

Aus der Medizinischen Klinik I der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Lehnert

Akute Effekte von Aldosteron auf das autonome Nervensystem
und den Baroreflex des Menschen

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Jörg Holzschneider
aus Düsseldorf

Lübeck 2009

1. Berichterstatterin: PD Dr. med. Silke Heindl

2. Berichterstatter: PD Dr. med. Christoph Lange

Tag der mündlichen Prüfung: 07.09.2009

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 07.09.2009

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Aldosteron und das autonome Nervensystem	7
1.1.1	Aldosteron und das Renin-Angiotensin-System	7
1.1.2	Das autonome Nervensystem und der Baroreflex	9
1.1.3	Interaktionen zwischen Aldosteron und dem autonomen Nervensystem	11
1.2	Erfassung der Aktivität des autonomen Nervensystems beim Menschen	13
1.2.1	Noradrenalin-Spillover	13
1.2.2	Intraneurale Ableitung der muskulären sympathischen Nervenaktivität mittels Mikroneurographie	13
1.2.3	Herzfrequenzvariabilität	17
1.2.4	Katecholaminkonzentrationen in Plasma und Urin	18
1.3	Fragestellung	19
2	Probanden und Methoden	21
2.1	Probanden	21
2.1.1	Einschlusskriterien	21
2.1.2	Ausschlusskriterien	21
2.1.3	Abbruchkriterien	22
2.2	Versuchsablauf	22
2.2.1	Studiendesign	22
2.2.2	Versuchsvorbereitung	22
2.2.3	Versuchsprotokoll	24
2.3	Mikroneurographie	25
2.4	Herzfrequenzvariabilität und hämodynamische Parameter	27
2.5	Durchführung der Baroreflextests	28
2.6	Laboruntersuchungen	29
2.7	Statistik	30
3	Ergebnisse	32
3.1	Daten der Probanden	32
3.2	Ausgangswerte unter Ruhebedingungen	32
3.2.1	Laborparameter	32
3.2.2	MSNA und hämodynamische Parameter	33
3.2.3	Herzfrequenzvariabilität	35
3.3	Ergebnisse unter Baroreflextestung	36
3.3.1	Barorezeptoraktivierung	36
3.3.2	Barorezeptordeaktivierung	37
3.4	Veränderungen während sympathoexzitatorischer Manöver	39
3.4.1	Endexpiratorische Apnoe	39
3.4.2	Eiswassertest	41
4	Diskussion	42
4.1	Vergleich mit anderen Studien	42
4.1.1	Fehlender Einfluss des Aldosterons auf die MSNA	42
4.1.2	Veränderungen der HRV und der Herzfrequenzregulation durch den Baroreflex	45
4.1.3	Hormon- und Elektrolytveränderungen	47

4.2	Mögliche Wirkungsweisen des Aldosterons	48
4.2.1	Genomische und nichtgenomische Hormonwirkungen.....	48
4.2.2	Zentrale und periphere Wirkungen	49
4.2.3	Interaktion von Aldosteron mit Stickstoffmonoxid	50
4.3	Einschränkungen der Studie und kritische Einordnung der Ergebnisse.....	51
4.3.1	Kritische Einordnung der Methode der Mikroneurographie.....	51
4.3.2	Methodische Einschränkungen der HRV-Messung	52
4.3.3	Einschränkungen bei der Übertragbarkeit der Ergebnisse	52
4.4	Ausblick	54
5	Zusammenfassung.....	55
6	Literaturverzeichnis	56
7	Anhang	65
7.1	Aufklärungsbogen	65
7.2	Einverständniserklärung	66
8	Danksagung	67
9	Lebenslauf.....	68

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
ANOVA	Analysis of Variance
a.u.	arbitrary units
BD	Blutdruck
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CPT	Cold-pressor Test
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii
etc.	et cetera
HF	high frequency
HRV	Heart Rate Variability
H.S.	Herzschläge
LF	low frequency
MIGB	Metaiodbenzylguanidin
MR	Mineralokortikoidrezeptor
MSNA	muskuläre sympathische Nervenaktivität
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
NN-Intervall	Normal-zu-Normal-Intervall
NN50/pNN50	number/percentage of successive NN interval differences exceeding 50ms
n.s.	nicht signifikant
n.u.	normalized units
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RMSSD	root mean square of successive RR interval differences

SDNN	standard deviation of NN intervals
SEM	standard error of the mean
SSNA	skin sympathetic nerve activity
Tab.	Tabelle
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Aldosteron und das autonome Nervensystem

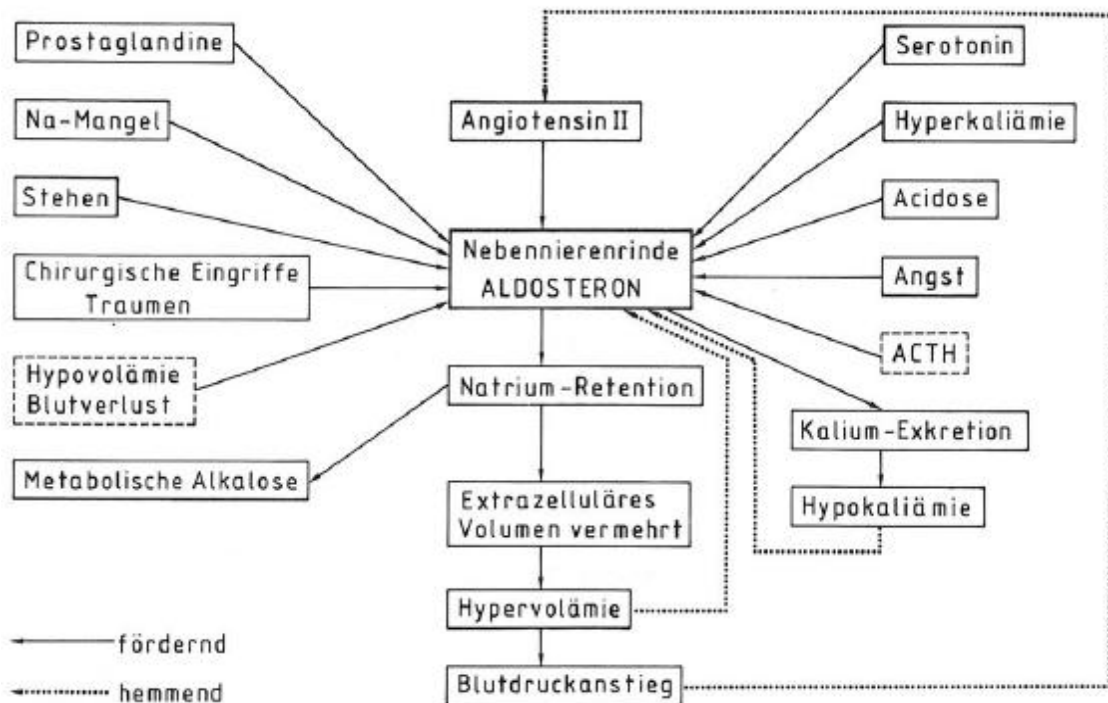
1.1.1 Aldosteron und das Renin-Angiotensin-System

Zum ersten Mal als eigenständiges Hormon isoliert sowie in seiner Wirkung charakterisiert wurde Aldosteron 1953 von Simpson und Tait (Simpson et al., 1953). Aldosteron ist zusammen mit Renin und Angiotensin als Bestandteil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) ein wichtiger Regulator des menschlichen Wasser- und Elektrolythaushaltes. In diesem System bewirkt eine Durchblutungsabnahme der Niere z.B. bei Hypovolämie oder Hypotonie eine Reninfreisetzung, welches die Umwandlung des in der Leber synthetisierten Angiotensinogens in Angiotensin I in Gang setzt. Dieses wird durch das Converting-Enzyme in die eigentlich blutdruckwirksame Substanz Angiotensin II umgewandelt, welches um einige Zehnerpotenzen stärker vasokonstringierend wirkt als Noradrenalin.

Neben dem direkten vasokonstriktorischen Effekt bewirkt Angiotensin II zusätzlich eine Freisetzung des Mineralokortikoides Aldosteron aus der Nebennierenrinde. Im Zentrum der Aldosteronwirkung steht hierbei eine Natriumretention mit Kaliumexkretion, wodurch über die konsekutive Wasserretention eine Erhöhung des venösen Angebotes erfolgt.

Es gibt jedoch noch eine Fülle anderer Faktoren, die zur Freisetzung von Aldosteron führen, z.B. Hyponatriämie, Hyperkaliämie, aber auch Lagewechsel oder Stress (siehe auch Abb. 1).

Abbildung 1: Faktoren, welche die Aldosteronausschüttung stimulieren und hemmen (aus Steinhausen, 1991, Abb. 8.44.)



Die Wirkungen von Aldosteron beschränken sich jedoch keinesfalls auf die angesprochene Wasser- und Elektrolytregulation. So konnte in verschiedenen Studien bewiesen werden, daß Aldosteron unter anderem direkten Einfluss auf die Genese der Myokardfibrose besitzt (Brilla et al., 1993) und endotheliale Dysfunktionen verursacht (Farquharson et al., 2002; White et al., 2003). Andere Studien zeigten dessen Beteiligung in Prozessen der perivaskulären Entzündung und linksventrikulären Hypertrophie (Rocha et al., 2000). Malmqvist et al. konnten sogar zeigen, daß die Schwere der Linksherzhypertrophie bei der hypertensiven Herzkrankheit in direktem Verhältnis zur Höhe des Aldosteronspiegels steht (Malmqvist et al., 2002). Neben diesen peripheren Wirkungsweisen lassen verschiedene Studien der letzten Jahre (Gómez-Sánchez, 1997; Huang et al., 2005) außerdem darauf schließen, daß Aldosteron zusätzlich über zentrale Rezeptoren auf die Blutdruckregulation einwirkt (siehe dazu auch Kapitel 1.1.3, Seite 11 f.).

Die klassischen Wirkungen der Natrium- und Wasserretention werden genomisch mit einer Latenz von Stunden bis Tagen vermittelt. Dieser Wirkungsweise liegt das Modell von Jakob und Monod zugrunde: Nach Aufnahme des Hormons in die Zelle gelangt es über Bindung an den cytoplasmatischen Rezeptor in den Zellkern. Dort wird ein Repressormolekül inaktiviert, dadurch ein bisher blockiertes Operon frei und über Transkription und Translation das entsprechende Enzym synthetisiert.

Seit einigen Jahren sind aber auch für das Aldosteron nichtgenomische Wirkpfade bekannt, mit nur einer Latenz von Sekunden bis Minuten. Lösel et al. konnten in in-vitro Studien verschiedene schnelle Effekte von Aldosteron zeigen, z.B. auf das intrazelluläre Calcium oder auf cAMP, welches in der Zelle als sogenannter second messenger dient, indem es Enzymsysteme modifiziert oder auch die Membranpermeabilität beeinflusst (Lösel et al., 2004). Charakteristisch für die nichtgenomischen Effekte ist neben dem schnellen Wirkmechanismus die fehlende Ansprechbarkeit von Mineralokortikoidrezeptor-I-Antagonisten.

Zu welchen Teilen die oben angesprochenen Wirkungen auf die Myokardfibrose, endotheliale Dysfunktion etc. genomisch oder nichtgenomisch vermittelt werden, ist bisher nicht bekannt.

1.1.2 Das autonome Nervensystem und der Baroreflex

Das autonome - oder auch vegetative - Nervensystem wird unterteilt in einen sympathischen und parasympathischen Anteil.

Die präganglionären Neurone des efferenten Sympathikusanteils nehmen ihren Ausgang im Seitenhorn des Rückenmarkes zwischen Cervikalsegment 8 und Lumbalsegment 2. In meist organfern gelegenen Ganglien wird auf die postganglionären Neuronen umgeschaltet, welche den Reiz mittels des Überträgerstoffes Noradrenalin bzw. Acetylcholin (nur Schweißdrüsen und Philoerectoren) auf das Effektororgan übertragen. Eine Sonderform eines sympathischen Ganglions ist das Nebennierenmark, welches Adrenalin in die Blutbahn ausschüttet und als hormoneller Anteil des sympathischen Nervensystems gelten kann. Noradrenalin und Adrenalin binden dabei an zwei

Haupttypen von Rezeptoren, den Alpha- und Betarezeptoren, welche sich in weitere Untertypen (α_{1+2} , β_{1-3}) unterteilen lassen.

Die parasympathischen Fasern dagegen haben ihren Ursprung entweder im Bereich der Hirnnervenkerne III (Oculomotorius), VII (Facialis), IX (Glossopharyngeus) und X (Vagus), oder für die Beckenregion im Bereich des Sakralmarkes. Die Ganglien zur Umschaltung liegen hier meist sehr nah an den Erfolgsorganen bzw. in ihnen selbst (intramural). Der Überträgerstoff ist ausschließlich Acetylcholin.

Bei den Afferenzen, über welche das vegetative Nervensystem beeinflusst wird, handelt es sich um sensible Fasern z.B. von Mechano- und Chemorezeptoren, sogenannte Visceroafferenzen, die über Interneurone mit den Efferenzen zu einem Reflexbogen verbunden sind.

Sympathische und parasympathische Anteile sind über das zentralnervöse autonome Netzwerk eng miteinander verbunden und stehen zusätzlich unter ständiger Einwirkung höherer Zentren wie der Medulla oblongata, dem Hypothalamus und dem limbischen System.

Für die Regulation des Kreislaufes kommt dabei der Medulla oblongata besondere Bedeutung zu. Im menschlichen Organismus wird der arterielle Blutdruck ständig über spezielle Dehnungsrezeptoren, den arteriellen Barorezeptoren gemessen. Diese befinden sich im Bereich des linken und rechten Sinus caroticus, im Bereich beider Arteriae carotices communes und im Aortenbogen. Das Messergebnis der arteriellen Barorezeptoren gelangt über afferente Fasern zum Kreislaufzentrum in der Medulla oblongata, in welcher sich pressorische und depressorische Areale abgrenzen lassen. Über den sogenannten Baroreflex wird daraufhin der Kreislauf entsprechend reguliert:

Bei Blutdruckabfall kommt es über eine Deaktivierung der Barorezeptoren zu einer Aktivierung der pressorischen Areale der Medulla und damit zu einer Steigerung der sympathischen Nervenaktivität, welche über direkten neuronalen Kontakt mittels Noradrenalin sowie über die Ausschüttung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark an die Effektororgane übertragen wird. Am Herzen bewirkt der Sympathikus eine Frequenzsteigerung sowie eine positive Inotropie, an den Gefäßen führt er durch eine generelle Kontraktion der glatten Muskeln der Arteriolenwände zu einer Erhöhung des peripheren Widerstands.

Ein Blutdruckanstieg führt umgekehrt zu einer Abnahme der sympathischen Nervenaktivität und somit zu einer entgegengesetzten Reaktion des kardiovaskulären Systems im Sinne einer Senkung der Herzfrequenz und Detonisierung der glatten Gefäßmuskulatur. Unter Ruhebedingungen halten diese Baroreflexmechanismen den Blutdruck in einem konstanten Bereich.

1.1.3 Interaktionen zwischen Aldosteron und dem autonomen Nervensystem

Das sympathische Nervensystem und das RAAS interagieren auf vielfältige Weise miteinander. So induziert z.B. eine sympathisch getriggerte periphere Vasokonstriktion nach den oben beschriebenen Mechanismen eine entsprechende Reaktion des RAAS, und umgekehrt führt eine durch Natriumretention herbeigeführte Erhöhung der Vorlast zu einem Effekt auf den Baroreflex und das vegetative Nervensystem. Weiterhin ist bekannt, daß das RAAS auch direkt durch nervale sympathische Stimulation der juxtaglomerulären Zellen aktiviert werden kann (Kopp und DiBona, 1986).

Seit einigen Jahren verdichten sich die Hinweise darauf, daß umgekehrt auch ein direkter zentraler Einfluß der Hormone des RAAS auf das vegetative Nervensystem möglich ist. In tierexperimentellen Versuchen konnte bisher gezeigt werden, dass Angiotensin II über verschiedene Mechanismen die sympathische Neurotransmission steigert und zu einer Erhöhung der Sympathikusaktivität führt (Saxena et al., 1992).

Gómez-Sánchez fand in Studien an Ratten heraus, dass auch Aldosteron über direkte zentralnervöse Mineralo- und Glukokortikoidrezeptoren den Blutdruck erhöht (Gómez-Sánchez, 1997). Wie die zentralnervöse Wirkung des Aldosterons dabei die Blutdruckregulation beim Menschen beeinflusst, ist bisher unbekannt. Vorstellbar wäre eine Steigerung der sympathischen Nervenaktivität im Verhältnis zum vorherrschenden Blutdruck, also eine Verschiebung des Barorezeptor-Setpoints hin zu höheren Blutdruckwerten.

