

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Experimentelle Medizin

Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie

Direktor Prof. Dr. med. H. Ehmke

Ursachen für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-* *Diät* und die Rolle des Anions

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Jan Aaron Ewald

aus Hamburg

Hamburg 2022

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 04.05.2023**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Ulrich Wenzel

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Heimo Ehmke

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Volkskrankheit Hypertonie	1
1.2. Das Kreislaufsystem.....	1
1.3. Physiologische Blutdruckregulation	2
1.3.1. Regulation durch das Herz.....	3
1.3.2. Regulation durch das Gefäßsystem.....	4
1.3.2.1. Einfluss von Chlorid auf den Gefäßmuskeltonus.....	5
1.3.2.2. Einfluss von Protonen (H ⁺) auf den Gefäßmuskeltonus	7
1.3.3. Regulation durch die Niere.....	7
1.4. Primäre und sekundäre Hypertonie	9
1.4.1. Hyperaldosteronismus	9
1.4.2. Aldosteron	10
1.4.3. Epithelialer Natriumkanal (ENaC).....	11
1.5. Therapeutische Möglichkeiten.....	12
1.5.1. Ernährung.....	12
1.5.1.1. Typisch westliche Ernährung.....	12
1.5.1.2. Einfluss von hohem Kochsalzgehalt	13
1.5.1.3. Die <i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i> (DASH) Diät	14
1.5.1.4. Einfluss von Kalium auf den arteriellen Blutdruck	15
1.6. Fragestellung	17
1.6.1. Worin liegen die Ursachen für den Blutdruckanstieg unter <i>Hochkalium/Hochsalz-Diät</i> bei Mäusen und welchen Einfluss hat das Anion des Kaliumsalzes auf die Blutdruckregulation?17	
2. Material und Methoden	18
2.1. Material	18
2.1.1. Verbrauchsmaterialien	18
2.1.2. Chemikalien	19
2.1.3. Medikamente	19
2.1.4. Geräte und Gegenstände	20
2.1.5. Futter	20
2.1.6. Tiere.....	21
2.1.7. Software	21
2.2. Methoden.....	21
2.2.1. Haltungsbedingungen und Versuchstiere	21
2.2.2. Basis- und Diätfutter.....	22
2.2.3. Tamoxifen-Diät	23

2.2.4.	Implantation des telemetrischen Blutdrucksenders	23
2.2.5.	OP – Nachsorge	24
2.2.6.	Blutdruckmessung mit dem Telemetriesender	24
2.2.7.	Durchführung der Echokardiografie.....	25
2.2.8.	Blut-Gas-Analyse (BGA)	26
2.2.9.	Auswertung	27
2.2.9.1.	Auswertung der Amilorid-Telemetrie Daten.....	27
2.2.9.2.	Auswertung der TMEM16A Telemetrie Daten.....	28
2.2.9.3.	Auswertung der Herz-Ultraschall Daten.....	28
2.2.9.4.	Auswertung der BGA-Daten	28
3.	Ergebnisse	28
3.1.	Auswirkungen von Amilorid auf den Blutdruck.....	28
3.1.1.	<i>Kaliumcitrat-Gruppe</i>	29
3.1.2.	<i>Kaliumchlorid-Gruppe</i>	32
3.2.	Echokardiografie.....	35
3.2.1.	<i>Kaliumcitrat-Gruppe</i>	36
3.2.2.	<i>Kaliumchlorid-Gruppe</i>	37
3.2.3.	<i>Normalkalium/Hochsalz-Gruppe</i>	38
3.2.4.	Alle Gruppen im Überblick	39
3.3.	TMEM16A – Knockout Tiere.....	40
3.3.1.	Blutdruck- und Herzfrequenz Messung.....	40
3.3.1.1.	Die <i>Kaliumcitrat-Diät</i>	41
3.3.1.2.	Die <i>Kaliumchlorid-Diät</i> für den TMEM16A Knockout.....	46
3.3.2.	Blutgasanalyse (BGA).....	47
3.3.2.1.	Die <i>Kaliumcitrat-Diät</i>	47
3.3.2.2.	Die <i>Kaliumchlorid-Diät</i> für den TMEM16A Knockout.....	48
4.	Diskussion	49
4.1.	Auswirkungen von Amilorid auf den arteriellen Blutdruck.....	49
4.2.	Echokardiografie.....	51
4.3.	TMEM16A-Knockout Tiere	53
4.3.1.	Blutdruck- und Herzfrequenz Messung.....	53
4.3.2.	Blutgasanalyse.....	55
5.	Zusammenfassung.....	58
5.1.	Summary.....	59
6.	Abkürzungsverzeichnis.....	60
7.	Literaturverzeichnis	63

8.	Danksagung.....	70
9.	Lebenslauf.....	71
10.	Eidesstattliche Versicherung.....	72

1. Einleitung

1.1. Volkskrankheit Hypertonie

Die Hypertonie ist definiert als eine anhaltende Erhöhung des systolischen Blutdrucks von mindestens 140 Millimeter Quecksilbersäule (mmHg) und/ oder eines diastolischen Drucks von mindestens 90mmHg (Williams et al. 2018). Laut Website der World Health Organisation (WHO) leiden weltweit etwa 1,13 Milliarden Menschen an Bluthochdruck (WHO 2015). In Deutschland sind es etwa 20 - 30 Millionen, was in etwa 30% der Gesamtbevölkerung entspricht. Im Alter zwischen 70 und 79 Jahren leiden sogar drei von vier Deutschen unter erhöhtem arteriellen Blutdruck (RKI 2015). Somit ist es eine der am weitesten verbreiteten Krankheiten weltweit und gilt als einer der wichtigsten Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Häufig ist die arterielle Hypertonie symptomlos und führt über Jahre und Jahrzehnte zu irreversiblen Schäden an Herz, Gefäßsystem, Gehirn, Niere und Augen, weshalb sie auch als „silent killer“ bezeichnet wird (Doroszko et al. 2016; Elliott 2007). Die Hypertonie und damit assoziierte Erkrankungen wie Schlaganfall oder Herzinfarkt verursachen enorm hohe Kosten im Gesundheitswesen (Gheorghe et al. 2018), die z.B. in den USA in den Jahren 2003 - 2006 jährlich 113 Milliarden US-Dollar betragen (Wang et al. 2014). Da etwa 10 - 15% der Betroffenen trotz Therapie mit mindestens drei verschiedenen antihypertensiven Medikamenten keinen adäquaten Blutdruckwert erreichen (Oliveras und La Sierra 2014), liegt die Notwendigkeit der weiteren Erforschung guter Therapiemöglichkeiten auf der Hand. Dies erfordert ein gutes und umfangreiches Verständnis der Physiologie des Blutdrucks, der Pathogenese und möglicher Risikofaktoren für die Hypertonie, um ein Risikoverhalten vermeiden zu können und neue Wege für die Behandlung zu finden.

1.2. Das Kreislaufsystem

Die wichtigste Aufgabe des Kreislaufsystems ist der Transport von Substanzen, die für das Überleben des Organismus unabdingbar sind, wie z.B. Sauerstoff (O₂), Zucker, Fette, Proteine oder Salze. All diese Stoffe werden durch den Kreislauf über das Blut zu den Zellen transportiert. Auch der Abtransport von Stoffwechselendprodukten wie Kohlenstoffdioxid (CO₂), Lactat oder harnpflichtigen Substanzen ist lebensnotwendig und nur durch einen funktionierenden Kreislauf möglich. Außerdem trägt der Kreislauf

entscheidend zur Wärmeregulation des Körpers bei, er ist ein essentieller Teil des Kommunikationssystems des Organismus und auch das Immunsystem ist auf einen funktionierenden Blutstrom angewiesen.

Ein Zusammenbruch des Kreislaufsystems wäre aus vielen Gründen tödlich. Daher erfordert es eine gut funktionierende Regulation.

1.3. Physiologische Blutdruckregulation

Der Kreislauf wird in ein Hoch- und ein Niederdrucksystem aufgeteilt. Der Druckgradient zwischen diesen beiden Systemen lässt das Blut in eine Richtung fließen und zwar vom Hoch- zum Niederdrucksystem. Zwischen Niederdruck- und Hochdrucksystem sitzt das Herz, das den Blutdruck im Hochdrucksystem aufbaut. Wenn vom Blutdruck gesprochen wird, spricht man vom *Systolischen Arteriellen Druck* (SAP) und dem *Diastolischen Arteriellen Druck* (DAP). Der systolische bzw. der obere der beiden Werte entspricht dem Druck, der entsteht, wenn das Herz kontrahiert und das Blut in das Hochdrucksystem pumpt. Der diastolische bzw. der untere der beiden Werte entsteht während der Füllungsphase des Herzens, wenn das Blut passiv unter langsamen Druckabfall aus der Aorta in die dahinter geschalteten Gefäße abfließt (Belz 1995). Der physiologische Wert entspricht, sowohl beim Menschen als auch bei der Maus 120/80mmHg. Der mittlere Wert dazwischen ist der *Mittlere Arterielle Druck* (MAP) und wird näherungsweise für herzferne Arterien errechnet aus 1/3 des SAP und 2/3 des DAP. Je höher das *Herzzeitvolumen* (HZV), welches dem ausgeworfenen Blut des Herzens pro Zeit entspricht, und der *Totale Periphere Widerstand* (TPR), der durch die Widerstandsgefäße gebildet wird, sind, desto höher ist der MAP bzw. die Druckdifferenz zwischen MAP und dem *Zentral venösen Druck* (ZVD), der definitionsgemäß vor dem rechten Vorhof gemessen wird. Es gilt also:

$$\text{MAP} - \text{ZVD} = \text{HZV} \times \text{TPR}$$

Das HZV errechnet sich aus Herzfrequenz (HF) und Schlagvolumen (SV) und da der ZVD beim Gesunden gegen null geht, lässt sich vereinfacht sagen:

$$\text{MAP} = \text{HF} \times \text{SV} \times \text{TPR}$$

Die vorerst wichtigsten Stellgrößen für die Blutdruckregulation und das Aufrechterhalten eines gesunden MAPs sind also das Herz und das Gefäßsystem. Auf

diese beiden Komponenten soll im Folgenden eingegangen werden, bevor die Niere als drittes wichtiges Organ für die Druckregulation, vor allem der langfristigen (Ivy und Bailey 2014), besprochen werden soll.

1.3.1. Regulation durch das Herz

Das Herz ist die Pumpe, die den Kreislauf antreibt und es ist eine wichtige Stellgröße für die Anpassung des Blutdrucks an veränderte Kreislaufanforderungen. Um die Leistung des Herzens an den Bedarf des Körpers anzupassen, wird Frequenz und Schlagvolumen (SV) verändert. Dabei kann dies zum einen über das vegetative Nervensystem reguliert werden. Zum anderen erfolgt eine Regulation des Schlagvolumens auch über die Vor- und Nachlast bzw. den *Frank-Starling-Mechanismus* (Jacob et al. 1992).

Das vegetative Nervensystem besteht aus Sympathikus und Parasympathikus. Diese beiden Spieler regulieren das Herz in gegenteiliger Weise. Der Sympathikus tut dies hauptsächlich über die sympathischen Nervenfasern des Grenzstranges und der Parasympathikus über den Nervus Vagus (X. Hirnnerv). So konnte gezeigt werden, dass bei vagaler Denervierung des Herzens die Ruhfrequenz ansteigt (Jose 1966). Das parasympathische Nervensystem übt also eine permanente inhibitorische Wirkung auf den Sinusknoten aus, dem primären Schrittmacherzentrum des Herzens. Ein erhöhter Sympathikotonus hingegen erhöht die HF und die Herzkraft (Inotropie). Eine Zunahme der Herzkraft lässt sich durch Messung des *Endsystolisches Volumens* (ESV), des *Schlagvolumens* (SV) und der *Ejektionsfraktion* (EF) feststellen. Die Messung und Interpretation dieser Parameter ist eine valide Methode (Gao et al. 2011), um auf eine höhere bzw. niedrigere Inotropie schließen zu können (Schrader 2014). Ein niedrigeres ESV, ein erhöhtes SV und eine erhöhte EF sprechen für eine Zunahme der Inotropie.

Der *Frank-Starling-Mechanismus* beschreibt den Zusammenhang zwischen SV und Enddiastolischem Volumen (EDV). Es konnte gezeigt werden, dass eine Zunahme der Vordehnung des Herzens zu einer höheren Spannungsentwicklung im Herzmuskel führt. Fast ein Jahrhundert nach der Entdeckung des Gesetzes haben Fortschritte in der Physiologie erfolgreich die molekularen Mechanismen der höheren Spannungsentwicklung aufgedeckt. Das Myofilament Titin spielt dabei eine entscheidende Rolle, indem es bei Spannungsveränderungen im Herzmuskel den

Abstand der beiden anderen Myofilamente Aktin und Myosin optimiert (Kobirumaki-Shimozawa et al. 2014). Die stärkere Vordehnung wird durch eine vermehrte Füllung (Vorlast) erreicht. Da die Füllung des Herzens in der Diastole vor allem durch den ZVD bestimmt wird, führt ein erhöhtes Blutvolumen im Normalfall zu einem höherem EDV. Auch kann eine erhöhte Nachlast indirekt die Vordehnung erhöhen. Eine erhöhte Nachlast kommt durch einen erhöhten Druck im arteriellen System zustande, was durch einen erhöhten TPR verursacht sein kann. Eine erhöhte Vorlast ist im Herzultraschall als erhöhtes *Enddiastolisches Volumen* (EDV) zu erkennen.

1.3.2. Regulation durch das Gefäßsystem

Der Gefäßwiderstand spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Blutdrucks. Die wichtigste Stellgröße für die Anpassung des TPRs ist der Gefäßdurchmesser. Dies veranschaulicht die Formel von Hagen Poiseuille:

$$V/t = \Delta P * (r^4 * \pi * l) / (8 * \eta * l)$$

Demzufolge wird bei einer Verdopplung des Gefäßdurchmessers bzw. des Gefäßradius (r) das Blutvolumen pro Zeit (V/t) um den Faktor 16 (2⁴) gesteigert.

Wenn man annimmt, dass V/t der elektrischen Stromstärke I entspricht, ΔP der elektrischen Spannung U und der TPR dem elektrischen Widerstand R, dann gilt gemäß dem Ohmschen Gesetz $\Delta P/TPR=V/t$:

$$TPR = (8 * \eta * l)/(r^4 * \pi)$$

Je länger das Gefäß (l) und je dickflüssiger das Blut (η) ist, desto höher ist der TPR und je größer der Durchmesser bzw. der Radius ist, desto kleiner ist der TPR. Diese physikalischen Formeln gelten natürlich nur unter idealisierten Bedingungen, aber sie stellen anschaulich dar, welche Faktoren bei der Regulation des TPRs eine Rolle spielen. Für die Anpassung des TPR an veränderte physiologische Bedingungen spielt die Änderung des Radius bzw. Durchmessers die entscheidende Rolle (Pitkow 1997).

Es gibt viele Faktoren, die auf den Gefäßdurchmesser und somit auf den TPR Einfluss nehmen. Die Veränderung des Durchmessers gehen physiologischer Weise meist mit einer Kontraktion oder Relaxation der glatten Muskelzellen, die die Gefäße umgeben, einher.

Einen wichtigen Einfluss nimmt der Sympathikus, der mit Hilfe seiner efferenten

Nerven und der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin über die Aktivierung des α_1 -Rezeptors vor allem die kleinen Arterien und Arteriolen zur Vasokonstriktion anregt. Dagegen spielt der Parasympathikus bei der Regulation des TPRs in den meisten Gefäßen eine untergeordnete Rolle (Ehmke 2014). In einigen Gefäßen kann die sogenannte myogene Antwort beobachtet werden. Dabei kommt es durch Dehnung der Gefäßwand über dehnungssensitive Kationenkanäle der glatten Gefäßmuskelzellen zu einer Zelldepolarisation, welche über die Aktivierung von spannungsgesteuerten Kalzium(Ca^{2+})-Kanälen zu einer reflektorischen Kontraktion führt (Hill et al. 2001). Dieser als Bayliss-Effekt bezeichnete Vorgang ist vor allem in den vorgeschalteten Blutgefäßen des Gehirns, der Niere, des Herzens und der Leber zu beobachten und dient zur Aufrechterhaltung einer konstanten Durchblutung bei schwankendem arteriellem Blutdruck (Jacob et al. 2016). Außerdem spielen endotheliale Mediatoren, wie Stickstoffmonoxid (NO) und Endotheline oder lokal gebildete Metabolite wie Adenosin, Kalium (K^+) oder der pH-Wert eine wichtige Rolle in der Regulation des Gefäßdurchmessers.

In den glatten Muskelzellen führt ein Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, der durch Zelldepolarisation oder durch eine Freisetzung aus intrazellulären Speichern verursacht werden kann, zur Kontraktion. Der Anstieg des Ca^{2+} aktiviert über den Ca^{2+} -Calmodulin-Komplex die Myosinleichtkettenkinase (MLC-Kinase), die wiederum die Myosinleichtkette phosphoryliert. Eine vermehrte Phosphorylierung der Myosinleichtkette verursacht eine vermehrte Konstriktion und somit einen Anstieg des TPRs. Somit können nicht nur Hormone, wie z.B. Noradrenalin über G-Protein gekoppelte α_1 -Rezeptoren, eine Änderung des TPRs verursachen, sondern auch alle Mechanismen, die zu einer Zelldepolarisation führen. Eine Hyperpolarisation, z.B. durch EDHF (Endothelium-derived hyperpolarizing factor), hingegen bewirkt eine Relaxation der glatten Muskelzelle und folglich einen Abfall des TPRs (Garland et al. 2011).

1.3.2.1. Einfluss von Chlorid auf den Gefäßmuskeltonus

Die Wirkung von Chlorid (Cl^-) auf das Membranpotential der glatten Gefäßmuskelzelle und somit auf den TPR steht seit einiger Zeit im vermehrten Interesse der Forschung, während der Einfluss von Kationen wie Kalium (K^+), Natrium (Na^+) und Kalzium (Ca^{2+}) schon besser und seit längerer Zeit erforscht ist (Kesteloot und Geboers 1982; Meneely und Ball 1958). Hübner et al fassen die Rolle des Cl^- -Transports in der

Gefäßmuskelzelle und seinen Einfluss auf den Gefäßmuskeltonus in ihrem Review zusammen (Hübner et al. 2015). Inzwischen weiß man, dass Cl^- bei der Zelldepolarisation in der Gefäßmuskelzelle eine sehr wichtige Rolle spielt. Die Cl^- -Konzentration in der Gefäßmuskelzelle liegt mit etwa 30 - 50 mmol/l weit höher als die in anderen Zellen des Körpers (Chipperfield und Harper 2000). Verantwortlich dafür sind nach heutigem Stand der Wissenschaft vor allem drei Transporter, die Cl^- -Ionen nach intrazellulär transportieren. Der Na^+ - K^+ - 2Cl^- -Transporter (NKCC1), der $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Antiporter (AE2) und ein dritter Kanal, der als „Pump III“ bezeichnet wird. Für diesen gibt es bisher nur Hinweise. Seine genaue Struktur und Funktionsweise sind aber noch nicht bekannt (Chipperfield und Harper 2000; Aickin und Vermuë 1983; Owen 1984). Aufgrund der Anreicherung von Cl^- -Ionen in der Zelle liegt das Gleichgewichtspotential von Chlorid (E_{Cl}) etwa bei -30mV bis -20mV (Kitamura und Yamazaki 2001) und somit weit über dem Membranpotential von etwa -40 mV bis -60mV (Neild und Keef 1985; Nelson et al. 1990). Ein Öffnen von Cl^- -Kanälen führt folglich zu einem Cl^- -Auswärtsstrom und damit zu einer Membrandepolarisation. Verändert sich im Körper die intra- oder extrazelluläre Cl^- -Konzentrationen, hat dies einen Einfluss auf das Cl^- -Gleichgewichtspotenzial (E_{Cl}). Aus diesem Grund bewirkt z.B. eine Blockade des NKCC1 durch das Schleifendiuretikum Furosemid über das Absinken der intrazellulären Cl^- -Konzentration eine Senkung des E_{Cl} . Die Folge ist ein verminderter depolarisierender Cl^- -Ausstrom aus den glatten Muskelzellen.

Am Cl^- -Auswärtsstrom wesentlich beteiligt ist der Ca^{2+} -aktivierte Cl^- -Kanal (CaCC) TMEM16A (transmembrane protein 16A oder anoctamin 1 (ANO1)). Der TMEM16A wird vor allem durch Ca^{2+} , aber auch durch andere G-Protein gekoppelte Mechanismen aktiviert (Large und Wang 1996). Die Rolle des TMEM16A für die Regulation des TPRs konnte bei Mäusen mit einem Knockout für TMEM16A gezeigt werden. Die TMEM16A KO-Tiere zeigten bei Gabe der Vasokonstriktoren Noradrenalin oder Vasopressin eine stark eingeschränkte Reaktion (Dam et al. 2014). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Tieren, denen nur in den glatten Muskelzellen der TMEM16A fehlt (Gefäß-spezifischer TMEM16A Knockout-Tiere), unter Normalbedingungen einen signifikant erniedrigten Blutdruck aufwiesen (Heinze et al. 2014). Zusätzlich zu dem Ca^{2+} aktivierten Cl^- -Kanal TMEM16A gibt es noch weitere Cl^- -Kanäle in den glatten Gefäßmuskelzellen: den cGMP-abhängigen Cl^- -Kanal (Bestrophin modifiziert), den Volumen-sensitiven Cl^- -Kanal (CIC-3) und den cAMP-aktivierten CFTR Kanal (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)

(Bulley und Jaggar 2014). Allesamt nehmen sie eine mehr oder minder wichtige Rolle in der TPR-Regulation im Organismus ein. In dieser Arbeit soll unter anderem die Rolle des TMEM16A für die Blutdruckregulation unter verschiedenen Kaliumsalzdiäten näher untersucht werden.

1.3.2.2. Einfluss von Protonen (H⁺) auf den Gefäßmuskeltonus

Dass die K⁺-Leitfähigkeit der Gefäßmuskelzellen durch eine Erhöhung der extrazellulären H⁺-Konzentration und damit einer Absenkung des pH-Wertes ansteigt, ist schon länger bekannt (Scribner et al. 1955). Da das K⁺-Gleichgewichtspotenzial E_K mit etwa -90mV niedriger ist als das Ruhemembranpotenzial der glatten Gefäßmuskelzelle, führt eine Erhöhung der K⁺-Leitfähigkeit zur Hyperpolarisation der Zellmembran (Korbmacher 2014). Im Gegensatz dazu steht der Einfluss extrazellulärer Protonen auf den TMEM16A. Dieser wird durch eine hohe extrazelluläre H⁺-Konzentration maximal aktiviert. Dies würde durch einen Cl⁻-Ausstrom zu einer Membrandepolarisation führen (Cruz-Rangel et al. 2017). Allerdings konnte exemplarisch für Gefäße des Gehirns und auch der quergestreiften Muskulatur nachgewiesen werden, dass eine pH-Wert Erniedrigung im Allgemeinen zu einer Vasodilatation führt. Somit würde der Einfluss der extrazellulären H⁺-Konzentration auf den TMEM16A in diesem Fall eine untergeordnete Rolle einnehmen (Kontos et al. 1971; Peng et al. 1998).

1.3.3. Regulation durch die Niere

Die Niere ist vor allem für die langfristige Blutdruckregulation verantwortlich. Dies bewerkstelligt sie über die Kontrolle des Salz- und Wasser-Haushaltes und damit über die Einstellung des Blutvolumens. Die drei wichtigsten Hormone bzw. Hormonsysteme, die die Niere befähigen, adäquat auf die Volumenbedürfnisse des Körpers zu reagieren, sind das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System RAAS, das Antidiuretische Hormon ADH (Adiuretin bzw. Vasopressin) und das Atriale Natriuretische Peptid ANP (Atriopeptin).

Das RAAS wird vor allem durch einen Blutdruckabfall, zum Beispiel bei Volumenmangel, stimuliert. Durch den Blutdruckabfall kommt es zur Aktivierung des Sympathikus, welcher über die Aktivierung von β_1 -Rezeptoren an den juxtaglomerulären Zellen die Sekretion von Renin steigert. Außerdem befinden sich

Barorezeptoren in der Wand der afferenten Arteriole der Nierenkörperchen, die einen verminderten Perfusionsdruck direkt wahrnehmen und zur Synthese und Sekretion von Renin führen. Renin ist eine Endopeptidase und führt zur Spaltung von Angiotensinogen zu Angiotensin I. Angiotensin I wird durch das hauptsächlich in der Lunge gebildeten Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) zu Angiotensin II umgewandelt. Das Hormon Angiotensin II wirkt über den AT_{1A} -Rezeptor vasokonstriktorisch. Außerdem stimuliert es die Sezernierung von ADH und führt zu vermehrtem Durstgefühl. In der Niere stimuliert Angiotensin II die Na^+ -Rückresorption und führt dadurch zur Zunahme des Plasmavolumens. Schlussendlich stimuliert Angiotensin II die Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde. Das Mineralokortikoid Aldosteron bewirkt über den Einbau des epithelialen-Natrium-Kanals (ENaC) im distalen Nierentubulus und im Sammelrohr eine Steigerung der Na^+ -Rückresorption und somit auch einen Volumenanstieg.

Das Hormon ADH wird bei Volumenmangel aus den Zellen der Neurohypophyse vermehrt ausgeschüttet. Die vermehrte ADH-Freisetzung wird bewirkt durch eine verminderte Dehnung der Vorhöfe, durch Anstieg von Angiotensin II und durch eine geringere Stimulation der Barorezeptoren im Aortenbogen. Der Anstieg des ADHs bewirkt, dass in den Sammelrohren der Niere über die Aktivierung der V_2 -Rezeptoren vermehrt Aquaporin 2 (AQP-2) eingebaut wird (Schafer 2004). Dies führt über eine gesteigerte Rückresorption von Wasser zur Erhöhung des Plasmavolumens. Des Weiteren kann ADH die V_1 -Rezeptoren der glatten Gefäßmuskelzellen aktivieren und bewirkt dadurch eine Erhöhung des TPRs.

Die Freisetzung des Peptidhormons ANP hingegen erfolgt bei der vermehrten Dehnung der Herzvorhöfe. Somit wird bei erhöhtem Blutvolumen ANP aus den Myozyten, in besonderem Maße aus den Myozyten des rechten und linken Herzhohls, freigesetzt. In der Niere wirkt ANP unter anderem einer Na^+ -und Wasser-Resorption entgegen. Die dadurch induzierte Natriurese führt zur Senkung des Blutvolumens und damit einhergehend zum Abfall des Blutdrucks. Zusätzlich entfaltet ANP eine blutdrucksenkende Wirkung auch über die Hemmung der Renin-Freisetzung und über die Hemmung der Aldosteron-Synthese.

