

Aus der Medizinischen Klinik I

der Universität zu Lübeck

Kommissarischer Klinikdirektor: Prof. Dr. med. J. Steinhoff

**Auswirkung einer experimentellen Angiotensin II-induzierten Hypertonie auf
die Baroreflex-vermittelte Blutdruckregulation bei gesunden jungen Menschen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von

Isabel Wobbe

aus Hamburg

Lübeck, 2015

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Friedhelm Sayk
 2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. rer. physiol. Martin Tegtmeier
- Tag der mündlichen Prüfung: 15.03.2016**

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 15.03.2016
-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhalt

| | |
|---|----|
| Abkürzungsverzeichnis | 1 |
| 1. Einleitung und Fragestellung | 3 |
| 1.1 Allgemeine Einleitung | 3 |
| 1.2 Blutdruckphysiologie | 4 |
| 1.2.1 Blutdruck: Regulationsmechanismen | 5 |
| 1.2.2 Zirkadianes Blutdruckprofil | 6 |
| 1.3 Autonomes Nervensystem | 6 |
| 1.4 Muskuläre sympathische Nervenaktivität (MSNA) und Mikroneurographie | 7 |
| 1.5 Der Baroreflex | 8 |
| 1.6 Das Renin-Angiotensin-System (RAS) | 12 |
| 1.7 Angiotensin II und sympathisches Nervensystem: Zusammenspiel und Interaktion in der Kreislaufregulation | 13 |
| 1.8 Pulswellengeschwindigkeit, zentraler Blutdruck und Augmentationsindex | 14 |
| 1.9 Fragestellung | 16 |
| 2. Material und Methoden | 18 |
| 2.1 Studiendesign | 18 |
| 2.2 Probanden | 19 |
| 2.3 Apparative Messanordnungen | 20 |
| 2.3.1 Neurophysiologisches Labor | 20 |
| 2.3.2 Blutdruckmessung | 20 |
| 2.3.3 Pulswellengeschwindigkeit | 21 |
| 2.3.4 Pulmobelt® | 22 |
| 2.3.5 EKG | 22 |
| 2.3.6 Mikroneurographie zur Messung der muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA) | 22 |
| 2.3.7 Powerlab® | 25 |
| 2.4 Laborchemische Untersuchungen | 25 |
| 2.4.1 Sammelurin | 25 |

| | |
|---|----|
| 2.4.2 Blutuntersuchungen | 25 |
| 2.5 Durchführung der Versuche..... | 26 |
| 2.5.1 Präparation der Infusionslösung | 26 |
| 2.5.2 Ablauf der Versuchstage..... | 27 |
| 2.5.3 Mikroneurographie und pharmakogene Baroreflextestung | 29 |
| 2.6 Datenanalyse und Statistik..... | 31 |
| 3. Ergebnisse..... | 33 |
| 3.1 Eingeschlossene Probanden | 33 |
| 3.2 Oszillometrischer Blutdruck und Herzfrequenz | 33 |
| 3.3 Baroreflexuntersuchung | 38 |
| 3.3.1 Baroreflex-Baselinemessung | 38 |
| 3.3.2 Baroreflextestung | 38 |
| 3.3.3 Baroreflex-Setpoint und -sensitivität | 39 |
| 3.4 Gefäßsteifigkeitsbestimmung: Pulswellengeschwindigkeit, aortaler Augmentationsindex und aortaler Pulsdruck | 44 |
| 3.4.1 Pulswellengeschwindigkeit..... | 44 |
| 3.4.2 Aortaler Augmentationsindex | 45 |
| 3.4.3 Aortaler Pulsdruck | 45 |
| 3.5 Laborergebnisse | 46 |
| 3.5.1 Blutwerte..... | 46 |
| 3.5.2 Sammelurin | 48 |
| 4. Diskussion | 49 |
| 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse | 49 |
| 4.2 Interpretation der Ergebnisse | 50 |
| 4.2.1 Ausgangsbedingung | 50 |
| 4.2.2 Infusionsperiode: Kontrollbedingung | 51 |
| 4.2.3 Infusionsperiode: Angiotensin II zur Erhöhung des Blutdrucks..... | 51 |
| 4.2.4 Infusionsperiode: Die Gefäßsteifigkeit wird nur vorübergehend durch Angiotensin II beeinflusst | 53 |

| | |
|---|----|
| 4.2.5 Infusionsperiode: Angiotensin II-vermittelte Wirkungen auf die Hormonregulation | 54 |
| 4.2.6 Baroreflextestung: Baseline-Messung | 55 |
| 4.2.7 Baroreflextestung: Unveränderte sympathische Nervenaktivität und unveränderte Baroreflexsensitivität nach Beenden der Angiotensinämie | 61 |
| 4.2.9 Ambulante Phase | 62 |
| 4.3 Stärken und Limitationen der Studie | 63 |
| 4.4 Klinischer Bezug und Ausblick | 64 |
| 4.5 Beantwortung der Fragestellung | 66 |
| 5. Zusammenfassung | 69 |
| 6. Literaturverzeichnis | 71 |
| 7. Danksagung | 80 |
| 8. Lebenslauf | 81 |
| 9. Poster | 83 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| ACE | Angiotensin-Konversions-Enzym |
| ACTH | Adrenokortikotropes Hormon |
| ADH | antidiuretisches Hormon |
| AG | Aktiengesellschaft |
| AIx | Augmentationsindex |
| AIx _{ao} | aortaler Augmentationsindex |
| Ang-II | Angiotensin II |
| ANOVA | Analysis of variance |
| ANP | atriales natriuretisches Hormon, Atriopeptin |
| AP | Pressure-Augmentation, Augmentationsdruck |
| AT ₁ | Bezeichnung für Angiotensin-II-Rezeptor, Subtyp 1 |
| AT ₂ | Bezeichnung für Angiotensin-II-Rezeptor, Subtyp 2 |
| ATP | Adenosin-Triphosphat |
| AV | atrioventrikular |
| BMI | Body Mass Index |
| BNP | brain natriuretic peptide |
| bzw. | beziehungsweise |
| C | Celsius |
| ca. | circa |
| cm | Zentimeter |
| CNP | c-type natriuretic peptide |
| CO ₂ | Kohlenstoffdioxid |
| DFG | Deutsche Forschungsgemeinschaft |
| d.h. | das heißt |
| EKG | Elektrokardiogramm |
| etc. | et cetera |
| GABA | Gamma-Aminobuttersäure |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| h | Stunde |
| HF | Herzfrequenz (min ⁻¹) |
| Hz | Hertz (sec ⁻¹) |
| kg | Kilogramm |
| kg/m ² | Kilogramm pro Quadratmeter |
| Kontrollbed. | Kontrollbedingung |
| l | Liter |
| MAD | Mittlerer arterieller Druck |
| mg | Milligramm |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|--|
| min | Minute |
| mind. | mindestens |
| Mio. | Millionen |
| ml | Milliliter |
| mm | Millimeter |
| mmHg | Millimeter Quecksilbersäule (Hg = Hydrargyrum) |
| mmol | Millimol |
| mosmol/kg | Osmotische Konzentration je Kilogramm |
| Mrd. | Milliarden |
| m/s | Meter pro Sekunde |
| ms | Millisekunde |
| MSNA | muskuläre sympathische Nervenaktivität (muscle sympathetic nerve activity) |
| mV | Millivolt |
| µg | Mikrogramm |
| µm | Mikrometer |
| n.s. | nicht signifikant |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NY | New York |
| OSAS | Obstruktives Schlafapnoesyndrom |
| p | Signifikanzniveau |
| pg | Picogramm |
| PWV | pulse wave velocity, Pulswellengeschwindigkeit |
| PWV _{ao} | aortale Pulswellengeschwindigkeit |
| RA(A)S | Renin-Angiotensin-(Aldosteron-)System |
| RIA | Radioimmun-Assay |
| RR | Riva-Rocci (Vorsatz zur Kennzeichnung von Blutdruckwerten) |
| s. | siehe |
| s.o. | siehe oben |
| s.u. | siehe unten |
| SEM | Standard error of mean (= Standardfehler des Mittelwerts) |
| SFB | Sonderforschungsbereich |
| SSNA | skin sympathetic nerve activity |
| SVR | systemic vascular resistance, Systemischer Gefäßwiderstand |
| U/min | Umdrehungen pro Minute |
| UKSH | Universitätsklinikum Schleswig-Holstein |
| vs. | versus |
| z.B. | zum Beispiel |
| ZNS | zentrales Nervensystem |
| ZVD | zentraler Venendruck |

1. Einleitung und Fragestellung

1.1 Allgemeine Einleitung

Die arterielle Hypertonie gehört zu den Volkskrankheiten, die aufgrund der durch sie entstehenden Endorganschäden mit einer enormen Morbidität und einer erhöhten Mortalität einhergeht. Die deutsche Hochdruckliga schätzt die Anzahl der an einer arteriellen Hypertonie erkrankten Patienten im Jahr 2014 in Deutschland auf rund 20-30 Millionen, von denen jeder zweite (rund 17,5 Mio.) nichts von seiner Erkrankung weiß (42). Erkrankt sind somit ca. 43,5% der deutschen Gesamtbevölkerung. Im Jahr 2012 waren laut statistischem Bundesamt in Deutschland rund 46% aller Todesfälle bedingt durch die Folgen von Erkrankungen des Herz-/Kreislaufsystems. Dieses Erkrankungsspektrum ist mit jährlichen Gesundheitskosten von 37 Mrd. Euro im Jahr 2008 am kostenintensivsten (43).

Dies zeigt, dass die arterielle Hypertonie eines der vordringlichsten Gesundheitsprobleme in den Industrienationen darstellt. Da die Erkrankung zumeist symptomlos verläuft, wird sie oft bis zum Auftreten von gefährlichen Komplikationen (makrovaskuläre Ereignisse sowie Erkrankungen aufgrund mikrovaskulärer Endorganschäden) nicht erkannt, obwohl sie leicht und nicht-invasiv zu diagnostizieren ist und zu ihrer Therapie gut wirksame Medikamente zur Verfügung stehen.

Angiotensin II ist ein endogener humoraler Vasokonstriktor, der im Rahmen einer Vielzahl von Hypertonus-Konstellationen erhöhte Spiegel in Blut und Zielgeweben zeigt. Angiotensin II ist sowohl über periphere als auch zentralnervöse Mechanismen an der Kreislaufregulation beteiligt. Das Hormon nimmt über seine direkte peripher gefäßverengende Wirkung hinaus Einfluss auf die vasokonstriktorische sympathische Nervenaktivität. Eine Überfunktion von Angiotensin II und seiner Wirkkaskade im Gehirn wird als zentraler Mechanismus bei der Entstehung einer Hypertonie angesehen (96) und viele Formen der arteriellen Hypertonie sind sowohl mit einem erhöhten humoralen Angiotensin II-Spiegel als auch mit einer gesteigerten sympathischen Nervenaktivität assoziiert. Eine Möglichkeit zur Therapie des Bluthochdruckes stellt die Blockade der Angiotensin II-Kaskade (s.u.) dar. Neben der direkten peripher vasodilatierenden Wirkung am arteriellen Gefäßsystem führt die Blockade der Angiotensin II-Kaskade zur Herunterregulierung des für den Baroreflex hinterlegten zentralnervösen Blutdruck-

Sollwertes (40). Ob die Baroreflex-modulierende Angiotensin II-Wirkung an die unmittelbare Wirkung erhöhter Hormonblutspiegel bzw. seiner Antagonisten gekoppelt ist, oder aber eine über die humorale Präsenz hinauswirkende und nachhaltige Verschiebung des Sollwertes auf ein höheres bzw. niedrigeres Blutdruckniveau resultiert, ist unklar.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob eine mehrstündige blutdruckwirksame Infusion von Angiotensin II bei normotensiven Probanden über seine Wirkhalbwertszeit von wenigen Sekunden hinaus eine längerfristige Veränderung des Blutdruckes, des Baroreflex-Setpoints oder der Baroreflex-Sensitivität bewirkt. Hierfür wurden kardiovaskuläre Parameter und die muskuläre sympathische Nervenaktivität während und nach einer sechsstündigen Angiotensin II-Infusion erfasst und mit einer Placebobedingung (sechsstündige isotonische Kochsalz-Infusion) verglichen.

Zum besseren Verständnis der komplexen physiologischen und pathophysiologischen Zusammenhänge soll auf den folgenden Seiten eine nähere Einführung in das Thema erfolgen.

1.2 Blutdruckphysiologie

Das Herz-Kreislauf-System ist die zentrale Voraussetzung für die Lebensvorgänge komplexer Organismen. Kontinuierlicher Blutfluss stellt die Versorgung der Zellen mit Sauerstoff und Substraten sicher und transportiert toxische Abfallprodukte aus den Geweben ab. Die Blutzirkulation in den einzelnen Organen wird von der Pumpleistung des Herzens und auf systemischer Ebene insbesondere durch den Tonus der arteriellen muskelstarken Widerstandsgefäße bestimmt. Aus diesen Parametern resultiert je nach Situation und Anforderungen ein bestimmter Blutdruck.

Die Funktionsweise des Herzens entspricht dem einer Druck-Saugpumpe, die rhythmisch zwischen Blutausschuss (Systole) und Ventrikelfüllung (Diastole) wechselt. Ein kontinuierlicher Blutstrom während der Füllungsphase des Herzens wird durch die Windkesselfunktion der elastischen herznahen Arterien gewährleistet. Der maximale Blutdruckwert wird während der Ventrikelsystole erreicht. Er dient als indirektes Maß für die Schlagkraft des Herzens und das Auswurfvolumen. Der minimale Blutdruckwert wird in der Diastole erreicht. Er wird hauptsächlich durch den totalen peripheren Widerstand in der Peripherie determiniert. Der arterielle Mitteldruck (MAD) berechnet sich als Mittel des Flächenintegrals, das durch die arterielle Druckpulscurve gebildet wird (49).

1.2.1 Blutdruck: Regulationsmechanismen

Um eine Anpassung des Kreislaufs an stetig wechselnde Perfusionsanforderungen zu erreichen, bedient sich der Körper einer Vielzahl synergistisch wirkender Mechanismen der Blutdruckregulation, die eine kurz-, mittel- oder langfristige Kreislaufmodulation ermöglichen (88). Dem vereinfachten kybernetischen Modell eines Regelkreises folgend stellt der Ist-Wert des Blutdrucks die Messgröße dar, die mit einem übergeordneten Sollwert (Setpoint) verglichen und über verschiedene Stellmechanismen zum Zielwert hin verändert wird. Die wesentlichen Stellgrößen der arteriellen Blutdruckregulation sind das Intravasalvolumen, der totale periphere Gefäßwiderstand und das Herzzeitvolumen. Lang-, mittel- und kurzfristige Regulationsmechanismen überlappen sich und interagieren miteinander.

Vereinfachend betrachtet erfolgt die langfristige Blutdruckregulation innerhalb von Stunden bis Tagen und wird hauptsächlich über eine Veränderung des Intravasalvolumens bewirkt. Zuständig hierfür sind Hormone, die der Regulation der Natrium- und Wasserausscheidung dienen: Natrium- und Wasserretention durch Aldosteron, das im Zuge der Renin-Angiotensin-Aldosteron-Kaskade aus der Nebennierenrinde sezerniert wird, Wasserretention durch Vasopressin (antidiuretisches Hormon, ADH), das aus der Neurohypophyse stammt, sowie die natriuretischen Peptide Atriopeptin (atriales natriuretisches Peptid, ANP), BNP (brain natriuretic peptide) und Typ C-natriuretisches Peptid (17, 51). Als Referenz zur längerfristigen Blutdruckregulation wird ein zentral definierter und abgespeicherter Setpoint vermutet (39).

Mittelfristige Regulationsmechanismen wirken innerhalb von Minuten bis Stunden. Haupteffektoren sind humorale Faktoren wie Endothelin und das Renin-Angiotensin-System (RAS, s.u.). Eine weitere Anpassung ist durch transkapilläre Flüssigkeitsverschiebungen von intra- nach extravasal und vice versa möglich. Insbesondere die Skelettmuskulatur besitzt eine hohe Kapazität für extrazelluläres Volumen und stellt damit einen potenten Volumenspeicher dar (88).

Der kurzfristigen Blutdruckregulation liegen insbesondere neuronale Mechanismen zugrunde, die innerhalb von Sekunden wirksam sind. Der Baroreflexbogen bewirkt eine schnelle, kontrollierte Gegenregulation bei kurzfristigen Veränderungen des Druckes in den herznahen Arterien (90). Darüber hinaus werden in den kreislaufregulierenden Zentren afferente Signale aus kardialen Dehnungsrezeptoren und arteriellen Chemosensoren verarbeitet, die der neurovegetativen Modulation des Blutdruckes dienen (86).

1.2.2 Zirkadianes Blutdruckprofil

Unabhängig von den kurzfristigen Schwankungen des arteriellen Blutdruckes, die der schnellen Anpassung an psychische und physische Anforderungen dienen, gibt es charakteristische Blutdruckschwankungen im Tagesverlauf, die in ihrer Gesamtheit als zirkadianes Blutdruckprofil bezeichnet werden (37, 104). Morgens nach dem Erwachen steigt der arterielle Blutdruck auf sein höchstes Niveau. Dieser Anstieg in den ersten zwei Stunden nach dem Aufwachen wird als „morning surge“ bezeichnet (46). Im weiteren Tagesverlauf fällt der Blutdruck zunächst ab, um dann am späten Nachmittag zu einem zweiten diskreten Gipfel erneut anzusteigen. Im Laufe der Abendstunden fällt der Blutdruck wieder ab. Mit dem Einschlafen sinkt der Blutdruck weiter und bleibt während der Nacht auf seinem niedrigsten Niveau (104). Sinkt der Blutdruck während des Schlafes um mehr als 10% unter den Tagesdurchschnittswert, spricht man von nächtlichem Blutdruck-Dipping (33). Es handelt sich um einen physiologischen Vorgang. Eine Abschwächung des Dippings, bzw. ein Non-Dipping ist mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität assoziiert (18, 74). Dem nächtlichen Blutdruck-Dipping liegt eine Reduktion der vasokonstriktorischen Sympathikusaktivität zugrunde. Es kommt somit zu einer aktiven Verschiebung des Blutdruck-Sollwertes zu einem niedrigerem Blutdruckniveau (84, 91).

1.3 Autonomes Nervensystem

Sämtliche Organe des menschlichen Körpers werden unwillkürlich durch das autonome Nervensystem reguliert. Dieses differenzierte Steuerungssystem besteht aus dem Sympathikus und dem Parasympathikus. Im Rahmen der Kreislaufregulation ist der Sympathikus für den Vasotonus zuständig. Die höchste sympathische Innervationsdichte wird an Gefäßgebieten erreicht, die stark wechselnden Durchblutungsanforderungen ausgesetzt sind, z.B. Skelettmuskulatur und der Gastrointestinaltrakt. Ein deutlich geringerer sympathischer Ruhetonus besteht in Organsystemen mit konstanten Durchblutungsanforderungen, z.B. dem Gehirn (87).

Über ein Heraufsetzen des zentralvenösen Vasotonus kann der Sympathikus durch Zunahme des Füllungsvolumens des Herzens (Preload) zur Steigerung des Schlagvolumens beitragen. Darüber hinaus reguliert er über Rezeptoren am Sinusknoten

die Herzfrequenz und kann auf direkte Weise durch Ausschüttung seiner Transmitter Adrenalin und Noradrenalin die Schlagkraft des Herzens steigern (positive Inotropie). Die tonische Kontrolle der Herzfrequenz wird jedoch vom Parasympathikus dominiert, was sich durch einen Anstieg der Ruhfrequenz des Herzens nach experimenteller Parasympathikolyse zeigt (90).

Kreislaufregulatorisch wirkt der Parasympathikus hemmend auf die Erregungsleitung an Sinus- und AV-Knoten des Herzens (negative Dromotropie) und kann die Frequenz senken (negativ chronotrope Wirkung). Zusätzlich wird über den Parasympathikus die Erregbarkeit des Herzens gesenkt (negativ bathmotrope Wirkung) (112). Direkte parasympathische Wirkungen am Gefäßmuskel und damit auf den Gefäßwiderstand bestehen hingegen nicht.

1.4 Muskuläre sympathische Nervenaktivität (MSNA) und Mikroneurographie

Eine Methode zur Messung sympathischer vasokonstriktorischer Aktionssummenpotentiale (muskuläre sympathische Aktivität; MSNA) stellt die Mikroneurographie nach Vallbo und Hagbarth (101) dar. Es handelt sich um ein minimal-invasives Verfahren mit welchem die blutdruckregulierenden efferenten sympathischen Nervenimpulse eines Extremitätennervs als Summenpotentiale abgeleitet werden können. Gemessen wird diese Nervenaktivität beispielsweise im Nervus peroneus superficialis dorsal des Capitulum der Fibula unter Verwendung einer sehr dünnen Wolfram-Elektrode. Beim Nervus peroneus handelt es sich um einen Extremitätennerv, der verschiedene Faseranteile führt: Sensorische, motorische und vegetative Neuronen liegen dicht beieinander. Die in der MSNA abgeleiteten Signale stammen von vasokonstriktorischen sympathischen Efferenzen, die zum Gefäßbett der Muskulatur der jeweils betrachteten Extremität führen. Von diesen zu unterscheiden sind diejenigen Nervenfasern, die sympathische Hautanhangsgebilde innervieren. Ihre Impulse lassen sich mit der „skin sympathetic nerve activity“ (SSNA) messen, nähere Erläuterungen finden sich im Kapitel Material und Methoden.

1.5 Der Baroreflex

Vereinfacht kann der arterielle Baroreflexbogen als kybernetisches Feedbacksystem betrachtet werden, in dem die Dehnungsrezeptoren in herznahen Arterien, besonders im Aortenbogen und dem Carotissinus sowie dem Herzen, als Sensoren für den intravasalen Füllungsstand bzw. für den aktuellen Blutdruck dienen. Der als Dehnungs- bzw. Druck-Impuls erfasste Ist-Wert wird in ein neuronales Signal umgewandelt und über Afferenzen des Nervus vagus und des Nervus glossopharyngeus an ein kreislaufregulatorisches Integrationszentrum im Hirnstamm, den Nucleus tractus solitarii, übermittelt. Dort werden Impulse sowohl aus der Peripherie als auch aus übergeordneten Zentren (Kortex, Hypothalamus) aufgenommen, integriert und mit einem zentralnervös hinterlegten Sollwert, dem Setpoint abgeglichen. Die Anpassung der Stellgrößen erfolgt über efferente vegetative Nervenimpulse, die vom Nucleus tractus solitarii über die Hirnnerven und das Rückenmark an die jeweiligen Erfolgsorgane, insbesondere das Herz, die Nieren und muskelstarke Arteriolen übermittelt werden (86). Hinsichtlich der Kreislaufregulation kann zwischen einem vaskulären und einem kardialen Baroreflex-Schenkel unterschieden werden:

Über den kardialen Schenkel werden insbesondere die Herzfrequenz und die kardiale Schlagkraft reguliert, wobei die Herzfrequenz einer vagalen Komodulation unterliegt. Diese Faktoren nehmen insbesondere Einfluss auf den systolischen Blutdruck. Über den vaskulären Schenkel wird der Vasotonus moduliert, der seinerseits zum diastolischen Blutdruckniveau beiträgt. Die Sensitivität der beiden Baroreflexschenkel ist den aktuellen Erkenntnissen nach unterschiedlich reguliert (25).

Der zentral hinterlegte Setpoint für die reflektorische Blutdruckregulation kann als Ruhe-Blutdruckwert bei Wegfall äußerer Stimuli betrachtet werden. Er stellt den übergeordneten Ruhe-Sollwert des Regelkreises dar und ist in noch unvollständig geklärten zentralnervösen Zentren verankert, die dem einfachen Reflexbogen übergeordnet sind (39). In Bezug auf den vaskulären Baroreflexbogen kann dieser Sollwert als Verhältnis von muskulärer sympathischer Aktivität (MSNA) und Blutdruck in Ruhe definiert werden.

Wie in Abbildung 1a und 1b dargestellt, kann ausgehend von diesem Setpoint bei Blutdruckabfall eine Hochregulierung der MSNA über den Baroreflexbogen erfolgen. Durch Wegfall der hemmenden Einflüsse auf den Sympathikus im Kreislaufzentrum kommt es zum Anstieg sympathischer vasokonstriktorischer Reize mit nachfolgendem Blutdruckanstieg. Bei Blutdruckanstieg kommt es entsprechend zu einer Reduktion der

MSNA. In beiden Fällen wird über die MSNA eine Rückkehr des Blutdruckes zum Sollwert erreicht. Bei Aktivierung des kardialen Baroreflexschenkels kommt es bei Blutdruckabfall zu einem reflektorischen Anstieg der Herzfrequenz mit zusätzlicher Steigerung des Schlagvolumens (positive Inotropie). Die entstehende Tachykardie wird als „Bedarfs-“ bzw. „Reflextachykardie“ bezeichnet, die gegenläufige Reflexregulation als „Reflexbradykardie“.

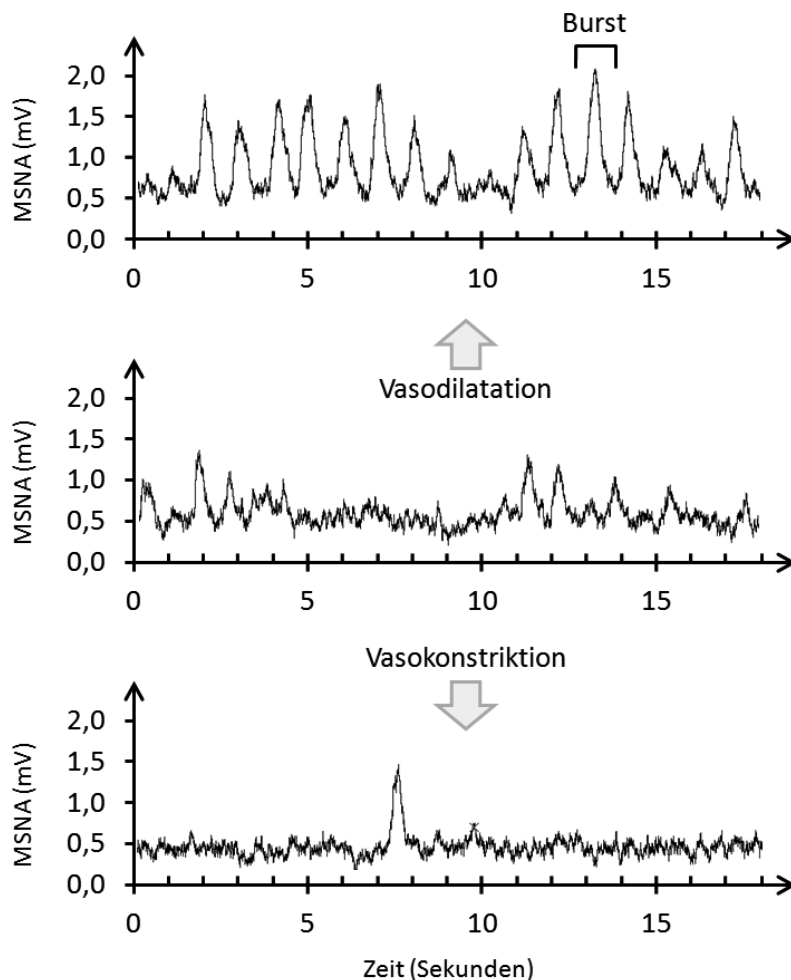


Abbildung 1a: Exemplarische Darstellung einer mikroneurografischen Ableitung der MSNA unter Ruhebedingungen (mittlere Abbildung), sowie bei Veränderungen des Blutdrucks mittels vasoaktiver Substanzen. Entsprechend des jeweils herrschenden, an den Barorezeptoren registrierten Blutdrucks („Ist-Wert“) wird die MSNA reflektorisch gesteigert (obere Abbildung) oder gedämpft.