Hinweise für eine solche Verschiebung fanden sich bereits in einer Studie unserer Arbeitsgruppe für Angiotensin II. So zeigte dort eine selektive Angiotensin-II-

Rezeptorenblockade mit Valsartan eine Modulation des Setpoints zu niedrigeren Blutdruckwerten (Struck et al., 2002).

Weitere Hinweise auf eine sympathoexzitatorische Wirkung des Aldosterons geben indirekte Daten über die Wirkung des Aldosteronantagonisten Spironolacton auf die Herzfrequenzvariabilität (Heart Rate Variability, HRV) und die ¹²³I-MIGB-Szintigraphie bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Barr et al., 1995; MacFayden et al., 1997; Kasama et al., 2003). Hierbei zeigte sich unter Spironolacton unter anderem eine Steigerung der time-domain Parameter in der Analyse der HRV als Zeichen eines parasympathomimetischen Effektes sowie in der Szintigraphie eine Verbesserung der Noradrenalinaufnahme des Herzmuskels. Insgesamt scheint eine Aldosteronblockade also das autonome Nervensystem bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz günstig zu beeinflussen.

Die Autoren Yee und Struthers fanden nach intravenöser Aldosterongabe eine Abschwächung der Bradykardie nach Stimulation der Barorezeptoren durch Phenylephrin bei gesunden normotensiven Erwachsenen, und werteten dies als Beeinträchtigung des Baroreflexes durch Aldosteron (Yee und Struthers, 1998).

Andere Arbeiten jedoch stehen in Widerspruch zu diesen Hypothesen. So fanden Schmidt et al. bei der Analyse der HRV von jungen gesunden Probanden nach akuter Aldosterongabe eine Erhöhung des kardialen Vagotonus (Schmidt et al., 1999). Nach zwei- bis siebentägiger Gabe des Mineralokortikoides Fludrocortison zeigte sich eine Abschwächung der muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA) bei jungen gesunden Probanden (Mion et al., 1994). Auch Izzo et al. beschrieben schon 1983 nach Fludrocortisongabe eine Unterdrückung der sympathischen Aktivität, hier gemessen als Plasma-Noradrenalinspiegel (Izzo et al., 1983).

Diese Arbeiten belegen die komplexen Interaktionen zwischen Aldosteron und dem vegetativen Nervensystem, die jedoch damit noch nicht vollständig aufgeklärt sind.

1.2 Erfassung der Aktivität des autonomen Nervensystems beim Menschen

Die Erfassung des sympathischen und insbesondere des parasympathischen Nervensystems beim Menschen ist mit erheblichen methodischen Schwierigkeiten verbunden. In den folgenden Absätzen werden daher die zurzeit gängigsten Verfahren dargestellt und kritisch bewertet.

1.2.1 Noradrenalin-Spillover

Derzeit wird die Bestimmung des Noradrenalin-Spillover mittels Radiotracer als Goldstandard für die Erfassung der sympathischen Efferenzen zu einem Organsystem angesehen (Esler et al., 1988). Hierbei wird radioaktiv markiertes Noradrenalin infundiert, welches später zu einem Teil über die Synapsen in das Plasma übertritt („spillover“) und an organotypischen Venen entnommen und gemessen werden kann. Da im Allgemeinen die Menge des abgegebenen Noradrenalins zur Aktivität der sympathischen Efferenz proportional ist, erlaubt diese Methode eine recht genaue und organspezifische Aussage über die jeweilige sympathische Aktivität. Diese Methode ist jedoch invasiv und sehr aufwendig und kann nur in wenigen Zentren durchgeführt werden. In der vorliegenden Arbeit kommt sie daher nicht zur Anwendung.

1.2.2 Intraneurale Ableitung der muskulären sympathischen Nervenaktivität mittels Mikroneurographie

Die Methode der Mikroneurographie wurde Mitte der sechziger Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts von Hagbarth und Vallbo entwickelt (Hagbarth et al., 1968; Vallbo et al., 2004). Sie ermöglicht es, Potentialänderungen sympathischer postganglionärer Neurone zu erfassen und somit eine präzise Aussage über die sympathische Nervenaktivität zu machen. Dafür wird eine Mikroelektrode direkt in einen Nervenfaszikel in die Umgebung sympathischer Fasern eingestochen. Die

neuronalen Entladungen werden dann nach Verstärkung und Filterung als Summenpotential, dem sogenannten Burst, dargestellt (siehe Abb. 2).

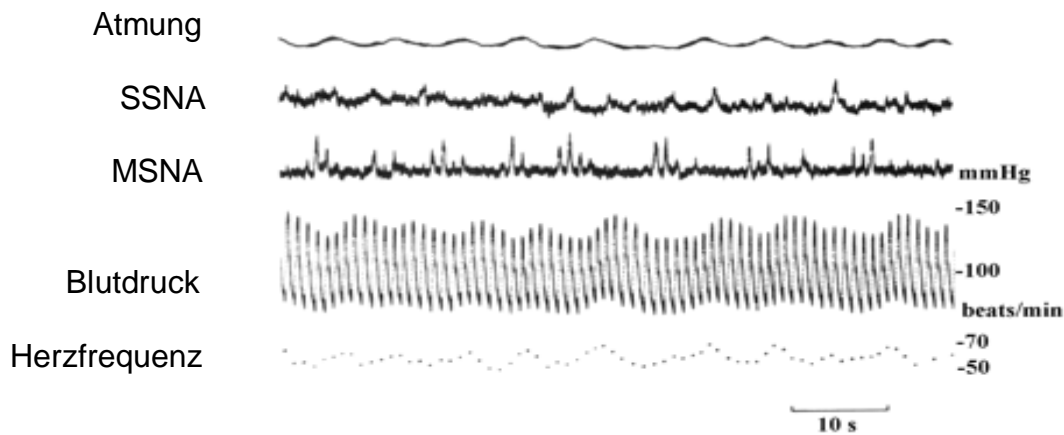
Zwei unterschiedliche Arten sympathischer Nervenaktivität können hierbei abgeleitet werden:

- Ø die muskuläre sympathische Nervenaktivität (MSNA) zur Innervation des Muskelgefäßbettes und
- Ø die sympathische Hautnervenaktivität (skin sympathetic nerve activity, SSNA) zu den Erfolgsorganen der Haut

Die SSNA führt hierbei hauptsächlich vasokonstriktorische, sudomotorische und pilomotorische Impulse zur Haut. Charakteristisch sind Bursts unterschiedlicher Länge und Amplitude, der Rhythmus ist hierbei unregelmäßig und im Gegensatz zur MSNA vom Herzrhythmus unabhängig. Eine Provokation gelingt durch emotionale Stimuli wie Schreck oder mentalem Stress sowie durch Berührung und thermale Reize. Klinisch imponiert dies dann als Schwitzen oder Aufstellen der Körperbehaarung (Wallin et al., 1988).

Die MSNA ist in Ruhe durch kurze Sequenzen rhythmischer, pulssynchroner Bursts abwechselnd mit Phasen relativer elektrischer Stille gekennzeichnet (siehe dazu Abb. 2). Eine Aktivierung der MSNA führt im Wesentlichen zu einer Vasokonstriktion und ist damit ein entscheidender Regulator des peripheren Gefäßwiderstandes (Delius et al., 1972; Burke et al., 1977). Moduliert wird die MSNA hauptsächlich über Baroreflexmechanismen, wobei eine Stimulation der arteriellen Barorezeptoren die MSNA hemmt. Kurzfristige Blutdruckabfälle, z.B. durch Orthostase, führen zu einer Stimulation der MSNA und folglich einer peripheren Vasokonstriktion, während ein akuter Blutdruckanstieg mit Stimulation der Barorezeptoren die MSNA inhibiert (Wallin et al., 1988).

Abbildung 2: Simultane Ableitung von MSNA und SSNA. Deutlich zu erkennen sind die kardiale Rhythmik sowie die inverse Beziehung zu Blutdruckveränderungen in der MSNA-Ableitung. Beides fehlt bei der SSNA (aus Vallbo et al., 2004, Abb. 3).



SSNA skin sympathetic nerve activity – sympathische Hautnervenaktivität
 MSNA muskuläre sympathische Nervenaktivität

Neben den Barorezeptoren wird die MSNA noch von verschiedenen anderen Rezeptoren beeinflusst. Ein mögliches Provokationsmanöver zur Stimulation der MSNA ist daher die endexpiratorische Apnoe, wobei über eine sich einstellende Kombination aus Hypoxämie und Hyperkapnie periphere und zentrale Chemorezeptoren erregt werden, was zu einer Stimulation der MSNA führt, unabhängig von gleichbleibenden oder sogar ansteigenden Blutdruckwerten (Delius et al., 1972). Eine weitere Möglichkeit bietet der Eiswasser- oder Cold-pressor Test (CPT), bei dem durch Eintauchen der Hand in eiskaltes Wasser afferente Signale von Schmerz- und Kälterezeptoren der Haut eine Sympathikusaktivierung auslösen (Victor et al., 1987).

Die Aktivität des sympathischen Nervensystems variiert zwischen den einzelnen Individuen relativ stark und reicht von 10-90 bursts/100 Herzschläge (Sundlöf et al., 1977). Sie bleibt aber innerhalb einer Person relativ konstant (Fagius et al., 1983), wobei die MSNA mit dem Altern ansteigt (Ng et al., 1993). Auch das Geschlecht spielt eine Rolle, Frauen haben im Allgemeinen eine niedrigere

Aktivität als Männer (Ng et al., 1993). Das Körpergewicht korreliert mit der Aktivität des sympathischen Nervensystems, wobei sich bei Übergewicht die MSNA erhöht (Spraul et al., 1993). Schließlich wird die Ruheaktivität des sympathischen Nervensystems durch das hormonelle System beeinflusst, z.B. durch ACTH, Glucokortikoide oder Insulin (Dodt et al., 1998; Scherrer et al., 1993)

In den verschiedenen Muskelgefäßregionen des menschlichen Körpers ist die sympathische Aktivität weitgehend identisch. Die MSNA ist sehr gut geeignet, kurzfristige Änderungen des sympathischen Nervensystems zu erfassen, sie korreliert gut mit dem renalen und kardialen Noradrenalin-Spillover (Wallin et al., 1992; Wallin et al., 1996).

Eine Schwäche der Methode der Mikroneurographie ist die Abhängigkeit der Qualität der Ableitung von der korrekten Elektrodenposition. Bereits eine geringe Dislokation führt zu einer Verschlechterung des Signals. Dies macht eine Ableitung über einen längeren Zeitraum oder bei körperlicher Aktivität unmöglich. In sehr seltenen Fällen ist durch die direkte Lage der Elektrode im Faszikel eine vorübergehende Parästhesie möglich, die sich in allen Fällen wieder zurückbildet. Durchschnittlich 5 - 10 % der mittels Mikroneurographie untersuchten Probanden berichten 1 - 3 Tage nach Ableitung über leichte Parästhesien, die wenige Tage anhalten (Wallin et al. 1988). Eine prospektive Studie zeigte, daß lediglich drei von tausend Versuchspersonen länger andauernde Symptome aufzeigten, die jedoch in jedem Fall spätestens innerhalb von sechs Monaten verschwanden (Eckberg et al., 1989).

Bei der in unserer Studie verwendeten Methode wurde die MSNA vom Nervus peroneus superficialis abgeleitet, wie in diversen Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe beschrieben (Dodt et al., 1998; Heindl et al., 2001).

1.2.3 Herzfrequenzvariabilität

Die Herzfrequenz unterliegt zu großen Teilen Regulationsmechanismen des autonomen Nervensystems. Der parasympathische Einfluß wird dabei mittels Acetylcholin über den N. Vagus vermittelt. Der sympathische Einfluß wird dagegen über die Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin vermittelt. Unter Ruhebedingungen überwiegt dabei der Vagusreiz, so daß Variationen der Herzfrequenz in Ruhe hauptsächlich vagal moduliert werden.

Die Messung der HRV ist eine einfache nichtinvasive Methode zur Erfassung der autonomen Nervenaktivität. Hierbei wird die Variabilität der RR-Abstände im abgeleiteten EKG analysiert (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996).

Eine computergestützte Analyse der HRV im Zeitbereich (time domain) erlaubt dabei Rückschlüsse auf die kardiale parasympathische Aktivität. Die RR-Intervalle werden bestimmt und als sogenannte Normal-zu-Normal (NN)-Intervalle dargestellt. Time domain Parameter können nun unter anderem als mittleres NN-Intervall, als Differenz zwischen kürzestem und längstem NN-Intervall berechnet werden. Wir verwendeten hauptsächlich:

- Ø SDNN, standard deviation of NN intervals - die Standardabweichung der NN-Intervalle
- Ø NN50, die Anzahl der Intervallunterschiede aufeinanderfolgender NN-Intervalle größer als 50 ms
- Ø pNN50, erhalten durch die Division von NN50 durch die gesamte Anzahl der NN-Intervalle
- Ø RMSSD, root mean square of successive RR interval differences - die Quadratwurzel des Mittelwertes der Summe der quadrierten Differenzen aller sukzessiven NN-Intervalle

Bei der Analyse im Frequenzbereich (frequency domain) werden zyklische Schwankungen der Herzfrequenz mittels Spektralanalyse erfasst und bestimmten Frequenzbändern zugeordnet. Hierbei können zwei Hauptfrequenzbereiche unterschieden werden:

- Ø Der Hochfrequenzbereich (high frequency, HF) zwischen 0,15 und 0,4 Hz korreliert mit vagalen Einflüssen auf den Sinusknoten
- Ø Der Niedrigfrequenzbereich (low frequency, LF) von 0,04 bis 0,15 Hz repräsentiert die Aktivität sowohl sympathischer als auch vagaler Komponenten

Während die kardiale parasympathische Aktivität durch die HRV-Analyse im Zeitbereich und im HF-Bereich gut erfasst wird, ist eine spezifische Aussage über den kardialen Sympathikus durch die HRV-Analyse meist nicht möglich, da der LF-Bereich sympathische wie parasympathische Einflüsse in sich vereint. Die gleichzeitige Bestimmung der Noradrenalinfreisetzung am Herzen und der HRV zeigte keinen verlässlichen Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern kardialer sympathischer Aktivität (Kingwell et al., 1994; Grassi et al., 1999).

Wir setzten die HRV daher nur begleitend ein zur Untersuchung vagaler Einflüsse in der Vorlaufphase des Experiments.

1.2.4 Katecholaminkonzentrationen in Plasma und Urin

Die Messung von Adrenalin und Noradrenalin bzw. ihrer Metabolite im Urin ist eine der ältesten Methoden, die Aktivität des sympathischen Nervensystems zu erfassen. Aus offensichtlichen Gründen ist diese Messung statisch und hat daher über kurzzeitige Änderungen der sympathischen Aktivität eine weniger gute Aussagekraft.

Die Messung der Plasmakatecholaminkonzentration ist aussagekräftiger, unterliegt aber ebenfalls deutlichen Einschränkungen:

Das im Plasma zirkulierende Noradrenalin repräsentiert nur ca. 5 - 20% des an den Nervenendigungen ausgeschütteten Transmitters (Hoeldtke et al., 1983). Überwiegend wird Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt durch aktiven Transport wieder in die präsynaptische Nervenendigung aufgenommen, ein weiterer Teil wird extraneural aufgenommen und in den peripheren Gewebszellen durch Katechol-O-Methyltransferase und Monoaminoxidase inaktiviert (Eisenhofer et al., 1994).

Des Weiteren ist das Verhältnis zwischen synaptischer Noradrenalinfreisetzung im Gewebe und Übertritt in den Blutstrom in den einzelnen Organen unterschiedlich ausgeprägt, in Abhängigkeit von der regionalen Durchblutung und Reuptake-Mechanismen. So liegt die Noradrenalinfreisetzung in der Niere dreifach über der Abgabe des Transmitters in den Blutkreislauf, in der Skelettmuskulatur beträgt sie das Zwölfwache und im Herzen mehr als das Zwanzigfache (Kopin et al., 1998). Die Plasmakatecholaminkonzentration kann also nur ein grober Marker für die allgemeine Aktivität des sympathischen Nervensystems sein und wird daher in dieser Arbeit nur begleitend eingesetzt.

