

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität

Tübingen

Abteilung Pharmakologie und Experimentelle Therapie

Direktor: Professor Dr. H. Oßwald

**Die aminosäurenbedingte glomeruläre Hyperfiltration in
gesunden Probanden:
Rolle der D₂-Rezeptor Antagonisten**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
ANDREEA OLIVIA STEFANESCU
aus Kronstadt

2007

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter: Professor Dr. B. Mühlbauer
2. Berichterstatter: Professor Dr. T. Risler

*Meiner Omy - In unendlicher Liebe,
sowie meinen Eltern - in Dankbarkeit und Verbundenheit.*

INHALT

1	EINLEITUNG	1
1.1	Gegenstand der Arbeit	1
1.2	Bisheriger Kenntnisstand	1
1.2.1	Renales Dopamin und Dopaminrezeptoren	1
1.2.1.1	Dopamin als vasoaktive Substanz	1
1.2.1.2	Dopaminrezeptoren	2
1.2.1.3	Renales Dopamin	2
1.2.2	Dopamin Antagonisten	6
1.2.3	Funktionelle Daten der aminosäurenbedingten Hyperfiltration	7
1.2.3.1	Daten aus Tierexperimenten	8
1.2.3.2	Daten aus Humanversuchen	10
1.2.4	Diabetische Hyperfiltration	12
1.3	Eigene Fragestellung	14
2	MATERIAL UND METHODEN	15
2.1	Probanden	15
2.1.1	Demographische Daten	15
2.1.2	Eingangs- und Abschlussuntersuchung	16
2.1.3	Einschluss- und Ausschlusskriterien	16
2.2	Durchführung der klinischen Studie	17
2.2.1	Design der Studie	17
2.2.1.1	Clearance-Untersuchungen	17
2.2.1.2	Medikamente, Infusionssubstanzen und Lösungen	20
2.2.2	24-Stunden-Urin	22
2.3	Analytik	23
2.3.1	Herstellung der Reagenzien	23
2.3.2	Probenaufbereitung	24
2.3.3	Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)	24
2.3.4	Bestimmung des renalen Plasmaflusses (RPF)	25
2.3.5	Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen	25
2.3.6	Bestimmung der Osmolalität in Plasma und Urin	26
2.3.7	Messung der Blutdruck- und Herzfrequenz	26

2.3.8	Bestimmung der Dopaminkonzentration im Urin	26
2.3.8.1	Probenvorbereitung und Extraktion	26
2.3.8.2	Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie.....	28
2.3.9	Bestimmung der Kreatininkonzentration.....	28
2.4	Berechnungen und Statistik	29
2.4.1	Berechnete Daten	29
2.4.1.1	Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)	29
2.4.1.2	Renaler Plasmafluss (RPF)	29
2.4.1.3	Renaler Blutfluss (RBF).....	30
2.4.1.4	Filtrationsfraktion (FF)	30
2.4.1.5	Natriumausscheidung ($U_{Na}V$)	30
2.4.1.6	Fraktionelle Natriumausscheidung (FE_{Na})	31
2.4.1.7	Dopaminausscheidung	31
2.4.1.8	Kreatinin-Clearance.....	31
2.4.1.9	Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP).....	32
2.4.2	Statistik.....	32
3	ERGEBNISSE.....	33
3.1	24-h-Sammelurin.....	33
3.1.1	Daten der Protein- und Volumenaufnahme.....	33
3.1.2	Sammelurinmessungen.....	33
3.1.2.1	Urinzeitvolumen.....	33
3.1.2.2	Elektrolytausscheidung im Urin	34
3.1.2.3	Osmolalität	34
3.1.2.4	Dopaminausscheidung	34
3.1.2.5	Kreatinin-Clearance.....	34
3.2	Ergebnisse der Clearance-Untersuchungen	36
3.2.1	Blutdruck und Herzfrequenz.....	36
3.2.2	Hämodynamik der Niere.....	37
3.2.2.1	Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)	37
3.2.2.2	Renaler Plasmafluß (RPF)	37
3.2.2.3	Filtrationsfraktion (FF)	38
3.2.3	Urinmesswerte	40

3.2.3.1	Urinzeitvolumen.....	40
3.2.3.2	Elektrolyte.....	40
3.2.3.3	Dopaminausscheidung.....	41
3.2.3.4	Urinosmolalität.....	41
4	DISKUSSION.....	43
4.1	Renale Hämodynamik.....	43
4.2	Die tubuläre Ausscheidungsfunktion und die aminosäurenbedingte glomeruläre Hyperfiltration.....	51
4.3	Diabetes mellitus und die pathologische Hyperfiltration der Niere.....	55
4.4	Schlussfolgerung aus der vorliegenden Arbeit.....	57
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	59
6	ANHANG.....	60
6.1	Literaturverzeichnis.....	60
6.2	Probandeninformation.....	72
6.3	Einverständniserklärung.....	75
6.4	Deklaration des Ärztbundes von Helsinki.....	76
6.5	Medikamenten-Fachinformationen der Hersteller.....	82
6.5.1	Domperidon.....	82
6.5.2	Sulpirid.....	84

1 EINLEITUNG

1.1 Gegenstand der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beteiligung der Rezeptoren der Dopamin D₂-Familie an der Regulation der Nierenfunktion untersucht. An gesunden Probanden wurde geprüft, ob eine durch Aminosäureinfusion bedingte Änderung der renalen Hämodynamik durch zwei unterschiedliche Dopamin D₂-Antagonisten zu beeinflussen ist. Außerdem wurde der Effekt dieser beiden Antagonisten auf die Dopamin- und Elektrolytausscheidung im Urin nach Infusion von Aminosäuren untersucht.

1.2 Bisheriger Kenntnisstand

1.2.1 Renales Dopamin und Dopaminrezeptoren

1.2.1.1 Dopamin als vasoaktive Substanz

Dopamin (3,4-Dihydroxy- β -phenylamin) ist ein Katecholamin, das in adrenergen und dopaminergen Neuronen, im Nebennierenmark und in den Zellen des proximalen Tubulus der Niere (Mühlbauer et Oßwald, 1994) gebildet wird. Als Ausgangssubstanz hierfür dient die größtenteils durch die Nahrung aufgenommene und zum Teil aus L-Phenylalanin durch Hydroxylierung synthetisierte Aminosäure L-Tyrosin. Durch die Tyrosin-Hydroxylase wird L-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) gebildet, welches in einem weiteren Schritt durch die L-Aminosäuren-Decarboxylase (L-AADC) zu Dopamin hydroxyliert wird. Dopamin dient weiterhin als Zwischenprodukt der Noradrenalin- und Adrenalin-synthese (Löffler et Petrides, 2003).

1.2.1.2 Dopaminrezeptoren

Die Dopaminrezeptoren lassen sich in die Familien vom D₁-Typ bzw. D₂-Typ einteilen, die unterschiedliche Subtypen besitzen. Die D₁-Familie beinhaltet D₁ und D₅(bei Menschen)/D_{1b}(bei Ratten) Rezeptorsubtypen, während die D₂-Typ Familie D₂, D₃ und D₄ Subtypen aufweist (Civelli et al., 1993; Sokoloff und Schwartz, 1995; siehe Übersicht von: Missale et al., 1998). Alle fünf Rezeptorsubtypen lassen sich im zentralen Nervensystem nachweisen. In der Peripherie sind ebenso zwei Rezeptorunterfamilien (DA₁ und DA₂) mit ihren Subtypen gefunden worden. Es ist noch nicht vollständig gesichert, ob die peripheren und die zentralen Dopaminrezeptoren identisch sind (Jose et al., 1992). Aufgrund dessen wird in der vorliegenden Arbeit nur von den D₁- bzw. D₂-Rezeptoren gesprochen.

Eine wichtige Rolle in der Peripherie wird den renalen Dopaminrezeptoren zugesprochen. Sie befinden sich im proximalen Tubulus, im Nierenmark und in den Arteriolen. Die Aktivierung der D₁-Rezeptoren soll eine renale Vasodilatation, Diurese und Natriurese bewirken. Eine Stimulation der D₂-Rezeptoren führt zu einer Änderung der renalen Hämodynamik, wobei sowohl eine Zu- als auch eine Abnahme derselben beobachtet wurde. (Mühlbauer, Luippold, diverse Arbeiten, Jose et al., 1992)

1.2.1.3 Renales Dopamin

Schon lange wurde vermutet, dass das mit dem Urin in großer Menge ausgeschiedene Dopamin (Alexander et al., 1974) nicht allein filtriert werden kann, sondern auch in der Niere selbst produziert werden muss, da die Plasmakonzentration viel niedriger ist als die Dopaminkonzentration im Urin (Stephenson et al., 1982). Unterstützt wurde diese Vermutung durch die Beobachtung, dass bei Ratten trotz aufgehobener renaler Innervation die gleiche Menge an Dopamin mit dem Urin ausgeschieden wurde (Bains et al., 1984; Kambara et al., 1987; Mühlbauer und Oßwald, 1994). Die renalen

Nervenendigungen scheiden somit als Hauptquelle für das Dopamin im Urin aus. Nach Gabe von L-DOPA steigt die Dopaminausscheidung im Urin an (Suzuki et al., 1984; Barthelmebs et al., 1990; Mühlbauer et al., 1995). Hingegen senkt die Verabreichung von Benserazid, einem AADC-Inhibitor, die Dopaminausscheidung im Urin (Suzuki et al., 1984; Mühlbauer und Oßwald, 1993). Diese experimentellen Befunde gaben Anlass zur Vermutung, dass Dopamin in der Niere selbst synthetisiert werde. Nachdem in in vitro-Versuchen gezeigt wurde, dass Nierengewebe L-DOPA in Dopamin umwandeln kann (Bains und Chan, 1980; Hagege und Richet, 1985), liegt die Vermutung nahe, dass das im Urin ausgeschiedene Dopamin in der Niere selbst aus filtriertem L-DOPA gebildet wird. Hagege und Richet (1985), Goldstein et al. (1988) sowie Hayashi et al. (1990) wiesen eine hohe Aktivität der L-Aminosäure-Decarboxylase in Tubuluszellen mit einem Maximum im proximalen Konvolut nach. Dies scheint somit der Ort der Umwandlung des L-DOPA in das Dopamin in der Niere zu sein (Übersicht von Lee, 1982).

Die Funktion des endogenen Dopamins als natriuretischer Faktor (Aperia et al., 1987, Siragy et al., 1989) scheint von bestimmten Bedingungen wie z.B. Salz- oder Volumenbelastung abhängig zu sein (Jose et al., 1993; Aperia et al., 1994). Dennoch zeigten mehrere Untersuchungen (Bains et Chan, 1980; Sato et al., 1987; Mühlbauer und Oßwald, 1992 und 1994) an unterschiedlich mit Salz beladenen Ratten, dass zwischen der erhöhten Natrium- und Dopaminausscheidung und der Natriumzufuhr kein Zusammenhang besteht. Die Dopaminausscheidung ist eher von der Nahrungsaufnahme als von der Salzaufnahme abhängig. So führt z.B. eine proteinreiche Mahlzeit beim Menschen zu einer erhöhten Dopaminausscheidung (Williams et al., 1986; Clark et al., 1992). Eine erhöhte Dopaminausscheidung nach Tyrosin- und Phenylalaningabe wurde unabhängig von der Applikationsart (oral, intraperitoneal und intravenös) an Ratten gezeigt (Young et al., 1985; Agharanya und Wurtmann, 1982; Mühlbauer et al., 1997a). Zwischen der Dopaminausscheidung und einer Volumenbelastung wurde in Rattenversuchen

ein positiver Zusammenhang nachgewiesen (Hedge et Lokhandwala, 1989; Hansell und Fasching, 1991).

Die renalen Effekte intravenös zugeführten Dopamins sind gut erforscht: Es erhöht die glomeruläre Filtrationsrate (GFR), den renalen Blutfluß (RBF), die Diurese und Natriurese (Hoffmann und Lefkowitz, 1990). Über welche Mechanismen diese Effekte vermittelt werden, ist noch nicht genau geklärt. In niedriger Konzentration entfaltet Dopamin seine Wirkung auf Dopaminrezeptoren und mit steigender Konzentration dann auf β - und schließlich auch auf α_1 -Adrenozeptoren (Goldberg, 1972; Goldberg und Kohli, 1983).

Als Folge des herabgesetzten Gefäßwiderstandes soll Dopamin – vermutlich via periphere D₁-Rezeptoren – bei niedriger (dopaminerger) Dosierung von 0,5 bis 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ eine Vasodilatation bewirken – bevorzugt in den renalen und mesenterialen Gefäßen, wo D₁-Rezeptoren nachgewiesen wurden. Der renale Blutfluss (RBF) und die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nehmen zu. Ebenso kommt es zu einer Diurese und Natriurese. Diese Effekte konnten teilweise durch Dopamin Agonisten hervorgerufen bzw. durch Antagonisten gehemmt werden. Der Dopamin Agonist Z-1046 wurde beschrieben als Ligand mit höherer Affinität zu Rezeptoren der D₂-Familie als zu Rezeptoren der D₁-Familie (Jose et al., 1998). Eine durch diesen Dopamin Agonisten hervorgerufene Vasodilatation konnte durch den D₁-Rezeptor Antagonisten SCH-23390 gehemmt werden, während der D₂-Rezeptor Antagonist Domperidon keine Wirkung zeigte. Entgegengesetzt hemmte Domperidon ebenso wie SCH-23390 die Natriurese und Diurese (Mühlbauer, 1996; Jose et al., 1992; Missale et al., 1998).

Die dopaminbedingte Natriurese wurde auch unabhängig von einer GFR Veränderung beobachtet. Die Annahme eines tubulären Mechanismus (Inhibition der tubulären Natrium Rückresorption) wurde unterstützt, als in vitro Experimente zeigten, dass Dopamin die Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und auch des $\text{Na}^+\text{-H}^+\text{-Antiporters}$ in isolierten Bürstensaummembranen proximaler Tubuluszellen hemmte (Aperia et al., 1987; Felder et al., 1990). Bislang konnte

nicht geklärt werden, ob dieser Mechanismus auch unter physiologischen Bedingungen herrscht.

Bei mittlerer Dosis wirkt Dopamin positiv inotrop durch Stimulation der β_1 -Rezeptoren am Herzen und durch Bindung an β_2 -Rezeptoren wird der periphere Gefäßwiderstand herabgesetzt. Die renalen Effekte zeigen sich in einer Verstärkung der tubulären Natrium Reabsorption mit folgender Antidiurese. Die GFR und der RBF werden kaum beeinflusst. (Puschett and Winaver, 1992)

Mit steigender Dosierung über 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ bewirkt Dopamin durch Bindung an α_1 -Rezeptoren eine Vasokonstriktion, was eine Abnahme der renalen Hämodynamik bewirkt. Die erhöhte Natrium Reabsorption verstärkt den antidiuretischen Effekt (Goldberg und Kohli, 1983; Puschett and Winaver, 1992).

Auch wenn niedrig dosiertes Dopamin als Prophylaxe und Therapie des akuten Nierenversagens und der Myokardinsuffizienz eingesetzt wird, wird die Verwendung heutzutage nicht mehr empfohlen (Mühlbauer, 1996; Thadhani et al., 1996; Kindgen-Milles et al., 1997, Debaveye YA und Van den Berghe GH, 2004). Außerdem wurden in mehreren Studien unerwünschte Effekte des Dopamin nachgewiesen: erhöhte Arrhythmogenität, Erhöhung des intrapulmonalen Shunts mit Abfall der arteriellen Sauerstoffspannung, Umverteilung des nutritiven Blutflusses weg von der Darmmukosa hin zur Muscularis, Senkung des Trijodthyronin, Senkung des Prolaktinspiegels mit konsekutivem Abfall der Lymphozyten- und Makrophagenfunktionen (Debaveye YA und Van den Berghe GH, 2004). Darüber hinaus konnte die lange geforderte Nierenprotektion bei niedriger Dopamindosierung nicht nachgewiesen werden (Meier-Hellmann A et al., 2000). Dennoch wird Dopamin weiterhin als wichtiges Medikament für akute Interventionen genutzt werden, denn nach menschlichem Ermessen bleibt es zwischen Nutzen und Risiko abzuwägen.

1.2.2 Dopamin Antagonisten

Die beschriebenen renalen Effekte des Dopamins lassen sich durch Dopaminrezeptor-Agonisten simulieren und durch Antagonisten hemmen. Es sind nicht selektive, partiell selektive und selektive Agonisten und Antagonisten verfügbar.

Innerhalb der Rezeptoren der D₁-Familie verhalten sich die Agonisten – wie beispielsweise SCH-23390 oder Fenoldopam=SKF 82526 – an beiden bekannten Rezeptor Subtypen fast gleich, während Dopamin selbst eine ca. zehnfach höhere Affinität zu D₅ als zu D₁-Rezeptoren zeigt (Sunahara et al., 1991; Übersicht von Missale et al., 1998).

In der Familie der D₂-Rezeptoren hat Dopamin eine etwa 20-fach höhere Affinität zu D₃ als zu D₂-Rezeptoren. Bekannt sind Agonisten, die eine ähnliche Wirkung auf D₂ und D₃-Rezeptoren zeigen, so z.B. Apomorphin und Bromocriptin. Hingegen haben beispielsweise die Agonisten Quinpirol und 7-OH-DPAT (R(+)-7-hydroxy-dipropylaminotetraline) 100-fach höhere Affinität zu D₃ als zu D₂-Rezeptoren (Levesque et al., 1992; Missale et al., 1998).

Einige als Neuroleptika eingesetzte Dopamin Antagonisten wie Haloperidol und Spiperon zeigen eine bis zu 20-fach höhere Affinität zu D₂-Rezeptoren, andere wie Sulpirid und Racloprid zeigen kaum Unterschiede in der Wirkung an D₂ bzw. D₃-Rezeptoren. Clozapin gilt als atypischer Dopamin Antagonist, der aufgrund der spezifischen Affinität zu D₄-Rezeptoren sehr gerne zur Unterscheidung der drei Subtypen der D₂-Rezeptor Familie eingesetzt wird. Sulpirid zeigt als einziger Antagonist keine Unterschiede in allen drei Rezeptoren D₂, D₃ und D₄ der D₂-Rezeptor Familie (Sokoloff et al., 1990, Übersicht von Missale et al. 1998). Domperidon, ein peripher wirksamer Antagonist der D₂-Rezeptorfamilie, passiert die Blut-Hirn-Schranke nicht (Laduron and Leysen, 1979). Er zeigt eine hohe Affinität zu den peripheren D₂-Rezeptoren (Huo und Healy, 1991).

1.2.3 Funktionelle Daten der aminosäurenbedingten Hyperfiltration

Seit langem ist bekannt, dass Proteinzufuhr zu einem Anstieg der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und des renalen Blutflusses (RBF) führt. Dies wurde sowohl in Tierexperimenten (Shannon et al., 1932; Premen et al., 1985) als auch in Probandenstudien (Hostetter, 1986; Bosch et al., 1986) nachgewiesen. Die Infusion von Aminosäuren, den Bausteinen der Proteine, bewirkt eine entsprechende Veränderung der GFR wie die Proteinzufuhr (Lee, 1982; Graf et al., 1983; Premen et al., 1989; Castellino et al., 1990). Der Mechanismus hierfür ist bisher nicht ausreichend verstanden.

Als Mediator der aminosäurenbedingten Hyperfiltration wurden verschiedene Substanzen vorgeschlagen: EDRF (endothelium derived relaxing factor), Prostaglandine, Insulin, Glukagon, IGF-1 (insuline-like growth factor), Wachstumshormone oder intrarenale Mechanismen wie der tubulo-glomeruläre Feedback (Wada et al., 1991; Woods, 1993). Als weiterer hormoneller Regulator der renalen Hämodynamik wurde Dopamin, das aus den Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin synthetisiert wird, vorgeschlagen.

Seitdem bekannt ist, dass die Proteinzufuhr erheblich die renale Hämodynamik beeinflusst (Hostetter et al., 1981 und 1986; Rosenberg et al., 1987, De Keijzer et al., 1990; Buckalew et al., 1994; Anonymous, 1996; Zarazaga et al., 2001), hat die Forschung über die aminosäureninduzierten Änderungen der renalen Hämodynamik an klinischer Relevanz gewonnen. Beispielsweise konnte gezeigt werden, dass eine Proteinrestriktion das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie verlangsamt (Walker et al., 1989; Zeller et al., 1991; Waugh et al., 2000; Mogensen, 2001).

1.2.3.1 Daten aus Tierexperimenten

Die mögliche Rolle des Dopamins als Mediator der renalen Hämodynamik wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht. 1985 zeigten Frederickson et al. an Hunden, dass SCH23390 (spezifischer D₁-Rezeptor Antagonist) im Gegensatz zu Domperidon (spezifischer, peripher wirkender D₂-Rezeptor Antagonist) die dopamininduzierte Steigerung der renalen Hämodynamik vollständig hemmt.

Überraschenderweise zeigten Mendez et al. 1991 augenscheinlich gegensätzliche Befunde. In Experimenten an narkotisierten Ratten war der Anstieg der renalen Hämodynamik um ca. 28% durch eine Aminosäureninfusion durch Gabe des

D₁-Antagonisten SCH23390 nicht signifikant beeinflusst, jedoch durch den D₂-Antagonisten S-Sulpirid komplett gehemmt. Nach einseitiger renaler Denervierung blieb der bei der kontralateralen innervierten Niere beobachtete aminosäurenbedingte Anstieg der renalen Hämodynamik ganz aus. Nach diesen Befunden scheint die Niereninnervation an der aminosäureninduzierten Hyperfiltration der Niere wesentlich beteiligt zu sein.

Die Hypothese, Dopaminrezeptoren der D₂-Familie könnten an der Regulation der renalen Hämodynamik beteiligt sein, verfolgten auch Mühlbauer et al., 1994. In Experimenten an narkotisierten Ratten konnte die bekannte durch Aminosäureninfusion bedingte Erhöhung der GFR und der Dopaminausscheidung gezeigt werden. Benserazid, ein Dopaminsynthese-Hemmer, senkte die Dopaminkonzentration im Urin unter die Nachweisgrenze und unterdrückte den GFR-Anstieg. Der D₁-Antagonist SCH23390 hatte weder einen Einfluss auf die aminosäureninduzierte Hyperfiltration, noch auf die erhöhte Dopaminausscheidung, während mit dem D₂-Antagonist S-Sulpirid der GFR Anstieg ausblieb, die Dopaminausscheidung jedoch unverändert anstieg. Diese Ergebnisse begründeten die Hypothese, dass Dopamin in der Niere zwar an der Regulation der aminosäurenbedingten Hyperfiltration beteiligt ist, nicht aber das mit dem Urin ausgeschiedene Dopamin.

So wurde in weiteren Experimenten an narkotisierten Ratten beobachtet, dass die Aminosäureinfusion zu einer Steigerung der GFR führt, zu einer Steigerung der Dopaminausscheidung aber nur, wenn Tyrosin enthalten ist. Im Gegensatz dazu stieg die GFR bei Infusion von Tyrosin nicht an, während die Dopaminausscheidung anstieg. Sobald Ratten einer chronischen bilateralen Denervierung der Nieren unterzogen worden waren, zeigte sich eine komplette Hemmung der aminosäureinduzierten Hyperfiltration unabhängig davon, ob L-Tyrosin mitinfundiert wurde oder nicht. Die erhöhte Dopaminausscheidung in Anwesenheit von L-Tyrosin zeigte sich unabhängig von der Innervierung (Mühlbauer et al., 1997).

Diese Ergebnisse unterstützten die Daten von Mendez et al. und verdeutlichen, dass einerseits die Niereninnervation und andererseits D₂-dopaminerge Mechanismen die renale Antwort auf Aminosäureinfusion modulieren, und zwar unabhängig von dem mit dem Urin ausgeschiedenen Dopamin.

Auch für den D₃-Rezeptor konnten solche Beobachtungen gemacht werden. Der D₃-Agonist 7-OH-DPAT bewirkte eine Steigerung der GFR, am ehesten verursacht durch eine postglomeruläre Vasokonstriktion. Diese Änderung der renalen Hämodynamik ließ sich durch Antagonisten der D₂-Rezeptorfamilie wie S-Sulpirid nicht unterdrücken, während der selektive D₃-Rezeptor Antagonist U-99194A (5, 6-dimethoxy-2-(di-n-propylamino) indan) die D₃-Agonist-vermittelte Hyperfiltration komplett hemmte (Luippold et al., 1998, 2000).

