
Nierenfunktion bei kongenitaler chronischer Erythrozytose. Eine Untersuchung an der isoliert perfundierten Mausniere

Horst Pagel¹ (Projektleiter), Urszula Frackowski¹ & Klaus Wagner²

¹ Universität zu Lübeck, Institut für Physiologie

² Universitätsklinikum Schleswig-Holstein/Campus Lübeck, Klinik für Anästhesiologie

Zusammenfassung

Die Auswirkungen einer chronischen Erythrozytose sind bisher nur unzureichend bekannt. Wir haben daher Nieren, die kongenital erythrozytären Mäusen entnommen worden sind (tg-Mäuse), druckkonstant perfundiert und deren Funktion mit Nieren von normalen Mäusen (wt-Kontrollen) verglichen. Augenfälligster Unterschied in der Funktion der Nieren von tg-Mäusen im Vergleich zu denjenigen von wt-Kontrollen war der deutlich reduzierte renale Gefäßwiderstand. Dennoch waren die Diurese und die glomeruläre Filtrationsrate in Nieren von tg-Mäusen statistisch signifikant reduziert. Die glomeruläre Permeabilität für Makromoleküle war dagegen erhöht. Die Resorptionsraten für Wasser, Elektrolyte und Glukose waren reduziert. Insgesamt führte also die chronische Erythrozytose zu einer verschlechterten vaskulären, glomerulären und tubulären Funktion der Nieren von tg-Mäusen. Dies ist ein wesentlicher Aspekt bei der Diskussion um das vor allem im Hochleistungs-Ausdauersport verbreitete Erythropoietin-Doping. Nicht-medizinisch indizierte Erythropoietin-Applikationen mit konsekutiven Hämatokrit-Steigerungen über den Normalwert hinaus führen also nicht nur zum – gelegentlich tödlichen – Herz- oder Kreislaufversagen, sondern auch zur signifikanten Verschlechterung der Nierenfunktion.

1 Einleitung

Die pathologischen Konsequenzen einer Anämie (Hb < 12 g/dl bei Frauen, Hb < 13 g/dl bei Männern; Definition nach WHO, 2001) sind in der Literatur gut dokumentiert. Neben dem Auftreten unspezifischer Symptome wie Blässe, Müdigkeit, Konzentrationschwäche, körperliche Leistungsschwäche oder allgemeine Erschöpfung kommt es durch eine Anämie in erster Linie zur Beeinflussung der Herzfunktion. So sind in der Regel die Herzfrequenz, das Schlagvolumen und damit das Herzminutenvolumen gesteigert. Eine länger bestehende Anämie mündet meist in einer linksventrikulären Hypertrophie (LVH; Levin et al., 1999), die zum Absterben von Arealen des Myokards, zur myokardialen Fibrose, zur Kardiomyopathie und schließlich zum Herzversagen führen kann (Katz, 1993). Die konsekutive Gewebshypoxie hat eine periphere Vasodilatation und damit eine Hypotonie zur Folge. Um den Blutdruck wieder normgerecht regeln zu können, ergibt sich meist ein er-

höherer Sympathikotonus, und das Renin-Angiotensin-Aldostersteron-System wird aktiviert (RAAS; Anand et al., 1993).

Neben der Herzfunktion wird durch eine Anämie auch die Funktion der Nieren beeinflusst. Solange die Anämie unbehandelt bleibt, fällt die glomeruläre Filtrationsrate um ungefähr 1 % pro Monat ab (Silverberg et al., 2001). Der erhöhte Sympathikotonus kann im Zusammenspiel mit dem aktivierten RAAS renale Ischämien verursachen (Anand et al., 1993). Vom geschädigten Myokard freigesetzte entzündliche Zytokine wie TNF- α schränken die Nierenfunktion weiter ein (Torre-Amione et al., 1999). Da Zytokine ihrerseits die renale Synthese von Erythropoietin hemmen (Frede et al., 1997), kommt es dadurch zur Aggravation der Anämie, und ein Circulus vitiosus kann entstehen.

Im Gegensatz zur Situation bezüglich der verschiedenen Anämieformen ist das Wissen über die klinischen Konsequenzen einer Erythrozytose eher begrenzt. Dies hat zumindest zwei Ursachen. Zum einen ist eine Erythrozytose eine relativ seltene Erkrankung; so wird die Inzidenz mit etwa 0,1 pro 100.000 Patienten pro Jahr angegeben. Zum anderen existierte bis vor einiger Zeit kein experimentelles Modell, mit dessen Hilfe Langzeit-Effekte einer Erythrozytose hätten studiert werden können.

