

Niklas Ayasse
Dr. med

Acute urinary pH changes following application of diuretics

Fach: Physiologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. Markus Hecker

Das Ziel der hier vorgelegten Arbeit war es den exakten Mechanismus von akuten Diuretika-induzierten Änderungen des Urin-pH-Werts zu klären. Schleifendiuretika wie beispielsweise Furosemid induzieren ein deutliches und akutes Absinken des Urin-pH-Werts, wohingegen ein moderater Anstieg des Urin-pH-Wertes durch das Amilorid-Analogon Benzamil ausgelöst wird. Diese Effekte werden gegenwärtig mit der Aktivierung, beziehungsweise Hemmung der renalen distal-tubulären H^+ -Sekretion erklärt. Die sogenannte „voltage hypothesis“ postuliert, dass diese von der transepithelialen Potentialdifferenz abhängig ist. Diese wiederum unterliegt der Aktivität des epithelialen Na^+ -Kanals (ENaC), welcher in den Hauptzellen des distalen Tubulus lokalisiert ist. Ein Anstieg der Na^+ -Resorption durch ENaC verursacht ein lumen-negatives Potential, welches die elektrogene H^+ -Sekretion durch die vakuoläre H^+ -ATPase (V-ATPase), die in den α -interkalierten Zellen lokalisiert ist, befördern soll. Da Furosemid die Na^+ -Resorption im dicken aufsteigenden Ast der Henle-Schleife hemmt und damit die Bereitstellung von Na^+ im distalen Tubulus erhöht, kommt es zu einer indirekten Aktivierung von ENaC, was zu einem Anstieg der H^+ -Sekretion führen soll. Dementsprechend soll die direkte Hemmung von ENaC durch Benzamil zu einer Hemmung der spannungsabhängigen H^+ Sekretion führen. Obwohl die „voltage hypothesis“ anerkannte Lehrmeinung ist, fehlt bisher der zweifelsfreie Beweis für diese Hypothese. Zudem gibt eine neuere Studie Anlass zu der Vermutung, dass der azidifizierende Effekt von Furosemid durch eine Aktivitätssteigerung des Typ 3 Na^+/H^+ -Austauschers (NHE3) im dicken aufsteigenden Ast der Henle-Schleife vermittelt werden könnte.

Um diese Vermutung weiter zu prüfen, wurde das Konzept der indirekten Aktivierung von ENaC in dieser Arbeit weiter untersucht. Mithilfe des Thiaziddiuretikums Hydrochlorothiazid (HCT), welches den Na^+/Cl^- -Kotransporter im distalen Konvolut inhibiert, sollte ein Anstieg des Na^+ -Angebots im distalen Tubulus induziert werden. Falls ENaC-abhängige Effekte eine geringe oder keine Rolle bei den Diuretika-induzierten Änderungen des Urin-pH-Werts spielen, sollte HCT den Urin nicht akut ansäuern.

In einer zweiten Serie von Experimenten wurde der Effekt der direkten Hemmung von ENaC durch Benzamil auf den Urin-pH-Wert weiter untersucht. Neben der V-ATPase ist die K^+ -absorbierende, H^+ -sezernierende H^+/K^+ -ATPase (HKA) in den α -interkalierten Zellen exprimiert. Da Benzamil die K^+ -

Sekretion inhibiert, könnte dies zu einer verringerten Aktivität der renalen HKA und damit zu einer Abnahme der H⁺-Sekretion führen, was schlussendlich in einer Alkalisierung des Urins resultiert. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde der Effekt von Benzamil sowohl unter Bedingungen hoher als auch niedriger Kaliumzufuhr untersucht. Ziel der veränderten Kaliumzufuhr war es, das basale Aktivitätsniveau der renalen HKA zu beeinflussen.

Alle Experimente wurden in 8-10 Wochen alten, männlichen C57/Bl6J-Mäusen durchgeführt. Die Tiere wurden anästhesiert und operativ mit einem suprapubischer Blasenkatheter versorgt. Dies erlaubte die Messung des Urin-pH-Werts in Echtzeit mithilfe von pH-Mikroelektroden. Zudem wurde die Diurese gemessen und die Na⁺- und K⁺-Konzentration im Sammelurin durch Flammenphotometrie bestimmt. In der ersten Serie von Experimenten erhielten die Mäuse HCT (1 mg/ml) über einen intravenösen Zugang. Eine Gruppe von Tieren wurde vor den Experimenten mit einer natriumarmen Diät gefüttert, um die ENaC-Aktivität zu steigern. In einer zweiten Serie von Experimenten wurde der Effekt von Benzamil (0.2 µg/g BW) untersucht. Um eine mögliche Kaliumabhängigkeit der Benzamil-induzierten Urinalkalisierung zu untersuchen, wurden die Tiere entweder mit einer kaliumreichen oder einer kaliumarmen Diät gefüttert.

Diese Arbeit bestätigt den diuretischen und natriuretischen Effekt von HCT. Der HCT-induzierte Anstieg der K⁺-Ausscheidung indiziert eine indirekte Aktivierung von ENaC. Westernblot-Analysen bestätigten einen Anstieg der ENaC-Proteinmenge. Interessanterweise löste HCT keine akute Änderung des Urin-pH-Werts aus. Die Gabe von Benzamil führte zu einem akuten Anstieg der Natriurese und zu einer akuten Abnahme der Kaliurese. Verglichen mit der Benzamil-induzierten Urinalkalisierung unter Kontrolldiät war dieser Effekt unter kaliumreicher Diät abgeschwächt und wesentlich stärker unter einer kaliumarmen Diät.

Das Ausbleiben einer Urinazidifizierung durch HCT, trotz ENaC Aktivierung, unterstützt indirekt das Konzept der Furosemid-induzierten Stimulation der H⁺-Sekretion über den NHE3. Gleichzeitig gibt die inverse Korrelation von Benzamil-induzierter Urinalkalisierung und diätetischer K⁺-Aufnahme Anlass zu der Vermutung, dass die renale HKA diesen Effekt vermittelt. Damit unterstützt diese Arbeit die These, dass akute Diuretika-induzierte Änderungen des Urin-pH-Werts durch eine elektroneutrale Stimulation beziehungsweise Inhibition der H⁺-Sekretion vermittelt werden. Dies widerspricht dem Konzept der spannungsabhängigen distal-tubulären H⁺-Sekretion und hinterfragt die sogenannte „voltage hypothesis“.