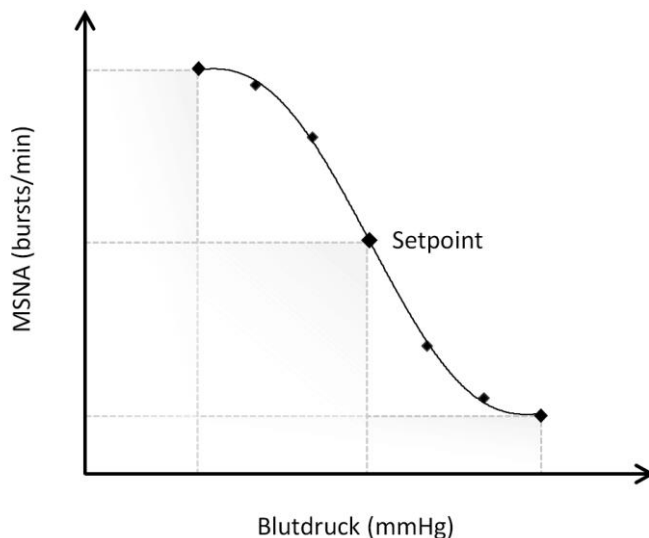


Abbildung 1b: Exemplarische Korrelation von MSNA und Blutdruck bei pharmakogener Blutdruckmodulation. Ausgehend vom Ruheblutdruck (Setpoint) kommt es bei Blutdruckabfall zur kompensatorischen Zunahme der Burstrate. Bei Blutdruckanstieg kommt es gegenregulatorisch zum Abfall der MSNA.

Zur Beurteilung der Baroreflexsensitivität wird das Ausmaß der Änderung der MSNA beziehungsweise der Herzfrequenz in Bezug auf die Änderung des Blutdruckes betrachtet.

Zur optimalen Anpassung des Blutdrucks an die im Alltag häufig wechselnden physischen und psychischen Anforderungen ist eine stete und zügige Anpassung des Sollwertes erforderlich, so dass der Reflexbogen auf unterschiedlichen Blutdruckniveaus prompt reagiert (Resetting). Der aktuelle Sollwert unterliegt somit einer aktiven Modulation durch zentralnervöse blutdruckregulierende und autonome Zentren (17). Eine kurzfristige Interaktion mit humoralen Einflüssen, z.B. Angiotensin II ist hinreichend belegt (103). Unklar ist hingegen, ob sich diese Interaktion auf eine unmittelbare Hormonwirkung beschränkt, oder ob eine nachhaltige Sollwertverschiebung resultiert. Faszinierend ist, dass der Baroreflex-Sollwert trotz höchster kurzzeitiger bedarfsadaptierter Flexibilität bei gesunden Individuen über Jahrzehnte unter Ruhebedingungen (Setpoint) konstant auf normotensivem Niveau gehalten wird. Diese Tatsache spricht für einen in übergeordneten Zentren hinterlegten Langzeitblutdrucksollwert (45, 73, 110).

Tierexperimentelle und pathophysiologische Beobachtungen belegen, dass innerhalb von Stunden bis Tagen eine Anpassung der Barorezeptoren an ein neues Druckniveau stattfinden kann. Es scheint somit zu einer Neuprogrammierung des zentral gespeicherten Ruhe-Setpoints zu kommen (14, 68, 103). Hieraus leitet sich die Annahme ab, dass eine

Beteiligung des Barorezeptorreflexbogens an einer langfristigen Blutdruckregulation nicht möglich ist (17, 53, 68). Im Kontrast hierzu wird dem Baroreflex heute auch eine Rolle in der Langzeit-Blutdruckregulation zugesprochen. Den Grundstein für diese Annahme legten verschiedene Experimente am Tier (5, 60, 98), wobei z.B. die Gruppe um Lohmeier durch elektrische Stimulation der Barorezeptoren im Carotissinus von Hunden eine anhaltende Hypotonie als Hinweis auf eine Baroreflex-vermittelte anhaltende Suppression der sympathischen Nervenaktivität nachweisen konnte. Seit Publikation dieser Daten ist die Diskussion um die Rolle des Barorezeptorreflexes in Bezug auf die Langzeitblutdruckregulation neu entbrannt (4, 73) und es finden bereits klinische Studien zur Anwendbarkeit dieser elektrischen Baroreflex-Stimulationssonden statt (41, 58, 59).

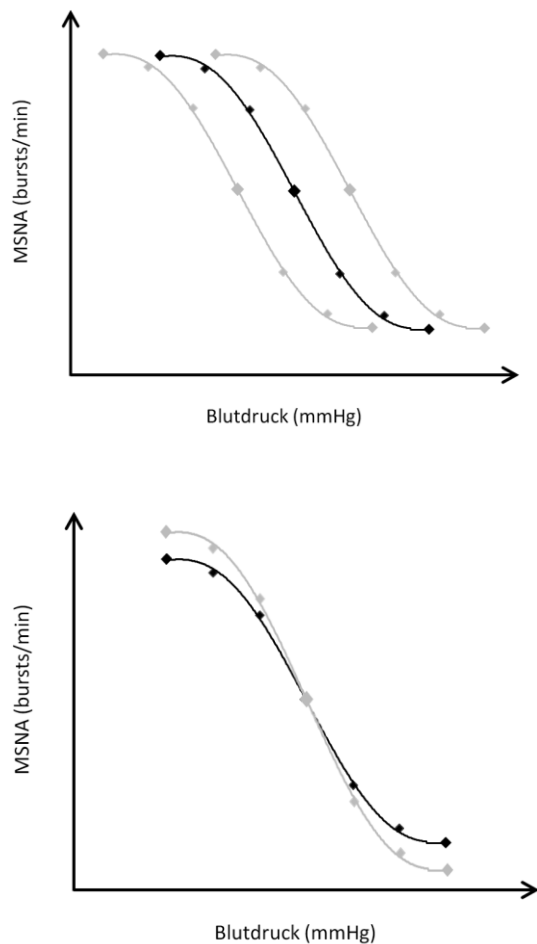


Abbildung 1c: Schematische Darstellung eines Resettings der Baroreflexkurve zu einem geringeren bzw. höheren Blutdruckniveau (obere Abbildung) bzw. Änderung der Baroreflexsensitivität (untere Abbildung), charakterisiert durch die Steilheit der Korrelationskurve.

1.6 Das Renin-Angiotensin-System (RAS)

Das Renin-Angiotensin-System ist eine Hormon-Kaskade mit zentraler Bedeutung für die mittel- und langfristige Blutdruckregulation. Es kann zwischen einem systemischen (klassisches RAS) und einem lokalen RAS, das unter anderem im Gehirn lokalisiert ist, unterschieden werden. Im Folgenden soll das systemische System betrachtet werden.

Ausgelöst wird die Kaskade durch Dehnungsreize am glomerulären Vas afferens der Niere sowie über sympathische Nervenreize über β -Rezeptoren auf Epitheloidzellen der Macula densa im juxtaglomerulären Apparat. Eine Abnahme der Nierendurchblutung bewirkt eine Freisetzung von Renin aus den Epitheloidzellen. Renin ist eine spezifische Protease für das aus der Leber stammende α -Globulin Angiotensinogen. Es entsteht das funktionslose Peptid Angiotensin I. Dieses wird vom Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE) in Angiotensin II umgewandelt (88). Das ACE kommt ubiquitär im Endothel der Blutgefäße vor.

Angiotensin II entfaltet den Hauptteil seiner Wirkungen über den gewebständigen Angiotensin Rezeptor Typ 1 (AT₁-Rezeptor), einen G-Protein gekoppelten Rezeptor (57). Die allgemeinen Wirkungen von zirkulierendem Angiotensin II sind in der unten stehenden Tabelle zusammengefasst (1). Das Ausmaß der Angiotensin II-vermittelten Wirkungen ist dosisabhängig.

Als funktionelle Gegenspieler von Angiotensin II sind die natriuretischen Peptide ANP (Atriopeptin), BNP (brain natriuretic peptide) und CNP (C-type natriuretic peptide) aus den Vorhofmyozyten, dem Endothel und dem ZNS zu betrachten. Diese Peptide wirken vor allem an peripheren Venen vasodilatatorisch und führen über Auswaschen des osmotischen Gradienten in der Niere zu einer Natriuresis mit konsekutiver Volumenreduktion. Die Sekretion dieser Hormone wird insbesondere durch eine Dehnung der Vorhofmyozyten ausgelöst (86). Die ANP-Sekretion scheint sogar auf einen Reiz durch Angiotensin II zu erfolgen (10).

Tabelle 1: Wirkung von Angiotensin II nach Wirkort (GFR = glomeruläre Filtrationsrate)

| Wirkort | Akutwirkung | Chronische Wirkung |
|---|---|---|
| Glatte Muskulatur der Widerstandsgefäße | Kontraktion, Erhöhung des peripheren Widerstandes, Blutdrucksteigerung | Proliferation, Hypertrophie und Hyperplasie |
| Niere | Konstriktion des Vas efferens mit konsekutiver Steigerung der GFR Erhöhte Natriumreabsorption im proximalen Tubulus Hemmung der Reninausschüttung | Hypervolämie |
| Nebenniere (Rinde) | Steigerung der Aldosteron-Sekretion und Synthese | Hypervolämie Blutdruckanstieg |
| Nebenniere (Mark) | Steigerung der Adrenalinsekretion | |
| Herz | Fraglich positive Inotropie | Hypertrophie der Kardiomyozyten |
| Sympathische Nervenendigungen | Steigerung der präsynaptischen Noradrenalinausschüttung | |
| Uterus | Kontraktion | |
| Hypophysenhinterlappen | ADH-Freisetzung | |
| Hypothalamus | Steigerung von Durst und Salzhunger | |

1.7 Angiotensin II und sympathisches Nervensystem: Zusammenspiel und Interaktion in der Kreislaufregulation

Angiotensin II führt über verschiedene Mechanismen zu einer Erhöhung des Blutdrucks. Im Vordergrund steht eine durch Angiotensin II vermittelte Verstärkung der sympathisch-adrenerg vermittelten Vasokonstriktion. So steigert Angiotensin II die Freisetzung des Neurotransmitters Noradrenalin aus den Varikositäten des postganglionären sympathischen Nervengeflechts der Effektororgane (86). Da peripher zirkulierendes Angiotensin II die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden kann (40), gelangt es über die zirkumventrikulären Organe in das ZNS. Hierbei handelt es sich um das subfornikale Organ, das Organum vasculosum laminae terminalis im Hypothalamus und

die Area postrema im Hirnstamm (79, 102, 105). Über die zirkumventrikulären Organe in das ZNS aufgenommenes Angiotensin II führt über Aktivierung des Nucleus paraventricularis zu einer zentralen Minderung der Sensitivität des Baroreflexes (86) und zur Aktivierung sympathischer Impulse in der Medulla oblongata (24, 38, 65, 81, 83). Am besten erforscht ist die Wirkung von peripher verabreichtem Angiotensin II auf den kardialen Schenkel des Baroreflexes. Unter einer Angiotensinämie kommt es im Gegensatz zu einer durch Phenylephrin ausgelösten Hypertonie zu keiner Reflexbradykardie, stattdessen erfolgt ein Resetting des kardialen Baroreflexes. Dieses Phänomen wird auf zentrale Wirkungen von Angiotensin II zurückgeführt, die in der Aktivierung des Sympathikus und einer gleichzeitigen Hemmung des Parasympathikus bestehen (67, 83). Dass Angiotensin II eine zentrale modulierende Rolle bei der Setpoint-Regulation des Baroreflexbogens spielt, zeigen auch Studien mit Angiotensin-Konversions-Enzym-Inhibitoren und Angiotensin II-Rezeptorantagonisten. Wird das RAS durch diese Medikamente blockiert, so kommt es zu einem Resetting des Baroreflex-Setpoints zu geringeren Sollwerten (36, 40, 94), charakterisiert durch eine Blutdrucksenkung ohne reflektorische Zunahme der Herzfrequenz oder der MSNA. Das Resetting des Baroreflexes erfolgt auf Ebene des Tractus Nucleus solitarii und wird über die Ausschüttung des Neurotransmitters GABA bewirkt. Angiotensin II führt über Rezeptoraktivierung zu einer Ausschüttung von NO, wodurch wiederum die GABA-Ausschüttung potenziert wird (34, 38, 75-77). Eine Angiotensin II-vermittelte Aktivierung von Neuronen im Subfornikalorgan und dem Organum vasculosum laminae terminalis bewirkt die Stimulation der ADH-Sekretion. Auf diese Weise erfolgt die zentrale Modulation des Trinkverhaltens und Regulation des Blutvolumens. Diese zentralen Funktionen von peripher zirkulierendem Angiotensin II werden im Bereich der zirkumventrikulären Organe jedoch durch die zirkulierenden Hormone ANP und BNP gehemmt (86).

1.8 Pulswellengeschwindigkeit, zentraler Blutdruck und Augmentationsindex

Pulswellen entstehen durch die Fortleitung des Dehnungsimpulses an den Blutgefäßen, der bei Auswurf des Schlagvolumens aus dem Herzen entsteht. Die Pulswelle breitet sich über das gesamte arterielle Gefäßsystem mit einer Geschwindigkeit aus, die deutlich höher als die Flussgeschwindigkeit ist. Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV –

pulse wave velocity) ist von der Elastizität der Gefäße abhängig (56). In der Aorta beträgt sie bei jungen, gesunden Probanden aufgrund ihrer hohen Elastizität mit physiologischer Windkesselfunktion 4 (proximal) bis 6 (Aorta abdominalis) m/s und steigt in der peripheren Strombahn auf Werte zwischen 8 und 12 m/s (88).

An Abzweigungen und veränderten Gefäßquerschnitten kommt es zu einer Reflektion der Pulswelle. Die Summe der Reflektionen führt zu einer retrograden, d.h. von distal nach proximal gerichteten, Welle, die sich mit der aus dem Herzen kommenden antegraden Pulswelle überlagert. Es kommt zur Addition der Druckwellen mit Zunahme der Druckamplitude (Pulse Pressure Amplification) (55, 108) bei gleichzeitiger Subtraktion der Stromstärke beider Wellen. Der systolische aortale Blutdruck repräsentiert die Nachlast des Herzens, der diastolische aortale Blutdruck ist für die Koronarperfusion von Bedeutung.

Bei gesunden Jugendlichen erreicht die reflektierte Welle die herznahe Aorta in der Diastole desselben Herzzyklus, wodurch der diastolische Druck in der proximalen Aorta erhöht wird. Dies verbessert die in der Diastole stattfindende Koronarperfusion (108). Im Alter kommt es aufgrund physiologischer und pathophysiologischer Veränderungen zu einem Elastizitätsverlust mit Anstieg der Pulswellengeschwindigkeit. Die reflektierte Druckwelle trifft in diesen Fällen noch während der Systole in der Aorta ascendens ein und steigert den systolischen Blutdruck (siehe Abbildung 3) und damit die Nachlast des Herzens sowie den myokardialen Sauerstoffverbrauch. Gleichzeitig resultiert eine Reduktion der Koronarperfusion (107, 108).

Der Druckanstieg nach Eintreffen der reflektierten Pulswelle in der Aorta bis zum maximalen aortalen Druck wird als Augmentationsdruck (Pressure-Augmentation, AP) bezeichnet. Der Anteil, den der Augmentationsdruck am Gesamtpulsdruck ausmacht, wird als aortaler Augmentationsindex (AIX_{ao}) bezeichnet (7, 55). Die Bestimmung erfolgt rechnerisch. Physiologischerweise ist unter Ruhebedingungen die Amplitude der reflektierten Pulswelle kleiner als die primäre Pulswelle, d.h. dass der Augmentationsindex rechnerisch ein negatives Vorzeichen trägt. Bei erhöhtem totalen peripheren Gefäßwiderstand kommt es zu einem positiven Augmentationsindex. In epidemiologischen Studien korrelieren PWV und AIX mit dem kardiovaskulären Risiko. Den genannten Parametern kommt deshalb im klinischen Alltag eine zunehmende prognostische Relevanz zur Risikostratifizierung bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse zu (7, 55, 107).

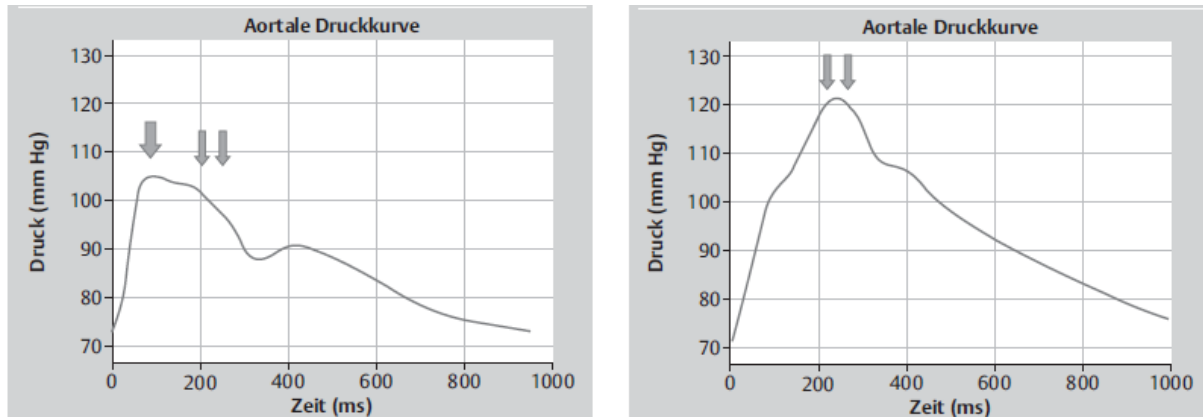


Abbildung 2: Aus Baulmann et al (6). Vergleich aortaler Pulsdruckkurven bei einem 19-jährigen (links) und einem 46-jährigen Probanden (rechts). Das Eintreffen der reflektierten Pulswelle (Doppelpfeil) erfolgt im Alter bereits während der Systole und addiert sich als „Pressure Amplification“ auf den systolischen Blutdruck, beim jungen Probanden bleibt der systolische Druck (dicker Pfeil) von den Reflektionen (Doppelpfeil) unbeeinflusst.

1.9 Fragestellung

In einer Vielzahl von Studien konnte gezeigt werden, dass erhöhte Angiotensin II-Spiegel an der Entstehung eines arteriellen Hypertonus beteiligt sind. Die zentralen Wirkmechanismen von systemisch zirkulierendem Angiotensin II und insbesondere seine Interaktion mit dem sympathischen Nervensystem sind noch nicht vollständig verstanden. Gesichert ist, dass Angiotensin II an der Setpoint-Regulation der Baroreflexschleife beteiligt ist. Unklar ist, ob diese Wirkung sich auf die im Plasma messbare Angiotensin II-Präsenz am Wirkort beschränkt, oder aber Angiotensin II zu einer nachhaltigen, d.h. über seine Plasma-Halbwertszeit weit hinausreichenden, Sollwertveränderung im Sinne einer Konsolidierung des Resettings führt.

Um die in-vivo Folgeeffekte eines mehrstündig erhöhten Angiotensin II-Spiegels auf das Baroreflexverhalten am gesunden Subjekt untersuchen zu können, wurde in einer einfach verblindeten placebo-kontrollierten Studie an jungen, gesunden Probanden untersucht, welche Veränderungen von Blutdruck und Baroreflexverhalten in einem Beobachtungszeitraum von zwölf Stunden nach Beenden einer sechsständigen Angiotensin II-Infusion hervorgerufen werden.

Durch die Studie sollten die folgenden drei zentralen Fragen beantwortet werden:

Wie verändert sich der Blutdruck während und nach einer sechsstündigen blutdruckrelevanten Infusion von Angiotensin II?

Wie verändert sich die Herzfrequenz während und nach einer sechsstündigen blutdruckrelevanten Infusion von Angiotensin II?

Bewirkt die sechsstündige Angiotensin II-Spiegelerhöhung ein Resetting des Baroreflexsetpoints oder eine Änderung der Baroreflexsensitivität über die blutvermittelte unmittelbare Wirkung hinaus?

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende Studie wurde im Rahmen des von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) geförderten Sonderforschungsbereichs „Plasticity and Sleep“ (TR-SFB 654) am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH) am Campus Lübeck in der Medizinischen Klinik I durchgeführt. Sie erfolgte als Teil des Projektarmes „Cardiovascular Setpoints regulated by Sleep“ (Projekt B4, Projektleitung PD Dr. F. Sayk, Medizinische Klinik I des UKSH Campus Lübeck) und steht als „Angiotensin II-Tag-Studie“ in engem inhaltlichen und methodischen Bezug zum Studienarm „Einfluss von Angiotensin II-induziertem nächtlichem Non-Dipping auf die Konsolidierung des Blutdrucksetpoints“, betreut durch den Doktoranden Christoph Twesten (96). Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Aktenzeichen 06-094, Amendment).

An dieser placebokontrollierten Fall-Kontroll-Studie nahmen 14 junge, gesunde Probanden an je zwei Versuchstagen teil. Das Studiendesign bestand aus einer Verumbedingung und einer Placebobedingung, sodass jeder Proband als seine eigene Kontrolle dienen konnte. In der Verumbedingung wurde der mittlere arterielle Ruheblutdruck über eine Dauer von sechs Stunden um ca. 10-15% gegenüber dem in Ruhe gemessenen Ausgangswert durch die kontinuierliche Infusion des physiologischen Hormons Angiotensin II (Angiotensin II-Acetat, Bachem AG, Schweiz) angehoben. In der Kontrollbedingung wurde den Probanden isotonische Kochsalzlösung verabreicht. Nach der Infusionsphase folgten jeweils mikroneurographische Messungen vasokonstriktorischer sympathischer Impulse sowie die Erfassung hämodynamischer Parameter, um den Setpoint und die Sensitivität der Baroreflex-vermittelten Blutdruckregulation zu untersuchen. Weitere Zielparameter waren die Beurteilung der Gefäßsteifigkeit und Pulswellenreflexion sowie das Blutdruckprofil im ambulanten Verlauf bis zum Folgetag. Die Reihenfolge von Versuchs- und Placebotag wurde per Los randomisiert. Die Versuchstage lagen in einem zeitlichen Abstand von mindestens drei Tagen. Die Durchführung der Versuche erfolgte einfach verblindet.

Somit gliederten sich die Versuchstage in jeweils vier Abschnitte:

- 1) morgendliche Ruhephase vor Infusionsbeginn
- 2) Infusionsphase (ca. 8:00 – 14:00 Uhr)
- 3) Mikroneurographie zur Baroreflexuntersuchung (ca. 14:30 – 16:30 Uhr)
- 4) Ambulanter Verlauf
 - Abendphase: sechs Stunden nach Verlassen des Labors (ca. 18:00 – 24:00 Uhr)
 - Schlafphase: sechs Stunden (ca. 24:00 – 6:00 Uhr morgens)

2.2 Probanden

Für die Studie konnten 14 Probanden (sieben Frauen, sieben Männer) gewonnen werden. Bei den Probanden handelte es sich um gesunde Nichtraucher im Alter zwischen 19 und 25 Jahren (MW \pm SD: 22,6 Jahre, \pm 1,5 Jahre). Alle Probanden waren normgewichtig (BMI (MW \pm SD) der Männer 22,2 kg/m², \pm 2,1 kg/m²; BMI der Frauen 22,3 kg/m², \pm 2,0 kg/m²). Der Range der BMI-Werte lag zwischen 19,1 und 24,9 kg/m². Weitere Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie waren ein mittlerer Tagesblutdruck im Normbereich (definiert als <130/<85 mmHg) bei normofrequentem Sinusrhythmus mit physiologischem nächtlichen Dipping in der Placebobedingung (definiert als nächtliche Absenkung des arteriellen Mitteldrucks um mindestens 10% gegenüber dem Tagesdurchschnittswert). Darüber hinaus war eine leere Familienanamnese für eine arterielle Hypertonie sowie keine Einnahme jedweder Medikation mit Ausnahme hormoneller Kontrazeptiva für die Teilnahme vorausgesetzt. Die Versuchstage der weiblichen Probanden fanden in der ersten Zyklushälfte (follikuläre Phase) statt, um ein stabiles Estradiol- und Progesteronverhältnis zu gewährleisten und den bekannten Einfluss dieser Hormone auf die Blutdruckregulierung konstant zu halten (22, 23). Untersuchungen von Tank et al. haben belegt, dass mikroneurographische Baroreflexstudien unter diesen Kautelen keinen relevanten Gendereffekten unterliegen (97). Zwei Wochen vor Beginn und während der Versuche arbeitete keiner der Probanden im Nacht- oder Schichtdienst. Die Probanden sollten in dieser Zeit zu Hause in gewohntem Rhythmus schlafen und den gewohnten körperlichen Aktivitäten nachgehen (kein Leistungssport). Die Probanden wurden instruiert, vor 24:00 Uhr ins Bett zu gehen und mindestens sieben Stunden zu

schlafen. An den Versuchstagen durften die Probanden keine koffeinhaltigen Getränke zu sich nehmen.

Vor Beginn der Versuche erfolgte die mündliche und schriftliche Aufklärung der Probanden über Zweck und Ablauf der Versuche. Alle Probanden gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab.

2.3 Apparative Messanordnungen

2.3.1 Neurophysiologisches Labor

Die Untersuchungen fanden im neurophysiologischen Labor des SFB („Schlaflabor“) am UKSH Campus Lübeck statt. Das Labor besteht aus zwei nebeneinanderliegenden Räumen:

1) Das Versuchszimmer, in dem sich die Probanden während der Dauer des Versuches in entspannter Position auf einem Stationsbett liegend oder mit maximal 45° erhöhtem Kopfteil sitzend aufhielten. Die Probanden durften sich mit Büchern, Laptop, Zeitung etc. unterhalten.

