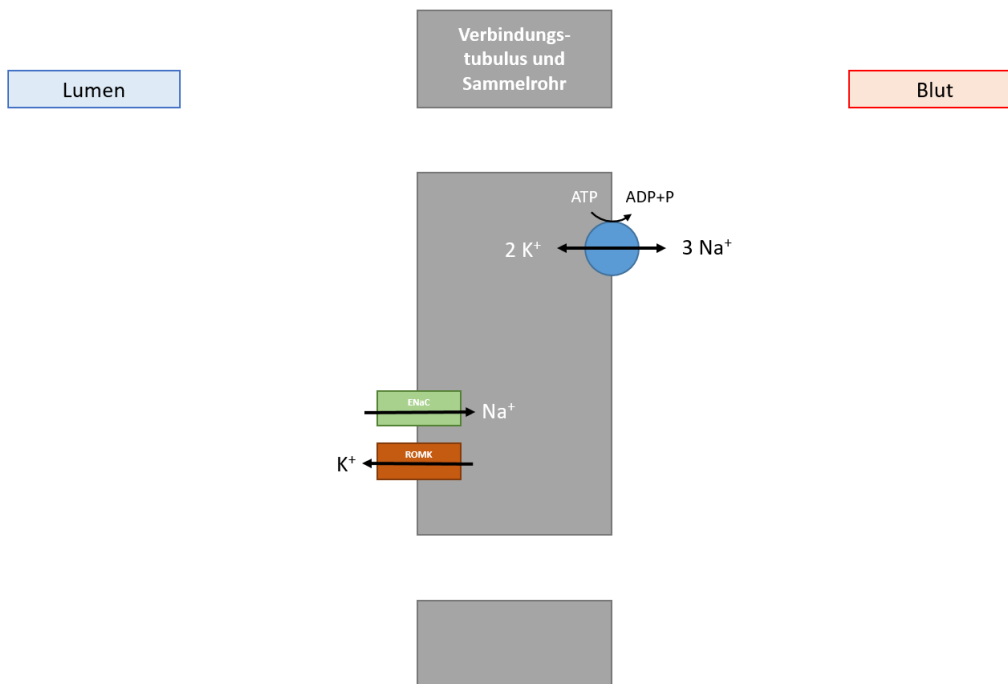
65 Prozent der Kaliumrückresorption finden im proximalen Tubulus statt, primär parazellulär: Die aktive  $Na^+$ -Rückresorption fördert die parazelluläre Wasserrückresorption und somit via *solvent drag*-Mechanismus die  $K^+$ -Rückresorption. In den distalen Anteilen des proximalen Tubulus wird das Tubuluslumen zunehmend elektropositiv, auch dies fördert die parazelluläre Diffusion. Die durch die  $Na^+-K^+$ -ATPase entstehende, intrazelluläre  $K^+$ -Aufnahme wird durch einen  $K^+$ -Ausstrom über  $K^+$ -Kanäle beziehungsweise  $K^+-Cl^-$ -Transporter an der basolateralen Membran ausgeglichen.



**Abb. 2.b: Mechanismen der Kaliumrückresorption im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife**

Die basolaterale  $Na^+-K^+$ -ATPase erzeugt ein relatives, intrazelluläres  $Na^+$ -Defizit. Dieser  $Na^+$ -Gradient treibt den apikal gelegenen  $Na^+-K^+-2Cl^-$ -Kotransporter im Sinne eines sekundär aktiven Transportes an. Das so in die Zelle gelangende Kalium kann basolateral passiv durch  $K^+$ -Kanäle und  $K^+-Cl^-$ -Kanäle ausströmen. Über ROMK kann  $K^+$  von der Zelle zurück ins Lumen gelangen. So wird eine ausreichende Menge von  $K^+$  im Lumen sichergestellt, um den  $Na^+-K^+-2Cl^-$ -Kotransport aufrecht zu erhalten.





**Abb. 2.c: Mechanismen der aldosteronabhängigen Kaliumsekretion und Natriumresorption im Verbindungstubulus und Sammelrohr**

Aldosteronabhängig wird die Aktivität der basolateralen  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  gesteigert und somit aktiv  $\text{K}^+$  aus dem Blut in die Zelle transportiert. Die dadurch intrazellulär erhöhte  $\text{K}^+$ -Konzentration stellt die treibende Kraft für einen  $\text{K}^+$ -Ausstrom über aldosteronabhängig eingebaute ROMK in das Tubuluslumen dar. Der durch die gesteigerte  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ -Aktivität erzeugte relative Mangel an  $\text{Na}^+$  in der Zelle sorgt für einen  $\text{Na}^+$ -Einstrom aus dem Lumen über ebenfalls aldosteronabhängig eingebaute epitheliale Natriumkanäle (ENaC).

Bei  $\text{K}^+$ -Aufnahme über die Nahrung wird ein wesentlicher Teil des Elektrolyts zunächst in den Intrazellularraum überführt. Die im Extrazellularraum verbliebenen  $\text{K}^+$ -Mengen werden wie oben beschreiben über die Nieren ausgeschieden. Vor allem in der Leber und Muskulatur stimuliert das durch die Nahrungsaufnahme vermehrt freigesetzte Insulin die  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ -Aktivität. Dies sorgt für eine vermehrte  $\text{K}^+$ -Aufnahme in den genannten Organen und wirkt damit einer Überflutung des Extrazellularraumes mit  $\text{K}^+$  entgegen. Lässt die Insulinwirkung nach, wird  $\text{K}^+$  wieder zurück nach extrazellulär verbracht und über die Nieren ausgeschieden [41].

Störungen des Kaliumhaushaltes können vielfältige Gründe haben. Einer Hypokaliämie – definiert mit einem Serumkaliumlevel  $< 3,5\text{mmol/l}$  – kann neben einer verminderten Zufuhr unter anderem auch massive Fehlernährung (beispielsweise bei Anorexia nervosa), verstärkte Verluste über den Gastro-Intestinal-Trakt bei Diarrhoen oder eine gesteigerte renale Ausscheidung (zum Beispiel bei Hyperaldosteronismus, genetischen Salzverlustsyndromen oder Diuretikagebrauch) zu Grunde liegen [42, 43]. Hyperkaliämien ( $\text{K}^+ > 5,5\text{mmol/l}$ ) können sich bei Niereninsuffizienz, Hypoaldosteronismus, Gewebeverletzungen, Hämolyse und ausgeprägten Azidosen entwickeln [44]. Potenzielle Folgen ausgeprägter Hypo- und Hyperkaliämien sind lebensgefährlichen Störungen

verschiedener Organsysteme mit hoher Morbidität und Mortalität. Von besonderer klinischer Bedeutung sind dabei ventrikuläre Herzrhythmusstörungen [45].

In den letzten Jahren wurden mehrere positive Effekte einer Kaliumsupplementation herausgearbeitet. Neal et al. konnten zeigen, dass der Austausch von reinem Speisesalz durch ein kaliumhaltiges Substitut (25% Kaliumchlorid, 75% Natriumchlorid) in einer hypertonen Population positive Effekte auf das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse hatte [46]. Als Ursache dafür wird postuliert, dass eine kaliumreiche Ernährung und Benutzung eines Speisesalzersatzes zu einer signifikanten Blutdrucksenkung führt [47]. Chang et al. konnten zeigen, dass die Verwendung von mit Kalium angereichertem Speisesalz im Gegensatz zu herkömmlichem Speisesalz einen positiven Effekt auf kardiovaskulär bedingte Mortalität bei vietnamesischen Veteranen zu haben scheint. Die Arbeitsgruppe führte dies – neben einer leicht reduzierten Natriumaufnahme – vor allem auf eine deutlich erhöhte Supplementation von Kalium zurück [48]. Das gleiche Thema aufgreifend demonstrierten Aburto et al. in ihrer Metaanalyse, dass eine gesteigerte orale Kaliumaufnahme nicht nur den systolischen Blutdruck bei Hypertonikern senkt, sondern auch mit einem erniedrigten Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, assoziiert ist [49]. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass unterschiedliche Kaliumdiäten die arterielle Kalzifikation und Steifigkeit modulieren [50].

Als ein entscheidender Mechanismus für die blutdrucksenkende Wirkung einer kaliumreichen Diät wird die durch Kalium gesteigerte, renale Natriumexkretion mit konsekutiv gesteigerter Diurese angesehen [51]. Dies führt über die mit dem Volumenverlust verbundenen Vorlastsenkung zur Blutdrucksenkung [52]. Wesentlich daran beteiligt ist der Natrium-Chlorid-Kotransporter (NCC) im distalen Konvolut des Glomerulums. Er vermittelt die Rückresorption von Natrium und Chlorid aus dem distalen Nierentubulus. Kalium wiederum inaktiviert den NCC und verhindert dessen Einbau, sodass vermehrt Natrium im Tubuluslumen verbleibt und die Natriumexkretion in der Niere gesteigert wird [51].

Zusätzlich dazu spielen auch direkte, gefäßprotektive Effekte eine Rolle. Eine hohe Kaliumkonzentration mindert in Endothelzellen und Makrophagen die Bildung zytotoxischer, freier Radikale und führt in der Folge zu einer verminderten Neointima-Proliferation, während eine kaliumarme Diät zu einer vermehrten Produktion reaktiver Sauerstoffspezies führt [53-55]. Außerdem hemmt eine mit Kalium angereicherte Diät die Thrombozytenaggregation und beeinflusst dadurch die rheologischen Eigenschaften des Blutes positiv [56].

## 1.5 Propagierte Hypothese/Ziele der Arbeit

Vor dem Hintergrund der oben beschriebenen, positiven Effekte von Kalium ergab sich daraus die Frage, welche Auswirkung eine kaliumarme bzw. -reiche Ernährung auf die Gefäßschädigung und die Aldosteronsekretion im hypertensiven, hypercholesterinämischen Mausmodell hat. Der Autor der Arbeit geht dabei davon aus, dass die gefäßprotektiven Eigenschaften von Kalium sichtbar werden. Die folgenden Hypothesen wurden daher aufgestellt und sollten untersucht werden: kaliumreiche Ernährung ist bei Mäusen mit ausgeprägtem kardiovaskulärem Risiko – unabhängig vom Blutdruck – mit geringerer aortaler Atherosklerose und kardialer Fibrose assoziiert; kaliumarme Ernährung ist im Gegensatz dazu mit einer vermehrten Atherosklerose und Fibrosebildung assoziiert.

## 2 Methodik

### 2.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden sechs bis acht Wochen alte Apolipoprotein E knock-out (ApoE<sup>-/-</sup>) Mäuse verwendet, die auf einen C57BL/6 Stamm zurückgehen und mindestens 10-mal zurückgekreuzt wurden. Diese hypercholesterinämien Tiere neigen zu vaskulären, pro-inflammatorischen und im speziellen pro-atherosklerotischen Prozessen.

Die Experimente wurden mit Genehmigung des Landesamtes für Natur-, Umwelt- und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen und unter Berücksichtigung der Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere durchgeführt.

Vor Beginn der Experimente absolvierte der Autor dieser Promotionsarbeit einen von der Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) zertifizierten Kurs erfolgreich (FELASA certificate ID: F048/16\_#\_0382). Die Mäuse wurden in der Tierversuchsanstalt der Heinrich-Heine-Universität gezüchtet und unter artgerechten Bedingungen gehalten (Tierversuchsantrag G301/18). Sie erhielten Wasser und Futter ad libitum. Der Tag-Nacht-Rhythmus betrug 12 Stunden.

### 2.2 Versuchsablauf

#### **2.2.1 Allgemeiner Versuchsablauf und Futter**

Zu Beginn wurden die oben beschriebenen Mäuse in drei Gruppen aufgeteilt. Sie erhielten über den Versuchszeitraum von insgesamt 42 Tagen Futter, das sich lediglich im Kaliumgehalt unterschied. Der ersten Gruppe wurde eine niedrig-Kalium-Diät (0%), der zweiten eine normal-Kalium-Diät (0,5%) und der dritten eine hoch-Kalium-Diät (5%) gefüttert. Das Experiment wurde in vier Zyklen durchgeführt.

<b>Kalium &lt; 0,05% als KCl</b>			
<b>Inhaltsstoffe</b>	<b>%</b>	<b>Zusatzstoffe</b>	<b>Pro kg</b>
Rohprotein	17,6	Vitamin A	15 I.E.
Rohfett	5,1	Vitamin D3	1,5 I.E.
Rohfaser	5,0	Vitamin E	150mg
Rohasche	2,6	Vitamin K3	20mg
Zucker	11,1	Vitamin C	30mg
		Kupfer	12mg

<b>Kalium 0,5% als KCl</b>			
<b>Inhaltsstoffe</b>	<b>%</b>	<b>Zusatzstoffe</b>	<b>Pro kg</b>
Rohprotein	17,6	Vitamin A	15 I.E.
Rohfett	5,1	Vitamin D3	1,5 I.E.
Rohfaser	5,0	Vitamin E	150mg
Rohasche	3,5	Vitamin K3	20mg
Zucker	11,1	Vitamin C	30mg
		Kupfer	12mg

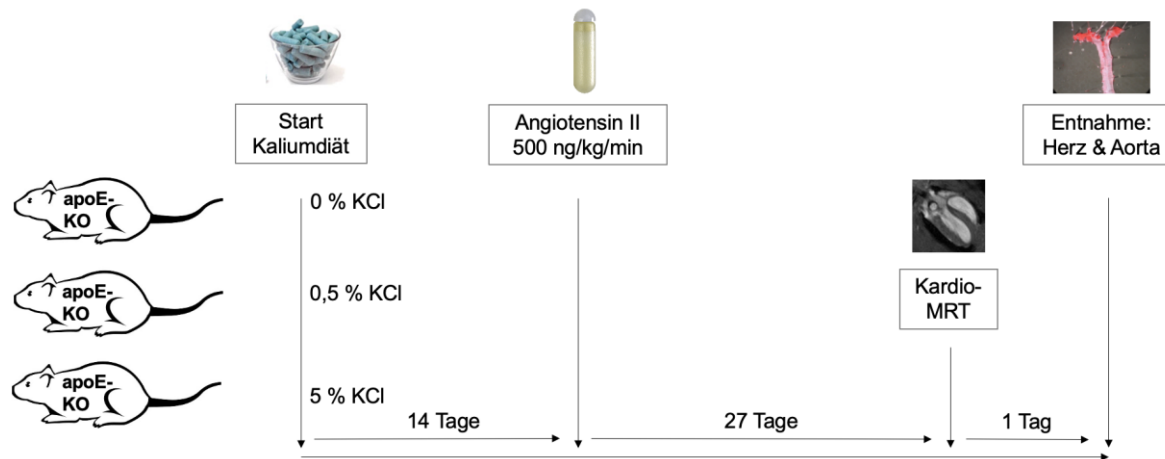
<b>Kalium 5% als KCl</b>			
<b>Inhaltsstoffe</b>	<b>%</b>	<b>Zusatzstoffe</b>	<b>Pro kg</b>
Rohprotein	17,6	Vitamin A	15 I.E.
Rohfett	5,1	Vitamin D3	1,5 I.E.
Rohfaser	5,0	Vitamin E	150mg
Rohasche	11,8	Vitamin K3	20mg
Zucker	11,1	Vitamin C	30mg
		Kupfer	12mg

**Tabelle 1.1-1.3: Zusammensetzung des Mausfutters (*sniff* Spezialdiäten, Soest, Deutschland)**

Das Futter der Versuchsgruppen unterschied sich nur im Anteil von Rohasche (Anteil anorganischer Stoffe) – genauer im Kaliumgehalt.

Nach 14-tägiger Behandlung mit der Kaliumdiät erfolgte die Implantation einer osmotischen Minipumpe, gefüllt mit AngII, um eine arterielle Hypertonie zu induzieren. Die Dosierung

des AngII betrug 500ng/kg/min. An Tag 42 wurden die Tiere geopfert und im Anschluss Blut, Aorta und Herz entnommen. Bei den Versuchstieren aus Zyklus drei und vier wurden zusätzlich zu geschildertem Versuchsaufbau 27 Tage nach Implantation der Pumpe eine kardiale Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt.



**Abb. 3: Versuchsablauf**

Hypercholesterinämie ApoE<sup>-/-</sup> Mäuse wurden in drei Gruppen eingeteilt; eine Gruppe erhielt über insgesamt 42 Tage eine Kalium-freie Diät, die zweite eine Diät mit 0,5% Kaliumchloridgehalt und die dritte eine Hochkalium- Diät mit 5% Kaliumchloridgehalt. Nach 14 Tagen wurden allen Mäusen eine Ang II-Minipumpe zur Induktion eines arteriellen Hypertonus implantiert. Nach weiteren 27 Tagen wurde (im Zyklus drei und vier des Experiments) eine kardiale MRT durchgeführt. Ein Tag später, also nach kumulativ 42 Tagen Diät, wurden die Mäuse geopfert und das Blut, das Herz und die Aorta zwecks weiterer Untersuchungen entnommen.

### 2.2.2 Präparation und Implantation der osmotischen Minipumpen

Die Ang II-Lösung wurde mittels 0,9% -Natriumchloridlösung (NaCl) so verdünnt, dass die osmotischen Minipumpen AngII in einer Konzentration von 500ng/kg/min freisetzen. Da bei einer Großzahl der Mäuse am Versuchstag 41 eine kardiale Magnetresonanztomographie geplant wurde, wurden die Metallspitzen der Pumpe durch Polyetheretherketonspitzen ersetzt. Um Gerinnungsprozesse (*clotting*) an der Pumpenspitze zu verhindern, die zu einer diskontinuierlichen Freisetzung von AngII führen könnten, wurden die Spitzen vorab mit einer Lösung aus 1-prozentigem Humanserumalbumin und Calcium- und Magnesiumfreien *phosphat buffer solution* (PBS) getränkt. Zur Gewährleistung der vollständigen Füllung der Minipumpen wurden die Minipumpen vor und nach Einfüllung der Ang II- Lösung gewogen. Die präparierten Minipumpen wurden im Anschluss für zwölf Stunden in NaCl-Lösung bei 37°C aufbewahrt, um eine unmittelbare Ang II- Freisetzung nach subkutaner Implantation in die Maus sicher zu stellen.

Für die Implantation der osmotischen Minipumpen wurden die Mäuse sediert. Als Standardsedativum wurde 1,5% Isofluran, alternativ eine Kombination aus intraperitoneal

appliziertem Ketamin (100mg/kg Körpergewicht) und Xylazin (5mg/kg Körpergewicht) verwendet. Um eine Schädigung der Netz- und Hornhaut der Tiere durch Austrocknung zu verhindern, wurde eine Dexpanthenol-Augencreme aufgetragen. Nach Rasur des Nackenfells wurde die darunter liegende Haut inzidiert und die Minipumpe subkutan implantiert. Anschließend wurde der Schnitt mit Einzelknopfnähten verschlossen. Eine adäquate postoperative Analgesie wurde über eine subkutane Injektion von 0,02µg Buprenorphin pro Maus sichergestellt.

### **2.2.3 Kardiale MRT**

In dieser Arbeit wurden kardiale Wasserstoffkern ( $^1\text{H}$ ) -MRT ein Tag vor Opfierung der Versuchstiere durchgeführt, um Aussagen über die Pumpleistung und Gestalt der Mäuseherzen nach fast sechswöchiger Kaliumdiät treffen zu können.

Die MRT-Messungen wurden mittels 400 MHz Bruker AVANCE III Widebore NMR-Spektrometer durchgeführt; eine Feldstärke von 9.4 Tesla wurde verwendet. Der Autor dieser Arbeit nahm das Microimagingssystem Mini 0.5 in Kombination mit einer 30mm-birdcage-Resonatorspule zu Hilfe, um orts aufgelöste Messungen ausführen zu können.

Während der Untersuchung wurden die Mäuse mittels des volatilen Hypnotikums Isofluran sediert: In der Narkoseeinleitung wurde 2,5-prozentiges Isofluran verwendet, während zur Aufrechterhaltung der Sedierung 1,5-prozentiges Isofluran verwendet wurde. Derart sediert wurden die Tiere mittels Halterungsvorrichtung im Probenkopf fixiert, ehe der Probenkopf samt Maus vertikal im Magneten angebracht wurde. Während der gesamten Untersuchung wurden die Vitalparameter der Tiere mittels EKG und am Rücken angebrachter Drucksensoren zwecks Atmungsüberwachung gemonitort. Um ein Auskühlen der Versuchstiere zu verhindern, wurde die Temperatur im Spektrometer auf 36°C voreingestellt. Kardiale und durch Bewegung bei der Atmung verursachte Artefakte wurden möglichst gering gehalten, indem die Aufnahme der Bilder auf die QRS-Komplexe sowie die Ausatemphase synchronisiert wurde.

Die Aufnahme der MRT-Bilder sowie die Bestimmung der untersuchten Parameter erfolgte wie bereits durch Frau Borg in ihrer Dissertation „Die Rolle der Ekto-5'-Nukleotidase (CD73) bei der Entzündungsreaktion nach Herzinfarkt in der Maus“ beschrieben [57]. Im Folgenden sei die Methodik in Kürze noch einmal zusammengefasst: Zunächst wurden eine Übersichtsaufnahme und ein orthogonaler Scan durchgeführt zwecks Lokalisierung des Herzens. Dann wurde das gesamte Herz mittels 6 Kurzachsenschnitten mit einer Schichtdicke von 1mm dargestellt; hierzu verwendet wurde eine respirationsgetriggerte

cine-FLASH (Fast Low Angle Shot)-Sequenz (*Field Of View (FOV)* von 3x3 cm<sup>2</sup>, Matrix 128x128 nach *Zerofilling* 256x256). Für einen Herzzyklus wurden 15 Bilder pro Schicht aufgenommen; Systole und Diastole waren so klar voneinander abgrenzbar. Zur genauen Positionierung der Kurzachsenschnitte wurde noch ein Längsachsenschnitt durch den Apex gelegt.

Die MRT-Bilder wurden mit der Software *Paravision* ausgewertet: Die endokardialen Flächen des linken Ventrikels (LV) wurden planimetrisch bestimmt, indem die Umrisse des Endokards in der Endsystole und -diastole in allen Kurzachsenschnitten markiert wurde. Das Volumen eines jeden Kurzachsenschnittes konnte so durch die Multiplikation mit der Schichtdicke von 1 mm berechnet werden. Addiert man nun die Volumina aller Schichten in der Systole, so erhält man das endsystolische Volumen (ESV); addiert man die Volumina aller Schichten in der Diastole erhält man das enddiastolische Volumen (EDV). Aus diesen Parametern lassen sich weitere ableiten:

Die *Ejektionsfraktion* (EF) als Maß für die linkskardiale Funktion setzt sich aus ESV und EDV zusammen und wird mit folgender Formel beschrieben:

$$EF = \left( \frac{EDV - ESV}{EDV} \right) * 100$$

Aus dem enddiastolischen Gesamtvolumen des linken Ventrikels ( $V_{Ges}$ ) – definiert als Volumen der Kammer sowie der Wand des linken Ventrikels – und dem EDV lässt sich mit Hilfe folgender Formel die LVM bestimmen:

$$LVM = (V_{Ges} - EDV) * 1,05$$

Zur Bestimmung von  $V_{Ges}$  wurden die Umrisse des Epikards in der Enddiastole gekennzeichnet. Jene Fläche wiederum wurde mit der Schichtdicke multipliziert. Anschließend wurden die so bestimmten Teilvolumina zu  $V_{Ges}$  addiert.

Außerdem wurde zu den Zeitpunkten der Endsystole und -diastole noch die endsystolischen (SWT, *systolic wall thickness*) und enddiastolischen Wanddicken (DWT, *diastolic wall thickness*) – definiert als Strecke zwischen Epi- und Endokard – bestimmt.

## 2.2.4 Blutdruckmessungen

Der systolische Blutdruck der Mäuse wurde non-invasiv mittels *tail-cuff*-Plethysmographie gemessen. Dabei wurden die Tiere eine Woche vor Versuchsbeginn täglich an die Messungen



des Plethysmographen gewöhnt, um stressbedingt falsch-hohe Blutdruck-Werte zu vermeiden.

Während des Versuches erfolgten dreimal pro Woche je zehn Blutdruckmessungen. Anschließend wurden Mittelwerte aus allen Messungen berechnet.

### **2.2.5 Euthanasie und Organentnahme**

Die Mäuse wurden an Tag 42 erneut – wie bei Pumpenimplantation – mittels Ketamin und Xylazin sediert und das Körpergewicht sowie die Länge der linken Tibia ermittelt. Anschließend wurden die Tiere euthanasiert. Dafür erfolgte eine Dislokation des Occipitalgelenks mit Durchtrennung des Rückenmarks und direkter anschließender Kanülierung der linken Herzkammer und Gewinnung des gesamten Blutvolumens.

Das Gefäßsystem wurde dann mit in PBS verdünntem Heparin (100U/ml) gespült. Nach Eröffnung des Peritoneums wurde die Aorta aufgesucht und sowohl im abdominalen wie thorakalen Anteil von der Wirbelsäule gelöst. Die Aorta wurde proximal oberhalb der Aortenklappenebene und distal auf Höhe der Bifurkation abgesetzt, perivaskuläres Fettgewebe wurde entfernt und das Gefäß dann den unten beschriebenen Untersuchungen zugeführt. Das Herz wurde entnommen, gewogen und in RNAlater® aufbewahrt. Danach wurden die osmotischen Minipumpen explantiert und die Versuchstiere zur Einäscherung in die Tierversuchsanstalt zurückgebracht.

### **2.2.6 Blutgasanalyse**

Zwecks Bestimmung des Serumkaliumgehalts wurde das entnommene Blut (Volumen 1ml pro Maus) mittels Blutgasanalyse analysiert.

### **2.2.7 Aorta: *Oil Red O*-Färbung**

Eine *Oil Red O* (ORO)-Lösung, die – wie von der Arbeitsgruppe Stegbauer gezeigt [58] – gezielt atherosklerotische Plaques anfärbt, wurde hergestellt, indem 0,4g ORO-powder in 80ml Methanol gelöst wurde. Zur Herstellung der ORO-Färbungslösung wurde diese Lösung dann mit 1 M Natriumhydroxid im Verhältnis 7:2 gemischt.

Die entnommenen Aorten wurden dann mittels ORO gefärbt. Dafür wurden die Gefäße über Nacht in 4% Paraformaldehyd (PFA) bei 4°C inkubiert. Anschließend wurde die Adventitia abpräpariert. Die Aorten wurden dann bei Raumtemperatur für fünf Minuten in 78% Methanol, dann für 90 Minuten in der ORO-Färbungslösung und zum Schluss erneut für 10

Minuten in 78% Methanol inkubiert. Anschließend wurden die Aorten erneut in PBS aufbewahrt.