1.3 Fragestellung

Derzeit liegen widersprüchliche Untersuchungsergebnisse vor bezüglich Aldosteron und dessen Wirkung auf das vegetative Nervensystem und insbesondere auf den Baroreflex. Die Ursachen hierfür könnten zum Teil durch die deutlichen Unterschiede in der verwendeten Aldosterondosis sowie der unterschiedlichen Art und Dauer der Aldosterongabe in den verschiedenen Studien bedingt sein. Auch die Art der Erfassung der Aktivität des autonomen bzw. sympathischen Nervensystems könnte zu unterschiedlichen Untersuchungsergebnissen geführt haben. Schließlich wäre es vorstellbar, daß Interaktionen des Aldosterons mit anderen neuroendokrinen Systemen unter bestimmten Voraussetzungen (zum Beispiel bei Krankheitsbildern wie der chronischen Herzinsuffizienz) zu Modulationen der Aldosteronwirkung führen.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, die akuten Wirkungen von Aldosteron auf das autonome Nervensystem und den Baroreflex bei jungen gesunden Probanden genauer zu analysieren. Wir stellten die Hypothese auf, daß Aldosteron auch dann den autonom vermittelten Baroreflex beeinflusst, wenn es in einer geringeren Dosis als in einer früheren Studie appliziert wird (Yee und Struthers, 1998).

Wir beobachteten hierfür an gesunden Probanden die akuten Effekte von intravenös injiziertem Aldosteron in Ruhe und während der Barorezeptoraktivierung und -deaktivierung durch vasoaktive Substanzen. Die

applizierte Aldosterondosis wurde so gewählt, daß die erzielten Serumkonzentrationen von Aldosteron im hochphysiologischen Bereich lagen. Der zeitliche Rahmen des Experiments sollte nach Möglichkeit sekundäre Hormoneffekte via Natrium- und Wasserretention oder durch Angiotensin II vermittelte Effekte ausschließen.

In unserer Studie wurde dabei die Aktivität des sympathischen Nervensystems als MSNA im N. peroneus superficialis mittels Mikroneurographie direkt abgeleitet. Des Weiteren wurde über eine fortlaufende EKG-Ableitung die HRV analysiert, welche Rückschlüsse auf die kardiale parasympathische Aktivität erlaubt. Während die HRV-Analyse bereits in einer früheren Untersuchung der akuten Effekte des Aldosterons durchgeführt wurde (Schmidt et al., 1999), liefert unsere Studie erstmals Daten über die Wirkungen des Aldosterons auf das sympathische Nervensystem durch direkte Ableitung der MSNA bei gesunden Probanden.

2 Probanden und Methoden

2.1 Probanden

Wir führten unsere Studie an insgesamt 16 freiwilligen gesunden Versuchspersonen beiderlei Geschlechts (acht Frauen und acht Männer) im Alter zwischen 22 und 48 Jahren durch.

Vor Versuchsbeginn wurde jede Versuchsperson mündlich wie auch schriftlich anhand eines Aufklärungsbogens (siehe Anhang) über den Inhalt der Studie sowie über mögliche Nebenwirkungen der eingesetzten Medikamente und Risiken der Ableitmethode aufgeklärt. Daraufhin legten sie Ihr Einverständnis schriftlich nieder (siehe Anhang). Die Studie war von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt worden. Für alle Teilnehmer galten identische Ein- und Ausschlusskriterien sowie Gründe für einen Versuchsabbruch.

2.1.1 Einschlusskriterien

- Ø gesunde Männer und Frauen im Alter zwischen 18 und 50 Jahren
- Ø die praemenopausalen weiblichen Probandinnen befanden sich am Versuchstag in der folliculären Phase des Menstruationszyklus, um möglichen Effekten gonadaler Hormone auf das RAAS oder das autonome Nervensystem Rechnung zu tragen (Hirshoren et al., 2002)
- Ø Normgewicht
- Ø Nichtraucher
- Ø Schriftliche Einverständniserklärung

2.1.2 Ausschlusskriterien

- Ø akute Erkrankung am Versuchstag
- Ø anamnestisch schwere Vorerkrankungen, insbesondere des Herzkreislaufsystems, Leber- oder Nierenerkrankungen

- Ø regelmäßige Einnahme von Medikamenten inklusive oraler Kontrazeptiva
- Ø Übergewicht (Body-mass-Index > 26 kg/m²)
- Ø Regelmäßiger Nikotinabusus

2.1.3 Abbruchkriterien

- Ø Widerruf der Einverständniserklärung durch den Probanden
- Ø Überschreiten einer intraneuralen Stimulationsdauer von 45 Minuten beim Auffinden der Ableitposition (bei längerer intraneuraler Stimulation nimmt möglicherweise die Gefahr einer Nervenschädigung zu)
- Ø Grobe Dislokation der Elektrode während des Versuches
- Ø Unerwartete und schwerwiegende Reaktionen auf die durchgeführten Maßnahmen

2.2 Versuchsablauf

2.2.1 Studiendesign

Die Gabe von Aldosteron bzw. Placebo erfolgte nach einem doppelblinden cross-over Protokoll. Die Auswahl und Verschlüsselung der Substanz wurde am Morgen des Versuchstages durch eine medizinisch-technische Assistentin vorgenommen. Die Studie wurde je Proband an jeweils zwei Versuchstagen mit wenigstens einwöchigem Abstand durchgeführt.

2.2.2 Versuchsvorbereitung

Die Probanden wurden angehalten, an den Tagen vor einer Untersuchung auf eine möglichst normale Lebensführung zu achten sowie Alkoholkonsum zu unterlassen. Am Versuchstag sollte auf koffein- und teehaltige Getränke

verzichtet werden und die letzte Mahlzeit vor Testbeginn mehr als drei Stunden zurückliegen.

Nach ausführlicher Aufklärung und Einwilligung der Versuchsperson wurde zwischen acht und neun Uhr am Morgen des Versuchstages die Testsubstanz als Bolus intravenös verabreicht. Als Verum wurden 50 Mikrogramm Aldosteron (Calbiochem-Novabiochem GmbH, Bad Soden) in 1ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung verwendet, als Placebo 1 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung ohne Zusätze.

Anschließend wurde der Proband entlassen und zwischen 13 und 14 Uhr desselben Tages wieder einbestellt. Nach Entleerung der Blase nahm der Proband nun auf dem Untersuchungsbett eine halbsitzende, entspannte Körperhaltung ein. Eine 18 G-Venenverweilkanüle zur Gabe der vasoaktiven Substanzen sowie zur Abnahme der Blutprobe wurde in einer Unterarmvene platziert und mittels 0,9 %-iger NaCl-Lösung auf Durchgängigkeit überprüft. Anschließend erfolgte die Injektion des zweiten Bolus der Testsubstanz (50 Mikrogramm Aldosteron oder Placebo) und Spülung der Kanüle mittels 0,9 %-iger NaCl-Lösung. Dann wurden das EKG, der Atemgurt und die Blutdruckmanschette angelegt.

Als nächstes wurde der N. peroneus superficialis des Probanden über dem Fibulaköpfchen mittels Nervenstimulator aufgesucht und dann eine Ableitelektrode in einer adäquaten Ableitposition im Nerven platziert.

Daraufhin entspannte sich der Versuchsteilnehmer für 10 Minuten, bevor das Experiment unter kontinuierlicher Aufzeichnung von EKG, Atemkurve, arteriellem Blutdruck und MSNA begann. Alle vier Parameter wurden dabei simultan mit einer Abtastrate von 200 Hz digitalisiert und auf einem PC aufgezeichnet (Chart for Windows, ADInstruments).

Unmittelbar vor Beginn der Aufzeichnung, also nachdem die Probanden mindestens 30 Minuten ruhig gelegen hatten, wurde die Blutprobe zur Messung von Katecholaminen, Aldosteron, Angiotensin II, Renin, Vasopressin, Kortisol, Elektrolyten und Osmolalität über die liegende Verweilkanüle entnommen.

2.2.3 Versuchsprotokoll

Wir begannen das Experiment mit einer fünfzehnminütigen Vorlaufphase, in deren Verlauf die Versuchsperson ruhig und entspannt auf dem Bett lag.

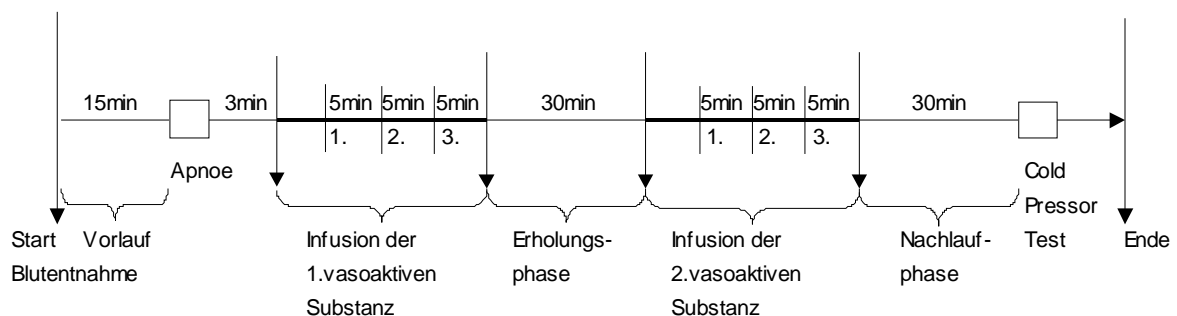
Es folgte nun als Beweis der korrekten intraneuralen Lage der Elektrode das Manöver der endexpiratorischen Apnoe, also eine möglichst lange Pause zwischen Expiration und der folgenden Inspiration. Dies allerdings maximal so lange, wie es keine größeren Anstrengungen oder Körperbewegungen nach sich ziehen würde, um eine Dislokation der Sonde zu vermeiden.

Nach weiteren drei Minuten Ruhe begannen wir in randomisierter Reihenfolge mit der Infusion des ersten blutdruckwirksamen Medikamentes, Phenylephrin oder Nitroprussid, in drei Stufen über jeweils fünf Minuten in entsprechenden Dosierungen (Grassi et al., 1995).

Dieser Phase ließen wir eine dreißigminütige Erholungsphase ohne Medikamenteninfusion folgen, in welcher die Kreislaufparameter wieder auf die Ausgangswerte fielen. Der Proband wurde weiterhin angehalten, entspannt und ruhig zu liegen.

Nach der Erholungsphase wurde die zweite vasoaktive Substanz infundiert. Anschließend folgte eine Nachlaufphase von dreißig Minuten. Zuletzt wurde über 60 Sekunden der CPT als weitere unabhängige Sympathikusstimulation durchgeführt. Anschließend wurde die Aufzeichnung beendet und die Versuchsvorrichtung vom Probanden entfernt (zur Veranschaulichung siehe Abb. 3).

Abbildung 3: schematische Darstellung des Versuchsablaufs



Die abgeleiteten Parameter systolischer und diastolischer Blutdruck, Herzfrequenz, Atemfrequenz und MSNA wurden in 60-Sekunden-Intervallen ausgewertet. Die Parameter der letzten fünf Minuten der Vorlaufphase dienten als Basiswerte für den Vergleich mit den folgenden Veränderungen. Da die Apnoephasen meist keine halbe Minute dauerten, wurden hier die Werte der letzten 15 Sekunden auf eine Minute hochgerechnet. Die 15 Minuten der beiden dreistufigen Medikamenteninfusionen wurden jeweils vollständig ausgewertet. Die letzten fünf Minuten der Erholungsphase und der Nachlaufphase wurden ausgewertet, um eventuelle medikamentenunabhängige Veränderungen der gemessenen Parameter aufzudecken. Die Werte der letzten 30 Sekunden des CPT wurden auf eine Minute hochgerechnet und mit der letzten Minute vor der Kälteexposition verglichen.

2.3 Mikroneurographie

Mit dem Nervenstimulator wurde zunächst transkutan mit einer Spannung von 30-80 Volt, einer Reizdauer von 0,2 ms und einer Stimulationsfrequenz von 1 Hz der Verlauf des N. peroneus superficialis aufgesucht. Die Stelle des Nervens, an welcher die Stimulation die deutlichste Muskelkontraktion auslöste, wurde als Punktionsstelle für die Ableitelektrode markiert. Die Referenzelektrode wurde etwa 3 bis 4 cm oberhalb dieser Stelle in das subkutane Fettgewebe eingebracht. Anschließend wurde die Ableitelektrode unter Stimulation mit einer Spannung von 2-5 Volt, einer Reizdauer von 0,2 ms und einer Impulsfrequenz von 1 Hz vorgeschoben, bis eine unwillkürliche, der Stimulationsfrequenz entsprechende Muskelkontraktion der vom N. peroneus superficialis innervierten Muskulatur auftrat oder der Proband Parästhesien angab. Die Elektrode wurde nun so platziert, daß vom Probanden keine Parästhesien mehr angegeben wurden und die Muskelkontraktionen bei einer Spannung von 1,5 Volt deutlich erkennbar waren. Die intraneurale Position der Elektrode wurde kontinuierlich durch die Reizung der intramuskulären Dehnungsrezeptoren mittels Beklopfen des Muskelbauches überprüft. Anschließend wurde die Elektrode adjustiert, bis die

muskuläre sympathische Nervenaktivität in Form von Bursts erkennbar war und ein gutes Signal-Rauschverhältnis vorlag.

Die korrekte Elektrodenlokalisation wurde dabei anhand folgender Kriterien festgesetzt:

- Ø Auftreten charakteristischer muskulärer sympathischer Nervensignale in Form rhythmisch an den Herzrhythmus gekoppelter Entladungen (Bursts)
- Ø Stimulierbarkeit durch Apnoemanöver
- Ø Keine Registrierung neuronaler Entladungen nach Schreckreizen, die typisch sind für sympathische Efferenzen zur Haut, ebenfalls keine Entladungen unter Bestreichen der Haut, im Sinne sensibler Afferenzen
- Ø Burstamplitude von mindestens dreifacher Höhe in Relation zum Hintergrundrauschen

Für das Aufsuchen des N. peroneus superficialis wurde ein Nervenstimulator (Model S48 Stimulator, Grass Instrument Company, Quincy, USA) verwendet. Als Ableit- und Referenzelektroden standen dampfsterilisierte Wolframdrähte zur Verfügung. Diese sind mit isolierendem Lack versehen, der sich beim Durchstechen der Haut leicht zurückschiebt, und so die nur wenige Mikrometer messende Spitze freigibt. Der Durchmesser der Elektroden betrug 0,2 mm. Die Impedanz der Ableitelektrode war höher als die der Referenzelektrode.

Die über die Elektroden abgeleitete Entladung postganglionärer muskulärer sympathischer Nervenfasern wurde zunächst 50000-mal verstärkt und anschließend gefiltert (Bandbreite 700-2000 Hz). Nach Aufarbeitung durch eine resistance-capacity-Einheit (RC-network) mit einer Zeitkonstanten von 0,1 s erfolgte die Darstellung des Summenpotentials als mittlere Spannungsschwankung.

Um eine mögliche Schädigung des Nerven zu verhindern, wurde der Zeitraum für das intranervale Auffinden der korrekten Ableitposition auf 45 Minuten, die gesamte Verweildauer der Elektrode im Nerven auf maximal drei Stunden begrenzt.

Zum Beweis einer korrekten intraneuralen Lage der ableitenden Elektrode wurden in den Versuch zwei unterschiedliche Manöver zur Stimulation der MSNA durchgeführt. Zu Beginn des Versuchs ließen wir den Probanden eine endexpiratorische Apnoe durchführen, am Ende des Experiments wurde der CPT eingesetzt.

2.4 Herzfrequenzvariabilität und hämodynamische Parameter

Die analogen Signale aller abgeleiteten Parameter (EKG, Blutdruck, Atemfrequenz und Mikroneurographie) wurden online mit einer Abtastrate von 200 Hz digitalisiert dargestellt und aufgezeichnet. Wir benutzten dafür PowerLab®-Aufzeichnungshardware (ADInstruments, Australien) und Chart for Windows Analysesoftware (Version 4.0, ADInstruments, Australien).

Das EKG wurde als bipolare Ableitung kontinuierlich mittels drei selbstklebenden Einmalelektroden (ARBO® Kendall, Medizinische Erzeugnisse, GmbH) über die gesamte Versuchszeit abgeleitet.

Für die HRV-Analyse wurden die EKG-Registrierungen zunächst visuell überprüft. Ektopische Signale und Artefakte wurden manuell von der Analyse ausgeschlossen. Anschließend wurde das RR-Intervall automatisch als eine Funktion der Zeit mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen und validierten Software-Programms analysiert (HRV Module for Chart for Windows Version 1, ADInstruments, Australien).

Im Zeitbereich wurden folgende Parameter analysiert: SDNN (standard deviation of NN intervals), RMSSD (root mean square of successive RR interval differences), und NN50/pNN50 (number/percentage of successive NN interval differences exceeding 50 ms). Während SDNN Ausdruck der Gesamtvariabilität ist, spiegeln RMSSD und pNN50 die sogenannte beat-to-beat Variabilität wider und werden hauptsächlich von der kardialen parasymphatischen Aktivität bestimmt (Kleiger et al. 1995).