1.4. Primäre und sekundäre Hypertonie

Die Hypertonie wird in die primäre und die sekundäre Hypertonieform eingeteilt. Während bei den sekundären Formen der Hypertonie die Ursache klar auszumachen ist, ist die Genese der primären oder essentiellen Hypertonie multifaktoriell bedingt. 60 - 70% der Ursachen werden auf Umweltfaktoren und Lebensstil zurückgeführt. Hier spielen beispielsweise Bewegungsmangel, Übergewicht, Rauchen und Salzzufuhr eine wichtige Rolle. Die anderen schätzungsweise 30 - 40% sind durch genetische Disposition bedingt (RKI 2008). Jedoch müssen auch Menschen mit einer genetischen Vorbelastung keinesfalls an Bluthochdruck erkranken. Durch einen gesunden Lebensstil mit viel Bewegung und einer ausgewogenen Ernährung kann dieser Krankheit vorgebeugt werden (Calhoun et al. 2008). Trotz allem sind auch heute noch viele Ursachen und Hintergründe der primären Hypertonie, die auf etwa 90% der Menschen mit Hypertonie zutrifft, noch nicht ausreichend erforscht.

Auf zwei Krankheitsbilder der sekundären Hypertonie und dem damit im Zusammenhang stehenden Aldosteron und ENaC soll im Folgenden weiter eingegangen werden.

1.4.1. Hyperaldosteronismus

Der primäre Hyperaldosteronismus, auch Conn-Syndrom genannt, ist eine Form der sekundären Hypertonie. Durch ein Aldosteron-produzierendes Nebennierenrinden-Adenom oder eine idiopathische Hyperplasie wird unkontrolliert Aldosteron in einer Menge sezerniert, die zu einem pathologisch erhöhten Einbau von ENaC führt, was zu einer vermehrten renalen Na^+ Rückresorption führt. Patienten mit dieser Erkrankung leiden an einer medikamentös schwer einstellbaren Hypertonie, zumeist an einer Hypokaliämie mit dazugehörigem Symptomkomplex und einer metabolischen Alkalose.

Im Gegensatz zu primären Hyperaldosteronismus ist beim Liddle-Syndrom der Aldosteronspiegel im Blut nicht erhöht. Beim Liddle-Syndrom handelt es sich um eine sehr seltene genetisch bedingte Erkrankung, die durch eine autosomal-dominant vererbte gain-of-function Mutation des ENaC verursacht wird. Diese Mutation führt zu einem ähnlichen Krankheitsbild wie das des primären Hyperaldosteronismus mit Hypertonie, Hypokaliämie und metabolischer Alkalose. Man spricht daher auch vom Pseudohyperaldosteronismus.

Diese beiden Krankheitsbilder veranschaulichen die wichtige Rolle von Aldosteron und ENaC für den Blutdruck und die Na⁺- und K⁺- Homöostase

1.4.2. Aldosteron

Aldosteron ist ein Mineralokortikoid, welches in der Zona Glomerulosa der Nebennierenrinde gebildet wird. Seine Freisetzung und Synthese wird nicht nur durch Angiotensin II induziert, sondern auch durch erhöhte extrazelluläre K⁺-Spiegel. K⁺ bewirkt in den Zellen der Zona Glomerulosa eine Membrandepolarisation, wodurch es zu einer Aktivierung von spannungs-abhängigen Ca²⁺-Kanälen kommt. Durch einen in der Folge erhöhten Ca²⁺-Strom wird die Calmodulin-abhängige Kinase (CAM) aktiviert, die wiederum durch die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren die Genexpression von CYP11B2 fördern, welches eines der beiden Steroid-11 β -Hydroxylasen ist. Dies führt zur erhöhten Biosynthese und Sezernierung von Aldosteron (Cannavo et al. 2018; McKenna et al. 1978; Quinn und Williams 1988; Nogueira und Rainey 2010). Auch das Adrenokortikotrope Hormon (ACTH) und ADH stimulieren die Sezernierung von Aldosteron (Quinn und Williams 1988; Woodcock et al. 1986). Dopamin und ANP hemmen diese (Pivonello et al. 2007; Johnston et al. 1989).

Die Wirkung von Aldosteron auf den Organismus geht über die oben bereits beschriebene Steigerung der renalen Na⁺ Rückresorption hinaus. Es führt auch zu einer stärkeren Aktivierung und zum vermehrten Einbau des Renal Outer Medullary Potassium (K) channel (ROMK) was über eine vermehrte renale K⁺-Sekretion die Plasma-K⁺-Konzentration absenkt (Penton et al. 2015). Des Weiteren hat es eine Reihe direkter vaskulärer Effekte, die im Wesentlichen über zwei Rezeptoren vermittelt werden. Zum einen über den Mineralokortikoidrezeptor (MR) und zum anderen über den G-Protein-Östrogen-Rezeptor (GPER) (Feldman und Gros 2013). Der MR, welcher durch das Medikament Spironolacton blockiert werden kann, ist ein Transkriptionsfaktor. Nach Bindung der lipophilen Hormone Aldosteron oder Cortisol an den MR im Zytoplasma erfolgt eine Translokation des MR in den Nukleus. Dies führt dann zu einer Veränderung der Genexpressionen in den entsprechenden Geweben (Shafiq und Miller 2009; Rogerson und Fuller 2000). In vielen Geweben wird Cortisol von der 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Typ II (HSD2) in die inaktive Form 11-Dehydrocorticosteron umgewandelt, sodass es eine schwächere Wirkung am MR entfaltet (Odermatt und Kratschmar 2012). In Endothel- und glatten

Gefäßmuskelzellen fehlt dieses Enzym jedoch, sodass Cortisol und Aldosteron eine ähnlich starke Wirkung in Gefäßen besitzen (Young et al. 2003). Neben dem nuklear wirkenden MR gibt es Vermutungen auf die Existenz eines membranständigen zytosolischen MR (Grossmann et al. 2005), durch den die unmittelbaren Effekte des Aldosterons im Gefäß zum Teil erklärt werden können. Als zweiter Rezeptor wird der GPER nun seit einiger Zeit in Verbindung mit der Wirkung von Aldosteron gebracht. So konnten Feldman und Gros in Aorten von Ratten zeigen, dass Aldosteron einen entscheidenden Effekt auf die glatten Gefäßmuskelzellen über den GPER ausübte (Feldman und Gros 2013). Hauptsächlich wird dem GPER ein endothel-abhängiger vasodilatatorischer Effekt zugeschrieben (Gros et al. 2013) und dem MR hauptsächlich ein vasokonstriktorisches Effekt über die glatte Gefäßmuskulatur (Wehling et al. 1998). Der Gesamteffekt im Gefäß unterliegt vermutlich dem Verhältnis dieser beiden Rezeptoren (Feldman und Gros 2013). Weitere Studien konnten allerdings zeigen, dass der Nettoeffekt zu Gunsten einer Vasokonstriktion ausfällt und damit Aldosteron eher einen vasokonstriktorisches Effekt auf die Gefäße hat (Romagni et al. 2003; Arima et al. 2003).

1.4.3. Epithelialer Natriumkanal (ENaC)

ENaC ist ein membranständiger Ionenkanal und primär durchlässig für Na^+ -Ionen. Er besteht aus drei Untereinheiten und befindet sich vor allem auf den Epithelien der Niere, der Lunge und dem Colon. Wie schon beschrieben werden die Synthese und der Einbau von ENaC durch Aldosteron aktiviert. Zu seinen wichtigsten Aufgaben zählt die Regulation der Na^+ - und indirekt der K^+ - Homöostase (Hanukoglu und Hanukoglu 2016).

Über den ENaC werden Na^+ -Ionen aufgrund des vorliegenden Konzentrationsunterschieds, welcher durch die Na^+ - K^+ -ATPase aufgebaut wird, vom Tubuluslumen in die Zelle aufgenommen. Basolateral werden die Na^+ -Ionen über die ebenso durch Aldosteron verstärkt aktivierte Na^+ - K^+ -ATPase ins Blut abgegeben (Hayhurst und O'Neil 1988). Durch den osmotischen Effekt des Na^+ wird Wasser rückresorbiert, was letztlich zur Steigerung des Plasmavolumens führt. Da durch die vermehrte Na^+ -Rückresorption über den ENaC ein lumen negatives Potenzial entsteht, wird nun zusätzlich vermehrt K^+ über den ROMK ausgeschieden.

Auch ENaC lässt sich, wie der MR-Rezeptor, direkt inhibieren. In diesem Fall heißt der

bekannteste Vertreter Amilorid. Dieses hemmt vor allem die Natriumresorption im distalen Tubulus und im Sammelrohr.

1.5. Therapeutische Möglichkeiten

Die Therapie des arteriellen Bluthochdrucks unterteilt sich vor allem in zwei Bereiche. Zum einen die sogenannten *Lebensstilveränderungen* und zum anderen die pharmakologische Therapie. Unter den *Lebensstilveränderungen* versteht man vor allem Stressreduktion, Sport und die Veränderung des Essverhaltens.

So konnte gezeigt werden, dass Stressreduktion den Blutdruck signifikant senkt und andererseits einige Jahre andauernder chronischer Stress, das Risiko, innerhalb der nächsten 3 - 7 Jahre eine Hypertonie zu entwickeln, signifikant anhebt (Rainforth et al. 2007; Ghadieh und Saab 2015; Steptoe et al. 2005). Auch Sport kann einen sehr positiven Einfluss auf einen erhöhten Blutdruck haben (Ghadieh und Saab 2015). So konnte bei Probanden, die dreimal in der Woche über 16 Wochen hinweg für jeweils 40 Minuten an einem Aerobic-Kurs teilnahmen, der SAP um 6,9mmHg und der DAP um 4,9mmHg gesenkt werden (Fagard und Cornelissen 2007). Des Weiteren spielt die Ernährung eine wichtige Rolle bei der Entwicklung einer Hypertonie.

1.5.1. Ernährung

Adipositas, hoher Alkohol- und Koffeinkonsum, Dyslipidämie, hohe Kochsalzzufuhr und Insulinresistenz haben zweierlei gemeinsam. Sie stehen in direkter Verbindung mit unserer Ernährung und sind allesamt wichtige Risikofaktoren bei der Genese der arteriellen Hypertonie.

1.5.1.1. Typisch westliche Ernährung

Es ist bekannt, dass sich unter anderem die US-Amerikaner gegenüber anderen Kohorten vermehrt von Fastfood und Fertigprodukten ernähren. Laut dem *National Center for Health Statistics* (NCHS) nimmt gut 85% der Bevölkerung zu viel Kochsalz zu sich, was auf einen hohen Konsum von Fertigprodukten zurückzuführen ist und etwa 70% zu viel gesättigte Fettsäuren und Monosaccharide (Einfachzucker), was für einen hohen Fastfood Verzehr spricht. Außerdem liegt bei etwa 80% der Amerikaner der tägliche Obst- und Gemüseverzehr unter den Empfehlungen. Da überrascht es

wenig, dass mehr als die Hälfte der Bevölkerung an Adipositas oder zumindest Übergewicht leidet. Zwischen 2009 und 2012 betraf dies 65% der Frauen und 73% der Männer (Moore et al. 2016). Da die amerikanische Ernährung bzw. der amerikanische *Lifestyle* zunehmend Einfluss auf die Ernährung der gesamten westlichen Welt und auch der Entwicklungsländer nehmen, ist dies ein großes Problem, welches über kurz oder lang die gesamte Weltbevölkerung betreffen könnte. Exemplarisch hierzu fassen Pan et al. den Einfluss von westlichen, hauptsächlich amerikanischen Fast-Food-Ketten wie McDonald's, KFC oder Pizza Hut auf das Übergewichts-, kardiovaskuläre Erkrankungs- und Diabetesrisiko vorrangig in asiatischen Ländern zusammen (Pan et al. 2012). Beispielsweise berichten sie von einer großangelegten Studie mit über 43.000 Chinesen. Die Teilnehmer der Studie, die mehr als zweimal pro Woche in westlichen Fast-Food-Restaurants aßen, hatten ein 56% höheres Risiko an der Koronare Herzkrankheit (KHK) zu versterben als die, die wenig bis gar kein Fast-Food aßen (Odegaard et al. 2012).

1.5.1.2. Einfluss von hohem Kochsalzgehalt

In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass die erhöhte Aufnahme von Kochsalz bzw. Natriumchlorid (NaCl) maßgeblich zum Anstieg des Blutdrucks beiträgt (He und MacGregor 2002; Intersalt Cooperative Research Group 1988). Der Europäer konsumiert pro Tag durchschnittlich etwa 8 - 11g NaCl, was weit über der von der WHO empfohlenen Menge von maximal 5g liegt. Welche Mechanismen hinter dem Blutdruckanstieg unter einer *Hochsalz-Diät* stehen, wird noch immer diskutiert. Trotzdem bestehen einige Erklärungsansätze (Grillo et al. 2019).

Die erste Erklärung ist die Salzsensitivität, die von Individuum zu Individuum unterschiedlich ausfällt und die Mehrheit der Menschen mit Hypertonie betrifft (Weinberger 1996). Derzeit bestehen zwei unterschiedliche Theorien zur Physiologie der Salzsensitivität. Die erste Theorie besagt, dass eine erhöhte NaCl-Zufuhr zu einem höheren Blutvolumen führt. Dies führt zu einem höheren Herzzeitvolumen und somit zu einem höheren Blutdruck. In nicht salzsensitiven Lebewesen kann die Niere durch eine erhöhte Nierendurchblutung die Natriurese und die damit verbundene Wasserausscheidung erhöhen und das Blutvolumen in kurzer Zeit normalisieren. Diese Fähigkeit ist in den salzsensitiven Individuen weniger ausgeprägt und benötigt mehr Zeit (Guyton 1991). Die zweite Theorie ist die aktuellere und besagt, dass

Individuen, die salzresistent sind, auf eine erhöhte Kochsalzzufuhr mit einer Vasodilatation reagieren, während diese Reaktion bei den Salzsensitiven ausbleibt bzw. sogar gegenteilig verläuft und es zu einer Vasokonstriktion kommt (Kurtz et al. 2017). Ähnliches zeigten Abullarrage et al. für salzsensitive Menschen. Sie konnten nachweisen, dass es bei manchen Individuen zu einer eingeschränkten Vasodilatation durch hohe Salzaufnahme kommt (Abularrage et al. 2005) und damit durch einen erhöhten TPR zu einem höheren Blutdruck. Auch die Elastizität der großen Arterien nimmt scheinbar ab (D'Elia et al. 2018), was zu einer höheren mechanischen Belastung der Arterien und folglich zum Gefäßumbau mit einhergehender TPR-Erhöhung führt.

Des Weiteren führt ein erhöhter Salzkonsum bei Salzsensitivität zu einem erhöhten Sympathikotonus (Campese et al. 1982). Passend dazu konnte gezeigt werden, dass bei Individuen mit einer niedrigeren Salzsensitivität eine stärkere parasymphatische Modulation auf das Herz ausgeübt wird (Di Rienzo et al. 2001).

Ein täglicher NaCl-Konsum von 8 - 11g täglich scheint damit sehr ungünstig für den Menschen zu sein und sollte unbedingt ein wichtiges Thema in gesundheitspolitischen Überlegungen sein, um der Volkskrankheit Hypertonie entgegenzuwirken.

1.5.1.3. Die *Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Diät*

Die DASH-Diät basiert auf einer von 1993 -1997 durchgeführten groß angelegten Studie, der *DASH-Studie*, deren Ziel es war, den blutdrucksenkenden Effekt einer *Obst-Gemüse-Diät* und einer *Kombinationsdiät* aus Obst, Gemüse, fettarmen Milchprodukten und weniger Gesamtfett und gesättigten Fettsäuren zu quantifizieren. Eine der Hypothesen der Studie lautete: „Falls die Frucht- und Gemüsediat eine blutsenkende Wirkung hat, die zwischen dem blutdrucksenkenden Effekt der Kontroll- und der idealen Ernährung (*Kombinationsdiät*) liegt, werden wir zu dem Schluss kommen, dass die gesamte mineralische und nährstoffreiche Zusammensetzung der idealen Ernährung für den vollen blutdrucksenkenden Effekt verantwortlich ist“. (Sacks 1995). Genau das war der Fall. 459 Erwachsene mit einem durchschnittlichen SAP von 131,3mmHg und einem DAP von 84,7mmHg erlebten eine mittlere Senkung des Drucks um 5,5 und 3,3mmHg unter der *Kombinationsdiät*. Unter der *Obst-Gemüse-Diät* fiel der SAP um 2,8mmHg und der DAP um 1,1mmHg. Bei Probanden mit einem SAP von über 140mmHg und einem DAP von über 90mmHg war der Effekt sogar noch

eindrücklicher. Unter *Kombinationsdiät* fiel der Druck durchschnittlich um 11,4 und 5,5mmHg (Appel et al. 1997).

Der NaCl-Gehalt lag in der Kontrolldiät wie bei den beiden anderen Diäten bei 3g täglich. Um herauszufinden, welchen Stellenwert der Salzgehalt bei der Genese des Bluthochdrucks einnimmt, wurde ein Folgeversuch unternommen, die *DASH-Sodium Study*. In dieser wurden insgesamt 412 Probanden unter *Kontroll-* und *Kombinationsdiät* unterschiedlichen Salzaufnahmen ausgesetzt. 2,9g, 5,8g und 8,7g wobei 8,7g in etwa dem durchschnittlichen Salzkonsum eines Amerikaners im Jahr 1997 entsprach. Die Probanden in der *Niedrigsalzgruppe* hatten unter *Kombinationsdiät* einen SAP Abfall von 8,9mmHg, in der *Zwischensalzgruppe* einen Abfall von 7,2mmHg und der *Hochsalzgruppe* einen Abfall von 5,9mmHg (Sacks et al. 2001). Der oben beschriebene Effekt einer salzreichen Ernährung auf den Blutdruck konnte also auch in dieser Studie bestätigt werden.

Aufgrund der DASH-Studie und anderen vorangegangenen Studien wurde anderen Salzen als Natriumsalz, nämlich Kaliumsalzen, eine wichtige Rolle bei der Senkung des Blutdrucks zugeschrieben.

1.5.1.4. Einfluss von Kalium auf den arteriellen Blutdruck

Schon im Jahr 1928 wurde das erste Mal veröffentlicht, dass Kalium bei Patienten mit resistenter Hypertonie eine blutdrucksenkende Wirkung habe (Addison 1928). Im vergangenen Jahr fassen Gritter et al. die Auswirkungen von Kalium auf das Kreislaufsystem nach heutigem Kenntnisstand zusammen (Gritter et al. 2019).

Man nimmt an, dass der Mensch in der Altsteinzeit bzw. im Paläolithikum noch gänzlich andere Essgewohnheiten als heute gehabt habe. Es gab noch keine Viehzucht und Landwirtschaft und der Mensch lebte als Jäger und Sammler von den Früchten der Pflanzen und dem Fleisch wilder Tiere. Die Natriumaufnahme war mit etwa 0,8g pro Tag sehr viel geringer als eine durchschnittliche Aufnahme von 5,5g pro Tag heute (das entspricht etwa 11g NaCl). Die Kaliumaufnahme hingegen lag bei etwa 10,5g täglich und damit um ein Vielfaches über der heute durchschnittlich konsumierten Menge von 2,8g, da Kalium vor allem in Gemüse und Obst enthalten ist (Gritter et al. 2019). Diese damals sehr natürliche Ernährung lässt vermuten, dass unser Körper darauf ausgelegt ist, vor allem hohe Mengen an Kalium zu prozessieren und eher geringe Mengen an Natrium. Studien, nicht zuletzt der DASH-trial, konnten zeigen,

dass Kalium eine wichtige Rolle bei der Senkung des Blutdrucks spielt. Sogar die Salzsensitivität wird durch eine kaliumreiche Ernährung abgeschwächt bzw. durch eine kaliumarme Ernährung verstärkt (Dahl et al. 1972; Ewald 2020). Hier werden zwei Mechanismen diskutiert. Zum einen bewirkt eine kaliumarme Ernährung die vermehrte Aktivierung des NaCl-Cotransporters (NCC) in der Niere (Vallon et al. 2009; Argaiiz und Gamba 2016; Frindt und Palmer 2010), was zu einer erhöhten Rückresorption von Na⁺- und Cl⁻-Ionen und folglich zu einer Erhöhung des Blutvolumens führt. Zum anderen konnte in Mausmodellen eine erhöhte Kalzifizierung von Segmenten der Aorta bei *Niedrigkalium-Diät* nachgewiesen werden (Sun et al. 2017), was als chronische Konsequenz einen Blutdruckanstieg zur Folge hat. Außerdem ist bekannt, dass eine erniedrigte extrazelluläre Kaliumkonzentration die Na⁺/K⁺-ATPase hemmen kann. Dies führt zu einer Depolarisation der Gefäßmuskelmembran und somit zu einer Vasokonstriktion. Auch eine veränderte Stickstoffmonoxid-Freisetzung im Gefäß konnte beobachtet werden, was ebenfalls zu einer Vasokonstriktion führt (Zhou et al. 2000).

Des Weiteren führt erhöhte Kaliumzufuhr einigen Studien zufolge zu einer kaliuminduzierten Natriurese (van der Lubbe et al. 2013). Durch die erhöhte Kaliumkonzentration im Plasma kommt es zu einer Dephosphorylierung des NCC (Nomura et al. 2019). Dies führt zu einem erhöhten Angebot von Natrium im distalen Tubulus und den darauffolgenden Abschnitten, was zu einer erhöhten Natrium Rückresorption durch ENaC führt und einer damit einhergehenden Kaliumexkretion durch den ROMK. Es kommt also zu einer Kaliurese. Warum es außerdem, zumindest kurzweilig, trotz der erhöhten Aktivität von ENaC zu einer Natriurese kommt, ist noch nicht vollständig verstanden.

Kalium kann außerdem den sympathischen Einfluss auf die Niere einschränken, was auch zu einem Abfall des Blutdrucks führt (Fujita et al. 1983).

Kontrovers zu den beschriebenen Befunden wiesen Vitzthum et al. und später auch andere einen signifikanten Blutdruckanstieg bei Mäusen nach, die eine kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* erhielten (Vitzthum et al. 2014; Boyd-Shiwerski et al. 2020). Damit lag die Vermutung nahe, dass Kalium in sehr hohen Mengen einen blutdrucksteigernden Effekt hat. Das konnte in Versuchen von P.S. Böttcher bestätigt werden, die zusätzlich zeigen konnte, dass eine *Hochkalium/Hochsalz-Diät* den Aldosteronspiegel im Blut ansteigen lässt (Böttcher 2016). Dies ließ annehmen, dass die Kaliumdiät induzierte Aldosteron-Freisetzung verantwortlich für den

Blutdruckanstieg war. Diese Annahme wurde durch die nachgewiesene gesteigerte Genexpression unterstützt. So konnten Vitzthum et al. zeigen, dass sowohl die Expression des ENaCs als auch der Kinase Sgk1 unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* anstieg. Überraschenderweise konnte jedoch der Blutdruck unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* weder durch eine Blockade des Aldosteronrezeptors (MR) mittels Spironolacton noch durch die Hemmung des ENaCs mittels Amilorid normalisiert werden. Somit stand der Anstieg des Aldosterons als Ursache für den Blutdruckanstieg in Frage. Jedoch wurden beide Medikamente mit Beginn der Diät verabreicht, im Gegensatz zu dem in dieser Arbeit durchgeführten Amilorid-Versuch. Auch Losartan (AT1R - Antagonist) und Hydrochlorthiazid (NCC-Blocker) zeigten keinen blutdrucksenkenden Effekt (Vitzthum et al. 2014).

Außerdem konnte in ersten Versuchen gezeigt werden, dass eine *5% KCitrat-Diät* kombiniert mit einer *Hochsalz-Diät* (3% NaCl) zu einem Herzfrequenzanstieg führt, was für eine Steigerung der Sympathikusaktivität bzw. Abnahme der Parasympathikusaktivität sprechen könnte (Böttcher 2016). Des Weiteren konnten Hinweise für einen Volumenanstieg unter *5% KCitrat mit 3% NaCl-Diät* entdeckt werden (Marx 2019), die in dieser Arbeit weiter untersucht werden sollen.

1.6. Fragestellung

1.6.1. Worin liegen die Ursachen für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* bei Mäusen und welchen Einfluss hat das Anion des Kaliumsalzes auf die Blutdruckregulation?

Wie schon beschrieben, konnten mehrere Arbeiten zeigen, dass der arterielle Blutdruck nicht nur unter einer *Niedrigkalium/Hochsalz-Diät* (Western Diet) ansteigt, sondern auch unter einer *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Böttcher 2016; Vitzthum et al. 2014; Boyd-Shiwerski et al. 2020). Jedoch konnten die zugrundeliegenden Ursachen bis jetzt nicht aufgeklärt werden. Es bedarf somit weiterer Versuche, um die dahinterliegenden Mechanismen zu verstehen. Erste Ergebnisse deuten auf Veränderungen in der Sympathikus-Aktivität und/oder im Blutplasmavolumen hin, worauf in dieser Arbeit mittels Echokardiographie weiter eingegangen werden soll. Außerdem soll mit Hilfe eines gefäßspezifischen TMEM16A-Knockout-Mausmodells in der TPR-Regulation nach weiteren Ursachen gesucht werden. Es wurde bereits

gezeigt, dass TMEM16A Knockout-Tiere aufgrund einer eingeschränkten TPR-Modulation einen erniedrigten Blutdruck aufweisen, der sich unter *Hochsalz-Diät* aber nicht unter Angiotensin II Behandlung wieder normalisiert (Heinze et al. 2014). Aus diesem Grund soll der Einfluss einer *Hochkalium/Hochsalz-Diät* auf den Blutdruck dieser Tiere untersucht werden, um dadurch die Rolle der Chlorid-Kanäle der glatten Muskelzellen der Gefäße zu beleuchten und möglicherweise in der TPR-Regulation eine Ursache für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* zu erkennen. Des Weiteren wird die Auswirkung des ENaC-Blockers Amilorid auf den Blutdruck unter einer kombinierten *Hochkalium/Hochsalz-Diät* noch einmal getestet. Das Medikament wird im Gegensatz zum Versuch von Vitzthum et al. erst 10 Tage nach begonnener *Hochkalium/Hochsalz-Diät* verabreicht. Der Effekt einer akuten Hemmung des ENaC unter beschriebener Diät soll damit untersucht werden.

