

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV -
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Martin Reincke

**Natriumspeicherung in
Haut / Muskulatur / Gefäßen
bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz oder
bei gesunden Lebendnierenspendern vor Nierentransplantation**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ivana Pavelic, geb. Jureta

aus Gehrden

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Michael Fischereder

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Bärbel Lange-Sperandio

Prof. Dr. rer. nat. Andre Werner Brändli

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 08.03.2018

Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung	5
1.1	Bedeutung des Themas	5
1.2	Aktuelle Lehrmeinung zum Natriumstoffwechsel.....	8
1.3	Beobachtung von niereninsuffizienten Patienten im Verlauf.....	10
1.4	Wasserfreie Natrium-Akkumulation.....	14
1.5	Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit	15
2	Patienten und Methoden.....	18
2.1	Untersuchtes Patientenkollektiv	18
2.2	Untersuchungsprotokoll.....	19
2.3	Natriumanalyse.....	21
2.4	Färbung der Glykosaminoglykane	23
2.5	Datenanalyse	25
3	Ergebnisse	26
3.1	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	26
3.2	Labordaten.....	29
3.3	Natriumkonzentrationen in Arterien, Muskulatur und Haut	32
3.4	Alcian-Färbung der Glykosaminoglykane	44
3.5	Exploratorische Datenanalyse	46
4	Diskussion	50
4.1	Beurteilung des untersuchten Patientenkollektivs	50
4.2	Vermehrter Natriumkonsum der heutigen Gesellschaft.....	51
4.3	Labor- und Messwerte.....	54
4.4	Schwitzmechanismus der Ratte.....	57

4.5	Ausblick und Empfehlungen	59
5	Zusammenfassung	63
6	Literaturverzeichnis	65
7	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	71
7.1	Abbildungen.....	71
7.2	Tabellen	74
8	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	75
9	Danksagung.....	77
10	Anhang.....	78
11	Eidesstattliche Erklärung.....	82

1 Einleitung

1.1 **Bedeutung des Themas**

Der deutsche Physiologe Carl Ludwig beschäftigte sich bereits im 19. Jahrhundert in seiner Habilitationsschrift mit den Resorptionsvorgängen der Nierentubuli. Er beobachtete die Veränderungen in der Harnausscheidung zwischen kochsalzreicher und kochsalzarmer Diät. Eine durchgeführte Hochsalzdiät führe zu einer höheren Kochsalzausscheidung im Urin (Ludwig 1861). Basierend auf seinen Untersuchungen folgten weitere Studien, die sich mit der Natriumexkretion und -resorption befassten. Erstmals entstanden Mitte des 20. Jahrhunderts Ideen zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung, die rückblickend gesehen eine enorm große Bedeutung hatten und die Weichen für viele weitere Überlegungen, sowie Studien stellten. William H. Bergstrom und William M. Wallace konnten sich in ihren Versuchen bei Berechnungen des Natriums im Extra- und Intrazellulärraum sowohl bei Menschen, als auch bei Tieren die Differenz des Natriums zwischen Berechnungen und Messungen nicht erklären. Zur potentiellen Lösung dieser Unstimmigkeit stellten sie zwei mögliche und sehr fortschrittliche Hypothesen auf. Die erste lautete, dass es Verluste über die Haut geben könnte, die nicht in die Messung mit aufgenommen wurden. In ihrer zweiten Hypothese gingen sie von einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung aus (Bergstrom WH 1954). Zwischenzeitlich gibt es viele Studien, die letztere Hypothese von Bergstrom und Wallace zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung aufgegriffen und sich näher mit diesem innovativen Ansatz befasst haben. Garnett et al. beschäftigte die Mobilisation von osmotisch inaktivem Natrium und auch sie erweiterten mit ihren Studienergebnissen unser heutiges Wissen über osmotisch inaktive Natriumspeicherung (Garnett ES 1968). Heer et al. beobachteten in ihrer kontrolliert-randomisierten Studie 20 Tage lang 32 gesunde männliche Probanden (Heer M 2000). Über diesen Zeitraum hinweg wurde den Probanden diätetisch eine immer höhere Natriumkonzentration zugeführt. Die Zunahme des Gesamtkörpernatriumgehaltes führe zu keiner erhöhten Flüssigkeitsretention und somit zu keiner Gewichtszunahme der Probanden. Ähnliche Bilanzrechnungen mit vergleichbaren Resultaten wurden in

weiteren, durchaus auch älteren, Studien beschrieben (Streeten DH 1963), (Kirkendall AM 1976), (M. A.-K. Titze J 2002), (Palacios C 2004). Kirkendall et al. veröffentlichten 1976 eine Studie, die auch unsere langjährigen Beobachtungen einiger Patienten unterstützt (ausführlich wird dies unter 1.3 dargestellt). Die Inulin Clearance und damit mutmaßlich die glomeruläre Filtrationsrate sei mit Erhöhung der diätetischen Salzzufuhr gestiegen, jedoch ohne Änderungen des Natriumblutspiegels (Kirkendall AM 1976). Titze et al. äußerten 2002 und damit einige Jahre später sogar die Vermutung, dass die Natriumakkumulation womöglich im Knochen, dichtem Bindegewebe oder Knorpel stattfinde (M. A.-K. Titze J 2002). Zwei Jahre später spekulierten Palacios et al. auf den Knochen als Natriumretentionsort (Palacios C 2004). Schafflhuber et al. bestätigten die osmotisch inaktive Natriumspeicherung bei Ratten während einer Hochsalzdiät. Sie konnten beobachten, dass die osmotisch inaktive Natriumspeicherung von Änderungen der extrazellulären Glykosaminoglykanpolymerisation und -sulfatierung begleitet sei. Da dies zu einer Zunahme der negativen Glykosaminoglykan-Ladungsdichte in der Haut führe, ändere sich der polyanionische Charakter der extrazellulären Matrix. Im Umkehrschluss führe eine diätetische Natriumrestriktion zur verminderten Glykosaminoglykan-Polymerisation und Mobilisierung von osmotisch inaktiv gespeichertem Natrium in der Haut (Schafflhuber M 2007).

Ebenfalls wurde in der bisherigen Literatur die Auswirkung der Natriumexkretion auf den Blutdruck untersucht. Eine diätetisch erhöhte Salzzufuhr sei mit einem steigenden Blutdruck assoziiert und die Prävalenz an arteriellem Hypertonus zu erkranken steige mit zunehmenden Alter (Kopp C 2013). Es gibt in der Literatur viele Hinweise darauf, dass es einen Zusammenhang zwischen erhöhter Natriumaufnahme und der Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen gibt (Adroque HJ 2007), (Kotchen TA 2013), (R. N. Titze J 2015). Laut Jablonski et al. nehme der systolische Blutdruck mit steigendem Alter der Patienten höhere Werte an, die Elastizität der Arterien werde geringer. Dieser Effekt könne aber durch diätetische Natriumrestriktion verringert werden, sodass potentiell tödliche Risikofaktoren ausgeschaltet werden könnten (Jablonski KL 2013).

Stolarz-Skrzypek et al. beobachteten 3681 Patienten über einen Zeitraum von durchschnittlich 7,9 Jahren hinweg. Bei einer Erhöhung der Natriumexkretion steige

lediglich der systolische Blutdruck leicht an, während der diastolische Blutdruck gleichgeblieben sei. Der systolische Druck erhöhe sich aber ohnehin im Laufe des Lebens - bis etwa zum 80. Lebensjahr (Stolarz-Skrzypek K 2011). Kirkendall et al. untersuchten acht Männer mittleren Alters mit normalen Blutdruckwerten, denen diätetisch Kochsalz in verschiedenen Mengen zugeführt wurde. Wie in anderen Studien gab es auch hier keine Änderung des Gesamtwassergehaltes im Körper. Es hätte in diesen vier Studienwochen auch keine Änderung des Blutdruckes gegeben. Sie schlussfolgerten daraus, dass der Mensch erhöhte Natriummengen gut kompensieren könne (Kirkendall AM 1976). Mit derselben Thematik befassten sich auch Rakova et al. und stellten eine Unabhängigkeit der Salzaufnahme vom Blutdruck und Gesamtwassergehalt des menschlichen Körpers fest (Rakova N 2013).

Eines haben die meisten vorgestellten Studien gemeinsam: Sie stellen das Vorhandensein einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung nicht in Frage. Sie wurden zum Teil an Menschen und zum Teil an Tieren - meist Ratten - durchgeführt. Deren gemeinsames Ziel ist es, den genauen Regulationsmechanismus von osmotisch inaktiver Natriumregulation und das Ausmaß des Natriumeinflusses zu erforschen.

Mit Hilfe dieser Arbeit soll unter anderem eine weitere Ausarbeitung der bisherigen - unter anderem auch im Tierversuch festgestellten - Ergebnisse erfolgen. Es sollen drei verschiedene Kompartimente des menschlichen Körpers miteinander verglichen werden. So kann auch gleich an Hand der Studienergebnisse von Titze et al., auf welche diese Arbeit gestützt ist, geprüft werden, ob tatsächlich die Haut auch bei Menschen der Hauptspeicherort des Natriums ist (B. K. Titze J 2005). Neuere Erkenntnisse auf diesem Gebiet sind klinisch relevant und würden zur Klärung der bereits 1954 postulierten Hypothese zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung beitragen (Bergstrom WH 1954). Bei einer in Deutschland liegenden Prävalenz der eingeschränkten Nierenfunktion - vergleichbar mit den weltweit vorliegenden Zahlen - zwischen 10 und 15% (vor allem in Abhängigkeit vom Alter der Patienten) ist das ein wichtiges Thema der heutigen Zeit (Eckardt Ku 2013), (Girndt M 2016), (Hoffmann F 2016).

1.2 Aktuelle Lehrmeinung zum Natriumstoffwechsel

In gängigen Lehrbüchern, wie dem Physiologie Buch des Urban & Fischer Verlages von Elsevier, das 2013 in der sechsten Auflage erschienen ist, steht in Auszügen Nachfolgendes zum Thema Wasser- und Salzhaushalt im menschlichen Körper (Speckmann EJ, Physiologie, 6. Auflage, S. 515-527 2013):

Wichtigste Kompartimente für die Wasserspeicherung sind der Intrazellulärraum (IZR) zu über 60%, und der Extrazellulärraum (EZR) zu über 30%. Auf die verschiedenen Kompartimente verteilen sich auch die Elektrolyte unseres Körpers. Natrium, ein positiv geladenes Teilchen, das vorwiegend für die stark positive Ladung im Extrazellulärraum verantwortlich ist, kommt in diesem in einer Konzentration von 140 bis 150 mmol/l vor. Dahingegen kommt Kalium hauptsächlich im Intrazellulärraum (120 - 150mmol/l) vor. So bestimmen Natrium und Kalium mit ihren dazugehörigen Anionen wie Chlorid und weiteren organischen Anionen den Wassergehalt im Extra- und Intrazellulärraum. Das wichtigste Kriterium zum Erhalt eines konstanten Flüssigkeitsausgleiches ist die Iso-Osmolalität. Eine zellmembranständige Natrium-Kalium-ATPase pumpt Natrium aus der Zelle heraus und Kalium in die Zelle hinein. Wird nun diätetisch mehr Natrium aufgenommen, erhöht sich die Natriumkonzentration im Extrazellulärraum. Die renale Wasserausscheidung wird verringert und ADH ausgeschüttet, sodass vermehrt Aquaporine in den Verbindungstubuli und Sammelrohren eingebaut werden, um Wasser zu resorbieren und durch das vom Hypothalamus regulierte Durstgefühl die Wasserzufuhr zu erhöhen. Im weiteren Verlauf erhöht die Niere die Natriumausscheidung über den Urin.

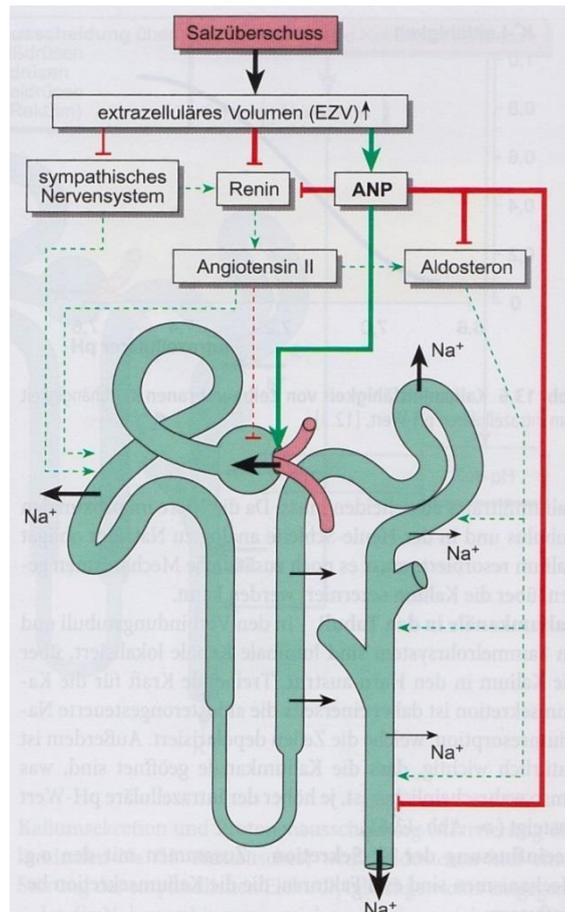


Abbildung 1: Regulation des Kochsalzhaushalts

Die Natriurese erreicht das sogenannte ‚steady state‘ (Gleichgewicht zwischen der Natriumzufuhr und -ausscheidung) aber erst nach einigen Tagen. Bis dahin ist der Gesamtgehalt des Natriums im Körper vorerst erhöht. Durch die vermehrte Einnahme von Flüssigkeit wird wegen der Natriumakkumulation mehr Wasser im Körper retiniert, sodass die zwangsläufige Folge dieses Prozesses eine Gewichtszunahme des Menschen ist. Dieser Prozess lässt sich anhand der aktiven Osmose erklären (Speckmann EJ, Physiologie, 6. Auflage, S. 515-527 2013).

Tatsächlich konnten diverse Studien, die in dieser Arbeit behandelt werden, diese Theorie nicht in ganzem Umfang bestätigen. Es gibt diesen wissenschaftlichen Studien zufolge andere Methoden zur Metabolisierung von überschüssigem Natrium und das ohne Eingriff in die Bilanz des Wasserhaushaltes.

Nun stellt sich aus dem bisher Dargestellten die Frage, ob lediglich die Nieren an der Natriumregulation und dem Wasserhaushalt beteiligt sind? Falls andere Regulationsmechanismen außerhalb der Nieren in die Natriumregulation eingreifen, wäre es durchaus interessant zu erfahren, in welchem Umfang dies geschieht und welche Organe an der extrarenalen Regulation beteiligt sein könnten.

Den genauen Mechanismus zu klären ist ein wichtiges, aber auch langwieriges Ziel. Die geringsten Erkenntnisse hierzu könnten weiterhelfen, um sich den Antworten, an denen nun bereits seit vielen Jahren gearbeitet wird, zu nähern.

1.3 Beobachtung von niereninsuffizienten Patienten im Verlauf

Bei insgesamt elf Patienten, die seit Jahren im Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München wegen ihrer Niereninsuffizienz behandelt wurden und werden, fielen über einen längeren Zeitraum hinweg einige Besonderheiten hinsichtlich der laborchemischen Parameter auf. Laut aktueller Lehrmeinung führt eine chronische terminale Niereninsuffizienz zum Versagen der exkretorischen Nierenfunktion, zur toxischen Schädigung von Organen durch nicht ausgeschiedene Substanzen, zur Abnahme der inkretorischen Funktionen (keine Aktivierung von Vitamin D, renale Anämie durch Erythropoetinmangel, gestörte Renin- und Prostaglandinproduktion) und zur Störung im Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt. Letztere Folge einer chronischen Niereninsuffizienz soll an dieser Stelle näher betrachtet werden. „Die fraktionelle Ausscheidung von Natrium (Natriumausscheidung pro Einzelnephron) steigt exponentiell mit der Abnahme der glomerulären Filtrationsrate. Erst bei Abfall der glomerulären Filtrationsrate unter 10 - 20 ml/min ist die Adaptationsfähigkeit der erkrankten Nieren erschöpft, sodass es zu einer Salz- und Wasserretention mit progressiver Zunahme des Extrazellulärvolumens kommt, die einen Schrittmacher für die Entwicklung der Hypertonie des urämischen Patienten darstellt.“ (Herold 2011). Bei Betrachtung der Laborwerte unserer elf Patienten stellten wir fest, dass Natrium über all die Jahre hinweg unabhängig von der GFR und damit dem Grad der Niereninsuffizienz konstante Werte annimmt. Viele

Parameter veränderten sich in dem Beobachtungszeitraum in Abhängigkeit von der GFR, Natrium jedoch nicht. Im Hinblick auf die bisherige Studien- und Datenlage sind unsere Beobachtungen durchaus vielversprechend und somit studienrelevant geworden. Je nach Patient liegen uns Werte über einen Zeitraum zwischen zwei und neunzehn Jahren vor. Zur Komplettierung des Gesamtbildes wurden weitere Parameter wie Harnsäure, Harnstoff, Harnstoff-Stickstoff (auch als Harnstoff-N bezeichnet), Phosphat, Kalium und Kreatinin der Beobachtung hinzugefügt. Aus dem Harnstoff konnte mittels einer einfachen Umrechnung das Harnstoff-N, das gerne zur Diagnose einer Nierenfunktionsstörung bestimmt wird, berechnet werden (Umrechnungsfaktor von 2,142). Mit den vorliegenden Kreatinin-Werten konnte jeweils die dazugehörige GFR geschätzt werden. Die GFR dient der Beurteilung der Nierenfunktion und wird im klinischen Alltag auch über die Kreatinin-Clearance geschätzt. Clearance bezeichnet ein Plasmavolumen, welches die Niere in einer bestimmten Zeiteinheit von einer Substanz befreit. Kreatinin wird überwiegend glomerulär filtriert. So können über die ausgeschiedene Menge einer Substanz Rückschlüsse auf die filtrierte Menge gewonnen werden. Die Kreatinin-Clearance wird aus dem Harnzeitvolumen, multipliziert mit der Kreatinin-Konzentration im Urin, berechnet. Das Produkt wird durch die Kreatinin-Konzentration im Plasma dividiert. Zur Abschätzung der GFR unserer Patienten wurde die MDRD (=Modification of Diet in Renal Disease) verwendet. Levey et al. berichteten 1999, dass die Beurteilung der Nierenfunktion mittels MDRD weit zuverlässiger als die Kreatinin-Clearance sei. Für diese Studie wurden insgesamt 1628 Patienten mit chronischem Nierenversagen rekrutiert. In die Berechnung flossen der Kreatinin Wert, das Alter des Patienten, sowie Geschlecht und Hautfarbe ein (Levey AS 1999). Diese Formel sei für nierenkranke Patienten mit einer GFR unter 60ml/min/1,73m² geeignet und nicht für Nierengesunde evaluiert (MVZ Labor Dr. Limbach Heidelberg 2016).

Die Einteilung der Niereninsuffizienz wird nach der KDIGO Klassifikation (Kidney Disease Improving Global Outcomes) vorgenommen. Diese ähnelt der Klassifikation nach NKF (National Kidney Foundation). Neu ist hier jedoch die Berücksichtigung der Albuminurie,

die bei einer Störung der Blut-Harn-Schranke auftritt. Die Folge dieser Störung ist eine Durchgängigkeit für größere Proteine, wie Albumin, aus dem Blut in den Urin.

Im Gegensatz zur anderen Formeln, wie der lang gebräuchlichen Cockcroft Formel, benötigen neuere Formeln, wie die CKD-EPI-Formel (Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration), keine Angaben zum Körpergewicht.

				Albuminuria stage, description, and range (mg/g)				
				A1		A2		A3
				Optimal and high-normal		High		Very high and nephrotic
				<10	10-29	30-299	300-1999	≥2000
GFR stage, description, and range (mL/min/1.73m ²)	G1	High and optimal	>105					
			90-104					
	G2	Mild	75-89					
			60-74					
	G3a	Mild-moderate	45-59					
	G3b	Mild-severe	30-44					
	G4	Severe	15-29					
G5	Kidney failure	<15						

Abbildung 2: neue CKD Klassifikation (KDIGO 2009)

Von den von uns beobachteten elf Patienten haben wir Werte für Natrium, Kalium, Phosphat und Harnstoff-Stickstoff einzeln einem Stadium der Niereninsuffizienz zugeordnet. Für die zugeordneten Werte wurde ein Mittelwert berechnet. So wird ersichtlich, wie sich die Werte renal eliminerter Stoffwechselprodukte im Verlauf der fortschreitenden Niereninsuffizienz ändern. Der nachfolgenden Grafik kann entnommen werden, dass im Verlauf der Niereninsuffizienz sowohl Harnstoff-Stickstoff, als auch das Phosphat starken Schwankungen unterliegen. Kalium unterliegt leichten Schwankungen bei niedrigen glomerulären Filtrationsraten. Völlig konstant, und das in allen Stadien der Niereninsuffizienz, verhält sich das rot dargestellte Natrium.

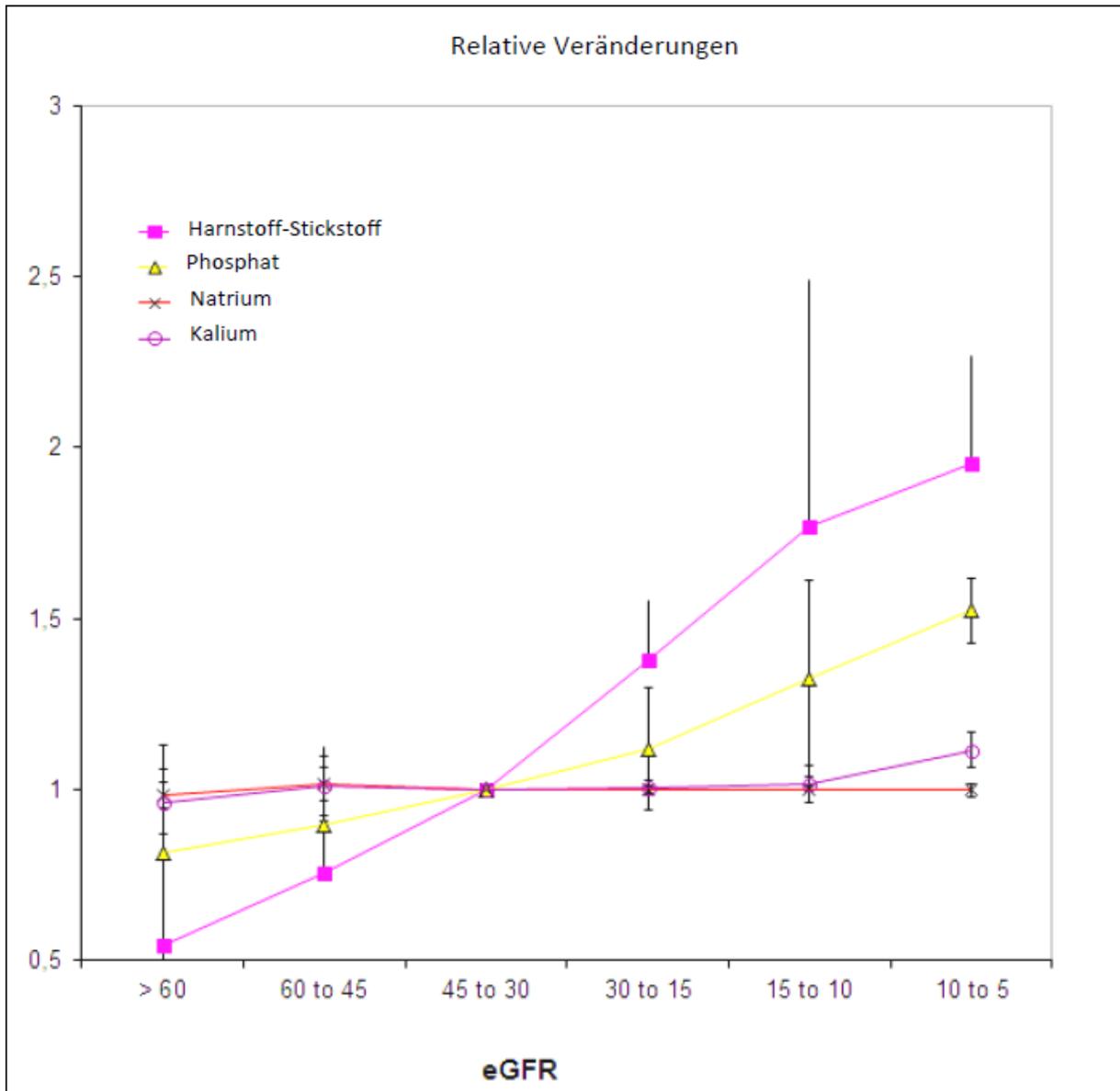


Abbildung 3: Elektrolytkonzentrationen in Korrelation zur GFR
(mit freundlicher Unterstützung von Prof. Dr. M. Fischereder)

Wie ist zu erklären, dass die Serumkonzentrationen von Kalium, Phosphat und Harnstoff-Stickstoff scheinbar von der Niereninsuffizienz abhängen, die Konzentration des Natriums jedoch nicht? Wie bereits erläutert haben bei der osmotisch aktiven Natriumspeicherung die Nieren eine entscheidende Funktion. Demzufolge würde bei einer vorliegenden Niereninsuffizienz dieser Regulationsmechanismus je nach Grad der Insuffizienz mehr oder weniger stark beeinträchtigt sein. Unter der Voraussetzung, dass es entsprechend der aktuellen Lehrmeinung lediglich eine osmotisch aktive Natriumspeicherung gebe,

würde auch Natrium abhängig vom Grad des Nierenversagens andere Werte annehmen müssen und nicht im gesamten Beobachtungszeitraum konstant bleiben. Bei solchen Ergebnissen liegt die Vermutung sehr nahe, dass es im Natriumstoffwechsel andere Mechanismen neben der osmotisch aktiven Natriumspeicherung geben muss.