Letzteres änderte sich, als von der Züricher Arbeitsgruppe um Max Gassmann eine transgene Maus entwickelt worden ist, die das Erythropoietin-Gen überexprimiert (Ruschitzka et al., 2000). Im Vergleich zu normalen Kontrolltieren hat die transgene Maus einen mehr als zehnfach erhöhten Erythropoietin-Plasmaspiegel. Dies resultiert in einer Verdopplung (!!) des Hämatokrits (39 vs. 79 %) und der Hämoglobin-Konzentration (13,9 vs. 23,4 g/dl).

Die klinische Symptomatik einer Erythrozytose ist in erster Linie durch eine Hypertonie sowie durch thromboembolische Komplikationen charakterisiert (Bertinieri et al., 1998). Die Thromboembolien bestimmen überwiegend die Prognose der betroffenen Patienten.

Die Zahl der Patienten mit Erythrozytose könnte in naher Zukunft erheblich steigen, seit rekombinantes humanes Erythropoietin (rhuEpo) unter Ausdauersportlern – im Hochleistungs- wie auch im Breitensportbereich – zur „Modedroge“ avancierte (Jelkmann, 2000; Spivak, 2001). Die Erarbeitung valider Daten zu den Langzeitfolgen einer Erythrozytose scheint daher dringend geboten.

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Nierenfunktion während chronischer Erythrozytose. Die Untersuchungen wurden am experimentellen Modell der isoliert perfundierten Mausniere durchgeführt. Die Nieren wurden transgenen, kongenital erythrozytären Mäusen entnommen (Ruschitzka et al., 2000); entsprechende Wildtyp-Mäuse dienten als Kontrollen.

2 Material und Methodik

Versuchstiere

Die erythrozytären Mäuse waren transgen (tg) für das menschliche Erythropoietin-Gen (Mauslinie TgN [PDGFBEP0] Zbz; Kurzformel: tg6). Die Mäuse wurden generiert, indem ein mit Erythropoietin-cDNA beladener humaner PDGF-B-Ketten-Promotor in Pronuklei fertilisierter B6C3F1-Maus-Oozyten durch Mikroinjektion eingebracht wurde (Ruschitzka et al., 2000). Die tg-Mäuse wurden durch Verpaarung heterozygoter Männchen mit Wildtyp-(wt)-Weibchen gezüchtet. Gemäß den Mendelschen Gesetzen trugen etwa 50 % der Nachkommen das Transgen (Epo +/-); die nicht-transgenen Geschwister dienten als Kontrollen.

Die Tiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten (Temperatur $22 \pm 2^\circ\text{C}$, Luftfeuchtigkeit $55 \pm 5\%$, 12:12-h-Schlaf-Wach-Zyklus). Bis zu den Versuchen erhielten sie eine Standard-Diät (Altromin 1310/1320) und Leitungswasser ad libitum. Genutzt wurden erwachsene, männliche Mäuse (Körpergewicht [KG] 34 ± 8 g).

Präparation

Nach intramuskulär applizierter Allgemeinanästhesie (Pentobarbital 30 mg/kg KG, Ketamin 25 mg/kg KG) wurde das Tier in Rückenlage auf einen temperierten (38°C) Operationstisch gelegt. Anschließend wurde das Tier entlang der Linea alba laparotomiert, und die A. mesenterica superior mit einem Polyethylen-Schlauch (PE-10; Portex, England) katheterisiert. Über diesen Katheter wurden jeweils 0,2 ml Heparin- (80 E/Tier) und Mannitol-Lösung (0,2 % w/v) injiziert. Nachdem sich durch die Mannitol-induzierte Diurese die beiden Ureteren geweitet hatten, wurde der rechte Ureter distal abgebunden und mit einem Mikro-Polyimid-Schlauch (AWG-30E; Detakta, Norderstedt) katherisiert. Danach wurde die rechte Niere in eine temperierte (38°C) Metallschale eingebettet, und die Abdominal-Aorta distal von der A. renalis dexter mit einem PE-10- (wt-Kontrollen) bzw. PE-50-Schlauch (tg-Mäuse) kanüliert. Die Perfusion der Niere wurde in situ gestartet (initiale Flussrate 5 ml/min). Ca. drei bis fünf Minuten später waren alle Gefäßverbindungen zwischen der Niere und dem Tier durchtrennt, und das Tier konnte durch Absenken des Operationstisches entfernt werden. Zwecks Rezirkulation des Perfusionsmediums wurde unter die Nierenschale ein temperierter Trichter geschwenkt, sodass das venöse Effluat aufgefangen und ins Perfusionsmedium-Reservoir zurückgeleitet werden konnte. Die Perfusion wurde mit konstantem Druck fortgesetzt (80 bzw. 100 mmHg); der Perfusionsdruck (PP) wurde über den Katheter in der A. mesenterica sup. gemessen.