Da die Wirkung des Anions des Kaliumsalzes bisher in nur wenigen Arbeiten untersucht wurde, soll der Effekt der verschiedenen Kaliumsalze hier mit betrachtet werden. Wie bereits beschrieben, spielt die extra- und intrazelluläre Cl⁻-Konzentration eine wichtige Rolle in der Regulation des TPR. Aber auch der pH-Wert des Blutes, der durch die Wahl des Anions beeinflusst wird, hat Auswirkungen auf den Gefäßtonus. Die Vorarbeiten von P. Böttcher oder C. Marx konnten zeigen, dass KCl und KCitrat z.B. zur unterschiedlichen Genexpression von verschiedenen renalen Na⁺-Transportern führen. Somit ist eine unterschiedliche renale Natriumretention bei KCl- oder KCitrat-Diät denkbar. In dieser Arbeit nun sollen die Auswirkungen von KCl und KCitrat in direktem Vergleich auf Blutdruck-, HF-, Herzvolumina-, TPR- und Blutgasveränderungen untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Verbrauchsmaterialien

Leukosilk Klebestreifen (*BSN medical GmbH*)

Eppendorf tubes

Li-Heparin Röhrchen LH/1.3 Micro tubes (*Sarstedt AG&Co.Kg*)

Einmal-Injektions-Kanüle Sterican® (30G ½“ 0,3 x13 mm) (*B.Braun Melsungen AG*)

Einmal-Injektions-Kanüle Sterican® (27G 3/4“ 0,4 x 20 mm) (*B.Braun Melsungen AG*)

Spritze Omnifix®-F (*B.Braun Melsungen AG*)

Spritze Injekt® 10 ml / Luer Solo (*B.Braun Melsungen AG*)

Merseline™ Faden (45cm / 17mm 1/2c) (*Ethicon*)

Pflasterstreifen Durapore™

Ultraschall-Kontakt-Gel Caelo (*Ceasar & Loretz GmbH*)

Wattestäbchen 15cm (*Meditrade*)

Bepanthen Augen- und Nasensalbe (*Bayer*)

Elektrodengel sigma (*PARKER LABORATORIES, INC.*)

Kosmetiktücher (*tapira PLUS*)

Multikompressen 5 x 5cm (*Fink & Walter GmbH*)

Pipettenspitzen gelb 1 - 200µl

2.1.2. Chemikalien

VEET-sensitive Enthaarungscreme (*Reckitt Benckiser*)

VEET-Haarentfernungs-creme (*Silk&Fresh Technology*)

2.1.3. Medikamente

Isotone Natriumchloridlösung 0,9% (*B.Braun Melsungen AG*)

Glucose 5% (*B.Braun Melsungen AG*)

Natriumcyclamat (süssli®) Süßstofftabletten (*Nutrisun GmbH&Co.KG*)

Novaminsulfon-ratiopharm® (*ratiopharm GmbH*)

Carprofen (Rimadyl®) Injektionslösung (*Pfizer GmbH*)

Enrofloxacin (Baytril®) Injektionslösung (*Bayer Vital GmbH*)

Isofluran (Forene®) (*AbbVie Deutschland GmbH&Co. KG*)

Xylazin (Rompun® 2%) Injektionslösung (*Bayer Vital GmbH*)

Ketamin (*Albrecht GmbH*)

2.1.4. Geräte und Gegenstände

Typ II Mauskäfig (*Makrolon*)

Ultraschallgerät VEVO 2100 (*Visualsonics*)

Halteapparatur für den Schallkopf und die Wärmeplatte (*Visualsonics*)

Isofluran-Narkosegerät (*Visualsonics*)

Wärmeplatte prone/supine (*Visualsonics*)

Rasierer Exacta Typ HS61 GT415 (*AESCU LAP®*)

Tierwaage EK-4000H (*AND*)

Isofluran Vet.-Med. Vapor (*Drägerwerk Lübeck AG*)

Wärmeplatte Exatherm U3 electronic (*Julabo*)

Elektrischer Rasierapparat Model 2000AD (*Thrive®*)

Schwanenhalsleuchte KL 1500 LCD (*Leica*)

Centrifuge 5417R (*Eppendorf AG*)

Messwaage Toledo Excellence Plus XP1202s (*Mettler*)

Präzisionswaage (*Kern KB*)

Telemetriesender Chronic Use TA11PA-C10 Implant (*Firma DSI™*)

Telemetrie-Empfängerplatten PhysioTel™ Receiver (*Firma DSI™*)

BGA-Gerät Radiometer ABL90 FLEX SERIE (*Radiometer Medical ApS*)

Einkanal Pipette P20 - 200L (*Gilson Pipetman®*)

2.1.5. Futter

Basisfutter LASQCdiet Rod16, Rad (*Altromin international*)

Spezialfutter 3% Na, 0,93% Kalium als K-Chlorid (KCl) (*ssniff Spezialdiäten GmbH*)

Spezialfutter 3% Na, 0,93% Kalium als K-Citrat (*ssniff Spezialdiäten GmbH*)

Spezialfutter 3% Na, 5% Kalium als K-Chlorid (KCl) (*ssniff Spezialdiäten GmbH*)

Spezialfutter 3% Na, 5% Kalium als K-Citrat (*ssniff Spezialdiäten GmbH*)

2.1.6. Tiere

Männliche Mäuse C57bl6j zwischen 19 bis 23 Gramm (*Charles River Laboratories International, Inc.*)

Männliche TMEM16A (B6;129Sv-Ano1Myh11-cre/ERT2^{tm1.1lhgjSoff}/Uke

und B6;129SvAno1^{tm1lhgj}/Uke) Knockout Mäuse zwischen 25 und 35 Gramm

2.1.7. Software

GraphPad Prism® (Version 6.07)

Microsoft® Word 2013 (Version 15.0.4420.1017) (*Microsoft® Corporation*)

Microsoft® Excel 2013 (Version 15.0.4420.1017) (*Microsoft® Corporation*)

Microsoft® PowerPoint 2013 (Version 15.0.4420.1017) (*Microsoft® Corporation*)

Programm Intelligent Plaster Version 1.0RC3

Dataquest A.R.T.™ Gold Acquisition (V 4.31, *Data Sciences International*)

Dataquest A.R.T.™ Gold Analysis (V 4.31, *Data Sciences International*)

Visual Sonics, Vevo Lab (Version 3.2.0 (Build 14554)) (FUJIFILM)

2.2. Methoden

2.2.1. Haltungsbedingungen und Versuchstiere

Spätestens zwei Wochen vor Versuchsbeginn wurden die Mäuse aus der Forschungstierhaltung des UKEs in das Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie (IZIP) geholt. Dort wurden sie in klimatisierten Versuchsterräumen, bei einer Raumtemperatur zwischen 20°C und 24°C und einer Luftfeuchtigkeit zwischen 45% und 65%, untergebracht. Über die automatische Zeitschaltuhr, die mit der Beleuchtung des Raumes verbunden ist, wurde ein 12 Stunden Tag- und 12 Stunden Nacht Rhythmus simuliert. Solange es im Rahmen des Versuchs möglich war, wurden

bis zu 5 Mäuse in einem Typ-2-long Käfig zusammengehalten, in dem sie mit Holzgranulat-Einstreu, einem Häuschen, Zellstoff für Nistmaterial und Holzspateln für die Zahnpflege ausgestattet waren. Sie erhielten unbegrenzt Futter und Wasser, das täglich auf ausreichendes Vorhandensein geprüft wurde. Außerdem wurde der Allgemeinzustand jeder Maus mindestens einmal täglich durch eine Blickdiagnose überprüft und das Gewicht einmal pro Woche kontrolliert, bei Bedarf auch öfter. Der Käfig wurde mindestens einmal die Woche gewechselt.

Aus Gründen des Versuchsaufbaus wurden die Mäuse vor Beginn einiger Versuche voneinander getrennt und bis zum Ende der Versuche einzeln im Käfig gehalten.

Es wurden ausschließlich männliche Tiere verwendet. Für die *Echokardiographie*- und die *Amilorid*-Versuche wurden *C57bl6j* Mäuse von *Charles River* und für alle weiteren Versuche *TMEM16A* (B6;129Sv-Ano1Myh11-cre/ERT2^{tm1.1hgiSoff}/Uke und B6;129SvAno1^{tm1hgi}/Uke) *Knockout Mäuse* verwendet.

2.2.2. Basis- und Diätfutter

In den Versuchen wurden die Mäuse neben der Basisdiät bis zu vier verschiedenen Diäten in Form von Pellets ausgesetzt. Zur Basismessung bekamen die Tiere das normale Futter (Basisfutter LASQCdiet Rod16, Rad), das 0,93% K⁺ und 0,24% Na⁺ enthielt. Die erste Diät bestand aus Pellets mit 0,93% KCitrat und 3% NaCl, die zweite aus Pellets mit 5% KCitrat und 3% NaCl, die dritte aus Pellets mit 0,93% KCl und 3% NaCl und die vierte aus Pellets mit 5% KCl und 3% NaCl. Die Mäuse wurden den Diäten per Zufall zugeteilt.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die verwendeten Diäten und die Zusammensetzung des Futters.

Basisfutter Normaldiät	Normalkalium/Hochsalz-Gruppe Normalkalium/Hochsalz-Diät		Hochkalium/Hochsalz-Gruppe Hochkalium/Hochsalz-Diät	
	Normal (0,93%) KCitrat-Gruppe	Normal (0,93%) KCl-Gruppe	Hoch (5%) KCitrat-Gruppe	Hoch (5%) KCl-Gruppe
0,93% K ⁺ (Kalium),	0,93% KCitrat (Kaliumcitrat),	0,93% KCl (Kaliumchlorid),	5% KCitrat (Kaliumcitrat),	5% KCl (Kaliumchlorid),
0,24% Na ⁺ (Natrium)	3% NaCl (Natriumchlorid)	3%NaCl (Natriumchlorid)	3%NaCl (Natriumchlorid)	3%NaCl (Natriumchlorid)

Tabelle 1: Die verwendeten Diäten

2.2.3. Tamoxifen-Diät

Um den Knockout des TMEM16A (Transmembrane member 16A) in den glatten Muskelzellen der Mäuse zu aktivieren, bekamen die Mäuse ab einem Alter von 6 Wochen für 4 Wochen *Tamoxifen-Futter* in Form von Pellets. Dann erhielten sie für mindestens 2 weitere Wochen das Basisfutter, bevor die OP zur Implantation der Telemetriesender durchgeführt wurde oder die Gabe von Diätfutter startete. Für den Knock out der *TMEM16A Mäuse* wurde der DNA-Abschnitt, der für den *TMEM16A-Ionenkanal* kodiert, mit zwei LoxP-Sequenzen markiert, um dann von der *Cre-Rekombinase* „heraus geschnitten“ zu werden (Heinze et al. 2014). Die *Rekombinase* wurde durch die vierwöchige Gabe von Tamoxifen aktiviert. Als Kontrolltiere dienten *Cre positive Tiere*, die kein Tamoxifen erhielten.

2.2.4. Implantation des telemetrischen Blutdrucksenders

Alle operativen Eingriffe wurden von Dr. Anika Seniuk, UKE durchgeführt. Für die *Telemetrie-OP* bekamen die Mäuse als Vorbereitung eine Schmerzprophylaxe mit Metamizol. Dieses wurde über mindestens 5 Tage in einer Konzentration von 40 Tropfen in 500ml Wasser, das mit 5 Süßstofftabletten gesüßt wurde, über das Trinkwasser appliziert. Am 3. Tag wurden die Mäuse unter Narkose operiert. Die Anästhesie erfolgte durch intraperitoneale Gabe von 120 mg Ketamin pro kg Körpergewicht und 16 mg Xylacin pro kg Körpergewicht. Außerdem bekamen die Tiere mit 5 mg/kg Enrofloxacin subkutan eine Antibiotikaprophylaxe. Vor Beginn und während des Eingriffs wurde die Tiefe der Sedierung über das regelmäßige Kneifen zwischen die Zehen und ein darauffolgendes Ausbleiben des Zwischenzehenreflexes und des Schmerzreizes überprüft. Die selbstständige Atmung blieb während der gesamten Narkose erhalten. Nach dem Überprüfen der ausreichenden Sedierung wurde die Maus auf eine Wärmeplatte umgelagert, da die perioperative Unterkühlung eine mögliche Nebenwirkung ist. Nun wurde die Maus im Brust- und Halsbereich rasiert und desinfiziert und anschließend mit einer OP-Schere von submandibulär bis zum oberen Sternum aufgeschnitten und der Weg zur linken Arteria carotis freipräpariert. Die Arterie wurde von der Gefäß-Nerven-Straße getrennt, abgebunden und dann der Katheter des Telemetriesenders eingeführt. Die Lage des Katheters wurde durch Analyse der Blutdruckkurve überprüft und bei erfolgreicher Implantation

über Haltefäden fixiert. Für den Sender wurde im Flankenbereich subkutan eine Tasche freipräpariert und die OP mit einer Hautnaht abgeschlossen. Die Naht wurde noch einmal desinfiziert und der Maus subkutan 1 ml Glucose/NaCl und 0,02mg / 10g Körpergewicht Carprofen appliziert. Der Eingriff dauerte etwa eine Stunde.

2.2.5. OP – Nachsorge

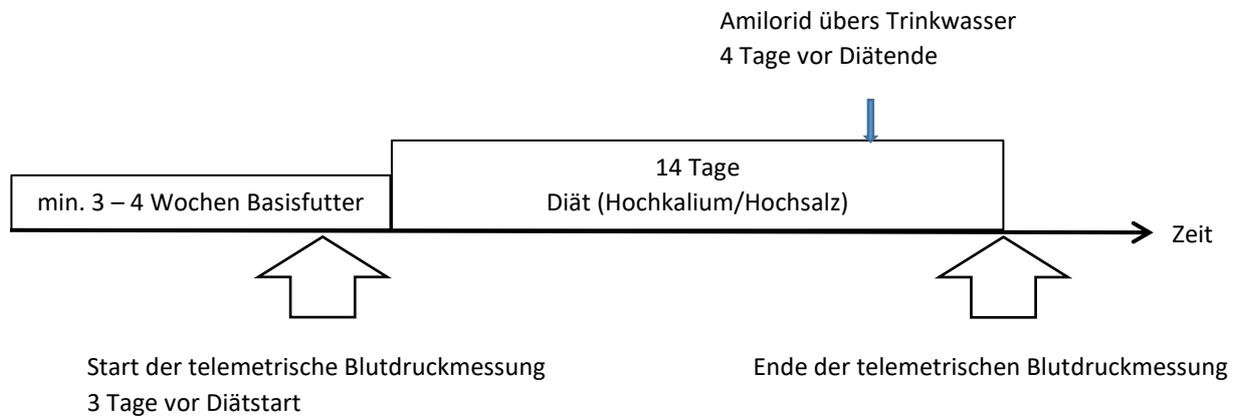
Nach der OP kamen die Tiere zurück in ihren Käfig. Da nach der OP aufgrund von fehlgesteuerter Wärmeregulation die Möglichkeit einer Unterkühlung besteht, wurden die Käfige zur Hälfte auf eine Wärmeplatte gestellt. Da die Nahrungsaufnahme aufgrund des Eingriffs beeinträchtigt war, bekamen die Tiere für mindestens 72 Stunden neben dem Futter und Wasser in der Raufe zusätzlich in Wasser eingeweichte Pellets, in Wasser eingeweichte und mit Metamizol und Süßstoff angereicherte Pellets und *Hipp-Babynahrung*. Auch standen ihnen zwei Schälchen mit Wasser zur Verfügung, eine davon zusätzlich mit Süßstoff und Metamizol. Die Tiere wurden die ersten Tage jeden bzw. alle zwei Tage gewogen und auf weitere Auffälligkeiten in Bewegung, Erscheinungsbild und Haltung überprüft. Bei Auffälligkeiten bekamen sie Carprofen, Enrofloxacin oder Glucose/NaCl subkutan appliziert.

2.2.6. Blutdruckmessung mit dem Telemetriesender

Der implantierte Sender erfasste während der Versuche Blutdruck, Herzfrequenz, Aktivität und Temperatur. In der vorliegenden Arbeit wurden der mittlere arterielle Druck (MAP), der systolische arterielle Druck (SAP), der diastolische arterielle Druck (DAP) und die Herzfrequenz (HF) ausgewertet. Jedes Tier erhielt mehrere Diäten, die von einer dazwischen liegenden 3-wöchigen *wash-out-Phase* unterbrochen wurden, in der das Basisfutter angeboten wurde. Während der Messung schickte der Sender alle 5 Minuten die aktuellen Daten zur Senderplatte, die die Daten über Lan-Kabel weiter an den Computer sendete. Mit Hilfe des Softwareprogramms *Dataquest ART Data Acquisition* wurden die Werte gespeichert und ausgewertet.

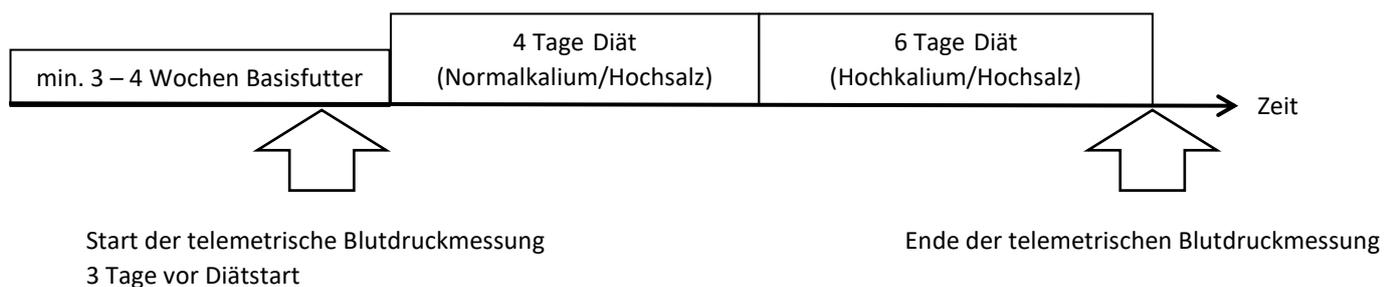
Die *Amilorid-Telemetrie-Messungen* dauerten bis zu 17 Tage. Etwa 2,5 Tage, spätestens ab 19 Uhr des ersten Messtages bis mindestens 7 Uhr morgens des dritten Messtages, erhielten die Mäuse die *Basisdiät* für die Basismessung. Anschließend

folgte eine 10 + 4 Tage lange kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (5% K⁺ und 3% NaCl), in der die Mäuse die letzten 4 Tage 5mg/kgKg/Tag Amilorid über ihr Trinkwasser erhielten.



Schema 1: Schematische Darstellung des Diätschemas mit Blutdruckmessung im Versuch zur Ermittlung möglicher Auswirkungen von Amilorid auf den Blutdruck

Die TMEM 16A-Telemetrie-Messungen dauerten bis zu 13 Tage, an denen die Mäuse drei verschiedenen Diäten ausgesetzt waren. Die ersten 3 Tage bekamen die Mäuse für die Basismessung die oben beschriebene *Basisdiät*. An Tag 3 bis 7 bekamen sie die *Normalkalium/Hochsalz-Diät* mit 0,93% KCitrat bzw. KCl und anschließend von Tag 7 bis 13 die kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* mit dem jeweiligen Anion.



Schema 2: Schematische Darstellung des Diätschemas mit Blutdruckmessung der TMEM16A Knockout - Tiere

2.2.7. Durchführung der Echokardiografie

Für die Echokardiografie wurden 18 Mäuse in drei 6er- Gruppen eingeteilt und auf drei verschiedene Diäten verteilt. In der ersten Gruppe erhielten drei Mäuse Pellets mit 0,93% KCl und 3% NaCl und die drei anderen Mäuse 0,93% KCitrat und 3% NaCl. In der zweiten Gruppe erhielten die Mäuse 5% KCl und 3% NaCl und in der dritten 5%

KCitrat und 3% NaCl. Die Diäten wurden jeweils 10 Tage lange appliziert. Die Mäuse wurden 3 bis 5 Tage vor der Diät und jeweils am letzten Tag der Diät sonografiert. Ziel der Messungen war, die Unterschiede in Schlagvolumen (SV), Ejektionsfraktion (EF), Enddiastolisches- und Endsystolisches Volumen (EDV und ESV) zu ermitteln, die durch die verschiedenen Diäten womöglich verursacht wurden. Hierfür wurden die Mäuse mit dem Ultraschallgerät der Firma *Visual Sonics* mit der *VEVO 2100 Software* untersucht. Dieses Gerät eignet sich besonders gut für den Herz-Ultraschall an Mäusen. Die Untersuchungen wurden hauptverantwortlich von dem technisch versierten und erfahrenen Ingenieur Peter Bassaley durchgeführt, der sich auf diesem Gebiet regelmäßig fortbildet. Für die Messungen wurden die Mäuse in Isofluran – Narkose gelegt und auf dem Rücken liegend mit vier Klebestreifen an den Extremitäten befestigt. Die Narkose wurde mit 4% Isofluran eingeleitet und mit 1 - 1,5% Isofluran aufrechterhalten. Die Brustbehaarung wurde für eine ungestörte Sicht auf das Herz abrasiert und mit Enthaarungscreme entfernt. Das Herz wurde nun in links parasternaler Position in Längs- und Kurzachse dargestellt. Für die spätere Auswertung wurden *Screenshots* gemacht und gespeichert. Während des etwa 20-minütigen Eingriffs, wurde die Narkosetiefe über die Atemfrequenz und vor allem über die Herzfrequenz, die zwischen 400 - 500 Schlägen pro Minute betragen sollte, kontrolliert. Nach dem Eingriff und des behutsamen Zurücklegens der Maus in ihren Käfig erwachte diese schnell, ohne bleibenden körperlichen Schaden davon getragen zu haben.

2.2.8. Blut-Gas-Analyse (BGA)

Für die BGA-Blutentnahme erhielten die Mäuse eine entweder 4 oder 10 tägige Diät. Bekam die Maus nur 4 Tage lang Diät, erhielt sie die normal (0,93%) KCl bzw. KCitrat Diät kombiniert mit 3%NaCl. Die 10 tägige Diät verlief nach dem gleichen Schema wie die Diät während der Telemetrie-Messungen (Abb.1): erst 3 Tage die Basisdiät, dann 4 Tage die normal (0,93%) KCl bzw. KCitrat-Diät kombiniert mit Hochsalz (3%NaCl) und dann 6 Tage die kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (5% K⁺/3%NaCl). Die Blutentnahme erfolgte retrobulbär unter tiefer Isofluran-Narkose. Danach wurden die Mäuse durch zervikale Dislokation getötet und der Urin mittels Blasenpunktion gewonnen. Auch wurden die Organe (Herz und Niere), sowie die Aorta für spätere Analysen entnommen. Die Blutproben wurden zentrifugiert, um das Blutplasma zu

gewinnen, welches dann bei -20°C eingefroren wurde. Auch der der Urin wurde bei -20°C eingefroren. Die Organe wurden in flüssigem Stickstoff schockgefroren und im Gefrierschrank bei -80°C gelagert.

2.2.9. Auswertung

Für die Auswertung der Daten wurden *Excel 2013* und *GraphPad-Prism 6.07* verwendet. Die Daten wurden in *Excel* in Tabellen geordnet, um sie anschließend in *GraphPad-Prism* einzufügen und zu analysieren.

Wenn über 2 Gruppen miteinander verglichen wurden, wurde je nachdem eine 1 oder 2way ANOVA angewendet und der *Bonferroni multiple comparisons test* als Post-hoc test verwendet. Wenn nur 2 Gruppen miteinander verglichen wurden, wurde je nach zugrundeliegender Versuchsdurchführung ein gepaarter oder ungepaarter t-Test durchgeführt.

Alle Auswertungen wurden bei einem p-Wert von unter 0,05 als signifikant eingestuft.

2.2.9.1. Auswertung der Amilorid-Telemetrie Daten

Die Messungen wurden in drei Phasen unterteilt: die Basismessung, die Messung während der kombinierten *Hochkalium/Hochsalz-Diät* und die Messung während der Amiloridgabe. Für die Auswertung wurden in jeder Phase die letzten 3 Tage und Nächte herangezogen. Hierzu wurden die Stundenwerte für die Parameter MAP, HF, SAP und DAP tagsüber zwischen 11 Uhr und 15 Uhr und nachts zwischen 23 und 3 Uhr gemittelt und anschließend in *GraphPad-Prism* übertragen. Des Weiteren wurden jeweils die letzten 60 Stunden der drei Diät Phasen in *GraphPad-Prism* übertragen und der circadiane Verlauf des Blutdrucks (MAP, DAP, SAP) und der Herzfrequenz (HF) bei unterschiedlichen Diäten auf diese Weise miteinander verglichen. Als letztes wurden ein weiteres Mal jeweils die letzten 60 Stunden einer Phase für die Parameter MAP und HF in *GraphPad-Prism* übertragen und in direkter Korrelation zueinander dargestellt, um einen Zusammenhang zwischen Blutdruckerhöhung und Herzfrequenz darstellen zu können. Außerdem wurde der Gesamtverlauf des MAP über 17 Nächte dargestellt.

2.2.9.2. Auswertung der TMEM16A Telemetrie Daten

Für die Auswertung der TMEM16A Telemetrie Daten wurde dem Beispiel der Amilorid Daten Auswertung gefolgt. Die einzigen Unterschiede lagen in der Dauer der Diät, die statt 14 Tagen nur 10 Tage andauerte und in den Diäten selbst. Nach der Basismessung erhielten die Mäuse vier Tage lang eine der beiden *Normkalium/Hochsalz-Diäten* und anschließend für 6 Tage eine der beiden *Hochkalium/Hochsalz-Diäten*. Es wurden die Verläufe der unterschiedlichen Gruppen für HF, MAP, SAP und DAP erstellt und miteinander verglichen.

2.2.9.3. Auswertung der Herz-Ultraschall Daten

Die Ultraschallbilder wurden mit *Vevo LAB Software* von *Visual Sonics* ausgewertet und anschließend mit *Excel* und *GraphPad Prism* dargestellt und auf statistische Signifikanzen getestet.

2.2.9.4. Auswertung der BGA-Daten

Die Auswertung der BGA-Daten erfolgte mit Hilfe von *Excel* und *GraphPad Prism*. Die Werte der BGAs wurden in *Excel* übertragen und dort in die jeweilige Diätgruppe eingeordnet. Im Anschluss wurden die Werte in *GraphPad Prism* übertragen und die Resultate der unterschiedlichen Diäten für pH, Kohlenstoffdioxid Partialdruck (pCO₂) in mmHg, Sauerstoffpartialdruck (pO₂) in mmHg, Kalium (K⁺) in mmol/l, Natrium (Na⁺) in mmol/l, Kalzium (Ca²⁺) in mmol/l, Chlorid (Cl⁻) in mmol/l, Lactat (Lac) in mmol/l, Standardbikarbonat (SBC) in mmol/l, Hämatokrit (Hct) in Prozent und Standard Base Excess (SBE) in mmol/l miteinander verglichen.

3. Ergebnisse

3.1. **Auswirkungen von Amilorid auf den Blutdruck**

Um die Wirksamkeit von Amilorid zu untersuchen, wurden der Blutdruck und die Herzfrequenz bei den Tieren in drei verschiedenen Versuchsphasen untersucht. In der ersten Phase bekamen die Mäuse eine *Basisdiät* (siehe Tabelle 1 unter 2.2.2.), dann für zehn Tage eine kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (zweite Versuchsphase) und im Anschluss für weitere vier Tage zusätzlich zur kombinierten

Hochkalium/Hochsalz-Diät den ENaC-Blocker Amilorid über das Trinkwasser (dritte Versuchsphase). Vitzthum et al. (2014) zeigten, dass eine kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (5% KCitrat/ 3% NaCl) einen Blutdruckanstieg in Mäusen verursacht, während bei einer *Hochsalz-Diät* mit physiologischer Kaliummenge (0,93% K⁺/ 3% NaCl) der Blutdruck nicht signifikant ansteigt. Da eine hohe Kaliumaufnahme die Aldosteron-Freisetzung stimuliert, die den vermehrten Einbau von ENaC (Gritter et al. 2019) zur Folge hat, lag die Vermutung nahe, dass der Blutdruckanstieg durch eine vermehrte ENaC Aktivität verursacht wurde.