Die an narkotisierten Ratten vollständige, sowie die an isolierten Rattennieren (el Sayed et al., 1992) partielle Hemmung der aminosäureinduzierten Hyperfiltration durch S-Sulpirid, stärkte die Hypothese, dass Rezeptoren der D₂-Familie bei der renalen Hämodynamik beteiligt sein könnten (Mendez et al., 1991; Mühlbauer et al., 1993, 1997, 1998; Luippold et al., 1998). Luippold und Mühlbauer (1998) zeigten in weiteren Experimenten, dass der D₂-Rezeptor Agonist Quinpirol bei Ratten quantitativ die gleiche Hyperfiltration verursachte wie eine Aminosäureinfusion. Der zentral und peripher wirksame D₂-Rezeptor-Antagonisten S-Sulpirid unterdrückte den GFR-Anstieg nach Quinpirol

komplett, während das nur peripher wirksame Domperidon nur partiell die Hyperfiltration unterdrückte.

1.2.3.2 Daten aus Humanversuchen

Der Einfluss einer proteinreichen Nahrungsaufnahme auf den GFR Anstieg wurde – wie oben erwähnt – an gesunden Probanden bereits früher gezeigt (Pullman et al. 1954, Bosch et al., 1986). Sowohl bei Probanden, als auch bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung und dadurch niedriger GFR wurde direkt nach dem Verzehr von Proteinen in Form von Fleisch (2g/kg KG) ein Anstieg der GFR um ca. 30% beobachtet (de Santo et al., 1997).

Auch Aminosäureinfusionen verursachten an gesunden Probanden die gleichen Veränderungen der renalen Hämodynamik (Graf et al., 1983; Castellino et al., 1990; Tietze et al., 1992). Hierbei wurde sowohl einem Gemisch aus glukoneogenetischen Aminosäuren (Castellino et al., 1990), als auch einzelnen Aminosäuren alleine, wie z.B. Alanin (Nair et al., 1994), die Auslösung der Hyperfiltration zugeschrieben. Giordano et al. zeigten dann 1994, dass die Antwort der renalen Hämodynamik auf eine Aminosäureinfusion dosisabhängig ist.

Da die Ergebnisse der Tierexperimente einen dopaminergen Mechanismus bei der aminosäurebedingten Hyperfiltration der Niere vermuten lassen, wurde diese Idee auch in Probandenstudien weiterverfolgt. Die hämodynamischen Effekte des Dopamins sind seit langem bekannt und wurden früher auch therapeutisch ausgenutzt (siehe 1.2.1). So steigert in niedriger Dosis exogenes Dopamin den renalen Blutfluss (RBF) dosisabhängig mit einem Maximum bei 3 µg/kg/min. (McDonald et al., 1964; Übersicht von Olsen, 1998). Aufgrund ungünstiger Daten aus kontrollierten klinischen Studien ist die nierenspezifische Therapie mit Dopamin inzwischen jedoch obsolet (Meier-Hellmann A et al., 2000; Debaveye YA und Van den Berghe GH, 2004).

Die Berichte zu den durch Dopamin verursachten renalen Funktionsänderungen beim Menschen sind heterogen. Der Dopaminrezeptor Antagonist Metoclopramid bindet in hohen Konzentrationen sowohl an D₁- als

auch an D₂-Rezeptoren; hochdosiert senkte er den renalen Plasmafluss (RPF) (Israel et al., 1986). Hingegen zeigte niedrig dosiertes Metoclopramid, das nur an D₂-Rezeptoren bindet, keine Wirkung auf die renale Hämodynamik (Blumberg et al., 1988). MacDonald et al. berichteten 1991 weder für das zentral wirkende Metoclopramid noch für das nur peripher wirkende Domperidon eine relevante Antagonisierung der durch Dopamininfusion (2 µg/kg/min) induzierten Steigerung der renalen Hämodynamik und der Dopaminausscheidung im Urin. In einer anderen Studie senkte jedoch Domperidon den RBF bei normaler bzw. niedriger Salzzufuhr nach einer dreistündigen Vorinfusion von Dopamin (1 µg/kg/min) (Bughi et al., 1994).

Nach proteinreicher Nahrungsaufnahme konnte die Zunahme der renalen Hämodynamik durch den DOPA-Decarboxylase Inhibitor Carbidopa nicht gesenkt werden. Eine postprandiale Zunahme der Dopaminausscheidung im Urin wurde nicht, wie aufgrund des damaligen Wissensstandes erwartet, beobachtet. (Thomas et al., 1994a)

Fliser et al. (1993) zeigten, dass die akute renale Vasodilatation als Reaktion auf Aminosäureinfusion – als die Funktionsreserve der Niere bekannt – bis ins hohe Alter von 80 Jahren bei gesunden Menschen nachzuweisen ist. Dabei liegen die Basalwerte der GFR und des RPF bei den älteren Probanden stets niedriger als bei den jungen. Die Filtrationsfraktion und der renale Gefäßwiderstand sind hingegen im Alter höher als bei jungen Probanden.

Aufgrund entsprechender Beobachtungen wurde die Hypothese formuliert, bei Patienten mit Nephropathien sei die Funktionsreserve der Niere erniedrigt oder fehle ganz (Bosch et al., 1984; Rodriguez-Iturbe et al., 1985). Diese Aussage wird jedoch nicht durch alle Autoren bestätigt (Zuccala et Zucchelli, 1990; ter Wee et al., 1991).

1.2.4 Diabetische Hyperfiltration

Im Verlauf eines Diabetes mellitus entwickeln sich eine glomeruläre Hypertension und Hyperfiltration. Im weiteren Verlauf kommt es zur Microalbuminurie, die als Vorhersage für die Entwicklung einer diabetischen Nephropathie gesehen werden kann (Mogensen et al., 1984), und zur Entwicklung einer arteriellen Hypertension. Gefolgt werden diese Symptome von Proteinurie, arterieller Hypertonie und Niereninsuffizienz mit GFR Abfall bis zum Nierenversagen (Maher JF, 1992; Schettler und Greten, 1998).

Dass die physiologische Steigerung der renalen Hämodynamik nach Aminosäureninfusion auch bei Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus vorhanden ist, zeigten Tuttle et al. (1991). Hierbei waren die hyperglykämischen Patienten unter Fasten normofiltrierend. Sie zeigten ein höheres Nierenvolumen und eine höhere hämodynamische Antwort auf die Aminosäureninfusion als gesunde Probanden. Diese Antwort war nach kurzfristiger Insulintherapie unverändert. Nach dreiwöchiger intensivierter Insulintherapie verhielt sich die aminosäurenbedingte renale Hyperfiltration bei den Patienten gleich wie bei den Probanden und das Nierenvolumen der Diabetiker sank auf ähnliche Werte der Gesunden, was als Einfluss der Glykämie auf die renale Hämodynamik interpretiert wurde.

Andere Untersuchungen an normofiltrierenden Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus zeigten eine der physiologischen Antwort entsprechende Reaktion der GFR auf eine Proteinaufnahme – unabhängig von der Dosis der vorhergehenden dreiwöchigen Proteinaufnahme oder dem Blutzuckerspiegel (Jones et al., 1992). Die renale Antwort auf proteinreicher Nahrungsaufnahme bei Typ I diabetischen Patienten scheint auch nicht von der Dosis der gleichzeitigen Salzbeladung abhängig zu sein (Lopes de Faria et al., 1997).

Bereits an Probanden wurde gezeigt, dass eine Proteinrestriktion zu einer Senkung der GFR führt (Viberti et al., 1987). Dass das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie durch proteinreiche Nahrung beschleunigt und durch eine niedrig dosierte Proteinaufnahme verlangsamt wird, wurde aufgrund unterschiedlicher Studien vorgeschlagen (Zeller et al, 1989):

Bei diabetischen Mäusen wurde unter unterschiedlich hoher Proteinzufuhr nachgewiesen, dass histologische Nierenveränderungen, Albuminurie und der pathologische GFR-Abfall mit der Höhe der Proteineinnahme zunahm bzw. sich beschleunigten (Brouhard et al., 1987).

Typ I Diabetiker ohne diabetische Nephropathie und Hypertension, d.h. in der Frühphase der renalen Krankheitsbeteiligung, zeigten eine höhere Kreatinin-Clearance als gesunde Probanden. Nach einwöchiger hoher Proteinzufuhr nahm in beiden Gruppen die renale Hämodynamik ähnlich stark zu, um dann deutlich nach niedriger Proteinaufnahme in beiden Gruppen ähnlich stark abzufallen. (Kupin et al., 1987)

Andere Studien zeigten bei Typ I Diabetikern einen geringeren GFR-Anstieg nach proteinreicher Nahrungsaufnahme als bei gesunden Probanden, wobei die GFR-Antwort direkt proportional zum Basalwert der GFR war und indirekt proportional zur Dauer des Diabetes (Fioretto et al., 1988). Hyperfiltrierende Diabetiker, die einer vorherigen normalen Proteinzufuhr ausgesetzt waren, reagierten nicht mit GFR-Änderungen. Waren die hyperfiltrierenden Diabetiker einer dreiwöchigen niedrigen Proteinaufnahme ausgesetzt, war die Funktionsreserve der Niere (physiologische Steigerung der GFR postprandial) wiederhergestellt. Dabei waren die Basalwerte der GFR sowohl bei den normofiltrierenden als auch bei den hyperfiltrierenden Patienten unter vorausgegangener Proteinrestriktion verringert (Jones et al., 1992).

Eine langjährige Proteinrestriktion bei insulinpflichtigen diabetischen Patienten mit persistierender Proteinurie scheint das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie zu verlangsamen (Zeller et al., 1991), unabhängig von Veränderungen in Hypertonie und Glykämie (Walker et al., 1989). Eine hauptsächlich vegetarische Ernährung scheint bereits einen in diesem Sinne nützlichen Effekt aufzuweisen (Jibani et al., 1991).

Ob die an gesunden Tieren beobachtete Hemmung der physiologischen aminosäureninduzierten Steigerung der renalen Hämodynamik durch einen dopaminergen Mechanismus auch bei diabetischen Tieren zu erreichen sei, wurde ebenfalls eruiert. Vor kurzem wurde in Untersuchungen an narkotisierten diabetischen Ratten beobachtet, dass der D₂-Rezeptor Antagonist Domperidon

die renale Hyperfiltration im Anfangsstadium des experimentellen Diabetes mellitus komplett hemmte (Luippold et al., 2001).

1.3 Eigene Fragestellung

Nachdem in zahlreichen Tierexperimenten gezeigt wurde, dass Rezeptoren der D₂-Familie an der Regulation der hämodynamischen Veränderungen der Niere beteiligt sind, sollte in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob dies auch auf den Menschen zutrifft. Hierfür wurde an gesunden Probanden untersucht, ob Sulpirid, ein zentral und peripher wirksamer D₂-Antagonist (O'Connor et Brown, 1982) oder Domperidon, ein nur peripher wirksamer D₂-Antagonist (Laduron and Leysen, 1979) die aminosäureinduzierte Steigerung der glomerulären Filtrationsrate und des renalen Plasmaflusses bewirken. Die klinische Relevanz dieser Fragestellung besteht in der diabetischen Nephropathie, bei der eine pathologische Hyperfiltration der Niere als beschleunigender Faktor bekannt ist. Eine antidopaminerge pharmakologische Hemmung der Hyperfiltration könnte neue Therapieperspektiven beinhalten.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Probanden

2.1.1 Demographische Daten

Die Studie wurde mit zwölf gesunden Erwachsenen (6 männlich, 6 weiblich) im Alter von 24 bis 38 Jahren durchgeführt. Das mittlere Körpergewicht betrug $78,5 \pm 4,8$ kg und der berechnete body mass index (BMI) betrug $25,3 \pm 0,8$ kg/m². (s. Tab.1)

TABELLE 1: *Probandencharakteristika: Probandenanzahl, Geschlecht, Alter, Körpergröße in cm, Körpergewicht in kg und body mass index (BMI) in kg/m².*

Proband Nr.	Geschlecht	Alter (Jahre)	Körperhöhe (cm)	Körperge- wicht (kg)	BMI (kg/m ²)
1	m	30	179	78	24
2	w	32	162	50	19
3	w	24	164	58	22
4	m	38	180	103	32
5	m	24	175	90	29
6	m	24	190	85	24
7	m	25	187	100	29
8	w	24	173	78	26
9	w	30	180	86	27
10	w	37	170	73	25
11	w	25	174	58	19
12	m	28	183	83	25
Verteilung: 6w, 6m					
Mittelwert \pm SEM		$28,4 \pm 1,5$	$176,4 \pm 2,5$	$78,5 \pm 4,8$	$25,1 \pm 3,9$

2.1.2 Eingangs- und Abschlussuntersuchung

Vor Beginn der Studie wurden die Probanden durch die Prüfarzte über das Wesen, Nutzen und Risiko der klinischen Studie aufgeklärt. Es wurde die Anamnese erhoben, gefolgt von einer kompletten körperlichen Untersuchung. Ebenso wurden das EKG dokumentiert und Laboruntersuchungen des Blutes und des Spontanurins durchgeführt. Diese Maßnahmen wurden vorgenommen, um chronische und akute Erkrankungen, die zu einem Ausschluss an der Teilnahme an der Studie geführt hätten, zu erkennen, und um Ausgangswerte für den Vergleich mit der Abschlussuntersuchung zu haben. Diese wurde am Ende der Studie durchgeführt. Hierbei wurden die Probanden nach unerwünschten Nebenwirkungen sowie Befindlichkeitsstörungen, die im Zusammenhang mit der klinischen Studie aufgetreten sein könnten, befragt. Es wurde eine erneute körperliche Untersuchung durchgeführt, der Blutdruck gemessen, sowie Blut und Urin auf pathologische Laborparameter untersucht.

2.1.3 Einschluss- und Ausschlusskriterien

An der Studie konnten sowohl männliche als auch weibliche gesunde Probanden im Alter zwischen 18 und 45 Jahren teilnehmen. Jede chronische oder akute (in den letzten zwei Wochen vor Beginn der Studie) organische, neurologische oder psychische Erkrankung musste ausgeschlossen sein. Ebenso durften keine Medikamente außer Antikonzeptiva eingenommen werden. Die weiblichen Probanden hatten über die Gesamtdauer der klinischen Studie für einen ausreichenden Konzeptionsschutz zu sorgen, bei Eintritt in die Studie wurde eine Schwangerschaft durch β -HCG-Test im Urin ausgeschlossen.

2.2 Durchführung der klinischen Studie

2.2.1 Design der Studie

Das Design der Studie war randomisiert, drei-armig, cross-over, Plazebo-kontrolliert, und doppelblind. Das Studienprotokoll mit der Probandeninformation (siehe 6.2 im Anhang) und der schriftlichen Einverständniserklärung (siehe 6.3 im Anhang) hatten der Ethikkommission der Universität Tübingen zur Begutachtung vorgelegen. Es wurde ein positives Votum abgegeben. Es wurde eine Probandenversicherung gemäß den gesetzlichen Bestimmungen abgeschlossen. Die Bestimmungen der Deklaration von Helsinki (siehe 6.4 im Anhang) wurden vollumfänglich eingehalten.

2.2.1.1 Clearance-Untersuchungen

Die Clearance-Untersuchungen fanden in der Probandenstation der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen statt. Die Probanden nahmen an drei Tagen im Abstand von je einer Woche an den Clearance-Untersuchungen teil.

Die Probanden erschienen am Morgen der Versuchstage nach 10-stündiger Nahrungskarenz in der Probandenstation. Zunächst wurden jedem Probanden zwei Venenverweilkatheter an den beiden Unterarmen gelegt. Der eine diente der Infusion, der andere der Blutentnahme.

Dann nahmen die Probanden die entsprechend dem Randomisierungsplan vorgesehenen Tabletten ein: Plazebo bzw. einen der D₂-Rezeptor Antagonisten Domperidon (1 mg/kg KG; Motilium[®], Byk Gulden, Konstanz) oder Sulpirid (10 mg/kg KG; Dogmatil forte[®], Synthelabo Arzneimittel GmbH, Puchheim) mit 150 ml Mineralwasser ein. Nach einer 15 minütigen Ruhephase folgten eine erste Blutentnahme und die erste Blasenentleerung für die Bestimmung der Ausgangswerte. Danach wurden zur Aufsättigung (Infusion A) über 30 Minuten folgende Lösungen infundiert (siehe Abb.1):

250 ml Gesamtlösung: 5%-ige Glucose-Lösung mit
 0.45 ml Inulin-Lösung/kg Körpergewicht
 0.075 ml Paraaminohippursäure-Lösung/kg Körpergewicht.

Währenddessen nahmen die Probanden ein kleines Frühstück (ein Brötchen und ein Obststück) ein. Darauf folgten eine einstündige Äquilibrationsphase, zwei Vorperioden und drei Hauptperioden zu je 45 Minuten. Als Hauptinfusion (Infusion B) erhielten dabei die Probanden über die gesamte Versuchsdauer folgende Lösungen infundiert (siehe Abb.1):

500 ml Gesamtlösung: 5%-ige Glucose-Lösung mit
 1.25 ml Inulin-Lösung/kg Körpergewicht
 0.36 ml Paraaminohippursäure-Lösung/kg Körpergewicht.

Zusätzlich wurden während der Vorperioden halbisotone NaCl (Infusionsgeschwindigkeit: 4 ml/kg/h) und während der Hauptperioden 10%-ige Aminosäurenlösung (Infusionsgeschwindigkeit: 4 ml/kg/h) infundiert. Ab Ende der Äquilibrationsphase nahmen die Probanden natrium- und kaliumarmes Mineralwasser zur Erzielung einer ausreichenden Diurese zu sich. Die Flüssigkeitsaufnahme war körperlsgewichtsbezogen wie folgt berechnet:

ml/45 min:	165	174	183	192	201	210	219	228	237	246	255	264	273	etc.
KG (kg) :	50	52	54	56	58	60	62	64	66	68	70	72	74	etc.

Zur Mitte jeder Periode wurden ein Serumröhrchen Blut entnommen, der Blutdruck und die Herzfrequenz gemessen. Am Ende jeder Periode entleerten die Probanden die Harnblase vollständig, das Urinvolumen wurde festgehalten und der Urin portionsweise für die spätere Analytik eingefroren. Die Urinproben wurden aliquotiert und für die Dopaminmessung mit Citratpuffer als Konservierungsmittel versetzt (10:1). Zur Herstellung des Konservierungsmittels wurden 201,3 g Citronensäuremonohydrat und 76,7 g Dinatriumhydrogencitrat x 1.5 Hydrat in Aqua bidest. gelöst und auf 1000 ml aufgefüllt. Der pH-Wert wurde zwischen 2,6 und 2,8 eingestellt.

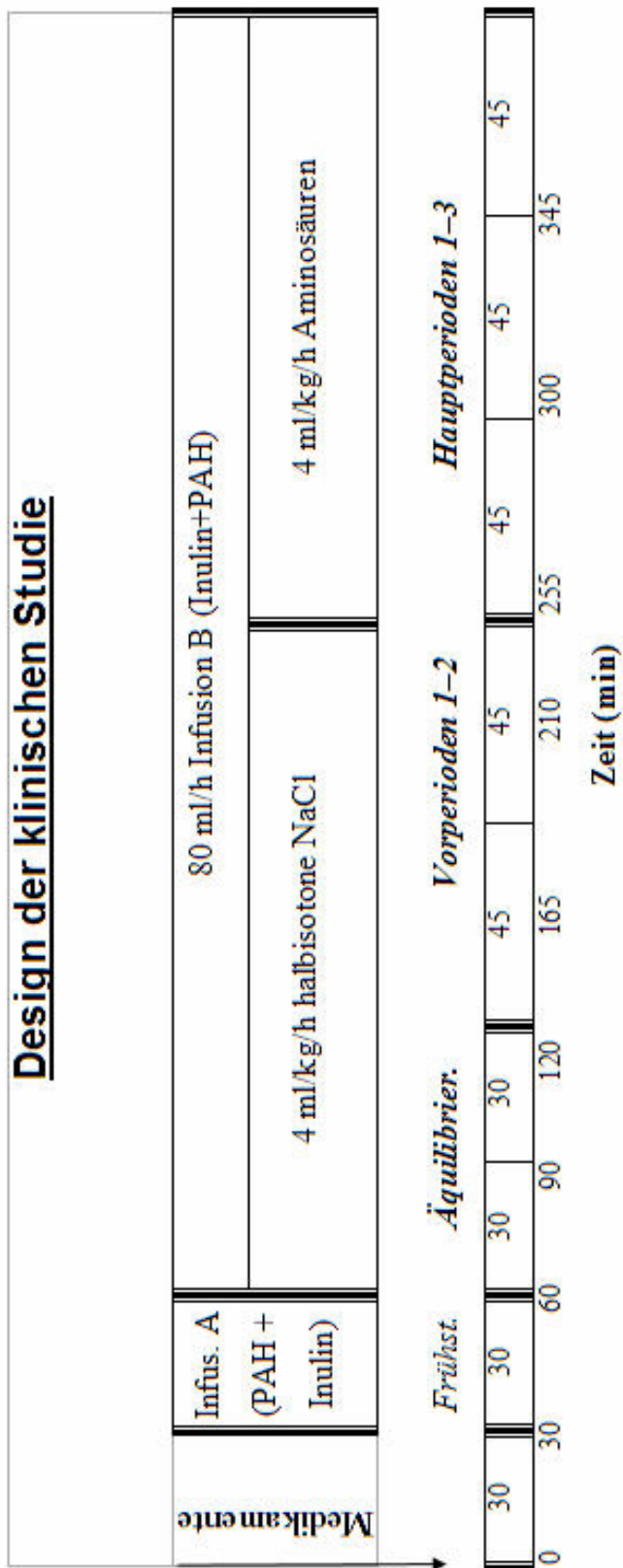


ABBILDUNG 1: Das Versuchsprotokoll bestand aus einer Auf sättigungsphase, einer Äquibrierungsphase, 2 Vor- (VP) und 3 Hauptperioden (HP). Nach der Medikamenteneinnahme (Plazebo, Sulpirid oder Domperidon) folgte eine 30 minütige Ruhephase, danach eine Auf sättigungsinfusion (A) mit Inulin und PAH über 30 Minuten. Während der Äquibrierungsphase, der VP und der HP wurden durchgehend die Hauptinfusion (B) mit 5%-iger Glucose-Lösung + Inulin + PAH verabreicht. Während der Äquibrierungsphase und der VP wurden halbiso tone NaCl-Lösung, während der HP 10%-ige Aminosäuren-Lösung infundiert. Dauer der Vorphasen je 30 Minuten; Dauer der VP und HP je 45 Minuten.

2.2.1.2 Medikamente, Infusionssubstanzen und Lösungen

1) Antagonisten der D₂-Rezeptor Unterfamilie

Als D₂-Rezeptor Antagonisten wurden Domperidon (1 mg/kg KG; Motilium[®], Byk Gulden, Konstanz) und Sulpirid (10 mg/kg KG; Dogmatil forte[®], Synthelabo, Puchheim) verwendet. Domperidon ist, da er die Blut-Hirn-Schranke nicht überschreitet, ein nur peripher wirkender D₂-Antagonist mit einer Bioverfügbarkeit von 15% und einer terminalen Halbwertszeit von 14 h nach oraler Applikation. Der Plasmaspitzenwert (t_{max}) nach oraler Medikamenteneinnahme wird nach 30 – 110 min erreicht (Heykants et al, 1981). Dieses Medikament wird zur Behandlung von Übelkeit und Erbrechen und zur Steigerung der Magen-Darm Motilität eingesetzt. Als unerwünschte Nebenwirkungen sind verstärkte Darmtätigkeit bis zur Diarrhoe, selten Dyskinesien und Prolactinerhöhung bekannt, jedoch treten sie vor allem bei längerer Anwendung und bei höherer Dosierung auf (siehe 6.5.1: Fachinformation des Herstellers).

Sulpirid ist ein zentral und peripher wirkender Antagonist der D₂-Rezeptor Unterfamilie mit einer Bioverfügbarkeit von 30% und einer Plasmahalbwertszeit von 6 - 8 Stunden. Der Plasmaspitzenwert (t_{max}) wird nach oraler Einnahme nach 2 – 6 h erreicht (Bressolle et al, 1992; Wiesel et al, 1980). Das Medikament wird vorwiegend als Antipsychotikum eingesetzt. Die bekannten unerwünschten Nebenwirkungen wie vermehrte Schweißproduktion, Sehstörungen, extrapyramidalmotorische Störungen, Erregungszustände, Übelkeit, Gewichtszunahme, Zyklusstörungen und allergische Reaktionen treten bei langfristiger Einnahme auf (siehe 6.5.2: Fachinformation des Herstellers).

Beide Substanzen waren aufgrund ihrer Pharmakokinetik geeignet für das gewählte Versuchsdesign. Der t_{max} – Wert lag innerhalb der Zeit einer

Clearance-Untersuchung und eine Wirkungsabnahme der Medikamente war erst nach Versuchsende zu erwarten.