2) Im benachbarten Kontrollzimmer befand sich das technische Equipment, dessen Messleitungen durch ein Loch in der Wand mit dem Probanden verbunden werden konnten. Im Kontrollzimmer überwachte die Versuchsleiterin die Versuche.

2.3.2 Blutdruckmessung

Die Probanden wurden während des jeweiligen gesamten Versuchstages mit einem portablen Langzeitblutdruckmessgerät (Space Labs®, Issaquah, Washington, USA) versorgt, das so programmiert wurde, dass es Blutdruck und Herzfrequenz in 20-minütigen Abständen aufzeichnete. Dieses Gerät verblieb bei dem Probanden während der Untersuchungen und im ambulanten Verlauf nach Verlassen des neurophysiologischen Labors. Es garantierte volle Bewegungsfreiheit. Um eine Beeinflussung des Probanden durch die Messergebnisse zu verhindern, zeigte das Gerät die gemessenen Werte nicht an, konnte aber nach Beenden der Messungen durch den Untersucher an einem Computer ausgelesen werden. Sie dienten der Überprüfung des Ruhe-Blutdruckwertes, bzw. des Anstiegs unter Angiotensin II-Infusion und gaben Auskunft über die ambulanten

Blutdrücke im Anschluss an den Versuchszeitraum. Für die Phase der sechsstündigen Infusion wurde ein zweites oszillometrisches Blutdruckmessgerät (Welch Allyn®, Skaneateles Falls, NY, USA) am anderen Oberarm angelegt. Die Manschette war durch ein langes Kabel mit dem Gerät im Kontrollzimmer verbunden. Dieses Gerät wurde in 20-minütigem Takt von der Versuchsleiterin aktiviert. Es diente der Effektüberwachung der infundierten Angiotensin II-Lösung auf den Blutdruck des Probanden um somit einerseits einen adäquaten Blutdruckanstieg unter Angiotensin II zu überprüfen, andererseits eine hypertensive Entgleisung zu unterbinden.

2.3.3 Pulswellengeschwindigkeit

Bei der Messung der Pulswellengeschwindigkeit mittels Arteriograph® (TensioMed®, Budapest, Ungarn) handelt es sich um ein nicht invasives, oszillometrisches Verfahren mit welchem die arterielle Gefäßsteifigkeit ermittelt werden kann (7). Zugrundeliegendes Messprinzip ist die Applanationstonometrie. Es beruht darauf, dass Flüssigkeit nicht kompressibel ist. Wird eine Manschette auf suprasystolischen Druck aufgepumpt, sistiert der Blutfluss. Über eine spezielle Oberarmmanschette können bei suprasystolischem Manschettendruck mithilfe eines sehr sensitiven Druckmessers die Oszillationen, die durch die anterograde bzw. die reflektierte Pulswelle hervorgerufen werden, wahrgenommen und als zweigipflige Kurve graphisch dargestellt werden. Die zeitliche Latenz zwischen der anterograden und der reflektierten Pulswelle entspricht näherungsweise der Zeit, die die an der Bifurkation der Aorta abdominalis reflektierte Pulswelle benötigt um in der Arteria brachialis anzukommen. Bei Kenntnis des Abstandes zwischen diesen anatomischen Strukturen kann die Fortleitungsgeschwindigkeit in der Aorta berechnet werden. Als Abstand zwischen den beiden Punkten wird näherungsweise der Abstand zwischen Jugulum und Symphyse in cm gemessen. Die Berechnungen werden durch eine spezielle Software (TensioMed™, Budapest Ungarn) computerunterstützt bewerkstelligt, graphisch dargestellt und abgespeichert. Zur Durchführung der Untersuchung werden besonders schmale Manschetten benötigt, die fest um den Oberarm des Probanden gewickelt werden. Nur unter hohem Druck kann der in der Manschette enthaltene Dehnungssensor die Wandveränderungen, die durch die Pulswelle verursacht werden, wahrnehmen. Die Dauer, die für eine Messung benötigt wird, entspricht der einer oszillometrischen Blutdruckmessung.

Folgende Parameter werden wiedergegeben:

- Augmentationsindex (AI_x)
- Pulse wave velocity aortic (PWV_{ao})
- Systolischer und diastolischer Blutdruck
- Pulsfrequenz.

2.3.4 Pulmobelt®

Zum Ausschluss bewusster und unbewusster Apnoephasen während der mikroneurographischen Messung wurden die thorakalen Atemexkursionen der Probanden mittels Druckwandler, der in einen elastischen Gurt eingearbeitet ist, gemessen (Pulmobelt®, Ohmeda Medical, Ohio, USA). Mithilfe des Druckwandlers konnten die Volumenunterschiede des Thorax in In- und Expiration als Atemkurven digitalisiert und visualisiert werden.

2.3.5 EKG

Zur kontinuierlichen Überwachung von Herzfrequenz und Rhythmus erfolgte die kontinuierliche Aufzeichnung einer Standard EKG-Ableitung nach Eindhoven.

2.3.6 Mikroneurographie zur Messung der muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA)

Die muskuläre sympathische Nervenaktivität wurde im Nervus peroneus auf Höhe des capitulum fibulae eines Beines abgeleitet. Das zu messende Bein lag dazu leicht erhöht in einer eigens angefertigten Schiene aus Schaumstoff, die für Ruhigstellung und optimale Positionierung des Beines sorgte. Für die Ableitung der MSNA wurden Wolfram-Mikroelektroden (Durchmesser ca. 0,2 mm im Bereich des Schaftes und wenige µm im Bereich der Spitze) verwendet. Die Elektroden wurden nach der Sterilisation unter dem Mikroskop kontrolliert um mögliche Häkchen auszuschließen, die zu einer Schädigung der Nervenfasern führen könnten. Von ihrer äußersten Spitze abgesehen, sind die Elektroden vollständig isoliert, um die Zielsignale hochspezifisch und ohne Störsignale zu erfassen.

Die Ableitungselektrode wird für die Messung intraneural positioniert. Das gemessene Potential wird gegen eine zweite subkutan gelegene Referenzelektrode abgeleitet.

Palpatorisch wurde das Capitulum fibulae aufgesucht. Mit einer Reizelektrode wurden transkutan elektrische Reize gesetzt, die der genauen Verlaufsbestimmung des Nervus peroneus superficialis dienten. Die hierfür verwendete Spannung betrug zwischen 30-40 Volt, die über eine Dauer von 1 ms pro Reiz bei einer Frequenz von 1 Hz abgegeben wurde. Bei richtiger Position der Stimulationselektrode kam es zu einer impulsynchronen, unwillkürlichen Muskelkontraktion der Unterschenkelmuskulatur, insbesondere der Fußstrecker in der Peroneusloge. Konnte diese Reaktion ausgelöst werden, wurde die Position der Reizelektrode mit einem Filzstift markiert. Auf diese Weise wurde der Verlauf des Nervus peroneus superficialis über einige cm angezeichnet um eine optimale Ableitposition festzulegen. Nach Einbringen der Referenzelektrode erfolgte das vorsichtige Vorschieben der Ableitungselektrode unter erneuter Spannungsabgabe von nun 2-3 Volt für je 1 ms bei einer Frequenz von 1 Hz. Bei richtiger Positionierung der Ableitelektrode resultierte auch hier die Kontraktion der innervierten Muskelgruppen. Geringfügige Positionsadjustierungen führten zu gleichbleibender Muskelkontraktion unter gleichzeitiger stetiger Reduktion der angelegten Stimulationsspannung. Sobald nur noch eine Spannung von ca. 1 Volt nötig war um die Muskelkontraktionen hervorzurufen, konnte von einer guten Lage der Ableitungselektrode ausgegangen werden. Es erfolgte zuletzt die Feinadjustierung der Elektrodenposition im sympathischen Faszikel nach unten genannten Qualitätskriterien. Für eine zusätzliche Abschirmung vor Störsignalen aus der Umgebung wurde der Proband am Bett geerdet und die Elektroden nach optimaler Positionierung von einer Aluminium-Folie überdeckt. Die mikroneurographische Ableitung diente der Messung sympathischer Summenpotentiale. Diese Potentiale konnten nach Verstärkung und Filterung sowohl über einen Lautsprecher akustisch wahrgenommen werden, als auch nach Gleichausrichtung der Einzelpotentiale auf dem Bildschirm des Computers als ein sogenannter „Burst“ visuell verfolgt werden. Das Verstärkersystem bestand aus einem Vorverstärker (1000-fache Verstärkung) und einem Hauptverstärker (50-fache Verstärkung). Gleichzeitig erfolgte eine digitale Aufarbeitung des Signals (Chart für Windows Version 5.0, der Firma ADInstruments, Heidelberg, Deutschland).

Für die Untersuchung war es notwendig, sicher zwischen der sympathischen Nervenaktivität zum Muskelgefäßbett (MSNA) einerseits und der Haut (SSNA) andererseits unterscheiden zu können. Dies gelang mittels folgender Charakteristika:

1) Die Bursts der MSNA weisen mit ca. 1,1m/s eine schnellere Anstiegsgeschwindigkeit auf, als die der SSNA (0,8-1m/s) (28). Des Weiteren ist die Regulation muskulär-sympathischer Aktivität dem Setpoint des Barorezeptorreflexes unterworfen, was zu einer Pulssynchronität führt (19), die der Hautsympathikus nicht aufweist.

2) Bei inspiratorischer Apnoe kommt es über ein intrathorakales venöses Pooling zur Abnahme des Schlagvolumens und somit zum Abfall des arteriellen Blutdruckes. Dies führt zu einer Aktivierung des Barorezeptorreflexes und damit zu einer Aktivierung des muskulären Sympathikus. Nachfolgend führt ein Anstieg des CO₂-Partialdruckes unter anhaltender Apnoe ebenfalls zu einer starken vasokonstriktorisches Sympathoexzitation (19). Die Qualität einer MSNA-Ableitung kann mittels inspiratorischer Apnoe sicher beurteilt werden. Auf die Aktivität des hautversorgenden Sympathikus hat eine Apnoe jedoch keinen Einfluss.

3) Die richtige Lage der Ableitungselektrode lässt sich weiterhin durch Beklopfen des zugehörigen Muskelbauches verifizieren. Der Klopfreiz führt zu einer Aktivierung von muskeleigenen Dehnungsrezeptoren (Muskelspindeln), was sich durch ein charakteristisches Geräusch aus dem Lautsprecher erkennen lässt. Liegt die Ableitungselektrode hingegen in einem die Haut versorgenden Faszikel, klagt der Proband über Parästhesien im betroffenen Hautareal. Streicht man dann mit dem Finger über das entsprechende Dermatom, löst dies durch Stimulation sensorischer Afferenzen deutliche Signale aus (101).

4) Bei der SSNA lässt sich eine emotionale Regulationskomponente nachweisen. Diese lässt sich z.B. durch Erschrecken des Probanden auslösen. Hierdurch lassen sich Bursts einer SSNA (piloerektorische, sudomotorische und vasodilatatorische Aktivität, „Gänsehaut“) gezielt induzieren. MSNA-Bursts können dadurch hingegen nicht provoziert werden.

Per definitionem gilt eine Ableitung dann als auswertbar, wenn die Amplitude der Bursts mindestens dreimal so hoch ist, wie das Grundrauschen der Baseline, also der beständigen spontanen Oszillationen der Ableitungskurve.

2.3.7 Powerlab®

Die Signale aus Mikroneurographie, Pulmabelt® und EKG wurden analog erzeugt. Um sie auf dem Computer sichtbar zu machen und in ein speicherbares Format zu konvertieren, erfolgte die Digitalisierung der Signale mittels Powerlab® (ADInstruments, Heidelberg, Deutschland) und der dazugehörigen Software (Chart 5.0 for Windows, ADInstruments, Heidelberg, Deutschland). Hierdurch konnten die verschiedenen Parameter simultan in einer gemeinsamen Matrize gespeichert und ausgewertet werden.

2.4 Laborchemische Untersuchungen

2.4.1 Sammelurin

Für den Zeitraum der Infusionsphase wurde ein Sechsstunden-Sammelurin angefertigt, der direkt nach Beendigung der Ruhephase abgegeben wurde. Die Probanden wurden gebeten, vor Versuchsbeginn die Blase zu leeren. Während der Infusionsperiode hatten die Probanden die Möglichkeit ihren Urin in ein Sammelgefäß zu entleeren. Nach Beenden der Infusion wurde der Urin ebenfalls in einem Sammelgefäß aufgefangen. Die Gesamturinmenge wurde ermittelt. Im Anschluss daran erfolgte die Entnahme von Proben, die bis zur späteren Analyse bei -80°C tiefgefroren wurden. Aus dem Urin wurden Elektrolyte und Cortisol, bestimmt. Die Analyse erfolgte nach Standard-Protokollen durch das Zentrallabor des UKSH Campus Lübeck (Institut für klinische Chemie).

2.4.2 Blutuntersuchungen

Venöse Blutentnahmen wurden zu folgenden Zeitpunkten durchgeführt: Eine erste Abnahme erfolgte während körperlicher Ruhe vor Beginn der Infusionsphase, eine weitere erfolgte ca. 15 min nach Beenden der Infusion und vor anschließender orthostatischer Belastung. Die Proben dieser beiden Blutentnahmen dienten der Bestimmung folgender Parameter: Cortisol, ACTH, Aldosteron, Angiotensin II, Renin, Vasopressin, Kreatinin, Elektrolyte, Katecholamine, Osmolalität.

Während der Infusionsphase erfolgte zudem in 90-minütigen Abständen eine Blutentnahme zur Bestimmung des Angiotensin II-Spiegels. Zwei weitere Blutentnahmen

erfolgten im Rahmen der pharmakogenen Baroreflex-Testung jeweils nach der Gabe von Nitroprussid-Natrium bzw. Phenylephrin. Hieraus wurden die folgenden Parameter bestimmt: Angiotensin II, Renin, Katecholamine, Vasopressin.

Die Proben wurden im Anschluss an die Entnahme in einer mit Eis gefüllten Box abgelegt und anschließend sofort in einer Kühlzentrifuge (Labofuge 400R, Heraeus, Thermo Fisher Scientific, Deutschland) bei 4000 U/min für 10 min bei 5°C zentrifugiert. Anschließend wurden die Plasma- bzw. Serumüberstände in Eppendorfgläser pipettiert und bei -20°C bis zum Versuchsende gekühlt. Die anschließende Lagerung bis zur Laboranalyse erfolgte bei ca. -80°C. Zur Stabilisation des Angiotensins II wurden die Angiotensin II-Spiegel in mit dem potenten Aminopeptidase-Inhibitor Bestatin (Bühlmann Laboratories, Schönenbuch, Schweiz) versetzten Blutröhrchen gewonnen. Die Analyse der genannten Parameter erfolgte durch das Forschungslabor des SFB 654 nach etablierten Protokollen. Die Bestimmung der Angiotensin II-Blutspiegel erfolgte mittels eines Radioimmun-Assay (RIA) unter Verwendung eines Angiotensin II-spezifischen Doppel-Antikörpers und radioaktiv markiertem Angiotensin II (Bühlmann Laboratories AG, Schönenbuch, Schweiz). Die Bestimmung von Renin erfolgte ebenfalls mittels Radioimmunoassay (Renin III Generation, CIS bio GmbH (IBA Group), Louvain-la-Neuve, Belgien), das spezifisch die aktive Form des Renins quantifiziert. Die Messungen von ACTH und Cortisol wurden mittels Chemilumineszenz-Immunoassay durchgeführt (Immulite® 1000 Cortisol/ACTH, Siemens, Llanberis, Vereinigtes Königreich). Die Aldosteron-Bestimmung erfolgte mittels Radioimmun-Assay (Coat-a-count®, Siemens, Llanberis, Vereinigtes Königreich). Die Bestimmung der Katecholamine erfolgte mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC, Chromsystems), einem standardisierten Verfahren zur Quantifizierung von gelösten Substanzen. Die Spezifität aller genannten Testverfahren wird als hochspezifisch beschrieben.

2.5 Durchführung der Versuche

2.5.1 Präparation der Infusionslösung

Das Hormon Angiotensin II (Bachem Clinalfa, Bubendorf, Schweiz) wurde als Acetat in Pulverform geliefert und musste bei -80°C tiefgefroren gelagert werden. Erst kurz vor Versuchsbeginn wurde das Hormon auf Zimmertemperatur erwärmt und das

Lyophilisat in physiologischer Kochsalzlösung rekonstituiert. 100 µg Angiotensin II-Acetat wurden in 50 ml 0,9%iger Natrium-Chlorid-Lösung gelöst und auf eine 50 ml Perfusorspritze aufgezogen. Als Placebosubstanz wurde isotone Kochsalzlösung verwendet.

2.5.2 Ablauf der Versuchstage

Eine tabellarische Übersicht über den zeitlichen Ablauf der Versuchstage kann aus der Tabelle 2 ersehen werden. An den Versuchstagen trafen die Probanden nach mindestens siebenstündigem Nachtschlaf und gewohntem Frühstück gegen 7:30 Uhr im neurophysiologischen Labor (Schlaflabor Haus 13, UKSH Campus Lübeck) ein. Nach Ankunft erfolgte im Liegen zunächst das Einbringen eines peripheren Venenverweilkatheters (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland, 18 bzw. 20 Gage) in je eine oberflächliche Unterarmvene beider Arme. Die Probanden wurden gebeten ihre Blase vollständig zu entleeren. In dieser Zeit stellte die Versuchsleiterin die jeweilige Infusionslösung her. Nach einer Ruhepause von mindestens 10 Minuten erfolgte durch einen der Zugänge die erste Blutentnahme.

Morgendliche Ruhephase vor Infusionsbeginn:

Zunächst erfolgte das Anschließen der Messapparatur. Nach dem Überprüfen der Funktionsfähigkeit aller Messgeräte erfolgte die dreimalige oszillometrische Blutdruckmessung in Ruhe zur Bestimmung des Blutdruckausgangsniveaus (Welch Allyn). Anschließend erfolgte bei ausgewählten Probanden die Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit in Ruhe. Zur Etablierung eines Ausgangsniveaus wurden hierfür ebenfalls drei Messungen durchgeführt.

Infusionsphase:

Für die kontinuierliche intravenöse Infusion wurde eine Spritzenpumpe (Perfusor® secura FT, B.Braun AG, Melsungen, Deutschland), die im Kontrollzimmer von der Versuchsleiterin bedient wurde, verwendet. Hierdurch war es möglich, die Infusionsgeschwindigkeit an den aktuellen Blutdruck des Probanden anzupassen.

Um 8:00 Uhr wurde bei Funktionsfähigkeit aller Geräte die Infusion gestartet. Die Reihenfolge von Verum- und Kontrollversuch erfolgte randomisiert und einfach

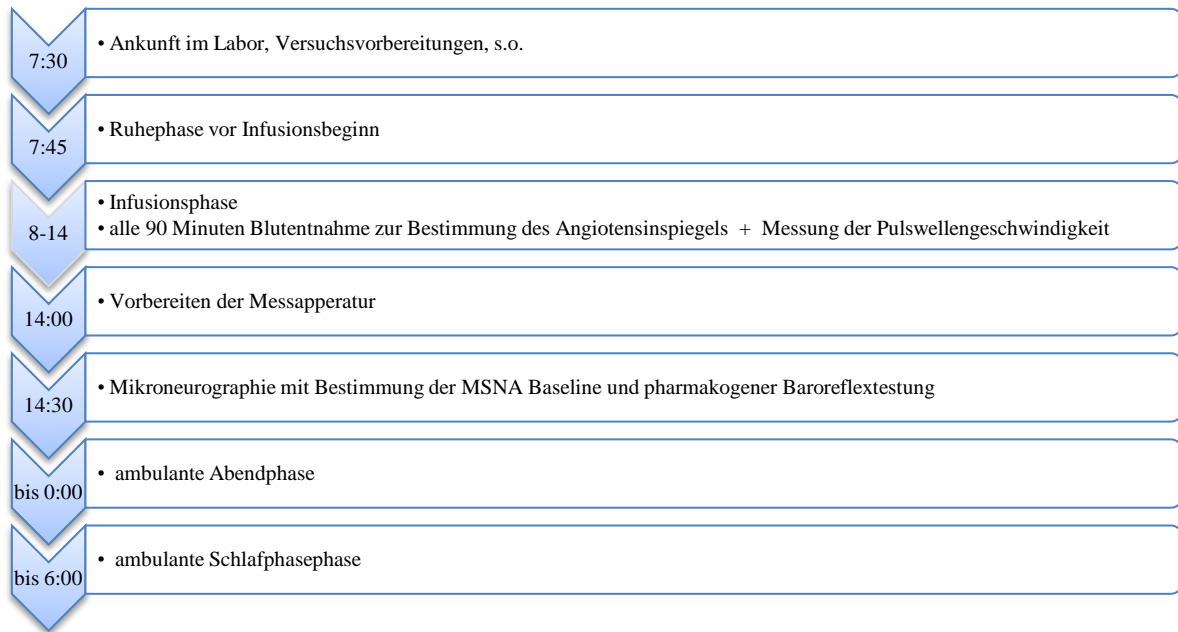
verblindet. Die initiale Infusionsgeschwindigkeit betrug 5 ml/h, sodass die Probanden eine Angiotensin II-Dosis von 10 µg/h erhielten. Im Verlauf war für einen adäquaten Blutdruckanstieg eine Angiotensin II-Dosis von 10,9 µg/h \pm 1,26 notwendig. Während der Infusionsphase von sechs Stunden verharrten die Probanden in liegender oder halbsitzender Ruheposition. Sie hatten die Möglichkeit sich während dieser Phase mit Bücherlesen, Fernsehen, Musikhören, etc. zu beschäftigen. Nach 90, 180 und 270 Minuten Versuchszeit erfolgte eine Blutentnahme aus dem freien venösen Zugang zur Angiotensin II-Spiegelbestimmung. Jeweils im Anschluss erfolgte die erneute Messung der Pulswellengeschwindigkeit. Den Probanden wurde gestattet, um 12:00 Uhr ein kleines mitgebrachtes Mittagessen zu verzehren. Die Zusammensetzung der Mahlzeit war an beiden Versuchstagen gleich und sollte den gewohnten Nährwerten des Probanden entsprechen. Bis zu dieser Zeit durften bis maximal 500 ml alkohol- und koffeinfreie Getränke getrunken werden.

Nach Ablauf der sechsstündigen Infusionsphase um 14:00 Uhr wurde die Infusion gestoppt. Es erfolgte zunächst die erneute dreimalige Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit. Die digitalisierten Daten wurden gespeichert. Mit einem zeitlichen Abstand von 15 Minuten zum Infusionsende erfolgte eine weitere Blutentnahme. Anschließend wurde der Proband zur Miktion aufgefordert, um den Sammelurin zu gewinnen.

Mikroneurographie und ambulanter Verlauf:

Gegen 14:30 Uhr konnte mit der mikroneurographischen Messung der MSNA (s.u.) begonnen werden. Gegen 16:30 Uhr war der Versuch beendet. Der Proband wurde mit einem portablen, oszillometrischen Langzeitblutdruckmessgerät (Space Labs®) ausgestattet, welches auch weiterhin in einem 20-minütigen Takt Blutdruck und Herzfrequenz aufzeichnete. Die Erfassung dieser Parameter erfolgte bis um 6:00 Uhr des Folgetages. Die Probanden sollten in dieser Zeit ihrem normalen Tages- und Nachtablauf nachgehen.

Table 2: Zeitlicher Überblick über den Versuchsablauf (gleicher Versuchsablauf unter Verum- bzw. Placebobedingungen).



2.5.3 Mikroneurographie und pharmakogene Baroreflextestung

Nach Positionierung der Ableitelektrode im muskulären Sympathikusfaszikel (s. 2.3.6) wurde das Messprotokoll mit einer 10-15 Minuten dauernden Ruhemessung begonnen, um das sympathische Grundaktivitätsniveau (Baseline) bei gegebenem Ruheblutdruck festzulegen. Anschließend erfolgte die Durchführung des pharmakogenen Barorezeptortests.

Bei der pharmakogenen Baroreflextestung wird die Baroreflex-Antwort auf direkte pharmakologische Blutdruckänderungen untersucht. Dem Protokoll von Eckberg und Fritsch (26) folgend, wurde während der mikroneurographischen Messung der arterielle Blutdruck mittels Nitroprussid-Natrium (Nipruss® Schwarz Pharma, Monheim am Rhein, Deutschland) zunächst gesenkt, im Anschluss daran mittels Phenylephrin (American-Regent Laboratories, INC.SHIRLEY, New York, USA) angehoben.

Das Medikament Nipruss® führt über eine NO-Freisetzung zu einer direkten Vasodilatation (1). Hauptwirkort stellen die Arteriolen und das Niederdrucksystem dar. Gegenregulatorisch kommt es zu einer starken Aktivierung der MSNA mit einer Zunahme der Anzahl der Bursts pro Minute (Burstrate) und der Burstamplitude. Verwendet wurde

das Nitroprussid-Natrium in einer verdünnten Lösung (1:100 in 5%iger Glukoselösung). Im Anschluss an die dritte Stufe erfolgte eine zehnmünütige Ruhephase zur Normalisierung des Blutdruckes infolge des vollständigen Abbaus des Medikamentes, welches eine Halbwertszeit von drei bis vier Minuten aufweist (1).



Abbildung 3 : Schematische Darstellung der Baroreflex-Testung mit vasoaktiven Substanzen

Tabelle 3: Infusionsschema während der MSNA-Ableitung in chronologischer Reihenfolge. Die angegebenen Infusionsgeschwindigkeiten und Dosisbereiche entsprechen den Werten zwischen 50 und 100 kg Körpergewicht.

| Nitroprussid-Natrium (Konzentration: 6mg ad 50 ml Glukose 5%) | | | |
|--|--|-----------------------|---------------|
| Stufe: | Infusionsgeschwindigkeit nach Körpergewicht | Absolute Menge | Dauer: |
| Initial | 6 ml/h | | 3 min |
| N1 | 0,15 ml/kg/h | 0,9 – 1,8 mg/h | 5 min |
| N2 | 0,35 ml/kg/h | 2,1 – 4,2 mg/h | 5 min |
| N3 | 0,55 ml/kg/h | 3,3 – 6,6 mg/h | 5 min |
| Phenylephrin (Konzentration: 10 mg ad 50 ml NaCl 0,9%) | | | |
| Initial | 6ml/h | | 3 min |
| P1 | 0,09 ml/kg/h | 0,9 – 1,8 mg/h | 5 min |
| P2 | 0,21 ml/kg/h | 2,1 – 4,2 mg/h | 5 min |
| P3 | 0,30 ml/kg/h | 3 – 6 mg/h | 5 min |

Bei Phenylephrin handelt es sich um ein Phenylethylamin-Derivat. Es stimuliert die α_1 -Rezeptoren der Gefäßmuskulatur peripherer Arterien (2). Es kommt zur Vasokonstriktion und über die damit verbundene Blutdrucksteigerung zu einer Aktivierung

des Barorezeptorreflexes mit daraus resultierender Abnahme der MSNA. Eine 10 mg-Ampulle Phenylephrin wurde ad 50 ml mit 0,9%iger Natrium-Chlorid-Lösung verdünnt.