1.4 Wasserfreie Natrium-Akkumulation

In einer neueren Studie in Experimenten an Ratten hätten diese Natrium ohne Retention von Wasser und hauptsächlich in die Haut eingelagert (Schafflhuber M 2007). Hierzu seien die Tiere in der Vergleichsgruppe diätetisch hohen Salzgehalten ausgesetzt worden. Entgegen der gängigen Lehrmeinung sei überschüssiges Natrium osmotisch inaktiv gespeichert worden. Demzufolge habe in diesem Fall der Wassergehalt in der Haut weniger als erwartet zugenommen - ohne Kaliumverlust aus dem Gewebe. Schafflhuber et al. zeigten auch, dass bei diätetischer Mangelsalznahrung der Tiere osmotisch inaktives Natrium, das in der Haut gespeichert war, auch wieder mobilisiert werden könne (Schafflhuber M 2007). Dies würde die Annahme, dass osmotisch inaktiv gespeichertes Natrium freigesetzt werden kann, bestätigen. Des Weiteren sei eine vermehrte Herstellung von Glykosaminoglykanen parallel zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung beobachtet worden (Rakova N 2013). Ihrer Vermutung zufolge könnten Glykosaminoglykane wichtig bei der Natriumspeicherung in der Haut sein. Ein erhöhter Gehalt von Natrium in der Haut sei bei Ratten mit einer erhöhten Proteoglykankonzentration sowohl im Knorpel, als auch in der Haut einhergegangen (Rakova N 2013). Dass sich mit Erhöhung der Natriumzufuhr die Menge der sulfatierten Glykosaminoglykane erhöhe, erläuterten Ivanova et al. bereits vor über 35 Jahren und gehörten damit zu einen der Ersten (Ivanova LN 1978).

In diesem Zusammenhang wird der Begriff der Glykosaminoglykane immer gängiger. Sie gewinnen in aktuellen Studien zusehends an Bedeutung.

Doch was sind Glykosaminoglykane?

Bei Glykosaminoglykanen handelt es sich um Polyanionen der extrazellulären Matrix, die aus chemischer Sicht ein positiv geladenes Teilchen binden können. Abhängig von der

Menge an Carboxyl- und Sulfatgruppen können sie eine noch höhere negative Ladungsdichte gewinnen und haben somit ein höheres Potential positiv geladene Teilchen zu binden. Innerhalb der Glykosaminoglykane werden diverse Gruppen hinsichtlich ihrer Disaccharideinheiten wie Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Dermatansulfat, Heparansulfat, Heparin und Keratansulfat unterschieden (Ambrosius M 2009). Je nach Art des Glykosaminoglykans kommen sie im menschlichen Körper ubiquitär in allen Geweben oder auch speziell beispielweise im Knorpel und / oder Knochen vor. In den letzten Jahren nahm die Forschung auf dem Gebiet der Glykosaminoglykane immer weiter zu. Mit Hilfe der zunehmenden Fortschritte bei neueren Forschungsmethoden wie analytischen Trennungstechniken - samt Chromatographie und Elektrophoresen - können Glykosaminoglykane exakter untersucht werden. So konnten tiefere Einblicke in die Menge und Feinstruktur der Glykosaminoglykane gewonnen werden. Somit wird eine genauere Charakterisierung möglich.

Neben ihrer Funktion als Strukturelemente kann man ihnen inzwischen Funktionen in physiologischen und regulatorischen Prozessen zuschreiben (Vynios DH 2002). Die Expression der Natrium-Kalium-ATPase hänge im Knorpel mit der lokalen Konzentration von Glykosaminoglykanen zusammen und werde vermutlich reguliert (Mobasheri 1999). Neuere Studienergebnisse zeigten, dass eine Natrium-Akkumulation bei Patienten mit zunehmendem Alter, arteriellem Hypertonus, Entzündungen oder Infektionen stattfindet (R. N. Titze J 2015), (Schatz V 2016). Diese Natriumdepots könnten bei dialysierten Patienten mobilisiert werden (R. N. Titze J 2015).

1.5 Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit

Die bisherigen Studien, die teilweise an Ratten und teilweise an Menschen durchgeführt wurden, haben gezeigt, dass - entgegen der aktuellen Lehrmeinung - Natrium auch osmotisch inaktiv gespeichert werden kann.

Gelingt uns die Reproduktion bisheriger Studienergebnisse?

Und das an Menschen und nicht im Tierversuch?

Ist es hinsichtlich des Natriumstoffwechsels relevant, ob die Analysen an Menschen oder Tieren vorgenommen wurden? Können Ergebnisse aus Tierversuchen auf Menschen übertragen werden?

In unserer Studie werden Lebendnierenempfänger und -spender verglichen. Spender sind gekennzeichnet durch eine im Normbereich liegende Nierenfunktion mit ausreichend diuretischer Funktion. Als Kontroll- und Vergleichsgruppe dienen die Lebendnierenempfänger. Sie sind terminal niereninsuffizient und häufig dialysiert.

Hat die vorherige Dialyse Einfluss auf unsere Studienergebnisse?

Zu Beginn soll festgestellt werden, in welchen Mengen Natrium in Kompartimenten wie der Haut, der Muskulatur und den Arterien vorhanden ist. Gibt es signifikante Unterschiede zwischen unseren zwei Patientengruppen bezüglich der Natriumkonzentrationen in den jeweiligen Kompartimenten?

Sind Unterschiede zwischen den untersuchten Gewebearten festzustellen?

Wird Natrium - wie in anderen Studien beobachtet - hauptsächlich in der Haut gespeichert oder doch in einem anderen Gewebe?

Weiterhin haben wir uns die Frage gestellt, ob in allen von uns analysierten Kompartimenten ähnliche Prozesse stattfinden?

Die Lebendnierenempfänger haben auch eine Vielzahl anderer Grunderkrankungen, welche anamnestisch herausgearbeitet werden konnten. Wie wichtig ist die Ätiologie der Niereninsuffizienz für unsere Ergebnisse?

Neben den Elektrolyten aus den Basislaboren sollen andere Parameter - wie die QTc-Zeit des Herzens - untersucht werden. Solche Parameter könnten uns Hinweise darauf geben, dass neben den untersuchten Kompartimenten weitere Organe im Zusammenhang mit dem Natriumstoffwechsel stehen und abhängig von der Natriummenge Pathologien aufweisen könnten.

Da in vielen bisherigen Studien auf eine potentielle Abhängigkeit zwischen der Natriumspeicherung und der Produktion von Glykosaminoglykanen hingewiesen wurde, sollen mit den entnommenen Gewebeproben erste Untersuchungen in diese Richtung durchgeführt werden. Hängt die Menge des osmotisch inaktiv gespeicherten Natriums von der Menge der Glykosaminoglykane ab?

Gesetztes Ziel dieser Arbeit ist es sich in einer prospektiven Studie grundsätzlichen Fragen zur Lokalisation osmotisch inaktiver Natriumspeicherung im menschlichen Körper hinreichend zu nähern.

Antworten zu einem möglichen Pathomechanismus der Natriumspeicherung würden das oben genannte Ziel ergänzen.

2 Patienten und Methoden

2.1 Untersuchtes Patientenkollektiv

Der Antrag zur Genehmigung dieser Studie durch die Ethikkommission wurde unter Angabe der üblichen Formalien und mit einer Fallschätzung von zwölf Patienten eingereicht. Gestützt ist unser Antrag auf die Erkenntnisse von Titze et al., die in ihrem Versuch Ratten mit DOCA (Deoxycorticosteron-Azetat - einer Aldosteron ähnlichen Substanz) und Salz fütterten (B. K. Titze J 2005). Unter der Natriumgabe hätten Ratten weit weniger Wasser eingelagert als vermutet und berechnet worden sei. Es sei ein geringer Anteil von etwa 20% wassergebunden gespeichert worden, das restliche Natrium wasserfrei. Des Weiteren erfolge die osmotisch inaktive Natriumspeicherung in der Haut. So konnte in der beschriebenen Studie eine konkrete Angabe zur Lokalisation der Natriumspeicherung gemacht werden (B. K. Titze J 2005).

Im weiteren Verlauf erweiterten wir unsere Studie - nach vorheriger Fallzahlschätzung, erneuter Antragstellung und Genehmigung durch die Ethikkommission - auf 49 Studienteilnehmer.

Niereninsuffiziente Patienten sind unsere Lebendnierenempfänger, wohingegen unsere nierengesunde Kontrollgruppe Lebendnierenspender sind. Zur Probenentnahme bei nierengesunden und nierenkranken Patienten nutzten wir die Transplantationsoperation bei Lebendspenden. Etwa ein Viertel der in Deutschland transplantierten Nieren sind Lebendspenden (2014 wurden hierzulande 2128 Nieren transplantiert, davon stammten 620 von lebenden Spendern) (Korzilius 2016).

In unserer klinisch prospektiven Studie erfolgte keine Behandlung von Patienten, keine Randomisierung und keine Verblindung von Studienärzten. Vor allen Eingriffen sind unsere Patienten ausführlich aufgeklärt worden und willigten neben dem operativen Eingriff auch an der Teilnahme dieser Studie ein (die Patientenaufklärung liegt im Anhang dieser Arbeit vollständig vor). Durch die Entnahme von Gewebeproben erlitten die Patienten keine funktionellen oder kosmetischen Defizite. Ebenfalls erfolgte für diese Studie keine separate Blutprobenentnahme. Die benötigten Laborwerte wurden den regulär

untersuchten Blutproben vor Nierentransplantation entnommen. In den meisten Fällen sind die Laborwerte einen Tag präoperativ bestimmt worden. In einigen Fällen am Tag der Lebendnierenspende oder des Lebendnierenempfanges.

Selbstverständlich wurden alle Daten pseudoanonymisiert, verschlüsselt und vertraulich behandelt.

2.2 Untersuchungsprotokoll

Zur Bestimmung der Natriumkonzentrationen wurden während der Nierentransplantationen sowohl vom Nierenspender, als auch vom Nierenempfänger Gewebeproben von Haut, Bauchmuskulatur und epigastrischen Gefäßen entnommen. Von den epigastrischen Gefäßen wurde die jeweilige Arterie zur Probenanalyse verwendet. Nach Anweisung aller beteiligten Mitarbeiter wurde darauf geachtet, dass lokal keine natriumhaltigen Flüssigkeiten während der Transplantationsoperation verwendet wurden. So konnte einer Kontamination der Proben mit Natrium und damit einer Verfälschung der Ergebnisse vorgebeugt werden. Die etwa ein Gramm schweren Gewebeproben wurden in ein steriles Gefäß gefüllt und aufgeteilt. Der Hauptteil der Proben wurde bei -20°C eingefroren und bis zur Analyse im Gefrierschrank gelagert. Zur Natriumanalyse wurden die Proben unter Einhaltung der Kühlkette in gefrorenem Zustand in das Helmholtz Zentrum zur Natriumanalyse gebracht. Ein kleiner Teil des Gewebes (schätzungsweise $2\text{mm} \times 3\text{mm} \times 3\text{mm}$) wurde im RNAlater von Ambion (Deutschland) für spätere Analysen gelagert. Eine weitere und damit letzte Teilprobe wurde fixiert und zur histopathologischen Aufbereitung im pathologischen Institut des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität an Dr. Schmoeckel übergeben.

Das Gewebe für die histologische Untersuchung muss direkt nach Entnahme in Formaldehyd eingelegt werden. Unsere ersten entnommenen Proben wurden jedoch, wie der Hauptteil der Proben, eingefroren. So konnten wir nicht alle Gewebeproben mit Hilfe der Alcian Blau Färbung analysieren. Im weiteren Verlauf der Studie legten wir den Teil des Gewebes, der histopathologisch untersucht werden sollte, direkt nach Gewinnung in

Formaldehyd ein. So lagen uns für diese Arbeit insgesamt 22 gefärbte Proben vor. Sechs davon aus der Haut, sechs aus arteriellen Gefäßen und zehn aus der Muskulatur.

Neben Gewebeproben wurden zusätzlich diverse Laborwerte ausgewertet.

Bei den Laborwerten standen vor allem Kreatinin, Harnstoff, Glucose, Phosphat, Calcium, Bikarbonat, Parathormon, Hämoglobin, Kalium und Natrium im Vordergrund. Die Bestimmung der laborchemischen Parameter erfolgte routinemäßig im Rahmen der Vorbereitung der Patienten für den operativen Eingriff. Ausnahmen hierfür stellten die Ermittlung des iPTH (Parathormons) und des Serumphosphates dar. Diese beiden Werte wurden aus bestehenden Labordaten der vorangegangenen sechs Monate herangezogen. Um dem Anspruch der Aktualität erhobener Werte gerecht zu werden, wurde darauf geachtet, dass immer die aktuellsten aller Laborwerte in die Datenerhebung einfließen.

Die Plasmaosmolalität berechneten wir aus den laborchemisch vorhandenen Werten der Serumkonzentrationen von Natrium, Glucose und Harnstoff.

Hierfür wurde folgende Formel verwendet:

$$2 \times Na \left(\frac{mmol}{l} \right) + \frac{Glucose \left(\frac{mg}{dl} \right)}{18} + \frac{Harnstoff \left(\frac{mg}{dl} \right)}{6} \\ = Plasmaosmolalität \left(\frac{mosmol}{kg} \right)$$

Viele Lebendnierenempfänger wiesen pathologische Veränderungen am Herzen auf. Häufig waren koronare Gefäßerkrankungen anamnestisch bekannt. Weiterhin konnte unter den Empfängern sonographisch eine Vergrößerung der Vorhöfe und / oder Ventrikel gesehen werden. Aus diesem Grund wurde die QTc-Zeit des Herzens in diese Studie mit einbezogen.

Die QTc-Zeit wird wie folgt berechnet:

$$QTc = \frac{QT-Zeit}{\sqrt{RR-Abstand}}$$

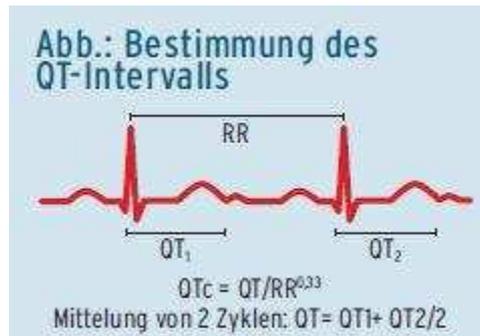


Abbildung 4: Bestimmung des QT Intervalls

2.3 Natriumanalyse

Das eingefrorene Probenmaterial wurde im Department of Environmental Science - Research Unit Analytical BioGeoChemistry - untersucht. Die eingefrorenen und damit feucht-frischen Proben wurden gewogen und anschließend im Vakuum für zwei bis drei Tage gefriergetrocknet. Daraufhin wurden die Proben zur Bestimmung des Trockengewichts erneut gewogen. Die Behältnisse mit den enthaltenen Trockenmassen wurden mit einem Milliliter Salpetersäure, die üblicherweise für organische Proben verwendet wird, aufgefüllt. Eine weitere Auflösung der Proben erfolgte mit destilliertem Wasser in Quarzröhrchen. Die jeweiligen Quarzröhrchen beinhalteten Silicium und Sauerstoff, wodurch eine Probenverunreinigung vermieden wurde. Zum Zwecke des Druckaufschlusses wurden die Proben für weitere 12 bis 16 Stunden bei 170°C aufbewahrt. Bei dieser Temperatur wird Salpetersäure flüssig, sodass das Gewebe auf diese Weise druckaufgeschlossen wurde. Die Behältnisse mit den aufgeschlossenen Gewebeproben wurden mit voll entsalztem Wasser auf insgesamt zehn Milliliter aufgefüllt. Im Anschluss konnte mit der Natriummessung fortgefahren werden.

Die Natriumanalyse erfolgte mittels eines ICP-OES-Spektrometers (Oberschleißheim, Gerät Optima 7300, Firma PerkinElmer). Natrium wurde dabei mit einer Wellenlänge von 589.592nm gemessen. So konnten die jeweiligen Natriumkonzentrationen bestimmt werden und je nach Bedarf mit Hilfe des jeweiligen Umrechnungsfaktors (berechnet durch das Wiegen der feuchten und trockenen Proben) auf das Trocken- oder Feuchtgewicht

zurückgeführt werden. Bei zu hohen Natriumkonzentrationen wurden Verdünnungsreihen hergestellt. Leider mussten einige Proben auf Grund zu geringer Gewebemengen aus der Studie ausgeschlossen werden.

Zur Einschätzung der Messgenauigkeit wurde im Helmholtz Zentrum ein zertifiziertes Referenzmaterial - nach vorherigem Aufschluss des Materials - gemessen. Die Streuung (SD) über dem gesamten Analysengang (Aufschluss und Messung) liege nach Auskunft von Prof. Michalke (Head of Central Inorganic Analytics) bei 0,4%. Die nach IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) definierte „expanded uncertainty“ liege bei 1%. Die Richtigkeit der Analyse, die am zertifizierten Wert festgelegt wird, betrug 99,4% (gefunden: 4146 mg/kg - im Vergleich zum zertifizierten Wert von 4173 mg/kg). Die nachfolgende Abbildung zeigt den vom Referenzmaterial-Labor der Europäischen Union veröffentlichten Bericht zum Thema Natrium.

Das Labor des Helmholtz Zentrums entspricht dem Lab-Code 5.

Na in ERM-BD150

Lab code	Technique	replicate 1 [mg/kg]	replicate 2 [mg/kg]	replicate 3 [mg/kg]	replicate 4 [mg/kg]	replicate 5 [mg/kg]	replicate 6 [mg/kg]	mean [mg/kg]	Expanded uncertainty [mg/kg]
1	ICP-MS	3733	3928	3829	4144	4090	4080	3967	829
3	FAAS	4333	4300	4366	4275	4335	4324	4322	437
4	ICP-SFMS	4100	4060	4050	4040	4000	4120	4062	400
5	ICP-OES	4135	4146	4168	4146	4146	4135	4146	41
8	k0-INAA	4462	4439	4313	4403	4370	4395	4397	313
12	ICP-OES	4310	4330	4440	4380	4340	4400	4367	670
13	ICP-MS	4300	4300	3900	4100	4000	4300	4150	650
17	k0-INAA	4250	4280	4170	4200	4250	4200	4225	260
18	k0-INAA	4210	4000	4270	4060	4260	4040	4140	350
20	ICP-OES	4102.2	4152.9	4108.5	4061.0	4149.6	4180.1	4126	109
21	ICP-OES	4048.5	4041.0	4059.1	4138.1	4116.4	4106.6	4085	641

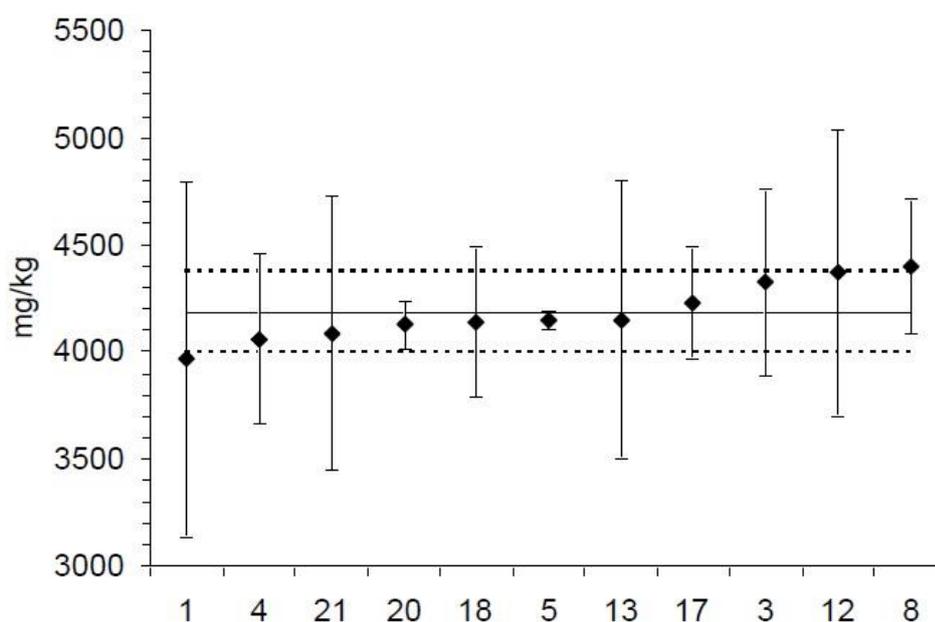


Abbildung 5: Na⁺ Messungen vom Referenzwert-Labor der EU

2.4 Färbung der Glykosaminoglykane

Insgesamt 22 unserer entnommenen Gewebeproben (davon sechs Haut-, sechs Arterien- und zehn Muskelproben) wurden im pathologischen Institut des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität von Dr. Schmoeckel histologisch gefärbt.

In saurem Milieu werden durch die Verbindung aus Alcianblau und Glykosaminoglykanen Salze gebildet, die durch die Färbung blau erscheinen.

Die Gewebeproben wurden der untersuchenden Pathologin ohne das Wissen über den jeweils gemessenen Natriumwert vorgelegt. Somit handelt es sich um eine verblindete Analyse. Visuell beurteilte Dr. Schmoeckel die Intensität der Blaufärbung und vergab kategorisch Punkte von Null bis Vier. Null wurde an Proben vergeben, die nicht blau erschienen und somit augenscheinlich keine oder sehr wenige Glykosaminoglykane enthielten. Den höchsten Wert von vier Punkten vergab sie an Proben mit einer starken Blaufärbung.

In der nachfolgenden Abbildung sind als Beispiel und zum besseren Verständnis der Methode die Färbungen von zwei arteriellen Gewebeproben zu sehen. Die linksstehende Abbildung enthält weniger Natrium als die rechtsstehende Abbildung und imponiert im Hinblick auf die Intensität der Blaufärbung schwächer. Daraus konnten wir schlussfolgern, dass in dieser weniger Glykosaminoglykane enthalten sind.