Perfusionsmedium und experimentelles Vorgehen

Das Perfusionsmedium war ein zellfreier, Substrat- und Aminosäuren-angereicherter Krebs-Henseleit-Puffer (pH 7,4; Pagel et al., 1991). Um für analytische Zwecke ausreichende Urinvolumina sammeln zu können, wurde dem Medium 0,2 % (w/v) Mannitol zugesetzt. Das Perfusionsmedium wurde stets frisch angesetzt und unmittelbar vor Versuchsbeginn sterilfiltriert. Es wurde während der Versuche mit vorgewärmtem und angefeuchtetem Carbogen (5 % CO₂, 95 % O₂) äquilibriert.

Die Versuchsanordnung nach Pagel et al. (1991) wurde von der Perfusion von Rattennieren auf die Perfusion von – sechs- bis siebenfach kleineren – Mausnieren adaptiert.

Die Nieren wurden über drei Stunden bei 38°C in einer geschlossenen Rezirkulationsanordnung isoliert perfundiert. Nach einer 1stündigen Vorphase wurden über den Ureter-Katheter während dreier 40minütiger (wt-Kontrollen) bzw. zweier 60-minütiger (tg-Mäuse) Clearance-Perioden Urin gesammelt. Etwa nach der Hälfte der jeweiligen Urinsammelperiode wurde eine entsprechende Probe vom Perfusionsmedium genommen.

Analytik

Die Perfusionsrate der isoliert perfundierten Niere (PFR) wurde vom Tachosignal der Perfusionspumpe abgeleitet. Der renale Gefäßwiderstand (RVR) wurde gemäß dem Ohmschen Gesetz errechnet ($RVR = PP/PFR$). Die Urin-Produktionsrate wurde gravimetrisch bestimmt. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde aus der Inulin-Clearance kalkuliert; Inulin- und Glukose-Konzentrationen wurden simultan nach der Hexokinase-Methode nach Schmidt (1961) ermittelt. Albumin-Konzentrationen wurden nach einer Mikromodifikation der Methode nach Lowry et al. (1951) bestimmt. Natrium- und Kalzium-Konzentrationen wurden flammenphotometrisch analysiert (AFM 5051; Eppendorf, Hamburg). Erythropoietin-Konzentrationen in Proben des Perfusionsmediums wurden nach vorheriger 5facher Aufkonzentrierung (Centricon-10; Amicon, Witten) mithilfe eines kommerziellen ELISAs bestimmt (medac, Hamburg).

Statistik

Die Angabe der Daten erfolgte gemittelt über alle Clearance-Perioden als arithmetisches Mittel \pm Standardirrtum ($n = 6$ je Versuchsgruppe). Die Daten wurden bezogen auf 1 g Nierenfeuchtgewicht, wobei die dekapsulierte linke Niere als Referenz diente. Die renalen Funktionsparameter wurden mithilfe des ungepaarten Student t-Tests bei zweiseitiger Fragestellung statistisch beurteilt. Die statistische Auswertung der Daten zu den Erythropoietin-Konzentrationen erfolgte mittels des Student-Newman-Keul-Tests.

3 Ergebnisse

Perfusion mit 100 mmHg

Zur Überprüfung der Validität des experimentellen Modells der isoliert perfundierten Mausniere wurde eine Versuchsserie mit „normalem“ Perfusionsdruck von 100 mmHg durchgeführt. Die Zusammenstellung in der Tabelle lässt erkennen, dass die Funktionsparameter sehr gut mit den entsprechenden In-vivo-Daten übereinstimmen.

Tab. 1: Kompilation renaler Funktionsparameter der isoliert perfundierten Mausniere (IPMN: isoliert perfundierte Mausniere; In-vivo-Daten nach Meneton et al., 2000)

	IPMN	in vivo
Perfusionsrate (ml/[min x g Niere])	28,4 ± 4,7	4 - 8
Renaler Gefäßwiderstand (mmHg/[ml/{min x g Niere}])	4,5 ± 1,1	12,5 - 25
Urin-Produktion (µl/[min x g Niere])	13,0 ± 2,1	2 - 6
Glomeruläre Filtrationsrate (µl/[min x g Niere])	359,0 ± 32,2	360 - 1.700
Albumin-Exkretionsrate (µg/[min x g Niere])	89,6 ± 9,2	0,2 - 0,9
Fraktionelle Albumin-Clearance (x 10 ⁻³)	18,3 ± 4,5	0,16 - 0,56
Fraktionelle Wasserresorption (%)	96,0 ± 1,4	
Fraktionelle Natriumresorption (%)	98,3 ± 1,6	
Fraktionelle Kalziumresorption (%)	95,9 ± 1,3	
Fraktionelle Glukoseresorption (%)	95,4 ± 3,4	
Inulin-Konzentrationsverhältnis Urin/Perfusat	25,7 ± 0,9	12 - 147

Die Abbildung 1 zeigt, dass die Perfusionsrate der Nieren transgener Tiere sieben- bis achtfach höher war als in den Nieren der Wildtyp-Kontrollen. Entsprechend war der renale Gefäßwiderstand der transgenen Tiere um ungefähr den Faktor 6 reduziert.

Dennoch verursachte die chronische Erythrozytose eine deutliche Reduktion der Diurese und glomerulären Filtrationsrate (Abb. 2).

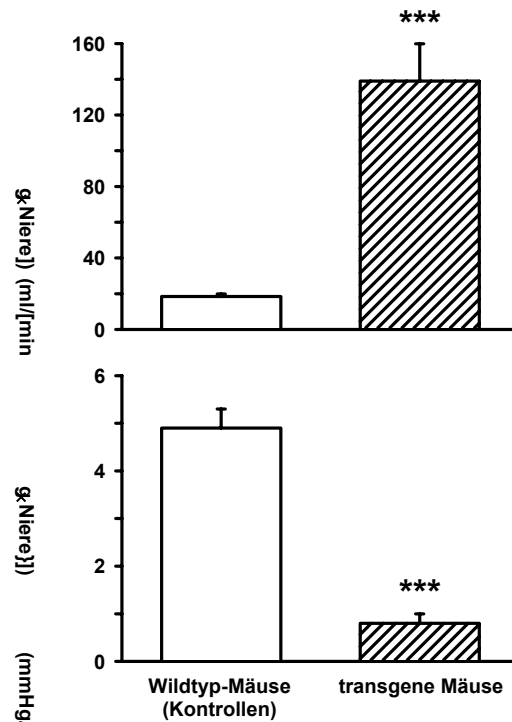


Abb. 1: Perfusionsrate und renaler Gefäßwiderstand der isoliert perfundierten Mausniere (***: $P < 0,001$)

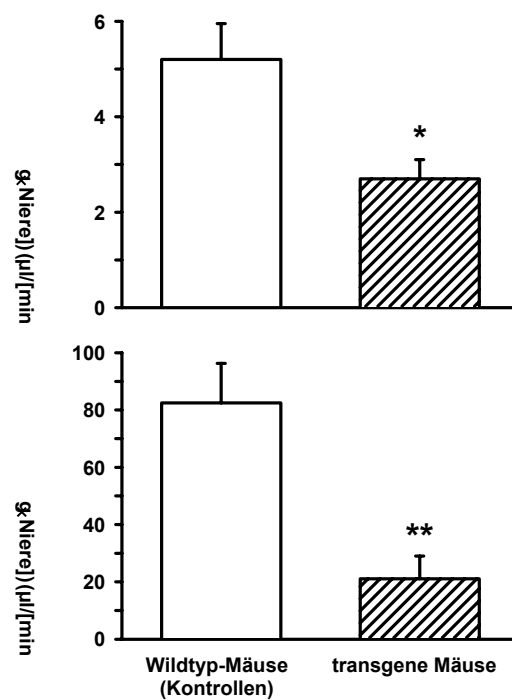


Abb. 2: Urin-Produktion und glomeruläre Filtrationsrate der isoliert perfundierten Mausniere (*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$)

Die Permeabilität der glomerulären Filtrationsbarriere für Makromoleküle war in den transgenen Mäusen deutlich erhöht. Dies zeigte sich in einem signifikanten Anstieg der Albumin-Exkretionsrate und, folgerichtig, der fraktionellen Albumin-Clearance (Abb. 3).

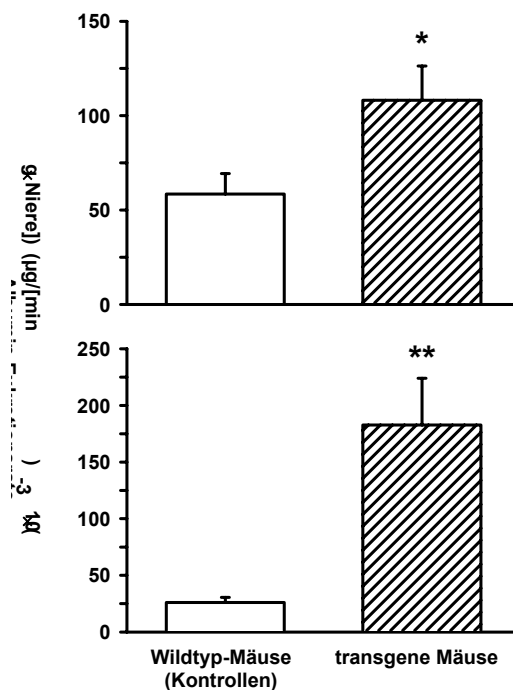


Abb. 3: Die glomeruläre Permeabilität der isoliert perfundierten Mausniere, beurteilt nach der Albumin-Exkretionsrate und der fraktionellen Albumin-Clearance (*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$)

Neben einer beeinträchtigten vaskulären und glomerulären Funktion zeigten die Nieren erythrozytärer transgener Mäuse auch eine herabgesetzte tubuläre Funktion: Sowohl die Wasser-, die Glukose- wie auch die Elektrolytresorptionsraten waren in den transgenen Tieren signifikant reduziert (Abb. 4).

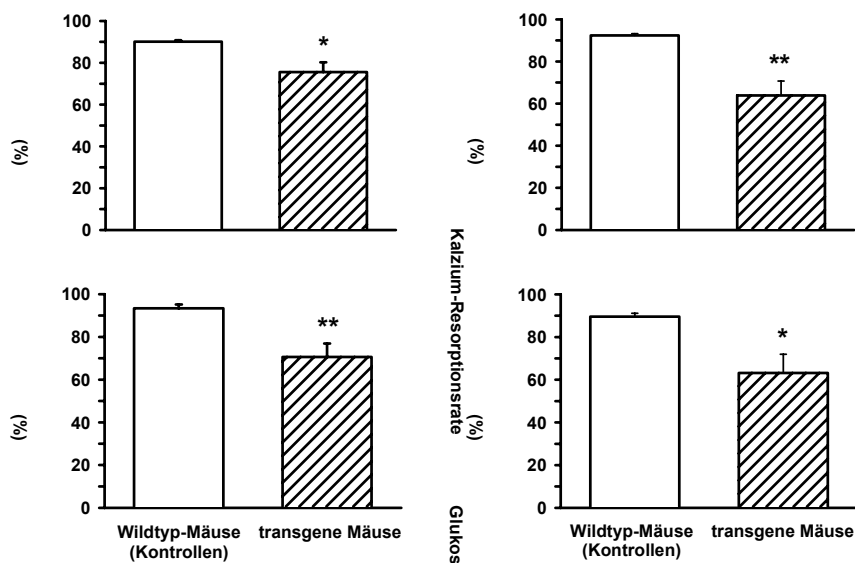


Abb. 4: Die fraktionellen Resorptionsraten für Wasser, Natrium, Kalzium und Glukose der isoliert perfundierten Mausniere (*: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$)

Um die Sauerstoff-Versorgung der isoliert perfundierten Nieren konstant zu halten, wurden die Versuche zur Bestimmung der Erythropoietin-Produktionsraten unter flusskonstanten Bedingungen durchgeführt (Perfusionsrate: 10 ml/min). Damit ergab sich ein Perfusionsdruck von 112 ± 8 mmHg bei den wt-Mäusen und von 32 ± 2 mmHg bei den tg-Mäusen.

Erwartungsgemäß hat eine hypoxämische Perfusion bei den Nieren der wt-Mäuse die Erythropoietin-Produktion gegenüber normoxischen Bedingungen ungefähr verdoppelt. Überraschenderweise hatte eine Hypoxie jedoch keinerlei Einfluss auf die Erythropoietin-Synthese bei den Nieren der erythrozytären tg-Mäuse (Abb. 5).

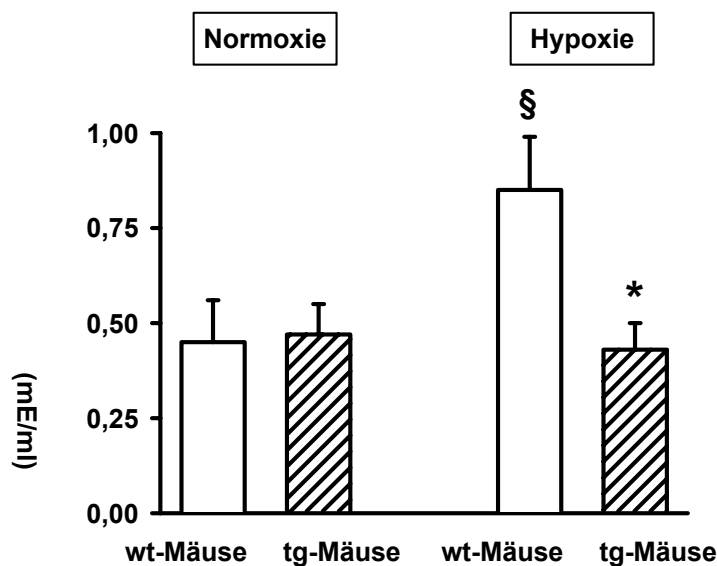


Abb. 5: Erythropoietin-Produktion der isoliert perfundierten Mausniere während Normoxie (paO_2 471 ± 12 mmHg) und Hypoxie (paO_2 62 ± 3 mmHg; jeweils $n = 3$; §: $P < 0,05$ vs. normoxische wt-Mäuse; *: $P < 0,05$ vs. hypoxische wt-Mäuse)

4 Diskussion

Eine isolierte Mausniere mit druckkontrollierter rezirkulierender Perfusion existierte nach unserem Wissen bis dato nicht. Daher war es ganz wesentlich, dieses experimentelle Modell zunächst zu evaluieren.

Der mittlere arterielle Blutdruck wird für die Maus mit 98 ± 4 mmHg (Wagner et al., 2001) angegeben. Während der ersten Pilot-Versuche wurde die isolierte Mausniere daher mit einem konstanten Druck von 100 mmHg perfundiert.

Da die mittlere relative Viskosität des zellfreien Perfusionsmediums ungefähr 3,5-fach niedriger ist als die des Blutes (Pagel & Stolte, 1992), ergab sich eine ungefähr 4,7-fach erhöhte Perfusionsrate gegenüber der Durchblutung in vivo. Entsprechend war der renale Gefäßwiderstand der isolierten Niere rund 4,2-fach erniedrigt. Der geringere vaskuläre Tonus der isolierten Mausniere war z. T. auch in ihrer Denervierung sowie in der Tatsache, dass das Perfusionsmedium weder Angiotensin II noch einen anderen Vasokonstriktor enthielt, begründet.

Trotz der erhöhten Perfusionsrate ist die Konzentrierfähigkeit der isolierten Mausniere erhalten geblieben. Insbesondere eine vermehrte Durchströmung der Vasa recta des Nierenmarks kann eine Verringerung des kortiko-medullären Konzentrationsgradienten verursachen („wash-out“-Effekt; vgl. Pagel, 1998). Dennoch konnte eine knapp 26fach er-

höhte Inulin-Konzentration im Urin der isolierten Mausnieren im Vergleich zur Perfusatkonzentration gemessen werden.

Die glomeruläre Permeabilität isolierter Nieren ist höher als beim intakten Tier (Pagel & Stolte, 1992; Pagel, 1998). Auch die isoliert perfundierte Mausnieren zeigte eine deutlich erhöhte Albumin-Exkretionsrate bzw. -Clearance-Ratio. Die Ursache hierfür ist nach wie vor nicht genau bekannt (vgl. Pagel, 1998).

Die (niedrig-) normale glomeruläre Filtrationsrate gewährleistete hingegen eine weitestgehend intakte tubuläre Funktion der isoliert perfundierten Mausnieren. So waren – bei normalen Konzentrationen im Perfusionsmedium und entsprechend normalen Filtrationsraten – die fraktionellen Resorptionsraten für Wasser, Elektrolyte und Substrate jeweils deutlich über 95 %.

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass die isoliert perfundierte Mausnieren eine weitgehend normale Nierenfunktion zeigt. Es ergeben sich lediglich einige Besonderheiten, die jedoch nicht auf einem intrinsischen Defekt der isolierten Niere, sondern auf den hydraulischen Eigenschaften des Perfusionsmediums beruhen. Damit sind die Voraussetzungen für weiter gehende physiologische Untersuchungen mithilfe dieses experimentellen Modells gegeben.

Der prominenteste Unterschied in der Funktion der Nieren kongenital erythrozytärer Mäuse (tg-Mäuse) im Vergleich zu den von Wildtyp-Geschwistern (wt-Kontrollen) ist der bei den tg-Mäusen deutlich reduzierte renale Gefäßwiderstand. Dies resultierte in einer ebenso deutlichen Erhöhung der Perfusionsrate bei den Nieren der tg-Mäuse.

Für die vergleichende Untersuchung der Nieren von tg-Mäusen und wt-Kontrollen musste daher der Perfusionsdruck von 100 auf 80 mmHg abgesenkt werden. Der innere Durchmesser des PE-50-Perfusionskatheters, der wegen seines äußeren Durchmessers gerade noch in die Aorta der tg-Mäuse implantiert werden konnte, ließ Flussraten zum Aufbau eines Druckes von 100 mmHg nicht zu.

Der reduzierte renale Gefäßwiderstand der Nieren von tg-Mäusen korrespondiert mit der Beobachtung, dass auch die Gefäße anderer Organe der tg-Mäuse erweitert sind. So berichten Ruschitzka et al. (2000) von erweiterten arteriellen und venösen Schwanzgefäßen bei tg-Mäusen. Auch die Pulmonar-Arterien und -Venen sind erweitert. Ebenso finden sich am Herzen, der Leber und der Milz abnorm erweiterte Gefäße (Wagner et al., 2001). Verursacht wird diese Gefäßdilatation, die regelmäßig von einer Plethora der Gefäße begleitet wird, in erster Linie durch eine dreifach vermehrte NO-Produktion (Ruschitzka et al., 2000). Offenbar kann der Organismus so die erhöhte Blutviskosität

kompensieren, damit trotz Erythrozytose eine ausreichende Versorgung der Organe mit Sauerstoff gewährleistet bleibt.

Ogleich die Perfusionsrate deutlich erhöht war, waren die Diurese und die glomeruläre Filtrationsrate der Nieren der tg-Mäuse reduziert. Dies steht im Einklang mit Befunden aus der Literatur. Es besteht eine positive Korrelation zwischen Hämatokrit und glomerulärem Durchmesser (Mazzali et al., 2003). Mit steigender Erythrozyten-Konzentration im Blut kommt es augenscheinlich zum Umbau der glomerulären Architektur. Dies hat trotz zunehmender oder gleich bleibender Perfusions- bzw. Durchblutungsrate eine Abnahme der glomerulären Filtrationsrate zur Folge (Thron et al., 1998; Paixao et al., 1998).

Von dem Umbau bzw. der Adaptation der Glomeruli bei Erythrozytose ist auch die glomeruläre Filtrationsbarriere betroffen. Sie wird durchlässiger für Makromoleküle. Dies haben die Messungen der Albumin-Exkretionsraten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen gezeigt. Übereinstimmende Befunde sind an erythrozytären Ratten erhoben worden (Paixao et al., 1998). Die Frage nach der Ursache der Erythrozytose-induzierten Proteinurie muss derzeit unbeantwortet bleiben.

Die tubuläre Funktion der isoliert perfundierten Mausniere wurde in erster Linie gemäß den fraktionellen Resorptionsraten für Wasser, Natrium, Kalzium und Glukose beurteilt. Alle genannten Parameter waren in den Nieren der tg-Mäuse signifikant verschlechtert. Aufgrund des bisherigen Fehlens entsprechender experimenteller Modelle sind Literatur-Daten zur tubulären Funktion während Erythrozytose äußerst spärlich. Lediglich einige Fallberichte zur Erythrozytose-assoziierten distal renalen tubulären Azidose, die durch eine Störung des Bikarbonat- und Protonen-Transports im distalen Tubulus zustande kommt, sind zu finden (Weng et al., 2000; Matsukura et al., 2004). Bei diesem Krankheitsbild ist es jedoch noch ungeklärt, ob die Erythrozytose den tubulären Transportdefekt auslöst oder ob es sich umgekehrt verhält.

Neben der exokrinen Funktion der isoliert perfundierten Mausniere wurde auch deren endokrine Funktion untersucht. Bei Perfusion der isolierten Niere mit einem norm- bzw. hyperoxischen Medium produzierte sie nur Spuren von immunologisch nachweisbarem Erythropoietin. Wurde jedoch im Perfusionsmedium ein hypoxischer Sauerstoff-Partialdruck eingestellt, verdoppelte sich die Erythropoietin-Produktionsrate bei den Nieren der wt-Kontrollen. Dies entspricht Befunden aus Versuchen an der isoliert perfundierten Rattenni- niere (Pagel et al., 1991). Die Nieren erythrozytärer tg-Mäuse produzierten jedoch auch bei hypoxischer Perfusion lediglich einen Basis-Level an Erythropoietin; eine Hypoxie-induzierte Steigerung der Erythropoietin-Produktion blieb dagegen aus.

Obgleich die isolierten Nieren der erythrozytären tg-Mäuse zellfrei perfundiert wurden, konnten sie – im Gegensatz zu den Nieren der wt-Kontrollen – einen hypoxischen Reiz nicht mit einer vermehrten Erythropoietin-Synthese beantworten. Die intrarenale Sauerstoff-abhängige Regelung der Erythropoietin-Synthese war gewissermaßen unwiderruflich „abgeschaltet“. Dies kann als Hinweis gedeutet werden, dass die renale Synthese von Erythropoietin durch – im Modell der isoliert perfundierten Niere fehlende – extrarenale Faktoren entscheidend beeinflusst wird (Wussow et al., 2005).

5 Konklusion

- Das experimentelle Modell der isolierten, druckkonstant perfundierten Niere konnte erstmals erfolgreich von der Ratte auf die Maus als Spendertier umgestellt werden. Damit eröffnen sich vielfältige Möglichkeiten, die Nierenfunktionen von genetisch veränderten Organismen untersuchen zu können.
- Sowohl die vaskulären, die glomerulären wie auch die tubulären Nierenfunktionen von Mäusen, die durch eine Überexpression des Erythropoietin-Gens erythrozytär sind, sind deutlich gegenüber denjenigen der Wildtyp-Mäuse verschlechtert.
- Dies ist ein wichtiger Aspekt bei der Diskussion um das im Leistungs- wie im Breitensport verbreitete Erythropoietin-Doping. Erythropoietin-Abusus führt nicht nur zu einer kritischen Situation des Herz-/Kreislauf-Systems, sondern auch – zumindest *a la longue* – zur deutlichen Einschränkung aller Nierenfunktionen.