In dieser Studie wurden beide Medikamente einmalig oral verabreicht. Die Dosis wurde knapp unter der jeweils zugelassenen Tageshöchstdosis gehalten, um die Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen zu minimieren. Als Notfallmedikament wurde zur Antagonisierung möglicher extrapyramidal-motorischer Störungen, insbesondere unter Sulpirid, Biperiden (Akineton[®], Knoll Deutschland) bereitgehalten.

2) PAH und Inulin

Zur Bestimmung der GFR und des RPF wurden Inulin und PAH über die gesamte Versuchsdauer infundiert. Dabei wurden folgende Testlösungen verwendet:

- Aminohippurate Sodium PAH[®] Ampullen (Fa. Merck, West Point/U.S.A.)
- Inutest[®] Ampullen (Fa. Laevosan, Linz/Österreich).

Als sehr seltene unerwünschte Nebenwirkungen werden allergische Reaktionen bis zum anaphylaktischen Schock beschrieben (Fachinformation des Herstellers). Als Notfallmedikamente wurden ein H₂-Rezeptor Antagonist (Fenestil[®], Novartis Consumer Health) und ein Glucocorticoid (Solu-Decortin[®]H, Merck) bereitgehalten.

3) Aminosäureinfusion

Um Veränderungen der renalen Hämodynamik zu stimulieren, wurde eine gemischte 10%-ige Aminosäurenlösung (Aminosteril[®] KE 10%, Fa. Fresenius, Bad Homburg) verabreicht.

Somit wurde eine standardgemäß im Krankenhaus verwendete Infusionslösung mit folgender Zusammensetzung in g/l benutzt: L- Isoleucin 4,7, L-Leucin 7,1, L-Lysin 6,0, L-Methionin 4,1, L-Phenylalanin 4,8, L-Threonin 4,2, L-

Thryptophan 1,8, L-Valin 5,9, Arginin 10,6, L-Histidin 2,9, Aminoacetatsäure 15,9, L-Alanin 15,0, L-Prolin 15,0, L-Äpfelsäure 8,1, Natriumhydroxid 1,2, Kaliumchlorid 0,7, Kaliumhydroxid 85% 0,7, Magnesiumchlorid 6 H₂O 1,0 und folgende Elektrolyte in mmol/l: Na⁺ 30, K⁺ 20, Mg⁺⁺ 5 und Cl⁻ 60.

4) Glucose- und Kochsalzlösung

Es wurden folgende Kliniks-übliche Lösungen genutzt:

- Glucose-Lösung 5% (Fa. Delta-Pharma, Pfullingen)
- Glucose 2,5%-Natriumchlorid 0,45%-Lösung (Fa. Delta-Pharma, Pfullingen).

Die Elektrolyte der halbisotonen Kochsalzlösung entsprachen in etwa der Aminosäureninfusion. Damit sollte eine durchgehend ähnliche Elektrolytaufnahme gewährleistet sein.

2.2.2 24-Stunden-Urin

Jeweils über 24 Stunden vor der Clearance-Untersuchung sammelten die Probanden ihren Urin in einem hierfür mitgegebenen 24-h-Sammeluringefäß (Vol. 2500 ml). In dem Gefäß befand sich ein Konservierungsmittel (150 ml Citratpuffer; siehe 2.2.1.2), das den Urin ansäuert und die oxidative Dopamindegradierung minimiert. Die Probanden dokumentierten die zu sich genommene Nahrung und Flüssigkeit in den 24 h vor der jeweiligen Clearance-Untersuchung genau auf einem Ernährungsbogen. In diesen 24 Stunden waren Alkohol und koffeinhaltige Getränke nicht erlaubt. Wie bereits beschrieben, durften die Probanden 10 Stunden vor der jeweiligen Clearance-Untersuchung nur noch Flüssigkeit zu sich nehmen.

2.3 Analytik

2.3.1 Herstellung der Reagenzien

Die zur Messung der PAH- und Inulinkonzentration benötigten Lösungen wurden folgendermaßen hergestellt:

- 1) 0,5 N Natronlauge (NaOH): 1 Anteil 2 N NaOH + 3 Anteile Aqua bidest.
- 2) 10%-ige Zinksulfat-Lösung ($ZnSO_4$): 20 g $ZnSO_4$ -Heptahydrat auf 200 ml Aqua bidest.
- 3) 30%-ige Salzsäure (HCl): 990 ml 32%-ige HCl + 66 ml Aqua bidest.
- 4) Resorcin-Lösung: 0,1 g Resorcin + 0,25 g Thioharnstoff in 100 ml Essigsäure in einer dunklen Flasche gelöst
- 5) 0,1 N Salzsäure (HCl): 1 Anteil 2 N HCl + 19 Anteile Aqua bidest.
- 6) 0,1%-ige Natriumnitrit-Lösung ($NaNO_2$): 0,1 g $NaNO_2$ in 100 ml Aqua bidest.

Alle bisher genannten Substanzen wurden von Merck, Darmstadt bezogen.

- 7) 0,5%-ige Amidosulfonsäure-Lösung: Ampulle vollständig in 100 ml Aqua bidest. gelöst (0,5 g Ampullen, Fa. BAG, Lich)
- 8) 0,1 N N-Ethyl-alpha-Naphthylaminhydrobromid-Lösung: 0,1 g in 10 ml warmem Methanol gelöst und mit Aqua bidest. auf 100 ml aufgefüllt (N-Ethyl-alpha-Naphthylaminhydrobromid 1,3 g Ampullen, Fa. BAG, Lich; Methanol, Fa. Merck, Darmstadt)
- 9) Inutest[®] Ampullen: 5,0 g Polyfructosan purissimum in 20 ml Aqua ad injectabile (Fa. Laevosan, Linz/Österreich)
- 10) Nephrotest[®] Ampullen: 2,2 g aminohippursäures Natriumsalz in 10 ml Aqua ad injectabile (Fa. BAG, Lich)

2.3.2 Probenaufbereitung

Die bei -20°C eingefrorenen Plasma- und Urinproben wurden bei Zimmertemperatur aufgetaut, auf einem Vortex durchmischt und bei 4000 Umdrehungen pro Minute (UpM) 10 Minuten zentrifugiert (Rotixa/K, Fa. Hettich, Tuttlingen).

Zum Enteiweißen der Proben wurde Zinksulfat benutzt. Es wurden 0,5 ml Plasma bzw. Urin mit 0,5 ml 10%-iger ZnSO₄-Lösung, 0,5 ml 0,5 N NaOH und 1 ml Aqua bidest. gemischt. Die Reagenzien wurden mit einer Multipipette (Fa. Eppendorf, Hamburg) pipettiert. Dabei wurden die Proben nach Zugabe jedes Reagenzes auf einem Vortex durchmischt. Nach einer 10 minütigen Ruhephase wurden die nun enteiweißten Proben 10 Minuten bei 4000 UpM zentrifugiert.

Der Enteiweißungsüberstand jeder Urinprobe wurde für die Inulin-Bestimmung 1:10, für die PAH-Messung 1:100 verdünnt, um die Konzentrationen im Urin photometrisch genau bestimmen zu können.

Anschließend wurden die Standardverdünnungsreihen für Inulin bzw. PAH aus den in 2.3.1 genannten Testsubstanzen Inutest[®] und Nephrotest[®] hergestellt.

Folgende Konzentrationen in mg/ml wurden erstellt:

Inulin: 5.0, 2.50, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16, 0.08 mg/ml

PAH: 5.5, 2.75, 1.38, 0.69, 0.34, 0.17, 0.08 mg/ml

2.3.3 Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)

Die Urin- und Plasmaproben wurden nach der Methode von Walser et al. (1955) auf ihre Inulin-Konzentration untersucht. Es wurden stets Doppelbestimmungen durchgeführt. Je 250 µl der Urinverdünnung 1:10, des Plasmaenteiweißungsüberstandes bzw. der Standardreihe wurden unter dem Abzug mit je 125 µl Resorcin-Lösung versetzt und auf dem Vortex durchmischt.

Dazu kamen je 1 ml 30%-ige HCl und erneutes Schütteln der Proben auf dem Vortex. Sogleich wurden die Proben ins 80 °C heiße Wasserbad verbracht und nach genau 12 Minuten zum Stoppen der ablaufenden Farbreaktion sofort ins Eisbad gestellt. Die Proben wurden in Microtiterplatten bei einer Wellenlänge von 550 nm photometrisch gemessen (MR 5000, Fa. Dynatech, Denkendorf). Die auf diese Weise ermittelten Werte der Plasma- und Urinkonzentration von Inulin dienten der Berechnung der GFR (siehe 2.4.1).

2.3.4 Bestimmung des renalen Plasmaflusses (RPF)

Die Werte der PAH-Konzentration im Plasma und im Urin wurden nach den Methoden von Smith et al. (1945) ermittelt. Auch hier wurden jeweils Doppelwerte gemessen. Zu je 500 µl der Urinverdünnung 1:100, des enteiweißten Plasmaüberstandes bzw. der PAH Standardreihe wurden je 100 µl 0.1 N HCl pipettiert, auf dem Vortex geschüttelt, 50 µl NaNO₂ dazugegeben und geschüttelt. Nach 5 Minuten Wartezeit wurden je 50 µl 0,55%-ige Amidosulfonsäure-Lösung hinzupipettiert, erneut auf dem Vortex durchmischt und 5 Minuten ruhen gelassen. Zuletzt kamen je 50 µl 0,1%-ige N-Ethyl-alpha-Naphthylaminhydrobromid-Lösung hinzu. Nach einem letzten Durchmischen wurden die Proben 40 Minuten später nach vollständigem Ablauf der Farbreaktion ebenfalls in Microtiterplatten im Photometer (MR 5000, Dynatech, Denkendorf) bei einer Wellenlänge von 490 nm gemessen.

2.3.5 Bestimmung der Elektrolytkonzentrationen

Die Elektrolytkonzentrationen im Urin und im Plasma wurden mit einem ELEX 6361 Flammenphotometer (Fa. Eppendorf, Hamburg) gemessen. Die zur Kalibrierung des Gerätes benötigten Standardlösungen wurden aus den Standard-Stammlösungen für Urin bzw. Plasma (Fa. Eppendorf, Hamburg) mit Aqua bidest. hergestellt. Je 10 µl der Urinproben wurden mit 2 ml Aqua bidest. in 2,2 ml Eppendorf-Cups pipettiert. Von den Plasmaproben wurden je 20 µl zusammen mit 1 ml Aqua bidest. in 1,5 ml Eppendorf-Cups versetzt. Die

verdünnten Urinproben wurden kurz vor der flammphotometrischen Messung kräftig geschüttelt, während die verdünnten Plasmaproben zentrifugiert wurden (MIKRO 12-24 Zentrifuge, Fa. Hettich, Tuttlingen). Sämtliche Werte wurden über Doppelbestimmungen ermittelt.

2.3.6 Bestimmung der Osmolalität in Plasma und Urin

Die Bestimmung der Osmolalität der Urin- bzw. Plasmaproben erfolgte mit einem Osmometer (OSMOMAT 030, Fa. Gonotec, Berlin) indirekt über die Gefrierpunkterniedrigung von wässrigen Lösungen gegenüber reinem H₂O. Für die zur Kalibrierung des Osmometers benötigte Kalibrierflüssigkeiten betragen die Osmolalitäten 300 bzw. 600 mosmol/kg.

2.3.7 Messung der Blutdruck- und Herzfrequenz

Jeweils zur Mitte der einzelnen Perioden einer Clearance-Untersuchung wurden der Blutdruck und die Herzfrequenz mittels eines automatischen Blutdruckmessgerätes gemessen.

2.3.8 Bestimmung der Dopaminkonzentration im Urin

2.3.8.1 Probenvorbereitung und Extraktion

Für die Dopaminkonzentrationsbestimmung waren sowohl die Sammelurine (siehe 2.2.2) als auch je ein Aliquot jeder Clearance-Urinprobe (siehe 2.2.1.2) mit dem Citratpuffer als Konservierungsmittel versetzt und bis zur Messung bei -80 °C aufbewahrt worden.

Nach Auftauen wurden die Urinproben zentrifugiert (Mikro 12-24 und Rotixa/K, Fa. Hettich, Tuttlingen). Danach wurden je 50 µl interner Standardlösung (Dihydroxybenzylamin, Fa. Merck, Darmstadt) hinzupipettiert. Als nächstes wurden je 1 ml 1M Tris-Puffer (Trisaminomethan und EDTA, Fa. Merck,

Darmstadt, auf pH 8,6 eingestellt) hinzugegeben und kurz im Rotationsmischer (IKA-Vibrax-VXR, Fa. Electronic, Staufen) durchmischt. Der pH-Wert wurde am pH-Meter (Orion-Research digital pH/millivolt meter 611) überprüft und falls notwendig durch konz. NaOH (2M) bzw. HCl (1M) auf 8,6 eingestellt. Anschließend wurden je ca. 70 mg Aluminiumoxid (Al_2O_3 , neutral powder, Fa. J.T.Baker, Phillipsburg, USA) dazugegeben und die Proben für 15 min. im Rotationsmischer durchmischt. Nach kurzer Zentrifugation wurde der Überstand verworfen. Als erster Waschschrift wurde 1 ml Aqua bidest. zupipettiert, die Probe für je eine Minute durchmischt und zentrifugiert, der Überstand wiederum verworfen. Das Aluminiumoxid mit den daran gebundenen Katecholaminen wurde mit 2 x 500 μl Aqua bidest. in Filtrationssäulen überführt und ca. 30 sec. im IKA-Schüttler gemischt. Die Säulen wurden unten geöffnet, in Reagenzgläser gestellt und das Aqua bidest. wurde bei 2500 Upm abzentrifugiert. Nach Verschließen der Filtrationssäulen wurde nun dem Aluminiumoxid-Pulver 300 μl 0,1M Phosphorsäure zur Elution des Dopamins vom Al_2O_3 zugegeben. Nach 10 minütigem Schütteln wurden die Säulen unten wieder geöffnet und in die Probengeberggefäße hineingehängt. Das Eluat wurde dann bei ca. 2500 Upm 10 min. lang direkt in diese Probengeberggefäße zentrifugiert.

Die Stammlösung für den internen Standard für die Katecholamine bestand aus 500 μl Dihydroxybenzylamin (DHBA 15,81 mg /50 ml Aqua bidest.) in 1000 ml Aqua bidest.

Die HPLC wurde mit einer Standard-Katecholaminlösung (100 ng/ml) kalibriert, die aus einer Stammlösung (12,14 mg Noradrenalin-HCl, 11,99 mg Adrenalin-HCl, 12,38 mg Dopamin-HCl pro 100 ml aqua bidest) hergestellt wurde. Der Urinmenge der Proben entsprechend wurde in zwei Eppendorf-Gefäße jeweils 500 μl interner Standard gegeben und der beschriebenen Probenvorbereitung unterzogen.

2.3.8.2 Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie

Die HPLC-Anlage setzte sich aus einem automatischen Probengeber (S 5200[®], Fa. Synkam, Gilching), einer pulsationsarmen Zweikolben-Hochdruckpumpe (S 1000[®], Fa. Synkam, Gilching) und einem elektrochemischen Detektor (EP 30[®], Fa. Biometra, Göttingen) zusammen. Die Peakidentifizierung und -quantifizierung wurde durch den PC gestützt mit Hilfe der Software Axxi-Chrom 737[®] (Fa. Axxiom Chromatography, Calabassas/U.S.A.) durchgeführt.

Die Probentrennung erfolgte durch eine reversed-phase C18 Trennsäule (Nucleosil 5µm[®], Fa. Grom, Herrenberg). Als mobile Phase wurden Trinatriumcitrat-Dihydrat 11,36 g/l, Citronensäure-Monohydrat 1,97 g/l, Octansulfonsäure-Natriumsalz 0,3 g/l und 0,15 g/l EDTA in Aqua bidest. mit je 3% Methanol und Acetonitril gelöst. Die Flussrate betrug 1,0 ml/min., wobei ein Rückdruck von 90 bis 100 bar registriert wurde. Die aufgeführten Substanzen wurden von Merck, Darmstadt in HPLC-grade-Qualität erworben.

Anhand der Retentionszeiten wurden die einzelnen Katecholamine identifiziert und durch Peakflächenvergleich mit der Konzentration des internen Standards in der gleichen Probe quantifiziert.

2.3.9 Bestimmung der Kreatininkonzentration

Zur Bestimmung der Kreatinin-Clearance wurde die Kreatininkonzentration in den Sammelurinproben auf der Basis der photometrischen Jaffé-Reaktion bestimmt. Dafür wurden sowohl die Urinproben als auch der Urin-Standard (Fa. Beckman, München) jeweils mit 0,85%-igem NaCl 1:20 verdünnt. Pro Messung wurden 25 µl verdünnten Urins benötigt. Für die Kreatininbestimmung mit dem Beckman-Analysator 2 wurde die Reaktionslösung aus einem Teil Pikrinsäure und vier Teilen Puffer (alles Fa. Beckman, München) zusammengestellt. Es wurden grundsätzlich Doppelwertbestimmungen durchgeführt.

2.4 Berechnungen und Statistik

2.4.1 Berechnete Daten

2.4.1.1 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Anhand der renalen Inulin-Clearance wurde die glomeruläre Filtrationsrate (ml/min/1,73 m²) folgendermaßen berechnet:

$$\begin{aligned} \text{GFR} &= \text{Clearance}_{\text{Inulin}} \\ &= U_{\text{Inu}} \times \text{UV} \times \text{Verdünnungsfaktor } 10 \times 1,73 \text{ m}^2 / (P_{\text{Inu}} \times T \times \text{KO}) \end{aligned}$$

wobei:

- U_{Inu} = Inulinkonzentration im Urin in mg/ml
- UV = Urinvolumen in ml
- P_{Inu} = Inulinkonzentration im Plasma in mg/ml
- T = Periodendauer in min
- KO = Körperoberfläche in m²

2.4.1.2 Renaler Plasmafluss (RPF)

Der renale Plasmafluß (ml/min/1,73m²) wurde als die renale PAH-Clearance errechnet:

$$\begin{aligned} \text{RPF} &= \text{Clearance}_{\text{PAH}} \\ &= U_{\text{PAH}} \times \text{UV} \times \text{Verdünnungsfaktor } 100 \times 1,73 \text{ m}^2 / (P_{\text{PAH}} \times T \times \text{KO}) \end{aligned}$$

wobei:

- U_{PAH} = Paraaminohippursäurekonzentration im Urin in mg/ml
- UV = Urinvolumen in ml
- P_{PAH} = Paraaminohippursäurekonzentration im Plasma in mg/ml
- T = Periodendauer in min
- KO = Körperoberfläche in m²

2.4.1.3 Renaler Blutfluss (RBF)

Der renale Blutfluss (ml/min/1.73 m²) wurde wie folgt berechnet:

$$\text{RBF} = \text{RPF} \times 0.9 / (1 - \text{Hk} : 100)$$

mit: RPF = renaler Plasmafluß in ml/min/1,73m²

Hk = Hämatokrit in %

2.4.1.4 Filtrationsfraktion (FF)

Die renale Filtrationsfraktion wurde berechnet als Quotient aus GFR und RPF:

$$\text{FF} = \text{GFR} / \text{RPF} \times 100$$

wobei: FF = Filtrationsfraktion in %

GFR = glomeruläre Filtrationsrate in ml/min/1,73 m²

RPF = renaler Plasmafluß in ml/min/1,73 m²

2.4.1.5 Natriumausscheidung (U_{Na}V)

Die Natriumausscheidung pro Zeiteinheit (µmol/min) wurde wie folgt berechnet:

$$U_{\text{Na}}V = U_{\text{Na}} \times UV / T$$

wobei: U_{Na} = Natriumkonzentration im Urin in µmol/ml

UV = Urinvolumen in ml

T = Periodendauer in min

2.4.1.6 Fraktionelle Natriumausscheidung (FE_{Na})

Die fraktionelle Natriumausscheidung FE_{Na} wurde als prozentualer Anteil des ausgeschiedenen Natriums am filtrierten Natrium berechnet:

$$FE_{Na} = U_{Na}V / (GFR \times P_{Na}) \times 100 \quad \text{mit:} \quad GFR = U_{Inu} \times UV / (P_{Inu} \times T)$$

wobei: FE_{Na} = fraktionelle Natriumausscheidung in %
 $U_{Na}V$ = Natriumausscheidung im Urin in $\mu\text{mol}/\text{min}$
 GFR = glomeruläre Filtrationsrate in ml/min
 P_{Na} = Natriumkonzentration im Plasma in $\mu\text{mol}/\text{ml}$

2.4.1.7 Dopaminausscheidung

Die Dopaminausscheidung $U_{DA}V$ wurde im Verhältnis zum HPLC-Signal des internen Standards errechnet und mit

$$U_{DA}V = U_{DA} \times UV \times 1,73 \text{ m}^2 / KO$$

wobei: U_{DA} = Dopaminkonzentration im Urin in ng/ml
 UV = Urinvolumen in ml
 KO = Körperoberfläche in m^2

als Dopaminausscheidung pro Zeit ($\text{ng}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$) berechnet.

2.4.1.8 Kreatinin-Clearance

Die Kreatinin-Clearance ($\text{ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$) wurde aus der Bestimmung der Kreatininkonzentration in den Sammelurinen wie folgt ermittelt:

$$Cl_{Krea} = \text{Clearance}_{\text{Kreatinin}} = UV_{SU} \times SU_{Krea} \times 1,73 \text{ m}^2 / (P_{Krea} \times T \times KO)$$

wobei: UV_{SU} = Urinvolumen des Sammelurins in ml
 SU_{Krea} = Kreatininkonzentration im Sammelurin in mg/dl
 P_{Krea} = Kreatininkonzentration im Plasma in mg/ml
 T = Periodendauer in min
 KO = Körperoberfläche in m²

2.4.1.9 Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP)

Der mittlere arterielle Blutdruck MAP (mmHg) wurde wie folgt berechnet:

$$MAP = 1/3 (P_{sys} - P_{dia}) + P_{dia}$$

wobei: P_{sys} = systolischer Blutdruck in mmHg
 P_{dia} = diastolischer Blutdruck in mmHg

2.4.2 Statistik

In jeder der drei Serien (Plazebo, Sulpirid, Domperidon) wurden die Werte der zwei Vorperioden zu einem Basalwert gemittelt. Innerhalb einer Serie wurde der Unterschied zwischen Basalwert und den einzelnen Hauptperioden mittels Varianz-Analyse (ANOVA) mit Bonferronis Korrektur für mehrfaches Testen auf statistische Signifikanz geprüft.

Zusätzlich wurden die Basalwerte der drei Serien (Plazebo, Sulpirid, Domperidon), sowie die Versuchswerte der einzelnen Hauptperioden untereinander mittels ANOVA auf signifikante Unterschiede getestet.

Alle Daten wurden als Mittelwerte der Gruppen \pm SEM (standard error of means) angegeben. Als Maß zur Beurteilung statistischer Signifikanz diente der p-Wert.

p-Werte < 0.05 wurden als statistisch signifikant gewertet.

3 ERGEBNISSE

3.1 24-h-Sammelurin

3.1.1 Daten der Protein- und Volumenaufnahme

Um einen möglichen Effekt der durch die Nahrung aufgenommenen Proteine auf unterschiedliche Änderungen der glomerulären Filtrationsrate abschätzen zu können, wurde aus den protokollierten Daten der Nahrungsaufnahme der Eiweißgehalt errechnet. Ebenfalls wurde die Flüssigkeitszufuhr am Tag vor der Clearance-Untersuchung dokumentiert. Die gemittelten Werte für Protein- und Volumenaufnahme am Tag vor der jeweiligen Clearance-Untersuchung zeigten bei ähnlichen Basalwerten keine signifikanten Abweichungen zwischen den drei Serien Plazebo, Sulpirid und Domperidon. In der Plazebo-Serie wurde am meisten Volumen aufgenommen, während sich die beiden anderen Serien in der Volumenaufnahme nicht unterschieden (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2 Sammelurinmessungen

Die Stabilität der Versuchsbedingungen wurde durch Kontrollen von Parametern im 24 Stunden Sammelurin überprüft (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2.1 Urinzeitvolumen

Die Differenz zwischen Flüssigkeitszufuhr und Urinvolumen in den 24 Stunden vor jeder Clearance-Untersuchung ergab bei allen drei Versuchsserien einen ähnlichen Wert: 170 ml in der Plazebo-, 259 ml in der Sulpirid- und 238 ml in der Domperidon-Serie. Dieser Flüssigkeitsverlust lässt sich durch andere Ausscheidungswege als den Urin, wie beispielsweise durch den Schweiß, erklären. Parallel zur höchsten Volumenaufnahme in der Plazebo-Serie wurde das größte Urinzeitvolumen ebenfalls in der dieser Serie gemessen. Die Sammeldauer des 24-h-Urins zeigte keine signifikanten Unterschiede in den drei Versuchsserien (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2.2 Elektrolytausscheidung im Urin

Die renale Natrium- und Kaliumausscheidung war in der Plazebo Serie tendenziell am höchsten, was sich durch die erhöhte Volumenaufnahme in derselben Serie erklären lässt. Die beiden anderen Serien unterschieden sich kaum in der Elektrolytausscheidung (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2.3 Osmolalität

Aufgrund des höheren Urinzeitvolumens war trotz der höchsten Elektrolytkonzentrationen in der Plazebo Serie die Urinosmolalität am niedrigsten. Dagegen zeigte sich in der Sulpirid Serie die höchste Urinosmolalität, was sich eventuell durch die hohe Dopaminkonzentration und niedriges Urinzeitvolumen erklären lässt. Die Unterschiede zwischen den drei Serien waren jedoch nicht signifikant (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2.4 Dopaminausscheidung

Die Dopaminausscheidung zeigte in der SulpiridSerie den höchsten Wert. Die Ausscheidung des Dopamins war um 12,5 % höher als in der Plazebo oder Domperidon Serie. Die letzten beiden Serien wiesen untereinander keinen Unterschied auf (*siehe Tabelle 2*).