Die Applikation beider Medikamente erfolgte in drei gewichtsadaptierten, jeweils 5 Minuten dauernden Stufen, bezeichnet als N1-N3 und P1-P3. Am Ende jeder Dosisstufe wurden oszillometrisch der Blutdruck, die Herzfrequenz und die MSNA gemessen.

2.6 Datenanalyse und Statistik

Sämtliche Daten wurden für beide Versuchsbedingungen separat ausgewertet und als Gruppenmittelwert \pm Standardfehler (mean \pm SEM) der jeweiligen Versuchsbedingung angegeben. Als Ausnahme wurden bei Alter und BMI der Probanden Gruppenmittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm SD), für den BMI zusätzlich ein Range, angegeben.

Die sympathischen Bursts der gespeicherten mikroneurographischen Messungen wurden visuell am Computerbildschirm detektiert und rechnergestützt ausgewertet (Chart for Windows®, ADInstruments, Heidelberg, Deutschland). Für die Baselinebestimmung wurden die Burst-Raten der am besten auszuwertenden acht Minutenabschnitte der 15-minütigen Ruhemessung berücksichtigt. Ausgewertet wurden weiterhin die jeweils letzten zwei Minuten der einzelnen Dosisstufen während der Baroreflextestung sowie die jeweilig zugehörigen Herzfrequenzen. Die Auswertung erfolgte verblindet bezüglich Proband und Versuchsbedingung und wurde, um Bias zu vermeiden, durch den Betreuer der Studie kontrolliert.

Die Daten der oszillometrischen Langzeitblutdruckmessungen wurden für folgende Intervalle der jeweiligen Versuchstage ausgewertet:

1) Ausgangsbedingung:

Initialer Blutdruck-Ruhewert: Mittelwert der dreifachen Blutdruckkalibrierung vor Infusionsbeginn von Angiotensin II bzw. Placebo.

2) Infusionsphase (8:00 – 14:00 Uhr):

Während der Infusion wurde der Blutdruck in 20-minütigen Abständen aufgezeichnet und zu Stundenmittelwerten gemittelt.

3) Baselinemessung:

Verwendet wurden die während der MSNA aufgezeichneten Blutdruckwerte in Ruhe und während der Baroreflextestung.

4) Ambulante Messwerte (ca. 17:00 Uhr):

Ausgewertet wurden die Stundenmittelwerte für Herzfrequenz und Blutdruck. Es wurden zwei Unterabschnitte der ambulanten Blutdruckmessung definiert:

Abendstunden (bis 24:00 Uhr) und Nachtstunden (Nachtschlaf bis 6:00 Uhr).

Die individuelle Baroreflex-Sensitivität wurde durch Quotientbildung der Herzfrequenz- oder MSNA-Änderung gegen die Änderung des MAD berechnet. Als deskriptive Aufarbeitung wurde zudem für die Durchschnittswerte der Baroreflexdaten eine logistische 4-Parameter Funktion angewendet, um die sigmoide Beziehung darzustellen. Dieses Vorgehen entspricht dem internationalen Standard (97).

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Varianzanalyse (ANOVA = analysis of variance) für gepaarte Stichproben mit dem Messwiederholungsfaktor ‚Zeit‘, sowie dem Gruppenfaktor ‚Bedingung‘ (Angiotensin II vs. Placebo) i.S. einer 2-ANOVA. Zeigte sich in der ANOVA eine Signifikanz, erfolgte eine weitere Spezifizierung (posthoc-Analyse) mittels Paarvergleich der Einzelwerte (zweiseitiger *t*-Test für gepaarte Stichproben). Die Freiheitsgrade wurden nach Greenhouse-Geisser korrigiert. Als Signifikanzniveau wurde ein *p*-Wert < 0,05 definiert. Für die Baroreflexperiode wurde zudem eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit den abhängigen Variablen Blutdruck, MSNA und Herzfrequenz sowie dem festen Faktor ‚Bedingung‘ durchgeführt, gefolgt von einer univariaten Testung für die einzelnen Variablen. Für die Berechnungen wurde das Statistikprogramm IBM SPSS für Windows, Version 22 (München, Deutschland) verwendet.

1) Ausgangsbedingung

Vor Infusionsbeginn zeigten sich hinsichtlich Blutdruck und Herzfrequenz zwischen den beiden Bedingungen (Angiotensin II und Placebo) keine Unterschiede (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Ruhephase vor der Infusion (ca. 7:45 Uhr). Oszillometrisch gemessener arterieller Blutdruck und Herzfrequenz. Gemessen im Liegen nach mind. zehnmütiger Ruhephase (n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | p |
|-----------------------------------|----------------|-------------|------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | |
| Systolischer RR (mmHg) | 125,4 ± 3,1 | 122,0 ± 2,4 | n.s. |
| Diastolischer RR (mmHg) | 77,3 ± 2,0 | 73,8 ± 1,6 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 93,3 ± 2,2 | 89,8 ± 1,6 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 70,7 ± 2,0 | 68,1 ± 3,1 | n.s. |

2) Infusionsphase

Im Vergleich zur Placebobedingung konnten durch die sechsstündige Angiotensin II-Infusion der MAD, der systolische und der diastolische Blutdruck signifikant angehoben werden. Die mittlere Herzfrequenz unterschied sich zwischen den Bedingungen nicht (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Durchschnittlicher oszillometrisch gemessener arterieller Blutdruck und Herzfrequenz während der sechsstündigen Angiotensin II-Infusionsphase (8:00 Uhr bis 14:00 Uhr; n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | p |
|-----------------------------------|----------------|-------------|--------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | |
| Systolischer RR (mmHg) | 136,7 ± 3,3 | 122,6 ± 2,7 | <0,001 |
| Diastolischer RR (mmHg) | 84,5 ± 1,7 | 71,8 ± 1,8 | <0,001 |
| MAD (mmHg) | 101,9 ± 1,9 | 88,8 ± 1,8 | <0,001 |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 68,3 ± 2,6 | 67,9 ± 2,8 | n.s. |

3) Baselinemessung

Während der Baselinemessung zur Baroreflexbeurteilung, ca. eine Stunde nach Infusionsende, lag der im Liegen gemessene systolische Blutdruck in der Verumbedingung signifikant über den Werten in der Kontrollbedingung. Der diastolische Blutdruck und die Herzfrequenz zeigten keinen signifikanten Unterschied (*siehe Tabelle 6*).

Tabelle 6: Oszillometrisch gemessener arterieller Blutdruck und Herzfrequenz ca. eine Stunde nach Beenden der Angiotensin II- Infusion zur Bestimmung der „Baseline“ (ca.15:30 Uhr, n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | |
|-----------------------------------|----------------|-------------|-------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | p |
| Systolischer RR (mmHg) | 129,3 ± 3,5 | 120,9 ± 2,7 | <0,05 |
| Diastolischer RR (mmHg) | 75,6 ± 1,9 | 73,2 ± 2,2 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 93,5 ± 2,1 | 89,1 ± 2,1 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 68,2 ± 2,3 | 65,0 ± 2,4 | n.s. |

4) Ambulante Messwerte

Die Zeitspanne der ambulanten Blutdruckmessung wurde in folgende Abschnitte untergliedert:

a) Abendstunden

Hinsichtlich Blutdruck und Herzfrequenz unterschieden sich die ambulanten Messwerte in den Abendstunden zwischen beiden Bedingungen nicht (*siehe Tabelle 7*).

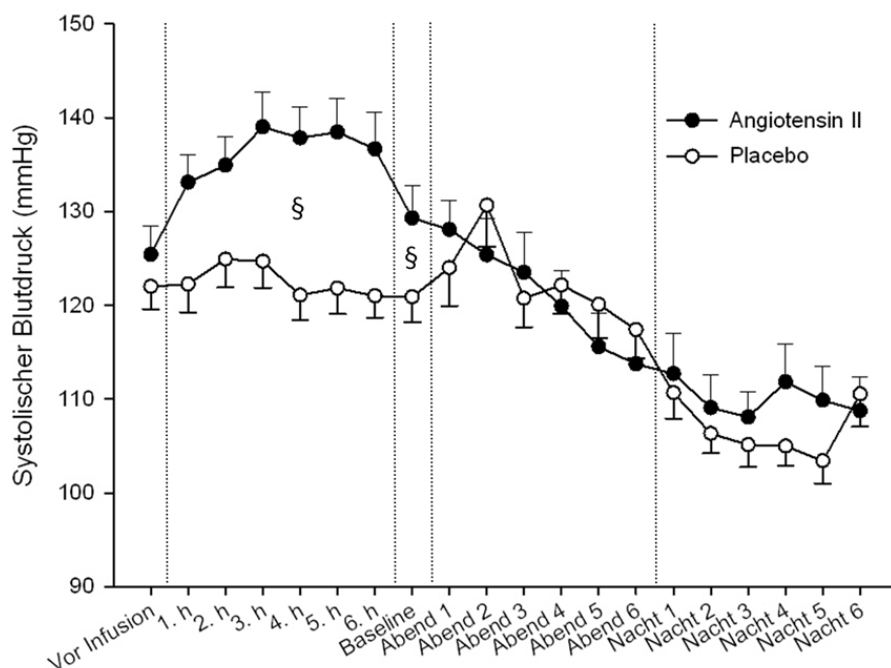
b) Nachtstunden

Es zeigten sich während der Nacht in der ambulanten Blutdruck- und Herzfrequenzmessung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tabelle 7: Ambulante, oszillometrisch gemessene arterielle Blutdruck- und Herzfrequenzwerte nach Verlassen des Labors. Einteilung in zwei sechsstündige Abschnitte (sechs Stunden Abendzeit, sechs Stunden Nachtschlaf, n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | P |
|-------------------------------------|----------------|-------------|------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | |
| Abendstunden (sechs Stunden) | | | |
| Systolischer RR (mmHg) | 121,0 ± 3,9 | 122,5 ± 3,9 | n.s. |
| Diastolischer RR (mmHg) | 71,7 ± 2,3 | 73,6 ± 2,6 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 88,1 ± 3,0 | 89,9 ± 2,8 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 82,4 ± 5,2 | 81,3 ± 5,0 | n.s. |
| Nachtschlaf (sechs Stunden) | | | |
| Systolischer RR (mmHg) | 110,1 ± 3,6 | 106,8 ± 2,7 | n.s. |
| Diastolischer RR (mmHg) | 59,4 ± 2,1 | 58,4 ± 2,0 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 76,3 ± 2,4 | 74,5 ± 2,0 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 65,0 ± 4,3 | 63,8 ± 3,7 | n.s. |

Die Abbildungen 4a-c geben einen graphischen Überblick über den Verlauf von systolischem bzw. diastolischem Blutdruck und der Frequenz über den Versuchszeitraum.



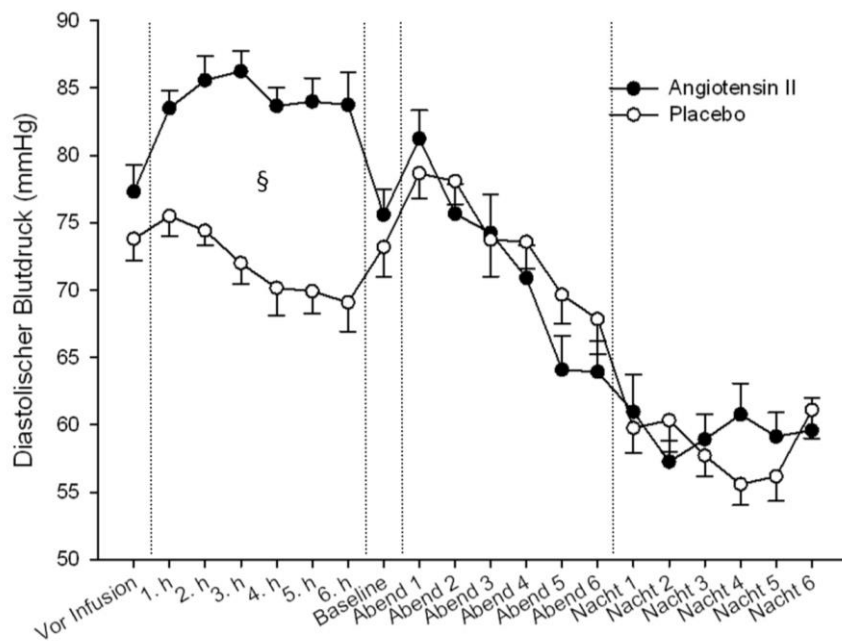
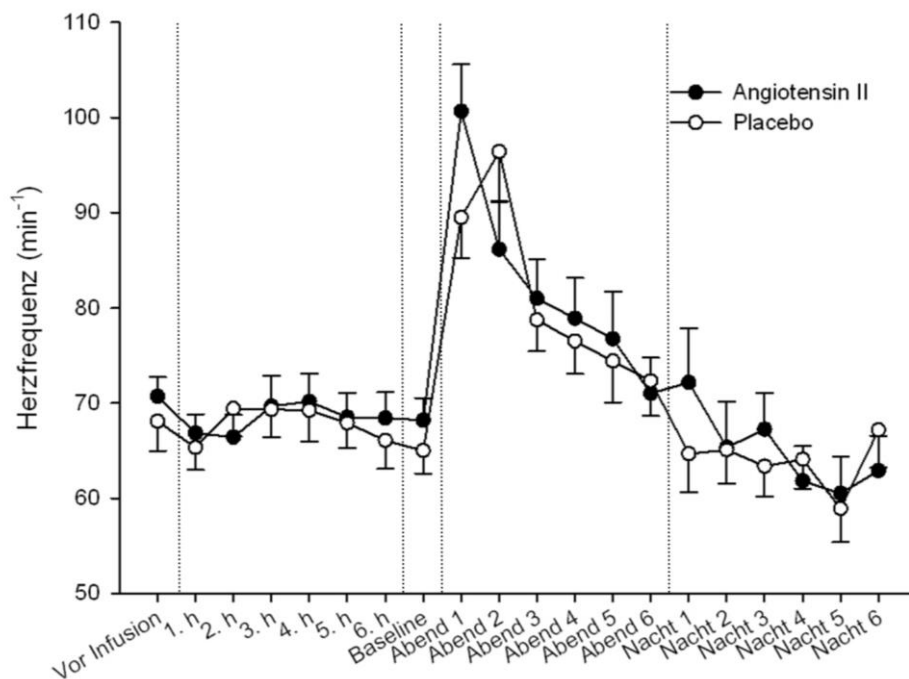


Abbildung 4a – c : Verlauf der oszillometrisch ermittelten systolischen und diastolischen Blutdruckwerte sowie der Herzfrequenz über den gesamten Messzeitraum. Der Messzeitraum besteht aus der Ausgangsbedingung (vor Infusion), der Infusionsperiode (1.-6.h), der Baselinemessung sowie den Messwerten in den ambulanten Abend- und Nachtstunden (Abend 1-6 und Nacht 1-6). (§ = $p < 0,05$, ANOVA für Infusionsperiode bzw. Baseline)



3.3 Baroreflexuntersuchung

3.3.1 Baroreflex-Baselinemessung

Die MSNA-Burstrate während der Baselinemessung unterschied sich nach Angiotensin II-Infusion nicht von der Placebobedingung; der systolische, nicht aber der diastolische Blutdruck war signifikant erhöht. Die Herzfrequenz blieb unverändert (*siehe Tabelle 8*).

Tabelle 8: Mittlerer arterieller, systolischer und diastolischer Druck, Herzfrequenz und MSNA-Burstrate während der Baselinemessung (n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | |
|-----------------------------------|----------------|-------------|-------|
| Baselinemessung | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P |
| Systolischer RR (mmHg) | 129,3 ± 3,5 | 120,9 ± 2,7 | <0,05 |
| Diastolischer RR (mmHg) | 75,6 ± 1,9 | 73,2 ± 2,2 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 93,5 ± 2,1 | 89,1 ± 2,1 | n.s. |
| MSNA (Bursts/min) | 14,6 ± 2,3 | 12,6 ± 2,1 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 68,2 ± 2,3 | 65,0 ± 2,4 | n.s. |

3.3.2 Baroreflextestung

Baroreflexantwort bei Vasodilatation und Vasokonstriktion

Die über den Baroreflex getriggerte Sympathikusaktivierung bzw. Sympathoinhibition erfolgte jeweils in drei gewichtsadaptierten Stufen. Der maximale Blutdruckabfall (Stufe 3) wird aus Tabelle 9 ersichtlich. Unter pharmakogener Vasodilatation lagen die systolischen Blutdruckwerte in allen 3 Dosisstufen N1-N3 signifikant über der Kontrolle. Bei pharmakogener Vasokonstriktion unterschied sich der systolische Blutdruck nur in der ersten Dosisstufe P1 signifikant von der Kontrolle. Bei Dosissteigerung des Phenylephrins glichen sich die systolischen Werte beider Bedingungen an (*siehe Abbildung 5a*). Die oszillometrisch ermittelten diastolischen Blutdruckwerte, der MAD und die MSNA-Burstrate unterschieden sich nach maximaler

Vasodilatation bzw. Vasokonstriktion in beiden Bedingungen nicht. Die Herzfrequenz lag bei maximaler Blutdrucksenkung nach Angiotensin II signifikant über den Werten der Kontrollbedingung, bei Sympathoinhibition zeigten sich hingegen keine Herzfrequenzunterschiede (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: Kardiovaskuläre Parameter und MSNA-Burstrate bei maximaler Aktivierung bzw. Inhibition des Baroreflexbogens mittels Nitroprussid-Natrium und Phenylephrin (n.s. = nicht signifikant).

| Kardiovaskuläre Parameter | Angiotensin II | Kontrolle | |
|--|----------------|-------------|-------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P |
| Maximale Baroreflex-Aktivierung | | | |
| Systolischer RR (mmHg) | 119,8 ± 4,9 | 112,1 ± 4,0 | <0,05 |
| Diastolischer RR (mmHg) | 60,6 ± 2,2 | 57,5 ± 2,9 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 79,3 ± 2,7 | 74,9 ± 3,1 | n.s. |
| MSNA (Bursts/min) | 42,3 ± 3,5 | 38,2 ± 4,2 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 87,9 ± 2,9 | 83,8 ± 3,7 | <0,05 |
| Maximale Baroreflex-Dämpfung | | | |
| Systolischer RR (mmHg) | 141,0 ± 2,9 | 135,6 ± 3,3 | n.s. |
| Diastolischer RR (mmHg) | 88,3 ± 1,8 | 86,7 ± 2,5 | n.s. |
| MAD (mmHg) | 105,3 ± 1,8 | 101,7 ± 2,6 | n.s. |
| MSNA (Bursts/min) | 3,1 ± 0,8 | 1,5 ± 0,6 | n.s. |
| Herzfrequenz (min ⁻¹) | 56,0 ± 3,7 | 52,4 ± 2,2 | n.s. |

3.3.3 Baroreflex-Setpoint und -sensitivität

Der Baroreflex-Setpoint kann als dasjenige Blutdruckniveau aufgefasst werden, das sich beim wachen, entspannt liegenden Probanden einstellt und um das die efferente Sympathikusaktivität reflektorisch schwankt. Die vaskuläre Baroreflexsensitivität kann als Ausmaß der MSNA-Änderung bei gegebener Blutdruckveränderung betrachtet werden.

Bei der kardialen Baroreflexsensitivität wird die Änderung der sympathischen Aktivität durch die Änderungen der Herzfrequenz repräsentiert. Das Ausmaß der MSNA-Änderung als Reaktion auf die pharmakogene Blutdruckmanipulation unterschied sich zwischen den beiden Versuchsbedingungen weder bei Sympathikusaktivierung infolge pharmakogener Vasodilatation noch bei Sympathoinhibition durch Blutdruckerhöhung (*siehe Tabelle 10*).

Tabelle 10: Die Baroreflexsensitivität wird als MSNA-Änderung in Relation zur Blutdruckveränderung gegenüber der Baseline berechnet (*n.s.* = nicht signifikant).

| | Angiotensin II | Kontrolle | |
|---|----------------|------------|------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P |
| Maximale Blutdrucksenkung unter Nitroprussid-Natrium | | | |
| Baroreflexsensitivität | | | |
| Δ MSNA/Δ MAD (Bursts min ⁻¹ /mmHg) | 2,9 ± 0,6 | 3,6 ± 1,4 | n.s. |
| Δ HF/Δ MAD (min ⁻¹ /mmHg) | 2,2 ± 0,6 | 2,9 ± 1,5 | n.s. |
| Maximaler Blutdruckanstieg Unter Phenylephrin | | | |
| Baroreflexsensitivität | | | |
| Δ MSNA/Δ MAD (Bursts min ⁻¹ /mmHg) | 1,3 ± 0,3 | 0,9 ± 0,2 | n.s. |
| Δ HF/Δ MAD (min ⁻¹ /mmHg) | 1,1 ± 0,2 | 0,9 ± 0,1 | n.s. |

Die vaskuläre Baroreflexfunktion kann graphisch mittels einer Korrelationskurve, die sich aus der Korrelation von MSNA zum Blutdruck ergibt, dargestellt werden. Die Steigung der Geraden beschreibt die Baroreflex-Sensitivität: je steiler die Kurve ist, desto sensitiver ist der Baroreflexbogen. Es ergibt sich typischerweise ein sigmoidaler Kurvenverlauf (*Abbildung 5a und 5b*).

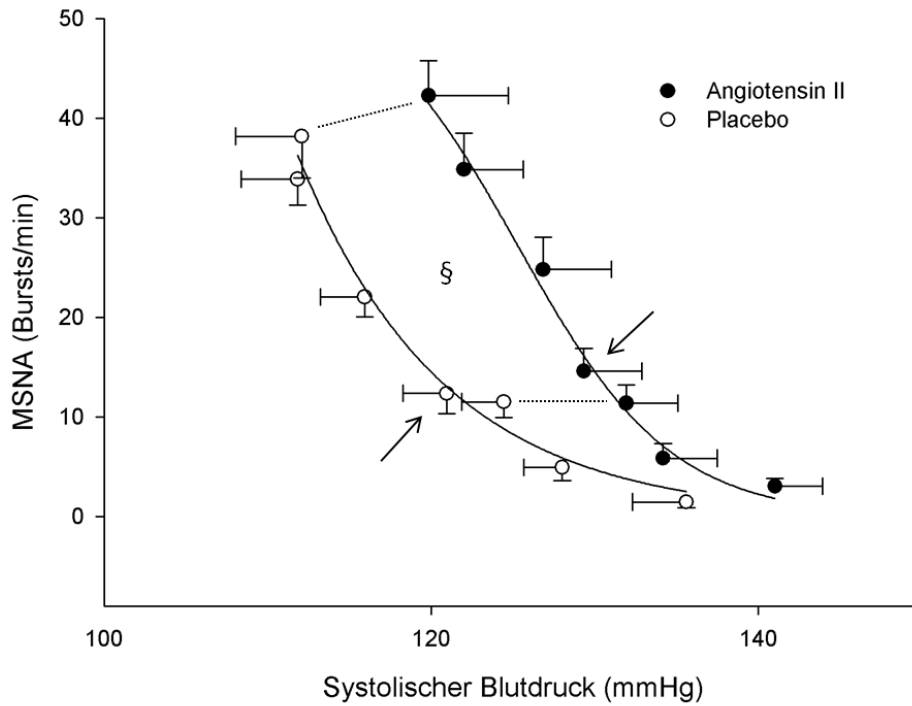
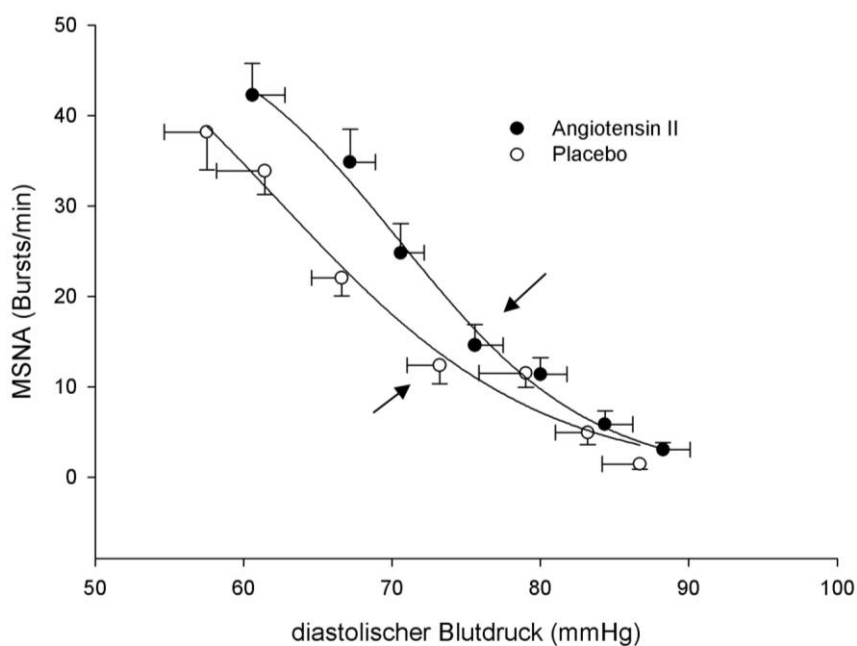


Abbildung 5a und b: Graphische Korrelation von MSNA (Bursts/min) und systolischem (Abbildung 5a) bzw. diastolischem (Abbildung 5b) Blutdruck (mmHg). Ausgehend von dem in Ruhe gemessenen Baselinewert (\rightarrow) wurde der Blutdruck durch die vasoaktiven Substanzen moduliert ($\S = p < 0,05$).



Wie aus der Abbildung 5a ersichtlich wird, kam es in der Angiotensin II-Bedingung zu einer annähernd parallelen Verschiebung der Baroreflexkurve zu signifikant erhöhten systolischen Blutdrücken, die während der pharmakogenen Baroreflexaktivierung das Signifikanzniveau erreichte, im Verlauf der pharmakogenen Baroreflexdämpfung (Stufe P2 und P3) hingegen nicht fortbestand. Aus Abbildung 5b wird ersichtlich, dass keine signifikante Verschiebung der diastolischen Korrelationskurve stattgefunden hat. Die Steilheit der beiden Kurven ist nahezu gleich, es kam somit zu keiner Veränderung der Baroreflexsensitivität. Hinsichtlich der diastolischen Werte zeigte sich keine signifikante Verschiebung der Baroreflexkurve.

Wird die Blutdruckänderung mit der Veränderung der Herzfrequenz korreliert, bildet der entstehende Graph die kardiale Baroreflex-Sensitivität ab (*siehe Abbildung 6*). Die Abbildung 6 zeigt, dass eine Parallelverschiebung zu höheren Blutdrücken stattgefunden hat; die Herzfrequenzen waren während der Baroreflextestung zwar gegenüber der Placebobedingung erhöht, erreichten jedoch nicht das festgelegte Signifikanzniveau.

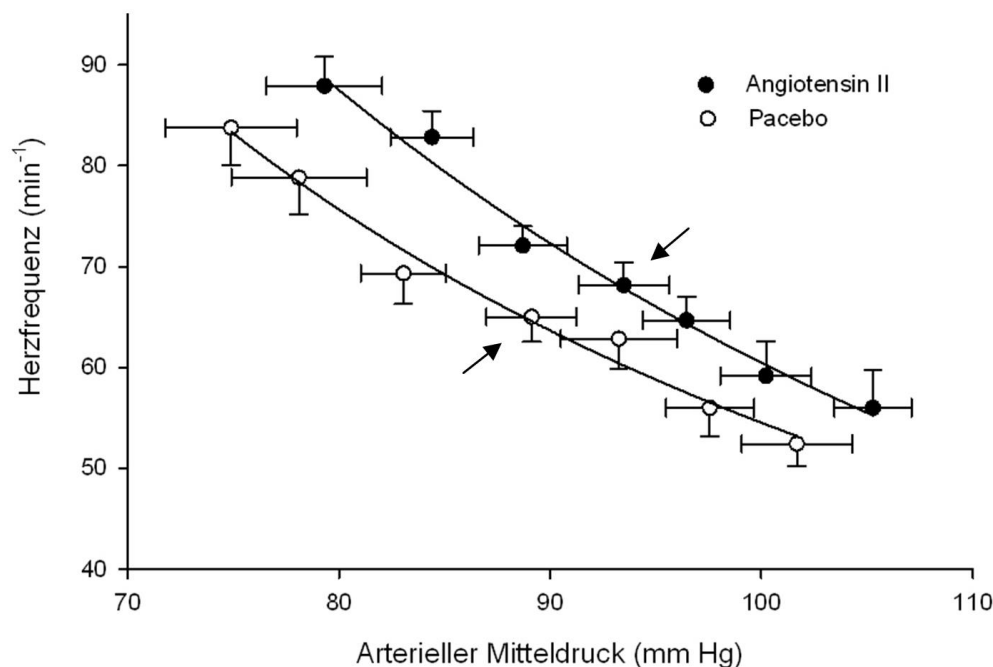


Abbildung 6: Graphische Korrelation von Herzfrequenz und arteriellem Mitteldruck. Ausgehend von dem in Ruhe gemessenen Setpoint (\rightarrow) wurde der Blutdruck durch vasoaktive Substanzen moduliert.

In Abbildung 7 ist die Baroreflexsensitivität graphisch als MSNA-Änderung in Relation zur Veränderung des mittleren arteriellen Blutdrucks gegenüber der Baseline dargestellt. Diese Abbildung normalisiert die signifikanten systolischen Blutdruckunterschiede des Baroreflex-Setpoints. Die Steigungen beider Geraden sind sowohl bei medikamentöser Blutdrucksenkung als auch bei Blutdruckanstieg nahezu identisch. Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass sich die beiden Bedingungen hinsichtlich ihrer Sensitivität und Reagibilität auf Blutdruckveränderungen nicht unterscheiden.

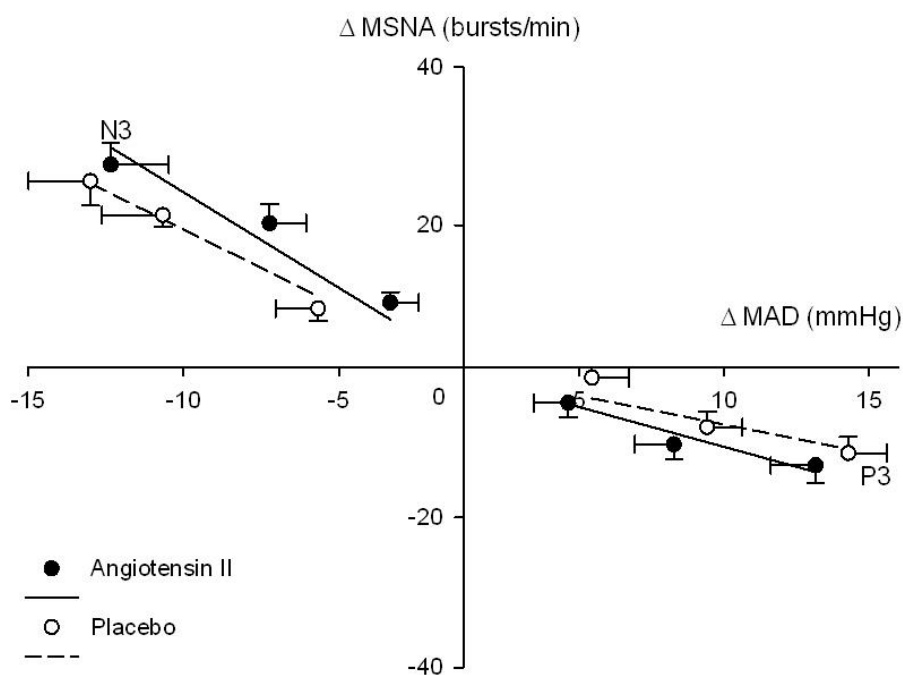


Abbildung 7: Graphische Darstellung der Änderung der MSNA-Burstrate gegenüber der Baseline im Verhältnis zur Änderung des MAD gegenüber der Baseline während der pharmakogenen Baroreflextestung.

3.4 Gefäßsteifigkeitsbestimmung: Pulswellengeschwindigkeit, aortaler Augmentationsindex und aortaler Pulsdruck

Wegen hoher Störanfälligkeit der Messungen konnten diese nur bei sechs der 12 ausgewerteten Probanden zu allen Messzeitpunkten suffizient durchgeführt werden. Die Auswertung kann daher nur als explorativ gewertet werden und die gemessenen Werte können nur als grobe Orientierung gelten. Die statistische Power ist zur Etablierung solider Aussagen jedoch zu gering.

3.4.1 Pulswellengeschwindigkeit

Tabelle 11 zeigt eine Übersicht über die aortale Pulswellengeschwindigkeit vor, während und nach der sechsständigen Infusion des Vasokonstriktors Angiotensin II bzw. Natrium-Chlorid-Lösung. Vor Beginn der Infusion bestand zwischen den beiden Versuchsbedingungen kein Unterschied. Durch Angiotensin II konnte die aortale Pulswellengeschwindigkeit signifikant gesteigert werden. In der Placebobedingung veränderte sich der Parameter nicht. Eine Stunde nach Beenden der Infusion bestand zwischen den Bedingungen kein signifikanter Unterschied mehr.

Tabelle 11: Übersicht über die oszillometrisch ermittelte aortale Pulswellengeschwindigkeit vor, während und nach der Infusion von Angiotensin II bzw. Placebo. ANOVA $p < 0,05$ für Bedingung (Ang-II vs. Kontrolle) und für Messzeitpunkt (Ang-II Ausgangsbedingung vs. Infusionsperiode), n.s. für Interaktion von Bedingung und Messzeitpunkt; post-hoc Analyse mittels Paarvergleich der Einzelwerte (t-Test).

| Pulswellengeschwindigkeit (m/s) | Angiotensin II | Kontrolle | |
|---------------------------------|----------------|-------------|-------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P |
| Ausgangsbedingung | 6,14 ± 0,25 | 5,94 ± 0,23 | n.s. |
| Infusionsperiode | 6,91 ± 0,17 | 6,12 ± 0,24 | <0,01 |
| Baroreflex-Baselinemessung | 5,98 ± 0,21 | 6,21 ± 0,21 | n.s. |

3.4.2 Aortaler Augmentationsindex

Beim aortalen Augmentationsindex handelt es sich um den Druckanteil, den die reflektierte Pulswelle an der aortalen Gesamtpulsdruckwelle ausmacht. Der Wert wird in Prozent angegeben. Tabelle 12 zeigt den Überblick über den Augmentationsindex vor, während und nach der sechsstündigen Infusionsperiode. Vor Beginn der Infusion bestand zwischen den beiden Bedingungen kein Unterschied. Durch Angiotensin II-Gabe stieg der Anteil der reflektierten Pulswelle an der Gesamtdruckkurve deutlich an. In der Placebobedingung sank der aortale Augmentationsindex hingegen ab. Damit lag der aortale Augmentationsindex in der Angiotensin II-Bedingung während der Infusionsperiode deutlich über der Placebobedingung und sank nach Beenden der Infusion näherungsweise auf das Ausgangsniveau (*siehe Tabelle 12*).

Tabelle 12: Oszillometrisch ermittelter aortaler Augmentationsindex vor, während und nach der Infusion von Angiotensin II bzw. Placebo, ANOVA $p < 0,05$ für Bedingung (Ang-II vs. Kontrolle) und für Messzeitpunkt (Ang-II Ausgangsbedingung vs. Infusionsperiode) sowie Interaktion von Bedingung und Messzeitpunkt; post-hoc Analyse mittels Paarvergleich der Einzelwerte (*t-Test*).

| Aortaler Augmentationsindex (%) | Angiotensin II | Kontrolle | |
|---------------------------------|----------------|-------------|-------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | p |
| Ausgangsbedingung | 7,35 ± 1,79 | 7,44 ± 1,80 | n.s. |
| Infusionsperiode | 11,72 ± 1,47 | 4,22 ± 1,16 | <0,01 |
| Baseline | 5,58 ± 1,56 | 6,60 ± 1,06 | n.s. |

3.4.3 Aortaler Pulsdruck

Die Tabelle 13 zeigt die aortalen Pulsdruckwerte, die vor, während und nach der Infusion von Angiotensin II bzw. Placebo berechnet wurden. Zu allen Messzeitpunkten zeigte sich zwischen den beiden Bedingungen (Angiotensin II vs. Placebo) kein signifikanter Unterschied (*siehe Tabelle 13*).

Tabelle 13: Oszillometrisch ermittelter aortaler Pulsdruck vor, während und nach der Infusion von Angiotensin II bzw. Placebo, Analyse mittels ANOVA und Paarvergleich der Einzelwerte (n.s. = nicht signifikant).

| Aortaler Pulsdruck (mmHg) | Angiotensin II | Kontrolle | |
|---------------------------|----------------|------------|------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P |
| Ausgangsbedingung | 36,9 ± 2,8 | 37,4 ± 1,7 | n.s. |
| Infusionsperiode | 40,8 ± 2,0 | 39,3 ± 2,1 | n.s. |
| Baseline | 39,8 ± 1,9 | 36,1 ± 1,7 | n.s. |

3.5 Laborergebnisse

3.5.1 Blutwerte

Tabelle 14 zeigt eine Übersicht über die Plasma- bzw. Serumspiegel zirkulierender kreislaufregulierender Hormone vor und nach der Infusion von Angiotensin II bzw. Placebo. In der Angiotensin II-Bedingung kam es zu einem signifikanten Abfall der Renin-Konzentration bei gleichzeitigem signifikanten Anstieg der Aldosteron- und Vasopressin-Konzentration. Die Angiotensin II-Konzentration war in der Verumbedingung bereits ca. 15 Minuten nach Beenden der Angiotensin II-Infusion nicht mehr signifikant gegenüber der Ausgangskonzentration erhöht. In der Kontrollbedingung fielen die Konzentrationen von Renin, Angiotensin II und Aldosteron nach Beenden der Placebo-Infusion signifikant unter ihren Ausgangswert. Der Vasopressinspiegel blieb unverändert. Zudem vergleicht Tabelle 14 die beiden Versuchsbedingungen vor und nach Verabreichen von Angiotensin II bzw. Kochsalzlösung hinsichtlich der oben genannten Blutparameter. Vor der Infusion unterschieden sich die beiden Gruppen nicht. 15 Minuten nach Beenden der jeweiligen Infusion zeigten sich zwischen den Versuchsbedingungen signifikante Unterschiede der Plasma-Spiegel von Renin und Aldosteron. Der Adrenalinpiegel veränderte sich bei beiden Bedingungen nicht. In beiden Bedingungen kam es innerhalb des betrachteten Zeitintervalls zu einem Abfall der Noradrenalin-Konzentration, in der Angiotensin II-Bedingung erreichte dieser Abfall jedoch nicht das Signifikanzniveau (siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Übersicht über kardiovaskuläre und homöostatische Laborparameter unmittelbar vor und ca. 15 Minuten nach der Infusion von Angiotensin II bzw. isotoner Natrium-Chlorid-Lösung (n.s. = nicht signifikant).

| Parameter (pg/ml) | Angiotensin II-Bedingung | | | Kontrollbedingung | | | Ang-II vs. Kontrollbed. | |
|-------------------|--------------------------|---------------|---------|-------------------|---------------|-------|-------------------------|-------|
| | Vor Infusion | Post Infusion | | Vor Infusion | Post Infusion | | Vor | Post |
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P | Mean ± SEM | Mean ± SEM | p | P | p |
| Renin | 8.7 ± 1.1 | 3.4 ± 0.4 | <0.0001 | 9.6 ± 1.6 | 7.0 ± 1.0 | <0.01 | n.s. | <0.01 |
| Angiotensin II | 9.3 ± 1.7 | 8.3 ± 2.3 | n.s. | 8.9 ± 0.9 | 7.0 ± 0.9 | <0.05 | n.s. | n.s. |
| Aldosteron | 110.3 ± 20.6 | 151.7 ± 23.9 | <0.05 | 104.9 ± 14.2 | 32.0 ± 4.3 | <0.01 | n.s. | <0.01 |
| Adrenalin | 26.8 ± 3.4 | 27.8 ± 5.1 | n.s. | 23.2 ± 3.0 | 25.8 ± 6.7 | n.s. | n.s. | n.s. |
| Noradrenalin | 278.1 ± 35.4 | 202.3 ± 24.1 | n.s. | 233.2 ± 18.3 | 186.1 ± 10.1 | <0.05 | n.s. | n.s. |
| Vasopressin | 2.15 ± 0.29 | 2.60 ± 0.37 | <0.05 | 2.25 ± 0.43 | 2.22 ± 0.42 | n.s. | n.s. | n.s. |

Bei Betrachtung der Blutspiegel der Elektrolyte Natrium und Kalium, sowie der Serumsmolalität zeigte sich weder in der Angiotensin II-Bedingung noch in der Kontrolle eine Angiotensin II-bedingte Dynamik. Die Spiegel aller betrachteten Parameter blieben über den Versuchszeitraum konstant und unterschieden sich zwischen den Bedingungen nicht (vergleiche Tabelle 15).

Tabelle 15: Übersicht über die Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration des Blutes unmittelbar vor und ca. 15 Minuten nach der Infusion von Angiotensin II bzw. isotoner Natrium-Chlorid-Lösung (n.s. = nicht signifikant).

| Parameter | Angiotensin II-Bedingung | | | Kontrollbedingung | | | Ang-II vs. Kontrollbed. | |
|-------------------------|--------------------------|---------------|------|-------------------|---------------|------|-------------------------|------|
| | Vor Infusion | Post Infusion | | Vor Infusion | Post Infusion | | Vor | Post |
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | P | Mean ± SEM | Mean ± SEM | p | p | P |
| Osmolalität (mosmol/kg) | 290.5 ± 1.7 | 289.6 ± 1.5 | n.s. | 289.9 ± 1.8 | 290.1 ± 1.6 | n.s. | n.s. | n.s. |
| Natrium (mmol/l) | 138.8 ± 0.5 | 139.1 ± 0.7 | n.s. | 138.3 ± 0.5 | 138.5 ± 0.6 | n.s. | n.s. | n.s. |
| Kalium (mmol/l) | 3.8 ± 0.1 | 3.8 ± 0.1 | n.s. | 3.9 ± 0.1 | 3.9 ± 0.1 | n.s. | n.s. | n.s. |

3.5.2 Sammelurin

Die Sammelzeit für den Urin betrug ca. sechs Stunden einschließlich der Infusionsperiode. Das Urinvolumen unterschied sich zwischen den Bedingungen nicht. Die Ausscheidung von Kreatinin lag innerhalb des betrachteten Intervalls in der Angiotensin II-Bedingung signifikant über der Kontrolle, die Natriumausscheidung war gegenüber Placebo signifikant verringert. Die tendenziell geringere Ausscheidung von Chlorid in der Verumbedingung erreichte nicht das Signifikanzniveau. Hinsichtlich Osmolalität und Ausscheidungsraten für Adrenalin, Noradrenalin und Metanephrin gab es zwischen den beiden Bedingungen keinen Unterschied (*siehe Tabelle 16*).

Tabelle 16: Überblick über die Gesamtstoffmengen, die nach sechs Stunden im Sammelurin nach Infusion mit Angiotensin II bzw. isotoner Natrium-Chlorid-Lösung ausgeschieden wurden.

| Parameter/6h Sammelzeit | Angiotensin II | Kontrolle | p |
|----------------------------|----------------|--------------|-------|
| | Mean ± SEM | Mean ± SEM | |
| Urinvolumen (ml in 6h) | 379.2 ± 89.3 | 535.8 ± 63.5 | n.s. |
| Kreatinin (mmol/6h) | 4.3 ± 0.4 | 3.1 ± 0.3 | <0,05 |
| Natrium (mmol/6h) | 29.6 ± 3.5 | 54.4 ± 7.2 | <0.05 |
| Chlorid (mmol/6h) | 39.7 ± 3,7 | 56.4 ± 8.0 | n.s. |
| Osmolalität (mosmol/kg/6h) | 229.0 ± 22.7 | 252.2 ± 26.1 | n.s. |
| Adrenalin (µg/6h) | 1.7 ± 0.4 | 1.5 ± 0.3 | n.s. |
| Noradrenalin µg/6h | 3.7 ± 0.9 | 4.1 ± 0.5 | n.s. |
| Metanephrin µg/6h | 4.5 ± 0.8 | 4.2 ± 0.5 | n.s. |

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend zeigt unsere Studie als Auswirkung einer sechsständigen Blutdruckerhöhung mittels Angiotensin II folgende Ergebnisse:

1) Ausgehend vom gleichen Blutdruck- und Herzfrequenz-Ausgangsniveau in beiden untersuchten Bedingungen, war der systolische Blutdruck nach sechsständiger Angiotensin II-Infusion signifikant gegenüber der Kontrollbedingung erhöht. Die Herzfrequenz und der diastolische Blutdruck unterschieden sich zwischen den Bedingungen nicht. Der systolische Blutdruckunterschied blieb im ambulanten Verlauf der Abend- und Nachtstunden nicht bestehen.

2) Die sympathische Aktivität zum Muskelgefäßbett, die minimalinvasiv über die Mikroneurographie erhoben wurde, war ebenso wie die Herzfrequenz nach sechsständiger Angiotensin II-Infusion nicht verändert. Es zeigte sich somit weder eine Reflexbradykardie noch eine MSNA-Reduktion als Folge der erhöhten systolischen Dehnungsreize an den Barorezeptoren. Die Sensitivität sowohl des kardialen als auch des vaskulären Baroreflexschenkels wurde durch die vorangegangene Angiotensin II-Infusion nicht beeinflusst. Die sigmoide Stimulus-Antwortkurve, die die Beziehung von Blutdruck zu MSNA bzw. Herzfrequenz darstellt, wurde demnach im Sinne eines Resettings auf ein höheres systolisches Blutdruckniveau verschoben.

3) Parameter, die als Maß für die Gefäßsteifigkeit gelten, sind die Pulswellengeschwindigkeit und der Augmentationsindex. Diese Parameter zeigten während der Angiotensin II-Infusionsperiode einen Anstieg der Gefäßsteifigkeit an, der nach Beenden der Angiotensinämie auf das Ausgangsniveau zurückkehrte.

4) Durch die sechsständige Angiotensin II-Infusion wurde ein signifikanter Abfall des Reninspiegels, sowie ein Anstieg von Aldosteron und ADH im Plasma bewirkt. In der Kontrollbedingung zeigte sich ein Abfall aller genannten Blutparameter inklusive Angiotensin II und Noradrenalin.

5) Die Analyse des Urins ergab eine erhöhte Kreatinin-Exkretion sowie eine signifikante Natriumretention während sechsständiger Angiotensin II-Infusion.

4.2 Interpretation der Ergebnisse

Aus der Literatur ist bekannt, dass Angiotensin II auf Hirnstammebene Einfluss auf die Blutdruckregulation nimmt. Die vorliegende Studie hatte zum Ziel, Angiotensin II-bedingte Veränderungen der zentralnervösen Baroreflexfunktion, die über die plasmatische Angiotensin II-Wirkung hinausreichen, näher zu charakterisieren. In den folgenden Abschnitten sollen die Ergebnisse dieser Studie, deren Fragestellungen explorativen Charakter hatten, diskutiert werden. Die Interpretation der Ergebnisse wird in folgende Abschnitte geteilt:

- a) Ausgangsbedingung
- b) Infusionsperiode
- c) Baroreflextestung
- d) Ambulanter Verlauf

4.2.1 Ausgangsbedingung

Vielfältige Einflüsse, wie psychische Aktivierung und körperliche Belastungen sowie Nahrungsaufnahme oder Schlafstörungen nehmen Einfluss auf die Kreislaufregulation (47, 63, 89). Zum Ausschluss dieser exogenen Einflussfaktoren erfolgte die strenge Standardisierung der Versuche durch die folgenden Maßnahmen: identischer Versuchsablauf beider Versuchsbedingungen hinsichtlich vorangegangener Schlafdauer, Mahlzeiten und Getränke, sowie gleiche Abläufe im Labor, randomisierte Reihenfolge der Versuche, einfache Verblindung der Versuchsbedingung. Diese Bedingungen wurden über das Studienprotokoll definiert. Da es sich in beiden Untersuchungsbedingungen jeweils um das gleiche Probandenkollektiv handelte, das sich dem Studienprotokoll entsprechend verhielt, unterschieden sich die Werte der kreislaufrelevanten Parameter und des Labors zu Beginn der jeweiligen Versuchssitzung, d.h. vor der Infusionsperiode (Placebo versus Angiotensin II) nicht.

4.2.2 Infusionsperiode: Kontrollbedingung

In der Kontrollbedingung wurde den Probanden unter standardisierten Laborbedingungen physiologische Kochsalzlösung verabreicht. Die Probanden befanden sich in einem Zustand der körperlichen Ruhe ohne nennenswerte psychomotorische oder emotionale Reizung von außen. Hierunter waren die typischen Vorgänge der Kreislaufregulation bei körperlicher Ruhe und dem Wegfall psychischer und physischer Stimuli messbar. Es kam in liegender Position bedarfsgerecht zu einem Blutdruckabfall. Erst mit Verlassen des Labors und mit Beginn der ambulanten Überwachung kam es in der Placebobedingung zu einem Blutdruckanstieg. Dies ist zum einen durch die zirkadiane Rhythmik zu begründen, zum anderen waren die Probanden mit Verlassen des Labors wieder physischen und psychischen Umweltstimuli (z.B. dem Heimweg vom Labor) ausgesetzt. Unter Placebobedingungen kommt es in Ruhe zum Abfall des zentralnervösen Sympathikotonus, was laborchemisch von einem Abfall der Aktivität der Renin-Angiotensin-Aldosteron-Kaskade begleitet wird, da die Sekretion von Renin zu großen Teilen durch die sympathische renale Nervenaktivität moduliert wird. Konkordant zeigt sich eine signifikante Reduktion des Plasma-Noradrenalin-Spiegels. Da Noradrenalin den wichtigsten Transmitter bei sympathischer Aktivierung darstellt, ist der Noradrenalin-Spillover unter definierten Bedingungen ein indirektes Maß für die blutdruckrelevante Sympathikusaktivität(106). Das über die Versuchszeit ausgeschiedene Urin-Volumen entsprach in etwa der gestatteten Volumenaufnahme und bestätigt eine ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz.

4.2.3 Infusionsperiode: Angiotensin II zur Erhöhung des Blutdrucks

Im Gegensatz zur Kontrollbedingung bewirkte die Angiotensin II-Infusion eine prompte und deutliche Blutdruckerhöhung. Diese wird über unterschiedliche Mechanismen bewirkt:

1) Angiotensin II besitzt vasokonstriktorische Eigenschaften. Physiologische Konzentrationen des Hormons bewirken eine Konstriktion der Nierengefäße (86). Überschreitet die Hormonkonzentration eine individuelle kritische Schwelle, wirkt es zusätzlich vasokonstriktorisch auf andere Gefäßprovinzen. Die Ursache dieses

dosisabhängigen Verhaltens wurde in der Vergangenheit auf eine Angiotensin II bedingte Freisetzung des parakrinen Vasokonstriktors Endothelin-1 zurückgeführt (44). In weiteren Humanversuchen konnte eine Stimulation der Endothelin-1-Sekretion durch Angiotensin II in vivo (30, 35, 50) jedoch nicht bestätigt werden.

2) Angiotensin II bewirkt auf indirektem Weg eine Vasokonstriktion durch verstärkte Freisetzung sympathischer Neurotransmitter aus den Nervenendigungen in der glatten Gefäßmuskulatur (16, 61, 83, 99, 111) und zudem eine postsynaptische Hemmung des Noradrenalin-Reuptakes (16, 48, 49, 78, 83). Parallel dazu wird die Endorgansensitivität für Norepinephrin durch Angiotensin II gesteigert (83, 95).

3) Bereits 1964 wurde von den Autoren Feldberg und Lewis eine direkte Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark der Katze als Reaktion auf Angiotensin II festgestellt (29). Versuche an verschiedenen Tierspezies erbrachten ähnliche Ergebnisse. Selbiges konnte beim Menschen bisher jedoch nicht nachgewiesen werden (69, 72).

4) Erhöhte Angiotensin II-Level stimulieren im Tierversuch eindeutig und im Humanversuch minimal die Sekretion von Vasopressin, das seinerseits blutdrucksteigernde Wirkungen hat. Die Autoren Goldsmith et al. konnten jedoch keinen relevanten Einfluss von infundiertem Angiotensin II oder Norepinephrin auf die Regulation der Vasopressin-Spiegel beim gesunden Menschen nachweisen (34).

5) Angiotensin II trägt durch aktive Hemmung der Baroreflex-Aktivität auf Ebene des Tractus solitarii in der Medulla oblongata zur Erhöhung der sympathischen Nervenaktivität bei. Das über die zirkumventrikulären Organe in die Medulla gelangende Angiotensin II bewirkt eine GABAerge Modulation der Übertragung der Impulse aus den Dehnungsrezeptoren (39).

6) Über die Area postrema in das ZNS aufgenommenes Angiotensin II führt über Aktivierung des Nucleus paraventricularis zu einer direkten Aktivierung sympathoexzitatorischer Neurone in der Medulla oblongata (86).

Die Summe dieser Mechanismen führt zu einer rasch einsetzenden Blutdruckerhöhung während der Angiotensin II-Infusion, die über die gesamte

Infusionsdauer durch die gleichzeitige Minderung der baroreflektorischen Gegenregulation aufrechterhalten bleibt. Ein Beleg für die Minderung gegenregulatorischer Mechanismen durch Angiotensin II ist die fehlende Reflexbradykardie: Normalerweise kommt es bei einem Blutdruckanstieg zu einem baroreflexvermittelten Abfall der Herzfrequenz, der erst infolge eines Resettings des Baroreflex-Sollwertes nachlässt (51, 88). Eine Reflexbradykardie konnten wir in unserer Studie zwar während der pharmakogenen Baroreflex-Testung mittels Phenylephrin beobachten, die intravenöse Gabe von Angiotensin II hingegen bewirkte keinen Abfall der Herzfrequenz. Die Herzfrequenz unterschied sich daher in den beiden Versuchsbedingungen (Placebo vs. Angiotensin II) während der gesamten Versuchsdauer nicht. Das Fehlen einer Reflexbradykardie nach Angiotensin II induzierter Hypertonie ist ein in der Literatur seit langer Zeit bekanntes, dosisabhängiges Phänomen (66). Ursächlich hierfür wird unter anderem eine Hemmung des vagalen Tonus vermutet (62, 80). Ebenso besteht eine zentrale Modulation der Baroreflexkontrolle durch das Hormon (83).

4.2.4 Infusionsperiode: Die Gefäßsteifigkeit wird nur vorübergehend durch Angiotensin II beeinflusst

Die Pulswellengeschwindigkeit wurde in der vorliegenden Arbeit nur bei einigen Probanden im Sinne einer „proof-of-principle“-Pilotstudie gemessen. Dies limitiert die Interpretierbarkeit der Ergebnisse. Die erhobenen Messwerte deuten jedoch auf eine sehr kurzfristige Angiotensin II-Wirkung auf die Pulswellengeschwindigkeit und den Augmentationsindex hin: die Gefäßsteifigkeit war während der Angiotensin II-Infusionsperiode angehoben und kehrte nach Beenden der Infusion zügig auf das Placeboniveau zurück. Die passagere Erhöhung der Pulswellengeschwindigkeit und des aortalen Augmentationsindex ist damit mutmaßlich eine direkte plasmatische Angiotensin II-Wirkung und daher auf die plasmatische Angiotensin II-Halbwertszeit begrenzt. Hierbei weist die Pulswellenakzelleration auf erhöhte Steifigkeit der zentralen elastischen Gefäße, der erhöhte Augmentationsindex auf eine stärkere Pulswellenreflexion an Gefäßbifurkationen und erhöhten Gefäßmuskeltonus hin.

4.2.5 Infusionsperiode: Angiotensin II-vermittelte Wirkungen auf die Hormonregulation

An den Ergebnissen der serologischen Auswertungen und der Urinuntersuchung unserer Studie lassen sich die bekannten physiologischen Wirkungen des Hormons Angiotensin II gut nachvollziehen. Im Sinne eines Regelkreises mit negativem Feedback-Mechanismus bewirkte die Erhöhung des Angiotensin II-Spiegels einen signifikanten Abfall des Plasma-Renins (51). Auch in der Placebobedingung war ein Reninabfall zu beobachten, der vermutlich auf eine Reduktion der sympathischen renalen Innervation bei körperlicher Ruhe und auf das Fehlen orthostatischer Belastung zurückzuführen ist.

Angiotensin II führte, seiner physiologischen Funktion entsprechend, zum Anstieg der Plasma-Aldosteronkonzentration und zur Stimulation der Vasopressin-Sekretion. Der signifikante Abfall der Natriumkonzentration im Sammelurin ist in erster Linie auf die Wirkung von Aldosteron zurück zu führen. Es bewirkt in der Niere im Austausch gegen Kalium eine Natriumretention. Dem osmotischen Druck des Natriums folgend wird Wasser retiniert. Einen synergistischen Effekt bewirkt das Vasopressin, das durch den Einbau von Aquaporinen in den Sammelrohren der Niere eine zusätzliche Retention von Wasser aus dem Primärharn erlaubt. Obschon das Urinvolumen in der Verumbedingung numerisch niedriger ist, reicht die Stichprobengröße aufgrund der erheblichen Messwertschwankungen nicht aus, um das Signifikanzniveau zu erreichen. Da die oben genannten Mechanismen erst innerhalb von Stunden greifen, bleibt unklar, ob eine längere Infusionsperiode zu einem signifikanten Unterschied der Ausscheidungsvolumina geführt hätte. Um eine Überladung mit Natrium und Volumen zu verhindern, gibt es im Organismus neben dem negativen Feedbackmechanismus eine RAS-antagonistische Hormonkaskade. Gegenspieler sind die natriuretischen Peptide ANP, BNP und Natriuretisches Peptid Typ C. Diese Peptide werden insbesondere auf Dehnungsreize, z.B. infolge der Volumenexpansion aus den Vorhofmyozyten freigesetzt (86). Die Autoren Cargill et al. konnten sogar eine direkte Angiotensin II-vermittelte Erhöhung des ANP-Spiegels nachweisen (10). Die Peptide besitzen einen direkten vasodilatativen Effekt, der insbesondere an peripheren Venen greift. Die Hormone ANP und BNP sind gleichermaßen in der Lage, eine Angiotensin II-induzierte Hypertonie zu puffern (11). Durch Vasodilatation peripherer Nierengefäße bewirken die Hormone das Auswaschen des osmotischen Gradienten und hemmen somit aktiv die Volumenretention durch Angiotensin II. Darüber hinaus vermögen diese Peptide die zentralen Funktionen von Angiotensin II zu

hemmen (86). Die Ausschüttung natriuretischer Peptide und deren Antagonismus zum Angiotensin II könnte erklären, warum bei einigen Probanden im Verlauf der Infusionsperiode eine Angiotensin II-Dosissteigerung zum Aufrechterhalten einer adäquaten Blutdruckerhöhung nötig war.

Im Sammelurin konnte neben einer verminderten Natriumkonzentration weiterhin eine gegenüber der Placebobedingung signifikant erhöhte Kreatininausscheidung gemessen werden, die in erster Linie auf die Angiotensin II-vermittelte Druckdiurese zurückgeführt werden kann.

Laborchemisch fiel in der Placebobedingung unter Ruhebedingungen ein signifikanter Abfall des Plasmanoradrenalinpiegels auf, der in der Verumbedingung nicht zu beobachten war. Möglicherweise stellt der fehlende Abfall des Plasmanoradrenalins ein indirektes Maß für eine unter Angiotensin II-Bedingungen aufgetretene, mittels nachfolgender MSNA jedoch nicht messbare, oder bereits auf Placeboniveau zurückgefallene, Sympathikusaktivierung mit erhöhtem Spillover dar. Mit den Methoden unseres Versuchsaufbaus kann diese Vermutung jedoch nicht verifiziert werden.

4.2.6 Baroreflextestung: Baseline-Messung

Erhöhter systolischer Blutdruck nach Beenden der Angiotensinämie

Nach Beenden der Angiotensin II-Infusion zeigte sich eine gegenüber der Placebobedingung prolongierte Erhöhung des systolischen Blutdrucks bei unveränderter sympathischer Nervenaktivität zum Muskelgefäßbett und unveränderter Herzfrequenz. Dies bedeutet, dass an den Barorezeptoren also ein erhöhtes Druckniveau toleriert wird, ohne dass es zu einer reflektorischen Sympathoinhibition kommt. Dies kann als Resetting der systolischen Baroreflexfunktion interpretiert werden. Dieser Befund wurde ca. 60 bis 90 Minuten nach Normalisierung des Angiotensin II-Plasmaspiegels erhoben und deutet somit auf ein protrahiertes zentrales Baroreflexresetting, ausgelöst durch zuvor systemisch zirkulierendes Angiotensin II, hin. Als alternative Erklärung für die fehlende reflektorische Sympathoinhibition wäre ein Sensitivitätsverlust der peripheren Barorezeptoren denkbar; diese zeigte sich jedoch in der anschließenden pharmakogenen Baroreflextestung unverändert. Daher ist eine zentralnervöse Reizschwellenänderung (Resetting) zu postulieren. Diese Beobachtung anhand der sich aus dem Versuchsdesign ergebenden Befundlage zu deuten, ist nicht trivial.

Da die Probanden während der Versuchsdauer in wachem Zustand waren, können Unterschiede hinsichtlich der psychischen Aktivierung natürlich nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Durch das standardisierte Versuchsprotokoll wurden die Einflüsse externer Trigger jedoch auf ein Minimum reduziert.

Der systemische Blutdruck ist eine Größe, die durch zyklische Schwankungen zwischen Druckmaxima (Systole) und Minima (Diastole) charakterisiert ist. Allein hierdurch ergibt sich eine erhebliche Komplexität des kybernetischen Systems „Baroreflex“. Der systemische Blutdruck wird durch die Komponenten „peripherer Gesamtgefäßwiderstand“ einerseits und „Herzleistung“ andererseits determiniert.

Der diastolische Blutdruck wird hierbei in stärkerem Maße durch den Tonus arteriöler Widerstandsgefäße, z.B. in der Extremitätenmuskulatur repräsentiert. Es ist daher denkbar, dass eine Angiotensin II-bedingte Erhöhung des diastolischen Blutdrucks durch lokale und humorale, in unserem Modell nicht erfasste, antagonistische Mechanismen (z.B. NO, Adrenomedullin, ANP und BNP), überspielt wurde. Im Falle von NO würde eine direkte Vasodilatation der jeweiligen Gefäße ausgelöst. Die Tatsache, dass die MSNA nach Angiotensinämie unverändert war, spricht jedoch gegen eine Minderung des peripheren Gesamtwiderstandes und damit gegen eine periphere Modulation des diastolischen Blutdrucks.

Der systolische Blutdruck wird insbesondere durch die kardiale Auswurfleistung, bzw. das Herzminutenvolumen repräsentiert (51). Die kardiale Auswurfleistung ist wiederum von drei Variablen abhängig, die allesamt vom sympathischen Nervensystem abhängen:

- 1) Das enddiastolische Volumen (Preload) ist abhängig vom zentralen Venendruck, der seinerseits durch das sympathische Nervensystem moduliert wird, und der Relaxationsfähigkeit des Ventrikelmyokards. Über den Frank-Starling-Mechanismus steigert ein erhöhter Preload die Schlagkraft des Herzens.
- 2) Die Inotropie, also die Kontraktionsfähigkeit des Herzens, wird durch das vegetative Nervensystem gesteuert.
- 3) Die Herzfrequenz wird ebenfalls durch vegetative Zentren gesteuert (39).

Unsere Methodik lässt keine eindeutige Aussage zu, welche der genannten Stellgrößen durch Angiotensin II selbst und/oder durch die Angiotensin II-vermittelte Sympathikusmodulation primär beeinflusst wurde. Unsere Befunde deuten jedoch insgesamt auf eine protrahierte Angiotensin II-induzierte Modulation zentralnervöser vegetativer Regulationszentren hin.

Zur Erklärung des beobachteten Effektes eines erhöhten systolischen Blutdrucks bieten sich mehrere Modelle an, die nachfolgend anhand mehrerer Thesen diskutiert werden sollen.

These 1: Zentral übergeordneter Regulationsmechanismus

Die Befunde der vorliegenden Studie zeigen, dass zirkulierendes, intravenös verabreichtes Angiotensin II den peripheren Blutdruck nicht nur unmittelbar durch periphere Wirkung an der Gefäßmuskulatur steigert, sondern auch zu einem Resetting des Baroreflexes zu höheren Blutdruckwerten führt. Eine gegenregulatorische Dämpfung des Sympathikotonus bleibt aus, die Sensitivität des Baroreflexes bleibt unbeeinflusst. Entsprechende Befunde konnten bereits in vorangegangenen Studien gezeigt werden (34, 38). Es ist bekannt, dass das Gehirn über ein eigenes komplexes, differenziert reguliertes Angiotensin II-System verfügt, das über sowohl sympathikoexzitatorische wie auch – inhibitorische Wirkung an der ventrolateralen rostralen Medulla und dem Nucleus paraventricularis verfügt (24). Dies wird überwiegend über AT₁-Rezeptoren vermittelt. AT₂-Rezeptoren konnten jedoch ebenfalls insbesondere im Zerebellum, aber auch in vielen Regionen des Prosencephalons nachgewiesen werden, ihre Bedeutung im Rahmen der Kreislaufregulation ist jedoch nur unvollständig verstanden (3, 9, 64, 93).

Es scheint plausibel, dass bei einem peripher erhöhten Angiotensin II-Spiegel das zirkulierende Angiotensin II, das über die zirkumventrikulären Organe in den Hirnstamm penetriert, auf ähnliche Weise Einfluss auf die Kreislaufregulation nimmt, oder sogar mit dem hirneigenen Angiotensin II-System interferiert. Interessant ist, dass Angiotensin II, wenn es durch einen intranasalen Applikationsweg direkt ins ZNS aufgenommen wird, eine ganz andere Wirkung zeigt, als in unserer Studie beobachtet. Intranasal appliziert bewirkt es bei simultaner peripherer AT₁-Rezeptorblockade eine Reduktion des Blutdrucks, die mutmaßlich über eine zentralnervöse Downregulation des Baroreflex-Setpoints (21) vermittelt wird. Es handelt sich um einen Effekt, der sich von der Angiotensin II-Wirkung im Hirnstamm unterscheidet und fraglich zumindest teilweise über AT₂-Rezeptoren vermittelt sein könnte (21). Neben dem direkten Einfluss auf den Hirnstamm kann systemisch zirkulierendes Angiotensin II über spezifische AT₁-Rezeptoren an den zirkumventrikulären Organen, die dort nachweislich zahlreich vorhanden sind, zentralnervöse Effekte vermitteln. Gestützt wird diese Annahme durch

Untersuchungen an Ratten, die zeigen konnten, dass die Blockade von AT₁-Rezeptoren am Subfornikalorgan bedeutend zur dauerhaften Blutdrucksenkung beiträgt(15).

Obschon die Summe der tierexperimentellen und humanen Befunde klar belegen, dass Angiotensin II neben seiner peripheren Wirkung auch auf zentralnervöser Ebene eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Blutdrucksollwertes einnimmt, sind die genauen Mechanismen, die dabei eine Rolle spielen, nur schwer zu untersuchen und daher noch unvollständig aufgeklärt. Gerade im Humanmodell sind der genauen Klärung molekularer zentralnervöser Mechanismen methodische Grenzen gesetzt, sodass Erklärungsversuche notwendigerweise in Teilen spekulativ bleiben. Neben dem zirkulierenden Angiotensin II wird auch dem systemisch zirkulierenden Aldosteron eine Rolle in der zentralen Blutdruckregulation zugeschrieben (109), sodass eine Aktivierung der Renin-Angiotensin II-Aldosteron-Kaskade synergistisch auf zentraler Ebene zur Entstehung eines Hypertonus beiträgt.

These 2: Kardiale Angiotensin II-Wirkung

Die akuten Angiotensin II-Wirkungen auf den Blutdruck werden durch die bekannte Hormonkaskade einerseits, und durch eine Verstärkung des peripheren sympathischen Signals im synaptischen Spalt andererseits vermittelt. Die den systolischen Blutdruck determinierenden Parameter sind vor allem durch die kardiale sympathovagale Balance gesteuert. Gegen eine generell erhöhte Sympathikusaktivität als Ursache für den gemessenen Effekt sprechen die Daten für MSNA und Herzfrequenz. Die MSNA repräsentiert den vaskulären Sympathikus und ist gegenüber der Placebobedingung unverändert. Da die einzelnen Sympathikusschenkel sehr differenziert reguliert werden, wäre eine selektive Aktivierung derjenigen sympathischen Anteile denkbar, die eine Steigerung der Schlagkraft und des Schlagvolumens, also eine positive Inotropie, nicht aber der Herzfrequenz (Chronotropie) vermitteln.

Es wäre vorstellbar, dass das verabreichte Angiotensin II zu einer verstärkten Katecholaminausschüttung am Ventrikelmyokard geführt haben könnte. Ein solcher lokaler Anstieg von Katecholaminen am Herzen konnte jedoch in Studien anderer Autoren bisher nicht bestätigt werden (54, 85). Die Datenlage zur intrakoronaren Infusion von Angiotensin II und möglichen Auswirkungen auf die myokardiale Pumpleistung ist nicht konklusiv. Studien am gesunden Probanden konnten zeigen, dass durch Angiotensin II-Infusion eine Reduktion des Schlagvolumens bewirkt wird (71). In der Doppler-

Echokardiographie kann eine Angiotensin II-vermittelte Verschlechterung der linksventrikulären enddiastolischen Füllung beobachtet werden (13). Im Jahre 1990 konnten Moravec et al. an isolierten humanen Kardiomyozyten eine positive Inotropie nachweisen (70). Gleiches zeigte sich auch im Tierversuch bei verschiedenen Spezies (12, 52, 56). Der positiv inotrope Effekt konnte am Rattenherzen durch den Angiotensin II-Rezeptorblocker Saralasin blockiert werden (12). In der gleichen Arbeit wurde ATP als möglicher parakriner Mediator für den positiv inotropen Effekt identifiziert. Widersprüchliche Ergebnisse wurden am Schweineherzen erhoben (8). Hier konnten durch eine intrakoronare Angiotensin II-Infusion keine Effekte auf die systolische oder diastolische Herzfunktion ausgelöst werden. Die Autoren schlussfolgerten, dass Angiotensin II seine kardialen Effekte über zentralnervöse oder extrakardiale Mechanismen entfalte. Lokhandwala et al. vermuteten als Erklärung eine durch Angiotensin II vermittelte Verbesserung der Sympathikuswirkung am Kardiomyozyten, die sie auf Angiotensin II-Rezeptoren, die sich auf sympathischen Nervenenden befinden, zurückführten (61). In Untersuchungen am Schweineherzen konnte die Arbeitsgruppe um Lameris jedoch eine Funktion von Angiotensin II als lokaler Vermittler der kardialen sympathischen Aktivität in vivo widerlegen (54). Ob und über welche Mechanismen Angiotensin II die kardiale Schlagkraft zu steigern vermag, ist weiterhin nicht vollständig geklärt. Eine Vielzahl der bisher durchgeführten Studien wurde an Tieren erhoben. Die Ergebnisse sind damit nicht valide auf den Menschen übertragbar. Noch dazu gilt es zu klären, ob der im Tierversuch gemessene Effekt auch nach Abbau von Angiotensin II ausreichend lange anhält, um den von uns gemessenen protrahierten systolischen Blutdruckeffekt zu erklären.

In unseren Blutuntersuchungen konnten wir keinen Anstieg der Katecholamine im venösen Blut nach der Infusion messen. Es zeigte sich unter Placebobedingungen jedoch ein signifikanter Abfall des Noradrenalinspiegels, der unter Verumbedingungen ausblieb. Die Plasmakatecholamine sind ein globaler Marker für die Katecholaminausschüttung, sie erlauben aber keine topische Zuordnung der sympathischen Nervenaktivität. Der fehlende Abfall der Plasmakatecholamine nach Angiotensin II-Infusion könnte daher allenfalls als schwacher indirekter Hinweis für eine erhöhte, Angiotensin II-vermittelte, Sympathikusaktivität am Herzen interpretiert werden. Parameter, die die Inotropie quantifizieren, wurden in der vorliegenden Arbeit zu keinem Zeitpunkt bestimmt. Da die Herzfrequenz jedoch unverändert gegenüber der Placebobedingung blieb, erscheint eine

selektive Einflussnahme auf die Inotropie ohne gleichzeitige positive Chronotropie jedoch unwahrscheinlich.

These 3: Erhöhtes Intravasalvolumen, erhöhter ZVD, erhöhter Preload

Der Preload (Vorlast) ist ein maßgeblicher Faktor für die Höhe des Schlagvolumens. Über den Angiotensin II-bedingten Anstieg der Aldosteron-Konzentration, kam es nachweislich zu einer Natriumretention, die im Zusammenspiel mit dem erhöhten ADH auch zur Wasserretention führt. Das während der Infusionsperiode produzierte Urinvolumen unterschied sich statistisch zwar nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen, war allerdings in der Verumbedingung um ca. 150 ml geringer als in der Kontrolle. Daher scheint lediglich eine geringe Zunahme des Intravasalvolumens möglich. Zusätzlich kann nicht ausgeschlossen werden, dass es durch das Zusammenspiel der Hormone zu einer Volumenverschiebung von extravasal nach intravasal gekommen ist. Inwieweit Veränderungen des Intravasalvolumens zu dem von uns gemessenen Effekt beitragen, bleibt spekulativ. Änderungen im Intravasalvolumen dienen der zügigen Anpassung des Blutdrucks. Das insgesamt kurze Fortbestehen des Effektes unterstützt diese These. Es ist denkbar, dass der gemessene Effekt bereits kurz nach seinem Auftreten durch Umverteilung des Volumens wieder verschwindet.

Widersprüchliche Ergebnisse zur Angiotensin-Wirkung am Menschen lieferte eine echokardiographisch überwachte Studie bei Patienten mit Anästhesie-induzierter Hypotonie. Die Patienten erhielten einen Bolus Angiotensin II und zeigten in der Ultraschalluntersuchung einen Anstieg des Preloads, jedoch eine Verschlechterung der linksventrikulären Pumpfunktion mit erhöhtem endsystolischem Wandstress (27). Das Phänomen blieb jedoch nur kurze Zeit bestehen.

Valide Parameter zum Monitoring der Volumenreagibilität stellen z.B. die Schlagvolumenmessung, die Pulskonturanalyse, invasive hämodynamische Messmethoden, wie die transpulmonale Thermodilution (20) oder die Echokardiografie, dar. Auch eine invasive Messung des zentralvenösen Blutdruckes hätte zur Klärung der Frage, ob ein erhöhter Preload zum erhöhten systolischen Blutdruck geführt hat, eventuell beigetragen. Diese Parameter wurden im Rahmen unseres Studiendesigns aufgrund ihrer Invasivität bzw. ihrer geringen zu erwartenden Sensitivität bei geringen Änderungen nicht erhoben. Zusammenfassend erscheint aufgrund der zur Verfügung stehenden Ergebnisse eine blutdruckrelevante Zunahme des Intravasalvolumens nicht wahrscheinlich.

4.2.7 Baroreflextestung: Unveränderte sympathische Nervenaktivität und unveränderte Baroreflexsensitivität nach Beenden der Angiotensinämie

Der Baroreflexbogen ist ein physiologisches System, das der raschen Anpassung von Blutdruck und Herzfrequenz an die aktuellen Erfordernisse dient. Mit der Baroreflextestung kann ermittelt werden, ob die Stärke und die Sensitivität, mit welcher der Baroreflexbogen auf Veränderungen des Blutdrucks reagiert, durch die vorangegangene Angiotensinämie verändert wurde. Der durchschnittliche Blutdruck während der Baseline entsprach in der Placebobedingung dem Ausgangsniveau. Davon ausgehend wurde mittels des direkten Vasodilatators Nitroprussid der Blutdruck gesenkt. Messungen der Herzfrequenz zeigten eine Reflertachykardie. Mikroneurografisch zeigte sich wie erwartet eine dosisabhängige Steigerung der sympathischen vasokonstriktorischen Nervenaktivität. Gegenteiliges wird mit einer kontinuierlichen Infusion von Phenylephrin erreicht. Gemäß seiner Wirkung an alpha-Rezeptoren bewirkt es einen prompten Blutdruckanstieg, auf den baroreflexvermittelt mit einer Reflexbradykardie und einer mikroneurografisch nachweisbaren Abnahme der MSNA reagiert wird.

Der Baroreflexsetpoint ist der zentral hinterlegte Ausgangswert (Sollwert), mit dem der jeweilige Ist-Wert verglichen wird. Er wird definiert als zentral gespeicherter, den modulierenden Regelkreisen übergeordneter Ruhe-Sollwert. Ein Setpointresetting des Baroreflexes liegt vor, wenn bei einer konstanten MSNA unter Ruhebedingungen ein höheres oder tieferes Blutdruckniveau aufrechterhalten wird. Das Resetting des Baroreflexes ist ein seit langem bekanntes Phänomen, das innerhalb kürzester Zeit stattfindet und eine physiologische Reaktion der Blutdruckregulation auf tageszeitliche und stressbedingte Stimuli darstellt (sogenannte Feed-forward Signale). Nach Beenden der Angiotensinämie mit medikamentös angehobenem Ruheblutdruck zeigte sich die Aktivität der muskulären sympathischen Nerven gegenüber Placebobedingungen trotz des erhöhten systolischen Blutdruckes unverändert. Auch die Sensitivität des Baroreflexbogens gegenüber aktivierenden oder dämpfenden Stimuli wurde durch die anhaltende Angiotensinämie nicht nachhaltig beeinflusst. Es ist folglich zu einem Setpoint-Resetting des Baroreflexes hin zu einem erhöhten systolischen Blutdruck gekommen. Die abgelaufenen Mechanismen entsprechen dem klassischen Modell des Baroreflexresettings (73); diese Aussage wird gestützt durch die Beobachtung, dass Angiotensin II während der Infusionsperiode trotz Blutdruckerhöhung zu keinem baroreflektorischen Abfall der Herzfrequenz führt. Im Gegensatz dazu bestand während der Baroreflextestung durch

Phenylephrin eine Reflexbradykardie, an die über die Dauer der Baroreflextestung keine Anpassung erfolgte.

Dieses Resetting steht im Gegensatz zu den Ergebnissen einer anderen Studie aus derselben SFB-Arbeitsgruppe in der Angiotensin II während des Nachtschlafes verabreicht wurde (100). Hier hatte sich das Blutdruckniveau bei einer erhöhten sympathischen Baseline-Burstrate zum Muskelgefäßbett unverändert gezeigt. Es lässt sich daraus schlussfolgern, dass die Angiotensin II-Wirkung auf den Baroreflexbogen und den zentralen Setpoint von der Tageszeit bzw. den schlafabhängigen regulatorischen Mechanismen auf humoraler und zentraler Ebene abhängt. Bei einer über den Tag bei Wachheit auftretenden Hypertonie durch Angiotensin II werden höhere Blutdrücke toleriert und der Baroreflexbogen reagiert mit einem Resetting. Diesen Vorgängen wird beim Nachtschlaf scheinbar intrinsisch entgegen gewirkt.