Zur visuellen Darstellung der intraluminalen atherosklerotischen Plaques wurden die Aorten längs aufgeschnitten, mittels Metallpins fixiert und durch ein Mikroskop mit Hilfe einer digitalen Kamera fotografiert.

Zur Quantifizierung der atherosklerotischen Plaques wurden die gefärbten Flächen im Programm *ImageJ* in Pixeln ausgemessen und ins Verhältnis zur Gesamtfläche der Aorta gesetzt. In dieser Arbeit wurden der relative Anteil an Atherosklerose sowohl im Aortenbogen, definiert bis drei Millimeter kaudal der *Arteria subclavia sinistra*, als auch in der gesamten thorako-abdominellen Aorta untersucht.

### **2.2.8 Herz: mRNA-Quantifizierung und Auswertung durch real-time PCR (qPCR)**

#### **Reinigung der mRNA**

Um die relative Menge exprimierter mRNA im Herzgewebe zu messen, wurden real-time PCR-Messungen vorgenommen. Dafür wurde die RNA gemäß Herstellerangabe mittels *RNeasy® plus mini kit* von QiAgen isoliert. Kurz gefasst wurden folgende Schritte abgearbeitet: das Gewebe wurde in *buffer-RLT*-Lösung mit 10%  $\beta$ -Mercaptoethanol verbracht, für 30-40 Sekunden verkleinert und danach für drei Minuten zentrifugiert (21.000 G). Genomische DNA (gDNA) wurde mithilfe einer *genomic DNA eliminator column* aus dem Überstand entfernt. Das Eluent wurde mit 70% Ethanol vermischt und dann in einer RNA-Trennsäule zentrifugiert (8.000 G). Das so entstandene Eluent wurde verworfen und die Trennsäule zweimal mit 350 $\mu$ l *RW1 buffer* gewaschen, um Verunreinigungen zu entfernen. Um sicher zu gehen, dass die genomische DNA vollständig zerstört wurde, wurde die mit DNase-Enzym versetzte Trennsäule über 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgten zwei Waschvorgänge mit 500 $\mu$ l *RPE buffer*, um wiederum Verunreinigungen mit Salz zu beheben. Die übrige Flüssigkeit wurde durch zweimalige Zentrifugation mit maximaler Geschwindigkeit entfernt. Danach wurde 50 $\mu$ l RNase-freies Wasser hinzugefügt und eine Minute lang zentrifugiert. Die dadurch erhaltene, gereinigte RNA wurde spektralphotometrisch quantifiziert.

## Herstellung von cDNA

Um die zur RNA komplementäre DNA (cDNA) zu gewinnen, wurde das *QuantiTect® Reverse Transcription kit* verwendet. Die isolierte RNA wurde dafür zwei Minuten lang mit 2µl *gDNA wipeout* Puffer bei 42°C versetzt, um restliche gDNA aus dem Material zu entfernen. Es wurden jeweils 0,5µl isolierte RNA der zu überprüfenden Proben für die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) verwendet. Zur Herstellung der cDNA wurde ein *master mix* – bestehend aus *Quantiscript reverse transcriptase*, *Quantiscript RT buffer* und *RT primer* – den RNA-Proben hinzugefügt, bei 42°C über zwei Minuten und bei 95°C über drei Minuten inkubiert.

## Durchführung der qPCR

Für die qPCR wurde ein *master mix* aus 10 µL/Well *sybr green master mix*, 0,1 µL/Well *Forward* und 0,1 µL/Well *Reverse primer* sowie 8,8 µL/well RNase freiem Wasser hergestellt und auf eine 96 Well-Platte pipettiert. Jedem benutzten Well wurde 1µl der im vorherigen Schritt erstellten cDNA hinzugefügt. Die Wells wurden vermischt, verschlossen und in das Real-Time PCR-System verbracht. Glyceraldehyd-phosphat-3-dehydrogenase (GAPDH) *primer* wurde als Kontrolle während der PCR verwendet. Die Zyklen im Thermocycler wurden wie folgt durchgeführt:

Phase	Wiederholungen	Temperatur	Zeit in Minuten:Sekunden
1	1	95.0 °C	15:00
2	40	95.0 °C	00:15
		58.0 °C	00:30
		72.0 °C	00:30
		76.0 °C	00:34
3 (Dissoziation)	1	95.0 °C	00:15
		60.0 °C	01:00
		95.0 °C	00:15
		60.0 °C	00:15

**Tabelle 2: Aufstellung der Phasen der qPCR-Zyklen im Thermocycler**

Die jeweiligen Zyklen im Thermocycler erfolgten in drei Phasen mit oben beschriebenen Wiederholungen für die genannte Dauer bei bestimmten Temperaturen.

Die Quantifizierung der mRNA basiert auf Fluoreszenzschwellenwerten. Dabei beschreibt der  $C_t$ -Wert (*cycle threshold,  $C_t$  value*) die Anzahl an Zyklen der PCR, bei der ein definiertes Fluoreszenzsignal überschritten wurde. Je mehr mRNA bzw. cDNA im Ausgangsmaterial vorhanden war, desto weniger Amplifikationszyklen wurden zur Überschreitung dieses Signals benötigt. Die Expression der Ziel-mRNA wurde mit dem Kontrollgen *GAPDH* normalisiert, um die einheitslose, relative Expression darstellen zu können. Zur besseren Vergleichbarkeit der Daten wurden sie anschließend erneut in Relation zur Normal-Kalium-Gruppe gesetzt. Folgende qPCR-Primer (*Eurofins genomics*, Deutschland) wurden verwendet:

GAPDH	Forward	GTGTTCTACCCCAATGTGT
	Reverse	GTCCTCAGTGTAGCCCAAGATG
ANP	Forward	CTGGGCTTCTTCTCGTCTT
	Reverse	CCTCATCTTCTACCGGCATCT
BNP	Forward	AAGGTGCTGTCCCAGATGATT
	Reverse	CCATTTCTCCGACTTTTCTC
FN	Forward	CGAGGTGACAGAGACCACAA
	Reverse	CTGGAGTCAAGCCAGACACA
Coll-1	Forward	ATCTCCTGGTGCTGATGGAC
	Reverse	ACCTTGTTTGCCAGGTTTAC

**Tabelle 3: Verwendete qPCR-Primer**

Darstellung der verwendeten Primer für den Nachweis der mRNA-Expression von ANP, BNP, FN und Coll-1 im Herzapex der Mäuse. Glycerinaldehyd-phosphat-3-dehydrogenase (GAPDH) *primer* wurde als Kontrolle verwendet.

### 2.2.9 Urinasservierung und Auswertung

Der Urin der Versuchstiere wurde zu drei Zeitpunkten während des Versuchsablauf asserviert.

Zeitpunkt	Versuchstag	Ereignis
t1	0	vor Beginn der verschiedenen Kaliumdiäten
t2	14	vor Implantation der Ang II-Pumpen, nach zweiwöchiger Diät
t3	42	vor der Tötung der Tiere, nach sechswöchiger Diät und vierwöchiger AngII-Infusion

**Tabelle 4: Zeitpunkte der Urinasservierung**

Tabellarische Darstellung der drei verschiedenen Zeitpunkte der Urinasservierung während des Versuchablaufs.

Für das Sammeln des Urins wurden die Mäuse für 15 Stunden in sogenannte Stoffwechselkäfige verbracht. In diesen Käfigen wurde keine Streu auf dem aus Käfigstangen bestehenden Boden ausgelegt. Unter dem Boden angebrachte Vorrichtungen konnten den gesamten Urin der Tiere in ein Reaktionsgefäß leiten. Futter und Wasser standen auch hier *ad libitum* zur Verfügung.



**Abb. 4: Stoffwechselkäfig**

In diese Käfige wurden die Mäuse zwecks Urinasservierung verbracht. Unter den durchlässigen Käfigböden befanden sich Vorrichtungen, die den Harn der Tiere direkt in ein Reaktionsgefäß (direkt oberhalb der Sternchen) leiteten. Futter und Wasser standen *ad libitum* zur Verfügung.

Anschließend wurden die gewonnenen Urinvolumina gemessen und auf Basis dessen das Urinvolumen pro 24 Stunden extrapoliert. Der gesammelte Urin wurde anschließend zur Bestimmung der Natrium- ( $\text{Na}^+$ ) und Kalium- ( $\text{K}^+$ ) Konzentrationen in das Zentrallabor des Universitätsklinikum Düsseldorf versendet. Die Konzentration des Hormones Aldosteron im Mäuseurin wurde durch den Verfasser dieser Arbeit bestimmt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde durch Multiplikation des Urinvolumen pro 24 Stunden in Milliliter mit der  $\text{K}^+$ -Konzentration des Urins in mg/ml die Kaliummenge pro 24 Stunden in Milligramm berechnet, durch Multiplikation des Urinvolumen pro 24 Stunden in Milliliter mit der  $\text{Na}^+$ -Konzentration des Urins in mg/ml die Natriummenge pro 24 Stunden in Milligramm

berechnet und durch Multiplikation des Urinvolumen pro 24 Stunden in Milliliter mit der Aldosteronkonzentration des Urins in ng/ml die Menge an Aldosteron pro 24 Stunden in Nanogramm.

$$\frac{\text{Natriummenge [mg]}}{24h} = \text{Natriumkonzentration} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right] * \frac{\text{Urinvolumen [ml]}}{24h}$$

$$\frac{\text{Kaliummenge [mg]}}{24h} = \text{Kaliumkonzentration} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right] * \frac{\text{Urinvolumen [ml]}}{24h}$$

$$\frac{\text{Aldosteronmenge [ng]}}{24h} = \text{Aldosteronkonzentration} \left[ \frac{\text{ng}}{\text{ml}} \right] * \frac{\text{Urinvolumen [ml]}}{24h}$$

### 2.2.10 Aldosteronkonzentration im Urin mittels ELISA bestimmen

Zur Bestimmung der Aldosteronkonzentration im Mäuseurin wurden *Aldosterone ELISA kits* und die darin enthaltenen Reagenzien verwendet. Die *kits* wurden gemäß Herstellergebrauchsanleitung verwendet. Es folgt eine Zusammenfassung.

Das *Assay* basiert auf einer Konkurrenz des freien Aldosterons in der Urinprobe mit einer zugegebenen Aldosteron-Cholinesterase (*tracer*) um eine Bindungsstelle an Aldosteron-Antiserum, welches bereits in einer fixen Menge in den *wells* der 96-*wells* Platten fixiert wurde. Weil die gleiche Menge *tracer* in jedes *well* gegeben wurde, während die Aldosteronkonzentration im Urin variierten, ist die Menge des *tracers*, die an das Aldosteron-Antiserum binden konnte antiproportional zur Aldosteronkonzentration der zugegebenen Probe. Nach Auswaschen der *wells* wurde *Ellman's reagent* hinzugegeben, welches ein Substrat der Cholinesterase enthält. Das Produkt dieser enzymatischen Reaktion hat eine gelbliche Farbe und absorbiert stark bei 412nm, sodass die Intensität mittels Spektralphotometer nachgewiesen werden kann. Die Intensität der gelben Farbe ist also proportional zur Menge des an Antiserum gebundenen *tracers* und antiproportional zur ins *well* zugegebenen Menge an Aldosteron.

Auf Basis des oben beschriebenen Konzepts wurde eine serielle Verdünnung des Aldosteron-Standards durchgeführt. Die Urinproben wurden ebenfalls verdünnt. Aldosteron-Standard, ELISA-Kontrolle und die Proben wurden in die mit Antikörpern vorbeschichteten *wells* pipettiert. Anschließend wurden *tracer* und Aldosteron-Antiserum hinzugegeben und die 96-*wells* Platte für 18 Stunden bei 4°C inkubiert. Die *wells* wurden mehrfach ausgewaschen und

*Ellman's reagent* hinzugegeben, bevor die Reaktion nach 90 Minuten gestoppt und die Platte in einem Spektralphotometer platziert wurde. Dort wurde der Absorptionsgrad jedes *well* gemessen. Es wurde eine Konzentration-Absorptions-Kurve für den Aldosteron-Standard erstellt und die Aldosteronkonzentration in den Urinproben von der Standardkurve abgeleitet.

### 2.3 Wissenschaftliche Bildanalyse

Zur Verwendung kam die Software ImageJ, um bestimmte Flächen in Pixel zu bestimmen. ImageJ ist eine *open-source* Software, die von den *National Institutes of Health* und dem *Laboratory for Optical and Computational Instrumentation* entwickelt wurde [59].

### 2.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung der Daten erfolgte mithilfe des Softwareprogramms GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA). Zur Untersuchung hinsichtlich eines signifikanten Unterschiedes zwischen den drei Versuchsgruppen wurde eine *one way analysis of variance* (ANOVA) durchgeführt. Bei Signifikanz wurde ein *Tukey-test* als Post-Hoc Analyse ergänzt. Wurden nur zwei Gruppen miteinander verglichen, so erfolgte ein *Unpaired t-test* zur Analyse.

In einigen Experimenten wurde eine Normalisierung der Roh-Daten durchgeführt, um statistisch bedeutendere Vergleiche zu erhalten. Die Daten wurden als Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes dargestellt. Ein Unterschied wurde als signifikant gewertet, wenn der p-Wert unter 0,05 lag; dies wurde graphisch mit einem Stern dargestellt (p <0,05 \*; p <0,01 \*\*; p <0,001 \*\*\*).

### 3 Materialien

1.1	ssniff Spezialdiäten, Soest, Deutschland EF E15450-24; ohne K+-Zusatz („deficient“); Zucker angepasst (11%) Artikel-Nr.: S3544-E040
1.2	ssniff Spezialdiäten, Soest, Deutschland EF E15450-24; 0,55% K als KCl („normal“); Zucker angepasst (11%) Artikel-Nr.: S3544-E042
1.3	ssniff Spezialdiäten, Soest, Deutschland EF E15450-24; 5% K als KCl („high“); Zucker angepasst (11%) Artikel-Nr.: S3544-E044
2.1	Micro-osmotic pump, model 1004; Alzet, Durcet, California, USA
2.2	Angiotensin II, catalog number A9525, Sigma, Steinheim, Germany
2.3	0,9% Natriumchlorid, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
2.4	Polyetheretherketonspitzen für osmotische Minipumpen, 0002612, Alzet, Durcet, California, USA
3	1 % Human Serum Albumin (HSA), Albutein, Grifols, Frankfurt, Deutschland
4	Posphat buffer solution (PBS)(Biochrome, Berlin, Germany
5.1	Isofluran, Piramal, Hallbergmoss, Deutschland
5.2	Ketamin, Ketaset, Zoetis, New Jersey, United States
5.3	Xylazin, Rompun, Bayer, Leverkusen, Deutschland
5.4	Buprenorphin, Buprenovet, Bayer, Leverkusen, Deutschland
6.1	MR-Spektrometer, 400 MHz Bruker AUANCE III Widebore, Rheinstetten, Deutschland
6.2	MR-Microimagingssystem, Bruker Mini 0.5, Rheinstetten, Deutschland
6.3	MR-Resonatorspule Bruker 30mm-birdcage, Rheinstetten, Deutschland
6.4	M1025 Systems, SA Instruments, Stony Brook, USA
6.5	Paravision Software, Bruker, Rheinstetten, Deutschland
7	Plethysmograph, BP-98A, Softron, Tokyo, Japan
8.1	Heparin 100U/ml, B. Braun, Melsungen, Deutschland
8.2	RNAlater®, Qiagen, Hilden, Deutschland
8.3	PBS Dulbecco, Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland
9	ABL800 FLEX Blutgasanalysator, Radiometer, Krefeld, Deutschland



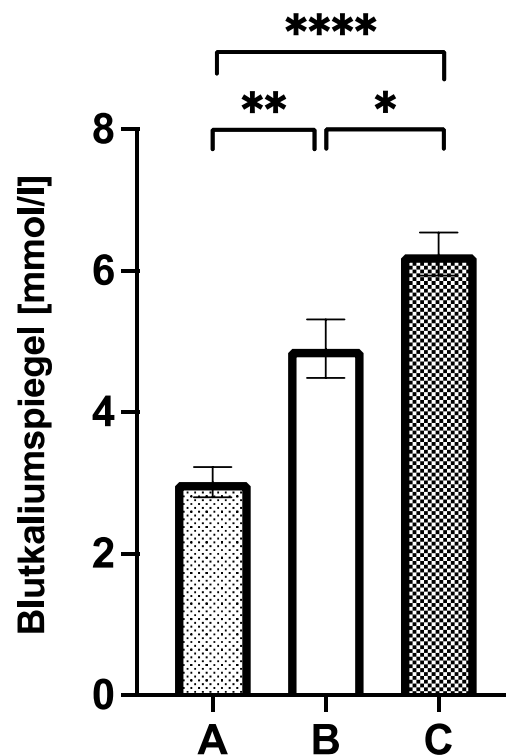
10.1	Oil Red O, Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland
10.2	Methanol $\geq 99.8\%$ , AnalaR NORMAPUR® ACS, Reag. Ph. Eur, VWR International, Fontenay-sous-Bois, Frankreich
10.3	Natriumhydroxid Plätzchen, Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
10.4	Mikroskop, Leica MZ6, Wetzlar, Deutschland
10.5	Digitalkamera, Coopix 4500, Nikon, Tokyo, Japan, Carl Zeiss, Jena, Deutschland
11.1	RNeasy Plus Mini Kit, QIAGEN, Venlo, Niederlande
11.2	QuantiTect® Reverse Transcription Kit, QIAGEN, Venlo, Niederlande
11.3	7300 Real-time PCR System, Thermofisher, Waltham, USA
12.1	Aldosterone ELISA kit, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA
12.2	Multimode Detector DTX 880, Beckman Coulter, California, USA

**Tabelle 5: Verwendete Materialien**

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf die Kaliumkonzentration im Blut

Nach insgesamt 42-tägiger Diät mit je nach Versuchsgruppe Kalium-armer, Kalium-normaler oder Kalium-reicher Nahrung – die letzten 28 Tage jeweils unter dem Einfluss einer kontinuierlichen AngII-Infusion zwecks Induzierung eines Bluthochdrucks – erfolgte die Analyse des Kaliumblutspiegels der Tiere. Dabei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den drei unterschiedlichen Gruppen. Die Kalium-arme Gruppe wies im Mittel einen gemessenen Kaliumspiegel von  $3,01 \text{ mmol/l} \pm 0,21 \text{ mmol/l}$ , die Kalium-normale Gruppe von  $4,9 \text{ mmol/l} \pm 0,41 \text{ mmol/l}$  und die Kalium-reiche Gruppe von  $6,24 \text{ mmol/l} \pm 0,31 \text{ mmol/l}$  auf (Abb. 6).



**Abb. 5: Einfluss der Kaliumdiät auf den Blutkaliumspiegel**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 6), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Gruppe B (Mittelwert:  $4,9 \text{ mmol/l} \pm 0,41 \text{ mmol/l}$ ) und C (Mittelwert:  $6,24 \text{ mmol/l} \pm 0,31 \text{ mmol/l}$ ), ( $p = 0,0201$ ), zwischen Gruppe A (Mittelwert:  $3,01 \text{ mmol/l} \pm 0,21 \text{ mmol/l}$ ) und B ( $p = 0,0018$ ) sowie zwischen Gruppe A und C ( $p < 0,0001$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*:  $p \leq 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,01$ , \*\*\*\* $\leq 0,0001$ .

## 4.2 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Urin

Im Urin der Mäuse wurden jeweils die Natrium-, Kalium- und Aldosteronkonzentration bestimmt. Dabei sollte der Einfluss der oben geschilderten Diäten auf die renale  $\text{Na}^+$ - oder  $\text{K}^+$ -Ausscheidung und deren hormonelle Regulation untersucht werden.

Der Urin der Mäuse wurde wie beschrieben an drei unterschiedlichen Zeitpunkten während des Versuchs asserviert. Vor Beginn der verschiedenen Kaliumdiäten (Zeitpunkt t1), vor Implantation der Ang II-Pumpen, also nach zweiwöchiger Diät (Zeitpunkt t2) und vor der Tötung der Tiere, also nach sechswöchiger Diät und vierwöchiger AngII-Infusion (Zeitpunkt t3). Die Natrium- ( $\text{Na}^+$ ) und Kalium-Konzentrationen ( $\text{K}^+$ ) wurden im Zentrallabor bestimmt, die Aldosteron-Konzentration wurden mittels *ELISA* bestimmt.

Zum Zeitpunkt t1 gab es je zwei Tiere jeder Versuchsgruppe, deren Urin- $\text{K}^+$ -Konzentration oberhalb des Maximums des Referenzbereiches von 420 mmol/l lag (in den Tabellen 1.1-3.3 als  $>420$  mmol/l gekennzeichnet); zum Zeitpunkt t2 war dies bei den fünf Tieren, die Kalium-reich ernährt wurden, der Fall. Nach sechs Versuchswochen (Zeitpunkt t3) wiesen zwei Tiere aus der mit hohen Kaliumkonzentrationen gefütterten Gruppe  $\text{K}^+$ -Konzentrationen von  $>420$  mmol/l auf.

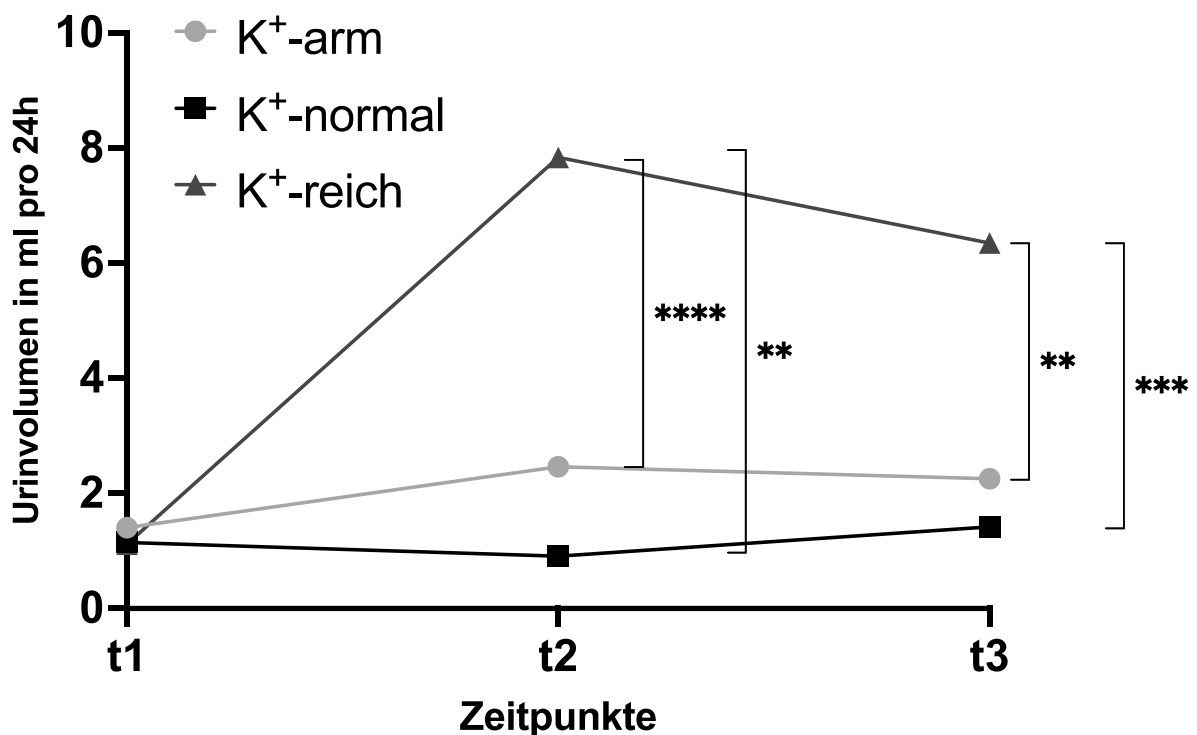
### **4.2.1 Vergleich der Urinvolumina zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3**

Die Urin-Volumina pro 24h der drei Gruppen lagen zum Zeitpunkt t1 auf gleichem Niveau (Durchschnitt der Kalium-armen Gruppe: 1,408 ml  $\pm$  0,08ml; Durchschnitt der Kalium-normalen-Gruppe: 1,152 ml  $\pm$  0,24 ml; Durchschnitt der Kalium-reichen Gruppe: 1,12 ml  $\pm$  0,65 ml). Während des Versuchs schieden die Tiere der Kalium-reichen Gruppe im Mittel hoch signifikant größere Urinvolumina aus als die Tiere der anderen Gruppen. Der Mittelwert des Urinvolumens der Kalium-reichen Gruppe lag mit 7,84 ml  $\pm$  1,09 ml zum Zeitpunkt t2 um knapp das Zehnfache höher als der Mittelwert der Kalium-normalen Gruppe (0,912 ml  $\pm$  0,27 ml;  $p < 0,0001$ ) und um mehr als das Dreifache höher als der Mittelwert der Kalium-armen Gruppe (2,464 ml  $\pm$  0,91 ml;  $p = 0,0015$ ). Zum Zeitpunkt t3 zeigte sich ein ähnliches Bild: die Mäuse unter Kalium-reicher Ernährung schieden hoch signifikant größere Urinvolumina aus (im Mittel: 6,352 ml  $\pm$  1,24ml) als diejenigen unter Kalium-normaler (im Mittel: 1,424 ml  $\pm$  0,36 ml;  $p = 0,0007$ ) oder Kalium-arter Kost (im Mittel: 2,565 ml  $\pm$  0,4 ml;  $p = 0,0028$ ) (Tabelle 6, Abb. 6).

Gemittelte Urinvolumina	K <sup>+</sup> -arme Ernährung	K <sup>+</sup> -normale Ernährung	K <sup>+</sup> -reiche Ernährung
t1	1,408 ± 0,08	1,152 ± 0,24	1,12 ± 0,65
t2	2,464 ± 0,91	0,912 ± 0,27	7,84 ± 1,09
t3	2,256 ± 0,4	1,424 ± 0,36	6,352 ± 1,24

**Tabelle 6: Gemittelte Urinvolumina in Milliliter pro 24h der Kalium-arm, Kalium-normal und Kalium-reich ernährten Mäuse zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3**

Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Urinvolumina der Kalium-arm, Kalium-normal und Kalium-reich ernährten Versuchsgruppe zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3. Der Urin wurde über insgesamt 15h gesammelt und auf 24h extrapoliert; angegeben werden die Volumina in Milliliter.