3.1.2.5 Kreatinin-Clearance

Die Kreatinin-Clearance zeigte mit Werten um 112 ml/min/1,73 m² in den Plazebo, Sulpirid und Domperidon Serien ebenfalls keine nennenswerten Unterschiede. Die Daten lassen auf stabile Ausgangsbedingungen schließen (*siehe Tabelle 2*).

TABELLE 2: Daten des 24 Stunden Sammelurins und der Protokollbögen: In den 24 h vor jeder Clearance-Untersuchung wurde der Urin komplett gesammelt, Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme dokumentiert und anschließend auf 24 h quantifiziert. Erhobene Daten: Urinsammeldauer (T), Urinzeitvolumen (UV), Volumenaufnahme, Proteinaufnahme, Natriumausscheidung im Urin (U_{NaV}), Kaliumausscheidung im Urin (U_{KV}), Urinosmolalität (U_{Osmol}), Dopaminausscheidung im Urin (U_{DA}), Kreatinin-Clearance (Cl_{Krea}). Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte \pm SEM.

Serien	Plazebo	Sulpirid	Domperidon
Urinsammeldauer [min]	1357 \pm 58	1399 \pm 45	1365 \pm 34
Urinzeitvolumen [ml/24 h]	1848 \pm 213	1423 \pm 232	1397 \pm 208
Volumenaufnahme [ml/24 h]	2018 \pm 172	1682 \pm 165	1635 \pm 165
Proteinaufnahme [g/24 h]	78 \pm 11	77 \pm 10	73 \pm 8
Natriumausscheidung im Urin [mmol/24 h/1,73 m ²]	206,1 \pm 21,2	169,2 \pm 16,4	184,1 \pm 16,2
Kaliumausscheidung im Urin [mmol/24 h/1,73 m ²]	59,7 \pm 6,1	43,4 \pm 4,1	33,9 \pm 4,3
Urinosmolalität [mosmol/kg]	701 \pm 48	741 \pm 66	717 \pm 67
Dopaminausscheidung im Urin [ng/24 h/1,73 m ²]	357,3 \pm 36,2	401,5 \pm 23,5	356,3 \pm 36,0
Kreatinin Clearance [ml/min/1,73 m ²]	109,0 \pm 8,7	118,5 \pm 10,9	111,9 \pm 7,5

*p<0,05, getestet gegen Plazebo (ANOVA).

3.2 Ergebnisse der Clearance-Untersuchungen

3.2.1 Blutdruck und Herzfrequenz

Die basalen Werte des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAP) in den Clearance-Untersuchungen waren im Normbereich mit Durchschnittswerten zwischen 80 ± 3 mmHg und 85 ± 3 mmHg. Die basale Herzfrequenz betrug durchschnittlich 61 ± 3 bzw. 65 ± 3 Schläge/Minute. In keiner der Serien wurde während der Aminosäureinfusion eine signifikante Änderung des MAP oder der Herzfrequenz im Vergleich zu den Basalwerten festgestellt (siehe Tabelle 3).

TABELLE 3: Blutdruck- und Herzfrequenzmesswerte während der Clearance Untersuchungen. Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte \pm SEM. BAS, basale Periode (0,45%-ige Kochsalzlösunginfusion); AS, Aminosäureinfusion (Periode I, II und III).

	Periode	Plazebo	Sulpirid	Domperidon
Mittlerer arterieller Blutdruck [mmHg]	BAS	85 ± 3	79 ± 3	81 ± 3
	AS I	85 ± 3	82 ± 3	81 ± 3
	AS II	84 ± 3	85 ± 2	84 ± 3
	AS III	84 ± 3	86 ± 3	81 ± 2
Herzfrequenz [1/min]	BAS	64 ± 3	65 ± 3	61 ± 3
	AS I	64 ± 3	62 ± 3	59 ± 3
	AS II	61 ± 4	63 ± 3	64 ± 3
	AS III	64 ± 3	64 ± 3	63 ± 3

* $p < 0,05$, getestet gegen BAS (ANOVA).

3.2.2 Hämodynamik der Niere

3.2.2.1 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Die Basalwerte der GFR waren in den drei Serien Plazebo (PL), Sulpirid (SUL) bzw. Domperidon (DOM) ähnlich. In der SUL-Serie war der Wert tendenziell am höchsten, während sich die Basalwerte der GFR in den beiden anderen Serien nicht unterschieden.

In der PL-Serie stieg die GFR während der Aminosäureinfusion in allen drei Hauptperioden (AS) signifikant um 12% (AS I), 14% (AS II) und 16% (AS III) gegenüber dem Basalwert an. Auch in der DOM-Serie war in der ersten Hauptperiode (AS I) ein GFR-Anstieg um 10% zu beobachten; danach blieb die in den beiden folgenden Hauptperioden konstant. Damit war der Anstieg der GFR in allen Perioden geringer als in der PL-Serie. Im Gegensatz dazu hemmte die Sulpirid Gabe den aminosäurebedingten Anstieg der GFR vollständig. Von dem tendenziell höchsten Basalwert der GFR ausgehend, nahm die GFR erst schwach ab (AS I), um dann leicht anzusteigen (AS II und AS III) in der letzten Hauptperiode wieder den Basalwert zu erreichen. Die GFR Werte waren stets ähnlich. Diese leichten Schwankungen der GFR in der SUL-Serie blieben somit stets unterhalb des Signifikanzniveaus (*siehe Tabelle 4 und Abbildung 2*). Die Werte innerhalb einer Hauptperiode in den drei unterschiedlichen Experimentserien PL, DOM und SUL waren jeweils nicht signifikant unterschiedlich zueinander.

3.2.2.2 Renaler Plasmafluß (RPF)

Die Basalwerte des RPF waren in allen drei Serien PL, SUL und DOM ähnlich. In der PL-Serie stieg der RPF während der Aminosäureinfusion in den drei Hauptperiode um 11% (AS I), 8% (AS II) und 13% (AS III) gegenüber dem Basalwert an; in den Perioden AS I und AS III war die Zunahme statistisch signifikant. Ebenso stieg der RPF in der DOM-Serie in allen drei Hauptperiode um 6% (AS I), 13% (AS II) und 13% (AS III) gegenüber dem Basalwert an,

wobei in den letzten zwei Hauptperioden die Signifikanzgrenze überschritten wurde. In der SUL-Serie nahm der RPF zuerst leicht ab und anschließend wieder zu. Insgesamt ist eine tendenzielle, aber nicht signifikante Zunahme des RPF zu erkennen (siehe Tabelle 4 und Abbildung 3).

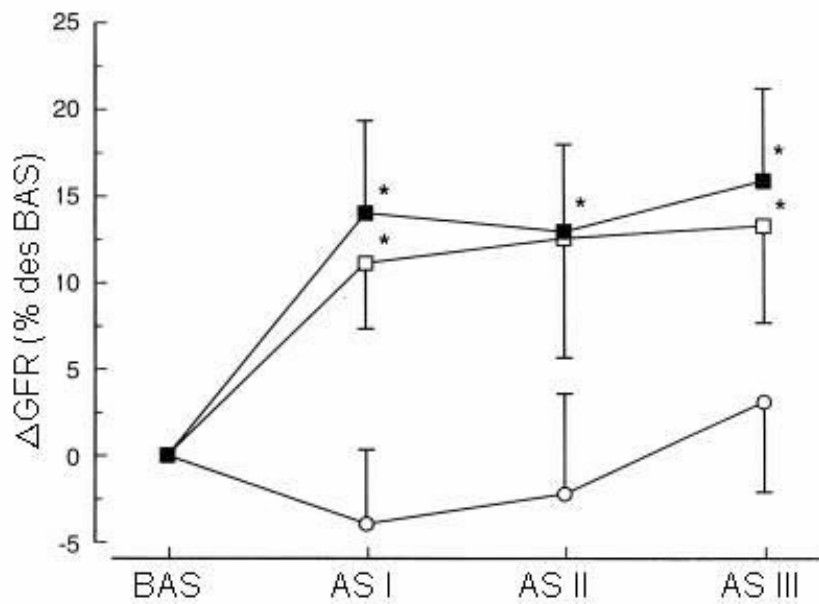
3.2.2.3 Filtrationsfraktion (FF)

Da sich der Verlauf der GFR und des RPF in den einzelnen drei Serien PL, DOM und SUL ähnlich verhielt, änderte sich konsequenterweise die Filtrationsfraktion im Verlauf der drei Versuchsserien nicht. Sowohl die Basalwerte, als auch die Werte der Hauptperioden blieben wie erwartet beinahe konstant um 17 % (siehe Tabelle 4).

TABELLE 4: Ergebnisse der renalen Hämodynamik in den Clearance-Untersuchungen. Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte±SEM. BAS, basale Periode (0,45%-ige Kochsalzinfusion); AS, Aminosäureninfusion (Periode I, II und III).

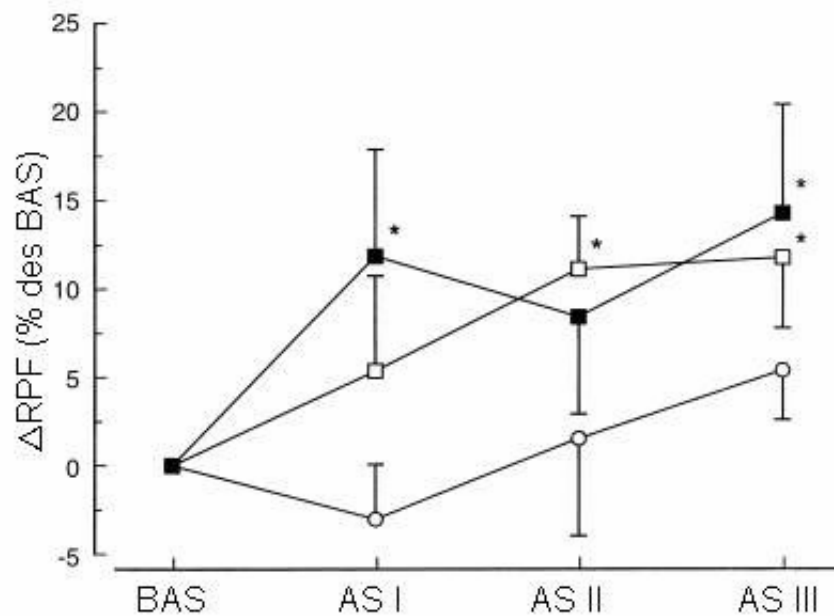
	Periode	Plazebo	Sulpirid	Domperidon
Glomeruläre Filtrationsrate [ml/min×1,73 m ²]	BAS	92,2±3,7	99,4±5,7	92,9±5,4
	AS I	104,9±5,1*	94,6±5,5	102,3±3,6*
	AS II	105,2±6,8*	96,3±7,6	102,8±7,0*
	AS III	106,7±5,2*	100,5±7,6	102,3±3,4*
Renaler Plasmafluß [ml/min×1,73 m ²]	BAS	560,9±28,9	562,8±24,5	540,4±31,7
	AS I	620,9±33,0*	541,3±25,3	573,3±43,6
	AS II	604,5±26,9	574,3±22,7	613,2±32,6*
	AS III	636,4±28,6*	592,3±26,7	612,2±25,0*
Filtrationsfraktion [%]	BAS	16,5±0,7	17,9±1,3	17,5±0,8
	AS I	16,9±1,2	17,9±1,2	18,6±1,3
	AS II	17,8±1,3	17,5±1,7	17,8±1,2
	AS III	17,2±1,1	16,5±1,2	17,3±0,8

*p<0,05, getestet gegen BAS (ANOVA).



*p<0,05, getestet gegen BAS (ANOVA).

ABBILDUNG 2: Effekt einer Einzeldosis Plazebo (schwarze Quadrate), Domperidon (weiße Quadrate) und Sulpirid (weiße Kreise) auf die Antwort der glomerulären Filtrationsrate (GFR) auf Aminosäureinfusion während der Hauptperioden ASI–ASIII. Prozentuale Veränderung (\pm SEM) gegenüber dem Basalwert (BAS).



*p<0,05, getestet gegen BAS (ANOVA).

ABBILDUNG 3: Effekt einer Einzeldosis Plazebo (schwarze Quadrate), Domperidon (weiße Quadrate) und Sulpirid (weiße Kreise) auf die Antwort des renalen Plasmaflusses (RPF) auf Aminosäureinfusion während drei Hauptperioden ASI–ASIII. Prozentuale Veränderung (\pm SEM) gegenüber dem Basalwert (BAS).

3.2.3 Urinmesswerte

3.2.3.1 Urinzeitvolumen

Das pro Zeit ausgeschiedene Urinvolumen zeigte keine großen Unterschiede zwischen den Basalwerten und den Hauptperioden. Wie aus der Tabelle 5 ersichtlich, differieren die Urinzeitvolumenwerte innerhalb der drei Hauptperioden kaum. In der PL-Serie war ein geringer Abfall des Urinzeitvolumens (UV) in den letzten zwei Hauptperioden AS II und AS III zu erkennen. In der SUL-Serie war ebenfalls ein geringer Abfall des UV in den Perioden AS I und AS II erkennbar, während das UV in der DOM-Serie über den gesamten Verlauf konstant blieb (*siehe Tabelle 5*).

3.2.3.2 Elektrolyte

Die Natriumausscheidung $U_{Na}V$ zeigte in den Basalwerten der PL-, SUL- und DOM-Serien ähnliche Werte. Während der Aminosäureninfusion stiegen die Werte in allen drei Serien kontinuierlich an, um bis zu 46% in der PL, 47% in der SUL und 82% in der DOM-Serie jeweils in der letzten Hauptperiode (AS III). Die Zunahme der $U_{Na}V$ war in den letzten zwei Hauptperioden aller drei Serien signifikant (*siehe Tabelle 5*).

Die Werte der fraktionellen Natriumausscheidung FE_{Na} verhielten sich ähnlich wie die $U_{Na}V$. Die Basalwerte lagen nahe beieinander. Die FE_{Na} stieg während der Aminosäureninfusion ebenfalls kontinuierlich um bis zu 53% in der PL, 63% in der SUL und 83% in der DOM-Serie jeweils in der letzten Hauptperiode (AS III) an. In der PL-Serie war nur der Wert der letzten Periode AS III signifikant höher als der Basalwert, während in den beiden anderen Serien die FE_{Na} auch in AS II das Signifikanzniveau überschritt (*siehe Tabelle 5*).

In gleicher Weise verhielt sich die Kaliumausscheidung U_KV mit einer Zunahme gegenüber dem Basalwert nach der Gabe der Aminosäureninfusion. Am

höchsten war die Zunahme jeweils in der letzten Hauptperiode (AS III), um 117% in der PL-, 113% in der SUL- und 143% in der DOM-Serie. Für den Anstieg der U_{KV} fand sich in AS II und AS III aller drei Serien eine Signifikanz (siehe Tabelle 5).

3.2.3.3 Dopaminausscheidung

Die Basalwerte des Dopamins im Urin zeigten in den drei Versuchsserien kaum Unterschiede. Unter der Aminosäureninfusion stiegen die Werte in der PL-Serie parallel zum Urinzeitvolumen (siehe 3.2.3.1) zuerst leicht an, um in den darauffolgenden Perioden wieder unterhalb des Ausgangswertes zu sinken. Entsprechend des UV verhielt sich die Dopaminausscheidung U_{DaV} auch in der SUL Serie: In AS I und AS II war eine geringe Abnahme zu erkennen. Hingegen beobachtet man in der DOM-Serie zuerst eine leichte Zunahme und anschließend Werte unterhalb des Basalwertes. Die Änderungen waren jedoch immer unterhalb der Signifikanzgrenze (siehe Tabelle 5).

3.2.3.4 Urinosmolalität

Die Osmolalität des Urins verhielt sich wie erwartet ähnlich wie die Elektrolytausscheidung. Es fand sich eine kontinuierliche Zunahme gegenüber den Basalwerten um bis zu 125%, 91% und 101% in den drei Hauptperioden PL, SUL und DOM. In den letzten zwei Hauptperioden der U_{Osmol} war der Unterschied statistisch signifikant (siehe Tabelle 5).

TABELLE 5: Renale Ausscheidungswerte der Clearance-Experimente. Urinzeitvolumen (UV), Natriumausscheidung ($UNaV$), fraktionale Natriumausscheidung (FENa), Kaliumausscheidung (UK), Dopaminausscheidung (UDAV), Urinosmolalität (U_{Osmol}). Die Werte sind dargestellt als Mittelwerte \pm SEM. BAS, basale Periode (0,45%-ige Kochsalzinfusion); AS, Aminosäureninfusion (Periode I, II und III) (siehe folgende Seite)

	Periode	Plazebo	Sulpirid	Domperidon
Urinzeitvolumen [ml/min]	BAS	12,5±1,6	11,3±1,8	10,4±1,3
	AS I	12,8±1,0	8,7±1,0	10,8±1,1
	AS II	9,1±1,0	8,4±1,0	10,1±1,3
	AS III	10,1±0,9	9,9±1,4	9,8±1,2
Natriumaus- scheidung [µmol/min]	BAS	254±46	279±49	242±35
	AS I	267±46	292±43	304±40
	AS II	352±47*	363±55*	410±52*
	AS III	371±39*	410±50*	441±50*
Fraktionelle Natriumaus- scheidung [%]	BAS	1,9±0,3	1,9±0,3	1,8±0,3
	AS I	1,9±0,3	1,8±0,3	2,0±0,3
	AS II	2,4±0,4	2,5±0,3*	2,8±0,5*
	AS III	2,9±0,5*	3,1±0,4*	3,3±0,6*
Kaliumaus- scheidung [µmol/min]	BAS	41±6	47±9	37±5
	AS I	39±7	44±7	56±11
	AS II	70±17*	64±12*	85±21*
	AS III	89±22*	100±19*	90±13*
Dopaminaus- scheidung [ng/min/1,73 m ²]	BAS	401±29	407±29	403±48
	AS I	417±44	392±44	443±68
	AS II	365±35	352±29	367±48
	AS III	343±44	371±22	370±57
Urinosmolalität [mosmol/kg H ₂ O]	BAS	138±13	166±28	161±21
	AS I	136±17	207±24	183±24
	AS II	282±40*	278±28*	273±22*
	AS III	310±42*	317±42*	324±42*

*p<0,05, getestet gegen BAS (ANOVA).

In der vorliegenden Arbeit wurde an zwölf Probanden der Effekt zweier unterschiedlicher Antagonisten der Rezeptoren der Dopamin D₂-Familie auf die Änderungen der renalen Hämodynamik nach Aminosäureinfusion untersucht. Die sowohl im inter- als auch im intraindividuellen Vergleich wenig unterschiedlichen Ergebnisse der Sammelurinuntersuchungen zeigen stabile Ausgangsbedingungen (*siehe 3.1.2*). In gleicher Weise lassen die über den gesamten Verlauf der Clearance-Experimente unveränderten Werte des mittleren arteriellen Blutdruckes, der Herzfrequenz und des Urinvolumens auf stabile Versuchsbedingungen schließen (*siehe 3.2*). Die Bedingungen erscheinen somit als geeignet, die Fragestellungen zu beantworten.

4.1 Renale Hämodynamik

Die entweder artefiziell durch Aminosäurezufuhr hervorgerufene oder postprandial nach proteinreicher Nahrung beobachtete glomeruläre Hyperfiltration der Nieren um 10-20% ist seit Jahrzehnten bekannt und lässt sich zuverlässig in unterschiedlichen Experimenten reproduzieren. So wurde nicht nur an Experimenten mit narkotisierten Ratten (Premen et al., 1985; Mühlbauer et al., 1994) eine aminosäurebedingte Hyperfiltration gezeigt, sondern auch in Untersuchungen an Probanden (Castellino et al., 1988; Fliser et al., 1993) bzw. Patienten (Bosch et al., 1986; De Santo et al., 1997). (*siehe auch 1.2.3*).

Welche Aminosäuren für die Änderungen der renalen Hämodynamik verantwortlich sind, ist noch nicht hinreichend bekannt. Sowohl Aminosäuren, welche metabolisiert werden, als auch solche, die nicht metabolisiert werden – wie α -Aminoisobutyrylsäure, bewirken eine Steigerung der renalen Hämodynamik (Woods et al., 1986; Premen and Dobbins, 1990). Eine Mischung aus Serin, Prolin und Alanin – metabolisierbare Aminosäuren – erhöhte in Experimenten an narkotisierten Hunden die GFR und den RBF

sowohl nach intravenöser Gabe als auch nach Injektion in die Pfortader (Premen, 1989). Eine Infusionslösung aus sechs verschiedenen Aminosäuren, die über Glukoneogenese metabolisiert werden, bewirkte bei Probanden eine signifikante Steigerung der Hyperfiltration der Niere um 16% (Castellino et al., 1990). Ähnlich hoch war die Steigerung der GFR um 15% in der vorliegenden Arbeit. Die verzweigt-kettigen, nicht über Organe des Splanchnikus-Innervierungsgebietes metabolisierbaren Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin schienen dagegen weder bei Hunden (Premen, 1989), noch bei Probanden einen Einfluss auf die renale Hämodynamik zu haben (Claris-Appiani et al., 1988). Untersuchungen von Castellino et al. (1990) bestätigen diese Beobachtung.

Unerwarteterweise bewirkte auch die Zufuhr einer relativ hoch konzentrierten Lösung der Aminosäure L-Arginin alleine eine Steigerung der GFR und des RPF bei narkotisierten Ratten. Die Wirkung war sogar stärker als bei einer gemischten Aminosäurenlösung. Sie erreichte eine GFR Steigerung um knapp 50%. (Chen et al., 1992). In Untersuchungen an Probanden steigerte auch die alleinige Infusion der Aminosäure Alanin die GFR und den RPF (Nair et al., 1994). Im Gegensatz dazu war die leichte Zunahme der renalen Hämodynamik nach Infusion von Alanin in der Probandenstudie von Castellino et al. (1990) nicht signifikant.

In früheren Probandenuntersuchungen von Castellino et al. (1988) stieg die Plasmakonzentration der Aminosäuren Alanin, Glycin, Phenylalanin und der verzweigt-kettigen Leucin, Valin und Isoleucin fast um das dreifache an. Dabei steigerte die Infusion einer gemischten Aminosäurenlösung die GFR um 19% – ein Wert, der unserem Ergebnis sehr nahe liegt.

Die Infusion der Aminosäure Tyrosin – die Vorstufe des Dopamins – bewirkte an narkotisierten Ratten keine Änderung der renalen Hämodynamik, wohl aber steigerte sie die Dopaminausscheidung im Urin, was später zu der These beitrug, Dopamin könne an der aminosäurenbedingten Hyperfiltration der Niere

mitbeteiligt sein (Mühlbauer et al., 1997c).

Um möglichst nahe an der physiologischen Situation zu sein wurde in der vorliegenden Arbeit eine im Krankenhaus zur Substitutionsbehandlung gebräuchliche 10%-ige Lösung gemischter Aminosäuren verwendet.

Bereits aufgrund der Daten der Studie von Premen (1989) war vermutet worden, dass die aminosäurenbedingte Steigerung der renalen Hämodynamik abhängig ist von der Aminosäurengesamtdosis. Die Experimente an Probanden von Giordano et al. (1994) verdeutlichten, dass die aminosäurenbedingte Hyperfiltration der Niere einer dosisabhängigen Änderung der renalen Hämodynamik entspricht. In dieser Studie wurde nach Infusion einer gemischten 10%-igen Aminosäurenlösung mit steigender Infusionsrate von 0,5 - 6,0 ml/min/kg KG eine Zunahme der Steigerung der renalen Hämodynamik beobachtet. Dabei wurde der maximale Anstieg der GFR um ca. 22% des Basalwertes von durchschnittlich 95 ml/1,73m²/min bzw. des RPF um ca. 27% des Basalwertes von durchschnittlich 476 ml/1,73m²/min bei einer Infusionsrate von 4,0 ml/kg/min beobachtet. Hierbei lag die Plasmakonzentration der Aminosäuren mit knapp 6 mmol/l fast dreifach höher als dem Basalwert – vergleichbar mit den Ergebnissen von Castellino et al. (1988).