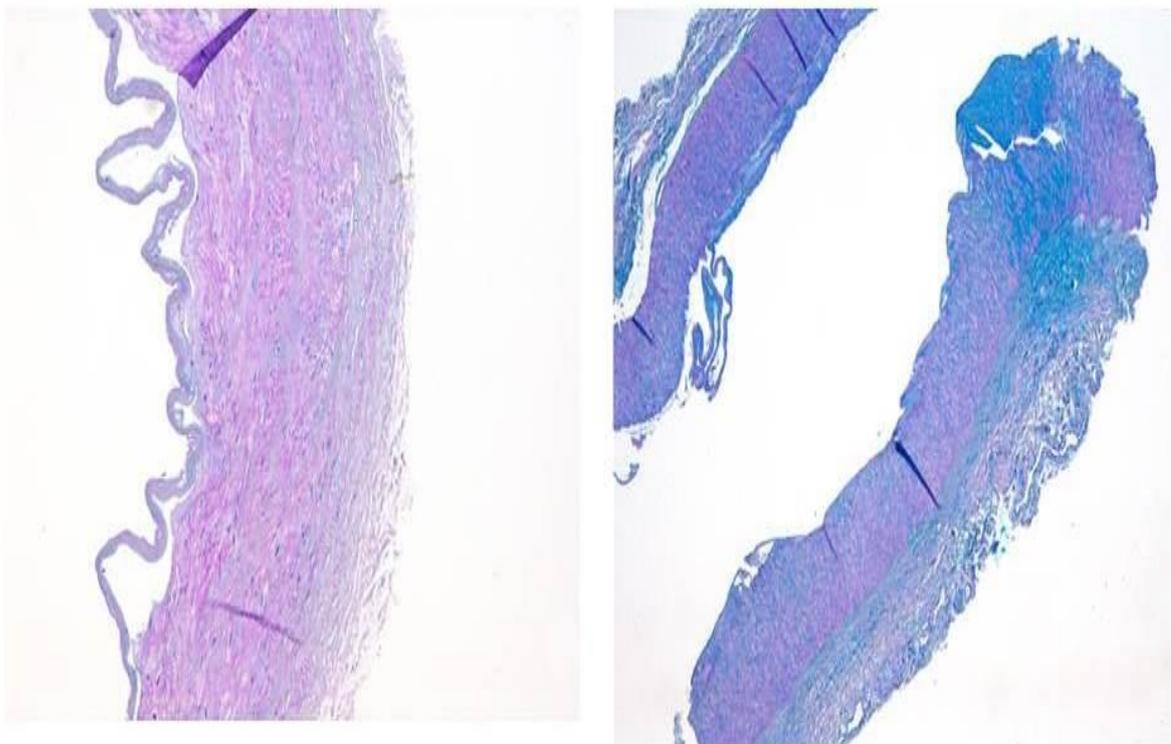


Abbildung 6: Alcianfärbung Arterie (li: Na. 2,1 g/kg FG, re: Na 3,5 g/kg FG)

2.5 Datenanalyse

Die Auswertung der vorhandenen Ergebnisse und Werte erfolgte mit der Statistik- und Analyse-Software IBM SPSS (Version 22), sowie Microsoft Excel 2010. Die vorliegenden Ergebnisse werden als Mittelwerte mit Standardabweichungen angegeben. Mit Hilfe des t-Tests wird Auskunft darüber gegeben, wie signifikant der Unterschied zwischen zwei geprüften Gruppen ist. Als signifikant werden solche Ergebnisse gewertet, deren p-Wert kleiner 0,05 ist.

Die Pearsonsche Korrelation wurde zur Untersuchung der Beziehung zwischen Natriumkonzentrationen in Gewebeproben untereinander und zur Färbung der Glykosaminoglykane verwendet.

Die errechneten Werte und Zusammenhänge werden mit Hilfe von SPSS und Excel grafisch dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Von insgesamt 49 Patienten sind 22 Spender und 27 Empfänger vertreten. Sie wurden im Zeitraum von Juni 2012 bis November 2013 im Klinikum der LMU München operiert.

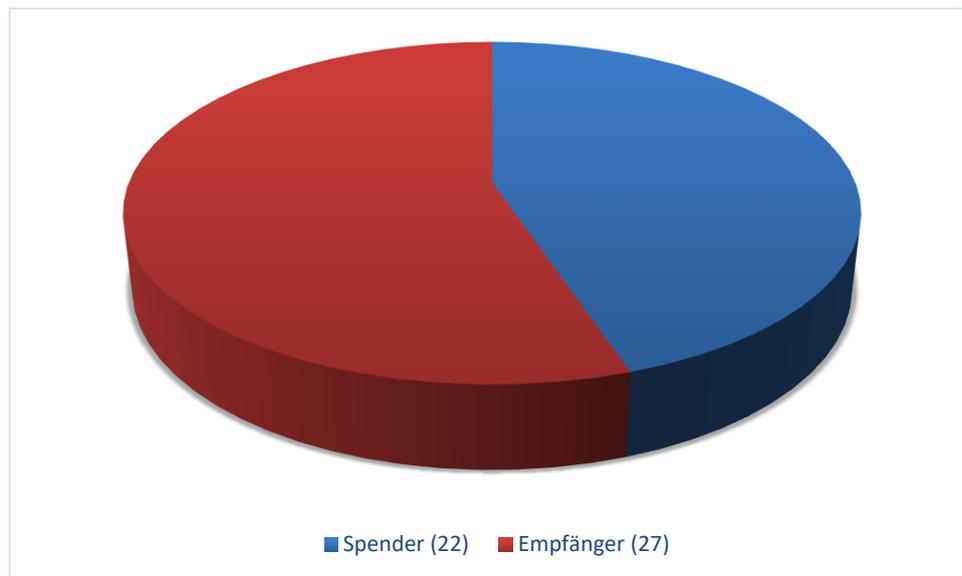


Abbildung 7: Aufteilung des Kollektivs - Spender & Empfänger

Innerhalb der Spendergruppe gab es keinen Patienten mit nephrologischen Grunderkrankungen.

Die Nierenerkrankung der Empfänger ist unterschiedlicher Genese. Bei vielen ist der Grund der Niereninsuffizienz eine Glomerulonephritis (vor allem eine IgA Glomerulonephritis). Am zweithäufigsten war in unserem Patientenkollektiv als Ursache der chronischen Niereninsuffizienz eine diabetische Nephropathie vorzufinden. Eine weitere Grunderkrankung unserer Lebendnierenempfänger ist die benigne Nephrosklerose. Zurückzuführen ist diese Erkrankung auf einen arteriellen Hypertonus. Auch polycystische Nierenerkrankungen fanden wir vor. Seltener sind die Gründe für die Verschlechterung bis hin zum Ausfall der Nierenfunktion ein akutes Nierenversagen oder Schrumpfnieren gewesen.

In einigen Fällen war und blieb die ursächliche Erkrankung ungeklärt.

In den jeweiligen Feldern werden die absoluten Fallzahlen angegeben.

Ätiologie der Niereninsuffizienz

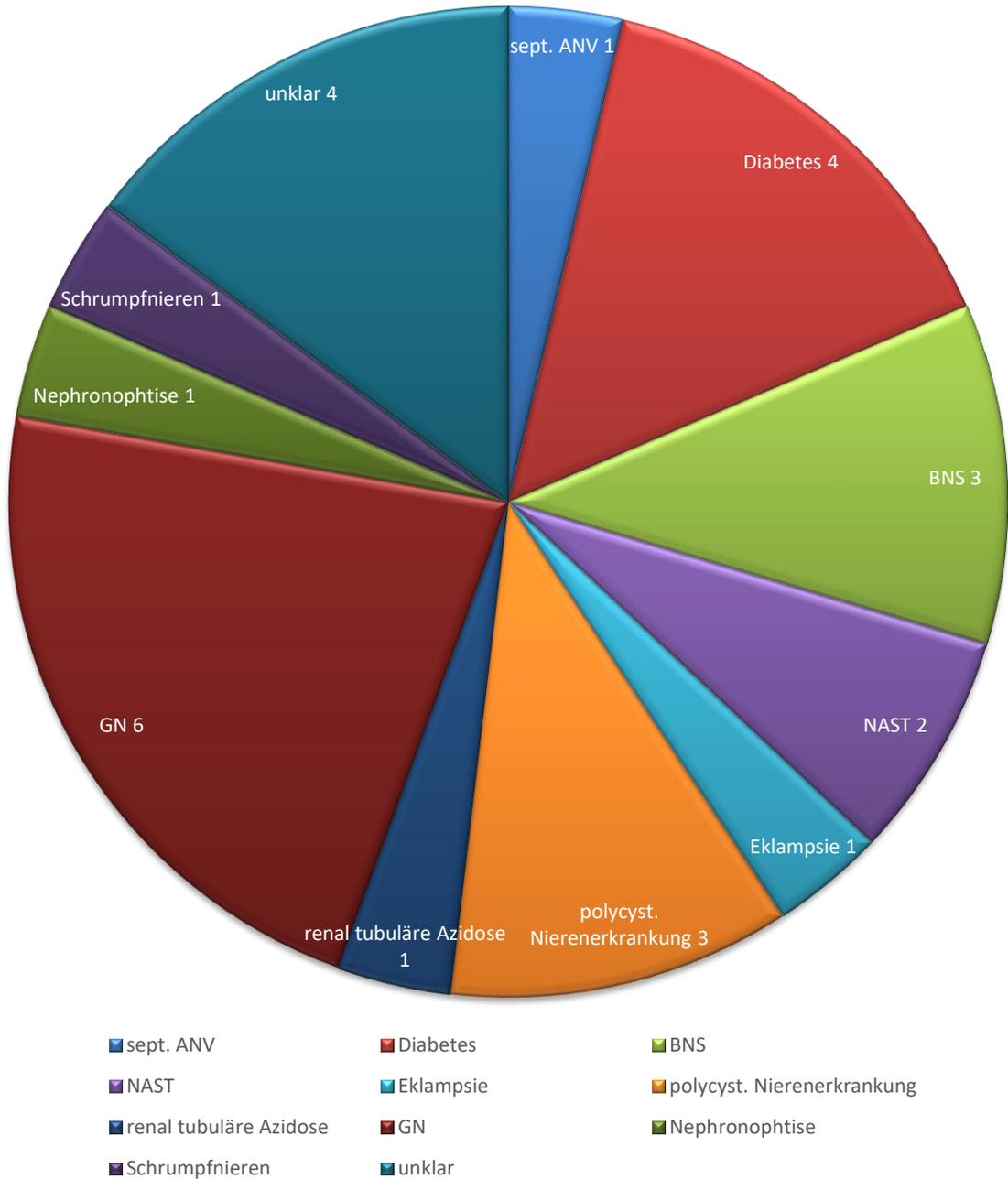


Abbildung 8: Ätiologie der Niereninsuffizienz

Niereninsuffiziente Patienten wurden auf Grund ihrer mangelnden Nierenfunktion und Ausscheidung unterschiedlich lang dialysiert. Einige erhielten ohne vorherige Dialyse eine Nierentransplantation. Der Beginn der Dialysebehandlung lag durchschnittlich 1,25 Jahre zurück.

Bei genauerer Betrachtung des Patientenkollektivs unterschieden sich nierenkranke Patienten nicht signifikant im Alter ($p=0,47$), der Größe ($p=0,48$), dem Gewicht ($p=0,72$) und dem daraus resultierenden Body Mass Index (BMI) ($p=0,50$) von nierengesunden Spendern.

Innerhalb des Patientenkollektivs fällt auf, dass der Anteil der Männer unter Nierenempfängern, also CKD 5 Patienten, signifikant höher ist als unter Spendern.

	Gesamt	Spender	Empfänger	p-Wert
Alter (Jahre)	53,2 ± 12,9	54,7 ± 10,6	51,9 ± 14,4	0,47
Geschlecht (Männer in %)	61,2	45,5	74,1	<0,05*
Größe (Meter m)	1,73 ± 0,08	1,72 ± 0,37	1,73 ± 0,08	0,48
Gewicht (Kilogramm kg)	73,3 ± 12,5	74,1 ± 21,3	72,7 ± 16,8	0,72
BMI (kg/m)	24,6 ± 3,5	25,0 ± 6,4	24,3 ± 5,5	0,50

Tabelle 1: Beschreibung des Patientenkollektivs ± SD

*an dieser Stelle wurde der Chi-Quadrat Test berechnet:

Chi-Quadrat-Wert 4.182, 1 Freiheitsgrad, Signifikanz < 0,05

3.2 Labordaten

Im weiteren Verlauf sollen Lebendnierenempfänger (Patienten mit einer CKD 5) näher betrachtet werden. 22 CKD 5 Patienten waren dialysiert, einige nur wenige Wochen, andere bis zu annähernd vier Jahren.

Nachfolgend werden die Laborparameter von Spendern und Empfängern gegenübergestellt. Angegeben werden alle Werte als Mittelwerte mit Standardabweichungen (unter Angabe der Normbereiche) und dem dazugehörigen p-Wert.

	Spender	Empfänger	p-Wert
Kreatinin (Normbereich: Frauen 0,5 - 1,0 mg/dl, Männer 0,6 - 1,2 mg/dl)	1,0 ± 0,2	7,6 ± 2,2	2,7 E-18
Harnstoff (Normbereich: 10 - 50mg/dl)	33,8 ± 8,2	125,9 ± 38,0	1,8 E-14
Glucose (Normbereich nüchtern: Plasma/Serum 70 - 99 mg/dl Vollblut 55 - 89mg/dl)	96,0 ± 12,2	117,8 ± 62,7	0,1
Phosphat (Normbereich: 2,6 - 4,5 mg/dl)	3,4 ± 1,4	5,1 ± 1,4	1,1 E-5
Calcium (Normbereich: 2,02 - 2,60 mmol/l)	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,2	0,1
Bikarbonat (Normbereich: 21 - 26 mmol/l)	24,9 ± 12,5	24,5 ± 9,0	0,6

	Spender	Empfänger	p-Wert
ipTH (Normbereich: 10-65 pg/ml)	43,9 ± 24,3	295,7 ± 292,0	0,003
Kalium (Normbereich: 3,8 - 5,2 mmol/l)	4,5 ± 0,3	5,1 ± 0,8	0,002
Natrium (Normbereich: 135 - 145 mmol/l)	140,0 ± 1,9	139,1 ± 2,3	0,2
Plasmaosmolalität (Normbereich: 275 - 320 mosmol/kg)	290,9 ± 3,5	305,5 ± 7,6	1,5 E-10
Präoperativ gemessener Blutdruck (Normbereich: Systolisch < 140mmHg Diastolisch < 90mmHg)	124 ± 28 / 76 ± 17	136 ± 45 / 79 ± 26	Systolisch: 0,004 Diastolisch: 0,21
Hämoglobin (Normbereich: Frauen 12 - 16 g/dl, Männer 14 - 18 g/dl)	Gesamt: 14,1 ± 1,2 Frauen: 13,8 ± 1,1 Männer: 14,5 ± 1,2	11,6 ± 1,4 11,4 ± 1,7 11,6 ± 1,2	4 E-08 0,003 3,6 E-06
QTc - Zeit (Normbereich: bis 450 msec)	403,8 ± 16,8	415,9 ± 110,9	0,04

Tabelle 2: Laborwerte

Wie zu erwarten war, ist das Kreatinin bei Nierenempfängern signifikant höher. Analog zum Kreatinin nimmt Harnstoff bei Empfängern deutlich höhere Werte als bei Spendern an und liegt damit weit über dem Normbereich.

Da Diabetes nebendiagnostisch bei vier Lebendnierenempfängern auftritt, ist der Blutzuckerspiegel höher als bei Spendern. Dabei wird nicht zwischen den verschiedenen Diabetes mellitus Typen unterschieden. Es konnte nicht eruiert werden, ob es sich bei den pathologischen Glucosewerten um Nüchternwerte handelte oder nicht. Wahrscheinlich ist, dass im klinischen Alltag sich sowohl Nüchternwerte, als auch postprandiale Werte mischten.

Ein erhöhter Phosphatspiegel ist eine typische Beobachtung bei Patienten mit einem sekundären Hyperparathyreodismus. Dieser ist wiederum häufig bei chronisch niereninsuffizienten Menschen zu finden, da durch die verringerte Nierenfunktion weniger Phosphat ausgeschieden wird. Das im Überschuss vorhandene Phosphat bildet Komplexe mit Calcium, wodurch eine Hypocalciämie entstehen kann.

Aus den gegebenen Laborwerten wurde die Plasmaosmolalität - ein Indikator für die Wasserbilanz im menschlichen Körper - errechnet. Unsere Studienergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen Empfängern und Spendern hinsichtlich ihrer Osmolalität. Demzufolge haben unsere Empfänger im Plasma mehr osmotisch aktive Teilchen als unsere Spender.

Zusätzlich zu den bisherigen Parametern interessierten uns die Blutdruckwerte unserer Studienteilnehmer. Hierfür wurden die routinemäßig präoperativ gemessenen Blutdrücke berücksichtigt.

Lediglich der systolische Blutdruckwert unterscheidet sich signifikant zwischen Empfängern und Spendern.

3.3 Natriumkonzentrationen in Arterien, Muskulatur und Haut

Die Angaben der Natriumkonzentrationen in Arterien, Muskulatur und Haut liegen uns sowohl im Feuchtgewicht (FG), als auch Trockengewicht (TG) vor. Die Umrechnung zwischen FG und TG erfolgte mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors aus dem Helmholtz Zentrum, der aus dem Wiegen der Proben vor und nach deren Bearbeitung resultierte. Für jede Probe gibt es demzufolge einen eigenen Umrechnungsfaktor, der angewendet wurde.

Alle folgenden Werte werden als Gesamtwert und Mittelwert der jeweiligen Gruppe (Spender oder Empfänger) mit dazugehörigen Standardabweichungen, sowie dem p-Wert aus einem zuvor erfolgten t-Test angegeben.

Nachfolgend zu allen berechneten Werten werden zunächst die Mittelwerte grafisch aufbereitet. Im weiteren Verlauf folgt jeweils eine Grafik zur visuellen Darstellung der Ergebnisse der Natriumanalysen bezogen auf die Probennummern - einmal für Spender, einmal für Empfänger. So können Ausreißer besser dargestellt und detektiert werden.

Zunächst werden die Ergebnisse der Hautanalysen vorgestellt.

Haut	Gesamt	Spender	Empfänger	p-Wert
FG (g/kg)	3,24 ± 2,24	3,67 ± 3,05	2,91 ± 1,25	0,25
TG (g/kg)	6,95 ± 3,87	6,790 ± 4,63	7,08 ± 3,29	0,80

Tabelle 3: Natriumkonzentration in der Haut ± SD

Weder im Feucht- noch im Trockengewicht gibt es signifikante Unterschiede zwischen den Natriumkonzentrationen in der Haut von Spendern und Empfängern.

Im Feuchtgewicht ist mehr Wasser enthalten, sodass das vorhandene Natrium stärker verdünnt ist. Dementsprechend ist im Feuchtgewicht die Natriumkonzentration geringer als im Trockengewicht. In einigen Fällen - bei stärker vertrockneten Proben - nähert sich das Feuchtgewicht dem Trockengewicht an. Analog dazu auch die gemessene Natriumkonzentration.

Im Diagramm zeigt sich das wie folgt:

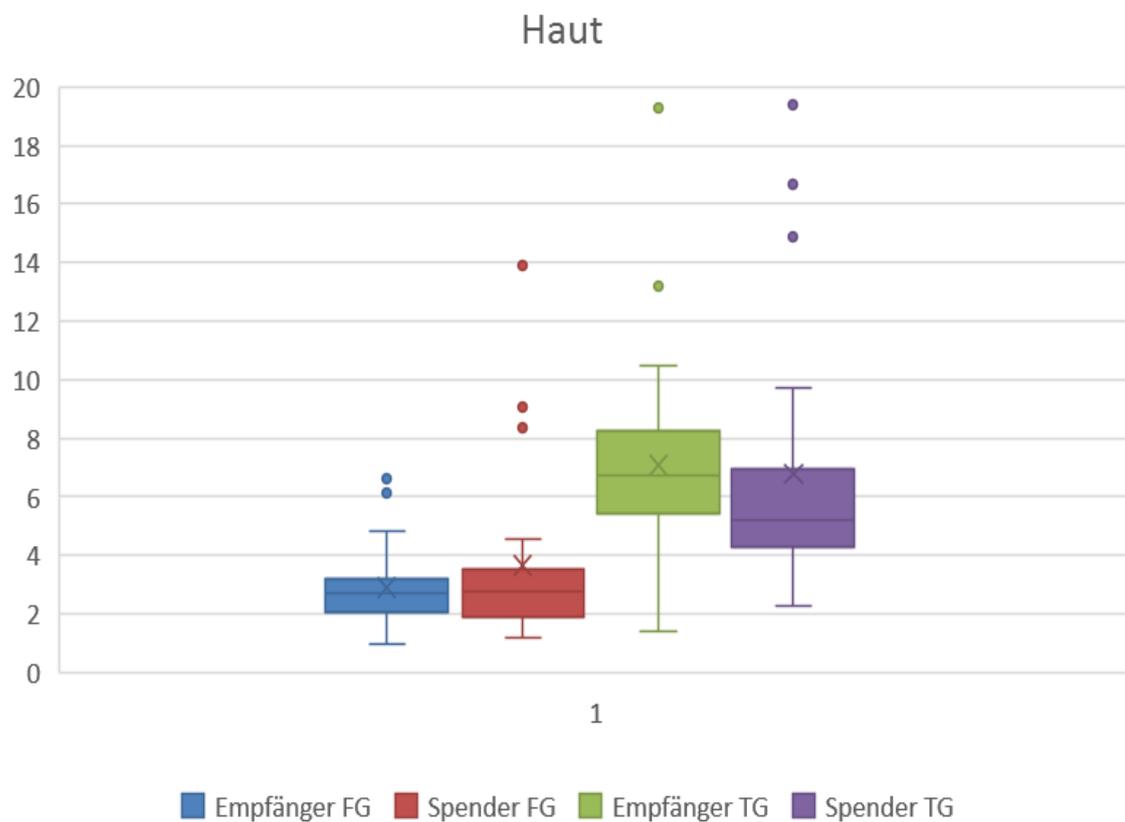


Abbildung 9: Haut-Mittelwerte für Empfänger & Spender im FG & TG

In den untersuchten Hautproben gab es drei stark ausreißende Probennummern, die in nachfolgender Grafik erkennbar sind.

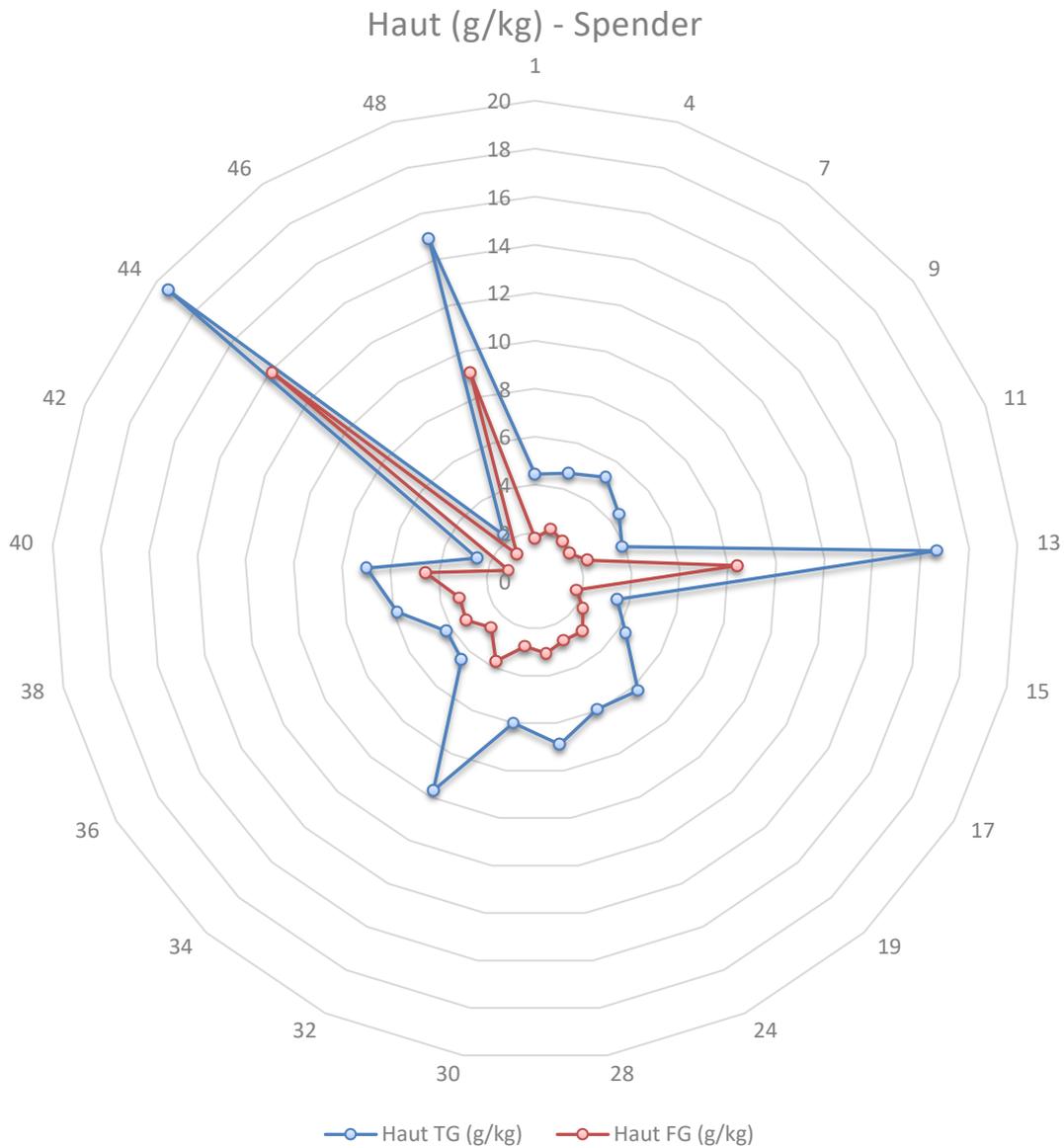


Abbildung 10: Natriumkonzentrationen der Haut (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Spender)

Bei den Empfängern sind auch zwei größere Ausreißer zu vermerken.