In diesem Versuch wurde deshalb getestet, ob eine Amiloridgabe den durch die kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* induzierten Blutdruckanstieg wieder normalisieren kann. Zusätzlich sollte der Effekt des Anions des Kaliumsalzes untersucht werden. Aus diesem Grund wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt, eine mit Kaliumcitrat und eine mit Kaliumchlorid.

3.1.1. Kaliumcitrat-Gruppe

Im Verlauf des durchschnittlichen nächtlichen MAP (Abb.1 A) sieht man, dass die kombinierte *Hochkalium/Hochsalz-Diät* den Blutdruck innerhalb eines Tages um 16mmHg von 107mmHg auf 123mmHg ansteigen lässt. Ein Blutdruckabfall durch Amilorid lässt sich in der Verlaufsdarstellung nicht erkennen.

Im direkten MAP-Vergleich während der drei Diätphasen (Abb.1 B) lassen sich signifikante Unterschiede zwischen *Basis* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* herausstellen, die jeweils in der Nacht auftraten. Zwischen *Hochkalium/Hochsalz-Diät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* mit Amilorid gibt es keine signifikanten Unterschiede. Außerdem gut zu beobachten ist die zirkadiane Rhythmik im Blutdruck, der während der Aktivitätsphase der Tiere in der Nacht gegenüber dem Tag erhöht ist.

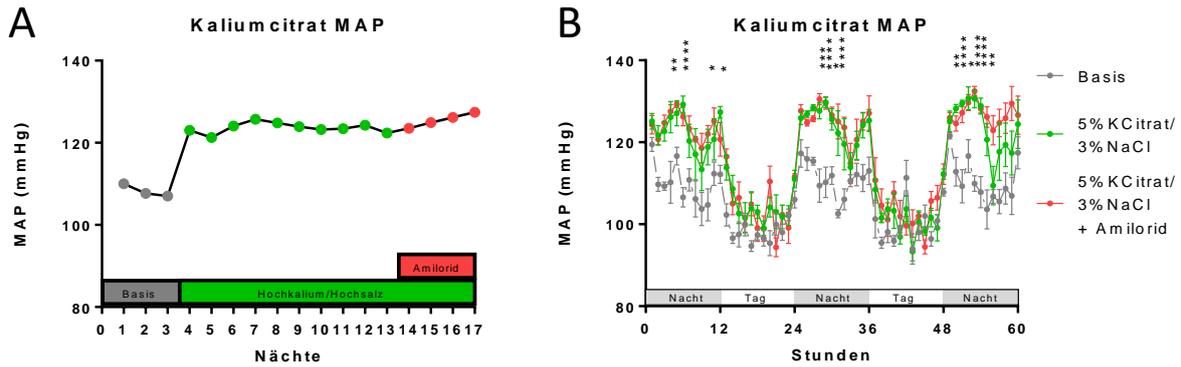


Abbildung 1: Der MAP im Verlauf des Versuches und im direkten Vergleich der drei Versuchsphasen
A: Der durchschnittliche MAP bei Nacht während der gesamten Versuchszeit von 17 Nächten. Die drei Versuchsphasen waren Basisdiät (grau, 0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Hochkalium/Hochsalz Diät (grün, 3% NaCl und 5% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (rot, 3% NaCl, 5% KCitrat und 5mg/kgKG/Tag Amilorid). $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$.
B: Der circadiane Verlauf des MAP in den letzten 60 Stunden der jeweiligen Versuchsphase. $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz zwischen Basisdiät und Hochkalium/Hochsalz Diät, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Abbildung 2 zeigt die gemittelten Werte des in der Nacht gemessenen MAP, SAP und DAP während der drei Versuchsphasen.

Der gemittelte MAP ist in der Nacht zwischen der *Basisdiät* und der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* mit einem durchschnittlichen Blutdruckanstieg von 15,1mmHg von 108,3 auf 123,4mmHg signifikant erhöht. Aber auch zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* ist der MAP mit einem Anstieg von 17,9mmHg auf 126,2mmHg signifikant erhöht. Die Amiloridgabe hat keinen sichtbaren Einfluss auf den MAP. Der MAP der *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* ist nicht signifikant verändert gegenüber der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Abb. 2 A). Da verstärkte Änderungen im SAP ein Hinweis auf eine Veränderung des Schlagvolumens des Herzens sein können, wurde auch der SAP analysiert. Ein signifikanter Anstieg des SAP um 14,6mmHg von 119,2 auf 133,8mmHg zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* war messbar. Es zeigte sich auch ein signifikanter Anstieg des SAP um 17,9mmHg von 119,2 auf 137,1mmHg zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid*. Zwischen *Hochkalium/Hochsalz-Diät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

Im DAP stieg der Wert von 96,8mmHg unter *Basisdiät* um 15,8mmHg auf 112,5mmHg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* ebenfalls signifikant an. Auch zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* stieg der Druck um 17,3mmHg auf 114,1mmHg.

Amilorid führte wiederholt zu keiner Drucksenkung im DAP. Eine verstärkte Änderung im DAP könnte auf eine Veränderung im TPR hindeuten.

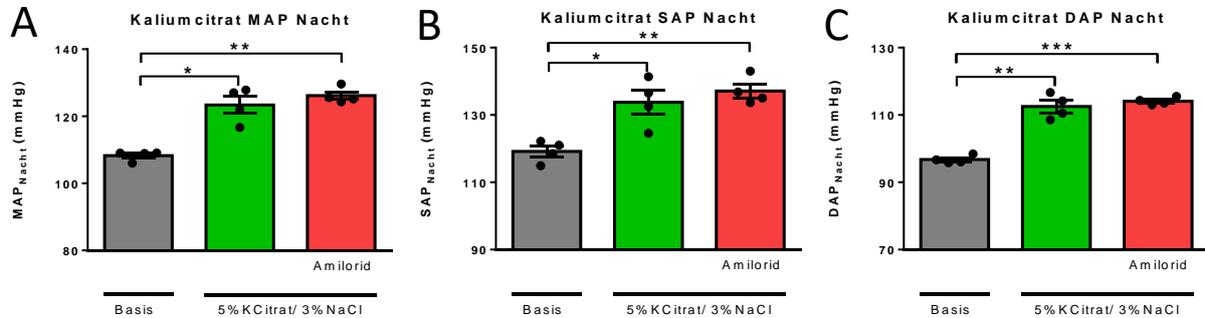


Abbildung 2: Die Mittelwerte von MAP, SAP und DAP in den letzten 3 Nächten der jeweiligen Versuchsphase **A-C:** Vergleich des MAP, SAP und DAP unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Hochkalium/Hochsals Diät (3% NaCl und 5% KCitrat) und Hochkalium/Hochsals Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCitrat und 5mg/kgKG/Tag Amilorid) $n = 4$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Tagsüber waren keine signifikanten Unterschiede im MAP und SAP zwischen den drei Versuchsphasen zu beobachten (Abb.3). Nur im DAP stieg der Druck zwischen der Basisdiät und Hochkalium/Hochsals-Diät + Amilorid von 86,7mmHg auf 90,5mmHg signifikant um 3,8mmHg an.

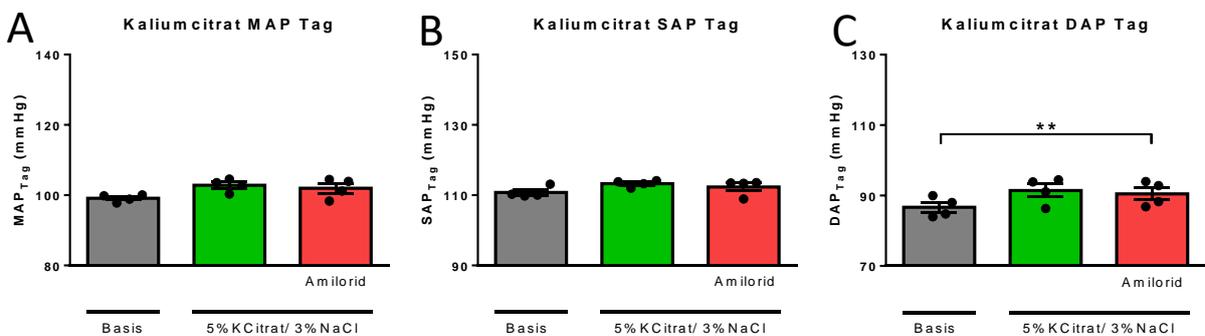


Abbildung 3: Die Mittelwerte von MAP, SAP und DAP in den letzten 3 Tagen der jeweiligen Versuchsphase **A-C:** Vergleich von MAP, SAP und DAP unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Hochkalium/Hochsals Diät (3% NaCl und 5% KCitrat) und Hochkalium/Hochsals Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCitrat und 5mg/kgKG/Tag Amilorid) $n = 4$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, ** $p < 0,01$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Bei der Analyse der HF zeigte sich ein signifikanter Anstieg von Basis zu Hochkalium/Hochsals-Diät und Basis zu Hochkalium/Hochsals-Diät + Amilorid. Die HF stieg von durchschnittlich 496,2bpm (Schläge pro Minute) auf 571,5bpm bzw. 611,9bpm an (Abb.4 A).

Um zu untersuchen, ob die gesteigerte HF die alleinige Ursache für den Blutdruckanstieg war, wurden die Blutdruckwerte der letzten 60 Stunden jeder Diätphase extrahiert und gegeneinander verglichen (Abb.4 B). Diesmal wurden zuvor die MAP-Werte in direkte Korrelation zu den HF-Werten gebracht, indem die HF-Werte im Bereich zwischen 500bpm und 620bpm in 20er Intervalle eingeteilt wurden (Beispiel: 580bpm - 600bpm = 590bpm) und der mittlere MAP pro HF-Intervall ermittelt wurde. Die Abb.4 B zeigt deutlich signifikant erhöhte Blutdruckwerte innerhalb der gleichen HF-Intervalle bei den drei unterschiedlichen Diätphasen. Das bedeutet, dass in den drei Diätgruppen auch beim Vorliegen einer vergleichbaren HF ein Blutdruckanstieg vorliegt. Somit war der Anstieg der HF (Abb. 5a) nicht alleinige Ursache für den beobachteten Blutdruckanstieg in der *Hochkalium/Hochsalz-Gruppe* und *Hochkalium/Hochsalz + Amilorid-Gruppe*.

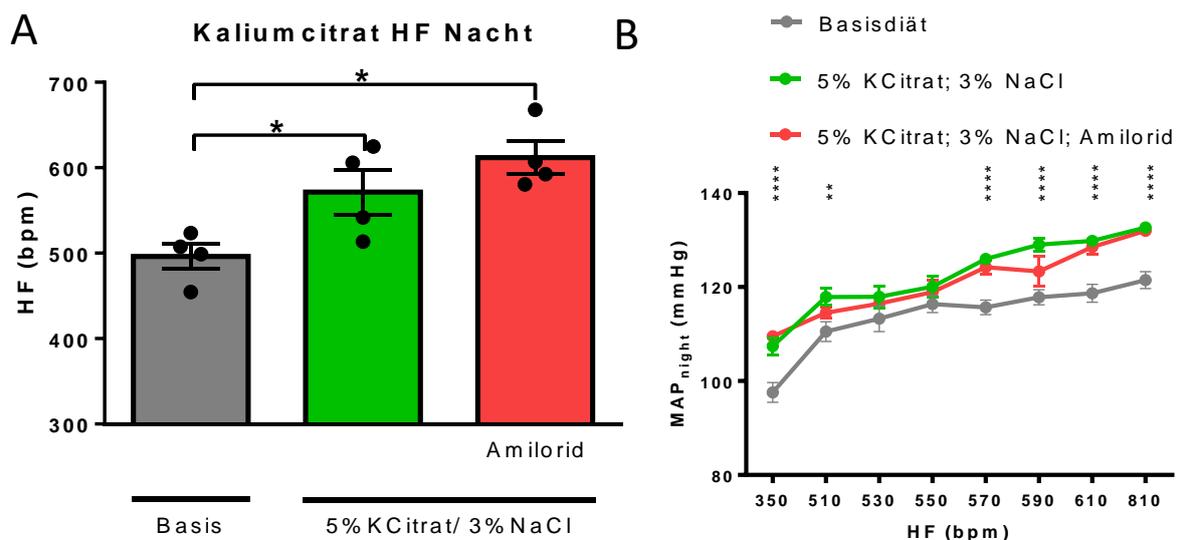


Abbildung 4: Die Mittelwerte der HF in den letzten 3 Nächten der jeweiligen Versuchsphase und die HF in direkter Korrelation zum MAP

A,B: Vergleich der HF bzw. die HF - MAP Korrelation während Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), der Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCitrat und 5mg/kgKG/Tag Amilorid)

A: $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, $*p < 0,05$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

B: $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz zwischen Basisdiät und Hochkalium/Hochsalz Diät, $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,0001$, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test

3.1.2. Kaliumchlorid-Gruppe

Auch in dieser Gruppe lässt sich im Verlauf des MAP erkennen (Abb.5 A), dass der Blutdruck unter der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* anstieg. Im Unterschied zu der *Kaliumcitrat-Gruppe* passierte dies nicht innerhalb eines Tages, sondern innerhalb von

knapp 3 Tagen. Die erste Nachtmessung zeigt einen MAP-Anstieg von 108,9mmHg auf 114,8mmHg (5,9mmHg), die zweite einen Anstieg um 5,3mmHg auf 120,1mmHg und die dritte einen Anstieg um 1,8mmHg auf 121,9mmHg. Jedoch konnte auch in der *Kaliumchlorid-Gruppe* kein MAP-Abfall unter Amilorid beobachtet werden. Beim direkten Vergleich der drei Diätphasen (Abb. 5B) lassen sich 4 signifikante Unterschiede während der Aktivitätsphase der Tiere (Nacht) nachweisen. Wieder lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen *Hochkalium/Hochsalz* und *Hochkalium/Hochsalz + Amilorid* zeigen.

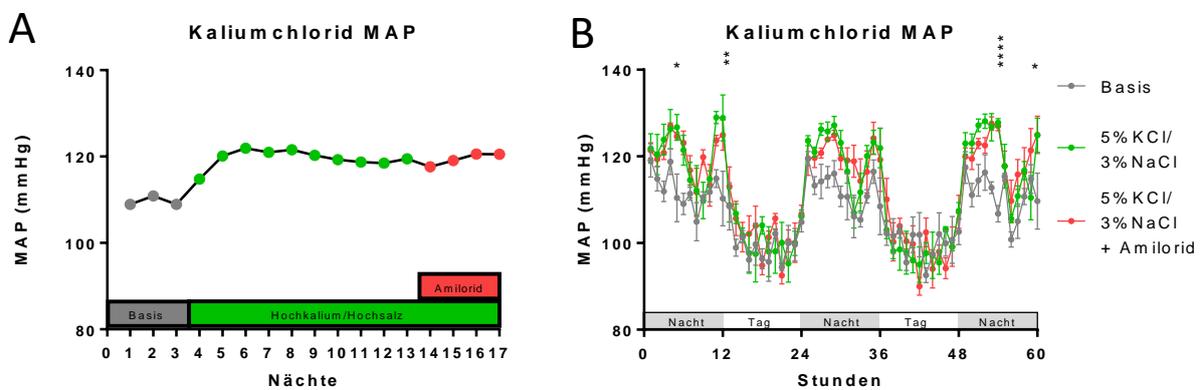


Abbildung 5: Der MAP im Verlauf des Versuches und im direkten Vergleich der drei Versuchsphasen
A: Der durchschnittliche MAP bei Nacht während der gesamten Versuchszeit von 17 Nächten. Die drei Versuchsphasen waren Basisdiät (grau, 0,24% NaCl und 0,93% KCl), Hochkalium/Hochsalz Diät (grün, 3% NaCl und 5% KCl) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (rot, 3% NaCl, 5% KCl und 5mg/kgKG/Tag Amilorid). $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$. **B:** Der circadiane Verlauf des MAP in den letzten 60 Stunden der jeweiligen Versuchsphase. $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz zwischen Basisdiät und Hochkalium/Hochsalz Diät, $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,0001$, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Ebenso waren die mittlere MAP, SAP und DAP während der Aktivitätsphase (nachts) zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* signifikant erhöht (Abb. 6). Der MAP stieg signifikant um 9,3mmHg von 109,6mmHg auf 118,9mmHg. Unter Amilorid stieg der Blutdruck nicht weiter signifikant an. Der signifikante Anstieg des SAP zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* betrug 9,9mmHg. Zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* stieg der Druck von 120mmHg auf 132mmHg um 12mmHg. Zwischen *Hochkalium/Hochsalz-Diät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid* gab es keinen signifikanten Unterschied. Der DAP zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* war von 98,7mmHg auf 107,4mmHg um 8,7mmHg signifikant angestiegen. Unter Amilorid gab es keinen signifikanten Blutdruckunterschied zu verzeichnen. Auch zwischen

Hochkalium/Hochsalz-Diät und Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid gab es keinen signifikanten Unterschied zu beobachten.

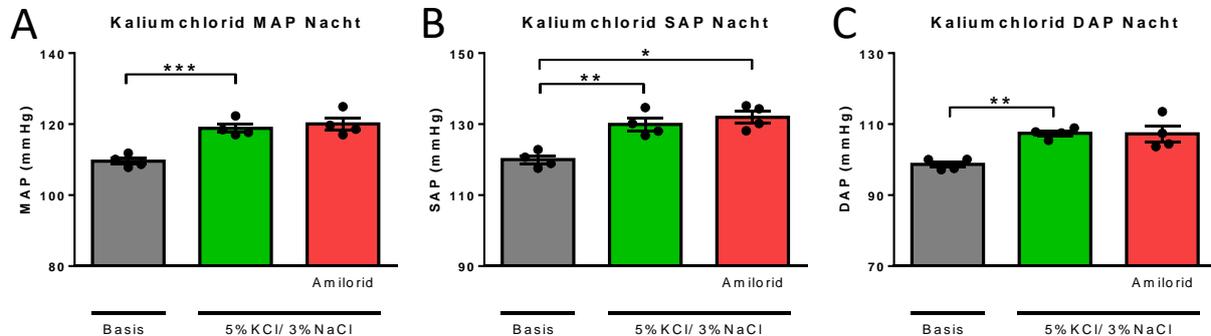


Abbildung 6: Die Mittelwerte von MAP, SAP und DAP in den letzten 3 Nächten der jeweiligen Versuchsphase **A-C:** Vergleich des MAP, SAP und DAP unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCl), Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCl) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCl und 5mg/kgKG/Tag Amilorid) $n = 4$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Im Gegensatz zu der Kaliumcitrat-Gruppe war in der Kaliumchlorid-Gruppe der MAP am Tag in der Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid gegenüber Basisdiät signifikant erniedrigt. Der Druck sank im Durchschnitt um 4,7mmHg von 99mmHg auf 94,3mmHg, was für einen geringfügig drucksenkenden Effekt des Amilorids sprechen könnte. Zwischen Basisdiät und Hochkalium/Hochsalz-Diät gab es keinen signifikanten Unterschied, sowie auch nicht zwischen der Hochkalium/Hochsalz-Diät und der Hochkalium/Hochsalz-Diät + Amilorid. In SAP und DAP waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Diäten und der Diät mit Amilorid zu beobachten.

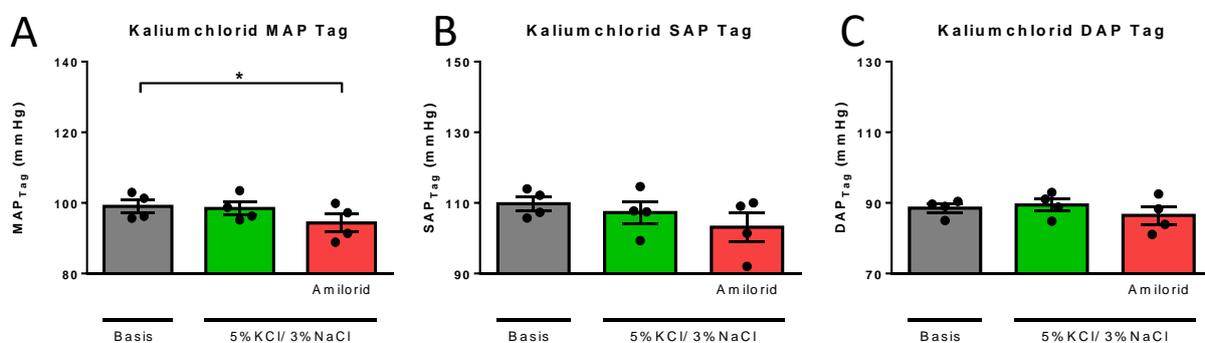


Abbildung 7: Die Mittelwerte von MAP, SAP und DAP in den letzten 3 Tagen der jeweiligen Versuchsphase **A-C:** Vergleich von MAP, SAP und DAP unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCl), Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCl) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCl und 5mg/kgKG/Tag Amilorid) $n = 4$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, * $p < 0,05$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

Im Gegensatz zur *Kaliumcitrat-Gruppe* war in der *Kaliumchlorid-Gruppe* kein signifikanter Anstieg der HF zu sehen (Abb.8 A). Dennoch wurde auch hier die HF mit dem MAP in Korrelation gesetzt (Abb.8 B). Auch in der Kaliumchlorid Gruppe zeigte sich bei vergleichbarer HF (gleiches HF-Intervall) ein signifikanter MAP Anstieg. Somit war wiederum ein Anstieg der HF als alleinige Ursache für den Blutdruckanstieg nicht anzunehmen.

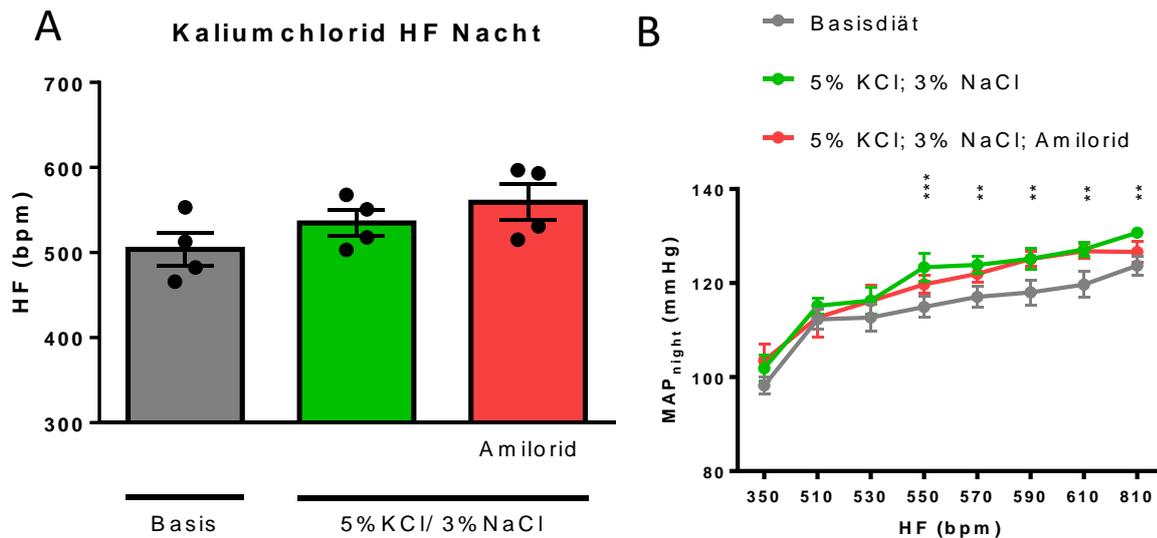


Abbildung 83: Die Mittelwerte der HF in den letzten 3 Nächten der jeweiligen Versuchsphase und die HF in direkter Korrelation zum MAP

A,B: Vergleich der HF bzw. die HF - MAP Korrelation während Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCl), der Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCl) und Hochkalium/Hochsalz Diät + Amilorid (3% NaCl, 5% KCl und 5mg/kgKG/Tag Amilorid)

A: $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, $*p < 0,05$, statistische Testung mit einer one-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test.

B: $n = 4$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz zwischen Basisdiät und Hochkalium/Hochsalz Diät, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test

3.2. Echokardiografie

Da bereits in der Arbeitsgruppe durchgeführte Untersuchungen zur Gen- und Proteinexpression (Böttcher 2016) als auch zur renalen NaCl-Ausscheidung (Marx 2019) keinen direkten Hinweis auf einen renal bedingten Blutdruckanstieg zeigten, wurde ein Echokardiografie Versuch durchgeführt. Dabei sollte untersucht werden, ob eine der beiden *Hochkalium/Hochsalz-Diäten* einen Einfluss auf das *Enddiastolischen Volumen* (EDV), das *Endsystolischen Volumen* (ESV), das *Schlagvolumen* (SV) oder die *Ejektionsfraktion* (EF) hat. Ein Anstieg des EDV kann als indirektes Maß für das Blutvolumen herangezogen werden. So geht die Erhöhung des Blutvolumens in den

meisten Fällen mit einem Anstieg des EDV einher. Die Erhöhung der EF (bei gleicher EDV) kann als Maß für die Inotropie des Herzens und somit als ein Indiz für einen veränderten Sympathikotonus herangezogen werden. Die folgenden Darstellungen wurden für den *M-Mode, long axis* erstellt. Von jedem Tier wurde vor dem Start und am Ende der Diät jeweils eine Herzechokardiografie Untersuchung durchgeführt.

3.2.1. Kaliumcitrat-Gruppe

In der *Kaliumcitrat-Gruppe* ließ sich in keinem der vier Parameter eine signifikante Veränderung nachweisen (Abb. 9). Im Mittel sank das EDV (Abb.9 A) von *Basisdiät* zu *Hochkalium/Hochsalz-Diät* um 7,5 μ l von 79,7 μ l auf 72,2 μ l und das ESV (Abb.9 B) sank um 8,9 μ l von 41 μ l auf 32,1 μ l. Gegenüber der Basisdiät zeigte sich in der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* kaum ein Anstieg des SV (Abb.9 C), das sich von 38,7 μ l auf 40 μ l veränderte. Ein leichter, nicht signifikanter Anstieg von *Basisdiät* zu *Hochkalium/Hochsalz-Diät* war bei der EF (Abb. 9 D) zu erkennen, die sich von 50% auf 57,2% erhöhte.