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine 10%-ige Aminosäurenlösung mit der in Giordanos et al. (1994) Experimenten als wirkungsvollste Infusionsgeschwindigkeit von 4,0 ml/kg KG, jedoch pro Stunde, verabreicht. Es mag ein Druckfehler in Giordanos et al. Veröffentlichung unterlaufen sein, aber von einer Infusionsgeschwindigkeit von 4,0 ml/kg/min – was bei einem 70 kg schweren Probanden eine Infusion von 280 ml/min bzw. 16,8 l/h bedeute – kann nicht ausgegangen werden. Die beobachtete Steigerung der renalen Hämodynamik um durchschnittlich 15% in dieser Studie liegt ebenfalls den Ergebnissen von Giordano et al. nahe.

Der der aminosäuren- bzw. proteinbedingten Hyperfiltration der Niere zugrunde liegende Mechanismus ist noch nicht vollständig aufgeklärt; unterschiedliche Botenstoffe und Transmitter wurden hierfür verantwortlich gemacht (siehe

Review Woods, 1993).

Durch unterschiedliche Inhibitoren des EDRF (endothelium-derived relaxing factor) konnte die durch Aminosäuren induzierte renale Hyperfiltration an Hunden und Katzen gehemmt werden (Tolins et al., 1991; King et al., 1991; Murakami et al., 1991). In Untersuchungen an narkotisierten Ratten zeigte sich eine Herabsetzung der Basalwerte der renalen Hämodynamik durch EDRF-Inhibitoren (Chen et al., 1992). Ob Stickstoffmonoxid (NO, identisch mit =EDRF) hierbei eine direkte oder eine indirekte Rolle als Mediator spielt, konnte jedoch noch nicht vollständig eruiert werden.

Nachdem Somatostatin – ein Inhibitor des Glukagons und des somatischen Wachstumsfaktors (growth factor GF) – die postprandiale Vasodilatation der Niere hemmte, und nachdem – zumindest in einigen Experimenten - die intravenöse Gabe von Glukagon bzw. GF eine Zunahme der renalen Hämodynamik bewirkte, wurde der mögliche Mechanismus für die Steigerung der renalen Hämodynamik in der Wirkung dieser Hormone vermutet (Premen et al., 1985; Castellino et al., 1986; Brouhard et al., 1987a). Zahlreiche Untersuchungen zeigten jedoch im Gegensatz hierzu, dass der GF alleine weder für den postprandialen (Bergstrom et al., 1985) noch für den aminosäurenbedingten (Hirschberg et al., 1987; Ruilope et al., 1988; Wada et al., 1991) Anstieg der renalen Hämodynamik verantwortlich sein kann. Auch das Glukagon konnte nicht sicher als singulärer Mediator der durch Protein- bzw. Aminosäurezufuhr induzierten renalen Hyperfiltration identifiziert werden – weder anhand von Untersuchungen an Hunden (Premen, 1985), noch an Probanden (Bergstrom et al., 1985; Friedlander et al., 1990; Castellino et al., 1988), noch an Patienten (Brouhard et al., 1987a; DeSanto et al., 1992).

Für Insulin als möglichen Faktor sprachen letztendlich keinerlei Ergebnisse (DeFronzo et al., 1976; Castellino et al., 1989).

Unter den Hormonen spielen die Prostaglandine eine möglicherweise wichtige Rolle bei der hämodynamischen Antwort der Niere auf Aminosäureinfusionen

(Ruilope et al., 1987; Hirschberg et al., 1988) bzw. nach Proteinzufuhr (Vareterghem et al., 1988; Fioretto et al., 1990). Gesichert ist dies noch nicht.

Wie weiter oben erwähnt, scheint Dopamin eine wesentliche Rolle in der Regulation der renalen Antwort auf Aminosäureinfusion zu spielen (*siehe 1.2*). Aus den Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin entsteht durch Hydroxylierung L-DOPA. Eine sehr hohe Aktivität des Enzyms, welches L-DOPA in das Dopamin umwandelt, der L-AADC (L-Aminosäuren-Decarboxylase), wurde bereits vor 15 Jahren in den Zellen des proximalen Tubulus der Niere beschrieben (Hayashi et al., 1990). Das filtrierte L-DOPA kann so in der Niere in das Katecholamin Dopamin umgewandelt werden (*siehe 1.2.2.2*). Dies unterstützte die Hypothese, die aminosäurenbedingte Hyperfiltration der Niere werde durch einen intrarenalen Anstieg der Dopaminfreisetzung bewirkt, bekräftigt. Anhand von Untersuchungen wurde solch ein Anstieg der Dopaminausscheidung nach Zufuhr von Proteinen bzw. Aminosäuren sowohl an Probanden als auch an Tieren nachgewiesen (Mühlbauer et al., 1993, 1997, 1997; Luippold und Mühlbauer, 1998; *siehe 4.2 weiter unten*).

Da Dopamin an eigene Rezeptoren im Organismus bindet, wurden diese bei der Forschung zur potentiellen Rolle von Dopamin bei der renalen Hämodynamik vordergründig untersucht.

So wurde in Rattenversuchen durch den Dopaminrezeptor-Agonisten der D₂-Familie Quinpirol (Seri und Aperia, 1988; Luippold und Mühlbauer, 1998) sowie durch Dopamin selbst (ter Wee et al., 1986) die gleiche Steigerung der GFR beobachtet, wie sie nach Aminosäurezufuhr zu erwarten ist. In weiteren Untersuchungen wurde versucht, dies genauer zu differenzieren (Mendez et al., 1991; Mühlbauer et al., 1994; Luippold und Mühlbauer, 1998):

Die Hypothese, renales Dopamin vermittele die aminosäurenbedingte Hyperfiltration über Dopaminrezeptoren des D₂-Typs, ließ sich anhand der Forschungsarbeiten mit den beiden bekannten Dopamin Rezeptorfamilien

untermauern. Frederickson et al. (1985) hemmten in Experimenten an Hunden die durch Dopamininfusion hervorgerufene Steigerung des RBF mittels eines Antagonisten der D₁-Rezeptorfamilie (SCH 23390). Diese Beobachtung konnte jedoch seither nicht wieder bestätigt werden. Sulpirid, ein Antagonist der D₂-Rezeptorfamilie, hemmte in Rattenversuchen die aminosäurenbedingte Hyperfiltration vollständig, während SCH 23390 keinen Einfluss darauf zeigte (Mendez et al., 1991; Mühlbauer et al., 1994, 1997b).

Innerhalb der Familie der D₂-Rezeptoren wurden jedoch auch Unterschiede in der Wirkung auf die renale Hämodynamik beobachtet. Sulpirid ist ein zentral und peripher wirksamer Dopaminantagonist der D₂-Rezeptorfamilie und zeigt keine Präferenzen hinsichtlich der drei Rezeptorsubtypen (Sokoloff et al., 1990). Domperidon wirkt dagegen nur peripher an Rezeptoren der D₂-Familie, da es die Blut-Hirn-Schranke nicht passiert (Laduron und Leysen, 1979).

Luippold und Mühlbauer (1998) zeigten in Experimenten an Ratten, dass Sulpirid die aminosäurenbedingte Hyperfiltration – wie bereits bekannt war – vollständig hemmte, während Domperidon nur eine tendenzielle, jedoch nicht signifikante Hemmung der Hyperfiltration bewirkte.

Dass dieselben Effekte auch an gesunden Menschen beobachtet werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt. Wie erwartet, stiegen nach Infusion einer gemischten 10%-igen Aminosäurenlösung bei allen Probanden die GFR und der RPF um durchschnittlich 15% an. Diese Ergebnisse stimmen mit den bisher bekannten Literaturangaben (s.o.) überein. Durch Sulpirid wurde die Steigerung der renalen Hämodynamik vollständig gehemmt und durch Domperidon tendenziell, jedoch nicht signifikant erniedrigt. Somit konnten die gleichen Änderungen beobachtet werden wie in der oben genannten tierexperimentellen Arbeit von Luippold und Mühlbauer (1998).

Die Dosis von Sulpirid war, verglichen mit der Domperidon-Dosis, die in der aktuellen Studie appliziert wurde, höher. Aus Gründen der Probandensicherheit wurden sowohl für Sulpirid als auch für Domperidon Einzeldosen verwendet, die knapp unter den empfohlenen maximalen Tagesdosen für die chronische Therapie, 1000 mg für Sulpirid bzw. 120 mg für Domperidon, liegen

(Fachinformation).

Mühlbauer et al. zeigten 1998 an Ratten, dass der die Hyperfiltration hemmende Effekt von Sulpirid mit steigender Dosis zunimmt. Allerdings beobachteten sie einen Ceiling-Effekt in dem Sinne, dass ab einer Dosis, die um den Faktor drei über der die Hyperfiltration hemmende Dosis lag, ein systemischer Pressoreffekt auftrat. Sie beobachteten in nicht veröffentlichten Voruntersuchungen an narkotisierten Ratten außerdem, dass eine fünffach höhere als die die Hyperfiltration teilweise unterdrückende Dosis von Domperidon keine zusätzliche Minderung der Hyperfiltration bewirkte, und sich ebenfalls in der systemischen Hämodynamik bemerkbar machte.

Mit der gebotenen Einschränkung, dass kein direkter Nachweis mit höheren Dosen geführt wurde, ist nicht anzunehmen, dass ein Dosisunterschied zwischen den beiden Substanzen für die quantitativ ungleichen Effekte verantwortlich war. Daher könnte eher die Tatsache, dass Sulpirid im Gegensatz zu Domperidon auch an zentralen Dopaminrezeptoren wirksam ist, für die unterschiedliche Änderung der renalen Hämodynamik in Frage kommen.

Eine akute Denervierung der Niere hat einen Ausfall der aminosäurenbedingten Steigerung der renalen Hämodynamik zur Folge (Mendez et al., 1991; Mühlbauer et al., 1997). Die renale Innervation scheint somit eine Voraussetzung für die renale Hyperfiltration als Antwort auf eine Aminosäureinfusion zu sein. Wie genau diese Wirkung auf neuronalem Wege via dopaminerge Mechanismen zustande kommt, ist völlig unklar. Auf jeden Fall scheinen sowohl periphere als auch zentrale Effekte des Dopamins zu den aminosäurenbedingten Änderungen der renalen Hämodynamik beizutragen.

Eine andere Möglichkeit zur Erklärung der quantitativ unterschiedlichen Effekte von Sulpirid und Domperidon in den Rezeptor-Affinitätsprofilen: Sulpirid könnte durch Wirkung an D_2 - und zusätzlich auch an D_3 -Rezeptoren den stärkeren Effekt aufweisen als Domperidon, welches eine höhere Affinität zu D_2 - als zu

D₃-Rezeptoren zeigt (Levant, 1997). Es sind nicht nur zentrale D₃-Rezeptoren bekannt; sie wurden auch in glomerulären und in tubulären Anteilen der Niere nachgewiesen. In Tierexperimenten wurde gezeigt, dass der D₃-Rezeptor Agonist R(+)-7-Hydroxy-Dipropylaminotetralin (7-OH-DPAT) dosisabhängig zu einer Steigerung der GFR und des RPF nach Aminosäureinfusion führte, die sich durch einen spezifischen D₃-Rezeptor Antagonisten vollständig hemmen ließ.

Aus den Daten dieser Studie kann somit nicht vollständig geklärt werden, ob die weniger starke Auswirkung von Domperidon auf die renale Hämodynamik nach Aminosäureinfusion auf den pharmakokinetischen Unterschieden der beiden Dopaminantagonisten Domperidon und Sulpirid basiert, oder ob die geringere Auswirkung des Domperidons durch nicht ausreichend hohe Dosen – zur vollständigen Blockade der D₂-Rezeptoren – zu erklären ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bekräftigen allerdings die Hypothese, dass ein dopaminerger Mechanismus an Rezeptoren der D₂-Familie in der Regulation der aminosäurebedingten Steigerung der renalen Hämodynamik beteiligt ist.

Die Beobachtungen, dass Sulpirid die aminosäurebedingte Steigerung der renalen Hämodynamik vollständig und Domperidon leicht, aber nicht signifikant reduzierte, stimmen mit den an Rattenexperimenten erhobenen Ergebnissen von Luippold und Mühlbauer (1998) überein. Eine Untersuchung an Tieren, die unter Narkose stabile Bedingungen hierfür bieten, kann an einer größeren Tierzahl unterzogen werden. Durch die höhere Anzahl und durch die stabilen Untersuchungsbedingungen können homonymere Ergebnisse erzielt werden. Dies ist zu beachten beim Vergleich von Daten aus Tierexperimenten mit denen aus Studien an Probanden, insbesondere solchen mit niedrigen Teilnehmerzahlen, da in der Regel weniger konstante Untersuchungsbedingungen vorliegen. Um so eindrucksvoller sind die Übereinstimmungen der vorliegenden Ergebnisse mit den Daten aus vorangegangenen Tierexperimenten.

4.2 Die tubuläre Ausscheidungsfunktion und die aminosäurenbedingte glomeruläre Hyperfiltration

Es ist bekannt, dass die meisten Aminosäuren der Reabsorption im proximalen Tubulus unterliegen. Hierfür wird unter anderem ein Natrium-gekoppelter Kotransport verantwortlich gemacht. Aufgrund dessen wurde vorgeschlagen, dass der Mechanismus des tubuloglomerulären Feedbacks (TGF) für die durch Aminosäuren induzierte Hyperfiltration mitverantwortlich ist, indem eine gesteigerte tubuläre Reabsorption von Aminosäuren – und damit auch von Natrium – eine Abnahme der Natriumbeladung im distalen Tubulus und an den Macula densa Zellen bewirkt. Diese würde eine Vasodilatation des Vas afferens bedingen, um durch die so herbeigeführte Steigerung der Filtrationsrate des einzelnen Nephron dem akuten Natriumverlust vorzubeugen (Review Woods, 1993). Im Sinne dieser Hypothese würde ein Abfall oder zumindest ein Konstantbleiben der Natriumexkretion während einer aminosäurenbedingten Hyperfiltration zu erwarten sein (Woods et al., 1986; Claris-Appiani et al., 1988a).

Eine weitere Hypothese zur Beteiligung des TGF Mechanismus besagt, dass Aminosäuren eine direkte Wirkung auf das Vas afferens ausüben könnten, die mit folgender Vasodilatation einhergehen würde. Die absolute proximale Natriumreabsorption würde dadurch ansteigen, die fraktionielle Natriumreabsorption jedoch würde erwartungsgemäß sinken, da das glomerulotubuläre Gleichgewicht nicht perfekt ist. Die distale Natriumausscheidung würde steigen (Imai et al., 1977; Wilcox et Bailys, 1985).

In der vorliegenden Studie wurde jedoch durch die Gabe von Aminosäureninfusionen eine Steigerung der renalen Ausscheidung an Natrium erzielt, was den tierexperimentellen Beobachtungen von Mühlbauer et al. (1994) und von Ruilope et al., (1987) entspricht. Die erhöhte Natriumausscheidung im Urin war jedoch erst ab der zweiten Hauptperiode, also nach anderthalb Stunden Infusionsdauer von Aminosäuren, signifikant. Dies könnte auf einen Sättigungscharakter der im proximalen Tubulus an Natrium gekoppelten

Aminosäurenreabsorption hinweisen.

Trotz der unterschiedlichen Auswirkung auf die Änderungen der renalen Hämodynamik war in der vorliegenden Studie die gesteigerte Natriumausscheidung sowohl in der Plazebo-Serie, als auch in den Sulpirid- bzw. Domperidon-Serien quantitativ gleich. Diese Daten unterstützen nicht die Hypothese, der tubuloglomeruläre Feedback sei von ausschlaggebender Wichtigkeit für die aminosäurenbedingten Hyperfiltration. Allerdings ist eine mögliche Mitwirkung des TGF unter direktem Einfluss der Aminosäuren auf die afferenten Arteriolen nicht völlig auszuschließen.

Dopamin wirkt nicht nur als Vasodilatator, sondern – zumindest in pharmakologischen Dosen – auch als natriuretisches und diuretisches Hormon. Nach in vitro-Daten soll es an D₁-Rezeptoren an der Bürstensaummembran der Nieretubuluszellen binden, dort die Adenylatcyclase stimulieren und dadurch zur Hemmung des Na⁺/H⁺-Antiports führen. An der basolateralen Membran der Nierentubuli soll Dopamin hingegen durch Bindung an D₁-Rezeptoren zur Stimulierung der Phospholipase C und zur Hemmung der Na⁺/K⁺-ATPase-Aktivität führen, was eine Steigerung der Natriumausscheidung – den natriuretischen Effekt des Dopamins – bewirken würde (Felder et al., 1989; Missale et al., 1998; Olson et al., 1998). Die Bindung des Dopamins an Rezeptoren der D₂-Familie soll dagegen die Adenylatcyclase (Missale et al., 1998) hemmen, was den gegenteiligen Effekt auf die Natriumausscheidung nach sich ziehen müsste. Das Bild ist allerdings sehr heterogen. So ließ sich eine durch L-DOPA-Zufuhr bedingte Steigerung der Natriumausscheidung sowohl durch D₁-Rezeptoren-Antagonisten (wie SCH 23390 und SKP 83566), als auch durch Antagonisten der D₂-Rezeptorfamilie (wie Sulpirid) hemmen. Daher werden für den natriuretischen Effekt des Dopamins sowohl D₁- als auch D₂-Rezeptoren verantwortlich gemacht. (Eklof, 1997; LeClaire et al., 1998). In eigenen Untersuchungen wurde trotz einer fast 1300-fachen Steigerung der renalen Dopaminausscheidung durch intravenöse L-DOPA-Zufuhr nahezu keine Steigerung der Natriumausscheidung beobachtet (Küster et al., 1998).

Somit steht es nicht im Widerspruch zu einer einheitlichen Datenlage, dass in der vorliegenden Arbeit eine Steigerung der renalen Natriumexkretion in allen Serien – also trotz Gabe zweier unterschiedlicher D₂-Rezeptor Antagonisten – zu beobachten war. Sollten Dopamin-Rezeptoren tatsächlich die Natriuresis beeinflussen, könnten die beschriebenen Beobachtungen dadurch erklärt werden, dass die Produktion endogenen Dopamins aus der kontinuierlichen Infusion an Aminosäuren eine ausreichend hohe Menge an Dopamin bereitgestellt hat. Dieses könnte dann durch Bindung an D₁-Rezeptoren – unabhängig von der Blockade der D₂-Rezeptoren durch die entsprechenden Antagonisten – den natriuretischen Effekt bewirkt haben.

Das während der Clearance-Untersuchungen ausgeschiedene Dopamin im Urin wurde in dieser Studie ebenfalls bestimmt. Anders als erwartet nahm die Dopaminausscheidung während der Aminosäureinfusion gegenüber den beiden Vorperioden nicht zu. In früheren Arbeiten an Ratten wurde gezeigt, dass nach einer Infusion von Tyrosin, der Vorstufe des Dopamins, die Dopaminausscheidung im Urin anstieg (Agharanya et al., 1982; Kaufman et al., 1989). Mühlbauer et al. bestätigten dieses Ergebnis: Die alleinige Infusion von L-Tyrosin bewirkte dosisabhängig eine erhöhte Dopaminausscheidung, jedoch keine Änderung der renalen Hämodynamik (Mühlbauer et al., 1997c). Weiterhin zeigten sie, dass die Infusion einer Aminosäurelösung, die Tyrosin beinhaltet, sowohl eine Steigerung der Dopaminausscheidung im Urin als auch der GFR gegenüber den Basalwerten bewirkte. Bei Fehlen des Dopaminvorläufers war keine Änderung des Ausgangswertes der Dopaminausscheidung zu beobachten. Dagegen stieg die GFR unabhängig von der Anwesenheit des Tyrosins an – übereinstimmend mit unseren Ergebnissen dieser Studie. Für den Anstieg der GFR musste jedoch die Niere innerviert sein: Bei einer Denervierung blieb nach Aminosäureinfusion der Anstieg der GFR aus – der Anstieg des im Urin ausgeschiedenen Dopamins verringerte sich leicht trotz des beigemengten Tyrosins in der Aminosäureinfusion (Mühlbauer et al., 1997). Der alleinige Wert der

Dopaminausscheidung nach Nahrungsaufnahme zeigte in Rattenexperimenten einen Anstieg gegenüber dem Basalwert, der unabhängig von der Innervation war (Mühlbauer et al., 1994). Nach einer Proteinzufuhr konnte sowohl in Tierexperimenten (Kaufman et al., 1989) als auch in Untersuchungen an Probanden (Williams et al., 1986) eine Steigerung des renal ausgeschiedenen Dopamins gezeigt werden. Dem entgegen stehen die Beobachtungen von Thomas et al. (1994): In Probandenuntersuchungen konnte keine erhöhte renale Dopaminausscheidung bei einer durch proteinreiche Nahrungsaufnahme bedingten renalen Hyperfiltration registriert werden.

Dass in der vorliegenden Arbeit keine Erhöhung der Dopaminausscheidung nach Aminosäureninfusion zu beobachten war, könnte dadurch erklärt werden, dass in der hier verwendeten Aminosäurenlösung kein L-Tyrosin, die Vorstufe des Dopamins, beigemischt war – was sozusagen Voraussetzung für den Anstieg des Dopamins im ausgeschiedenen Urin zu sein scheint (Agharanya et al., 1982; Kaufman et al., 1989; Mühlbauer et al. 1997c). Die Konzentration an dem vorhandenen Dopaminvorläufer Phenylalanin könnte zu gering gewesen sein, um eine signifikante Steigerung der renalen Dopaminausscheidung zu bewirken. Da jedoch – wie oben erwähnt – die renale Hämodynamik nach Aminosäurezufuhr nicht tyrosinabhängig ist, bewirkten die restlichen Aminosäuren sehr wohl die Hyperfiltration der Niere.

Aus den Daten lässt sich folgern, dass das mit dem Urin ausgeschiedene Dopamin keine funktionelle Rolle in der Regulation der renalen Hämodynamik spielt. Bei ausreichend hoher Konzentration der als Dopaminvorläufer fungierenden Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin steigt sein Wert unabhängig von einer Innervation der Niere und unabhängig von renalen hämodynamischen Veränderungen an.

4.3 Diabetes mellitus und die pathologische Hyperfiltration der Niere

Knapp die Hälfte der Patienten mit Diabetes mellitus entwickelt im späten Stadium der Erkrankung eine fortschreitende Nierenerkrankung. Bei 25-40% der insulinpflichtigen Diabetiker wird bereits im Anfangsstadium der Erkrankung eine inadäquat erhöhte GFR gemessen. Die Vermutung, die glomeruläre Hyperfiltration trage zum Fortschreiten der diabetischen Nephropathie bei (Mogensen et al., 1984), gab Anlass zu zahlreichen Untersuchungen, den zugrundeliegenden Mechanismus für diese renalen hämodynamischen Veränderungen zu erforschen.

Somit war der klinische Hintergrund der vorliegenden Arbeit die Frage nach den ursächlichen Mechanismen der physiologischen Hyperfiltration der Nieren. Solches Wissen könnte von Nutzen sein bei der Entwicklung weiterer Therapieansätze für pathologische Formen der Hyperfiltration. So könnten neue Perspektiven auch für die diabetische Nephropathie gezeichnet werden.

Viele Risikofaktoren – wie genetische Prädisposition, Bluthochdruck, Rauchen, Blutzuckereinstellung – spielen eine Rolle für das Entstehen und für das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie beim Diabetes mellitus. Die Behandlung umfasst neben der Eliminierung bzw. Reduzierung der genannten Risikofaktoren unter anderem auch eine Restriktion der Protein- und der neuerdings umstritten Salzeinnahme.

Bereits 1987 vertraten Brouhard et al. die Meinung, Proteinzufuhr könne zum Fortschreiten der Nephropathie an diabetischen Mäusen beitragen. Eine statistische Auswertung von Studien an insulinpflichtigen Diabetikern zeigt durchgehend, dass eine proteinarme Diät die Progression der diabetischen Nephropathie verlangsamt (Waugh et al., 2000).