Dass sich das Feuchtgewicht dem Trockengewicht annähert, ist beispielsweise an der Probennummer 27 gut sichtbar.

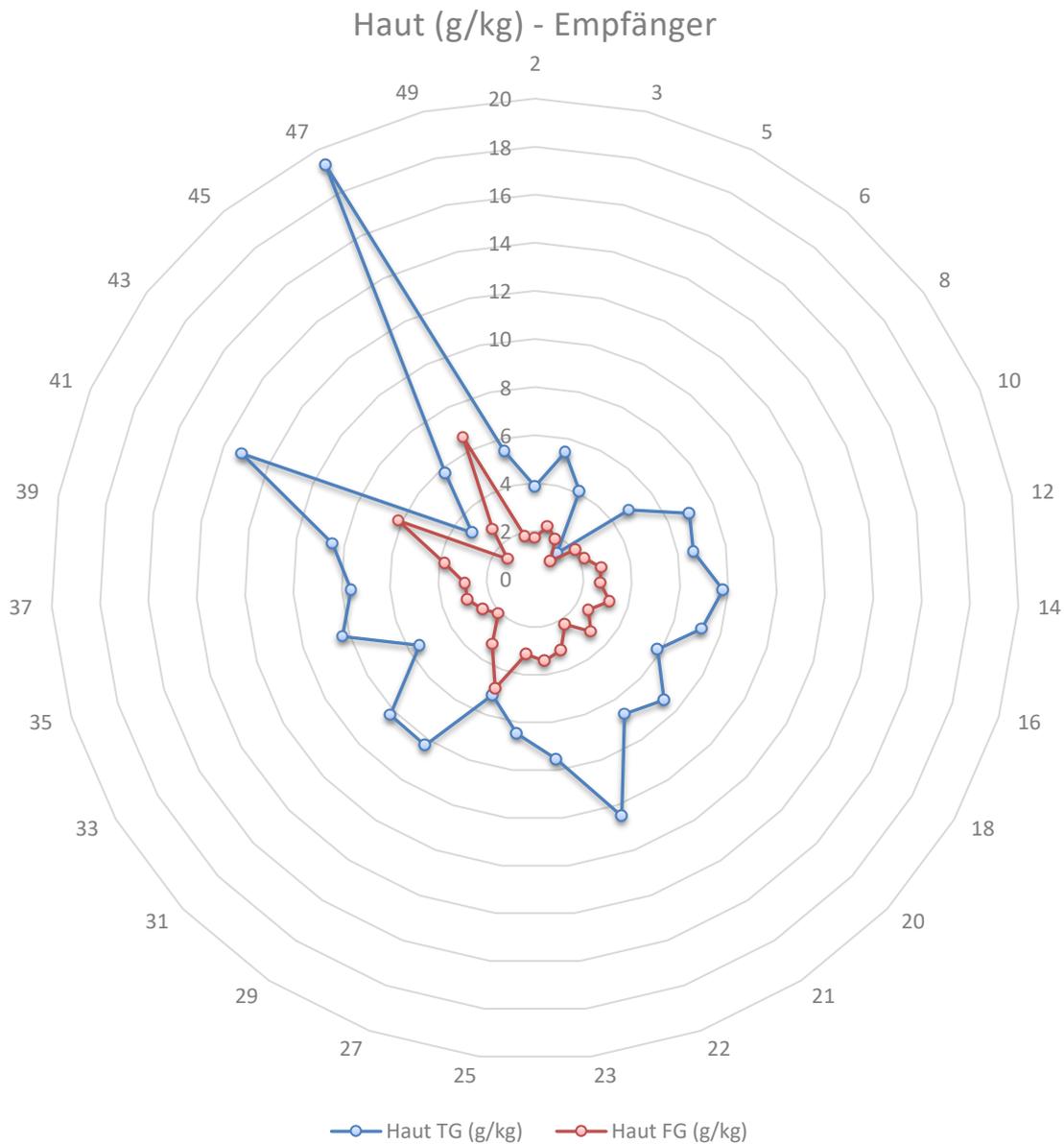


Abbildung 11: Natriumkonzentrationen der Haut (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Empfänger)

Es folgen die Ergebnisse der Analysen aus den Muskelproben, die einen signifikanten Unterschied im Feuchtgewicht zwischen den Lebendnierenspendern und -empfängern aufweisen.

Muskel	Gesamt	Spender	Empfänger	p-Wert
FG (g/kg)	2,03 ± 1,39	2,52 ± 1,79	1,64 ± 0,87	0,03
TG (g/kg)	4,59 ± 2,45	4,48 ± 2,93	4,68 ± 2,22	0,79

Tabelle 4: Natriumkonzentrationen im Muskel ± SD

Im Diagramm zeigt sich das wie folgt:

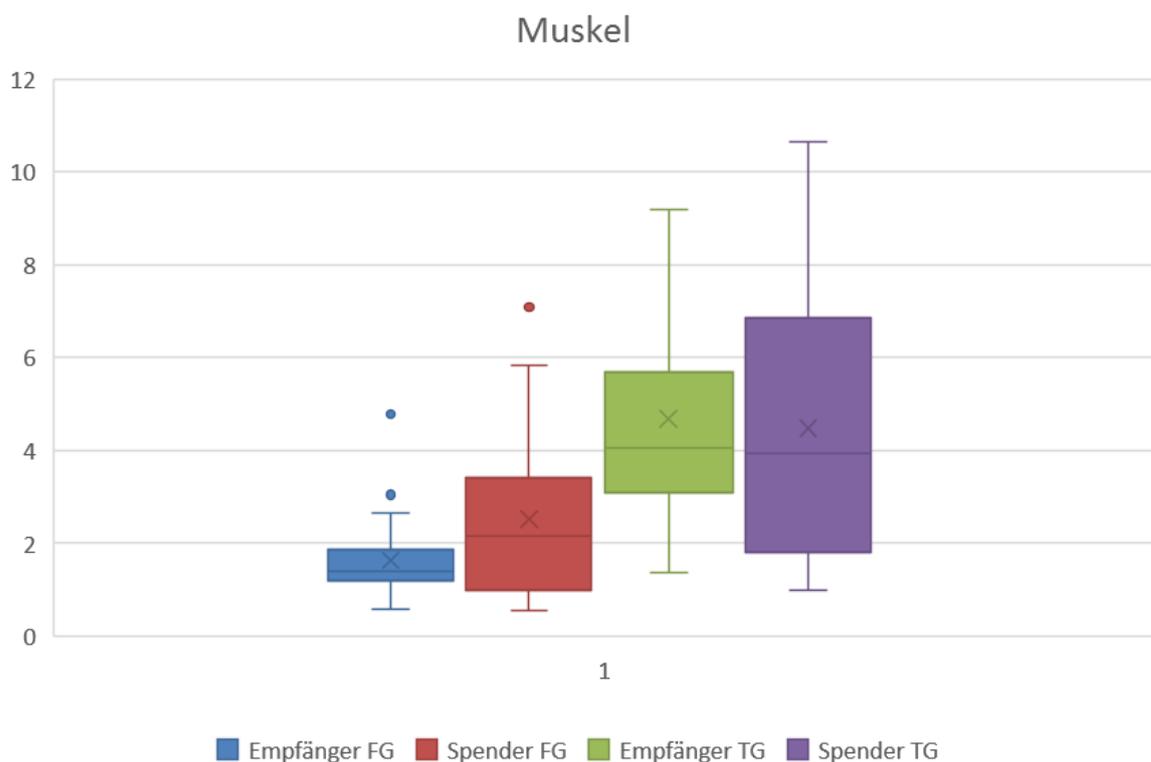


Abbildung 12: Muskel-Mittelwerte für Empfänger & Spender im FG & TG

In den Muskelproben ergeben sich innerhalb der Spendergruppe starke Unterschiede in unseren Messungen.

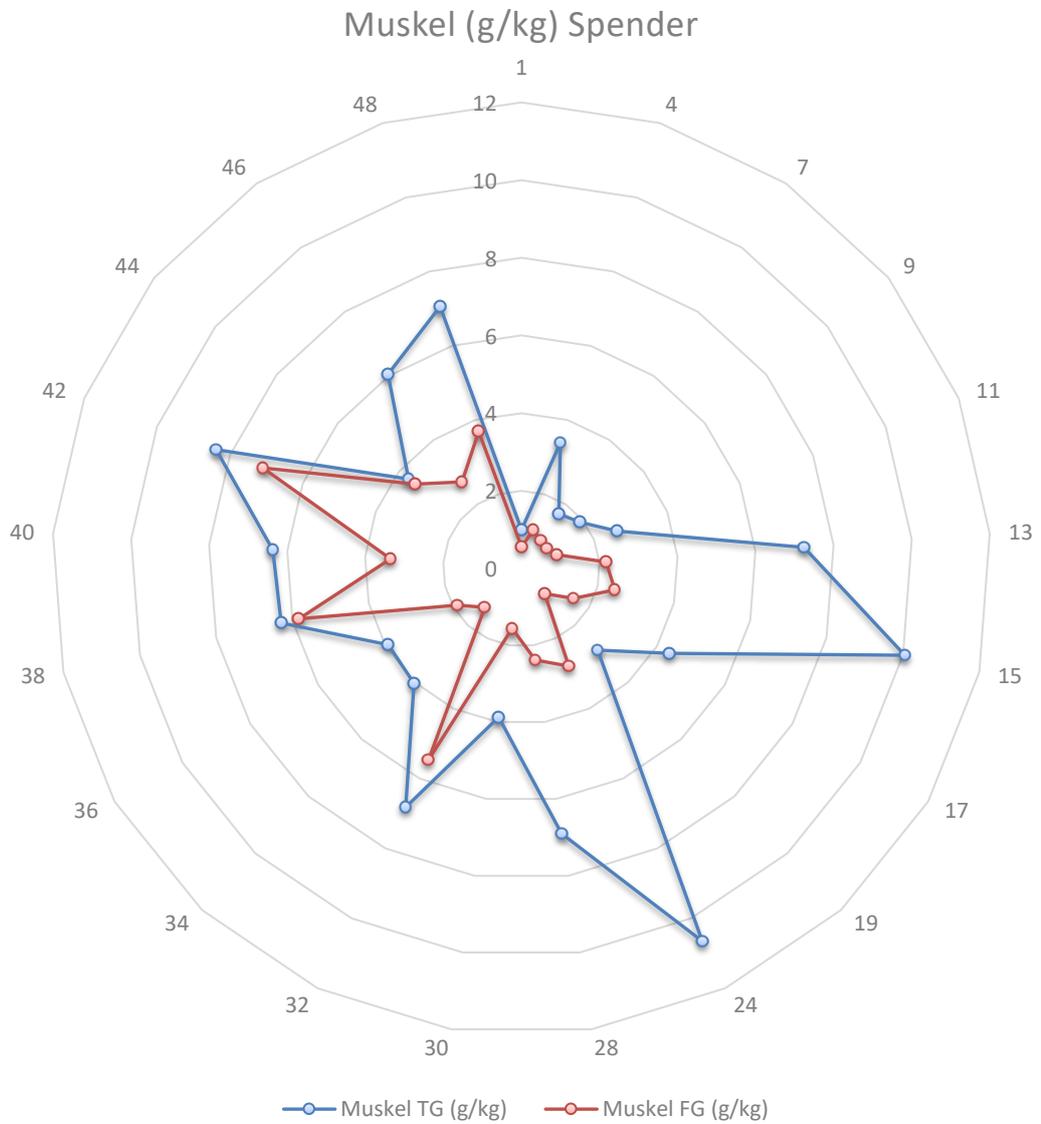


Abbildung 13: Natriumkonzentrationen im Muskel (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Spender)

Innerhalb der Empfänger sind ebenfalls große Unterschiede bezüglich der Natriumkonzentrationen sowohl im Trocken-, als auch im Feuchtgewicht zu vermerken.

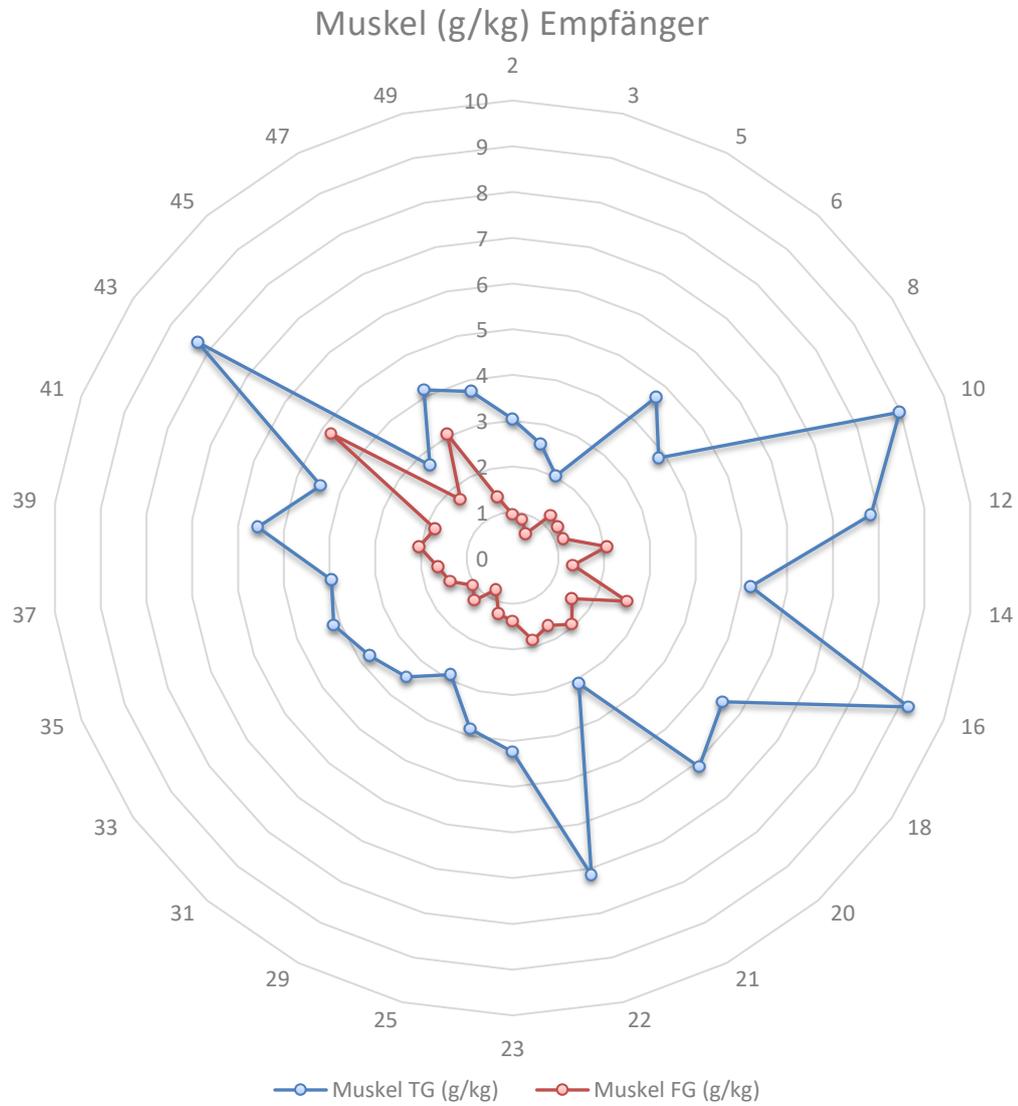


Abbildung 14: Natriumkonzentrationen im Muskel (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Empfänger)

Nachfolgend werden die Natriumanalysen der Arterien dargestellt.

Arterien	Gesamt	Spender	Empfänger	p-Wert
FG (g/kg)	4,52 ± 1,79	4,81 ± 2,87	4,38 ± 2,14	0,55
TG (g/kg)	9,23 ± 5,66	8,69 ± 5,34	9,48 ± 6,58	0,72

Tabelle 5: Natriumkonzentrationen in Arterien ± SD

Im Diagramm zeigt sich das wie folgt:

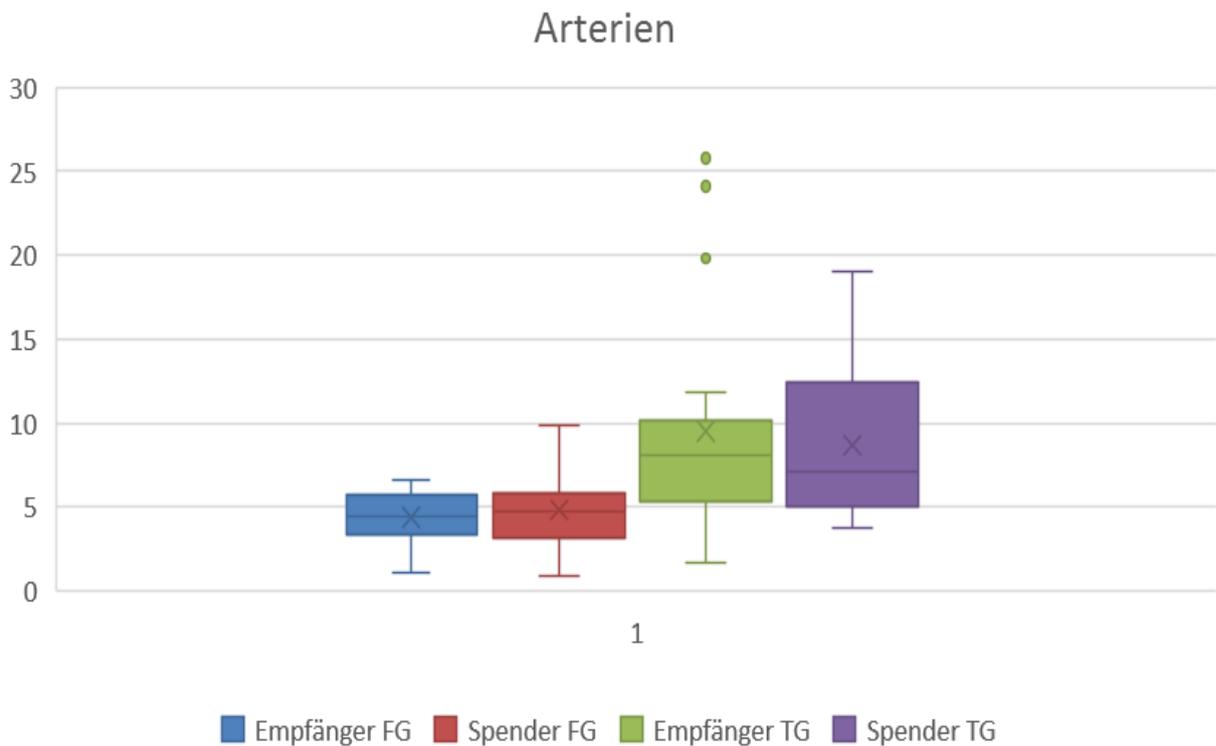


Abbildung 15: Arterien-Mittelwerte für Empfänger und Spender im FG & TG

Innerhalb der Arterienproben liegen uns von allen drei untersuchten Gewebearten die wenigsten Proben vor. Bei zu geringer Probenmenge konnte die Natriumanalyse nicht hinreichend erfolgen.

Ein ausreißender Probenwert sticht besonders markant hervor.

Bei den Probennummern 36, 38, 40 und 42 liegen die Werte für das Trocken- und Feuchtgewicht eng zusammen. Die Natriumkonzentrationen im Trockengewicht sind in allen vier Gewebeproben gering höher.

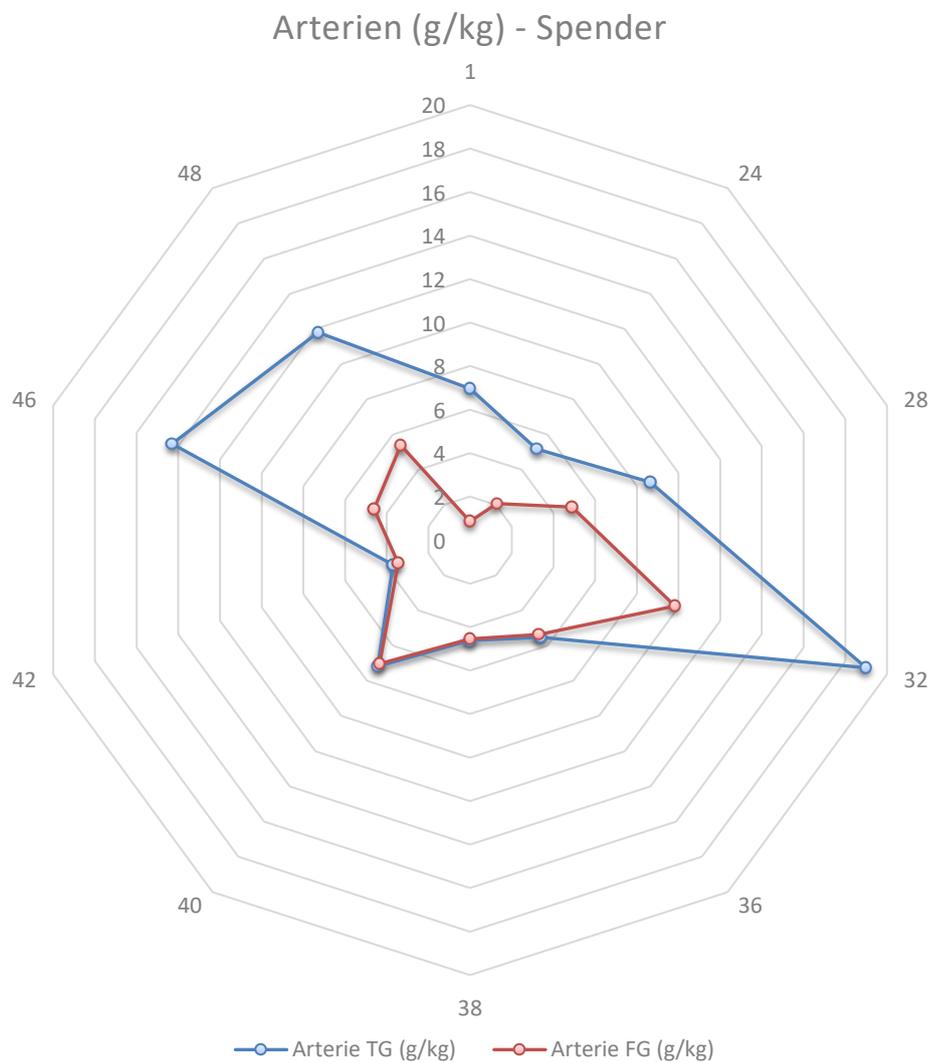


Abbildung 16: Natriumkonzentrationen in Arterien (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Spender)

Im Gegensatz zum Feuchtgewicht sind in der Empfängergruppe drei stark abweichende Proben vorzufinden.