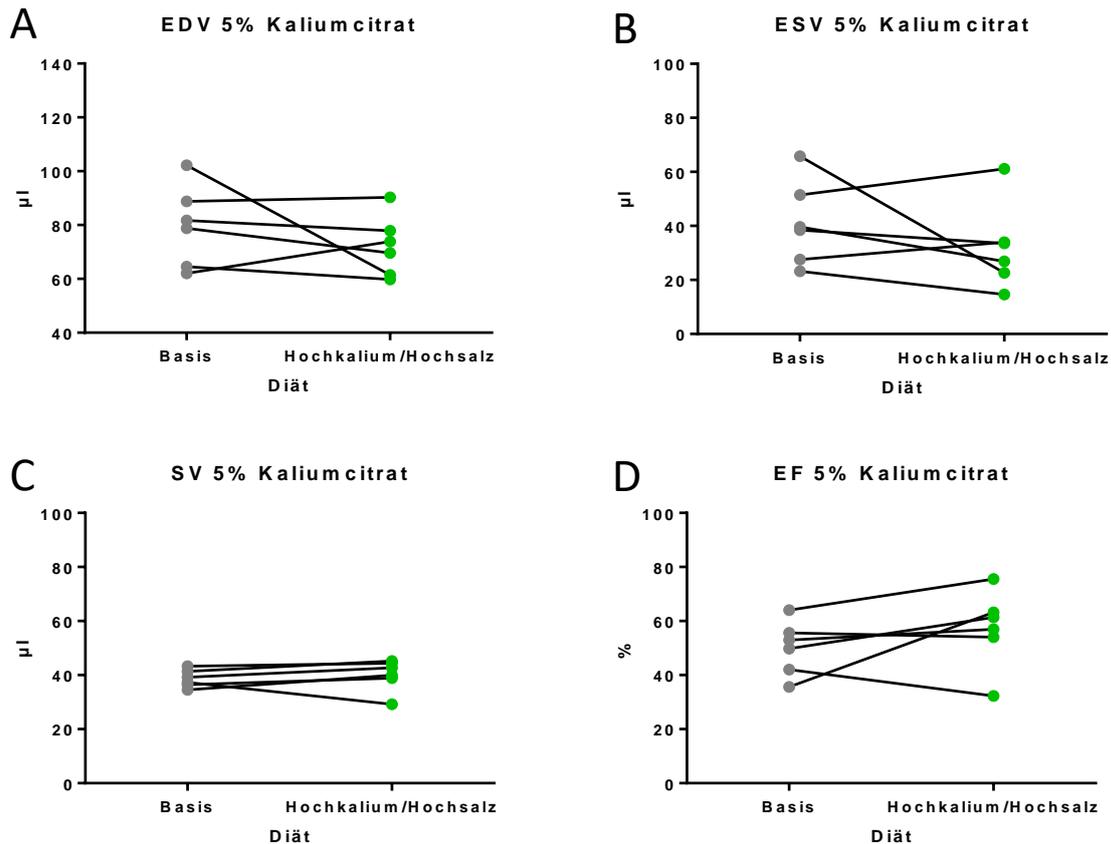


Abbildung 9: EDV, ESV, SV und EF unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat) und unter Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat)

A-D: Untersucht wurden jeweils 6 Tiere vor und nach 10-tägiger Diät. Die Hochkalium/Hochsalz-Diät rief keine signifikanten Veränderungen gegenüber der Basisdiät hervor. $n = 6$, gepaarter t-Test

3.2.2. Kaliumchlorid-Gruppe

Ebenso wie in der *Kaliumcitrat-Gruppe* zeigte sich auch in der *Kaliumchlorid-Gruppe* kein signifikanter Unterschied im EDV zwischen *Basisdiät* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät*. Das EDV (Abb.10 A) fiel im Durchschnitt um 12,1µl von 85,8µl auf 73,7µl. Trotz unverändertem EDV sank das ESV in der *Kaliumchlorid-Gruppe* um 18,5µl von 44µl auf 25,5µl signifikant ab (Abb. 10 B). Dies ging mit einem signifikanten Anstieg der EF von 48,7% auf 65,3% (Abb.10 D) einher. Das SV (Abb.10 C) nahm nicht signifikant um 6,2µl von 41,9µl auf 48,1µl zu.

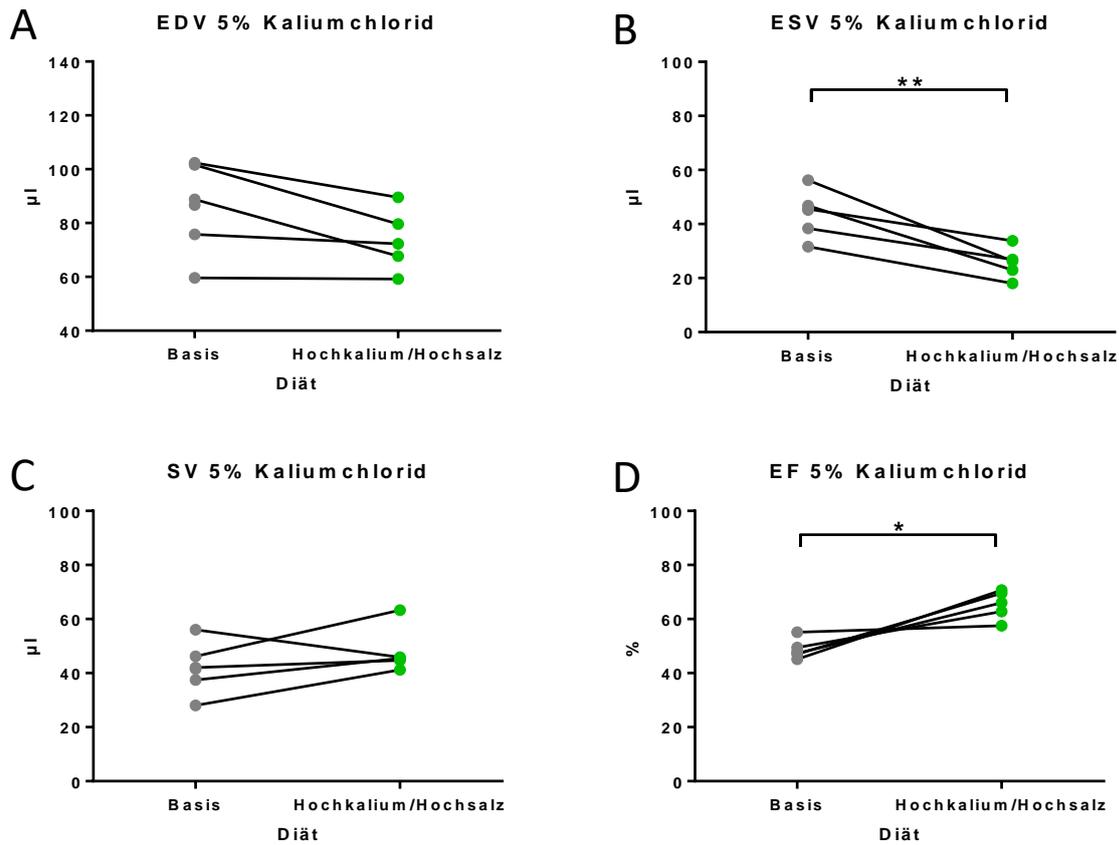


Abbildung 10: EDV, ESV, SV und EF unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCl) und unter Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCl)
A-D: Untersucht wurden jeweils 5 Tiere vor und nach 10-tägiger Diät. Die Hochkalium/Hochsalz-Diät verursachte eine signifikante Zunahme der EF und eine Abnahme des ESV. $n = 5$, gepaarter t-Test * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

3.2.3. Normalkalium/Hochsalz-Gruppe

Um zu untersuchen, welchen Einfluss die erhöhte Natriumchlorid (3% NaCl) Zufuhr bei der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* hatte, wurden außerdem Echokardiografie Versuche mit Tieren durchgeführt, die eine *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (0,93% K⁺ und 3% NaCl) erhielten. Es wurden wiederum die Veränderungen im EDV, ESV, SV, und der EF gegenüber Basisdiät untersucht. Es waren in allen vier Parametern signifikante Unterschiede nachzuweisen.

Im Gegensatz zu den beiden *Hochkalium/Hochsalz-Gruppen* stieg das EDV bei *Normalkalium/Hochsalz-Diät* um 10,6µl von 74,6µl auf 85,2µl an (Abb.11 A). Ebenso stieg das ESV um 14,8µl von 28,6µl auf 43,4µl signifikant an (Abb.11 B). Trotz erhöhtem EDV erniedrigte sich das SV um 4,2µl von 46µl auf 41,8µl (Abb.11 C). Die EF wurde dadurch von 61,6% auf 48,9% signifikant reduziert (Abb.11 D).

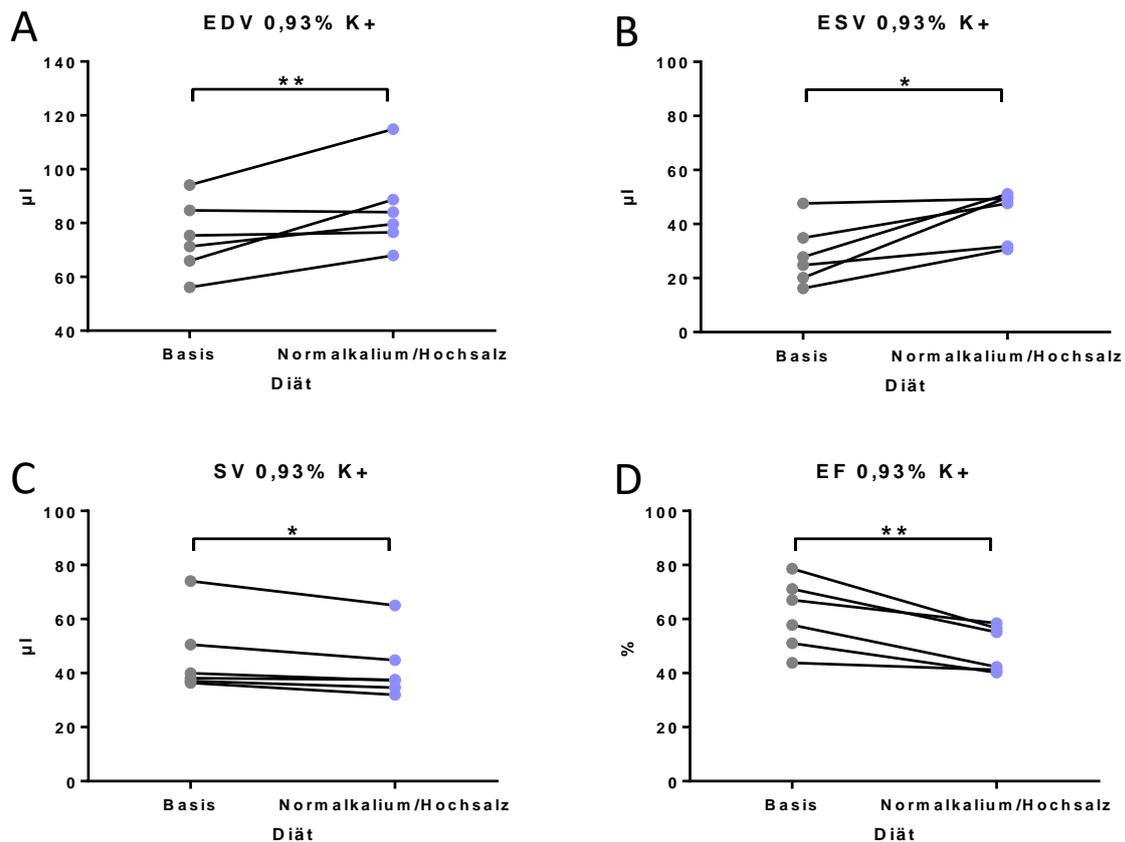


Abbildung 11: EDV, ESV, SV und EF unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCl) und unter Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCl oder KCitrat)

A-D: Untersucht wurden jeweils 6 Tiere vor und nach 10-tägiger Diät. Die Normalkalium/Hochsalz-Diät verursachte eine signifikante Zunahme der EDV und ESV, jedoch eine Abnahme des SV und der EF. $n = 6$, gepaarter t-Test * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

3.2.4. Alle Gruppen im Überblick

Die oben dargestellten Ergebnisse sind in der Tabelle 1 nochmals zum direkten Vergleich nebeneinandergestellt. Ergänzt sind hier die Gewichte der Tiere und die Herzfrequenz unter Narkose zum Zeitpunkt der Bildaufnahme im Ultraschall.

Diät	Basis	5% KCitrat	Basis	5% KCl	Basis	Hochsalz
Gewicht (g)	25,0	25,1	24,7	24,2	25,1	25,8
Herzfrequenz (bpm)	406,9	434,2	411,8	459,5	418,9	448,5
Enddiastolisches Volumen (µl)	79,7	72,2	85,8	73,7	74,6	**85,2
Endsystolisches Volumen (µl)	41,0	32,1	44,0	**25,5	28,6	*43,4
Schlagvolumen (µl)	38,7	40,0	41,9	48,1	46,0	*41,8
Ejektionsfraktion (%)	50,0	57,2	48,7	*65,3	61,6	**48,9

Tabelle 1: Gewicht, HF, EDV, ESV, SV und EF unter Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat bzw. 5% KCl) und unter Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl) $n = 17$, * = Signifikanz, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, gepaarten t-Test, M-Mode, long axis

Außerdem wurden die Ultraschall-Daten auch im *B-Mode* für die *Lange Achse* (Tabelle 2) und im *M-Mode* für die *kurze Achse* ausgewertet (Tabelle 3).

Diät	Basis	5% KCitrat	Basis	5% KCl	Basis	Hochsalz
Enddiastolisches Volumen (µl)	64,1	59,9	67,5	65,4	64,8	70,8
Endsystolisches Volumen (µl)	38,4	34,1	41,5	**27,4	29,0	40,5
Schlagvolumen (µl)	25,7	25,8	26,0	38,0	35,8	30,2
Ejektionsfraktion (%)	41,9	44,7	38,5	*56,8	54,2	43,4

Tabelle 2: EDV, ESV, SV und EF unter Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat bzw. 5% KCl) und unter Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl)
n = 17, * = Signifikanz, **P*<0,05, ***P*<0,01, statistische Testung durch einen gepaarten t-Test, B-Mode, long axis

Diät	Basis	5% KCitrat	Basis	5% KCl	Basis	Hochsalz
Enddiastolisches Volumen (µl)	80,5	77,3	82,3	81,1	73,5	83,2
Endsystolisches Volumen (µl)	37,7	36,1	37,8	32,2	31,2	39,2
Schlagvolumen (µl)	42,9	41,2	44,4	48,9	42,3	44
Ejektionsfraktion (%)	53,5	54,3	53,9	60,6	59,9	52,5

Tabelle 3: EDV, ESV, SV und EF unter Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat bzw. 5% KCl) und unter Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl)
n = 17, * = Signifikanz, **P*<0,05, ***P*<0,01, statistische Testung durch einen gepaarten t-Test, M-Mode, short axis

3.3. TMEM16A – Knockout Tiere

3.3.1. Blutdruck- und Herzfrequenz Messung

Um außerdem festzustellen, ob eine *Hochkalium/Hochsalz-Diät* einen Einfluss auf den TPR als dritte wichtige Stellgröße der Blutdruckregulation haben könnte, wurde für den dritten Versuch ein Mausmodell mit einer eingeschränkten TPR-Regulation gewählt. Außerdem wurde das Diätschema angepasst, um die unterschiedlichen Auswirkungen einer *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (3% NaCl und 0,93% KCitrat) und einer *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (3% NaCl und 5% KCitrat) unterscheiden zu können. Die Tiere erhielten zuerst die *Basisdiät* (1. bis 3. Tag), dann die *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (4. bis 7.Tag) und zum Abschluss die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8. Bis 13. Tag). Dies war notwendig, da die TMEM16A Tiere einen Sv126 Hintergrund aufweisen. Sv126 Mäuse reagieren im Gegensatz zu C57bl6j Mäusen, die für die bisherigen

Versuche verwendet wurden, bereits bei der Gabe einer *Hochsalz-Diät* mit einem Anstieg des Blutdrucks.

Am Anfang des Versuchs wurde sich für einen Vergleich des *TMEM16A Wildtyp* (ohne Tamoxifen-Induktion) und des *TMEM16A Knockout* (mit Tamoxifen Induktion) unter *Kaliumcitrat-Diät* entschieden und die *Kaliumchlorid-Gruppe* vernachlässigt.

Es wurden jeweils die Effekte der Diät bei *TMEM16A Wildtyp* (ohne Tamoxifen-Induktion) und des *TMEM16A Knockout* (mit Tamoxifen Induktion) verglichen.

3.3.1.1. Die Kaliumcitrat-Diät

Der Vergleich der HF (Abb. 12A) bei Nacht ergab zu keiner Zeit der Diät einen signifikanten Unterschied zwischen dem Wildtyp und dem Knockout. Unter *Basisdiät* (Abb.12 B) lag die HF in der Nacht beim Wildtyp bei durchschnittlich 505bpm und beim Knockout bei 543bpm. Bei *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (Abb.12 C) lag die HF nachts beim Wildtyp bei 551bpm und beim Knockout bei 528 bpm. Unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Abb.12 D) war die HF nachts ebenso nicht unterschiedlich. Zu Beginn der Diät betrug die HF der Wildtypiere im Mittel 568bpm und der Knockout Tiere 549bpm. Am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Abb.12 E) zeigte der Wildtyp eine HF von 571bpm und der Knockout eine HF von 579bpm.

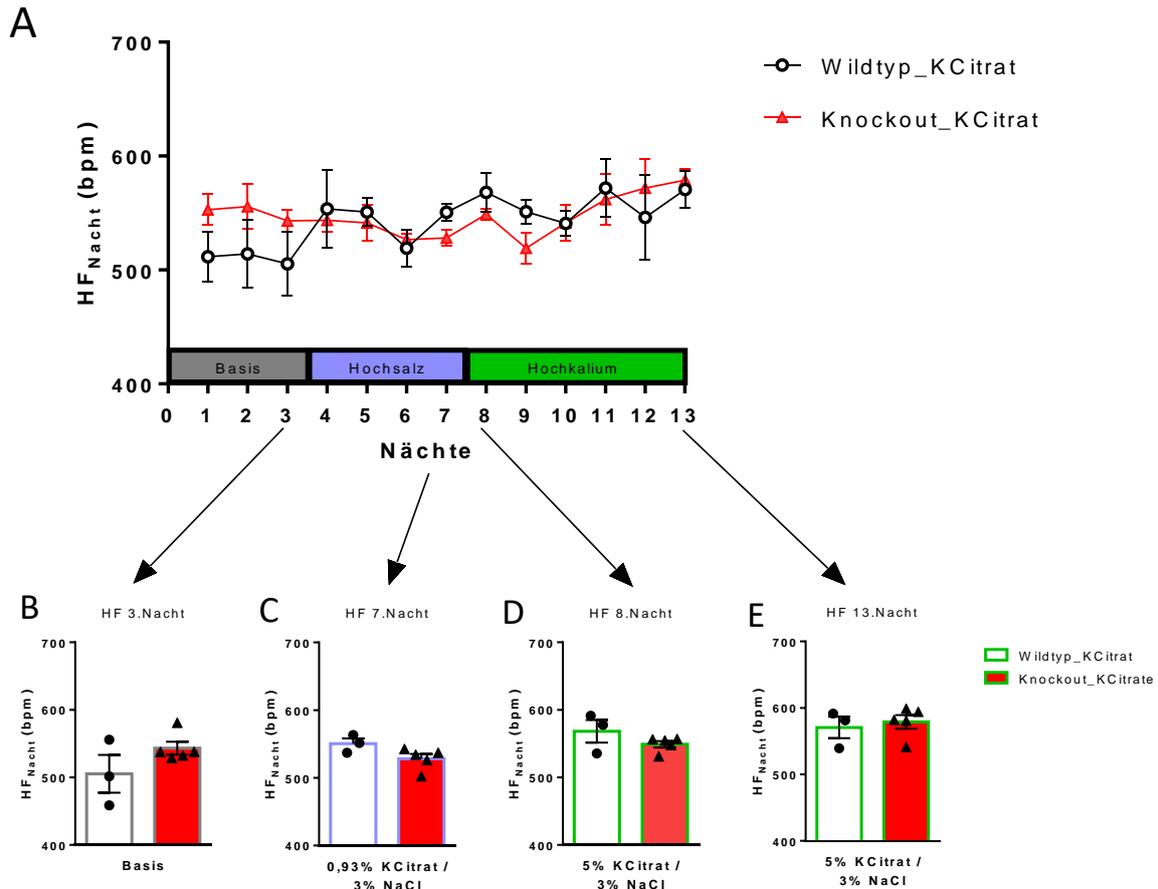


Abbildung 12: Die HF bei Nacht im Verlauf und im direkten Vergleich in Nacht 3,7,8 und 13. **A:** Die HF von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCiträt), Normkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCiträt) und Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCiträt), Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test **B-E:** Die gemittelte HF der Tiere zu beschriebenen Zeitpunkten (siehe Überschrift von B-E) Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

Der Vergleich des MAP (Abb.13 A) ergab ebenfalls zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen den Wildtyp- und dem Knockout-Tieren. Auffällig war jedoch der starke Abfall des MAP in den Knockout-Tieren unmittelbar nach Wechsel der Diät von *Normkalium/Hochsalz* auf *Hochkalium/Hochsalz* (8. Nacht). Unter *Basisdiät* (3. Nacht, Abb.13 B) lag der MAP bei den Wildtypen bei durchschnittlich 109mmHg und bei den Knockouts bei 102mmHg. Unter *Normkalium/Hochsalz-Diät* (7. Nacht, Abb.13 C) stieg der Blutdruck bei den Wildtyp-Tieren auf 117mmHg und bei den Knockout-Tieren auf 110mmHg. Zu Beginn der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8. Nacht, Abb.13 D) zeigten die Wildtypen einen MAP von 115mmHg, während er bei den Knockout-Tieren auf 100mmHg abfiel. Am Ende der

Hochkalium/Hochsalz-Diät (13. Nacht, Abb.13 E) hatten die Wildtyp-Tiere einen MAP von 119mmHg und die Knockout-Tiere einen von bei 114mmHg.

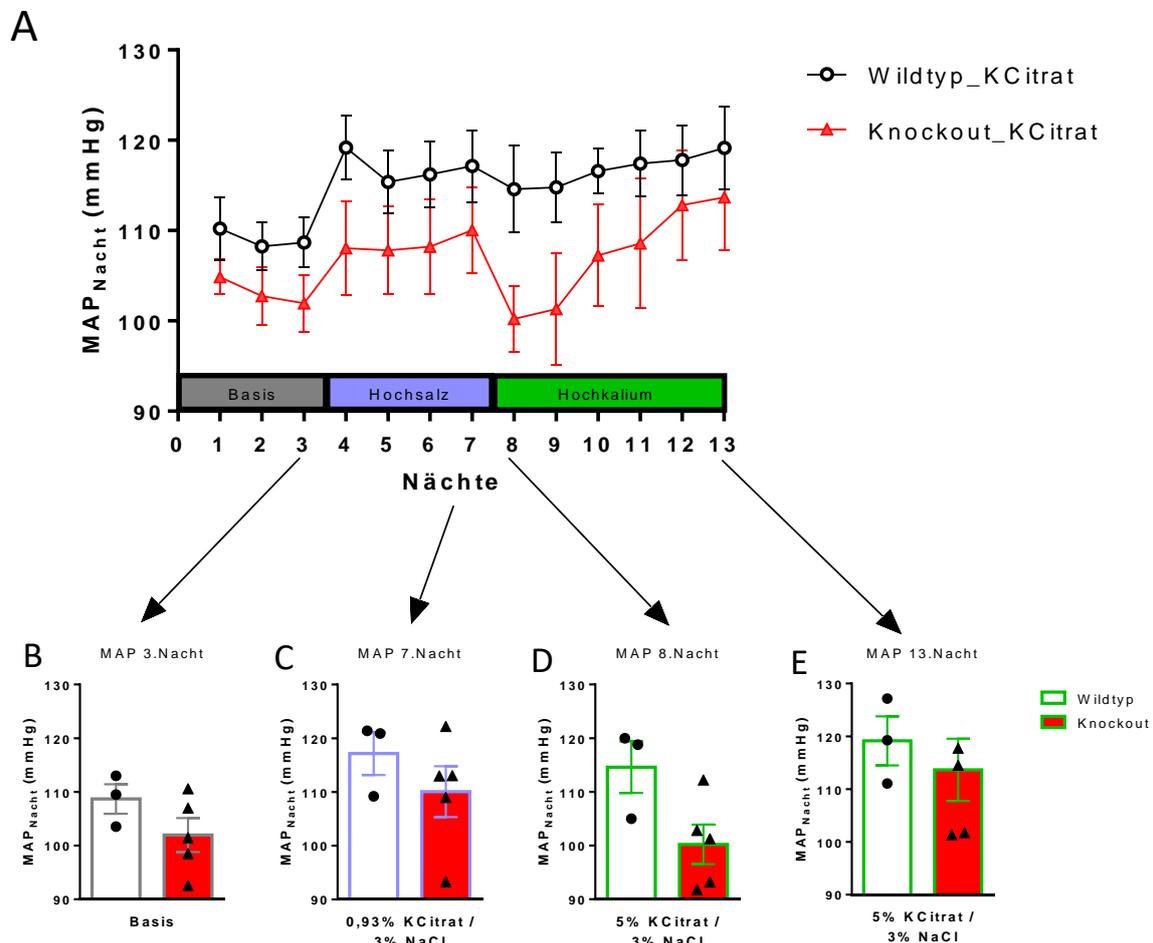


Abbildung 13: Der MAP bei Nacht im Verlauf und im direkten Vergleich in Nacht 3,7,8 und 13. **A:** Der MAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat), Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test **B-E:** Der gemittelte MAP der Tiere zu beschriebenen Zeitpunkten (siehe Überschrift von B-E) Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

Auch der SAP (Abb.14 A) zeigte einen deutlichen Abfall in den Knockout-Mäusen unmittelbar nach dem Wechsel auf die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8.Nacht), jedoch war hier ebenfalls kein signifikanter Unterschied nachzuweisen. Unter *Basisdiät* (3. Nacht, Abb.14 B) lag der SAP bei den Wildtypen bei durchschnittlich 119mmHg und bei den Knockouts bei 114mmHg. Am Ende der *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (7. Nacht, Abb.14 C) betrug der SAP bei den Wildtypen bei 128mmHg und bei den

Knockouts 123mmHg. Unmittelbar nach Beginn der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8. Nacht, Abb.14 D) betrug in den Wildtyp-Tieren der SAP 126mmHg und bei den Knockout-Tieren nur 113mmHg. Am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (13. Nacht, Abb.14 E) war der SAP in den Wildtyp- und Knockout-Tieren wieder vergleichbar hoch und lag bei 129mmHg bzw. 126mmHg.