Bei Betrachtung dieser Ergebnisse und Effekte ist aber immer zu bedenken, dass das sympathische Nervensystem in der Lage ist, die Durchblutung unterschiedlicher Regionen (z.B. zur Skelettmuskulatur, zum Herzen, zur Niere etc.) differenziert zu regulieren (82). In der vorliegenden Studie kann nur eine Aussage über die sympathische Nervenaktivität zum Muskelgefäßbett getroffen werden, wobei die sympathische Nervenaktivität zum Beispiel zum Herzen nur eingeschränkt und zur Niere gar nicht beurteilt werden kann. Die gesamte Komplexität der sympathischen Nervenregulation und ihr Zusammenspiel kann durch minimalinvasive Messmethoden nie in seiner Gesamtheit erfasst werden.

4.2.9 Ambulante Phase

Die im neurophysiologischen Labor gemessenen Unterschiede des Blutdruckes bestanden während der anschließenden ambulanten Messperiode nicht fort. Bereits mit Verlassen des Labors, d.h. nach orthostatischer Belastung, glichen sich die gemessenen Blutdruckwerte in beiden Versuchsgruppen wieder an. Die Blutdruckwerte unterschieden sich in den ambulanten Abend- und Nachtstunden nicht signifikant. Ob die in Ruhe unter Laborbedingungen gemessenen Blutdruckunterschiede als Folge einer länger anhaltenden (z.B. mehrtägigen) oder höher dosierten Angiotensinämie auch in der ambulanten Versuchsperiode fortbestanden hätten, ist spekulativ und könnte mit weiterführenden Studien untersucht werden. Interessanterweise deutet sich für die erste, tiefschlafreiche Nachthälfte eine Blutdruckerhöhung in der Angiotensin-II Bedingung an. Die Werte

erreichen jedoch nicht das Signifikanzniveau und sollen daher hier nicht näher kommentiert werden. Der Herzfrequenzanstieg, der in den ersten Stunden der ambulanten Überwachungsphase in beiden Bedingungen auftrat, wurde als Mobilisationseffekt gewertet, der im Sinne einer Bedarfstachykardie bei Wiederaufnahme orthostatischer Belastung sowie körperlicher Aktivität zu betrachten ist. Hier kann eine Parallele zum bekannten ‚Morning-Surge‘ des Blutdrucks gesehen werden.

4.3 Stärken und Limitationen der Studie

Die vorliegende Studie untersucht das kardiovaskuläre Regulationsverhalten bei jungen, gesunden, normotensiven Probanden nach einer sechsstündigen Angiotensin II-Infusion. Herausragende Stärke dieser Studie ist das Studiendesign im Sinne einer verblindeten, placebokontrollierten Fall-Kontrollstudie. Durch den Vergleich derselben Probandengruppe jeweils unter Verum- und Placebobedingungen stellt jeder einzelne Proband seine eigene Kontrolle dar und auf diesem Weg können interindividuelle Störfaktoren, die das vegetative Nervensystem beeinflussen, wie unter anderem das Alter, Geschlecht, Körpergewicht oder körperlicher Trainingszustand eliminiert werden.

Eine Vielzahl kreislaurelevanter Parameter, unter anderem der zentrale Venendruck, die Kontraktilität und damit auch die Ejektionsfraktion sowie die Gefäßwandspannung konnten im Rahmen des minimal-invasiven Studiendesigns nicht gemessen werden. Die Daten der explorativ bei einer Subgruppe gemessenen Gefäßwandeigenschaften und ihr Verhalten während und nach Angiotensin II ergaben jedoch keine Hinweise für eine protrahierte, über die Wirkhalbwertszeit des Angiotensin II hinaus anhaltende Erhöhung der Gefäßwandspannung. Um mit diesen vorläufigen Ergebnissen statistische Power zu erlangen wären umfassendere Folgeuntersuchungen der Gefäßsteifigkeit notwendig. Weiterhin war es nicht möglich in den Untersuchungen den zentralnervösen Angiotensin II-Spiegel, respektive die Rezeptorbindung des Hormons intra- und extrazerebral zu bestimmen. Die Frage, ob und wie zirkulierendes, nach intrazerebral gelangendes Angiotensin II auf den Baroreflex Einfluss nimmt, kann mit dieser Methodik daher nicht abschließend geklärt werden. Der aktuelle Stand der Literatur gibt jedoch keine Hinweise auf eine intrazerebrale Akkumulation des Hormons oder auf eine gesteigerte oder verlängerte intrazerebrale Wirkung.

Wollte man der Ursache für die systolische Blutdruckerhöhung in künftigen Studien weiter auf den Grund gehen, wäre das Studiendesign dahingehend zu verändern, dass eine intensivere Erfassung der kardialen Regulation etabliert werden muss. Dafür wäre eine Messung der Ejektionsfraktion und des zentralen Venendrucks zur Bestimmung des aktuellen Intravasalvolumens und eine invasive, möglichst aortale Blutdruckmessung mit Hämodynamik inklusive Herz-Zeit-Volumen und ‚Systemic Vascular Resistance‘ (SVR) nach Thermodilutionsmethode oder mittels Pulmonalkatheter wünschenswert. Da diese Messverfahren jedoch nur unter intensivmedizinischer Überwachung durchführbar sind, wäre hierbei ein völlig neuartiges Studiendesign nötig und eine ethische Rechtfertigung der erheblichen methodischen Invasivität neu zu diskutieren.

4.4 Klinischer Bezug und Ausblick

Eine Vielzahl von Hypertonie-Modellen setzt einen erhöhten Angiotensin II-Spiegel als pathophysiologisches Korrelat voraus. Zirkulierendes Angiotensin II und auch zirkulierendes Aldosteron wirken über die zirkumventrikulären Organe auf zentralnervöser Ebene. Erhöhte Plasma-Spiegel bewirken in der Summe eine „Hyperaktivität“ des Sympathikus. Das Zusammenwirken von erhöhten Angiotensin II-Spiegeln und einer erhöhten sympathischen Nervenaktivität resultiert in einer arteriellen Hypertonie und ist wahrscheinlich der zugrunde liegende Mechanismus für viele Formen der arteriellen Hypertonie (96). Es lässt sich folgern, dass pathophysiologische Prozesse, die zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems führen, nicht nur kurzfristig, bzw. für wenige Stunden vorliegen, sondern chronisch auf die zentralnervöse Baroreflex-Regulation einwirken. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass eine Hyperangiotensinämie über zentralnervöse Mechanismen zur protrahierten Blutdruckerhöhung führt. Diese zeigt sich in einer andauernden Toleranz erhöhter, langfristig schädlicher systolischer Blutdruckwerte zumindest auf Hirnstammebene, ohne dass eine baroreflektorische Gegenregulation initiiert wird. Es darf vermutet werden, dass bei pathologischen Konstellationen mit chronischer Aktivierung des RAS diese Mechanismen zur klinisch relevanten arteriellen Hypertonie führen.

Ein klinisch relevantes Beispiel für eine chronische Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems mit konsekutivem arteriellen Hypertonus, stellt das obstruktive Schlaf-Apnoe-Syndrom (OSAS) dar. Die vorliegende Arbeit begründet die Hypothese,

dass die chronische RAS-Aktivierung zu einer Setpoint-Verstellung des Baroreflexes an Tag und Nacht führt. Weitere Erkrankungen, die mit einer pathologischen RAS-Aktivierung einhergehen, sind die Nierenarterienstenose und die isolierte systolische Hypertonie. Letztgenanntes Krankheitsbild tritt vermehrt mit zunehmendem Alter auf und ist mit einer Zunahme der arteriellen Gefäßsteifigkeit assoziiert (32). Ein erhöhter systolischer Blutdruck korreliert bei Patienten im Alter über 50 Jahre mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko (31). Die konsequente Behandlung der isoliert systolischen Hypertonie senkt insbesondere das Auftreten von Schlaganfällen und Herzinsuffizienz (92). Zur Therapie kommen insbesondere Aldosteron-Antagonisten, ACE-Hemmer und AT₁-Antagonisten zum Einsatz: Substanzen, die in die RAAS-Kaskade eingreifen.

Die vorliegende Studie erweitert das Verständnis, über welche zentralen Regulationsmechanismen es längerfristig zur Entwicklung des arteriellen Hypertonus mit all seinen Folgeerkrankungen kommt und welche Rolle Angiotensin II auch beim gesunden jungen Menschen spielt, die Baroreflexschwelle nachhaltig auf ein pathologisches Niveau zu verschieben.

Wir konnten in dieser Studie zeigen, dass Angiotensin II über seine Nachweisbarkeit in der Blutbahn hinaus zu einem protrahierten Resetting des Baroreflexes hin zu höheren Werten führt. Wir vermuten, dass die pleiotropen Mechanismen, die diesem Phänomen zugrunde liegen, auf eine zentralnervöse Wirkung von Angiotensin II zurückzuführen sind, konnten diese mit den Methoden dieser Studie jedoch nicht vollständig erfassen. Die zentralen Wirkungen, die gerade peripher zirkulierendes Angiotensin II auslöst, bedürfen weiterführender Forschung. Insofern hat diese Arbeit eher einen explorativen, Hypothesen generierenden Charakter. Unsere Befunde stellen ein weiteres, wichtiges Element des komplexen Mosaiks der zentralnervösen Kreislaufregulationsmechanismen dar. In nachfolgenden Studien sollten neben Messungen der Pulswellengeschwindigkeit und des Augmentationsindex auch Kontraktilitätsmessungen des Herzens und die Bestimmung der sympathischen Nervenaktivität erfolgen, um die dem erhöhten systolischen Blutdruck zugrundeliegenden Mechanismen sicher aufzudecken und den differenten Einfluss von Angiotensin II auf den Baroreflex hinsichtlich systolischem und diastolischem Blutdruck zu klären.

Weiterhin wären Studiendesigns wünschenswert, in denen selektiv die Wirkung von Angiotensin II im Gehirn untersucht wird. Neben molekularen Untersuchungen und Tiermodellen sind auch klinische Studien denkbar. Z.B. könnten die oben genannten Parameter nach intravenöser Angiotensin II-Gabe mit der Wirkung von intranasal

appliziertem Angiotensin II, jeweils bei gleichzeitiger Blockade peripherer Angiotensin II-Rezeptoren, verglichen werden. Weiterhin könnten weiterführende Studien klären, ob die von uns festgestellten Effekte nach länger andauernder oder höher dosierter Angiotensinämie auch im ambulanten Setting Fortbestand hätten.

4.5 Beantwortung der Fragestellung

Wie verändert sich der Blutdruck während und nach einer sechsständigen blutdruckrelevanten Infusion von Angiotensin II?

Während der sechsständigen Infusion von Angiotensin II kommt es zu einem signifikanten Anstieg von systolischen und diastolischen Blutdruckwerten gegenüber einer Placeboinfusion. Mit Beenden der Hyperangiotensinämie fällt der diastolische Blutdruck wieder auf Placeboniveau ab, während der systolische Blutdruck weit über die Plasmahalbwertszeit von Angiotensin II hinaus signifikant erhöht bleibt. In erster Linie ist hierfür als Ursache ein zentralnervöser Wirkmechanismus von Angiotensin II zu vermuten. Angiotensin II gelangt über die zirkumventrikulären Organe in den Hirnstamm und führt dort über noch nicht vollständig verstandene Mechanismen zu einem Resetting des Baroreflexes. Angiotensin II besitzt auf zentralnervöser Ebene vielfältige Wirkungen und die Erhöhung von intra- und extrazerebralem RAS werden nach aktuellem wissenschaftlichen Kenntnisstand als wichtiger pathophysiologischer Faktor bei der Entstehung der arteriellen Hypertonie betrachtet. Aufgrund probatorischer Messungen von Gefäßsteifigkeitsparametern schließen wir eine nachhaltige Änderung der arteriellen Gefäßsteifigkeit als Ursache für die systolische Blutdruckerhöhung aus. Hinsichtlich der kardialen Kontraktilität und des zirkulierenden Blutvolumens als Auslöser für die systolische Hypertonie lässt das Studiendesign keine validen Aussagen zu, da Messungen der genannten Parameter invasiver Messmethoden bedürfen, die im Rahmen des minimalinvasiv angelegten Studiendesigns nicht durchführbar waren. Eine Angiotensin II-vermittelte Erhöhung des Intravasalvolumens mit konsekutiv erhöhtem Preload und erhöhter Ejektionsfraktion ist denkbar. Da sich bei festgelegter Einfuhr von 500 ml die Ausfuhr zwischen den Bedingungen nicht signifikant unterschied, kommen insbesondere kurzfristig blutdruckwirksame Volumenverschiebungen von intra- nach extravasal als Ursache in Betracht.

In Anbetracht der gegenwärtigen Studienlage ist eine zentrale Modulation des Baroreflexes und des zentralnervös verankerten Regulations-Setpoints durch Angiotensin II die wahrscheinlichste Ursache. Der beobachtete Effekt auf den Blutdruck geht weit über die Plasma-Halbwertszeit von Angiotensin II hinaus; dieser Effekt war jedoch unter ambulanten Bedingungen, nach Verlassen des neurophysiologischen Labors nicht mehr nachweisbar.

Wie verändert sich die Herzfrequenz während und nach einer sechsständigen blutdruckrelevanten Infusion von Angiotensin II?

Ein bekanntes Phänomen ist das Fehlen einer Reflexbradykardie bei Angiotensin II-vermittelter Hypertonie. Der z.B. unter Phenylephrin beobachtete, baroreflexvermittelte Abfall der Herzfrequenz bleibt bei Angiotensin II-Gabe aus. Die Herzfrequenz blieb daher in der Verumbedingung gegenüber der Placebobedingung unverändert. Die fehlende Reflexbradykardie nach Angiotensin II-induzierter Hypertonie ist dosisabhängig (66) und wird auf eine Angiotensin II vermittelte Hemmung des vagalen Tonus (62, 80), bzw. eine zentrale Angiotensin II-Interaktion der Baroreflexkontrolle der Herzfrequenz (83) zurückgeführt. Auch in der ambulanten Versuchsphase konnten keine signifikanten Unterschiede der Herzfrequenz festgestellt werden.

Bewirkt die sechsständige Angiotensin II - Spiegelerrhöhung ein Resetting des Baroreflexsetpoints oder eine Änderung der Baroreflexsensitivität über die blutvermittelte unmittelbare Angiotensin II Wirkung hinaus?

Während der mikroneurographischen Baselinemessung konnten wir bei gleichbleibender sympathischer Nervenaktivität signifikant erhöhte systolische Blutdruckwerte messen. Bleibt bei höherem Blutdruck ein gegenregulatorisches Absenken des Sympathikotonus aus, liegt ein Resetting des vaskulären Schenkels zu höheren Blutdruckwerten vor. Die Angiotensinämie bewirkt somit entsprechend des klassischen Baroreflexmodells ein Resetting des Baroreflexsetpoints zu höheren systolischen Blutdruckwerten.

Dass neben dem Resetting des vaskulären Schenkels auch ein Resetting des kardialen Baroreflexbogens erfolgte, zeigte sich durch die fehlende Reflexbradykardie während der Angiotensin II-vermittelten Hypertonie. Die Baroreflexsensitivität, also das Ausmaß mit dem der Baroreflex auf Änderungen des Blutdruckes reagiert, wurde durch Angiotensin II

Diskussion

nicht beeinflusst. Wir konnten also nachweisen, dass Angiotensin II zwar Einfluss auf die Setpoint-Regulation des Baroreflexes besitzt, jedoch hat es keinen Einfluss auf das Regulationsausmaß.

5. Zusammenfassung

Bei einer Vielzahl von Erkrankungen, die mit einem arteriellen Hypertonus einhergehen, kann eine Dysregulation des Renin-Angiotensin-Systems nachgewiesen werden. Manche Autoren gehen sogar so weit zu postulieren, dass die Heraufregulation des Renin-Angiotensin-(Aldosteron-)System auf zentralnervöser und humoraler Ebene der entscheidende Pathomechanismus bei der Entstehung jeder Form der arteriellen Hypertonie ist. Gestützt wird diese Annahme durch die tragende Rolle, die Medikamente zur Blockade des Renin-Angiotensin-Systems in der Therapie der arteriellen Hypertonie spielen. Zirkulierendes Angiotensin II gelangt über die zirkumventrikulären Organe in den Hirnstamm und führt dort über eine Reihe von Mechanismen zu einer Sympathikusaktivierung und zu einer Alteration der Baroreflexfunktion. Bedingt durch die Interaktion von Angiotensin II mit dem sympathischen Nervensystem nimmt systemisch zirkulierendes Angiotensin II ebenso wie das hirneigene Renin-Angiotensin-System erheblichen Einfluss auf die Regulation von Blutdruck und Herzfunktion.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine einfach verblindete, placebokontrollierte Fall-Kontroll-Studie bei 12 jungen, gesunden Probanden. Die Studie fand an je zwei separaten Tagen unter kontrollierten Ruhebedingungen in einem neurophysiologischen Labor statt. In der Verumbedingung wurde der arterielle Blutdruck durch eine sechsstündige kontinuierliche Angiotensin-II-Infusion auf hypertensive Werte angehoben. Anschließend erfolgte in beiden Versuchsbedingungen die Erfassung der muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA) mittels Mikroneurographie und es wurde ein Baroreflextest mittels vasoaktiver Substanzen durchgeführt. Zusätzlich wurden Blut- und Urinspiegel kreislaurelevanter Parameter vor, während und nach Angiotensin II-Infusion gemessen.

Nach Beenden der Angiotensin II-Infusion wurde gegenüber der Placebobedingung eine signifikante Erhöhung des systolischen, nicht aber des diastolischen Blutdrucks beobachtet. Diese war nicht von einer baroreflektorischen Minderung der MSNA oder einer Reflexbradykardie begleitet. In Anbetracht der unveränderten Baroreflexsensitivität entspricht dies einem Resetting des Baroreflexsollwertes auf Hirnstammebene. Ein Überlappen mit anderen blutdruckrelevanten peripheren Wirkungen des Hormones, z.B. Verschiebung von Extravasalvolumen nach intravasal, ist möglich, auch wenn diese Mechanismen vermutlich nur kurzfristig greifen und somit eher nicht zur Erklärung der

beobachteten Phänomene ausreichen. Die zugrunde liegenden zentralnervösen Signalwege können mit den angewandten Methoden dieser Humanstudie naturgemäß nicht ermittelt werden und bedürfen weiterführender Untersuchungen. Der beobachtete Effekt auf den systolischen Blutdruck geht weit über die Plasmahalbwertszeit des Angiotensin II hinaus, zeigt sich jedoch unter ambulanten Umständen im weiteren Verlauf des Versuchstages nicht mehr. Einen protrahierten Einfluss auf die Herzfrequenz konnten wir nicht nachweisen. Trotz des anhaltenden Resettings des Baroreflexsetpoints nimmt Angiotensin II keinen Einfluss auf die Baroreflex-Sensitivität.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Daten, dass erhöhte Angiotensin II-Spiegel zur Toleranz erhöhter systolischer Blutdruckwerte ohne baroreflektorische Gegenregulation auf Hirnstammebene führen. Somit unterstützen unsere Ergebnisse die These, dass chronisch erhöhtes zirkulierendes Angiotensin II längerfristig zur Entstehung eines arteriellen Hypertonus mit den daraus resultierenden Folgeschäden für Herz, Hirn, Nieren und Gefäßsystem beiträgt.

6. Literaturverzeichnis

1. **Aktorics K, F. U., Hofmann FB, Starke K.** 2005. Pharmakologie des kardiovaskulären Systems, p. 449-483. *In* M. Elsevier GmbH (ed.), Allgemeine und spezielle Pharmakologie, vol. 9. Auflage. Urban & Fischer, München.
2. **Aktorics K, F. U., Hofmann FB, Starke K.** 2005. Pharmakologie noradrenerger und adrenerger Systeme, p. 173-211. *In* M. Elsevier GmbH (ed.), Allgemeine und spezielle Pharmakologie, vol. 9. Auflage. Urban & Fischer, München.
3. **Barnes, J. M., L. J. Steward, P. C. Barber, and N. M. Barnes.** 1993. Identification and characterisation of angiotensin II receptor subtypes in human brain. *Eur J Pharmacol* **230**:251-8.
4. **Barrett, C. J., and S. C. Malpas.** 2005. Problems, possibilities, and pitfalls in studying the arterial baroreflexes' influence over long-term control of blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **288**:R837-45.
5. **Barrett, C. J., R. Ramchandra, S. J. Guild, A. Lala, D. M. Budgett, and S. C. Malpas.** 2003. What sets the long-term level of renal sympathetic nerve activity: a role for angiotensin II and baroreflexes? *Circ Res* **92**:1330-6.
6. **Baulmann, J., J. Nurnberger, J. Slany, R. Schmieder, A. Schmidt-Trucksass, D. Baumgart, P. Cremerius, O. Hess, K. Mortensen, and T. Weber.** 2010. [Arterial stiffness and pulse wave analysis]. *Dtsch Med Wochenschr* **135 Suppl 1**:S4-14.
7. **Baulmann, J., U. Schillings, S. Rickert, S. Uen, R. Dusing, M. Illyes, A. Cziraki, G. Nickering, and T. Mengden.** 2008. A new oscillometric method for assessment of arterial stiffness: comparison with tonometric and piezo-electronic methods. *J Hypertens* **26**:523-8.
8. **Broome, M., M. Haney, B. Osterlund, S. Haggmark, G. Johansson, and B. Biber.** 2002. The cardiac effects of intracoronary angiotensin II infusion. *Anesth Analg* **94**:787-93, table of contents.
9. **Carey, R. M.** 2013. Newly discovered components and actions of the renin-angiotensin system. *Hypertension* **62**:818-22.
10. **Cargill, R. I., W. J. Coutie, and B. J. Lipworth.** 1994. The effects of angiotensin II on circulating levels of natriuretic peptides. *Br J Clin Pharmacol* **38**:139-42.
11. **Cargill, R. I., A. D. Struthers, and B. J. Lipworth.** 1995. Comparative effects of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide on the aldosterone and pressor responses to angiotensin II in man. *Clin Sci (Lond)* **88**:81-6.

12. **Castillo-Hernandez, J. R., I. Rubio-Gayosso, I. Sada-Ovalle, A. Garcia-Vazquez, G. Ceballos, and R. Rubio.** 2004. Intracoronary angiotensin II causes inotropic and vascular effects via different paracrine mechanisms. *Vascul Pharmacol* **41**:147-58.
13. **Clarkson, P. B., N. M. Wheeldon, C. MacLeod, M. Tennent, and T. M. MacDonald.** 1994. Effects of angiotensin II and aldosterone on diastolic function in vivo in normal man. *Clin Sci (Lond)* **87**:397-401.
14. **Coleridge, H. M., J. C. Coleridge, M. P. Kaufman, and A. Dangel.** 1981. Operational sensitivity and acute resetting of aortic baroreceptors in dogs. *Circ Res* **48**:676-84.
15. **Collister, J. P., and M. D. Hendel.** 2005. Chronic effects of angiotensin II and at1 receptor antagonists in subfornical organ-lesioned rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **32**:462-6.
16. **Costa, M., and H. Majewski.** 1988. Facilitation of noradrenaline release from sympathetic nerves through activation of ACTH receptors, beta-adrenoceptors and angiotensin II receptors. *Br J Pharmacol* **95**:993-1001.
17. **Cowley, A. W., Jr.** 1992. Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol Rev* **72**:231-300.
18. **Cuspidi, C., I. Michev, S. Meani, B. Severgnini, V. Fusi, C. Corti, M. Salerno, C. Valerio, F. Magrini, and A. Zanchetti.** 2003. Reduced nocturnal fall in blood pressure, assessed by two ambulatory blood pressure monitorings and cardiac alterations in early phases of untreated essential hypertension. *J Hum Hypertens* **17**:245-51.
19. **Delius, W., K. E. Hagbarth, A. Hongell, and B. G. Wallin.** 1972. General characteristics of sympathetic activity in human muscle nerves. *Acta Physiol Scand* **84**:65-81.
20. **Della Rocca, G., M. G. Costa, C. Coccia, L. Pompei, P. Di Marco, V. Vilardi, and P. Pietropaoli.** 2003. Cardiac output monitoring: aortic transpulmonary thermodilution and pulse contour analysis agree with standard thermodilution methods in patients undergoing lung transplantation. *Can J Anaesth* **50**:707-11.
21. **Derad, I., F. Sayk, H. Lehnert, L. Marshall, J. Born, and M. Nitschke.** 2014. Intranasal angiotensin II in humans reduces blood pressure when angiotensin II type 1 receptors are blocked. *Hypertension* **63**:762-7.
22. **Dubey, R. K., and E. K. Jackson.** 2001. Cardiovascular protective effects of 17beta-estradiol metabolites. *J Appl Physiol (1985)* **91**:1868-83.
23. **Dubey, R. K., S. P. Tofovic, and E. K. Jackson.** 2004. Cardiovascular pharmacology of estradiol metabolites. *J Pharmacol Exp Ther* **308**:403-9.