Bei der Analyse im Frequenzbereich wurden die zyklischen Schwankungen der Herzfrequenz mittels Spektralanalyse erfasst und dem Niedrigfrequenzbereich

(0,04 - 0,15 Hz) bzw. dem Hochfrequenzbereich (0,15 - 0,40 Hz) zugeordnet. Während die Schwankungen im Hochfrequenzbereich vor allem durch den Vagus kontrolliert werden, reflektiert der Niedrigfrequenzbereich wahrscheinlich die kardiale sympathische Aktivität mit einem zusätzlichen vagalen Anteil (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). LF und HF Komponenten werden auch, bezogen auf die Gesamt-Power, in normalized units (n.u.) angegeben.

Die Atemexkursion wurde in Höhe der unteren Thoraxapertur mittels eines elastischen Gurts über einen Druckwandler (Pneumobelt, Nihon Kohden, Tokyo, Japan) registriert.

Die Erfassung des arteriellen Blutdrucks erfolgte photoplethysmographisch durch eine am Mittelglied des rechten Mittelfingers angebrachte pneumatische Manschette (Finapres, Ohmeda 2300, BOC Health Care, Colorado, USA). Diese Methode erlaubt die Feststellung relativer Blutdruckschwankungen mit großer Zuverlässigkeit, während die gemessenen absoluten Blutdruckwerte nicht immer mit den oszillometrisch gemessenen Werten übereinstimmen. Deshalb wurde der von der Fingermanschette angezeigte Blutdruck durch dreimalige oszillometrische Messung am Oberarm per Hand abgeglichen.

2.5 Durchführung der Baroreflextests

Die Modulation der MSNA durch den Baroreflex wurde von uns anhand Infusion zweier vasoaktiver Substanzen getestet:

- Ø als blutdrucksteigernde Substanz Phenylephrin (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield/USA; 10 mg Phenylephrin auf 50 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung = 0,2 mg/ml)
- Ø als blutdrucksenkende Substanz Nitroprussid (Schwarz Pharma GmbH; 6 mg Nitroprussidnatrium auf 50 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung = 0,12 mg/ml)

Die Substanzen wurden dabei in drei aufeinanderfolgenden Phasen ansteigender Dosis per Venenverweilknüle in eine antecubitale Vene infundiert. Phenylephrin in

Dosen von 0,3/ 0,6/ 0,9 µg/kg/min, Nitroprussid in Dosen von 0,4/ 0,8/ 1,2 µg/kg/min (Grassi et al., 1995). Jede dieser Phasen dauerte fünf Minuten. Vor Beginn dieser 15 Minuten setzten wir eine Einschwemmphase von 2:30 min mit einer Infusionsgeschwindigkeit von 20 µg/min Phenylephrin und 12 µg/min Nitroprussid. Diese Phase wurde nicht ausgewertet.

Zwischen den Infusionen der beiden Substanzen lag eine Pause von 30 Minuten. Welche Substanz wir zuerst infundierten, wurde für jeden Probanden per Zufallsprinzip ausgewählt.

Die Baroreflexvermittelte Modulation von MSNA und Herzfrequenz bestimmten wir durch Berechnung der absoluten und der prozentualen Veränderung, und stellten diese in Relation zu Änderungen des Blutdrucks unter Infusion der vasoaktiven Substanzen.

2.6 Laboruntersuchungen

Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin wurden in 5 ml-Spritzen abgenommen und unverzüglich in Vakuümröhrchen (Vacutainer®, Amersham, Großbritannien) überführt. Für die Entnahme von Aldosteron, Vasopressin, Renin und Angiotensin II wurden EDTA- bzw. Serumröhrchen verwandt (S-Monovette®, Sarstedt, Nymbrecht). Zur Vermeidung eines rasch einsetzenden Abbaus des Angiotensin II wurde diesen EDTA-Röhrchen zusätzlich 100 µl des Amino-peptidaseinhibitors Bestatin hinzugegeben. Die Proben wurden sofort in Eis gekühlt und nach Versuchsende mit 4000 Umdrehungen/min bei 4 °C über 10 Minuten zentrifugiert. Die Überstände wurden in Polysterolröhrchen pipettiert (Fa. Eppendorf). Anschließend wurden die Proben bei minus 80°C bis zur Bestimmung gelagert.

Adrenalin (Normalwerte 30-86 pg/ml) und Noradrenalin (Normalwerte 185-275 pg/ml) wurden mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (Chromsystems®, München) bestimmt. Die Intra- und Interassayvariationskoeffizienten liegen bei weniger als 6%.

Mittels Radioimmunoassay bestimmt wurden Serumaldosteron (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, California, USA; Intra- und Interassayvariationskoeffizient 5,0% bzw. 6,9%), Angiotensin II (Peninsula, Belmont, USA; Sensitivität: 0,3 pg/ml, Intra- und Interassayvariationskoeffizient 9% bzw. 11%), Plasmarenin (Renin III Generation, Sanofi Diagnostics Pasteur, Marnes-la-Coquette, Frankreich; Referenzbereich 3,6-20,1 pg/ml, Sensitivität <1pg/ml, Intra- und Interassayvariationskoeffizient <5% bzw. <14.5%) und Vasopressin (Buehlmann Laboratories AG, Allschwil, Schweiz; Referenzbereich 0-6,7 pg/ml, Sensitivität 1,25 pg/ml, Intra- und Interassayvariationskoeffizient <15,3% bzw. <20,2%).

Die Bestimmung von Kortisol erfolgte enzymimmunologisch (Enzymun-Test® Kortisol, Boehringer, Mannheim, Sensitivität: 27,6 nmol/l, Intra- und Interassayvariationskoeffizient <5%).

Serumelektrolytkonzentrationen und Serumosmolalität wurden entsprechend der Standardmethoden im Routinelabor der Klinischen Chemie der Medizinischen Universität zu Lübeck durchgeführt.

2.7 Statistik

Die photoplethysmographisch gemessenen systolischen und diastolischen Blutdruckwerte wurden jeweils über 60 Sekunden gemittelt und mit den Standardabweichungen gespeichert.

Die Burstanzahl pro Minute (Burstfrequenz), die Burstanzahl pro 100 Herzschläge (Burstinzidenz), sowie die total activity (Gesamtburstfläche) wurden als Parameter für die MSNA manuell ermittelt. Diese wurden zusammen mit der Herzfrequenz und dem arteriellen Blutdruck computergestützt für jede Minute analysiert. Für die Vorlaufphase führten wir zusätzlich aus der EKG-Ableitung eine ebenfalls computergestützte Analyse der HRV durch.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS auf einem PC. Die erhaltenen Mittelwerte wurden initial auf Normalverteilung getestet.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts (standard error of the mean: SEM).

Die Basiswerte der MSNA, der HRV-Analyse und der biochemischen Parameter in den Aldosteron- und Placeboversuchen wurden mittels gepaarten T-Tests verglichen.

Die Effekte der Behandlung mit Aldosteron oder Placebo und die Effekte der Nitroprussid- und Phenylephrininfusionen auf MSNA, Herzfrequenz und Blutdruck wurden mittels Analysis of Variance (ANOVA) mit dem Messwiederholungsfaktor Zeit und dem Faktor Behandlung statistisch getestet. Auch die Evaluierung der Effekte der endexpiratorischen Apnoe erfolgte mittels ANOVA. Wenn ANOVA einen signifikanten Effekt anzeigte, wurde der Duncan post hoc Test angeschlossen. Ein p-Wert $<0,05$ galt als statistisch signifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Daten der Probanden

Von den 16 getesteten Personen konnte bei neun Probanden (vier Frauen und fünf Männer) an beiden Versuchstagen über die gesamte Versuchszeit eine adäquate Ableitqualität erreicht werden. Ein Studienteilnehmer zog sein Einverständnis während des Versuches zurück, viermal kam es innerhalb der beiden Versuchstage zu Dislokationen der Ableitelektrode, zwei Versuche konnten wegen unzureichender Ableitqualität nicht vollständig ausgewertet werden. Keiner der Teilnehmer klagte über länger als wenige Stunden andauernde Missempfindungen.

Das Alter der Versuchspersonen betrug zwischen 22 und 48 Jahren ($30,4 \pm 9,6$ Jahre), das mittlere Körpergewicht zwischen 53 und 84 kg ($69,1 \pm 10,9$ kg), der Body-mass-index betrug zwischen 18,3 und 25,8 kg/m² ($22,6 \pm 2,6$ kg/m²) und die Größe zwischen 164 und 185 cm (175 ± 7 cm).

3.2 Ausgangswerte unter Ruhebedingungen

3.2.1 Laborparameter

Die Blutproben wurden jeweils kurz vor Versuchsbeginn, ca. eine Stunde nach der zweiten Aldosterongabe entnommen.

Die zweimalige Injektion von je 50 µg Aldosteron am Versuchstag führte zu einem signifikanten Anstieg der Serum-Aldosteronkonzentration auf $184,7 \pm 55,2$ pg/ml gegenüber $54,9 \pm 9,7$ pg/ml in den Placeboversuchen.

Die Konzentrationen von Renin und Angiotensin II, sowie von Kortison, Vasopressin, Adrenalin und Noradrenalin blieben dagegen unverändert. Aldosteron bewirkte keine signifikanten Veränderungen in der Konzentration der

Serumelektrolyte Natrium, Chlorid und Kalium, sowie auch keine Veränderung der Serumosmolalität (siehe Tab. 1).

Tabelle 1: Hormon- und Elektrolytwerte (Mittelwerte \pm SEM) in Plasma bzw. Serum nach Vorbehandlung mit Aldosteron und Placebo (n=9)

	Placebo	Aldosteron
Aldosteron i.S. (pg/ml)	54,9 \pm 9,7	184,7 \pm 55,2 *
Renin i.P. (pg/ml)	4,7 \pm 0,8	5,0 \pm 0,8
Angiotensin II i.P. (pg/ml)	5,7 \pm 0,9	5,5 \pm 1,3
Kortison i.P. (μ g/dl)	8,5 \pm 1,6	8,7 \pm 1,2
Vasopressin i.P. (pg/ml)	2,9 \pm 0,6	3,2 \pm 0,6
Adrenalin i.P. (pg/ml)	24,7 \pm 5,5	26,9 \pm 5,2
Noradrenalin i.P. (pg/ml)	166,8 \pm 39,0	140,0 \pm 28,4
Natrium i.S. (mmol/l)	140,1 \pm 0,4	139,5 \pm 0,7
Chlorid i.S. (mmol/l)	107,5 \pm 0,8	106,1 \pm 0,4
Kalium i.S. (mmol/l)	3,8 \pm 0,1	3,9 \pm 0,1
Osmolalität i.S. (mosm/kg)	288,5 \pm 1,0	289,5 \pm 1,9

* p <0,05, i.S. im Serum, i.P. im Plasma

3.2.2 MSNA und hämodynamische Parameter

Es zeigte sich in den Vorlaufphasen nach Aldosteron- bzw. Placebogabe kein signifikanter Unterschied der MSNA, gemessen als Frequenz (Bursts/min), Inzidenz (Bursts/100 Herzschläge) und total activity (a.u.). Die Vorbehandlung mit Aldosteron hatte also keinen Einfluß auf die MSNA in Ruhe. Auch die Herzfrequenz sowie der systolische und diastolische Blutdruck in Ruhe wurden durch die Aldosterongabe nicht signifikant verändert (siehe Tab. 2).

In einer dreißigminütigen Erholungsphase nach den Infusionen der vasoaktiven Substanzen konnten MSNA und hämodynamische Parameter wieder zu ihren Ruhewerten zurückkehren. Zum Ausschluß einer relevanten Veränderung im Verlauf des Versuches wurden die Werte des Vorlaufs mit den Werten der letzten fünf Minuten der Erholungsphase verglichen. Es fand sich hier keine signifikante Veränderung (siehe Tab. 3).

Tabelle 2: Werte unter Ruhebedingungen (Mittelwerte \pm SEM) von MSNA, Blutdruck und Herzfrequenz nach Vorbehandlung mit Aldosteron und Placebo (n=9)

	Placebo		Aldosteron		p-Wert
MSNA (Bursts/min)	16,4 \pm	2,3	17,0 \pm	2,2	n.s.
MSNA (Bursts/100 H.S.)	26,2 \pm	3,8	27,2 \pm	3,5	n.s.
MSNA total activity (a.u.)	266 \pm	46	320 \pm	46	n.s.
systolischer BD (mmHg)	132,7 \pm	5,8	132,3 \pm	7,1	n.s.
diastolischer BD (mmHg)	75,6 \pm	4,0	75,8 \pm	4,4	n.s.
Herzfrequenz (/min)	63,1 \pm	2,8	63,9 \pm	3,1	n.s.

MSNA muskelsympathische Nervenaktivität, H.S. Herzschläge, a.u. arbitrary units, BD Blutdruck, n.s. nicht signifikant

Tabelle 3: Vergleich von MSNA und Kreislaufparametern (Mittelwerte \pm SEM) in Vorlauf- und Erholungsphase (n=9)

	Placebo			Aldosteron		
	Vorlauf	Erholung	p-Wert	Vorlauf	Erholung	p-Wert
MSNA (bursts/min)	16,4 \pm 2,3	15,6 \pm 2,3	n.s.	17,0 \pm 2,2	16,5 \pm 1,8	n.s.
MSNA total activity (a.u.)	266 \pm 46	248 \pm 43	n.s.	320 \pm 46	309 \pm 42	n.s.
Blutdruck systolisch (mmHg)	132,7 \pm 5,8	139,7 \pm 4,4	n.s.	132,3 \pm 7,1	130,0 \pm 3,4	n.s.
Blutdruck diastolisch (mmHg)	75,6 \pm 4,0	80,6 \pm 2,7	n.s.	75,8 \pm 4,4	72,2 \pm 1,8	n.s.
Herzfrequenz (/min)	63,1 \pm 2,8	61,5 \pm 3,4	n.s.	63,9 \pm 3,1	64,2 \pm 3,4	n.s.

a.u. arbitrary units, n.s. nicht signifikant

3.2.3 Herzfrequenzvariabilität

Die Vorbehandlung mit Aldosteron hatte in der Vorlaufphase eine Erhöhung der HRV-Parameter SDNN, RMSSD und NN50/pNN50 sowie der total power zur Folge ($p < 0,05$ für SDNN und total power) (siehe Tab. 4). Dies ist vereinbar mit einer Erhöhung der kardialen vagalen Aktivität (Kleiger et al., 1995).

Tabelle 4: Werte der HRV unter Ruhebedingungen (Mittelwerte \pm SEM) nach Placebo- und Aldosteronvorbehandlung (n=9)

	Placebo		Aldosteron		p-Wert
RR Intervall (ms)	940,9	\pm 45,6	967,6	\pm 53,5	n.s.
SDNN (ms)	48,6	\pm 4,9	60,6	\pm 5,9	0,02
RMSSD (ms)	37,8	\pm 4,1	49,8	\pm 8,7	0,06
NN50 (Anzahl)	54,1	\pm 12,6	74,0	\pm 16,1	0,09
pNN50 (%)	16,5	\pm 13,9	24,2	\pm 6,0	0,11
Total power (ms ²)	2510,9	\pm 513,1	3956,4	\pm 677,4	0,02
LF (ms ²)	942,3	\pm 300,4	1341,1	\pm 341,1	n.s.
LF (n.u.)	57,0	\pm 3,5	56,4	\pm 5,2	n.s.
HF (ms ²)	550,8	\pm 131,3	1069,6	\pm 383,4	0,09
HF (n.u.)	37,1	\pm 3,0	40,0	\pm 5,3	n.s.
LF/HF	1,7	\pm 0,2	2,1	\pm 0,8	n.s.

SDNN standard deviation of NN intervals - Standardabweichung der NN-Intervalle, RMSSD root mean square of successive RR interval differences - Quadratwurzel des Mittelwertes der Summe der quadrierten Differenzen aller sukzessiven RR-Intervalle, NN50 Anzahl der Intervallunterschiede aufeinanderfolgender NN-Intervalle größer als 50 ms, pNN50 Prozentsatz, erhalten durch die Division von NN50 durch die gesamte Anzahl der NN-Intervalle, LF low frequency, HF high frequency, n.u. normalized units, n.s. nicht signifikant

3.3 Ergebnisse unter Baroreflextestung

Die Stimulation bzw. Deaktivierung der arteriellen Barorezeptoren erfolgte mittels intravenöser Infusion von vasoaktiven Substanzen in drei ansteigenden Dosisstufen.

Die während der jeweils letzten Minute jeder Dosisstufe gewonnenen Daten (Minute 5, 10 und 15) wurden mit den Werten der Vorlaufphase verglichen.