Hyperfiltrierende diabetische Patienten zeigen eine anormale Antwort der renalen Hämodynamik auf akute Proteinzufuhr. Eine physiologische Antwort –

nämlich Erhöhung der GFR – konnte bei diesen Patienten erst nach Einhaltung einer proteinarmen Diät für eine gewisse Zeit wiederhergestellt werden. Normofiltrierende Diabetiker hingegen zeigten unabhängig von der Höhe der Proteinzufuhr über drei Wochen eine physiologische Steigerung der GFR nach akuter Proteinbelastung (Jones et al., 1992), sowie nach akuter Infusion von Aminosäuren (Tuttle et al., 1991).

Im Vergleich dazu reagierten gesunde Probanden nach dreiwöchiger Ernährung mit proteinarmer Diät nicht mit einer erniedrigten GFR. Die dreiwöchige Proteinrestriktion verhinderte auch nicht die renale hämodynamische Antwort auf eine akute Nahrungsaufnahme mit Fleisch. (Wetzels et al., 1989). Somit begründet sich die Hypothese des Nutzens einer proteinarmen Diät bei hyperfiltrierenden Patienten mit diabetischer Nephropathie.

Mogensen beschrieb kürzlich eine Zusammenfassung dreier Studien an Patienten mit Diabetes mellitus Typ II: Eine monatelange proteinarme Diät senkte signifikant die GFR. Jedoch schien solch eine Diät nur in der Anfangsphase der diabetischen Nephropathie – bei einem GFR-Wert von über 45 ml/min – sinnvoll zu sein. (C. E. Mogensen, 2001; Zeller et al., 1991). Als etablierter Marker für die Entwicklung der diabetischen Nephropathie dient die Mikroalbuminurie. Ihr Wert korreliert mit dem Grad der Glykämie. Gewöhnlich wird nach dem Feststellen einer Microalbuminurie bei Diabetikern auch ein steigender Blutdruck beobachtet. Diese Patienten haben in diesem Stadium eine noch gut erhaltene GFR, was eine geringe Destruktion des Nierengewebes voraussetzt (Mogensen, 2000). Die Mikroalbuminurie ist somit ein geeigneter Marker für den Beginn einer therapeutische Intervention. Eine antihypertensive Therapie scheint das Fortschreiten der renalen Organzerstörung zu verlangsamen (Rudberg et al., 1999). Diese verspricht bei einer medikamentösen Kombination von ACE-Hemmern mit Diuretika am erfolgreichsten zu funktionieren (Mathiesen et al., 1999). Der kontinuierliche Abfall der GFR kann dadurch um mehr als 50% reduziert werden, jedoch kann er nicht komplett gestoppt werden. (Mogensen, 2000)

Vor kurzer Zeit zeigten Luippold et al. in Untersuchungen in einem Diabetes-

Modell, dass D₂-Rezeptoren auch bei der pathologischen hämodynamischen Veränderungen der Niere eine funktionelle Rolle spielen. Die Untersuchungen an narkotisierten Ratten zeigten, dass auch die pathologische Hyperfiltration der Niere bei experimentell induziertem Diabetes mellitus in frühem Stadium durch den peripher wirkenden D₂-Rezeptor-Antagonisten Domperidon gehemmt wird. Die renale Hämodynamik erreicht Werte gesunder Kontrollratten. Die hyperfiltrierenden Nieren diabetischer Ratten besitzen nicht mehr die Fähigkeit, funktionell auf eine Aminosäureinfusion mit einer Hyperfiltration zu reagieren. Diese Funktionsreserve der Niere scheint durch die Vorbehandlung mit Domperidon gebessert bzw. wiederhergestellt zu sein, denn eine anschließende Infusion von Aminosäuren führt erneut zu einer renalen Hyperfiltration. (Luippold et al., 2001)

4.4 Schlussfolgerung aus der vorliegenden Arbeit

Dopamin-Rezeptoren vom D₂-Typ scheinen auch beim Menschen eine funktionelle Rolle in der physiologischen Regulation der renalen Hämodynamik zu spielen. Zusammen mit den experimentellen Vorbefunden erscheint die weitere Erforschung eines potentiell benefiziellen Effektes einer Dopamin D₂-Rezeptorblockade auf die diabetesbedingte pathologische Hyperfiltration der Niere in weiteren Studien sinnvoll.

Dopamin D_2 -Rezeptoren sind an der Regulation der renalen Hämodynamik beteiligt. In tierexperimentellen Ansätzen konnte gezeigt werden, dass dies sowohl für die physiologische Hyperfiltration nach Protein- oder Aminosäurezufuhr als auch für die pathologische Form, die als unabhängiger Mechanismus bei der Entstehung der diabetischen Nephropathie diskutiert wird, zutrifft. Direkt funktionelle Daten lagen bisher für den Menschen nicht vor.

An gesunden, männlichen Probanden wurde mittels Aminosäureinfusion eine glomeruläre Hyperfiltration ausgelöst. Die GFR und der renale Plasmafluss wurden hierbei mittels der renalen Clearance von Inulin bzw. Paraaminohippursäure bestimmt. Die genannten tierexperimentellen Beobachtungen einer Hemmung der physiologischen aminosäurebedingten Hyperfiltration durch Rezeptor Antagonisten vom D_2 -Typ konnten vollständig bestätigt werden: Der zentral und peripher wirkende D_2 -Rezeptor-Antagonist Sulpirid zeigte eine komplette Hemmung, während der allein peripher wirkende D_2 -Rezeptor Antagonist Domperidon nur eine teilweise Unterdrückung der Hyperfiltration bewirkte. Die typische, Aminosäuren-bedingte Natriuresis war auch in der vorliegenden Untersuchung zu beobachten; sie wurde durch keinen der beiden Dopamin- D_2 -Antagonisten beeinflusst. Somit war eine Interaktion des renalen Dopamin mit der Natriumausscheidung in dieser Untersuchung nicht festzustellen. Ob der erwähnte quantitative Effekt-Unterschied der beiden Antagonisten in ihrer Pharmakokinetik (zentrale versus periphere Wirkung) oder in ihrem unterschiedlichen Rezeptorprofil (zusätzliche Hemmung von Dopamin D_3 -Rezeptoren bei Sulpirid) begründet liegt, muss in weiteren Studien untersucht werden. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass Dopaminrezeptoren vom D_2 -Typ auch beim Menschen an der Regulation der renalen Hämodynamik beteiligt sind. Die Ergebnisse ermutigen, Folgeuntersuchungen an Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen durchzuführen, wie zum Beispiel diabetischer Nephropathie.

6 ANHANG

6.1 Literaturverzeichnis

Agharanya JC, Wurtman RJ: Effect of acute administration of large neutral and other amino acids on urinary excretion of catecholamines. *Life Sci* 1982; 30: 739-746

Alexander RW, Gill JR, Yamabe H, Lovenberg W, Keiser HR: Effects of dietary sodium and acute saline infusion on the interrelationship between dopamine excretion and adrenergic activity in man. *J Clin Invest* 1974; 54: 194-200

Anonymous: Effects of dietary protein restriction on progression of moderate renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *J Am Soc Nephrol* 1996 Dec; 7 (12): 2616-2626

Aperia A, Bertorello A, Seri I: Dopamine causes inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase activity in rat proximal convoluted tubule segments. *Am J Physiol* 1987; 252: F 39-45

Aperia A, Holtbäck U, Syren ML, Svennson LB, Fryckstedt J, Greengard P: Activation/deactivation of renal Na⁺-K⁺-ATPase: a final common pathway for regulation of natriuresis. *FASEB J* 1994; 8: 436-439

Bains AD, Chan W: Production of urine free dopamine from DOPA; a micropuncture study. *Life Sci* 1980; 26: 253-259

Bains AD, Drangova R: Dopamine production by the isolated perfused rat kidney. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62 (3): 272-276

Barthelmebs M, Vailly B, Velly J, Ehrhardt JD, Grima M, Imbs JL: Renal dopamine synthesis from precursors. *Am J Hypertens* 1990; 3: 18-21

Bergstrom J, Ahlberg M, Alvestrand A: Influence of protein intake on renal hemodynamics and plasma hormone concentrations in normal subjects. *Acta Med Scand* 1985; 217: 189-196

Blumberg AL, Dubb JW, Allison NL, Aldins Z, Ramey K, Stote RM: Selectivity of metoclopramide for endocrine versus renal effects of dopamine in normal humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 11: 181-186

Bosch JP, Lauer A, Glabman S: Short term protein loading in assessment of patients with renal disease. *Am J Med* 1984; 77: 873-897

Bosch JP, Lew S, Glabman S, Lauer A: Renal hemodynamic changes in humans. Response to protein loading in normal and diseased kidneys. *Am J Physiol* 1986; 81 (5): 809-815

- Bosch JP, Saccagi A, Lauer A, Ronco C, Belledonne M, Glabman S: Renal functional reserve in humans. Effects of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 1983; 75: 943-950.
- Bressolle F, Bres J & Faure-Jeantis A: Absolute bioavailability, rate of absorption, and dose proportionality of sulpiride in humans. *J Pharm Sci* 1992; 81: 26-32
- Brouhard BH, LaGrone LF, Richards GE, Travis LB: Somatostatin limits rise in glomerular filtration rate after a protein meal. *J Pediatr* 1987a; 110: 729-734
- Brouhard BH, Rajaraman S, LaGrone LF: Effect of varied protein intake on the nephropathy of diabetic mouse (C57BL/s Jdb/db). *Int J Pediatr Nephrol* 1987; 8(2): 59-68
- Bughi S, Jost Vu E, Antonipillai I, Nadler J, Horton R: Effect of dopamine₂ blockade on renal function under varied sodium intake. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78 (5): 1079-1084
- Buckalew VM Jr: End-stage renal disease: can dietary protein restriction prevent it? *South Med J* 1994; 87 (10): 1034-1037
- Castellino P, Coda B, DeFronzo RA: Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 1986; 251: F132-F140
- Castellino P, De Santo NG, Capasso G, Anastasio P, Coppola S, Capodicasa G, Perna A, Torella R, Salvatore T, Giordano C: Low protein alimentation normalizes renal haemodynamic response to acute protein ingestion in type 1 diabetic children. *Eur J Clin Invest* 1989; 19: 78.83
- Castellino P, Giordano C, Perna A, DeFronzo RA: Effects of plasma amino acid and hormone levels on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 1988; 255: F444-F449
- Castellino P, Levin R, Shohat J, DeFronzo RA: Effect of specific amino acid groups on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 1990; 258 (27): F992-F997
- Chen C., Mitchell KD, Navar LG: Role of endothelium-derived nitric oxide in the renal hemodynamic response to amino acid infusion. *Am J Physiol* 1992; 263: R510-516
- Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK: Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 32: 281-307

Claris-Appiani A, Assael BM, Tirelli AS, Marra G, Cavanna G: Lack of glomerular hemodynamic stimulation after infusion of branched-chain amino acids. *Kidney Int* 1988; 33: 91-94

Claris-Appiani A, Assael BM, Tirelli AS, Cavanna G, Corbetta C, Marra G: Proximal tubular function and hyperfiltration during amino acid infusion in man. *Am J Nephrol* 1988a; 8: 96-101

Clark BA, Rosa RM, Epstein FH, Young JB, Landsberg L: Altered dopaminergic responses in hypertension. *Hypertension* 1992; 19: 589-594

Debaveye YA, Van den Berghe GH: Is there still a place for dopamine in the modern intensive care unit? *Anesth Analg* 2004; 98: 461-468

DeFronzo RA, Goldberg M, Agus ZS: The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. *J Clin Invest* 1976; 58: 83-90

De Keijzer MH, Provoost AP: Effects of dietary protein on the progression of renal failure in the Fawn-Hooded rat. *Nephron* 1990; 55 (2): 203-209

De Santo NG, Anastasio P, Loguercio C, del Vecchio Blanco P, Capasso G, Coppola S, Bellini L, Spagnuolo G, Federico P, Alfieri R, Lombardi A, Policastro M, Perrelli A: Glucagon-independent renal hyperaemia and hyperfiltration after an oral protein load in Child A liver cirrhosis. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 31-37

De Santo NG, Capasso G, Malnic G, Anastasio P, Spitali L, D'Angelo A: Effect of an acute oral protein load on renal acidification in healthy humans and in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8 (5): 784-792

Eklof AC: The natriuretic response to a dopamine DA₁ agonist requires endogenous activation of dopamine DA₂ receptors. *Acta Physiol Scand* 1997; 160(4): 311-314

El Sayed AA, Haylor J, el Nahas AM: Involvement of renal autacoids in the direct effects of mixed amino acids on the kidney. *Miner Electrolyte Metab* 1992; 18 (2-5): 117-119

Felder RA, Blecher M, Eisner GM, Jose PA: Cortical tubular and glomerular dopamine receptors in the rat kidney. *Am J Physiol* 1984; 246: F557-F568

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

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

Fioretto P, Trevisan R, Giorato C, De Riva C, Doria A, Valerio A, Semplicini A, Angeli P, Cipollina MR, Nosadini R: Type I insulin-dependent diabetic patients show an impaired renal hemodynamic response to protein intake. *J Diabet Complications* 1988; 2 (1): 27-29

Fioretto P, Trevisan R, Valerio A, Avogaro A, Borsato M, Doria A, Semplicini A, Sacerdoti D, Jones S, Boggetti E, Viberti GC, Nosadini R. Impaired renal response to a meat meal in insulin-dependent diabetes: Role of glucagon and Prostaglandins. *Am J Physiol* 1990; 258: F675-F683

Fliser D, Zeier M, Nowack R, Ritz E: Renal functional reserve in healthy elderly subjects. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1371-1377

Frederickson ED, Bradley T, Goldberg LI: Blockade of renal effects of dopamine in the dog by the DA1 antagonist SCH 23390. *Am J Physiol* 1985; 249 (2 Pt 2): F236-F240

Friedlander G, Blanchet-Benque F, Nitenberg A, Laborie C, Assan R, Amiel C: Glucagon secretion is essential for amino acid-induced hyperfiltration in man. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 110-117

Giordano M, Castellino P, McConnell EL, DeFronzo RA: Effect of amino acid infusion on renal hemodynamics in humans: a dose-response study. *Am J Physiol* 1994; 267(36): F703-F708

Goldberg LI, Kohli JD: Peripheral dopamine receptors: A classification based on potency series and specific antagonism. *Trends Pharmacol Sci* 1983; 4(2): 64-66

Goldberg LI: Cardiovascular and renal implications of dopamine: Potential clinical applications. *Pharmacol Rev* 1972; 24: 1-29

Goldstein DS, Stull R, Zimlichman R, Levinson PD, Smith H, Keiser HR: Simultaneous measurement of DOPA, DOPAC and catecholamines in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Clin Chem* 1984; 30: 815-816

Graf H, Stumvoll HK, Luger A, Prager E: Effects of amino acid infusion on glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 1983; 308: 159-160

Hagege J, Richet G: Proximal tubule dopamine histofluorescence in renal slices incubated with L-DOPA. *Kidney Int* 1985; 27: 3-8

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

Hayashi M, Yamaji Y, Kitajima W, Saruta T: Aromatic L-amino acid

decarboxylase along the rat nephron. *Am J Physiol* 1990; 258: F28-33

Hedge SS, Lokhandwala MF: Renal dopamine and sodium excretion. *Am J Hypertens* 1990; 3: 78-81

Heykants J, Hendriks R, Meuldermans W et al: On the pharmacokinetics of domperidone in animals and man. IV. The pharmacokinetics of intravenous domperidone and its bioavailability in man following intramuscular, oral and rectal administration. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1981; 6: 61-70

Hirschberg R, Kopple JD: Role of growth hormone in the amino acid-induced acute rise in renal function in man. *Kidney Int* 1987; 32: 382-387

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

Hoffman BB and Lefkowitz RJ: Catecholamine and sympathomimetic drugs, Chapter 10, p.201 ff in: The pharmacological basis of therapeutics, Hrsg. Goodman Gilman A, Rall TW, Nies AS, Taylor P, 1990, Pergamon Press, New York, Frankfurt

Hostetter TH: Human renal response to meat meal. *Am J Physiol* 1986; 250 (4 Pt 2): F613-618

Hostetter TH, Meyer TW, Rennke HG, Brenner BM: Chronic effects of dietary protein in the rat with intact and reduced renal mass. *Kidney Int* 1986; 30 : 509-517

Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM: Hyperfiltration in remnant nephrons: A potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 1981; 241: F85-93

Huo T and Healy DP: [3H] domperidone binding to the kidney inner medullary collecting duct dopamine-2K (DA2K) receptor. *J pharmacol Exp Ther* 1991; 258 (2): 424-428

Imai M, Seldin DW, Kokko JP: Effect of perfusion rate on the fluxes of water, sodium, chloride and urea across the proximal convoluted tubule. *Kidney Int* 1977; 11: 18-27

Israel RI, O'Mara V, Austin B, Bellucci A, Meyer BR: Metoclopramide decreases renal plasma flow. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39: 261-264

Jibani MM, Bloodworth LL, Foden E, Griffiths KD, Galpin OP: Predominantly vegetarian diet in patients with incipient and early clinical diabetic nephropathy: effects on albumin excretion rate and nutritional status. *Diabet-Med* 1991; 8 (10): 949-953

Jones SL, Kontessis P, Wiseman M, Dodds R, Bognetti E, Pinto J, Viberti G: Protein intake and blood glucose as modulators of GFR in hyperfiltering diabetic patients. *Kidney Int* 1992; 41 (6): 1620-1628

Jose PA, Raymond JR, Bates MD, Aperia A, Felder RA, Carey RM: The Renal Dopamine Receptors. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 1265-1278

Jose PA, Eisner GM, Felder RA. Dopaminergic defect in hypertension. *Pediatr Nephrol* 1993; 7: 859-864

Jose PA, Asico LD, Eisner GM, Pocchiari F, Semeraro C, Felder RA. Effects of costimulation of dopamine D1- and D2-like receptors on renal function. *Am J Physiol* 1998; 275 (4 Pt 2): R986-994

Kambara S, Yoneda S, Yoshimura M, Yamazaki H, Okabayashi H, Takeda K, Takahashi H, Ijichi H: The source and significance of increased urinary dopamine excretion during sodium loading in rats (Japanese, Non-English). *Nippon-Naibunpi-Gakkai-Zasshi* 1987; 63(5): 657-663

Kaufman LN, Young JB, Landsberg L: Differential catecholamine responses to dietary intake: effects of macronutrients on dopamine and epinephrine excretion in the rat. *Metabolism* 1989; 38: 91-99

Kindgen-Milles D, Tarnow J: Low dosage dopamine improves kidney function: current status of knowledge and evaluation of a controversial topic. *Anesthesiol-Intensivmed-Notfallmed-Schmerzther* 1997; 32(6): 333-342

King AJ, Roy JL, Anderson S, Neuringer JR, Gunning M, Brenner BM: Nitric oxide: A potential mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J Am Soc Nephrol* 1991; 1: 1271-1277

Kupin WL, Cortes P, Dumler F, Feldkamp CS, Kilates MC, Levin NW: Effect on renal function of change from high to moderate protein intake in type I diabetic patients. *Diabetes* 1987; 36 (1): 73-79

Laduron P and Leysen JE: Domperidone, a specific in vitro dopamine antagonist, devoid of in vivo central dopaminergic activity. *Biochem Pharmacol* 1979; 28: 2161-2165

LeClaire MM, Berndt TJ, Knox FX: Effect of renal interstitial infusion of L-dopa on sodium and phosphate excretions. *J Lab Clin Med* 1998; 132(4): 308-312

Lee KE, Summerill RA: Glomerular filtration rate following administration of individual amino acids in conscious dogs. *Q J Exp Physiol* 1982; 63: 459-465

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

Lee MR: Dopamine and the kidney: 10 years on. *Clin Sci* 1993; 84: 357-375

Levant B: The D₃ dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacol Rev* 1997; 49: 231-252

Levesque D, Diaz J, Pilon C, Martres MP, Giros B, Souil E, Schott D, Morgat JL, Schwartz JC, Sokoloff P: Identifikation, characterization and localization of dopamine D₃ receptor in rat brain using 7-[³H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A* 1992; 89 (17): 8155-8159

Löffler G, Petrides PE: Biochemie und Pathobiochemie, 7. Auflage, Springer Verlag 2003

Lopes de Faria JB, Friedman R, de Cosmo S, Dodds RA, Mortton JJ, Viberti GC: Renal functional response to protein loading in type I (insulin-dependent) diabetic patients on normal or high salt intake. *Nephron* 1997; 76 (4): 411-417

Luippold G, Beilharz M, Mühlbauer B: Reduction of glomerular hyperfiltration by dopamine D₂-like receptor blockade in experimental diabetes mellitus. *Nephrol-Dial-Transplant* 2001; 16: 1350-1356

Luippold G, Kuster E, Joos TO, Mühlbauer B: Dopamin D₃ receptor activation modulates renal function in anesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1998; 358 (6): 690-693

Luippold G and Mühlbauer B: Dopamine D₂ Receptors Mediate Glomerular Hyperfiltration Due To Amino Acids. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 1248-1252

Luippold G, Schneider S, Vallon V, Osswald H, Mühlbauer B: Postglomerular vasoconstriction induced by dopamine D(3) receptor activation in anesthetized rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278 (4): F570-575

MacDonald TM: Metoclopramide, domperidone and dopamine in man: actions and interactions. *Eur J Clin Pharmacol* 1991; 40 (3): 225-230

Maher JF: Diabetic nephropathy: early detection, prevention and management. *Am Fam Physician* 1992; 45(4): 1661-1668

Mathiesen ER, Homme IE, Hansen HP, Smidt UM, Parving H-H : Randomised controlled trial of long term efficacy of captopril on preservation of kidney function in normotensive patients with insulin dependent diabetes and microalbuminuria. *BMJ* 1999; 319: 24-25

McDonald RH, Goldberg LI, McNay JL, Tuttle EP: Effect of dopamine in man, augmentation of sodium excretion, glomerular filtration rate and blood flow. *J Clin Invest* 1964; 43: 1116-1124

Meier-Hellmann A, Sakka SG, Reinhart K: Catecholamines and splanchnic perfusion. *Schweiz Med Wochenschr* 2000; 130: 1942-1947

Mendez RE, Lopez R, Lopez G, Marti MS, Martinez-Maldonado M: Effects of dopamine-receptor antagonists and renal denervation on amino acid-induced hyperfiltration. *Am J Physiol* 1991; 261: F70-F75

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

Mogensen CE: Microalbuminuria, blood pressure and diabetic renal disease: Origin and development of ideas, in Mogensen CE (ed): *The Kidney and Hypertension in Diabetes Mellitus* (ed 5). Boston, MA, Kluwer 2000, pp 655-706

Mogensen CE: The kidney in diabetes: how to control renal and related cardiovascular complications. *Am J Kidney Dis* 2001; 37 (1 Supp 2): S2-6

Mogensen CE, Christensen Ck: Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311(2): 89-93

Mühlbauer B, Gleiter CH, Gies C, Luippold G, Löschmann PA. Renal response to infusion of dopamine in anesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997c; 356(6): 838-845

Mühlbauer B: Die therapeutische Wirksamkeit von Dopamin bei akutem Nierenversagen. *Anesthetist* 1996; 45: 657-669

Mühlbauer B, Gleiter CH, Büscher K, Gies C, Osswald H: Contribution of L-tyrosine and L-DOPA to the renal dopamine excretion in rats. *Pfluegers Arch Eur J Physiol* 1995; 429 (suppl): R125

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

Mühlbauer B, Mickeler C, Schenk F: Protein-induced increase in urinary dopamine in normal and diabetic rats: role of catecholamine precursors. *Am J Physiol* 1997a; 273 (*Regulatory Integrative Comp Physiol* 42): R80-R85

Mühlbauer B, Osswald H: Feeding but not salt-loading is the dominant factor controlling urinary dopamine excretion in conscious rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1992; 346: 469-471

Mühlbauer B, Osswald H: Urinary dopamine excretion in conscious rats: effect of carbidopa in different states of sodium balance. *Renal Physiol Biochem* 1993; 16: 117-124

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

Physiol 1997b; 273: F144-F149

Murakami M, Suzuki H, Ichihara A, Naitoh M, Nakamoto H, Saruta T: Effects of L-arginine on systemic and renal haemodynamics in conscious dogs. *Clin Sci* 1991; 81: 727-732

Nair KS, Pabico RC, Truglia JA, McKenna BA, Statt M, Lockwood DH: Mechanism of glomerular hyperfiltration after a protein meal in humans. Role of hormones and amino acids. *Diabetes Care* 1994; 17 (7): 711-715

Olsen NV: Effects of dopamine on renal haemodynamics tubular function and sodium excretion in normal humans. *Dan Med Bull* 1998; 45 (3): 282-297

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

Premen AJ: Nature of the renal hemodynamic action of amino acids in dogs. *Am J Physiol* 1989; 256: F516-F523

Premen AJ, Dobbins DE: Effects of amino acid isomers on canine renal hemodynamics. *Am J Physiol* 1990; 258: F799-F804

Premen AJ, Hall JE, Smith MJ Jr; Postprandial regulation of hemodynamics: role of pancreatic glucagon. *Am J Physiol* 1985; 248: F656-F662

Pullman TN, Alving AS, Dern RJ, Landowne M: The influence of dietary protein intake on specific renal functions in normal man. *J Lab Clin Invest* 1954; 44: 320-332.