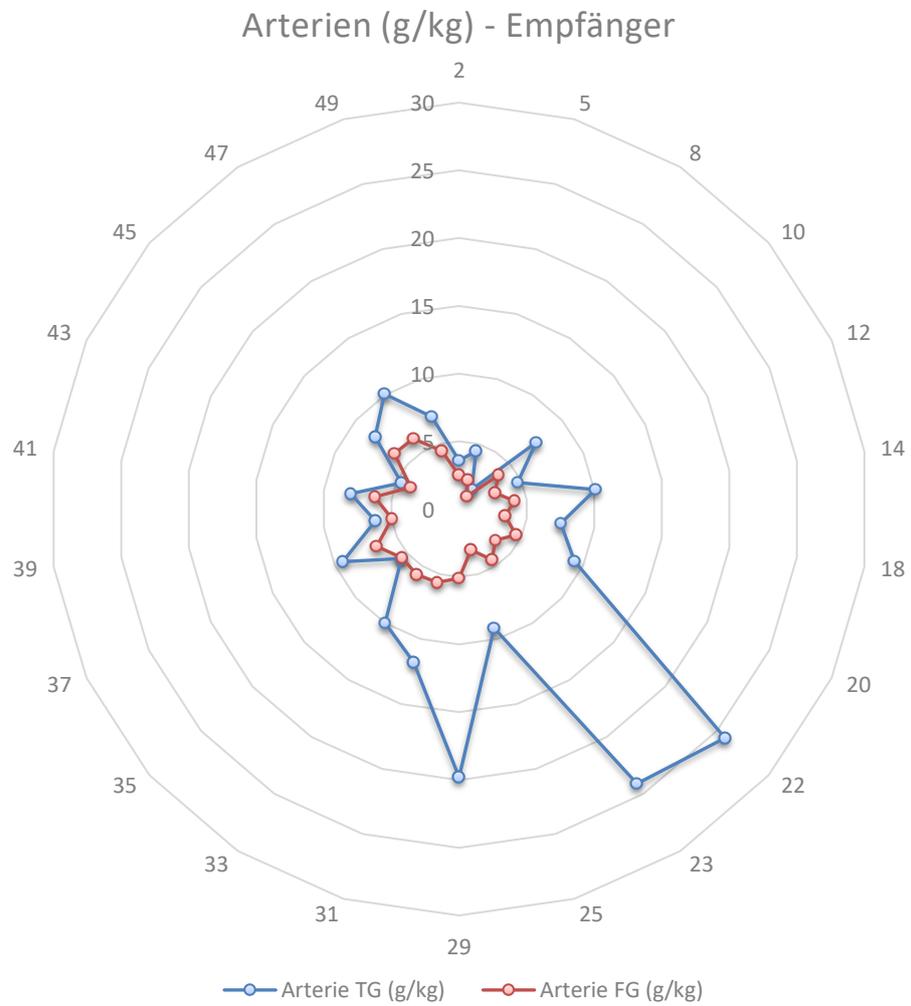


Abbildung 17: Natriumkonzentrationen in Arterien (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Empfänger)

In den nächsten beiden Grafiken werden die Natriumkonzentrationen für jeweils Haut, Muskel und Arterie dargestellt. Alle eingetragenen Werte werden erneut in Empfänger und Spender aufgeteilt und sowohl für das Feucht-, als auch Trockengewicht angegeben.

NA+ FEUCHTGEWICHT (SPENDER)

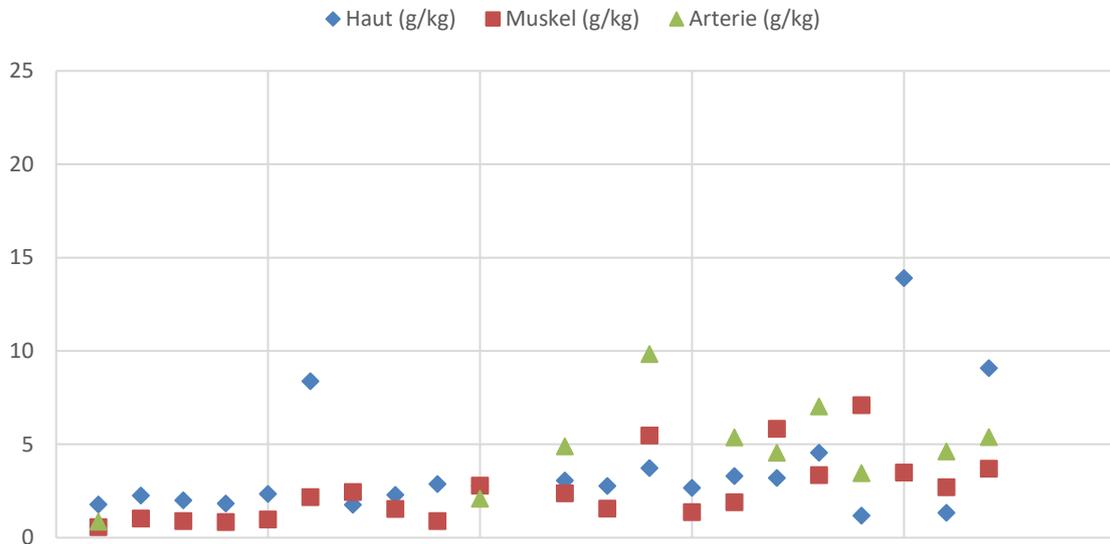


Abbildung 18: Natriumwerte im FG bei Spendern in Haut, Muskel, Arterie

NA+ TROCKENGEWICHT (SPENDER)

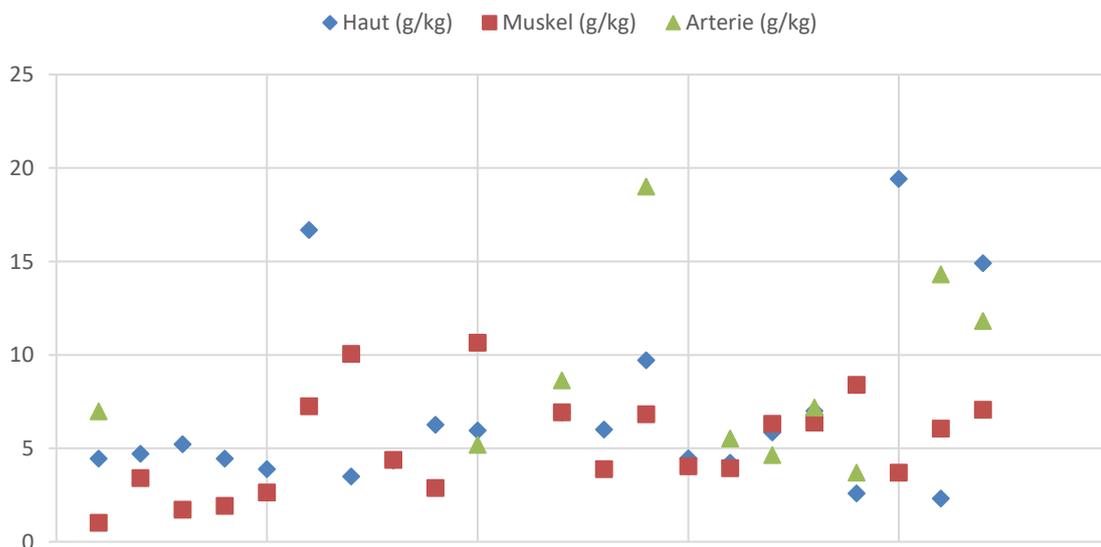


Abbildung 19: Natriumwerte im TG bei Spendern in Haut, Muskel, Arterie

Dahingegen folgt die Streuung bei Empfängern - bei Betrachtung der nachfolgenden Grafiken - einer erkennbaren Struktur. Am wenigsten Natrium liegt im Muskel vor, wohingegen die gemessene Natriumkonzentration in der Arterie am größten ist.

NA+ FEUCHTGEWICHT (EMPFÄNGER)

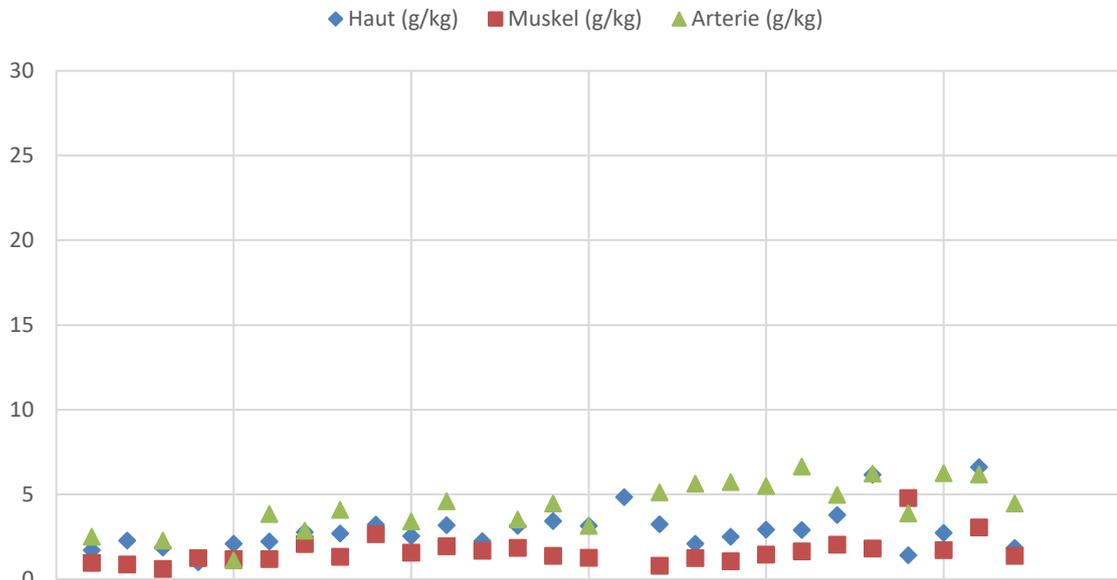


Abbildung 20: Natriumwerte im FG bei Empfängern in Haut, Muskel, Arterie

NA+ TROCKENGEWICHT (EMPFÄNGER)

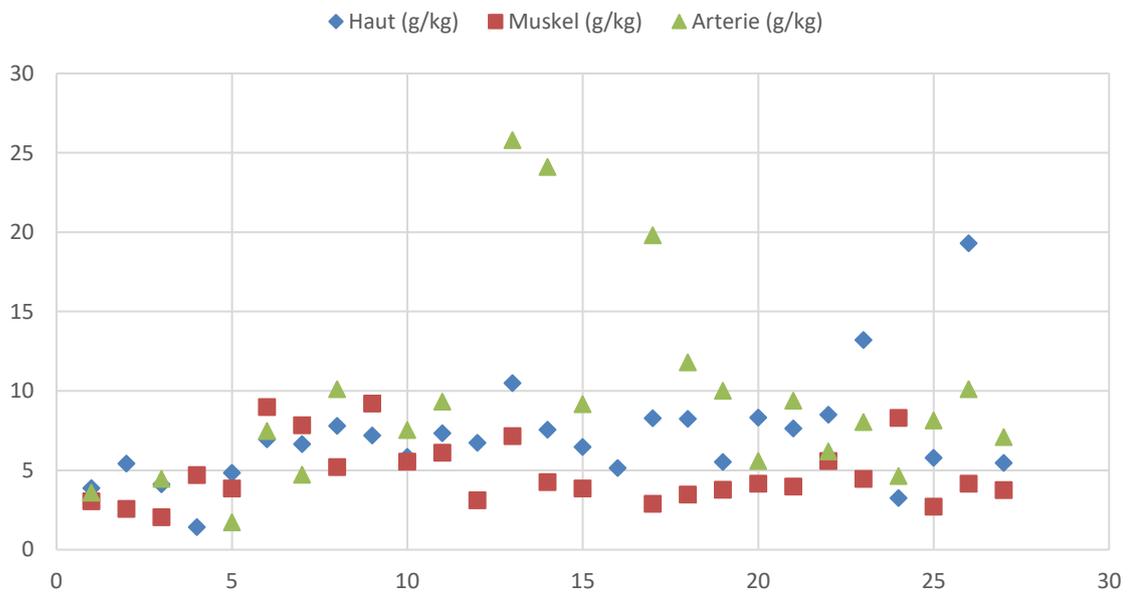


Abbildung 21: Natriumwerte im TG bei Empfängern in Haut, Muskel, Arterie

3.4 Alcian-Färbung der Glykosaminoglykane

Die nachfolgenden Abbildungen verdeutlichen die Intensität der Alcianfärbung in Abhängigkeit von der vorhandenen Natriumkonzentration der jeweiligen Gewebeprobe.

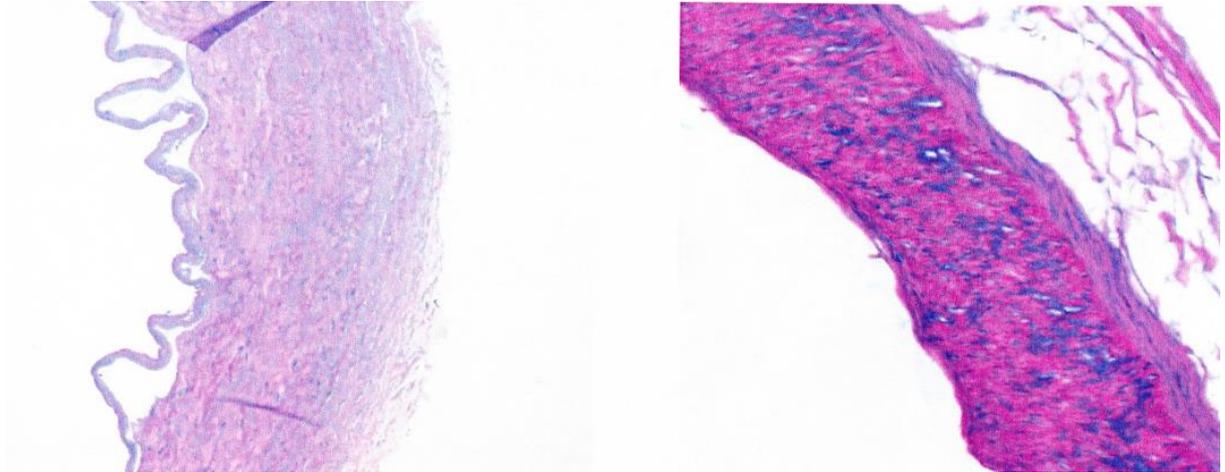


Abbildung 22: Alcianfärbung Arterie (li: Na. 2,1 g/kg FG, re: Na 6,2 g/kg FG)

Nachfolgend ein Beispiel aus der Haut. Hier liegen die gemessenen Natriumwerte näher zusammen als in der oben dargestellten Färbung von Arterien, sodass der Unterschied in der Intensität der Blaufärbung hier wesentlich geringer ausfällt.

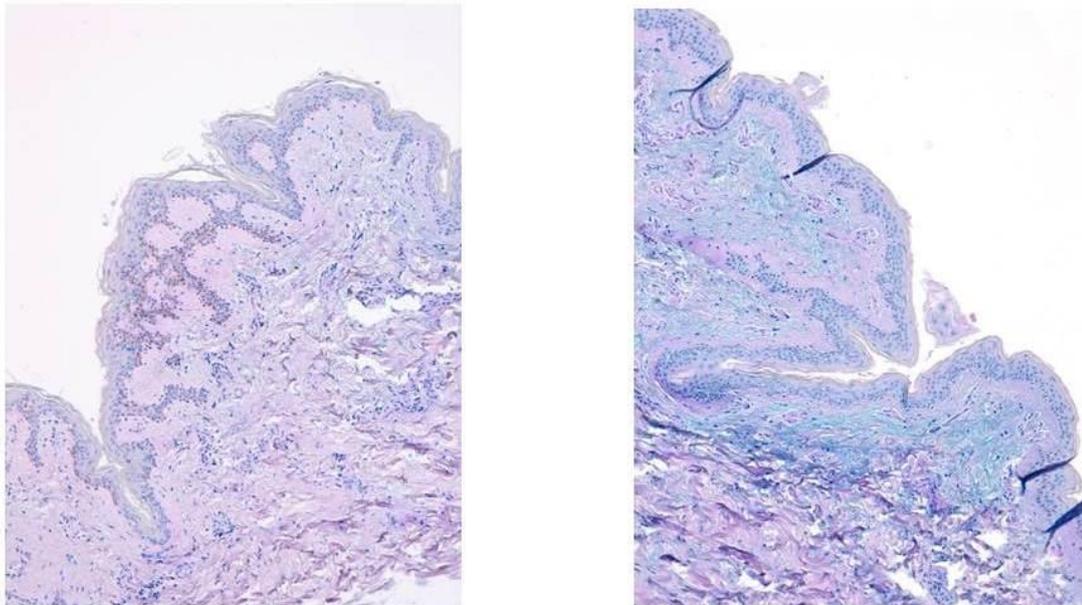


Abbildung 23: Alcianfärbung Haut (li: Na. 2,9 g/kg FG, re: Na 3,2 g/kg FG)

Wird von allen Proben der Natriumgehalt im Gewebe der Intensität der Alcian-Blau-Färbung gegenübergestellt, ergibt sich nachfolgende Grafik.

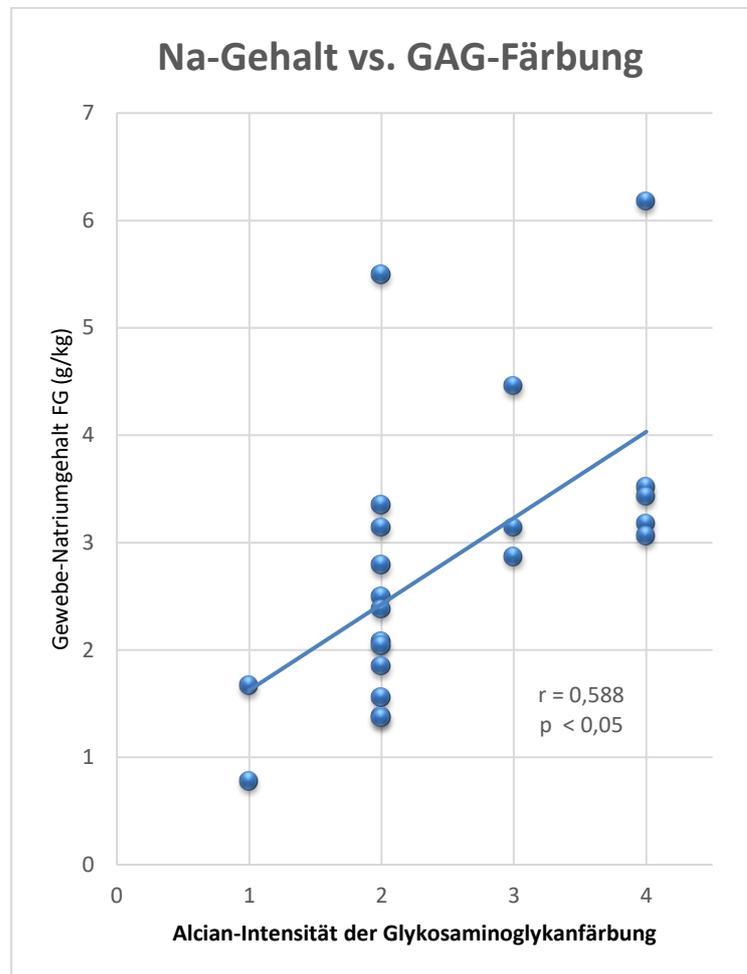


Abbildung 24: Natriumgehalt im FG vs. Glykosaminoglykanfärbung

Dieser kann entnommen werden, dass mit steigendem Natriumgehalt in der jeweiligen Probe die Blaufärbung intensiver wahrgenommen wurde. Je höher der Wert (zwischen Null und Vier), desto intensiver erschien der Untersucherin die Blaufärbung. Dies lässt Rückschlüsse auf die Menge der vorhandenen Glykosaminoglykane in der jeweiligen Probe zu.

3.5 Exploratorische Datenanalyse

In den nachfolgenden Grafiken sind die Natriumkonzentrationen für Haut, Muskel und Arterie in allen Korrelationen dargestellt. Untersucht werden potentielle Zusammenhänge und Unterschiede zwischen den Geweben.

Die x-Achse ist durch die erst genannte Position der jeweiligen Gewebeart benannt, die y-Achse durch die als zweites Genannte (am Beispiel Haut Muskel im Feuchtgewicht: x-Achse für die Haut, y-Achse für den Muskel).

Begonnen wird mit zwei signifikanten Korrelationen im Feuchtgewicht der Spender.

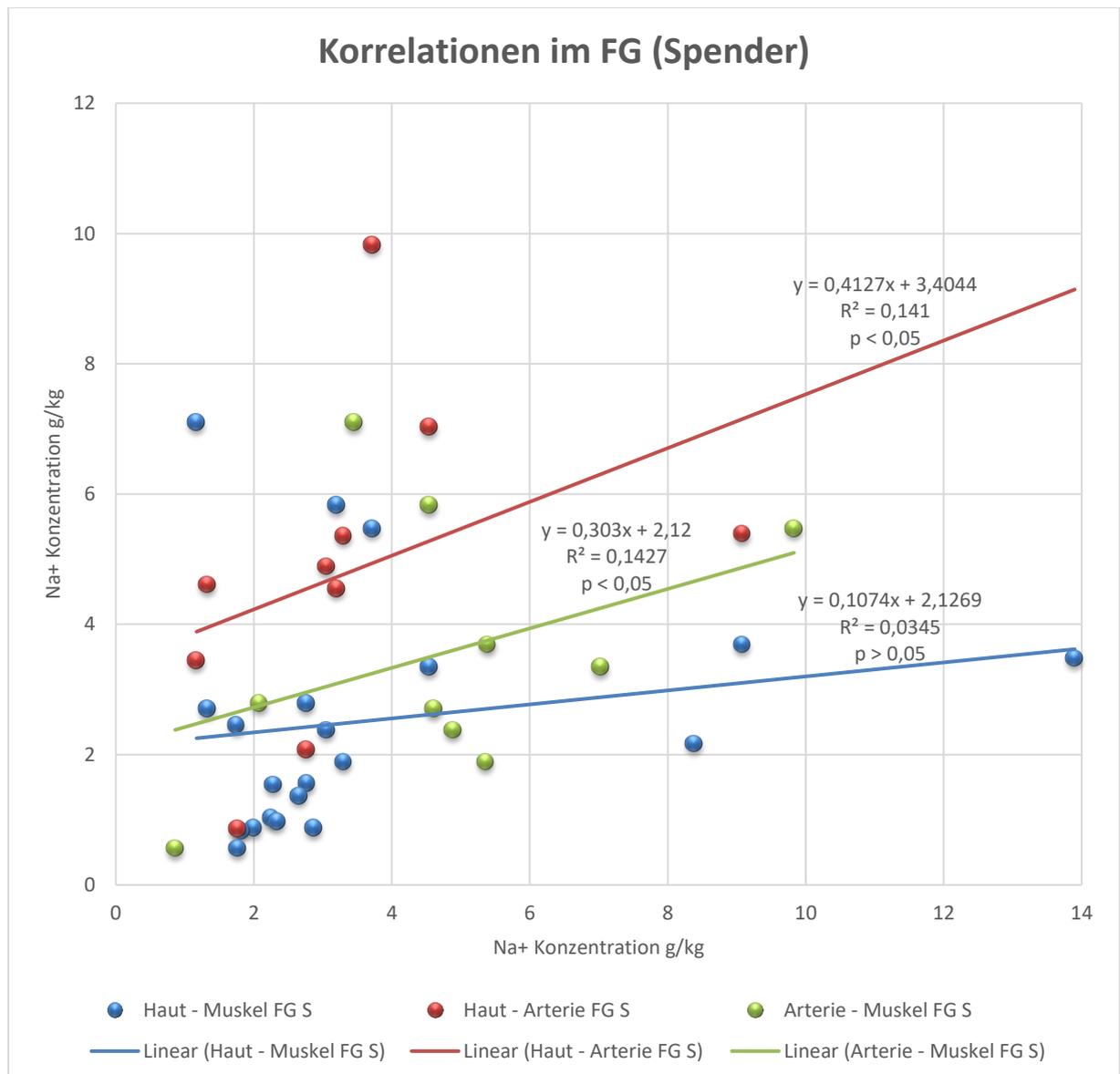


Abbildung 25: Korrelationen im FG (Spender)

Analog dazu hier die Korrelationen im Feuchtgewicht für Lebendnierenempfänger. Die Korrelation für Haut und Arterie erweist sich hier als signifikant.

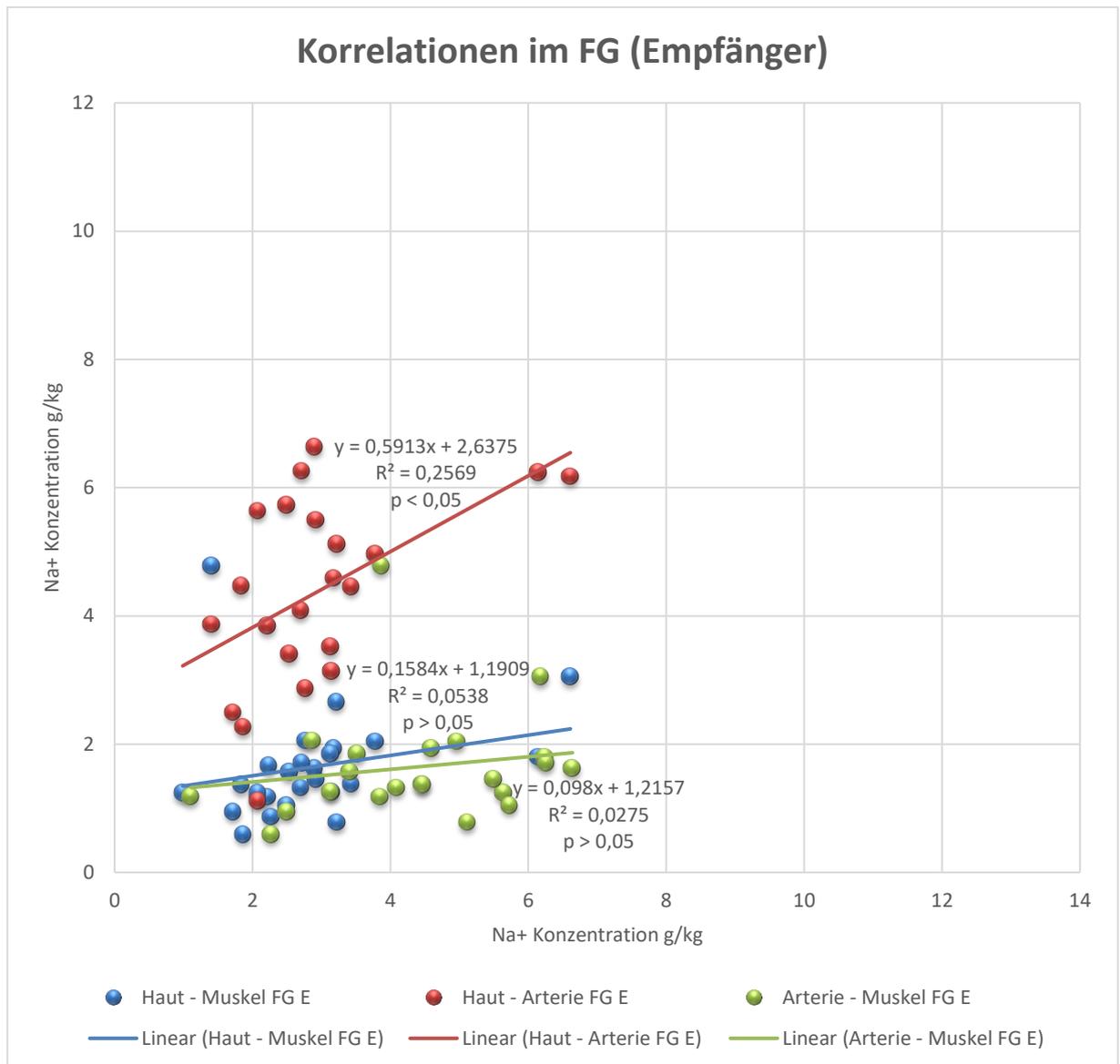


Abbildung 26: Korrelationen im FG (Empfänger)

Für das Trockengewicht werden in den nachfolgenden beiden Grafiken dieselben Korrelationen wie im Feuchtgewicht dargestellt. Im Trockengewicht ergibt sich innerhalb der Spendergruppe eine signifikante Korrelation.

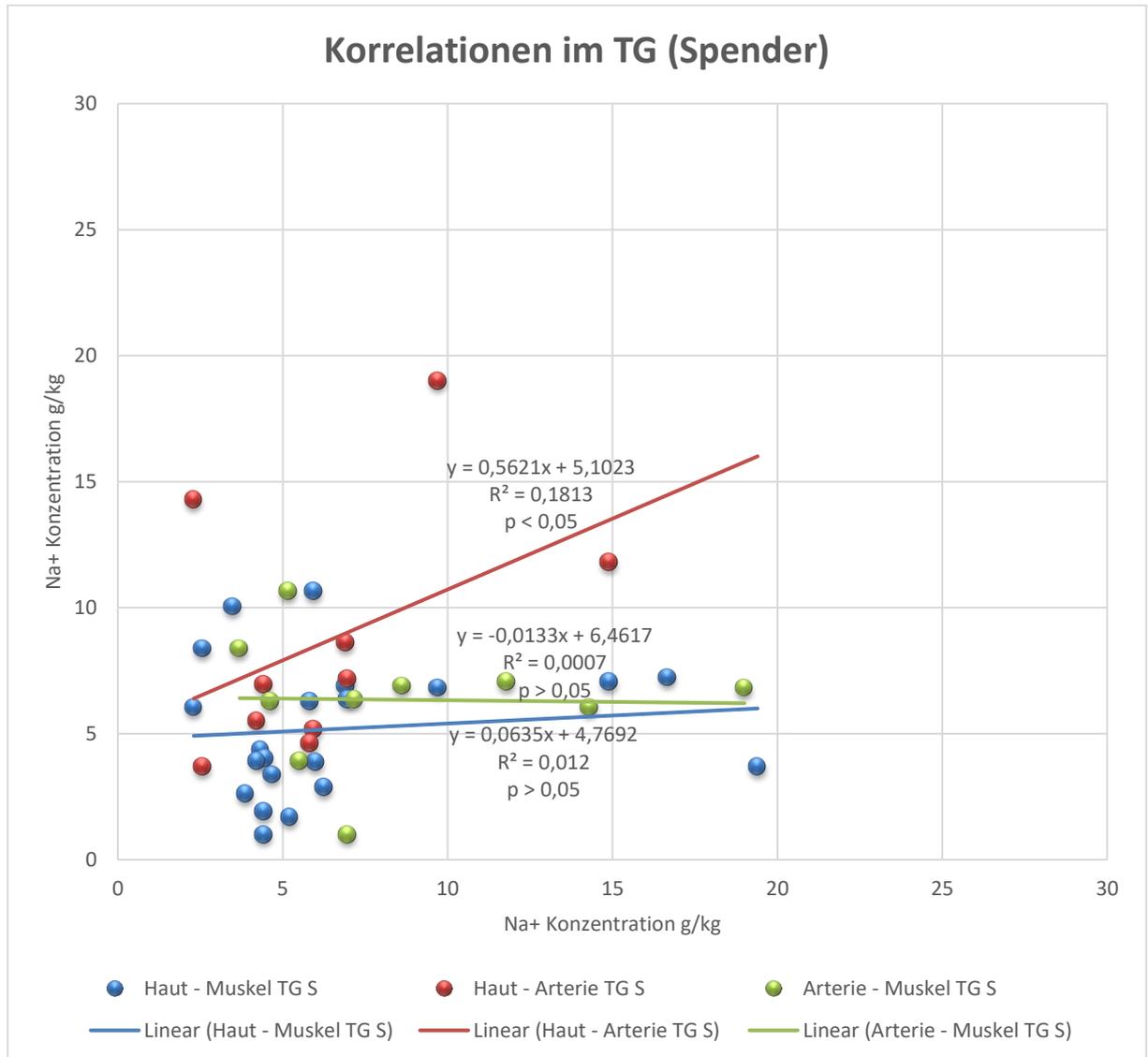


Abbildung 27: Korrelationen im Trockengewicht (Spender)

Abschließend folgen die Korrelationen für unsere Empfänger im Trockengewicht mit ebenfalls einer signifikanten Korrelation.

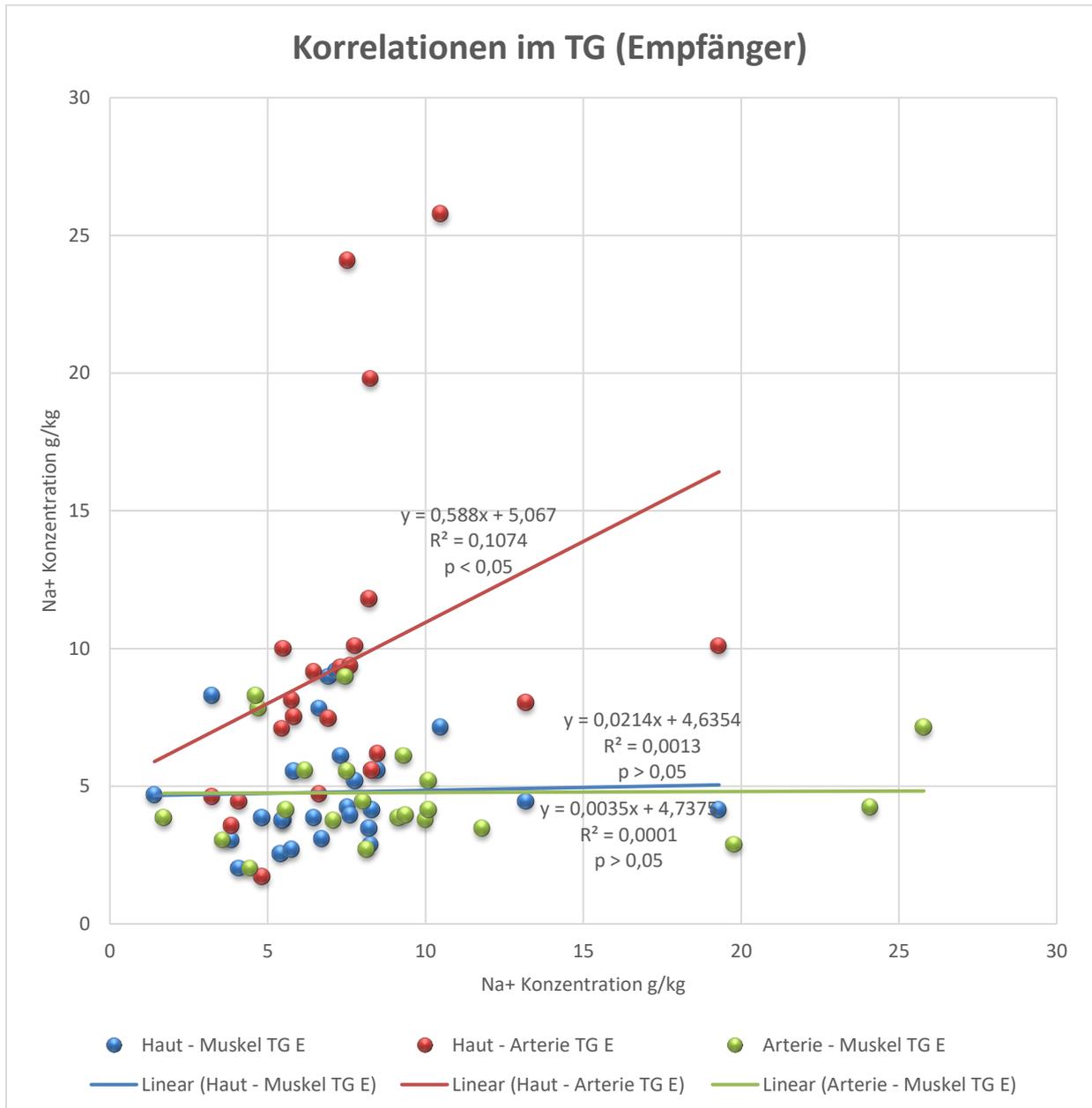


Abbildung 28: Korrelationen im Trockengewicht (Empfänger)

Durchgehend stellen sich die Korrelationen zwischen Haut und Arterie als signifikant dar. Dahingegen sind die Korrelationen zwischen Haut und Muskel nie signifikant.

4 Diskussion

4.1 Beurteilung des untersuchten Patientenkollektivs

Unser Kollektiv besteht zum einen aus nierengesunden Lebendnierenspendern und zum anderen aus nierenkranken Lebendnierenempfängern mit einer CKD 5. Ziel war es festzustellen, ob sich die Natriumkonzentration im Gewebe zwischen Patienten, deren Nierenfunktion intakt ist und Patienten, deren Nierenfunktion deutlich eingeschränkt ist, unterscheidet. Laborchemisch zeigten sich unter den Lebendnierenempfängern erhöhte Kreatininwerte. Das im Körper abgebaute Kreatinin wird über die Nieren ausgeschieden und dient im klinischen Alltag der Überprüfung der Nierenfunktion. Nicht zu vergessen ist jedoch die Abhängigkeit des Kreatinin Wertes von der Muskelmasse des Menschen. Daraus resultieren starke interindividuelle Schwankungen, die in diese Arbeit nicht einbezogen wurden. Dennoch scheint uns die gewählte Unterteilung in Lebendnierenspender und -empfänger anhand der angewandten Kriterien sinnvoll gewesen zu sein. Der Ätiologie der Niereninsuffizienz konnte keine Bedeutung bemessen werden.

Vertieft werden soll die Überlegung, welchen Patienten eine Niere transplantiert wird?

Die Nierentransplantation ist eine Art positive Selektion von niereninsuffizienten Patienten. Ein Großteil ist von der Grunderkrankung so schwer betroffen, dass genau diese Patienten für eine Organtransplantation nicht mehr geeignet sind. Sobald eine Transplantation möglich ist und geplant wird, werden Organempfänger präoperativ so gut wie möglich auf diesen Eingriff vorbereitet. Nach zahlreichen Voruntersuchungen werden nicht selten weitere Nebendiagnosen erkannt und therapiert. Es folgen vielfache medikamentöse Anpassungen. Beispielsweise wird Patienten mit einer renalen Anämie präoperativ Erythropoetin verabreicht. Bekanntlich fördert dieses Hormon die Teilung und Reifung von Erythroblasten. Hinzu kommen im Rahmen des Möglichen Stoffwechselkontrollen, Blutdruckeinstellungen, sowie Elektrolytausgleiche.

Die Laborwerte, die in diese Studie eingeflossen sind, wurden unmittelbar vor dem operativen Eingriff entnommen. Demzufolge sehen wir in den Laborwerten der CKD 5 Patienten oftmals keinen starken Unterschied zu unseren nierengesunden Lebendnierenspendern.

4.2 Vermehrter Natriumkonsum der heutigen Gesellschaft

Auch in der Laienpresse wird immer wieder über eine Zunahme des Salzgehaltes in unseren Lebensmitteln diskutiert. In Restaurants in New York City müssen inzwischen besonders salzhaltige Lebensmittel auf der Speisekarte gekennzeichnet werden. Hinzu kommt, dass industriell hergestellten Nahrungsmitteln Zucker und Salz unmerklich hinzugefügt wird. So findet zusehends eine Gewöhnung an einen höheren Salzgehalt statt. 99% der Weltbevölkerung nehmen laut Medizinern der Harvard University mehr als die von der WHO empfohlene Obergrenze von täglich 2000 Milligramm Natrium zu sich.



Abbildung 29: Salz und Bluthochdruck

Gehen wir dieser Thematik empirisch nach, so haben japanische Wissenschaftler kürzlich eine Studie veröffentlicht, in der hoher Salzverzehr und sein negativer Einfluss auf Patienten mit Diabetes mellitus Typ II thematisiert wird. An dieser Studie nahmen insgesamt 1588 Patienten teil. Laut Horiakwa et al. rufe ein hoher Natriumkonsum (5,9g täglich) im Zeitraum von acht Jahren im Vergleich zur Kontrollgruppe doppelt so viele kardiovaskuläre Ereignisse bei Diabetikern hervor. Die empfohlene maximale Menge

Natriums täglich liege bei 2,36g und entspreche 6g Kochsalz. Darüber hinaus seien Patienten, die hohe Natriummengen konsumieren, hinsichtlich ihres Blutzuckerspiegels schlechter einstellbar (Horiakwa C 2014).

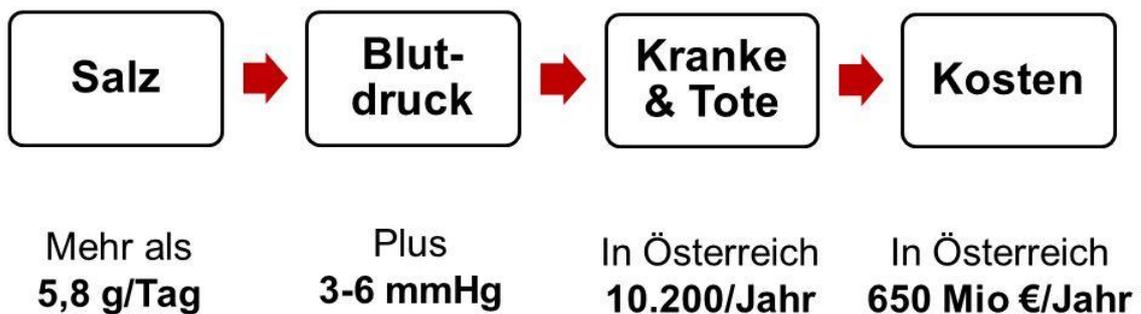
Auch Prof. Dr. Steurer befasste sich mit diesem Thema und skizzierte anschaulich die hohen Kosten für das Gesundheitssystem als Folge des Salzkonsums in Österreich.

Univ.-Prof. Dr. G. Steurer



Salz und Blutdruck Resümee der Studien

Direkter Zusammenhang zwischen Salzaufnahme, Blutdruck & Herz-Kreislauf-Erkrankungen



Am J Clin Nutr 1997; NEJM 2010

Abbildung 30: Salz und Blutdruck, Resümee der Studien

Wissenschaftler vieler bisheriger Studien scheinen sich darüber einig zu sein, dass ein hoher Natriumkonsum einen hohen Blutdruck verursache und kardiovaskuläre Risiken stark erhöhe. Angefangen 1976 mit Kirkendall et al., die zwar Kund gaben, dass eine erhöhte Salzzufuhr über einen Monat hinweg auf Grund ausreichender Kompensationsmöglichkeiten nicht zwangsläufig zu einer Hypertension führe, jedoch folge langfristig bei ausbleibender Ausscheidung erhöhter Natriummengen eine arterielle Hypertension (Kirkendall AM 1976). Über die Reninfreisetzung aus den Nieren und das

Renin-Angiotensin-System kann der Blutdruck kurzfristig mittels Vasokonstriktion und -dilatation gesteuert werden. Ein weiterer Faktor der Regulierung ist die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde, welches die Rückresorption von Natrium und Wasser aus den Sammelrohren der Niere begünstigt und so zu einer Blutdrucksteigerung führt. Über das antidiuretische Hormon (ADH, Vasopressin) wird die Wasserausscheidung über die Nieren vermindert und der Blutdruck angehoben. Dahingegen bewirkt Atriopeptin aus den Herzvorhöfen eine erhöhte Wasserausscheidung und damit eine Blutdrucksenkung.

Um langfristige Folgen sehen zu können, sollten Studien mit einer langen Studiendauer berücksichtigt werden. Die American Heart Association veröffentlichte 2011 eine bedeutende Studie mit dem Titel „Hypertension“ im Tierversuch (Kopp C 2013). In demselben Jahr wurde zu derselben Thematik eine große Studie an Menschen mit insgesamt 3681 Patienten, die durchschnittlich über 7,9 Jahre beobachtet wurden, herausgegeben (Stolarz-Skrzypek K 2011). Es sei ein rein systolischer Anstieg des Blutdruckes zu vermerken. Jablonski et al. bestätigten dies 2013. Durch eine vermehrte diätetische Salzzufuhr erhöhe sich der systolische Blutdruck und werde im Gegenzug durch Salzrestriktion erniedrigt (Jablonski KL 2013). Auch wir konnten bei unseren Lebendnierenempfängern signifikant erhöhte systolische Blutdruckwerte feststellen.

Natriumdepots seien bei hypertensiven Patienten höher als bei normotensiven Patienten (R. N. Titze J 2015). Zudem seien diese Depots auch mit zunehmendem Alter der untersuchten Patienten größer werdend (R. N. Titze J 2015). Wir ordneten eine nebendiagnostisch beschriebene arterielle Hypertension nicht verschiedenen Altersstufen zu, sondern differenzierten zwischen einem Vorhandensein von arteriellem Hypertonus. Wie valide sind jedoch die gemessenen Werte unserer Vergleichsgruppen, wenn Patienten Antihypertensiva einnehmen? Viele sind hinsichtlich ihres Blutdruckes verhältnismäßig gut eingestellt. So ist es diesbezüglich nicht möglich gewesen optimale Versuchs- und Messbedingungen zu schaffen.

Mit steigendem Salzkonsum der Gesellschaft wird es umso wichtiger zu erfahren, wie unser Körper auf hohe diätetisch zugeführte Natriummengen reagiert und welche Mechanismen aktiviert werden um hohe Natriumspiegel zu kompensieren.

4.3 Labor- und Messwerte

Die Konzentration von Natrium in diversen Geweben des menschlichen Körpers zeigt eine hohe Variabilität. Natrium, welches weder ausgeschieden wird, noch im Blutkreislauf als erhöht zu detektieren ist, wird osmotisch inaktiv gespeichert. Besonders sticht die unterschiedliche Höhe des Natriums innerhalb der entnommenen Gewebeproben hervor. Die höchsten Mengen stellten wir in menschlichen Arterien fest. Diese Erkenntnis unterstützen Kopp et al., die postulierten, dass eine diätetisch erhöhte Salzzufuhr zu einer Erhöhung des Blutdruckes führe (Kopp C 2013). Die Erhöhung beziehe sich vor allem auf den systolischen Blutdruck. Unsere erhobenen Messwerte bestätigen ebenfalls einen signifikanten systolischen Blutdruckanstieg bei Lebendnierenempfängern. Jablonski et al. stellten den Bezug zwischen Natrium und erhöhtem Blutdruck, sowie verringerter Elastizität von arteriellen Gefäßen her (Jablonski KL 2013). Andere zeigten hier ebenfalls positive Zusammenhänge (Adroque HJ 2007) (Kopp C 2013) (Kotchen TA 2013) (R. N. Titze J 2015). Obwohl wir zu Beginn der Arbeit gestützt auf die Erkenntnisse von Titze et al. die Vermutung hatten, dass Natrium die stärksten Effekte auf die Haut hat und dort in den größten Mengen vorzufinden ist, ist der Einfluss von Natrium auf arterielle Gefäße nicht zu vernachlässigen (B. K. Titze J 2005). Die höchsten Natriummengen fanden wir in Arterien, die zweithöchsten Mengen in der menschlichen Haut. Osmotisch inaktive Natriumspeicherung und -mobilisation in der Haut sahen Schafflhuber et al. bei Ratten (Schafflhuber M 2007). Johnson et al. diskutierten die Rolle der Haut in der Regulierung des Blutdruckes. Neben den bekannten Regulatoren Gehirn, Blutgefäße und Nieren, solle die Haut in Abhängigkeit der Sonnenexposition für eine Blutdruckkontrolle sowohl bei Menschen, als auch Tieren von Bedeutung sein. Ultraviolette A-Strahlung bewirke eine Vasodilatation und damit einen Blutdruckabfall (Johnson Rs 2016).

Die geringsten Natriumkonzentrationen verzeichneten wir in der Muskulatur. Die Patienten, die in Muskulatur und Haut erhöhte Salzwerte hatten, hatten diese auch in arteriellen Gefäßen.

Mit den aufgeführten Erkenntnissen konnten wir zeigen, dass all die bisherigen Darstellungen zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung auch bei Menschen zutreffen.