3.3.1 Barorezeptoraktivierung

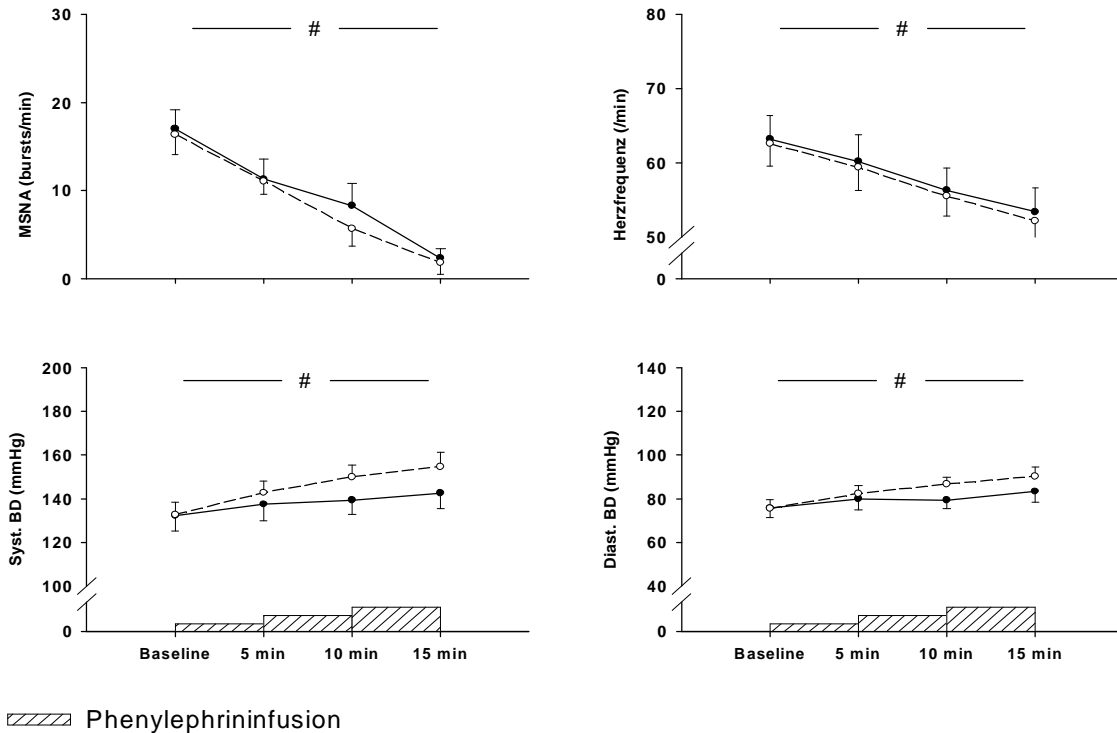
Während der Phenylephrininfusion stieg der systolische Blutdruck von $132,7 \pm 5,8$ auf $154,7 \pm 6,5$ mmHg (Placebo), bzw. von $132,3 \pm 7,1$ auf $142,6 \pm 7,0$ mmHg (Aldosteron). Der diastolische Blutdruck stieg von $75,6 \pm 4,0$ auf $90,3 \pm 4,0$ mmHg (Placebo) bzw. von $75,8 \pm 4,4$ auf $83,4 \pm 5,1$ mmHg (Aldosteron).

Die Herzfrequenz sank von $63,1 \pm 2,8$ auf $52,2 \pm 2,4$ /min (Placebo) bzw. von $63,9 \pm 3,1$ auf $53,4 \pm 3,2$ /min (Aldosteron).

Die Frequenz der MSNA fiel von $16,4 \pm 2,3$ auf $1,8 \pm 1,3$ bursts/min (Placebo) bzw. von $17,0 \pm 2,2$ auf $2,3 \pm 1,1$ bursts/min (Aldosteron). Die total activity sank von 309 ± 42 auf 28 ± 24 a.u. (Placebo), bzw. von 320 ± 46 auf 35 ± 18 a.u. (Aldosteron).

Diese Veränderungen wurden in gleichem Ausmaß sowohl in den Placebo- als auch in den Aldosteronversuchen beobachtet (siehe Abb. 4).

Abbildung 4: Einfluss von Aldosteron oder Placebo auf Blutdruck, Herzfrequenz und MSNA (Mittelwerte \pm SEM) während einer Phenylephrin-Infusion bei neun gesunden Probanden.



p < 0,05 für Aldosteron und Placebo (ANOVA repeated measures factor time).

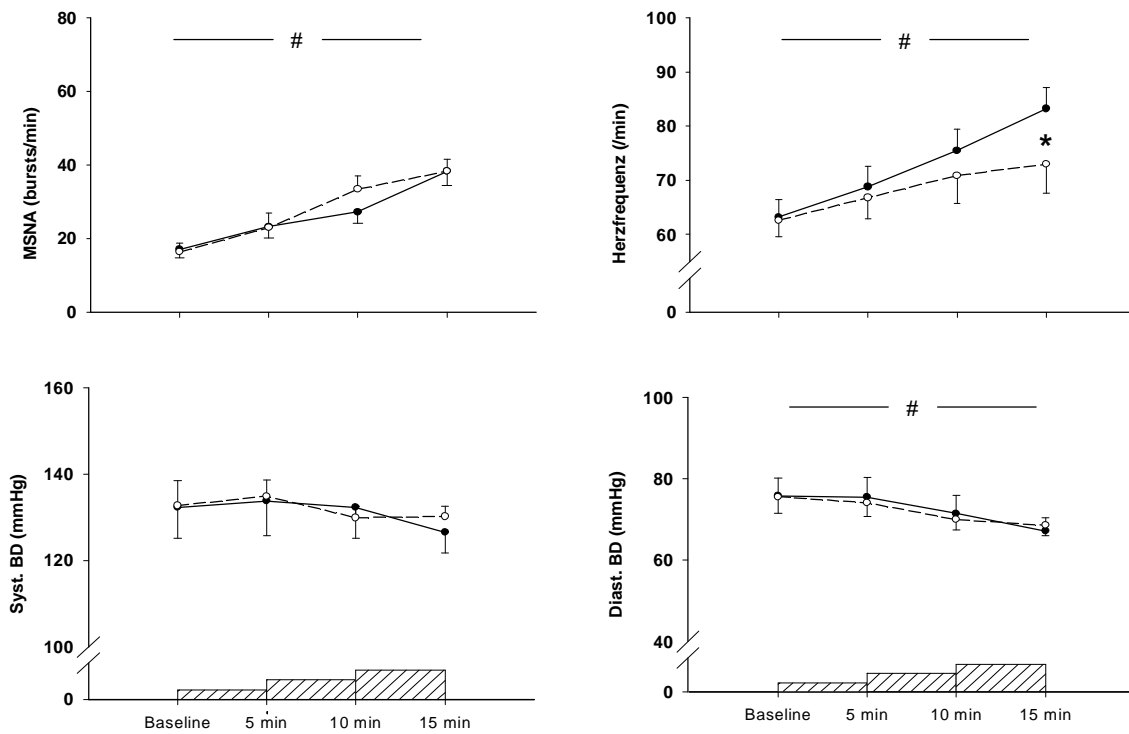
3.3.2 Barorezeptordeaktivierung

Die Infusion von Nitroprussid bewirkte einen Abfall des diastolischen Blutdrucks von $75,6 \pm 4$, auf $68,6 \pm 2,6$ mmHg unter Placebo bzw. von $75,8 \pm 4,4$ auf $67,2 \pm 3,2$ mmHg unter Aldosteron. Der systolische Blutdruck blieb unverändert.

Die Deaktivierung der Barorezeptoren durch Nitroprussid führte zu einem Anstieg der MSNA-Frequenz von $16,4 \pm 2,3$ auf $38,3 \pm 3,2$ bursts/min (Placebo), bzw. $17,0 \pm 2,2$ auf $38,3 \pm 3,8$ bursts/min (Aldosteron). Die total activity stieg von 309 ± 42 auf 642 ± 73 a.u. (Placebo) bzw. von 320 ± 46 auf 841 ± 119 a.u. (Aldosteron).

Auch die Herzfrequenz stieg unter Nitroprussid, von $62,6 \pm 3,0$ auf $73,0 \pm 5,4$ /min (Placebo), bzw. von $63,2 \pm 3,2$ auf $83,2 \pm 3,9$ /min (Aldosteron). Der Herzfrequenzanstieg war nach der Vorbehandlung mit Aldosteron jedoch stärker. Diese durch Aldosteron induzierte Verstärkung des Herzfrequenzanstiegs erreichte statistische Signifikanz in der höchsten Dosisstufe ($p = 0,03$) der Nitroprussid-Infusion (siehe Abb. 5).

Abbildung 5: Einfluss von Aldosteron oder Placebo auf Blutdruck, Herzfrequenz und MSNA (Mittelwerte \pm SEM) während einer Nitroprussid-Infusion bei neun gesunden Probanden.



▨ Nitroprussidinfusion

—● Aldosteron

- -○ Placebo

$p < 0,05$ für Aldosteron und Placebo (ANOVA)

* $p < 0,05$ Aldosteron vs. Placebo (post hoc test)

3.4 Veränderungen während sympathoexzitatorischer Manöver

3.4.1 Endexpiratorische Apnoe

Die Apnoephasen dauerten im Mittel in den Placeboversuchen $29,0 \pm 5$ Sekunden und in den Aldosteronversuchen $28,7 \pm 3,7$ Sekunden, und waren damit nicht unterschiedlich lang. Es wurden jeweils die letzten 15 Sekunden der Apnoe (hochgerechnet auf eine Minute) mit der letzten Minute vor der Apnoe verglichen. Während der Apnoe kam es regelhaft zu einem signifikanten Anstieg der MSNA (Burstfrequenz wie auch total activity) unter Aldosteron- und Placebovorbehandlung. Der Frequenzanstieg der MSNA war dabei unter Aldosteron etwas stärker als unter Placebo, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen ($102 \pm 31\%$ gegenüber $65 \pm 36\%$, $p=0,1$) (siehe Abb. 6).

Auch der diastolische Blutdruck stieg während der Apnoe in beiden Versuchsbedingungen an, erreichte dabei aber nur in den Aldosteronexperimenten statistische Signifikanz (Anstieg von $4,8 \pm 1,9$ mmHg, $p=0,04$ gegenüber $2,3 \pm 1,9$ mmHg). Zwischen Placebo- und Verumversuchen gab es keinen signifikanten Behandlungseffekt (siehe Abb. 7).

In beiden Versuchsbedingungen blieb der systolische Blutdruck während der Apnoe konstant.

Abbildung 6: Einfluß der Apnoe auf die MSNA (Mittelwerte prozentual \pm SEM, n=9)

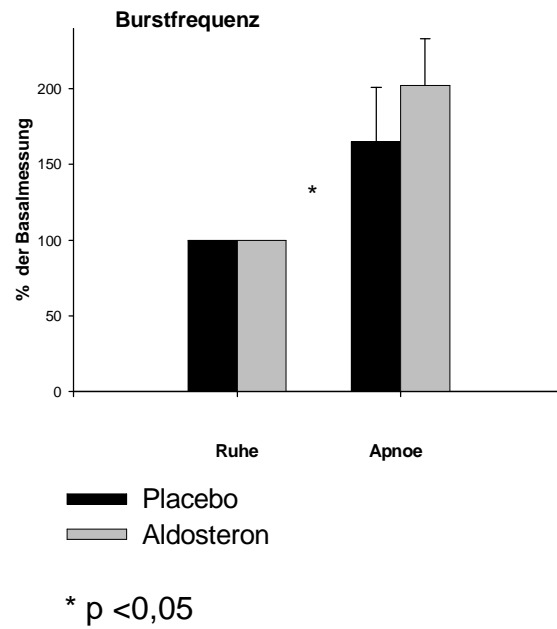
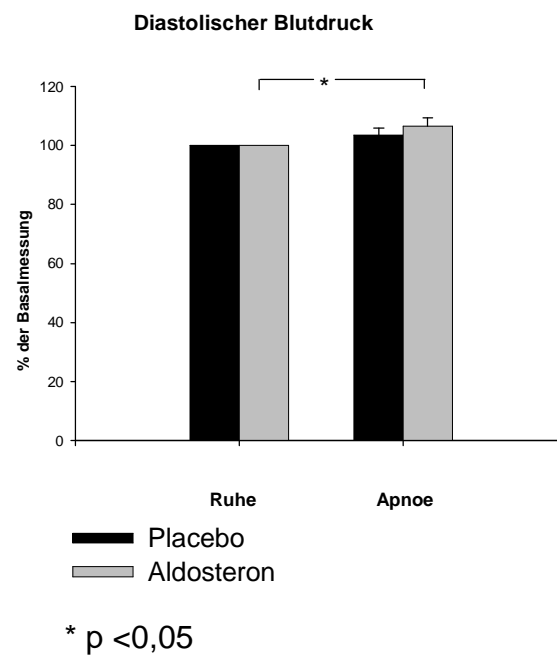


Abbildung 7: Einfluß der Apnoe auf den diastolischen Blutdruck (Mittelwerte prozentual \pm SEM, n=9)



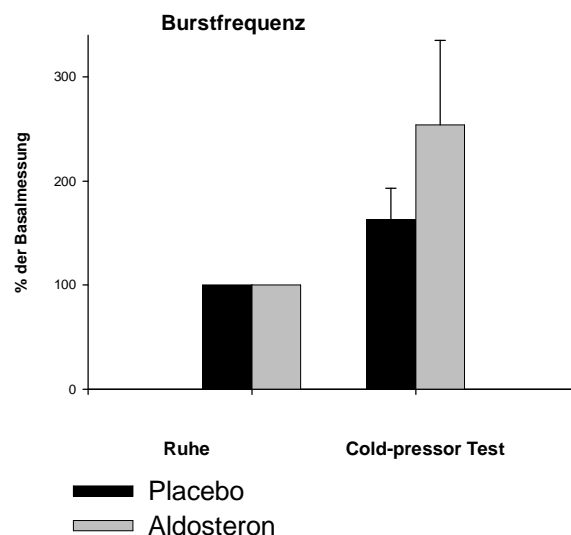
3.4.2 Eiswassertest

Verglichen wurden die letzten 30 Sekunden des Eiswassertests (hochgerechnet auf eine Minute) gegenüber der letzten Minute vor der Kälteexposition.

Da dieser Test oft starke körperliche Reaktionen wie Zittern hervorruft, verrutschte hierunter mehrfach die Ableitelektrode, so daß jeweils nur fünf auswertbare Signale pro Versuchsreihe zustande kamen. Die Berechnung eines statistischen Unterschiedes in der Reaktion zwischen Verum- und Placebobedingungen erscheint bei dieser geringen Anzahl nicht sinnvoll.

Eindeutig zeigt sich jedoch unter der Kälteexposition ein Anstieg der MSNA, gemessen als Burstfrequenz (Anstieg von $63,2 \pm 30,3\%$ unter Placebo bzw. von $153,8 \pm 81\%$ unter Aldosteron) sowie als total activity (Anstieg von $135,9 \pm 41,7\%$ in den Placeboversuchen bzw. von $209 \pm 27,7\%$ in den Aldosteronversuchen) (siehe Abb. 8).

Abbildung 8: Einfluß des Cold-pressor Tests auf die MSNA (Mittelwerte prozentual \pm SEM, n=5)



4 Diskussion

In unserer Studie wurden die akuten Effekte von intravenös verabreichtem Aldosteron auf das autonome Nervensystem und auf den Baroreflex bei gesunden jungen Probanden untersucht. Zusammengefasst bewirkten die beschriebenen Aldosteroninjektionen eine Erhöhung einiger time domain Parameter der HRV in Ruhe, welche mit dem kardialen Vagotonus korrelieren. Dieses Ergebnis weist darauf hin, daß Aldosteron den Parasympathikus in Ruhe verstärken könnte. Weiterhin fanden wir eine Steigerung des Herzfrequenzanstiegs während der medikamentös induzierten Barorezeptordeaktivierung in den Aldosteron-Versuchen. Dagegen beeinflusste Aldosteron weder die basale MSNA noch deren Regulation durch den Baroreflex.

Im Folgenden werden die Ergebnisse unserer Studie mit denen anderer Arbeitsgruppen verglichen und mögliche Ursachen für unterschiedliche Ergebnisse diskutiert. In einem zweiten Teil werden Wirkmechanismen des Aldosterons dargelegt, die möglicherweise die beobachteten Effekte erklären könnten. Zuletzt werden methodische Einschränkungen der vorliegenden Studie sowie die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf chronische Krankheitsbilder bewertet.