Puschett JB, Winaver J: Effects of diuretics on renal function. In: Windhager EE (HRSG) Handbook of Physiology (8): Renal Physiology. *Oxford University Press, New York* 1992; 2335-2406

Rodriguez-Iturbe B, Herrera J, Garcia R: Response to acute protein load in kidney donors and apparently normal postacute glomerulonephritis patients: Evidence for glomerular hyperfiltration. *Lancet* 1985; 2: 461-464

Rosenberg ME, Swanson JE, Thomas BL, Hostetter TH: Glomerular and hormonal responses to dietary protein intake in human renal disease. *Am J Physiol* 1987; 253 (6 Pt 2): F1083-1090

Rudberg S, Østerby R, Bangstad H-J, Dahlquist G, Persson B: Effect of angiotensin converting enzyme inhibitor or beta blocker on glomerular structural changes in young microalbuminuric patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42: 589-595

Ruilope LM, Rodicio J, Garcia Robles R, Sancho J, Miranda B, Granger JP, Romero JC: Influence of a low sodium diet on renal response to amino acid

infusions in humans. *Kidney Int* 1987; 31: 992-999

Ruilope L, Rodicio J, Miranda B, Garcia Robles R, Sanchorof J, Romero JC: Renal effects of amino acid infusions in patients with panhypopituitarism. *Hypertension* 1988; 11: 557-559

Sato T, Minami S, Okabe T, Igarashi N: Role of renal catecholamines in the control of sodium and water excretion: lack of natriuresis by dopamine in the rat kidney. *Acta Endocrinol* 1987; 116: 326-332

Schettler G, Greten H: Innere Medizin, Georg Thieme-Verlag Stuttgart-New York 9. Aufl. 1998

Seri I und Aperia A: Contribution of dopamine₂ receptors to dopamine-induced increase in glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 1988; 254: F196-F201

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

Siragy HM, Felder RA, Howell NL, Chevalier RL, Peach MJ, Carey RM: Evidence that intrarenal dopamine acts as a paracrine substance at the renal tubule. *Am J Physiol* 1989; 257: F 469-477

Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa L, Crawford B, Graber M: The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest* 1945; 24: 388-404

Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Barthenet NL, Schwartz JC: Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 1990; 347: 146-151

Sokoloff P and Schwartz JC: Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 270-27

Stephenson RK, Sole MJ, Baines AD: Neural and extraneural catecholamine production by rat kidneys. *Am J Physiol* 1982; 242: F261-266

Sunahara RK, Guan H C, O'Dowd BF, Seeman P, Laurier LG, NG G, George SR, Torchia J, van Tol HHM, Niznik HB: Cloning of the gene for a human dopamine D5receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature* 1991; 350: 614-619

Suzuki H, Nakane H, Kawamura M, Yoshizawa M, Takeshita E, Saruta T: Excretion and metabolism of dopa and dopamine by isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 1984; 247: E 285-290

ter Wee PM, Donker AJM: Renal reserve filtration capacity: can it predict

progression to chronic renal failor? *Am J Kidney Dis* 1991; 17(Suppl 1): 71-75

ter Wee PM, Rosman JB, van der Geest S, Sluiter Wj, Donker AJM: Renal hemodynamics during separate and combined infusion of amino acids and dopamine. *Kidney Int* 1986; 29:870-874

Tietze IN, Sorensen SS, Eiskjaer H, Thomsen K, Pedersen EB: Tubular handling of amino acids after intravenous infusion of amino acids in healthy humans. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7 (6): 493-500

Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV: Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334: 1448-1460

Thomas DM, Coles GA, Williams JD: Dopamine does not mediate protein-induced hyperfiltration. *Exp Nephrol* 1994a; 2: 294-298

Tolins JP, Raij L: Effects of amino acid infusion on renal haemodynamics. Role of endothelium-derived relaxing factor. *Hypertension* 1991; 17: 1045-1051

Tuttle KR, Bruton JL, Perusek MC, Lancaster JL, Kopp DT, DeFronzo RA: Effect of strict glycemc control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1991; 324 (23): 1626-1632

Vanrenterghem YF CH, Verberckmoes RKA, Roels LM, Michielsen PJ: Role of prostaglandins in protein-induced glomerular hyperfiltration in normal humans. *Am J Physiol* 1988; 254: F463-F469

Viberti G, Boggetti E, Wiseman MJ, Dodds R, Gross JL, Keen H: Effect of protein-restricted diet on renal response to a meat meal in humans. *Am J Physiol* 1987; 253 (3 Pt 2): F388-393

Wada L, Don BR, Schambelan M: Hormonal mediators of amino acid-induced glomerular hyperfiltration in humans. *Am J Physiol* 1991; 260 (6 Pt 2): F787-792

Walker JD, Bending JJ, Dodds RA, Mattock MB, Murrells TJ, Keen H, Viberti GC: Restriction of dietary protein and progression of renal failure in diabetic nephropathy. *Lancet* 1989; 2 (8677): 1411-1415

Walser M, Davidson DG, Orloff J: The renal clearance of alkali-stable inulin. *J Clin Invest* 1955; 34: 1520-1523

Waugh NR, Robertson AM: Protein restriction for diabetic renal disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2): CD002181

Wetzels JF, Wiltink PG, van Duijnhoven EM, Hoitsma AJ, Koene RA: Short-term protein restriction in healthy volunteers: effects on renal hemodynamics and renal response to a meat meal. *Clin Nephrol* 1989; 31(6): 311-315

Wiesel FA, Alfredsson G, Ehrnebo M, Sedvall G: The pharmacokinetics of intravenous and oral sulpiride in healthy human subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1980; 17: 385-391

Wilcox CS, Baylis C: Glomerular-tubular balance and proximal regulation. In: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, edited by Seldin DW, Giebisch G, New York, Raven Press, 1985; 985-1012

Williams M, Young JB, Rosa RM, Gunn S, Epstein FH, Landsberg L: Effect of protein ingestion on urinary dopamine excretion: evidence for the functional importance of renal decarboxylation of circulating 3,4-dihydroxyphenylalanine in man. *J Clin Invest* 1986; 78: 1687-1693

Woods LL: Mechanisms of renal hemodynamic regulation in response to protein feeding. *Kidney Int* 1993; 44 (4): 659-675

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

Young JB, Kaufman LN, Saville ME, Landsberg L: Increased sympathetic nervous activity in rats fed a low protein diet. *Am J Physiol* 1985; 248: R 627-637

Zarazaga A, Garcia De Lorenzo L, Garcia Luna PP, Garcia Peris P, Lopez Martinez J, Lorenzo V, Quecedo L, Del Llano J: Nutritional support in chronic renal failure: systematic review. *Clin Nutr* 2001; 20 (4): 291-299

Zeller KR, Jacobson H: Reducing dietary protein intake to retard progression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1989; 13 (1): 17-19

Zeller K, Whittaker E, Sullivan L, Raskin P, Jacobson HR: Effect of restricting dietary protein on the progression of renal failure in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1991; 324 (2): 78-84

Zuccala A, Zucchelli P: Use and misuse of the renal functional reserve concept in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 410-417

6.2 Probandeninformation

KLINISCHE PRÜFUNG ZKP 9711/01

ROLLE DES DOPAMINS BEI DER AMINOSÄURENBEDINGTEN HYPERFILTRATION

SCHRIFTLICHE PROBANDENINFORMATION

Hintergrund und Ziel der Untersuchung

Am Zentrum Klinische Pharmakologie Tübingen-Stuttgart wird eine klinische Prüfung durchgeführt, die klären soll, warum sich nach Aufnahme von eiweißreicher Nahrung die Nierenfunktion ändert; hierbei soll vor allem die Rolle des körpereigenen Hormons Dopamin untersucht werden.

Seit langem ist bekannt, daß nach Aufnahme von eiweißreicher Nahrung der Gehalt von Aminosäuren im Blut ansteigt. Diese sind die Eiweiß-Bausteine und führen in der Niere zu einer Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (Hyperfiltration). Letzteres bedeutet, daß pro Zeiteinheit mehr Substanzen von der Niere aus dem Blut entfernt werden und kommt zum Teil durch eine erhöhte Durchblutung bestimmter Nierenabschnitte zustande. Der Mechanismus dieser sog. aminosäurenbedingten Hyperfiltration ist bisher unbekannt. Aufgrund vorangegangener Untersuchungen wird jedoch vermutet, daß die körpereigene Substanz Dopamin daran beteiligt ist. Dopamin kann, wie sein bekannter chemischer Verwandter Adrenalin, die Durchblutung von Organen ändern. Dopamin wird auch in der Niere selbst gebildet und dies um so stärker je mehr Aminosäuren im Blut anwesend sind. Seine Wirkung entfaltet es über spezielle Rezeptoren. Diese sind Strukturen an den Zellen, die das Dopamin erkennen und daraufhin die entsprechende Antwort der Zelle auslösen. In unserer Prüfung soll durch Zufuhr von Aminosäuren die Hyperfiltration ausgelöst werden. Dann wird geprüft werden, ob diese ausbleibt, wenn die Funktion der Dopaminrezeptoren durch spezielle Medikamente gehemmt wurde.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sollen zu einem besseren Verständnis des Mechanismus anderer Formen der Hyperfiltration bei chronischen Nierenerkrankungen führen und die Entwicklung geeigneter Behandlungskonzepte ermöglichen.

Ablauf und Ort der Untersuchung

Nach einer Aufnahmeuntersuchung (ärztliche Untersuchung, Labortests von Blut- und Urinproben) nimmt jeder Proband an drei Studientagen teil, die mindestens eine Woche auseinander liegen müssen. Die Prüfung wird in der Probandenstation der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen durchgeführt. Nach Legen von zwei Verweilkanülen in Unterarmvenen werden verschiedene

Lösungen infundiert: Physiologische (dem Salzgehalt des menschlichen Blutes entsprechende) Kochsalzlösung. Diese Infusion enthält zudem Inulin und p-Aminohippursäure (PAH) zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und der Nierendurchblutung (s.u.). Nach einer Stabilisierungsphase von 1 Stunde werden 2 Untersuchungsperioden (A und B) von je 30 min Dauer durchgeführt, während derer der gesamte Urin in Gefäße gesammelt wird. Jeweils zur Hälfte der Sammelperioden wird eine Blutprobe aus einer Verweilkanüle entnommen. Nach den Untersuchungsperioden 1 und 2 wird auf die Infusion einer Aminosäurenlösung umgewechselt (s.u.); direkt danach werden die ebenfalls 30-minütigen Untersuchungsperioden 3 bis 10 mit Urinsammlung und Blutentnahmen durchgeführt. Ein einzelner Versuch dauert mit Vorbereitungszeit etwa 6 Stunden. Während dieser Zeit befindet sich der Proband in angenehmer aufrechter Lage im Bett.

Zu Beginn aller drei Versuchstage erhält der Proband Kapseln, in der je nach Serie entweder kein pharmakologisch wirksames Medikament oder Sulpirid oder Domperidon (s.u.) enthalten ist. Weder der Proband, noch der die Prüfung durchführende Arzt weiß zum Zeitpunkt der Studie, welche der drei Serien der Proband gerade absolviert.

Die Probanden dürfen am Abend vor den Studientagen nur ein leichtes Abendessen und nach 22 Uhr nur noch Flüssigkeit zu sich nehmen. Am Morgen wird in der Probandenstation ein standardisiertes Frühstück (ein Brötchen, ein Apfel) serviert. 24 Stunden vor den einzelnen Studientagen sind Alkohol und koffeinhaltige Getränke zu meiden. Eine Woche vor und am Studientag dürfen andere Medikamente nur nach Rücksprache mit dem Prüfarzt eingenommen werden.

Im Anschluß an Untersuchungen mit Medikamenten-Einnahme dürfen Probanden im Rahmen allgemeiner Vorsichtsmaßnahmen sowie aus versicherungsrechtlichen Gründen nicht am Straßenverkehr teilnehmen.

Mögliche Risiken durch die in der Studie eingesetzten Lösungen und Medikamente

Sowohl bei den Infusionslösungen als auch bei den Medikamenten Sulpirid und Domperidon handelt es sich um von den Arzneimittelbehörden zur Anwendung am Menschen zugelassene Zubereitungen von Stoffen.

Die Aminosäurenlösung wird in Krankenhäusern zur parenteralen (über die Venen) Ernährung eingesetzt. Von der Infusion der Aminosäurenlösung ist außer der Steigerung der GFR, die vom Probanden nicht wahrgenommen wird, keine Wirkung zu erwarten.

Inulin und PAH sind Stoffe, die häufig in der Klinik zur Messung der Nierenfunktion eingesetzt werden. Die Substanzen werden vom Körper nicht verstoffwechselt und entfalten keine unerwünschten Nebenwirkungen. Extrem selten wurde eine allergische Reaktion beobachtet, von der jedoch bei rechtzeitiger Erkennung und adäquater Behandlung keine Gefahr ausgeht.

Sulpirid ist ein Medikament, das zur Behandlung von psychischen Erkrankungen eingesetzt wird. Bei der in dieser Prüfung vorgesehenen

einmaligen Verabreichung der Substanz (Einnahme vor dem Clearance-Experiment) sind jedoch außer geringfügiger Müdigkeit keine Wirkungen auf die Psyche zu erwarten. Unerwünschte Nebenwirkungen, die bei der langfristigen (über Wochen) Einnahme von Sulpirid beobachtet werden, sind Schwitzen, Kopfschmerzen, Parkinson-Syndrom (Schüttellähmung), Sehstörungen, Übelkeit und Erbrechen, Gewichtszunahme durch Appetitsteigerung, Beschleunigung der Herzfrequenz, Blutdruckabfall, allergische Hautreaktionen. Bei der kurzfristigen Verabreichung der Substanz über wenige Stunden ist das Auftreten dieser Nebenwirkungen jedoch als sehr unwahrscheinlich anzusehen. Domperidon ist ein Medikament, das zur Behandlung von Übelkeit und bei Verdauungsstörungen eingesetzt wird. Auch hier ist angesichts der einmaligen Verabreichung der Substanz in dieser Studie eine Wirkung auf das Magen-Darm-System unwahrscheinlich. Als unerwünschte Nebenwirkungen von Domperidon, vor allem bei längerer Anwendung und höherer Dosierung, treten verstärkte Darmtätigkeit mit Neigung zu dünnem Stuhlgang, sehr selten Bewegungsstörungen (Dyskinesien) und Hormonveränderungen (Zyklusstörungen, Wachstum der Brustdrüsen) auf. Auch diese unerwünschten Wirkungen können bei einer so kurzfristigen Anwendung wie in dieser Studie nahezu ausgeschlossen werden.

Beim Legen von Verweilkanülen können Entzündungen der Veneninnenwand auftreten. Bei kunstgerechter Technik ist das Risiko hierfür jedoch sehr gering. Die Experimente dieser Studie werden ausschließlich von erfahrenen Ärzten des Zentrums Klinische Pharmakologie durchgeführt.

Die im Verlauf dieser Studie entnommene Blutmenge wird das Volumen von insgesamt 250 ml nicht überschreiten. Dies ist die Hälfte des Volumens einer normalen Blutspende und stellt somit keinerlei Gesundheitsgefährdung dar.

Einhaltung der rechtlichen und ethischen Bestimmungen

Das Protokoll dieser Untersuchung entspricht voll und ganz den Bestimmungen des Weltärztebundes zur Durchführung von klinischen Studien (Deklaration von Helsinki 1964 mit ihren verschiedenen Erweiterungen, zuletzt Venedig 1984) und den Voraussetzungen für klinische Prüfungen gemäß Arzneimittelgesetz (AMG §~40, 41 und 67). Die Studie in der hier beschriebenen Form ist von der Ethik-Kommission der Universität Tübingen genehmigt und bei der zuständigen Landesbehörde angezeigt worden.

Datenschutz

Alle Daten, einschließlich der Daten über Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße werden anonymisiert ausgewertet, so daß eine Zuordnung zu einzelnen Probanden nur von unmittelbar an der Prüfung beteiligten Mitarbeitern des Zentrums und dem Prüfarzt möglich ist. Alle an der Prüfung beteiligten Personen werden zum Stillschweigen verpflichtet. Sie dürfen keine Kopien oder Abschriften von Probandendatenblättern anfertigen. Dritten wird kein Zugang zu den Daten gewährt. Alle rechtlichen Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes werden in vollem Umfang eingehalten.

Probandenversicherung

Für jeden Probanden wird eine Versicherung abgeschlossen, die entsprechend den Richtlinien des Arzneimittelgesetzes jede Person für gesundheitliche Schäden, die durch die klinische Prüfung verursacht wurde, bis zu einer Höhe von DM 500.000 versichert. Voraussetzung für die Versicherungsleistung ist, daß der Proband sich entsprechend den Anweisungen des Prüfarztes und des Studienprotokolls verhalten und den Schaden nicht durch eigenes fahrlässiges Verhalten verursacht hat.

Rücktrittsrecht

Der Proband hat das Recht, jederzeit und ohne Angabe von Gründen aus der klinischen Prüfung auszuschneiden, ohne daß ihm daraus Nachteile erwachsen.

6.3 Einverständniserklärung

EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG zur Teilnahme an der klinischen Prüfung ZKP 9711/01

Rolle von endogenem Dopamin bei der aminosäurenbedingten Hyperfiltration

Hiermit bestätige ich..... geb., daß ich

- mit der Teilnahme an der klinischen Prüfung ZKP 9711/01 einverstanden bin
- über das Wesen von klinischen Prüfungen und über meine Rechte und Pflichten bei der Teilnahme an derartigen Prüfungen aufgeklärt worden bin
- ein Exemplar der Probandeninformation ZKP 9711/01 erhalten habe
- von Herrn/Frau Dr. med.ausführlich über Hintergrund, Ziel und Verlauf dieser Prüfung informiert wurde, dabei ausreichend Gelegenheit hatte, Fragen zu stellen und die Inhalte verstanden habe
- mit den medizinischen Aufnahmeuntersuchungen (ärztliche Untersuchung, klinisches Labor) einverstanden bin
- mit den Prüfungsbedingungen entsprechend der mündlichen ärztlichen Aufklärung sowie gemäß der schriftlichen Probandeninformation einverstanden bin

- den zeitlichen Ablaufplan erhalten und verstanden habe
- der Speicherung und Bearbeitung meiner Daten im Rahmen der in der Probandeninformation genannten Datenschutzrichtlinien einverstanden bin
- augenblicklich keiner Sperrfrist für klinische Prüfungen durch ein anderes Institut unterliege und während dieser Prüfung an keiner anderen klinischen Prüfung teilnehmen werde
- über jede Einnahme oder Verabreichung von Medikamenten vom Beginn (Datum der Unterschrift) bis zum Ende der Prüfungsteilnahme den Leiter der klinischen Prüfung oder den betreuenden Arzt umgehend informieren werde
- Mitglied einer gesetzlichen oder privaten Krankenversicherung bin
- mich freiwillig und ohne Zwang an dieser klinischen Prüfung beteiligen werde
- mir klar ist, daß ich jederzeit ohne Angabe von Gründen aus dieser Prüfung ausscheiden kann
- mich an die Anordnungen des Leiters der klinischen Prüfung und seiner Mitarbeiter halten werde

Tübingen.....
Datum Proband/in Aufklärende/r Ärztin/Arzt

6.4 Deklaration des Ärztbundes von Helsinki

WELTÄRZTEBUND

Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki

Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen

verabschiedet von der 18. Generalversammlung des Weltärztebundes Helsinki, Finnland, Juni 1964.

Revidiert von der 29. Generalversammlung des Weltärztebundes Tokio, Japan, Oktober 1975, von der 35. Generalversammlung des Weltärztebundes Venedig, Italien, Oktober 1983, von der 41. Generalversammlung des Weltärztebundes Hong Kong, September 1989, von der 48. Generalversammlung des Weltärztebundes Somerset West, Republik Südafrika, Oktober 1996 und von der 52. Generalversammlungen des Weltärztebundes Edinburgh, Schottland,

Oktober 20(X) und von der 54. Generalversammlung des Weltärztebundes Washington 2002.

Klarstellender Kommentar zu Punkt 30 hinzugefügt von der 56. Generalversammlung des Weltärztebundes Tokio 2004.

A. Einleitung

1. Mit der Deklaration von Helsinki hat der Weltärztebund eine Erklärung ethischer Grundsätze als Leitlinie für Ärzte und andere Personen entwickelt, die in der medizinischen Forschung am Menschen tätig sind. Medizinische Forschung am Menschen schließt die Forschung an identifizierbarem menschlichen Material oder identifizierbaren Daten ein.

2. Es ist die Pflicht des Arztes, die Gesundheit der Menschen zu fördern und zu erhalten. Der Erfüllung dieser Pflicht dient der Arzt mit seinem Wissen und Gewissen.

3. Die Genfer Deklaration des Weltärztebundes verpflichtet den Arzt mit den Worten: „Die Gesundheit meines Patienten soll mein vornehmstes Anliegen sein“, und der internationale Kodex für ärztliche Ethik legt fest „Der Arzt soll bei der Ausübung seiner ärztlichen Tätigkeit ausschließlich im Interesse des Patienten handeln, wenn die Therapie eine Schwächung des physischen und psychischen Zustandes des Patienten zur Folge haben.

4. Medizinischer Fortschritt beruht auf Forschung, die sich letztlich zum Teil auch auf Versuche am Menschen stützen muß.

5. In der medizinischen Forschung am Menschen haben Überlegungen, die das Wohlergehen der Versuchsperson (die von der Forschung betroffene Person) betreffen, Vorrang vor den Interessen der Wissenschaft und der Gesellschaft.

6. Oberstes Ziel der medizinischen Forschung am Menschen muß es sein, prophylaktische, diagnostische und therapeutische Verfahren sowie das Verständnis für die Ätiologie und Pathogenese der Krankheit zu verbessern. Selbst die am besten erprobten prophylaktischen, diagnostischen und therapeutischen Methoden müssen fortwährend durch Forschung auf Ihre Effektivität, Effizienz, Verfügbarkeit und Qualität geprüft werden.

7. In der medizinischen Praxis und in der medizinischen Forschung sind die meisten prophylaktischen, diagnostischen und therapeutischen Verfahren mit Risiken und Belastungen verbunden.

8. Medizinische Forschung unterliegt ethischen Standards, die die Achtung vor den Menschen fördern und ihre Gesundheit und Rechte schützen. Einige Forschungspopulationen sind vulnerabel und benötigen besonderen Schutz. Die besonderen Schutzbedürfnisse der wirtschaftlich und gesundheitlich Benachteiligten müssen gewahrt werden. Besondere Aufmerksamkeit muß

außerdem denjenigen entgegengebracht werden, die nicht in der Lage sind, ihre Zustimmung zu erteilen oder zu verweigern, denjenigen, die ihre Zustimmung möglicherweise unter Ausübung von Zwang abgegeben haben, denjenigen, die keinen persönlichen Vorteil von dem Forschungsvorhaben haben und denjenigen, bei denen das Forschungsvorhaben mit einer Behandlung verbunden ist.

9. Forscher sollten sich der in ihren eigenen Ländern sowie der auf internationaler Ebene für die Forschung am Menschen geltenden ethischen, gesetzlichen und verwaltungstechnischen Vorschriften bewußt sein. Landesspezifische, ethische, gesetzliche oder verwaltungstechnische Vorschriften dürfen jedoch die in der vorliegenden Deklaration genannten Bestimmungen zum Schutz der Menschen in keiner Weise abschwächen oder aufheben.

B. Allgemeine Grundsätze für jede Art von medizinischer Forschung

10. Bei der medizinischen Forschung am Menschen ist es die Pflicht des Arztes, das Leben, die Gesundheit, die Privatsphäre und die Würde der Versuchsperson zu schützen.

11. Medizinische Forschung am Menschen muß den allgemein anerkannten wissenschaftlichen Grundsätzen entsprechen, auf einer umfassenden Kenntnis der wissenschaftlichen Literatur, auf anderen relevanten Informationsquellen sowie auf ausreichenden Laborversuchen und gegebenenfalls Tierversuchen basieren.

12. Besondere Sorgfalt muß bei der Durchführung von Versuchen walten, die die Umwelt in Mitleidenschaft ziehen können. Auf das Wohl der Versuchstiere muß Rücksicht genommen werden.