24. **Dupont, A. G., and S. Brouwers.** 2010. Brain angiotensin peptides regulate sympathetic tone and blood pressure. *J Hypertens* **28**:1599-610.
25. **Dutoit, A. P., E. C. Hart, N. Charkoudian, B. G. Wallin, T. B. Curry, and M. J. Joyner.** 2010. Cardiac baroreflex sensitivity is not correlated to sympathetic baroreflex sensitivity within healthy, young humans. *Hypertension* **56**:1118-23.
26. **Eckberg, D. L., and J. M. Fritsch.** 1993. How should human baroreflexes be tested? *News Physiol Sci* **8**:7-12.
27. **Eyraud, D., S. Mouren, K. Teugels, M. Bertrand, and P. Coriat.** 1998. Treating anesthesia-induced hypotension by angiotensin II in patients chronically treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Anesth Analg* **86**:259-63.
28. **Fagius, J., and B. G. Wallin.** 1980. Sympathetic reflex latencies and conduction velocities in normal man. *J Neurol Sci* **47**:433-48.
29. **Feldberg, W., and G. P. Lewis.** 1964. The Action of Peptides on the Adrenal Medulla. Release of Adrenaline by Bradykinin and Angiotensin. *J Physiol* **171**:98-108.
30. **Ferri, C., G. Desideri, R. Baldoncini, C. Bellini, M. Valenti, A. Santucci, and G. De Mattia.** 1999. Angiotensin II increases the release of endothelin-1 from human cultured endothelial cells but does not regulate its circulating levels. *Clin Sci (Lond)* **96**:261-70.
31. **Franklin, S. S.** 1999. Ageing and hypertension: the assessment of blood pressure indices in predicting coronary heart disease. *J Hypertens Suppl* **17**:S29-36.
32. **Franklin, S. S., W. t. Gustin, N. D. Wong, M. G. Larson, M. A. Weber, W. B. Kannel, and D. Levy.** 1997. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation* **96**:308-15.
33. **Frattola, A., G. Parati, C. Cuspidi, F. Albin, and G. Mancia.** 1993. Prognostic value of 24-hour blood pressure variability. *J Hypertens* **11**:1133-7.
34. **Goldsmith, S. R., D. Dodge-Brown, and P. Pentel.** 1988. Effects of infused norepinephrine and angiotensin-II on vasopressin levels in humans. *Am J Med Sci* **295**:513-6.
35. **Gossmann, J., R. Burkhardt, S. Harder, T. Lenz, A. Sedlmeyer, U. Klinkhardt, T. Haak, H. Geiger, and E. H. Scheuermann.** 2000. Effect of angiotensin II infusion with and without angiotensin II type 1 receptor blockade on nitric oxide metabolism and endothelin in human beings: a placebo-controlled study in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* **68**:501-9.
36. **Grassi, G., C. Turri, R. Dell'Oro, M. L. Stella, G. B. Bolla, and G. Mancia.** 1998. Effect of chronic angiotensin converting enzyme

- inhibition on sympathetic nerve traffic and baroreflex control of the circulation in essential hypertension. *J Hypertens* **16**:1789-96.
37. **Grote, L.** 2004. [Influence of circadian rhythms on cardiovascular function]. *Internist (Berl)* **45**:994-1005.
38. **Guo, G. B., and F. M. Abboud.** 1984. Angiotensin II attenuates baroreflex control of heart rate and sympathetic activity. *Am J Physiol* **246**:H80-9.
39. **Guyenet, P. G.** 2006. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* **7**:335-46.
40. **Heesch, C. M., M. E. Crandall, and J. A. Turbek.** 1996. Converting enzyme inhibitors cause pressure-independent resetting of baroreflex control of sympathetic outflow. *Am J Physiol* **270**:R728-37.
41. **Heusser, K., J. Tank, S. Engeli, A. Diedrich, J. Menne, S. Eckert, T. Peters, F. C. Sweep, H. Haller, A. M. Pichlmaier, F. C. Luft, and J. Jordan.** 2010. Carotid baroreceptor stimulation, sympathetic activity, baroreflex function, and blood pressure in hypertensive patients. *Hypertension* **55**:619-26.
42. <http://www.hochdruckliga.de/bluthochdruck-in-zahlen.html>, posting date. [Online.]
43. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Gesundheit.html;jsessionid=051D35CE155131014794B1F0AA1A1890.cae3>, posting date. [Online.]
44. **Jilma, B., K. Krejcy, E. Dirnberger, H. G. Eichler, S. Kapiotis, G. T. Dorner, and O. F. Wagner.** 1997. Effects of angiotensin-II infusion at pressor and subpressor doses on endothelin-1 plasma levels in healthy men. *Life Sci* **60**:1859-66.
45. **Joyner, M. J., N. Charkoudian, and B. G. Wallin.** 2010. Sympathetic nervous system and blood pressure in humans: individualized patterns of regulation and their implications. *Hypertension* **56**:10-6.
46. **Kaplan, N. M.** 2003. Morning surge in blood pressure. *Circulation* **107**:1347.
47. **Kerkhof, G. A., H. P. Van Dongen, and A. C. Bobbert.** 1998. Absence of endogenous circadian rhythmicity in blood pressure? *Am J Hypertens* **11**:373-7.
48. **Khairallah, P. A.** 1972. Action of angiotensin on adrenergic nerve endings: inhibition of norepinephrine uptake. *Fed Proc* **31**:1351-7.
49. **Khairallah, P. A., D. Davila, N. Papanicolaou, N. M. Glende, and P. Meyer.** 1971. Effects of angiotensin infusion on catecholamine uptake and reactivity in blood vessels. *Circ Res* **28**:Suppl 2:96-106.
50. **Klein, H., Z. Abassi, and H. R. Keiser.** 1995. Effects of angiotensin II and phenylephrine on urinary endothelin in normal female volunteers. *Metabolism* **44**:115-8.

51. **Klinke R, P. H., Silbernagl S.** 2005. Das Kreislaufsystem, p. 184-193. *In* P. H. Klinke R, Silbernagl S (ed.), *Physiologie*, vol. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
52. **Kobayashi, M., Y. Furukawa, and S. Chiba.** 1978. Positive chronotropic and inotropic effects of angiotensin II in the dog heart. *Eur J Pharmacol* **50**:17-25.
53. **Krieger, E. M.** 1970. Time course of baroreceptor resetting in acute hypertension. *Am J Physiol* **218**:486-90.
54. **Lameris, T. W., S. de Zeeuw, D. J. Duncker, G. Alberts, F. Boomsma, P. D. Verdouw, and A. H. van den Meiracker.** 2002. Exogenous angiotensin II does not facilitate norepinephrine release in the heart. *Hypertension* **40**:491-7.
55. **Laurent, S., J. Cockcroft, L. Van Bortel, P. Boutouyrie, C. Giannattasio, D. Hayoz, B. Pannier, C. Vlachopoulos, I. Wilkinson, and H. Struijker-Boudier.** 2006. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* **27**:2588-605.
56. **Li, P., E. H. Sonnenblick, P. Anversa, and J. M. Capasso.** 1994. Length-dependent modulation of ANG II inotropism in rat myocardium: effects of myocardial infarction. *Am J Physiol* **266**:H779-86.
57. **Llorens-Cortes, C., and F. A. Mendelsohn.** 2002. Organisation and functional role of the brain angiotensin system. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* **3 Suppl 1**:S39-48.
58. **Lohmeier, T. E., and R. Ilescu.** 2011. Chronic lowering of blood pressure by carotid baroreflex activation: mechanisms and potential for hypertension therapy. *Hypertension* **57**:880-6.
59. **Lohmeier, T. E., and R. Ilescu.** 2012. Lowering of blood pressure by chronic suppression of central sympathetic outflow: insight from prolonged baroreflex activation. *J Appl Physiol* (1985) **113**:1652-8.
60. **Lohmeier, T. E., E. D. Irwin, M. A. Rossing, D. J. Serdar, and R. S. Kieval.** 2004. Prolonged activation of the baroreflex produces sustained hypotension. *Hypertension* **43**:306-11.
61. **Lokhandwala, M. F., E. Amelang, and J. P. Buckley.** 1978. Facilitation of cardiac sympathetic function by angiotensin II: role of presynaptic angiotensin receptors. *Eur J Pharmacol* **52**:405-9.
62. **Lumbers, E. R., D. I. McCloskey, and E. K. Potter.** 1979. Inhibition by angiotensin II of baroreceptor-evoked activity in cardiac vagal efferent nerves in the dog. *J Physiol* **294**:69-80.
63. **Lusardi, P., A. Zoppi, P. Preti, R. M. Pesce, E. Piazza, and R. Fogari.** 1999. Effects of insufficient sleep on blood pressure in hypertensive patients: a 24-h study. *Am J Hypertens* **12**:63-8.

64. **MacGregor, D. P., C. Murone, K. Song, A. M. Allen, G. Paxinos, and F. A. Mendelsohn.** 1995. Angiotensin II receptor subtypes in the human central nervous system. *Brain Res* **675**:231-40.
65. **Mancia, G., R. Dell'Oro, F. Quarti-Trevano, F. Scopelliti, and G. Grassi.** 2006. Angiotensin-sympathetic system interactions in cardiovascular and metabolic disease. *J Hypertens Suppl* **24**:S51-6.
66. **Matsukawa, S., and I. A. Reid.** 1990. Role of the area postrema in the modulation of the baroreflex control of heart rate by angiotensin II. *Circ Res* **67**:1462-73.
67. **Matsukawa, T., E. Gotoh, K. Minamisawa, M. Kihara, S. Ueda, H. Shionoiri, and M. Ishii.** 1991. Effects of intravenous infusions of angiotensin II on muscle sympathetic nerve activity in humans. *Am J Physiol* **261**:R690-6.
68. **McCubbin, J. W., J. H. Green, and I. H. Page.** 1956. Baroreceptor function in chronic renal hypertension. *Circ Res* **4**:205-10.
69. **Mendelsohn, F. A., A. E. Doyle, and G. W. Gray.** 1980. Lack of response of sympathetic nervous system to angiotensin infusion. *Lancet* **1**:492-3.
70. **Moravec, C. S., M. D. Schluchter, L. Paranandi, B. Czerska, R. W. Stewart, E. Rosenkranz, and M. Bond.** 1990. Inotropic effects of angiotensin II on human cardiac muscle in vitro. *Circulation* **82**:1973-84.
71. **Motwani, J. G., and A. D. Struthers.** 1992. Dose-response study of the redistribution of intravascular volume by angiotensin II in man. *Clin Sci (Lond)* **82**:397-405.
72. **Nicholls, M. G., E. A. Espiner, K. D. Miles, A. J. Zweifler, and S. Julius.** 1981. Evidence against an interaction of angiotensin II with the sympathetic nervous system in man. *Clin Endocrinol (Oxf)* **15**:423-30.
73. **Osborn, J. W., F. Jacob, and P. Guzman.** 2005. A neural set point for the long-term control of arterial pressure: beyond the arterial baroreceptor reflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **288**:R846-55.
74. **Palatini, P.** 2004. Non-dipping in hypertension: still a challenging problem. *J Hypertens* **22**:2269-72.
75. **Paton, J. F., P. Boscan, D. Murphy, and S. Kasparov.** 2001. Unravelling mechanisms of action of angiotensin II on cardiorespiratory function using in vivo gene transfer. *Acta Physiol Scand* **173**:127-37.
76. **Paton, J. F., J. Deuchars, Z. Ahmad, L. F. Wong, D. Murphy, and S. Kasparov.** 2001. Adenoviral vector demonstrates that angiotensin II-induced depression of the cardiac baroreflex is mediated by endothelial nitric oxide synthase in the nucleus tractus solitarii of the rat. *J Physiol* **531**:445-58.

77. **Paton, J. F., S. Wang, J. W. Polson, and S. Kasparov.** 2008. Signalling across the blood brain barrier by angiotensin II: novel implications for neurogenic hypertension. *J Mol Med (Berl)* **86**:705-10.
78. **Peach, M. J., F. M. Bumpus, and P. A. Khairallah.** 1969. Inhibition of norepinephrine uptake in hearts by angiotensin II and analogs. *J Pharmacol Exp Ther* **167**:291-9.
79. **Phillips, M. I.** 1987. Functions of angiotensin in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* **49**:413-35.
80. **Potter, E. K., and I. A. Reid.** 1985. Intravertebral angiotensin II inhibits cardiac vagal efferent activity in dogs. *Neuroendocrinology* **40**:493-6.
81. **Rabbitts, J. A., N. A. Strom, J. R. Sawyer, T. B. Curry, N. M. Dietz, S. K. Roberts, S. M. Kingsley-Berg, and N. Charkoudian.** 2009. Influence of endogenous angiotensin II on control of sympathetic nerve activity in human dehydration. *J Physiol* **587**:5441-9.
82. **Ramchandra, R., C. J. Barrett, S. J. Guild, and S. C. Malpas.** 2006. Evidence of differential control of renal and lumbar sympathetic nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **290**:R701-8.
83. **Reid, I. A.** 1992. Interactions between ANG II, sympathetic nervous system, and baroreceptor reflexes in regulation of blood pressure. *Am J Physiol* **262**:E763-78.
84. **Sayk, F., C. Becker, C. Teckentrup, H. L. Fehm, J. Struck, J. P. Wellhoener, and C. Dodt.** 2007. To dip or not to dip: on the physiology of blood pressure decrease during nocturnal sleep in healthy humans. *Hypertension* **49**:1070-6.
85. **Schlaich, M. P., D. M. Kaye, E. Lambert, J. Hastings, D. J. Campbell, G. Lambert, and M. D. Esler.** 2005. Angiotensin II and norepinephrine release: interaction and effects on the heart. *J Hypertens* **23**:1077-82.
86. **Schmidt R, L. F., Heckmann M.** 2010. Herz und Kreislauf, p. 517-628, *Physiologie des Menschen*, vol. 31. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
87. **Schmidt R, L. F., Heckmann M.** 2010. Vegetatives Nervensystem, p. 403-476, *Physiologie des Menschen*, vol. 31. Auflage. Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
88. **Schmidt R, L. F., Thews G, Busse R.** 2005. Kreislauf, p. 604-663, *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*, vol. 30. Auflage. Springer Medizin Verlag Heidelberg.
89. **Silva, A. P., C. Moreira, M. Bicho, T. Paiva, and J. G. Clara.** 2000. Nocturnal sleep quality and circadian blood pressure variation. *Rev Port Cardiol* **19**:991-1005.
90. **Silverthorn, D.** 2009. Physiologie, p. 641-706, *Physiologie*, vol. 4. Auflage. Pearson Education Deutschland GmbH, München.

91. **Somers, V. K., M. E. Dyken, A. L. Mark, and F. M. Abboud.** 1993. Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N Engl J Med* **328**:303-7.
92. **Staessen, J. A., R. Fagard, L. Thijs, H. Celis, G. G. Arabidze, W. H. Birkenhager, C. J. Bulpitt, P. W. de Leeuw, C. T. Dollery, A. E. Fletcher, F. Forette, G. Leonetti, C. Nachev, E. T. O'Brien, J. Rosenfeld, J. L. Rodicio, J. Tuomilehto, and A. Zanchetti.** 1997. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension. The Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. *Lancet* **350**:757-64.
93. **Steckelings, U. M., S. P. Bottari, and T. Unger.** 1992. Angiotensin receptor subtypes in the brain. *Trends Pharmacol Sci* **13**:365-8.
94. **Struck, J., P. Muck, D. Trubger, R. Handrock, G. Weidinger, A. Dendorfer, and C. Dodt.** 2002. Effects of selective angiotensin II receptor blockade on sympathetic nerve activity in primary hypertensive subjects. *J Hypertens* **20**:1143-9.
95. **Struthers, A. D., S. Pai, P. H. Seidelin, W. J. Coutie, and J. J. Morton.** 1987. Evidence in humans for a postsynaptic interaction between noradrenaline and angiotensin II with regard to systolic but not diastolic blood pressure. *J Hypertens* **5**:671-6.
96. **Takahashi, H.** 2012. Upregulation of the Renin-Angiotensin-aldosterone-ouabain system in the brain is the core mechanism in the genesis of all types of hypertension. *Int J Hypertens* **2012**:242786.
97. **Tank, J., A. Diedrich, E. Szczech, F. C. Luft, and J. Jordan.** 2005. Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension* **45**:1159-64.
98. **Thrasher, T. N.** 2002. Unloading arterial baroreceptors causes neurogenic hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **282**:R1044-53.
99. **Toda, N., S. Inoue, and H. Okunishi.** 1988. Prejunctional alpha adrenoceptor and angiotensin receptor function in isolated human, monkey and dog arteries. *J Pharmacol Exp Ther* **246**:662-6.
100. **Twosten, C.** 2012. Einfluss von Angiotensin-II-induziertem nächtlichem Non-Dipping auf die Konsolidierung des Blutdrucksetpoints.
101. **Vallbo, A. B., K. E. Hagbarth, H. E. Torebjork, and B. G. Wallin.** 1979. Somatosensory, proprioceptive, and sympathetic activity in human peripheral nerves. *Physiol Rev* **59**:919-57.
102. **van Houten, M., E. L. Schiffrin, J. F. Mann, B. I. Posner, and R. Boucher.** 1980. Radioautographic localization of specific binding sites for blood-borne angiotensin II in the rat brain. *Brain Res* **186**:480-5.

103. **Veerasingham, S. J., and M. K. Raizada.** 2003. Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *Br J Pharmacol* **139**:191-202.
104. **Veerman, D. P., B. P. Imholz, W. Wieling, K. H. Wesseling, and G. A. van Montfrans.** 1995. Circadian profile of systemic hemodynamics. *Hypertension* **26**:55-9.
105. **Volicer, L., and C. G. Loew.** 1971. Penetration of angiotensin II into the brain. *Neuropharmacology* **10**:631-6.
106. **Wallin, B. G., G. Sundlof, B. M. Eriksson, P. Dominiak, H. Grobecker, and L. E. Lindblad.** 1981. Plasma noradrenaline correlates to sympathetic muscle nerve activity in normotensive man. *Acta Physiol Scand* **111**:69-73.
107. **Weber, T., J. Auer, and B. Eber.** 2008. Arterial pulse wave velocity but not augmentation index is associated with coronary artery disease extent and severity: implications for arterial transfer function applicability. *J Hypertens* **26**:375-6; authro reply 376-7.
108. **Weber, T., M. F. O'Rourke, M. Ammer, E. Kvas, C. Punzengruber, and B. Eber.** 2008. Arterial stiffness and arterial wave reflections are associated with systolic and diastolic function in patients with normal ejection fraction. *Am J Hypertens* **21**:1194-202.
109. **Xue, B., T. G. Beltz, Y. Yu, F. Guo, C. E. Gomez-Sanchez, M. Hay, and A. K. Johnson.** 2011. Central interactions of aldosterone and angiotensin II in aldosterone- and angiotensin II-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**:H555-64.
110. **Zanutto, B. S., M. E. Valentinuzzi, and E. T. Segura.** 2010. Neural set point for the control of arterial pressure: role of the nucleus tractus solitarius. *Biomed Eng Online* **9**:4.
111. **Zimmerman, B. G., S. K. Gomer, and J. C. Liao.** 1972. Action of angiotensin on vascular adrenergic nerve endings: facilitation of norepinephrine release. *Fed Proc* **31**:1344-50.
112. **Zipes, D. P., and M. Rubart.** 2006. Neural modulation of cardiac arrhythmias and sudden cardiac death. *Heart Rhythm* **3**:108-13.

7. Danksagung

In erster Linie möchte ich mich herzlichst bei Herrn Prof. Dr. med. H. Lehnert sowie Herrn PD Dr. med. F. Sayk für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung und Zusammenarbeit bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Ihnen gebührt auch Dank für das Überlassen des Arbeitsplatzes im Labor und der Materialien.

Dem klinisch-hämatologischen Labor des Instituts für Neuroendokrinologie, allen voran Frau Martina Grohs danke ich für die zügige Auswertung der Blutproben und die reibungslose Zusammenarbeit.

Danken möchte ich Dr. med. Christoph Twesten, der parallel in der gleichen Arbeitsgruppe seine Doktorarbeit angefertigt hat, für die unkomplizierte Aufteilung der umkämpften Laborzeiten.

Großer Dank gilt den Versuchsteilnehmern, die mit Flexibilität, Geduld und Engagement zum spannenden Ergebnis dieser Untersuchung maßgeblich beigetragen haben.

Die wichtigsten finanziellen aber auch mentalen Unterstützer meines Medizinstudiums und dieser Arbeit waren meine Eltern, Karin und Jürgen Wobbe und meine Großeltern Gerhard und Martha Mäckelburg. Ohne sie wäre mir das Anfertigen der vorliegenden Arbeit nicht möglich gewesen.

Lieben Dank an Dr. med. Fabian Jacob, Dr. med. Anna Maaßen und Dr. med. Julia Loesaus für Motivation, Tipps und gewissenhaftes Korrekturlesen.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Isabel Wobbe

Alter: 29 Jahre



Hochschulstudium:

10 / 2005 Beginn des Medizinstudiums an der Universität zu Lübeck
09 / 2007 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10 / 2009 – 05 / 2012 Tutorin in der interdisziplinären Lehrereinrichtung TÜFTL (tueftl.de)

Famulaturen:

- Dr. med. M. Eichler, internistische Praxis, Hamburg
- Poliklinik für Endokrinologie, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Radiologie, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Kinderheilkunde, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Neurologie, UKSH Campus Lübeck

Praktisches Jahr:

- Medizinische Kliniken I + III, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Radiologie, UKSH Campus Lübeck
- Klinik für Chirurgie und Unfallchirurgie, Schön-Kliniken Neustadt

Mai 2012 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Beruflicher Werdegang:

Seit 01.10.2012 Assistenzärztin für Radiologie, Klinik für Radiologie und Nuklearmedizin
UKSH Campus Lübeck

Zeitraum der Dissertation:

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von August 2008 bis Juni 2014 an der medizinischen Klinik I an der Medizinischen Universität zu Lübeck erstellt. Die Daten wurden im Zeitraum von Juli 2008 bis August 2010 generiert.

Publikation:

Prolonged Angiotensin-II infusion does not induce persistent baroreflex resetting

Wobbe I, Twesten C, Krapalis A, Dodt C, Lehnert H, Sayk F

117. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin (DGIM)

30. April – 3. Mai 2011, Wiesbaden, Poster PS 330, Nephrologie 5

Prolonged blood pressure elevation following continuous infusion of angiotensin-II – a baroreflex study in healthy humans

Sayk F, Wobbe I, Twesten C, Meusel M, Wellhöner P, Derad I, Dodt C.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2015 Sep 23:ajpregu.00111.2015. doi: 10.1152/ajpregu.00111.2015. [Epub ahead of print]

9. Poster



Erhöhte Angiotensin-II Blutspiegel führen nicht zu einer protrahierten Änderung des Baroreflex-Setpoints



I. Wobbe¹, C. Twesten¹, A. Krapalis¹, C. Dodt², H. Lehnert¹, F. Sayk¹

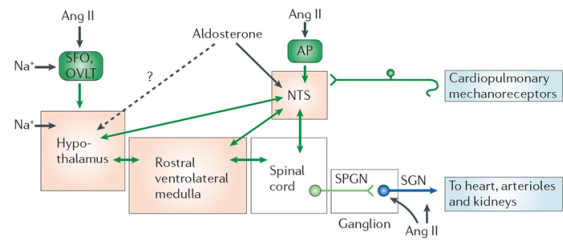
¹Medizinische Klinik I, UKSH Campus Lübeck – ²Interdisziplinäres Notfallzentrum Klinikum München-Bogenhausen

Einleitung

Renin-Angiotensin-System und sympathisches Nervensystem interagieren auf ZNS- und peripherer Ebene. Angiotensin II moduliert das Kreislaufzentrum im Hirnstamm über zirkumventrikuläre Organe.
 → Erhöhte Angiotensin II Blutspiegel bewirken eine akute Erhöhung des vasokonstriktorischen Sympathikotonus.

Zentrale Frage der Studie:

Führen protrahiert erhöhte Angiotensin-II Blutspiegel bei gesunden Probanden zu einem nachhaltigen Shift des zentralnervös regulierten Baroreflex-Setpoints, so dass eine Blutdruckerhöhung und / oder Sympathikusaktivierung über die direkte Ang-II Wirkdauer (HWZ von wenigen Sek.) hinaus persistiert ?



(nach Guyenet, Nature Rev, Neurosci 2006)

CNS network that regulates the basal sympathetic tone.

Material und Methoden

- Placebokontrollierte, randomisiert und verblindete Fall-Kontroll-Studie an 12 jungen, gesunden Probanden
- 6-stündige Angiotensin II-Infusion bei körperlicher Ruhe unter 20-minütiger Blutdruck- und Herzfrequenz-Messung
- Anschließende Mikroneurografie zur Messung der muskulären sympathischen Nervenaktivität (MSNA) und pharmakogene Baroreflex-Testung
- Bestimmung kreislaurelevanter Hormon-Parameter
- Arterielle Gefäßsteifigkeit: Messung von Pulswellengeschwindigkeit, Augmentationsindex und Pulsdruck (n = 6 Probanden)
- Ambulante Blutdruckmessung bis zum nächsten Tag



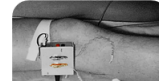
Monitoring vorbereiten (RR, HF)

7:30 Uhr



Ruhephase + Infusion: Angiotensin II vs. Placebo

8:00 – 14:00 Uhr



MSNA, Blutdruck und Herzfrequenz

14:30 Uhr



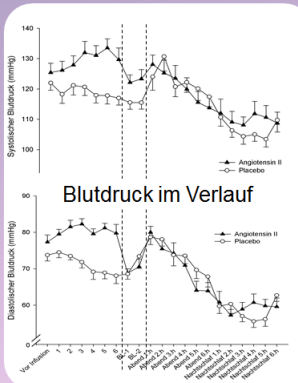
Pharmakogene Baroreflex-Testung

Ca. 16:00 Uhr



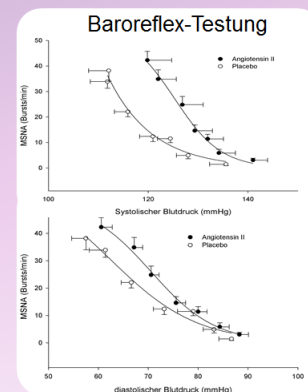
Ambulante Blutdruck-Messung

16:30 – 6:00 Uhr



Ergebnisse

- Signifikanter Blutdruckanstieg unter Angiotensin-II Infusion (systol. $14,1 \pm 2,3$ mmHg, diastol. $12,7 \pm 3,4$ mmHg; MW \pm SEM);
- Herzfrequenz bleibt unverändert (keine Reflexbradykardie)
- Ca. 1-2 h nach Beendigung der Angiotensin-II Infusion signifikant erhöhter systolischer Blutdruck gegenüber Placebo ($129,3 \pm 3,5$ mmHg vs. $120,9 \pm 2,7$ mmHg, $p < 0,05$);
- diastolischer Blutdruck und Herzfrequenz unverändert
- Kein Unterschied der Ruhe-MSNA-Werte zwischen beiden Gruppen. Baroreflex-Sensitivität in beiden Bedingungen gleich
- Gering erhöhte arterielle Gefäßsteifigkeit während Angiotensin-II Infusion mit Rückkehr zum Placebo-Niveau nach Infusionsende
- keine Katecholamin-erhöhung, Renin erniedrigt, Aldosteron erhöht
- Keine signifikanten Blutdruckveränderungen während der ambulanten Messperiode.



Schlussfolgerung

- Eine 6-stündige Angiotensin-II Infusion führt die Ang-II Halbwertszeit hinaus zu einer passageren Erhöhung des systolischen, nicht aber des diastolischen Blutdruckes.
- Die sympathische muskuläre Nervenaktivität und die Baroreflexsensitivität werden nicht nachhaltig verändert.
- Die systolische Blutdruckerhöhung durch Angiotensin II kann nicht auf eine Erhöhung der sympathischen vasokonstriktorischen Innervation zurückgeführt werden.
- Die zugrunde liegenden Mechanismen lassen sich nicht durch die direkte vasokonstriktorische Wirkung des Hormons erklären.
- Änderungen der arteriellen Gefäßsteifigkeit scheinen die Veränderungen nicht zu erklären.