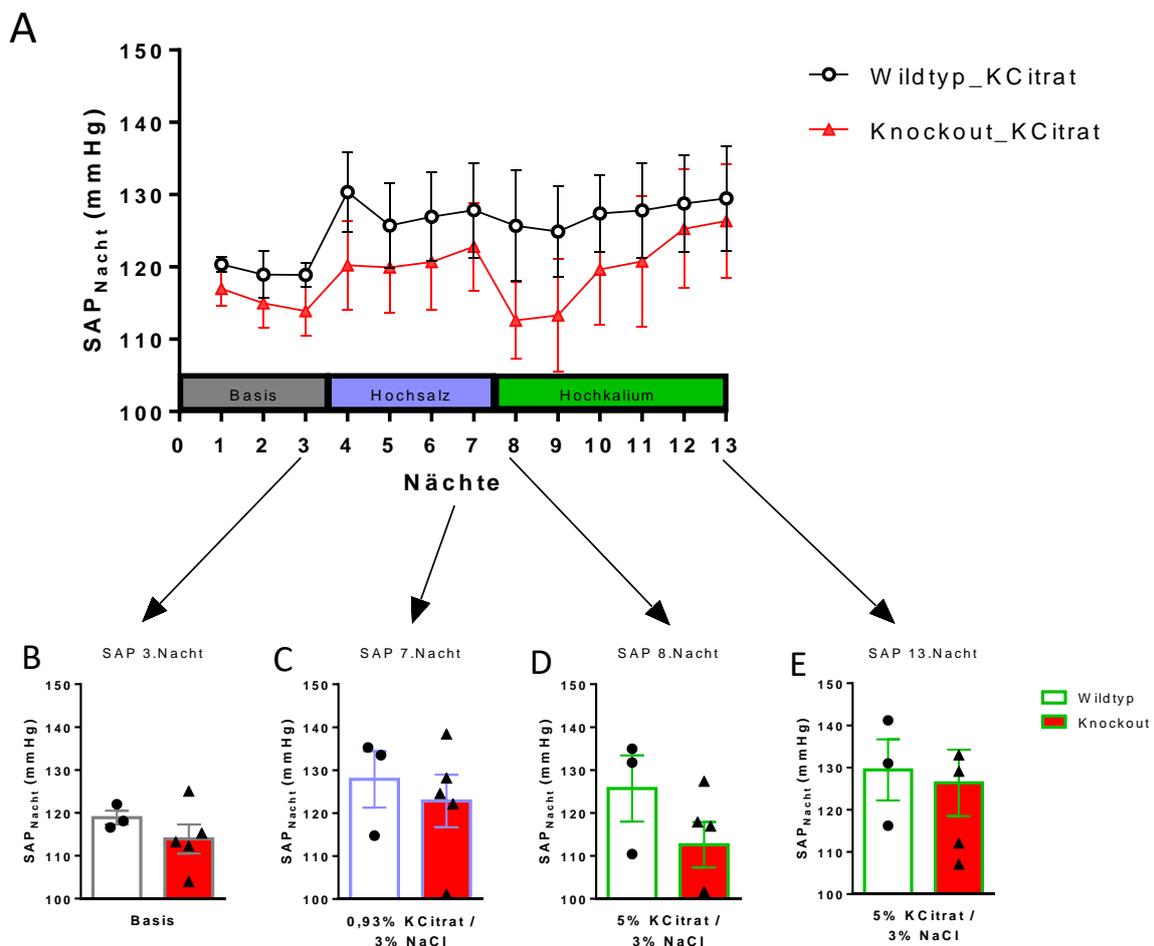


Abbildung 14: Der SAP bei Nacht im Verlauf und im direkten Vergleich in Nacht 3,7,8 und 13. **A:** Der SAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat), Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test **B-E:** Der gemittelte SAP der Tiere zu beschriebenen Zeitpunkten (siehe Überschrift von B-E) Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

Beim DAP (Abb.15 A) zeigte sich unmittelbar nach Beginn der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8. Nacht) ein signifikanter Druckabfall in den Knockout-Tieren, der bei den Wildtyp-Tieren nicht zu beobachten war. Unter allen anderen Diäten und zum Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* war der DAP nicht unterschiedlich zwischen Wildtyp-

und Knockout-Tieren.

Unter *Basisdiät* (3. Nacht, Abb.15 B) lag der DAP beim Wildtyp bei durchschnittlich 98mmHg und beim Knockout bei 91mmHg. Unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (7. Nacht, Abb.15 C) betrug der DAP bei den Wildtypen 106mmHg und bei den Knockouts 98mmHg. Zu Beginn der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (8. Nacht, Abb.15 D) war der DAP der Wildtyp-Tiere 102mmHg und der DAP der Knockout-Tiere 87mmHg. Am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (13. Nacht, Abb.15 E) hatten die Wildtyp- und Knockout-Tiere einen DAP von 109mmHg und 101mmHg.

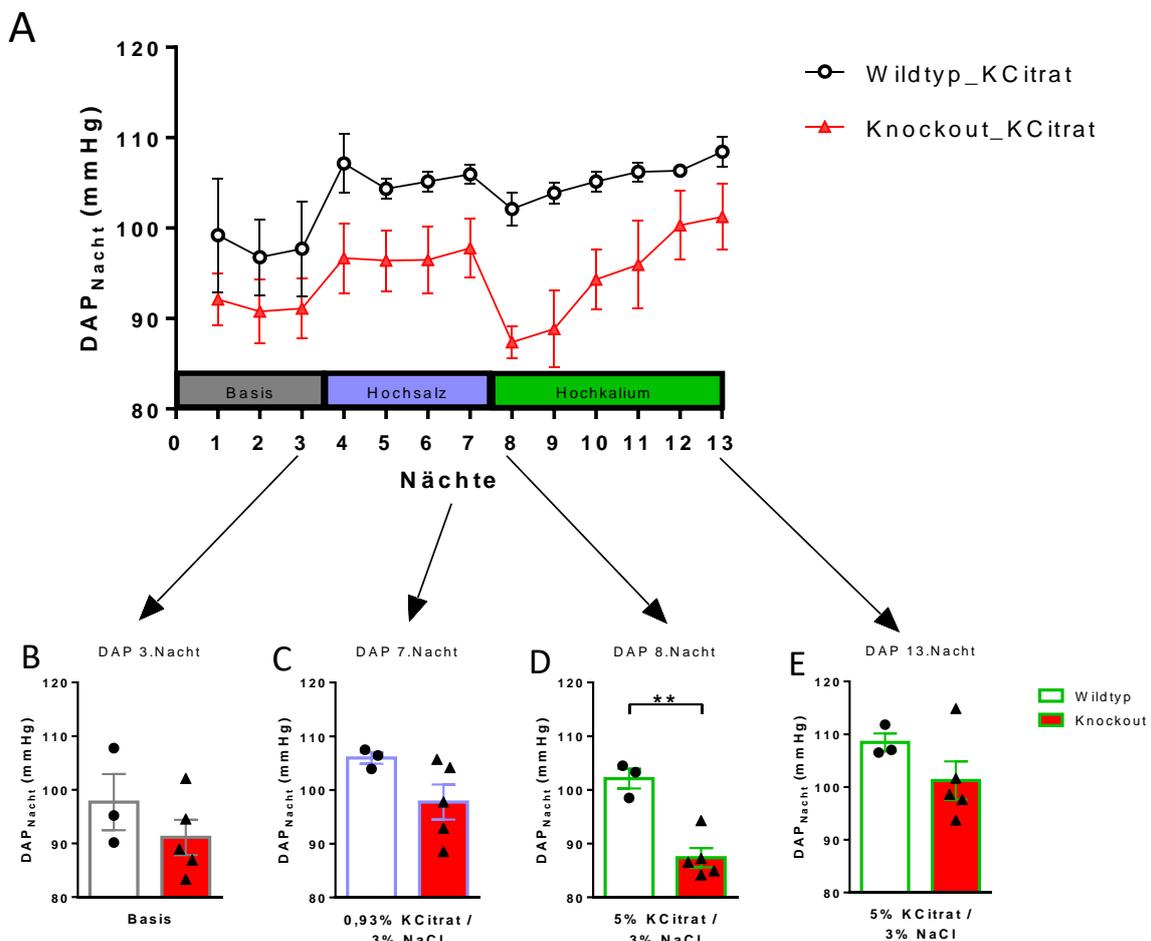


Abbildung 15: Der DAP bei Nacht im Verlauf und im direkten Vergleich in Nacht 3,7,8 und 13. **A:** Der DAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat), Wildtyp n = 3, Knockout n = 5, mean ± SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test **B-E:** Der gemittelte DAP der Tiere zu beschriebenen Zeitpunkten (siehe Überschrift von B-E) Wildtyp n = 3, Knockout n = 5, mean ± SEM, * = Signifikanz, **p<0,01, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

3.3.1.2. Die Kaliumchlorid-Diät für den TMEM16A Knockout

Um zu untersuchen, ob der Abfall des MAP, SAP und insbesondere des DAP zu Beginn der Hochkalium-Diät unabhängig vom Anion des Kaliumsalzes ist, wurden TMEM16A Knockout-Tiere auch mit einer hoch Kaliumchlorid-Diät (in Kombination mit 3% NaCl) behandelt. Die Knockout-Kaliumchlorid-Gruppe wurde mit der Knockout-Kaliumcitrat-Gruppe verglichen. Interessanterweise zeigte sich in der Kaliumchlorid-Gruppe (Abb.16 A) kein Abfall des DAP unmittelbar nach dem Diätwechsel (8. Nacht). Der Verlauf des DAP ähnelte mehr dem Verlauf des DAP der Wildtyp-Tiere unter Kaliumcitrat-Diät. Unter Basisdiät (3. Nacht, Abb.16 B) lag der DAP in den Knockout KCl-Tieren bei durchschnittlich 94 mmHg und unter Normalkalium/Hochsalz-Diät (7. Nacht, Abb.16 C) bei 100 mmHg. Zu Beginn (8. Nacht, Abb.16 D) und am Ende (13. Nacht, Abb.16 E) der Hochkalium/Hochsalz-Diät war der DAP 101 mmHg bzw. 103 mmHg.

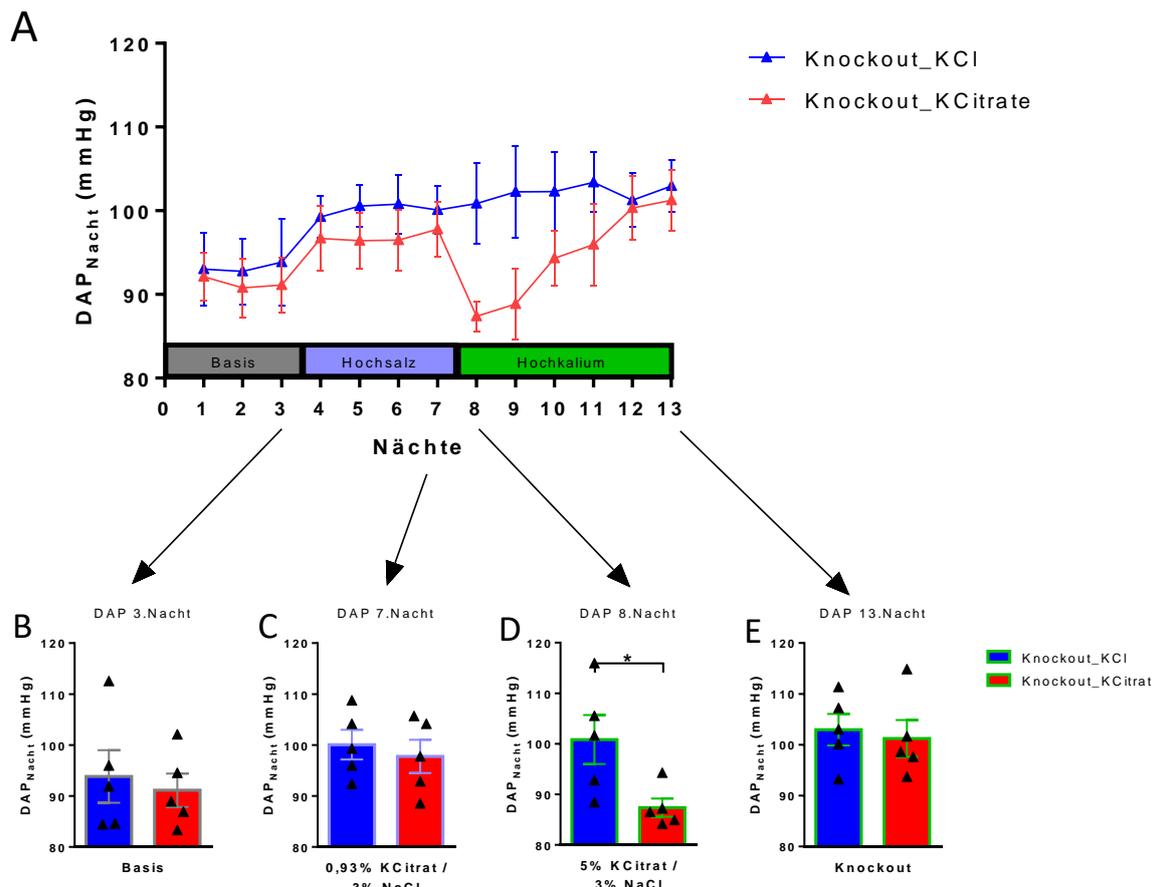


Abbildung 16: Der DAP bei Nacht im Verlauf und im direkten Vergleich in Nacht 3,7,8 und 13. A: Der DAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl), Normalkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl) und Hochkalium/Hochsalz-Diät (3% NaCl und 5% KCitrat/KCl), KCl-Knockout $n = 5$, Kcitrat-Knockout $n = 5$, mean \pm SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als

Post hoc test

B-E: Der gemittelte DAP der Tiere zu beschriebenen Zeitpunkten (siehe Überschrift von B-E) Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, * $P < 0,05$, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

3.3.2. Blutgasanalyse (BGA)

Um herauszufinden, ob sich die Blutgase der Mäuse unter *Normalkalium/Hochsalz-* und *Hochkalium/Hochsalz-Diät* unterscheiden, wurde den Mäusen am Ende der *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (7. Tag) und am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diäten* (13. Tag) Blut entnommen.

3.3.2.1. Die Kaliumcitrat-Diät

Im Folgenden werden zuerst die Werte der Wildtyp- und Knockout-Tiere der *Kaliumcitrat-Gruppe* miteinander verglichen. Bis auf den Hämatokritwert (Hct) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Wildtyp und Knockout-Tieren. Die Knockout-Tiere wiesen unabhängig von der Diät stets einen signifikant niedrigeren Hct-Wert auf als die Wildtyp-Tiere (Tabelle 4 und 5). Zusätzlich zeigte sich, dass die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* sowohl im Wildtyp- als auch in den Knockout-Tieren einen Abfall der Plasma-Chlorid-Konzentration [Cl⁻] (vom 7. zum 13 Tag) und einen Anstieg des Standardbikarbonat (SBC) und des Standard-Base-Excess (SBE) hervorrief.

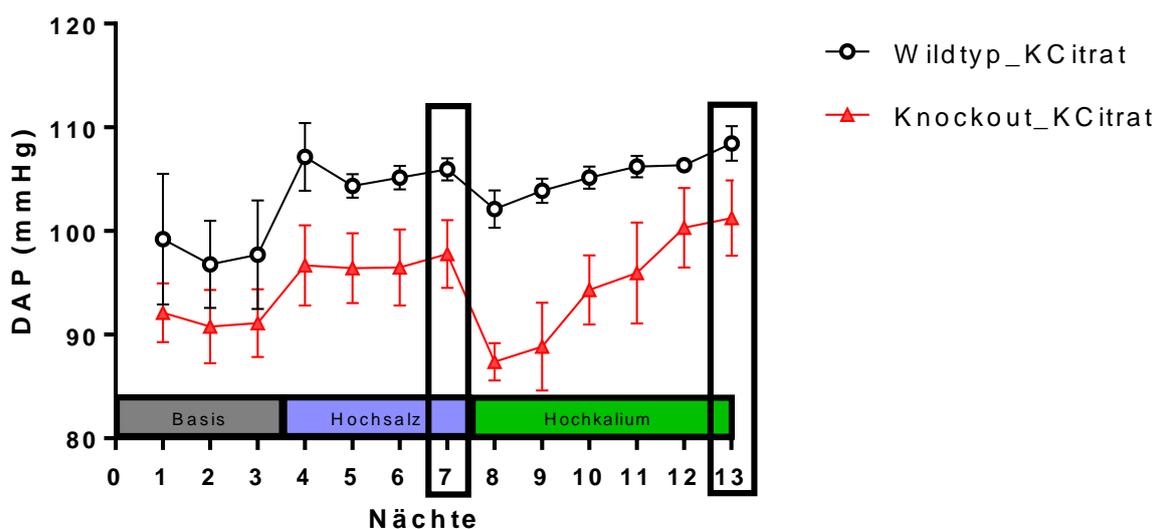


Abbildung 17: Der DAP bei Nacht im Verlauf

Der DAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat), Normalkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat) und Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCitrat), Wildtyp $n = 3$, Knockout $n = 5$, $\text{mean} \pm \text{SEM}$, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test als Post hoc test

7. Tag	pH	pCO ₂ (mmHg)	K ⁺ (mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	Ca ⁺⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lac (mmol/L)	SBC (mmol/L)	Hct (%)	SBE (mmol/L)	
Wildtyp (n=3)		7,4	42,9	5,0	147,0	1,2	112,0	4,9	22,5	50,1	-1,6
Knockout (n=3)		7,3	45,4	4,3	149,7	1,2	115,0	5,6	20,3	**42,0	-4,3

13. Tag	pH	pCO ₂ (mmHg)	K ⁺ (mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	Ca ⁺⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lac (mmol/L)	SBC (mmol/L)	Hct (%)	SBE (mmol/L)	
Wildtyp (n=8)		7,4	48,7	4,8	148,0	1,2	107,0	5,9	25,8	48,6	3,1
Knockout (n=6)		7,4	46,4	5,1	148,2	1,2	106,5	5,5	27,1	**43,1	4,4

Tabelle 4 und 5: Die BGA unter *Normkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat)* und *Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCitrat)*

4: Wildtyp n = 3, Knockout n = 3, * = Signifikanz, **P<0,01, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

5: Wildtyp n = 8, Knockout n = 6, * = Signifikanz, **P<0,01, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

3.3.2.2. Die Kaliumchlorid-Diät für den TMEM16A Knockout

Zusätzlich wurden die *Knockout-Tiere* der *Kaliumcitrat-Gruppe* mit den *Knockout-Tieren* der *Kaliumchlorid-Gruppe* miteinander verglichen. Die beiden Knockout-Gruppen zeigten - wie zu erwarten - unter *Normkalium/Hochsalz-Diät (7.Tag)* noch keine Unterschiede. Am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diäten (13.Tag)* war ein signifikanter Unterschied in der Plasma-Chlorid-Konzentration [Cl⁻] zwischen *Knockout-Mäusen* der *Kaliumcitrat-Gruppe* und *Kaliumchlorid-Gruppe* festzustellen. Ebenso war die Bicarbonat-Konzentration (SBC) und der Base-Excess (SBE) in der *Kaliumcitrat-Gruppe* sogar signifikant erhöht. Im Hct zeigte sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

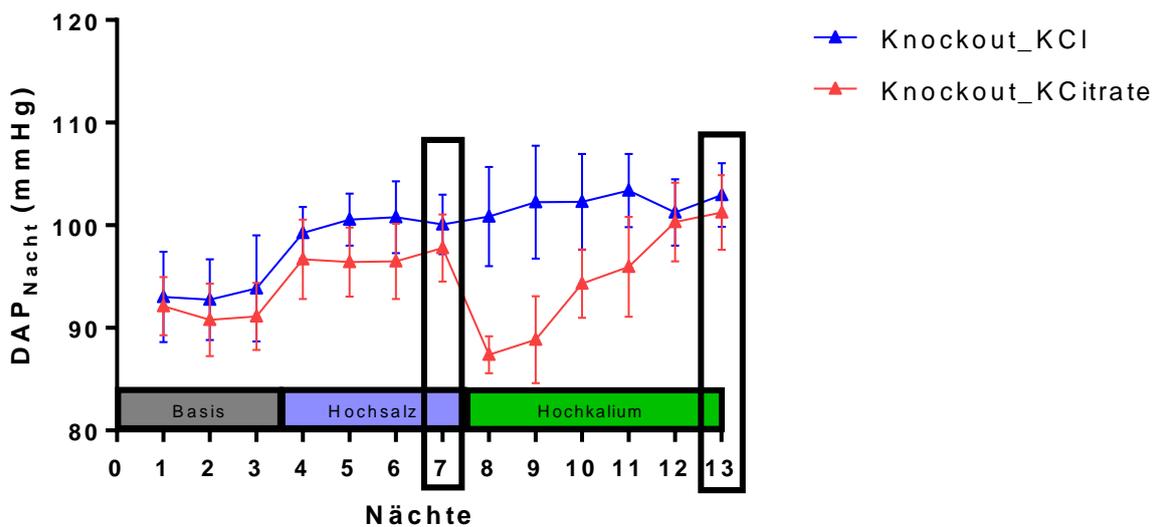


Abbildung 18: Der DAP bei Nacht im Verlauf

Der DAP von Nacht 1 bis 13 unter Basisdiät (0,24% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl), Normkalium/Hochsalz - Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl) und Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCitrat/KCl), KCl - Knockout n = 5, Kcitrat - Knockout n = 5, mean ± SEM, * = Signifikanz, statistische Testung mit einer two-way ANOVA und der Bonferroni multiple comparisons test

7. Tag	pH	pCO ₂ (mmHg)	K ⁺ (mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	Ca ⁺⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lac (mmol/L)	SBC (mmol/L)	Hct (%)	SBE (mmol/L)	
Knockout KCl (n=3)		7,3	41,6	4,7	149,0	1,2	117,7	5,5	18,4	43,7	-7,3
Knockout KCitrat (n=3)		7,3	45,4	4,3	149,7	1,2	115,0	5,6	20,3	42,0	-4,3

13. Tag	pH	pCO ₂ (mmHg)	K ⁺ (mmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	Ca ⁺⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	Lac (mmol/L)	SBC (mmol/L)	Hct (%)	SBE (mmol/L)	
Knockout KCl (n=5)		7,3	46,8	4,4	150,4	1,2	115,6	3,7	21,7	44,3	-2,5
Knockout KCitrat (n=6)		7,4	46,4	5,1	148,2	1,2	****106,5	5,5	27,1	43,1	*4,4

Tabelle 6 und 7: Die BGA unter *Normalkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 0,93% KCitrat/KCl)* und *Hochkalium/Hochsalz Diät (3% NaCl und 5% KCitrat/KCl)*

6: KO KCl n = 3, KO KCitrat n = 3, * = Signifikanz, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

7: KO KCl n = 5, KO KCitrat n = 6, * = Signifikanz, *P<0,05, ****P<0,0001, statistische Testung mit einem ungepaarten t-Test

4. Diskussion

4.1. Auswirkungen von Amilorid auf den arteriellen Blutdruck

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass durch die Gabe des Diuretikums Amilorid kein Absenken des durch die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* erhöhten Blutdrucks zu beobachten war. Dies entspricht den Beobachtungen von Vitzthum et al. (Vitzthum et al. 2014). Bei Nacht kam es in der *KCitrat-Gruppe* unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* zu einem Anstieg des MAP, SAP und DAP, jedoch zu keinem Blutdruckabfall durch zusätzliche Gabe von Amilorid (Abb. 1 und 2 in 3.1.1.). Am Tag konnte man keinen signifikanten Anstieg unter Diät feststellen, jedoch kam es hier bei zusätzlicher Amiloridgabe zum leichten Anstieg des DAP (Abb. 3 in 3.1.1.). Die fehlende Wirkung des ENaC-Blockers Amilorid spricht dafür, dass der vermehrte Einbau oder eine erhöhte Aktivität des epithelialen Natriumkanals ENaC nicht die Ursache für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* ist. Auch ein Anstieg der HF bei Nacht konnte als alleinige Ursache für den Blutdruckanstieg unter Diät mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden (Abb. 4B in 3.1.1.). Ein signifikanter Anstieg der HF unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* war dennoch zu beobachten (Abb. 4A in 3.1.1.). Zum Teil könnte also ein Anstieg der HF den beobachteten Blutdruckanstieg verursachen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Böttcher (2016), die auch eine erhöhte HF unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* beobachten konnte. Vor allem in der *KCitrat-Gruppe* war nachts die HF in Böttchers Versuchen signifikant erhöht (Böttcher 2016). Trotz allem zeigen die Ergebnisse in dieser Arbeit bei direkter Gegenüberstellung des MAP mit der HF, dass die HF nicht die alleinige Ursache für den Druckanstieg sein kann.

In der *KCl-Gruppe* ließen sich ähnliche Beobachtungen machen. Auch hier stieg der Druck unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* bei Nacht signifikant an, fiel aber unter der Amiloridtherapie nicht signifikant ab (Abb. 5 und 6 in 3.1.2.). Lediglich am Tag zeigte sich eine signifikante Senkung des MAP (4,7mmHg) unter Amiloridgabe, (Abb. 7 in

3.1.2.). Dies könnte auf eine untergeordnete Rolle des ENaCs beim Druckanstieg unter der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* hinweisen. Da sich jedoch keinerlei Druckabfall in der Nacht zeigte und auch am Tag nur beim MAP und nicht beim SAP und DAP, ist vermutlich nicht von einer ausschlaggebenden Rolle des ENaCs bei dem Blutdruckanstieg unter Diät auszugehen. Diese Annahme wird auch durch die Befunde von Böttcher (2016) unterstützt (Böttcher 2016)., die in ihren Versuchen mit Mäusen unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* in der *KCl-Gruppe* keine erhöhte Genexpression von ENaC in der Niere beobachten konnte. Die unveränderte Genexpression und die fehlende Wirkung des ENaC-Blockers Amilorid auf den Blutdruck macht eine ausschlaggebende Rolle einer Aldosteron-induzierten Aktivierung des ENaCs als Ursache für den Blutdruckanstieg wiederum unwahrscheinlicher.

Im Gegensatz zur *KCitrat-Gruppe* wurde in der *KCl-Gruppe* kein signifikanter Anstieg der HF beobachtet. Dies lässt eine andere Ursache für den Druckanstieg in den beiden *Hochkalium/Hochsalz-Diätgruppen* vermuten. Somit könnten die Anionen des Kaliums, Citrat oder Chlorid, einen unterschiedlichen Einfluss auf die Kreislaufregulation haben, womöglich auf die Aktivität des Sympathikus bzw. Parasympathikus. Die *KCitrat-Gruppe* hatte im Gegensatz zur *KCl-Gruppe* eine signifikant erhöhte HF unter Diät. Dies könnte für einen erhöhten Sympathikotonus bzw. erniedrigten Parasympathikotonus sprechen, die über unterschiedliche Mechanismen zu einer Erhöhung im Blutdruck führen.

Dass ein erhöhter Sympathikotonus den Blutdruck anheben würde bzw. ein erniedrigter den Druck senken würde, konnte in mehreren Publikationen gezeigt werden. So konnten Ukena et al. zeigen, dass eine Katheter-basierte Denervation renaler sympathischer Nervenfasern zu einem Abfall im Blutdruck bei Menschen mit Hypertonie führte (Ukena et al. 2013). Dies konnte in anderen Publikationen bestätigt werden (Bakris und Nathan 2014; Krum et al. 2009).

Aufgrund der Tatsache, dass eine *Hochkalium-Diät* den Aldosteronspiegel signifikant anhebt, wäre es möglicherweise sinnvoll, noch einmal die Rolle des Aldosterons für den Blutdruckanstieg genauer zu untersuchen. Dies wurde in einer anderen Arbeit mit ähnlichem Versuchsaufbau mit dem MR-Blocker Spironolacton schon gemacht, ebenfalls mit dem Ergebnis, dass der Blutdruck nicht signifikant gesenkt werden konnte (Marx 2019). Jedoch könnte man in einem weiteren Versuch die Wirkung des Aldosterons mit dem GPER Antagonisten G15 noch umfassender inhibieren, zumal

die MR-unabhängigen Effekte bei Erhöhung der Aldosteronkonzentration durch die Spironolactongabe sogar zunehmen können (Briet und Schiffrin 2013).