13. Die Planung und Durchführung eines jeden Versuches am Menschen ist eindeutig in einem Versuchsprotokoll niederzulegen. Dieses Protokoll ist einer besonders berufenen Ethikkommission zur Beratung, Stellungnahme, Orientierung und gegebenenfalls zur Genehmigung vorzulegen, die unabhängig vom Forschungsteam, vom Sponsor oder von anderen unangemessenen Einflußfaktoren sein muß. Diese unabhängige Kommission muß mit den Gesetzen und Bestimmungen des Landes, in dem das Forschungsvorhaben durchgeführt wird, im Einklang sein. Die Kommission hat das Recht, laufende Versuche zu überwachen. Der Forscher hat die Pflicht, die Kommission über den Versuchsablauf zu informieren, insbesondere über alle während des Versuchs auftretenden ernstesten Zwischenfälle. Der Forscher hat der Kommission außerdem zur Prüfung Informationen über Finanzierung, Sponsoren, institutionelle Verbindungen, potentielle Interessenkonflikte und Anreize für die Versuchspersonen vorzulegen.

14. Das Forschungsprotokoll muß stets die ethischen Überlegungen im Zusammenhang mit der Durchführung des Versuchs darlegen und aufzeigen, daß die Einhaltung der in dieser Deklaration genannten Grundsätze gewährleistet ist.

15. Medizinische Forschung am Menschen darf nur von wissenschaftlich qualifizierten Personen und unter Aufsicht einer klinisch kompetenten, medizinisch ausgebildeten Person durchgeführt werden, Die Verantwortung für die Versuchsperson trägt stets eine medizinisch qualifizierte Person und nie die Versuchsperson selbst, auch dann nicht, wenn sie ihr Einverständnis gegeben hat.

16. Jedem medizinischen Forschungsvorhaben am Menschen hat eine sorgfältige Abschätzung der voraussehbaren Risiken und Belastungen im Vergleich zu dem voraussichtlichen Nutzen für die Versuchsperson oder andere vorzuzugehen. Dies schließt nicht die Mitwirkung von gesunden Freiwilligen in der medizinischen Forschung aus. Die Pläne aller Studien sind der Öffentlichkeit zugänglich zu machen.

17. Ärzte dürfen nicht bei Versuchen am Menschen tätig werden, wenn sie nicht überzeugt sind, daß die mit dem Versuch verbundenen Risiken entsprechend eingeschätzt worden sind und in zufriedenstellender Weise beherrscht werden können. Ärzte müssen den Versuch abbrechen, sobald sich herausstellt, daß das Risiko den möglichen Nutzen übersteigt oder wenn es einen schlüssigen Beweis für positive und günstige Ergebnisse gibt.

18. Medizinische Forschung am Menschen darf nur durchgeführt werden, wenn die Bedeutung des Versuchsziels die Risiken und Belastungen für die Versuchsperson überwiegt. Dies ist besonders wichtig, wenn es sich bei den Versuchspersonen um gesunde Freiwillige handelt.

19. Medizinische Forschung ist nur gerechtfertigt, wenn es eine große Wahrscheinlichkeit gibt, daß die Populationen, an denen die Forschung durchgeführt wird, von den Ergebnissen der Forschung profitieren.

20. Die Versuchspersonen müssen Freiwillige sein und über das Forschungsvorhaben aufgeklärt sein.

21. Das Recht der Versuchspersonen auf Wahrung ihrer Unversehrtheit muß stets geachtet werden. Es müssen alle Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um die Privatsphäre der Versuchsperson und die Vertraulichkeit der Informationen über den Patienten zu wahren und die Auswirkungen des Versuchs auf die körperliche und geistige Unversehrtheit sowie die Persönlichkeit der Versuchsperson so gering wie möglich zu halten.

22. Bei jeder Forschung am Menschen muß jede Versuchsperson ausreichend über die Ziele, Methoden, Geldquellen, eventuelle Interessenkonflikte, institutionelle Verbindungen des Forschers, erwarteten Nutzen und Risiken des Versuchs sowie über möglicherweise damit verbundene Störungen des Wohlbefindens untersucht werden. Die Versuchsperson ist darauf hinzuweisen, daß sie das Recht hat, die Teilnahme am Versuch zu verweigern oder eine einmal gegebene Einwilligung jederzeit zu widerrufen, ohne daß ihr irgendwelche Nachteile entstehen. Nachdem er sich vergewissert hat, daß die Versuchsperson diese Informationen verstanden hat, hat der Arzt die freiwillige Einwilligung nach Aufklärung (informed consent) der Versuchsperson

einzuholen; die Erklärung sollte vorzugsweise schriftlich abgegeben werden. Falls die Einwilligung nicht in schriftlicher Form eingeholt werden kann, muß die nichtschriftliche Einwilligung formell dokumentiert und bezeugt werden.

23. Beim Einholen der Einwilligung nach Aufklärung für das Forschungsvorhaben muß der Arzt besonders zurückhaltend sein, wenn die Person in einem Abhängigkeitsverhältnis zu dem Arzt steht oder die Einwilligung möglicherweise unter Druck erfolgt. In einem solchen Fall muß die Einwilligung nach Aufklärung durch einen gutunterrichteten Arzt eingeholt werden, der mit diesem Forschungsvorhaben nicht befaßt ist und der keine Beziehung zu den Personen hat, die in diesem Abhängigkeitsverhältnis zueinander stehen.

24. Im Falle einer Versuchsperson, die nicht voll geschäftsfähig ist, infolge körperlicher oder geistiger Behinderung ihre Einwilligung nicht erteilen kann oder minderjährig ist, muß die Einwilligung nach Aufklärung vom gesetzlich ermächtigten Vertreter entsprechend dem geltenden Recht eingeholt werden. Diese Personengruppen sollten nicht in die Forschung einbezogen werden, es sei denn, die Forschung ist für die Förderung der Gesundheit der Population, der sie angehören, erforderlich und kann nicht mit voll geschäftsfähigen Personen durchgeführt werden.

25. Wenn die nicht voll geschäftsfähige Person, wie beispielsweise ein minderjähriges Kind, fähig ist, seine Zustimmung zur Mitwirkung an einem Forschungsvorhaben zu erteilen, so muß neben der Einwilligung des gesetzlich ermächtigten Vertreters auch die Zustimmung des Minderjährigen eingeholt werden.

26. Forschung an Menschen, bei denen die Einwilligung, einschließlich der Einwilligung des ermächtigten Vertreters oder der vorherigen Einwilligung, nicht eingeholt werden kann, darf nur dann erfolgen, wenn der physische/geistige Zustand, der die Einholung der Einwilligung nach Aufklärung verhindert, ein notwendiger charakteristischer Faktor für die Forschungspopulation ist. Die konkreten Gründe für die Einbeziehung von Versuchspersonen, deren Zustand die Einholung, der Einwilligung nach Aufklärung nicht erlaubt, ist in dem Forschungsprotokoll festzuhalten und der Ethikkommission zur Prüfung und Genehmigung vorzulegen. In dem Protokoll ist festzuhalten, daß die Einwilligung zur weiteren Teilnahme an dem Forschungsvorhaben so bald wie möglich von der Versuchsperson oder dem gesetzlich ermächtigten Vertreter eingeholt werden muß.

27. Sowohl die Verfasser als auch die Herausgeber von Veröffentlichungen haben ethische Verpflichtungen. Der Forscher ist bei der Veröffentlichung der Forschungsergebnisse verpflichtet, die Ergebnisse genau wiederzugeben. Positive, aber auch negative Ergebnisse müssen veröffentlicht oder der Öffentlichkeit anderweitig zugänglich gemacht werden. In der Veröffentlichung müssen die Finanzierungsquellen, institutionelle Verbindungen und eventuelle Interessenkonflikte dargelegt werden. Berichte über Versuche, die nicht in Übereinstimmung mit den in dieser Deklaration niedergelegten Grundsätzen durchgeführt wurden, sollten nicht zur Veröffentlichung angenommen werden.

C. Weitere Grundsätze für die medizinische Forschung in Verbindung mit ärztlicher Versorgung

28. Der Arzt darf medizinische Forschung mit der ärztlichen Betreuung nur soweit verbinden, als dies durch den möglichen prophylaktischen, diagnostischen oder therapeutischen Wert der Forschung gerechtfertigt ist. Wenn medizinische Forschung mit ärztlicher Versorgung verbunden ist, dann sind für den Schutz der Patienten, die gleichzeitig Versuchspersonen sind, zusätzliche Standards anzuwenden.

29. Vorteile, Risiken, Belastungen und die Effektivität eines neuen Verfahrens sind gegenüber denjenigen der gegenwärtig besten prophylaktischen, diagnostischen und therapeutischen Methoden abzuwägen. Dies schließt nicht die Verwendung von Placebos oder die Nichtbehandlung bei Versuchen aus, für die es kein erprobtes prophylaktisches, diagnostisches oder therapeutisches Verfahren gibt.¹

30. Am Ende des Versuchs sollten alle Patienten, die an dem Versuch teilgenommen haben, die sich in der Erprobung als am wirksamsten erwiesenen prophylaktischen, diagnostischen und therapeutischen Verfahren erhalten.²

31. Der Arzt hat den Patienten ausführlich über die forschungsbezogenen Aspekte der Behandlung zu informieren. Die Weigerung eines Patienten, an einem Versuch teilzunehmen, darf niemals die Beziehung zwischen Patient und Arzt beeinträchtigen.

32. Bei der Behandlung eines Patienten, für die es keine erwiesene prophylaktische, diagnostische und therapeutische Methoden gibt oder diese keine Wirkung zeigten, muß der Arzt mit der Einwilligung des Patienten nach Aufklärung die Freiheit haben, nicht erprobte neue prophylaktische, diagnostische und therapeutische Maßnahmen anzuwenden, wenn sie nach dem Urteil des Arztes die Hoffnung bieten, das Leben des Patienten zu retten, seine Gesundheit wiederherzustellen oder seine Leiden zu lindern. Gegebenenfalls sollten diese Maßnahmen zur Evaluierung ihrer Sicherheit und Wirksamkeit zum Gegenstand von Forschungsvorhaben gemacht werden. In allen Fällen sollten neue Informationen aufgezeichnet und gegebenenfalls veröffentlicht werden. Die anderen relevanten Leitlinien dieser Deklaration sollten befolgt werden.

¹Klarstellender Kommentar zu Punkt 29 der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki

Der Weltärztebund bekräftigt hiermit seine Position, daß bei der Verwendung von Placebokontrollierten Versuchen mit extremer Sorgfalt vorgegangen werden muß und daß diese Methode generell nur angewendet werden sollte, wenn es keine erprobte Therapie gibt. Selbst wenn es eine erprobte Therapie gibt; kann ein Placebokontrollierter Versuch unter den folgenden Bedingungen ethisch vertretbar sein:

- wenn seine Verwendung aus zwingenden und wissenschaftlich begründeten methodischen Gründen erforderlich ist, um die Wirksamkeit und Sicherheit einer prophylaktischen, diagnostischen oder therapeutischen Methode festzustellen; oder
- wenn eine prophylaktische, diagnostische oder therapeutische Methode bei einer nicht schwerwiegenden Krankheit erprobt wird und die Patienten, die die Plazebos erhalten, nicht der zusätzlichen Gefahr eines ernsten oder irreversiblen Schadens ausgesetzt werden.

Alle anderen Bestimmungen der Deklaration von Helsinki müssen befolgt werden, insbesondere die Notwendigkeit einer entsprechenden ethischen und wissenschaftlichen Überprüfung.

²Klarstellender Kommentar zu Punkt 30 der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki

Der Weltärztebund bekräftigt hiermit seine Position, daß es bei dem Versuchsplanungsprozeß von Bedeutung ist, dafür Sorge zu tragen, daß die Versuchsteilnehmer nach dem Versuch die prophylaktischen, diagnostischen und therapeutischen Verfahren, die sich in der Studie als vorteilhaft erwiesen haben, oder eine andere geeignete Behandlung erhalten. Vereinbarungen darüber, daß die Versuchsteilnehmer nach dem Versuch die im Versuch erprobten Verfahren bzw. eine andere geeignete Behandlung erhalten, sollten im Versuchsprotokoll festgehalten werden, damit der Ethikausschuß diese Vereinbarungen bei seiner Prüfung berücksichtigen kann.

6.5 Medikamenten-Fachinformationen der Hersteller

6.5.1 Domperidon

Motilium ®, Byk-Gulden

Zusammensetzung: -Filmtbl.: 1 Filmtbl. enth.: Domperidon 10mg. Hilfsst.: Lactose, Maisstärke, mod. Kartoffelstärke, mikrokrist. Cellulose, hydriertes Baumwollsaamenöl, Povidon mittl. Molekulargewicht 700000, Natriumdodecylsulfat, Magnesiumstearat, Hypromellose. -Hinw. f. Diabetiker: 1 Filmtbl. entspr. 0,006BE. -Tropfen: 1ml Susp. enth.: Domperidon 10mg. Hilfsst.: Methyl-4-hydroxybenzoat, Propyl-4-hydroxybenzoat, Saccharin-Natrium, mikrokrist. Cellulose, Carmellose-Natrium, Polysorbat 20, Sorbitol, ger. Wasser.

Anwendung: Erw. Zur Besserung v. Sympt. wie Übelk. u. Erbrechen, epigast. Völlegefühl, Oberbauchbeschw., Regurgitat. v. Mageninhalt.

Gegenanzeigen: Prolaktinom. Sollte nicht angew. werden, wenn Stimulat. d. Magenmotil. gefährl. sein könnte: gastrointest. Blutungen, mechan. Obstrukt.

od. Perforat.

Anwendungsbeschränkungen: Pat. m. eingeschr. Leberfkt. Pat. m. schw. Niereninsuff. b. wiederholter Gabe Einnahmehäufigkeit auf 1-od. 2x tgl. beschränken u. evtl. Dos.red. (s. Dos.). Ketoconazol: Interaktionsstudie berichtet über Anstieg d. QT-Intervalle (< 10msec). Falls antimykot. Beh. erforderl. ist, Alternativther. in Erwägung ziehen. Zusätzl. f. Filmtbl.: Kdr. mit KG weniger als 35 Kg. Pat. m. d. seltenen erbl. Galactose-Intoleranz, Lactase-Mangel od. Glucose-Galactose-Malabsorption. Zusätzl. f. Tr.: Überempfindlichkeitsreakt. geg. Parabene. Pat. m. d. seltenen hereditären Fructoseintoleranz.

Schwangerschaft: Strenge Ind.-Stellung!

Stillzeit: Stillen während d. Ther. nicht empf.

Nebenwirkungen: Stör. d. Immunsyst.: Sehr selt.: allerg. Reakt. Endokrine Stör.: Selt.: erhöhte Prolaktin-Spiegel. Stör. d. Nervensyst.: Sehr selt.: extrapyramidale Nebenwirk. Gastrointest. Erkr.: Selt.: Magen-Darm-Beschw., inkl. sehr selt. vorübergeh. intestinaler Krämpfe. Haut- u. subkutane Gewebserkr.: Sehr selt.: Urtikaria. Reproduktionssyst. u. Erkr. der Brust: Selt.: Galaktorrhoe, Gynäkomastie, Amenorrhoe. Extrapyramidale Nebenwirk. sind sehr selt. b. Neugeborenen u. Kleinkdrn., u. treten b. Erw. nur in Ausnahmefällen auf. Diese Nebenwirk. gehen spontan u. komplett zurück, sobald die Behandl. beendet wird. Zusätzl. f. Tr.: Überempfindlichkeitsreakt. geg. Parabene.

Wechselwirkungen: Domperidon wird hauptsächl. über das Cytochrom CYP3A4 metabolisiert. In vitro Daten weisen darauf hin, dass die gleichz. Einn. v. AM, die dieses Enzym signifikant hemmen, zu einem erhöhten Plasma-Spiegel v. Domperidon führen kann. In vivo Interaktionsstudien m. Ketoconazol zeigten eine deutl. Hemmung d. durch CYP3A4 vermittelten First-Pass-Metabolismus v. Domperidon durch Ketoconazol. Bei gleichz. Verabreich. v. oralem Ketoconazol ist entspr. einer pharmakokinet. Studie d. AUC u.d. max. Plasmakonz. v. Domperidon um Faktor 3 erhöht. Bei dieser Komb. wurde ein geringfügiger QT-verläng. Effekt (< 10msec) festgestellt, der größer war als der v. Ketoconazol allein. Bei Pat. ohne Komorbidität, die Domperidon als Monother. erhielten, wurde selbst bei hoh. oralen Dosen (bis 160mg/Tag) keine QT-Verläng. festgestellt. Dies sollte bei Verschreib. v. Domperidon gemeinsam mit st. CYP3A4 Inhibitoren, z.B. Ketoconazol, Ritonavir u. Erythromycin, berücksichtigt werden.

Dosierung: -Filmtbl.: 3-4x tgl. 1-2 Filmtabl. b. max. TD v. 80mg. Die Filmtbl. sind v.d. Mahlz. unzerk. zu schlucken. -Tropfen: Erw. u. Jugendl. (über 12J. u. KG > 35 Kg): 3-4x tgl. 1-2ml b. max. TD v. 8ml. D. Susp. kann auch in etw. Flüssigk. (kein Alkohol, gut umrühren) eingen. werden. Die Tropf. sind v.d. Mahlz. einzun. Flasche vor Gebrauch schütteln. Initiale Dauer d. Behandl. beträgt 4 Wo. Danach Notwendigk. d. Weiterbehandl. neu beurteilen. B. Pat. m.

eingeschr. Nierenfkt. ist b. wiederh. Gabe d. Einnahmehäufigk. auf 1 od. 2x tgl. zu beschränk., evtl. Dosisred.

6.5.2 Sulpirid

Dogmatil forte®, Synthelabo

Zusammensetzung: 1 Tabl. enth. 100 mg Sulpirid, Crospovidon, Lactose-Monohydrat, Magnesiumstearat (Ph.Eur.), Maisstärke, Povidon (K25), hochdisperses Siliciumdioxid.

Anwendung: Akute u. chron. Schizophrenien im Erwachsenen u. Kindesalter, depres. Erkrank., wenn d. Behandlung m. e. and. Antidepr. erfolglos war, peripher-labyrinthischer Schwindelzustand, z.B. Morbus Meniere, peripherer Lage-, Dreh- u. Schwankschwindel.

Gegenanzeigen: Überempfindlichk. gg. Benzamidderivate, akute Alkohol-, Schlafmittel-, Analgetika (Opiate)- u. Psychopharmaka-Intox., maniforme Psychosen, hirnorganische Erkrank., insbes. d. Alters, d. m. Erregungszuständen einhergehen (organisches Psychosyndrom), Krampfanfälle (Epilepsie), bestehende Hyperprolaktinämie, Tumore d. Nebennieren (Phäochromozytome), prolaktinabhängige Tumore sowie alle Mammatumore, Kinder unter 6 Jahre sowie Kinder u. Jugendl. unter 18 Jahren (außer b. Beh. v. Schizophrenie).

Anwendungsbeschränkungen: Pat. m. Glaukom, Pylorusstenose, Harnverhalten, Prostatahypertrophie in d. Anamnese, jüngeren Frauen m. Zyklusstör., Pat. m. sehr niedrigem o. erhöhtem Blutdruck, schizophrene Psychosen, d. m. Erregungs- u. Aggressivitätssymptomen einhergehen, Pat. m. Vorschäden d. Gefäße, insbes. d. Herzkranzgefäße (z.B. Angina pectoris) u. des Herzens (z.B. Herzinsuffizienz), Pat. m. Neigung zu Thrombosen, schweren Leber- u. Nierenschäden (ggf. Dosisanpassung), malignes neurol. Syndrom i. d. Anamnese, Vorliegen kardialer Stör., Bradykardie, Hypokaliämie, Hypomagnesiämie u. b. kongenitaler o. erworbener QT-Verlän., Pat. m. Galactose-Intol., Lactase-Mangel, Glucose-Galactose-Malabsorption.

Schwangerschaft: Kontraindiziert.

Stillzeit: Kontraindiziert.

Nebenwirkungen: Häufig: Tachykardie, Obstipation, gastrointestinale Stör., Erbrechen, Übelkeit, Mundtrockenheit o. übermäßige Speichelsek., Transpiration, Kopfschm., Schwindel, Müdigkeit, Hypokinesie, Gelegentlich: Blutdruckabfall o. Blutdrucksteigerung b. erhöh. Blutdruck, orthosta. Blutdruckabfall, Sehstö., Miktionsstö., Appetitsteig. mit Gewichtszunahme, extrapyramidal motor. Stör., wie z.B. medikamentös. Parkinson-Syndr., Erregungszust. m. innerer Unruhe, Akathisie, Nervosität, Schlaf- u.

Konzentrationsstör., bei längerer hochdosierter Therapie kann eine irreversible Spätdyskinesie auftreten, Einzelne Fälle: QT-Verlän., Torsade de pointes, allerg. Hautreakt. (Hautjucken, Hautausschläge), Brustschm., Spannungsgefühl in d. Brust, Vergrö. d. Brustdrüse u. Milchfluss (Mastopathie, Gynäkomastie, Galaktorrhoe), Dysmenorrhoe, Amenorrhoe, Abnahme d. Libido u. Potenz b. Männern, vermin. Reaktion.

Wechselwirkungen: Zentraldämpfende AM (z.B. Schlafmittel, Beruhigungsmittel, Tranquilizer), AM d. stimulierend auf d. ZNS wirken (z.B. Appetitzügler, Asthmamittel), Antihypertonika, Bradykardie-induzierende AM, wie Betablocker, bestim. Ca-Kanalblocker (Verapamil, Diltiazem), Clonidin, Guanfacin, Digitalglykoside, Hypokaliämie-indu. AM, wie Diuretika, Abführmittel, i.v.-Gabe v. Amphotericin B, Glukokortikoide, Tetracosactide, Antiarrhythmika d. Klasse Ia (Chinidin, Disopyramid) u. d. Klasse III (Amiodaron, Sotalol), Pimozid, Sultoprid, Haloperidol, Trizyk. Antidep., Lithium, Bepidil, Cisaprid, Thioridazin, i.v.-Gabe v. Vincamin, Halofantrin, Pentamidin, Sparfloxacin, Alkohol.

Dosierung: Beh. v. Schizoph.: Erw. 300 mg Sulpirid/Tag, Erhalt.dosis: 400-800 mg Sulpirid/Tag. Beh. v. depr. Erk.: 50-150 mg Sulpirid/Tag, Erhalt.dosis: f. Erw.: 150-300 mg Sulpirid/Tag, Beh. v. Schwindelzustände: Erw.: 50-150 mg Sulpirid/Tag, Erhalt.dosis: 150-300 mg Sulpirid/Tag. Sonderdos., Weitere Einzelh. s. Fach-, Gebrauchsinfo.

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit ist am pharmakologischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen entstanden.

Herrn **Prof. Dr. Hartmut Oßwald** danke ich für die Ermöglichung der Arbeit und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein spezieller Dank gilt vor allem Herrn **Prof. Dr. Bernd Mühlbauer** für die hilfreichen und Ideen entfachenden Diskussionen, für die bereitwillige, engagierte und ermutigende Unterstützung bei der Durchführung sowie für seine unermüdlichen Verbesserungsvorschläge bei der Verfassung der Promotionsarbeit. Seine vorbildliche Vermittlung von Interesse und Begeisterung an der Wissenschaft formte auch meine wissenschaftliche Denkweise.

Für die stete Hilfsbereitschaft möchte ich Herrn **Priv. Doz. Dr. Gerd Luippold** danken. Seine Früchte bringenden Vorschläge, seine motivierenden Worte sowie seine Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit werde ich in dankbarer Erinnerung behalten.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Mühlbauer, insbesondere den Damen **Christine Piesch, Dr. Ursula Delabar und Dr. Svetlana Schneider** für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die freundliche Unterstützung.

LEBENS LAUF

Andreea Olivia Stefanescu

Am Brurain 12

76187 Karlsruhe

- 07.07.1975 geboren in Kronstadt/Rumänien als Tochter von George Marian Stefanescu und Atena Mihaela Stefanescu, geborene Caralis
- 1982 - 1986 Grundschule in Kronstadt, Rumänien
- 1986 - 1995 Johannes-Kepler-Gymnasium, Stuttgart
30. Juni 1995 Allgemeine Hochschulreife
- 04.1996 - 11.2002 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen
- 03.1998 Ärztliche Vorprüfung
- 03.1999 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 03.2001 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 26.11.2002 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 04.2003 - 11.2003 Ärztin im Praktikum, Abteilung für Nephrologie und allgemeine Innere Medizin am Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart, Prof. Dr. med. Kuhlmann
- 11.2003 - dato Ärztin in Facharztausbildung für Augenheilkunde, Augenklinik des Städtischen Klinikums Karlsruhe, Prof. Dr. med. Augustin