4.1 Vergleich mit anderen Studien

4.1.1 Fehlender Einfluss des Aldosterons auf die MSNA

Die mittels Mikroneurographie abgeleitete MSNA wurde in unserer Studie durch die Gabe von Aldosteron nicht verändert. Eine zweite, nach der Veröffentlichung unserer Daten durchgeführte Studie mit sehr ähnlichem Design konnte ebenfalls keinen akuten Effekt von Aldosteron auf die basale MSNA bei gesunden Probanden nachweisen (Monahan et al. 2007). Beide Studien zeichnen sich dadurch aus, daß sie erstmals die Wirkung von intravenös appliziertem Aldosteron

auf das sympathische Nervensystem des Menschen mittels direkter Ableitung der MSNA aus dem N. peroneus untersuchen. In mehreren früheren Untersuchungen konnte eine gute Korrelation der MSNA mit Plasma-Noradrenalinspiegeln bei gesunden Probanden gezeigt werden (Wallin et al., 1988). Darüber hinaus zeigten Wallin et al. eine hohe Korrelation der MSNA mit dem kardialen und renalen Noradrenalin-Spillover, dem Goldstandard für die Messung der Aktivität des sympathischen Nervensystems (Wallin et al. 1992; Wallin et al., 1996). Bei unveränderter MSNA nach Aldosterongabe ist daher mit hoher Sicherheit davon auszugehen, daß Aldosteron in unserer Studie wie in der von Monahan et al. tatsächlich keinen Einfluss auf die sympathische Nervenaktivität hatte.

Somit wird die in der Literatur diskutierte Annahme, daß Aldosteron den Sympathikotonus erhöhen könnte, weder durch unsere Ergebnisse noch durch die von Monahan et al. bestätigt. Die Hypothese, daß Aldosteron zu einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems führen könnte, beruht dabei zum einen auf tierexperimentellen Studien, zum anderen auf Untersuchungen am Menschen. Wang und Huang beobachteten nach intrazerebraler Aldosteroninfusion bei Ratten eine Steigerung von Herzfrequenz und sympathischer Nervenaktivität sowie eine Abschwächung des Baroreflexes. Das sympathische Nervensystem wurde hierbei als renale sympathische Nervenaktivität (RSNA) erfasst (Wang et al., 2003; Huang et al., 2005). Umgekehrt fanden Francis et al. nach Blockade intrazerebraler Mineralokortikoidrezeptoren mit dem Aldosteronantagonisten Spironolacton bei herzinsuffizienten Ratten eine Verbesserung der Baroreflexfunktion. Auch hier wurde die RSNA abgeleitet (Francis et al. 2001).

Nach der Gabe von Spironolacton wurde auch in Untersuchungen am Menschen eine Verbesserung des kardialen Sympathikotonus bzw. eine Zunahme parasympathischer Einflüsse beschrieben (Barr et al., 1995; Mac Fayden et al., 1997; Kasama et al., 2003). Die Autoren schließen daraus auf eine sympathikussteigernde Wirkung von Aldosteron. In den genannten Untersuchungen am Menschen wurde die Aktivität des autonomen Nervensystems jedoch nur mittels ¹²³I-MIGB-Szintigraphie oder HRV-Analyse erfasst, die MSNA wurde nicht abgeleitet.

Ganz im Gegensatz zu diesen Untersuchungsergebnissen fanden Mion et al. eine Suppression der MSNA bei gesunden Probanden nach zwei bzw. sieben Tagen einer Behandlung mit dem oralen Mineralokortikoid Fludrocortison (Mion et al., 1994). Nach siebentägiger Behandlung mit Fludrocortison führte eine Steigerung des kardialen Auswurfs infolge der Retention von Natrium und Wasser über den Baroreflex zu einer Suppression der MSNA. Interessanterweise fand sich eine Suppression der MSNA auch bereits nach zweitägiger Behandlung mit dem Mineralokortikoid, obwohl zu diesem Zeitpunkt noch keine Veränderungen des intravasalen Volumens und des kardialen Auswurfs nachweisbar waren. Als Ursache dieses frühen Einflusses von Aldosteron auf die MSNA diskutiert der Autor humorale Mechanismen, wie z.B. Veränderungen von Vasopressin, ANP oder Angiotensin II.

Diese zum Teil gegensätzlichen Ergebnisse bezüglich der Wirkungen des Aldosterons auf das sympathische Nervensystem könnten dadurch bedingt sein, daß Aldosteron in den aufgeführten Studien unterschiedlich lange in unterschiedlichen Anwendungsmodi und/oder Wirkdosen appliziert wurde. So wurde in vielen tierexperimentellen Studien Aldosteron bzw. sein Antagonist Spironolacton intrathekal infundiert und entfaltete seine Wirkungen durch Stimulation bzw. Hemmung zentraler Mineralokortikoidrezeptoren. Unabhängig davon lassen tierexperimentelle Studien sicher nur eingeschränkt Rückschlüsse auf Wirkmechanismen beim Menschen zu. Darüber hinaus wurde in den Studien am Menschen außer bei Monahan et al. nicht die Wirkung von Aldosteron selbst, sondern seines Antagonisten Spironolacton untersucht. Schließlich wurde das sympathische Nervensystem in den meisten angesprochenen humanexperimentellen Studien wie bereits erwähnt nur indirekt mittels ¹²³I-MIGB-Szintigraphie oder HRV-Analyse erfasst (Barr et al., 1995; Mac Fayden et al., 1997; Kasama et al., 2003).

Mion et al. lagen mit ihrer Fragestellung näher an den physiologischen Interaktionen von Aldosteron und dem sympathischen Nervensystem beim Menschen. Anders als wir in unserer Studie verwendeten sie jedoch den Aldosteron-Agonisten Fludrocortison, der neben mineralokortikoiden auch glukokortikoide Wirkungen besitzt. Neben der unterschiedlichen Applikationsart

(intravenös vs. oral) gibt es zwischen unserer Studie und der von Mion et al. deutliche Unterschiede in der Zeitspanne des Versuchs. So können die von Mion postulierten humoralen Wirkungen in unserer Studie keine Rolle gespielt haben.

4.1.2 Veränderungen der HRV und der Herzfrequenzregulation durch den Baroreflex

Während Aldosteron in unserer Studie die MSNA nicht veränderte, hatte es signifikante Effekte auf die HRV. Nach Aldosterongabe erhöhte sich der time domain Parameter SDNN als Zeichen einer vermehrten Variabilität der RR-Abstände, sowie der frequency domain Parameter total power. Beide Parameter werden durch den kardialen Vagotonus beeinflusst (Hayano et al., 1991; Kleiger et al., 1995). Passend hierzu zeigten die ebenfalls parasympathisch regulierten time domain Parameter RMSSD und NN50/pNN50 ein Trend zu einer Erhöhung in den Aldosteronversuchen.

Die durch Aldosteron induzierten Veränderungen dieser time- und frequency domain Parameter der HRV sind also mit einer Erhöhung des kardialen Vagotonus vereinbar. Unser Ergebnis steht damit in Einklang mit einer früheren Untersuchung von akuten Aldosteroneffekten bei gesunden Probanden, in der ein signifikanter Anstieg von pNN50 nach intravenöser Gabe von 50 µg Aldosteron beschrieben wurde (Schmidt et al., 1999).

Andererseits stimmen unsere Ergebnisse bezüglich der Regulation von Herzfrequenz und MSNA durch den Baroreflex nicht mit zwei weiteren Studien ähnlichen Designs überein. In unserer Studie verstärkte Aldosteron den Anstieg der Herzfrequenz während der Barorezeptor-Deaktivierung mittels Nitroprussid. Wir konnten jedoch keinen Effekt von Aldosteron auf die Herzfrequenz nach Barorezeptor-Aktivierung mittels Phenylephrin oder auf die Baroreflexregulation der MSNA nachweisen. Im Gegensatz hierzu schwächte Aldosteron in einer Studie von Yee und Struthers den Abfall der Herzfrequenz während der Phenylephrin-Infusion bei gesunden Probanden ab, wohingegen keine Effekte während der Nitroprussid-Infusion auftraten. In dieser Studie wurde der Baroreflex

über indirekte Parameter wie Blutdruck und Herzfrequenz erfasst, die MSNA wurde nicht abgeleitet (Yee und Struthers, 1998). Die erst kürzlich veröffentlichte Studie von Monahan et al. konnte erstmals zeigen, daß Aldosteron sowohl die Baroreflex-Kontrolle der Herzfrequenz als auch der MSNA abschwächt (Monahan et al., 2007). Die Daten von Monahan et al. und teilweise auch die von Yee und Struthers stützen das in der Literatur diskutierte Konzept, daß Aldosteron möglicherweise die Baroreflexsensitivität beim Menschen vermindert.

Eine mögliche Erklärung für diese von unserer Studie abweichenden Ergebnisse liegt in den unterschiedlichen Protokollen, die für die Baroreflex-Tests angewendet wurden. So wurde der systolische Blutdruck in den Experimenten von Yee und Struthers um durchschnittlich ca. 60 mmHg gesteigert oder gesenkt, in unseren Experimenten jedoch nur um durchschnittlich 20 mmHg. Die in unserer Studie erzielten leichten Blutdruckveränderungen bewirkten jedoch ebenfalls signifikante reflektorische Anpassungen von MSNA und Herzfrequenz, und waren somit gut geeignet, die Baroreflexregulation innerhalb physiologischer Grenzen zu untersuchen. Dagegen verwendeten Monahan et al. zur Baroreflex-Testung die modifizierte Oxford-Technik, welche auf kurz hintereinander folgenden Bolusinjektionen von Nitroprussid und Phenylephrin basiert. Mit dieser Technik wird wahrscheinlich die akute Baroreflexfunktion gut erfasst. Die von uns gewählte kontinuierliche Infusion der vasoaktiven Substanzen in drei Dosisstufen stellt ebenfalls ein etabliertes Protokoll zur Baroreflex-Testung dar (Grassi et al., 1995). Möglicherweise führt hierbei eine Adaptation der Barorezeptoren zu einer Verschleierung möglicher akuter Effekte des Aldosterons, was aber durchaus physiologischen Bedingungen entspricht.

Darüber hinaus wurde Aldosteron in den genannten Studien in anderen Dosierungen und Verabreichungsmodi als in unserer Versuchsreihe angewendet, was ebenfalls zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben kann. So verabreichten Yee und Struthers wesentlich höhere Dosierungen des Aldosterons als intravenöse Infusion. Die Konzentration von Aldosteron im Serum erreichte dort im Mittel mit 489,8 pg/ml ca. das Siebenfache der Placebokontrollen, in unserer Studie nur ca. das Dreifache. Eine Abhängigkeit der Wirkungen Aldosterons von der applizierten Dosis ist bekannt (Schmidt et al., 1999) und wird

in Kapitel 4.2.1 (Seite 48 f.) dieser Arbeit weiter diskutiert. Im Übrigen kann selbst bei Erkrankungen des Herzkreislaufsystems, bei denen ein pathogenetischer Einfluss von Aldosteron angenommen wird oder bewiesen ist, der Serumaldosteronspiegel im normalen oder hochnormalen Bereich liegen. Vor diesem Hintergrund hat die Untersuchung der Effekte einer eher geringen Aldosterondosis wie in unserer Studie ihre Berechtigung.

4.1.3 Hormon- und Elektrolytveränderungen

Die zweimalige intravenöse Gabe von 50 µg Aldosteron am Versuchstag resultierte in einem Anstieg des Serumaldosterons auf das Dreifache der Ausgangswerte. Die so erreichten Serumaldosteronspiegel liegen damit im hochphysiologischen Bereich, wie sie bei gesunden Menschen nach dem Aufrichten von einer liegenden in eine aufrechte Position oder nach einer natriumarmen Diät von 10-15 mmol/Tag beobachtet werden (Coghlan et al., 1979). Solche Werte finden sich aber auch bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen, bei denen eine pathogenetische Rolle des Aldosterons vermutet wird oder bereits erwiesen ist, wie der chronischen Herzinsuffizienz (Sigurdsson et al., 1994; Kato et al., 1996) oder dem arteriellen Hypertonus (Kurbanov et al., 2003).

Die von uns gewählte Dosis sowie der Zeitrahmen der Aldosteron-Vorbehandlung führten zu einer Erhöhung des Serumaldosteronspiegels ohne Veränderungen der Elektrolyte, insbesondere Natrium und Kalium, und der Osmolalität. Auch blieben die Spiegel von Renin und Angiotensin II, sowie von Kortisol, Vasopressin und der Plasmakatecholamine unbeeinflusst. Somit konnten in unserer Studie akute Aldosteron-Effekte in vivo untersucht werden, die wie beabsichtigt unabhängig von Natrium- und Wasserretention sowie Angiotensin II vermittelt werden.

4.2 Mögliche Wirkungsweisen des Aldosterons

Im nächsten Abschnitt werden einige Wirkmechanismen des Aldosterons dargelegt, die möglicherweise die in unserer Studie beobachteten Effekte erklären könnten.

4.2.1 Genomische und nichtgenomische Hormonwirkungen

Durch die zweimalige Gabe des Aldosterons am Versuchstag wurden akute bis subakute Aldosteronwirkungen erfasst. Die Wirkung des Aldosterons wurde dabei möglicherweise einerseits durch frühe genomische Wege übermittelt. Dieser Weg ist seit langem bekannt und beinhaltet unter anderem die bereits angesprochene Natrium- und Wasserresektion unter gleichzeitiger Kaliumexkretion. Die volle Hormonwirkung wird dabei erst nach Stunden bis Tagen erreicht. Andererseits ist sehr gut vorstellbar, daß Aldosteron in unserer Studie auch nichtgenomische Wirkungen entfaltet, die mit einer Latenz von Sekunden bis Minuten auftreten (siehe dazu auch Kapitel 1.1.1, Seite 7 ff.). Eine genaue Differenzierung zwischen genomischen und nichtgenomischen Effekten ist auf der Grundlage unseres Studiendesigns nicht möglich.

Bei den wahrscheinlich nichtgenomisch übermittelten Wirkungen scheint unter anderem die Höhe des Aldosteronspiegels die Effekte des Aldosterons auf das kardiovaskuläre System entscheidend zu beeinflussen. So beobachteten Schmidt et al. nach der Gabe von 0,5 mg Aldosteron bei den Probanden innerhalb von Minuten, also über nichtgenomische Mechanismen, einen Tonusanstieg der peripheren Gefäße. Niedrigere Dosen von 0,05 mg Aldosteron (ähnlich der von uns gewählten Dosierung) führten dagegen jedoch nicht zu einer peripheren Vasokonstriktion, sondern erhöhten im späteren Verlauf des Versuches den kardialen Vagotonus (Schmidt et al, 1999).

Des Weiteren scheint auch die Interaktion von Aldosteron mit dem adrenergen System Einfluss auf die kardiovaskulären Reaktionen zu haben. Diese Hypothese wurde für die nichtgenomischen Mechanismen ebenfalls von Schmidt et al. bereits in einer Studie untermauert (Schmidt et al., 2001). In dieser kam es nach

Vorbehandlung der Probanden mit dem Betablocker Esmolol nach Aldosterongabe zu einem Blutdruckanstieg, nach Vorbehandlung mit dem Betarezeptoragonisten Dobutamin führte Aldosteron jedoch zu einer milden Blutdrucksenkung. Bei allen Betrachtungen über die Wirkungen von Aldosteron ist also zu berücksichtigen, daß zumindest die schnelle Modulation des Herzkreislaufsystems abhängig ist von der Aldosteronmenge und dem Erregungszustand des sympathischen Systems, auf welchen diese Aldosteronmenge trifft.

4.2.2 Zentrale und periphere Wirkungen

In unserer Studie bleibt offen, ob Aldosteron den kardialen Vagotonus in Ruhe und die Baroreflex-Regulation der Herzfrequenz über zentrale oder periphere Wirkmechanismen beeinflusst. Daß Aldosteron durchaus über zentrale MR auf das autonome Nervensystem Einfluss hat, zeigen verschiedene Tierversuche. In Experimenten an Ratten injizierte Gómez-Sánchez Aldosteron intraventrikulär (Gómez-Sánchez, 1997). Dabei kam es zu einem signifikanten Blutdruckanstieg, welcher nach ebenfalls zentraler Gabe eines MR-Antagonisten (Prorenon) reversibel war.

Studien am Menschen zeigten bisher allerdings, dass eine Erhöhung des Vagotonus eher durch eine Blockade des zentralen MR auszulösen war (Yee et al., 2001; Fletcher et al., 2004). Aldosteron könnte jedoch ebenfalls zu einer zentral vermittelten Erhöhung des Vagotonus führen, indem es zentrale nichtklassische MR aktiviert, deren Bedeutung bisher nicht vollständig geklärt ist. Diese Art von zentralen MR zeichnen sich unter anderem dadurch aus, dass sie nicht durch den klassischen MR-Antagonisten Spironolacton zu beeinflussen sind (Lösel et al., 2004).

Es erscheint also durchaus denkbar, dass Aldosteron in unseren Experimenten über einen zentralen Wirkmechanismus eine allgemeine Verstärkung des basalen Vagotonus bewirkt. In dem erhöhten basalen Vagotonus könnte auch eine Erklärung für den beobachteten stärkeren Anstieg der Herzfrequenz während der Baroreflexdeaktivierung in den Aldosteronversuchen liegen. Die plötzliche Unterbrechung dieses erhöhten Vagotonus durch den Blutdruckabfall könnte zu

einer überschießenden Reaktion des Herzens im Sinne einer verstärkten Herzfrequenzzunahme geführt haben.

Neben möglichen zentralen Effekten des Aldosterons könnten jedoch auch periphere Wirkmechanismen zu den in unserer Studie beobachteten Veränderungen der Herzfrequenzregulation führen. So wäre eine verstärkte Ansprechbarkeit der Endorgane - in diesem Fall des Herzens - gegenüber Katecholaminen eine mögliche Erklärung für die beobachteten Herzfrequenzveränderungen. Dieser Einfluss konnte bereits in mehreren Studien für Glukokortikoide gezeigt werden, so führt z.B. nach Hydrocortisonvorbereitung die intraarterielle Gabe von Noradrenalin zu einer signifikanten Steigerung des Gefäßwiderstandes (Sudhir et al., 1989; Hauck et al., 1997).

Daß für Aldosteron ähnliches gilt, zeigen Versuche von Weber et al.: Die durch Noradrenalin angeregte Kontraktion von Hasenarterien konnte durch die Hinzugabe von Aldosteron verstärkt und verlängert werden. Dies geschieht wahrscheinlich, indem Aldosteron den Abstrom von Noradrenalin vom Rezeptor der Gefäßmuskelzelle hemmt (Weber et al., 1982).

4.2.3 Interaktion von Aldosteron mit Stickstoffmonoxid

Eine weitere Möglichkeit, wie Aldosteron die Ansprechbarkeit der Endorgane beeinflussen könnte, liegt in der Interaktion des Hormons mit Stickstoffmonoxid (NO). NO kann physiologischerweise als Botenstoff von Endothelzellen an die umliegenden glatten Muskelzellen abgegeben werden (auch endothelium derived relaxing factor). Freigesetztes NO führt über eine Aktivierung der Guanylatzyklase mit Erhöhung des second messengers cGMP zu einer Tonussenkung der glatten Gefäßmuskelzelle. Für NO wurden in Tierversuchen weitere Effekte nachgewiesen, so fand sich eine Hemmung der vaskulären und chronotropen Reagibilität gegenüber einer Stimulation des kardialen Sympathikus sowie eine Verstärkung der vagalen Reaktion des Herzens (Bucher et al., 1992; Choate et al., 1999; Sears et al., 1999).

Es gibt aus anderen Tierversuchen deutliche Hinweise darauf, dass Aldosteron die Konzentration von NO wie auch der NO-Synthase reduziert (Chun et al., 2003). Vermutet werden hierfür posttranskriptionelle Mechanismen, der Effekt kann über

die Gabe von Spironolacton aufgehoben werden. Wenn Aldosteron also tatsächlich die Bioverfügbarkeit des NO herabsetzt, könnte darüber möglicherweise die verstärkte Herzfrequenzsteigerung unter Nitroprussid in den Aldosteron-Versuchen unserer Studie erklärt werden.

4.3 Einschränkungen der Studie und kritische Einordnung der Ergebnisse

4.3.1 Kritische Einordnung der Methode der Mikroneurographie

Wie bereits erwähnt, konnte in mehreren früheren Untersuchungen eine gute Korrelation der MSNA mit Plasma-Noradrenalinspiegeln sowie dem kardialen und renalen Noradrenalin-Spillover bei gesunden Probanden gezeigt werden (Wallin et al., 1988; Wallin et al. 1992; Wallin et al., 1996). Aufgrund dieser Untersuchungen wird die MSNA in vielen humanexperimentellen Untersuchungen als Surrogat für die kardiale sympathische Nervenaktivität verwendet.

Einschränkend ist zu bemerken, dass in Ausnahmefällen auch eine differentielle Aktivierung verschiedener Organsysteme durch den Sympathikus beschrieben wurde. Azevedo et al. fanden beispielsweise nach der Gabe des nichtselektiven Betablockers Carvedilol eine Reduktion des kardialen Noradrenalin-Spillovers, vermutlich über eine Blockade peripherer Betarezeptoren. Die MSNA blieb gleichzeitig aber unbeeinflusst (Azevedo et al., 2001).

Es ist daher nicht mit absoluter Sicherheit auszuschließen, dass Aldosteron in unserer Studie trotz unveränderter MSNA möglicherweise die kardiale sympathische Aktivität erhöhte und somit eine gesteigerte Herzfrequenzantwort auf Nitroprussid bewirkte.

4.3.2 Methodische Einschränkungen der HRV-Messung

In unserer Studie konnten wir mittels Analyse der HRV Veränderungen feststellen, die auf eine Erhöhung des kardialen Vagotonus hinweisen. Trotz einiger Unzulänglichkeiten der Methode wird die HRV Messung breit zur Evaluierung vor allem des parasympathischen Anteils des autonomen Nervensystems eingesetzt. So wird die HRV zum Beispiel durch Atmung und Alter der Probanden verändert, und es bestehen deutliche interindividuelle Unterschiede (Goldberger et al., 2001). Davon weitgehend unbeeinflusst bleiben die HF-Bereiche, welche den Parasympathikus repräsentieren. Der sympathische Anteil des autonomen Nervensystems wird durch die HRV jedoch, unter anderem aus technischen Gründen, nur unzureichend abgebildet. So besteht der den Sympathikus repräsentierende Niedrigfrequenzbereich in der Spektralanalyse wohl zu einem gewissen Anteil auch aus parasympathischen Effekten, welche von denen des Sympathikus nicht zu trennen sind (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996).

Die optimale Aufzeichnungsfrequenz zur Analyse der Herzfrequenz wird in der Literatur mit 250-500 Hz angegeben (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996). Die relativ geringe Aufzeichnungsfrequenz von 200 Hz in unserer Studie könnte dazu geführt haben, dass wir keinen eindeutigen Effekt von Aldosteron auf die frequency domain Parameter nachweisen konnten.

4.3.3 Einschränkungen bei der Übertragbarkeit der Ergebnisse

Es muss sicherlich unterschieden werden zwischen akuten und chronischen Effekten des Aldosterons. In unserer Studie wurden akute Aldosteroneffekte bei gesunden Probanden untersucht, die unabhängig von Natrium- und Wasserretention sowie Angiotensin II vermittelt wurden. Bei den beobachteten Effekten handelt es sich um nichtgenomische oder frühe genomische Hormonwirkungen.

Demgegenüber führt die chronische Gabe eines Mineralokortikoids bei gesunden Personen über klassische genomische Wirkpfade zu einer Natrium- und Wasserretention und zu einer Steigerung des kardialen Auswurfs. Wahrscheinlich

über den Baroreflex kommt es nachfolgend zu einer Suppression der MSNA (Mion et al., 1994). Darüber hinaus könnte infolge eines über längere Zeit erhöhten Aldosteronspiegels auch eine Verschiebung des Baroreflexsetpoints auftreten, und damit eine Veränderung des gesamten Baroreflexes. Ähnliche Daten, welche diese Vermutung nahe legen, fanden sich bereits in einer Studie unserer Arbeitsgruppe für Angiotensin II (Struck et al., 2002).

Akute Wirkungen des Aldosterons können also nicht ohne weiteres auf Zustände mit chronischem Hyperaldosteronismus übertragen werden. Ebenfalls nur eingeschränkt möglich ist eine Übertragung von Ergebnissen aus Studien, die Aldosteron-Effekte bei jungen, gesunden Menschen beschreiben, auf Menschen mit einer chronischen Aktivierung des sympathischen Nervensystems und des RAAS. Bei der chronischen Herzinsuffizienz besteht beispielsweise einerseits eine Erhöhung des Sympathikotonus, andererseits liegen erhöhte Spiegel von Renin, Angiotensin II und Aldosteron vor (Ferguson et al., 1990; Kaye et al., 1995).

Die genannten Probleme bei der Übertragbarkeit von Ergebnissen betreffen fast alle Studien, welche die Effekte von Aldosteron beim Menschen untersuchen. Trotz dieser allgemeinen Einschränkungen beschreibt unsere Studie umfassend die akuten Effekte einer relativ geringen Dosis von Aldosteron auf das autonome Nervensystem und den Baroreflex bei gesunden Personen. Dabei wurden erstmals die akuten Wirkungen des Aldosterons auf das sympathische Nervensystem beim Menschen mittels mikroneurographischer Ableitung der MSNA direkt untersucht.

4.4 Ausblick

Von der Komplexität der Interaktionen zwischen Aldosteron und dem autonomen Nervensystem konnte in dieser Studie nur ein kleiner Ausschnitt aufgedeckt werden.

Eine pauschale Aussage über allgemeine Wirkungen von Aldosteron, wie sie in vielen vorangegangenen Studien getätigt wurden, scheint problematisch. Vielmehr kristallisiert sich eine sehr differenzierte Wirkungsweise des Aldosterons heraus, im Sinne eines Modulators in den Regelmechanismen der Kreislaufregulation. Welche Wirkung letztendlich entfaltet wird, scheint erstens sehr stark von der Dosis des Aldosterons abhängig zu sein, und zweitens davon, auf welche Verhältnisse bzw. welchen Tonus des autonomen Nervensystems das Aldosteron im Organismus trifft.

In weitergehenden Studien müsste versucht werden, die Wirkpfade des Aldosterons weiter zu differenzieren. So könnte über klar definierte Zeitachsen mit Messungen nach wenigen Stunden sowie nach mehreren Tagen stärker zwischen genomischen und nichtgenomischen Wirkungen unterschieden werden.

Ein weiterer zu untersuchender Ansatz erscheint auch die Interaktion von Aldosteron und dem Botenstoff NO im Sinne einer Verminderung der Bioverfügbarkeit von NO durch Aldosteron.

5 Zusammenfassung

In Tierversuchen wurde gezeigt, daß Aldosteron die Baroreflexfunktion abschwächt. Bezüglich des Einflusses von Aldosteron auf das autonome Nervensystem und den Baroreflex beim Menschen bestehen derzeit uneinheitliche Untersuchungsergebnisse. In der vorliegenden Arbeit werden die akuten bzw. subakuten Effekte zweier Aldosteroninjektionen bei neun gesunden Probanden auf das autonome Nervensystem und den Baroreflex in einem doppelblinden, placebokontrollierten cross-over Design untersucht. Die parasympathische Nervenaktivität wurde mittels HRV-Analyse und das sympathische Nervensystem über eine direkte Ableitung der MSNA mittels Mikroneurographie erfasst. Die Baroreflexkontrolle von MSNA und Herzfrequenz wurde mittels intravenöser Infusion vasoaktiver Substanzen getestet.

Die Injektion von Aldosteron erhöhte die Aldosteronspiegel im Serum auf ca. das Dreifache im Vergleich zu Placebo. Die basale MSNA, der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden durch Aldosteron nicht beeinflusst. Aldosteron bewirkte Veränderungen einiger Parameter der Herzfrequenzvariabilitätsanalyse, die mit einer Verstärkung des kardialen Vagotonus in Ruhe vereinbar sind. Des Weiteren führte Aldosteron zu einer Zunahme des reflektorischen Anstiegs der Herzfrequenz während Deaktivierung der Barorezeptoren durch Nitroprussid. Die Baroreflex-Kontrolle der MSNA wurde durch Aldosteron jedoch nicht verändert.

Die von uns beobachteten Wirkungen des Aldosterons stimmen teilweise mit vorhergehenden Studien am Menschen überein. Abweichende Ergebnisse im Vergleich mit anderen Studien sind hauptsächlich darauf zurückzuführen, daß Aldosteron unterschiedlich lange in unterschiedlichen Anwendungsmodi und Wirkdosen appliziert wurde. Unser Versuchsdesign erlaubt keine Aussage darüber, ob die beobachteten Wirkungen des Aldosterons zentral oder peripher vermittelt wurden oder ob es sich um nichtgenomische oder frühe genomische Wirkungen handelt.

Unsere Studie zeigt, dass eine physiologische Aldosterondosis akute bzw. subakute Veränderungen innerhalb des autonomen Nervensystems und der Baroreflex-Funktion bei gesunden Probanden hervorruft. Dabei wurde erstmals für diese Fragestellung die MSNA direkt abgeleitet.

6 Literaturverzeichnis

Azevedo ER, Kubo T, Mak S, Al-Hesayen A, Schofield A, Allan R, Kelly S, Newton GE, Floras JS, Parker JD. Nonselective versus selective beta-adrenergic receptor blockade in congestive heart failure. Differential effects on sympathetic activity. *Circulation* 2001; 104: 2194-2199

Barr CS, Lang CC, Hanson J, Arnott M, Kennedy N, Struthers AD. Effects of adding spironolactone to an angiotensin-converting enzyme inhibitor in chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 76: 1259-1265

Brilla CG, Matsubara LS, Weber KT. Anti-aldosterone treatment and the prevention of myocardial fibrosis in primary and secondary hyperaldosteronism. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 563-575

Brilla CG, Pick R, Tan LP, Janicki JS, Weber KT. Remodeling of the rat right and left ventricle in experimental hypertension. *Circ Res* 1990; 67: 1355-1364

Bucher B, Ouedraogo S, Tschöpl M, Paya D, Stoclet JC. Role of the L-arginine-NO pathway and of cyclic GMP in electrical field-induced noradrenaline release and vasoconstriction in the rat tail artery. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 976-982

Burke D, Sundlöf G, Wallin BG. Postural effects on muscle sympathetic activity in man. *J Physiol* 1977; 272: 399-414

Choate JK, Paterson DJ. Nitric oxide inhibits the positive chronotropic and inotropic responses to sympathetic nerve stimulation in the isolated guinea pig atria. *J Auton Nerv Syst* 1999; 75: 100-108

Chun TY, Bloem LJ, Pratt JH. Aldosterone inhibits inducible nitric oxide synthase in neonatal rat cardiomyocytes. *Endocrinology* 2003; 144: 1712-1717

Coghlan JP, Scoggins BA, Wintour EM. Aldosterone. In: Gray CH, James VHT. Hormones in blood. Academic Press Inc., London. 3rd edition, Volume 3, 1979; 494-609

Delius W, Hagarth KE, Hongell A, Wallin BG. Manoevers affecting sympathetic outflow in human muscle nerves. *Acta Physiol Scand* 1972; 84: 82-94

Dotz C, Wallin BG, Fehm HL, Elam M. The stress hormone adrenocorticotropin enhances sympathetic outflow to the muscle vascular bed in humans. *J Hypertens* 1998; 16: 195-201

Eckberg DL, Wallin BG, Fagius J, Lundberg L, Torebjörk HE. Prospective study of symptoms after human microneurography. *Acta Physiol Scand* 1989; 137: 567-569

Eisenhofer G, Finberg JP. Different metabolism of norepinephrine and epinephrine by catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 268: 1242-1251

Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, Anderson W, Lambert G. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* 1988; 11: 3-20

Fagius J, Wallin BG: Microneurographic evidence of excessive sympathetic outflow in the Guillain-Barré syndrome. *Brain* 1983; 106: 589-600

Fagius J, Karhuvaara S, Sundlöf G. The cold pressor test: effects on sympathetic nerve activity in human muscle and skin nerve fascicles. *Acta Physiol Scand* 1989; 137: 325-334

Farquharson CA, Struthers AD. Aldosterone induces acute endothelial dysfunction in vivo in humans: evidence for an aldosterone-induced vasculopathy. *Clin Sci (Lond)* 2002; 103: 425-431

Ferguson DW, Berg WJ, Sanders JS. Clinical and hemodynamic correlates of sympathetic nerve activity in normal humans and patients with heart failure: evidence from direct microneurographic recordings. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1125-1134

Fletcher J, Buch AN, Routledge HC, Chowdhary S, Coote JH, Townend JN. Acute aldosterone antagonism improves cardiac vagal control in humans. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1270-1275

Francis J, Weiss RM, Wei SG, Johnson AK, Beltz TG, Zimmerman K, Felder RB. Central mineralocorticoid receptor blockade improves volume regulation and reduces sympathetic drive in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: 2241-2251

Goldberger JJ, Challapalli S, Tung R, Parker MA, Kadish AH. Relationship of heart rate variability to parasympathetic effect. *Circulation* 2001; 103: 1977-1983

Gómez-Sánchez EP. Central hypertensive effects of aldosterone. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1997; 18: 440-462

Grassi G, Esler M. How to assess sympathetic activity in humans. *J Hypertens* 1999; 17: 719-734

Grassi G, Seravalle G, Cattaneo BM, Lanfranchi A, Vailati S, Giannattasio C, Del Bo A, Sala C, Bolla GB, Pozzi M, Mancina G. Sympathetic activation and loss of reflex sympathetic control in mild congestive heart failure. *Circulation* 1995; 92: 3206-3211

Hoeldtke RD, Cilmi KM, Reichard GA Jr, Boden G, Owen OE. Assessment of norepinephrine secretion and production. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 772-782

Hagbarth KE, Vallbo AB. Pulse and respiratory grouping of sympathetic impulses in human muscle nerves. *Acta Physiol Scand* 1968; 74: 96-108

Hauck RW, Harth M, Schulz C, Präuer H, Böhm M, Schömig A. Effects of beta 2-agonist- and dexamethasone-treatment on relaxation and regulation of beta-adrenoceptors in human bronchi and lung tissue. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 1523-1530

Hayano J, Sakakibara Y, Yamada A, Yamada M, Mukai S, Fujinami T, Yokoyama K, Watanabe Y, Takata K. Accuracy of assessment of cardiac vagal tone by heart rate variability in normal subjects. *Am J Cardiol* 1991; 67: 199-204

Heindl S, Dodt C, Krahwinkel M, Hasenfuss G, Andreas S. Short term effect of continuous positive airway pressure on muscle sympathetic nerve activity in patients with chronic heart failure. *Heart* 2001; 85: 185-90

Hirshoren N, Tzoran I, Makrienko I, Edoute Y, Plawner MM, Itskovitz-Eldor J, Jacob G. Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous systems regulating the cardiovascular system. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1569-1575

Huang BS, Wang H, Leenen FH. Chronic central infusion of aldosterone leads to sympathetic hyperreactivity and hypertension in Dahl S but not Dahl R rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: 517-524

Izzo JL Jr, Horwitz D, Lawton WJ, Keiser HR. Fludrocortisone suppression of sympathetic nervous activity. *Clin Pharmacol Ther* 1983; 33: 102-106

Kasama S, Toyama T, Kumakura H, Takayama Y, Ichikawa S, Suzuki T, Kurabayashi M. Effect of spironolactone on cardiac sympathetic nerve activity and left ventricular remodeling in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 574-581

Kato J, Kobayashi K, Etoh T, Tanaka M, Kitamura K, Imamura T, Koizawa J, Kangawa K, Eto T. Plasma adrenomedullin concentration in patients with heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 180-183

Kaye DM, Lefkovits J, Jennings GL, Bergin P, Broughton A, Esler MD. Adverse consequences of high sympathetic nerve activity in the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 1995; 126: 1257-1263

Kingwell BA, Thompson JM, Kaye DM, McPherson GA, Jennings GL, Esler MD. Heart rate spectral analysis, cardiac norepinephrine spillover, and muscle sympathetic nerve activity during human sympathetic nervous activation and failure. *Circulation* 1994; 90: 234-240

Kleiger RE, Stein PK, Bosner MS, Rottmann JN. Time-domain measurements of heart rate variability. In: Malik M, Camm AJ. *Heart Rate variability*. Futura Publishing Company Inc., Armonk, NY. 1st edition, 1995; 33-46

Kopin IJ, Rundqvist B, Friberg P, Lenders J, Goldstein DS, Eisenhofer G. Different relationships of spillover to release of norepinephrine in human heart, kidneys, and forearm. *Am J Physiol* 1998; 275: 165-173

Kopp UC, DiBona GF. Interaction between epinephrine and renal nerves in control of renin secretion rate. *Am J Physiol* 1986; 250: 999-1007

Kurbanov RD, Eliseeva MR, Tursunov RR, Kurbanova DR, Zakirova FA. Humoral markers of endothelial dysfunction in essential hypertension. *Kardiologiya* 2003; 43: 61-64

Lösel R, Schult A, Boldyreff B, Wehling M. Rapid effects of aldosterone on vascular cells: clinical implications. *Steroids* 2004; 69: 575-578

MacFadyen RJ, Barr CS, Struthers AD. Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients. *Cardiovasc Res* 1997; 35: 30-34

Malmqvist K, Ohman KP, Lind L, Nystrom F, Kahan T. Relationships between left ventricular mass, renin-angiotensin system, catecholamines, insulin and leptin. *J Intern Med* 2002; 252: 430-439

Mion D, Rea RF, Anderson EA, Kah D, Sinkey C, Mark AL. Effects of fludrocortisone on sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension* 1994; 23: 123-130

Monahan KD, Leuenberger UA, Ray CA. Aldosterone impairs baroreflex sensitivity in healthy adults. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: 190-197

Ng AV, Callister R, Johnson DG, Seals DR. Age and gender influence muscle sympathetic nerve activity at rest in healthy humans. *Hypertension* 1993; 21: 498-503

Rocha R, Stier CT Jr, Kifor I, Ochoa-Maya MR, Rennke HG, Williams GH, Adler GK. Aldosterone: a mediator of myocardial necrosis and renal arteriopathy. *Endocrinology* 2000; 141: 3871-3878

Saxena PR. Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19: 80-88

Scherrer U, Vollenweider P, Randin D, Jéquier E, Nicod P, Tappy L. Suppression of insulin induced sympathetic activation and vasodilatation by dexamethasone in humans. *Circulation* 1993; 88: 388-394

Schmidt BMW, Montealegre A, Janson CP, Martin N, Stein-Kemmesies C, Scherhag A, Feuring M, Christ M, Wehling M. Short term cardiovascular effects of aldosterone in healthy male volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3528-3533

Schmidt BMW, Georgens AC, Martin N, Tillmann HC, Feuring M, Christ M, Wehling M. Interaction of rapid nongenomic cardiovascular aldosterone effects with the adrenergic system. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 761-767

Sears CE, Choate JK, Paterson DJ. NO-cGMP pathway accentuates the decrease in heart rate caused by cardiac vagal nerve stimulation. *J Appl Physiol* 1999; 86: 510-516

Sigurdsson A, Amtorp O, Gundersen T, Nilsson B, Remes J, Swedberg K. Neurohormonal activation in patients with mild or moderately severe congestive heart failure and effects of ramipril. The Ramipril Trial Study Group. *Br Heart J* 1994; 72: 422-427

Simpson SA, Tait JF, Wettstein A, Neher R, von Euw J, Reichstein T. Isolierung eines neues kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel. *Experientia* 1953; 9: 333-335

Spraul M, Ravussin E, Fontvieille AM, Rising R, Larson DE, Anderson EA. Reduced sympathetic nervous activity: a potential mechanism predisposing to body weight gain. *J Clin Invest* 1993; 94: 1172-1179

Steinhausen M (Autor und Herausgeber). *Medizinische Physiologie, 1. Teil - Lehrbuch*. Verlag für Medizin Dr. Ewald Fischer, Heidelberg, 2. Aufl. 1991; 266

Struck J, Muck P, Trübger D, Handrock R, Weidinger G, Dendorfer A, Dodt C. Effects of selective angiotensin II receptor blockade on sympathetic nerve activity in primary hypertensive subjects. *J Hypertens* 2002; 20: 1143-1149

Sudhir K, Jennings G, Esler MD, Korner PI, Blombery PA, Lambert GW, Scoggins B, Whitworth JA. Hydrocortisone-induced hypertension in humans: pressor responsiveness and sympathetic function. *Hypertension* 1989; 13: 416-421

Sundlöf G, Wallin BG. The variability of muscle nerve sympathetic activity in resting recumbant man. *J Physiol* 1977; 272: 383-397

Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-1065

The RALES Investigators. Effectiveness of spironolactone added to an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a loop diuretic for severe chronic congestive heart failure (the Randomized Aldactone Evaluation Study [RALES]). *Am J Cardiol* 1996; 78: 902-907

Vallbo AB, Hagbarth KE, Wallin BG. Microneurography: how the technique developed and its role in the investigation of the sympathetic nervous system. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1262-1269

Victor RG, Leimbach WN, Seals DR, Wallin BG, Mark AL. Effects of the cold pressor test on muscle nerve activity in humans. *Hypertension* 1987; 9: 429-436

Wallin BG, Esler M, Dorward P, Eisenhofer G, Ferrier C, Westerman R, Jennings G. Simultaneous measurements of cardiac noradrenaline spillover and sympathetic outflow to skeletal muscle in humans. *J Physiol* 1992; 453: 45-58

Wallin BG, Thompson JM, Jennings GL, Esler MD. Renal noradrenaline spillover correlates with muscle sympathetic activity in humans. *J Physiol* 1996; 491: 881-887

Wallin BG, Fagius J. Peripheral sympathetic neural activity in conscious humans. *Annu Rev Physiol* 1988; 50: 565-566

Wallin BG, Kunimoto MM, Sellgren J. Possible genetic influence on the strength of human muscle nerve sympathetic activity at rest. *Hypertension* 1993; 22: 282-284

Wang H, Huang BS, Leenen FH. Brain sodium channels and ouabainlike compounds mediate central aldosterone-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 2516-2523

Weber MA, Purdy RE. Catecholamine mediated constrictor effects of aldosterone on vascular smooth muscle. *Life Sci* 1982; 30: 2009-2017

White PC. Aldosterone: direct effects on and production by the heart. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2376-2383

Yee KM, Struthers AD. Aldosterone blunts the baroreflex response in man. *Clinical Science* 1998; 95: 687-692

Yee KM, Pringle SD, Struthers AD. Circadian variation in the effects of aldosterone blockade on heart rate variability and QT dispersion in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1800-1807

7 Anhang

7.1 Aufklärungsbogen

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

Sie erwägen, an unserer Untersuchung über die Rolle von Aldosteron (ein Hormon der Nebennierenrinde) bei der Regulation des autonomen (=unabhängigen) Nervensystems teilzunehmen. Vielen Dank dafür! Ein Anteil des autonomen Nervensystems, das sogenannte sympathische Nervensystem, ist mit dem arteriellen Blutdruck eng verknüpft und scheint auch eine Rolle bei der Entstehung des Bluthochdrucks zu spielen. Diese Information dient dazu, Ihnen den Ablauf der wissenschaftlichen Untersuchung zu erläutern. Außerdem sollen Sie informiert werden, ob für Sie durch die Teilnahme Risiken entstehen und wie häufig diese sind.

Zuerst müssen wir klären, ob bei Ihnen eine Erkrankung vorliegt, die gegen eine Durchführung der Untersuchung spricht. Zu diesem Zweck werden wir Sie gründlich befragen, Ihnen Blut abnehmen und ein EKG durchführen. Stellt sich heraus, daß Sie für die Teilnahme der Untersuchung geeignet sind und möchten teilnehmen, beginnt die Studie, in der Sie am Versuchstag zweimal das Hormon Aldosteron oder eine Lösung ohne Wirkstoff (ein sogenanntes Placebo) injiziert bekommen. Ob sie den Wirkstoff oder das Placebo bekommen, weiß der Untersucher ebenso wenig wie Sie, weil allein dieses Wissen das Untersuchungsergebnis beeinflussen könnte. Umso wichtiger ist es deswegen, daß Sie sich und Ihren Blutdruck gut beobachten. Am Versuchstag führen wir dann die Ableitung der sympathischen Nervenaktivität durch. Dieser Versuch wird dann im Abstand von mindestens einer Woche wiederholt.

Die sympathische Nervenaktivität wird über eine haarfeine Nadel, die in einen oberflächlich gelegenen Nerven am Unterschenkel eingestochen wird, abgeleitet. Das Aufsuchen des Nerven mit der Nadelelektrode ist oft etwas unangenehm. Ist eine gute Ableitposition gefunden, ist die Untersuchung schmerzfrei. Dies ist für die folgende etwa 2,5 Stunden dauernde Ableitung sehr wichtig, da Sie entspannt und ruhig liegen sollen. Es werden während dieser Zeit einige Tests durchgeführt,

die dazu dienen, die Aktivität des sympathischen Nervensystems für kurze Zeit zu steigern und zu unterdrücken. Hierzu wird Ihnen eine Venenverweilkanüle am Arm gelegt, über die Ihnen nacheinander ein blutdrucksenkendes und ein blutdrucksteigerndes Medikament infundiert wird. Diese beiden Medikamente sind kurz wirksam, leicht steuerbar und werden Ihren Blutdruck nur geringfügig beeinflussen. Dies reicht jedoch aus, um messbare Veränderungen des sympathischen Nervensystems hervorzurufen. Sie werden außerdem zu Beginn noch gebeten, die Luft so lange wie möglich anzuhalten. Während der gesamten Zeit leiten wir die sympathische Nervenaktivität ab, entnehmen einmal Blut über die Venenverweilkanüle, registrieren den Blutdruck (über eine Manschette am Finger) und das EKG.

Unerwünschte Wirkungen:

Durch die Ableitung der sympathischen Nervenaktivität über eine Nadelelektrode kann prinzipiell der Nerv geschädigt werden. Gelegentlich treten nach der Untersuchung Mißempfindungen oder Kribbelgefühle im Unterschenkel auf, die nach einigen Tagen verschwinden. Ganz selten können diese auch länger anhalten, was in unserem Labor bisher jedoch noch nie vorgekommen ist. Durch das Legen einer Venenverweilkanüle kommen sehr selten Infektionen oder Gerinnselbildungen vor. Nicht auszuschließen ist natürlich eine Unverträglichkeit gegen den Wirkstoff Aldosteron.

7.2 Einverständniserklärung

Hiermit erkläre ich mich zur Teilnahme an der Studie „Einfluß von Mineralokortikoiden auf die Regulation des sympathischen Nervensystem bei gesunden Personen“ bereit. Ich wurde über Ablauf und Risiken der Studie ausführlich aufgeklärt. Ich versichere, daß meine Einwilligung freiwillig erfolgt. Mir ist bekannt, daß ich sie zu jedem Zeitpunkt zurückziehen kann.

Lübeck, den:.....

Unterschrift des Probanden:.....

8 Danksagung

Meiner Doktormutter, Frau PD Dr. med. Silke Heindl danke ich für die Vergabe des Promotionsthemas und für ihre intensive und engagierte Betreuung meiner Arbeit, die konstruktive Kritik und fortwährende wissenschaftliche Diskussion sowie die gute menschliche Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. Med. Christoph Dodt, danke ich herzlich für sein immer offenes Ohr während der experimentellen Phase der Studie, insbesondere bei kniffligen Fragen der mikroneurographischen Technik.

Frau Christiane Otten aus dem Klinischen Labor danke ich für die Durchführung der zahlreichen Hormonbestimmungen und die liebenswerte Beratung in labor-technischen Fragen.

Meinen Probanden danke ich für die Teilnahme an dieser Studie, ihre Ausdauer und die nette Zusammenarbeit.

Meinen Eltern danke ich, daß sie mir das Studium der Medizin durch ihre Unterstützung ermöglicht haben.

Meiner Frau Andrea danke ich, daß sie mir immer den Rücken frei gehalten hat, und meiner Tochter Julia, daß sie da ist.

9 Lebenslauf

Jörg Holzschneider
Schubertstraße 7a
22083 Hamburg



Persönliche Angaben:

Geburtsdatum: 26. Dezember 1976
Geburtsort: Düsseldorf
Familienstand: verheiratet, eine Tochter

Schulbildung:

08/83 - 07/87 Grundschole in Meerbusch
08/87 - 05/96 Mataré Gymnasium in Meerbusch
08/93 –02/94 Ottawa Hills Highschool, Grandrapids, Michigan/USA
1996 Abitur am Mataré Gymnasium

Zivildienst:

08/96 - 09/97 Zivildienst – Behindertenbetreuung

Studium:

10/97-05/04 Studium der Medizin an der medizinischen Universität zu Lübeck
09/99 Physikum
08/00 1. Staatsexamen
03/03 2. Staatsexamen
05/04 3. Staatsexamen

Arzt im Praktikum/ Assistenzarzt:

07/04-09/04 Arzt im Praktikum in der Abteilung für Naturheilverfahren und rehabilitative Medizin, Asklepios Klinik Nord, Hamburg
10/04-09/06 Assistenzarzt in der Abteilung für Naturheilverfahren und rehabilitative Medizin, Asklepios Klinik Nord, Hamburg
Seit 10/06 Assistenzarzt in der I. Medizinischen Abteilung, Asklepios Klinik Nord, Hamburg

Zeitraum der Dissertation:

01/02-09/02 experimentelle Arbeit in der Arbeitsgruppe von Professor C. Dodt, Medizinische Klinik I der Universität zu Lübeck
02/06 Artikel der Arbeit erscheint im „Journal of Neuroendocrinology“