In tierexperimentellen Untersuchungen von Titze et al. erfolge bei DOCA Ratten eine deutlich höhere Natriumaufnahme über der erwarteten Wasseraufnahme (B. K. Titze J 2005). Wenn wir von einer rein osmotisch aktiven Natriumspeicherung ausgehen, würden wir adäquat hohe Wassereinlagerungen bei hohen Natriummengen erwarten. Regelmäßige Gewichtskontrollen der untersuchten Patienten und die Auswertung dieser könnten das objektivieren.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigten, dass sich die Osmolalität zwischen unseren Spendern und Empfängern signifikant unterscheidet. Wie bereits beschrieben, wird sie aus drei Parametern (Natriumkonzentration, Blutglucose und Harnstoff) im Serum bestimmt. Interessanterweise konnten wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen hinsichtlich der Glucose und des Natriums im Blut feststellen. Lediglich Harnstoff unterscheidet sich signifikant und ist bei Lebendnierenempfängern deutlich erhöht. Im Umkehrschluss scheint die Osmolalität hauptsächlich durch Harnstoff beeinflusst zu sein.

Im weiteren Verlauf konnten wir keinen signifikanten Unterschied in der Natriumkonzentration zwischen Lebendnierenempfängern und -spendern in Haut und Arterien herausarbeiten. Eine mögliche Erklärung könnte die vorherige Dialyse einiger Lebendnierenempfänger sein. Somit wäre die Ausprägung der Salzeinlagerungen wesentlich geringer als ohne zuvor erfolgte Dialyse.

Die Idee der Affinität von Natrium zu Glykosaminoglykanen findet auch in dieser Arbeit Widerklang. Dass Natrium an Glykosaminoglykane gebunden werden kann, ist nicht neu. Ivanova et al. stellten bereits 1978 eine solche Hypothese zur Natriumspeicherung in der Haut mit Hilfe von Glykosaminoglykanen auf (Ivanova LN 1978). Einige Jahre später erklärten Titze et al., dass osmotisch inaktive Natriumspeicherung in der Haut mit Hilfe der Polymerisation von Glykosaminoglykanen stattfindet (S. M.-T. Titze J 2004). Dies konnten auch Schafflhuber et al. rekonstruieren (Schafflhuber M 2007). Ambrosius et al. führten 2009 die Wichtigkeit des Gehaltes der Glykosaminoglykane bei der Entwicklung vieler

Krankheiten wie Arteriosklerosen, Krebs und Diabetes auf (Ambrosius M 2009). Eine Überproduktion von Glykosaminoglykanen in der Aorta erhöhe in Tierversuchen den Grad der Verkalkung der Aorta (Purnomo E 2013). Wir stellten einen Zusammenhang zwischen der Intensität der Glykosaminoglykanfärbung der Gewebeproben und der dazugehörigen Natriumkonzentration fest. Bei unserer semiquantitativen Methode genügte der optische Eindruck der Intensivität des Blautons um auf die ungefähre Natriumkonzentration schließen zu können. Orientierend war diese Methode hier zielführend und könnte in Zukunft weiter ausgearbeitet werden.

Im Weiteren leiden unsere Patienten häufig unter einer Hypertrophie des Herzens. Elf unserer Lebendnierenempfänger weisen diese Veränderungen am Herzen auf. Hinzu kam bei einigen eine dilatative Kardiomyopathie hinzu. Aus diesem Grund haben wir uns auch mit der QTc - Zeit des Herzens befasst. Denn eine erhöhte QTc - Zeit kann zur Ausbildung einer Torsades-de-pointes-Tachykardie mit symptomatischen Schwindelattacken, zu Synkopen und Kammerflimmern mit letalem Ausgang führen. Bei beiden Untersuchungsgruppen liegt der Mittelwert der QTc - Zeit im Normbereich, unterscheidet sich jedoch zwischen Spendern und Empfängern signifikant. Empfänger haben eine, im Vergleich zu gesunden Spendern, deutlich verlängerte QTc - Zeit.

In der Datenerhebung wäre eine detailliertere Darstellung der kardiologischen Untersuchungen hilfreich gewesen (genauere Lokalisation der Hypertrophie samt Messwerten). Die Menge der Glykosaminoglykane, die im Komplex mit Natrium auftreten, könnte hierfür erklärend sein. Eine mögliche Messung von Glykosaminoglykanmengen im Herzen vergleichend zwischen Patienten mit und ohne Hypertrophie des Herzens würde weitere Aufschlüsse über die Lokalisation der Speicherung geben können.

Eine verlängerte QTc - Zeit ist aber auch häufig als Nebenwirkung von gewissen Medikamenten zu beobachten. Um 1960 fiel dies erstmalig im Gebrauch mit Chinidin, einem Arzneimittel zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen, auf. Des Weiteren verlängern manche Antibiotika, Antihistaminika, Neuroleptika, Psychopharmaka und Opiode die QTc - Zeit und sollten differentialdiagnostisch in Erwägung gezogen werden.

Eine renale Anämie ist bei unseren CKD 5 Patienten häufig zu beobachten. Bekanntlich dient Hämoglobin dem Sauerstofftransport im Blut. Da unsere Empfänger nierenkrank sind, ist auch die hormonelle Funktion der Nieren gestört. Somit kann nicht ausreichend Erythropoetin gebildet werden, womit die Förderung der Reifung von roten Blutkörperchen im Knochenmark gering ist oder vollständig ausbleibt. Unsere Ergebnisse haben gezeigt, dass es sowohl bei Frauen, als auch bei Männern signifikante Unterschiede in den Hb-Werten zwischen Lebendnierenempfängern und -spendern gibt. Unter den Spendern gibt es einen geschlechtstypischen Unterschied zwischen Männern und Frauen. Diese Differenz ist in der Empfängergruppe kleiner. Hier nähern sich die Werte zwischen Männern und Frauen an. Wie bereits erläutert, werden Lebendnierenempfänger mit einer renalen Anämie präoperativ mit Erythropoetin behandelt. Es wird das Erreichen eines Hb-Zielwertes von mindestens 11 mg/dl angestrebt. Für die bevorstehende Operation sollen optimale Bedingungen geschaffen werden, auch hinsichtlich des drohenden intraoperativen Blutverlustes. So stechen die Ergebnisse der Vergleichsgruppen nicht in dem von uns erwarteten Maß heraus.

4.4 Schwitzmechanismus der Ratte

In den Versuchen von Schafflhuber et al. lagerten Ratten überschüssiges Natrium in die Haut ein und mobilisierten dieses bei Bedarf (Schafflhuber M 2007). Letzteres solle auch für dialysierte Patienten gelten (R. N. Titze J 2015).

Doch was unterscheidet die Haut der Ratten von der Haut des Menschen? Können Ratten schwitzen?

Recherchen zu dieser Frage ergaben viele kontroverse Antworten.

Eine davon sieht wie folgt aus:



Ratten schwitzen nicht. Sie regulieren ihre Körpertemperatur, indem sie Blutgefäße im Schwanz zusammenziehen oder entspannen.

Foto: iStockphoto

10. Januar 2008, 12:21

Abbildung 31: Schwitzmechanismus der Ratten

Wenn Ratten tatsächlich nicht schwitzen, könnte dies der Grund dafür sein, dass Ratten überschüssiges Natrium vor allem in die Haut einlagern. Menschen jedoch vielmehr in andere Teile des Körpers - beispielsweise gebunden an Glykosaminoglykane.

Ist es einflussgebend, von welcher Körperregion die Hautproben entnommen wurden? Könnte es sein, dass die Natriumkonzentration in der Haut entnommen vom Rücken anders ist als von anderen Hautpartien, wie beispielsweise Kopfhaut?

An der tierärztlichen Fakultät in Hannover wurden 2003 im Rahmen der Dissertationsarbeit von Fr. Riedel die dermale Penetration und Permeation mit drei verschiedenen Testsubstanzen unterschiedlicher Pharmakokinetik untersucht. Hierfür wurden Testsubstanzen verwendet, die hinsichtlich ihrer Eindringgeschwindigkeit und Halbwertszeit verschieden sind. Bei den Testsubstanzen handelte es sich um Benzoesäure (eine aromatische Carbonsäure), Hydrocortison und Testosteron. Durchgeführt wurden die Versuche an Ratten, Hunden, Schweinen, Rindern und Pferden. Haut wurde lumbal, thorakal, periumbilikal und beim Rind zusätzlich vom Euter entnommen. Für Benzoesäure konnte nach Angaben der Autorin keine allgemein gültige Aussage über die Reihenfolge

der Permeabilität der untersuchten Tierarten gemacht werden. Hydrocortison und Testosteron seien bei manchen Tierarten im Untersuchungszeitraum nicht permeabel gewesen (Pferd, Schwein und Rind). Die Rückenhaut der Ratte sei im Vergleich zu den Rückenhäuten der anderen Tiere für Benzoesäure, Hydrocortison und Testosteron am permeabelsten. Für alle drei Testsubstanzen habe es bei der Ratte keine Unterschiede hinsichtlich der Permeabilität zwischen Rücken- und Bauchhaut gegeben. Insgesamt sei bei allen Tierarten die Permeabilität für Benzoesäure am größten gewesen. Des Weiteren stellt die Autorin zusammenfassend fest, dass die transdermale Permeation von vielen Faktoren beeinflusst sei (beispielsweise durch den Fettgehalt der Haut oder die Sonnenlichtexposition) und demzufolge keinem starren Schema unterliege (Riedel 2003). Hilfreich wäre zu eruieren, welcher Tierart der Mensch hinsichtlich des dermalen Verhaltens am ähnlichsten ist. Detailliertere Unterschiede zum Stoffwechsel und der Anatomie zwischen Menschen und Ratten müssten auch in Versuchen genauer herausgearbeitet werden. Nur in vergleichbaren Situationen können mit einer höheren Wahrscheinlichkeit animale Evidenzen auf Menschen übertragen werden.

4.5 Ausblick und Empfehlungen

Eine sehr frühe Studie aus dem Jahr 1954, die sich bereits mit den anfänglichen Ideen der osmotisch inaktiven Natriumspeicherung beschäftigte, stellte die Hypothese auf, dass der menschliche Knochen als Reservoir für Natrium und Kalium diene (Bergstrom WH 1954). Mobasheri befasste sich mit der Korrelation zwischen Natrium, Glykosaminoglykanen und der Dichte von Natrium-Kalium-Pumpen in der extrazellulären Matrix des Gelenkknorpels von Rindern (Mobasheri 1998). Chondrozyten seien von einer extrazellulären Matrix umgeben, die Kollagen und Proteoglykane samt Glykosaminoglykanen enthalten. Die Konzentration der Glykosaminoglykane erhöhe sich, wenn der Natriumgehalt steige. Des Weiteren würden Chondrozyten mit Hilfe der Regulation von Mengen an Na^+/K^+ Pumpen sensitiv auf ihre ionische Umgebung reagieren (Mobasheri 1998). Ein Jahr später ging er in einer weiteren Studie verstärkt auf die polyanionische Matrix der Proteoglykane und die

Sensitivität der Na⁺/K⁺ Pumpe auf ionische, sowie osmotische Veränderungen in der extrazellulären Matrix ein (Mobasher 1999).

2007 entnahmen Takeno et al. Zellen aus dem Nucleus pulposus von Rindern und inkubierten sie vor dem Hintergrund unterschiedlicher Osmolalitäten. Daraufhin wurde unter anderem die Glykosaminoglykan-Akkumulation gemessen. Die Osmolalität sei ein starker Regulator für die Glykosaminoglykan-Akkumulation gewesen (Takeno K 2007).

Weitere Studien, die sich explizit mit der Korrelation zwischen dem Natriumgehalt in diversen Flüssigkeiten, Geweben, Knochen und Knorpel im Menschen beschäftigen, könnten an bisherige Ergebnisse anknüpfen. Von Interesse ist, ob neben den bisher untersuchten Geweben - Haut, Muskulatur und Arterien - auch menschliche Knochen einen großen Anteil an osmotisch inaktiver Natriumspeicherung und das womöglich mit Hilfe von Glykosaminoglykanen übernehmen.

Die Umsetzung solcher Experimente an Menschen könnte jedoch Schwierigkeiten bereiten, da die Entnahme von Knochenmaterial ein invasiver Eingriff für den Patienten ist. Eine Umgehung dieses Problems könnten posthum durchgeführte Untersuchungen sein. Eine andere Möglichkeit wäre die Gewinnung von Proben von niereninsuffizienten Patienten im Rahmen von orthopädischen oder unfallchirurgischen Eingriffen. Vor allem unfallchirurgische Operationen können selten vermieden werden, da beispielsweise eine dauerhaft immobilisierende oder lebensbedrohliche Fraktur trotz Niereninsuffizienz versorgt werden muss. Anders sieht dies bei elektiv orthopädischen Eingriffen aus. Da werden Operationen bei gravierenden Nebendiagnosen als ultima ratio und nach genauem Erwägen von Nutzen und Risiko durchgeführt.

Ebenfalls wäre von Interesse zu klären, wie der Zusammenhang des Vorhandenseins von Glykosaminoglykanen mit der Hypertrophie des Herzens aussehen könnte. Es ist durchaus vorstellbar, dass auch hier die Menge der vorhandenen Glykosaminoglykane mit dem Grad der Hypertrophie des Herzens korreliert. Jedoch könnte die Hypertrophie auch durch die Akkumulation anderer Substanzen bedingt sein. Hinsichtlich der Hyperlipidämie beschrieben Kaplan und Aviram den pathophysiologischen Mechanismus der Ablagerung in Fetten (Kaplan M 2001). Oxidierte LDL werden von den Proteoglykanen der extrazellulären Matrix gebunden, sodass Makrophagen aktiviert werden.

Erneut scheinen Proteoglykane unter einem anderen Gesichtspunkt als Natrium in der extrazellulären Matrix zu agieren. Glykosaminoglykane können auch mit Chemokinen interagieren und seien so an der Signalgebung im Körper beteiligt (Mortier A 2012).

Somit ist das Glykosaminoglykan Gerüst auch an mehreren anderen Pathologien und Mechanismen beteiligt.

In Zusammenschau der bisherigen Studienlage drängt sich zusehends die Frage auf, ob die Expression der Glykosaminoglykane samt der Natriumkonzentration individuell konstant ist oder einer aktiven Regulation unterliegt. In Anbetracht der bisherigen Feststellungen und der dargestellten Überlegungen ist es durchaus wahrscheinlich, dass Manipulationen an der Expression von Glykosaminoglykanen positive Effekte bei chronisch nierenkranken Patienten haben könnten, wie bereits Purnomo et al. schlussfolgerten (Purnomo E 2013). Mobasherhi wies auf potentielle andere Natrium - Transportsysteme hin (Mobasherhi 1999).

Einen potentiellen therapeutischen Angriffspunkt stellt die Glykosaminoglykansynthese dar. XYLT-1 initiiert die Glykosaminoglykansynthese (Cuellar K 2007) (Faust I 2013). Mittels PCR kann die XYLT-1 Expression bestimmt werden. Die Ergebnisse aus der Bestimmung dieses Enzyms müssten mit der festgestellten Menge an Glykosaminoglykanen korrelieren. Die Expression des XYLT-1 Enzyms könnte dann wiederum in Korrelation mit dem gemessenen Natrium gesetzt werden.

So könnte erweiternd eine Expressionsanalyse mit Inkubation des XYLT-1 Enzyms mit Natrium und einem geeigneten Wachstumsfaktor, wie beispielsweise dem TGF- β 1, durchgeführt werden (Faust I 2013). In der Studie von Faust et al. konnte mit Hilfe des Faktors TGF- β 1 bei menschlichen Fibroblasten eine relative Erhöhung der Expression der XYLT-1 mRNA beobachtet werden (Faust I 2013) .

Grundsätzlich kommen immer wieder ethische Konflikte hinsichtlich der Untersuchungsmethoden auf. Dass vorherige Therapien der Studienteilnehmer die Studienergebnisse beeinflussen, wurde bereits diskutiert. Zu Beginn dieser Arbeit wurde erläutert, dass unsere Patienten keine negativen Auswirkungen durch die Teilnahme an

dieser Studie davongetragen haben. Somit müsste eine Methode gefunden werden durchgeführte Behandlungen besser in die Ergebnisse einfließen zu lassen.

Wie invasiv dürfen Messmethoden überhaupt sein? Während der ohnehin notwendigen Transplantation können, wie bei uns geschehen, Proben von Haut, Muskulatur und Gefäßen entnommen werden. Eine Resektion von Knochenmaterial ist bei dieser Operation nicht notwendig und würde unseren Patienten maßgeblich schaden.

Mit Hilfe weniger invasiver Untersuchungsmethoden könnte diese Problematik umgangen werden.

Beispielsweise suchten Kopp et al. explizit nach einer nichtinvasiven Methode zur Natriummessung in Geweben und fanden diese in der Magnetresonanztomographie mithilfe des Isotops ^{23}Na (Kopp C 2013). Eine vorstellbar ideale Lösung für weitere Untersuchungen an Herz oder Knochen wäre die Messung des Natriums mittels MRT. Statt der gewöhnlichen Magnetresonanz mit Wasserstoffkernen können inzwischen auch Natriumkerne verwendet werden.

So bewährten sich bereits neue MRT Verfahren beispielsweise in der Apoplexie Forschung.

In der Huntington Forschung wird ein erhöhter Natriumgehalt im Gehirn vermutet.

Hier möchten Forscher einen MRT-Scanner einsetzen, um den Natriumgehalt im Gehirn bei lebenden Patienten zu bestimmen. Der MRT-Scanner könne auf die Frequenz von Natriumatomen eingestellt werden (Cole 2012). Mit Hilfe des MRTs stellten Hammon et al. 2015 eine Natriumakkumulation im Muskel und in der Haut bei Patienten mit akutem Herzversagen fest. Diuretische Maßnahmen könnten Natrium mobilisieren (Hammon M 2015). Auch Titze et al. arbeiteten mit dem Natrium MRT und hätten größere Natriumdepots bei Männern als bei Frauen detektiert (R. N. Titze J 2015).

Anfangs wurde ausführlich die aktuelle Lehrmeinung zum Natriumstoffwechsel dargestellt. Die Hinweise auf eine osmotisch inaktive Natriumspeicherung verdichten sich seit den frühen Anfängen um 1950 zusehends. Durch den immer schneller werdenden wissenschaftlichen Fortschritt - auch im Bereich der Natriumforschung - könnte in naher Zukunft die bisherige Lehrmeinung durch den Zusatz der möglichen osmotisch inaktiven Natriumspeicherung ergänzt werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden retrospektiv die Labordaten von elf niereninsuffizienten Patienten analysiert. Es zeigten sich über Jahre hinweg und das unabhängig von der GFR der Patienten konstante Natriumwerte. Kalium dahingegen schwankte bei niedrigen glomerulären Filtrationsraten, Harnstoff und Phosphat in allen Bereichen der GFR.

Mit Hilfe anamnestisch herausgearbeiteter Daten, laborchemischer Werte und Natriummessungen aus menschlichen Gewebeproben von 49 Patienten konnten wir bisherige Erkenntnisse zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung bei Menschen untermauern. Unsere Patienten wurden im Zeitraum von Juni 2012 bis November 2013 im Universitätsklinikum LMU am Campus Großhadern operiert.

Unsere Lebendnierenempfänger - CKD 5 Patienten - hatten einen signifikant höheren systolischen Blutdruck. In dieser Patientengruppe waren Kreatinin, Harnstoff, Kalium, Phosphat, Serumosmolalität, QTc Zeit und iPTH signifikant erhöht, Hämoglobin dahingegen war signifikant erniedrigt. Zwischen unseren zwei Patientengruppen gab es jedoch keinen signifikanten Unterschied bezüglich Natrium, Glucose, Calcium und Bikarbonat.

Wir führten Natriummessungen in drei Kompartimenten - Haut, Muskulatur und arteriellen Gefäßen - durch und konnten innerhalb unseres untersuchten Kollektivs wider Erwarten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Natriumkonzentration in den jeweiligen Kompartimenten, insbesondere der Haut, zeigen. Lediglich im Feuchtgewicht der Muskulatur war die Differenz des gemessenen Natriums zwischen Empfängern und Spendern signifikant ($p=0,03$).

Der Natriumgehalt war im Feuchtgewicht bei Lebendnierenempfängern in arteriellen Gefäßen mit $4,38 \pm 2,14$ g/kg am größten. Im Vergleich dazu konnten wir im Feuchtgewicht bei unseren nierenkranken Empfängern in der Haut $2,91 \pm 1,25$ g/kg und in der Muskulatur $1,64 \pm 0,87$ g/kg Natrium messen.

In allen Messungen korrelierten die Werte der Haut mit denen von arteriellen Gefäßen signifikant ($p < 0,05$). Dahingegen erwiesen sich sämtliche Korrelationen zwischen Haut und Muskel als nicht signifikant.

Darüber hinaus konnten wir die Wichtigkeit der Glykosaminoglykane in der osmotisch inaktiven Natriumspeicherung nachvollziehen. Die Natriumkonzentration im Gewebe hängt - wie es mit Hilfe der Alcianfärbung dargestellt wurde - signifikant mit der Menge der Glykosaminoglykane zusammen ($r = 0,588$, $p < 0,05$).

Durch weitere Angaben zur Lokalisation osmotisch inaktiv gespeicherten Natriums und Klärung der genaueren Funktionsmechanismen im Natriumstoffwechsel könnten Therapiemöglichkeiten durch neue medikamentöse Angriffspunkte verbessert werden.

6 Literaturverzeichnis

- Adroque HJ, Madias NE. „Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension.“ *N Engl J Med* 356, 2007: 1966-1978.
- Ambrosius M, Kleesiek K, Götting C. „Quantitative determination and comparison of the glycosaminoglycan Delta-disaccharide composition in 22 different human cell lines.“ *Cell Biol Int.* 33 (8), 2009: 848-852.
- ÄrzteZeitung. Springer Medizin. 23. 09 2010.
<http://www.aerztezeitung.de/medizin/krankheiten/herzKreislauf/schlaganfall/article/620758/mrt-variante-bringt-apoplexie-forscher-voran.html> (Zugriff am 9. 6 2016).
- Bergstrom WH, Wallace WM. „Bone as a sodium and potassium reservoir.“ *J Clin Invest* 33 (6), 1954: 867-873.
- Cohen CD, Frach K, Schlöndorff D, Kretzler M. „Quantitative gene expression analysis in renal biopsies: a novel protocol for a high-throughput multicenter application.“ *Kidney Int* 61, 2002: 133-140.
- Cole, Dr James. *HDBuzz*. 22. 10 2012. <http://de.hdbuzz.net/091> (Zugriff am 9. 6 2016).
- Cuellar K, Chuong H, Hubbell SM, Hinsdale ME. „Biosynthesis of chondroitin and heparin sulfate in Chinese hamster ovary cells depends on xylosyltransferase II.“ *J Biol Chem* 82, 2007: 5195-5200.
- Eckardt Ku, Coresh J, Devuyst O, et al. „Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden.“ *Lancet* 382, 2013: 158-159.
- Faust I, Roch C, Kuhn J, Prante C, Knabbe C, Hendig D. „Human xylosyltransferase-I - a new marker for myofibroblast differentiation in skin fibrosis.“ *Biochem Biophys Res Commun.* 436(3), 2013: 449-454.
- Garnett ES, Ford J, Golding PL, Mardell RJ, Whyman AE. „The mobilization of osmotically inactive sodium during total starvation in man.“ *Clin Sci* (35), 1968: 93-103.