4.2. Echokardiografie

Die Echokardiografie sollte Aufschluss darüber geben, ob die Blutdruckzunahme unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* auf einen positiv inotropen Effekt oder womöglich auf eine Volumenzunahme zurückgehen könnte. Die Ergebnisse in der *KCitrat-Gruppe* waren relativ unauffällig. Es konnten im Vergleich der Herzvolumina unter *Basisdiät* und der Herzvolumina unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, was gegen eine Zu- oder Abnahme der Herzkraft oder des Blutvolumens in dieser Gruppe sprach (Abb. 9 und Tab. 1 in 3.2.1. und 3.2.4.). Dies deckt sich nicht mit den Vermutungen von Marx und Vitzthum et al., die unter der gleichen *Hochkalium/Hochsalz-Diät* eine erhöhte Natriumretention nachweisen konnten und daraus auf ein möglicherweise erhöhtes Blutvolumen schlossen (Vitzthum et al. 2014; Marx 2019). Das EDV sank sogar unter Diät, jedoch nicht signifikant. Auch das SV oder die EF stiegen nicht signifikant an bzw. auch das ESV fiel nicht ab, was nicht für einen erhöhten Sympathikotonus sprach. Aufgrund des gefundenen HF-Anstiegs unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* in der *KCitrat-Gruppe* erschien jedoch eine Sympathikusaktivierung eine mögliche Erklärung für den Blutdruckanstieg in dieser Gruppe zu sein (4.1.).

Anders sahen die Ergebnisse in der *KCl-Gruppe* aus. Im EDV und SV war ebenfalls keine signifikante Änderung zu beobachten, dafür aber im ESV und der EF. Das ESV fiel signifikant und die EF stieg signifikant (Abb. 10 und Tab. 1 in 3.2.2 und 3.2.4.). Diese Beobachtung spricht deutlich für eine Zunahme der Herzkraft, eine positive Inotropie. Dies legt eine Zunahme in der Aktivität des Sympathikus nahe. Jedoch konnte in dieser Diätgruppe (4.1.) kein signifikanter Anstieg der HF nachgewiesen werden.

Somit haben die beiden *Hochkalium/Hochsalz-Diäten* unterschiedliche Effekte auf HF und Inotropie. Während in der *KCitrat-Gruppe* eine HF-Zunahme ohne EF-Zunahme beobachtet wurde, zeigte sich in der *KCl-Gruppe* eine EF-Zunahme ohne HF-Zunahme.

An dieser Stelle sollte erwähnt werden, dass neben einem positiven Sympathikotonus möglicherweise und vielleicht sogar noch stärker auch ein negativer Parasympathikotonus einen positiv chronotropen Einfluss auf das Herz nimmt. Hierzu konnten Brack et al zeigen, dass die vagale Nervenstimulation einen stärkeren Einfluss auf die Herzfrequenz hatte als die sympathische Stimulation (Brack et al. 2004; Johannessen et al. 1991). Außerdem konnte gezeigt werden, dass unter Epinephringabe als Sympathomimetikum vor allem das SV und die EF erhöht werden (Stratton et al. 1985) und unter Atropingabe als Parasympatholytikum vor allem die HF erhöht wird, während das SV und die EF sogar verringert sein können (Kelbaek et al. 1991). Möglicherweise könnte hier also auf einen unterschiedlichen Einfluss der Anionen auf das autonome Nervensystem spekuliert werden. Eine durch Kaliumcitrat-Gabe induzierte Bikarbonaterhöhung im Blut könnte auf direktem oder indirektem Wege den Parasympathikus vermehrt inhibieren, wohingegen die Chlorid-Gabe über bislang unbekannte Wege den Sympathikus vermehrt stimulieren könnte.

Interessant waren außerdem die beobachteten Veränderungen der Herzvolumina unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät* (Abb. 11 und Tab 1 in 3.2.3. und 3.2.4.). Das EDV wie auch das ESV nahmen signifikant zu, was zu einer Volumenzunahme unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät* passte. Nach Frank-Starling sollte nun das Herz durch die höhere Vordehnung (EDV) ein erhöhtes SV aufweisen. Dies war jedoch nicht der Fall. Im Gegenteil, das Herz pumpete ein signifikant geringeres Volumen pro Schlag (SV) und die EF sank damit ab. Dies ist womöglich mit einer verminderten Inotropie zu erklären. Das würde heißen, dass eine *Normalkalium/Hochsalz-Diät* zur Volumenexpansion führt, jedoch gleichzeitig den Sympathikus hemmt bzw. eine negative Inotropie bewirkt. Eine alleinige Volumenzunahme würde zur Steigerung des Blutdrucks führen und eine alleinige Inhibition des Sympathikus zu einem Druckabfall. Vitzthum et al. konnten in ihren Versuchen zeigen, dass sich der Blutdruck unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät* in C57bl6 Mäusen nicht signifikant verändert (Vitzthum et al. 2014). Dies ist mit den Ergebnissen aus dieser Arbeit in Einklang zu bringen, da sich die beiden Veränderungen, ein geringerer Sympathikotonus und eine Volumenzunahme, in Bezug auf den Blutdruck gegenseitig aufheben könnten und der Druck damit konstant gehalten werden würde.

Allerdings widerspricht der geringere Sympathikotonus in Verbindung mit der hohen Salzaufnahme eventuell anderen Studien. Unter anderem Zheng et al. konnten zeigen,

dass eine gesteigerte Salzaufnahme zu niedrigeren Renalase-Spiegeln, ein Enzym zum Abbau der Katecholamine im Blut, führt und damit den Katecholamin-Spiegel erhöht. Dies führt in der Folge zu einem höheren Sympathikotonus (Zheng et al. 2016). Für ihren Versuch verwendeten sie jedoch salzsensitive Ratten, was einen wichtigen Unterschied zu dem in diesem Versuch verwendeten nicht salzsensitiven Mausmodell ausmacht und so möglicherweise nicht im Widerspruch zu den Ergebnissen dieser Versuche steht.

4.3. TMEM16A-Knockout Tiere

4.3.1. Blutdruck- und Herzfrequenz Messung

Mit Hilfe dieses Versuchs sollte eine möglicherweise veränderte Regulation des TPR als Ursache für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* untersucht werden. Hierfür wurde ein Mausmodell gewählt, dass durch den KO des Ca^{2+} -aktivierten Cl-Kanals (CaCC) TMEM16A eine eingeschränkte TPR-Regulation aufwies. Durch den direkten Vergleich mit den WT-Tieren sollte untersucht werden, ob sich Hinweise auf einen Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät (5% KCitrat/3% NaCl-Diät)* durch eine veränderte Vasokonstriktion ergaben.

Die eingeschränkte TPR-Regulation des Knockouts zeigte sich in den Versuchen durch einen permanent niedrigeren Blutdruck verglichen mit den Wildtyp-Tieren (Abb. 13 in 3.3.1.1.). Der Unterschied lag durchschnittlich bei etwa 7mmHg, welcher jedoch nicht signifikant war, was vermutlich mit der niedrigen Anzahl der hier untersuchten Tiere zusammenhing. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Heinze et al., wo die *KO-Gruppe* nach Tamoxifen Induktion ebenfalls einen niedrigeren Blutdruck zeigte als die *WT-Gruppe*. Hier betrug der Unterschied allerdings etwa 14mmHg und war signifikant nachweisbar (Heinze et al. 2014). Im Verlauf zeigte sich, dass der Blutdruck unter der *Normalkalium/Hochsalz-Diät* beim WT sowie auch beim KO anstieg. Die Druckdifferenz zwischen den beiden Gruppen blieb erhalten, jedoch war auch dieser Unterschied nicht signifikant. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde von Heinze et al., die unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät* einen Ausgleich des Blutdruckunterschiedes zwischen *WT-* und *KO-Gruppe* beobachten konnten (Heinze et al. 2014). Die Ursache für die unterschiedlichen Beobachtungen ist derzeit unklar. Jedoch wurde auch hier, wie für die Untersuchungen von Heinze et al., eine 3% NaCl Diät verwendet.

Der Blutdruckanstieg unter einer *Hochsalz-Diät* in den TMEM16A WT- und KO-Tieren ist wohl auf den genetischen Hintergrund der Tiere zurückzuführen. Die TMEM16A Tiere weisen einen Sv126 Hintergrund auf, eine Mauslinie, die bekanntermaßen einen Blutdruckanstieg unter *Hochsalz-Diät* aufweist (Boyd-Shiwarski et al. 2020). Die für alle anderen hier beschriebenen Versuche (Blutdruck unter Amilorid-Behandlung und Echokardiografie) verwendete Mauslinie C57bl6j zeigt jedoch keinen Blutdruckanstieg unter *Hochsalz-Diät* (Vitzthum et al. 2014).

Der salzsensitive Blutdruckanstieg der TMEM16A WT- und KO-Tiere könnte auch die Erklärung für das Ausbleiben einer weiteren Erhöhung des Blutdrucks unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* sein. In keiner der beiden Gruppen war eine signifikante Erhöhung des Blutdrucks zu beobachten, was eine Aussage über die Rolle des TMEM16A, bzw. Veränderungen in der TPR-Regulation bei dem in C57bl6j Tieren beobachteten Druckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* schwierig machte. Da Boyd-Shiwarski et al. (Boyd-Shiwarski et al. 2020) jedoch bereits zeigen konnten, dass Mäuse mit einem Sv126 Hintergrund schon auf eine alleinige *Hochkalium-Diät* mit einem Blutdruckanstieg reagieren, könnte man die Versuche ohne *Hochsalz-Diät* in den TMEM16A WT- und KO-Tieren wiederholen oder TMEM16A WT- und KO-Tiere mit einem C57bl6j Hintergrund verwenden, um die Rolle des TMEM16A weiter zu untersuchen.

Interessanterweise zeigte sich jedoch unmittelbar nach Umstellung auf die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* ein deutlicher Einbruch des Blutdrucks in den KO-Tieren, der in den WT-Tieren nicht zu beobachten war (Abb. 13 in 3.3.1.1.). Der DAP der KO-Tiere wies einen signifikanten Unterschied von etwa 15mmHg zu den Wildtyp-Tieren auf (Abb. 15 in 3.3.1.1.). Dieser Einbruch des Blutdrucks wurde im Laufe der nächsten 5 Tage kompensiert, sodass die KO- und WT-Tiere am Ende der Diätphase wieder einen ähnlicheren Druckunterschied von etwa 8mmHg aufwiesen.

Beim Vergleich der verschiedenen *Hochkalium/Hochsalz-Diäten* auf den Blutdruck der KO-Tiere, zeigte sich, dass der kurzzeitige Druckabfall nur in der *KCitrat-Gruppe* jedoch nicht in der *KCl-Gruppe* beobachtet werden konnte (Abb. 16 in 3.3.1.2.). Der Unterschied im DAP war in der ersten Nacht der *Hochkalium/Hochsalz-Diätphase* in der *KCitrat-Gruppe* um 14mmHg signifikant niedriger als in der *KCl-Gruppe*. Entscheidend für den Druckabfall unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* im KO-Tier war also vermutlich das Anion des Kaliumsalzes, Citrat.

4.3.2. Blutgasanalyse

Der zweite Teil des Versuchs war die Blutgasanalyse. Sie sollte Klarheit über den Einfluss der verschiedenen Diäten auf den Säure-Base-Haushalt und die Elektrolytkonzentrationen im Plasma geben.

Aus diesem Grund wurde die Blutgasanalyse am Ende der *Normkalium/Hochsalz-Diät* und am Ende der beiden *Hochkalium/Hochsalz-Diät* durchgeführt. Dabei zeigte sich ein signifikant unterschiedlicher Hct zwischen KO- und WT-Tieren sowohl am Ende der *Normkalium/Hochsalz-Diät* als auch am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Tab. 4 und 5 in 3.3.2.1.). Der Hct der KO-Tiere war signifikant erniedrigt gegenüber den Werten der WT-Tiere, was für eine Volumenexpansion in den KO-Tieren sprechen könnte. Dies könnte in Anbetracht eines verminderten TPRs aufgrund des fehlenden TMEM16A-Kanals einen möglichen Kompensationsmechanismus zur Aufrechterhaltung des Blutdrucks darstellen. Andererseits sprechen die Ergebnisse von M. von der Forst nicht für eine Volumenexpansion der TMEM16A KO-Tiere unter *Normkalium/Hochsalz-Diät*. Er konnte unter Anwendung der Evans-Blue-Methode keinen Volumenunterschied zwischen WT und KO nachweisen (Von-der-Forst 2017). Allerdings könnte dies eventuell auch auf die niedrige Sensitivität dieser Methode zurückzuführen sein. Neben einer Plasmavolumenexpansion könnte dem niedrigeren Hct. der KO-Tiere auch noch andere Ursachen zugrunde liegen, z.B. eine erniedrigte Erythropoese. Jedoch gibt es darauf bisher keine bekannten Hinweise.

Außerdem ließ sich am Ende der *Hochkalium/Hochsalz-Diät* (Tab. 5) in der *KCitrat-Gruppe* ein Abfall der Cl⁻-Plasmakonzentration gegenüber der *Normkalium/Hochsalz-Diät* (Tab. 4) beobachten. Dies könnte einen Erklärungsansatz für den plötzlichen Druckabfall in den KO-Tieren bzw. für die Unfähigkeit den Druck adäquat aufrecht zu erhalten, liefern. Ein Abfall in der extrazellulären Cl⁻-Plasmakonzentration würde die Wahrscheinlichkeit für einen Cl⁻-Ausstrom und somit für eine Depolarisation der Zelle erhöhen. Da dieser Cl⁻-Strom durch den fehlenden TMEM16A im KO-Tier eingeschränkt wäre, würde eine Depolarisation weniger wahrscheinlich. Im WT-Tier könnte es allerdings eher zu einer Zelldepolarisation und damit zu einer Erhöhung des TPRs kommen.

Unklar ist jedoch, warum diese TPR-Erhöhung nicht zu einem Blutdruckanstieg im WT, sondern nur zu einem Blutdruckabfall im KO führt. Dies könnte möglicherweise auf den

KCitrat-Diät bedingten Anstieg der Bikarbonat-Konzentration im Blut zurückzuführen sein. Es ist bekannt, dass eine Steigerung der Bikarbonat-Konzentration im Blut zur Hemmung des NHE3 und auch NHE1 führt (Alpern et al. 1995; Laghmani et al. 1997; Good et al. 2011). Diese beiden renalen Na^+/H^+ -Austauscher spielen nicht nur eine wichtige Rolle im Säure/Base-Haushalt, sondern sind auch wesentlich an der renalen Na^+ -Resorption beteiligt. Somit könnte eine durch die *KCitrat-Diät* bedingte Hemmung des NHE3 und NHE1 zu einer vermehrten Natriurese und folglich zu einer Blutvolumen-Reduktion und einem Blutdruck-Abfall führen. Da im KO-Tier die Erhöhung des TPR als möglicher Mechanismus zur Kompensation des Volumenverlusts erschwert ist, könnte dies den Blutdruckabfall erklären.

Des Weiteren führt eine Alkalose physiologischer Weise zu einer Zelldepolarisation der Gefäßmuskelzelle, sprich zu einer Vasokonstriktion. Es wäre zu hinterfragen, ob diese durch den KO eingeschränkt ist und somit nicht bzw. nicht ausschlaggebend zur Geltung kommt.

Die Veränderung des Säure-Base-Status, der Elektrolytkonzentration und des Hämatokrits, die Aktivität der renalen Transporter, des RAAS und des autonomen Nervensystems unmittelbar nach dem Wechsel von *Normalkalium/Hochsalz-Diät* auf *Hochkalium/Hochsalz-Diät* zu untersuchen, wären wichtige nächste Schritte, um die vermuteten Mechanismen zu prüfen und möglicherweise weiter zu verfolgen.

Des Weiteren wurden die KO-Tiere der *KCitrat-Gruppe* mit den KO-Tieren der *KCl-Gruppe* verglichen (Tab. 6 und 7 in 3.3.2.2.). In der *KCl-Gruppe* hatte sich bei Diätwechsel auf die *Hochkalium/Hochsalz-Diät*, wie oben beschrieben, kein initialer Blutdruckabfall gezeigt (Abb.18). Im Gegensatz zu den KO-Tieren der *KCitrat-Gruppe* fiel hier die Cl^- -Plasmakonzentration nicht stark ab und unterschied sich damit signifikant von der Cl^- -Plasmakonzentration der *KCitrat-Gruppe*. Dies bestärkt den Verdacht, dass der Einbruch des DAP in der *KCitrat-Gruppe* mit dem Absinken der Cl^- -Plasmakonzentration zusammenhängt, da das Absinken in der *KCl-Gruppe* nicht zu beobachten ist.

Neben der hierdurch möglicherweise eingeschränkten TPR-Regulation könnte auch bzw. zusätzlich eine erhöhte Cl^- -Exkretion in der *KCitrat-Gruppe* für den schnellen Druckabfall verantwortlich sein. Shiwarski et al. konnten in einem ähnlichen Versuch wie diesem für die *KCitrat-Gruppe* bzw. für die „high K^+ basic“ Gruppe eine signifikant höhere Na^+ -Ausscheidung nachweisen als für die *KCl-Gruppe* (Boyd-Shiwarski et al.

2020). Da die Cl^- - und Na^+ -Ausscheidung häufig miteinander korrelieren, könnte dies auf eine weitere Ursache für den Blutdruckabfall hinweisen. Allerdings sollte an dieser Stelle noch einmal betont werden, dass es der DAP war, der signifikant abfiel. Dies spricht vor allem für einen Blutdruckabfall aufgrund eines Regulationsunterschiedes im TPR.

5. Zusammenfassung

In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass eine sehr hohe K⁺-Zufuhr zum Anstieg des arteriellen Blutdrucks führen kann. (Vitzthum et al. 2014; Böttcher 2016; Marx 2019). Ursachen dafür blieben jedoch unklar. In der vorliegenden Arbeit wurde daher die Rolle des epithelialen Natriumkanals ENaC weiter untersucht, die Auswirkungen spezieller Kalium Diäten auf die Herzfunktion mit Hilfe der Echokardiographie untersucht und außerdem der Frage nach einer möglichen Beteiligung der Gefäße mit Hilfe eines gefäßspezifischen TMEM16A-KO-Mausmodells nachgegangen.

In allen Versuchen erhielten die Mäuse eine spezielle *KCl-Diät* oder eine *KCitrat-Diät* in Kombination mit einer *Hochsalz-Diät*. Es wurden entweder C57bl6-Wildtyp-Mäuse oder Sv126- Mäuse, die einen induzierbaren, gefäßspezifischen TMEM16A knockout aufwiesen, verwendet (TMEM16A WT- und KO).

Übereinstimmend mit früheren Befunden, zeigten die C57bl6 Tiere in der *KCl-* und der *KCitrat-Gruppe* einen Anstieg des Blutdrucks unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät*. In der *KCitrat-Gruppe* war auch die Herzfrequenz (HF) unter Diät signifikant erhöht. Durch die Gabe des ENaC Blockers Amilorid konnte in keiner Gruppe der Blutdruck normalisiert werden. Die Echokardiografie zeigte für die *KCl-Gruppe* eine signifikante Zunahme der Ejektionsfraktion (EF) und eine signifikante Abnahme des endsystolischen Volumens (ESV). In der *KCitrat-Gruppe* konnten mittels Echokardiografie keine signifikanten Effekte gezeigt werden. Die TMEM16A WT- und KO-Tiere zeigten zwar einen Anstieg des Blutdrucks unter *Normalkalium/Hochsalz-Diät*, jedoch keine weitere Erhöhung des Druckes unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät*. Bei Wechsel auf die *Hochkalium/Hochsalz-Diät* wurde nur bei den TMEM16A KO-Tieren der *KCitrat-Gruppe* ein signifikanter initialer Einbruch des diastolischen Blutdrucks (DAP) beobachtet. Die TMEM16A KO-Tiere der *KCl-Gruppe* zeigten diesen Abfall nicht.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich folgern, dass eine vermehrte Aktivierung des ENaC nicht die Ursache für den beobachteten Blutdruckanstieg zu sein scheint. Die Veränderung der HF und der EF deuten auf eine vermehrte Sympathikus- oder verminderte Parasympathikus Aktivität unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* hin und könnten ein Hinweis auf die Ursache für den Blutdruckanstieg sein. Auch scheinen die verwendeten Anionen - Chlorid und Citrat - einen unterschiedlichen Einfluss auf die Blutdruckregulation zu nehmen.

5.1. Summary

Earlier research has shown, that a very high intake of potassium can lead to an increase in arterial blood pressure (Vitzthum et al. 2014; Böttcher 2016; Marx 2019). However, the reasons for this remained unclear. In the present work, the role of the epithelial sodium channel ENaC was further investigated, the effects of special potassium diets on cardiac function were investigated using echocardiography, and the question of a possible involvement of the vessels was investigated using a vessel-specific TMEM16A-knockout mouse model.

In all experiments, the mice received a special potassium chloride diet (*KCl-diet*) or a potassium citrate diet (*Kcitrate-diet*) in combination with a *high-salt-diet*. Either C57bl6 wild-type mice or Sv126 mice were used, the latter having an inducible, vessel-specific TMEM16A knockout (TMEM16A WT and KO).

Consistent with previous findings, the C57bl6 animals in the *KCl*- and *Kcitrate*-groups showed an increase in blood pressure on the *high-potassium/high-salt diet*. The heart rate also significantly increased under diet in the *Kcitrate*-group. The administration of the ENaC blocker amiloride did not normalize the blood pressure in any group. Echocardiography showed a significant increase in ejection fraction and a significant decrease in end-systolic volume for the *KCl*-group. No significant effects could be shown in the *Kcitrate*-group by means of echocardiography. The TMEM16A WT and KO animals showed an increase in blood pressure on a *normal-potassium/high-salt diet* but no further increase in pressure on a *high-potassium/high-salt diet*. When switching to the *high-potassium/high-salt diet*, a significant initial drop in diastolic blood pressure was only observed in the TMEM16A KO animals of the *Kcitrate*-group. The TMEM16A KO animals of the *KCl*-group did not show this decrease.

From these results it can be concluded that increased activation of the ENaC does not appear to be the cause of the observed rise in blood pressure. The changes in heart rate and ejection fraction indicate increased sympathetic or reduced parasympathetic activity under a *high-potassium/high-salt diet* and could be an indication of the cause of the rise in blood pressure. Also the anions used - chloride and citrate - seem to have a different influence on blood pressure regulation.

6. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-converting-enzyme
ACTH	Adrenokortikotrope Hormon
ADH	antidiuretisches Hormon
AE	anion exchanger; Chlorid/Hydrogencarbonat-Austauscher
ANP	atriales natriuretisches Peptid
ATP	Adenosintriphosphat
AT1R	Angiotensin-1-Rezeptor
BGA	Blut-Gas-Analyse
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
Ca ²⁺	Calcium
CaCC	Ca ²⁺ - aktivierte Cl ⁻ -Kanal
CAM	Calmodulin-abhängige Kinase
°C	Grad Celsius
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CIC3	Volumen-sensitiver Cl ⁻ -Kanal
Cl ⁻	Chlorid
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
Crea	Kreatinin
DASH	Dietary Approach to Stop Hypertension
DAP	Diastolischer Arterieller Druck
E	Gleichgewichtspotenzial
EDHF	Endothelium-derived hyperpolarizing factor
EDV	Enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion
ENaC	epithelialer Natriumkanal
ESV	Endsystolisches Volumen
EZV	effektiv zirkulierendes Volumen
F	Faraday-Konstante
≥	größer gleich
g	Gramm

GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GPER	G-Protein-Östrogen-Rezeptor
HF	Herzfrequenz
H ₂ O	Wasser
H ⁺	Proton
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
Hg	Quecksilber
Hct	Hämatokrit
HZV	Herzzeitvolumen
K ⁺	Kalium
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
Lac	Lactat
MAP	mittlerer arterieller Blutdruck
min	Minute
mg	Miligramm
Mg ²⁺	Magnesium
ml	Mililiter
MLC	Myosinleichtkette
mm	Milimeter
mmHg	Milimeter Quecksilber
mmol	Milimol
MR	Mineralocorticoid-Rezeptor
mV	Milivolt
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
n	Anzahl
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid; Kochsalz
NCC	Natrium-Chlorid-CoTransporter
NHE1	Sodium-Hydrogen-Antiporter 1
NHE3	Sodium-Hydrogen-Antiporter 3
NKCC	Na ⁺ -K ⁺ -2Cl ⁻ -Transporter

NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
OH ⁻	Hydroxidion
p	Signifikantsniveau
P _a	Druck
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
pH	potentia Hydrogenii
R	allgemeine Gaskonstante
r	Gefäßradius
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROMK	renal outer medullary potassium channel
SAP	Systolischer Arterieller Druck
SBC	Standardbikarbonat
SBE	Standard base Excess
SEM	standard error of the mean;
SGK1	Serum- und Glucocorticoid-regulierte Kinase 1
SV	Herzschlagvolumen
T	absolute Temperatur
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TGF	tubuloglomerulärer Feedback-Mechanismus
TMEM16A	transmembrane protein 16A
TPR	total peripheral resistance; totaler peripherer Widerstand
V	Blutvolumen
VSMC	vascular smooth muscle cell; glatte Gefäßmuskelzelle
WHO	World Health Organisation
WNK	With-No-Lysine Kinase
[x]	Konzentration des Stoffes x
z	Ladungszahl
z.B.	zum Beispiel
ZVD	zentral venöser Druck
%	Prozent

7. Literaturverzeichnis

- Abularrage, Christopher J.; Sidawy, Anton N.; Aidinian, Gilbert; Singh, Niten; Weiswasser, Jonathan M.; Arora, Subodh (2005): Evaluation of the microcirculation in vascular disease. In: *Journal of vascular surgery* 42 (3), S. 574–581.
- Addison (1928): The use of sodium chloride, potassium chloride, sodium bromide, and potassium bromide in cases of arterial hypertension which are amenable to potassium chloride. In: *Canadian Medical Association Journal*.
- Aickin, C. C.; Vermuë, N. A. (1983): Microelectrode measurement of intracellular chloride activity in smooth muscle cells of guinea-pig ureter. In: *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 397 (1), S. 25–28.
- Alpern, R. J.; Moe, O. W.; Preisig, P. A. (1995): Chronic regulation of the proximal tubular Na/H antiporter: from HCO₃ to SRC. In: *Kidney international* 48 (5), S. 1386–1396.
- Appel, L. J.; Moore Thomas J.; Obarzanek Eva; Vollmer William M.; Svetkey Laura P.; Sacks Frank M. et al. (1997): A Clinical Trial of the Effects of Dietary Patterns on Blood Pressure. In: *The New England journal of medicine*.
- Argaiz, Eduardo R.; Gamba, Gerardo (2016): The regulation of Na⁺Cl⁻ cotransporter by with-no-lysine kinase 4. In: *Current opinion in nephrology and hypertension* 25 (5), S. 417–423.
- Arima, Shuji; Kohagura, Kentaro; Xu, Hong-Lan; Sugawara, Akira; Abe, Takaaki; Satoh, Fumitoshi et al. (2003): Nongenomic vascular action of aldosterone in the glomerular microcirculation. In: *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 14 (9), S. 2255–2263.
- Bakris, George; Nathan, Sandeep (2014): Renal denervation and left ventricular mass regression: a benefit beyond blood pressure reduction? In: *Journal of the American College of Cardiology* 63 (18), S. 1924–1925.
- Belz, G. G. (1995): Elastic properties and Windkessel function of the human aorta. In: *Cardiovascular drugs and therapy* 9 (1), S. 73–83.
- Böttcher, P. S. (2016): Einfluss des Kalium- und Säure-Basen-Haushaltes auf den Blutdruck; Dissertation Philine Sophie Böttcher.docx. Dissertation. Universität Hamburg. Online verfügbar unter <https://d-nb.info/111779802X/34>.
- Boyd-Shiwarski, Cary R.; Weaver, Claire J.; Beacham, Rebecca T.; Shiwarski, Daniel J.; Connolly, Kelly A.; Nkashama, Lubika J. et al. (2020): Effects of extreme potassium stress on blood pressure and renal tubular sodium transport. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 318 (6), F1341-F1356.
- Brack, Kieran E.; Coote, John H.; Ng, G. André (2004): Interaction between direct sympathetic and vagus nerve stimulation on heart rate in the isolated rabbit heart. In: *Experimental physiology* 89 (1), S. 128–139.
- Briet, Marie; Schiffrin, Ernesto L. (2013): Vascular actions of aldosterone. In: *Journal of vascular research* 50 (2), S. 89–99.
- Bulley, Simon; Jaggar, Jonathan H. (2014): Cl⁻ channels in smooth muscle cells. In: *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 466 (5), S. 861–872.