6 Literatur

- Anand, I. S., Chandrashekhar, Y., Ferrari, R., Poole-Wilson, P. A. & Harris, P. C (1993). Pathogenesis of oedema in chronic severe anaemia: studies of body water and sodium, renal function, haemodynamic variables, and plasma hormones. *Br Heart J*, 70, 357-362.
- Bertinieri, G., Parati, G., Ulian, L., Santucci, C., Massaro, P., Cosentini, R., Torgano, G., Morganti, A. & Mancia, G. (1998). Hemodilution reduces clinic and ambulatory blood pressure in polycythemic patients. *Hypertension*, 31, 848-853.
- Frede, S., Fandrey, J., Pagel, H., Hellwig, T. & Jelkmann, W. (1997). Erythropoietin gene expression is suppressed after lipopolysaccharide or interleukin-1 beta injections in rats. *Am J Physiol Reg Integrat Comp Physiol*, 273, R1067-R1071.
- Jelkmann, W. (2000). Use of recombinant human erythropoietin as an antianemic and performance enhancing drug. *Curr Pharm Biotechnol*, 1, 11-31.
- Katz, A. M. (1993). Metabolism of the failing heart. *Cardioscience*, 4, 199-203.
- Levin, A., Thompson, C. R., Ethier, J., Carlisle, E. J., Tobe, S., Mendelssohn, D., Burgess, E., Jindal, K., Barrett, B., Singer, J., Djurdjev, J. (1999). Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in haemoglobin. *Am J Kidney Dis*, 34, 125-134.

- Lowry, O., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275.
- Matsukura, H., Satoh, H., Arai, M., Higuchi, A., Miyawaki, T. & Izumino, K. (2004). Secondary erythrocytosis associated with distal renal tubular acidosis. *Clin Nephrol*, 62, 397-399.
- Mazzali, M., Jefferson, J. A., Ni, Z., Vaziri, N. D. & Johnson, R. J. (2003). Microvascular and tubulointerstitial injury associated with chronic hypoxia-induced hypertension. *Kidney Int*, 63, 2088-2093.
- Meneton, P., Ichikawa, I., Inagami, T. & Schnermann, J. (2000). Renal physiology of the mouse. *Am J Physiol Renal Physiol*, 278, F339-F351.
- Pagel, H., Jelkmann, W. & Weiss, C. (1991). Isolated serum-free perfused rat kidneys release immunoreactive erythropoietin in response to hypoxia. *Endocrinology*, 128, 2633-2638.
- Pagel, H., Stolte, H. (1992). On the glomerular mechanism of the renal protein excretion. *Renal Physiol Biochem*, 15, 249-256.
- Pagel, H. (1998). Evaluating the nephrotoxicity of cytotoxic agents using a rat kidney perfusing model. *J Oncol Pharm Practice*, 4, 218-226.
- Paixao, A. D., Ferreira, A. T., Oshiro, M. E., Razvickas, C. V., Boim, M. A. & Schor, N. (1998). Renal hemodynamic response to erythropoietin-induced polycythemia in 5/6 nephrectomised rats is different from normal rats. *Exp Nephrol*, 6, 245-252.
- Ruschitzka, F. T., Wenger, R. H., Stallmach, T. et al. (2000). Nitric oxide prevents cardiovascular disease and determines survival in polyglobulic mice overexpressing erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 97, 11609-11613.
- Schmidt, F. H. (1961). Die enzymatische Bestimmung von Glukose und Fruktose nebeneinander. *Klin Wochenschr*, 39, 1244-1247.
- Silverberg, D. S., Iaina, A., Wexler, D. & Blum, M. A. (2001). The pathological consequences of anaemia. *Clin Lab Haem*, 23, 1-6.
- Spivak, J. L. (2001). Erythropoietin use and abuse: When physiology and pharmacology collide. *Adv Exp Med Biol*, 502, 207-224.
- Thron, C. D., Chen, J., Leiter, J. C. & Ou, L. C. (1998). Renovascular adaptive changes in chronic hypoxic polycythemia. *Kidney Int*, 54, 2014-2020.
- Torre-Amione, G., Bozkurt, B., Deswal, A. & Mann, D. L. (1999). An overview of tumor necrosis factor alpha and the failing human heart. *Curr Opin Cardiol*, 14, 206-210.
- Wagner, K. F., Katschinski, D. M., Hasegawa, J., Schumacher, D., Meller, B., Gembruch, U., Schramm, U., Jelkmann, W., Gassmann, M. & Fandrey, J. (2001). Chronic inborn erythrocytosis leads to cardiac dysfunction and premature death in mice overexpressing erythropoietin. *Blood*, 97, 536-542.
- Weng, K. P., Hung, Y. M., Huang, S. H., Chio, Y. H. & Hsieh, K. S. (2000). Secondary erythrocytosis in distal renal tubular acidosis: report of one case. *Acta Paediatr*, 41, 90-92.

- WHO/UNICEF/UNU (2001) Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control. Genua, World Health Organization (http://www.who.int/nut/documents/ida_assessment_prevention_control.pdf)
- Wussow, U., Klaus, J. & Pagel, H. (2005). Is the renal production of erythropoietin controlled by the brain stem? *Am J Physiol Endocrinol Metab*, in press [Epub ahead of print; DOI: 10.1152/ajpendo.00182.2004]