**Abb. 6: Gemittelte Urinvolumina pro 24h der Kalium-arm, Kalium-normal und Kalium-reich ernährten Mäuse zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3**

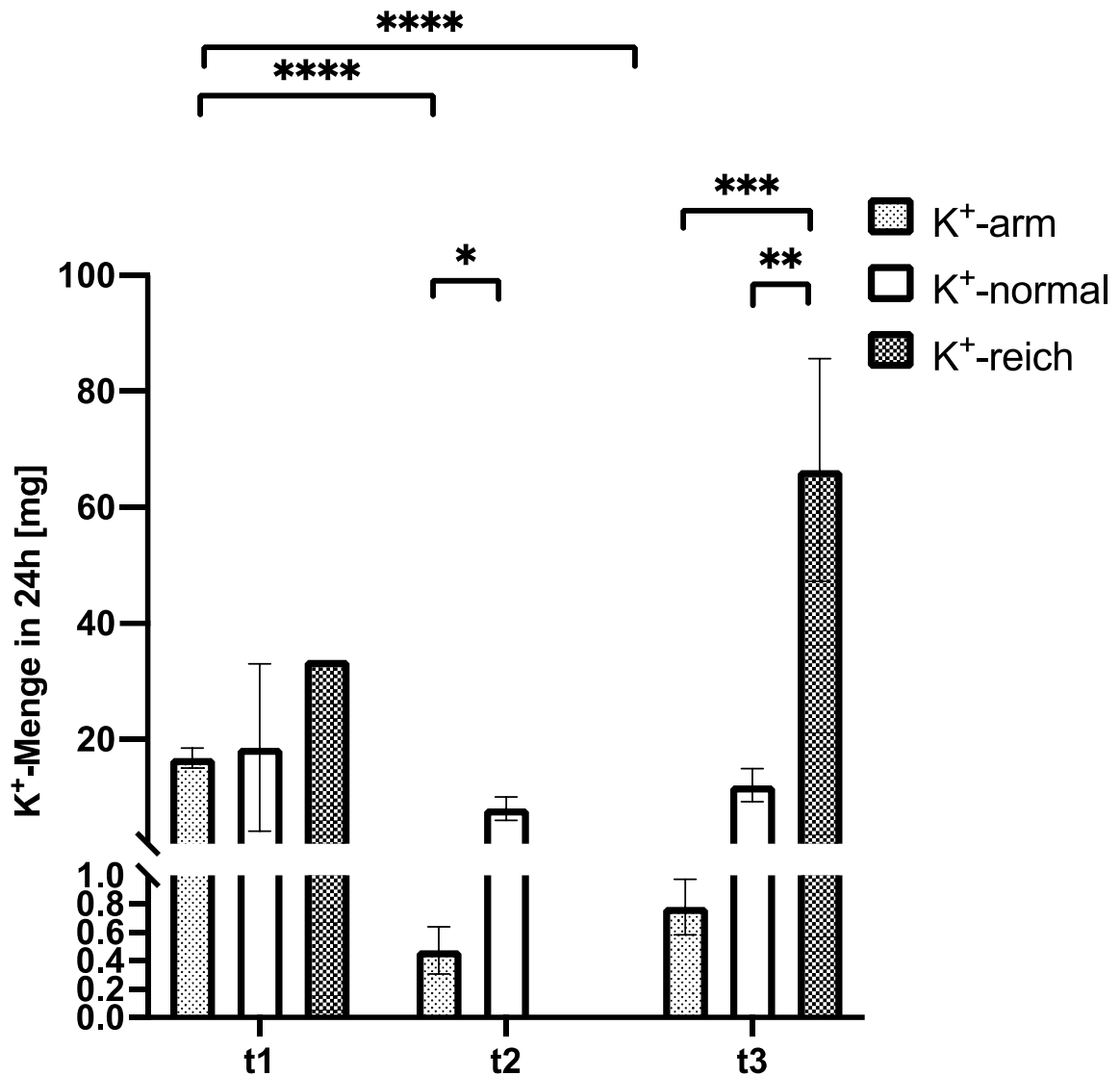
Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte der Urinvolumina der Kalium-arm, Kalium-normal und Kalium-reich ernährten Versuchsgruppe zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3 mittels Liniendiagramm. Der Urin wurde über insgesamt 15h gesammelt; angegeben werden die Volumina in Milliliter.

Während die Urinvolumina der drei Gruppen zum Zeitpunkt t1 auf gleichem Niveau lagen (Durchschnitt der Kalium-armen Gruppe: 1,408 ml ± 0,08ml; Durchschnitt der Kalium-normalen-Gruppe: 1,152 ml ± 0,24 ml; Durchschnitt der Kalium-reichen Gruppe: 1,12 ml ± 0,65 ml), schieden die Tiere der Kalium-reichen Gruppe zum Zeitpunkt t2 im Mittel hoch signifikant größere Urinvolumina aus als die Tiere der anderen Gruppen (Kalium-reich vs. Kalium-normal: 7,84 ml ± 1,09 ml vs. 0,912 ml ± 0,27 ml;  $p < 0,0001$  und Kalium-reich vs. Kalium-arm: 7,84 ml ± 1,09 ml vs. 2,464 ml ± 0,91 ml;  $p = 0,0015$ ). Auch zum Zeitpunkt t3 schieden Mäuse unter Kalium-reicher Ernährung hoch signifikant größere Urinvolumina aus (im Mittel: 6,352 ml ± 1,24ml) als diejenigen unter Kalium-normaler (im Mittel: 1,424 ml ± 0,36 ml;  $p = 0,0007$ ) oder Kalium-arter Kost (im Mittel: 2,565 ml ± 0,4 ml;  $p = 0,0028$ ). Zwischen den Kalium-normal und den Kalium-arm ernährten Tieren bestanden weder zum Zeitpunkt t2 noch zum Zeitpunkt t3 signifikante Unterschiede (t2: ,912 ml ± 0,27 ml vs. 2,464 ml ± 0,91 ml,  $p = 0,3687$  und t3: 1,424 ml ± 0,36 ml vs. 2,565 ml ± 0,4 ml;  $p = 0,7088$ ). *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*\*:  $p \leq 0,01$ , \*\*\*:  $p \leq 0,001$ , \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

#### **4.2.2 Vergleich der K<sup>+</sup>-Ausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der drei Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3**

Nachfolgend wird die von den Mäusen über den Urin ausgeschiedene Masse von Kalium in mg beschrieben. Dazu wurden die in 15 Stunden gemessenen Urinvolumina auf 24 Stunden extrapoliert und mit den im Urin gemessenen Kalium-Konzentrationen multipliziert. Methoden-bedingt konnten die Werte einiger, vor allem aus der Kalium-reichen Gruppe stammender Mäuse nicht berechnet werden, da ihre ausgeschiedenen Kaliumkonzentrationen oberhalb des Referenzmaximums von 420 mmol/l lagen.

Vor Start des Experiments waren keine signifikanten Unterschiede in der über den Urin ausgeschiedenen Kaliummenge zu verzeichnen. Der Unterschied zwischen den Tieren, die Kalium-arm und -normal ernährt wurden, stellte sich zum Zeitpunkt t2 als signifikant heraus: im Urin der Kalium-armen Gruppe war durchschnittlich eine Kaliummenge pro 24 Stunden von  $0,4731 \text{ mg} \pm 0,17 \text{ mg}$  festzustellen, bei der Kalium-normalen Gruppe betrug sie im Mittel  $8,078 \text{ mg} \pm 2,03 \text{ mg}$ . Die ausgeschiedene Kaliummenge in der Kalium-reich ernährten Gruppe konnte zum Zeitpunkt t2 nicht berechnet werden, da die im Urin festgestellte Kaliumkonzentration bei allen Versuchstieren oberhalb des Maximums des Referenzbereiches von 420 mmol/l lagen. Zum Zeitpunkt t3 wiesen die drei Versuchsgruppen signifikante Unterschiede hinsichtlich der Kaliumausscheidung in 24 Stunden auf: die Kalium-arm ernährte Gruppe (im Mittel  $0,788 \text{ mg} \pm 0,19 \text{ mg}$ ) schied hoch signifikant geringere Mengen aus als die Kalium-normal (im Mittel  $12,1 \text{ mg} \pm 2,86 \text{ mg}$ ) und Kalium-reich (im Mittel  $66,44 \text{ mg} \pm 19,2 \text{ mg}$ ) ernährte. Die Kalium-reich ernährten Tiere schieden signifikant größere Kaliummengen aus als die Kalium-normal ernährten (Abb. 7). Betrachtet man die Kaliummenge im Urin noch einmal versuchsgruppenspezifisch zu den drei Zeitpunkten, so zeigt sich, dass die Mäuse, die Kalium-arm ernährt werden, vor Versuchsbeginn deutlich größere Kaliummengen in 24h ausschieden als nach zwei Wochen Diät und als nach sechs Wochen. Diese Unterschiede stellten sich als hoch signifikant heraus. Die Unterschiede in der Normal-Kalium Gruppe waren geringer und nicht signifikant. Bei der Hoch-Kalium Gruppe konnten aufgrund der über dem Referenzwert liegenden Messwerte einiger Versuchstiere nur die Zeitpunkte t1 und t3 miteinander verglichen werden. Hier zeigte sich die nicht-signifikante Tendenz, dass vor Opferung der Tiere mit im Durchschnitt  $66,44 \text{ mg} \pm 19,2 \text{ mg}$  größere Mengen von Kalium ausgeschieden wurden als vor Beginn der Diät ( $32,29 \text{ mg} \pm 1,42 \text{ mg}$ ) (ebenfalls Abb. 7).



**Abb. 7: K<sup>+</sup>-Menge im Urin in 24 Stunden (in mg) vor Versuchsbeginn (t1), vor Pumpenimplantation (t2) und vor Organentnahme (t3)**

t1: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 2), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 2), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 2). Alle drei Versuchsgruppen schieden ungefähr gleichgroße Mengen von K<sup>+</sup> aus; es gab keine signifikanten Unterschiede. Gruppe A vs. B (im Mittel 16,78 mg ± 1,72 mg vs. 18,59 mg ± 14,43 mg; p= 0,9915), Gruppe A vs. C (im Mittel 16,78 mg ± 1,72 mg vs. 32,29 mg ± 1,42; p= 0,4851), Gruppe B vs. C (im Mittel 18,59 mg ± 14,43 mg vs. 32,29 mg ± 1,42 mg; p= 0,5532).

t2: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 4), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 6). Die Kalium-normal ernährten Mäuse schieden nach zweiwöchiger Diät eine K<sup>+</sup>-Menge von 8,078 mg ± 2,03 mg in 24 Stunden aus. Dies war signifikant mehr als die der Kalium-arm ernährten Tiere (0,4731 mg ± 0,17 mg; p= 0,0172). Alle fünf Kalium-reich ernährten Mäuse schieden eine Kaliumkonzentration oberhalb des Referenzmaximums von 420 mmol/l aus, daher konnte bei diesen die ausgeschiedene K<sup>+</sup>-Menge in 24h nicht berechnet werden.

t3: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 8), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 6), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 5). Die Kalium-reich ernährten Mäuse schieden mit durchschnittlich 66,44 mg ± 19,2 mg in 24 Stunden hoch signifikant größere K<sup>+</sup>-Mengen aus als die Kalium-arm ernährten Mäuse (durchschnittlich 0,788 mg ± 0,19 mg; p= 0,0002) und signifikant größere Mengen als die Kalium-normal ernährten (durchschnittlich 12,1 mg ± 2,86 mg; p= 0,002). Zwischen den Tieren, die mit niedrigen und normalen Kaliummengen gefüttert wurden, bestand ein nicht signifikanter Unterschied (durchschnittlich 0,788 mg ± 0,19 mg vs. 12,1 mg ± 2,86 mg; p= 0,612).

Die Mäuse, welche Kalium-arm ernährt wurden, schieden vor Beginn des Experiments hoch signifikant größere Mengen von K<sup>+</sup> pro 24h aus als nach zwei Wochen Kalium-defizienter Ernährung (im Mittel 16,78 mg ± 1,72 mg vs. 0,4371 mg ± 0,17 mg; p< 0,0001) beziehungsweise als zum Zeitpunkt t3 (im Mittel 16,78 mg ± 1,72 mg vs. 0,778 mg ± 0,19 mg; p< 0,0001). Zwischen Zeitpunkt t2 und t3 fand sich kein signifikanter Unterschied (im Mittel 0,4731 mg ± 0,17 mg vs. 0,778 mg ± 0,19 mg; p= 0,8375).

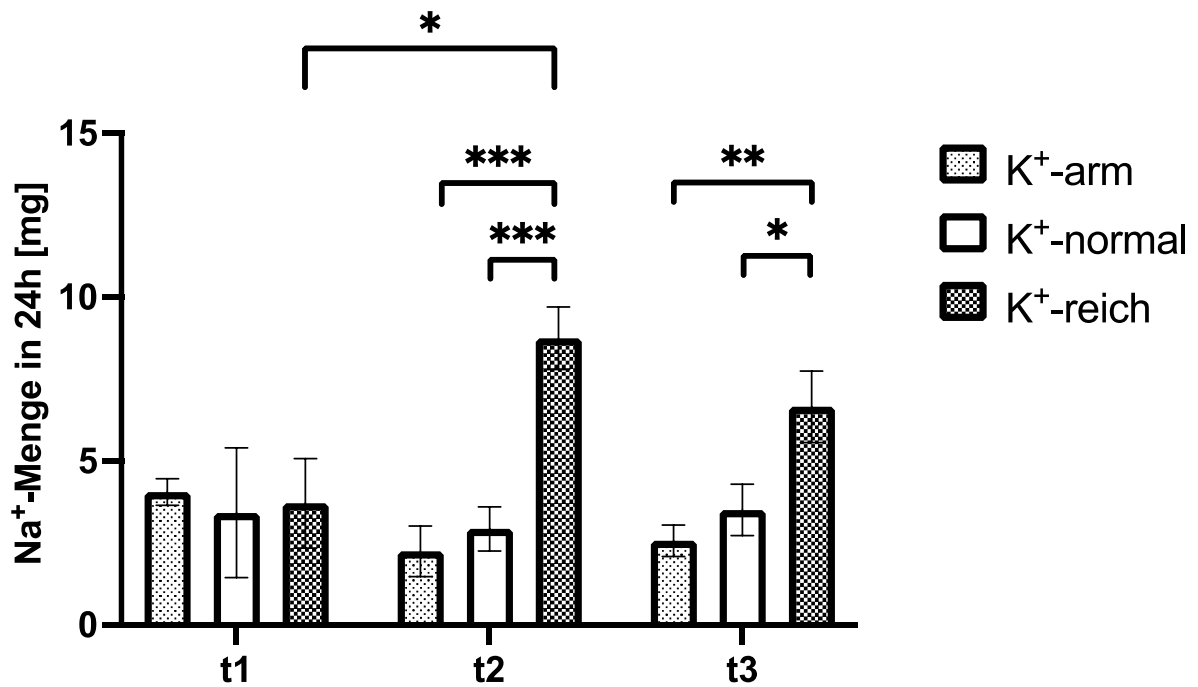
Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*; bei t2: *Unpaired t-test*. \*: p≤ 0,05, \*\*: p≤ 0,01, \*\*\*: p≤ 0,001, \*\*\*\*: p< 0,0001.

### **4.2.3 Vergleich der Na<sup>+</sup>-Ausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der drei Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3**

Im Folgenden wird die von den Mäusen über den Urin ausgeschiedene Masse von Natrium in Milligramm beschrieben. Dazu wurden die in 15 Stunden gemessenen Urinvolumina auf 24 Stunden extrapoliert und mit den im Urin gemessenen Natriumkonzentrationen multipliziert.

Es zeigte sich, dass die Tiere vor Beginn der Diäten (t1) mit unterschiedlichen Kaliumdiäten ungefähr die gleiche Menge Natrium ausschieden. Zum Zeitpunkt t2 schieden die Kalium-reich ernährten Mäuse dann durchschnittlich  $8,745 \text{ mg} \pm 0,95 \text{ mg}$  in 24 Stunden und damit hoch signifikant größere Natriummengen aus als die Kalium-arm (durchschnittlich  $2,244 \text{ mg} \pm 0,77 \text{ mg}$ ) und Kalium-normal ernährten (durchschnittlich  $2,928 \text{ mg} \pm 0,67 \text{ mg}$ ). Zum Zeitpunkt t3 zeigte sich ein ähnliches Bild. Nach sechswöchiger Diät und vierwöchiger AngII-Infusion schied die Kalium-reiche Gruppe mit durchschnittlich  $6,655 \text{ mg} \pm 1,09 \text{ mg}$  in 24 Stunden hoch signifikant größere Natriummengen als die Kalium-arm (durchschnittlich  $2,565 \text{ mg} \pm 0,48$ ) und Kalium-normal ernährten Tiere (durchschnittlich  $3,505 \text{ mg} \pm 0,78 \text{ mg}$ ) aus (Abb. 8).

Betrachtet man nun die Natriummenge im Urin noch einmal versuchsgruppenspezifisch über die Zeit, so zeigt sich, dass die Mäuse mit Kalium-arter Diät vor Versuchsbeginn nicht signifikant größere Natriummengen ausschieden als nach zwei bzw. sechs Wochen. Die Kalium-normale Gruppe schied mit durchschnittlich  $3,417 \text{ mg} \pm 1,98 \text{ mg}$  (t1),  $2,928 \text{ mg} \pm 0,67 \text{ mg}$  (t2) und  $3,505 \text{ mg} \pm 0,78 \text{ mg}$  (t3) an den untersuchten Zeitpunkten etwa die gleichen Natriummengen aus. Die Kalium-reich ernährten Tiere schieden nach zweiwöchiger Diät (im Mittel:  $8,745 \text{ mg} \pm 0,95 \text{ mg}$ ) durchschnittlich die größte Menge Natrium aus und damit signifikant mehr als vor dem Beginn der Spezialernährung (im Mittel:  $3,709 \text{ mg} \pm 1,37 \text{ mg}$ ). Nach weiteren vier Wochen schieden die Mäuse mit im Mittel  $6,655 \text{ mg} \pm 1,09 \text{ mg}$  mehr Natrium aus als zum Zeitpunkt t1, jedoch weniger als zum Zeitpunkt t2 (ebenfalls Abb. 8).



**Abb. 8: Na<sup>+</sup>-Menge im Urin in 24 Stunden (in mg) vor Versuchsbeginn (t1), vor Pumpenimplantation (t2) und vor Organentnahme (t3)**

t1: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 4), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 3), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 4). Alle drei Versuchsgruppen schieden ungefähr gleichgroße Mengen von Na<sup>+</sup> aus; es fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Gruppe A vs. B (im Mittel 4,051 mg ± 0,4 mg vs. 3,417 mg ± 1,98 mg; p= 0,9387), Gruppe A vs. C (im Mittel 4,051 mg ± 0,4 mg vs. 3,709 mg ± 1,37 mg; p= 0,9786), Gruppe B vs. C (im Mittel 3,417 mg ± 1,98 mg vs. 3,709 mg ± 1,37 mg; p= 0,9866).

t2: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 4), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 6), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 5). Die Kalium-reich ernährten Mäuse schieden mit durchschnittlich 8,745 mg ± 0,95 mg in 24 Stunden hoch signifikant größere Na<sup>+</sup>-Mengen aus als die Kalium-arm (durchschnittlich 2,244 mg ± 0,77 mg; p= 0,0004) und Kalium-normal ernährten (durchschnittlich 2,928 mg ± 0,67 mg; p= 0,0005) aus. Zwischen den Tieren, die mit niedrigen und normalen Kaliummengen gefüttert wurden, bestand kein signifikanter Unterschied (p= 0,8285).

t3: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 8), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 6). Die Kalium-reich ernährten Mäuse schieden mit durchschnittlich 6,655 mg ± 1,09 mg in 24 Stunden hoch signifikant größere Na<sup>+</sup>-Mengen aus als die Kalium-arm (durchschnittlich 2,565 mg ± 0,48 mg; p= 0,0042) und signifikant größere Mengen als die Kalium-normal ernährten (durchschnittlich 3,505 mg ± 0,78 mg; p= 0,0312) aus. Zwischen den Tieren, die mit niedrigen und normalen Kaliummengen gefüttert wurden, fand sich kein signifikanter Unterschied (p= 0,6515).

Die Kalium-reich ernährten Tiere schieden nach zweiwöchiger Diät (im Mittel: 8,745 mg ± 0,95 mg) durchschnittlich die größte Menge Na<sup>+</sup> aus und damit signifikant mehr als vor Beginn der Spezialernährung (im Mittel: 3,709 mg ± 1,37 mg; Zeitpunkt t1 vs. t2: p= 0,0218).

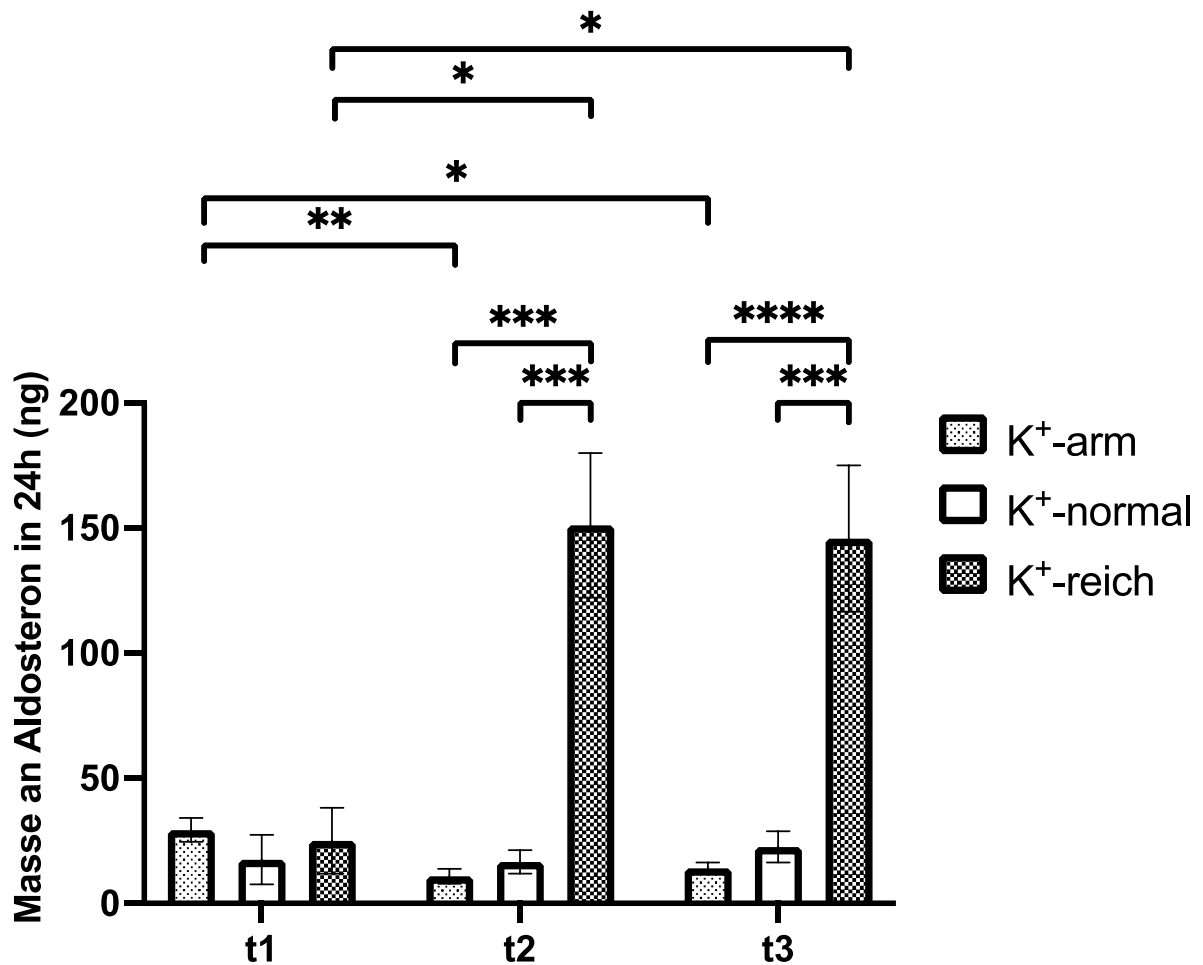
Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05, \*\*: p≤ 0,01, \*\*\*: p≤ 0,001.

#### 4.2.4 Vergleich der Aldosteronausscheidung im Urin zwischen den und innerhalb der Versuchsgruppen zu den Zeitpunkten t1, t2 und t3

Aus den Urinproben der Mäuse, die zu den oben genannten Zeitpunkten gewonnen wurden, wurde mithilfe eines *Aldosteron ELISA Kits* die Aldosteron-Konzentration bestimmt. Die Aldosteronmengen, die von den Mäusen innerhalb eines Tages ausgeschieden werden, wurden miteinander verglichen. Dazu wurden die in 15 Stunden gesammelten Urinvolumina auf 24 Stunden extrapoliert und mit den Aldosteron-Konzentrationen multipliziert.



Bevor den Tieren die entsprechenden Kaliumdiäten verabreicht wurden, unterschieden sich die über die Niere abgegebenen Aldosteronmengen nicht signifikant voneinander. Nach zweiwöchiger Gabe des unterschiedlich konzentrierten Kaliumfutters schieden die Mäuse, die mit kaliumreicher Diät gefüttert wurden, mit durchschnittlich  $151,1\text{ng} \pm 28,88\text{ ng}$  pro 24 Stunden hoch signifikant größere Aldosteronmengen aus als die, die mit niedrigen (durchschnittlich  $10,82\text{ng} \pm 2,97\text{ ng}$  pro 24 Stunden) oder normalen Kaliummengen (durchschnittlich  $16,55\text{ng} \pm 4,69\text{ ng}$  pro 24 Stunden) gefüttert wurden. Nach sechs Wochen fand sich ein ähnliches Bild. Die Kalium-reiche Gruppe schied mit durchschnittlich  $145,8\text{ng} \pm 29,21\text{ ng}$  pro 24 Stunden die circa zehnfache Menge des Hormons aus, verglichen mit der Kalium-armen Gruppe sowie das circa Sechsfache der Kalium-normalen Gruppe (Abb. 9). Betrachtet man die einzelnen Gruppen über den zeitlichen Verlauf ( $t_1$ - $t_3$ ), so zeigt sich Folgendes: Während die Kalium-arme Gruppe zu den Zeitpunkten  $t_2$  und  $t_3$  signifikant niedrigere Mengen pro 24 Stunden ausschieden, kamen bei der Kalium-normalen Gruppe bezüglich der Aldosteronmenge pro 24 Stunden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mengen, die vor Beginn der Diät, nach zwei Wochen und nach sechs Wochen ausgeschieden wurden, zur Darstellung. Die Kalium-reiche Gruppe wies mit im Mittel  $25,02\text{ng} \pm 13,16\text{ ng}$  Aldosteron pro 24 Stunden zum Zeitpunkt  $t_1$  hoch signifikant geringere Werte auf als zu den Zeitpunkten  $t_2$  (durchschnittlich  $151,1\text{ng} \pm 28,88\text{ ng}$ ) und  $t_3$  (durchschnittlich  $145,8\text{ng} \pm 29,21\text{ ng}$ ) (ebenfalls Abb. 9)



**Abb. 9: Aldosteronmenge im Urin in 24 Stunden (in ng) vor Versuchsbeginn (t1), vor Pumpenimplantation (t2) und vor Organentnahme (t3)**

t1: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 4), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 3), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 4). Alle drei Versuchsgruppen schieden ungefähr gleichgroße Mengen von Aldosteron aus; es gab keine signifikanten Unterschiede. Gruppe A vs. B (im Mittel 29,34 ng ± 4,72 ng vs. 17,46 ng ± 9,91 ng; p= 0,7067), Gruppe A vs. C (im Mittel 29,34 ng ± 4,72 vs. 25,02 ng ± 13,16 ng; p= 0,9459), Gruppe B vs. C (im Mittel 17,46 ng ± 9,91 ng vs. 25,02 ng ± 13,16 ng; p= 0,8656).

t2: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 4), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 6), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 5). Gruppe C schied hoch signifikant größere Aldosteronmengen in 24 Stunden aus als Gruppe A (im Mittel 151,1ng ± 28,88 ng vs. 10,82ng ± 2,97 ng; p= 0,0004) und Gruppe B (im Mittel 151,1ng ± 28,88 ng vs. 16,55ng ± 4,69 ng; p= 0,0002). Der Unterschied zwischen Gruppe A und B (im Mittel 10,82ng ± 2,97 ng vs. 16,55ng ± 4,69 ng; p= 0,9707) war nicht signifikant.

t3: A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 6). Gruppe C schied hoch signifikant größere Aldosteronmengen in 24 Stunden aus als Gruppe A (im Mittel 145,8ng ± 29,21 ng vs. 14,09ng ± 2,27 ng; p< 0,0001) und Gruppe B (im Mittel 145,8ng ± 29,21 ng vs. 22,55ng ± 6,18 ng; p= 0,0001). Der Unterschied zwischen Gruppe A und B (im Mittel 14,09ng ± 2,27 ng vs. 22,55ng ± 6,18 ng; p= 0,9183) war nicht signifikant.

Die Mäuse, welche Kalium-arm ernährt werden, schieden vor Beginn des Experiments hoch signifikant größere Mengen von Aldosteron pro 24 Stunden aus als zum Zeitpunkt t2 (im Mittel 29,34ng ± 4,72 ng vs. 10,82ng ± 2,97 ng; p= 0,0074) beziehungsweise als zum Zeitpunkt t3 (im Mittel 29,34ng ± 4,72 ng vs. 14,09ng ± 2,27 ng; p= 0,0119). Zwischen Zeitpunkt t2 und t3 gab es keinen signifikanten Unterschied (im Mittel 10,82ng ± 2,97 ng vs. 14,09ng ± 2,27 ng; p= 0,7429).

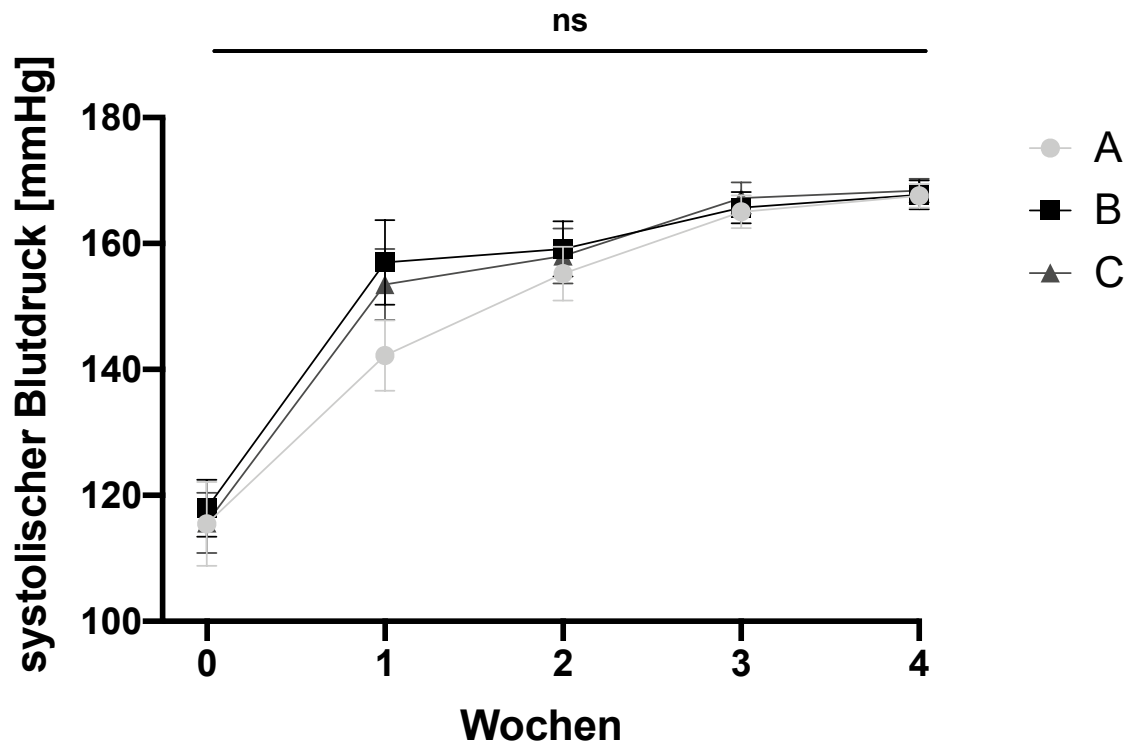
Die Kalium-reich ernährten Mäuse schieden um Zeitpunkt t1 signifikant niedrigere Aldosteronmengen pro 24 Stunden aus als zum Zeitpunkt t2 (im Mittel 25,02ng ± 13,16 ng vs. 151,1ng ± 28,88 ng; p= 0,0235) und zum Zeitpunkt t3 (im Mittel 25,02ng ± 13,16 ng vs. 145,8ng ± 29,21 ng; p= 0,0241). Zwischen den Werten zum Zeitpunkt t2 und t3 gab es keinen signifikanten Unterschied (im Mittel 151,1ng ± 28,88 ng vs. 145,8ng ± 29,21 ng; p= 0,9885).

Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05, \*\*: p≤ 0,01, \*\*\*: p≤ 0,001, \*\*\*\*: p< 0,0001.

### 4.3 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Blutdruck unter Ang II-Infusion

Eine Woche vor Start der Infusion des AngII mittels osmotische Minipumpen wurde die Bestimmung des systolischen Blutdrucks der Mäuse begonnen. Zu Beginn der Messungen – also noch vor der AngII-Infusion – lagen alle Gruppen mit systolischen Blutdrücken von  $115,46 \text{ mmHg} \pm 6,66 \text{ mmHg SEM}$  (Niedrig-Kalium Gruppe),  $117,95 \text{ mmHg} \pm 4,52 \text{ mmHg SEM}$  (Normal-Kalium Gruppe) und  $115,63 \text{ mmHg} \pm 4,8 \text{ mmHg SEM}$  (Hoch-Kalium Gruppe) auf gleichem Niveau im normotensiven Bereich.

Mit Beginn der AngII-Behandlung stieg der systolische Blutdruck in allen drei Versuchsgruppen an. In der ersten Woche zeigte sich allerdings die nicht signifikante Tendenz, dass bei den Kalium-arm ernährten Mäuse niedrigere systolische Blutdrücke mit durchschnittlich  $142,22 \text{ mmHg} \pm 5,6 \text{ mmHg SEM}$  gemessen wurden als bei den Kalium-normal ( $157,02 \text{ mmHg} \pm 6,73 \text{ mmHg SEM}$ ) und kalium-reich ( $153,52 \text{ mmHg} \pm 5,66 \text{ mmHg SEM}$ ) Ernährten. Nach zwei Wochen unter AngII-Behandlung war diese Tendenz nicht mehr zu sehen. Die Blutdrücke lagen wieder auf einem Level im hypertensiven Bereich. Auch in Woche drei stiegen die systolischen Blutdrücke weiter an. In der letzten Versuchswoche zeigte sich das gleiche Bild: alle Mäuse wiesen einen Bluthochdruck auf und erreichten nun ihre Maximalwerte von ungefähr  $165 \text{ mmHg}$  systolisch. Die Blutdrücke der Tiere, die mit Kalium-ärmer, Kalium-normaler oder Kalium-reicher Diät gefüttert wurden, unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Abb. 10).

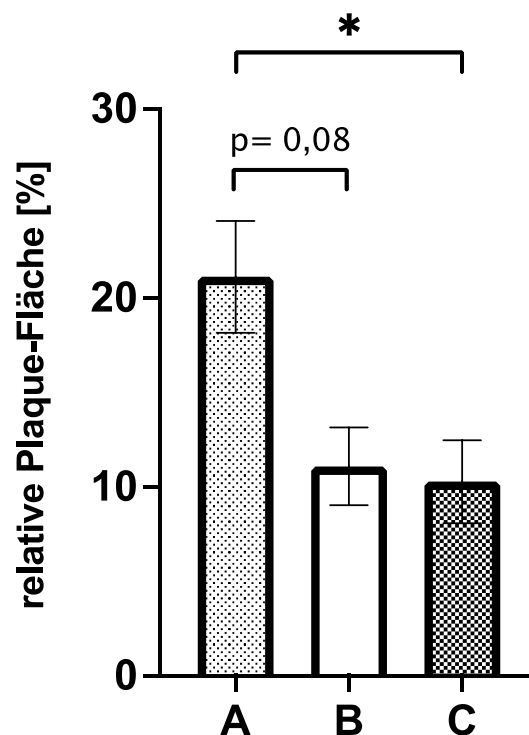


**Abb. 10: Blutdruck unter AngII- Infusion (500 ng/kg/min)**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 9), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Dargestellt sind jeweils die Wochen-Durchschnittswerte. In Woche 0 - vor Implantation der AngII-Minipumpen - wiesen die Mäuse aller Versuchsgruppen im Mittel einen systolischen Blutdruck auf einem gleichen Niveau im normotensiven Bereich auf; Gruppe A hatte im Mittel einen Druck von 115,46 mmHg ± 6,66 mmHg, Gruppe B von 117,95 mmHg ± 4,52 mmHg und Gruppe C von 115,63 ± 4,8 mmHg. Mit Beginn der AngII-Behandlung in Woche 1 stiegen die systolischen Blutdrücke in allen 3 Gruppen in den hypertensiven Bereich, bis sie schließlich in Woche 4 mit Werten um 165 mmHg ihr Maximum erreichten und bis zum Versuchsende stagnierten. Die Kalium-arm ernährten Mäuse hatten in Woche 4 im Mittel einen systolischen Blutdruck von 167,56 mmHg ± 1,91 mmHg, die Kalium-normal ernährten Mäuse von 167,71 mmHg ± 2,32mmHg und die Kalium-reich ernährten Mäuse von 168,39 mmHg ± 1,88 mmH. Zu keinem Zeitpunkt zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts. *One-way ANOVA*. ns: nicht signifikant.

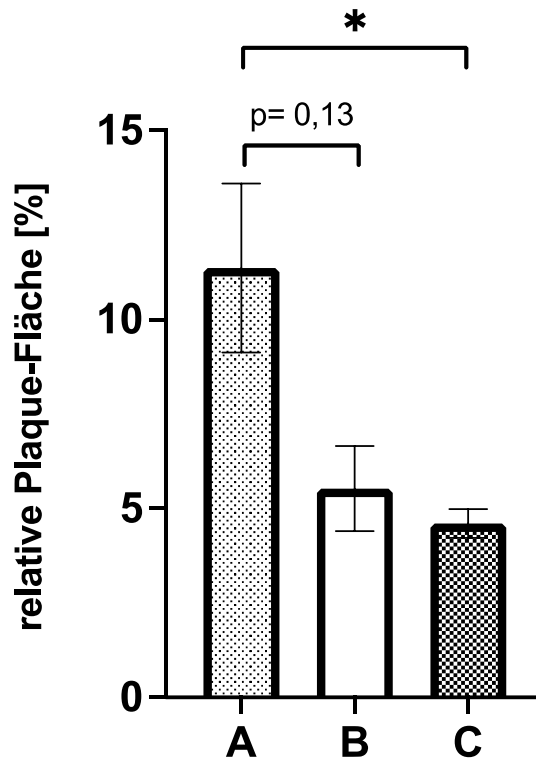
#### 4.4 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf den Anteil atherosklerotischer Plaques in der Aorta

Die arteriosklerotischen Plaques des Aortenbogens sowie die der gesamten Aorta wurden am Ende des Versuchs gemäß der *Oil Red O*-Methode gefärbt und quantifiziert. Dabei fanden sich sowohl im Aortenbogen als auch in der gesamten Aorta signifikant größere Mengen gefärbter Plaques in der Kalium-armen Gruppe gegenüber der Kalium-reichen Gruppe (Abb. 11 – 13).



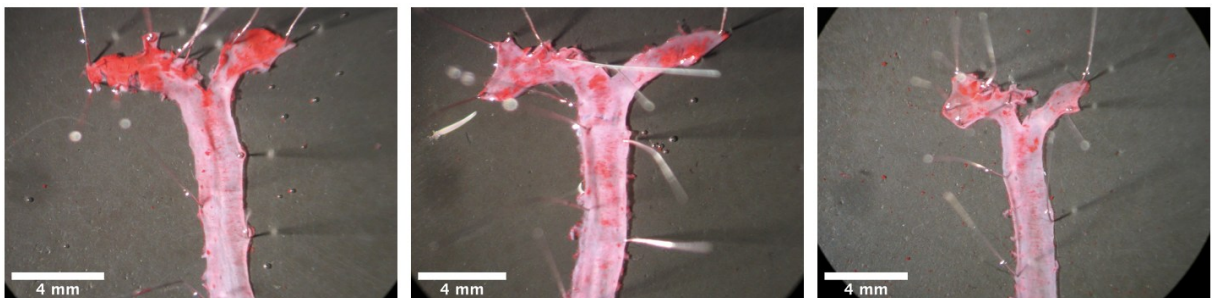
**Abb. 11: Anteil arteriosklerotischer Plaques an Gesamtoberfläche im Bereich des Aortenbogens**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 4), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 7). Relative Plaque-Fläche = Fläche der arteriosklerotischen Plaques/Fläche des Aortenbogens. Der Anteil arteriosklerotischer Plaques in Gruppe A lag signifikant höher als in Gruppe C (im Mittel 21,11 % ± 2,96 % vs. 10,27 % ± 2,2 %, p= 0,0215). Zwischen Gruppe A und B zeigte sich hinsichtlich des Anteils arteriosklerotischer Plaques ebenfalls eine deutliche Tendenz im Sinne eines höheren Anteils in der Kalium-armen Gruppe (im Mittel 21,11 % ± 2,96 % vs. 11,08 % ± 2,0 5%, p= 0,0806). Zwischen Kalium-normaler und Kalium-reicher Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied (im Mittel 11,08 % ± 2,05 % vs. 10,27 % ± 2,2 %, p= 0,9825). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05.



**Abb. 12: Anteil arteriosklerotischer Plaques an Gesamtoberfläche im Bereich der gesamten Aorta**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 4), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 7). Relative Plaque-Fläche = Fläche der arteriosklerotischen Plaques/Fläche des Aortenbogens. Der Anteil arteriosklerotischer Plaques in Gruppe A war signifikant höher als in Gruppe C (im Mittel 11,36 % ± 2,24 % vs. 4,61 % ± 0,38 %, p= 0,0297). Zwischen Gruppe A und B zeigte sich hinsichtlich des Anteils arteriosklerotischer Plaques eine Tendenz im Sinne eines höheren Anteils in der Kalium-armen Gruppe (im Mittel 11,36 % ± 2,24 % vs. 5,53 % ± 1,13 %, p= 0,1313). Zwischen Kalium-normaler und Kalium-reicher Gruppe fand sich kein signifikanter Unterschied (im Mittel 5,53 % ± 1,13 % vs. 4,61 % ± 0,38 %, p= 0,9485). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05.



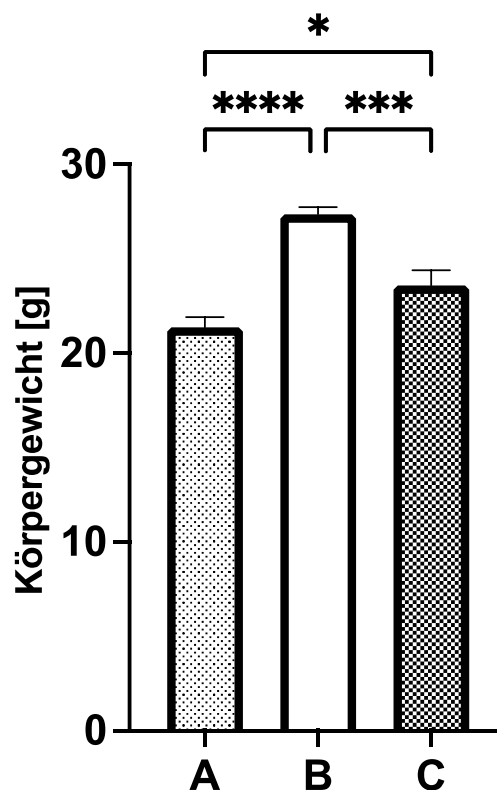
**Abb. 13.1 – 13.3: Exemplarische graphische Darstellung der operativ entnommenen Aortenbögen und oberer Anteile der Aorten**

Dargestellt ist in 4.1 ein Exemplar der Niedrig-Kalium-Gruppe, in 4.2 eines der Normal-Kalium und in 4.3 eines der Hoch-Kalium-Gruppe. Das dunklere Rot entspricht der Anfärbung arteriosklerotischer Plaques mittels Oil-Red-O-Färbung.

## 4.5 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf das Herz

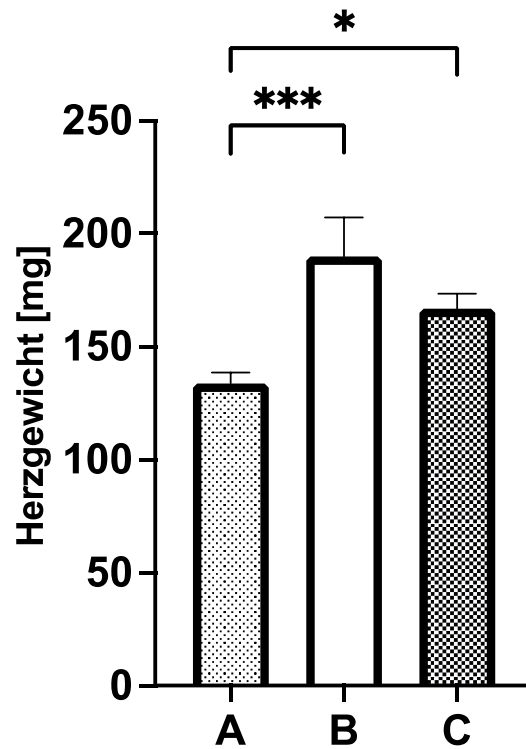
### 4.5.1 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf Körper-, Herzgewicht und Tibiallänge

Am Ende des Versuchs wurden die Parameter Körpergewicht, Herzgewicht und Tibiallänge erhoben. Während sich im Besonderen die Kalium-normal und Kalium-arm bzw. Kalium-normal und Kalium-reich ernährten Mäuse signifikant hinsichtlich des Körper- (Abb. 14) und Herzgewichts unterschieden (Abb. 15), wies das Verhältnis von Herz- zu Körpergewicht keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Abb. 16). Sowohl hinsichtlich des Körper- als auch des Herzgewichtes weist die kaliumarm ernährte Versuchsgruppe signifikant niedrigere Werte auf als die kaliumnormal und kaliumreich ernährte Gruppe. In Bezug auf das Körpergewicht ist die Kontrollgruppe außerdem hoch signifikant schwerer als die mit kaliumreicher Diät gefütterten Mäuse.



**Abb. 14: Körpergewicht zum Zeitpunkt der Opferrung**

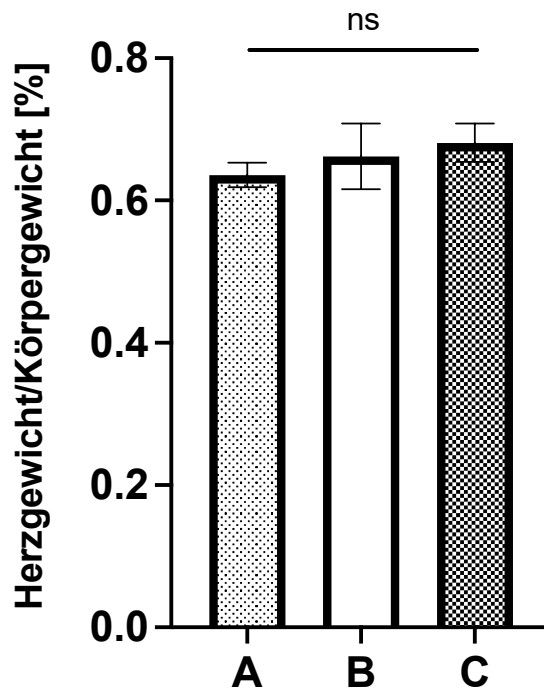
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 20), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 18), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 19). Es zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Gruppe A und B (im Mittel 21,38 g ± 0,54 g vs. 27,37 g ± 0,36 g,  $p < 0,0001$ ) sowie zwischen Gruppe B und C (im Mittel 27,37 g ± 0,36 g vs. 23,59 g ± 0,81 g,  $p = 0,0002$ ); zwischen Gruppe a und C lag ebenfalls ein signifikanter Unterschied vor (im Mittel 21,38 g ± 0,54 g vs. 27,37 g ± 0,36 g,  $p = 0,0295$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*:  $p \leq 0,05$ , \*\*\*:  $p \leq 0,001$ , \*\*\*\*:  $p \leq 0,0001$ .



**Abb. 15: Herzgewicht zum Zeitpunkt der Opferung**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 20), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 18), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 19). Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Gruppe A und B (im Mittel 133,69 mg ± 4,92 mg vs. 189,92mg ± 17,19 mg, p= 0,0009) sowie zwischen Gruppe A und C (im Mittel 133,69 mg ± 4,92 mg vs. 166,71mg ± 6,51 mg, p= 0,0456); zwischen Gruppe B und C lag kein signifikanter Unterschied vor (im Mittel 189,92mg ± 17,19 mg vs. 166,71mg ± 6,51 mg, p= 0,2399). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05, \*\*\*: p≤ 0,001.

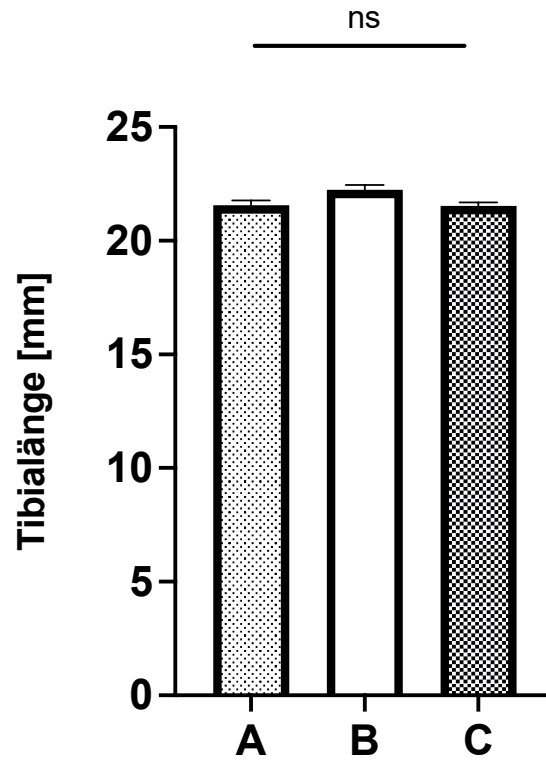




**Abb. 16: Verhältnis von Herz- zu Körpergewicht zum Zeitpunkt der Opfung**

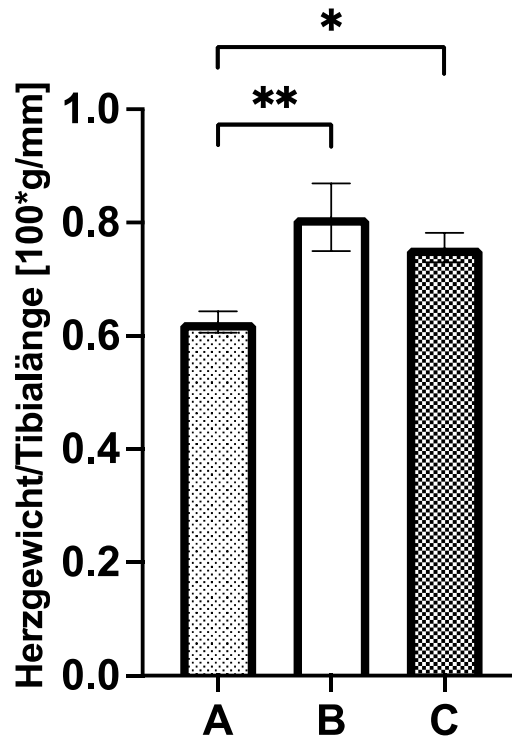
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 20), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 18), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 19). Die Ratio „Herz-/Körpergewicht“ unterschied sich zwischen den drei Versuchsgruppen nicht signifikant: Gruppe A vs. B (im Mittel 0,636 % ± 0,017 % vs. 0,662 % ± 0,046 %, p= 0,8274); Gruppe A vs. C (im Mittel 0,636 % ± 0,017 % vs. 0,681 % ± 0,027 %, p= 0,5585); Gruppe B vs. C (im Mittel 0,662 % ± 0,046 % vs. 0,681 % ± 0,027 %, p= 0,9044). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*. ns: nicht signifikant.

Während sich die Tibialängen der Mäuse nicht signifikant unterschieden (Abb. 17), wurden bei der Betrachtung der Ratio „Herzgewicht/Tibialänge“ signifikante Unterschiede zwischen den mit unterschiedlichen Kaliumdiäten gefütterten Tieren deutlich: Der Mittelwert der Kalium-normalen Gruppe stellte sich mit  $0,81 \cdot 100^*g/mm \pm 0,057 \cdot 100^*g/mm$  als am größten dar. Es folgten die Kalium-reiche Gruppe mit einem Durchschnitt von  $0,755 \cdot 100^*g/mm \pm 0,026 \cdot 100^*g/mm$  und die Kalium-arme Gruppe mit im Mittel  $0,624 \cdot 100^*g/mm \pm 0,019 \cdot 100^*g/mm$  (Abb. 18).



**Abb. 17: Tibialänge zum Zeitpunkt der Opferung**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 20), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 18), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 19). Die Tibialänge unterschied sich zwischen den drei Versuchsgruppen nicht signifikant: Gruppe A vs. B (im Mittel 21,56 mm ± 0,22 mm vs. 22,24 mm ± 0,21 mm p= 0,055); Gruppe A vs. C (im Mittel 21,56 mm ± 0,22 mm vs. 21,54 mm ± 0,15 mm p= 0,9947); Gruppe B vs. C (im Mittel 22,24 mm ± 0,21 mm vs. 21,54 mm ± 0,15 mm, p= 0,0587). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*. ns: nicht signifikant.



**Abb. 18: Verhältnis von Herzgewicht zu Tibialänge zum Zeitpunkt der Opfung**

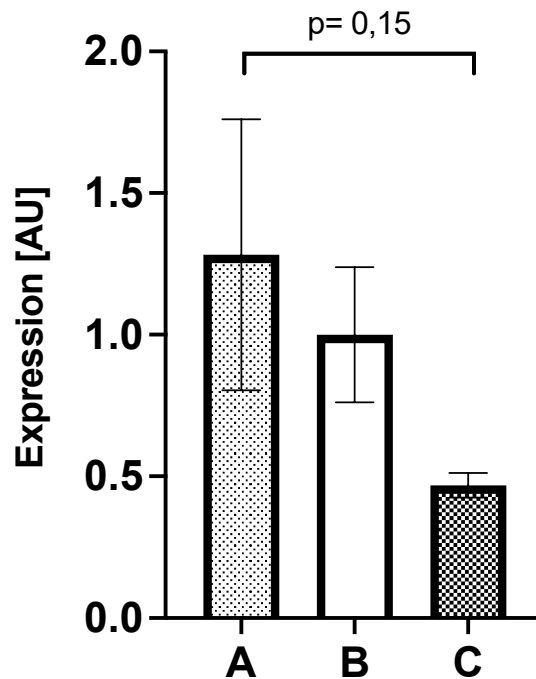
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 20), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 18), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 19). Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Gruppe A und B (im Mittel 0,624 100\*g/mm ± 0,019 100\*g/mm vs. 0,81 100\*g/mm ± 0,057 100\*g/mm; p = 0,0025) und zwischen Gruppe A und C (im Mittel 0,624 100\*g/mm ± 0,019 100\*g/mm vs. 0,755 100\*g/mm ± 0,026 100\*g/mm; p = 0,0369); zwischen Gruppe B und C (im Mittel 0,81 100\*g/mm ± 0,057 100\*g/mm vs. 0,755 100\*g/mm ± 0,026 100\*g/mm; p= 0,5829) war eine nicht signifikante Tendenz zu erkennen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p≤ 0,05, \*\*: p≤ 0,01.

#### 4.5.2 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf die relative mRNA-Expression von Col, FN, β-MHC, ANP und BNP

Dass sich das Verhältnis von Herzgewicht zu Tibialänge in den Versuchgruppen unterschied, wurde als ein Hinweis auf auch mögliche strukturelle, kardiale Veränderungen gewertet. Daher wurden nach Opfung der Versuchstiere neben Blut und Aorta auch das Herz für weitere Untersuchungen entnommen. Die Herz-Apizes wurden dann – wie in der Methodik beschrieben – mittels qPCR in Hinblick auf die relative mRNA-Expression von *collagen 1α* (Col), *fibronectin 1* (FN), *atrial natriuretic peptide* (ANP), *brain natriuretic peptide* (BNP) und *beta-myosin heavy chain* (β-MHC) analysiert.

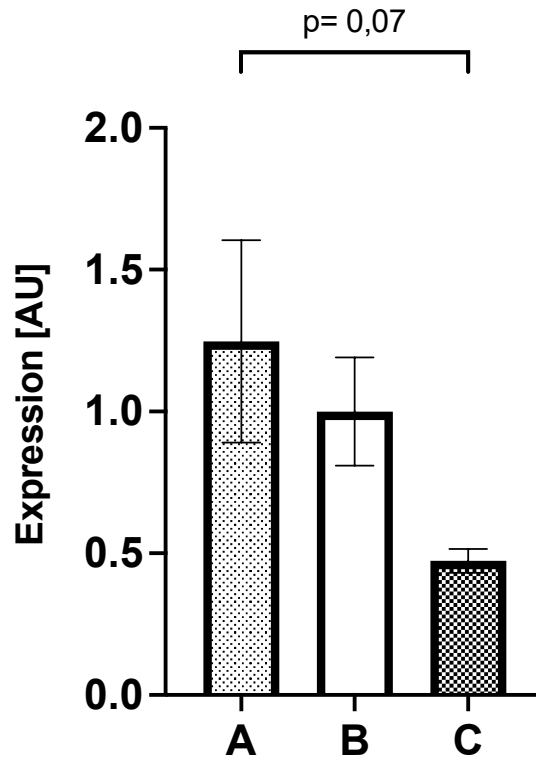
Bei Untersuchung der mRNA-Expression der profibrotischen Marker Col und FN zeigte sich, dass die mit erhöhten Kaliummengen gefütterten Tiere relativ betrachtet weniger Col und FN bildeten (Col-Mittelwert: 0,4683 ± 0,04; FN-Mittelwert: 0,4732 ± 0,07) als die mit üblichen (Col-Mittelwert: 1 ± 0,24; FN-Mittelwert: 1 ± 0,19) oder erniedrigten Mengen (Col-Mittelwert: 1,2819 ± 0,48; FN-Mittelwert: 1,2476 ± 0,36). Zwischen der Kalium-reichen und der Kalium-armen Gruppe (Col: p= 0,1471; FN: p= 0,0734) und zwischen der

Kalium-reichen und der Kalium-normalen Fraktion (Col:  $p=0,422$ ; FN:  $p=0,2739$ ) bestand eine nicht signifikante Tendenz. Die Kalium-normale und -arme Gruppe differierten nicht (Abb. 19-20).



**Abb. 19: Normalisierte, relative Collagen1-mRNA-Expression im Herz-Apex**

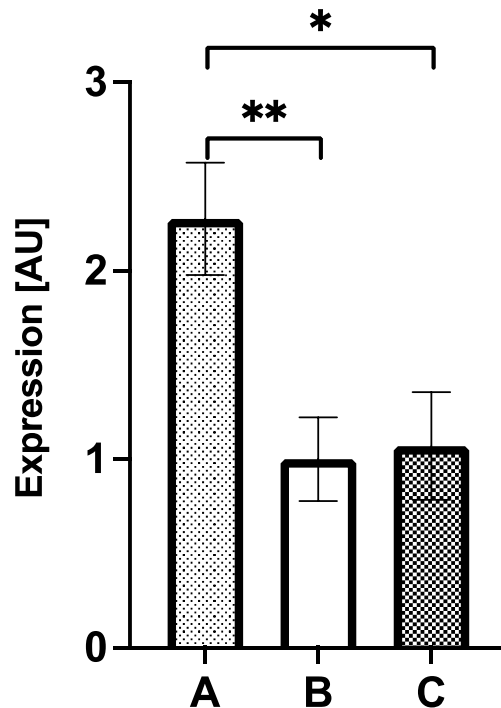
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 8), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 9). Zwischen Gruppe A und C (im Mittel  $1,2819 \pm 0,48$  vs.  $0,4683 \pm 0,04$ ;  $p=0,1471$ ) sowie zwischen Gruppe B und C (im Mittel  $1,0 \pm 0,24$  vs.  $0,4683 \pm 0,04$ ;  $p=0,422$ ) war eine nicht signifikante Tendenz zu erkennen; Kein Unterschied in Gruppe A und B (im Mittel  $1,2819 \pm 0,48$  vs.  $1,0 \pm 0,24$ ;  $p=0,7869$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*.



**Abb. 20: Normalisierte, relative Fibronectin-mRNA-Expression im Herz-Apex**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 8), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 9). Zwischen Gruppe A und C (im Mittel  $1,2476 \pm 0,36$  vs.  $0,4732 \pm 0,04$ ;  $p= 0,0734$ ) sowie zwischen Gruppe B und C (im Mittel  $1,0 \pm 0,19$  vs.  $0,4732 \pm 0,07$ ;  $p= 0,2379$ ) war eine nicht signifikante Tendenz zu erkennen; Kein Unterschied in Gruppe A und B (im Mittel  $1,2476 \pm 0,36$  vs.  $1,0 \pm 0,19$ ;  $p= 0,7399$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*.

Weiterhin ergaben sich Unterschiede hinsichtlich der relativen Expression des profibrotischen und auf Hypertrophie hinweisenden Markers  $\beta$ -MHC im *Apex cordis*: die Kontrollgruppe weist im Vergleich die geringste  $\beta$ -MHC-Expression auf (Mittelwert:  $1 \pm 0,22$ ), die relativen Werte der Kalium-arm und Kalium-reich versorgten Gruppen liegen mit im Mittel  $2,2752 \pm 0,3$  beziehungsweise  $1,0702 \pm 0,29$  höher. Die Beziehungen zwischen den Versuchsgruppen, die mit niedrigen und normalen beziehungsweise niedrigen und hohen Kaliumkonzentrationen gefüttert wurden, sind signifikant (Abb. 21).

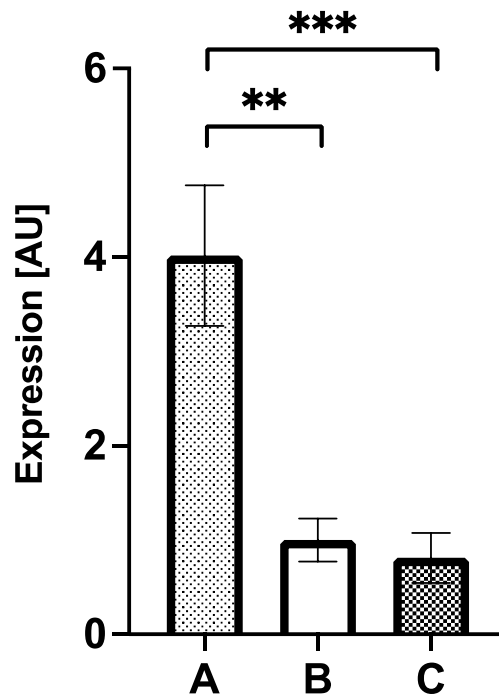


**Abb. 21: Normalisierte, relative  $\beta$ -MHC-mRNA-Expression im Herz-Apex**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 8), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 9). Es zeigen sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Gruppe A und B (im Mittel  $2,275 \pm 0,3$  vs.  $1 \pm 0,22$ ;  $p= 0,01$ ). Zwischen Gruppe A und C ist ebenfalls eine signifikante Tendenz zu erkennen (im Mittel  $2,275 \pm 0,3$  vs.  $1,0702 \pm 0,29$ ;  $p= 0,0123$ ); Gruppe B und C heben sich nicht voneinander ab (im Mittel  $1,0 \pm 0,22$  vs.  $1,0702 \pm 0,29$ ;  $p= 0,9816$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*:  $p \leq 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,01$ .

Neben den Fibrosemarkern Col, FN und auch  $\beta$ -MHC wurden auch ANP sowie BNP in gleicher Weise analysiert. Dabei sollte vor dem Hintergrund der beiden als Herzinsuffizienzmarker geltenden Peptide untersucht werden, ob die Kaliumdiät einen Einfluss auf die kardiale Funktion der Versuchstiere hat. Es zeigte sich, dass Tiere, die mit einer kaliumreduzierten Diät behandelt wurden, eine vermehrte Expression von ANP und BNP in der Herzspitze aufwiesen.

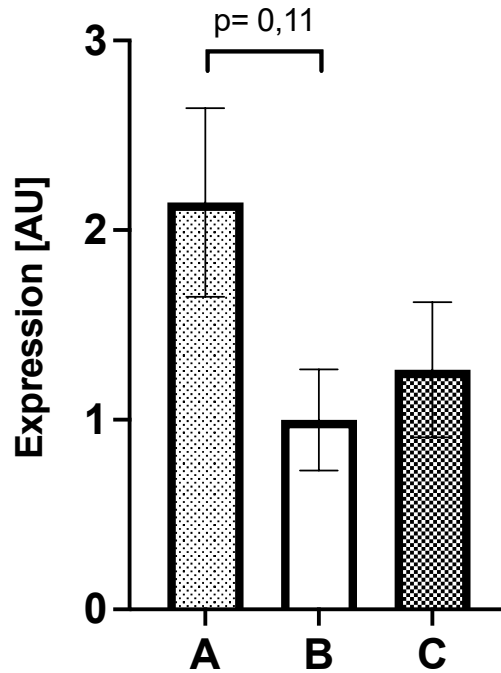
Bezüglich der ANP-Synthese ergaben sich hoch signifikante Unterschiede zwischen den Kalium-arm und Kalium-normal ernährten sowie zwischen den Kalium-arm und den Kalium-reich ernährten Mäusen (Abb. 22).



**Abb. 22: Normalisierte, relative ANP-mRNA-Expression im Herz-Apex**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 10), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 8), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 9). ANP wurde am meisten in Gruppe A exprimiert (im Mittel 4,0168 ± 0,75); es folgten Gruppe B (im Mittel 1 ± 0,23) und C (im Mittel 0,8102 ± 0,27). Es zeigten sich hoch signifikante Unterschiede zwischen Säule A und B (p= 0,001) und zwischen Säule A und C (p= 0,0003). B und C unterschieden sich nicht signifikant (p= 0,9636). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*\*: p ≤ 0,01, \*\*\*: p ≤ 0,001.

Bei Betrachtung von BNP fällt auf, dass in den Herzen der Kontrollgruppe (Normal-Kaliumdiät) am wenigsten BNP-mRNA nachgewiesen wurde. Die Beziehung zwischen dieser Versuchsgruppe und der Kalium-arm ernährten Gruppe war annähernd signifikant (p= 0,11) (Abb. 23).



**Abb. 23: Normalisierte, relative BNP-mRNA-Expression im Herz-Apex**

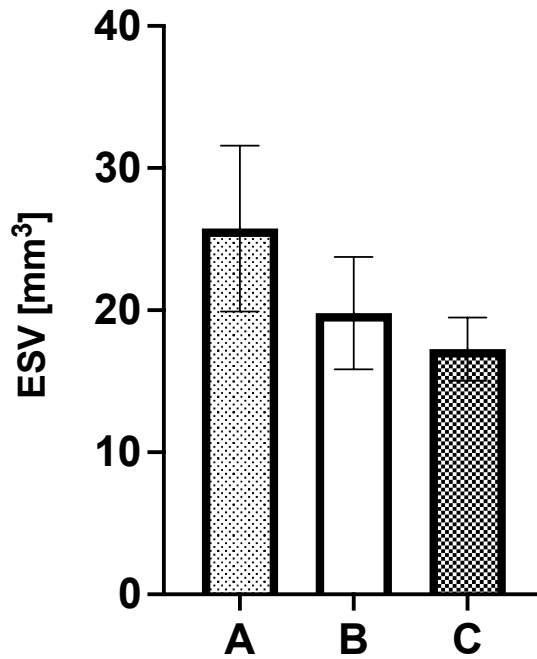
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 9), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 8), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 9). Es zeigten sich nicht-signifikante, aber tendenzielle Unterschiede zwischen Gruppe A und B (im Mittel  $2,1463 \pm 0,5$  vs.  $1 \pm 0,27$ ;  $p= 0,11$ ), zwischen Gruppe A und C (im Mittel  $2,1463 \pm 0,5$  vs.  $1,2637 \pm 0,36$ ;  $p= 0,2453$ ) und B und C (im Mittel  $1 \pm 0,27$  vs.  $1,2637 \pm 0,36$ ;  $p= 0,8658$ ) war keine signifikante Diskrepanz zu erkennen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*.

#### 4.5.3 Auswirkungen der Kaliumdiäten auf kardiale Struktur und Funktion

Da die oben beschriebenen mRNA-Untersuchungen der Mäuseherzen bereits in den ersten Versuchskohorten signifikante Ergebnisse erbrachten, entschieden wir uns Funktion der Mäuseherzen noch genauer mittels kardialer Bildgebung zu untersuchen: In diesem Zusammenhang erfolgten Kardio-MRT-Studien zur Erhebung der Parameter *end-systolic volume* (ESV), *end-diastolic volume* (EDV), Ejektionsfraktion (EF), *left ventricular mass* (LVM), *systolic wall thickness* (SWT) und *diastolic wall thickness* (DWT).

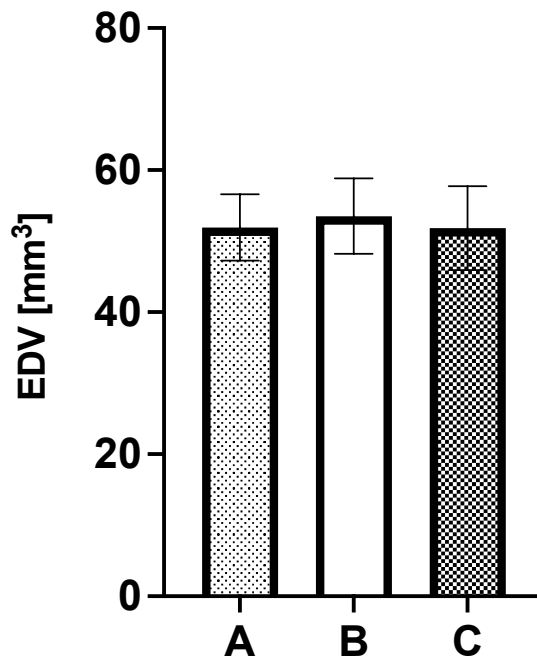
In der Kalium-arm ernährte Gruppe war sowohl das enddiastolische (Mittelwert:  $51,9 \text{ mm}^3 \pm 4,67 \text{ mm}^3$ ) als auch das endsystolische Volumen (Mittelwert:  $25,75 \text{ mm}^3 \pm 5,83 \text{ mm}^3$ ) größer. Es folgten in absteigender Reihenfolge die Kalium-normale (ESV-Mittelwert:  $19,8 \text{ mm}^3 \pm 3,95 \text{ mm}^3$ ; EDV-Normalwert:  $53,53 \text{ mm}^3 \pm 5,29 \text{ mm}^3$ ) und Kalium-reiche Gruppe (ESV-Mittelwert:  $17,26 \text{ mm}^3 \pm 2,22 \text{ mm}^3$ ; EDV-Normalwert:  $51,79 \text{ mm}^3 \pm 5,93 \text{ mm}^3$ ). Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant (Abb. 24-25).





**Abb. 24: ESV (bestimmt aus Bildern der kardialen MRT)**

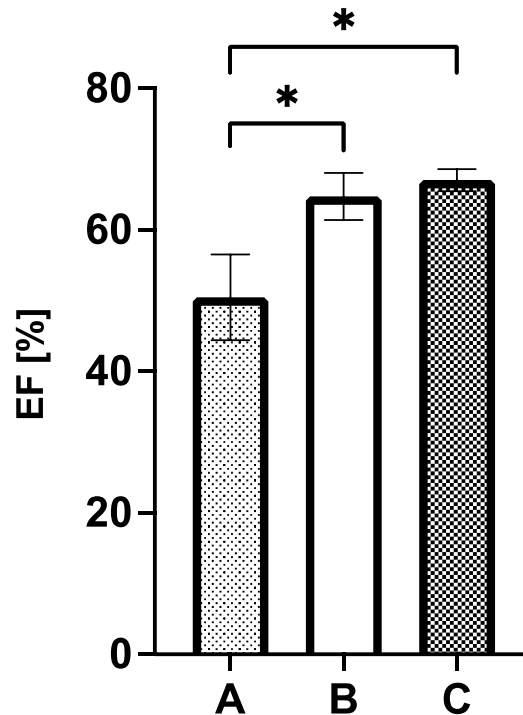
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Die Kalium-arme Gruppe verzeichneten das größte ESV (ESV-Mittelwert: 25,75 mm<sup>3</sup> ± 5,83 mm<sup>3</sup>), es folgte die Kalium-normale (ESV-Mittelwert: 19,8 mm<sup>3</sup> ± 3,95 mm<sup>3</sup>), dann die Kalium-reiche Gruppe (ESV-Mittelwert: 17,2625 mm<sup>3</sup> ± 2,22 mm<sup>3</sup>). Die Unterschiede waren nicht signifikant (Säule A vs. B: p= 0,5699; Säule B vs. C: p= 0,8857; Säule A vs. C: p= 0,3102). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. One-way ANOVA.



**Abb. 25: EDV (bestimmt aus Bildern der kardialen MRT)**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Die Kalium-normale (EDV-Mittelwert: 53,5286 mm<sup>3</sup> ± 5,29 mm<sup>3</sup>) verzeichnete das größte EDV; es folgten dann die Kalium-arme Gruppe (EDV-Mittelwert: 51,9 mm<sup>3</sup> ± 4,67 mm<sup>3</sup>) und die Kalium-reiche Gruppe (EDV-Mittelwert: 51,7875 mm<sup>3</sup> ± 5,93 mm<sup>3</sup>). Die Unterschiede waren nicht signifikant (Säule A vs. B: p= 0,9779; Säule B vs. C: p= 0,9709; Säule A vs. C: p= 0,9989). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. One-way ANOVA.

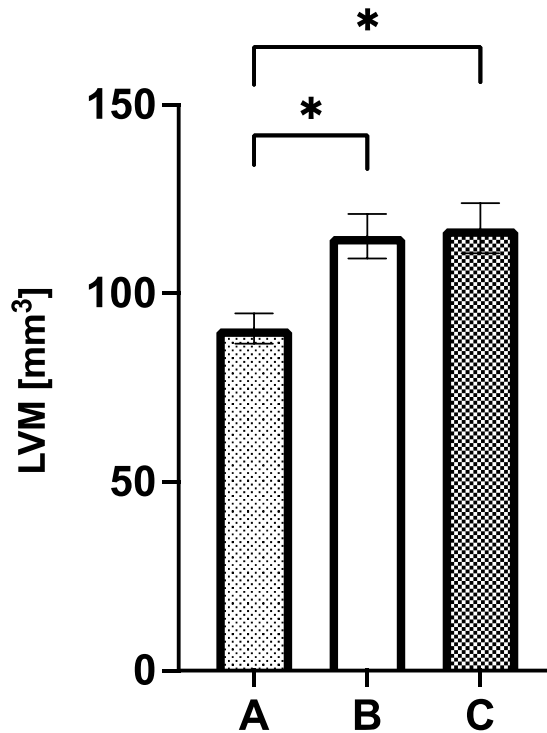
Die EF, ein aus ESV und EDV berechnetes Maß für die linkskardiale Funktion, der kalium-arm gefütterten Tiere betrug im Mittel bei  $50,48 \% \pm 6,06 \%$  und damit signifikant weniger als die Ejektionsfraktion der kalium-normalen (EF:  $64,74 \% \pm 3,32 \%$ ) und -reichen Gruppe (EF:  $67,04 \% \pm 1,56 \%$ ) (Abb. 26).



**Abb. 26: Ejektionsfraktion**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). In Gruppe A kam eine signifikant niedrigere linksventrikuläre Pumpfunktion zur Darstellung (EF-Mittelwert:  $50,4833 \% \pm 6,06 \%$ ) – sowohl im Vergleich mit Gruppe B (EF-Mittelwert:  $64,7429 \% \pm 3,32 \%$ ,  $p= 0,0423$ ), als auch im Vergleich mit Gruppe C (EF-Mittelwert:  $67,0375 \% \pm 1,56 \%$ ,  $p= 0,0145$ ). Zwischen Gruppe B und C bestand kein signifikanter Unterschied ( $p= 0,8924$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*:  $p \leq 0,05$ .

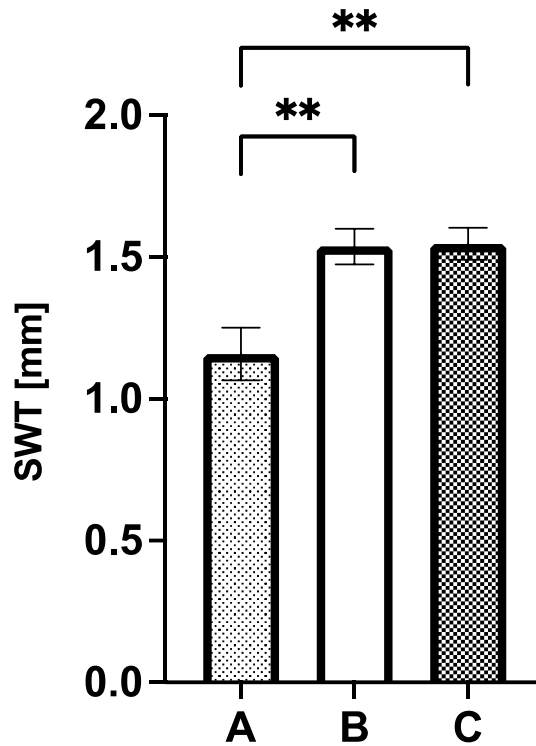
Es zeigte sich, dass die Masse des linken Ventrikels bei den mit einer Kalium-armen Diät behandelten Mäuse signifikant geringer als die der mit Standardkaliummengen ernährten Tiere und signifikant geringer als die mit Kalium-reichen Futter versorgten Mäuse war. Die Kalium-arme Gruppe verzeichnete einen Mittelwert von  $90,72 \text{ mm}^3 \pm 4,02 \text{ mm}^3$ , die Kalium-normale Gruppe einen Mittelwert von  $115,21 \text{ mm}^3 \pm 5,88 \text{ mm}^3$  und die Kalium-reiche Gruppe einen von  $117,29 \text{ mm}^3 \pm 6,64 \text{ mm}^3$  (Abb. 27).



**Abb. 27: LV-Masse (berechnet aus  $V_{Ges}$  und EDV)**

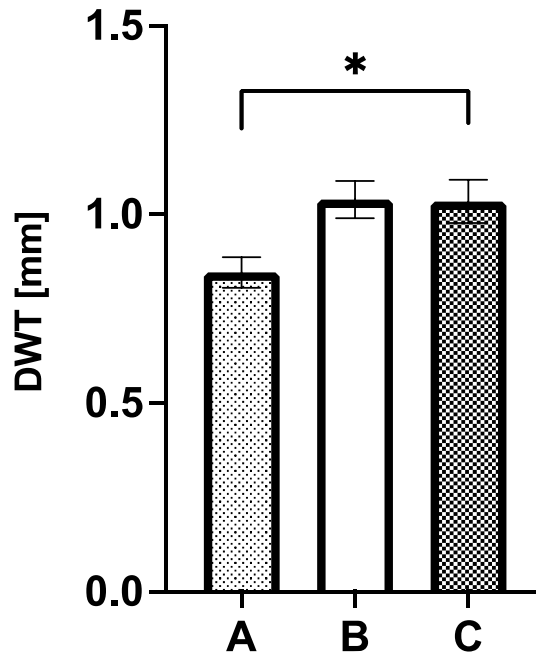
A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Gruppe A hatte mit im Mittel  $90,7167 \text{ mm}^3 \pm 4,02 \text{ mm}^3$  die geringste LVM; es folgten Gruppe B (im Mittel  $115,214 \text{ mm}^3 \pm 5,88 \text{ mm}^3$ ) und C (im Mittel  $117,287 \text{ mm}^3 \pm 6,64 \text{ mm}^3$ ). Die Unterschiede zwischen Säule A und B ( $p= 0,0294$ ) sowie zwischen Säule A und C waren signifikant ( $p= 0,0147$ ). Säule B und C unterschieden sich nicht signifikant ( $p= 0,9648$ ). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*:  $p \leq 0,05$

Im Kardio-MRT erfolgte zusätzlich die Bestimmung der kardialen endsystolischen und enddiastolischen Wanddicken (SWT/DWT). Die Wanddicken der Kalium-armen Gruppe sind signifikant geringer als in der Kalium-reichen Gruppe (SWT:  $p = 0,0027$ , DWT:  $p = 0,0493$ ). Die Werte der Kontrollgruppe lagen etwa auf dem Niveau der Kalium-reich ernährten Mäuse (Abb. 28-30).



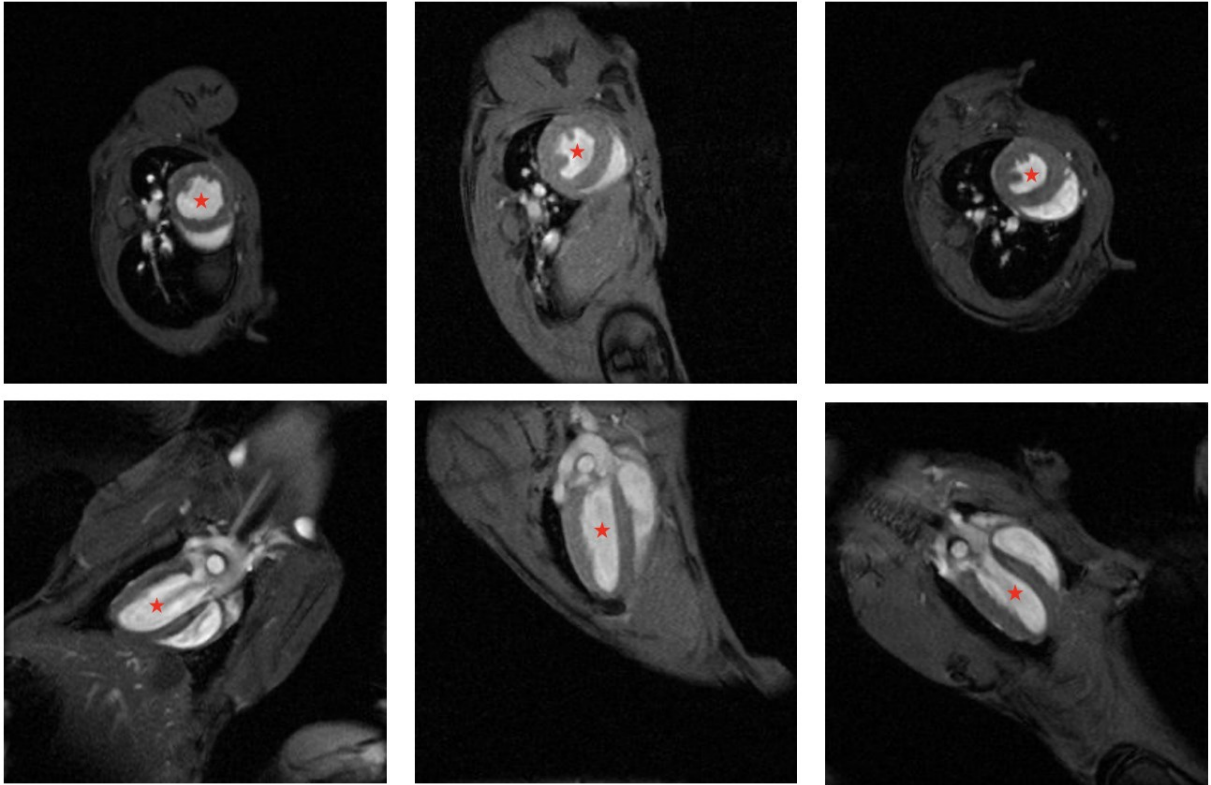
**Abb. 28: SWT (bestimmt aus Bildern der Kardialen MRT)**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Die Kalium-arm ernährten Tiere hatten eine hoch signifikant geringere SWT im Vergleich zu den Kalium-reich Ernährten (im Mittel 1,1583 mm ± 0,09 mm vs. 1,5463 mm ± 0,06 mm; p= 0,0027) und den Kalium-normal Ernährten (im Mittel 1,1583 mm ± 0,09 mm vs. 1,5371 mm ± 0,06 mm; p= 0,0042). Die Kalium-normal und -reich versorgten Gruppen hoben sich nicht deutlich voneinander ab (im Mittel 1,5371 mm ± 0,06 mm vs. 1,5463 mm ± 0,06; p= 0,9949). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*\*: p≤ 0,01.



**Abb. 29: DWT (bestimmt aus Bildern der Kardialen MRT)**

A: Kalium-arm ernährte Mäuse (n= 7), B: Kalium-normal ernährte Mäuse (n= 7), C: Kalium-reich ernährte Mäuse (n= 8). Die Kalium-arm ernährten Tiere verzeichneten eine signifikant geringere DWT im Vergleich zu den Kalium-reich ernährten (im Mittel 0,8467 mm ± 0,04 mm vs. 1,035 mm ± 0,06 mm; p= 0,0493); zwischen den Kalium-arm und -normal ernährten Mäusen war eine deutliche, allerdings nicht-signifikante Tendenz zu erkennen (im Mittel 0,8467 mm ± 0,04 mm vs. 1,04 mm ± 0,05; p= 0,0502); die Kalium-normal und -reich versorgten Gruppen hoben sich nicht deutlich voneinander ab (im Mittel 1,04 mm ± 0,05 mm vs. 1,035 mm ± 0,06 mm; p= 0,9972). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts mittels Balkendiagramm. *One-way ANOVA*, gefolgt von *Tukey post-hoc test*. \*: p ≤ 0,05.



**Abb. 30.1 - 30.6: Exemplarische kardiale MRT-Bilder (Herzen in langer und kurzer Achse angeschnitten)**

Dargestellt ist in 30.1 der linke Ventrikel der Niedrig-Kalium-Gruppe in kurzer Achse, in 30.2 der linke Ventrikel der Normal-Kalium-Gruppe in kurzer Achse und in 30.3 ein linker Ventrikel der Hoch-Kalium-Gruppe in kurzer Achse. Die in diesen drei Bildern gezeigte Schnittebene geht durch den Papillarmuskel. In 30.4 ist ein Herz der Niedrig-Kalium-Gruppe in langer Achse, in 30.5 ein Herz der Normal-Kalium-Gruppe in langer Achse und in 30.6 eines der Hoch-Kalium-Gruppe in langer Achse zu sehen. Es fällt auf, dass der Ventrikel der Maus der Kalium-armen Gruppe dünner ist als die linken Herzkammern der beiden anderen Tiere. Alle Bilder sind zum Zeitpunkt der Enddiastole aufgenommen. Das rote Sternchen markiert jeweils das Cavum des linken Ventrikels.

## 5 Diskussion

### 5.1 Mausmodell

Die oben beschriebenen Experimente wurden durchgeführt, um die Auswirkungen einer Diät mit unterschiedlichen Kaliumkonzentrationen auf die Entwicklung von Atherosklerose und Gewebefibrose am Herzen bei Hypertonie zu untersuchen. Dafür wurde ein hypercholesterinämes und hypertensives Mausmodell gewählt, da beide Konditionen als Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer Atherosklerose gelten [60]. Die Hyperlipidämie wurde dafür durch Ausschaltung des ApoE-Gens erreicht. ApoE ist ein entscheidendes Apolipoprotein im Fettstoffwechsel, dessen Hauptaufgabe der Transport von Fetten im Blutplasma und im Zentralem Nervensystem ist [61]. Der *knock-out* des ApoE-Gens führt zu Störungen des Lipidstoffwechsels und konsekutiv zur Hyperlipidämie. Der Bluthochdruck der Tiere wurde durch konstante Infusion von AngII induziert [62].

Die so vorbereiteten Mäuse erhielten eine Diät, die sich lediglich in ihrer Kaliumkonzentration unterschied. Unterschieden wurde eine Kalium-freie Diät (Kalium < 0,05% als KCl) von einer Diät mit normaler (Kalium 0,5% als KCl) und hoher Kaliumkonzentration (Kalium 5% als KCl).

### 5.2 Serumkaliumspiegel

Die unterschiedlichen Kaliumkonzentrationen im Futter der Mäuse beeinflussten deren Serumkaliumspiegel. Eine Diät mit hohem Kaliumgehalt führte zu hohen Kaliumspiegeln im Blut, Futter mit normalem Kaliumgehalt zu normwertigen Kaliumspiegeln und Futter mit niedrigem Kaliumgehalt zu niedrigen Kaliumspiegeln. Die Versuchsgruppen unterschieden sich im gesamten Versuchsaufbau nur in ihrer Diätform, sodass geschlussfolgert werden kann, dass die Ergebnisse dieser Arbeit ursächlich mit den unterschiedlichen, über die Nahrung verabreichten Kaliumkonzentrationen beziehungsweise daraus resultierend mit den unterschiedlichen Kaliumspiegeln im Blut zusammenhängen.

Die hier genutzten Kaliumdiäten wurden so gewählt, dass es zu einer gut messbaren Abweichung von normalen Serumkaliumkonzentrationen in den unterschiedlichen Gruppen kam. Die Kalium-arm ernährten Mäuse waren im Mittel messbar hypokaliäm, die Kalium-reich ernährten Mäuse hyperkaliäm. Bei einer Diät mit normalem Kaliumgehalt lagen die Messwerte im Mittel im Referenzbereich von 3,44 mmol/l bis 5,36 mmol/l [63].

## 5.3 Urin

### **5.3.1 Kalium**

Die Kaliumkonzentration im Urin der unterschiedlich gefütterten Mäuse wurde an drei verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Die Urinuntersuchungen wurden durchgeführt, da die Niere über die Kalium- beziehungsweise Natriumausscheidung ein entscheidendes, regulierendes Organ im Kalium- bzw. Natriumhaushalt darstellt und es zu erwarten ist, dass die Hoch- beziehungsweise Niedrig-Kalium Diät die Elektrolytausscheidung in starkem Maße beeinflusst.

Zu den Untersuchungszeitpunkten t2 und t3 lag ein Teil der kaliumreich ernährten Mäuse mit ihrer Urinkaliumkonzentration – trotz einer 1:4 Verdünnung – oberhalb des Maximums des Referenzbereiches von 105 mmol/l. Diese Versuchstiere wurden mangels exakter Werte nicht in die graphisch aufgestellten Ergebnisse miteinbezogen, wodurch sich die *power* der Untersuchung reduziert. In zukünftigen Experimenten könnte dieser Umstand durch eine adäquate, stärkere Verdünnung des Urins vermieden werden.

Vor Beginn der Diäten (t1) war kein signifikanter Unterschied in der Kaliumausscheidung über den Urin zu verzeichnen, sodass man davon ausgehen kann, dass die Diät zu den nachfolgenden Veränderungen führte: Zum Zeitpunkt t3 schied die mit Hochkaliumdiät gefütterte Gruppe hoch signifikant größere Kaliummengen als die anderen beiden Versuchsgruppen und auch signifikant mehr als die gleichen Mäuse zum Zeitpunkt t1 aus. Zum Zeitpunkt t2 überschritt die Hoch-Kalium-Gruppe – wie beschrieben – die Referenzwerte, sodass eine genaue Quantifizierung und damit auch Interpretation nicht seriös durchgeführt werden konnte. Erwartungsgemäß konnte in der Niedrig-Kalium-Gruppe nach Versuchsbeginn deutlich niedrigere Kaliummengen im Urin nachgewiesen werden: So war die Kaliumausscheidung zu den Zeitpunkten t2 und t3 signifikant niedriger als zum Zeitpunkt t1 und auch wenn man die Versuchsgruppen untereinander analysiert, so zeigte sich eine hoch signifikant niedrigere Kaliumausscheidung im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen zum Zeitpunkt t3 und eine signifikant niedrigere zum Zeitpunkt t2.

Interpretiert man die Kaliumausscheidung als Surrogatparameter für das Serumkaliumlevel, so zeigt die Kaliumexkretion, dass die unterschiedlichen Diäten nicht nur nach sechs Wochen, sondern auch bereits nach 2 Wochen und damit wahrscheinlich über den ganzen Versuchszeitraum Einfluss auf die Serumkaliumlevel nehmen [64]. Dies unterstreicht die oben aufgestellte These, dass die Ergebnisse der Untersuchungen ursächlich auf die unterschiedlichen Serumlevel zurückzuführen sind. Der Idee, anhand der



Kaliumausscheidung Rückschlüsse auf die Serumkaliumlevel zu ziehen, liegt zugrunde, dass die gesunde Niere mittels zweier wesentlicher Mechanismen, die im Folgenden beschrieben werden, eine Elektrolythomöostase aufrechtzuerhalten versucht [65]. Ein entscheidender Mechanismus der Kaliumhomöostase ist die Aldosteron-vermittelte Natriumresorption und Kaliumsekretion im Verbindungstubulus und Sammelrohr der Nephrone. Mehrere Arbeiten konnten bereits zeigen, dass eine hohe Kaliumaufnahme mit hohen Aldosteronserumspiegeln und eine verminderte Kaliumaufnahme mit niedrigen Aldosteronserumspiegeln einhergehen [40, 66]: Aldosteron sorgt über die Aktivierung von Mineralokortikoidrezeptoren für einen vermehrten Einbau von Natriumkanälen (ENaC) in die luminale Membran und Natriumtransportern ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase) in die Plasmamembran der Zellen des distalen Tubulus hin zum Interstitium. Dadurch kommt es zur verstärkten Natriumrückresorption und konsekutiv zur Kaliumsekretion über – ebenfalls durch Aldosteron aktivierte – ROMK. Als bedeutendster Stimulus für die Sekretion von Aldosteron wird in der Literatur – neben der Freisetzung von AngII – der Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration beschrieben [40]. Auf diesen Zusammenhang wird im Folgenden auch noch eingegangen.

Ein weiterer für die Elektrolythomöostase entscheidender Transporter ist der Thiazid-sensitive  $\text{Na}^+$ -Cl<sup>-</sup>-Transporter (NCC) im distalen Tubulus. Auf dessen Kalium-abhängige Aktivierung und seine Auswirkungen auf die Kalium- und Natrium-Ausscheidung wird weiter unten im Zusammenhang mit der Natriumausscheidung eingegangen.

### **5.3.2 Aldosteron**

Die renale Aldosteronausscheidung unterschied sich in den verschiedenen Gruppen zum Untersuchungsbeginn nicht. Nach Beginn der unterschiedlichen Diäten konnte dann festgestellt werden, dass die ausgeschiedene Hormon-Menge bei den Kaliumreich-ernährten Mäusen zu den Zeitpunkten t2 und t3 signifikant anstieg und auch hoch signifikant über der Aldosteronausscheidung der anderen zwei Versuchsgruppen lag. Die Kaliumarm-ernährten Mäuse schieden zum Zeitpunkt t2 und t3 signifikant – zum Teil sogar hoch signifikant – weniger Aldosteron aus als zu Beginn.

Es ist bekannt, dass die Aldosteronfreisetzung im Wesentlichen über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und über die extrazelluläre Kaliumkonzentration stimuliert wird. Die hier vorliegenden Daten unterstützen dabei die These, dass hohe Kaliumserumlevel über eine Aldosteronfreisetzung aus der Zona glomerulosa der Nebenniere eine erhöhte Kaliumausscheidung zur Folge haben, während niedrige Serumkaliumlevel eine

verminderte Aldosteron-vermittelte Kaliumsekretion bedingen [40]. Das erklärt, dass im Urin der kaliumreich ernährten Mäuse jeweils hohe Kalium- und hohe Aldosteronmengen detektiert werden konnten, während in der kaliumarm ernährten Gruppe nach Versuchsbeginn deutlich verringerte Aldosteron- und Kaliummengen im Urin zu finden waren.

Ebenfalls bemerkenswert ist, dass es weder in der mit kaliumarmer noch in der mit kaliumreicher Diät gefütterten Versuchsgruppe nach AngII-Infusion zu einem signifikanten Anstieg der Aldosteronausscheidung im Urin kam. Dies kann gerade in Bezug auf die Hoch-Kalium-Gruppe zunächst paradox wirken, da AngII ein bekannter Stimulus für die Aldosteronfreisetzung ist und Linde et al. bereits 1981 zeigen konnten, dass die AngII-vermittelte Aldosteronfreisetzung in kaliumreich ernährten Mäusen deutlich verstärkt ist [40, 67]. Bestätigt werden konnte dies im Jahr 2021 durch Dreyer et al [68]. Jedoch zeigte der Versuchsaufbau gerade von Linde et al. deutliche Unterschiede zu diesem Experiment. Während damals die AngII-Infusion bereits nach 6 Tagen mit kaliumreicher Diät erfolgte, so wurde in diesem Experiment die AngII-Infusion erst nach zweiwöchiger Kaliumdiät begonnen. Auch lagen die Serumkaliumlevel nach kaliumreicher Diät deutlich niedriger als in dieser Studie: im Mittel bei  $4,54 \pm 0,2$  mmol/l versus  $6,24 \pm 0,86$  mmol/l. Dies hatte zur Folge, dass die kaliumreich ernährten Tiere dieses Experiments bereits vor Hormoninfusion eine deutlich höhere Aldosteronausscheidung aufwiesen als die Tiere von Linde et al.:  $151,1 \pm 64,58$  ng/24h versus  $16,87 \pm 1,94$  ng/24h. Dies lässt die Hypothese zu, dass in diesem Experiment die Kalium-getriggerte Aldosteronfreisetzung aus der *Zona glomerulosa* bereits maximal war, ein weiterer Stimulus durch AngII daher keinen additiven Effekt mehr hatte und so die synergistischen Effekte von hohen Serumkaliumleveln und AngII-Infusion – wie durch Linde et al und Dreyer et al. beschrieben – nicht detektiert werden konnten.

Linde et al. beschrieben auch, dass die AngII-Infusion vermittelte Aldosteronausschüttung in Tieren, die mit kaliumarmer Diät gefüttert wurden, weniger stark ausfällt. Sie postulierten, dass eine erniedrigte Kaliumaufnahme die Zellantwort der Nebenniere auf AngII negativ beeinflusst [67]. Dies könnte erklären, warum die kaliumarm gefütterten Mäuse zum Zeitpunkt t3 zwar im Mittel mehr Aldosteron ausschieden als zum Zeitpunkt t2 (im Mittel  $14,09$  ng/24h versus  $10,82$  ng), ein signifikanter Unterschied jedoch statistisch nicht herausgearbeitet werden konnte.

Bemerkenswert ist, dass in der Kontrollgruppe nach AngII-Infusion ebenfalls kein signifikanter Anstieg der Aldosteronausscheidung detektiert werden konnte. Dies steht im Gegensatz zu anderen, teils oben zitierten Studien. Dreier et al. zeigten, dass es bei

kaliumnormal ernährten Menschen nach AngII-Infusion zu einem signifikanten Anstieg der Aldosteronlevel kam [68]. Auch bei Nagetieren konnte der gleiche Effekt gezeigt werden [69]. Ein wesentlicher Unterschied zu obigen Studien besteht darin, dass in dieser Studie ApoE-defiziente, hypercholesterinämie Mäuse verwendet wurden. Ob dies jedoch eine Auswirkung auf die Aldosteronlevel unter AngII-Infusion hat, ist nach Kenntnisstand des Autors jedoch bis dato nicht untersucht. Es besteht folglich noch weiterer Bedarf an Forschung hinsichtlich dieses Sachverhaltes.

### **5.3.3 Natrium**

Zu Versuchsbeginn unterschieden sich die Versuchsgruppen nicht signifikant hinsichtlich ihrer Natriumausscheidung mit dem Urin. Am Zeitpunkt t2 und t3 schied die Hoch-Kalium-Gruppe dann jeweils signifikant mehr Natrium aus als die Niedrig-Kalium- und Kontrollgruppe. Im zeitlichen Verlauf stieg die Natriurese von t1 zu t2 in der kaliumreich ernährten Gruppe signifikant an, in der Gruppe mit kaliumarmer Diät sank die Natriumausscheidung tendenziell, aber nicht signifikant. In der Kontrollgruppe waren diesbezüglich keine Unterschiede über den Versuchszeitraum zu verzeichnen.

Diese Ergebnisse erscheinen in Kenntnis der oben diskutierten Aldosteronausscheidung über den Urin zunächst paradox: In der Hoch-Kalium-Gruppe konnte eine über den Versuchszeitraum steigende Aldosteronsekretion, in der Niedrig-Kalium-Gruppe eine fallende renale Ausscheidung nachgewiesen werden. Damit könnte man erwarten, dass es in der Hoch-Kalium-Gruppe mit der gesteigerten Aldosteronsekretion zu einer verminderten Natriumausscheidung kommt, da Aldosteron bekanntermaßen für eine Natriumrückresorption im weit distalen Tubulus und Sammelrohr der Nephrone sorgt; verminderte Aldosteronkonzentrationen führen im Gegensatz dazu zur vermehrten renalen Natriumausscheidung [40]. Dennoch lässt sich auf dem Boden der oben beschriebenen Natriumausscheidung in diesem Experiment postulieren, dass eine gesteigerte Kaliumzufuhr zu einer verstärkten Natriurese führt. Dies steht im Einklang mit bereits in der Literatur beschriebenen Beobachtungen. Studien von Zoccali et al. sowie von van Buren et al. [66, 70] konnten denselben Effekt ausmachen. Ursächlich hierfür könnte der kaliumabhängige Einbau und die Aktivierung des Natrium-Chlorid-Kotransporters (NCC) im distalen Konvolut des Tubulussystems der Niere sein. Der NCC vermittelt die Rückresorption von Natrium und Chlorid aus dem distalen Nierentubulus. Die phosphorylierte Form des NCC gilt als aktivierte, die nicht-phosphorylierte als inaktive Form des Transporters [71]. Mehrere Studien konnten zeigen, dass eine kaliumreiche Diät sowohl über intrazelluläre

Stoffwechselwege eine Dephosphorylierung und damit eine Inaktivierung der NCC, als auch einen verminderten Einbau in die apikale Zellmembran bedingt [51, 52, 72]. Gibt es weniger aktive NCC, wird weniger Natrium im distalen Tubulus rückresorbiert; konsekutiv kommt es zu einer verstärkten Natriurese. Gegenteilige Effekte konnten für eine verminderte Kaliumzufuhr gezeigt werden: niedrige Kaliumserumlevel bedingen eine vermehrte Phosphorylierung und Einbau von NCC und damit eine verstärkte Natriumrückresorption. Gritter et al. zeigten darüber hinaus, dass der Kalium-vermittelte, pro-natriuretische Effekt – bedingt durch die Deaktivierung der NCC – den ebenfalls Kalium-getriggerten, Aldosteron-abhängigen Einbau von ENaC, welcher zu einer verstärkten Natriumrückresorption im distalen Tubulus und Sammelrohr führt – vor allem zu Beginn einer Kaliumdiät – deutlich überwiegt [51]. Dies könnte die oben aufgeworfene Frage beantworten, warum es bei den kaliumreich ernährten Tieren trotz vermehrter Aldosteronausscheidung dennoch zu einer verstärkten Natriumausscheidung kommt. Einschränkend muss festgehalten werden, dass die Natriumzufuhr der Tiere in diesem Versuchsaufbau nicht gemessen wurde. Es ist daher nicht auszuschließen, dass sich die Natriumzufuhr in den Versuchsgruppen unterschieden hat und damit Einfluss genommen haben könnte.

Die Kalium-abhängige Natriurese gilt neben anderen Faktoren als einer der Hauptmechanismen für eine durch Kaliumaufnahme vermittelte Blutdrucksenkung. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die gesteigerte Natriumausscheidung der kaliumreich ernährten Tiere auch eine gesteigerte Diurese zur Folge hat, sodass die These postuliert wurde, dass die durch Kaliumaufnahme vermittelte Blutdrucksenkung bei Hypertonikern mindestens teilweise auf einen natriuretischen und damit diuretischen, Thiazid-ähnlichen Effekt des Kaliums zurückzuführen ist [32, 51, 68]. Auch in diesem Experiment konnte gezeigt werden, dass die kaliumreich ernährten Mäuse nach Beginn der Diät zu den Zeitpunkten t2 und t3 hoch signifikant größere Urinvolumina ausschieden im Vergleich zum Zeitpunkt t1 und im Vergleich zu den anderen beiden Versuchsgruppen. Einen Unterschied im Blutdruck zeigte sich jedoch – am ehesten bedingt durch die bewusst gewählte Methodik – nicht. Hierauf wird im Folgenden noch näher eingegangen.

## **5.4 Blutdruck**

Zur Verursachung einer relevanten Arteriosklerose innerhalb von 6 Wochen bei den jungen, ApoE-defizienten, hypercholesterinämischen Mäusen wurde eine arterielle Hypertonie durch Infusion von AngII induziert. Mit Beginn der Infusion stieg der systolische Blutdruck auf

bis über 167mmHg in der letzten Versuchswoche. Zwischen den drei Versuchsgruppen zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied. Daraus ist zu schließen, dass die in den Versuchen gezeigten Effekte auf die Entwicklung von Atherosklerose und Fibrose unabhängig vom Blutdruck sind und somit auf die unterschiedlichen Kaliumdiäten zurückzuführen ist.

Dass kein signifikanter Unterschied zwischen der Hoch-Kalium und Niedrig-Kalium-Gruppe nachzuweisen war, erscheint bemerkenswert: So konnten – wie oben bereits angedeutet – zahlreiche Studien einen Zusammenhang zwischen der über die Nahrung aufgenommenen Menge an Kalium und dem arteriellen Blutdruck zeigen [32-34]. Während eine geringe Kaliumaufnahme mit dem Auftreten von erhöhtem Blutdruck korrelierte, konnte vor allem bei Hypertonikern der Blutdruck durch eine adäquate Supplementation von Kalium gesenkt werden. Die genauen Mechanismen, wie eine Hochkaliumdiät den Blutdruck senkt, sind noch nicht final geklärt. Jedoch wird – neben direkten vasodilatatorischen Effekten auf das Endothel und die glatte Gefäßmuskulatur sowie der zentralen Inhibition des vegetativen Nervensystems – vor allem der Kalium-abhängigen Dephosphorylierung von NCC im distalen Tubulus eine wesentliche Rolle in der kaliumabhängigen Blutdrucksenkung zugeteilt [51, 73, 74]. Dieser biochemische Vorgang wird oben unter dem Abschnitt *Urin: Natrium* detailliert beschrieben. Zusammengefasst führt eine kaliumreiche Ernährung zur Inaktivierung und vermindertem Einbau von NCC in die Membran der Tubuluszellen. Dies führt zu einer gesteigerten Natriumausscheidung und konsekutiv zu einer erhöhten Diurese, welche wiederum über den Volumenverlust/Vorlastsenkung eine blutdrucksenkende Wirkung besitzt [51, 52]. Die Tatsache, dass keine Blutdruckunterschiede zwischen den Versuchsgruppen detektiert werden konnten, erscheint umso bemerkenswerter unter dem Gesichtspunkt, dass auch in diesem Experiment bei den kaliumreich gefütterten Mäusen eine signifikant stärker Natriurese und ein signifikant höheres Urinvolumen gemessen wurde. Es bleibt somit die Frage, warum keine Unterschiede gemessen wurden. Einen möglichen Erklärungsansatz bietet die in diesem Experiment gewählte Methodik, nämlich eine kontinuierliche, mit 500ng/kg/min hochdosierte AngII-Infusion. Zur Einordnung zeigten Cole et al., dass Wildtyp-Mäuse unter normalen Bedingungen lediglich eine AngII-Serumlevel von im Mittel 137 +/-20 pg/ml aufweisen [75]. Es erscheint möglich, dass die direkten AngII-vermittelten vasokonstriktorischen Effekte sowie die indirekten vasokonstriktorischen Effekte über eine Aktivierung des Sympathikus derartig stark sind, dass die diuretischen, blutdrucksenkenden

Effekte – obwohl noch nachweisbar – hinsichtlich des Blutdrucks nicht mehr ins Gewicht fallen [76].

Dass eine AngII-Infusion zur Induktion des Bluthochdruckes in diesem Experiment, das kaliumabhängige Effekte untersucht, gewählt wurde, kann vor dem Hintergrund, dass AngII hauptsächlich über eine Aldosteronausschüttung für eine Kaliumsekretion und Natriumresorption sorgt, diskutiert werden [40]. Ohne die Versuchsergebnisse zu kennen, könnte man also vermuten, dass eine AngII-Infusion die Regulation des Natrium- und Kaliumhaushaltes und damit die Experimente an sich beeinflusst. Dennoch wurde bewusst diese Methodik gewählt, da sie einerseits in der Wissenschaft etabliert ist und verlässlich einen Bluthochdruck induziert und andererseits in diesem Experiment gezeigt wurde, dass kein die Untersuchung in relevanter Weise verändernder Einfluss detektiert werden konnte, der auf die AngII-Infusion zurückzuführen ist [67]. So konnte gezeigt werden, dass es – wie in den Abschnitten *Urin: Aldosteron* und *Urin: Kalium* ausführlich diskutiert – nach Implantation der Minipumpen weder zu einem signifikanten Anstieg der Aldosteronausscheidung noch zu einem signifikanten Anstieg der Kaliumausscheidung in einer der drei Versuchsgruppen kam.

## 5.5 Aorta und Atherosklerose

Die Untersuchungen an den Mauseorten zeigten, dass in der mit niedrigkonzentriertem Kalium gefütterten Versuchsgruppe signifikant mehr Atherosklerose nachgewiesen werden konnte als in der Hoch-Kalium-Gruppe. Dies galt sowohl für den relativen Anteil atherosklerotischer Plaques an der ganzen Aorta als auch für die für Schlaganfälle und Herzinfarkte prädisponierende atherosklerotischen Plaques des Aortenbogens [77, 78]. Die hier präsentierten Untersuchungen weisen also darauf hin, dass erniedrigte Serumkaliumkonzentrationen die Entstehung von Atherosklerose bei Mäusen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko begünstigen.

Welche Mechanismen hier eine Rolle spielen könnten, werden aktuell in der Wissenschaft diskutiert. Als besonders wichtig werden die Auswirkungen einer kaliumarmen Diät auf den Blutdruck beschrieben [79]. Wie Vallon et al. dargelegt haben, führt ein chronisch niedriger Serumkaliumspiegel zu Aktivierung und Einbau von NCC und damit über eine chronisch gesteigerte Natriumrückresorption zu einem erhöhten Blutdruck [52]. In diesem Versuchsaufbau divergiert der Blutdruck zwischen den Versuchsgruppen allerdings nachweislich nicht. Dies lässt den Schluss zu, dass es weitere vom Blutdruck unabhängige Mechanismen geben muss, die die Atheroskleroseentstehung bei kaliumarmer Diät bedingen

und in diesem Experiment zum Tragen kamen. In der Literatur gibt es Hinweise, dass eine kaliumarme Diät direkte, die Gefäße und das Gefäßsystem betreffende Effekte hat. So konnte gezeigt werden, dass hypercholesterinämie, kaliumarm ernährte Mäuse eine stärker ausgeprägte Kalzifikation der Aortenwurzel aufwiesen [50]. Dieser Effekt ist gemäß Kido et al. zumindest teilweise auf eine verstärkte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies zurückzuführen [53]. Dazu passend konnten Yang et al. in den Wänden der Karotiden von Hasen, die mit einer kaliumarmen Diät gefüttert wurden, verstärkt Superoxid-Anionen nachweisen [80]. Dem entgegengesetzt führte eine kaliumreiche Ernährung bei Ratten, die auch eine natriumreiche Ernährung erhielten, zu einer verminderten Neointima-Proliferation [53, 55]. Zusammengefasst kann also postuliert werden, dass die hier gezeigte, verstärkte Atherosklerosebildung in der kaliumarm ernährten Versuchsgruppe zum Teil auf eine verstärkte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies zurückzuführen sein könnte.

Dass eine Kalium-arme Diät mit Atherosklerose-Entstehung zusammenhängt, korrespondiert auch mit den von Yong Sun et al. veröffentlichten Daten. Deren Arbeitsgruppe konnte sowohl *ex* als auch *in vivo* am ApoE<sup>-/-</sup> Mäusemodell zeigen, dass eine reduzierte Serumkaliumkonzentration mit erhöhter arterieller Steifigkeit und vermehrten Gefäßverkalkungen assoziiert ist. Die Arbeitsgruppe erklärt dies über die osteogene Differenzierung und Kalzifikation der glatten Gefäßmuskulatur (*vascular smooth muscle cell*, *VSMC*) [50]. Es konnte gezeigt werden, dass erniedrigte Serumkaliumlevel eine Erhöhung des intrazellulären Calciums in den VSMCs bedingen. Dies führt einerseits zu einer pro-osteogenen Differenzierung und Kalzifikation der VSMCs und andererseits über ein CREB-Protein (*cAMP response element-binding protein*) vermittelten Signalweg zu einer gesteigerten Autophagie der VSMCs, welche die Gefäßverkalkung weiter fördert.

## 5.6 Herz

### **5.6.1 Fibrose**

Im Rahmen der mRNA-Untersuchungen der Mäuseherzen konnte gezeigt werden, dass die profibrotischen Marker Col und FN in der Hoch-Kalium-Gruppe im Vergleich zu der Niedrig-Kalium-Gruppe tendenziell weniger exprimiert wurden [81, 82]. Dies könnte auf eine protektive Wirkung einer kaliumreichen Diät hinsichtlich kardialer Fibrose im hypertensiven, hypercholesterinämen Mausmodell hinweisen, wobei einschränkend darauf hingewiesen werden muss, dass – trotz klarer Tendenz – Signifikanzniveaus nicht erreicht werden konnten. Bei der Untersuchung von  $\beta$ -MHC, das in einigen Studien nicht nur als Hypertrophiemarker, sondern auch als profibrotischer Marker gewertet wird, konnte eine

signifikant stärkere Expression in der Niedrig-Kalium-Gruppe dargestellt werden [83-86]. Dies spricht für oben beschriebenen, protektiven Effekt einer Hoch-Kalium-Diät bzw. für einen negativen Effekt einer Niedrig-Kalium-Diät hinsichtlich Fibroseentstehung im Herzen.

Die These, dass sich eine kaliumreiche Diät positiv auf das kardiovaskuläre Risiko auswirkt, steht im Einklang mit aktuellen wissenschaftlichen Ergebnissen. So konnte die PURE-Studie am Menschen zeigen, dass eine niedrige Kaliumausscheidung über den Urin (als Surrogatparameter für das Serumkaliumlevel) mit einem höheren Risiko für Tod und *major adverse cardiovascular events* (MACE) – definiert als Herzinfarkt, Schlaganfall und Herzinsuffizienz – assoziiert ist [87]. Der protektive Effekt von Kalium scheint sich dabei zu verstärken, wenn gleichzeitig auch viel Kochsalz aufgenommen wird [88, 89]. Konkret auf die Fibroseentstehung bezogen konnte gezeigt werden, dass beim chronisch nierengeschädigten Mausmodell eine kaliumreiche Ernährung zu einer verminderten Albuminurie und tubulointerstitiellen Fibrose führt [90, 91]. Ellis et al. demonstrierten passend dazu, dass eine kaliumreiche Ernährung bei auch kochsalzreicher Diät blutdruckunabhängig zu einem verminderten fibrotischen Umbau in der Niere führt [92].

Als Ursache für die oben beschriebenen, Blutdruck-unabhängigen Effekte, werden teilweise – wie oben bereits beschrieben – eine Aktivierung und vermehrte Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies unter kaliumarmer Ernährung angesehen. Der umgekehrte Effekt zeigte sich im Gegenzug bei kaliumreicher Ernährung [53, 80]. Yang et al. konnten in den Karotiden von mit kaliumarmer Diät gefütterten Hasen fast doppelt so viele reaktive Sauerstoffspezies (ROS) nachweisen wie in kaliumnormal gefütterten Tieren. Die Wissenschaftler sahen eine Verbindung zwischen der Überproduktion freier Radikale und der ebenfalls gezeigten pathologisch veränderten Vasoreaktivität der Gefäße der Versuchstiere [80]. Dagegen konnten Kido et al. zeigen, dass übermäßiger Salzkonsum zu einer Hyperplasie der Gefäßintima führt, begleitet von einer Überproduktion von ROS, welche wiederum auf eine vermehrte Aktivierung von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat-Oxidase (NADPH-Oxidase) zurückzuführen ist. Dagegen führte eine gesteigerte Kaliumzufuhr einen protektiven Effekt gegenüber der Intimahyperplasie durch Herunterregulierung der NADPH-Oxidase-Aktivität und konsekutiv zu einer nachweisbaren Abnahme der ROS-Produktion [53]. Darüber hinaus scheint Kalium auch Effekte auf die Gefäßweite zu haben. Während eine Kaliumsupplementation bei Ratten, die mit einer kochsalzreichen Diät gefüttert wurden, zu einer verstärkten Produktion von NO und damit zu einer NO vermittelten Vasodilatation führte, kann es bei Kaliummangel zu einer



sympathisch vermittelten Vasokonstriktion kommen [93, 94]. Wang et al. konnten zeigen, dass Kalium auch einen Einfluss auf inflammatorische Prozesse hat. Bei der Untersuchung der Nieren von chronisch nierenkranken, kaliumreich ernährten Ratten zeigte sich nämlich eine geringere Infiltration von Makrophagen, eine geringere Expression proinflammatorischer Zytokine und eine geringere NF- $\kappa$ B-Aktivierung, während bei kaliumarm ernährten Ratten gegenteilige Effekte gefunden wurden [95].

Auch wenn die anti-fibrotische Wirkung einer kaliumreichen Diät tendenziell in diesem Experiment gezeigt werden konnte, muss doch festgehalten werden, dass bei Col und FN keine Signifikanzniveaus erreicht wurden. Eine Ursache hierfür könnte sein, dass die protektive Wirkung des Kaliums in der Literatur vor allem dann beschrieben wird, wenn gleichzeitig auch eine kochsalzreiche Diät zugeführt wird [88, 89]. In unserem Experiment wurde jedoch eine kochsalznormale Diät verwendet. Es könnte daher sein, dass der Effekt des Kaliums stärker ausgeprägt wäre, wenn die Versuche mit kochsalzreicher Diät erneut durchgeführt würden.

### **5.6.2 Fibroseentstehung im Kontext der Aldosteronausscheidung**

In der mit kaliumreicher Diät gefütterten Versuchsgruppe zeigte sich – wie oben beschrieben – eine tendenziell geringere Expression profibrotischer Marker im Herzen sowie eine geringere Ausbildung atherosklerotischer Plaques im Bereich der Aorta als in der Niedrig-Kaliumgruppe, obwohl die kaliumreich gefütterten Mäuse mehr Aldosteron sezernierten – und Aldosteron nachweislich über Mineralocortikoid-Rezeptor abhängige und -unabhängige Wege Inflammation und Fibrose der Niere, des Herzens und des Gefäßsystems fördert. Neben vasokonstriktorischen Effekten fördert Aldosteron die Infiltration von Makrophagen in Niere und Herz, die Ausschüttung von Zytokinen, die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies sowie - EGFR, NF- $\kappa$ B und AP-1 vermittelt – die Zellproliferation und Apoptose [96-99]. Diesen zunächst paradox erscheinenden Zusammenhang beschrieben bereits Dreier et al. in einer Untersuchung an gesunden, normotensiven Männern. Es wurde postuliert, dass eine erhöhte Kaliumaufnahme zwar einen Anstieg von Aldosteron im Blut bedingt, die kardiovaskuläre Hämodynamik jedoch dadurch nicht negativ beeinflusst wird [68]. Eine analoge Schlussfolgerung könnte aus den hier erhobenen Daten in Bezug auf kardiale Fibrose und die Ausbildung atherosklerotischer Plaques in der Mäusepopulation gezogen werden. Es bleibt also die Frage, warum die in dieser wie auch in anderen Studien nachgewiesene erhöhte Aldosteronkonzentration in Verbindung mit kaliumreicher Ernährung keinen negativen Einfluss auf das Gefäßsystem zu haben scheint.

Möglicherweise überwiegt die protektive Wirkung von Kalium die profibrotischen, proinflammatorischen Effekte des Aldosterons [68, 100]. Dabei scheint der bekannte diuretische und konsekutiv blutdrucksenkende Effekt einer kaliumreichen Diät eine Rolle zu spielen [32]. Dieser wurde jedoch in der vorliegenden Arbeit ausgeschaltet, indem in allen drei Versuchsgruppen ein Bluthochdruck – ohne relevante Unterschiede in den Werten – induziert wurde und kann somit nicht als hinreichende Erklärung gewertet werden. Weiterhin werden auch direkt auf das Gefäßsystem wirkende Kalium-Effekte diskutiert. Kido et al. konnten zeigen, dass eine kaliumreiche Diät die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies herunterreguliert und so einer Gefäßschädigung entgegenwirkt [53].

Zu diskutieren, warum in der kaliumreich ernährten Versuchsgruppe trotz höherer Aldosteronausscheidung weniger Atherosklerose detektiert werden konnte, ist außerdem das Fehlen einer übermäßigen NaCl-Zufuhr im Versuchsaufbau. Die dem zugrundeliegende Theorie besagt, dass vor allem die Mineralkortikoidrezeptor-Aktivierung und weniger der Ligand Aldosteron für negative kardiovaskuläre Effekte verantwortlich ist. Gut belegt ist, dass eine erhöhte Kochsalz-Zufuhr blutdruckabhängig und -unabhängig über proinflammatorische Prozesse auf zellulärer und subzellulärer Ebene zu vermehrter Fibrose führt [101, 102]. Dieses Wissen findet im klinischen Alltag – beispielsweise in der Empfehlung einer kochsalzrestriktiven Diät der *American Heart Association* in der *Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease* aus dem Jahr 2019 – Anwendung. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine kochsalzreiche Diät – neben der Auslösung von oxidativem und mechanischem Stress – Rac1-vermittelt und Aldosteron-unabhängig auch den Mineralokortikoidrezeptor aktiviert [103-106]. Dass also nicht Aldosteron selbst, sondern die Aktivierung des Mineralokortikoidrezeptors der entscheidende Faktor im Ablauf profibrotischer und proinflammatorischer Signalwege zu sein scheint, wird von zahlreichen Studien unterstützt, die zeigen, dass sich Mineralokortikoidrezeptorantagonisten auch bei Patienten mit niedrigen oder normalen Aldosteronserumleveln positiv auf Nieren- und Herzinsuffizienz auswirken [107-109]. Zusammengefasst erscheint es also möglich, dass eine protektive Wirkung von Kalium bei erhöhten Aldosteronspiegeln nachzuweisen ist, weil eine Aldosteron-unabhängige Aktivierung der entsprechenden Rezeptoren – beispielsweise durch Kochsalz – in unserem Versuchsaufbau ausbleibt.

### 5.6.3 Phänotyp und Pumpleistung

Im Rahmen der durchgeführten Experimente konnte gezeigt werden, dass nach sechs Wochen das Herzgewicht der Niedrig-Kalium-Mäuse signifikant niedriger lag als das der Hoch-Kalium- und Normal-Kalium-Mäuse. Die Herzen der Kontrollgruppe waren am schwersten, wobei eine Signifikanz zwischen den kaliumnormal und kaliumreich ernährten Tieren nicht erreicht wurde. Die gleiche Gewichtsverteilung – mit signifikanten Unterschieden zwischen allen Gruppen – konnte ebenfalls bei der Betrachtung des gesamten Körpergewichts beobachtet werden. Da sich die Versuchsgruppen hinsichtlich Körper- und Herzgewicht gleichsam unterscheiden, ist es nachvollziehbar, dass es im Verhältnis von Körper- zu Herzgewicht keine Unterschiede gibt, während – bei in etwa gleichen Tibialängen aller Tiere – Unterschiede im Verhältnis „Herzgewicht zu Tibialänge“ detektiert werden konnten. So lag das Verhältnis von Herzgewicht zu Tibialänge bei den mit kaliumarmer Diät gefütterten Tieren signifikant niedriger als bei den anderen beiden Versuchsgruppen; die Kontrollgruppe wies im Mittel die größten Werte bei Bestimmung der Ratio auf.

Obige Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine kaliumarme Diät mit einem niedrigeren Gewicht und einer niedrigeren Muskelmasse assoziiert ist – nicht nur hinsichtlich der Muskelmasse des Herzens, sondern auch hinsichtlich der Skelettmuskulatur.

Auch wenn es bis dato diesbezüglich wenige Studien gibt, postulierten Lee et al. im Jahr 2020, passend zu unseren Beobachtungen, dass eine kaliumreiche Diät bei Männern ein schützender Faktor vor Abnahme der Muskelmasse ist und Van Dronkelaar et al. stellten die Hypothese auf, dass das ausreichende Vorhandensein von Elektrolyten im Allgemeinen bedeutend ist, um eine Sarkopenie zu vermeiden [110, 111].

Lee et al. führten weiter an, dass eine kaliumarme Diät über proinflammatorische Prozesse und eine gesteigerte Insulinresistenz eine niedrigere Muskelmasse bedingen könnte [111]. Insulinresistenz führt nachweislich zu intrazellulärer Proteolyse und damit zur Muskelatrophie [112]. Eine kaliumreiche Ernährung ist mit einem niedrigeren Risiko für die Entwicklung einer Insulinresistenz beziehungsweise eines Diabetes mellitus assoziiert, während für eine kaliumarme Diät Umgekehrtes gilt [113]. Es konnte ebenso bereits demonstriert werden, dass chronisch-inflammatorische Prozesse ein Risikofaktor für den fibrotischen Umbau von Gewebe inklusive Verlust von Muskelmasse zu sein scheinen, wobei eine kaliumarme Diät über die vermehrte Produktion freier Radikale solch eine proinflammatorische Umgebung begünstigt [80, 114]. Angemerkt werden muss, dass diese

Sachverhalte nicht im Fokus der vorliegenden Arbeit lagen, sodass hier nur ein Ausblick beschrieben wird und weiterer Forschungsbedarf besteht.

Passend zu oben beschriebener absoluter Verteilung des Herzgewichts zwischen den Versuchsgruppen und auch passend zu der relativen Verteilung, bezogen auf die Tibialänge der Tiere, stellten sich die Messungen im Kardio-MRT dar: die kaliumarm ernährten Mäuse wiesen eine signifikant niedrigere LVM auf als die beiden anderen Versuchsgruppen (zwischen diesen konnte kein Unterschied detektiert werden) und auch die Wanddicken des Ventrikels in Diastole sowie Systole (SWT und DWT) waren signifikant niedriger, während das Volumen des linken Ventrikels am Ende der Systole tendenziell größer war. Aus den MRT-Daten konnte außerdem – wie im Methodik-Teil beschrieben – die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) bestimmt werden. Es ließ sich zeigen, dass die systolische Pumpfunktion der kaliumarm ernährten Mäuse signifikant niedriger war als die der anderen beiden Versuchsgruppen. Zwischen den kaliumnormal und -reich ernährten Tiere gab es keine Unterschiede. Wertet man die Expression der natriuretischen Peptide ANP und BNP, die im Sinne eines kardioprotektiven Mechanismus im Rahmen einer Herzinsuffizienz aktiviert werden, als Herzinsuffizienzmarker, so unterstützt dies die obige Aussage. ANP wird in den Herzen der kaliumarm ernährten Mäuse signifikant, BNP tendenziell mehr exprimiert [115].

Zusammengefasst gibt es Hinweise, dass eine kaliumarme Diät im hypercholesterinämien, hypertensiven Mausmodel mit einer niedrigeren LVM bei dilatiertem Herzen und erniedrigter Pumpfunktion assoziiert sein könnte. Nach unserem Kenntnisstand gibt es bis dato keine größeren Studien, die diesen Zusammenhang untersucht haben. Während He et al. zeigten, dass eine kaliumreiche Diät die diastolische Funktion des Herzens bei Hypertonikern zu bessern scheint, wurden keine Aussagen zu den Effekten einer kaliumarmen Diät getroffen [116, 117]. Überraschend wurde bei den Studien von He et al. auch eine Minderung der LVM bei kaliumreicher Ernährung beobachtet. Ein Effekt, den wir in unseren Experimenten nicht zeigen konnten.

Aus unserer Sicht erscheinen zwei Thesen hinsichtlich der gezeigten Korrelationen von kaliumarmer Diät und Pumpleistung sowie Phänotyp des Herzens möglich. Zum einen könnte es sein, dass kaliumarme Ernährung bei den – bedingt durch den Versuchsaufbau – bereits mit einem relevanten kardiovaskulären Risikoprofil ausgestatteten Mäusen zur Ausbildung des Phänotyps einer dilatativen Kardiomyopathie mit reduzierter linksventrikulärer Funktion führt. Zum anderen ließe die Induktion einer arteriellen Hypertonie bei allen Versuchsgruppen eine Anpassung im Sinne einer kardialen

Hypertrophie erwarten [118]. Folglich erscheint es möglich, dass die Niedrig-Kalium-Gruppe lediglich mit einer geringeren oder ausbleibenden linksventrikulären Hypertrophie auf die durch AngII-Infusion induzierte arterielle Hypertonie reagiert. Wertet man ANP und BNP sowie  $\beta$ -MHC als Hypertrophiemarker – wie in einigen Studien beschrieben – so scheint deren vermehrte Expression in der kaliumarm ernährten Gruppe der Aussage, dass diese Versuchsgruppe bildmorphologisch eine niedrigere LVM und auch ein niedrigeres Herzgewicht aufweist, entgegenzusprechen [85, 119, 120]. Bedenkt man jedoch, dass die arterielle Hypertonie ein Wachstum des Herzmuskelgewebes erwarten lässt, so könnte die vermehrte Expression der Hypertrophiemarker auch als Reaktion auf die inadäquate kardiale Hypertrophie im Sinne eines feedback-Mechanismus mit kompensatorischer Hochregulation auf zellulärer Ebene gewertet werden [118].

Ob die Herzen der Tiere tatsächlich inadäquat auf die durch den Hypertonus erhöhte Nachlast reagieren oder unter kaliumarmer Diät den Phänotyp einer dilatativen Kardiomyopathie entwickeln, ließe sich mit *baseline*-MRT-Untersuchungen vor Versuchsstart und vor Induktion der Hypertonie genauer untersuchen. Dies sollte in Folgeexperimenten angestrebt werden.

Zusammengefasst lassen unsere Experimente eindeutig einen Zusammenhang zwischen kaliumarmer Ernährung und verringerter Herzmuskelmasse bei dilatiertem linkem Ventrikel und verminderter linksventrikulärer Pumpfunktion vermuten. Nach unserem Kenntnisstand wurde dies so explizit bis dato in keiner anderen, größeren Studie untersucht. Daher braucht es unserer Meinung nach weitere Untersuchungen, um die Existenz dieses Zusammenhangs zu bestätigen und um die Ursache, warum ein Mangel an Kalium zu reduzierter Herzmuskelmasse führt, zu untersuchen.

## 5.7 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Der einzige variable Faktor im Versuchsaufbau waren die verschiedenen Kaliumdiäten. Diese führten zu signifikant unterschiedlichen Serumkaliumkonzentrationen. Die herausgearbeiteten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen hängen daher sehr wahrscheinlich mit dem unterschiedlichen Kaliumgehalt im Blut zusammen.

Eine Niedrig-Kaliumdiät führte zu einer vermehrten Bildung atherosklerotischer Plaques im hypertensiven, hypercholesterinämischen Mausmodell. Dies geschieht unabhängig von den in der Literatur beschriebenen Blutdruck-erhöhenden Effekten, da Blutdruckunterschiede zwischen den Versuchsgruppen durch Infusion einer Hochdosis AngII ausgeschaltet wurden. Ursächlich für die vermehrte Atheroskleroseentstehung könnten laut Kido et al.

proinflammatorische und -fibrotische Prozesse sein, die zumindest teilweise auf eine verstärkte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies zurückzuführen sind [53].

Die ausgewerteten qPCR-Daten geben – allerdings nicht in signifikantem Ausmaß – Anhalt dafür, dass eine Diät mit hohen Kaliumkonzentrationen auch blutdruckunabhängig einen protektiven Effekt auf die Ausbildung von Fibrose im Herzen von Mäusen mit hohem kardiovaskulärem Risikoprofil zu haben scheint. Ein Grund hierfür könnte die durch Kalium verringerte Gewebsinfiltration von Makrophagen sowie die verringerte Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine sein [95].

Die aus den Kardio-MRT-Untersuchungen gewonnenen Daten weisen darauf hin, dass die Kalium-arm ernährten Mäuse einen Phänotyp mit dilatiertem linkem Ventrikel beziehungsweise eine geringere Neigung zur Hypertrophie mit signifikant geringerer linksventrikulärer Pumpleistung ausbilden. Diese These unterstützend wurde in dieser Gruppe vermehrt ANP exprimiert. Die Interpretation muss jedoch mit Vorsicht vorgenommen werden, da keine MRT-Aufnahmen vor Behandlung mit den verschiedenen Diäten vorlagen. Es bedarf hier noch weiterer, bestätigender Untersuchungen – auch unter dem Gesichtspunkt, dass bis dato keine größeren Studien diesen Zusammenhang bestätigen konnten.

In den Urinuntersuchungen konnte gezeigt werden, dass die kaliumreich ernährten Mäuse signifikant größere Mengen an Aldosteron ausschieden. Es ist davon auszugehen, dass eine erhöhte Aldosteronsynthese den gegenregulatorischen Effekt zur nachgewiesenen Serumhyperkaliämie darstellt und in der erhöhten Ausscheidung im Urin zu messen ist.

Auch die Natriumausscheidung über den Urin zeigte sich in der Hoch-Kalium-Gruppe signifikant erhöht. Die hierfür verantwortliche Inaktivierung des  $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ -Transporter gilt nach aktuellem wissenschaftlichem Stand durch ihre natriuretische und damit diuretische Wirkung als entscheidender Mechanismus für die blutdrucksenkende und damit in kardiovaskulärer Hinsicht protektive Wirkung einer kaliumreichen Diät.

## 5.8 Ausblick

In dieser Arbeit konnten einige Ergebnisse erzielt und Thesen aufgestellt werden, die als Grundlage für weitere Studien, die die oben beschriebenen Mechanismen genauer untersuchen, dienen können.

Neben den bereits oben erwähnten Untersuchungen zum Zusammenhang von Kaliumserumkonzentration mit Muskelmasse, Herzgewicht und -funktion erscheint es im Besonderen von Bedeutung, die Hypothese des hier postulierten, blutdruckunabhängigen,

proatherosklerotischen Effekt von kaliumarmer Ernährung und des protektiven Effekts kaliumreicher Ernährung hinsichtlich einer kardialen Fibrose weiter zu erforschen.

Auch erscheint es erstrebenswert, zu untersuchen, ob die oben beschriebenen Effekte nur bei extremen Kaliumdiäten, die wie in diesen Experimenten Serumkaliumlevel deutlich unter beziehungsweise oberhalb des Referenzbereichs zur Folge hatte, auftreten. Hypo- als auch Hyperkaliämien – wie in diesem Experiment erzeugt – können zu Störungen verschiedener Organsysteme mit erhöhter Morbidität und Mortalität führen. Zu nennen sind insbesondere beeinträchtigte renale, neuronale und kardiovaskuläre Funktionen, bei letzterem insbesondere ventrikuläre Herzrhythmusstörungen [42, 44]. Im Hinblick auf mögliche, zukünftige therapeutische Möglichkeiten von Kalium erscheint es daher sinnvoll zu untersuchen, ob niedrig-normale und hoch-normale Serumkaliumlevel die Atherosklerose- und Fibroseentstehung in gleicher Art beeinflussen wie es die Hypo- und Hyperkaliämien zu tun scheinen. Hierzu könnten die Versuche mit weniger extremen Kaliumdiäten durchgeführt werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Timmis, A., et al., *European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021*. Eur Heart J, 2022. **43**(8): p. 716-799.
2. Dunbar, S.B., et al., *Projected Costs of Informal Caregiving for Cardiovascular Disease: 2015 to 2035: A Policy Statement From the American Heart Association*. Circulation, 2018. **137**(19): p. e558-e577.
3. Galkina, E. and K. Ley, *Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (\*)*. Annu Rev Immunol, 2009. **27**: p. 165-97.
4. Buckley, M.L. and D.P. Ramji, *The influence of dysfunctional signaling and lipid homeostasis in mediating the inflammatory responses during atherosclerosis*. Biochim Biophys Acta, 2015. **1852**(7): p. 1498-510.
5. Ouimet, M., T.J. Barrett, and E.A. Fisher, *HDL and Reverse Cholesterol Transport*. Circ Res, 2019. **124**(10): p. 1505-1518.
6. Stadler, J.T. and G. Marsche, *Obesity-Related Changes in High-Density Lipoprotein Metabolism and Function*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(23).
7. Rosendorff, C., *Effects of LDL cholesterol on vascular function*. J Hum Hypertens, 2002. **16 Suppl 1**: p. S26-8.
8. Randolph, G.J., *Mechanisms that regulate macrophage burden in atherosclerosis*. Circ Res, 2014. **114**(11): p. 1757-71.
9. Underhill, D.M., et al., *Dynamic interactions of macrophages with T cells during antigen presentation*. J Exp Med, 1999. **190**(12): p. 1909-14.
10. Kyaw, T., et al., *Cytotoxic and proinflammatory CD8+ T lymphocytes promote development of vulnerable atherosclerotic plaques in apoE-deficient mice*. Circulation, 2013. **127**(9): p. 1028-39.
11. Zhou, X., et al., *Transfer of CD4(+) T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice*. Circulation, 2000. **102**(24): p. 2919-22.
12. Basatemur, G.L., et al., *Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis*. Nat Rev Cardiol, 2019. **16**(12): p. 727-744.
13. Williams, B., et al., *2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension*. J Hypertens, 2018. **36**(10): p. 1953-2041.
14. Sudano, I., *Hypertension and Hypercholesterolemia: Let's Make Therapy Easy and Efficient*. Praxis (Bern 1994), 2022. **111**(10): p. 558-563.
15. Rossi, G.P., et al., *Practice Recommendations for Diagnosis and Treatment of the Most Common Forms of Secondary Hypertension*. High Blood Press Cardiovasc Prev, 2020. **27**(6): p. 547-560.
16. Garfinkle, M.A., *Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment*. J Am Soc Hypertens, 2017. **11**(6): p. 385-391.
17. Hurtubise, J., et al., *The Different Facets of Dyslipidemia and Hypertension in Atherosclerosis*. Curr Atheroscler Rep, 2016. **18**(12): p. 82.
18. Forstermann, U., N. Xia, and H. Li, *Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis*. Circ Res, 2017. **120**(4): p. 713-735.
19. Kassan, M., et al., *Endoplasmic reticulum stress is involved in cardiac damage and vascular endothelial dysfunction in hypertensive mice*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012. **32**(7): p. 1652-61.



20. Huang, F., et al., [*Cardiovascular disease risk and vascular damage status in pre- and hypertension population in coastal areas of Fujian province*]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2013. **41**(10): p. 876-81.
21. Drazner, M.H., *The Progression of Hypertensive Heart Disease*. *Circulation*, 2011. **123**(3): p. 327-334.
22. Buonacera, A., B. Stancanelli, and L. Malatino, *Stroke and Hypertension: An Appraisal from Pathophysiology to Clinical Practice*. *Curr Vasc Pharmacol*, 2019. **17**(1): p. 72-84.
23. Ku, E., et al., *Hypertension in CKD: Core Curriculum 2019*. *Am J Kidney Dis*, 2019. **74**(1): p. 120-131.
24. Wu, C., et al., [*Prevalence and risk factors of retinal arterial atherosclerosis in urban subjects participating in routine physical examinations*]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2011. **91**(26): p. 1821-4.
25. Chen, Z.R., et al., [*Clinical characteristics and outcomes of patients with acute aortic dissection: impact of hypertension*]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2016. **44**(3): p. 220-5.
26. Messerli, F.H., B. Williams, and E. Ritz, *Essential hypertension*. *Lancet*, 2007. **370**(9587): p. 591-603.
27. Chow, C.K., et al., *Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries*. *JAMA*, 2013. **310**(9): p. 959-68.
28. MacMahon, S., et al., *Blood-pressure-related disease is a global health priority*. *Lancet*, 2008. **371**(9623): p. 1480-2.
29. Williams, B., et al., *2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension*. *Blood Press*, 2018. **27**(6): p. 314-340.
30. Ozemek, C., et al., *The role of diet for prevention and management of hypertension*. *Curr Opin Cardiol*, 2018. **33**(4): p. 388-393.
31. Wickman, B.E., et al., *Dietary Management of Heart Failure: DASH Diet and Precision Nutrition Perspectives*. *Nutrients*, 2021. **13**(12).
32. Filippini, T., et al., *Potassium Intake and Blood Pressure: A Dose-Response Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. *J Am Heart Assoc*, 2020. **9**(12): p. e015719.
33. Chmielewski, J. and J.B. Carmody, *Dietary sodium, dietary potassium, and systolic blood pressure in US adolescents*. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2017. **19**(9): p. 904-909.
34. Filippini, T., et al., *The effect of potassium supplementation on blood pressure in hypertensive subjects: A systematic review and meta-analysis*. *Int J Cardiol*, 2017. **230**: p. 127-135.
35. Palmer, B.F. and D.J. Clegg, *Physiology and pathophysiology of potassium homeostasis*. *Adv Physiol Educ*, 2016. **40**(4): p. 480-490.
36. Campbell, S., *Dietary Reference Intakes: Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*. *Clinical Nutrition Insight*, 2004. **30**(6): p. 1-4.
37. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Ö.G.f.E.Ö., Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (SGE), *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. Vol. 2. Auflage, 7. aktualisierte Ausgabe. 2023.
38. DeSalvo, K.B., R. Olson, and K.O. Casavale, *Dietary Guidelines for Americans*. *JAMA*, 2016. **315**(5): p. 457-8.
39. Palmer, B.F., *Regulation of Potassium Homeostasis*. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2015. **10**(6): p. 1050-60.

40. Williams, G.H., *Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action*. Heart Fail Rev, 2005. **10**(1): p. 7-13.
41. Stone, M.S., L. Martyn, and C.M. Weaver, *Potassium Intake, Bioavailability, Hypertension, and Glucose Control*. Nutrients, 2016. **8**(7).
42. Weiner, I.D. and C.S. Wingo, *Hypokalemia--consequences, causes, and correction*. J Am Soc Nephrol, 1997. **8**(7): p. 1179-88.
43. Vonend, O. and L.C. Rump, *[Normokalemic primary hyperaldosteronism]*. Dtsch Med Wochenschr, 2006. **131**(46 Spec No): p. H24-7.
44. Hunter, R.W. and M.A. Bailey, *Hyperkalemia: pathophysiology, risk factors and consequences*. Nephrol Dial Transplant, 2019. **34**(Suppl 3): p. iii2-iii11.
45. Campese, V.M. and G. Adenuga, *Electrophysiological and clinical consequences of hyperkalemia*. Kidney Int Suppl (2011), 2016. **6**(1): p. 16-19.
46. Neal, B., et al., *Effect of Salt Substitution on Cardiovascular Events and Death*. N Engl J Med, 2021. **385**(12): p. 1067-1077.
47. Yuan, Y., et al., *Salt substitution and salt-supply restriction for lowering blood pressure in elderly care facilities: a cluster-randomized trial*. Nat Med, 2023. **29**(4): p. 973-981.
48. Chang, H.Y., et al., *Effect of potassium-enriched salt on cardiovascular mortality and medical expenses of elderly men*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(6): p. 1289-96.
49. Aburto, N.J., et al., *Effect of increased potassium intake on cardiovascular risk factors and disease: systematic review and meta-analyses*. BMJ, 2013. **346**: p. f1378.
50. Sun, Y., et al., *Dietary potassium regulates vascular calcification and arterial stiffness*. JCI Insight, 2017. **2**(19).
51. Gritter, M., J.I. Rotmans, and E.J. Hoorn, *Role of Dietary K(+) in Natriuresis, Blood Pressure Reduction, Cardiovascular Protection, and Renoprotection*. Hypertension, 2019. **73**(1): p. 15-23.
52. Vallon, V., et al., *Expression and phosphorylation of the Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporter NCC in vivo is regulated by dietary salt, potassium, and SGK1*. Am J Physiol Renal Physiol, 2009. **297**(3): p. F704-12.
53. Kido, M., et al., *Protective effect of dietary potassium against vascular injury in salt-sensitive hypertension*. Hypertension, 2008. **51**(2): p. 225-31.
54. Young, D.B. and G. Ma, *Vascular protective effects of potassium*. Semin Nephrol, 1999. **19**(5): p. 477-86.
55. Sugimoto, T., L. Tobian, and M.C. Ganguli, *High potassium diets protect against dysfunction of endothelial cells in stroke-prone spontaneously hypertensive rats*. Hypertension, 1988. **11**(6 Pt 2): p. 579-85.
56. Young, D.B., H. Lin, and R.D. McCabe, *Potassium's cardiovascular protective mechanisms*. Am J Physiol, 1995. **268**(4 Pt 2): p. R825-37.
57. Borg, N., J. Schrader, and E. Lammert, *Die Rolle der Ekto-5'-Nukleotidase (CD73) bei der Entzündungsreaktion nach Herzinfarkt in der Maus*. 2014: Universitäts- und Landesbibliothek der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
58. Stegbauer, J., et al., *Mas receptor deficiency augments angiotensin II-induced atherosclerosis and aortic aneurysm ruptures in hypercholesterolemic male mice*. J Vasc Surg, 2019. **70**(5): p. 1658-1668 e1.
59. Schneider, C.A., W.S. Rasband, and K.W. Eliceiri, *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis*. Nat Methods, 2012. **9**(7): p. 671-5.
60. Kannel, W.B., *Risk factors in hypertension*. J Cardiovasc Pharmacol, 1989. **13** Suppl 1: p. S4-10.
61. Bu, G., *Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy*. Nat Rev Neurosci, 2009. **10**(5): p. 333-44.

62. Weir, M.R., *Diabetes and hypertension: blood pressure control and consequences*. Am J Hypertens, 1999. **12**(12 Pt 1-2): p. 170S-178S.
63. Zur, B. *Laborchemische Referenzbereiche für Wistarratten und C57BL/6-Mäuse*. 2006.
64. Araki, S., et al., *Urinary Potassium Excretion and Renal and Cardiovascular Complications in Patients with Type 2 Diabetes and Normal Renal Function*. Clin J Am Soc Nephrol, 2015. **10**(12): p. 2152-8.
65. Zakauskienė, U., et al., *Sodium, Potassium and Iodine Intake in an Adult Population of Lithuania*. Nutrients, 2022. **14**(18).
66. van Buren, M., et al., *Effects of acute NaCl, KCl and KHCO<sub>3</sub> loads on renal electrolyte excretion in humans*. Clin Sci (Lond), 1992. **83**(5): p. 567-74.
67. Linde, R., et al., *Graded dose effects of angiotensin II on aldosterone production in man during various levels of potassium intake*. Metabolism, 1981. **30**(6): p. 549-53.
68. Dreier, R., et al., *Effect of Increased Potassium Intake on Adrenal Cortical and Cardiovascular Responses to Angiotensin II: A Randomized Crossover Study*. J Am Heart Assoc, 2021. **10**(9): p. e018716.
69. Buncha, V., et al., *Aldosterone Antagonism Is More Effective at Reducing Blood Pressure and Excessive Renal ENaC Activity in AngII-Infused Female Rats Than in Males*. Hypertension, 2023. **80**(10): p. 2196-2208.
70. Zoccali, C., et al., *Effects of potassium on sodium balance, renin, noradrenaline and arterial pressure*. J Hypertens, 1985. **3**(1): p. 67-72.
71. Argañiz, E.R. and G. Gamba, *The regulation of Na<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> cotransporter by with-no-lysine kinase 4*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2016. **25**(5): p. 417-23.
72. Frindt, G. and L.G. Palmer, *Effects of dietary K on cell-surface expression of renal ion channels and transporters*. Am J Physiol Renal Physiol, 2010. **299**(4): p. F890-7.
73. Preston, R.A., et al., *Characterization of Potassium-Induced Natriuresis in Hypertensive Postmenopausal Women During Both Low and High Sodium Intake*. Hypertension, 2022. **79**(4): p. 813-826.
74. Appel, L.J., et al., *A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure*. DASH Collaborative Research Group. N Engl J Med, 1997. **336**(16): p. 1117-24.
75. Cole, J.M., et al., *Mice lacking endothelial ACE: normal blood pressure with elevated angiotensin II*. Hypertension, 2003. **41**(2): p. 313-21.
76. Campbell, D.J., *Do intravenous and subcutaneous angiotensin II increase blood pressure by different mechanisms?* Clin Exp Pharmacol Physiol, 2013. **40**(8): p. 560-70.
77. Suzuki, M., et al., *Complex Aortic Arch Atherosclerosis in Acute Ischemic Stroke Patients with Non-Valvular Atrial Fibrillation*. J Atheroscler Thromb, 2021. **28**(7): p. 776-785.
78. Otsuka, K., et al., *Aortic arch plaque morphology in patients with coronary artery disease undergoing coronary computed tomography angiography with wide-volume scan*. Coron Artery Dis, 2022. **33**(7): p. 531-539.
79. Luzardo, L., O. Noboa, and J. Boggia, *Mechanisms of Salt-Sensitive Hypertension*. Curr Hypertens Rev, 2015. **11**(1): p. 14-21.
80. Yang, B.C., et al., *Increased superoxide anion generation and altered vasoreactivity in rabbits on low-potassium diet*. Am J Physiol, 1998. **274**(6): p. H1955-61.
81. Wang, H., et al., *Exosome-Mediated miR-29 Transfer Reduces Muscle Atrophy and Kidney Fibrosis in Mice*. Mol Ther, 2019. **27**(3): p. 571-583.

82. Hilliard, B.A., et al., *Force dependent effects of chronic overuse on fibrosis-related genes and proteins in skeletal muscles*. Connect Tissue Res, 2021. **62**(1): p. 133-149.
83. Pandya, K., H.S. Kim, and O. Smithies, *Fibrosis, not cell size, delineates beta-myosin heavy chain reexpression during cardiac hypertrophy and normal aging in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(45): p. 16864-9.
84. An, D., et al., *Alpha-ketoglutarate ameliorates pressure overload-induced chronic cardiac dysfunction in mice*. Redox Biol, 2021. **46**: p. 102088.
85. Wang, F., et al., *Silica nanoparticles induce pyroptosis and cardiac hypertrophy via ROS/NLRP3/Caspase-1 pathway*. Free Radic Biol Med, 2022. **182**: p. 171-181.
86. Cobb, S.R., *Examination of class I, class II, normals and colour defectives on exchange threshold colorimeter and analytical anomaloscope*. Mod Probl Ophthalmol, 1978. **19**: p. 333-5.
87. O'Donnell, M., et al., *Urinary sodium and potassium excretion, mortality, and cardiovascular events*. N Engl J Med, 2014. **371**(7): p. 612-23.
88. Mente, A., et al., *Urinary sodium excretion, blood pressure, cardiovascular disease, and mortality: a community-level prospective epidemiological cohort study*. Lancet, 2018. **392**(10146): p. 496-506.
89. Meneely, G.R. and C.O. Ball, *Experimental epidemiology of chronic sodium chloride toxicity and the protective effect of potassium chloride*. Am J Med, 1958. **25**(5): p. 713-25.
90. Ardiles, L.G., et al., *Modulation of renal kallikrein by a high potassium diet in rats with intense proteinuria*. Kidney Int, 2006. **69**(1): p. 53-9.
91. Cardenas, A., et al., *Up-regulation of the kinin B2 receptor pathway modulates the TGF-beta/Smad signaling cascade to reduce renal fibrosis induced by albumin*. Peptides, 2015. **73**: p. 7-19.
92. Ellis, D., et al., *Potassium supplementation attenuates experimental hypertensive renal injury*. J Am Soc Nephrol, 1992. **2**(10): p. 1529-37.
93. Dietz, R., et al., *Modulation of sympathetic vasoconstriction by potassium*. J Cardiovasc Pharmacol, 1984. **6 Suppl 1**: p. S230-5.
94. Zhou, M.S., H. Kosaka, and H. Yoneyama, *Potassium augments vascular relaxation mediated by nitric oxide in the carotid arteries of hypertensive Dahl rats*. Am J Hypertens, 2000. **13**(6 Pt 1): p. 666-72.
95. Wang, W., et al., *Renal inflammation is modulated by potassium in chronic kidney disease: possible role of Smad7*. Am J Physiol Renal Physiol, 2007. **293**(4): p. F1123-30.
96. Shrestha, A., R.C. Che, and A.H. Zhang, *Role of Aldosterone in Renal Fibrosis*. Adv Exp Med Biol, 2019. **1165**: p. 325-346.
97. Arima, S., et al., *Nongenomic vascular action of aldosterone in the glomerular microcirculation*. J Am Soc Nephrol, 2003. **14**(9): p. 2255-63.
98. Blasi, E.R., et al., *Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats*. Kidney Int, 2003. **63**(5): p. 1791-800.
99. Brown, N.J., *Contribution of aldosterone to cardiovascular and renal inflammation and fibrosis*. Nat Rev Nephrol, 2013. **9**(8): p. 459-69.
100. Iimura, O., et al., *Studies on the hypotensive effect of high potassium intake in patients with essential hypertension*. Clin Sci (Lond), 1981. **61 Suppl 7**: p. 77s-80s.
101. Robinson, A.T., D.G. Edwards, and W.B. Farquhar, *The Influence of Dietary Salt Beyond Blood Pressure*. Curr Hypertens Rep, 2019. **21**(6): p. 42.
102. Stolarz-Skrzypek, K., et al., *Sodium and potassium and the pathogenesis of hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2013. **15**(2): p. 122-30.

103. Shibata, S., et al., *Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway*. J Clin Invest, 2011. **121**(8): p. 3233-43.
104. Arnett, D.K., et al., *2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines*. Circulation, 2019. **140**(11): p. e596-e646.
105. Nagase, M., et al., *Oxidative stress causes mineralocorticoid receptor activation in rat cardiomyocytes: role of small GTPase Rac1*. Hypertension, 2012. **59**(2): p. 500-6.
106. Aikawa, R., et al., *Rho family small G proteins play critical roles in mechanical stress-induced hypertrophic responses in cardiac myocytes*. Circ Res, 1999. **84**(4): p. 458-66.
107. Shibata, H. and H. Itoh, *Mineralocorticoid receptor-associated hypertension and its organ damage: clinical relevance for resistant hypertension*. Am J Hypertens, 2012. **25**(5): p. 514-23.
108. Kitada, K., et al., *Oxidative stress-induced glomerular mineralocorticoid receptor activation limits the benefit of salt reduction in Dahl salt-sensitive rats*. PLoS One, 2012. **7**(7): p. e41896.
109. Nagata, K., et al., *Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and failure in low-aldosterone hypertensive rats*. Hypertension, 2006. **47**(4): p. 656-64.
110. van Dronkelaar, C., et al., *Minerals and Sarcopenia; The Role of Calcium, Iron, Magnesium, Phosphorus, Potassium, Selenium, Sodium, and Zinc on Muscle Mass, Muscle Strength, and Physical Performance in Older Adults: A Systematic Review*. J Am Med Dir Assoc, 2018. **19**(1): p. 6-11 e3.
111. Lee, Y.J., et al., *Potassium intake, skeletal muscle mass, and effect modification by sex: data from the 2008-2011 KNHANES*. Nutr J, 2020. **19**(1): p. 93.
112. Wang, X., et al., *Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling*. Endocrinology, 2006. **147**(9): p. 4160-8.
113. Chatterjee, R., et al., *Potassium intake and risk of incident type 2 diabetes mellitus: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study*. Diabetologia, 2012. **55**(5): p. 1295-303.
114. Lu, H.B., *[Improved preparation of hepatitis syrup]*. Zhong Yao Tong Bao, 1985. **10**(3): p. 29.
115. Kuwahara, K., *The natriuretic peptide system in heart failure: Diagnostic and therapeutic implications*. Pharmacol Ther, 2021. **227**: p. 107863.
116. He, F.J., et al., *Effects of potassium chloride and potassium bicarbonate on endothelial function, cardiovascular risk factors, and bone turnover in mild hypertensives*. Hypertension, 2010. **55**(3): p. 681-8.
117. He, F.J. and G.A. MacGregor, *Beneficial effects of potassium on human health*. Physiol Plant, 2008. **133**(4): p. 725-35.
118. Shenasa, M. and H. Shenasa, *Hypertension, left ventricular hypertrophy, and sudden cardiac death*. Int J Cardiol, 2017. **237**: p. 60-63.
119. Ba, L., et al., *Allicin attenuates pathological cardiac hypertrophy by inhibiting autophagy via activation of PI3K/Akt/mTOR and MAPK/ERK/mTOR signaling pathways*. Phytomedicine, 2019. **58**: p. 152765.
120. Yuan, M., et al., *Sinomenine ameliorates cardiac hypertrophy by activating Nrf2/ARE signaling pathway*. Bioengineered, 2021. **12**(2): p. 12778-12788.

## 7 Danksagung

Zum Abschluss bedanke ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe *Experimentelle Nephrologie* und zuvorderst bei meinem Betreuer, Professor Stegbauer, der mich in die spannende Welt der Wissenschaft eingeführt hat.

Des Weiteren liegt es mir sehr am Herzen, mich bei meiner gesamten Familie – inklusive Schwager, Schwägerin und allen Neffen und Nichten – zu bedanken: Im Besonderen bei meinen Eltern, die stets für mich da waren und in jedweder Weise den Rücken freigehalten haben, meinen Schwestern, die mich in ihrer Selbstständigkeit und liebevollen Art, ihre Familien zu führen, beeindrucken und meinem Bruder, der mir nicht nur in beruflicher Hinsicht ein Vorbild ist. In diesem Sinne: „*Nunc est bibendum*“.