- Girndt M, Trocchi P, Scheidt-Nave C, Markau S, Stang A. „The prevalence of renal failure - results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults, 2008-2011 (DEGS1).“ *Dtsch Arztebl Int* 113, 2016: 85-91.
- Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Garlichs C, Janka R, Cavallaro A, Luft FC, Uder M, Titze J. „²³Na Magnetic Resonance Imaging of the Lower leg of Acute Heart Failure Patients during Diuretic Treatment.“ *PLoS One*, 2015.
- Heer M, Baisch F, Kropp J, Gerzer R, Drummer C. „High dietary sodium chloride consumption may not induce body fluid retention in humans.“ *Am J Physiol Renal Physiol* 278, 2000: 585-595.
- Herold, G. *Innere Medizin*, S.617. 2011.
- Hoffmann F, Boesch D, Dörks M, Herget-Rosenthal S, Petersen J, Schmiemann G. „Renal insufficiency and medication in nursing home residents - a cross-sectional study (IMREN).“ *Dtsch Arztebl Int* 113, 2016: 92-98.
- Horiakwa C, Yoshimura Y, Kamada C, Tanaka S, Hanyu O, Araki A, Ito H, Tanaka A, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N, Sone H. „Dietary sodium intake and incidence of diabetes complications in Japanese patients with type 2 diabetes: analysis of the Japan Diabetes Complications Study (JDCS).“ *J Clin Endocrinol Metab.* 99(10), 2014: 3635-3642.
- Ivanova LN, Archibasova VK, Shterental' ISh. „Sodium-depositing function of the skin in white rats.“ *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 64(3), 1978: 358-363.
- Jablonski KL, Fedorova OV, Racine ML, Geolfos CJ, Gates PE, Chonchol M, Fleenor BS, Lakatta EG, Bagrov AY, Seals DR. „Dietary sodium restriction and association with urinary marinobufagenin, blood pressure, and aortic stiffness.“ *Clin J Am Soc Nephrol* 8, 2013: 1952-1959.
- Johnson Rs, Titze J, Weller R. „Cutaneous control of blood pressure.“ *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2016: 11-15.

- Kaplan M, Aviram M. „Retention of oxidized LDL by extracellular matrix proteoglycans leads to its uptake by macrophages: an alternative approach to study lipoproteins cellular uptake.“ *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21, 2001: 386-393.
- Kirkendall AM, Connor WE, Abboud F, Rastogi SP, Anderson TA, Fry M. „The effect of dietary sodium chloride on blood pressure, body fluids, electrolytes, renal function, and serum lipids of normotensive man.“ *J Lab Clin med* 87, 1976: 411-434.
- Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, Schmieder RE, Cavallaro A, Eckardt KU, Uder M, Luft FC, Titze J. „23 na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients.“ *Hypertension Journal of the American Heart Association* 59, 2013: 635-640.
- Korzilius, H. „Randnotiz 50000 Dollar für eine Niere.“ *Dtsch Arztebl Int*, April 2016: B 531.
- Kotchen TA, Cowley AW jr, Frohlich ED. „Salt in health and disease - a delicate balance.“ *N Engl J Med* 368, 2013: 2531-2532.
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. „A more accurate method to estimate glomerular filtratoin rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group.“ *Ann Intern Med.* 130 (6), 1999: 461-470.
- Ludwig, Carl. *Veränderlichkeit der Chloridausscheidung mit der Zufuhr.* Leipzig & Heidelberg: Wintersche Verlagshandlung, 1861.
- Mobasheri, A. „Correlation between [Na⁺], [Glycosaminoglycan] and Na⁺/K⁺ pump density in the extracellular matrix of bovine articular cartilage.“ *Physiol Res* 47, 1998: 47-52.
- . „Regulation of Na⁺, K⁺-ATPase density by the extracellular ionic and osmotic environment in bovine articular chondrocytes.“ *Physiol Res.* 48(6), 1999: 509-512.
- Mortier A, Van Damme J, Proost P. „Overview of the mechanisms regulating chemokine activity and availability.“ *Immunol Lett* 145, 2012: 2-9.

- MVZ Labor Dr. Limbach Heidelberg. 2016. http://www.labor-limbach.de/vereinfachte_MDRD-Fo.220.0.html (Zugriff am 9.. 6. 2016).
- Palacios C, Wigertz K, Martin Berdine-R, Jackman L, Pratt JH, Peacock M, McCabe G, Weaver CM. „Sodium retention in black and white female adolescents in response to salt intake.“ *J Clin Endocrinol Metab* 89 (4), 2004: 1858-1863.
- Purnomo E, Emoto N, Nugrahaningsih DA, Nakayama K, Yagi K, Heiden S, Nadanaka S, Kitagawa H, Hirata K. „Glycosaminoglycan overproduction in the aorta increases aortic calcification in murine chronic kidney disease.“ *J Am Heart Assoc* 2 (5), 2013.
- Rakova N, Jüttner K, Dahlmann A, Schröder A, Linz P, Kopp C, Rauh M, Goller U, Beck L, Agureev A, Vassilieva G, Lenkova L, Johannes B, Wabel P, Moissl U, Vienken J, Gerzer R, Eckardt KU, Müller DN, Kirsch K, Morukov B, Luft FC, Titze J. „Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na(+) balance.“ *Cell Metab* 17, 2013: 125-131.
- Riedel, Silke. 2003. http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/riedels_2003.pdf (Zugriff am 13. 11 2016).
- Schafflhuber M, Volpi N, Dahlmann A, Hilgers KF, Maccar F, Dietsch P, Wagner H, Luft FC, Eckardt KU, Titze J. „Mobilization of osmotically inactive Na⁺ by growth and by dietary salt restriction in rats.“ *Am J Physiol Renal Physiol* 292, 2007: F1490-F1500.
- Schatz V, Neubert P, Schröder A, Binger K, Gebhard M, Müller DN, Luft FC, Titze J, Jantsch J. „Elementary immunology: Na⁺ as a regulator of immunity.“ *Pediatr Nephrol*, 2016.
- Speckmann EJ, Hescheler J, Köhling R. *Physiologie 6. Auflage, S. 477, Kapitel 11.4.2.* Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, 2013.
- . *Physiologie 6. Auflage, S.520 Kapitel 13.4.1.* Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, 2013.
- . *Physiologie, 6. Auflage, S. 515-527.* Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, 2013.
- Stolarz-Skrzypek K, Kuznetsova Th, Thijs L, Tikhonoff V, Seidlerova J, Richart T, Jin Y, Olszanecka A, Malyutina S, Casiglia E, Filipovsky J, Kawecka-Jaszcz K, Nikitin Y, Staessen JA. „Fatal

- and nonfatal outcomes, incidence of hypertension, and blood pressure changes in relation to urinary sodium excretion." *JAMA* 305, 2011: 1777-1785.
- Streeten DH, Rapoport A, Conn JW. „Existence of a slowly exchangeable pool of body sodium in normal subjects and its diminution in patients with primary aldosteronism." *Endocrinol Metab* 23, 1963: 928-937.
- Takeo K, Kobayashi S, Negoro K, Uchida K, Miyazaki T, Yayama T, Shimada S, Baba H. „Physical limitations to tissue engineering of intervertebral disc cells: effect of extracellular osmotic change on glycosaminoglycan production and cell metabolism. Laboratory investigation." *J Neurosurg Spine* 7, 2007: 637-644.
- Titze J, Bauer K, Schafflhuber M, Dietsch P, Lang R, Schwind KH, Luft FC, Eckardt KU, Hilgers KF. „Internal sodium balance in DOCA-salt rats: a body composition study." *Am J Physiol Renal Physiol* 289, 2005: F793-F802.
- Titze J, Maillet A, Lang R, Gunga HC, Johannes B, Gauquelin-Koch G, Kihm E, Larina I, Gharib C, Kirsch KA. „Long-term sodium balance in humans in a terrestrial space station simulation study." *Am J Kidney Dis*. 40, 2002: 508-516.
- Titze J, Rakova N, Kopp C, Dahlmann A, Jantsch J, Luft FC. „Balancing wobbles in the body sodium." *Nephrol Dial Transplant*, 2015.
- Titze J, Shakibaei M, Schafflhuber M, Schulze-Tanzil G, Porst M, Schwind KH, Dietsch P, Hilgers Karl F. „Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na⁺ storage in the skin." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287, 2004: H203-H208.
- Vynios DH, Karamanos NK, Tsiganos CP. „Advances in analysis of glycosaminoglycans: its application for the assessment of physiological and pathological states of connective tissues." *J Chromatogr B* 781, 2002: 21-38.
- Wong MG, Perkovic V, Woodward M, Chalmers J, Li Q, Hillis GS, Yaghobian Azari D, Jun M, Poulter N, Hamet P, Williams B, Neal B, Mancia G, Cooper M, Pollock AC. „Circulating bone morphogenetic protein-7 and transforming growth factor- β 1 are better

predictors of renal end points in patients with type 2 diabetes mellitus." *Kidney Int* 83, 2013: 278-284.

7 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

7.1 Abbildungen

Abbildung 1: Regulation des Kochsalzhaushalts	9
Abbildung 2: neue CKD Klassifikation (KDIGO 2009)	12
Abbildung 3: Elektrolytkonzentrationen in Korrelation zur GFR (mit freundlicher Unterstützung von Prof. Dr. M. Fischereder)	13
Abbildung 4: Bestimmung des QT Intervalls	21
Abbildung 5: Na ⁺ Messungen vom Referenzwert-Labor der EU	23
Abbildung 6: Alcianfärbung Arterie (li: Na. 2,1 g/kg FG, re: Na 3,5 g/kg FG).....	24
Abbildung 7: Aufteilung des Kollektivs - Spender & Empfänger	26
Abbildung 8: Ätiologie der Niereninsuffizienz	27
Abbildung 9: Haut-Mittelwerte für Empfänger & Spender im FG & TG	33
Abbildung 10: Natriumkonzentrationen der Haut (FG & TG) im Bezug zur Probennummer ..	34
Abbildung 11: Natriumkonzentrationen der Haut (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Empfänger).....	35
Abbildung 12: Muskel-Mittelwerte für Empfänger & Spender im FG & TG	36
Abbildung 13: Natriumkonzentrationen im Muskel (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Spender).....	37
Abbildung 14: Natriumkonzentrationen im Muskel (FG & TG) im Bezug zur Probennummer	38
Abbildung 15: Arterien-Mittelwerte für Empfänger und Spender im FG & TG	39
Abbildung 16: Natriumkonzentrationen in Arterien (FG & TG) im Bezug zur Probennummer	40
Abbildung 17: Natriumkonzentrationen in Arterien (FG & TG) im Bezug zur Probennummer (Empfänger).....	41
Abbildung 18: Natriumwerte im FG bei Spendern in Haut, Muskel, Arterie	42
Abbildung 19: Natriumwerte im TG bei Spendern in Haut, Muskel, Arterie	42
Abbildung 20: Natriumwerte im FG bei Empfängern in Haut, Muskel, Arterie.....	43
Abbildung 21: Natriumwerte im TG bei Empfängern in Haut, Muskel, Arterie.....	43
Abbildung 22: Alcianfärbung Arterie (li: Na. 2,1 g/kg FG, re: Na 6,2 g/kg FG).....	44
Abbildung 23: Alcianfärbung Haut (li: Na. 2,9 g/kg FG, re: Na 3,2 g/kg FG)	44
Abbildung 24: Natriumgehalt im FG vs. Glykosaminoglykanfärbung	45

Abbildung 25: Korrelationen im FG (Spender)	46
Abbildung 26: Korrelationen im FG (Empfänger).....	47
Abbildung 27: Korrelationen im Trockengewicht (Spender)	48
Abbildung 28: Korrelationen im Trockengewicht (Empfänger)	49
Abbildung 29: Salz und Bluthochdruck	51
Abbildung 30: Salz und Blutdruck, Resümee der Studien	52
Abbildung 31: Schwitzmechanismus der Ratten.....	58

Quellen der Abbildungen:

Abbildung 1: Speckmann, 6. Auflage, 2013, S. 521 Abb. 13.5

Abbildung 2: KDIGO 2009,

https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC3703301_1471-2369-14-135-1&req=4

(3. Januar 2017)

Abbildung 3: Mit Dank an den nephrologischen Leiter LMU, Prof. Dr. M. Fischereder

Abbildung 4: aus dem Arbeitskreis AIDS, Berlin 05.01.2011, Jörg H. Götz,

Praxiszentrum Kaiserdamm

Abbildung 5: von Prof. Michalke (Helmholtz Zentrum) zugesandter Bericht vom

Referenzwert - Labor der EU

Abbildung 6: aus der Pathologie der LMU mit Dank an Dr. Schmoeckel

Abbildung 22: aus der Pathologie der LMU mit Dank an Dr. Schmoeckel

Abbildung 23: aus der Pathologie der LMU mit Dank an Dr. Schmoeckel

Abbildung 26: aus der Pathologie der LMU mit Dank an Dr. Schmoeckel

Abbildung 31: [http://www.bildderfrau.de/ernaehrung/ernaehrungsmythen-](http://www.bildderfrau.de/ernaehrung/ernaehrungsmythen-d39419c484041.html)

[d39419c484041.html](http://www.bildderfrau.de/ernaehrung/ernaehrungsmythen-d39419c484041.html) (21. Mai 2014)

Abbildung 32: Univ. Prof. Dr. G. Steurer (Herz-Kreislauf-Erkrankungen: Basis der gesunden

Ernährung, Seite 15

<http://slideplayer.org/slide/851169/>)

Abbildung 33: [http://www.sueddeutsche.de/wissen/zehn-dinge-die-sie-noch-nicht-](http://www.sueddeutsche.de/wissen/zehn-dinge-die-sie-noch-nicht-wissen-ueber-ratten-1.598912-6)

[wissen-ueber-ratten-1.598912-6](http://www.sueddeutsche.de/wissen/zehn-dinge-die-sie-noch-nicht-wissen-ueber-ratten-1.598912-6)

(3. Januar 2017)

7.2 Tabellen

Tabelle 1: Beschreibung des Patientenkollektivs \pm SD.....	28
Tabelle 2: Laborwerte	30
Tabelle 3: Natriumkonzentration in der Haut \pm SD.....	32
Tabelle 4: Natriumkonzentrationen im Muskel \pm SD.....	36
Tabelle 5: Natriumkonzentrationen in Arterien \pm SD.....	39

8 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ANP:	atriales natriuretisches Peptid
ANV:	akutes Nierenversagen
BMI:	Body Mass Index
BNS:	Benigne Nephrosklerose
CKD:	Chronic Kidney Disease
CKD-EPI:	Chronic Kidney Disease – Epidemiology Collaboration
DOCA:	Deoxycorticosteron-Acetat
EZR:	Extrazellulärraum
FG:	Feuchtgewicht
GAG:	Glykosaminoglykan
GFR:	glomeruläre Filtrationsrate
GN:	Glomerulonephritis
iPTH:	Parathormon
IZR:	Intrazellulärraum
K+:	Kalium
KDIGO:	Kidney Disease Improving Global Outcomes
kg:	Kilogramm
LDL:	Low Density Lipoprotein
LMU:	Ludwig-Maximilians-Universität
m:	Meter
MDRD:	Modification of Diet in Renal Disease
miRNA:	Micro Ribonucleinsäure
mmol/l:	Millimol pro Liter
MRT:	Magnetresonanztomographie
Na+:	Natrium
NAST:	Nierenarterienstenose
NKF:	National Kidney Foundation
SD:	Standardabweichung
Sept.:	Septisch

TG: Trockengewicht
TGF- β 1: Transformierender Wachstumsfaktor β 1
XYLT: Xylosyltransferase

9 Danksagung

An erster Stelle gilt mein herzlichster Dank meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Michael Fischereeder für die Überlassung des Dissertationsthemas, kompetente Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten und Betreuung während der Erstellung meiner Doktorarbeit. Besonders möchte ich mich für die konstruktiven Ratschläge und das unermüdliche Interesse am Fortgang dieser Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt auch PD. Dr. med. Manfred Stangl, dem chirurgischen Leiter der Nierentransplantationen, für die Entnahme der Gewebeproben während der Transplantationen. Bedanken möchte ich mich auch bei den Studienärzten Dr. Antje Habicht und Dr. Ulf Schönermarck.

Vielen Dank auch an Prof. Dr. Bernhard Michalke und Herrn Peter Grill aus dem Helmholtz Zentrum München – German Research Center for Environmental Health - für die Analyse der Gewebeproben.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Dr. Schmoeckel aus der Pathologie der LMU in München für die histologische Färbung der Gewebeproben bedanken.

Ganz besonders danke ich allen Patienten, die an dieser Studie teilgenommen haben. Sie gewährten mir Einsicht in ihre Krankengeschichte und genehmigten die Entnahme von Gewebeproben.

Von ganzem Herzen bedanke ich mich bei meinem Ehemann, der mir bei Fragen zum Layout und zur Statistik immer zur Seite stand.

Herzlichsten Dank auch an meine Familie für die verständnisvolle Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.

10 Anhang

Im Anhang beigefügt sind die Aufklärungsformulare für unsere Patienten, die an der Studie teilgenommen haben.



Klinikum der Universität München · Campus Innenstadt
Medizinische Klinik und Poliklinik IV
Marchioninistraße 15 · 81337 München

Nephrologisches Zentrum
Ansprechpartner:
Prof. Dr. med. Michael Fischereder

Tel. +49 (0)89 7095 – 2211
Fax +49 (0)89 7095 – 2362
E-Mail michael.fischereder@med.uni-
muenchen.de

Internet:
<http://mki.medinn.med.uni-muenchen.de>

Postanschrift:
Marchioninstr. 15
81337 München

Ihr Zeichen:

Unser Zeichen:

München, 08.06.2012

Patientenaufklärung und Zustimmungserklärung für die Teilnahme an der Studie „Natriumspeicherung in Haut / Muskulatur / Gefäßen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz oder bei gesunden Lebendnierenspendern vor Nierentransplantation“ (Haut-Na bei Dialyse).“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient

Ihnen wird im Klinikum Großhadern absehbar eine Niere zur Transplantation entnommen. Wie Sie wissen, erfolgt dies in einer Operation bei der eine Durchtrennung von Haut und Muskulatur erforderlich sind. Wir möchten Sie bei dieser Gelegenheit bitten, an einer kleinen Probe Ihrer Haut, Ihrer Muskeln und Ihrer Blutgefäße weiterführende Untersuchungen zum Salzhaushalt durchführen zu dürfen.

Bisherige Untersuchungen legen nahe, dass bei der Ratte eine relevante Menge von Salz in Haut und Muskulatur gespeichert werden können. Eine erste, sehr kleine Untersuchung bei Menschen mit einer hormonell bedingten Bluthochdruckerkrankung lässt vermuten, dass auch beim Menschen eine derartige Möglichkeit besteht. Eine Bestätigung diese Erkenntnis wäre von wesentlicher Bedeutung für das Verständnis des Salzhaushaltes, der Bluthochdruckforschung wie insbesondere das Verständnis vieler Komplikationen der chronischen Niereninsuffizienz.

Ziel unserer Untersuchung ist es, herauszufinden, ob auch bei Dialysepatienten mehr Salz in der Haut und anderen Geweben wie z.B. Muskel und Blutgefäßen gespeichert wird als bei gesunden Menschen.

Wir bitten Sie um Ihre Zustimmung dafür, dass wir im Zuge der Operation eine kleine Menge Ihres Gewebes der Haut, Bauchmuskulatur und der Bauchgefäße entnehmen und weiter untersuchen dürfen. Dabei wird einerseits der Natriumgehalt der Haut direkt bestimmt, andererseits werden Steuerungsmechanismen der Gewebsvernarbung (sog. Transkriptionsfaktoren) untersucht.

Die erforderliche Gewebemenge entspricht weniger als 0,5 g. Die Entnahme erfolgt im Rahmen der Eröffnung des Bauchraumes. Entlang des Hautschnittes wird eine 0,5 x 3 cm lange Hautspindel entnommen, dies ist sowohl funktionell als auch kosmetisch nach der Operation nicht erkennbar. Im weiteren operativen Vorgehen erfolgt grundsätzlich die Durchtrennung der epigastrischen Gefäße (d.h. Gefäße die entlang des großen

Das Klinikum der Universität München ist eine Anstalt des öffentlichen Rechts.
öffentl. Verkehr: U1, U2, U3, U6, U7, U8, Straßenbahnlinien 17, 18, 27
Stadtbustlinie 152 bis Haltestelle Sendlinger Tor



Bauchmuskels verlaufen, immer durchtrennt werden müssen und außerhalb von Studien werden diese Gefäße verworfen). Nach der Durchtrennung dieser Gefäße erfolgt routinemäßig die Einkerbung des großen Bauchmuskels, das dabei entnommene Muskelgewebe (ca. 0,5cmx0,5cmx0,5cm) wird außerhalb von Studien verworfen. Der Verlust dieses geringen Muskelanteils hat keinen Einfluss auf die Funktion der Bauchmuskulatur nach der Operation. Das für diese Studie erforderliche Gewebe wird also im Zuge der Operation ohnehin entnommen, anstatt dieses Gewebe aber wie ansonsten üblich zu werfen, möchten wir eine Analyse des Salzgehaltes vornehmen lassen.

Im Falle Ihrer Einwilligung werden wir aus Restmaterial einer vor der Transplantation entnommenen Blutprobe ferner den Blutdruck bzw. Natriumhaushalt regulierende Hormone (Renin, Aldosteron, FGF23) bestimmen. Eine zusätzliche Blutentnahme ist nicht erforderlich.

Die Teilnahme an der Untersuchung ist für Sie mit keinerlei zusätzlichen Risiken verbunden. Es ergeben sich für Ihre Behandlung mit größter Wahrscheinlichkeit auch keine unmittelbaren Konsequenzen. Die Erkenntnisse aus der Studie können aber u.U. helfen, künftig Verfahren wie die Dialysebehandlung bzw. die medikamentöse Therapie vor Eintritt der Dialysepflichtigkeit besser zu steuern und so die Komplikationen einer chronischen Niereninsuffizienz oder Dialysepflichtigkeit vermindern

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig, für Sie und Ihre Krankenkasse kostenfrei und hat keine Auswirkung auf Ihre aktuelle Behandlung. Das Einverständnis zur Teilnahme kann von Ihnen jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen werden, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen.

Bei dieser Studie werden die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde über Sie erhoben und verschlüsselt (anonymisiert) gespeichert, d.h. weder Ihr Name noch Ihre Initialen oder das Geburtsdatum erscheinen im Verschlüsselungscode, oder werden an Dritte weitergegeben. Nur in einer Tabelle (Anonymisierungsliste), die bei Herrn Professor Fischereder unter Verschluss aufbewahrt wird, ist eine Zusammenführung von Patientennamen und Verschlüsselungscode notiert. Auch Ihre Proben werden mit demselben Code gekennzeichnet, eine Rückverfolgung von der Probe zu Ihnen ist also auch nur den Studienärzten möglich (s.u.). Es werden aus Ihrem Gewebe keine Zellkulturen angelegt und es erfolgen keine genetischen Untersuchungen.

Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung werden die anonymisiert gespeicherten Daten unwiderruflich von der Verbindung mit Ihrem Namen getrennt (Löschung Ihrer Daten von der Anonymisierungsliste). Da das Gewebe ohnehin durch die Untersuchungen aufgebraucht wird ist nach unseren Untersuchungen keine weitere Verwendung möglich.

Der Zugang zu den Originaldaten und zum Verschlüsselungscode ist auf folgende Personen beschränkt:

Studienleiter: Prof. Dr. med. Michael Fischereder

Studienarzt: OA PD Dr. Manfred Stangl

Die Unterlagen werden im Sekretariat des *Schwerpunktes Nephrologie am Campus Grosshadern in einem verschlossenen Schrank* aufbewahrt.

Eine Entschlüsselung erfolgt lediglich in Fällen, in denen es Ihre eigene Sicherheit erfordert („medizinische Gründe“) oder falls es zu Änderungen in der wissenschaftlichen Fragestellung kommt („wissenschaftliche Gründe“).

Im Falle von Veröffentlichungen der Studienergebnisse bleibt die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährleistet.

Ich bin mit der Teilnahme an der Studie und der damit verbundenen Untersuchung der Gewebeproben sowie der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten nach Maßgabe der Patienteninformation einverstanden.

München, den

Unterschrift der Patientin

Unterschrift und Name des
aufklärenden Arztes

Verantwortlicher Leiter der Untersuchung:

Prof. Dr. med. M. Fischereeder, Leiter Schwerpunkt Nephrologie, Medizinische Klinik und Poliklinik IV – Campus Grosshadern, Klinikum der Universität, LMU München, Marchioninstr. 15, 81377 München (Tel. 089 / 7095 – 2211)

11 Eidesstattliche Erklärung

Pavelic, Ivana

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Natriumspeicherung in Haut / Muskulatur / Gefäßen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz oder bei gesunden Lebendnierenspendern vor Nierentransplantation“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 21.03.2018

Ort, Datum

Ivana Pavelic

Unterschrift Doktorandin