- Calhoun, David A.; Jones, Daniel; Textor, Stephen; Goff, David C.; Murphy, Timothy P.; Toto, Robert D. et al. (2008): Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. In: *Circulation* 117 (25), e510-26.
- Campese, V. M.; Romoff, M. S.; Levitan, D.; Saglikes, Y.; Friedler, R. M.; Massry, S. G. (1982): Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. In: *Kidney international* 21 (2), S. 371–378.
- Cannavo, Alessandro; Bencivenga, Leonardo; Liccardo, Daniela; Elia, Andrea; Marzano, Federica; Gambino, Giuseppina et al. (2018): Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor System in Cardiovascular Physiology and Pathophysiology. In: *Oxidative medicine and cellular longevity* 2018, S. 1204598.
- Chipperfield, A. R.; Harper, A. A. (2000): Chloride in smooth muscle. In: *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 74 (3-5), S. 175–221.
- Cruz-Rangel, Silvia; Jesús-Pérez, José J. de; Aréchiga-Figueroa, Iván A.; Rodríguez-Menchaca, Aldo A.; Pérez-Cornejo, Patricia; Hartzell, H. Criss; Arreola, Jorge (2017): Extracellular protons enable activation of the calcium-dependent chloride channel TMEM16A. In: *The Journal of physiology* 595 (5), S. 1515–1531. DOI: 10.1113/JP273111.
- Dahl et al. (1972): Influence of dietary potassium and sodium/potassium molar ratios on the development of salt hypertension. In: *Journal of Experimental Medicine*.
- Dam, Vibeke Secher; Boedtkjer, Donna M. B.; Aalkjaer, Christian; Matchkov, Vladimir (2014): The bestrophin- and TMEM16A-associated Ca(2+)- activated Cl(-) channels in vascular smooth muscles. In: *Channels* 8 (4), S. 361–369.
- D'Elia, Lanfranco; Galletti, Ferruccio; La Fata, Ersilia; Sabino, Paola; Strazzullo, Pasquale (2018): Effect of dietary sodium restriction on arterial stiffness: systematic review and meta-analysis of the randomized controlled trials. In: *Journal of hypertension* 36 (4), S. 734–743.
- Di Rienzo, M.; Gianfranco Parati; Paolo Castiglioni; Roberto Tordi; Giuseppe Mancia; and Antonio Pedotti (2001): Baroreflex effectiveness index: an additional measure of baroreflex control of heart rate in daily life. In: *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 280 (3), R744-51.
- Doroszkowski, Adrian; Janus, Agnieszka; Szahidewicz-Krupska, Ewa; Mazur, Grzegorz; Derkacz, Arkadiusz (2016): Resistant Hypertension. In: *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University* 25 (1), S. 173–183.
- Ehmke, Heimo (Hg.) (2014): 'Das Kreislaufsystem' In 'Physiologie'. 7. Auflage, Thieme Verlag, 214-265. Kurtz, A. (Hrg.); Pape, H.-C. (Hrg.); Klinker, R. (Hrg.); Silbernagl, S. (Hrg.).
- Elliott, William J. (2007): Systemic hypertension. In: *Current problems in cardiology* 32 (4), S. 201–259.
- Ewald, Jan Aaron (2020): Wie beeinflussen kaliumreiche Diäten den arteriellen Blutdruck des Menschen? Studienarbeit. Universität Hamburg, Hamburg. UKE, Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie.
- Fagard, Robert H.; Cornelissen, Véronique A. (2007): Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients. In: *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on*

Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology 14 (1), S. 12–17.

Feldman, Ross D.; Gros, Robert (2013): Vascular effects of aldosterone: sorting out the receptors and the ligands. In: *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 40 (12), S. 916–921.

Frindt, Gustavo; Palmer, Lawrence G. (2010): Effects of dietary K on cell-surface expression of renal ion channels and transporters. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 299 (4), F890-7.

Fujita et al. (1983): Role of sympathetic nerve activity and natriuresis in the antihypertensive actions of potassium in NaCl hypertension. In: *Japanese circulation journal* 47 (10), S. 1227–1231.

Gao, Shumin; Ho, David; Vatner, Dorothy E.; Vatner, Stephen F. (2011): Echocardiography in Mice. In: *Current protocols in mouse biology* 1, S. 71–83.

Garland, Christopher J.; Hiley, C. Robin; Dora, Kim A. (2011): EDHF: spreading the influence of the endothelium. In: *British journal of pharmacology* 164 (3), S. 839–852.

Ghadieh, A. S.; Saab, B. (2015): Evidence for exercise training in the management of hypertension in adults. In: *Canadian Family Physician* 61 (3), S. 233–239.

Gheorghe, Adrian; Griffiths, Ulla; Murphy, Adrianna; Legido-Quigley, Helena; Lamptey, Peter; Perel, Pablo (2018): The economic burden of cardiovascular disease and hypertension in low- and middle-income countries: a systematic review. In: *BMC public health* 18 (1), S. 975.

Good, David W.; George, Thampi; Watts, Bruns A. (2011): High sodium intake increases HCO₃⁻ absorption in medullary thick ascending limb through adaptations in basolateral and apical Na⁺/H⁺ exchangers. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 301 (2), F334-43.

Grillo, Andrea; Salvi, Lucia; Coruzzi, Paolo; Salvi, Paolo; Parati, Gianfranco (2019): Sodium Intake and Hypertension. In: *Nutrients* 11 (9).

Gritter, Martin; Rotmans, Joris I.; Hoorn, Ewout J. (2019): Role of Dietary K⁺ in Natriuresis, Blood Pressure Reduction, Cardiovascular Protection, and Renoprotection. In: *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)* 73 (1), S. 15–23.

Gros, Robert; Ding, Qingming; Liu, Bonan; Chorazyczewski, Jozef; Feldman, Ross D. (2013): Aldosterone mediates its rapid effects in vascular endothelial cells through GPER activation. In: *American journal of physiology. Cell physiology* 304 (6), C532-40.

Grossmann, Claudia; Benesic, Andreas; Krug, Alexander W.; Freudinger, Ruth; Mildenerger, Sigrid; Gassner, Birgit; Gekle, Michael (2005): Human mineralocorticoid receptor expression renders cells responsive for nongenotropic aldosterone actions. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 19 (7), S. 1697–1710.

Guyton, A. C. (1991): Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. In: *Science (New York, N.Y.)* 252 (5014), S. 1813–1816.

Hanukoglu, Israel; Hanukoglu, Aaron (2016): Epithelial sodium channel (ENaC) family: Phylogeny, structure-function, tissue distribution, and associated inherited diseases. In: *Gene* 579 (2), S. 95–132.

Hayhurst, R. A.; O'Neil, R. G. (1988): Time-dependent actions of aldosterone and amiloride on Na⁺-K⁺-ATPase of cortical collecting duct. In: *The American journal of physiology* 254 (5 Pt 2), F689-96.

He, F. J.; MacGregor, G. A. (2002): Effect of modest salt reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized trials. Implications for public health. In: *Journal of human hypertension* 16 (11), S. 761–770.

Heinze, Christoph; Seniuk, Anika; Sokolov, Maxim V.; Huebner, Antje K.; Klementowicz, Agnieszka E.; Sziójártó, István A. et al. (2014): Disruption of vascular Ca²⁺-activated chloride currents lowers blood pressure. In: *The Journal of clinical investigation* 124 (2), S. 675–686.

Hill, M. A.; Hui Zou; Simon J. Potocnik; Gerald A. Meininger; and Michael J. Davis (2001): Invited Review: Arteriolar smooth muscle mechanotransduction: Ca²⁺ signaling pathways underlying myogenic reactivity. In: *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 91 (2), S. 973–983.

Hübner, Christian A.; Schroeder, Björn C.; Ehmke, Heimo (2015): Regulation of vascular tone and arterial blood pressure: role of chloride transport in vascular smooth muscle. In: *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 467 (3), S. 605–614.

Intersalt Cooperative Research Group (1988): Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 297 (6644), S. 319–328.

Ivy, Jessica R.; Bailey, Matthew A. (2014): Pressure natriuresis and the renal control of arterial blood pressure. In: *The Journal of physiology* 592 (18), S. 3955–3967.

Jacob, Matthias; Chappell, Daniel; Becker, Bernhard F. (2016): Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation. In: *Critical care (London, England)* 20 (1), S. 319.

Jacob, R.; Dierberger, B.; Kissling, G. (1992): Functional significance of the Frank-Starling mechanism under physiological and pathophysiological conditions. In: *European heart journal* 13 Suppl E, S. 7–14.

Johannessen, K. A.; Manuel Cerqueira; Richard C. Veith, and John R. Stratton (1991): Influence of Sympathetic Stimulation and Parasympathetic Withdrawal on Doppler Echocardiographic Left Ventricular Diastolic Filling Velocities in Young Normal Subjects. In: *The American Journal of cardiology*.

Johnston, C. I.; P.G. Hodsman; M.Kohzuki; D.J. Casley; M. Appl; B. Fabris; P.A. Phillips (1989): Interaction between Atrial Natriuretic Peptide and the Renin Angiotensin Aldosterone System. In: *The American Journal of Medicine* 87 (6), S. 24–28.

Jose, A. D. (1966): Effect of Combined Sympathetic and Parasympathetic Blockade on Heart Rate and Cardiac Function in Man. In: *The American Journal of cardiology*.

Kelbaek, H.; J. Marving; K Hvid-Jacobsen; S.L. Nielsen (1991): Effects of atropine on left ventricular volumes and ejection and filling rates at rest and during exercise. In: *British journal of clinical pharmacology* 32 (5), S. 585–589.

Kesteloot, Hugo; Geboers, Jozef (1982): CALCIUM AND BLOOD PRESSURE. In: *The Lancet* 319 (8276), S. 813–815.

Kitamura, K.; Yamazaki, J. (2001): Chloride channels and their functional roles in smooth muscle tone in the vasculature. In: *Japanese journal of pharmacology* 85 (4), S. 351–357.

- Kobirumaki-Shimozawa, Fuyu; Inoue, Takahiro; Shintani, Seine A.; Oyama, Kotaro; Terui, Takako; Minamisawa, Susumu et al. (2014): Cardiac thin filament regulation and the Frank-Starling mechanism. In: *The journal of physiological sciences : JPS* 64 (4), S. 221–232.
- Kontos, H. A.; M.D. Thames; A. Lombana; C.O. Watlington; and F. Jessee; Jr (1971): Vasodilator effects of local hypercapnic acidosis in dog skeletal muscle. In: *The American journal of physiology* 220 (6), S. 1569–1572.
- Korbmacher, C. (Hg.) (2014): Physiologie. Funktion und Interaktion von Zellen. Unter Mitarbeit von Kurtz, A. (Hrg.), Pape, H.-C. (Hrg.), Klinke, R. (Hrg.) und S. (Hrg.). Silbernaagl. 7. Auflage: Thieme Verlag.
- Krum, Henry; Markus Schlaich; Rob Whitbourn; Paul A Sobotka; Jerzy Sadowski; Krzysztof Bartus et al. (2009): Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. In: *The Lancet* 373 (9671), S. 1275–1281.
- Kurtz, Theodore W.; DiCarlo, Stephen E.; Pravenec, Michal; Morris, R. Curtis (2017): The American Heart Association Scientific Statement on salt sensitivity of blood pressure: Prompting consideration of alternative conceptual frameworks for the pathogenesis of salt sensitivity? In: *Journal of hypertension* 35 (11), S. 2214–2225.
- Laghmani; Pascale Borensztein; Patrice Ambühl; Marc Froissart; Maurice Bichara; Orson W. Moe; Robert J. Alpern and Michel Paillard (1997): Chronic Metabolic Acidosis Enhances NHE-3 Protein Abundance and Transport Activity in the Rat Thick Ascending Limb by Increasing NHE-3 mRNA. In: *The Journal of clinical investigation* 99 (1), S. 24–30.
- Large, W. A.; Wang, Q. (1996): Characteristics and physiological role of the Ca(2+)-activated Cl⁻ conductance in smooth muscle. In: *The American journal of physiology* 271 (2 Pt 1), C435-54.
- Marx, Christian Johannes (2019): Die Rolle von Aldosteron und Volumenexpansion beim Blutdruckanstieg unter hoch Kalium-/Natrium-Diät. Dissertation. Universität Hamburg, Hamburg. UKE.
- McKenna, T. J.; Donald P. Island; Wendell E. Nicholson; Grant W. Liddle (1978): The Effects of Potassium on Early and Late Steps in Aldosterone Biosynthesis in Cells of the Zona Glomerulosa. In: *Endocrinology* 103 (104), S. 1411–1416.
- Meneely, George R.; Ball, Con O.T. (1958): Experimental epidemiology of chronic sodium chloride toxicity and the protective effect of potassium chloride. In: *The American Journal of Medicine* 25 (5), S. 713–725.
- Moore, Latetia V.; Hamner, Heather C.; Kim, Sonia A.; Dalenius, Karen (2016): Common ways Americans are incorporating fruits and vegetables into their diet: intake patterns by meal, source and form, National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010. In: *Public health nutrition* 19 (14), S. 2535–2539.
- Neild, T. O.; Keef, K. (1985): Measurements of the membrane potential of arterial smooth muscle in anesthetized animals and its relationship to changes in artery diameter. In: *Microvascular Research* 30 (1), S. 19–28.
- Nelson, M. T.; Patlak, J. B.; Worley, J. F.; Standen, N. B. (1990): Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone. In: *The American journal of physiology* 259 (1 Pt 1), C3-18.

- Nogueira, Edson F.; Rainey, William E. (2010): Regulation of aldosterone synthase by activator transcription factor/cAMP response element-binding protein family members. In: *Endocrinology* 151 (3), S. 1060–1070.
- Nomura, Naohiro; Shoda, Wakana; Uchida, Shinichi (2019): Clinical importance of potassium intake and molecular mechanism of potassium regulation. In: *Clinical and experimental nephrology* 23 (10), S. 1175–1180.
- Odegaard, Andrew O.; Koh, Woon Puay; Yuan, Jian-Min; Gross, Myron D.; Pereira, Mark A. (2012): Western-style fast food intake and cardiometabolic risk in an Eastern country. In: *Circulation* 126 (2), S. 182–188.
- Odermatt, Alex; Kratschmar, Denise V. (2012): Tissue-specific modulation of mineralocorticoid receptor function by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: an overview. In: *Molecular and cellular endocrinology* 350 (2), S. 168–186.
- Oliveras, A.; La Sierra, A. de (2014): Resistant hypertension: patient characteristics, risk factors, co-morbidities and outcomes. In: *Journal of human hypertension* 28 (4), S. 213–217.
- Owen, Nancy E. (1984): Regulation of Na/K/Cl cotransport in vascular smooth muscle cells. In: *Biochemical and biophysical research communications* 125 (2), S. 500–508.
- Pan, An; Malik, Vasanti S.; Hu, Frank B. (2012): Exporting diabetes mellitus to Asia: the impact of Western-style fast food. In: *Circulation* 126 (2), S. 163–165.
- Peng, H. L.; A. Ivarsen; H. Nilsson; C. Aalkjaer (1998): On the cellular mechanism for the effect of acidosis on vascular tone. In: *Acta physiologica Scandinavica* 164 (4), S. 517–525.
- Penton, David; Czogalla, Jan; Loffing, Johannes (2015): Dietary potassium and the renal control of salt balance and blood pressure. In: *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 467 (3), S. 513–530.
- Pitkow, S. Howard (1997): PHYSIOLOGY OF CIRCULATION. In: *Journal of the Pennsylvania Academy of Science* 70 (3), S. 126–136. Online verfügbar unter <https://www.jstor.org/stable/44149192>.
- Pivonello, Rosario; Ferone, Diego; Lombardi, Gaetano; Colao, Annamaria; Lamberts, Steven W. J.; Hofland, Leo J. (2007): Novel insights in dopamine receptor physiology. In: *European journal of endocrinology* 156 (1), S13-21.
- Quinn, S. J.; Williams, G. H. (1988): Regulation of Aldosterone Secretion. In: *Annual review of physiology* 50, S. 409–426.
- Rainforth et al. (2007): Stress Reduction Programs in Patients with Elevated Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-analysis. In: *Current hypertension reports* 9 (6), S. 520–528.
- RKI (2008): Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Online verfügbar unter https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDo wnloadsT/gewalt.pdf?__blob=publicationFile.
- RKI (2015): Epidemiologisches Bulletin. Robert Koch Institut. Online verfügbar unter https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2015/Ausgaben/05_15.pdf?__blob=publicationFile.
- Rogerson, Fraser M.; Fuller, Peter J. (2000): Mineralocorticoid action. In: *Steroids* 65 (2), S. 61–73.

Romagnì, Paola; Rossi, Fabio; Guerrini, Lara; Quirini, Chiara; Santemma, Vittorio (2003): Aldosterone induces contraction of the resistance arteries in man. In: *Atherosclerosis* 166 (2), S. 345–349.

Sacks, F. M. (1995): Rationale and Design of the Dietary Approaches to Stop Hypertension A Multicenter Trial Rationale and Design of the Dietary Approaches to Stop Hypertension Trial (DASH) A Multicenter Controlled-Feeding Study of Dietary Patterns to Lower Blood Pressure Study of Dietary Patterns. In: *Annals of epidemiology* 5 (2), S. 108–118.

Sacks, F. M.; Svetkey Laura P.; Vollmer William M.; Appel Lawrence J.; Bray George A.; Harsha David et al. (2001): Effects on Blood Pressure of Reduced Dietary Sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Diet. In: *The New England journal of medicine* 344 (1), S. 3–10.

Schafer, James A. (2004): Renal water reabsorption: a physiologic retrospective in a molecular era. In: *Kidney international. Supplement* (91), S20-7.

Schrader, J. (Hg.) (2014): 'Das Herz' In 'Physiologie'. 7. Auflage, Thieme Verlag, 134 - 170. Kurtz, A. (Hrg.); Pape, H.-C. (Hrg.); Klinke, R. (Hrg.); Silbernagl, S. (Hrg.).

Scribner, H.; K. Fremont-Smith; J.M. Burnell (1955): The effect of acute respiratory acidosis on the internal equilibrium of potassium. In: *The Journal of clinical investigation* 34 (8), S. 1276–1285.

Shafiq, M. M.; Miller, A. B. (2009): Blocking aldosterone in heart failure. In: *Therapeutic advances in cardiovascular disease* 3 (5), S. 379–385.

Steptoe, Andrew; Brydon, Lena; Kunz-Ebrecht, Sabine (2005): Changes in financial strain over three years, ambulatory blood pressure, and cortisol responses to awakening. In: *Psychosomatic medicine* 67 (2), S. 281–287.

Stratton, J. R.; Pfeifer, M. A.; Ritchie, J. L.; Halter, J. B. (1985): Hemodynamic effects of epinephrine: concentration-effect study in humans. In: *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 58 (4), S. 1199–1206.

Sun, Yong; Byon, Chang Hyun; Yang, Youfeng; Bradley, Wayne E.; Dell'Italia, Louis J.; Sanders, Paul W. et al. (2017): Dietary potassium regulates vascular calcification and arterial stiffness. In: *JCI insight* 2 (19).

Ukena, Christian; Mahfoud, Felix; Ewen, Sebastian; Cremers, Bodo; Laufs, Ulrich; Böhm, Michael (2013): Renal denervation in the treatment of hypertension. In: *Current hypertension reports* 15 (4), S. 363–369.

Vallon, Volker; Schroth, Jana; Lang, Florian; Kuhl, Dietmar; Uchida, Shinichi (2009): Expression and phosphorylation of the Na⁺-Cl⁻ cotransporter NCC in vivo is regulated by dietary salt, potassium, and SGK1. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 297 (3), F704-12.

van der Lubbe, Nils; Moes, Arthur D.; Rosenbaek, Lena L.; Schoep, Sharon; Meima, Marcel E.; Danser, Alexander H. J. et al. (2013): K⁺-induced natriuresis is preserved during Na⁺ depletion and accompanied by inhibition of the Na⁺-Cl⁻ cotransporter. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 305 (8), F1177-88.

Vitzthum, Helga; Seniuk, Anika; Schulte, Laura Helene; Müller, Maxie Luise; Hetz, Hannah; Ehmke, Heimo (2014): Functional coupling of renal K⁺ and Na⁺ handling causes high blood pressure in Na⁺ replete mice. In: *The Journal of physiology* 592 (5), S. 1139–1157.

- Von-der-Forst, M. (2017): Die Relevanz des vaskulären TMEM16A für die Blutdruckregulation bei kreislaufwirksamen Bedingungen. Dissertation. Universität Hamburg, Hamburg. UKE.
- Wang, Guijing; Fang, Jing; Ayala, Carma (2014): Hypertension-associated hospitalizations and costs in the United States, 1979-2006. In: *Blood pressure* 23 (2), S. 126–133.
- Wehling, M.; Spes, C. H.; Win, N.; Janson, C. P.; Schmidt, B. M.; Theisen, K.; Christ, M. (1998): Rapid cardiovascular action of aldosterone in man. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 83 (10), S. 3517–3522.
- Weinberger, M. H. (1996): Salt sensitivity of blood pressure in humans. In: *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)* 27 (3 Pt 2), S. 481–490.
- WHO (2015): https://www.who.int/health-topics/hypertension#tab=tab_1. World Health Organization.
- Williams, Bryan; Mancia, Giuseppe; Spiering, Wilko; Agabiti Rosei, Enrico; Azizi, Michel; Burnier, Michel et al. (2018): 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. In: *European heart journal* 39 (33), S. 3021–3104.
- Woodcock, E. A.; Mcleod, J. K.; Johnston, C. I. (1986): Vasopressin stimulates phosphatidylinositol turnover and aldosterone synthesis in rat adrenal glomerulosa cells: comparison with angiotensin II. In: *Endocrinology* 118 (6), S. 2432–2436.
- Young, Morag J.; Moussa, Leon; Dilley, Rod; Funder, John W. (2003): Early inflammatory responses in experimental cardiac hypertrophy and fibrosis: effects of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inactivation. In: *Endocrinology* 144 (3), S. 1121–1125.
- Zheng, Wen-Ling; Wang, Jing; Mu, Jian-Jun; Liu, Fu-Qiang; Yuan, Zu-Yi; Wang, Yang et al. (2016): Effects of salt intake and potassium supplementation on reninase expression in the kidneys of Dahl salt-sensitive rats. In: *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)* 241 (4), S. 382–386.
- Zhou et al. (2000): Potassium Augments Vascular Relaxation Mediated by Nitric Oxide in the Carotid Arteries of Hypertensive Dahl Rats. In: *American journal of Hypertension* 13 (6), S. 666–672.

8. Danksagung

Ich danke meiner Familie, meinen Freunden, Dr. Helga Vitzthum, der Betreuerin dieser Arbeit, und Prof. Heimo Ehmke, meinem Doktorvater, für all ihre Unterstützung. Außerdem danke ich Peter Bassalay für seine technische Unterstützung und Dr. Annika Seniuk für die Durchführung der *Telemetrie OPs*.

9. Lebenslauf

Jan Aaron Ewald

Bramfelder Chaussee 81
22177 Hamburg
Mobil: +49 (0) 176 9766 3993
E-Mail: Jan-ewald@gmx.de

Persönliches

Geboren am 05.02.1992 in Hamburg
Verheiratet
Vier Geschwister (1983,1985,1989,1992)

Schulische und akademische Ausbildung

ab 01/2019

Promotion

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Zelluläre und Integrative Physiologie

- Betreuung durch Dr. rer. nat. H. Vitzthum und Prof. Dr. med. H. Ehmke
- Thema der Dissertation: „Ursachen für den Blutdruckanstieg unter *Hochkalium/Hochsalz-Diät* und die Rolle des Anions“

10/2014 – 05/2022

Universität Hamburg

Studium der Humanmedizin

- Famulatur in der Hausarztpraxis für Allgemeinmedizin, Akupunktur und Homöopathie bei Dr. Gesine Hoeft
- Famulatur an der Klinik für Kardiologie mit Schwerpunkt Elektrophysiologie am UKE, Station H5a
- Famulatur an der Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie im UKE auf der Akutstation
- Famulatur im Krankenhaus „Diospi Suyana“ in Peru in den Bereichen Ambulanz und OP
- Famulatur im Krankenhaus „Kijabe Mission Hospital“ in Kenia in den Bereichen Anästhesie und Ambulanz
- Kurzeinsatz mit „Ärzte für Afrika“ in Akwatia, Ghana im Bereich Urologie
- Wahlpflichtbereich: Second-Track „Klinische Elektrophysiologie“
- Praktisches Jahr in der Anästhesiologie im Diakonieklinikum Rotenburg, in der Inneren Medizin im Elbeklinikum Stade und in der Chirurgie in der Klinik Itzehoe
- Gesamtnote: „gut“

08/1998 – 06/2011

August-Hermann-Francke-Schule

- Abschluss: Abitur
- Gesamtnote: 1,9

Aus- und Weiterbildungen

09/2012 – 03/2015

Ausbildung zum Rettungsassistenten

- 09/2012 – 05/2013: Theoretischer Teil der Rettungsassistenten- und Rettungsassistentenausbildung bei MedEcole in Hamburg

- 08/2013 – 12/2013: zusätzlicher Führerschein Klasse C
- 01/2014 – 03/2015: Praktischer Teil der Rettungsassistentenausbildung beim Rettungsdienst Nordfriesland

Zusätzliches

Sprachen	Englisch (fließend), Spanisch (grundlegend)
EDV	Grundkenntnisse in MS Office, Excel, Open Office, Soarien Grundkenntnisse bei der Recherche in Pubmed und Cochrane

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: