

VAATTONUS EN RENINESECRETIE IN DE GEÏSOLEERDE RATTENIER
de invloed van temperatuur en vaatverwijdende stoffen

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE

GENEESKUNDE

AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM

OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS

PROF. DR. J. SPERNA WEILAND

EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.

DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP

WOENSDAG 8 JUNI 1983 DES NAMIDDAGS

TE 3.45 UUR

DOOR

PIETER LEENDERT BATENBURG

GEBOREN TE DORDRECHT

Promotor: Prof. dr. W.H. Birkenhäger
Co-referenten: Prof. dr. P.R. Saxena
Prof. dr. P.A. van Zwieten

Dit proefschrift werd bewerkt op de afdeling Experimentele Pathologie (hoofd: Dr. P.W. de Leeuw) van het Zuiderziekenhuis te Rotterdam. Het onderzoek werd mogelijk gemaakt door subsidie C 143 van de Nier Stichting Nederland.

Aan Ina, Siemkje en Pieter-Kees

I N H O U D

HOOFDSTUK I	
INLEIDING	1
HOOFDSTUK II	
DE GEÏSOLEERDE NIER	3
2.1. Inleiding	3
2.2. Geschiedenis	4
2.3. Techniek van isolatie	5
2.4. De perfusievloeistof	6
2.4.1. Perfusie met bloed	7
2.4.2. Perfusie met albumine	8
2.4.3. Perfusie met synthetische colloïden	9
2.4.4. Het stofwisselingssubstraat	10
HOOFDSTUK III	
HET RENINE-ANGIOTENSINE SYSTEEM	11
3.1. Inleiding	11
3.1.1. De localisatie van het renine	11
3.1.2. De werking van het renine	13
3.1.3. Het inactief renine	17
3.2. De secretie van het renine	19
3.2.1. De baroreceptor	19
3.2.2. De macula densa	22
3.2.3. Het autonome zenuwstelsel	26
3.2.3.1. De β -receptor	27
3.2.3.2. De α -receptor	29
3.2.4. Humorale factoren	33
3.2.4.1. Natrium	33
3.2.4.2. Kalium	35
3.2.4.3. Calcium	37
3.2.4.4. Chloride	40
3.2.4.5. Angiotensine II	41
3.2.4.6. Antidiuretisch hormoon	42
3.2.4.7. Parathormoon	43
3.2.4.8. Glucagon	43

3.2.4.9. Prostaglandine en kallikreïne- kinine systeem	43
3.2.5. Metabole invloeden	45
3.2.5.1. Hypoxie	45
3.2.5.2. Remming van de celstofwisseling	45
3.3. Intrarenale componenten van het renine- angiotensine systeem	46
3.3.1. Localisatie	46
3.3.2. De invloed van het renine-angiotensine systeem op de nier	48

HOOFDSTUK IV

DE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP DE NIER, DE RENINESECRETIE EN HET VAATGEDRAG	55
4.1. Hypothermie en de nier	55
4.2. Hyperthermie en de nier	58
4.3. Temperatuur en de reninesecretie	58
4.3.1. Hypothermie	58
4.3.2. Hyperthermie	59
4.4. Temperatuur en het vaatgedrag	60

HOOFDSTUK V

VRAAGSTELLING VAN HET ONDERZOEK	64
---------------------------------	----

HOOFDSTUK VI

METHODEN VAN ONDERZOEK	66
6.1. Techniek van de perfusie	66
6.2. Perfusie-opstelling	68
6.3. Perfusievloeistoffen	71
6.4. Haemodynamische metingen	73
6.5. Hormonale bepalingen	74
6.6. Vitaliteit van het model	75
6.7. Statistische bewerking	76
6.8. Gebruikte farmaca	76

HOOFDSTUK VII

DE REPRODUCEERBAARHEID VAN DE WAARNEMINGEN BIJ NORMOTHERME PERFUSIE	78
--	----

HOOFDSTUK VIII

DE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER	84
8.1. Inleiding en vraagstellingen	84
8.2. De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie	86
8.3. De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) t.o.v. normotherme perfusie	91
8.4. De invloed van hypotherme pefusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie	96
8.5. De invloed van hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie	99
8.6. Beschouwing	102
8.7. Conclusies	106

HOOFDSTUK IX

DE INVLOED VAN ENDRALAZINE OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER	107
9.1. Inleiding en vraagstellingen	107
9.2. Normotherme perfusie	110
9.3. Hypotherme perfusie	116
9.4. Conclusies	124

HOOFDSTUK X

DE INVLOED VAN VERAPAMIL OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER	126
10.1. Inleiding en vraagstellingen	126
10.2. Normotherme perfusie	128
10.3. Hypotherme perfusie	135
10.4. Conclusies	142

HOOFDSTUK XI

DE INVLOED VAN CAPTOPRIL OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER	143
---	-----

11.1. Inleiding en vraagstellingen	143
11.2. Normotherme perfusie	149
11.3. Hypotherme perfusie	155
11.4. Conclusies	158
HOOFDSTUK XII	
DE INVLOED VAN PRAZOSINE OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER	159
12.1. Inleiding en vraagstellingen	159
12.2. Normotherme perfusie	161
12.3. Hypotherme perfusie	167
12.4. Hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie	170
12.5. Beschouwing	179
12.6. Conclusies	183
SAMENVATTING	184
SUMMARY	188
LITERATUURLIJST	192
NAWOORD	211
CURRICULUM VITAE	213

H O O F D S T U K I

INLEIDING

Hypertensie is een veel voorkomende afwijking, waarvoor in het merendeel der gevallen geen oorzaak wordt gevonden. Men spreekt dan van essentiële hypertensie. Gezien de betekenis van het hypertensieprobleem voor het ontstaan van cardiovasculaire complicaties is het niet verwonderlijk dat in de afgelopen decennia veel onderzoek op dit gebied is verricht. Hoewel de oorzaak van essentiële hypertensie nog niet gevonden is, nemen vele onderzoekers aan dat de nier een centrale rol speelt. Daardoor is ook de grote belangstelling voor het renine-angiotensine systeem te verklaren.

In 1898 vonden Tigerstedt en Bergman bloeddrukstijging na het inspuiten van een extract van konijnenieren bij een ander konijn. De veronderstelde werkzame stof noemden zij renine. De laatste decennia is de belangstelling voor de rol van het renine bij de regulatie van de bloeddruk sterk toegenomen. De ontwikkeling van een gevoelige en specifieke bepalingsmethode was hier mede debet aan.

De rol van het renine bij de regulatie van de bloeddruk is bij voorkeur bij de mens in vivo te bestuderen. Wanneer men echter geïnteresseerd is in processen die de secretie van het renine beïnvloeden, wordt dit bemoeilijkt door een complexiteit van factoren als zoutbalans, bloeddruk, activiteit van het adrenerge zenuwstelsel en andere humorale factoren zoals prostaglandine en kallikreïne-kinine systeem. Voor het bestuderen van de reninesecretie waarbij men de diverse andere mechanismen grotendeels kan beheersen wordt vanaf het begin van de zeventiger jaren gebruik gemaakt van geïsoleerde niermodellen. Hiervoor wordt de nier van een proefdier (meestal een rat) gebruikt. In een dergelijke opstelling wordt de nier doorstroomd met een perfusievloeistof en wordt renine in de uitstroomvloeistof bepaald.

Dit proefschrift betreft een onderzoek naar de invloed van farmaca, die wegens hun vaatverwijdende werking gebruikt worden voor de bestrijding van hypertensie, op vaattonus en reninesecretie in een dergelijk geïsoleerd (ratte-) niermodel. De invloed van temperatuur werd bestudeerd, alsmede de gevolgen van infusie van de farmaca tijdens remming van de reninesecretie door hypothermie.

In het eerste deel van dit proefschrift (hoofdstuk II t/m IV) wordt ingegaan op de literatuurgegevens betreffende de geïsoleerde nier, het renine-angiotensine systeem en de invloed van temperatuur op de nier, het vaatgedrag en de reninesecretie. In hoofdstuk V wordt de vraagstelling omschreven. De volgende hoofdstukken handelen over de resultaten van het eigen onderzoek.

H O O F D S T U K I I

DE GEISOLEERDE NIER

2.1. Inleiding

Hoewel de functie van de nier inzake de homeostase van de circulatie in het intacte organisme grotendeels goed te onderkennen is, heeft zich toch de noodzaak doen voelen sommige aspecten meer in detail te bestuderen. Hiertoe dient de nier uit het circuit te worden verwijderd en ofwel in zijn totaliteit, ofwel in onderdelen te worden onderzocht. Men kan hierbij de ingaande prikkels en andere invloeden reguleren en een inzicht in de netto prestatie van de nier, respectievelijk zijn onderdelen verkrijgen.

Tegenover deze winst staat een offer, namelijk het nadeel dat men het fysiologisch milieu nimmer volledig kan nabootsen. In dit kader zijn de volgende modellen ontwikkeld:

A. Isolatie van de nier:

1. De nier wordt geïsoleerd voor onderzoekingen omtrent het gehele orgaan; hierop wordt in hoofdstuk 2.2 verder ingegaan.
2. De nier wordt geprepareerd voor onderzoek van afzonderlijke nephronen waarbij gebruik gemaakt wordt van micro-punctietechnieken (De Mello en Maack, 1976).
3. De "non-filtering" geïsoleerde nier. Hierbij wordt de oncotische druk van de perfusievloeistof dermate verhoogd, dat deze de netto hydrostatische druk in de glomerulaire capillairen neutraliseert. Het gevolg is dat de filtratie stopt. Dit model wordt gebruikt voor het onderzoek naar processen op (peri)tubulair niveau (Johnson en Maack, 1977).

B. Isolatie van onderdelen van de nier voor onderzoek naar de reninesecretie

1. Geïsoleerde niercoupes van ca. 0,5 mm dikte, afkomstig

- van de cortex. Deze coupes worden gedurende enige tijd in een medium geïncubeerd waarna de hoeveelheid renine welke in het medium wordt gesecerneerd, kan worden gemeten (Aoi e.a. 1974, Capponi en Valloton, 1976; Park en Malvin, 1978, Park e.a., 1981; Naftilan en Oparil, 1982). Bij deze proefopstelling wordt uitgegaan van de veronderstelling dat rechtstreeks, d.w.z. zonder tussenkomst van een vaatreactie, kan worden beïnvloed. Beïnvloeding via de macula densa is niet uitgesloten (Khayat e.a., 1981) en passieve lekkage uit de snijvlakken kan optreden.
2. Geïsoleerde glomeruli (Blendstrup e.a., 1975; Baumbach e.a., 1976). Hierbij wordt verondersteld dat beïnvloeding via de macula densa afwezig is. De resultaten worden echter mede beïnvloed door de aanwezigheid en de lengte van de afferente arteriolen verbonden aan de glomeruli (Morris e.a., 1976).
 3. Geïsoleerde juxtaglomerulaire celsuspensies. Bij deze techniek worden de juxtaglomerulaire cellen door inwerking van enzymen (collagenase, trypsine) geïsoleerd. Beïnvloeding van de reninesecretie door een vaatrespons of de macula densa is uitgesloten (Khayat e.a., 1981).
 4. Geïsoleerde reninehoudende korrels uit juxtaglomerulaire cellen. Het effect van farmacologische en niet farmacologische (bijvoorbeeld thermische) beïnvloeding op de reninesecretie is hiermee te bestuderen (Funakawa e.a., 1978; Sagnella en Peart, 1979).

2.2. Geschiedenis

Ter bestudering van de nierfunctie ontstond de behoefte aan een model waarin wisselende factoren als bloeddruk, circulerend volume, zuurstofspanning, neurogene en humorale stimuli, grotendeels konden worden beheerst. De geschiedenis van de nierperfusie gaat terug tot de 19e eeuw. In 1888 onderzocht Rosenheim de eigenschappen van kwikdiuretica met dit model. Begin 20e eeuw werden de pogingen tot perfusie hervat, waarbij sterk optredende

vasoconstrictie de interpretatie van de resultaten bemoeilijkte (Bainbridge en Evans, 1914). Dit werd veroorzaakt door het gebruik van bloed als perfusievloeistof. Wanneer het bloed vóór perfusie van de nier de long passeerde, werd géén vasoconstrictie waargenomen (Bainbridge en Evans, 1914). De studies bleven toen beperkt tot meting van bloeddorstrooming, urineproductie en zuurstofconsumptie.

Klaringsstudies werden voor het eerst verricht door Shannon en Winton in 1940. In 1959 introduceerden Weiss e.a. de geïsoleerde (ratte-) nier voor het onderzoek naar de regulatie van de nierdoorbloeding. Daarna volgden de toepassingen elkaar in snel tempo op: onderzoeken naar het metabolisme van de nier (Nishiitsutsuji-Uwo e.a., 1967), natriumexcretie (Kaloyanides e.a., 1971), reninsecretie (Vandongen e.a., 1973), het effect van diuretica op nierfunctie en metabolisme (Bowman e.a., 1973). Inmiddels neemt het model een belangrijke plaats in bij de studie naar metabolisme en nefrotoxiciteit van farmaca (Ross e.a., 1980).

Naast bovenstaande toepassingen werd de geïsoleerde nier gebruikt voor onderzoek naar de problematiek rond conservering van donornieren zoals keuze van de perfusievloeistof, effecten van langdurige perfusie e.d..

In de verschillende modellen wordt de nier van de rat het meest als experimenteel model gebruikt. De redenen hiervoor zijn voor de hand liggend: de grootte van de nier, de lage prijs, de genetische uniformiteit en de parallellen die naar de nier van de mens te trekken zijn.

De verschillende geïsoleerde niermodellen die tot nu toe ontwikkeld zijn, onderscheiden zich vooral door de techniek van isolatie en de keuze van de perfusievloeistof.

2.3. Techniek van isolatie

1. De meest gebruikte techniek is voor het eerst beschreven door Weiss (1959) en later gemodificeerd door Bauman

e.a., (1963). Hierbij wordt de rechter arteria renalis gecannuleerd na retrograde cannulatie van de arteria mesenterica superior. Na starten van de perfusie wordt de nier bij stromende perfusievloeistof uit de rat verwijderd en in een speciale kamer geïnstalleerd. Veneuze cannulatie is niet nodig en het veneuze effluens kan onder in de kamer worden verzameld. Vóór de isolatie wordt de ureter gecannuleerd en via deze canule kan de urineproductie worden gemeten. Op zich is dit een uitstekende techniek.

Bezwaar is echter dat door de chirurgische manipulatie de nier beschadigd kan worden, hetgeen de waarnemingen kan beïnvloeden. Daarnaast vraagt dit uitgebreide laboratoriumfaciliteiten, is de procedure bewerkelijk en daarom vanwege praktische redenen niet geschikt voor waarnemingen op grote schaal.

2. In 1973 ontwikkelden Vandongen e.a. een eenvoudiger model. Hierbij wordt de nier in situ gelaten. Kort weergegeven (voor een uitgebreide beschrijving zie hoofdstuk 6) wordt de linker nier geperfundeerd via een canule in de aorta; via een canule in de vena cava wordt het veneuze effluens verzameld. Door een overdosis anaestheticum wordt de rat opgeofferd waarna een geïsoleerd model is ontstaan waarbij de nier in situ is. Dit model passen wij toe bij ons onderzoek. De techniek is relatief eenvoudig en de manipulatie van de nier is gering.

2.4. De perfusievloeistof

Aanvankelijk werden geïsoleerde nieren geperfundeerd met bloed. Thans is de perfusievloeistof voor experimentele nierperfusie over het algemeen een gemodificeerde Krebs Ringer oplossing waaraan een oncotische stof en metabole substraten toegevoegd zijn. Als oncotische stoffen worden gebruikt albumine, plasmavervangingsmiddelen als haemacel of dextran en combinaties van beiden.

2.4.1. Perfusie met bloed

Bij de eerste experimenten met geïsoleerde niermodellen werd gedefibrineerd bloed gebruikt. Hierbij was een belangrijk probleem het optreden van vasoconstrictie tijdens het begin van de perfusie (Bainbridge en Evans, 1914; Hemmingway, 1931).

Ook bij gebruik van gehepariniseerd bloed werd dit waargenomen (Brull en Louis-Bar, 1957). Verondersteld wordt dat een vasoactieve stof in het plasma vrijkomt door mechanische beschadiging van de erythrocyten (Nizet e.a., 1959). Deze stof onderscheidt zich van serotonine (Cuypers e.a., 1959). De vasoconstrictie kan voorkomen worden door een long in het circuit op te nemen (Bainbridge en Evans, 1914; Torelli e.a., 1973).

In een later stadium van de perfusie is het optreden van vetembolisatie een probleem (Belzer e.a., 1968). Door het nemen van maatregelen als het gebruik van oxygenatoren die een geringe traumatische erythrocytenbeschadiging veroorzaken, perfusie met vers bloed rechtstreeks aan een donordier onttrokken en het gebruik van een beperkte hoeveelheid bloed, is een succesvolle perfusie mogelijk (Nizet, 1975).

De meest fysiologische benadering is de perfusie met bloed. Bovenstaande problemen en de daaruit resulterende complexiteit van de opstelling beperken de toepassing.

Recirculatie treedt in dit model op, wat een beperkende factor met zich meebrengt. Voor de bestudering van secretieprocessen is recirculatie minder gewenst. Enerzijds kunnen veranderingen van moment tot moment niet worden gesignaleerd, anderzijds kan het secretieproces theoretisch door een negatieve feedback worden beïnvloed. Doordat bloed velerlei bestanddelen bevat, kunnen deze de niercirculatie beïnvloeden.

Daarnaast is het model weinig stabiel en treden onvoorspelbare verschillen tussen de resultaten van individuele experimenten op (Nizet, 1975).

2.4.2. Perfusie met albumine

De problemen bij perfusie met bloed leidden tot het zoeken naar een alternatieve oncotische stof voor de perfusie van een geïsoleerde nier.

Als colloïd-deel wordt dierlijk albumine ((BSA factor V) het meest gebruikt, veelal in de opstelling ontwikkeld door Weiss e.a., (1959) en Bauman e.a., (1963).

Dialyse van de perfusievloeistof is noodzakelijk om deze te reinigen. Perfusie met albumine resulteert in een doorstroming tot 43 ml/min. die boven de normale nierdoorbloeding ligt (Schurek en Alt, 1981). Dit wordt veroorzaakt door de lage viscositeit van de perfusievloeistof. Perfusie zonder albumine veroorzaakt een lagere doorstroming. Ook wordt de hogere colloïd- osmotische druk van albumine als reden voor de toegenomen doorstroming gezien, waardoor zich minder vocht naar het interstitium verplaatst (Pegg, 1970; Little en Cohen, 1974; Schurek en Alt, 1981).

Volgens de theorie van Starling doet daling van de albumineconcentratie de glomerulaire filtratiesnelheid toenemen. Experimenten van Bowman en Maack (1974) konden dit echter niet bevestigen. Recente waarnemingen van Schurek en Alt (1981) toonden daarentegen wel een omgekeerde relatie tussen glomerulaire filtratiesnelheid en albumineconcentratie van de perfusievloeistof.

Wanneer geen albumine aan de perfusievloeistof wordt toegevoegd, stijgt het gewicht van de geperfundeerde nier met ca. 30% (Schurek en Alt, 1981) en neemt de natriumreabsorptie af (Little en Cohen, 1974; Schurek en Alt, 1981). De optimale albumineconcentratie is tussen 75 en 80 gram/liter (Little en Cohen, 1974). Goede resultaten wat betreft vitaliteit en stabiliteit worden verkregen bij perfusie met albumine. Perfusies tot een duur van twee uur (Schurek en Alt, 1981) kunnen worden verricht.

Albumine is een goede colloïd-basis van de perfusievloeistof. Door de relatief hoge kosten wordt albumine echter alleen in een recirculatiemodel toegepast, hetgeen wederom beperkingen met betrekking tot de vraagstelling

inhoudt. Daarnaast kunnen bij recirculatie potentieel schadelijke stoffen uit de nier afkomstig cumuleren en bijdragen tot een verminderde functie van het model; hierover zijn geen goede onderzoeken bekend (Maack, 1980).

2.4.3. Perfusie met synthetische colloïden

Als alternatief voor perfusie met albuminehoudende oplossingen worden synthetische colloïden gebruikt zoals dextran en haemaccel. De voordelen van deze colloïden zijn de eenvoudige bereiding van de perfusievloeistof en de relatief lage prijs, waardoor "single pass" perfusie mogelijk is.

Dextran en haemaccel zijn geschikt voor perfusie zonder recirculatie (Ross, 1978). Perfusievloeistoffen met dextran of haemaccel hebben een hogere viscositeit dan albumine bevattende vloeistoffen, waardoor de doorstroming lager ligt (Pegg, 1970). Wanneer men gedurende een langere tijd de nier perfundeert met dextran, stijgt het gewicht van de nier meer dan bij perfusie met albumine (Pegg, 1970). Dit wordt veroorzaakt door de vorming van oedeem in de nier. Weiss e.a. deden reeds in 1959 experimenten waarbij rattenieren met een dextran bevattende perfusievloeistof werden doorstroomd. Zij kwamen tot de conclusie dat na een perfusieduur van dertig minuten het preparaat niet meer stabiel was en een daling van de doorstroming (en stijging van de vaatweerstand) optrad.

Perfusie met dextran bevattende vloeistoffen dient derhalve slechts kortdurend plaats te vinden.

Men kan zich afvragen in hoeverre bovengenoemde gewichtsstijging, inherent aan de dextran-doorstroming, het vaatgedrag tijdens een kortdurende perfusie beïnvloedt. In experimenten waarbij korte perfusies met dextran bevattende perfusievloeistoffen werden toegepast zijn geen aanwijzingen te vinden dat de vaatweerstand daardoor stijgt (Vandongen e.a. 1973; Vandongen en Peart, 1974a, 1974b; Vandongen 1975a, 1975b, 1976, 1977; Vandongen en Greenwood, 1975a, 1975b; Strang, 1978; Vandongen en Tunney, 1980; Logan en Chatzilias, 1980). Vandongen e.a.

(1973) vonden na een maximale perfusieduur van 25 minuten dat de geperfundeerde nier 1.87 ± 0.03 gram woog, t.o.v. het gewicht van 1.62 ± 0.08 gram van de niet geperfundeerde nier. Uit de experimenten van Schurek en Alt (1981) blijkt dat bij gewichtstoename van de nier met 30% (bij perfusie zonder colloïd toevoeging) het vaatgedrag niet beïnvloed wordt.

Bij kortdurende perfusie zijn er geen aanwijzingen voor vitaliteitsverlies van het model. Strang (1978) vond geen patholoog-anatomische afwijkingen, geen aanwijzingen voor celafbraak in de uitstromende perfusievloeistof en behoud van een goede reactiviteit op farmacologische beïnvloeding.

Met dextran geperfundeerde nieren zijn in staat om thyroxine in triiodothyronine te metaboliseren (Adlkofer e.a., 1977).

De fractionele natrium reabsorptie ligt bij toepassing van zowel dextran als haemaccel lager dan bij albumine (Franke e.a., 1971). Ook neemt de kaliumuitscheiding toe (Schurek e.a., 1975).

Samenvattend kunnen wij vaststellen dat dextran een bruikbaar colloïd is bij perfusie tot maximaal dertig minuten zonder recirculatie. Bij een perfusie van langere duur en het optreden van recirculatie heeft albumine de voorkeur.

2.4.4. Het stofwisselingssubstraat

D-glucose wordt het meest als substraat gebruikt; dit zorgt voor een optimale glomerulaire filtratiesnelheid (Ross e.a., 1973) en fractionele natriumreabsorptie (Trimble en Bowman, 1973). Pyruvaat wordt gebruikt om via de mitochondriën de cellulaire ademhaling te stimuleren (Huland e.a., 1972). Acetaat, pyruvaat, lactaat en glutamaat verbeteren de natriumreabsorptie (Schurek e.a., 1975).

H O O F D S T U K I I I

HET RENINE-ANGIOTENSINE SYSTEEM

3.1. Inleiding

In dit hoofdstuk wordt ingegaan op de literatuurgegevens betreffende localisatie en werking van het renine, waaronder het inactief renine. De mogelijke betekenis van renine-achtige enzymen die buiten de nier zijn gevonden zoals in speekselklieren, uterus, placenta en hersenen, alsmede van het renine in de vaatwand, wordt buiten beschouwing gelaten.

3.1.1. Localisatie van het renine

Het renine wordt geproduceerd in de juxtaglomerulaire cellen van de nier. Ruyter beschreef reeds in 1925 een celstructuur gelocaliseerd in de wand van de afferente arteriële van de glomerulus, maar aan de betekenis van deze ontdekking werd aanvankelijk voorbijgegaan. Goormaghtigh (1939) veronderstelde dat het renine in deze juxtaglomerulaire cellen wordt geproduceerd. Juxtaglomerulaire cellen zijn gemodificeerde gladde spiercellen en bevatten korrels die lichtmicroscopisch zichtbaar zijn (Goormaghtigh, 1939; Edelman en Hartroft, 1961; Hartroft en Hartroft, 1961; Barajas, 1981). Immunochemisch onderzoek bevestigde de aanwezigheid van renine in de juxtaglomerulaire cellen (Edelman en Hartroft, 1961; Faarup, 1968; Cook, 1971; Celio en Inagami, 1981; Taugner en Hackenthal, 1981; Taugner e.a., 1982). De juxtaglomerulaire cellen zijn een deel van het zogenaamde juxtaglomerulaire apparaat (fig. 3.1), dat verder bestaat uit:

1. de afferente en efferente arteriolen van de glomerulaire vaatpool
2. de macula densa
3. de Goormaghtigh cellen, die ook wel het extraglomerulaire mesangium genoemd worden.

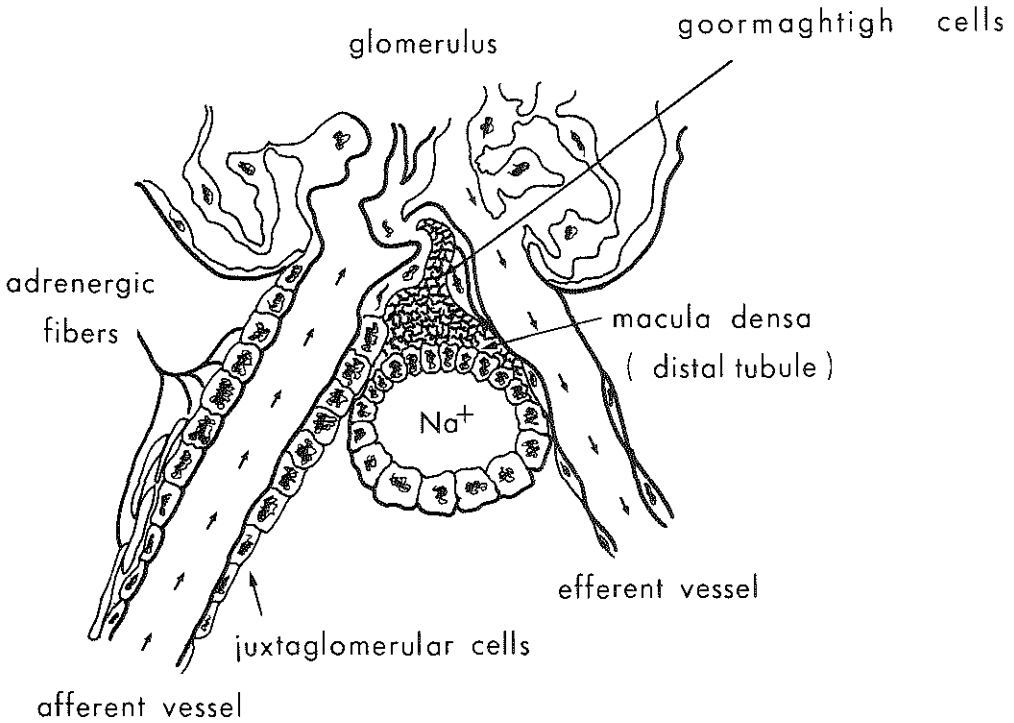


Fig. 3.1 Het juxtaglomerulaire apparaat.

De juxtaglomerulaire cellen bevinden zich voornamelijk in de media van de afferente arteriole (Goormaghtigh, 1939; Edelman en Hartroft, 1961; Hartroft en Hartroft, 1961; Barajas en Latta, 1963; Cook, 1971; Faraggiana e.a., 1981; Taugner en Hackenthal, 1981) maar ook in de wand van de efferente arteriole is renine aangetoond (Barajas en Latta, 1963; Faarup, 1968; Barajas, 1981; Celio en Inagami, 1981; Taugner e.a., 1982). De macula densa is een deel van de distale tubulus dat in nauw contact staat met het juxtaglomerulaire apparaat bij de hilus van de glomerulus (Barajas en Latta, 1963, 1967). Lichtmicroscopisch zijn deze cellen hoger dan die in het overige deel van de tubulus, liggen de kernen dicht bij elkaar (waaraan deze structuur zijn naam ontleend) en is het Golgi apparaat excentrisch gelocaliseerd (Barajas en Latta, 1963; Barajas, 1981). Tussen afferente en efferente

rente arteriole bevinden zich de Goormaghtigh cellen (het extraglomerulaire mesangium). Bij electronenmicroscopie bestaat dit gebied uit een netwerk van door een basaalmembraam van elkaar gescheiden cellen met weinig cytoplasma en dunne uitlopers die met elkaar verbonden zijn (Barajas, 1981). De functie van het extraglomerulaire mesangium is onduidelijk.

De sympathische zenuwen van de nier maken contact met de juxtaglomerulaire cellen (Barajas, 1964; Hartroft, 1966; Wagemark e.a., 1968). Hartroft (1966) vond ook aanwijzingen voor een sympathische innervatie van de macula densa. Wagemark e.a. (1968) konden echter met een fluorescentie-techniek géén zenuwvezels in de nabijheid van deze cellen aantonen.

De renineconcentratie is in het buitenste deel van de cortex het hoogst en neemt in medullaire richting af. In de subcapsulaire buitenste cortex is het reninegehalte laag (Brown e.a., 1963a, Horiuchi e.a., 1971). Micro-puncties tonen aan dat de renineactiviteit in het vas afferens lager is dan in de aorta (Morgan en Davies, 1975). Op grond hiervan wordt verondersteld dat renine ook in het interstitium wordt uitgescheiden. De waarneming dat de renineconcentratie in nierlymfe 10 x hoger is dan in veneus bloed (Lever en Peart, 1962; Horky e.a., 1971) leidde tot de veronderstelling dat naast een effect van renine op de circulatie in het algemeen, er ook sprake is van een locale werking van het renine-angiotensine systeem in de nier. Hierop wordt in hoofdstuk 3.3. nader ingegaan.

3.1.2. De werking van het renine

Renine is een proteolytisch enzym dat in twee vormen in het plasma van de mens wordt gevonden: het actief renine en het inactief renine (zie 3.1.3.).

Het moleculair gewicht van het actief renine in het plasma is 51.000 dalton. Bij isoelectrisch onderzoek blijkt dat het actief renine uit een viertal verschillende componenten bestaat (Chang e.a., 1981). Het actief renine in de nier van de mens heeft een moleculair ge-

wicht van 44.000 dalton (Chang e.a., 1981; Kawamura e.a. 1982). De structuur van het reninemolecuul is nog niet geheel bekend. De halfwaarde-tijd van renine is kort, slechts 15 tot 20 minuten (Ziegler en Gross, 1963). Aanvankelijk werd verondersteld dat de nier een rol speelt bij het metabolisme van renine (Houssay e.a., 1942). Later onderzoek spreekt dit tegen. Na nephrectomie is de halfwaarde-tijd van renine niet veranderd (Schaechtelin e.a., 1964). Ook de pressor respons na injectie van renine in de arteria renalis of vena femoralis is identiek (Blaquier e.a., 1962). De afbraak van renine vindt voornamelijk plaats in de lever, dit is dierexperimenteel (Haecox e.a., 1967) en bij de mens aangetoond (Christlieb e.a., 1968). Echter ook na hepatectomie daalt de renineconcentratie, zodat elders in het lichaam renine wordt afgebroken. In anhepatische, anephrische honden werd geen extractie van renine gevonden door long, splanchnicusvasculatuur, milt, onderste extremiteiten of kop. Hieruit concludeerden Fagard e.a., (1973) dat extractie of inactivatie van renine door het weefsel in het algemeen plaatsvindt. Renine werkt in op zijn substraat, het angiotensinogeen, een α_2 -globuline, dat gesynthetiseerd wordt in de lever. Door de inwerking op het reninesubstraat (zie figuur 3.2.) treedt splitsing op van 2 leucine eenheden op de plaatsen 10 en 11, waardoor de decapeptide angiotensine I wordt gevormd.

ne II de heptapeptide angiotensine III gevormd. Angiotensine III heeft een stimulerende invloed op de aldosteronsecretie (Blair- West e.a., 1971), hoewel de betekenis hiervan in vivo onzeker is. Angiotensine III wordt door aminopeptidasen afgebroken tot inactieve metabolieten.

De omzetting van angiotensine I in angiotensine II door het convertings enzyme verloopt snel. Injectie van angiotensine I in een dier waaruit de nieren verwijderd zijn, veroorzaakt een snelle drukstijging, vergelijkbaar met injectie van een equimolaire hoeveelheid angiotensine II (Skeggs e.a., 1967).

De long beschikt over een hoge concentratie convertings enzyme activiteit (Caldwell e.a., 1970; Oparil e.a., 1970;). Ook in geïsoleerde zoogdierlongen die door middel van een perfusievloeistof doorstroomd werden was convertings enzyme activiteit aanwezig (Ryan e.a., 1970). De omzetting van angiotensine I in angiotensine II vindt dan ook vermoedelijk in de long plaats (Ng en Vane, 1967). Infusie van reninesubstraat in de geïsoleerde rattenier veroorzaakt vasoconstrictie. Gelijktijdige infusie van een remmer van het convertings enzyme voorkomt deze respons. Dit bewijst de aanwezigheid van het convertings enzyme in de nier (Davalos e.a., 1978; Casellas e.a., 1980; Chiba e.a., 1982). Ook anderen vinden een bewijs voor convertings enzyme activiteit in de nier (Disalvo e.a., 1971; Granger e.a., 1972; Ward e.a., 1975; Caldwell e.a., 1976). Verder is convertings enzyme activiteit aangetoond in de lever (Disalvo e.a., 1973; Caldwell e.a., 1976) en in de vaatwand (Kreye en Gross, 1971). Ook in plasma is het convertings enzyme aanwezig (Yang en Erdős, 1967). Naast de omzetting van angiotensine I in angiotensine II speelt het convertings enzyme een rol bij de afbraak van kininen. Het bradykinine, een peptide met een vaatverwijdende werking, wordt afgebroken door kininase I en kininase II (Erdős en Sloane, 1962; Yang en Erdős, 1967). Bewezen is dat het enzym kininase II identiek is aan het convertings enzyme (Erdős, 1977).

3.1.3. Het inactief renine

In de circulatie wordt ook een inactieve vorm van renine gevonden, door verschillende groepen aangeduid als inactief renine of prorenine. Het inactief renine kan op verschillende manieren worden geactiveerd. Lumbers (1971) toonde als eerste de activering van renine aan. Dialyse van amnionvloeistof bij een pH van 3.3 en daarna bij een pH van 7.4 toonde een hogere renineconcentratie dan amnionvloeistof gedialyseerd bij een pH boven 4.0. Activatie van een inactieve reninevorm werd verondersteld. Daarna hebben diverse groepen een toename van de renineconcentratie in amnionvloeistof en menselijk plasma aangetoond na blootstelling aan een pH tussen 3.0 en 3.3, gevolgd door dialyse bij een neutrale pH of hoger (Derkx e.a., 1976, 1979a, 1979b; Boyd, 1977; Shulkes e.a., 1978).

Andere manieren van renine-activatie zijn: temperatuurverlaging tot -5°C gedurende drie tot vier dagen bij een pH van 7.4 (Sealey e.a., 1976) en de inwerking van proteolytische enzymen o.a. trypsine (Cooper e.a., 1974; Derkx e.a., 1979b), pepsine (Shulkes e.a., 1978), kallikreïne (Derkx e.a., 1979a, 1979b) en plasmine (Derkx e.a., 1979a, 1979b).

Het moleculairgewicht van het inactief renine is lager in de nier (51.000 dalton) dan in het perifere bloed (56.000 dalton). Zowel het inactief renine in het plasma als in de nier bestaat bij isoelectrisch onderzoek uit vijf componenten (Chang e.a., 1981).

Derkx e.a., (1976) vonden bij patiënten met renovasculaire hypertensie in de vena renalis (aan de zijde van de stenose) een hogere concentratie inactief renine dan in het perifere bloed. Zij concludeerden dan ook dat inactief renine door de nier in de bloedbaan wordt uitgescheiden. Wanneer men de concentratie inactief renine in arteria en vena renalis bepaalt bij patiënten met renovasculaire hypertensie, is het volgens Sealey e.a. (1982) vaker uitzondering dan regel dat een verschil wordt aangetroffen.

Atlas e.a. (1980) vonden bij perfusie van menselijke nieren inactief renine in de uitstroomvloeistof. Bij deze onderzoeken werd tevens de lymfe opgevangen. Sealey e.a. (1982) veronderstelden dat het inactief renine niet rechtstreeks door de nier in de bloedbaan wordt uitgescheiden, maar in het interstitium en via de lymfe in de circulatie komt.

Onderzoeken in geïsoleerde rattenieren steunen de veronderstelling dat het inactief renine niet rechtstreeks uit de nier in de bloedbaan vrijkomt, aangezien inactief renine niet in de perfusievloeistof wordt aangetroffen (Vandongen e.a., 1977; Nakane e.a., 1979, 1980b).

In de nier van de rat (Morris e.a., 1976; Gillies e.a., 1980) wordt zoals bij de mens (Atlas e.a., 1980; Chang e.a., 1981; Kawamura e.a., 1982) inactief renine gevonden.

In een dierexperiment vonden De Senarclens e.a. (1977) door acidificatie te activeren renine in de juxtaglomerulaire cel. Zij stimuleerden het renine-angiotensine-systeem door bilaterale adrenalectomie en zoutdepletie. Wanneer in deze toestand de juxtaglomerulaire cellen elektronen-microscopisch werden onderzocht, bevatten zij weinig korrels, hetgeen verklaard werd door een versneld vrijkomen van renine. Toediening van desoxycorticosteronacetaat (DOCA) en zoutbelasting deed nieuwe korrels verschijnen. Deze korrels bleken een reninevorm te bevatten die door acidificatie kon worden geactiveerd. De Senarclens c.s. veronderstelden met een voorloper van het renine te maken te hebben of een aan eiwit gebonden vorm. Inactief renine wordt ook in het plasma van de rat aangetroffen en kan door acidificatie (Vandongen e.a., 1977) of trypsine (Morris e.a., 1976; Barrett e.a., 1982; Glorioso e.a., 1983) worden geactiveerd. De Keyzer e.a., (1982) vonden geen inactief renine in het plasma van de rat. Bij dit onderzoek werden de ratten gedood door decapitatie, in tegenstelling tot bij het onderzoek van Vandongen en Morris c.s.. Echter, zowel Barrett c.s. als Glorioso c.s. pasten decapitatie toe,

maar troffen wel inactief renine in het plasma van de rat aan.

De rol van het inactief renine is nog onduidelijk. Alle beschikbare gegevens overziende, concludeert Leckie (1981) dat er geen bewijs bestaat dat circulerend inactief renine een belangrijke voorloper is van circulerend actief renine. Activatie op lokaal niveau door inwerking van kallikreïne of plasmine (zoals in vitro) is een hypothetische mogelijkheid.

Sealey e.a. (1982) zien als mogelijkheden:

- het inactief renine heeft na secretie in de circulatie geen specifieke functie
- het inactief renine is een transportvorm van (actief) renine en kan gemakkelijker de celmembraam passeren dan de actieve vorm.

3.2. De secretie van het renine

Verondersteld wordt dat een drietal intrarenale receptoren de reninesecretie beïnvloeden.

- Dit zijn:
- a. baroreceptor
 - b. macula densa
 - c. adrenerge receptoren

3.2.1. De baroreceptor en de reninesecretie

Tobian e.a. (1959) veronderstelden een rol voor de perfusiedruk bij de regulatie van de reninesecretie. Na stijging van de perfusiedruk werd een afname van de granulatie van juxtaglomerulaire cellen gevonden. Zij verklaarden dit door aan te nemen dat deze cellen als rek-receptor fungeren die de reninesecretie reguleren afhankelijk van de rek. De afname in juxtaglomerulaire cel granulatie kon echter mede verklaard worden door tevens optredende veranderingen in nierdoorbloeding en glomerulaire filtratiesnelheid. Skinner e.a. (1963, 1964) deden experimenten waarbij aortaconstrictie werd toegepast. Bij verlaging van de arteriële druk steeg de reninesecre-

tie. De polsdruk had overigens geen invloed op de secretie van het renine. Aangezien aortaconstrictie ook de uitscheiding van natrium beïnvloedt, valt niet uit te sluiten dat deze resultaten gedeeltelijk door een effect op de macula densa worden bepaald. Om dit te vermijden, pasten Blaine e.a. (1971) een zogenaamd "non-filtering kidney" model toe. In een dergelijk model is de macula densa niet functioneel. Tevens had in deze experimenten denervatie van de nier en adrenalectomie plaats gevonden. Zowel bij verbloeden als na suprarenale aortaconstrictie vonden zij een stijging van de reninesecretie. De stijging van de reninesecretie kon worden geblokkeerd door uitschakelen van de vaatrespons door papaverine (Witty e.a., 1971).

Hoewel in de literatuur de rol van de baroreceptor op de reninesecretie algemeen wordt onderkend, is de aard van het signaal door deze receptor ontvangen niet geheel duidelijk.

Vander (1967) veronderstelde als mogelijkheden:

1. De arteriële bloeddruk.

Een verandering in de arteriële bloeddruk zal parallelle veranderingen in de intra-vasculaire druk van de afferente arteriole, transmurale druk en wandspanning veroorzaken. Dit is echter niet altijd het geval omdat veranderingen in de arteriële druk kunnen worden versterkt of gedempt ter plaatse van de granulaire cellen door actieve veranderingen in de tonus van de afferente arteriole.

2. De actieve afferente arteriolaire vaattonus. De druk ter hoogte van de granulaire cellen wordt voor een groot deel beïnvloed door de activiteit van de gladde spieren in de wand van de afferente arteriole. Wanneer (bijvoorbeeld bij zoutonthouding) een toegenomen reninesecretie niet wordt vergezeld van een verlaagde arteriële druk is dit niet in tegenspraak met de baroreceptortheorie, omdat het de mogelijke veranderingen in afferente arteriolaire tonus negeert. De vaattonus kan beïnvloed worden door sympathische stimuli, angiotensine en vasodilatoren.

3. De renale interstitiële druk.

Onder fysiologische omstandigheden is de renale interstitiële druk relatief constant en zal de transmurale drukgradiënt direct variëren met de intravasculaire druk. Bij vele experimentele modellen die voor de bestudering van de reninesecretie gebruikt worden (zoals osmotische diurese, ureter-afsluiting, niervene-afsluiting e.d.) stijgt de interstitiële druk en wordt daardoor de transmurale druk verlaagd.

Wanneer het bovenstaande vertaald wordt in veranderingen in de niervaatweerstand, kan worden gesteld dat volgens de literatuur zowel vasodilatatie als vasoconstrictie de reninesecretie kan stimuleren.

Skinner e.a. (1964) vonden een stijging van de reninesecretie bij suprarenale aortaconstrictie zonder veranderingen in totale nierdoorbloeding; afferente arteriële dilatatie was dus aanwezig in combinatie met een toegenomen reninesecretie. Ook Gutmann e.a. (1973) komen na onderzoek van honden met een nierarteriestenose en hypertensie tot de conclusie dat vasodilatatie gepaard gaat met een gestegen reninesecretie, hetgeen in overeenstemming is met de resultaten van Gotshall e.a. (1973) in een gedenerveerde "non-filtering kidney".

Anderen menen dat vasoconstrictie de stimulus voor de reninesecretie is. Witty e.a. (1972) pasten constrictie van de vena cava inferior toe om de reninesecretie bij honden te stimuleren. Bij normale en "non-filtering kidneys" deed papaverine infusie de reninesecretie afnemen in combinatie met een toegenomen doorstroming.

Wanneer in de geïsoleerde rattenier de perfusiedruk constant wordt gehouden, veroorzaakt vasodilatatie een suppressie van de reninesecretie (Fray, 1976). Waarschijnlijk is de reninesecretie meer afhankelijk van de wandspanning in het vas afferens dan van de diameter (Davis, 1973).

Fray (1976) veronderstelde dat vasodilatatie, tesamen met een hoge perfusiedruk, de rek van de wand van de

afferente arteriole doet toenemen en zo de reninesecretie supprimeert. Daartegenover zou door vasoconstrictie en lage perfusiedruk de rek afnemen, gevolgd door stijging van de reninesecretie. De reninesecretie zou gevoelig zijn voor veranderingen in de verhouding tussen binnenste en buitenste omtrek van de afferente arteriole. Fray veronderstelde dat bij het stimulerende effect van een verlaagde perfusiedruk op de reninesecretie, hyperpolarisatie van de juxtaglomerulaire celmembraam en een veranderde calciumconcentratie in het cytoplasma betrokken zijn. Een depolariserende kaliumconcentratie van de perfusievloeistof ging het stimulerende effect van hypotensie en renale vasoconstrictie tegen (Fray, 1978). Een verlaagde perfusiedruk stimuleerde de reninesecretie alleen dan, wanneer calcium aanwezig was in de perfusievloeistof en was bij een hogere calcium concentratie minder effectief (Fray en Park, 1979). Daarentegen had een hoge perfusiedruk slechts dan een remmend effect wanneer calcium in de extracellulaire vloeistof aanwezig was, maar stimuleerde de reninesecretie als calcium afwezig was (Fray en Park, 1979). Fray concludeert hieruit dat er een sleutelrol is weggelegd voor het calciumion bij de bemiddeling van de reninesecretie door de baroreceptor.

3.2.2. De macula densa en de reninesecretie

Gezien de anatomische ligging van de macula densa ten opzichte van de juxtaglomerulaire cellen, ligt het voor de hand te veronderstellen dat er een functionele relatie kan bestaan. In de macula densa wordt over het algemeen geen (Faarup, 1968, 1971; Celio en Inagami, 1981; Taugner en Hackenthal, 1981; Taugner e.a., 1982) of een geringe hoeveelheid renine gevonden (Murlow, 1976).

Over het mechanisme waarlangs de macula densa de reninesecretie beïnvloedt, bestaat geen eenstemmigheid. In de literatuur staan een tweetal theorieën tegenover elkaar. Vander en Miller (1964) menen dat een afgenomen natriumconcentratie ter plaatse van de macula densa de renine-

secretie stimuleert. Anatomische steun voor deze hypothese komt van Barajas (1962, 1971) die aantoonde dat bij de rat de macula densa nauwer verbonden is met de mesangiale cellen van de efferente arteriole dan met de afferente arteriole. Hij veronderstelde dat de mate van contact tussen macula densa en afferente arteriole bepaald wordt door de natriumconcentratie in de macula en het volume van de tubulus. Een verminderde natriumconcentratie ter plaatse zou het contact tussen macula densa en juxtaglomerulaire cellen doen verminderen met als gevolg een stijging van de reninesecretie.

Lijnrecht hiertegenover staat de theorie opgesteld door Thureau en medewerkers (1967). Deze veronderstellen dat de reninesecretie gestimuleerd wordt door een toegenomen natriumconcentratie. Deze hypothese berust op onderzoek op basis van micropuncties, waarbij retrograad zout ingebracht werd in de distale tubulus. Injectie van hypertone en isotone zoutoplossing veroorzaakte een afname van de diameter van de proximale tubulus, waarschijnlijk door een daling van de glomerulaire filtratiesnelheid. Retrograde injectie van een hypotone zoutoplossing veroorzaakte deze verandering niet. Ook was de reactie gering of afwezig wanneer de nier weinig renine bevatte. Thureau en medewerkers veronderstelden dat de gebeurtenissen als volgt zouden verlopen:

Tengevolge van een toegenomen natriumconcentratie ter plaatse van de macula densa stijgt de secretie van renine; hierdoor vindt vorming van angiotensine II plaats; gevolgd door afferente vasoconstrictie, verminderde glomerulaire filtratiesnelheid waardoor de proximale tubulus collabeert.

Thureau e.a. (1982) herhaalden deze experimenten waarbij de renine activiteit van de juxtaglomerulaire cellen werd gemeten. Een toename van de natriumconcentratie ter plaatse van de macula densa (door zoutinfusie) deed de renine-activiteit stijgen. Toevoeging van amiloride aan de zoutoplossing ging deze stijging tegen. Een zoutloze oplossing beïnvloedde de renine-activiteit niet. De re-

nine-activiteit nam niet toe wanneer de zoutoplossing werd geïnfundeerd in tubuli van dieren voorbehandeld met een natriumrijk dieet. Deze resultaten zijn in overeenstemming met de oorspronkelijke hypothese.

Deze hypothese leek aanvankelijk te worden gesteund door onderzoeken waarbij diuretica werden toegediend. Meyer e.a. (1968) gaven konijnen furosemide waardoor een stijging van de plasma renine-activiteit optrad. Wanneer de geproduceerde urine opnieuw werd geïnfundeerd werd de toegenomen reninesecretie niet beïnvloed, ondanks gelijkblijven van bloeddruk, natriumconcentratie van het plasma en plasmavolume. Zij concludeerden dat een intrarenaal mechanisme verantwoordelijk was voor de gestegen reninesecretie, mogelijk veroorzaakt door een verhoging van de intratubulaire natriumconcentratie. Ook Cooke e.a. (1970) veronderstelden dat een toegenomen natriumconcentratie in de tubulus de reninesecretie stimuleert. Etacrynezuur, een remmer van de natriumreabsorptie in het ascenderende deel van de lus van Henle, veroorzaakte binnen vijf minuten na intraveneuze toediening een verhoogde reninesecretie, terwijl door reïfusie van urine in de vena femoralis het volume op peil werd gehouden. Wanneer tijdens ureterafsluiting (wat een toename van de reninesecretie veroorzaakt) etacrynezuur werd toegediend, vond geen reactieve stijging van de reninesecretie plaats. Na opheffen van de afsluiting steeg de reninesecretie binnen vijf minuten.

Contrôlewaarnemingen, waarbij geen etacrynezuur werd toegediend, lieten een snelle daling zien van de reninesecretie na opheffen van de afsluiting.

Chlorothiazide werkt op het distale deel van het nefron en weinig op de lus van Henle en is daardoor minder effectief proximaal ter plaatse van de macula densa. Toediening van chlorothiazide met gelijktijdige reïfusie van de urine beïnvloedde de reninesecretie niet.

De uitkomsten van de onderzoeken van Meyer e.a. (1968) en Cooke e.a. (1970) kunnen niet als steun voor de hypothese van Thureau worden beschouwd, aangezien zij

verklaard worden door een directe stimulerende invloed van de diuretica. Etacrynezuur stimuleert de reninesecretie van niercoupes (Baumbach e.a., 1976). In de geïsoleerde rattenier vond Vandongen (1977) aanwijzingen voor een rechtstreeks effect van furosemide op de juxtaglomerulaire cel.

Gottschalk en Leyssac (1968) opperden de gedachte dat de door Thureau c.s. waargenomen collaps (oorspronkelijke verklaard door de toegenomen renineproductie) verklaard zou kunnen worden door lekkage van tubulusvloeistof uit proximale punctieplaatsen waar de gebruikte kleurstof was ingebracht.

Bij het overzien van de literatuurgegevens kan men vaststellen dat er veel aanwijzingen bestaan voor ondersteuning van de oorspronkelijke theorie van Vander en Miller. Freeman e.a. (1974) klemden bij honden de ureter af in combinatie met toediening van diuretica. Ureterafklemming veroorzaakte stijging van de reninesecretie en van de renine-activiteit in het veneuze bloed. Dit werd ook door andere auteurs gevonden (Cooke e.a., 1970; Kaloyanides e.a., 1973). Wanneer etacrynezuur in deze situatie werd toegediend, stegen de reninesecretie en de veneuze renine-activiteit niet verder. Werd de stop in de ureter opgeheven na toediening van etacrynezuur dan bleef de reninesecretie aanvankelijk onveranderd en nam daarna af. De renine-activiteit van het veneuze bloed veranderde niet na opheffen van de obstructie. De daling van de reninesecretie ging gepaard met een sterke toename van de natriumconcentratie in de urine. De auteurs veronderstelden dat de natriumrijke tubulusvloeistof ook de macula densa passeerde en dat deze bevindingen in overeenstemming zijn met de hypothese van Vander en Miller. Ook Di Bona (1971) meent hiervoor steun te vinden. Onderzocht werd het effect van ureterafklemming na infusie van mannitol. Een daling van de natriumconcentratie van de distale tubulusvloeistof ging gepaard met een stijging van de reninesecretie. Nash e.a. (1968) veron-

derstellen dat veranderingen in het natriumtransport over de macula densa de reninesecretie reguleren.

3.2.3. Het autonome zenuwstelsel en de reninesecretie

Algemeen

De anatomie van het juxtaglomerulaire apparaat wijst op een functionele relatie tussen sympathisch zenuwstelsel en reninesecretie. Een aantal onderzoekers toonden aan dat de sympathische zenuwen in de nier contact maken met juxtaglomerulaire cellen (Barajas, 1964; Hartroft, 1966; Wagemark e.a., 1968). Hartroft (1966) vond ook aanwijzingen voor een sympathische innervatie van de macula densa. Wagemark e.a. (1968) troffen echter geen fluorescerende zenuwvezels in de nabijheid van deze cellen aan. Directe elektrische prikkeling van de zenuwvezels ter plaatse van de vaatpool van de nier veroorzaakt een stijging van de reninesecretie. Afhankelijk van de gebruikte frequentie treedt tevens een vaatreactie op (Ammons e.a., 1982). Wanneer men zulk een prikkel toedient bij een "non-filtering" niermodel, met remming van de vaatreactie door middel van papaverine, wordt tevens een stijging van de reninesecretie waargenomen (Johnson e.a., 1971). Dit wijst erop dat adrenerge prikkels zonder tussenkomst van macula densa en vaattonus de reninesecretie kunnen doen stijgen.

Infusie van noradrenaline, adrenaline en isoprenaline in een niet vasoactieve dosering, stimuleert de reninesecretie in de geïsoleerde rattenier (Vandongen, 1975). Wanneer men niercoupes incubeeert in aanwezigheid van adrenaline of noradrenaline wordt een stijging van de reninesecretie waargenomen (Aoi e.a., 1974; Johns e.a., 1975; Lopez e.a., 1978; Park en Malvin, 1978; Khayat e.a., 1981). Bij de mens vonden Gordon e.a. (1967) na infusie van noradrenaline en adrenaline een toename van de plasma renine-activiteit. Ook de "cold pressor test", opstaan en zoutdepletie deden het renine stijgen. Daarnaast steeg zowel na opstaan als na zoutdepletie de catecholamine excretie in de urine.

Chronische denervatie van de nier leidt tot een verminderde intrarenale renineconcentratie (Taquini e.a., 1964; Tobian, 1964). Door zoutdepletie laat de reninesecretie zich in deze situatie slechts weinig (Brubacher en Vander, 1968) of in het geheel niet (Mogil e.a., 1969) stimuleren.

Na niertransplantatie (en daardoor onderbreking van de sympathische innervatie) is de reninesecretie, geprovoceerd door kieprouwen, verminderd (Cunningham e.a., 1981).

Bovenstaande resultaten tonen een functionele relatie aan tussen sympathisch zenuwstelsel en reninesecretie. In de literatuur wordt de stimulerende rol van de β -receptor op de reninesecretie algemeen erkend. Omtrent de rol van de α -receptor bestaat een grote mate van onzekerheid.

3.2.3.1. De β -receptor en de reninesecretie

De literatuur wijst eenstemmig in de richting van een stimulerende invloed van β -agonisten op de reninesecretie. Zowel bij de mens (Winer e.a., 1969; Leenen e.a., 1975; Johnson e.a., 1976 a, b; Kopp e.a., 1981) als in geïsoleerde rattenieren (Vandongen e.a., 1973; Vandongen en Peart, 1974a, 1974b; Vandongen, 1975a; Strang, 1978; Nakane e.a., 1980a) en niercelsuspensies wordt dit gevonden (Johns e.a., 1975).

Controversen bestaan nog steeds rond de vraag welke β -receptoren voor dit effect verantwoordelijk zijn. Johnsons e.a. (1976a) vonden na toediening van salbutamol en isoprenaline bij vrijwilligers dat de stijging van de reninesecretie door practolol werd geremd. Zij concludeerden tot het bestaan van een rol van de β_1 -receptor bij de regulatie van de reninesecretie. Infusie van de β_1 -agonist prenalterol stimuleert de reninesecretie (Kopp e.a., 1981b). Desaulles e.a. (1978) komen in niercouples tot eenzelfde conclusie. Amery e.a. meldden in 1974, dat na toediening van een selectieve β_1 -blokkerende stof (atenolol), stimulatie door een kieprouwe

geen verandering in de basale reninesecretie tot gevolg had. Zij meenden aanvankelijk dan ook dat de β 2-receptor de reninesecretie bemiddelde. In 1976 (Amery e.a., 1976) werd dit teruggetrokken, daar bij verandering van de reninebepaling (bepaling van het actieve renine in plaats van de totale concentratie), wel degelijk een daling werd waargenomen onder β 1-blokkade. Weber e.a. (1974) kwamen na het bestuderen van de effecten van verschillende β -blokkerende stoffen op de reninesecretie in combinatie met isoproterenol infusie tot een voorkeur voor de β 2-receptor. Bühler e.a. (1975) komen na toediening van verschillende β -blokkerende stoffen onder basale omstandigheden en na ergometrisch onderzoek tot de conclusie dat geen onderscheid kan worden gemaakt tussen de rol van respectievelijk de β 1- en β 2-receptor, een mening die door Salvetti e.a. (1978) wordt gedeeld.

Voor deze controversen zijn verschillende oorzaken aan te wijzen. De meeste onderzoekers bestudeerden de invloed van selectieve β -blokkerende stoffen na het geven van non-selectieve stimuli, waarbij geen inzicht ontstaat in de reactie op toediening van selectieve β -stimuli. Daarnaast zijn bij in vivo onderzoek de algemene en renale effecten van β -blokkerende farmaca niet goed te onderscheiden.

Derkx e.a. (1976) vonden tijdens behandeling met propranolol een daling van het actieve renine en een toeneming van de inactieve vorm. Wanneer men bij de dialyse een pH lager dan 4,0 gebruikt wordt de totale renine-activiteit gemeten. Dit geeft verkeerde resultaten zoals bij het onderzoek van Amery c.s. (1974, 1976) werd aangetoond. Bij onderzoek naar de effecten van β -blokkers op de reninesecretie mag daarom bij de bepaling geen renine-activatie optreden.

De geïsoleerde nier lijkt bij uitstek het model te zijn om antwoord te vinden op de vraag hoe de β -receptor die zich op de juxtaglomerulaire cel bevindt, te classificeren is. Nakane e.a. (1980a) infundeerden in de geïsoleerde rattenier isoproterenol en salbutamol. Dit leidde tot

een stijging van de reninesecretie die noch door propranolol (β 1- en β 2-blokkade), noch door acebutolol (β 1-blokkade) te onderdrukken viel. Zij concludeerden hieruit dat de renale β -receptoren, voor zover zij betrokken zijn bij de reninesecretie, op een farmacologische basis tot nog toe niet verder te differentiëren zijn. Men kan zich bij dit onderzoek afvragen in hoeverre de intrinsieke sympaticomimetische activiteit van acebutolol het resultaat heeft beïnvloed.

3.2.3.2. De α -receptor en de reninesecretie

In de literatuur zijn de meningen over de rol van de α -receptor bij de reninesecretie verdeeld. Men kent er zowel een stimulerende, een supprimerende als een ontbrekende rol aan toe.

Michelakis en McAllister (1972) onderzochten bij de mens de invloed van chronische α -receptor blokkade door middel van phenoxybenzamine op de door kliepproeven gestimuleerde reninesecretie. Zowel onder basale omstandigheden als na kliepen werd geen effect van phenoxybenzamine op het renine gevonden. Zij veronderstelden daarom dat de α -receptor geen rol heeft bij de modulatie van de reninesecretie. Ook Johnson e.a. (1976b) zien geen rol voor de α -receptor, aangezien infusie van phentolamine en phenoxybenzamine in een "non-filtering" hondenier de reninesecretie niet beïnvloedde (wel nam de nierdoorbloeding toe).

Winer e.a. (1969) stimuleerden de reninesecretie door toediening van respectievelijk diazoxide, etacrynezuur, theophylline en door houdingsveranderingen. De stijging van de reninesecretie kon worden voorkomen door zowel α -blokkade (phentolamine), als β -blokkade (propranolol). Derhalve werd een gemeenschappelijke invloed van zowel α - als β -receptoren aangenomen. Deze mening wordt gesteund door Leenen e.a. (1975) op grond van de reactie op toediening van isoproterenol respectievelijk methoxa-

mine in combinatie met β -blokkade. Fray (1976) verkreeg soortgelijke uitkomsten in een geïsoleerd ratteniermodel.

Intraveneuze toediening van propranolol of intrarenale α -receptor blokkade kan de door zenuwprickeling gestimuleerde reninesecretie supprimeren (Coote e.a., 1972).

Osborn e.a., (1982) vonden geen effect van prazosine en phentolamine op de door laagfrequente zenuwprickeling (waarbij geen vaatreactie optreedt) gestimuleerde reninesecretie door hondenieren. Bij prikkeling met een hogere frequentie trad vasoconstrictie op met stijging van de reninesecretie. Zowel de vaatreactie als de toename van de reninesecretie werd door toediening van prazosine of phentolamine voorkomen.

Een niet vasoactieve dosering van de α 1-agonist methoxamine had geen invloed op de reninesecretie. Een vasoactieve dosis deed de reninesecretie stijgen. Osborn c.s. concludeerden hieruit dat de toename van de reninesecretie door α -receptor stimulatie niet veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van een dergelijke receptor op de juxtaglomerulaire cel.

Blair e.a. (1979) vonden bij honden onder narcose dat na intraveneuze β -blokkade door propranolol, een intraveneus toegediende α -blokkerende stof (phenoxybenzamine), de stimulatie van de reninesecretie met ca. 50% deed dalen. Door middel van een klem op de aorta werd de perfusiedruk van de nier constant gehouden. In een aanvullend onderzoek met hetzelfde model, werd opnieuw waargenomen dat α 1-blokkade (phenoxybenzamine en prazosine) de reninesecretie deed dalen wanneer de dieren voorbehandeld waren met een β -blokkerende stof (Blair, 1981). Aangekend dient te worden dat α -blokkade bij deze experimenten wel een toegenomen nierdoorbloeding veroorzaakte. Zonder de voorbehandeling door propranolol had α -blokkade (phenoxybenzamine) geen effect op de reninesecretie. Na denervatie van de nier werd geen supprimerend effect gevonden van α -blokkade na voorafgaande β -blokkade. Blair veronderstelde, dat wanneer β -receptoren door propranolol geblokkeerd worden, de tonische neurale sti-

mulatie van de reninesecretie door α -receptoren wordt bepaald.

Naast deze waarnemingen omtrent een verhoogde reninesecretie onder invloed van α -adrenerge stimulatie staan ook onderzoeken die tot een tegenovergestelde conclusie leiden. Vandongen en Peart (1974b) vonden in de in situ geïsoleerde rattenier aanwijzingen voor een remmende rol van de α -receptor op de reninesecretie. Noradrenaline stimuleerde de reninesecretie alleen dan wanneer gelijktijdig de α -antagonist phenoxybenzamine werd toegediend. De stimulerende invloed van noradrenaline werd grotendeels voorkomen door de gelijktijdige infusie van propranolol. Methoxamine (een α_1 -agonist) deed de reninesecretie niet stijgen. De toeneming van de reninesecretie na β -stimulatie (isoproterenol) werd geremd door methoxamine. De uitkomsten bevestigen de stimulerende invloed van de β -receptor op de reninesecretie en wijzen op een remming door α_1 -receptor stimulatie. Het kon niet worden uitgesloten of de uitkomsten mede door de vaatreactie (tengevolge van de infusie van de verschillende farmaca) werd bepaald.

Strang (1978) deed in hetzelfde model onderzoek naar de rol van de α -receptor. Een probleem in deze opstelling was de interindividuele variatie in reninesecretie en de sterke spontane stijging in het verloop van de perfusie. De α -agonist phenylephrine had geen stimulerend of remmend effect op de reninesecretie. Wel had phenylephrine een remmende werking op de door isoproterenol gestimuleerde reninesecretie, mits de α -agonist tevoren werd gegeven. Dit werd toegeschreven aan een grotere affiniteit van de juxtaglomerulaire cel voor de β -agonist. Wanneer door gelijktijdige toediening van dihydralazine vasoconstrictie werd voorkomen, werd eenzelfde respons gezien. Het aangrijpingspunt van de α -agonist werd derhalve gedefinieerd als een remmende werking van de α -receptor op de juxtaglomerulaire cel. Pettinger e.a. (1976) gaven ratten intraperitoneaal clonidine. Zowel de basale als de gestimuleerde reninesecretie werden ge-

remd. Op grond van de resultaten van cholinerge blokkade, ganglion blokkade en perifere sympathische blokkade werd verondersteld dat een perifeer mechanisme in het spel was. Aangezien α -blokkade door middel van phentolamine de suppressie kon verminderen, veronderstelden Pettinger c.s. dat deze door middel van een intrarenale α -receptor werd veroorzaakt. In een aanvullend onderzoek (Graham en Pettinger, 1979) werd het effect van prazosine en phentolamine onderzocht. Beide farmaca veroorzaakten een van de dosis afhankelijke daling van de gemiddelde arteriële druk, alsmede toename van de hartfrequentie en de plasma renine-activiteit. Na toediening van phentolamine werd bij een bepaalde mate van bloeddrukdaling, een sterkere stijging van hartfrequentie en plasma renine-activiteit waargenomen dan na infusie van prazosine het geval was. Prazosine is een selectieve postsynaptische α_1 -blokkerende stof. Door phentolamine wordt tevens de remmende invloed van de presynaptische α_2 -receptor op de neurotransmissie opgeheven, hetgeen de sterkere toename van hartfrequentie en reninesecretie (in vergelijking met prazosine infusie) verklaart. Dit onderzoek steunt de veronderstelling dat de α_2 -receptor een belangrijke invloed heeft op de secretie van het renine.

Ayers e.a. (1981) onderzochten het effect van acute en chronische intrarenale α - en β -receptor stimulatie bij niet genarcotiseerde honden. Tijdens chronische toediening van noradrenaline veroorzaakte α -blokkade (phentolamine) een stijging van de reninesecretie. Zij concludeerden op grond daarvan een remmende functie van de α -receptor met betrekking tot de reninesecretie. Phentolamine toediening ging echter gepaard met bloeddrukdaling zodat het niet uitgesloten is dat de baroreceptor aan dit effect heeft bijgedragen. Pedrinelli e.a. (1981) vonden na phentolamine toediening in een dosering die geen bloeddrukdaling of stijging van de hartfrequentie veroorzaakte, een toename van de plasma renine-activiteit. Ook dit is in overeenstemming met een remmende invloed van de α -receptor op de reninesecretie.

Morganti e.a. (1981) vonden na infusie van prazosine een toename van de plasma renine-activiteit en een versterkte reactie op β -stimulatie. Zij concludeerden dat er een juxtaglomerulaire α -receptor bestaat, door welke de reninesecretie rechtstreeks wordt geremd.

Bovenstaande, soms tegenstrijdige gegevens maken het moeilijk de rol van de α -receptor te definiëren. De techniek van het onderzoek moet bij de afzonderlijke uitkomsten kritisch worden beschouwd. Zo kan intraveneuze toediening van α -antagonisten de bloeddruk doen dalen, met als gevolg een stijging van de reninesecretie. Daarbij kan tevens neurale stimulatie van de nier plaatsvinden (Cunningham e.a., 1978). Het is ook voorstelbaar dat door systemische α -blokkade de leverdoorbloeding door vasodilatatie kan toenemen en aldus de afbraak van het renine bevordert, echter Forsyth (1976) vond geen toename van de leverdoorbloeding na infusie van phentolamine. De sterke invloed van narcose op de reninesecretie mag evenmin worden onderschat. Narcose en chirurgische stress zijn krachtige stimuli van de reninesecretie (Pettinger e.a., 1975a; Fray e.a., 1976). Pentobarbitalanaesthesie veroorzaakt een twee tot driedvoudige stijging van de plasma renine-activiteit. Bij dit reactiepatroon speelt de β -receptor waarschijnlijk mede een rol daar men door propranolol toediening deze stijging kan voorkomen (Carvalho en Clerkes, 1982).

3.2.4. Humorale factoren en reninesecretie

3.2.4.1. Natrium

Het natriumion beïnvloedt de reninesecretie. Een natriumtekort leidt tot een toegenomen korrelrijkdom van de juxtaglomerulaire cel (Pitcock en Hartroft, 1958; Hartroft en Hartroft, 1953, 1961). De reninesecretie van niercoupes afkomstig van ratten, gevoed met een natriumarm dieet, is hoger dan wanneer zij een natriumrijk dieet gekregen hebben (Braverman e.a., 1971; Lopez e.a.,

1978). Bij perfusie van nieren afkomstig van ratten die DOCA kregen toegediend, wordt in het effluens een lagere renineconcentratie gevonden (Vandongen en Tunney, 1980). Bij de mens leidt natriumdepletie tot stijging van het renine (Brown e.a., 1963b; Nielsen en Møller, 1967; Láragh e.a., 1972; Omvik e.a., 1976). Een omgekeerde relatie tussen plasma natriumconcentratie en renine wordt beschreven (Nielsen en Møller, 1967). De beïnvloeding van de reninesecretie door de natriumconcentratie is theoretisch langs verschillende wegen mogelijk: een rechtstreeks effect op de juxtaglomerulaire cel, expansie van het plasmavolume, veranderde sympathische activiteit of via de macula densa (zie hoofdstuk 3.2.2).

In niercoupes zijn tegenstrijdige invloeden van verandering in natriumconcentratie van het incubatiemedium waargenomen. Aoi e.a. (1974) vonden geen relatie en concludeerden dat het mechanisme waarlangs natrium de reninesecretie beïnvloedt afwezig is in een dergelijk model. Daarentegen vonden Braverman e.a. (1971) dat een verlaagde natriumconcentratie de reninesecretie deed dalen, terwijl de reninesecretie in de experimenten van Naftilan en Oparil (1982) niet veranderde wanneer in het geheel geen natrium in het incubatiemedium aanwezig was. Michelakis (1971) maakt melding van een negatieve relatie tussen reninesecretie en natriumconcentratie van niercoupes. Een lage natriumconcentratie (50 mmol/l) veroorzaakte in vergelijking met een hoge concentratie (300 mmol/l), een verdubbeling van de reninesecretie. Bij deze tegenstrijdige gegevens moet worden aangetekend dat in niercoupes de macula densa de reninesecretie nog kan beïnvloeden (Khayat e.a., 1981). In de geïsoleerde rattenier vond Fray (1976, 1978) geen relatie tussen de natriumconcentratie van het perfusaat en de reninesecretie.

Het bestaan van een belangrijke rol voor de macula densa in dit mechanisme wordt gesuggereerd door de waarneming van Shade e.a. (1972), dat hypertone zoutinfusie in een "non-filtering" niermodel (waarin de macula densa niet functioneel is) de reninesecretie niet beïnvloedt.

Natrium heeft een invloed op de reninesecretie welke onafhankelijk is van veranderingen in het plasmavolume (Nash e.a., 1968; Yamamoto e.a., 1969). De invloed van veranderingen in de natriumconcentratie wordt echter overheerst door die van het plasmavolume. Gordon en Pawsey (1971) vonden bij patiënten met een hypervolemie ondanks het bestaan van hyponatriaemie een laag renine.

3.2.4.2. Kalium

Kalium heeft een supprimerende werking op de reninesecretie bij de mens (Veyrat e.a., 1967; Brunner e.a., 1970), evenals bij proefdieren (Abbrecht en Vander, 1970; Sealey e.a., 1970). Chronische kaliumdepletie veroorzaakt zowel bij de mens (Brunner e.a., 1970) als de rat (Sealey e.a., 1970) een verhoogde plasma renine-activiteit. Dit effect valt niet terug te voeren op veranderingen in zoutbalans (Abbrecht en Vander, 1970; Brunner e.a., 1970; Sealey e.a., 1970) of aldosteronsecretie (Brunner e.a., 1970; Sealey e.a., 1970). Het reninegehalte van nieren, afkomstig van proefdieren gevoed met een kaliumarm dieet, is hoger (Luke e.a., 1982).

Infusie van kaliumchloride in de arteria renalis doet zowel bij normale honden, als bij honden die in een negatieve zoutbalans gebracht zijn, de reninesecretie afnemen (Vander, 1970; Schneider e.a., 1972; Shade e.a., 1972). De remming van de reninesecretie door kaliumchloride wordt niet veroorzaakt door het chloride-ion (Kirchner en Mueller, 1982).

De vraag doet zich voor langs welke weg kalium de reninesecretie beïnvloedt.

Wanneer bij honden door middel van vena cava constrictie de reninesecretie wordt gestimuleerd, doet intrarenale infusie met kaliumchloride de reninesecretie afnemen. In een "non-filtering kidney" verandert de reninesecretie niet (Shade e.a., 1972). Daarom lijkt het aannemelijk dat het effect van kalium los staat van een directe werking op de juxtaglomerulaire cellen, of het niervaatstelsel. Linas (1981) vond in geïsoleerde nieren van konijnen waaraan een kaliumarm dieet was verstrekt, een verhoogde

reninesecretie. Door verlaging van de albumineconcentratie in de perfusievloeistof kon de hoeveelheid glomerulusfiltraat worden verhoogd. Bij gebruik van een lagere albumineconcentratie werd geen verandering van de reninesecretie waargenomen. Verondersteld werd dan ook dat het mechanisme onafhankelijk is van de macula densa. De (door het kalium-arme dieet) gestimuleerde reninesecretie kon door infusie van papaverine worden geremd. Infusie van papaverine in geïsoleerde nieren van konijnen gevoed met een normaal dieet, had geen invloed op de reninesecretie. Linas concludeert daarom dat de (door een kaliumarm dieet) gestimuleerde reninesecretie bemiddeld wordt door de baroreceptor en niet door de macula densa.

Bij deze conclusie zijn echter enkele kanttekeningen te plaatsen. Fray (1976, 1978) leidde uit zijn experimenten met geïsoleerde nieren af dat geen consistente relatie tussen natriumconcentratie op het niveau van de macula densa en reninesecretie kan worden aangetoond. Conclusies omtrent de rol van de macula densa dienen daarom ten aanzien van geïsoleerde nieren met terughoudendheid te worden getrokken. Infusie van papaverine had in de controle experimenten van Linas geen invloed op de reninesecretie; volgens Davis en Freeman (1976) remt papaverine de reninesecretie.

Na infusie van kaliumchloride wordt niet alleen een toegenomen kaliurese waargenomen, maar ook een verhoogde natriumuitscheiding (Vander, 1970; Schneider e.a., 1972; Shade e.a., 1972;). Hierdoor zou volgens de theorie van Vander en Miller via de macula densa de reninesecretie worden geremd. Ook Schneider e.a. (1972) vonden na infusie van kaliumchloride in de arteria renalis remming van de reninesecretie. Bij micropuncties in de proximale tubulus nam de natriumexcretie niet toe. Zij concludeerden dan ook dat kalium op een plaats verder distaal in het nefron gelocaliseerd de natriumreabsorptie remt.

Luke e.a. (1982) veronderstellen dat kaliumdepletie via een verminderde chloorreabsorptie in het ascenderende

deel van de lus van Henle de reninesecretie stimuleert ter plaatse van de macula densa.

3.2.4.3. Calcium

De waarneming dat juxtaglomerulaire cellen gemodificeerde gladde spiercellen zijn, leidde tot de veronderstelling dat calcium een rol zou kunnen spelen bij de regulatie van de reninesecretie.

Bij contractie van gladde spiercellen neemt de hoeveelheid intracellulair vrij calcium toe. Dit wordt veroorzaakt door het vrijkomen van intracellulair gebonden calcium of door een toegenomen calciuminflux (Somlyo en Somlyo, 1968).

Vandongen en Peart (1974a) waren de eersten die wezen op een rol van het calcium bij de reninesecretie in de geïsoleerde rattenier. Verlaging van de calciumconcentratie van de perfusievloeistof voorkwam de vasoconstrictie door angiotensine II infusie. Wel supprimeerde angiotensine II onder deze omstandigheid de reninesecretie. Wanneer in het geheel geen calcium in de perfusievloeistof aanwezig was, vermocht angiotensine de reninesecretie niet te supprimeren. De basale reninespiegels waren bij afwezigheid van calcium in de perfusievloeistof significant hoger. Dit wijst er op dat een intrarenaal calcium-afhankelijk mechanisme de reninesecretie reguleert. Omdat het remmend effect van angiotensine II op de reninesecretie afhankelijk was van het calciumion en juxtaglomerulaire cellen gemodificeerde gladde spiercellen zijn, veronderstelden zij dat bij deze remming contractie van de juxtaglomerulaire cellen optreedt.

De vraag doet zich voor op welk niveau het calcium de reninesecretie beïnvloedt. Intrarenale calciuminfusie onderdrukt de reninesecretie (Maull e.a., 1975; Watkins e.a., 1976). Bij intrarenale calciuminfusie neemt de natriumexcretie toe (Suki e.a., 1969; Maull e.a., 1975), zodat suppressie van de reninesecretie door een macula densa signaal veroorzaakt zou kunnen worden. Watkins e.a. (1976) daarentegen vonden geen toename van de natriumexcretie terwijl in een "non-filtering kidney"

eveneens suppressie van de reninesecretie werd gevonden. Op grond hiervan is een rechtstreeks effect op de juxtaglomerulaire cel, dan wel beïnvloeding van een plaatselijk adrenerg mechanisme aannemelijk te achten.

Na verwijdering van calcium uit het incubatiemedium van niercoupes vindt men verschillende resultaten. Zowel een verlaging van de renineconcentratie in het medium (Morimoto e.a., 1970; Michelakis, 1971) als een onveranderde concentratie (Aoi e.a., 1974; Saruta en Matsuki, 1975; Park en Malvin, 1978) als een stijging (Baumbach en Leyssac, 1977; Churchill, 1981; Park e.a., 1981) zijn gevonden.

Baumbach en Skøtt (1981) bespeurden een seizoensafhankelijkheid van de resultaten van incubatie in een calcium-arm medium. Gedurende de zomermaanden werden namelijk hogere renineconcentraties gevonden dan in de rest van het jaar. Een verklaring voor dit merkwaardige fenomeen was niet te geven. Verhoging van de calciumconcentratie van het incubatiemedium beïnvloedde de reninesecretie niet (Aoi e.a., 1974; Park en Malvin, 1978). Toevoeging van calcium aan niercellen die geïncubeerd waren in een calciumarm medium deed de reninesecretie stijgen (Chen en Poisner, 1976).

Ook bij farmacologische beïnvloeding van niercoupes komt een rol voor het calciumion tot uiting. In niercoupes is de remmende invloed van angiotensine II op de reninesecretie afhankelijk van de aanwezigheid van calcium in het incubatiemedium (Park e.a., 1981; Naftilan en Oparil, 1982). Ook voor remming van de reninesecretie door ouabaïne is de aanwezigheid van calcium in het incubatiemedium vereist (Park en Malvin, 1978).

De remming van de reninesecretie in geïsoleerde niercoupes door angiotensine II, hoge concentraties kalium, ADH en ouabaïne is door de calciumantagonist verapamil te voorkomen (Park e.a., 1981). Ook de calciumantagonist diltiazem heeft een dergelijke werking (Churchill e.a., 1981).

In de geïsoleerde rattenier doet A23187 (een stof die de calciumopname in de cel bevordert) de reninesecretie afnemen (Fynn e.a., 1977).

De door isoproterenol gestimuleerde reninesecretie is niet afhankelijk van calcium in het medium van niercoupes (Naftilan en Oparil, 1982); noradrenaline stimuleert de reninesecretie alleen wanneer calcium aanwezig is (Park en Malvin, 1978). Fray en Park (1979) onderzochten de rol van het calcium bij de reninesecretie in de geïsoleerde rattenier. Bij afwezigheid van calcium in het perfusie-medium bleek de reninesecretie gestimuleerd te worden, hetgeen in overeenstemming is met de uitkomsten verkregen door Vandongen en Peart (1974a). De remmende werking van een hoge perfusiedruk op de reninesecretie was bij afwezigheid van calcium gering. De stimulerende invloed van een lage perfusiedruk en isoprenaline infusie was bij afwezigheid van calcium in de perfusievloeistof meer uitgesproken. Logan en Chatziliias (1980) onderzochten de invloed van verapamil op de (door isoproterenol en glucagon) gestimuleerde reninesecretie, alsmede op de door phenylephrine veroorzaakte vasoconstrictie in de geïsoleerde rattenier. Het stimulerende effect van glucagon en isoproterenol op de reninesecretie bleek niet van calcium afhankelijk te zijn. Phenylephrine infusie veroorzaakte vasoconstrictie zonder beïnvloeding van de reninesecretie, in overeenstemming met de waarnemingen van Strang (1978). Bij gebruik van een perfusievloeistof waaraan geen calcium was toegevoegd trad geen vasoconstrictie op, daarbij toonde de reninesecretie een significante stijging. Door verapamil infusie (bij een normale calciumconcentratie in de perfusievloeistof) werd de vasoconstrictie tegengegaan en steeg de reninesecretie. Geconcludeerd werd dat extracellulair calcium gepaard gaande met calciuminflux vereist is voor het vasoconstrictieve effect van phenylephrine, alsmede voor het remmende effect op de reninesecretie in de geïsoleerde nier.

Wanneer men bovenstaande gegevens samenvat, kan men vaststellen dat er voldoende aanwijzingen zijn voor een

belangrijke rol van het calcium. Een invloed op het niveau van de juxtaglomerulaire cel moet hier waarschijnlijk worden geacht wanneer men de aard van de door calcium beïnvloedbare factoren in aanmerking neemt.

3.2.4.4. Chloride

In hoofdstuk 3.2.2. werd ingegaan op de rol van de macula densa bij de reninesecretie. Over het algemeen wordt aangenomen dat het natriumion de spil van het gebeuren vormt. De laatste jaren zijn er echter ook aanwijzingen gevonden dat het chloride als zodanig een rol speelt bij de reninesecretie. Kotchen e.a. (1976) vonden bij de rat dat door zowel natriumchloride als kaliumchloride, de plasma renine-activiteit en de renineconcentratie in de nier werd onderdrukt, terwijl natriumbicarbonaat en kaliumbicarbonaat geen effect hadden. In een aanvullend onderzoek konden Kotchen e.a. (1978) geen verlaging van de renine-activiteit waarnemen bij proefdieren die natriumacetaat, natriumnitrat of natriumthiocyanaat toegediend kregen, dit in tegenstelling tot de werking van natriumchloride. Cholinechloride remde de renine-activiteit, cholinebicarbonaat echter niet. Bij de mens remt natriumchloride de plasma renine-activiteit, natriumbicarbonaat daarentegen heeft geen invloed (Julian e.a., 1982). Deze uitkomsten duiden erop dat het chloride-ion bij de regulatie van de reninesecretie ten zeerste betrokken zou kunnen zijn.

Gesteld kan echter worden dat de bewijsvoering nog niet sluitend is. Stephens e.a. (1978) pasten constrictie van de vena cava toe als methode om de reninesecretie te stimuleren.

Intrarenale infusie van natrium- en kaliumlactaat remde de reninesecretie tot eenzelfde niveau als waargenomen werd tijdens natriumchloride infusie. Daar infusie van natriumlactaat gepaard ging met een daling van de chloorexcretie, concludeerden de onderzoekers dat de daling van de reninesecretie niet primair door chloride wordt veroorzaakt.

Koletsy e.a. (1981) onderzochten bij de mens het effect van veranderingen in de chlorideconsumptie in combinatie met een natriumrijk dieet, respectievelijk een natriumarm dieet. De door houdingsveranderingen gestimuleerde renine-activiteit was bij consumptie van een natrium- en chloriderijk dieet duidelijk lager dan die welke gevonden werd tijdens een natriumrijk en chloride-arm dieet. Bij het natriumarme dieet kon onder basale omstandigheden of tijdens stimulatie geen effect van chloride op de renine-activiteit worden gevonden.

Op grond van deze experimenten lijkt een rol van het chloride mogelijk te zijn, al is deze waarschijnlijk ondergeschikt aan die van het natriumion.

3.2.4.5. Angiotensine II

Angiotensine II heeft een remmend effect op de reninesecretie. Wanneer bij honden door zoutdepletie de reninesecretie wordt gestimuleerd, doet angiotensine II infusie (in een dosis welke nog niet tot bloeddrukverhoging leidt) het renine dalen (Genest e.a., 1965). Bij honden onderdrukte infusie van angiotensine de reninesecretie wanneer deze door lage perfusiedruk was gestimuleerd (Bunag e.a., 1967). Dit effect kon niet worden herleid tot haemodynamische veranderingen.

Infusie van angiotensine in de arterie van een "non-filtering kidney" remt het vrijkomen van het renine, ook zonder dat zich haemodynamische veranderingen voordoen (Shade e.a., 1973). Het ligt dan ook voor de hand om een rechtstreeks effect op de juxtaglomerulaire cel te veronderstellen.

Ook in de geïsoleerde rattenier onderdrukte infusie van angiotensine II de reninesecretie (Vandongen e.a., 1974). Voor deze remming is de aanwezigheid van calcium in de perfusievloeistof noodzakelijk (Vandongen en Peart, 1974a). De Vito e.a. (1970) vonden in geïsoleerde niercoupes geen effect van angiotensine op de reninesecretie.

In latere onderzoeken wordt echter wel een remmend effect van angiotensine II gevonden, zowel in geïsoleerde

niercouples (Park e.a., 1981) als in een suspensie van juxtaglomerulaire cellen (Khayat e.a., 1981). Ook in niercouples is het remmend effect afhankelijk van calcium: toevoeging van verapamil voorkomt de remmende invloed van angiotensine II (Park e.a., 1981). Gesteld kan worden dat angiotensine II de reninesecretie remt door een rechtstreeks effect op de juxtaglomerulaire cel. Bij wegvallen van dit negatieve terugkoppelingsmechanisme (zoals bij remming van het convertend enzym door captopril therapie) stijgt de plasma renine-activiteit (o.a. Brunner e.a., 1979, 1980; Johnston e.a., 1979; Schalekamp e.a., 1979; Guillevin e.a., 1981; Lijnen e.a., 1981;).

3.2.4.6. Antidiuretisch hormoon

Intraveneuze toediening van ADH bij de mens onderdrukt de reninesecretie (Hesse en Nielsen, 1977). Wanneer de reninesecretie door aortaconstrictie (Bunag e.a., 1967), natriumdepletie (Shade e.a., 1973) of ureterafklemming (Vander, 1968) wordt gestimuleerd, heeft ADH een remmende invloed, ook wanneer zich geen haemodynamische veranderingen voordoen.

Vandongen (1975b) vond in de geïsoleerde rattenier dat infusie van ADH de door isoproterenol gestimuleerde reninesecretie onderdrukte; tegelijkertijd deed zich vasoconstrictie voor. Wanneer geen calcium aan de perfusievloeistof werd toegevoegd, bleef de vasoconstrictie achterwege, al had ADH nog steeds enig remmend effect op de reninesecretie. Een rechtstreeks effect op de nier lijkt daarmee waarschijnlijk te zijn. Ook blijkt dat de mate van remming gerelateerd is aan de calciumconcentratie in de perfusievloeistof.

De macula densa lijkt hierbij niet betrokken te zijn (Shade e.a., 1973).

Park e.a. (1981) vonden in niercouples een remmende invloed van ADH op de reninesecretie, welke door verapamil te voorkomen was. Daartegenover vonden Churchill en medewerkers (1981) in niercouples dat ondanks de aanwezigheid van calciumantagonisten (diltiazem en D600) ADH de reninesecretie nog remt. Zij concludeerden dat ADH de renine-

secretie remt los van de voltage-gevoelige calciumkanalen.

3.2.4.7. Parathormoon

Parathormoon heeft een stimulerende invloed op de reninesecretie (Powell e.a., 1978). Aangezien parathormoon calcium uit niercellen drijft (Borle, 1973) wordt verondersteld dat door calciumverlies uit de juxtaglomerulaire cel de reninesecretie wordt gestimuleerd (Fray, 1980). Mogelijk wordt dit effect mede veroorzaakt door de verhoogde cyclisch AMP-productie (Davis en Freeman, 1976).

3.2.4.8. Glucagon

Infusie van glucagon in de geïsoleerde rattenier doet de reninesecretie toenemen, zonder veranderingen in perfusiedruk of doorstromingssnelheid (Vandongen e.a., 1973; Logan en Chatziliias, 1980). Aangezien zowel glucagon als parathormoon de productie van cyclisch AMP bevordert, kan het effect langs deze weg worden verklaard.

Cyclisch AMP stimuleert de reninesecretie (Davis en Freeman, 1976) waarschijnlijk door hyperpolarisatie van de celmembraam en verplaatsing van calcium vanuit het cellulaire compartiment (Dambach en Friedmann, 1974).

3.2.4.9. Prostaglandines en kallikreïne kininesysteem

Er bestaat een complex samenspel tussen het prostaglandine, kallikreïne-kinine en renine-angiotensine systeem. Enerzijds hebben prostaglandines een stimulerende invloed op de reninesecretie, anderzijds kan angiotensine de prostaglandine synthese stimuleren en het metabolisme van prostaglandines veranderen (McGiff en Itskovitz, 1973). Daarnaast beïnvloeden prostaglandine en kallikreïne-kinine systeem elkaar. Infusie van prostaglandines in de nier heeft uitscheiding van kallikreïne in de urine tot gevolg (Nasjletti en Malik, 1979). De kininen doen de prostaglandine synthese toenemen door meer arachidonzuur beschikbaar te maken uit fosfolipiden. Ook reguleren zij de synthese van de belangrijkste eindpro-

ducten, het PGE₂ en PGF_{2α}, door toegenomen activiteit van het PGE-9- ketoreductase (McGiff, 1980).

Het kallikreïne-kinine en renine-angiotensine systeem zijn met elkaar verbonden door het convertend enzyme (kininase II). Het samenspel tussen het vaatvernauwende renine-angiotensine systeem en de vaatverwijdende systemen (prostaglandine en kallikreïne-kinine) beïnvloedt de (nier)circulatie en de uitscheiding van water en zout. Voor een overzicht wordt verwezen naar McGiff (1980).

Het stimulerende effect van prostaglandines op de reninesecretie blijkt uit de resultaten van arachidonzuur infusie (de voorloper van de prostaglandines) in de arteria renalis van een "non-filtering" gedenerveerde nier. Door de infusie stijgt de reninesecretie zevenvoudig, gepaard gaande met een toename van de nierdoorbloeding met 54% (Gerkens e.a., 1981).

Indomethacine verlaagt de plasma renine-activiteit zowel in het dierexperiment (Data e.a., 1978) als bij de mens (Fröhlich e.a., 1972). Onderzoekingen met behulp van geïsoleerde niercoupees tonen eveneens een stimulerende invloed van prostaglandines op de reninesecretie (Lin e.a., 1981; Worthon e.a., 1981).

De vraag is welk(e) prostaglandine(s) hiervoor verantwoordelijk zijn. In de literatuur vindt men tegenstrijdige gegevens. Hiervoor zijn de volgende redenen aanwijsbaar. Onderlinge verschillen bij diersoorten spelen een rol. Daarnaast gaat prostaglandine infusie gepaard met natriurese en vasodilatatie, welke beide de reninesecretie kunnen beïnvloeden. Als belangrijkste prostaglandines met betrekking tot de reninesecretie worden het PGI₂ (prostacycline) en het PGE₂ gezien (Gerber e.a., 1981). Er bestaan aanwijzingen dat prostaglandines een rol spelen bij de modulatie van de reninesecretie door de baroreceptor (Gerber e.a., 1981; Henrich, 1981), α-receptor (Gerber e.a., 1981; Kopp e.a., 1981a), β-receptor (Gerber e.a., 1981; Henrich, 1981) en macula densa (Gerber e.a., 1981; Henrich, 1981).

3.2.5. Metabole invloeden op reninesecretie

3.2.5.1. Hypoxie

Skinner e.a. (1964) verlaagden bij honden onder narcose de zuurstofverzadiging tot 70% en 50% gedurende maximaal 60 minuten. Veranderingen in de reninesecretie werden hierbij niet waargenomen.

Langdurige hypoxie waarbij tot 2 weken het zuurstofgehalte van de inademingslucht verlaagd werd tot 7% doet de granulatie van de juxtaglomerulaire cellen toenemen (Oliver en Brody, 1965). Wanneer ratten tot 15 dagen in een decompressietank met een druk van 0,48 atmosfeer verblijven, stijgt het plasmarenine 300% en het reninegehalte van de nier 200% (Gould en Goodman, 1970). Ishikawa e.a. (1973) onderzochten het effect van hypoxie in een opstelling waarbij de nieren van honden met eigen bloed werden geperfundeerd via een extracorporaal circuit. Door toediening van hexamethonium en dibenamine werd de invloed van het autonome zenuwstelsel uitgeschakeld. Wanneer de nier gedurende vijf minuten aan hypoxie werd blootgesteld, trad significante suppressie van de reninesecretie op. Deze suppressie was ook bij intacte sympathische innervatie aanwezig, in dat geval deed zich tevens vasoconstrictie voor.

Anoxie gedurende 60 minuten stimuleert de reninesecretie van de geïsoleerde rattenier (Nakane e.a., 1979).

3.2.5.2. Remming van de celstofwisseling

Wanneer niercoupes geïncubeerd worden in aanwezigheid van stoffen die de oxidatie en de glycolyse remmen of de oxidatieve fosfolysering ontkoppelen, verandert volgens De Vito e.a. (1970) de reninesecretie niet. In deze experimenten was de zuurstofconsumptie echter niet geheel geblokkeerd. Daarentegen vonden Braverman e.a. (1971) in niercoupes dat complete remming van het metabolisme de reninesecretie wel degelijk doet afnemen. Deze remming bleek reversibel te zijn; hernieuwde blootstelling aan O₂ deed de reninesecretie sterk stijgen. De uitkomsten in geïsoleerde glomeruli zijn echter anders. Blendstrup

e.a. (1975) vonden na metabole blokkade door middel van natriumcyanide en natriumjodoacetaat een wisselende reactie; de reninesecretie bleef soms gelijk en nam soms sterk toe. Wanneer de reninesecretie steeg, nam de renineconcentratie van de glomeruli af. Zij concludeerden dat er energie nodig was om het renine binnen de cel te houden.

3.3. Intrarenale componenten van het renineangiotensine systeem

3.3.1. Localisatie

Zoals aangegeven is in hoofdstuk 3.1.2, wordt door inwerking van renine op angiotensinogeen angiotensine I en middels convertie enzyms angiotensine II geproduceerd. Naast effecten op de algemene circulatie beïnvloedt angiotensine II ook de niercirculatie. Dit angiotensine II is ten dele afkomstig vanuit de bloedbaan, daarnaast bestaan er ook sterke aanwijzingen voor plaatselijke vorming van angiotensine II binnen de nier.

Horky e.a. (1971) vonden in de nierlymfe van ratten zowel angiotensinogeen als renine en convertie enzyms. Andere onderzoeken hebben dit bevestigd, aangevuld met de waarneming dat ook angiotensine II in de nierlymfe wordt gevonden (Lever en Peart, 1962; Bailie e.a., 1971). Theoretisch is het dan ook mogelijk dat dit angiotensine II ter plaatse inwerkt. Bailie e.a. (1971) vonden in de nierlymfe een hogere concentratie aan angiotensine II dan in veneus bloed en concludeerden dat angiotensine II in het interstitium wordt geproduceerd.

De ontwikkeling van immunocytochemisch onderzoek leidde tot meer inzicht in de lokale concentraties van de verschillende componenten van het renine-angiotensine systeem.

Mendelsohn (1976, 1979) vond angiotensine II-immunoreactief materiaal in de nier. Deze substantie kwam ook wat de fysisch chemische eigenschappen en chromatografische

mobiliteit betreft overeen met angiotensine II. De concentratie ervan was 10 tot 20 maal hoger dan in het bloed van de aorta. Wanneer de nier korte tijd doorstroomd werd met een zoutoplossing bleef dit immunoreactieve materiaal aanwezig. Onduidelijk is of er sprake is van een plaatselijke synthese dan wel van opneming uit de circulatie. Angiotensine II wordt bij immunocytochemisch onderzoek van het juxtaglomerulaire apparaat in dezelfde granulae als het renine gevonden (Celio en Inagami, 1981; Taugner en Hackenthal, 1981; Naruse e.a., 1982; Taugner e.a., 1982). Angiotensine I wordt hierbij niet aangetroffen. Naruse e.a. (1982) vonden na conversie van het enzym remming wèl angiotensine I in de korrels van de juxtaglomerulaire cel, tezamen met het renine en angiotensine II.

Over de localisatie van conversie van het enzym-activiteit zijn de meningen verdeeld. Taugner e.a. (1982) vonden geen conversie van het enzym-activiteit ter plaatse van het juxtaglomerulaire apparaat. Caldwell e.a. (1976) troffen dit enzym aan in de renale arteriolen, glomerulaire en interglomerulaire capillairen, alsmede ter plaatse van de proximale tubulus. In de proximale tubulus wordt een hoge concentratie conversie van het enzym ter plaatse van de borstelzomen gevonden (Ward e.a., 1975; Rix e.a., 1981). Celio en Inagami (1981) vinden het conversie van het enzym ter plaatse van afferente en efferente arteriolen en in sommige capillairen.

Sutherland (1970) vond een α_2 -globuline (angiotensinogeen?) ter hoogte van de juxtaglomerulaire cellen. Taugner en Hackenthal (1981b, 1982) vinden bij hun onderzoek geen aanwijzing voor de aanwezigheid van dit peptide ter plaatse.

Bovenstaande resultaten maken een aantal theorieën mogelijk rondom de lokale generatie van angiotensine II.

Celio en Inagami (1981) veronderstellen dat er een intracellulaire synthese van angiotensine II plaatsvindt. Op grond van het onderzoek van Sutherland (1970) wordt de aanwezigheid van angiotensinogeen verondersteld. De afwezigheid van aantoonbaar angiotensine I verklaren zij door

een snelle omzetting in angiotensine II. Hierbij worden zij gesteund door onderzoekingen waarbij na remming van het convertings enzyme wel angiotensine I aantoonbaar was (Naruse e.a., 1982).

Taugner e.a. (1981, 1982) verwerpen echter op grond van hun onderzoek de mogelijkheid van het bestaan van een compleet renine-angiotensine-systeem in de juxtaglomerulaire cel. Zij veronderstellen dat endocytose de aanwezigheid van angiotensine II kan verklaren.

Op basis van deze onderzoekingen zijn er aanwijzingen voor het bestaan van een intrarenaal functionerend renine-angiotensine systeem. Men kan zich dan ook voorstellen dat dit de nierfunctie beïnvloedt. Aangezien 20% van het hartminutenvolume de nieren passeert, worden deze continu blootgesteld aan een aanbod van angiotensine I en angiotensine II afkomstig uit de bloedbaan. De afzonderlijke invloeden van het circulerende en het intrarenaal gevormde angiotensine II zijn tot op heden onduidelijk. Dit geldt uiteraard ook voor een eventuele onderlinge wisselwerking.

3.2.2. De invloed van het renine-angiotensine systeem op de nier

Zoals in hoofdstuk 3.2.2. reeds werd vermeld, veronderstelde Thureau (1967, 1980) dat een toegenomen natriumconcentratie ter plaatse van de macula densa de reninesecretie stimuleert, gevolgd door constrictie van afferente arteriole, waardoor de glomerulaire filtratiesnelheid daalt. Een toegenomen perfusiedruk zou eveneens via de macula densa (door een toeneming van de natriumconcentratie ter plaatse) de reninesecretie stimuleren; hierdoor worden nierdoorbloeding en glomerulusfiltratie weer normaal (Thureau, 1964). In hoofdstuk 3.2 werden reeds een aantal bezwaren tegen de theorie van Thureau uiteengezet. Er zijn in het kader van deze beschouwing tegen deze hypothese nog een aantal argumenten aan te voeren. Bailie e.a. (1972) vonden bij daling van de perfusiedruk een stijging van de angiotensine II concentratie in de nierlymfe. Daarnaast bleek dat verlagings van de perfusie-

druk leidt tot vasodilatatie van de afferente arteriole (Baer e.a., 1970). Beide verschijnselen staan diametraal tegenover Thureau's gegevens welke hij met micropuncties verkreeg.

Guyton en medewerkers veronderstelden dat het renine-angiotensine systeem vooral op de efferente arteriole inspeelt; langs deze weg zou het systeem de glomerulusfiltratie kunnen reguleren en daardoor de zoutexcretie.

In een aantal experimenten voerden zij sterke bewijzen aan voor deze opvatting. Bij honden die een natriumrijke voeding geconsumeerd hadden in combinatie met toediening van DOCA, was in de nierven geen renine aantoonbaar. In deze situatie was na verlaging van de perfusiedruk nog steeds autoregulatie van de nierdoorbloeding waarneembaar, de autoregulatie van de glomerulaire filtratie was daarentegen sterk verminderd en de filtratiefraction daalde.

Er bestond dus een dissociatie tussen autoregulatie van de nierdoorbloeding en welke de glomerulusfiltratie, welke door Guyton c.s. werd toegeschreven aan interferentie met een efferent arteriolar mechanisme (Hall e.a., 1977a). In een aanvullend onderzoek (Hall e.a., 1977b) werd bij honden onder verschillende condities de angiotensine II antagonist saralazine intrarenaal geïnfundeerd tijdens getrapte verlaging van de perfusiedruk. Bij honden op een normaal dieet gaf verlaging van de perfusiedruk van 127 tot 85mmHg geen verandering te zien in nierdoorbloeding en glomerulaire filtratiesnelheid.

Hetzelfde werd waargenomen bij honden met een geactiveerd renine-angiotensine systeem t.g.v. een negatieve zoutbalans. Bij infusie van de angiotensine II-antagonist ging bij de laatste groep de autoregulatie van de glomerulusfiltratie verloren, terwijl de autoregulatie van de nierdoorbloeding blijft bestaan.

De filtratiefraction en de efferente arteriulaire weerstand daalden onder invloed van de angiotensine II-antagonist, zowel bij normale honden als bij degene met een gestimuleerd renine-angiotensine systeem. De vraag blijft of het hypothetische intrarenale renine-angioten-

sine systeem hiervoor verantwoordelijk is of het circulerend angiotensine II. Hall e.a. (1981) infundeerden de convertingsremmer SQ 14.225 (captopril) bij honden met een (door een zoutarm dieet) gestimuleerd renine-angiotensine systeem. Er trad een daling op van de bloeddruk tot rond 80mmHg; gepaard gaande met een daling van de glomerulaire filtratie, de filtratiefraction en de efferente arteriële weerstand; daarentegen nam de nierdoorbloeding toe. Vervolgens werd door het afklemmen van de aorta boven de nier de perfusiedruk op 80 mmHg gebracht. Door infusie van angiotensine II werden de nierdoorbloeding, de glomerulaire filtratie, de filtratiesnelheid en de efferente arteriële weerstand tot hetzelfde niveau teruggebracht als bij controle-experimenten, waarbij de aorta was afgeklemd maar geen farmaca werden geïnfundeerd. Dit onderzoek steunt andermaal de hypothese dat angiotensine II een belangrijke rol speelt bij de regulatie van de glomerulaire filtratie en de weerstand van de efferente arteriële; de eventuele rol van het intrarenaal gevormde angiotensine II blijft echter onduidelijk.

Bij de experimenten van Guyton c.s. worden de afferente (AR) en de efferente (ER) arteriële weerstand berekend volgens een aantal formules, afgeleid van het werk van Goméz (1951):

$$AR = (RAP - P_g) / (RBF)$$

$$ER = (P_g - P_c) / (RBF - GFR)$$

waarin P_g de gemiddelde glomerulaire capillaire hydrostatische druk weergeeft (mm Hg); P_c de gemiddelde peritubulaire capillaire hydrostatische druk (mm Hg); RBF de nierdoorbloeding (ml/min); GFR de glomerulaire filtratiesnelheid (ml/min) en RAP de perfusiedruk van de nier (mm Hg). De afferente en efferente weerstand worden uitgedrukt in mm Hg x (ml/min).

De gemiddelde glomerulaire capillaire hydrostatische druk (P_g) kan op twee manieren worden berekend:

1. Wanneer de netto drijvende kracht van de ultra-filtratie aan het einde van het vas efferens geheel weggevallen is geldt:

$$P_g = \pi_e + P_t$$

waarin π_e de colloïd-osmotische druk in het vas efferens weergeeft en P_t de proximale tubulaire hydrostatische druk.

De colloïd-osmotische druk in het vas efferens kan worden herleid uit de eiwitconcentratie. De eiwitconcentratie in het vas efferens (C_{Pe}) kan worden berekend volgens de formule:

$$C_{Pe} = C_{Pa} / (1 - FF)$$

waarin C_{Pe} de eiwitconcentratie in het vas efferens weergeeft en C_{Pa} die in de arteria renalis. FF is de filtratiefractie.

2. Wanneer de netto filtratiedruk aan het einde van het vas efferens nog positief is, zal de gemiddelde glomerulaire capillaire hydrostatische druk (P_g) groter zijn dan berekend onder 1 en kan worden uitgedrukt volgens de formule:

$$P_g = (GFR / K) + \pi_g + P_t$$

waarin K de glomerulaire filtratie coëfficiënt weergeeft en π_g de gemiddelde colloïd-osmotische druk in de glomerulaire capillairen. Deze kan worden berekend volgens de formule:

$$\pi_g = (\pi_e + \pi_a) / 2$$

waarin π_e de colloïd-osmotische druk in het vas efferens weergeeft en π_a die in de arteria renalis.

Behalve P_c , P_t en K kunnen alle variabelen in bovenstaande vergelijkingen worden gemeten of berekend. Voor veranderingen in P_c en P_t gebruiken Guyton c.s. de formule:

$$P_t = A + (B \times GFR)$$

$$P_c = P_t - E$$

Op grond van andere onderzoekingen is A 9.24 mm Hg, B 0.131 mm Hg/ml/min. en E 4 mm Hg. K is gesteld op 4 ml/min./mmHg/100 gram nierweefsel.

Bij bovenstaande mathematische benadering wordt van een homogene doorstroming van de nier uitgegaan.

Deze methode kan gebruikt worden om veranderingen in de afferente en efferente arteriolaire weerstand te signaleren, niet voor de vergelijking van absolute waarden. De uitkomsten moeten als een benadering van de werkelijkheid worden beschouwd (Hall e.a. 1977a).

Een andere mogelijkheid tot berekening van de afferente en efferente arteriolaire weerstand is het gebruik van een micropunctietechniek (Brenner en Troy, 1971). Door gebruik van deze techniek kan de stroomsnelheid in één tubulus worden bepaald en in combinatie met toediening van inuline is de glomerulaire filtratiesnelheid van één nephron te berekenen; ook kan de druk worden gemeten in de glomerulaire capillairen, proximale tubulus, efferente arteriolen en in peritubulaire capillairen. De berekening is als volgt (Schor e.a., 1980):

De filtratiesnelheid van één nephron (SNGFR) wordt bepaald volgens de formule:

$$\text{SNGFR} = (\text{TF/P})_{\text{in}} \cdot V_{\text{tf}}$$

waarin $(\text{TF/P})_{\text{in}}$ en V_{tf} de transtubulaire inulineconcentratieverhouding, resp. tubulaire stroomsnelheid weergeven.

De filtratiefractie van één nephron (SNFF) is te berekenen volgens:

$$\text{SNFF} = 1 - \frac{\text{Ca}}{\text{Ce}}$$

waarin Ca en Ce de eiwitconcentratie in de afferente en efferente arteriole weergeven.

De stroomsnelheid van het plasma in de glomerulus (\dot{Q}_a) is te berekenen als volgt:

$$\dot{Q}_a = \frac{\text{SNGFR}}{\text{SNFF}}$$

De stroomsnelheid van het bloed per afferente arteriole (GBF) is weer te geven als:

$$\text{GBF} = \frac{\dot{Q}_a}{1 - \text{Hcta}}$$

Hcta is de haematocriet van de afferente arteriole (waarbij verondersteld wordt dat deze gelijk is aan de haematocriet in de arteria femoralis)

De stroomsnelheid in het vas efferens (EABF) is dan:

$$EABF = GBF - SNGFR$$

De vaatweerstand per afferente arteriole (R_a) is vervolgens te berekenen:

$$R_a = \frac{\overline{AP} - \overline{P_{gc}}}{GBF} \times (7.962 \times 10^{10})$$

waarin \overline{AP} de gemiddelde arteriële druk weergeeft en $\overline{P_{gc}}$ de druk in de glomerulaire capillairen. De vermenigvuldigingsfactor is ingevoerd om de weerstand in dyn.s.cm⁻⁵ uit te drukken.

De weerstand per efferente arteriole (R_e) kan dan als volgt worden berekend:

$$R_e = \frac{\overline{P_{gc}} - P_c}{EABF} \times (7.962 \times 10^{10})$$

waarin P_c de peritubulaire druk weergeeft.

De totale arteriolaire weerstand is dan:

$$R_{ta} = R_a + R_e$$

Wanneer door middel van deze techniek de gevolgen van een verhoogde angiotensine II spiegel worden bestudeerd, blijkt dat de glomerulaire filtratiesnelheid van zowel het enkelvoudige nephron als die van de gehele nier afneemt, evenals de nierdoorbloeding en de (berekende) stroomsnelheid in de capillairen van de glomerulus. Daarbij is de efferente arteriolaire weerstand verhoogd (Schor e.a., 1980).

Intrarenale infusie van dibutyryl cyclisch AMP, parathormoon en de prostaglandines I_2 en E_2 (in een niet vasoactieve dosering) heeft een identiek effect en dit werd voorkomen door gelijktijdige infusie van de angiotensine II antagonist saralazine. De invloed van deze verschillende stoffen op de niercirculatie wordt dus bemiddeld door angiotensine II (Schor e.a., 1981; Schor en Brenner, 1981; Brenner e.a., 1982). Wanneer angiotensine II in de geïsoleerde rattenier wordt geïnfundeed, daalt de nierdoorstroming en stijgt de glomerulaire filtratiesnelheid, evenals de filtratiefraction. Dit is te verklaren door een

tonusverhogende invloed van angiotensine II op de efferente arteriolen (Davalos e.a., 1978). Infusie van renine-substraat had een soortgelijk effect, terwijl door gelijktijdige infusie van het convertings-enzyme remmende teprotide deze respons kon worden voorkomen.

Wanneer men de histologie van de efferente arteriolen beschouwt, is het verwonderlijk dat angiotensine II in staat is via deze structuur de nierdoorstroming zo sterk te beïnvloeden. De wand van het vas efferens is dun en heeft vergeleken met het vas afferens weinig spierweefsel (Barajas, 1967, 1981; Faarup, 1968). Echter zoals rond veel aspecten van het renine-angiotensine systeem bestaat omtrent de invloed van angiotensine II op de niercirculatie geen overeenstemming. Zo is volgens anderen (Murray en Malvin, 1979) autoregulatie van de nierdoorbloeding en glomerulusfiltratie niet afhankelijk van de activiteit van het renine-angiotensine systeem. Navar e.a., (1981) onderzochten bij honden op een zoutarm dieet in hoeverre remming van het convertings-enzyme door captopril invloed had op o.a. nierhaemodynamica en efferente en afferente arteriolen weerstand. Door captopril werd zowel de efferente als afferente weerstand verlaagd, terwijl de nierdoorbloeding toenam.

Behalve op de glomerulaire arteriolen ontplooit angiotensine II waarschijnlijk ook een werking op het mesangium. Mesangiale cellen in celkweeken blijken te contraheren na toevoeging van angiotensine II (Ausiello e.a., 1979). Ook heeft angiotensine II een direct effect op het natriumtransport in de proximale tubulus (Harris en Young, 1977). Intrarenale infusie van angiotensine II veroorzaakt een verminderde natriumuitscheiding; deze rechtstreekse invloed lijkt krachtiger te zijn dan door stimulatie van de aldosteronsecretie veroorzaakt wordt (Lohmeier e.a., 1977).

H O O F D S T U K I V

DE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP DE NIER, DE RENINESECRETIE EN HET VAATGEDRAG

4.1. Hypothermie en de nier

Het onderzoek naar de gevolgen van hypothermie op de nier vindt vooral plaats ten behoeve van de conservering van nieren voor transplantatie. De resultaten van deze onderzoeken vallen niet binnen het kader van dit proefschrift aangezien bij dergelijke perfusies gebruik gemaakt wordt van een sterke temperatuurdaling (tot 5-10°C) en bij de chirurgische procedure een periode met ischemie optreedt.

Bij bestudering van het effect van hypothermie op de nier stuit men op een aantal complicerende factoren. Temperatuurverlaging leidt tot bloeddrukdaling (Withey e.a., 1975), toename van de viscositeit (Merrill e.a., 1963) en haemoconcentratie (Kanter, 1968). Daarnaast kan de gebruikte onderzoeksmethode beperkingen met zich meebrengen. Uitwendig toegepaste koeling beïnvloedt slechts zeer ten dele de temperatuur van de nier. Afkoeling blijkt het sympathisch zenuwstelsel te stimuleren (Shum e.a., 1969; Konzett e.a., 1971; Benedict e.a., 1977; Picotti e.a., 1981) waardoor de (nier-)circulatie kan worden beïnvloed. Getrapte temperatuurverlaging (38,5°C naar 0°C) doet in geïsoleerde, met bloed doorstroomde hondenieren de doorstroming afnemen (Harvey, 1959). Ook in konijnenieren veroorzaakt temperatuurverlaging een vermindering van de doorstroming (Torelli e.a., 1973). Deze afname wordt verklaard door viscositeitsveranderingen en actieve vasoconstrictie (Levy, 1959). Een bezwaar tegen deze onderzoeken is dat de perfusie met bloed vasoconstrictie kan veroorzaken (zie hoofdstuk 2). In dat licht zou een controle groep eigenlijk niet kunnen worden gemist.

Wanneer proefdieren uitwendig gekoeld worden (temp. ± 27°C) ontstaat vasoconstrictie (Withey e.a., 1975, 1976;

Chapman e.a., 1975). De nierdoorbloeding daalt met 60%. Deze veranderingen zijn niet te herleiden tot haemoconcentratie (Withey e.a., 1975), bloeddrukdaling (Chapman e.a., 1975), verhoging van viscositeit, vaatcompressie of veranderingen in het zuurbase evenwicht (Withey e.a., 1975), maar lijken te berusten op vasoconstrictie, onafhankelijk van humorale of sympathische prikkels. Zoals boven eerder gesteld, kan in een dergelijk model de inbreng van sympathische effecten echter niet geheel worden uitgesloten.

Hinshaw e.a. (1965) onderzochten in een gecompliceerde opstelling waarbij hondenieren in situ doorstroomd werden met normotherm bloed (van een donordier afkomstig) de invloed van verandering van de lichaamstemperatuur op de doorstroming. Temperatuurverlaging (tot 25°C) veroorzaakte geen verandering van de doorstroming, bij terugbrengen van de temperatuur tot het uitgangsniveau trad vasoconstrictie op, hetgeen werd toegeschreven aan een verhoging van de adrenerge activiteit.

Bij deze resultaten dienen gezien het gecompliceerde karakter van de proefopstelling vraagtekens te worden gezet.

Bij uitwendige koeling van proefdieren ontstaat er een verandering in de doorstroming van de nier. Blijkens het gedrag van ⁸⁶Rb in hondenieren neemt de doorstroming in de buitenste cortex met 34% af, in de diepe schors met 72%, en in het merg met 61-69%. Bij radioautografie wordt een hogere doorbloeding in een gebied van het buitenste merg gevonden, hetgeen door "shunting" verklaard zou kunnen worden (Withey e.a., 1975, 1976).

De geïsoleerde nier is het model bij uitstek om de effecten van temperatuur, los van andere invloeden (viscositeit, haemoconcentratie, bloeddrukdaling en sympathisch zenuwstelsel) te bestuderen. Bij perfusie van geïsoleerde konijnieren met een zoutoplossing (d.w.z. zonder colloïdtoevoeging) wordt bij 25°C een ten opzichte van 37°C toegenomen doorstroming gevonden (Fonteles en Karow, 1976), in tegenstelling tot de resultaten bij uitwendige

koeling van intacte proefdieren. In de experimenten van Harvey (1959) en Levy (1959) deed hypothermie tot 0°C de zuurstofconsumptie afnemen als teken van een verminderd metabolisme.

Zoals eerder vermeld, is naar de functie van de hypotherme nier vooral onderzoek verricht in het kader van de conservering voor transplantatie. De literatuur op dit gebied kan ons enkele gegevens verschaffen over het functioneren van de nier bij milde graad van hypothermie.

Met plasma geperfundeerde hondenieren functioneren nog bij 25°C (Sell e.a., 1972). In een aanvullend onderzoek (Benjamin en Sell, 1972) werd de functie van konijnieren die 2 uur geperfundeed werden bij 5°C, waarna de temperatuur tot 25°C werd verhoogd, vergeleken met een contrôle groep doorstroomd bij 25°C. De nierdoorbloeding daalde en de zuurstofconsumptie nam af met 75%. Er was ook een daling in de concentratieverhouding van para aminohippuurzuur, natrium en kalium in urine versus plasma, ten teken van een algehele daling in nierfunctie. Bij verhoging van de temperatuur tot 25°C bleken deze veranderingen reversibel te zijn.

Langdurige nierperfusie (24 tot 48 uur) bij een temperatuur van 10°C deed de nierfunctie afnemen. Wanneer deze nieren aansluitend doorstroomd werden bij 20°C neemt (ten opzichte van een contrôle groep) de eiwitlekage toe, terwijl de para aminohippuurzuur klaring en urineproductie dalen. Een hogere zuurstofspanning (de pO_2 werd in deze experimenten verhoogd van 150 tot 600 mmHg) en toevoeging van hypoxanthine, acetaat en pyruvaat voorkomt de verslechtering van de nierfunctie bij koeling tot 10°C (Foreman e.a., 1981).

Torelli e.a. (1973) onderzochten het effect van temperatuur op de natriumreabsorptie in een met bloed geperfundeerde konijn nier. Bij verlaging van de temperatuur van 37°C tot 28°C en 19°C daalde de fractionele natriumreabsorptie (de verhouding tussen het gereabsorbeerde en het gefiltreerde natrium) van $0,76 \pm 0,01$ (37°C) tot $0,57 \pm$

0,02 (28°C) en $0,41 \pm 0,003$ (19°C). De para aminohippuurzuur klaring en zuurstofconsumptie werden door verlaging van de temperatuur sterker beïnvloed dan de natriumreabsorptie. Torelli c.s. veronderstelden daarom dat de verminderde natriumreabsorptie voornamelijk veroorzaakt wordt door een effect van temperatuur op het natriumtransport en niet alleen door verlaging van het metabolisme.

4.2. Hyperthermie en de nier

Uitwendige blootstelling aan warmte veroorzaakt vasoconstrictie in de nier (Rowell e.a., 1970; Eisman en Rowell, 1977). Opwarming van bavianen tot 42,5 à 49°C leidt tot stijging van de temperatuur rondom de nier met 1 à 2°C; hierbij neemt de nierdoorbloeding met 23,7% per graad Celsius af (Eisman en Rowell, 1977). Aangezien zowel propranolol als saralazine de vasoconstrictie tegen gaat, wordt aangenomen dat een hypersecretie van renine hiervoor ten dele verantwoordelijk is.

4.3. Temperatuur en reninesecretie

4.3.1. Hypothermie

Over de gevolgen van temperatuurverlaging op de reninesecretie is betrekkelijk weinig onderzoek verricht, vooral op niercoupes en geïsoleerde glomeruli waarbij de temperatuur tijdens incubatie werd verlaagd. Yamamoto e.a. (1967) en Capponi en Valloton (1976) vonden bij 4°C een remming van de reninesecretie (die zij verklaarden door interferentie met een actief secretoir proces). In geïsoleerde glomeruli vonden Blendstrup e.a. (1975) een omgekeerde relatie tussen reninesecretie en temperatuur. Verlaging van de temperatuur van 30°C tot 20°C leidde tot een 2,6-voudige verhoging van de reninesecretie en bij verlaging tot 10°C nam de reninesecretie zelfs met een factor 6,7 toe. Blendstrup c.s. veronderstelden dat er energie nodig is voor retentie van renine door de juxtaglomerulaire cel. Ook Baumbach e.a. (1976) en Park e.a.

(1981) vonden bij temperatuurverlaging in geïsoleerde juxtaglomerulaire cellen respectievelijk niercoupes een toename van de reninesecretie. De resultaten in dergelijke opstellingen verschillen van degenen waarbij gebruik gemaakt wordt van geïsoleerde renine houdende korrels uit het juxtaglomerulair apparaat. Wanneer de incubatie temperatuur van deze korrels wordt verlaagd neemt de reninesecretie af (Funakawa e.a., 1978; Sagnella en Peart, 1979).

Park e.a. (1981) veronderstellen dat het stimulerende effect van temperatuurverlaging op de reninesecretie in niercoupes veroorzaakt wordt door interferentie met het secretieproces. Bij normale temperatuur veroorzaakte afwezigheid van calcium in het incubatiemedium een stimulatie van de reninesecretie. Bij 4°C was ten opzichte van 37°C de reninesecretie verhoogd, waarbij de calciumconcentratie geen invloed had op het niveau van deze stimulatie. Op grond hiervan veronderstelden Park en medewerkers dat een bepaald niveau van intracellulaire calciumconcentratie bij 37°C een enzym activeert dat een remmend effect heeft op de reninesecretie. Bij 4°C zou dit enzym niet kunnen worden geactiveerd waardoor remming van de reninesecretie niet plaatsvindt.

Onderzoek naar het effect van temperatuur op de reninesecretie in de geïsoleerde nier zijn voor zover mij bekend niet beschreven.

4.3.2. Hyperthermie en reninesecretie

Over het effect van temperatuurverhoging op de reninesecretie zijn slechts weinig gegevens bekend. Wanneer men proefpersonen of proefdieren aan een verhoogde buitentemperatuur blootstelt met een stijging van de lichaamstemperatuur tussen 0,6°C en 1,0°C neemt de plasma renineactiviteit toe (Eisman en Rowell, 1977; Collins en Few, 1979; Follenius e.a., 1979 Brandenberger e.a., 1980). Hierbij doet zich tevens een stijging van de aldosteronconcentratie voor. Verondersteld wordt dat de renine stijging mede verantwoordelijk is voor deze toename (Follenius e.a., 1979). Wanneer in deze situatie β -blok-

kers worden toegediend, treedt overigens wel suppressie op van de renine-activiteit, maar niet van de aldosteronconcentratie zodat andere factoren zoals versterkte ACTH secretie waarschijnlijk tot de stijging van de aldosteronconcentratie bijdragen (Brandenberger e.a., 1980).

Tijdens verwarming van bavianen (waarbij de temperatuur rondom de nier met 1 à 2°C toenam) infundeerden Eisman en Rowell (1977) propranolol. Zowel de vasoconstrictie (zie 4.2) als de toeneming van de plasma renine-activiteit werd door propranolol voorkomen. In een dierexperiment werd aangetoond dat uitwendige verwarming de sympathische activiteit in de nier doet toenemen (Ninomiya en Fujita, 1976); het is zeer wel denkbaar dat dit systeem voor de veranderingen in nierhaemodynamica en reninesecretie (mede) verantwoordelijk is. Ook kan het renine verhoogd zijn door verminderde afbraak in de lever, aangezien temperatuurverhoging de leverdoorbloeding doet afnemen (Collins en Few, 1979).

Uitwendige verwarming heeft geen invloed op de bloeddruk (Ninomiya en Fujita, 1976; Brandenberger e.a., 1980); evenmin treden veranderingen in natriumexcretie op (Brandenberger e.a., 1980).

Hyperthermie activeert de sympathische zenuwvezels in de nier (Ninomiya en Fujita, 1976); als uitvloeisel hiervan stijgt de hoeveelheid catecholamine in de urine (Shum e.a., 1969). Het is dus theoretisch zeer wel mogelijk dat het sympathisch zenuwstelsel een bijdrage levert tot de vasoconstrictoire respons. In de experimenten van Eisman en Rowell (1977) kon door α -blokkade (phentolamine) de vasoconstrictie echter slechts gedeeltelijk worden voorkomen.

Onderzoek naar de invloed van hyperthermie op geïsoleerde nieren is voor zover mij bekend niet eerder verricht.

4.4. Temperatuur en het vaatgedrag

In het voorafgaande werd reeds aangegeven dat temperatuurverandering langs een aantal wegen de doorstroming kan beïnvloeden: door bloeddrukverandering, haemoconcen-

tratie, viscositeitsverandering en een toegenomen sympathische activiteit. Daarnaast heeft de temperatuur een direct effect op processen in de vaatwand zelf. Matige koeling (25°C) onderdrukt de myogene activiteit van geïsoleerde venestrips, terwijl matige verwarming (tot 43°C) de myogene activiteit doet toenemen (Vanhoutte en Shepherd, 1970). Ook de reactie op adrenerge prikkels wordt door de temperatuur beïnvloed. Deze reactie is tegengesteld aan het directe effect van temperatuur op het contractiemechanisme zelf.

Milde hypothermie (25°C) doet de constrictie respons van de vena saphena magna opgewekt door elektrische stimulatie toenemen, verhoging van de temperatuur heeft het tegengestelde effect. Ook de vasoconstrictie door noradrenaline wordt door hypothermie versterkt (Vanhoutte en Shepherd, 1970; Janssens en Vanhoutte, 1978a).

De versterking van adrenerge prikkels door hypothermie wordt niet veroorzaakt door het vrijkomen van meer noradrenaline aan het zenuwuiteinde (Janssens en Vanhoutte, 1978b), integendeel, er wordt zelfs een vermindering vastgesteld (Janssens en Vanhoutte, 1979).

Daartegenover staat dat de heropname van noradrenaline aan de zenuwuiteinden is verminderd (Janssens en Vanhoutte, 1978a), evenals de enzymatische afbraak (Janssens en Vanhoutte, 1978b).

De versterkte reactie bij hypothermie is niet specifiek voor het adrenerge systeem. Ook na toediening van acetylcholine, adenosinetrifosfaat en 5-hydroxytryptamine contraheert de vena saphena magna onder hypotherme omstandigheden in versterkte mate (Vanhoutte en Shepherd, 1970).

Sterkere afkoeling (tot 5°C) doet de contractiliteit bij adrenerge prikkels afnemen. Verondersteld wordt dat bij deze temperatuur de adrenerge neurotransmissie onderbroken wordt (Rusch e.a., 1981).

In bovenstaande experimenten werd in het algemeen gebruik gemaakt van geïsoleerde huidvaten. De vasculatuur van de

huid speelt een overheersende rol bij de temperatuurregulatie van het intacte individu. Uit dierexperimenten is gebleken dat uiwendige koeling de activiteit van sympathische huidzenuwen sterk doet toenemen (Ninomiya en Fujita, 1976).

De vraag dringt zich op of deze mechanismen ook bij andere vaten een rol spelen.

De door α -adrenerge stimulatie veroorzaakte contractie van de vena femoralis wordt door matige koeling (24°C) geremd. De affiniteit van de α -receptor is in een dergelijk model niet gewijzigd (Janssens en Vanhoutte, 1978a). Over de reactie op adrenerge stimulatie in de nier bij verschillende temperaturen zijn weinig gegevens bekend. Fonteles en Karow (1976) infundeerden in een geïsoleerde konijnenier noradrenaline bij respectievelijk 37°C en 25°C. De vasoconstrictie was bij 25°C sterk toegenomen, hetgeen verklaard werd door een toegenomen affiniteit van de α -receptor.

In het bovenstaande werd nagestreefd de weinige en heterogene gegevens die betrekking hebben op de invloed van temperatuur op de nier, vaatgedrag en reninesecretie zo logisch mogelijk te rangschikken. Ook waar sommige resultaten niet direct te relateren zijn aan de eigen vraagstelling en onderzoeksprocedure zijn deze toch vermeld omdat er nog nimmer een enigszins coherent overzicht over deze materie is verschenen.

Wanneer men bovenstaande heterogene gegevens samenvat, kan gesteld worden dat uitwendige koeling vasoconstrictie in de nier veroorzaakt. In de literatuur wordt voorbijgegaan aan de mogelijkheid dat de vasoconstrictie via het sympathisch zenuwstelsel tot stand komt. In geïsoleerde nieren doorstroomd met bloed treedt bij koeling vasoconstrictie op, waarbij bezwaar kan worden gemaakt tegen de experimentele procedure.

Hypothermie doet de contractiliteit van geïsoleerde huidvaten op adrenerge en andere prikkels (acetylcholine, adenosinetrifosfaat en 5-hydroxytryptamine) toenemen. Een

verhoogde affiniteit van de postsynaptische α -receptor wordt als de belangrijkste oorzaak gezien voor de versterkte reactie op adrenerge prikkels. Ook zijn er experimenteel aanwijzingen dat in de nier de affiniteit van de α -receptor voor noradrenaline is toegenomen.

Omtrent de invloed van temperatuurverlaging op de reninesecretie worden in de literatuur tegenstrijdige gegevens gevonden.

Hyperthermie veroorzaakt vasoconstrictie in de nier en stijging van de reninesecretie. Ook hierbij kan het sympathisch zenuwstelsel een rol spelen.

H O O F D S T U K V

VRAAGSTELLING VAN HET ONDERZOEK

In de voorafgaande hoofdstukken werd aan de hand van de literatuurgegevens ingegaan op de geïsoleerde nier, het renine-angiotensine systeem en de invloed van temperatuur op de nier, de reninesecretie en het vaatgedrag.

Uit dit overzicht is duidelijk dat de secretie van het renine door vele factoren kan worden beïnvloed. Deze factoren kunnen bij onderzoek in een geïsoleerde nier grotendeels worden beheerst, zodat dit een aantrekkelijk model is voor onderzoekingen naar de reninesecretie.

Bij vroegere onderzoekingen in dit model vormde de sterke spontane toeneming van de reninesecretie tijdens de perfusie een probleem bij de interpretatie van de gegevens (zie hoofdstuk 7).

Bij de uitvoering van ons onderzoek stelden wij ons de volgende vragen:

1. Is in het model van de geïsoleerde rattenier een meer constant niveau van de reninesecretie te bereiken?
2. Heeft verhoging respectievelijk verlaging van de temperatuur van de perfusievloeistof invloed op de vaattonus en de reninesecretie in de geïsoleerde rattenier?
3. Wat is het effect van farmaca, wegens hun vaatverwijdende werking gebruikt voor de behandeling van hypertensie, op vaattonus en reninesecretie tijdens normotherme perfusie?
4. Is het mogelijk door infusie van deze farmaca inzicht te verkrijgen in het mechanisme waardoor de temperatuur de vaattonus en de reninesecretie beïnvloedt?

In dit proefschrift zal getracht worden een antwoord te geven op deze vragen. Onderstreept moet worden dat dit onderzoek uitgevoerd werd in een in situ geïsoleerde nier. De waarde

van een dergelijke techniek is niet zozeer de praktische implicatie ervan, als wel de mogelijkheid om inzicht te krijgen in fysiologische en farmacologische mechanismen, die niet bij de mens in toto te onderzoeken zijn. De geïsoleerde nier kan zo het inzicht verruimen omtrent de invloeden van antihypertensiva op de nier en de reninesecretie.

H O O F D S T U K VI

METHODEN VAN ONDERZOEK

6.1. Techniek van de perfusie

De techniek werd voor het eerst beschreven door Vandongen e.a. (1973) en werd door ons op een aantal punten gemodificeerd. Mannelijke Wistarratten met een gewicht tussen 300 en 400 gram kregen een standaarddieet (Hope Farms AM-2, 6 mm), met uitzondering van in hoofdstuk 11 beschreven experimenten waar ratten een natriumarm dieet kregen. De ratten dronken water naar behoefte; de omgevingstemperatuur was ca. 20°C.

Het model is afgebeeld in figuur 6-1. De ratten werden onder narcose gebracht door middel van natriumpentobarbital intraperitoneaal (60 mg/kg). Vervolgens werd de rechter arteria carotis gecanuleerd door middel van een polypropyleencanule. Via deze canule kregen de ratten 100 E heparine toegediend om de vorming van thrombi te voorkomen. Met behulp van de carotiscanule kon de bloeddruk van de rat intra-arterieel worden gemeten. Ratten die door de chirurgische procedure in een circulatoir instabiele toestand kwamen, werden niet voor de verdere experimenten gebruikt.

Via een paramediane abdominale incisie werden de linker nier en de abdominale vaten benaderd. De ureter werd doorgeknipt, aangezien stuwings een verhoogde reninesecretie veroorzaakt (Meyer e.a., 1968; Cooke e.a., 1970; Kaloyanides e.a., 1973). De vasculatuur van de bijnier werd onderbonden. Verder werden onderbonden de arteria respectievelijk vena ileolumbalis en arteria respectievelijk vena spermatica beiderzijds, evenals dorsaal de arteriae en venae lumbales. Aorta en vena cava werden cranial van de aftakking respectievelijk inmonding van de linker arteria en vena renalis van elkaar geprepareerd en

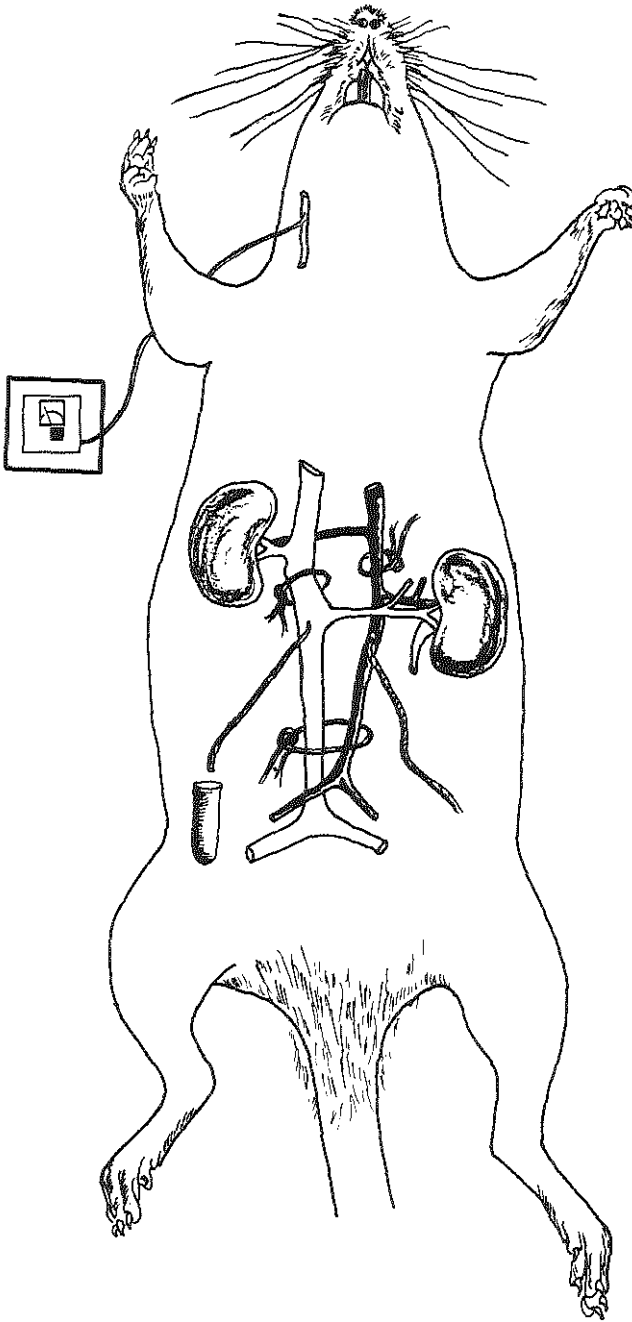


Fig. 6.1 Het model.

afzonderlijk geligeerd (niet onderbonden). Distaal (boven de afsplitsing resp. inmonding van arteriae en venae ilacae) werden aorta en vena cava gezamenlijk onderbonden. Polypropyleen canules (PP100) werden ingebracht in vena cava resp. aorta. De openingen van deze canules waren op het niveau van de linker vena en arteria renalis. Bij stromende perfusievloeistof (zie hoofdstuk 6.3) werden aorta en vena cava craniaal van arteria en vena renalis onderbonden. Op deze manier ontstond een opstelling waarbij de linker nier doorstroomd kon worden zonder het optreden van anoxie. Recirculatie van de perfusievloeistof vond niet plaats. Na starten van de perfusie werd de rat door een overdosis pentobarbital, toegediend via de carotiscanule, opgeofferd.

Redenen om het experiment te staken waren:

- Bloeding met bloeddrukdaling bij de canulatie
- Anoxie van de nier tengevolge van aansluitingsproblemen
- Lekkage van de perfusievloeistof
- Bloedbijmenging bij het perfusaat.

Na het tot stand komen van de perfusie werd een vaste (arbitrair gekozen) periode van tien minuten in acht genomen ter stabilisatie van het model (stabilisatieperiode), waarna de experimenten begonnen (onderzoekperiode).

In tegenstelling tot voorafgaande experimenten van Vandongen en Strang werd de nier geperfundeerd bij een gedurende het gehele onderzoek constante druk. De perfusiedruk kon constant worden gehouden doordat wij in de opstelling een retour slang naar het reservoir (zie figuur 6.2) hadden aangebracht, waarin een stelschroef was opgenomen (naar een idee van Dr. S. Lustig (1979), thans nephroloog te Tel Aviv, Israël).

6.2. De perfusie-opstelling

De opstelling wordt weergegeven in figuur 6.2. (blz. 70)

1. Reservoir: De perfusievloeistof bevond zich in een dubbelwandig reservoir (Pyrex - 4.295.01). Door de wand circuleerde water dat door een verwarmingspomp (Haake, type F) op temperatuur werd gehouden. Hiermee werd de gewenste temperatuur globaal geregeld.
2. pH meter: In het reservoir bevond zich een pH electrode (Sensorex - Radio Copenhagen) verbonden met een pH meter (Philips, PW 9410). Tijdens de perfusie werd de pH gehouden tussen 7.35 en 7.45.
3. O₂ toediening: De perfusievloeistof werd geoxygeneerd door constante doorstroming met carbogeen (95% O₂ en 5% CO₂).
4. Rollerpomp: Door middel van een Watson en Marlow MHRE 100 rollerpomp werd de perfusievloeistof met een constante pulserende stroom voortgestuwd in de siliconenslangen (Ø 6.4 mm).
5. Stijgbuis: Een stijgbuis in het circuit diende voor de afvoer van luchtballen.
6. Drukregistratie: Door een tweetal Thomson Telco transducer-versterkers werd de druk geregistreerd in de arteria carotis (tijdens de chirurgische procedure) en in het perfusiecircuït. De druk werd geregistreerd op een module als gemiddelde perfusiedruk (electronic mean).
7. Verwarmingssysteem: De exacte temperatuur werd gereguleerd door middel van een tweetal elementen (7-1 en 7-2) verbonden met een electronische regel eenheid. Element 1 bevond zich halverwege de opstelling en diende voor het corrigeren van het warmteverlies. Op 6 cm van de ingang van de arteria renalis bevond zich element 2. Dit element handhaafde de gewenste temperatuur met een nauwkeurigheid van 0,1°C.

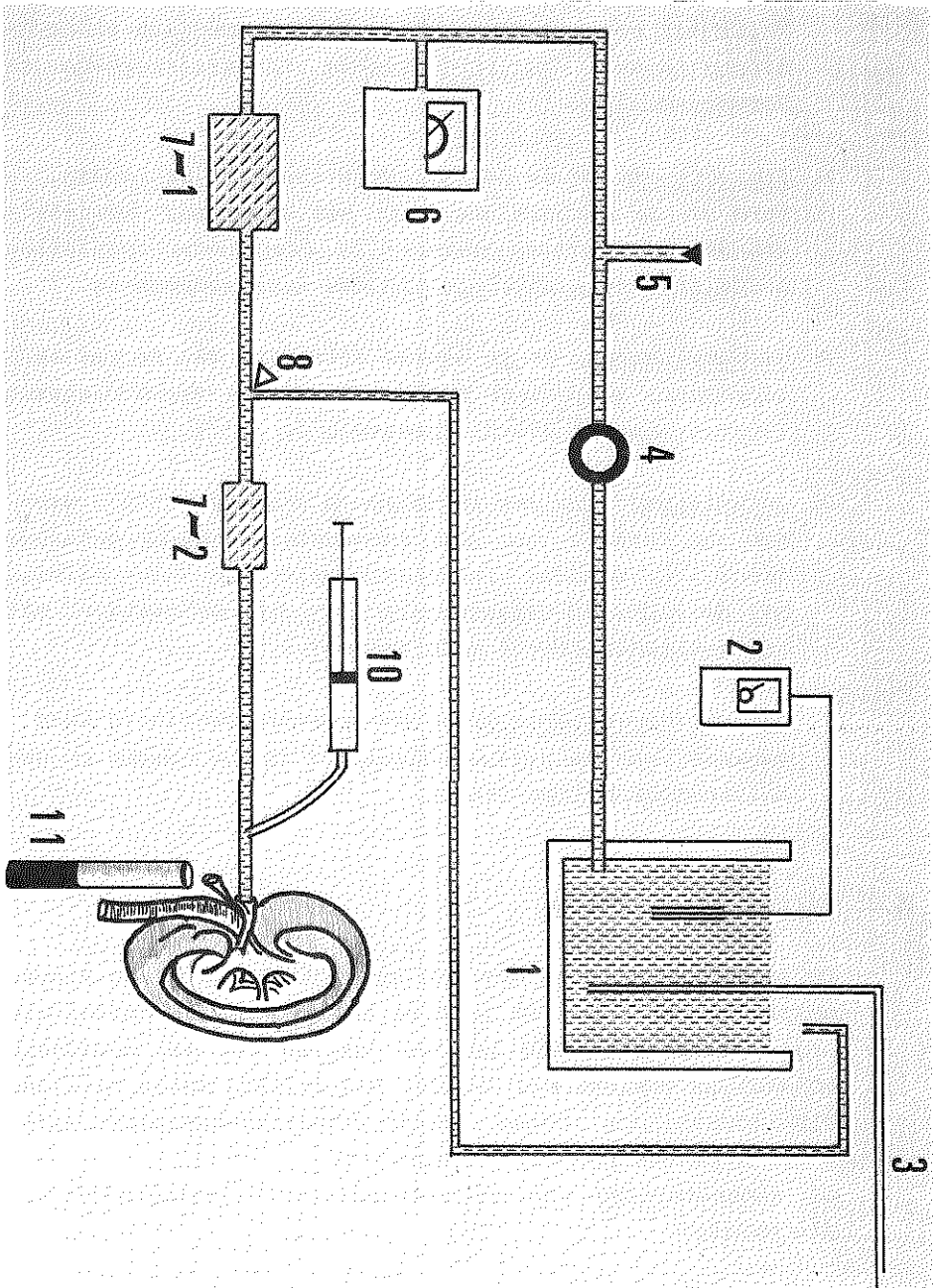


Fig. 6.2 De perfusie-opstelling.

Deze verwarmingsapparatuur is niet commercieel verkrijgbaar en werd vervaardigd door de medisch electrische dienst van het Sophia Kinderziekenhuis te Rotterdam.

8. Stelschroef: Om de perfusiedruk constant te houden, werd in de retourslang naar het reservoir een stelschroef aangebracht waarvan de praktische toepassing normaliter de luchtslang van een aquariumpomp is.
9. Verwarmingsmat: Om te sterke afkoeling van de rat te voorkomen, werd deze geplaatst op een verwarmingsmat (German-Rupp, K-25C-3) ingesteld op 38°C.
10. Infusiepomp: Via een infusiepomp (Precidor 5003) werden de farmaca met een constante snelheid geïnfundeerd. De maximum infusiesnelheid was 0,04 ml/min. Bij de contrôle-experimenten werd het oplosmiddel met een gelijke snelheid geïnfundeerd.
11. Doorstromingssnelheid: De doorstromingssnelheid werd gemeten door de perfusievloeistof op te vangen in gecalibreerde buizen (Haak).

6.3. Perfusievloeistoffen

De perfusievloeistof was een gemodificeerde Krebs Ringer oplossing. Macrodex 6% in 0,9% NaCl vormde de colloïdale basis. Deze oplossing bevatte dextran met een gemiddeld moleculair gewicht van 70.000. Als buffers waren natriumbicarbonaat en hepes (2-(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-yl)ethaansulphonzuur) toegevoegd.

De samenstelling van de standaardperfusievloeistof was als volgt:

Na ⁺	140.0	mmol/l
K ⁺	4.8	mmol/l
Ca ²⁺	2.7	mmol/l
Mg ²⁺	1.1	mmol/l
Cl ⁻	105.0	mmol/l
SO ₄ ²⁻	1.1	mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1.1	mmol/l
HCO ₃	39.1	mmol/l
D-glucose	10.1	mmol/l
pyruvaat	5.0	mmol/l
l-glutamine	4.9	mmol/l
Hepes	15.0	mmol/l
Dextran	0.53	mmol/l
Osmolariteit	314	mosm/l

De kinematische viscositeit van de perfusievloeistof werd gemeten met behulp van de viscosimeter van Ostwald. De viscositeit bedroeg bij 37°C 1.42 centistokes, bij 32°C 1.58 centistokes en bij 42°C 1.28 centistokes. Door wijzigingen aan te brengen in de samenstelling van de perfusievloeistof werd een perfusievloeistof verkregen die bij 32°C een identieke viscositeit bezat als bij 37°C (aangepaste perfusievloeistof I). De samenstelling van deze perfusievloeistof was als volgt:

Na ⁺	140.1	mmol/l
K ⁺	4.8	mmol/l
Ca ²⁺	2.7	mmol/l
Mg ²⁺	1.1	mmol/l
Cl ⁻	96.0	mmol/l
SO ₄ ²⁻	1.1	mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1.0	mmol/l
HCO ₃	49.0	mmol/l
D-glucose	9.1	mmol/l
pyruvaat	4.5	mmol/l
l-glutamine	4.4	mmol/l
Hepes	13.5	mmol/l

dextran	0,48 mmol/l
Osmolariteit	312 mosm/l.

Ook werd een perfusievloeistof bereid die bij 42°C een identieke viscositeit bezat als bij 37°C (aangepaste perfusievloeistof II).

De samenstelling van deze perfusievloeistof was als volgt:

Na ⁺	140.6 mmol/l
K ⁺	4.7 mmol/l
Ca ²⁺	2.7 mmol/l
Mg ²⁺	1.1 mmol/l
Cl ⁻	122.0 mmol/l
SO ₄ ²⁻	1.4 mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1.3 mmol/l
HCO ₃	22.0 mmol/l
D-glucose	11.8 mmol/l
pyruvaat	5.8 mmol/l
l-glutamine	5.8 mmol/l
Hepes	17.6 mmol/l
Dextran	0.62 mmol/l
Osmolariteit	311 mosm/l

6.4. Haemodynamische metingen

De gemiddelde perfusiedruk (PP = perfusion pressure) werd afgelezen op de eerder genoemde drukmeter (mmHg). De doorstromingssnelheid (flow) werd afgelezen in de gecalibreerde buizen (ml/min).

De niervaatweerstand ("renal vascular resistance" = RVR) werd berekend volgens de formule:

$$\text{Niervaatweerstand} = \frac{\text{gemiddelde perfusiedruk (PP)}}{\text{stroomsnelheid (flow)}} \quad (\text{RVR})$$

6.5. Hormonale bepalingen

Na het opvangen werd het perfusaat in ijs geplaatst en vervolgens ingevroren.

1. De renine-activiteit van het perfusaat werd bepaald door middel van een radio-immuno-assay waarbij de hoeveelheid gegenereerd angiotensine I werd gemeten na incubatie met angiotensinogeen (= renine substraat) (Skinner, 1967). Voor het bereiden van angiotensinogeen werden ratten onder aethernarcose gebracht waarna de nieren werden verwijderd. Gedurende 48 uur daarna kregen de dieren uitsluitend water te drinken. Hierna werden zij weer onder aethernarcose gebracht en ontbloed. Dit bloed werd in heparinebuizen opgevangen en gecentrifugeerd. Het plasma werd vervolgens gedurende 18-24 uur gedialyseerd in een buffer pH 4.5 (bevattende citroenzuur, natriumdiwaterstoffosfaat, EDTA, natriumchloride en neomycine) bij een temperatuur van 4°C. Vervolgens werd de dialyse gedurende 1 uur voortgezet in een dergelijke buffer pH 4.5 bij een temperatuur van 32°C. Aansluitend vond dialyse plaats bij 4°C, pH 7.5 (deze buffer bevatte natriumdiwaterstoffosfaat, dinatriumwaterstoffosfaat, natriumchloride, EDTA en neomycine).

Na dialyse werd het substraat bewaard bij -20°C.

De perfusaatmonsters werden gedialyseerd volgens een modificatie van de methode van Skinner (1967) gedurende 18-24 uur in een buffer pH 4.5 bij 4°C. Deze buffer bevatte citroenzuur, natriumdiwaterstoffosfaat, EDTA, natriumchloride en neomycine. Daarna werd de dialyse voortgezet in een dergelijke buffer pH 4.5 bij 32°C (1 uur). Vervolgens werden de monsters gedurende 18-24 uur gedialyseerd bij een pH 7.5, temperatuur 4°C. Deze buffer bevatte natriumdiwaterstoffosfaat, dinatriumwaterstoffosfaat, natriumchloride, EDTA en neomycine.

De dialyse werd gevolgd door de incubatie. Bij elkaar werden gevoegd (temp. 4°C): het gedialyseerde monster, angiotensinogeen, een bufferoplossing pH 7.5 en humaan albumine.

De incubatie vond plaats gedurende 1 uur bij 37°C.

De hoeveelheid gegenereerd angiotensine I werd gemeten door middel van een radio-immuno-assay (New England Nuclear).

De renine-activiteit in het perfusaat werd uitgedrukt als $\text{ngA}_1/\text{ml/uur}$.

In de perfusievloeistof zelf werd (voor passage door de nier) geen renine-activiteit gevonden.

2. In een aantal monsters werd angiotensine II bepaald volgens de methode beschreven door Lijnen e.a. (1978).
3. In een aantal monsters werden catecholaminen bepaald volgens een modificatie (Endert, 1979) van de methode beschreven door Passon en Peuler (1973).

6.6. De vitaliteit van het model

De resultaten van de diverse onderzoeken met dit model (Vandongen e.a., 1973, 1974; Vandongen en Peart, 1974a, 1974b; Vandongen, 1975a, 1975b, 1976, 1977; Vandongen en Greenwood, 1975a, 1975b; Strang, 1978; Vandongen en Tunney, 1980; Logan en Chatziliadis, 1980) geven geen aanleiding vitaliteitsverlies tijdens kortduurende perfusie te veronderstellen.

Bij lichtmicroscopisch onderzoek werden geen veranderingen in de nier aangetroffen. Ook aanwijzingen voor een significante mate van celafbraak (SGOT, SGPT of LDH in de perfusievloeistof; kaliumverlies) werden niet gevonden.

Ook blijkt uit de verschillende onderzoeken dat het model op gerichte farmacologische stimuli tijdens de ge-

hele perfusie blijft reageren met veranderingen in vaatgedrag en reninesecretie.

Aangezien het model dat gebruikt werd bij dit onderzoek slechts daarin verschilde van voorgaande onderzoeken dat de perfusiedruk constant was en de temperatuur nauwkeurig werd gereguleerd, hebben wij de farmacologische beïnvloeding niet opnieuw bewezen. Wel werden nieren na perfusie bij de verschillende temperaturen lichtmicroscopisch onderzocht, waarbij (evenals bij voorafgaande onderzoeken in dit model) geen aanwijzingen voor vitaliteitsverlies werden gevonden. Ook vonden wij geen LDH, SGOT of SGPT in het perfusaat, evenmin trad kaliumverlies op.

6.7. Statistische bewerking

De resultaten zijn weergegeven als het gemiddelde \pm standaardfout van het gemiddelde.

Wanneer procentuele veranderingen worden weergegeven is de uitgangswaarde gesteld op nul.

Voor vergelijking van twee meetpunten binnen één groep werd gebruik gemaakt van de gepaarde Student t test.

De verschillen tussen twee groepen op één meetpunt werden op significantie getoetst door middel van de ongepaarde Student t test.

De verschillen tussen twee groepen op meerdere meetpunten werden geanalyseerd door middel van de twee wegs variantie analyse (Snedecor en Cochran, 1967). Hierbij werd gebruik gemaakt van een HP 9825a tafelcomputer. Een overschrijdingskans kleiner dan 5% ($p < 0,05$) werd als significant beschouwd.

6.8. Gebruikte farmaca

Endralazine	(Sandoz)
Verapamilhydrochloride	(Knoll)
Captopril	(Squibb)
Prazosinehydrochloride	(Pfizer)

Endralazine, verapamilhydrochloride en captopril werden opgelost in fysiologisch zout; prazosinehydrochloride werd opgelost in gedestilleerd water waarvan door toevoeging van zoutzuur de pH op 3.1 was gebracht (informatie Pfizer).

H O O F D S T U K V I I

DE REPRODUCEERBAARHEID VAN DE WAARNEMINGEN BIJ NORMOTHERME PERFUSIE

In hoofdstuk 2 werd aangegeven dat een belangrijk voordeel van het gebruikte model was het vermijden van recirculatie. Recirculatie betekent dat de perfusievloeistof na passage van de nier terugstroomt in het reservoir en opnieuw wordt geïnfundeerd. Het gevolg is een cumulatie van het renine in de perfusievloeistof. Door op verschillende tijdstippen monsters van de vloeistof te nemen, kan de renineconcentratie worden bepaald. De cumulatie van het renine kan zeer sterk zijn. Zo vonden bijvoorbeeld Nakane e.a. (1980a) in een recirculatiemodel het volgende beloop: 0 minuten 62 ± 7 ng A_1 /ml/uur/min; na 30 minuten 286 ± 28 ng A_1 /ml/uur/min en na 60 minuten zelfs 571 ± 57 ng A_1 /ml/uur/min.

Het nadeel van een dergelijk model is dat kleine veranderingen niet kunnen worden waargenomen. Ook voorbijgaande effecten van farmacologische beïnvloeding kunnen worden gemaskeerd. Tevens is het niet uitgesloten dat het secretieproces door de cumulatie van het renine wordt beïnvloed.

Perfusie waarbij de vloeistof slechts eenmaal de nier doorstroomt heeft daarom de voorkeur. Niettemin deed zich in het door ons gebruikte model volgens de literatuur (en blijkens de vroegere ervaringen in ons laboratorium) een sterke toename van de reninesecretie in de tijd voor.

Vandongen e.a. (1973) beschreven in de eerste publicatie van deze opstelling weliswaar nog een redelijk constant niveau van de reninesecretie in het perfusaat (tussen 2 en 3,5 ng A_1 /ml/uur).

Een jaar later vonden Vandongen en Peart (1974b) echter een toename in de reninesecretie van 8.1 ± 2.0 nmol A_1 /uur/l/min tot 27.1 ± 5.4 nmol A_1 /uur/l/min na 10 minuten in de onderzoeksperiode. Ook bij latere onderzoeken werd een sterke spontane toename van de reninesecretie waargenomen (Vandongen 1975a; Vandongen en Greenwood, 1975a; Vandongen en Tunney,

1980); zelfs van 13 ± 2 nmolA₁/uur/l/min tot 47 ± 18 nmol A₁/uur/l/min (Vandongen, 1977a).

Strang (1978) vond na 7 minuten in de onderzoeksperiode een toename van de reninesecretie met $107 \pm 35\%$. Logan en Chatziliias (1980) melden een dusdanige variatie in doorstromingspatroon en reninesecretie dat voor de interpretatie van de gegevens een (uit statistisch oogpunt) dubieuze methode nodig was, waarbij het quotiënt werd bepaald van de waarden die het meest afweken ten opzichte van de basislijn.

Deze aanzienlijke stijging (en variatie) van de reninesecretie bemoeilijkt de interpretatie van de resultaten in die mate, dat in de huidige methode extra voorzorgen werden ingebouwd ter stabilisatie van de functies van het model.

In de figuren 7.1 t/m 7.3 zijn de resultaten weergegeven van de contrôle-perfusies (n=59) die verricht werden in het kader van de in volgende hoofdstukken beschreven onderzoeken.

Het blijkt dat wij er in geslaagd zijn een redelijk consistent patroon van reninesecretie te verkrijgen (fig. 7.1). De reninesecretie blijft vrijwel constant met een maximale stijging van $21.1 \pm 7.1\%$ (fig. 7.3).

De doorstroming (fig. 7.2) toont een tendens tot dalen (voor de statistische significantie wordt verwezen naar de betreffende hoofdstukken).

Nu het model stabiel is dan ooit eerder werd beschreven, lijkt er een goed uitgangspunt te bestaan voor farmacologische onderzoeken. Als belangrijkste verklaring voor het relatief stabiele vaatgedrag en de stabiele reninesecretie zien wij de constante perfusiedruk. In de experimenten van Vandongen en Strang daalde de perfusiedruk waardoor de baroreceptor wordt geactiveerd, met als resultaat een stijging van de reninesecretie. Daarnaast stabiliseerden wij 10 minuten (de andere onderzoekers maximaal 5 tot 8 minuten) en werd de temperatuur van de perfusievloeistof nauwkeurig gereguleerd.

Wel blijkt uit figuur 7.1 t/m 7.3 dat ondanks de gestandaardiseerde condities er een aanzienlijke interindividuele variatie blijft bestaan inzake het niveau van doorstroming en reninesecretie. In de literatuur werden over het algemeen absolute ge-

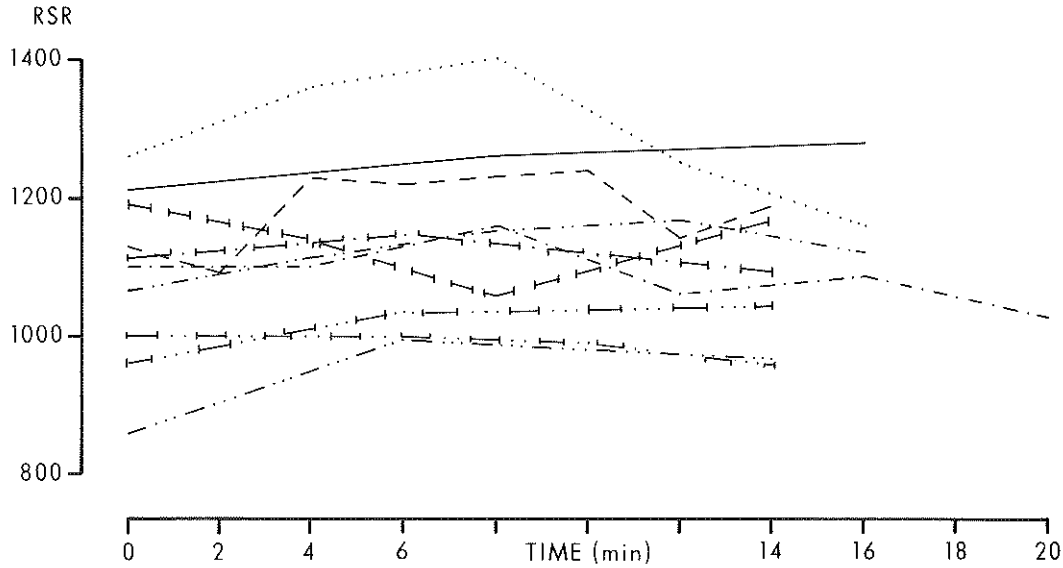


Fig. 7.1 Het profiel van de reninesecretisnelheid tijdens normotherme perfusie ($SU = ng A_1/ml/hr \times flow (ml/min)$). Contrôle-experimenten hoofdstukken:

8.2	—————	10.2 - 1
8.3	— — — —	10.2 - 2	— — — —
8.4	—	11.2	— — — —
9.2 - 1	—	12.2 - 1	— — — —
9.2 - 2	—	12.2 - 2	— — — —

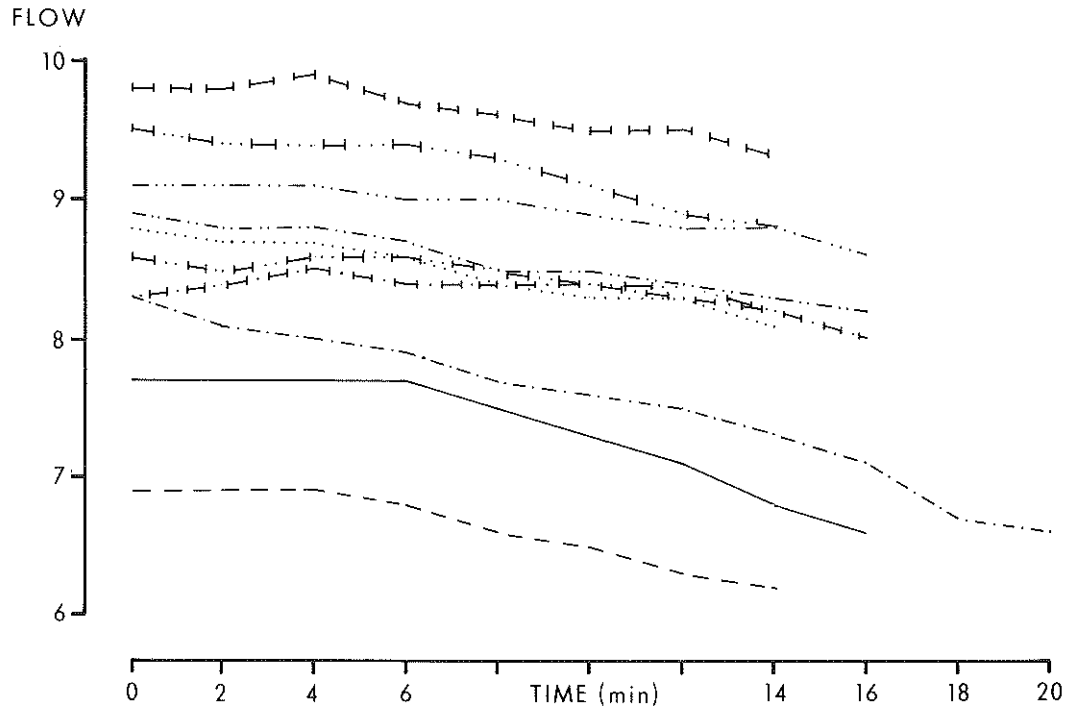


Fig. 7.2 Het profiel van de doorstromingssnelheid tijdens normotherme perfusie (voor verklaring der tekens zie fig. 7.1)

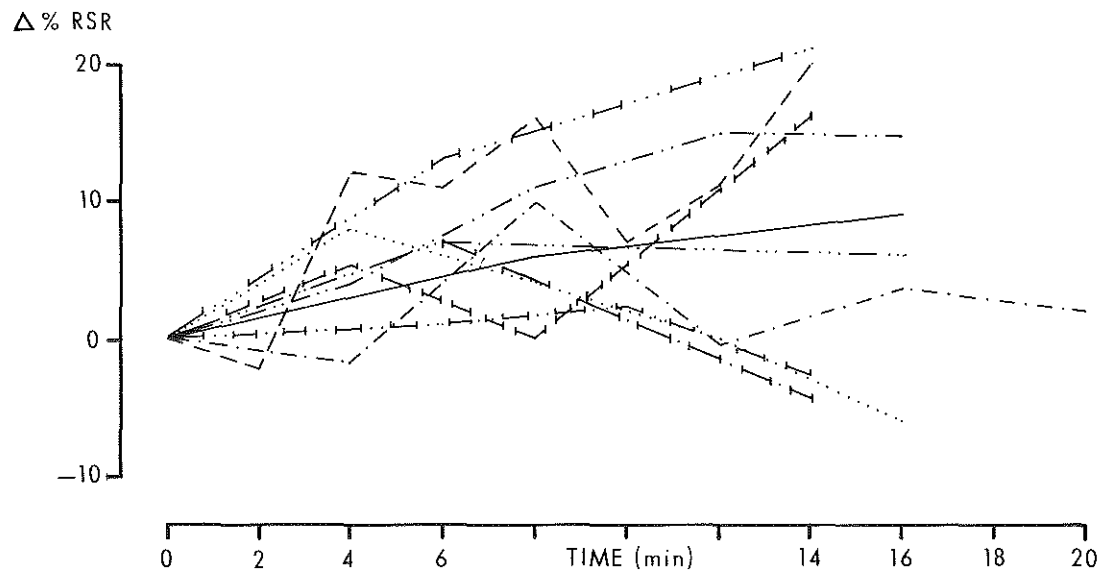


Fig. 7.3 Het profiel van de procentuele veranderingen in reninesecretiesnelheid tijdens normotherme perfusie (voor verklaring der tekens zie fig. 7.1)

tallen van verschillende groepen (bijv. farmacologische stimulatie ten opzichte van controle-experimenten) vergeleken. Onzes inziens moeten deze resultaten met voorzichtigheid worden geïnterpreteerd. Beter is het procentuele veranderingen te vergelijken, waarbij steeds controle-experimenten in afwisselende volgorde dienen te worden verricht.

H O O F D S T U K V I I I

DE INVLOED VAN TEMPERATUUR OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEÏSOLEERDE RATTENIER

8.1. Inleiding

In hoofdstuk 4 werd de invloed beschreven van temperatuur op de nier en de secretie van het renine. Bij uitwendige koeling (Withey e.a., 1975, 1976; Chapman e.a., 1975) en bij verwarming (Rowell e.a., 1970; Eisman en Rowell, 1977) doet zich renale vasoconstrictie voor. Uitwendige verwarming veroorzaakt een toename van de plasma renine-activiteit (Eisman en Rowell, 1977; Collins en Few, 1979; Follenius e.a., 1979; Brandenberger e.a., 1980).

In niercoupes en geïsoleerde glomeruli wordt bij temperatuurverlaging zowel een suppressie (Yamamoto e.a., 1967; Capponi en Valloton, 1976) als een stimulatie (Blendstrup e.a., 1975; Baumbach e.a., 1976; Park e.a., 1980) van de reninesecretie gezien. In geïsoleerde granulae heeft temperatuurverlaging een verminderde reninesecretie tot gevolg (Funakawa e.a., 1978; Sagnella en Peart, 1979).

Wanneer men vanuit een fysiologische invalshoek de invloed van temperatuur op nierdoorstroming en reninesecretie wil bestuderen, stuit men bij de mens (en het proefdier) op een aantal complicerende factoren. Uitwendige temperatuurvariaties resulteren in veranderingen van geringere betekenis ter plaatse van de nier. Ook kunnen factoren meespelen als veranderingen in bloeddruk (en daardoor perfusiedruk van de nier) en viscositeit. Daarnaast is verlaging van de temperatuur een stimulus voor het sympathisch zenuwstelsel.

Wanneer men een antwoord wil vinden op de vraag hoe de nier zelf op veranderingen in temperatuur reageert, zonder interferentie van bovengenoemde factoren, is men gedwongen gebruik te maken van een geïsoleerde nier.

In met bloed geperfundeerde nieren veroorzaakte verlaging van de temperatuur een daling van de doorstroming

(Harvey, 1959; Levy, 1959; Torelli e.a., 1973). Perfusie met bloed kan leiden tot vasoconstrictie (zie hoofdstuk 2). Bij deze onderzoeken moet de kritische aantekening worden geplaatst dat contrôle-experimenten ontbreken. Ook valt niet uit te sluiten dat bloedbestanddelen onder hypotherme omstandigheden vasoconstrictie induceren, zodat het vaatgedrag zelf wordt gemaskeerd. Fonteles en Karow (1976) vonden in een geïsoleerde hondenier (geperfundeerd met een niet-colloïdale oplossing) een toegenomen doorstroming bij 25°C. Ook in dit onderzoek ontbreken contrôle-experimenten.

In onze opstelling onderzochten wij het effect van perfusie bij 32°C (hypotherme perfusie) en 42°C (hypertherme perfusie) ten opzichte van 37°C (normotherme perfusie).

Het studieprotocol was het volgende:

1. De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie met gebruik van de standaardperfusievloeistof (8.2).
2. De invloed van hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie met de aangepaste perfusievloeistof (gezien de viscositeitsveranderingen door verlaging resp. verhoging van de temperatuur, zie hoofdstuk 6) in vergelijking met perfusie bij 37°C (standaardperfusievloeistof) (8.3).
3. De invloed van hypotherme perfusie (32°C) voorafgegaan door normotherme perfusie (37°C) (8.4).

Dit onderzoek werd uitgevoerd om interindividuele variatie als verklaring voor de waarnemingen beschreven in hoofdstuk 8.3 uit te sluiten. Bij deze perfusies werd gedurende de stabilisatieperiode gebruik gemaakt van de standaardperfusievloeistof. Na 4 minuten in de onderzoeksperiode werd de temperatuur verlaagd en omgeschakeld op de aangepaste perfusievloeistof (I). Deze vloeistof was afkomstig van een reservoir dat parallel aan het in figuur 6-2 afgebeelde reservoir was geplaatst en waarnaar kon worden overgeschakeld. Na 12 minuten (16 minuten in de onderzoeksperiode) werd de temperatuur verhoogd tot 37°C en de nier werd

met de standaardperfusievloeistof doorstroomd. Bij de contrôle-experimenten werd eenzelfde schakeling uitgevoerd.

4. De invloed van hypertherme perfusie (42°C) voorafgegaan door normotherme perfusie (37°C) (8.5).

Op een identieke manier werd na voorafgaande normotherme perfusie de invloed van hypertherme perfusie onderzocht.

8.2. De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie

Resultaten (figuur 8-1 t/m 8-3*)

Perfusie bij 32°C (perfusiedruk 112 ± 2 mmHg; $n=5$) toonde een doorstroming van 7.2 ± 0.5 ml/min bij aanvang van de waarnemingen; na 16 minuten was de doorstroming 7.0 ± 0.5 ml/min (n.s.).

De procentuele afname van de doorstroming in het verloop van de perfusie bedroeg $4.1 \pm 1.9\%$. Aangezien de perfusiedruk constant werd gehouden toonde de niervaatweerstand het tegenovergestelde patroon.

De reninesecretiesnelheid bleef constant 963 ± 163 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin resp. 962 ± 64 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de perfusie (n.s.). De procentuele verandering in de reninesecretie was na 16 minuten $11.5 \pm 18.8\%$.

* Verklaring bij fig. 8.1 en volgenden:

Flow = doorstromingssnelheid (ml/min.).

$\frac{RVR}{}$ (renal vascular resistance) = niervaatweerstand; quotiënt van perfusiedruk en doorstromingssnelheid (uitgedrukt in U; Units).

Renin = Renineconcentratie (ng A_1 /ml/uur).

$\frac{RSR}{}$ (Renin secretion rate) = product van doorstromingssnelheid en renineconcentratie (weergegeven als SU; secretion units).

$\frac{\Delta\% RVR}{}$ = procentuele veranderingen in niervaatweerstand; hierbij is het uitgangspunt gesteld op nul.

$\frac{\Delta\% RSR}{}$ = procentuele veranderingen in reninesecretiesnelheid; hierbij is het uitgangspunt gesteld op nul.

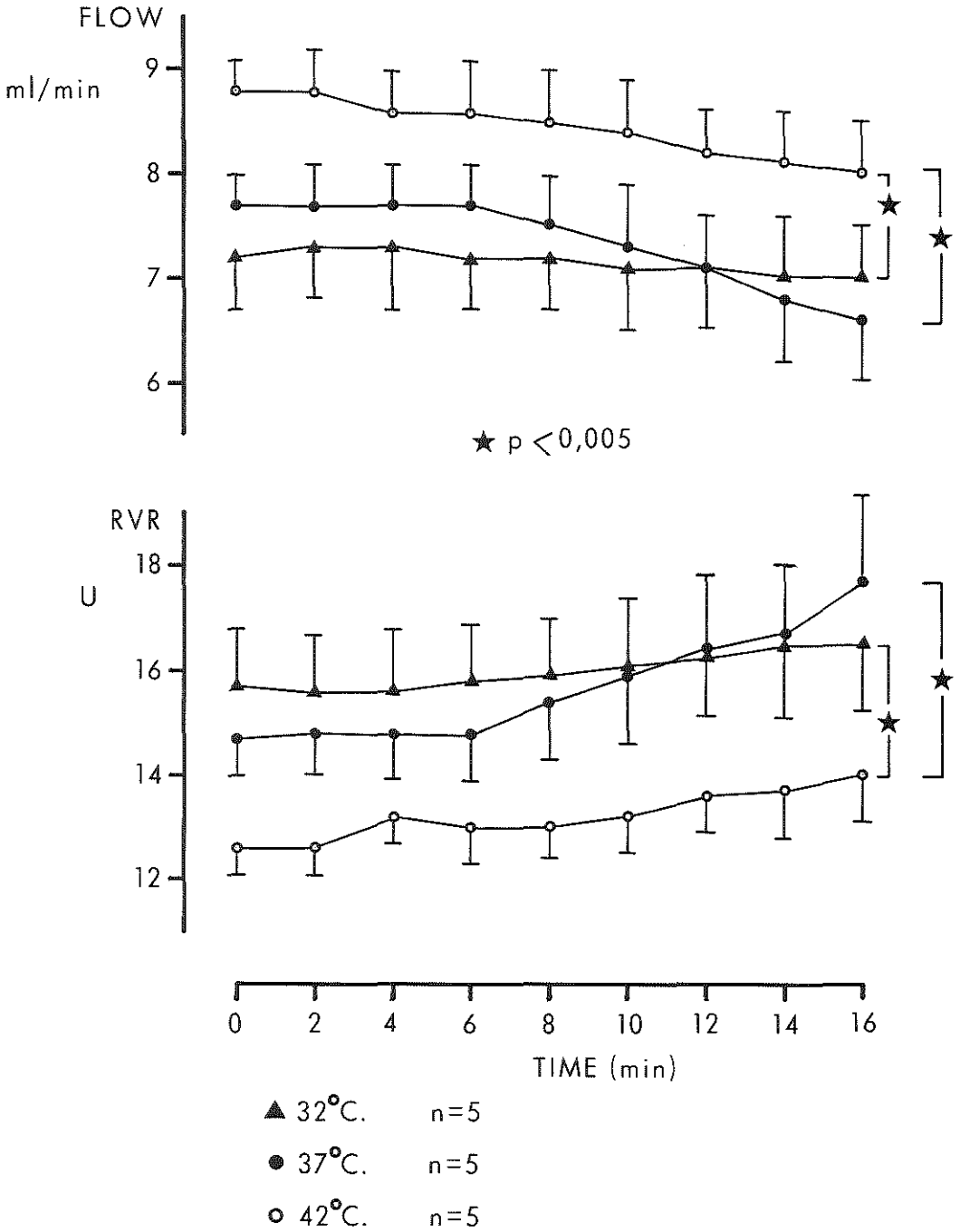


Fig. 8.1 De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie.

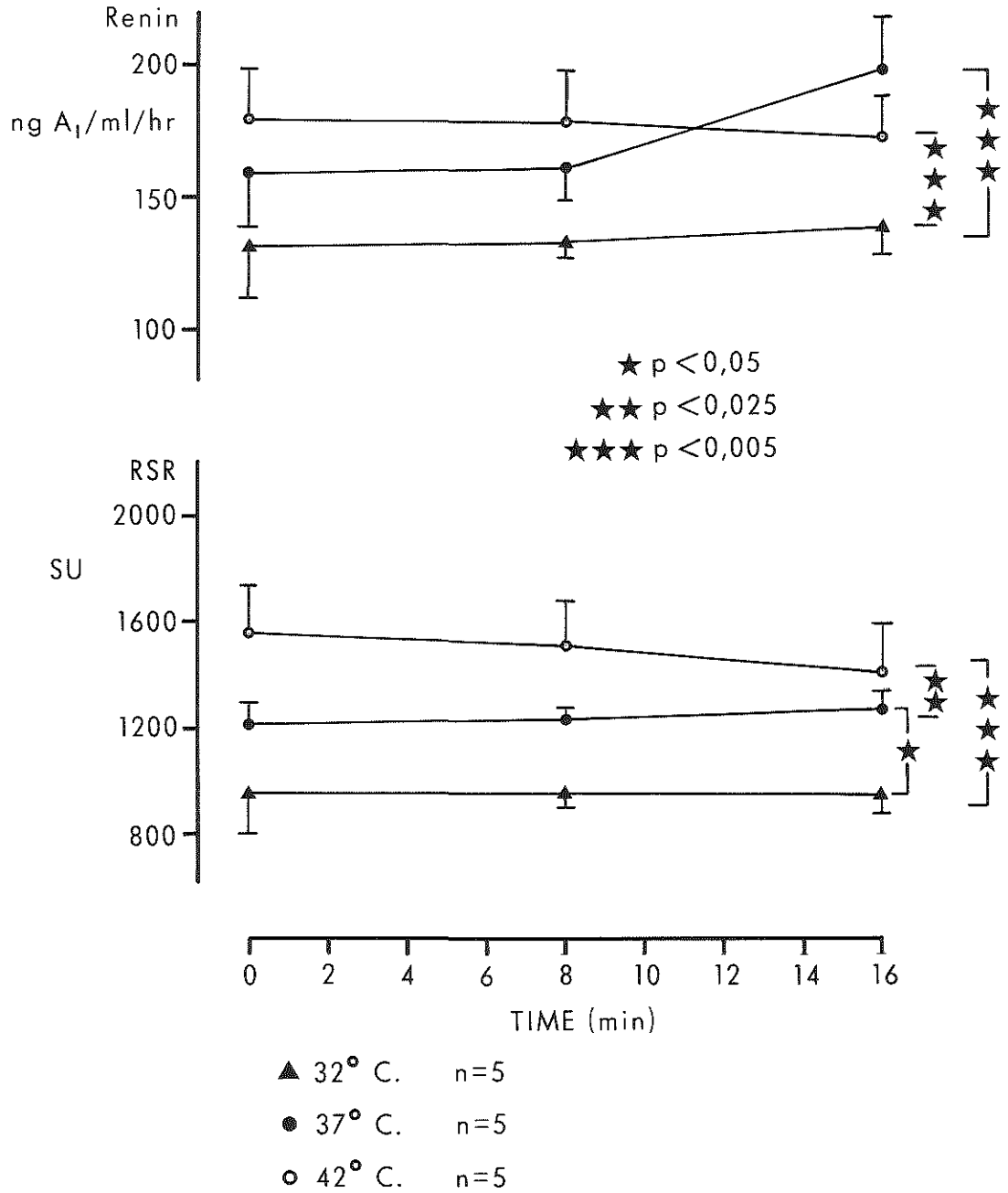


Fig. 8.2 De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie.

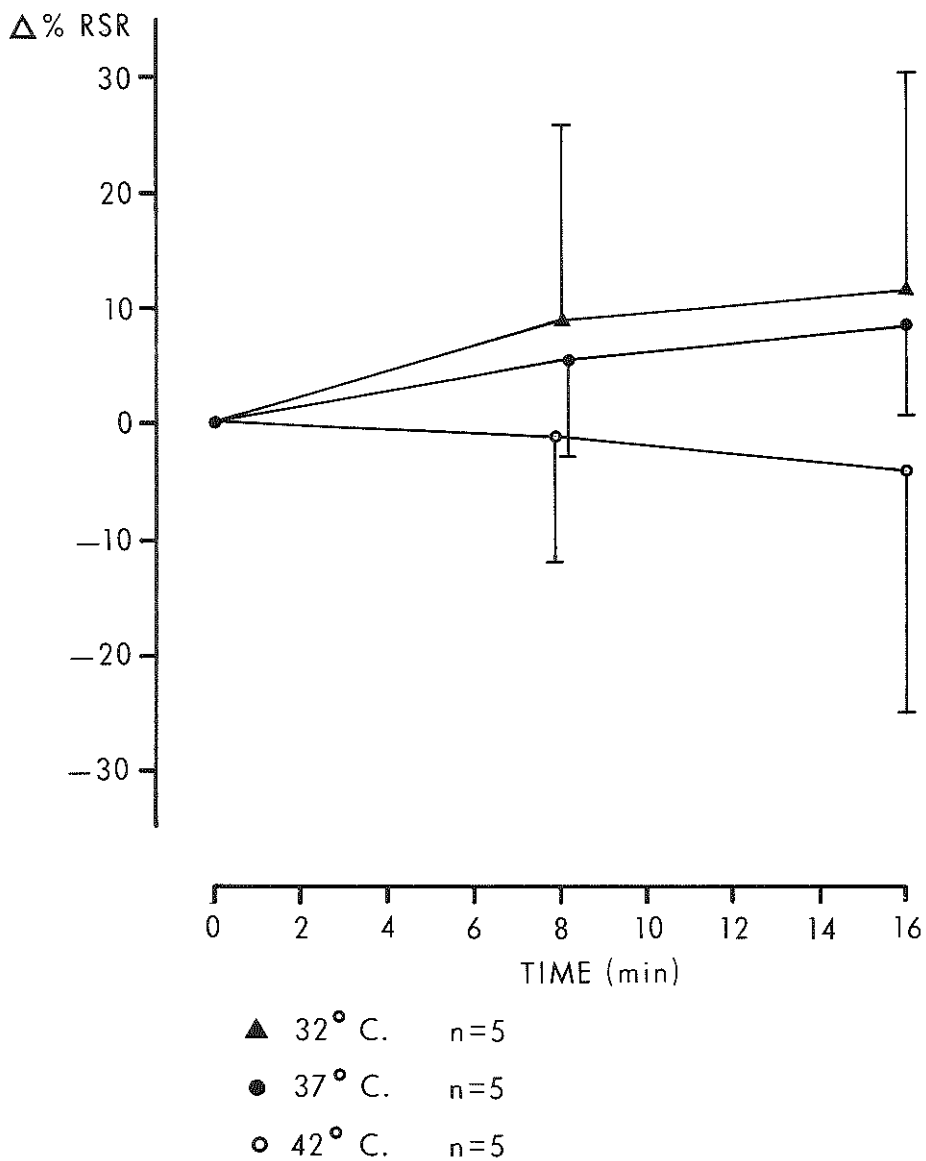


Fig. 8.3 De invloed van normotherme (37°C), hypotherme (32°C) en hypertherme (42°C) perfusie.

Perfusie bij 37°C (perfusiedruk 112 ± 4 mmHg, n=5) toonde een gemiddelde doorstroming van $7,7 \pm 0,3$ ml/min aan het begin resp. 6.6 ± 0.6 ml/min aan het eind van de waarnemingsperiode ($p < 0,05$). De procentuele vermindering in de doorstroming was $15.3 \pm 5.2\%$. De niervaatweerstand toonde een overeenkomstig patroon. De reninesecretie veranderde niet significant: 1210 ± 89 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin van de waarnemingen, resp. 1285 ± 37 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind (n.s.). De procentuele verandering in reninesecretie was $8.5 \pm 7.9\%$.

Perfusie bij 42°C (perfusiedruk 110 ± 5 mmHg, n=5) toonde een gemiddelde doorstroming van 8.8 ± 0.3 ml/min aan het begin, resp. 8.0 ± 0.5 ml/min aan het eind van de waarnemingsperiode ($p < 0.025$). De procentuele afname van de doorstroming in het verloop van de perfusie bedroeg $8.7 \pm 3.3\%$.

De reninesecretie was aan het begin van de waarnemingsperiode 1587 ± 180 ng A_1 /ml/uur/min, aan het eind 1417 ± 174 ng A_1 /ml/uur/min. Procentueel was de daling $4 \pm 21\%$. Wanneer de doorstroming bij de verschillende temperaturen vergeleken wordt, blijkt dat de doorstroming bij 42°C ten opzichte van 37°C (F62.9; $p < 0.005$) en 32°C (F87.4; $p < 0.005$) te zijn toegenomen. De doorstroming bij 32°C is ten opzichte van 37°C niet verschillend.

Aangezien de perfusiedrukken in de drie groepen niet verschilden, toonden de vaatweerstand hiervan het spiegelbeeld.

De reninesecretie is bij 32°C ten opzichte van 37°C gesupprimeerd (F5.0; $p < 0.05$), bij 42°C ten opzichte van 37°C gestimuleerd (F6.9; $p < 0.025$).

De reninesecretiesnelheid is het product van doorstroming en renineconcentratie in het effluens.

Wanneer de renineconcentratie in het perfusaat bij 32°C vergeleken wordt met de renineconcentratie bij 37°C, blijkt ook een significante suppressie (F 10.7; $p < 0.005$). Het verschil tussen 37°C en 42°C was niet significant. In vergelijking met perfusie bij 42°C was de renineconcentratie bij 32°C verlaagd (F 11.6; $p < 0.005$).

8.3. De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) ten opzichte van normotherme perfusie

In hoofdstuk 8.2 werd aangetoond dat bij hypotherme perfusie de doorstroming niet veranderde, wel trad suppressie van de reninesecretie op. Temperatuurverlaging deed de viscositeit van de perfusievloeistof toenemen (van 1.42 tot 1.58 centistokes, zie hoofdstuk 6). Daarom werden perfusies uitgevoerd met de aangepaste perfusievloeistof (I) (n=7) bij 32°C. Door verhoging van de temperatuur daalde de viscositeit van de perfusievloeistof (van 1.42 tot 1.28 centistokes, zie hoofdstuk 6). Perfusies werden daarom uitgevoerd met de aangepaste perfusievloeistof (II) (n=7) bij 42°C. Als contrôle-groep werden 7 nieren geperfundeed bij 37°C met de standaardperfusievloeistof.

Resultaten (figuur 8.4 t/m 8.7)

Perfusie bij 32°C (perfusiedruk 115 ± 2 mmHg) toonde een doorstroming van 8.4 ± 0.3 ml/min bij het begin van de waarnemingen; na 14 minuten was de doorstroming 7.5 ± 0.3 ml/min (n.s.). De procentuele afname van de doorstroming in het verloop van de perfusie bedroeg $10.0 \pm 2.6\%$. Aangezien de perfusiedruk constant werd gehouden, toonde de vaatweerstand het reciproke patroon. De reninesecretie bedroeg bij het begin van de doorstroming 873 ± 101 ng A_1 /ml/uur/min; deze daalde tot 493 ± 61 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$), De procentuele daling van de reninesecretie was $41.6 \pm 2.6\%$ aan het eind van de perfusie.

Perfusie bij 37°C (perfusiedruk 111 ± 3 mmHg) toonde een doorstroming van 6.9 ± 0.3 ml/min bij het begin van de waarnemingen en daalde tot 6.2 ± 0.4 ml/min (n.s.). De procentuele afname van de doorstroming was $8.2 \pm 4.7\%$ (n.s.).

De vaatweerstand toonde het reciproke patroon.

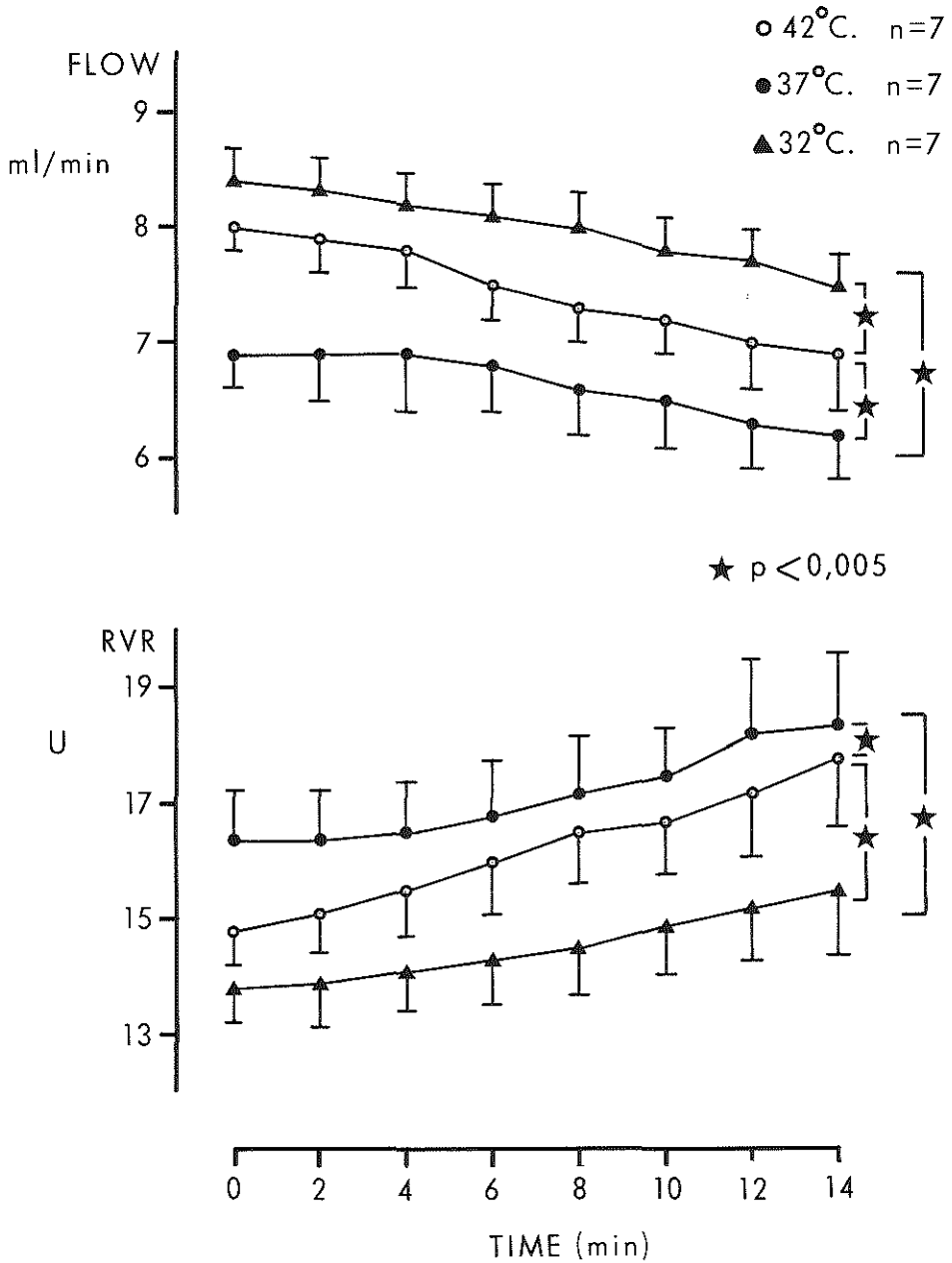


Fig. 8.4 De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) t.o.v. normotherme perfusie.

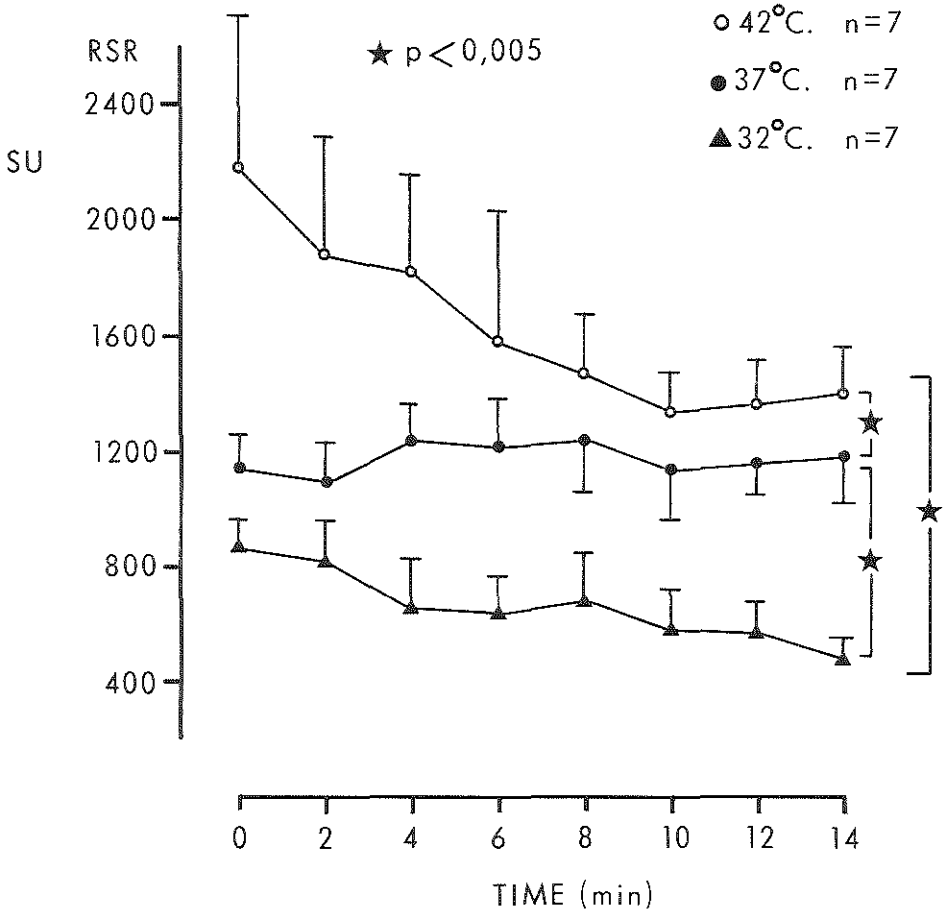


Fig. 8.5 De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) t.o.v. normotherme perfusie.

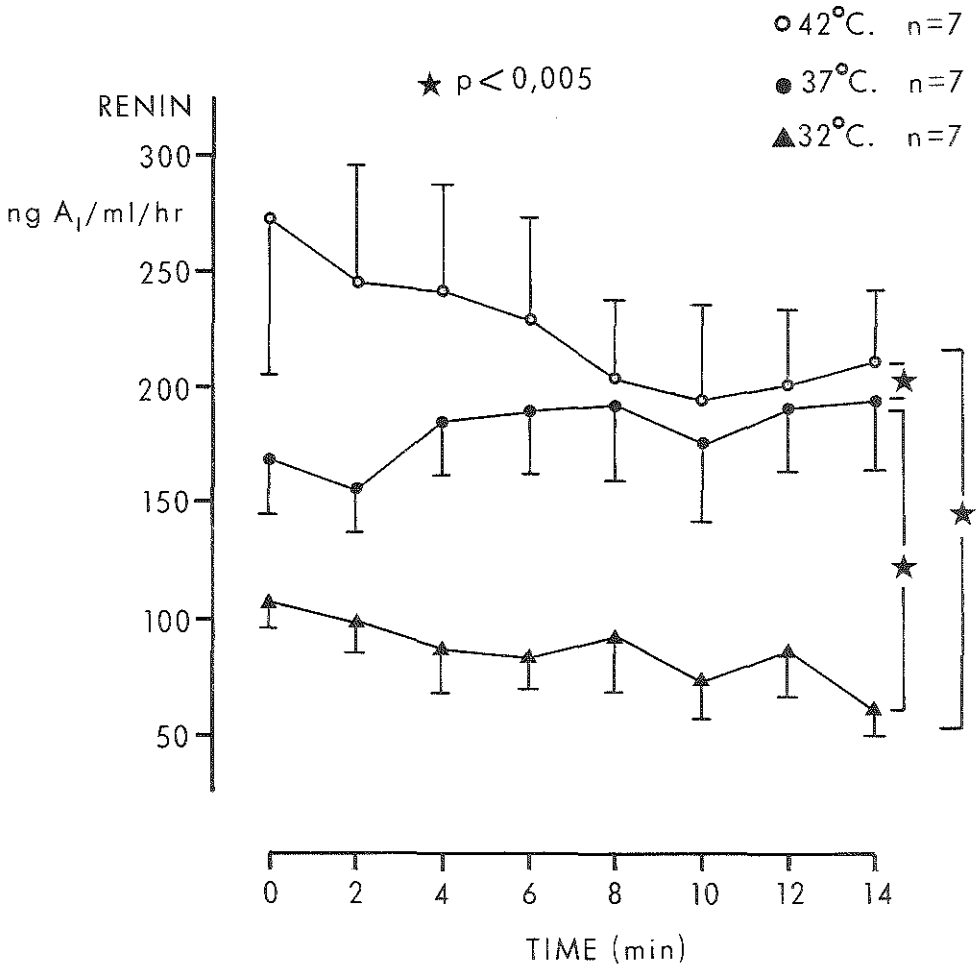


Fig. 8.6 De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) t.o.v. normotherme perfusie.

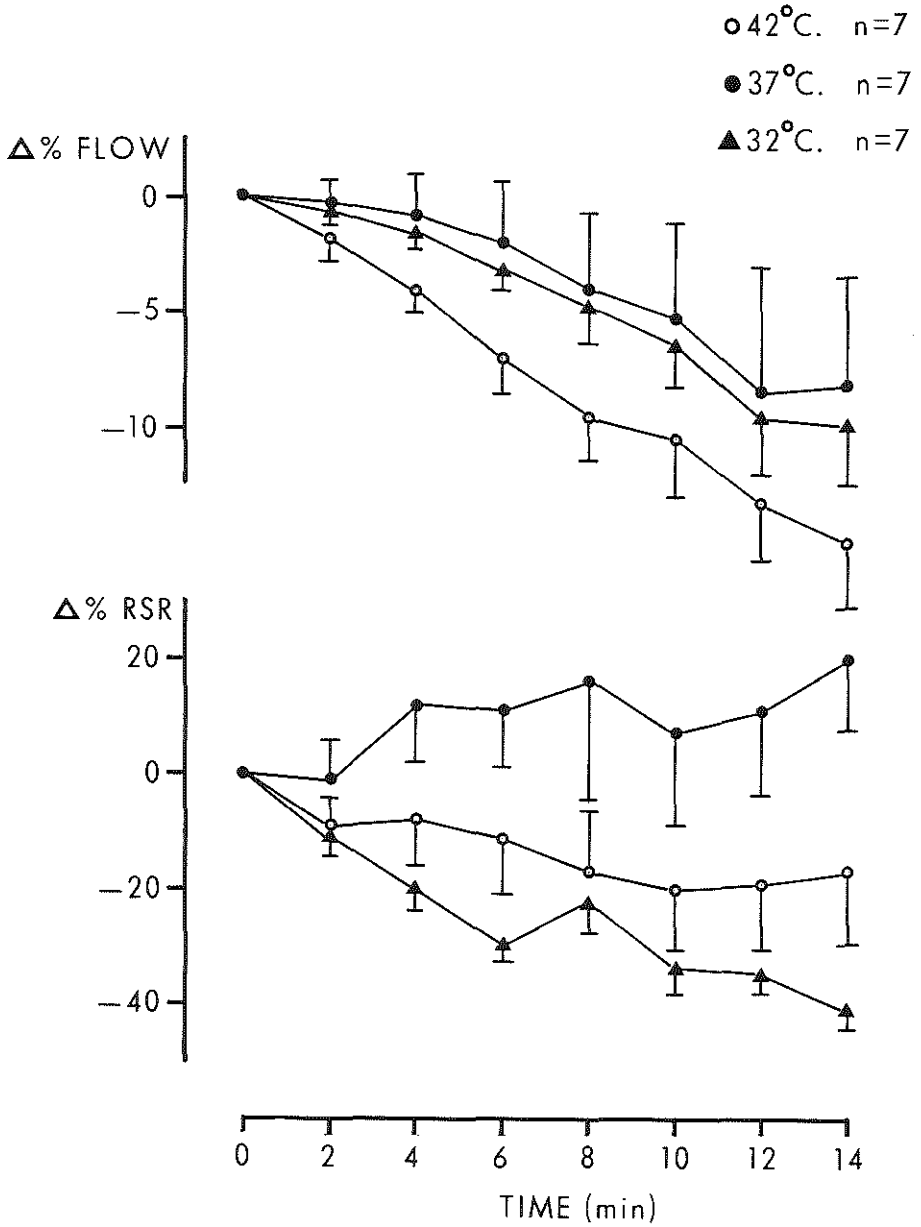


Fig. 8.7 De invloed van hypotherme en hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) t.o.v. normotherme perfusie.

De reninesecretie bleef nagenoeg constant: 1134 ± 127 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin resp. 1192 ± 146 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de perfusie (n.s.).

De procentuele verandering in reninesecretie was $20 \pm 13.6\%$ aan het eind van de perfusie.

Perfusie bij 42°C (perfusiedruk 118 ± 1.5 mmHg) toonde een doorstroming van 8.0 ± 0.2 ml/min die daalde tot $6,8 \pm 0.4$ ml/min (n.s.). Procentueel daalde de doorstroming $15.6 \pm 3\%$. De reninesecretiesnelheid was 2188 ± 564 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin van de perfusie en daalde tot 1402 ± 154 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind (n.s.). De gemiddelde waarden aan het begin van de perfusie wordt sterk beïnvloed door de hoge waarden van één experiment. De procentuele daling van de reninesecretie was $17.3 \pm 13.6\%$.

Bij vergelijking van de doorstroming blijkt dat deze zowel bij 42°C ($F_{49.7}$; $p < 0.005$) als bij 32°C ($F_{140.9}$; $p < 0.005$) ten opzichte van 37°C toegenomen is. De renineconcentratie in het perfusaat is bij 32°C ten opzichte van 37°C gesupprimeerd ($F_{99.6}$; $p < 0.005$); bij 42°C ten opzichte van 37°C gestimuleerd ($F_{23.1}$; $p < 0.005$). De reninesecretiesnelheid toont een overeenkomstig patroon (32°C $F_{57.1}$; $p < 0.005$; 42°C $F_{49.7}$; $p < 0.005$).

8.4. De invloed van hypotherme perfusie (aangepaste perfusie vloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie

Resultaten (figuur 8.8 en 8.9).

In de groep waarbij de temperatuur werd omgeschakeld (perfusiedruk 115 ± 1 mmHg; $n=7$) was de doorstroming aan het begin 9.0 ± 0.6 ml/min. Na 4 minuten was deze gedaald tot 8.7 ± 0.6 ml/min (n.s.). Verlaging van de temperatuur deed aanvankelijk de doorstroming afnemen tot 8.4 ± 0.5 ml/min ($p < 0.025$) (6 min.) daarna steeg deze tot maximaal 8.7 ± 0.6 ml/min na 12 en 14 minuten ($p < 0.05$) ten opzichte van 6 minuten) om vervolgens te dalen na verhoging van temperatuur.

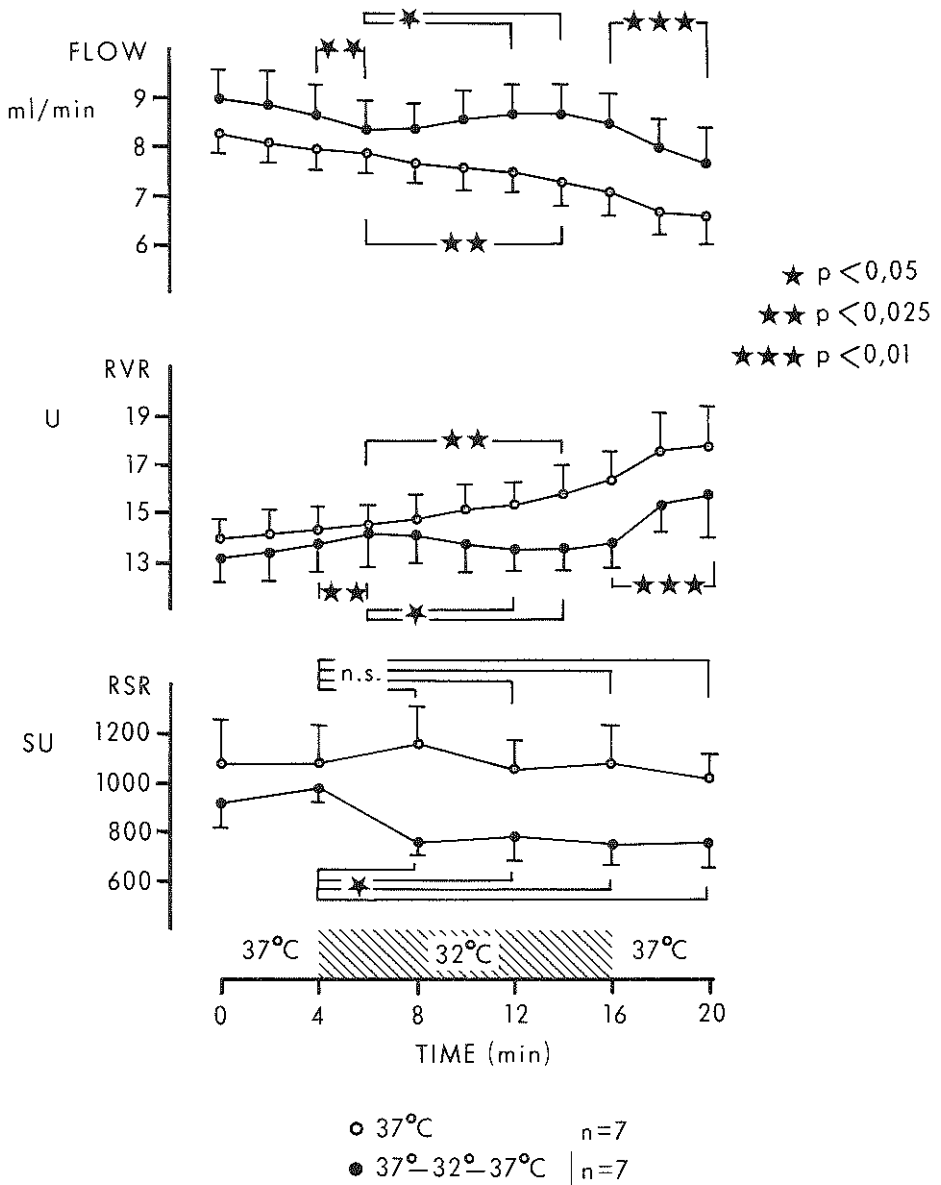


Fig. 8.8 De invloed van hypotherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie.

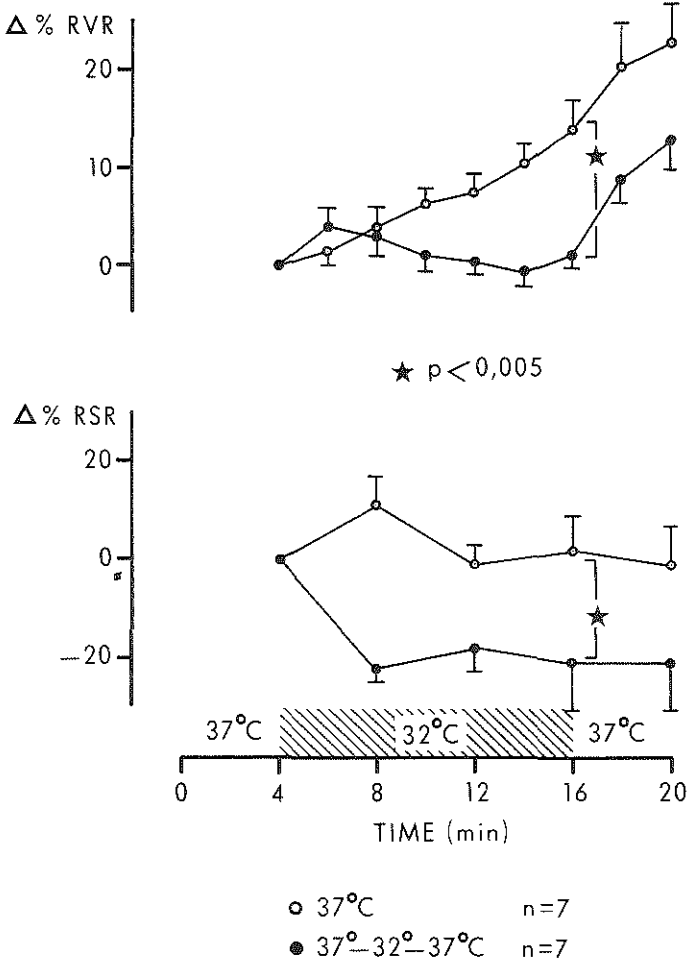


Fig. 8.9 De invloed van hypotherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie.

Na verhoging van temperatuur daalde de doorstroming van 8.5 ± 0.6 ml/min naar 8.0 ± 0.6 ml/min ($p < 0.01$).

Voor verlaging van de temperatuur was de reninesecretie 977 ± 65 ng A_1 /ml/uur/min; tijdens hypotherme perfusie trad een daling op tot 768 ± 42 ng A_1 /ml/uur/min na 8 minuten ($p < 0.025$); 779 ± 89 ng A_1 /ml/uur/min na 12 minuten ($p < 0.025$); 775 ± 99 ng A_1 /ml/uur/min na 16 minuten ($p < 0.05$). Aan het eind van de perfusie bleef ondanks verhoging van de temperatuur de reninesecretie nog geremd (759 ± 102 ng A_1 /ml/uur/min; $p < 0.05$).

Procentueel was de daling van de reninesecretie $21.7 \pm 1.0\%$ aan het eind van de perfusie.

Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand en reninesecretie tijdens hypotherme perfusie vergeleken worden met de contrôle-groep, blijkt dat temperatuurverlaging de vaatweerstand doet afnemen ($F87.4$; $p < 0.005$) en de reninesecretie remt ($F10.9$; $p < 0.005$).

8.5. De invloed van hypertherme perfusie (aangepaste perfusie vloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie

Door de experimenten beschreven in hoofdstuk 8.2 en 8.3 werd aangetoond dat temperatuurverhoging tot 42°C de reninesecretie doet stijgen. Om uit te sluiten dat het resultaat door interindividuele variatie is veroorzaakt werd een aanvullende serie experimenten verricht, op een identieke manier uitgevoerd als bij de in hoofdstuk 8.4 beschreven onderzoeken, waarbij na voorafgaande normotherme perfusie de nier bij 42°C werd doorstroomd met de aangepaste perfusievloeistof (II).

Resultaten (figuur 8.10 en 8.11).

Perfusie bij 37°C (perfusiedruk 114 ± 2 mmHg, $n=5$) toonde een doorstroming van 8.9 ± 0.5 ml/min aan het begin, resp. 7.1 ± 0.4 ml/min aan het eind van de waarnemingsperiode. De vaatweerstand toonde het omgekeerde patroon (de perfusiedruk was constant). De procentuele daling van de doorstroming was $19.9 \pm 4.7\%$.

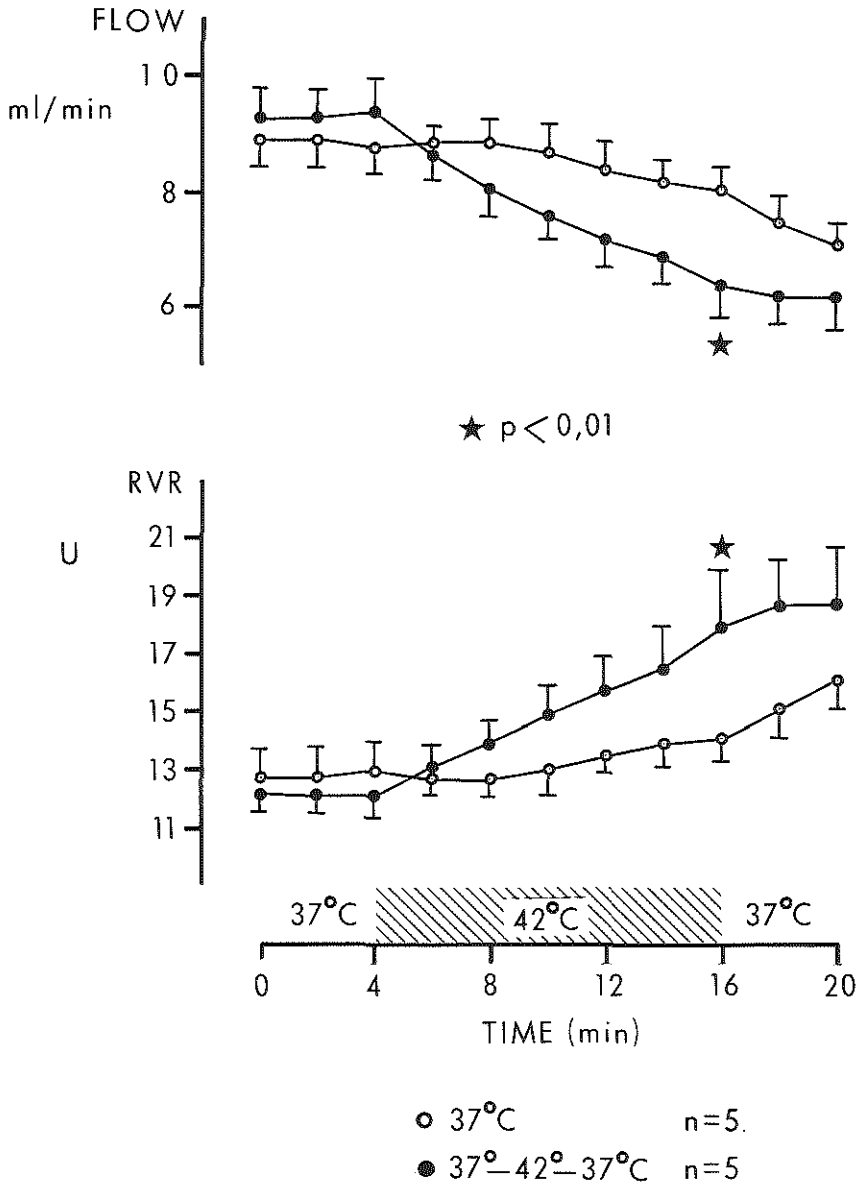


Fig. 8.10 De invloed van hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie. Na hypertherme perfusie treedt sterke vasoconstrictie op ($p < 0.01$ t.o.v. 4 min.).

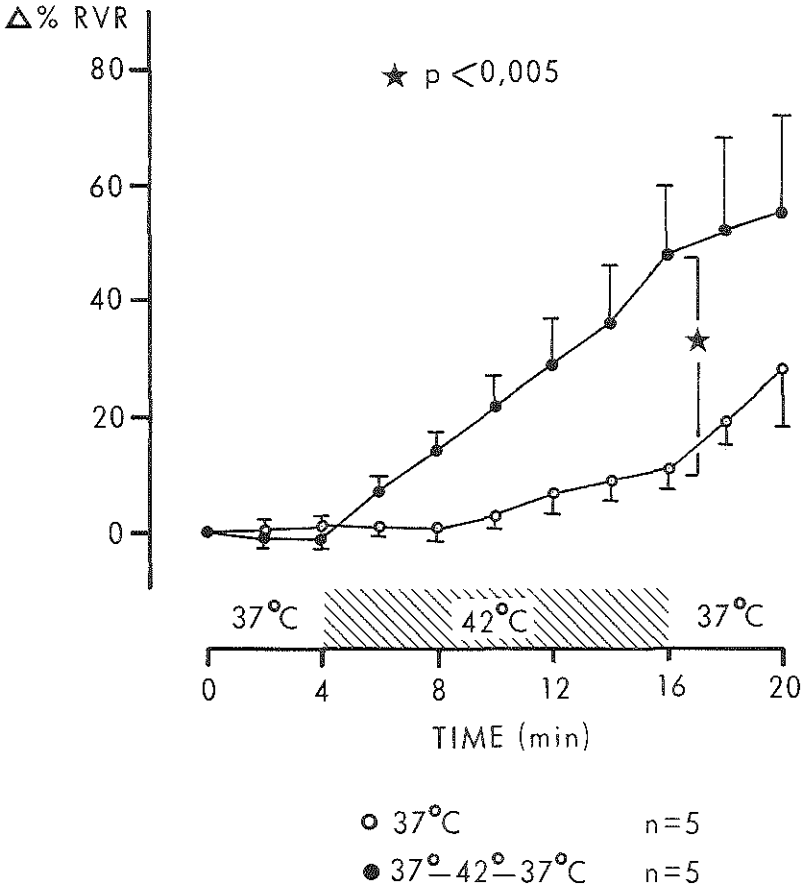


Fig. 8.11 De invloed van hypertherme perfusie (aangepaste perfusievloeistof) voorafgegaan door normotherme perfusie.

In de groep waarbij de temperatuur verhoogd werd (perfusiedruk 113 ± 2 mmHg; $n=5$) bleef de doorstroming tijdens normotherme perfusie constant. Na verhoging van de temperatuur tot 42°C daalde de doorstroming van 9.4 ± 0.6 ml/min (4 minuten) tot 6.4 ± 0.6 ml/min (16 minuten, $p < 0.01$). De procentuele daling van de doorstroming was $32.1 \pm 7.8\%$ aan het einde van de perfusie. Opvallend is de sterke vasoconstrictie na verhoging van de temperatuur. Tijdens hypertherme perfusie steeg de vaatweerstand $49.8 \pm 14.3\%$. In de controle-groep was de stijging in dezelfde periode $10.1 \pm 4.0\%$ ($F_{117.6}$; $p < 0.005$).

8.6. Beschouwing

De temperatuur beïnvloedt de vaattonus en de reninesecretie in de geïsoleerde nier.

Hypertherme perfusie (42°C) veroorzaakte in onze experimenten een toegenomen doorstroming en reninesecretie (8.2), ook wanneer de perfusievloeistof aangepast was voor viscositeitsveranderingen (8.3). Bij uitwendige verwarming van het intacte individu wordt renale vasoconstrictie waargenomen (Rowell e.a., 1970; Eisman en Rowell, 1977) en een stijging van de plasma renine-activiteit (Eisman en Rowell, 1977; Collins en Few, 1979; Follenius e.a., 1979; Brandenberger e.a., 1980). De stijging van de plasma renine-activiteit kan verklaard worden door sympathische stimulatie (Ninomiya en Fujita, 1976) en een verminderde afbraak van renine in de lever (Collins en Few, 1979). Onze experimenten (8.2 en 8.3) suggereren dat temperatuurverhoging de reninesecretie van de geïsoleerde nier stimuleert door een intrarenaal mechanisme. De vasodilatatie die tijdens hypertherme perfusie optrad zou de stimulus van de reninesecretie kunnen zijn. Deze resultaten dienen echter met enige voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd, aangezien bij hypertherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie (8.5) de doorstroming met 50% daalde. Interindividuele variatie speelt een rol bij onze experimentele benadering (zie hoofdstuk 6), maar het lijkt uitgesloten dat bij de

experimenten, beschreven in hoofdstuk 8.2 en 8.3, in werkelijkheid vasoconstrictie optrad en deze door de inter-individuele variatie werd gemaskeerd. Wij veronderstellen dat de vasoconstrictie door hypertherme perfusie, na voorafgaande normotherme perfusie een gevolg is van vitaliteitsverlies bij deze benadering (in de uitstroomvloeistof werden overigens geen biochemische aanwijzingen voor celafbraak gevonden).

Aangezien door hypertherme perfusie de capaciteit van de verwarmingsapparatuur zeer sterk werd belast (met als gevolg herhaalde technische problemen) werd de invloed van hyperthermie op de vaattonus en reninesecretie niet verder onderzocht.

Aan de vaattonus wordt in vivo een belangrijke rol toegekend bij de modulatie van de reninesecretie (hoofdstuk 3.2). Opvallend is dat in onze experimenten tijdens normotherme perfusie een dissociatie optreedt tussen vaatgedrag en reninesecretie; ofschoon bij normotherme perfusie vasoconstrictie optreedt, wordt de reninesecretie niet beïnvloed.

Hypotherme perfusie veroorzaakt vasodilatatie en suppressie van de reninesecretie. De experimenten beschreven in hoofdstuk 8.2 (verlaging van de temperatuur bij gebruik van de standaardperfusievloeistof) tonen geen verschil in vaatweerstand tussen 32°C en 37°C; wel is de reninesecretie gesupprimeerd. Door perfusie met de aangepaste vloeistof bij 32°C (waardoor viscositeitsverschillen werden opgeheven) manifesteert zich een verschil in vaatweerstand. Door de experimenten beschreven in hoofdstuk 8.4 (acute temperatuurverlaging) wordt de daling van de vaatweerstand opnieuw aangetoond en interindividuele variatie als verklaring uitgesloten. De verschillen zijn (in vergelijking met de resultaten van de experimenten beschreven in hoofdstuk 8.3) van geringere omvang. Wij veronderstellen dat tijdens in vitro onderzoek de respons zwakker wordt.

De vraag doet zich voor welk mechanisme verantwoordelijk zou kunnen zijn voor deze verschillen. Een rechtstreekse

onderdrukking van het contractiemechanisme op zich (waarvoor vasodilatatie) is mogelijk. In geïsoleerde huidvaten (Vanhoutte en Shepherd, 1970) deed koeling tot 25°C de myogene activiteit afnemen. Redistributie van de doorstroming naar het medullaire gebied lijkt uitgesloten, aangezien de doorstroming van dit gebied slechts laag is. Ongeveer 80% van de totale nierdoorbloeding doorstroomt de buitenste cortex (Kolsters, 1976). Een andere mogelijkheid is het opengaan van arterioveneuze shunts waardoor de doorstroming toeneemt. Op deze mogelijkheid wordt in hoofdstuk 12 nader ingegaan.

Onze resultaten zijn dus tegengesteld aan die welke tijdens perfusie met bloed gevonden zijn (Harvey, 1959; Levy, 1959; Torelli e.a., 1973); zoals eerder gesteld kleven aan perfusie met bloed belangrijke bezwaren.

Fonteles en Karow (1976) vonden bij perfusie met een niet-colloïdale oplossing ook een toeneming van de doorstroming tijdens hypothermie; hier kan interindividuele variatie niet worden uitgesloten.

Uitwendige temperatuurverlaging veroorzaakt renale vasoconstrictie (Withey e.a., 1975, 1976; Chapman e.a., 1975), waarbij onzes inziens aan de stimulatie van het sympathisch zenuwstelsel door de hypothermie (Shum e.a., 1969; Konzett e.a., 1971; Benedict e.a., 1977; Picotti e.a., 1981) voorbijgegaan wordt. Daarentegen reageert de geïsoleerde nier op verlaging van de temperatuur met vasodilatatie. Deze tegengestelde uitkomsten wijzen erop dat de vaatrespons van de nier in vivo op uitwendige koeling door het (intacte) sympathische zenuwstelsel wordt veroorzaakt.

In de geïsoleerde nier remt temperatuurverlaging de reninesecretie. In een intacte geïsoleerde nier werd deze waarneming nog niet eerder gedaan. Ook nu doet zich de vraag voor, welk mechanisme verantwoordelijk is. Theoretisch zijn de volgende verklaringen mogelijk:

- a. Redistributie van de doorstroming. Small e.a. (1973) vonden in met homoloog serum doorstroomde hondenieren

een daling van de doorstroming in het buitenste corticale deel gedurende de eerste 15 minuten. Aangezien hier de concentratie van renine lager is (Brown e.a., 1963a; Horiuchi e.a., 1971) zou het reactiepatroon langs deze weg kunnen worden verklaard.

- b. De vaatreactie als zodanig (vasodilatatie) zou de reninesecretie kunnen doen dalen (Fray, 1976, 1978).
- c. Bij de remming van de reninesecretie door verschillende stoffen als angiotensine II (Vandongen en Peart, 1974; Park e.a., 1981; Naftilan en Oparil, 1982), ADH (Vandongen, 1975b; Park e.a., 1981), hogere concentraties kalium (Park en Malvin, 1978; Churchill e.a., 1981; Park e.a., 1981), ouabaine (Park en Malvin, 1978; Park e.a., 1981) en ook bij de remming door een verhoogde perfusiedruk (Fray en Park, 1979) speelt verplaatsing van het calciumion een belangrijke rol. Algemeen wordt verondersteld (zie hoofdstuk 3.4.4) dat hierbij een instroom van calcium in de juxtaglomerulaire cel optreedt. Men kan zich dan ook afvragen of een dergelijke verplaatsing van het calciumion een rol speelt bij de remming van de reninesecretie door hypotherme perfusie.
- d. In de nier bevinden zich de diverse componenten van het renine-angiotensine systeem (zie hoofdstuk 3.3.1) waarbij verondersteld wordt dat in de juxtaglomerulaire cel vorming van angiotensine II plaatsvindt (Celio en Inagami, 1981; Naruse e.a., 1982).
Op grond hiervan kan men de hypothese opstellen dat de reninesecretie bij hypotherme perfusie wordt geremd door intrarenale angiotensine II vorming (negatieve feed-back).
- e. Verhoogde adrenerge activiteit in de nier
- f. Remming van de reninesecretie door beïnvloeding van de macula densa. Hypothermie doet de natriumreabsorptie afnemen (Torelli e.a., 1973) hetgeen volgens de theorie van Vander en Miller de macula densa tot een negatief signaal zou kunnen bewegen. Echter Fray (1976, 1978) vond geen aanwijzingen dat in de geïso-

leerde nier de macula densa een waarneembare invloed heeft op de reninesecretie.

- g. Een rechtstreeks effect van verlaagde temperatuur op juxtaglomerulair niveau van excitatie- en secretiekoppeling door verlaging van het metabolisme.

In de volgende hoofdstukken zal door middel van farmacologische beïnvloeding worden getracht een nader inzicht in de mogelijke mechanismen te verkrijgen.

8.7. Conclusies

Temperatuur beïnvloedt vaatgedrag en reninesecretie van de geïsoleerde rattenier.

Hypotherme perfusie (32°C) onderdrukt de reninesecretie en doet de vaatweerstand dalen.

Hypertherme perfusie (42°C) leidt tot een gestimuleerde reninesecretie en daling van de vaatweerstand. Interindividuele variatie valt echter op grond van het verrichte onderzoek bij hypertherme perfusie niet uit te sluiten.

Gezien de invloeden van temperatuur op vaatgedrag en reninesecretie van de geïsoleerde nier dient de temperatuur van de perfusievloeistof bij gebruik van een dergelijk model nauwkeurig te worden gereguleerd.

H O O F D S T U K IX

DE INVLOED VAN ENDRALAZINE OP NIERDOORSTROMING
EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER

9.1. Inleiding en vraagstellingen

Vasodilatatie is een zeer gebruikelijke invalshoek voor de bestrijding van hypertensie, zij het meestal in combinatie met een bèta-blokkerende stof en een diureticum. De klinisch meest gebruikte "directe" vasodilator is het hydralazine. Hydralazine doet waarschijnlijk de bloeddruk dalen door een directe werking op de gladde musculatuur van de arteriolen (Brunner e.a., 1967) ofschoon het juiste mechanisme niet in alle details bekend is.

Directe vaatverwijding leidt via de baroreceptor tot een toegenomen sympathische activiteit. Dit veroorzaakt tachycardie en een toename van het hartminutenvolume, alsmede een stijging van de plasma renine-activiteit. Directe vaatverwijding heeft geen invloed op de nierdoorbloeding, hoewel soms een lichte stijging wordt waargenomen (Ueda e.a., 1970; Spokas en Wang, 1980). Bij sterke bloeddrukdaling kan de nierdoorbloeding afnemen. Zowel in het dierexperiment als bij de mens (Ueda e.a., 1970; Pettinger e.a., 1973; Pettinger en Keeton, 1973, 1975; Massingham en Hayden, 1975) leidt directe vaatverwijding door middel van apresoline tot een stijging van de plasma renine-activiteit. Als een der belangrijkste mechanismen wordt een verhoging van de sympathische activiteit verondersteld. Door gelijktijdige behandeling met propranolol kan de stijging van het renine na hydralazine-toediening voor 85% worden voorkomen (Pettinger e.a., 1973; Pettinger en Keeton, 1975).

Recentelijk vond Sinaiko (1981) een verlaging van de reninesecretie met 50% na behandeling met propranolol. Ondanks de β -receptor-blokkade bestond er een significante "dose-respons" relatie tussen de hydralazine-concentratie en de renine-activiteit.

Na chemische sympathectomie (ratten die na de geboorte behandeld zijn met 6-hydroxydopamine) wordt, ten opzichte van controle-waarnemingen, na intraveneuze toediening van hydralazine een zelfde toeneming van de reninesecretie waargenomen. (Sinaiko e.a., 1980). Deze experimenten duiden aan dat er mogelijk een bijdrage van een niet-adrenerg mechanisme tot de toeneming van de reninesecretie bestaat. De vraag is welke andere mechanismen hiervoor verantwoordelijk kunnen zijn. Dat de bloeddrukdaling op zich de oorzaak is van de gestimuleerde reninesecretie is volgens Sinaiko (1981) onwaarschijnlijk aangezien geen relatie gevonden wordt tussen de mate van bloeddrukdaling en de stijging van de plasma renine-activiteit.

Infusie van hydralazine in de arteria renalis van hypertensie patiënten heeft geen invloed op de plasma renine-activiteit (Ueda e.a., 1970).

Een mogelijkheid die de laatste jaren aandacht heeft gekregen, is dat de reninesecretie door toedoen van een toenemende prostaglandinesynthese wordt gestimuleerd. Wanneer aan ratten indomethacine wordt toegediend vóórdat hydralazine wordt gegeven, treedt namelijk geen stijging van de plasma renine-activiteit op (Campbell e.a., 1980). De juiste rol van de prostaglandines bij de stijging van de reninesecretie door hydralazine is echter vooralsnog onduidelijk. Prostaglandines spelen een rol bij de reninesecretie zoals die wordt bemiddeld door de baroreceptor, maar zijn ook bij de macula densa en (waarschijnlijk) de α -receptor betrokken (Gerber e.a., 1981).

Sinds enige tijd is de vasodilaterende stof endralazine (Miretilan®) beschikbaar voor de behandeling van hypertensie. Endralazine wordt gerekend tot de groep "directe" vaatverwijders.

In het dierexperiment verlaagt endralazine (ook na ganglionblokkade) de bloeddruk. Op de bloeddrukstijging, veroorzaakt door infusie van adrenaline, noradrenaline of angiotensine II, heeft endralazine geen invloed (Oates en Stoker, 1981). Endralazine veroorzaakt wel arteriële maar geen veneuze dilatatie (De Metz en Van

Zwieten, 1981). Ook bij de mens doet behandeling met endralazine de bloeddruk dalen (Lehmann e.a., 1978a; 1978b; Elliot e.a., 1981), door verlaging van de perifere weerstand (Lehmann e.a., 1978b).

Door behandeling met endralazine stijgt de plasma renine-activiteit (Elliott e.a., 1981; Oates en Stoker, 1981), overeenkomstig het werkingsmechanisme van deze stof. Klinisch wordt waargenomen dat endralazine langer werkt dan hydralazine, het haemodynamisch patroon is echter voor beide farmaca vergelijkbaar.

Er zijn aanwijzingen dat endralazine mogelijk een sterkere vaatverwijder is dan hydralazine (Oates en Stoker, 1981).

Voor onze onderzoeken gebruikten wij daarom het endralazine.

Wij stelden ons de vraag wat de invloed van directe vaatverwijding is op vaatgedrag en reninesecretie tijdens normotherme (9.1) en hypotherme perfusie (9.2). De onderzoeken van Sinaiko en medewerkers wijzen op een mogelijke bijdrage van een niet adrenerg mechanisme inzake de toegenomen plasma renine-activiteit. Strang (1978) vond in de geïsoleerde rattenier (tijdens normotherme perfusie) geen invloed van dihydralazine op vaatgedrag en reninesecretie. Een mogelijke verklaring voor het ontbreken van een significante daling van de vaatweerstand is het feit dat dihydralazine in vitro slechts een geringe vaatverwijding veroorzaakt. In geïsoleerde menselijke mesenteriaal- en beenvaten (venen en arteriën) wordt van dihydralazine een geringere vaatverwijdende werking gezien dan van prazosine en nifedipine (Lederballe Pedersen e.a., 1979).

Sinds de onderzoeken van Strang is de opstelling zodanig gemodificeerd dat thans de reninesecretie binnen nauwere grenzen constant kan worden gehouden; door deze omstandigheid zou het nieuwe derivaat alsnog een aantoonbare werking op de reninesecretie kunnen ontplooiën.

In hoofdstuk 8 werd aangetoond dat door temperatuurverlaging de vaatweerstand daalt en de reninesecretie wordt geremd.

In deze situatie werd de invloed van directe vaatverwijding door endralazine bestudeerd.

9.2. Normotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd zoals in hoofdstuk 6 beschreven en doorstroomd bij 37°C met de standaardperfusievloeistof.

Endralazine werd opgelost in fysiologisch zout en geïnfundeerd in een dosering van 0.01 mg/kg/ min. (groep 1a; n=7). De infusie werd na 2 minuten in de onderzoeksperiode gestart. Bij de controle-experimenten (groep 1b; n=7) werd fysiologisch zout geïnfundeerd. De experimenten werden in eenzelfde periode bij afwisseling verricht.

In een afzonderlijke serie experimenten werd endralazine geïnfundeerd in een dosering van 0.1 mg/kg/min. (groep 2a; n=5), ook nu werd bij de controle-experimenten fysiologisch zout geïnfundeerd (groep 2b; n=5). (Bij afwisseling met de experimenten van groep 2 werd 0.001 mg/kg/ min. endralazine (n=3) geïnfundeerd. Deze lage dosis had geen invloed op vaatgedrag of reninesecretie).

Resultaten

Groep 1 (fig. 9.1 en 9.2)

De groep waarbij endralazine geïnfundeerd werd (groep 1a; perfusiedruk 113 ± 1 mmHg) toonde een doorstroming van 9.2 ± 0.5 ml/min. aan het begin van de onderzoeksperiode en 9.3 ± 0.5 ml/min. aan het eind (n.s.). In de controle-groep (groep 1b; perfusiedruk 114 ± 1 mmHg) daalde de doorstroming in dezelfde periode van 8.9 ± 0.3 ml/min. naar 8.2 ± 0.3 ml/min. ($p < 0.005$).

De niervaatweerstand toonde in beide groepen het tegengestelde patroon. Procentueel weergegeven steeg de vaatweerstand in de controle-groep $10.0 \pm 2.6\%$. In de groep

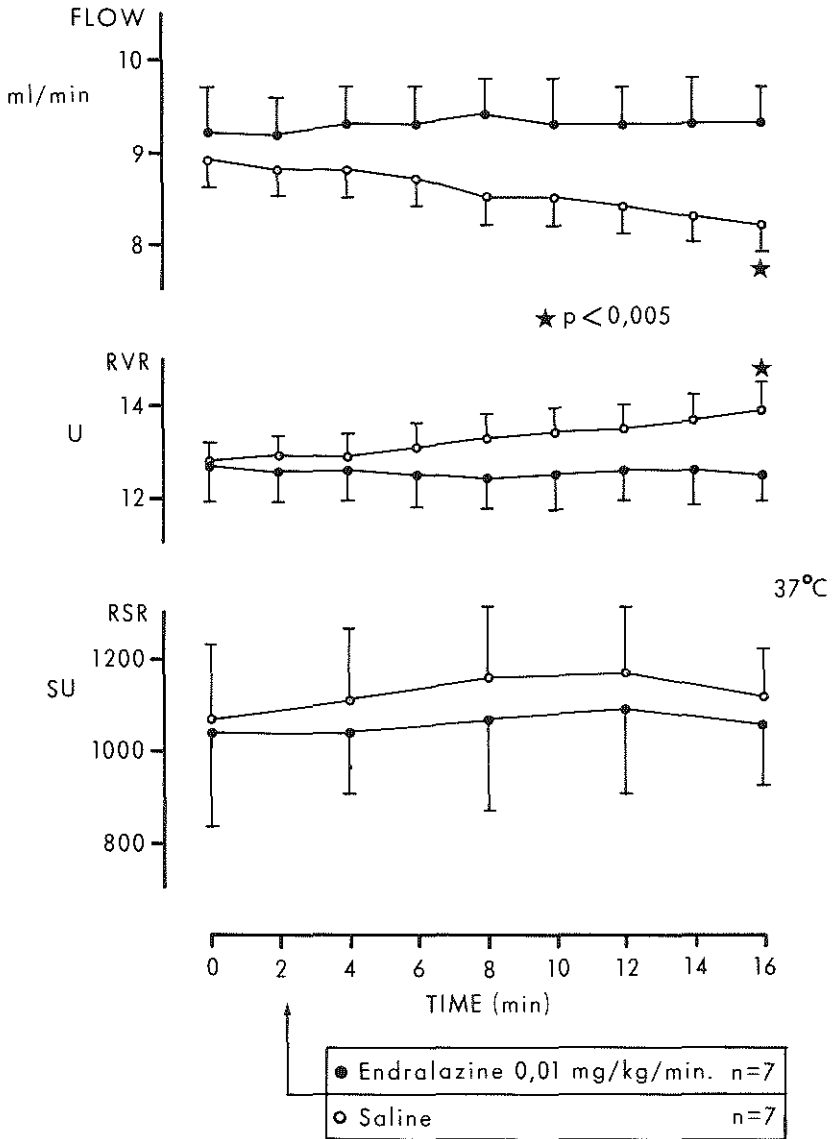


Fig. 9.1 De invloed van endralazine (0,01 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie. In de contrôlegroep is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen ($p < 0,005$).

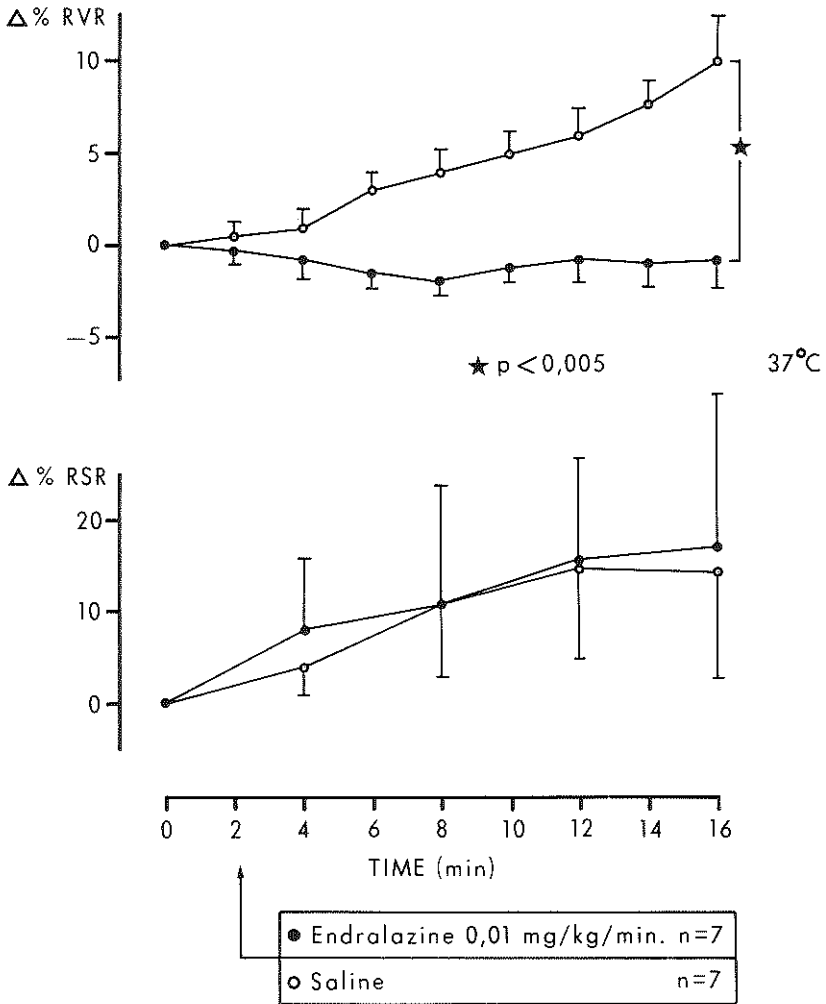


Fig. 9.2 De invloed van endralazine (0,01 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

waar endralazine geïnfundeerd werd, was er een daling van $0.8 \pm 1.3\%$. Vergelijking van de procentuele verandering in vaatweerstand toont dat endralazine in de geïsoleerde nier een vasodilaterende werking heeft ($F 310.1$; $p < 0.005$). De reninesecretie in de contrôle-groep steeg van 1072 ± 164 ng A_1 /ml/uur/min. naar 1122 ± 98 ng A_1 /ml/uur/min. (n.s.). In de groep waar endralazine geïnfundeerd werd, was de stijging van 1048 ± 214 ng A_1 /ml/uur/min. naar 1062 ± 147 ng A_1 /ml/uur/min. (n.s.). Procentueel weergegeven was de stijging van de reninesecretie in de endralazine-groep $17.3 \pm 18.3\%$ tegenover $14.8 \pm 11.9\%$ in de contrôle-groep. Deze verschillen zijn niet significant.

Groep 2 (fig. 9.3 en 9.4)

In de endralazine-groep (groep 2a; perfusiedruk 112 ± 2 mmHg) was de doorstroming 9.1 ± 0.5 ml/min. aan het begin, resp. 9.4 ± 0.6 ml/min. aan het eind van de onderzoeksperiode (n.s.).

De doorstroming in de contrôle-groep (groep 2b; perfusiedruk 115 ± 1.0 mmHg) daalde in de onderzoeksperiode van 9.1 ± 0.8 ml/min. naar 8.6 ± 0.7 ml/min. ($p < 0.0025$).

De vaatweerstand toonde het tegengestelde patroon.

Procentueel steeg de vaatweerstand in de contrôle-groep $6.2 \pm 2.9\%$, in de endralazine-groep nam de vaatweerstand af met $2.2 \pm 2.5\%$. Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand vergeleken worden, is dit verschil significant ($F 310.1$; $p < 0.005$).

In de contrôle-groep was de reninesecretiesnelheid 866 ± 138 ng A_1 /ml/uur/min. aan het begin, resp. 969 ± 147 ng A_1 /ml/uur/min. aan het eind van de onderzoeksperiode (n.s.).

In de endralazine-groep nam de reninesecretie gedurende de onderzoeksperiode toe van 1093 ± 172 ng A_1 /ml/uur/min. tot 1294 ± 122 ng A_1 /ml/uur/min. (n.s.).

De procentuele toename in reninesecretie van de contrôle-groep was $16.0 \pm 11.9\%$, ten opzichte van $35.8 \pm 27.4\%$ in de endralazine-groep. De procentuele veranderingen tijdens de perfusie verschillen niet significant ($F 0.1$).

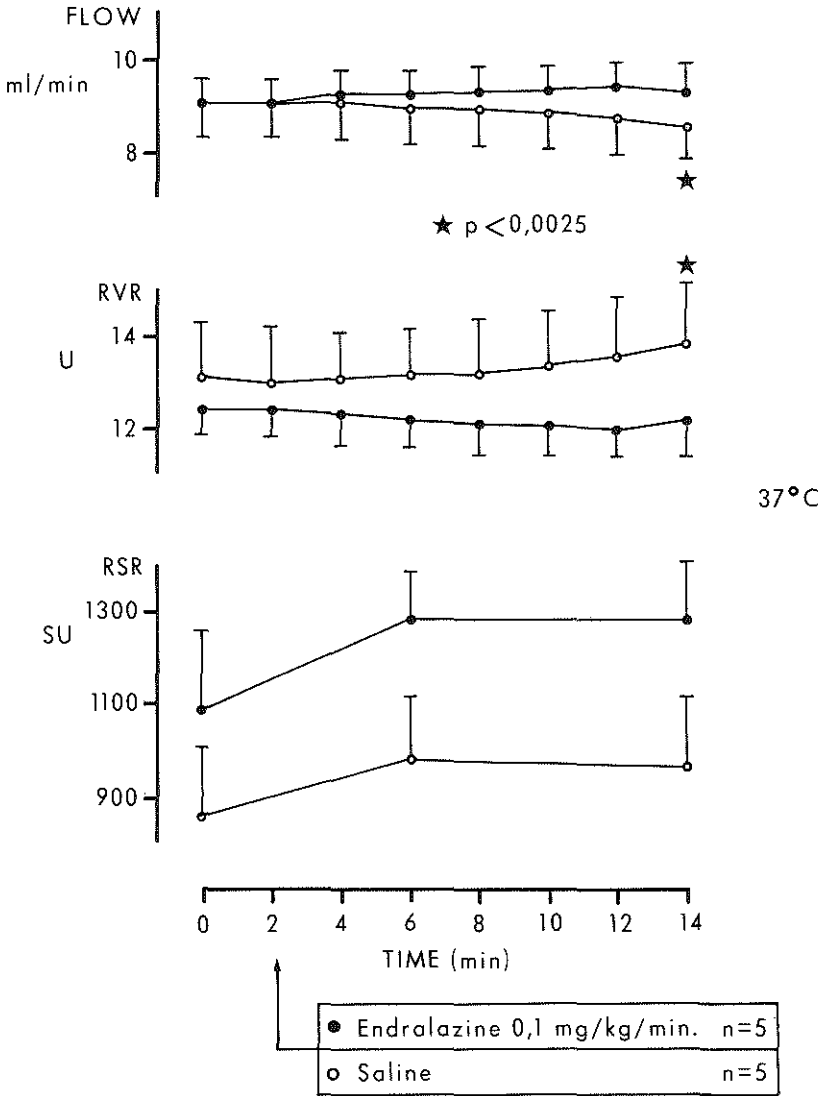


Fig. 9.3 De invloed van endralazine (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie. In de contrôlegroep is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen (p < 0,0025).

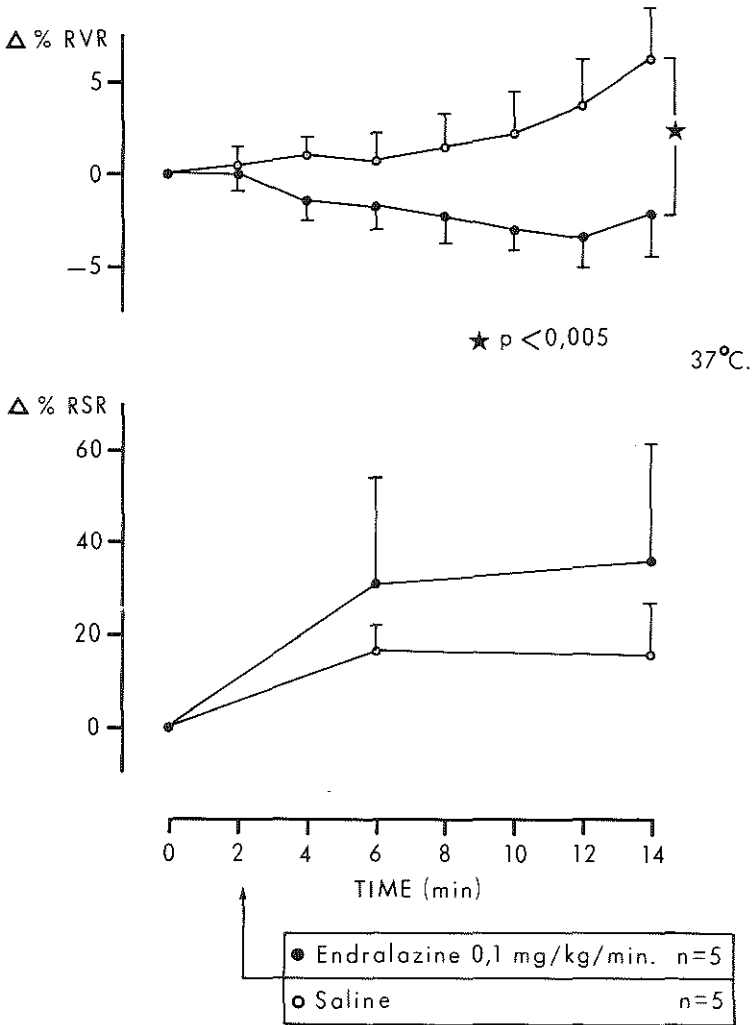


Fig. 9.4 De invloed van endralazine (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

Beschouwing

Infusie van de directe vaatverwijder endralazine (in een dosis van 0.01 of 0.1 mg/kg/min.) deed tijdens normotherme perfusie bij constante perfusiedruk de vaatweerstand afnemen. Er was geen duidelijk verschil in vaatreactie tussen beide doses.

Infusie van endralazine 0.01 mg/kg/min. had geen effect op de reninesecretie. Infusie van een hogere dosis (0.1 mg/kg/min.) toonde een tendens tot toename van de reninesecretie; het verschil is echter niet significant ten opzichte van contrôle-waarnemingen. Op grond van onze experimenten kan gesteld worden dat een stimulerende invloed van (directe) vaatverwijders op de nier niet verantwoordelijk is voor de toegenomen reninesecretie in vivo.

Onze resultaten zijn in overeenstemming met de bevindingen van anderen na infusie in de menselijke nier (Ueda, 1970) en in de geïsoleerde rattenier (Strang, 1978).

9.3. Hypotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd volgens de in hoofdstuk 6 beschreven techniek en doorstroomd bij een temperatuur van 32°C met de aangepaste perfusievloeistof.

In de geïsoleerde nier werd na 2 minuten in de onderzoeksperiode endralazine geïnfundeerd in een dosis van 0.01 mg/kg/min. (groep 1a; n=7); bij de contrôle-experimenten (groep 1b; n=7) werd fysiologisch zout geïnfundeerd.

Op identieke wijze werd endralazine geïnfundeerd in een dosis van 0.1 mg/kg/min. (groep 2a; n=5); bij de contrôle-experimenten werd fysiologisch zout geïnfundeerd (groep 2b; n=5) (In afwisseling met groep 2 werden perfusies verricht waarbij 0.001 mg/kg/min. endralazine (n=3) werd geïnfundeerd. Deze dosis had geen invloed op vaattonus of reninesecretie).

Resultaten

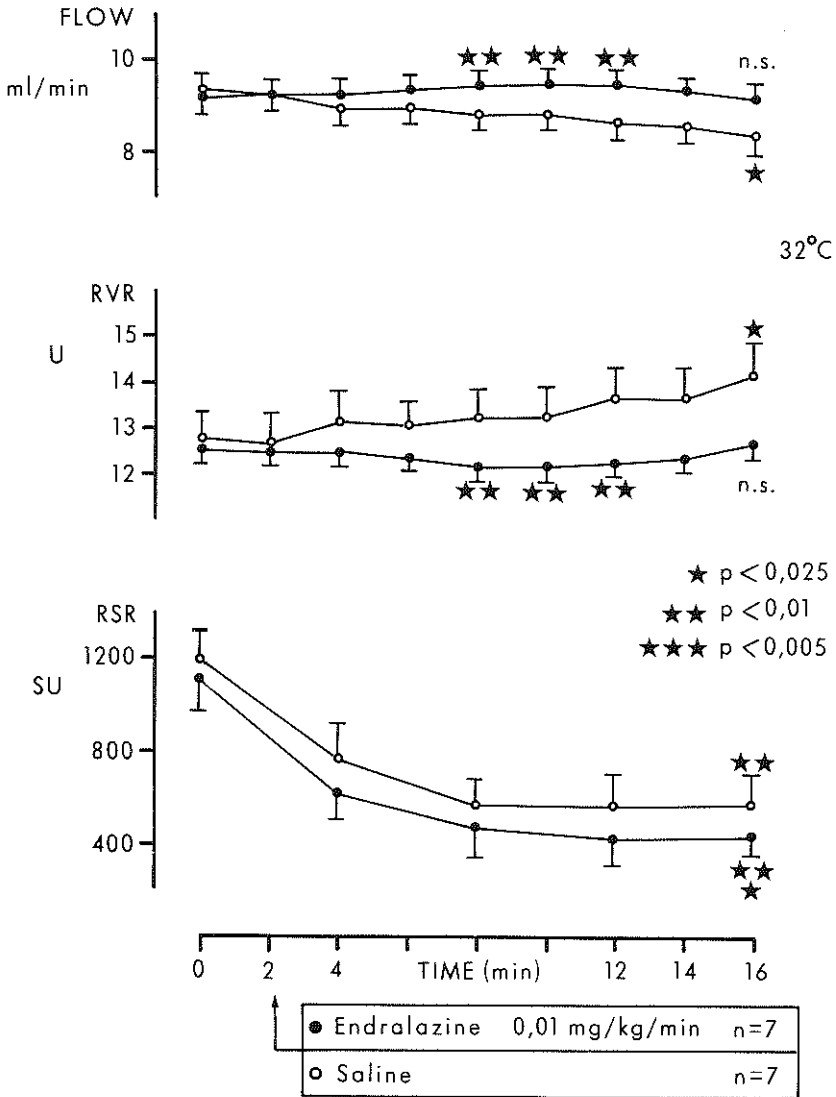


Fig. 9.5 De invloed van endralazine (0,01 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. De doorstroming is na 8-12 minuten door infusie van endralazine t.o.v. het begin van de perfusie toegenomen ($p < 0,01$); aan het eind van de perfusie is het verschil t.o.v. 0 minuten niet significant. Aan het eind van de perfusie is de reninesecretie zowel in de contrôlegroep ($p < 0,01$) als na infusie van endralazine ($p < 0,005$) t.o.v. het begin afgenomen.

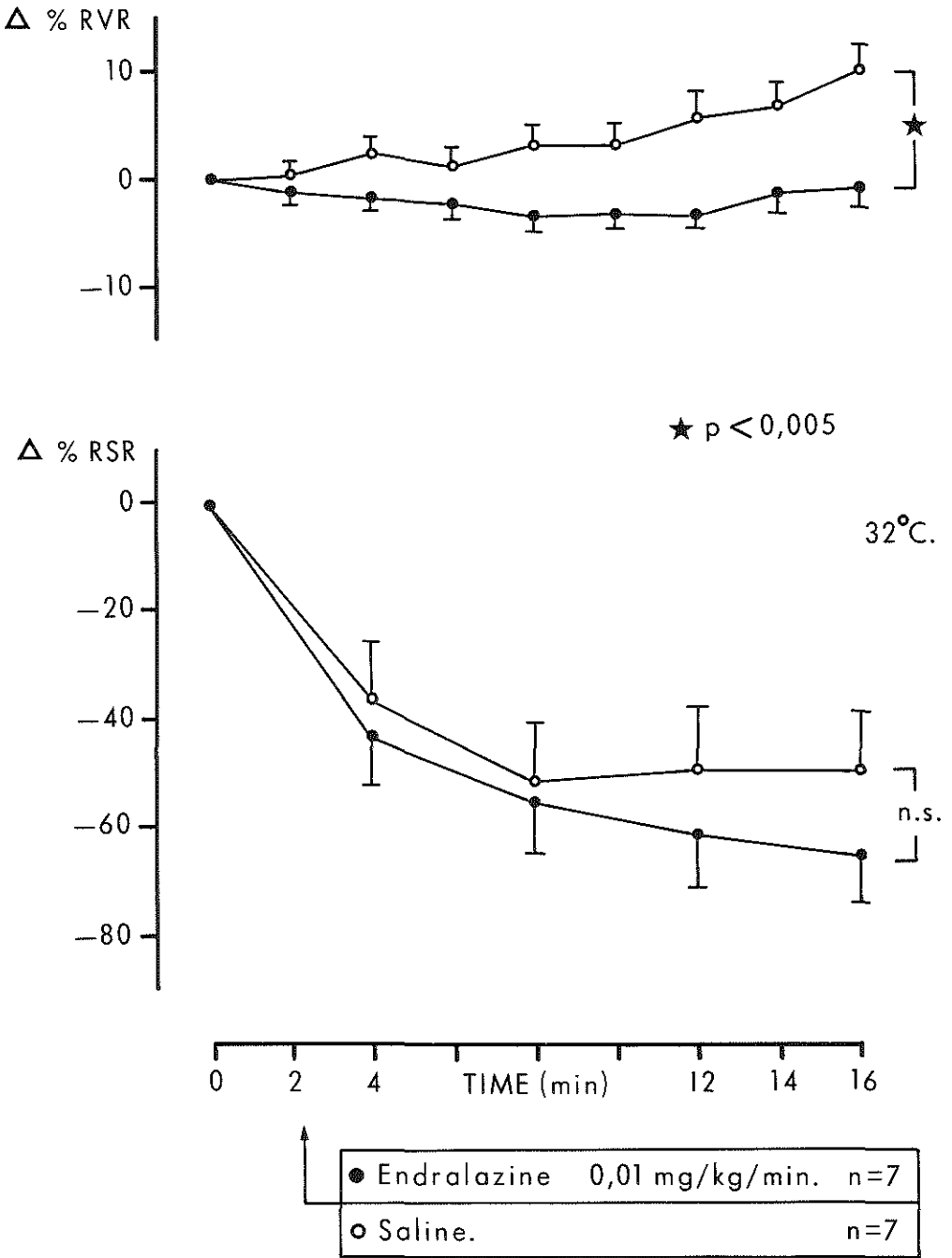


Fig. 9.6 De invloed van endralazine (0,01 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie.

Groep 1 (fig. 9.5 en 9.6)

De endralazine-groep (groep 1a; perfusiedruk 115 ± 1 mmHg) toonde een doorstroming van 9.2 ± 0.3 ml/min. aan het begin van de waarnemingsperiode die tijdens de infusie maximaal steeg tot 9.5 ± 0.3 ml/min. (8-12 min.) ($p < 0.01$ na 12 min.).

Aan het einde van de perfusie was de doorstroming ten opzichte van 0 minuten onveranderd. De veranderingen in vaatweerstand toonden het tegengestelde patroon. De procentuele verandering van de vaatweerstand was maximaal -3.2% (na 8 en 10 min.), aan het einde $0.4 \pm 1.9\%$. De reninesecretie daalde van 1118 ± 143 ng A_1 /ml/uur/min. tot 450 ± 86 ng A_1 /ml/uur/min. ($p < 0.005$).

De procentuele afname van de reninesecretie was $65 \pm 9\%$. Bij de contrôle-experimenten (groep 1b; perfusiedruk 117 ± 1 mmHg) daalde de doorstroming van 9.3 ± 0.4 ml/min. tot 8.4 ± 0.5 ml/min. ($p < 0.025$). De vaatweerstand toonde vanzelfsprekend het tegengestelde patroon. De procentuele stijging van de vaatweerstand was $10.5 \pm 3.8\%$.

De reninesecretie daalde van 1202 ± 147 ng A_1 /ml/uur/min. tot 577 ± 135 ng A_1 /ml/uur/min. ($p < 0.01$). Procentueel was de daling $49 \pm 12\%$.

Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand tussen de endralazine-groep en contrôle-groep vergeleken worden, blijkt dat endralazine (0.01 mg/kg/min.) de vaatweerstand significant doet dalen ($F 80.3$; $p < 0.005$). De veranderingen in de reninesecretie zijn niet significant verschillend.

Groep 2 (fig. 9.7 t/m 9.9)

Infusie van endralazine (0.1 mg/kg/min.; perfusiedruk 116 ± 1 mmHg) deed de nierdoorstroming stijgen van 10.5 ± 0.6 tot 11.5 ± 0.2 ml/min. (na 14 minuten; $p < 0.05$).

De vaatweerstand toonde het reciproke patroon.

De procentuele daling van de vaatweerstand was $8.7 \pm 3.6\%$.

De reninesecretie bleef tussen 0 en 6 minuten nagenoeg constant (1002 ± 187 ng A_1 /ml/uur/min. resp. 1045 ± 118

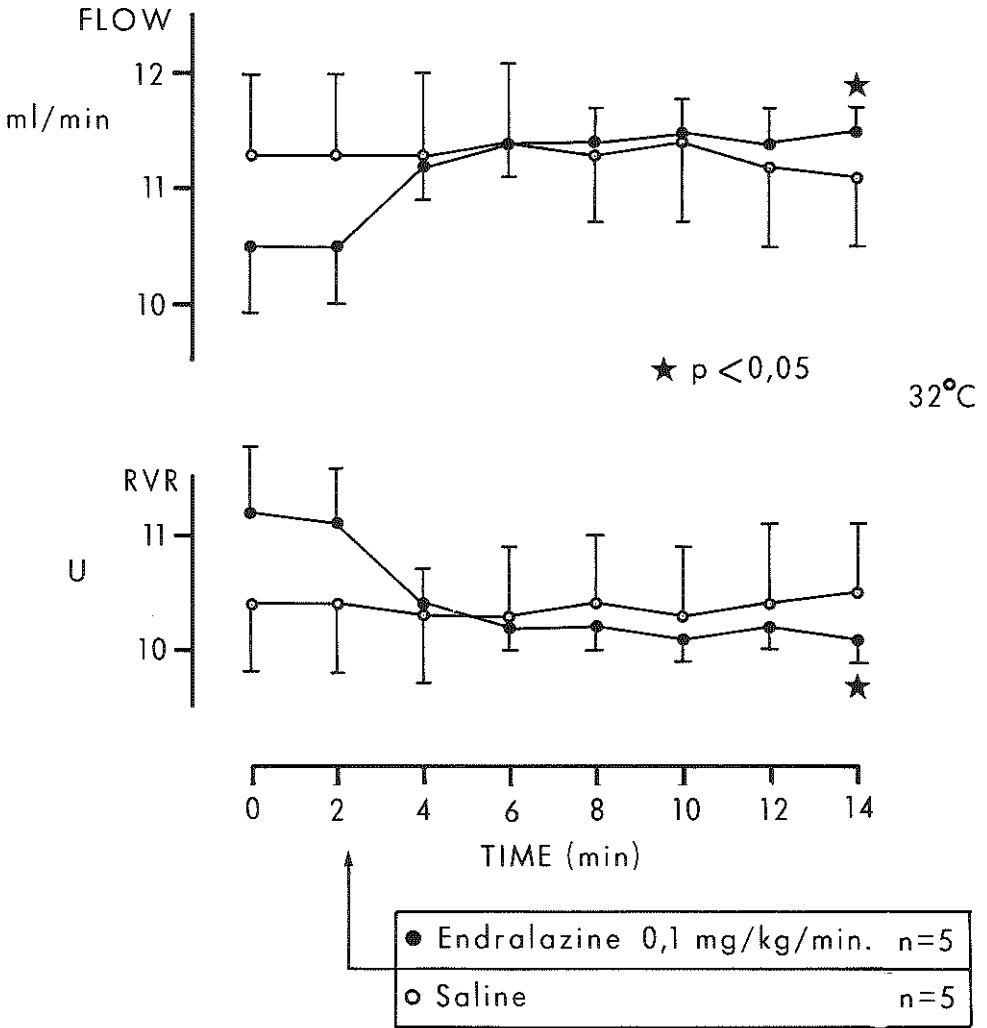


Fig. 9.7 De invloed van endralazine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. Na infusie van endralazine is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin toegenomen ($p < 0,05$).

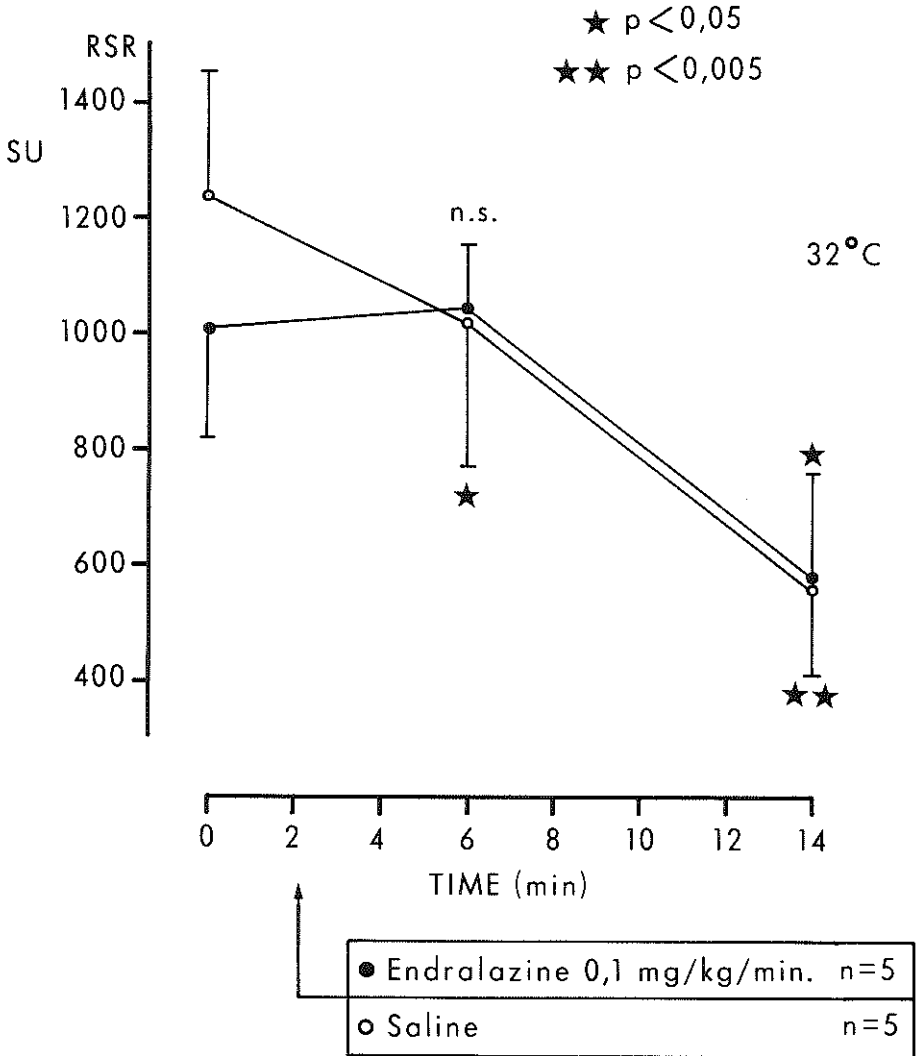


Fig. 9.8 De invloed van endralazine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. Na infusie van endralazine is de reninesecretie na 6 minuten t.o.v. het begin van de perfusie onveranderd, terwijl in de contrôlegroep de reninesecretie is geremd ($p < 0,05$). Aan het eind van de perfusie is de reninesecretie zowel in de contrôlegroep ($p < 0,005$) als na infusie van endralazine ($p < 0,05$) geremd.

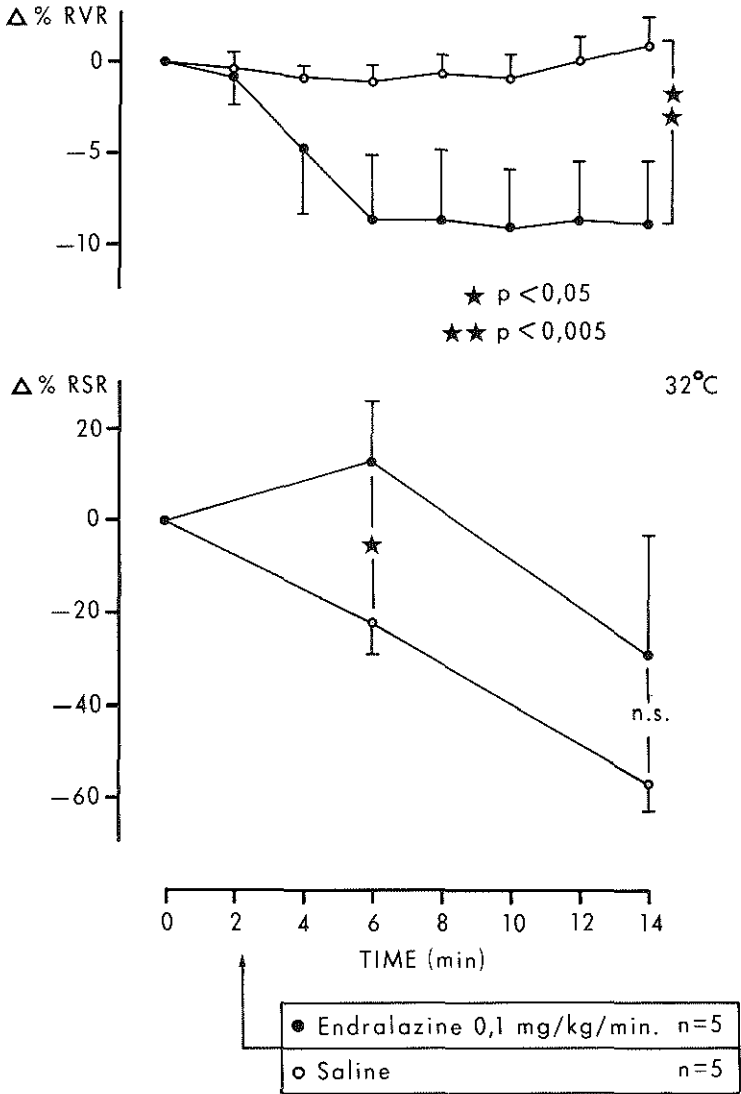


Fig. 9.9 De invloed van endralazine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie.

ng A_1 /ml/uur/min.), na 16 minuten was deze 577 ± 182 ng A_1 /ml/uur/min. ($p < 0.05$). Procentueel was er na 6 minuten een toename van $13.3 \pm 12.9\%$, na 16 minuten was er een daling van $29.8 \pm 27\%$ opgetreden.

In de contrôle-groep (perfusiedruk 115 ± 1 mmHg) daalde de nierdoorstroming van 11.3 ± 0.7 ml/min. tot 11.1 ± 0.6 ml/min. (n.s.). De vaatweerstand toonde het reciproke patroon.

Procentueel was de verandering van de vaatweerstand $1.0 \pm 1.5\%$. De reninesecretie daalde van 1241 ± 227 ng A_1 /ml/uur/min. tot 559 ± 155 ng A_1 /ml/uur/min. ($p < 0.005$).

De procentuele daling van de reninesecretie was $57 \pm 5.8\%$.

Wanneer de reninesecretie tussen contrôle-groep en endralazine-groep na 6 minuten vergeleken worden blijkt dat de reninesecretie in de contrôle-groep is gesupprimeerd ($p < 0.05$). Bij vergelijking van de procentuele veranderingen in de reninesecretie na 6 minuten van de contrôle-groep (groep 2a) en endralazine-groep (groep 2b) blijkt de reninesecretie na infusie van endralazine te zijn toegenomen ($p < 0.05$). Na 14 minuten is het verschil niet significant. Vergelijking van de procentuele verandering in de reninesecretie gedurende de gehele perfusie toont geen significant verschil ($F=1.5$).

Beschouwingen

Ook door deze experimenten werd het remmende effect van temperatuurverlaging op de reninesecretie aangetoond. Ofschoon hypotherme perfusie op zich de nierdoorstroming reeds doet toenemen (zie hoofdstuk 8) resulteerde vaatverwijding door endralazine in een nog verdere daling van de vaatweerstand.

Bij infusie van 0.01 mg/kg/min. endralazine (groep 1a) werd geen invloed op de reninesecretie waargenomen. Bij infusie van $0,1$ mg/kg/min. endralazine (groep 2a) was na 6 minuten de reninesecretie niet geremd (bij contrôle-experimenten was dit wel het geval), daarna trad een daling op welke niet significant verschilde van de contrôle-waarnemingen.

Bij infusie van 0.1 mg/kg/min. endralazine trad de maximale vaatrespons (een daling van de weerstand met 10%) snel op, bij infusie van een lagere dosis werd een identieke reactie aan het eind van de waarnemingsperiode gezien, waarbij de reninesecretie tot hetzelfde niveau was gedaald als in de contrôle-waarnemingen. Hieruit valt te concluderen dat (ten opzichte van contrôle-waarnemingen) het stimulerende effect van endralazine op de reninesecretie, zoals waargenomen in groep 2 na 6 minuten niet te herleiden valt tot alleen de vaatrespons als zodanig. De mogelijke verklaring is dat endralazine in hoge dosering - hetzij direct, hetzij via vasodilatatie - aanvankelijk de juxtaglomerulaire cellen tot reninesecretie prikkelt; tijdens langere perfusie overheerst dan de remming door de verlaagde temperatuur.

Als verklaring voor de door hypothermie geredde reninesecretie kan worden aangevoerd dat de stroom van het perfusaat naar diepere corticale nephronen die minder renine bevatten, wordt afgeleid (Brown e.a., 1963a; Horiuchi e.a., 1971). Small e.a. (1973) toonden aan dat bij hypotherme perfusie (waarbij in hun experimenten aanvankelijk een verminderde doorstroming van het buitenste corticale deel werd gezien) een toegediend pharmacum alle delen van de nier bereikt. Het gegeven dat bij infusie van een directe vaatverwijder de (reeds toegenomen) doorstroming nog verder stijgt, zonder beïnvloeding van de reninesecretie, pleit er tegen dat redistributie van de doorstroming als verklaring voor de gesupprimeerde reninesecretie kan gelden.

9.4. Conclusies

Infusie van de directe vaatverwijder endralazine in de geïsoleerde rattenier veroorzaakt vasodilatatie, zowel tijdens normotherme als hypotherme perfusie.

De reninesecretie tijdens normotherme perfusie wordt door directe vaatverwijding niet beïnvloed. Deze bevinding

steunt de hypothese dat stijging van de renine-activiteit in vivo veroorzaakt wordt door een reflex mechanisme.

Bij hypotherme perfusie veroorzaakt endralazine in hoge dosering aanvankelijk een stijging van de reninesecretie, bij langere duur van de perfusie wordt de reninesecretie echter gesupprimeerd.

De suppressie van de reninesecretie door hypotherme perfusie wordt door infusie van deze directe vaatverwijder niet voorkómen.

H O O F D S T U K X

DE INVLOED VAN VERAPAMIL OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEÏSOLEERDE RATTENIER

10.1. Inleiding en vraagstellingen

Verapamil (Isoptin®), een synthetisch papaverinederivaat, werd in het midden van de zestiger jaren geïntroduceerd als een vaatverwijdende stof die perifere vaten en coronair vaten verwijdt. Latere onderzoeken toonden dat deze stof ook krachtige anti-arythmische eigenschappen had. Voor een overzicht van deze toepassing wordt verwezen naar Singh e.a., 1978.

Verapamil wordt gerekend tot de groep van de calciumantagonisten en remt de langzame influx van calciumionen over de celmembraan.

De vaatverwijdende werking van verapamil werd aanvankelijk toegeschreven aan de remming van de calciuminflux in de gladde spiercellen van de vaatwand (Grün en Fleckenstein, 1972).

Deze influx is noodzakelijk voor de activatie van myofibrillair ATP-ase. Later onderzoek wijst op de mogelijkheid van nog een ander werkingsmechanisme. Calciumantagonisten remmen het vasoconstrictoire effect van adrenerge α -2-receptor stimulatie door belemmering van de influx van het calciumion (Van Meel e.a., 1981a, 1981b). Op de vasoconstrictie welke door α -1-receptor stimulatie wordt opgewekt, hebben calciumantagonisten weinig invloed. Calciumantagonisten hebben waarschijnlijk géén directe α -blokkerende eigenschappen, zoals is aangetoond met behulp van radioligand-bindingstechnieken (Van Meel e.a., 1981a; 1981b). Intraveneuze (Brittinger e.a., 1970) en orale toediening van verapamil doet de bloeddruk dalen bij normotensieve personen (Corea e.a., 1981) en bij hypertensie-patiënten (Corea e.a., 1981; Doyle e.a., 1981; Muiesan e.a., 1981; Gould e.a., 1981; De Leeuw e.a., 1981; Leonetti e.a., 1981; Lewis e.a.,

1981). De bloeddrukdaling wordt veroorzaakt door verlaging van de perifere weerstand (Doyle e.a., 1981; De Leeuw e.a., 1981; Lewis e.a., 1981). Bij orale therapie met verapamil daalt de niervaatweerstand zonder beïnvloeding van de nierdoorbloeding (De Leeuw e.a., 1981). Bij orale toediening van verapamil wordt geen verandering in de plasma renine-activiteit waargenomen (Doyle e.a., 1981; De Leeuw e.a., 1981; Leonetti e.a., 1981; Muiesan e.a., 1981).

Intrarenale infusie van verapamil deed in het dierexperiment de doorbloeding en reninesecretie toenemen zonder bloeddrukverandering (Yukimura, 1979). Door gelijktijdige infusie van calcium werd de vasodilatatie en stijging van de reninesecretie tegengegaan. Tijdens de verapamilinfusie werd een toegenomen urineproductie en natriumexcretie waargenomen. Aangezien intrarenale infusie van ouabaïne tot een stijging van de natriumexcretie leidde zonder dat verandering in de reninesecretie optrad, werd een rechtstreeks effect van verapamil op de juxtaglomerulaire cel gepostuleerd. Ook McCrorey e.a. (1981) vonden na intrarenale verapamilinfusie een toename van de nierdoorbloeding, diurese en natriumexcretie.

In een met bloed in vivo geperfundeerde hondenier remde verapamil de autoregulatie van de doorbloeding (Ono e.a., 1974).

Logan en Chatziliias (1980) infundeerden verapamil in de geïsoleerde rattenier (het Vandongen model) en vonden geen effect op de reninesecretie of vaatweerstand. Als bezwaar valt tegen deze conclusie aan te voeren dat het model in genoemd laboratorium een weinig stabiel gedrag toonde.

Wij stelden ons de vraag wat de invloed van verapamil is op de vaattonus en reninesecretie in de geïsoleerde rattenier, tijdens normotherme perfusie.

Ook werd de invloed van verapamil tijdens hypotherme perfusie bestudeerd. In hoofdstuk 8 werd aangetoond dat door hypotherme perfusie de reninesecretie wordt geremd. Bij de remming van de reninesecretie door verschillende stoffen wordt verondersteld dat een instroom van calciumionen in de juxtaglomerulaire cel optreedt (zie hoofdstuk 3.2.4.3). Onze vraagstelling was dan ook of door infusie van verapamil (en daardoor blokkade van deze instroom) de remming van de reninesecretie (door de verlaagde temperatuur) kan worden voorkomen.

10.2. Normotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd op de in hoofdstuk 6 beschreven wijze en bij 37°C doorstroomd met de standaardperfusievloeistof.

Na 2 minuten in de onderzoeksperiode werd de infusie van verapamil gestart volgens onderstaand protocol:

Groep 1: infusie van verapamil in een dosis van 0,03 mg/kg/min (groep 1a; n=6). Bij de contrôle-experimenten werd fysiologisch zout geïnfundeerd (groep 1b; n=6).

Groep 2: infusie van verapamil in een dosis van 0,3 mg/kg/min (groep 2a; n=5. Bij de contrôle-experimenten werd fysiologisch zout geïnfundeerd (groep 2b; n=5). (In afwisseling met deze experimenten in groep 2 werd 0,003 mg/kg/min verapamil geïnfundeerd (n=2): deze lage dosis had geen invloed op de vaattonus en reninesecretie).

Resultaten

Groep 1 (fig. 10.1 en 10.2)

Na infusie van verapamil (groep 1a, perfusiedruk 115 mmHg) veranderde de doorstroming niet significant van

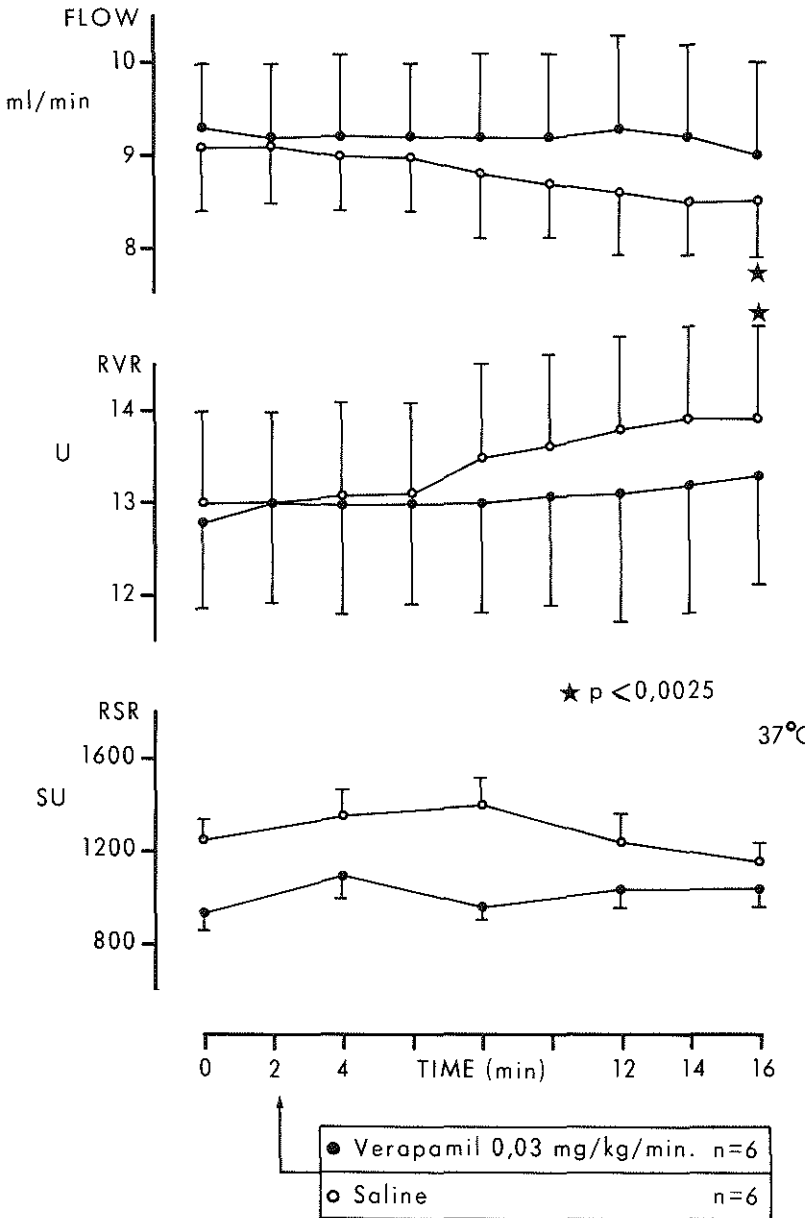


Fig. 10.1 De invloed van verapamil (0,03 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie. In de contrôlegroep is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen ($p < 0,0025$).

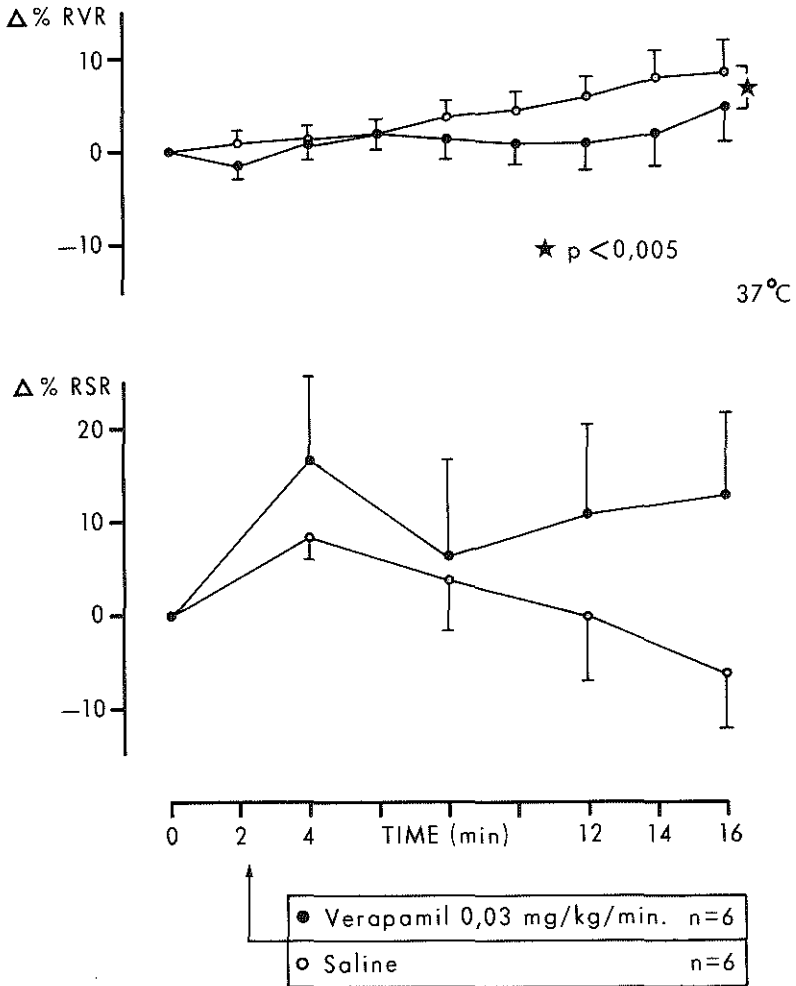


Fig. 10.2 De invloed van verapamil (0,03 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

9.3 ± 0.7 ml/min naar 9.0 ± 1.0 ml/min. In de contrôle-experimenten (groep 1b, perfusiedruk 115 mmHg) nam de doorstroming significant af van 9.1 ± 0.7 ml/min tot 8.5 ± 0.6 ml/min ($p < 0.0025$).

De vaatweerstand toonde in beide groepen het omgekeerde patroon. Procentueel was de toename van de vaatweerstand in de verapamilgroep 5.0 ± 4.2%; in de contrôle-groep 7.9 ± 3.1%. Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand in beide groepen gedurende de perfusie vergeleken worden dan blijkt dat infusie van verapamil de vaatweerstand in geringe mate doet afnemen ($F=145$; $p < 0.005$).

De reninesecretie aan het begin van de perfusie (voor verapamil-infusie, groep 1a) was 939 ± 76 ng A_1 /ml/uur/min; aan het eind 1028 ± 42 ng A_1 /ml/uur/min (n.s.). Procentueel was de toename 13.1 ± 9.2%.

In de contrôle-groep (groep 1b) nam de reninesecretie af van 1257 ± 83 ng A_1 /ml/uur/min tot 1165 ± 74 A_1 /ml/uur/min (n.s.). Procentueel was de afname 6.3 ± 6.2% aan het eind van de perfusie. Opmerkelijk is het grote verschil in reninesecretie (939 ± 76 vs. 1257 ± 83 ng A_1 /ml/uur/min.; $p < 0.01$) aan het begin van de perfusie voordat infusie van zout of verapamil werd gestart. Dit toont aan dat in het gebruikte model ondanks het afwisselend uitvoeren van contrôle-perfusies resp. infusie van medicatie, absolute waarden met voorzichtigheid moeten worden vergeleken.

Wanneer de procentuele veranderingen in reninesecretie vergeleken worden gedurende de perfusie blijkt dat infusie van verapamil (0.03 mg/kg/min) de reninesecretie niet significant beïnvloedt ($F=3.7$).

Groep 2 (fig. 10.3 en 10.4)

Infusie van verapamil 0.3 mg/kg/min (groep 2a, perfusiedruk 112 ± 1 mmHg) deed de doorstroming stijgen van 9.3 ± 0.5 ml/min tot 9.8 ± 0.5 ml/min (na 6 minuten, n.s.); aan het eind van de perfusie was de doorstroming 9.5 ± 0.5 ml/min (n.s.). De vaatweerstand toonde het omgekeerde patroon. Procentueel daalde de vaatweerstand tot ma-

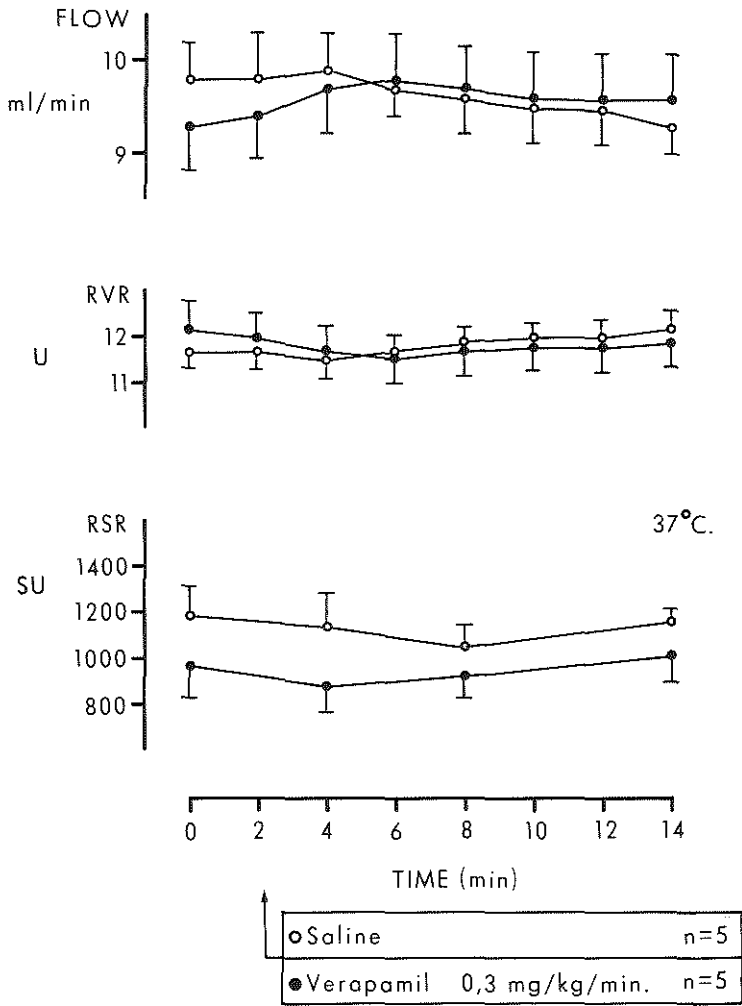


Fig. 10.3 De invloed van verapamil (0,3 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

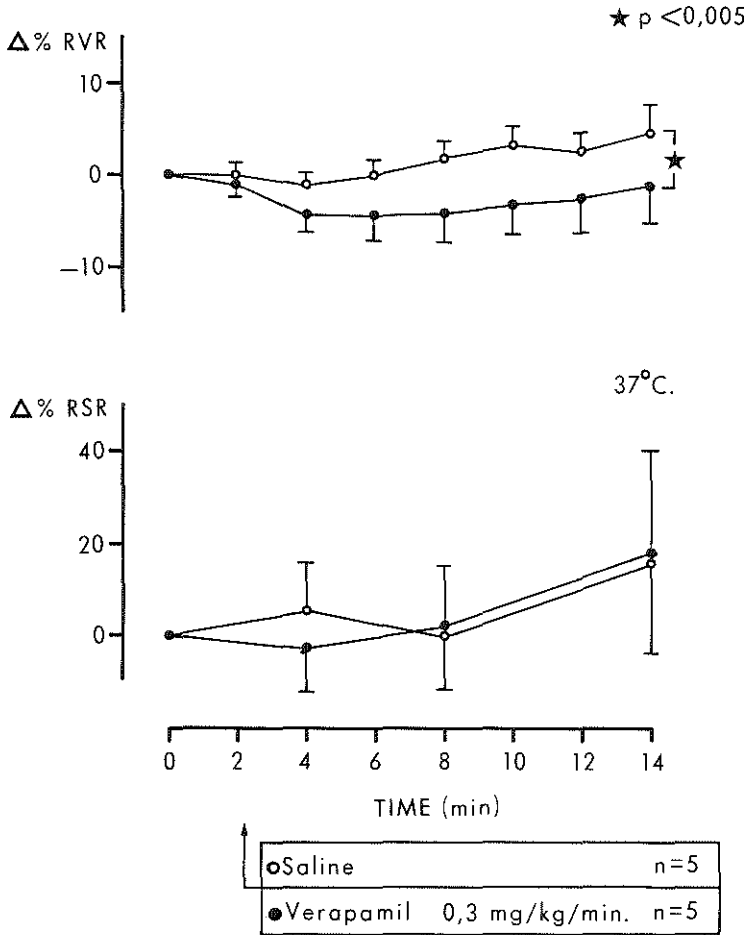


Fig. 10.4 De invloed van verapamil (0,3 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

ximaal $4.5 \pm 2.9\%$ (na 6 minuten); aan het eind was de daling $1 \pm 4.3\%$.

De reninesecretie steeg niet significant van 968 ± 156 ng A_1 /ml/uur/min tot 1016 ± 110 ng A_1 /ml/uur/min ($18.4 \pm 22\%$).

In de contrôle-groep (groep 2b, perfusiedruk 113 ± 2 mmHg) daalde de doorstroming van 9.8 ± 0.4 ml/min tot 9.3 ± 0.3 ml/min (n.s.).

Procentueel steeg de vaatweerstand $4.5 \pm 2.7\%$.

De reninesecretie veranderde niet significant: 1172 ± 199 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin, resp. 1170 ± 30 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de waarnemingsperiode. Procentueel weergegeven was er een stijging van $16 \pm 20\%$.

Bij vergelijking van de procentuele veranderingen in vaatweerstand blijkt dat verapamil ten opzichte van de contrôle-waarnemingen de vaatweerstand doet afnemen (F 33.8; $p < 0.005$). De reninesecretie wordt niet beïnvloed (F 0.1).

Beschouwing

Intrarenale infusie van verapamil heeft in de geïsoleerde nier een zwak vasodilaterend effect. Bij de hond werd na intrarenale infusie vasodilatatie gevonden (Yukimura, 1979; McCrorey e.a., 1980).

Ook tijdens behandeling van hypertensie patiënten met verapamil daalt de renale vaatweerstand (De Leeuw e.a., 1981).

Logan en Chatziliias (1980) waren niet in staat in een met ons model te vergelijken proefopstelling vasodilatatie tijdens verapamil-infusie aan te tonen. Jover e.a. (1982) vonden geen effect van de calciumantagonist nifedipine op de vaatweerstand van de geïsoleerde rattenier. In deze experimenten was de stroomsnelheid echter laag (5 ml/min) en de stabilisatieperiode 30 minuten zodat aan de vitaliteit van het preparaat kan worden getwijfeld. Daarnaast ontbreken zowel in onderzoeken van

Logan en Chatziliadis (1980) als in die van Jover e.a. (1982) de noodzakelijke controle-waarnemingen.

De verplaatsing van het calciumion speelt een belangrijke rol bij de regulatie van de reninesecretie op cellulair niveau (zie hoofdstuk 3). Infusie van verapamil had in onze proeven geen effect op de reninesecretie. Theoretisch zou een remming van de calciuminflux (door verapamil-infusie) een stijging van de reninesecretie kunnen veroorzaken.

Bij orale toediening van verapamil worden geen veranderingen in de plasma renine-activiteit waargenomen (Doyle e.a., 1981; De Leeuw e.a., 1981; Leonetti e.a., 1981; Muiesan e.a., 1981). Yukimura (1979) vond na intrarenale infusie bij honden een stijging van de reninesecretie in combinatie met renale vasodilatatie. Onze resultaten tonen dat het effect van verapamil op de reninesecretie in de geïsoleerde nier overeenkomt met hetgeen bij orale toediening wordt gevonden. De stijging in de reninesecretie zoals beschreven door Yukimura (1979) valt waarschijnlijk te verklaren door de omvang van de vasodilatatie (de nierdoorbloeding nam met 20% toe) bij de intrarenale toediening in vivo.

10.3. Hypotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd op de in hoofdstuk 6 beschreven manier en bij 32°C doorstroomd met de aangepaste perfusievloeistof (I). Na 2 minuten in de onderzoeksperiode werd de infusie van verapamil gestart volgens onderstaand protocol:

Groep 1: infusie van verapamil in een dosis van 0.03 mg/kg/min (groep 1a; n=7). Bij de controle-experimenten werd fysiologisch zout geïnfundeed (groep 1b; n=7).

Groep 2: infusie van verapamil in een dosis van 0.3 mg/kg/min (groep 2a; n=5). Bij de controle-ex-

perimenten werd fysiologische zout geïnfundeerd (groep 2b; n=5).

(In afwisseling met de experimenten van groep 2 werd 0.003 mg/kg/min verapamil geïnfundeerd (n=2); deze lage dosis had geen invloed op vaattonus en reninesecretie).

Resultaten

Groep 1 (fig. 10.5 en 10.6)

In de verapamilgroep (groep 2a, perfusiedruk 115 mmHg) was de doorstroming 11.0 ± 0.4 ml/min aan het begin, resp. 10.3 ± 0.4 ml/min aan het eind van de onderzoeksperiode ($p < 0.05$). Procentueel was de toename van de vaatweerstand $7.4 \pm 3.6\%$.

In de contrôle-experimenten (groep 2b, perfusiedruk 115 mmHg) was de doorstroming 10.9 ± 0.4 ml/min aan het begin van de onderzoeksperiode en 9.9 ± 0.4 ml/min aan het eind ($p < 0.005$). De vaatweerstand toonde het omgekeerde patroon. Procentueel was de toename van de vaatweerstand $10.4 \pm 3.2\%$.

Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand tijdens verapamil-infusie vergeleken worden met de contrôle-groep blijkt dat verapamil een zwak vaatverwijdend effect heeft ($F 27.2$; $p < 0.005$).

Na verapamil-infusie daalde de reninesecretie van 561 ± 99 ng A_1 /ml/uur/min naar 326 ± 60 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$). Procentueel was de daling $30 \pm 19\%$.

In de contrôle-groep was de reninesecretie 559 ± 73 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin resp. 433 ± 93 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de onderzoeksperiode (n.s.). Procentueel was de daling $17.9 \pm 10.9\%$. Wanneer de procentuele veranderingen in de reninesecretie vergeleken worden, blijkt dat verapamil-infusie de reninesecretie tijdens hypotherme perfusie niet significant beïnvloedt ($F 0.22$).

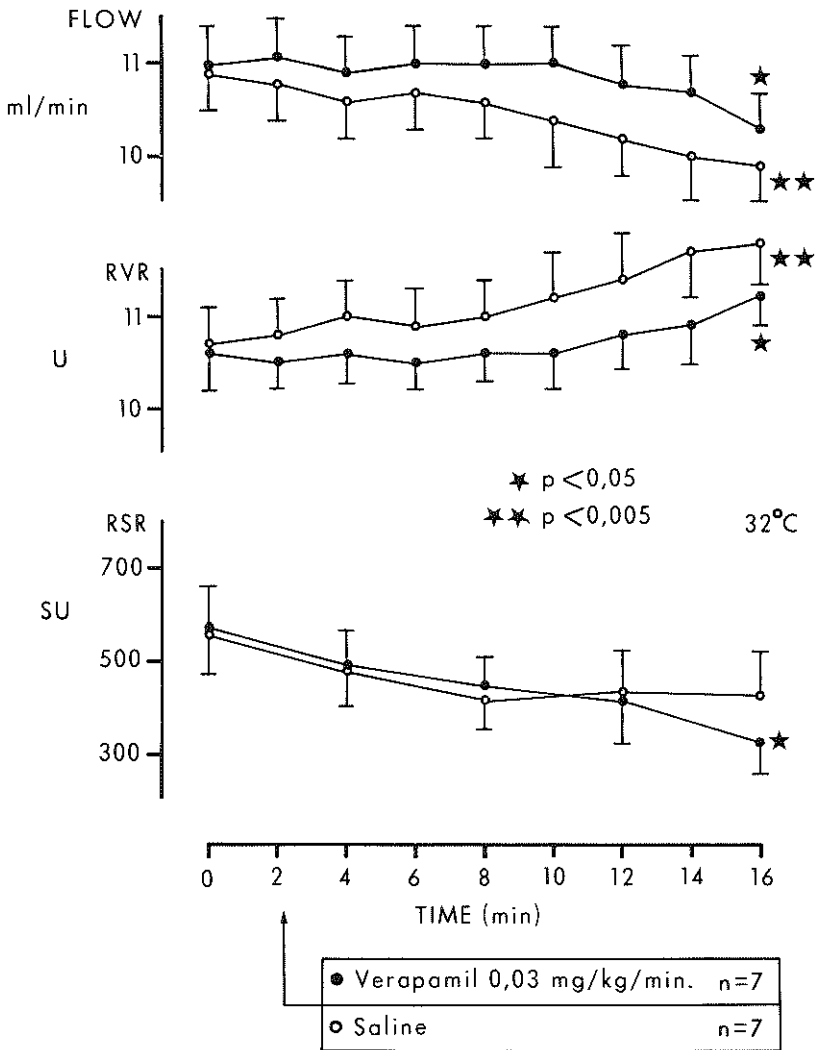


Fig. 10.5 De invloed van verapamil (0,03 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. Zowel na infusie van verapamil ($p < 0,05$) als in de contrôlegroep ($p < 0,005$) is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen. Ook de reninesecretie daalt tijdens hypotherme perfusie na verapamilinfusie ($p < 0,05$).

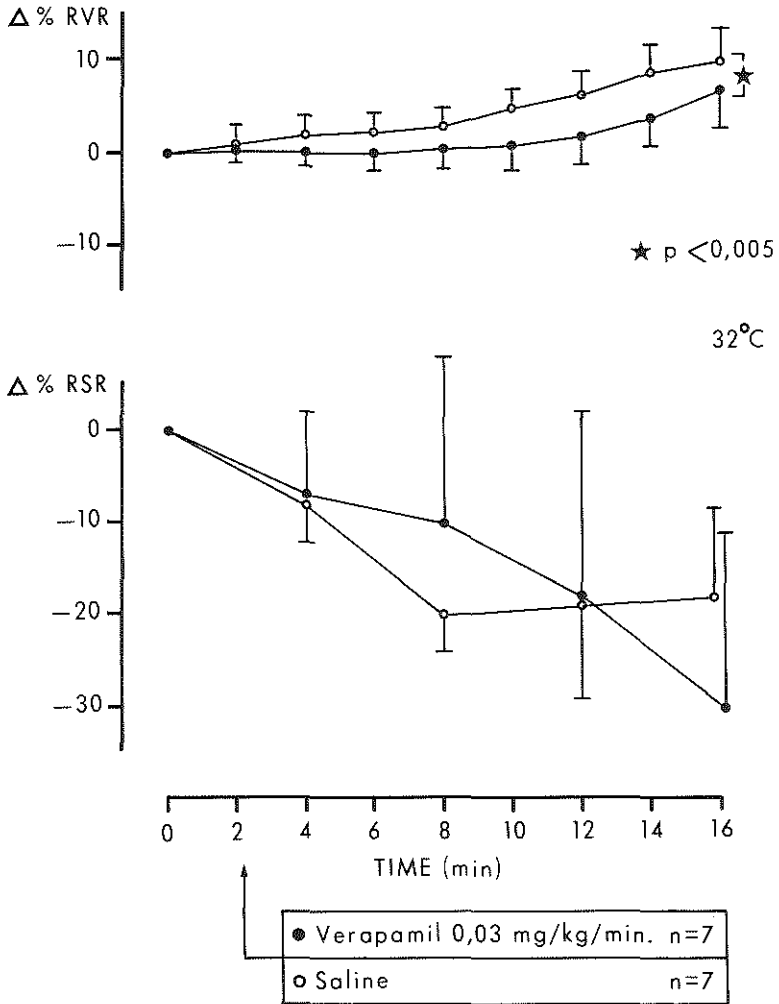


Fig. 10.6 De invloed van verapamil (0,03 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie.

Groep 2 (fig. 10.7 en 10.8)

Na verapamil-infusie (groep 2a, perfusiedruk 112 ± 1 mmHg) steeg de doorstroming van 10.5 ± 0.6 ml/min tot maximaal 10.9 ± 0.6 ml/min (n.s.); aan het eind van de waarnemingsperiode was de doorstroming 10.8 ± 0.5 ml/min (n.s.). Procentueel was de maximale daling van de vaatweerstand $-4.5 \pm 0.6\%$ na 10 minuten. In de contrôle-groep (groep 2b; perfusiedruk 113 ± 2 mmHg) bleef de doorstroming nagenoeg constant. De procentuele verandering in doorstroming was $0.8 \pm 1.5\%$ aan het eind van de waarnemingsperiode.

Wanneer de procentuele veranderingen in vaatweerstand vergeleken worden, blijkt het geringe vaatverwijdende effect van verapamil toch significant te zijn ($F 94.2$; $p < 0.005$).

In de verapamil-groep trad een daling van de reninesecretie op van 931 ± 165 ng A_1 /ml/uur/min tot 198 ± 64 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.005$). Procentueel was de daling $74 \pm 8\%$.

In de contrôle-groep daalde de reninesecretie van 651 ± 205 ng A_1 /ml/uur/min tot 308 ± 135 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$). Procentueel was de daling $40 \pm 23\%$.

Vergelijking van de procentuele veranderingen in de reninesecretie toont dat verapamil (0.3 mg/kg/min) tijdens hypotherme perfusie de reninesecretie niet beïnvloedt ($F 0.9$).

Beschouwing

Infusie van de calciumantagonist verapamil heeft ook tijdens hypotherme perfusie een (zwakke) vaatverwijdende werking.

De maximale vaatreactie is (in vergelijking met de contrôle-waarnemingen) vrijwel identiek bij beide doses verapamil (0.03 mg/kg/min en 0.3 mg/kg/min). De onderdrukking van de reninesecretie (tengevolge van hypothermie) wordt door verapamil niet significant beïnvloed.

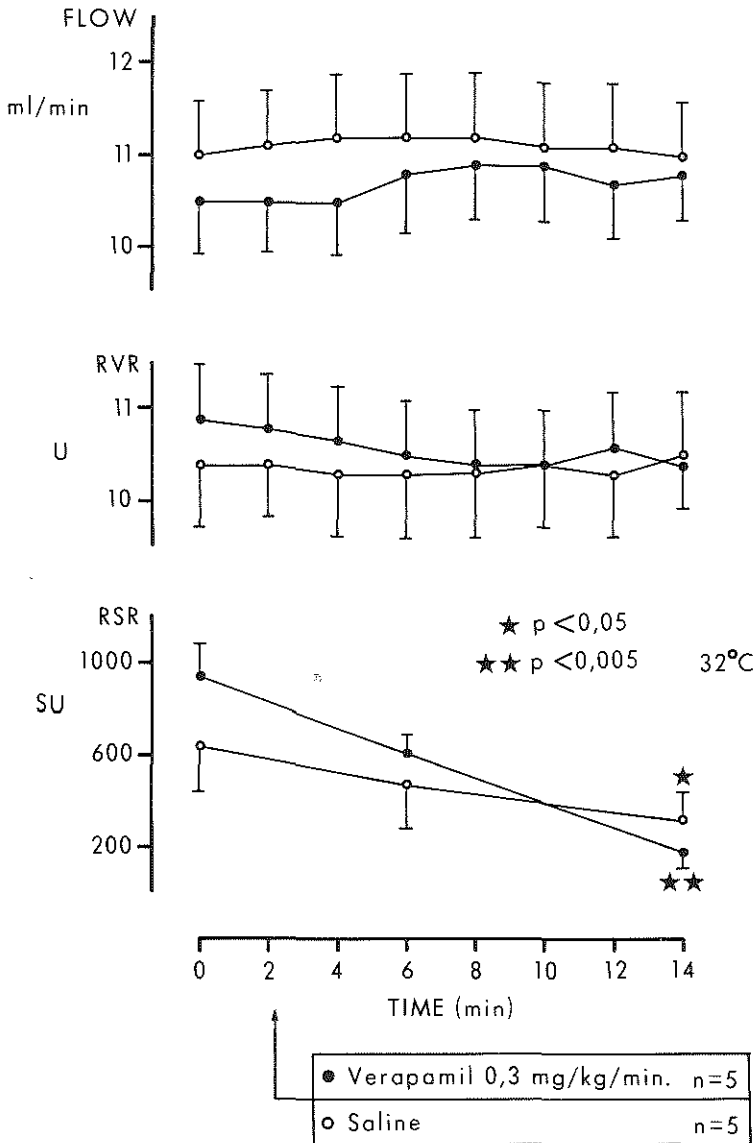


Fig. 10.7 De invloed van verapamil (0,3 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. De reninescretie is aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin zowel in de contrôlegroep ($p < 0,05$) als na verapamilinfusie ($p < 0,005$) afgenomen.

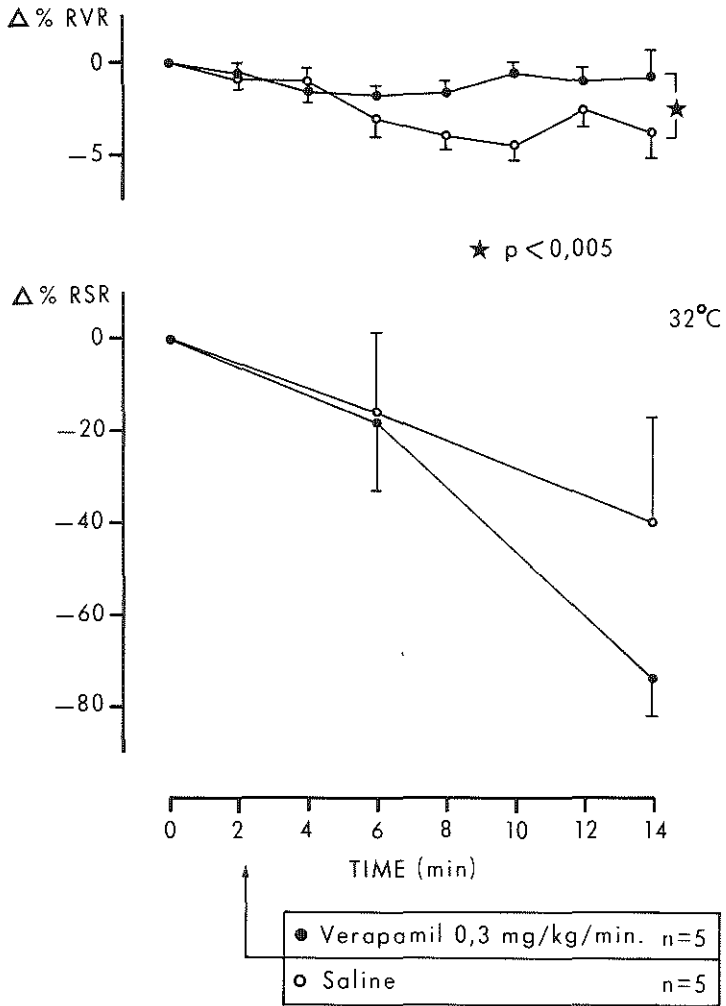


Fig. 10.8 De invloed van verapamil (0,3 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie.

10.4. Conclusies

Verapamil-infusie heeft zowel tijdens normotherme als hypotherme infusie een zwak vasodilaterend effect. De reninesecretie wordt door verapamil-infusie niet beïnvloed.

Ofschoon remming van de calciuminflux theoretisch de reninesecretie kan beïnvloeden, blijkt dit onder basale omstandigheden niet het geval te zijn. De bevindingen bij normotherme perfusie sluiten aan bij de waarnemingen in vivo, dat behandeling met verapamil de plasma renine-activiteit niet beïnvloedt.

De suppressie van de reninesecretie tijdens hypotherme perfusie wordt niet veroorzaakt door een toegenomen calciuminflux in de juxtaglomerulaire cel.

H O O F D S T U K X I

DE INVLOED VAN CAPTOPRIL OP NIERDOORSTROMING EN RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER

11.1. Inleiding

Captopril (D-3-mercapto-2-methylpropanoxyl-1-proline; SQ 14.225; Capoten®) remt het "converting enzyme". Dit enzym is verantwoordelijk voor de omzetting van angiotensine I in angiotensine II, een peptide met hoge vaatvernauwende activiteit. Daarnaast is dit enzym identiek aan kininase II en is mede verantwoordelijk voor de afbraak van bradykinine (Erdős, 1977).

Behandeling van patiënten met captopril geeft daling van de bloeddruk (Brunner e.a., 1979, 1980; Johnston e.a., 1979; Abe e.a., 1980; Crantz e.a., 1980; Lijnen e.a., 1980; Schalekamp e.a., 1980; Swartz e.a., 1980; Guillevin e.a., 1981) en stijging van de plasma renine-activiteit. Na een zoutarm dieet of toediening van diuretica (waardoor het renine angiotensine systeem wordt gestimuleerd) treedt een sterkere bloeddrukdaling op (Brunner e.a., 1979, 1980; Johnston e.a., 1979; Swartz e.a., 1980).

De angiotensine II spiegel daalt (Johnston e.a., 1979; Crantz e.a., 1980; Swartz e.a., 1980; Lijnen e.a., 1981). De stijging van het renine wordt in de literatuur verklaard door het wegvallen van de negatieve feedback van angiotensine II versus reninesecretie (zie hoofdstuk 3.2).

Een punt van discussie is de vraag langs welke weg captopril vasodilatatie, met als resultaat bloeddrukdaling, veroorzaakt. Aanvankelijk werd gedacht dat de remming van de vorming van angiotensine II op zichzelf de bloeddrukdaling veroorzaakte. Captopril doet echter ook bij gedialyseerde nierloze patiënten (met een zeer laag renine) de bloeddruk dalen (Man in 't Veld e.a., 1980).

Ook blijkt dat na remming van het convertings enzyme, de hoeveelheid angiotensine II nodig om de bloeddruk tot het vroegere niveau terug te brengen, verhoogd is (Swartz e.a., 1979). De aandacht is in de literatuur gericht op de volgende alternatieve mogelijkheden: een verminderde kinine-afbraak, stimulatie van het prostaglandine systeem of door interactie met het sympathisch zenuwstelsel.

Wanneer het convertings enzyme geremd wordt door teprotide (SQ 20.881, een voorloper van captopril), zo melden Williams en Hollenberg in 1977, treedt een stijging van de plasma bradykininespiegel op. In een aanvullend onderzoek (Crantz e.a., 1980) kon dit wel voor teprotide maar niet voor captopril worden bevestigd. Anderen (Vinci e.a., 1979) vonden na teprotide-toediening geen verhoging van de bradykininespiegel in het veneuze bloed, doch wel een toegenomen excretie van kininen in de urine van patiënten die reageerden met een duidelijke bloeddrukdaling. Mimran e.a. (1980) onderzochten de bijdrage van het kininesysteem aan het bloeddrukverlagende effect van captopril door patiënten tevens aprotinine te geven (een remmer van de kininenvorming). Bij patiënten met essentiële hypertensie had aprotinine geen effect op de door captopril verlaagde bloeddruk; bij renovasculaire hypertensie veroorzaakte aprotinine echter een significante stijging van de bloeddruk. Dit wijst op een bijdrage van het kininesysteem bij renovasculaire hypertensie. In overeenstemming hiermee is de bevinding van Carretero e.a. (1981) dat kininen een rol spelen bij het bloeddrukverlagende effect van captopril in de "one clip two kidney" hypertensie.

Bij de rat onder narcose wordt de reactie op bradykinine-infusie door captopril versterkt (Vandongen e.a., 1982).

Ofschoon het theoretisch zeer aannemelijk is dat een verminderde afbraak van bradykinine mede invloed heeft op het effect van captopril is dit moeilijk aan te tonen. De halfwaardetijd van bradykinine is kort, daar-

naast kan bradykinine nog langs andere wegen dan via het kininase II worden afgebroken.

Sommige onderzoekers vinden er aanwijzingen voor dat het prostaglandine systeem aan het mechanisme van de bloeddrukdaling bijdraagt. Bij patiënten die op behandeling met teprotide reageren met een sterke bloeddrukdaling, treedt een stijging op van het prostaglandine E (Vinci e.a., 1979). Lijnen e.a. (1981) vonden echter een daling van het prostaglandine E₂ (en F₂) door behandeling met captopril. Swartz e.a., (1980) vonden bij patiënten behandeld met captopril een verhoogde uitscheiding in de urine van de 14,15 dihydro-15-keto metaboliet van prostaglandine E₂.

Bij hypertensiepatiënten met een laag reninegehalte vonden Abe e.a. (1980) dat indomethacine de bloeddrukdaling door captopril tegengaat; daarentegen had indomethacine geen invloed op de bloeddrukdaling bij patiënten met een normaal reninegehalte. Door gelijktijdige behandeling met indomethacine wordt het acute bloeddrukverlagende effect van captopril grotendeels voorkomen (Silberbauer e.a., 1982). De invloed van indomethacine op de bloeddrukdaling door captopril wijst op een mogelijke bijdrage van het prostaglandine systeem.

Bij de rat onder narcose is het hypotensieve effect van captopril onafhankelijk van het prostaglandine systeem (Vandongen e.a., 1982).

Een complicerende factor is tevens dat het prostaglandine en het kininesysteem niet los van elkaar kunnen worden gezien. Kininen kunnen de productie van belangrijke eindproducten van het prostaglandinesysteem reguleren, te weten PGE₂ of PGF₂ door de activiteit van PGE-9 keto-reductase te verhogen (McGiff, 1980). Ook een prostacycline-achtige substantie in de nier kan door bradykinine worden vrijgemaakt (Mullane en Moncada, 1980).

Experimenteel zijn er tevens aanwijzingen dat captopril de via het sympathische zenuwstelsel geïnduceerde vaso-

constrictie beïnvloedt. In dierexperimenten werd gevonden dat captopril de bloeddrukstijging ten gevolge van noradrenaline-infusie kan tegengaan (Clough e.a., 1981; Antonaccio en Kerwin, 1982). Ook bij de mens is dit aangetoond (Imai e.a., 1982).

Casellas e.a. (1980) vonden dat na infusie van captopril in de geïsoleerde nier de dosis-werkingscurve van noradrenaline naar rechts verschoof. Ook de vasoconstrictie in geïsoleerde mesenteriaal arteriën, zoals waargenomen na zenuwprickeling en na toediening van adrenaline, wordt door captopril geremd (Collis en Keddie, 1981). In geïsoleerde aortaringen werkt een hoge dosis captopril de invloed van alpha-adrenerge stimulatie (phentolamine) tegen (Kikta en Fregly, 1982). In de geïsoleerde konijnenier deed captopril de vasoconstrictieve reactie op zenuwstimulatie afnemen. Het vrijkomen van noradrenaline werd overigens niet beïnvloed. Mimran e.a. (1982) concludeerden hieruit dat zich een alpha-antagonistische werking op postsynaptisch niveau voordeed.

Door onderzoeken van de groep van Van Zwieten werd de invloed van captopril op de vasoconstrictie door α receptorstimulatie nader opgehelderd. De remmende invloed van captopril op de bloeddrukstijging door noradrenaline-infusie kon worden bevestigd (De Jonge e.a., 1981; Timmermans e.a., 1982). Na gelijktijdige α_1 -blokkade (prazosine) was nog steeds een remmende invloed van captopril aantoonbaar. Echter wanneer de α_2 -receptoren werden geblokkeerd (door rauwolscine) was geen invloed van captopril op de bloeddrukstijging door noradrenaline-infusie meer aanwezig. Door voorbehandeling met captopril werd de dosis-werkingscurve voor (selectieve) postsynaptische α_2 -receptorstimulatie (B-HT 920) naar rechts verschoven. Na nephrectomie werd van α_2 -receptorstimulatie een geringere bloeddrukstijging gezien. Na infusie van angiotensine II werd zowel in de met captopril behandelde dieren, als bij die waarvan de nieren verwijderd waren, bloeddrukstijging gezien door toediening van B-HT 920. Hieruit valt te concluderen dat captopril de vasoconstrictie remt die door de postsynaptische α_2 -receptor

wordt veroorzaakt (De Jonge e.a., 1981; Timmermans e.a., 1982).

Naast dit postsynaptische effect zijn er ook aanwijzingen dat door remming van het convertings enzyme minder noradrenaline vrijkomt aan het zenuwuiteinde (Antonaccio en Kerwin, 1981; De Jonge e.a., 1982).

De bloeddrukdaling door captopril kan theoretisch door zowel het post- als presynaptische mechanisme (mede) worden verklaard. Gezien de extreme gevoeligheid van de presynaptische angiotensine II receptoren zou het presynaptische mechanisme attractiever lijken. In hoeverre dit in vivo een rol speelt, is vooralsnog onduidelijk. De relatie tussen angiotensine II en sympathisch zenuwstelsel blijkt ook uit de onderzoeken van Malik en Nasjletti (1976). Een versterkte vaatreactie op zenuwprikkeling in geïsoleerde mesenteriaal vaten, werd waargenomen na toevoeging van reninesubstraat. Door convertings enzyme remming en saralasin werd de versterkte reactie voorkomen. Geconcludeerd werd dat angiotensine II vorming in de vaatwand de vasoconstrictie na zenuwprikkeling versterkte. Voor een overzicht betreffende de relatie tussen angiotensine en sympathisch zenuwstelsel wordt verwezen naar Zimmerman (1981).

Bij behandeling met captopril daalt de renale vaatweerstand gekoppeld met een stijging van de nierdoorbloeding (Brunner e.a., 1980; Hollenberg e.a., 1981). Ook in het dierexperiment werden deze veranderingen waargenomen (Murthy e.a., 1978; Clappison e.a., 1980; Wong e.a., 1981; Wong en Zimmerman, 1981).

Bij de mens is de mate van de toename in nierdoorbloeding afhankelijk van de natriumconsumptie (Hollenberg e.a., 1981). Captopril-infusie gedurende 7 dagen bij honden, gevoed met een natriumrijk dieet, deed de bloeddruk en nierdoorbloeding niet veranderen. Bij gebruik van een natriumarm dieet deed zich wel daling van de bloeddruk voor, gepaard gaande met een stijging van de nierdoorbloeding. Wanneer (onder het natriumarme dieet) tijdens captopril-infusie tevens aldosteron werd toege-

diend, normaliseerden zich bloeddruk en nierdoorbloeding niet. Daarentegen kon dit wel door angiotensine II infusie, waaruit geconcludeerd werd dat de gesignaleerde veranderingen in systeem- en nierhaemodynamica voornamelijk door een verminderde vorming van angiotensine II werden bemiddeld (Hall en Granger, 1982).

Door een aantal onderzoekers (Casellas e.a., 1980; Chiba e.a., 1982; Mimran e.a., 1982; Ogihura e.a., 1982) werd geen effect van captopril op perfusiedruk of vaatweerstand van de geïsoleerde rattenier waargenomen. In al deze onderzoeken kregen de ratten géén natriumbeperring opgelegd. Zoals boven aangegeven kan een dieet rijk aan natrium de renale effecten van captopril voorkomen (Hall en Granger, 1982). Een natriumarm dieet doet de intrarenale angiotensine II concentratie (en renineconcentratie) toenemen (Mendelsohn e.a., 1979).

Vanuit de wat andere invalshoek in ons onderzoek leek het ons zinvol na te gaan welke invloed captopril heeft op het vaatgedrag en de reninesecretie tijdens normotherme perfusie in de geïsoleerde nier, afkomstig van ratten die gedurende 14 dagen waren gevoed met een natriumarm dieet. Dit dieet bevatte 200 mg natrium per kilogram en werd gedurende 14 dagen voorafgaand aan het onderzoek door de ratten geconsumeerd.

Door de onderzoeken beschreven in hoofdstuk 8 werd aangetoond dat door verlaging van de temperatuur de reninesecretie wordt geremd. Intrarenaal bevinden zich de diverse bestanddelen van het renine-angiotensine systeem. Verondersteld wordt wel dat het intrarenale systeem onafhankelijk van het renine en angiotensine in de circulatie kan functioneren (zie hoofdstuk 3.3.2).

Mendelsohn (1979) toonde aan dat na kortdurende perfusie nog angiotensine II intrarenaal aanwezig is.

Gezien deze bevindingen kon niet tevoren uitgesloten worden dat de remming van de reninesecretie tijdens hypotherme perfusie veroorzaakt werd door een toegenomen angiotensine II vorming intrarenaal. Hiertoe werd capto-

pril geïnfundeed tijdens hypotherme perfusie van nieren afkomstig van ratten gevoed met het normale dieet.

11.2. Normotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd volgens de in hoofdstuk 6 beschreven techniek en doorstroomd met de standaardperfusievloeistof. Captopril werd geïnfundeed in een dosering van 0.1 mg/min. (groep 1; n=5); bij de controle-groep werd fysiologisch zout geïnfundeed (groep 2; n=5).

Om aan te tonen dat het zoutarme dieet stimulatie van de reninesecretie veroorzaakte werd een tweede controle-groep tegelijkertijd onderzocht. Deze nieren waren afkomstig van ratten gevoed met het normale dieet (groep 3; n=5). De perfusies werden in afwisselende volgorde uitgevoerd. Driemaal werden perfusaatmonsters onderzocht op de aanwezigheid van angiotensine II (groep 2). Deze monsters werden afgenomen na 3 minuten in de stabilisatieperiode en aan het begin resp. einde van de onderzoeksperiode.

Resultaten (fig. 11.1 t/m 11.3)

Groep 1 (captopril-infusie, zoutarm dieet; perfusiedruk 112 ± 2 mmHg) toonde een doorstroming die gedurende de onderzoeksperiode vrijwel constant bleef rond 8.3 ± 0.7 ml/min. Procentueel was de verandering in vaatweerstand $-0.4 \pm 4.2\%$ aan het eind van de perfusie.

De reninesecretiesnelheid veranderde niet significant: 2422 ± 167 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin resp. 2172 ± 187 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de perfusie (n.s.). De procentuele daling was $7.8 \pm 11\%$.

In Groep 2 (controle-infusie, zoutarm dieet; perfusiedruk 111 ± 1 mmHg) was de doorstroming 8.3 ± 0.3 ml/min. aan het begin en 8.1 ± 0.3 ml/min. aan het einde van de

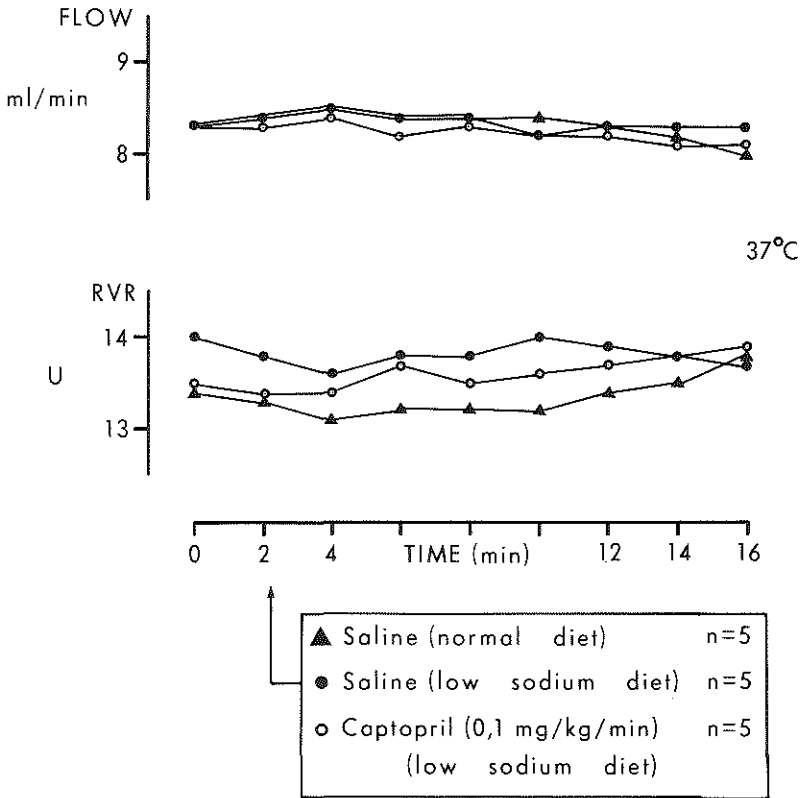


Fig. 11.1 De invloed van captopril (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

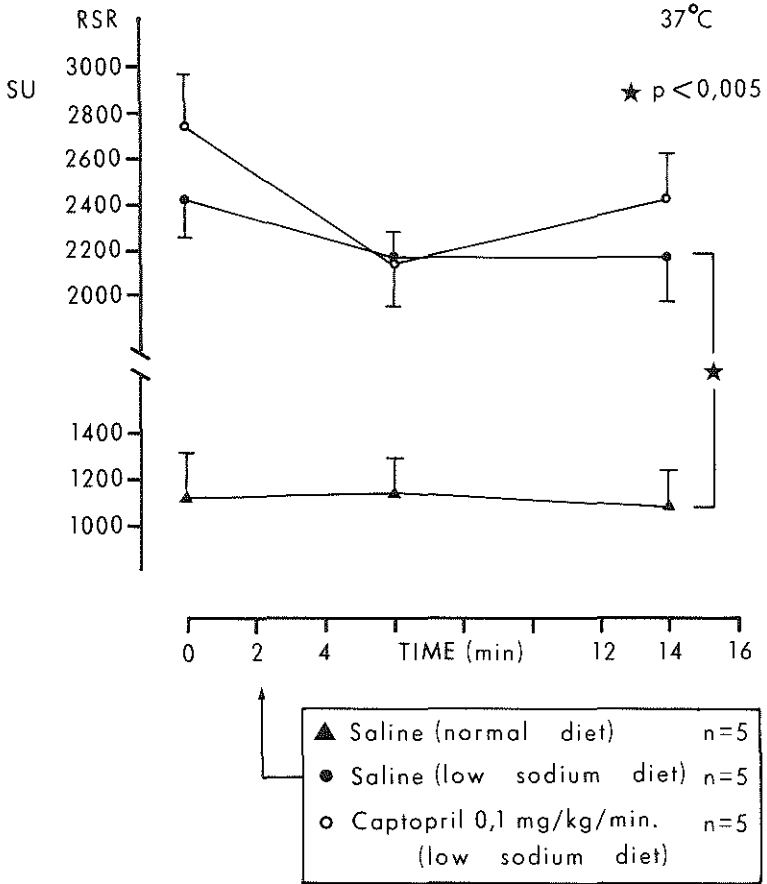


Fig. 11.2 De invloed van captopril (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

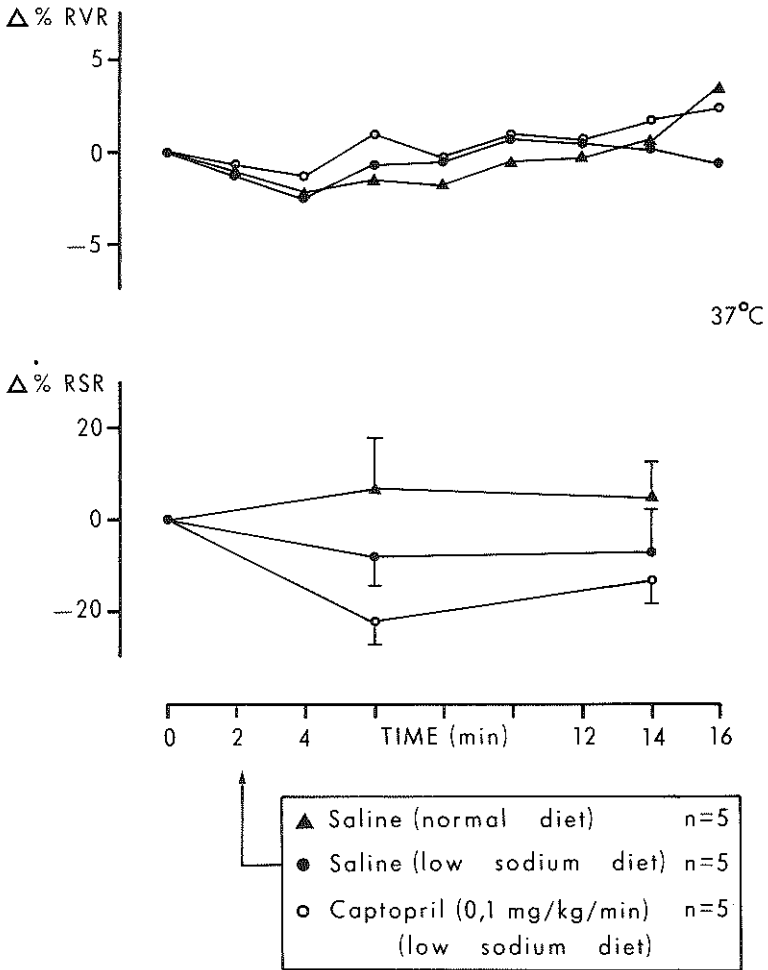


Fig. 11.3 De invloed van captopril (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

onderzoekperiode (n.s.). Procentueel steeg de vaatweerstand $2.6 \pm 1.5\%$.

De reninesecretie daalde van 2747 ± 251 ng A_1 /ml/uur/min tot 2416 ± 293 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$). De procentuele daling was $13 \pm 5\%$.

Groep 3 (contrôle-infusie, normaal dieet; perfusiedruk 110 ± 3 mmHg) toonde een doorstroming van 8.3 ± 0.5 ml/min. aan het begin resp. 8.0 ± 0.4 ml/min. aan het eind van de onderzoekperiode (n.s.). Procentueel steeg de vaatweerstand $3.7 \pm 3.1\%$.

De reninesecretie veranderde niet significant: 1113 ± 208 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin en 1093 ± 154 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de onderzoekperiode. Procentueel was de daling $-4.5 \pm 8.8\%$.

Wanneer de resultaten van de captopril-infusie vergeleken worden met de contrôle-waarnemingen (groep 2) blijkt dat captopril-infusie geen verandering in vaatweerstand veroorzaakt. Ook de verschillen in reninesecretie zijn niet significant ($F 1.6$). Opvallend is het verschil in reninesecretie wanneer groep 1 en 2 (zoutarm dieet) vergeleken worden met groep 3 (normaal dieet). Na een zoutarm dieet is de reninesecretie van de geïsoleerde nier duidelijk verhoogd ($F 45.5$, $p < 0.005$).

Angiotensine II was in de uitstroomvloeistof niet aantoonbaar.

Beschouwing

In de geïsoleerde nier is conversie van renine tot angiotensine I aanwezig, zoals bewezen wordt door de vasoconstrictie na infusie van angiotensine I (Dalavos, 1978; Casellas e.a., 1980; Chiba e.a., 1982; Mimran e.a., 1982; Ogihura e.a., 1982). In hoofdstuk 3.3 werden de histochemische aanwijzingen voor het bestaan van een intrarenaal renine-angiotensine systeem aangegeven. Onze experimenten tonen dat in de geïsoleerde nier (afkomstig van ratten die een zoutarm dieet kregen) de vaattonus niet

door een dergelijk intrarenaal systeem wordt beïnvloed. Ook anderen (Casellas e.a., 1980; Chiba e.a., 1982; Mimran e.a., 1982; Ogihura e.a., 1982) vonden in de geïsoleerde nier (afkomstig van ratten die een normaal dieet kregen) geen effect van captopril op de nierdoorstroming.

De dosis captopril in onze experimenten is volgens de literatuur voldoende om de omzetting van angiotensine I in angiotensine II in de geïsoleerde rattenier te remmen (Chiba e.a., 1982).

Terwijl captopril bij de mens een stijging van de plasma renine-activiteit veroorzaakt (Brunner e.a., 1979, 1980; Johnston e.a., 1979; Abe e.a., 1980; Crantz e.a., 1980; Hollenberg e.a., 1980; Lijnen e.a., 1980; Mimran e.a., 1980; Schalekamp e.a., 1980; Guillevin e.a., 1981) blijkt infusie in de geïsoleerde nier geen effect te hebben op de reninesecretie. Dit resultaat sluit een rechtstreeks stimulerende invloed van captopril op de juxtaglomerulaire cel vrijwel uit. Onze bevindingen zijn in overeenstemming met de opvatting dat de stijging van het renine tijdens behandeling met captopril veroorzaakt wordt door het wegvallen van de negatieve "feed back" van angiotensine II op de reninesecretie.

Angiotensine II wordt volgens recent onderzoek op dezelfde plaats in het juxtaglomerulaire apparaat gevonden als het renine (Celio en Inagami, 1981; Taugner en Hackenthal, 1981; Taugner e.a., 1982; Naruse e.a., 1982). Celio en Naruse veronderstellen dat er plaatselijke synthese in de juxtaglomerulaire cel plaatsvindt, terwijl Taugner en Hackenthal neigen tot de opvatting dat de cel angiotensine uit het bloed opneemt. In de perfusievloeistof konden wij geen angiotensine II aantonen.

Zoutarm dieet doet de granulatie van de juxtaglomerulaire cel toenemen (Pitcock en Hartroft, 1958; Edelman en Hartroft, 1961; Hartroft en Hartroft, 1961). Wanneer de

renineconcentratie in de nier gemeten wordt, blijkt deze dan ook toegenomen te zijn (Mendelsohn e.a., 1979; Iwao en Michelakis, 1981). Ook wordt gevonden dat de reninesecretie van niercouples door een zoutarm dieet toeneemt (Lopez e.a., 1978; Braverman e.a., 1981). Omgekeerd doet zoutbelasting in combinatie met DOCA toediening de granulatie van de juxtaglomerulaire cellen afnemen (Tobian e.a., 1959). Bij perfusie van geïsoleerde nieren, afkomstig van ratten die op deze manier zijn voorbehandeld, wordt dan ook een sterk verminderde reninesecretie gevonden (Vandongen en Tunney, 1980).

Bovenstaande experimenten tonen aan dat een zoutarm dieet, gedurende twee weken voor de perfusie, de reninesecretie na de isolatie meer dan verdubbelt. De renale vaatweerstand verschilt niet van het niveau gevonden bij perfusie van nieren die afkomstig zijn van ratten die een dieet met een normaal zoutgehalte hebben gebruikt.

11.3. Hypotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier wordt geïsoleerd zoals in hoofdstuk 6 beschreven en doorstroomd bij 32°C met de aangepaste perfusievloeistof (I). Na 2 minuten in de onderzoeksperiode werd 0.1 mg/kg/min. captopril geïnfundeed (n=7).

Resultaten (fig. 11.4 en 11.5)

De doorstroming daalde van 10.4 ± 0.6 ml/min. aan het begin van de waarnemingsperiode tot 9.7 ± 0.7 ml/min. aan het eind ($p < 0.05$). De vaatweerstand toonde het tegengestelde patroon (de perfusiedruk was constant, 113 ± 4 mmHg). Procentueel nam de vaatweerstand $7.9 \pm 2.6\%$ toe. De reninesecretie daalde van 871 ± 136 ng A_1 /ml/uur/min tot 402 ± 25 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.005$). Procentueel was de daling $51 \pm 5.2\%$.

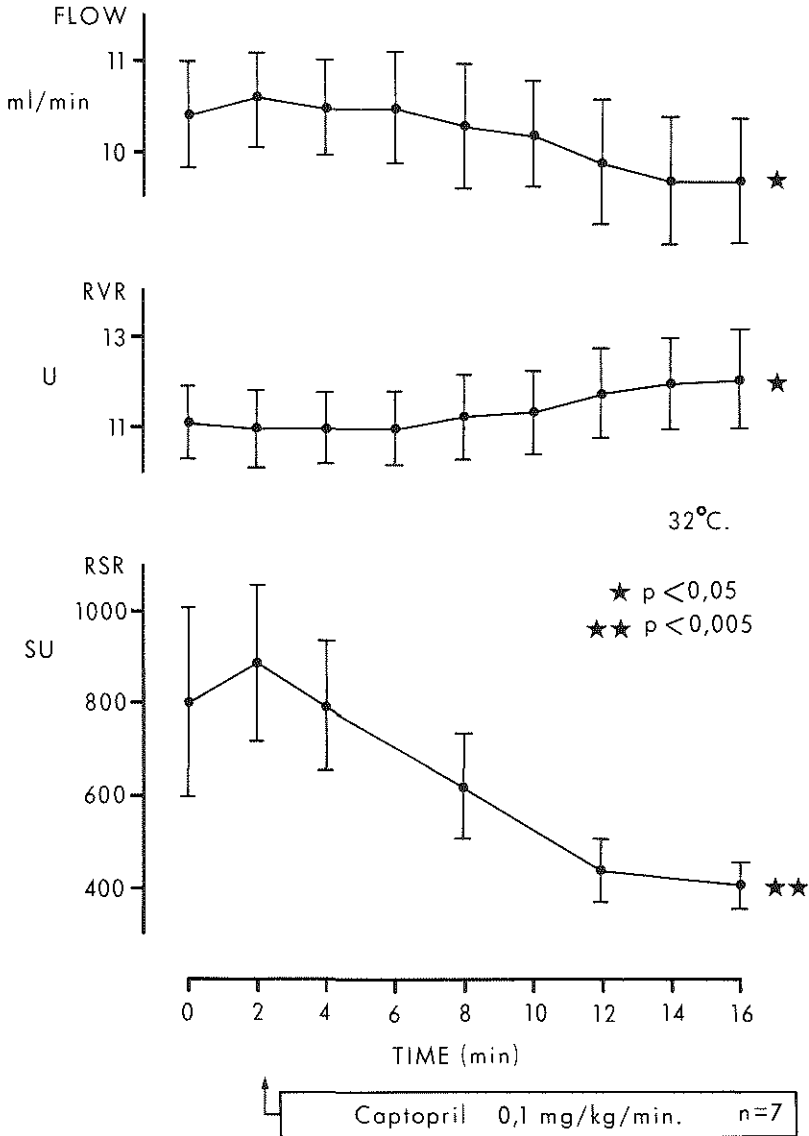


Fig. 11.4 De invloed van captopril (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie. De doorstroming is aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen ($p < 0,05$), ook geldt dit voor de reninesecretie ($p < 0,005$).

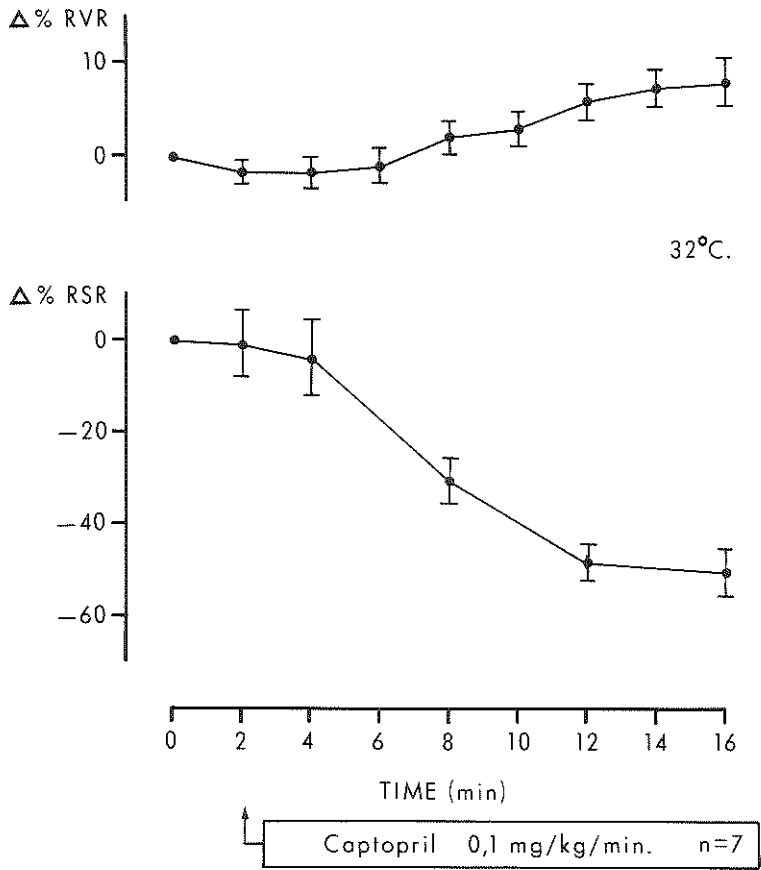


Fig. 11.5 De invloed van captopril (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie.

Beschouwing

Ondanks infusie van captopril tijdens hypotherme perfusie daalt de doorstroming en wordt de reninesecretie geremd.

Geconcludeerd kan worden dat de remming van de reninesecretie door hypotherme perfusie niet veroorzaakt wordt door intrarenale angiotensine II vorming.

11.4. Conclusies

Captopril heeft geen invloed op het vaatgedrag van de geïsoleerde rattenier. Ook de reninesecretie wordt door captopril niet beïnvloed. Dit is in overeenstemming met de opvatting dat de stijging van het renine, tijdens behandeling met captopril, veroorzaakt wordt door het wegvallen van de negatieve feedback van angiotensine II op de reninesecretie.

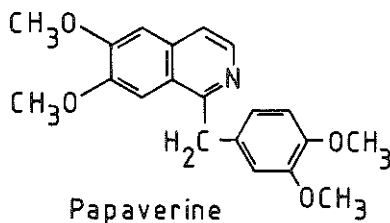
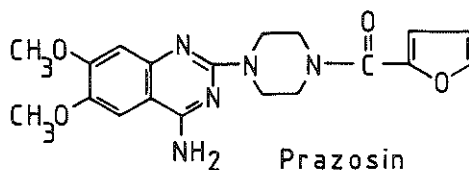
Natriumarm dieet is een krachtige stimulus voor de reninesecretie in de geïsoleerde nier. De vorming van de reninesecretie door hypotherme perfusie wordt niet veroorzaakt door intrarenale vorming van angiotensine II.

H O O F D S T U K X I I

DE INVLOED VAN PRAZOSINE OP NIERDOORSTROMING EN
RENINESECRETIE IN DE GEISOLEERDE RATTENIER

12.1. Inleiding en vraagstelling

Prazosine (Minipress®) is een chinazolinederivaat waarvan de structuur enige overeenkomst vertoont met papaverine:



Constantine e.a. (1974) veronderstelden dat prazosine langs een tweetal wegen bloeddrukdaling veroorzaakt: α -adrenerge blokkade en een direct relaxerende werking op de vaatwand. Deze directe relaxerende werking werd verondersteld op grond van de waarneming dat prazosine de vaatweerstand in de voorpoot van de hond, na voorbehandeling met hexamethonium, deed dalen.

Later onderzoek bij intacte proefdieren leerde echter dat het effect van prazosine in principe uitsluitend door α_1 -adrenerge blokkade wordt veroorzaakt.

Zo kan het hypotensieve effect van prazosine voorkomen worden door ganglionblokkade en α -adrenerge blokkade (Graham e.a., 1977; Oates e.a., 1977). De daling van de vaatweerstand is, naar bij de rat gebleken is, afhankelijk van intacte sympathische innervatie (Wood e.a., 1975). Prazosine blokkeert het pressoreffect van nora-drenaline-infusie, maar niet de effecten van angiotensine II infusie (Graham e.a., 1977).

Het α -blokkerende effect van prazosine is volgens het huidige inzicht toe te schrijven aan een selectieve blokkade van de postsynaptische α_1 -receptor (Cambridge e.a., 1977; Doxey e.a., 1977). Prazosine is in dit opzicht zeer selectief: de binding aan de α_1 -receptor is 10.000 maal sterker dan aan de α_2 -receptor (Hoffman en Lefkowitz, 1980).

Prazosine verlaagt de bloeddruk (Constantine e.a., 1974; Stokes en Weber, 1974; Graham e.a., 1974, 1977; Wood e.a., 1975; Fernandes e.a., 1975; Brogden e.a., 1977; Karlberg e.a., 1979; Wester, 1979) overeenkomstig het farmacologische mechanisme door verlaging van de vaatweerstand (Fernandes e.a., 1975; Brogden e.a., 1977; Koshy e.a., 1977; Wester, 1979).

De nierdoorstroming wordt door prazosine niet beïnvloed (Koshy e.a., 1979; Wester, 1979).

Over de effecten op de plasma renine-activiteit bestaat in de literatuur geen overeenstemming. Men heeft zowel een daling (Graham e.a., 1974; Karlberg e.a., 1979) een stijging (Fernandes e.a., 1975) als een onveranderd niveau waargenomen (Stokes en Weber, 1974; Wood e.a., 1975; Koshy e.a., 1977; Wester, 1979).

Morganti e.a. (1981) vonden na infusie van prazosine bij de mens, in een niet vaso-actieve dosering, een stijging van de plasma renine-activiteit.

Omtrent de invloed van prazosine op de geïsoleerde nier zijn geen gegevens bekend. De reden hiervoor is dat algemeen wordt aangenomen dat in de geïsoleerde nier geen adrenerge activiteit aanwezig is. Om te bestuderen of α -adrenerge activiteit in de (in situ) geïsoleerde nier aanwezig zou kunnen zijn, onderzochten wij de invloed van prazosine in ons model tijdens normotherme perfusie (12.2.), hypotherme perfusie (12.3) en hypotherme perfusie na voorafgaande normotherme perfusie (12.4). De invloed van prazosine bij hypotherme perfusie werd bestudeerd om een antwoord te vinden op de vraag, of de remming van de reninesecretie het gevolg zou kunnen zijn van α -adrenerge stimulatie.

12.2. Normotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd volgens de in hoofdstuk 6 beschreven techniek en prazosine werd geïnfundeed tijdens normotherme perfusie. Prazosine was opgelost in gedestilleerd water waarvan door toevoeging van HCL de pH op 3.1 was gebracht. De reden om de pH te verlagen was verbetering van de oplosbaarheid (informatie Pfizer). Het studieprotocol was als volgt:

Groep 1:

Prazosine 0.01 mg/kg/min (groep 1a; n=7). De infusie werd na 2 minuten in de onderzoeksperiode gestart. Bij de controle-perfusies werd gedestilleerd water (pH 3.1) geïnfundeed (groep 1b; n=7).

Groep 2:

Prazosine 0.1 mg/kg/min (groep 2a; n=5); bij de controle-perfusies werd wederom gedestilleerd water (pH 3.1) geïnfundeed (groep 2b; n=5). (Bij afwisseling met de experimenten in groep 2 werd 0.001 mg/kg/min prazosine geïnfundeed; deze lage dosis had geen invloed op de vaattonus en de reninesecretie).

Resultaten

Groep 1 (fig. 12.1 en 12.2)

In groep 1a (prazosine 0.01 mg/kg/min, perfusiedruk 114 ± 2 mmHg) was de doorstroming aan het begin van de waarnemingsperiode $9,6 \pm 0,2$ ml/min; aan het eind $9,4 \pm 0,2$ ml/min (n.s.). Procentueel steeg de vaatweerstand $3,5 \pm 0,6\%$. De reninesecretie veranderde niet significant (1179 ± 152 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin resp. 1208 ± 157 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind). Procentueel was de stijging $7,7 \pm 11,7\%$.

Bij de contrôle-perfusies (groep 1b, perfusiedruk $112 \pm 1,8$ mmHg) daalde de doorstroming significant van $9,5 \pm 0,5$ ml/min aan het begin tot $8,9 \pm 0,5$ ml/min aan het eind van de perfusie ($p < 0,025$). Procentueel steeg de vaatweerstand $13,3 \pm 0,7\%$. De reninesecretie veranderde niet significant (1007 ± 147 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin, resp. 963 ± 194 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind). De procentuele daling van de reninesecretie bedroeg $3,4 \pm 9,9\%$.

Vergelijking van de procentuele veranderingen in vaatweerstand toont dat prazosine in een dosis van 0.01 mg/kg/min een geringe, maar significante vasodilatatie in het verloop van de perfusie veroorzaakt ($F 32,5$; $p < 0,005$). De veranderingen in de reninesecretie zijn niet significant.

Groep 2 (fig. 12.3 en 12.4)

In groep 2b (prazosine 0.1 mg/kg/min, perfusiedruk 110 ± 2 mmHg) nam de doorstroming aanvankelijk niet significant toe van $8,6 \pm 0,3$ ml/min tot $8,9 \pm 0,4$ ml/min (na 8 minuten), aan het eind van de waarnemingsperiode bedroeg de doorstroming $8,5 \pm 0,4$ ml/min (n.s.). Procentueel steeg de vaatweerstand aan het eind van de perfusie met $1,3 \pm 2\%$. De reninesecretie veranderde niet significant (1149 ± 268 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin, resp. 1261 ± 234 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind). Procentueel steeg de reninesecretie $24,5 \pm 18\%$.

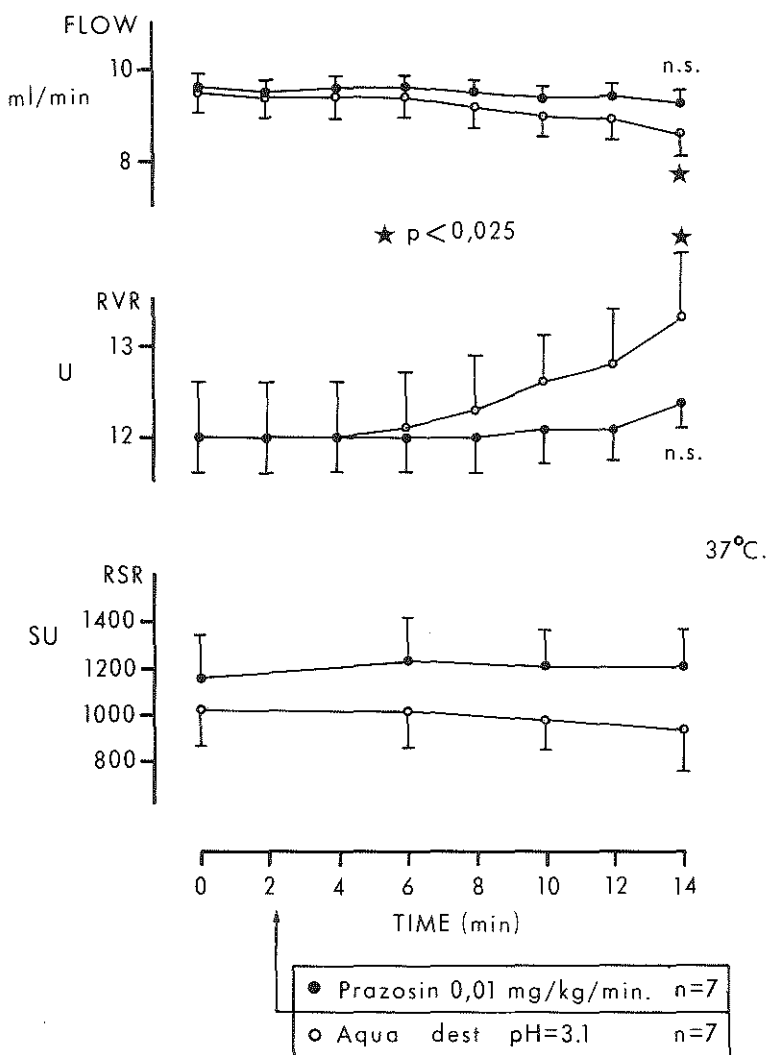


Fig. 12.1 De invloed van prazosine (0,01 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie. In de contrôlegroep is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen ($p < 0,025$).

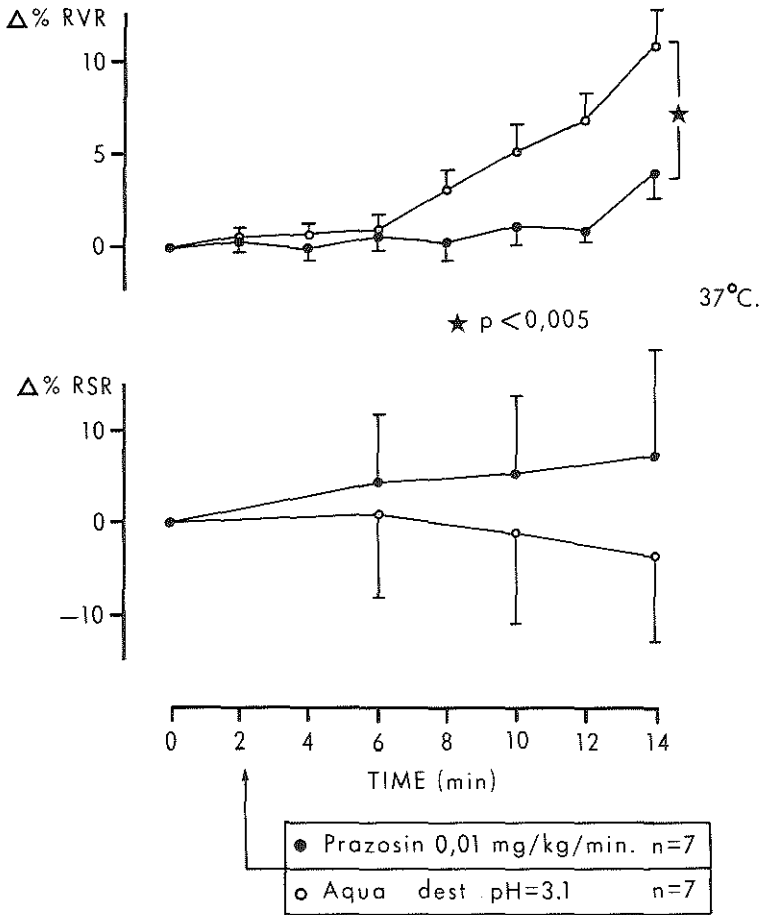


Fig. 12.2 De invloed van prazosine (0,01 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie.

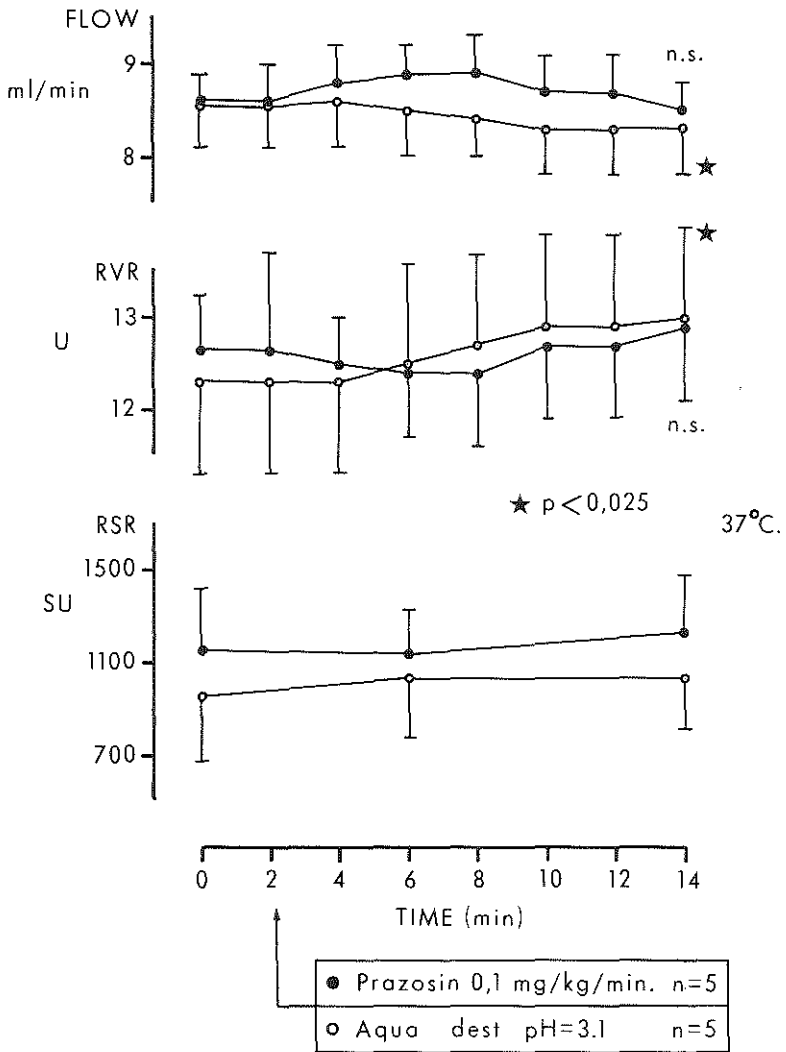


Fig. 12.3 De invloed van prazosine (0,1 mg/kg/min.) tijdens normotherme perfusie. In de contrôlegroep is de doorstroming aan het eind van de perfusie t.o.v. het begin afgenomen ($p < 0,025$).

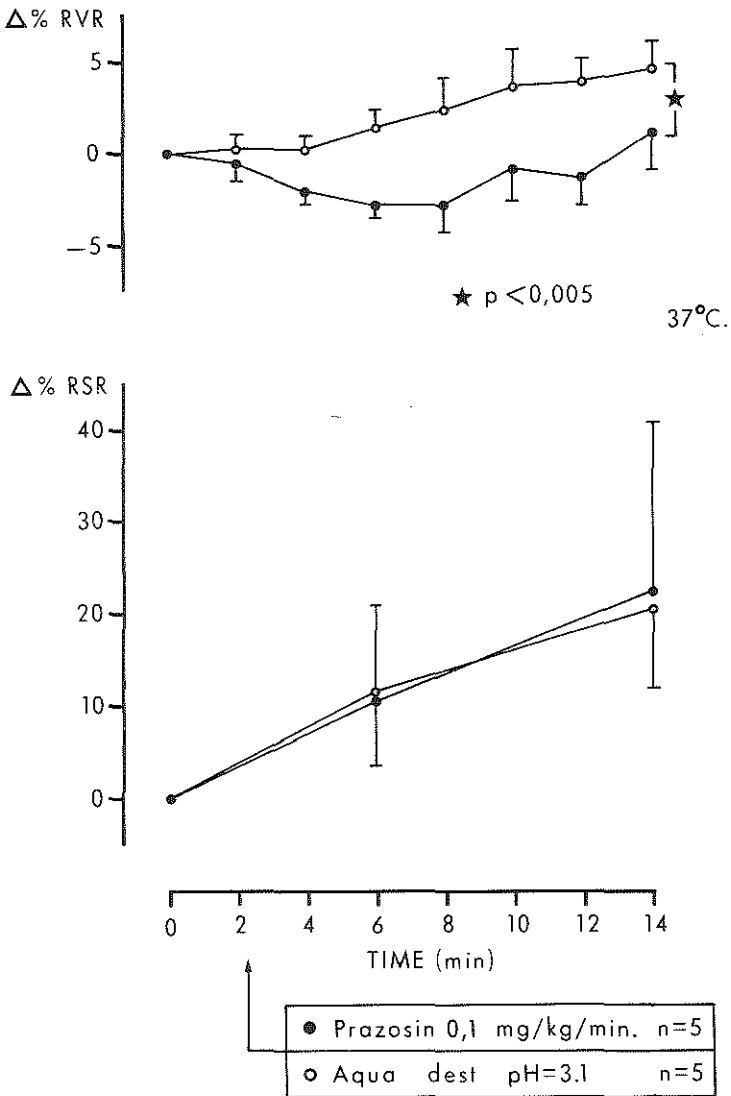


Fig. 12.4 De invloed van prazosine (0,1 mg/kg/min.) tijdens normtherme perfusie.

Bij de contrôle-perfusies (perfusiedruk 105 ± 6 mmHg) daalde de doorstroming van 8.6 ± 0.4 ml/min tot 8.3 ± 0.5 ml/min ($p < 0.025$). Procentueel steeg de vaatweerstand $4.9 \pm 1.5\%$. De reninesecretie steeg van 963 ± 272 ng A_1 /ml/uur/min tot 1042 ± 219 ng A_1 /ml/uur/min (n.s.). Procentueel was de toename $21.1 \pm 7\%$.

Vergelijking van de procentuele veranderingen in vaatweerstand toont dat prazosine (0.1 mg/kg/min) in de geïsoleerde nier een geringe, maar significante vasodilatatie veroorzaakt in het verloop van de perfusie (F 70.8; $p < 0.005$). De reninesecretiesnelheid wordt door prazosine niet beïnvloed.

12.3. Hypotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd op de in hoofdstuk 6 beschreven manier en doorstroomd bij 32°C met de aangepaste perfusievloeistof (I). Na 2 minuten in de onderzoeksperiode werd prazosine (opgelost in gedestilleerd water, pH 3.1) geïnfundeed. Het studieprotocol was als volgt: Afwisselend werden perfusies uitgevoerd waarbij prazosine werd geïnfundeed in een dosis van 0.01 mg/kg/min (groep 1, n=5) en 0.1 mg/kg/min (groep 2, n=5). Ook werden 5 contrôle-perfusies verricht (groep 3).

Resultaten (fig. 12.5 en 12.6)

In groep 1 (perfusiedruk 113 ± 1 mmHg) toonde de doorstroming voor infusie een lichte spontane stijging van 9.9 ± 0.4 tot 10.1 ± 0.4 ml/min ($p < 0.05$); na infusie van prazosine 0.01 mg/kg/min steeg de doorstroming tot maximaal 10.6 ± 0.5 ml/min ($p < 0.01$).

De procentuele daling van de vaatweerstand aan het eind van de perfusie was $4.8 \pm 0.9\%$.

De reninesecretie daalde van 1098 ± 217 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin van de onderzoeksperiode tot 451 ± 76 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind ($p < 0.025$). Procentueel was de daling $56.0 \pm 5.2\%$.

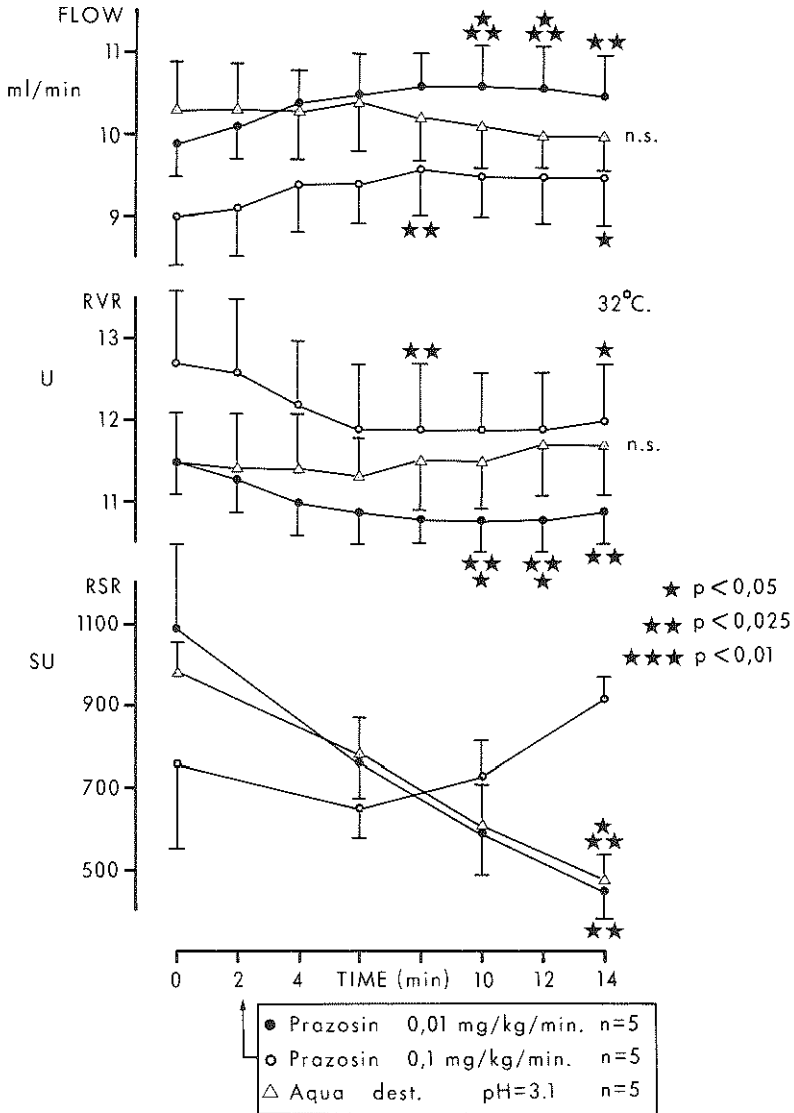


Fig. 12.5 De invloed van prazosine tijdens hypotherme perfusie. Na infusie van 0,01 mg/kg/min. prazosine bereikt de doorstroming een maximum na 10 en 12 minuten ($p < 0,01$ t.o.v. 0 minuten); ook aan het eind van de perfusie is de toename significant. Na infusie van 0,1 mg/kg/min. prazosine bereikt de doorstroming een maximum na 8 minuten ($p < 0,025$ t.o.v. 0 minuten); ook aan het eind van de perfusie is de toename significant. De reninesecretie aan het eind van de perfusie is zowel in de contrölegroep ($p < 0,01$) als na infusie van 0,01 mg/kg/min. prazosine ($p < 0,025$) t.o.v. het begin van de perfusie afgenomen. De toename van de reninesecretie aan het eind van de perfusie na infusie van 0,1 mg/kg/min. prazosine is niet significant.

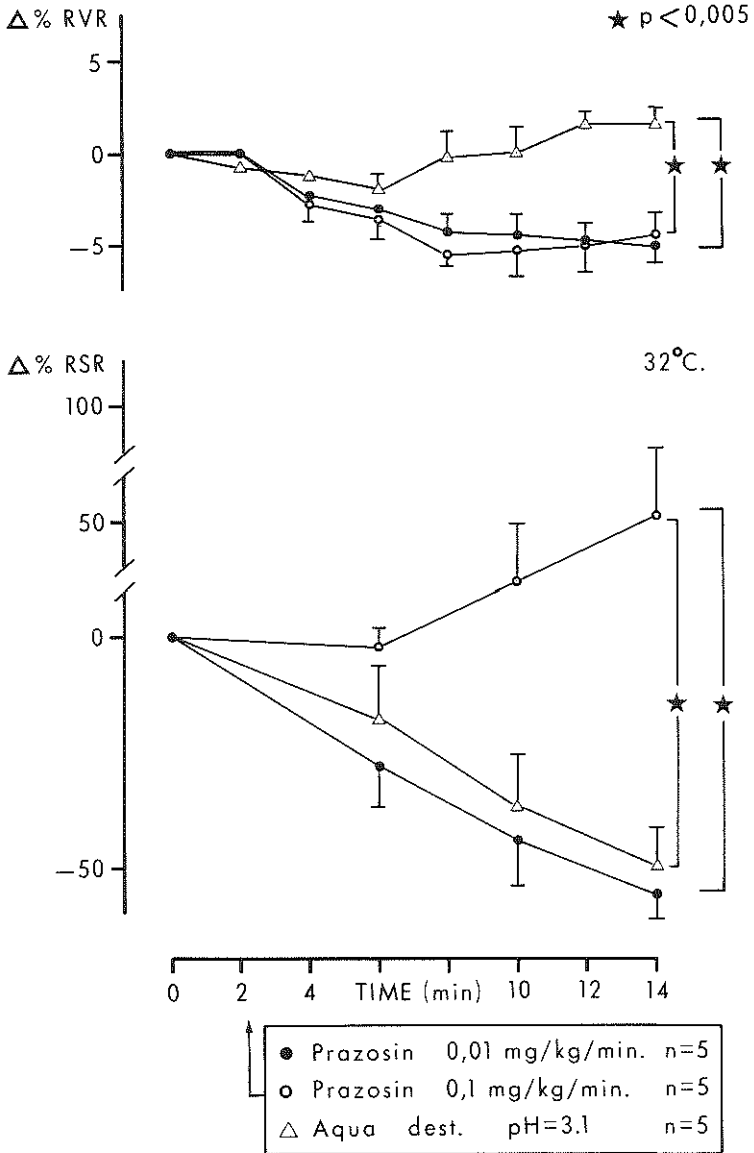


Fig. 12.6 De invloed van prazosine tijdens hypotherme perfusie.

In groep 2 (perfusiedruk 114 ± 1 mmHg) deed prazosine-infusie (0.1 mg/kg/min) de doorstroming toenemen van 9.1 ± 0.6 ml/min tot maximaal 9.6 ± 0.6 ml/min na 8 minuten ($p < 0.025$).

De procentuele daling van de vaatweerstand was $4.7 \pm 1.5\%$. De reninesecretie steeg van 755 ± 200 ng A_1 /ml/uur/min tot 920 ± 42 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind van de perfusie (n.s.). De procentuele stijging van de reninesecretie was $52 \pm 30\%$.

In de contrôle-groep (groep 3, perfusiedruk 115 ± 1 mmHg) was de doorstroming aan het begin van de waarnemingsperiode 10.3 ± 0.6 ml/min, resp. 10.0 ± 0.5 ml/min aan het eind (n.s.).

De procentuele toename van de vaatweerstand was $1.7 \pm 0.9\%$. De reninesecretie daalde van 986 ± 81 ng A_1 /ml/uur/min aan het begin tot 472 ± 75 ng A_1 /ml/uur/min aan het eind ($p < 0.01$). De procentuele daling van de reninesecretie was $50 \pm 9\%$.

Vergelijking van de procentuele veranderingen in vaatweerstand na infusie van prazosine toont dat prazosine in een dosis van zowel 0.01 mg/kg/min (groep 1; $F 108.0$; $p < 0.005$) als 0.1 mg/kg/min (groep 2; $F 112.0$; $p < 0.005$) vasodilatatie veroorzaakt. De veranderingen in vaatweerstand in groep 1 en 2 waren niet verschillend.

Wanneer de procentuele veranderingen in reninesecretiesnelheid worden vergeleken dan blijkt dat prazosine in een dosis van 0.01 mg/kg/min (groep 1) de reninesecretie niet beïnvloedt ($F 0.4$).

Echter bij infusie van prazosine 0.1 mg/kg/min (groep 2) blijkt de reninesecretie ten opzichte van groep 1 ($F 27.7$; $p < 0.005$) en groep 3 ($F 21.6$; $p < 0.005$) significant te zijn toegenomen.

12.4. Hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie

Uitvoering van het onderzoek

De nier werd geïsoleerd op de in hoofdstuk 6 beschreven manier. Gedurende de stabilisatieperiode tot 4 minuten in de onderzoeksperiode werd de nier doorstroomd bij 37°C met de standaardperfusievloeistof. Daarna werd de nier doorstroomd bij 32°C (met de aangepaste perfusievloeistof) (I). Na 8 minuten in de onderzoeksperiode (na 4 minuten hypotherme perfusie) werd de infusie van prazosine resp. gedestilleerd water gestart. Na 12 minuten hypotherme perfusie werd de temperatuur verhoogd tot 37°C en de nier doorstroomd met de standaardperfusievloeistof, terwijl de infusie van prazosine resp. gedestilleerd water werd gecontinueerd. Het protocol was als volgt:

Groep 1: infusie van prazosine 0.01 mg/kg/min (groep 1a; n=6) Bij de controle-experimenten werd gedestilleerd water (pH 3.1) geïnfundeed (groep 1b; n=6).

Groep 2: infusie van prazosine 0.1 mg/kg/min (groep 2a; n=5). Bij controle-experimenten werd gedestilleerd water (pH 3.1) geïnfundeed (groep 2b; n=5).

Resultaten

Groep 1 (fig. 12.7 en 12.8)

In groep 1a (prazosine 0.01 mg/kg/min, perfusiedruk 113 ± 2 mmHg) daalde de doorstroming van 10.0 ± 0.5 ml/min tot 9.8 ± 0.4 ml/min na 4 minuten (n.s.). In het begin van de hypotherme perfusie (vóór prazosine-infusie) daalde de doorstroming tot 9.4 ± 0.5 ml/min na 6 minuten ($p < 0.01$ ten opzichte van 4 minuten). Na starten van de prazosine-infusie nam de doorstroming toe van 9.6 ± 0.5 ml/min (na 8 minuten) tot 10.3 ± 0.5 ml/min na 14 ($p < 0.025$) en 16 minuten ($p < 0.025$). Procentueel daalde de vaatweerstand na starten van de infusie $6.7 \pm 1.1\%$. Na verhogen van de temperatuur daalde de doorstroming tot 9.5 ± 0.4 ml/min ($p < 0.01$; ten opzichte van 16 minuten).

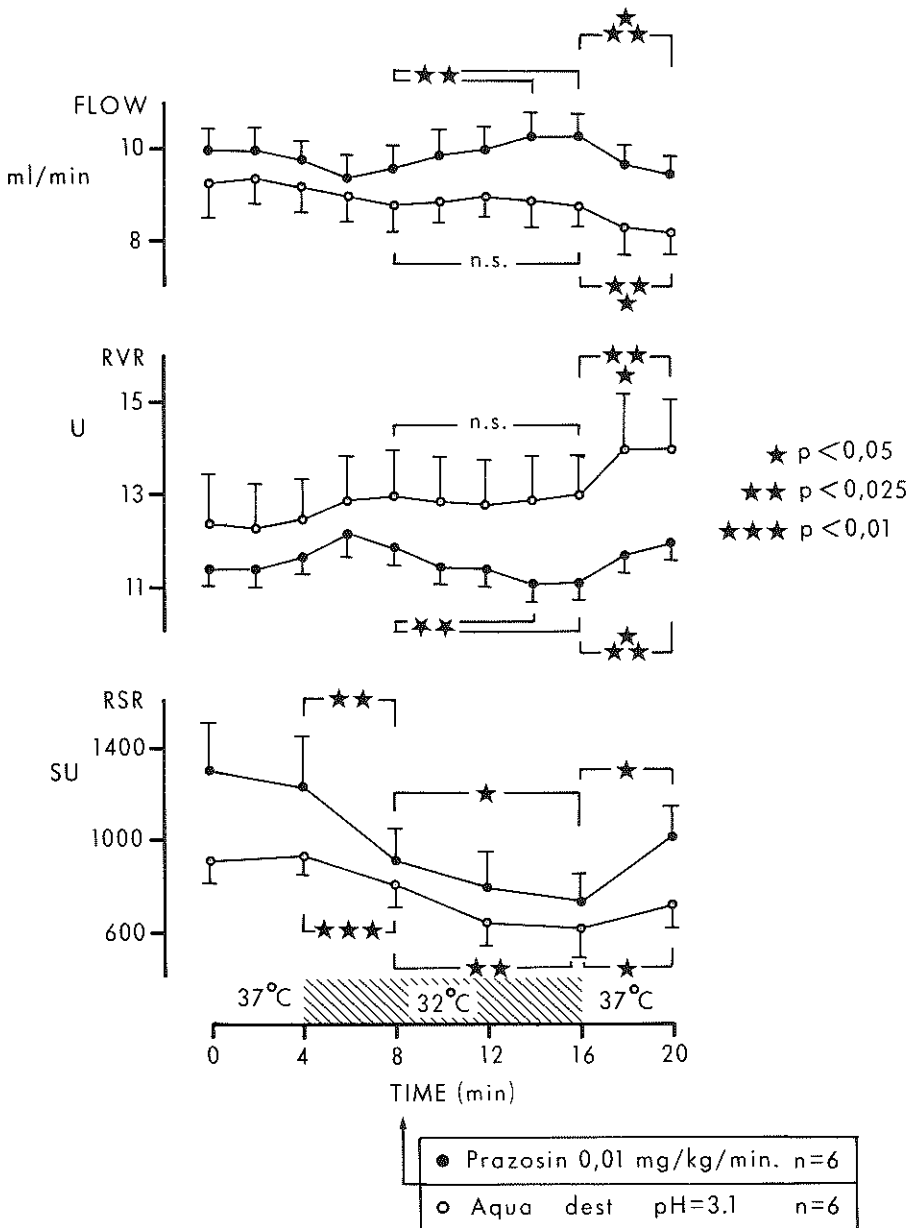


Fig. 12.7 De invloed van prazosine (0,01 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie.

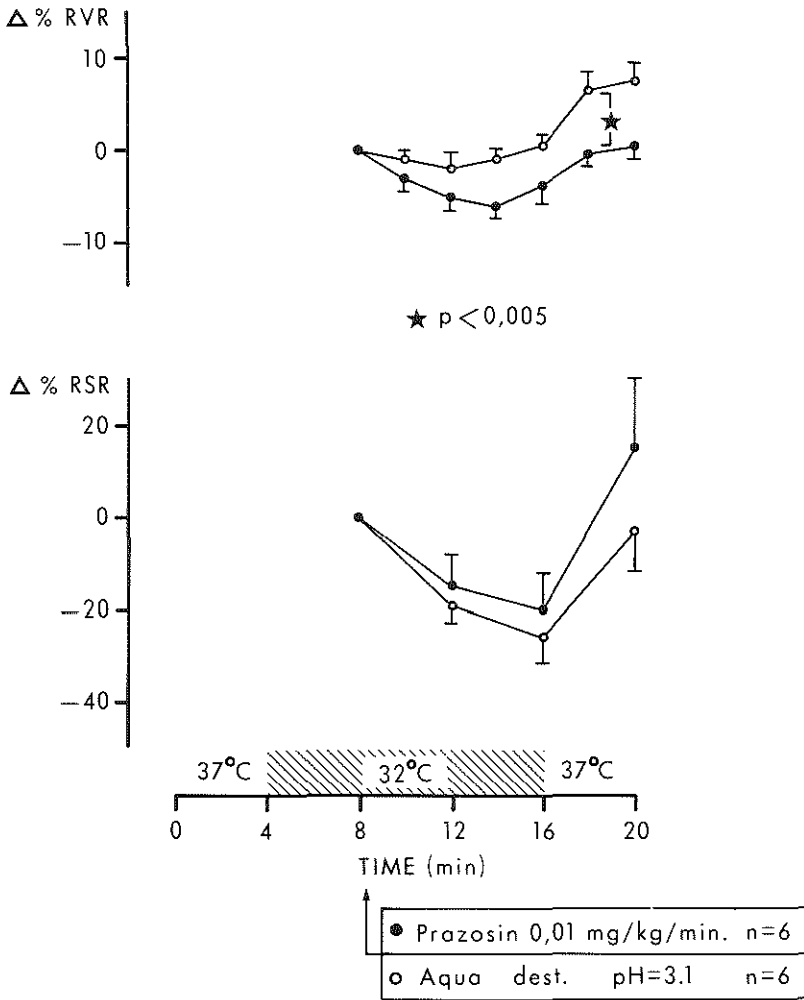


Fig. 12.8 De invloed van prazosine (0,01 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie.

De reninesecretiesnelheid daalde van 1250 ± 240 ng A_1 /ml/uur/min na 4 minuten tot 918 ± 145 ng A_1 /ml/uur/min na 6 minuten ($p < 0.025$). Na starten van de prazosine-infusie daalde de reninesecretie van 918 ± 145 ng A_1 /ml/uur/min (na 8 minuten) tot maximaal 742 ± 125 ng A_1 /ml/uur/min (na 16 minuten; $p < 0.05$). Procentueel was de daling onder prazosine-infusie $19.8 \pm 8.4\%$. Na overschakeling op normotherme perfusie steeg de reninesecretie van 742 ± 125 ng A_1 /ml/uur/min tot 1024 ± 135 ng A_1 /ml/uur/min na 20 minuten ($p < 0.05$).

In de contrôle-groep (groep 1b, perfusiedruk 112 ± 1 mmHg) bleef de doorstroming tijdens normotherme perfusie vrijwel constant $9,3$ ml/min. Na verlaging van de temperatuur daalde de doorstroming tot maximaal 8.8 ± 0.6 ml/min na 8 ($p < 0.05$) en 16 minuten ($p < 0.05$). Procentueel was de toename van de vaatweerstand tussen 8 en 16 minuten $0.3 \pm 0.9\%$.

Na omschakeling op normotherme perfusie daalde de doorstroming tot 8.2 ± 0.5 ml/min ($p < 0.01$, ten opzichte van 16 minuten).

De reninesecretie daalde door hypotherme perfusie van 943 ± 89 ng A_1 /ml/uur/min tot 804 ± 95 ng A_1 /ml/uur/min na 8 minuten ($p < 0.01$). Maximaal nam de reninesecretie af tot 617 ± 125 ng A_1 /ml/uur/min na 16 minuten ($p < 0.005$; ten opzichte van 8 minuten). Procentueel daalde de reninesecretie tussen 8 en 16 minuten $26 \pm 6\%$. Na verhogen van de temperatuur steeg de reninesecretie tot 721 ± 104 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$, ten opzichte van 16 minuten).

In figuur 12.8 zijn de procentuele veranderingen in vaatweerstand en reninesecretie weergegeven na infusie van prazosine (0.01 mg/kg/min) ten opzichte van controle-waarnemingen (uitgangswaarde is de vaatweerstand en reninesecretie na 8 minuten, tijdens hypotherme perfusie).

Infusie van prazosine 0.01 mg/kg/min verlaagt significant de vaatweerstand (F 78.9; $p < 0.005$), terwijl de

remming van de reninesecretie door hypotherme perfusie niet wordt beïnvloed (F 0.3).

Groep 2 (fig. 12.9 t/m 12.11)

In groep 2a (prazosine 0.1 mg/kg/min, perfusiedruk 112 ± 3 mmHg) nam de doorstroming tijdens normotherme perfusie toe van 9.1 ± 0.5 ml/min tot 9.3 ± 0.5 ml/min na 4 minuten (n.s.). Na hypotherme perfusie (voor prazosine-infusie) nam de doorstroming toe van 9.3 ± 0.5 ml/min tot 9.5 ± 0.5 ml/min. (n.s.). Na starten van de prazosine-infusie steeg de doorstroming tot maximaal 10.0 ± 0.5 ml/min. na 12 minuten ($p < 0.01$, ten opzichte van 8 minuten). Procentueel was de daling van de vaatweerstand maximaal $4.8 \pm 0.9\%$. Na verhogen van de temperatuur daalde de doorstroming tot 9.2 ± 0.7 ml/min ($p < 0.025$, ten opzichte van 16 minuten).

De reninesecretie daalde van 1033 ± 107 ng A_1 /ml/uur/min na 4 minuten tot 962 ± 30 ng A_1 /ml/uur/min na verlaging van de temperatuur (n.s.). Na starten van de prazosine-infusie tijdens hypotherme perfusie, steeg de reninesecretie tot maximaal 1134 ± 137 ng A_1 /ml/uur/min na 16 minuten (ten opzichte van 8 minuten, $p < 0.05$). Procentueel was de stijging $25 \pm 17\%$. Na overschakeling op normotherme perfusie steeg de reninesecretie nog verder: 1693 ± 318 ng A_1 /ml/uur/min na 20 minuten (ten opzichte van 16 minuten, $p < 0.025$).

In de contrôle-groep (groep 2b; perfusiedruk 110 ± 2 mmHg) bleef de doorstroming tijdens de 4 minuten normotherme perfusie constant (9.1 ± 0.3 ml/min). Ook trad tijdens de hypotherme perfusie geen significante verandering in de doorstroming op. Na verhoging van de temperatuur daalde de doorstroming van 8.9 ± 0.6 ml/min tot 8.5 ± 0.3 ml/min (n.s.). De reninesecretiesnelheid was 1414 ± 137 ng A_1 /ml/uur/min na 4 minuten en daalde significant na 8 minuten ($p < 0.01$) tijdens hypotherme perfusie. Tijdens infusie van gedestilleerd water daalde de reninesecretie verder ($p < 0.01$ na 16 minuten). Procentueel was de daling tussen 8 en 16 minuten $12 \pm 7.8\%$. Na

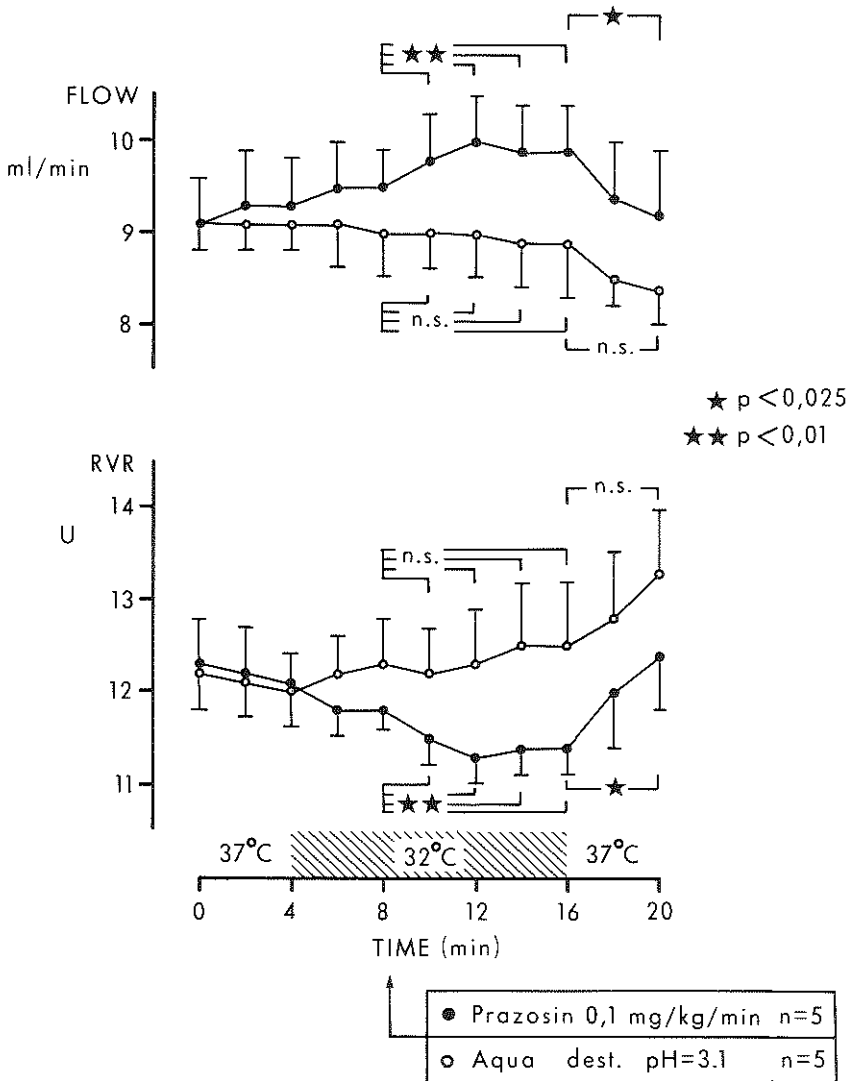


Fig. 12.9 De invloed van prazosine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie.

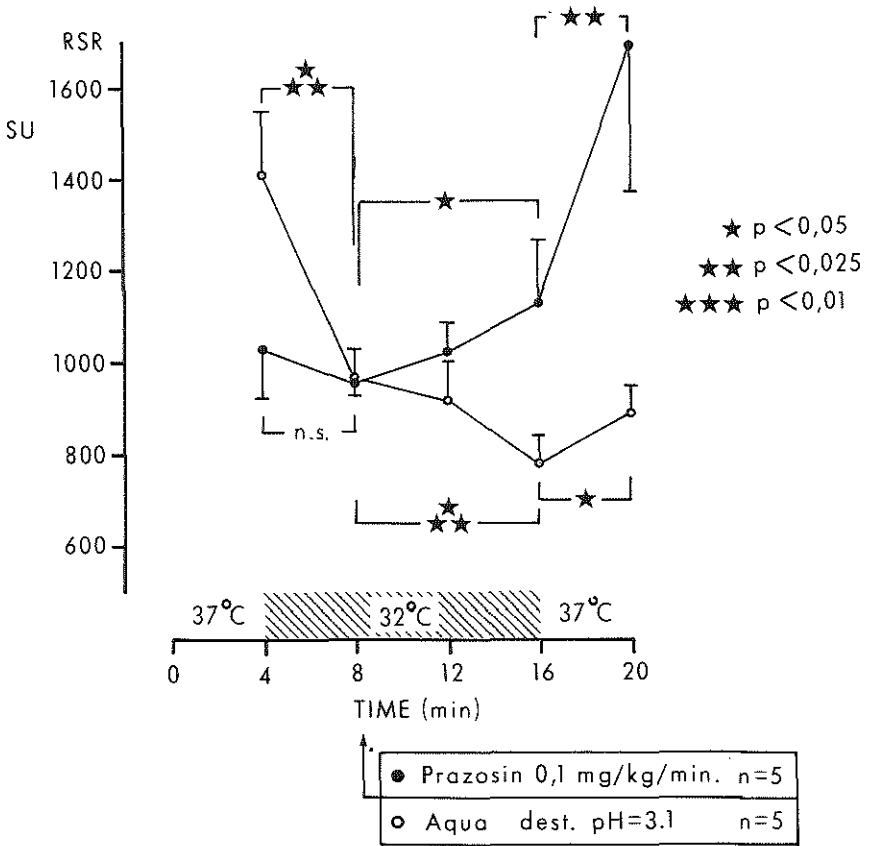


Fig. 12.10 De invloed van prazosine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie.

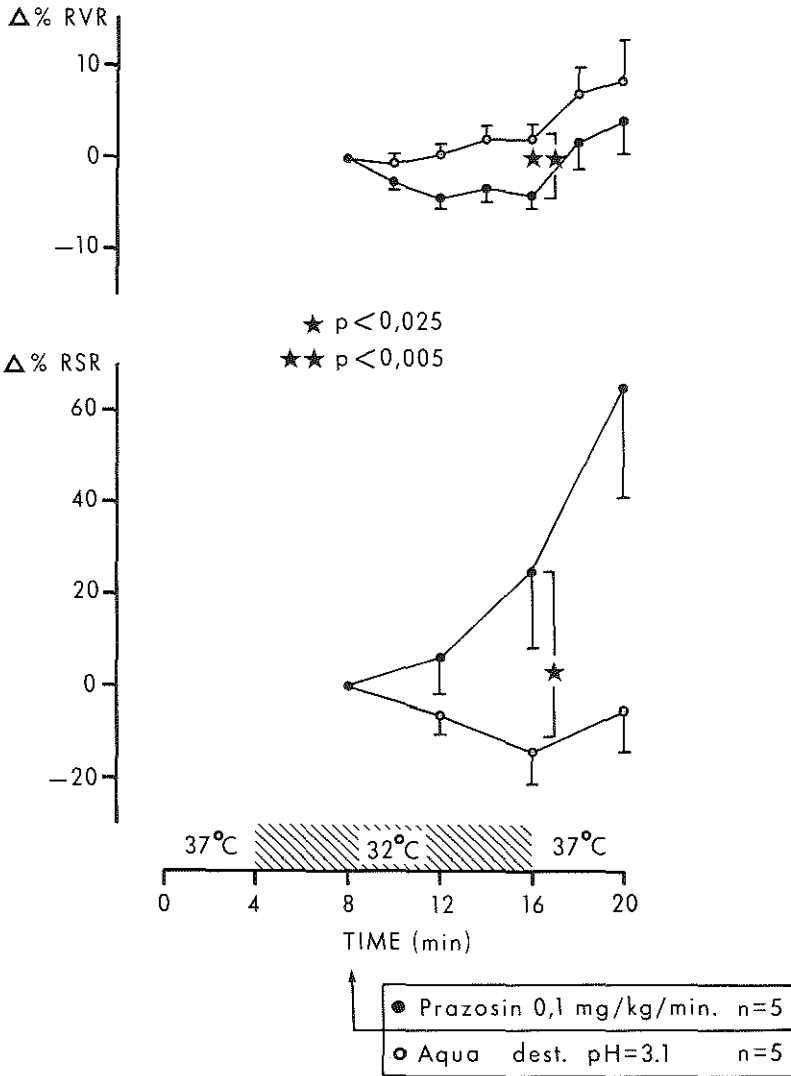


Fig. 12.11 De invloed van prazosine (0,1 mg/kg/min.) tijdens hypotherme perfusie voorafgegaan door normotherme perfusie.

omschakeling van de temperatuur tot 37°C steeg de reninesecretie van 785 ± 59 ng A_1 /ml/uur/min tot 891 ± 63 ng A_1 /ml/uur/min ($p < 0.05$).

In figuur 12.11 zijn de procentuele veranderingen in vaatweerstand en reninesecretie weergegeven na infusie van prazosine ten opzichte van de contrôle-waarnemingen (uitgangswaarde is de vaatweerstand en reninesecretie na 8 minuten tijdens hypotherme perfusie).

Infusie van prazosine 0.1 mg/kg/min verlaagt significant de vaatweerstand ($F 41.0$; $p < 0.005$) terwijl de suppressie van de reninesecretie ten gevolge van hypotherme perfusie wordt opgeheven ($F 6.3$; $p < 0.025$).

12.5. Beschouwing

Infusie van prazosine tijdens normotherme perfusie (12.2) veroorzaakte een geringe, maar significante daling van de vaatweerstand. De basale reninesecretie werd door infusie van prazosine niet beïnvloed.

Aangezien prazosine een selectieve α_1 -antagonistische stof is, kan geconcludeerd worden dat in de in situ geïsoleerde nier nog α -adrenerge activiteit aanwezig is. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de stof een directe vaatverwijding ontplooit zoals Constantine e.a. (1974) als tweede werkingsmechanisme veronderstelden.

Thans wordt echter aangenomen dat het farmacologische effect van prazosine uitsluitend door postsynaptische α_1 -blokkade wordt veroorzaakt (Cavero, 1976; Graham e.a., 1977; Oates e.a., 1977). Intrarenale prazosine-infusie tijdens normotherme perfusie heeft geen stimulerend effect op de reninesecretie zoals Morganti e.a. (1981) bij de mens vonden. Conclusies omtrent de invloed van de α -receptor op de reninesecretie kunnen echter niet uit bovenstaand onderzoek worden getrokken aangezien van een niet-gestimuleerde toestand wordt uitgegaan. Opvallend bij de contrôle-experimenten is de dissociatie tussen vaatgedrag en reninesecretie: ofschoon vasoconstrictie optreedt, wordt de reninesecretie niet beïnvloed.

Door infusie van prazosine tijdens hypotherme perfusie (12.3) werd aangetoond dat α -adrenerge activiteit ook onder deze omstandigheid aanwezig zou kunnen zijn. Prazosine veroorzaakte een significante verlaging van de vaatweerstand en (bij hoge dosering) een toeneming van de reninesecretie. Aangezien de geperfundeerde nier in situ gelaten is, is een theoretische mogelijkheid dat nog adrenerge activiteit in de zenuwen aanwezig was. Opgemerkt dient hierbij te worden dat de rat bij het starten van de hypotherme perfusie nog in leven was. Echter ook de resultaten van hypotherme perfusie, voorafgegaan door normotherme perfusie (12.4), wijzen in de richting van aanwezige α -adrenerge activiteit. Door de kortdurende perfusie terwijl de rat nog in leven was, werd het resultaat dus niet veroorzaakt.

Tijdens contrôle-experimenten bij 32°C (n=6) en 37°C (n=7) werden catecholaminen (noradrenaline en adrenalin) in de uitstroomvloeistof bepaald. De monsters waren afgenomen na 3 minuten in de stabilisatieperiode, alsmede na 3 en 15 minuten in de onderzoeksperiode. De uitkomsten waren lager dan de betrouwbaarheidsgrens van de bepaling, zodat hieraan geen conclusies kunnen worden ontleend.

Door infusie van prazosine nam de doorstroming toe, terwijl hypothermie op zich reeds vasodilatatie veroorzaakt (zie hoofdstuk 8). In huidvaten wordt onder hypotherme omstandigheden een verminderde afbraak van de neurotransmitters gevonden, tesamen met een toegenomen affiniteit van de post-synaptische α -receptor en een verminderde heropname (Janssens en Vanhoutte, 1978a, 1978b). In geïsoleerde konijnieren vonden Fonteles en Karow (1976) een toegenomen affiniteit van de α -receptor voor noradrenaline. Wanneer men daarbij betreft de hoge concentratie bindingsplaatsen voor (^3H) prazosine in de cortex van de rattenier (McPherson en Summers, 1981) is het denkbaar dat prazosine de doorstroming doet toenemen

door het opheffen van de door de hypothermie geïnduceerde α -adrenerge activatie.

Het lijkt paradoxaal dat bij 32°C de doorstroming toegenomen is ondanks de vasoconstrictie. Een (hypothetische) verklaring van de toegenomen doorstroming bij hypotherme perfusie is het opengaan van arterio-veneuze shunts. Om-trent het bestaan van dergelijke shunts bestaat geen overeenstemming. Onderzoekingen waarbij de niervaatboom door kleurstofinjectie of corrosie (waarbij eerst plastic materiaal of synthetisch rubber wordt ingespoten) werd onderzocht, hebben tegenstrijdige uitkomsten gegeven (voor overzicht zie Ljunquist, 1963). Beide onderzoekstechnieken hebben als nadeel dat door het opspuiten vaatruptuur met vorming van "pseudo-vaatjes" kan optreden.

Bij histologisch onderzoek van menselijke nieren zijn arterio-veneuze anastomosen waargenomen op het niveau van de afferente arteriole in de juxtamedullaire cortex (Cavalli e.a., 1981). Ook in de rattenier zijn bij electronenmicroscopisch onderzoek aanwijzingen van "shunting" in dit gebied gevonden (Casellas en Muiesan, 1981).

Onze technische voorzieningen waren niet toereikend om de hypothese, dat de "shunting" de doorstroming bij hypotherme perfusie stijgt, verder te onderbouwen.

De remming van de reninesecretie tijdens hypotherme perfusie blijkt op grond van bovenstaande experimenten veroorzaakt te kunnen worden door een suppressief werkende verhoogde α -adrenerge activiteit. Infusie van prazosine in hoge dosis (0.1 mg/kg/min) voorkomt de suppressie, hetgeen aanduidt dat zich (onder hypotherme condities) een α_1 -receptor op de juxtaglomerulaire cel zou kunnen bevinden. Deze receptor zou een remmende invloed hebben op de reninesecretie. In de experimenten blijkt een dissociatie tussen de reactie van de reninesecretie en die van de vaatweerstand: de vasodilatatie was bij beide doseringen identiek, echter alleen na infusie van 0.1 mg

prazosine/kg/min werd een effect op de reninesecretie gezien (12.3 en 12.4).

Omtrent de rol van de α -receptor op de reninesecretie bestaat geen overeenstemming. In de literatuur vindt men het ontbreken van een invloed (Michelakis en McAllister, 1972; Johnson e.a., 1976a) een stimulerende invloed (Winer e.a., 1969; Leenen e.a., 1975; Fray, 1976a; Cooté e.a., 1972; Powis e.a., 1979; Blair e.a., 1979, 1981) en een remmende invloed (Vandongen en Peart, 1974; Pettinger e.a., 1976; Strang, 1978; Graham en Pettinger, 1979; Ayers e.a., 1981; Morganti e.a., 1981; Pedrinelli e.a., 1981).

Wanneer er sprake is van een remmende invloed van de α -receptor op de reninesecretie kan men zich afvragen of deze rol vervuld wordt door de α_1 - dan wel de α_2 -receptor. Strang (1978) vond in de geïsoleerde rattenier een remmende invloed van de α_1 -agonist phenylephrine op de door isoproterenol gestimuleerde reninesecretie. Anderen (Pettinger e.a., 1976; Graham en Pettinger, 1979) zien een rol voor de (presynaptische) α_2 -receptor. Bovenbesproken experimenten zijn niet in tegenspraak met de hypothese dat zich (bij hypotherme perfusie) ter plaatse van de juxtaglomerulaire cel een α_1 -receptor bevindt, welke de reninesecretie kan remmen. Op grond van onze onderzoeken kan geen uitspraak worden gedaan over de vraag of deze receptor in vivo de reninesecretie bemiddelt.

In niercoupes vonden Corwin e.a. (1982) dat na verlaging van de temperatuur van 37°C tot 20°C α -stimulatie (phenylephrine) de reninesecretie remde; daarentegen had β -stimulatie (isoproterenol) bij 20°C geen invloed. Isoproterenol stimuleerde wel bij 37°C de reninesecretie; terwijl phenylephrine geen remming veroorzaakte. Wanneer de coupes bij 20°C gedurende 1 uur geïncubeerd werden met de α -agonist phenoxybenzamine en de temperatuur aansluitend verhoogd werd tot 37°C, werd geen toename van de reninesecretie na toevoeging van isoproterenol gezien. Corwin en medewerkers veronderstelden dat

door temperatuurverlaging β - in α -receptoren waren veranderd ("interconversie"). Het onderzoek van Corwin steunt onze bevindingen dat hypotherme perfusie door α -adrenerge stimulatie de reninesecretie zou kunnen remmen. Aanwijzingen dat temperatuurverlaging tot interconversie van receptoren kan leiden, zijn afkomstig uit onderzoeken die vooral in kikkerharten zijn verricht (Kunos en Szentivany, 1968; Kunos e.a., 1973; Kunos en Nickerson, 1976). In een toestand van een hoog metabolisme zouden β -receptoren overheersen, terwijl bij een laag metabolisme α -receptoren de overhand zouden hebben. Op de vraag of interconversie van receptoren door hypotherme perfusie is opgetreden, kan op grond van ons onderzoek geen antwoord worden gegeven.

12.6. Conclusies

Uit de onderzoeken die met gebruik van prazosine zijn uitgevoerd in de geïsoleerde nier, kan het volgende worden afgeleid. In de (in situ) geïsoleerde nier lijkt een zekere mate van α -adrenerge activiteit aanwezig, welke tijdens normotherme perfusie de vaattonus beïnvloedt, maar geen effect heeft op de reninesecretie.

Hypotherme perfusie veroorzaakt een stijging van de doorstroming; infusie met prazosine doet vervolgens de doorstroming verder toenemen.

Tijdens hypotherme perfusie doet zich een remming van de reninesecretie voor, mogelijk op basis van activatie van een α_1 -receptor. Deze zou te localiseren zijn in de juxtaglomerulaire cel. Ditzelfde fenomeen wordt waargenomen, wanneer de rat wordt opgeofferd tijdens een periode van normotherme perfusie; voorafgaande aan de episode van hypotherme perfusie. Zulks werd nagegaan om adrenerge activatie van de nog levende rat ten gevolge van hypotherme perfusie uit te sluiten.

S A M E N V A T T I N G

De geïsoleerde geperfundeerde rattenier is een model dat wordt gebruikt om vraagstukken rond de secretie van renine te bestuderen. Een bezwaar van het gebruikte model (perfusie waarbij geen recirculatie optreedt) was volgens literatuur en eigen ervaring in ons laboratorium, dat zich in het verloop van de perfusie een duidelijke stijging van de reninesecretie kon voordoen.

Eén van de doelstellingen van dit onderzoek was een stabiel patroon van vaatgedrag en reninesecretie te bereiken. Dit bleek mogelijk te kunnen worden gemaakt door het aanbrengen van een aantal technische verbeteringen. Vanuit deze situatie werd de invloed van een aantal farmaca bestudeerd die wegens hun vaatverwijdende werking worden gebruikt voor de bestrijding van hypertensie. Het doel was, de invloed hiervan op vaatgedrag en reninesecretie vast te leggen. Voorts werd het effect van een niet-farmacologische prikkel (temperatuur) op vaatgedrag en reninesecretie bestudeerd. Daarop gesuperponeerd werd de invloed van de diverse farmaca onderzocht. Verondersteld werd dat de effecten van hypothermie zowel vanuit technisch als fysiologisch en farmacologisch oogpunt van belang zouden kunnen zijn.

In hoofdstuk 1 wordt op de ontwikkelingsgang van het in ons laboratorium gebruikte model ingegaan.

In hoofdstuk 2 worden de historische en praktische achtergronden van het in vitro onderzoek van levend nierweefsel belicht, in het bijzonder met betrekking tot de geïsoleerde nierperfusie. Het grote voordeel van een dergelijk model lijkt te zijn, dat de mogelijkheid geboden wordt mechanismen rond de reninesecretie te bestuderen zonder interferentie van variabelen als de activiteit van het (intacte) sympathische zenuwstelsel, veranderingen in perfusiedruk en dergelijke. Het model kan daardoor het inzicht helpen verdiepen in de werkingsmechanismen van antihypertensiva.

In hoofdstuk 3 wordt uitvoerig ingegaan op de diverse aspecten van het renine-angiotensine systeem, met bijzondere aandacht voor de uiteenlopende factoren die de secretie beïnvloeden.

In hoofdstuk 4 wordt een overzicht gegeven van de heterogene literatuurgegevens betreffende de invloed van temperatuurvariatie op verschillende aspecten van de nierfunctie, de reninesecretie en het vaatgedrag.

In hoofdstuk 5 wordt de vraagstelling uiteengezet.

In hoofdstuk 6 wordt het gebruikte model van de geïsoleerde rattenier nader omschreven. De belangrijkste modificaties ten opzichte van het oorspronkelijke model (Vandongen e.a., 1973) zijn: een constante perfusiedruk, een nauwkeurige regulatie van de temperatuur van de perfusievloeistof en invoering van een vaste stabilisatieperiode.

In hoofdstuk 7 wordt aangetoond dat het model (tijdens normotherme perfusie) een nagenoeg constant niveau van de reninesecretie en consistent vaatgedrag toont. Toch blijken er beperkingen te bestaan: de interindividuele variatie maakt het noodzakelijk bij iedere verkenning een controle-reeks te gebruiken, waarbij het actuele experiment en de controle-waarneming in afwisseling worden verricht.

In hoofdstuk 8 worden experimenten beschreven omtrent de invloed van temperatuur op vaattonus en reninesecretie. Temperatuurverlaging tot 32°C bleek de reninesecretie in statistisch significante mate af te nemen, terwijl de doorstromingssnelheid ten opzichte van die bij 37°C niet veranderde. Aangezien verlaging van de temperatuur de viscositeit van de perfusievloeistof deed stijgen, werd een hiervoor gecorrigeerde perfusievloeistof samengesteld. Deze had bij 32°C een identieke viscositeit als bij 37°C, terwijl ionenconcentratie en osmolariteit vrijwel identiek waren. Bij perfusie met deze vloeistof werd duidelijk dat hypotherme perfusie in vitro de niervaatweerstand doet dalen. Deze uitkomst is tegengesteld aan degene die bij het intacte individu worden verkregen, dit wijst in de richting van een belangrijke rol van het sympathische zenuwstelsel bij afkoeling van het gehele organisme.

Temperatuurverhoging tot 42°C toonde een (ten opzichte van 37°C) toegenomen doorstroming, ook na perfusie met een voor viscositeitsveranderingen gecorrigeerde perfusievloeistof; de

reninesecretiesnelheid was toegenomen. In hoeverre interindividuele variatie mede voor dit resultaat verantwoordelijk was, kon niet met zekerheid worden uitgesloten.

In de volgende hoofdstukken wordt de invloed van farmaca tijdens normotherme en hypotherme perfusie beschreven.

Hoofdstuk 9 omvat onze experimenten met een directe vaatverwijder, endralazine; infusie hiervan tijdens normotherme perfusie gaf een daling van de vaatweerstand zonder beïnvloeding van de reninesecretie. Geconcludeerd kan worden dat de stijging van de reninesecretie tijdens behandeling met een directe vaatverwijder niet veroorzaakt wordt door een rechtstreekse prikkel. Vermoedelijk wordt in het intacte organisme de reninesecretie gestimuleerd via β -adrenerge activatie.

Tijdens hypotherme perfusie veroorzaakte endralazine vasodilatatie. Bij hoge dosering werd aanvankelijk de onderdrukking van de reninesecretie door hypothermie geneutraliseerd; bij langer durende perfusie verschilden de resultaten echter niet van die in de contrôle-experimenten. Kortom er bestaat een voorbijgaand effect van een hoge dosering endralazine wanneer de reninesecretie tevoren door afkoeling is geremd.

Hoofdstuk 10 is gewijd aan de infusie van verapamil, een calciumantagonist. Tijdens normotherme perfusie veroorzaakte verapamil een geringe daling van de vaatweerstand, zonder hierbij de reninesecretie te beïnvloeden. Aan de verplaatsing van het calciumion over de membraam van de juxtaglomerulaire cel wordt een belangrijke rol toegekend bij stimulatie en suppressie van de reninesecretie. Onder basale omstandigheden bleek remming van de calciuminflux de reninesecretie niet te beïnvloeden, hetgeen in overeenstemming is met de resultaten in vivo.

De suppressie van de reninesecretie tijdens hypotherme perfusie blijkt niet te worden veroorzaakt door de influx van calcium in de juxtaglomerulaire cel, aangezien verapamil-infusie hierop geen invloed bleek te hebben. De vaatweerstand daalde onder invloed van verapamil ook tijdens hypotherme perfusie in geringe mate.

Hoofdstuk 11 handelt over de invloed van remming van het convertings enzyme door captopril. De reninesecretie in de geïsoleerde nier bleek sterk te kunnen worden gestimuleerd, wanneer

aan de rat in de voorafgaande 14 dagen zoutarm voedsel was verstrekt. Aan het aldus gestimuleerde preparaat werd tijdens normotherme perfusie captopril aangeboden. Er bleek geen enkele invloed op het vaatgedrag of de reninesecretie te kunnen worden waargenomen. Hieruit concludeerden wij, dat de geïsoleerd geperfundeerde rattenier niet beschikt over een zodanig effectief lokaal renine angiotensine systeem, dat daardoor de vaattonus zou kunnen worden beïnvloed. Voorts bestaat er onder deze omstandigheden geen directe remming van de reninesecretie door plaatselijke vorming van angiotensine II.

Ook werd door infusie van captopril aangetoond, dat de remming van de reninesecretie door hypotherme perfusie niet veroorzaakt wordt door intrarenale vorming van angiotensine II.

In hoofdstuk 12 wordt de werking van prazosine beschreven.

Infusie van prazosine onthult dat er in de (in situ) geïsoleerde rattenier tijdens normotherme perfusie een residu van α -adrenerge activiteit aanwezig zou kunnen zijn. De reninesecretie werd onder deze omstandigheden niet door prazosine beïnvloed.

Tijdens hypotherme perfusie werd een remming van de reninesecretie waargenomen, zoals in voorgaande hoofdstukken ook beschreven is. Prazosine bleek in hoge dosering deze remming ongedaan te kunnen maken. Als verklaring voor dit verschijnsel wordt gespeculeerd dat door hypothermie een met de juxtaglomerulaire cel gelieerde α_1 -receptor wordt geactiveerd, waardoor de reninesecretie zou worden onderdrukt. Voorts blijkt dat de door hypothermie versterkte doorstroming, na prazosine-infusie nog verder stijgt. Dit is mogelijk te verklaren door aan te nemen dat zich tijdens hypotherme perfusie (door toedoen van adrenerge vasoconstrictie?) arterio-veneuze shunts openen. Door een acute daling van de vasoconstrictie onder invloed van prazosine zou de nier als het ware de beschikking krijgen over een dubbel circuit. Verder onderzoek ter opheldering van dit merkwaardige verschijnsel is geboden.

S U M M A R Y

The isolated perfused rat kidney constitutes an acceptable model for studying mechanisms involved in renin secretion. However, when single pass perfusion is employed (as in our laboratory) a major disadvantage is a marked increase in renin secretion during the perfusion. Therefore the first purpose of this study was to modify the model in order to establish a stable pattern of renin secretion. Subsequently we studied the effect of several vasodilating drugs on vascular tone and renin secretion in the isolated rat kidney. A substantial part of this thesis deals with the effect of temperature on vascular tone and renin secretion. During hypothermic perfusion the effects of vasodilating drugs were studied to elucidate the mechanism by which hypothermia modulates vascular tone and renin secretion in our preparation.

Following the introduction (in chapter 1), the technique of kidney perfusion is discussed in chapter 2. The major advantage of the present technique is the possibility to study mechanisms involved in renin secretion, without interference of complicating factors such as an intact sympathetic nervous system of uncontrollable changes in perfusion pressure.

Chapter 3 has been devoted to a general discussion of the renin-angiotensin system with special reference to the multiple factors which control the secretion of renin.

Chapter 4 deals with the scattered knowledge concerning the effect of temperature on kidney function, renin secretion and vascular behaviour. Subsequently the purpose of this study (chapter 5) and the model we used (chapter 6) are described in more detail. Major modifications of the original model are: a constant perfusion pressure, precise regulation of perfusion fluid temperature and the introduction of a fixed stabilization period.

As shown in chapter 7 we succeeded in our efforts to obtain a more stable model (nearly constant renin secretion and profile of vascular tone). Despite this, the limitations of

the technique are also shown: the presence of large interindividual variation necessitates the performance of many control studies.

Chapter 8 deals with the effect of temperature on vascular tone and renin secretion. Lowering the temperature to 32°C decreased renin secretion rate (as compared to that at 37°C) without affecting renal vascular resistance. However reducing the temperature of the perfusion with this modified fluid led to a decrease in renal vascular resistance during hypothermia, again with suppression of renin secretion. These results contrast to the response of the renal circulation to external cooling and indicate that in the intact organism the sympathetic nervous system may play an overriding role in the regulation of renal vascular tone. Elevation of the temperature to 42°C induced a decrease of renal vascular resistance and an increase of renin secretion; in this case after perfusion with a modified perfusion fluid the same pattern was observed. However, it was not possible to rule out interindividual variation contributing to this result.

The next chapters deal with the effects of vasodilating drugs during normothermic and hypothermic perfusion.

In chapter 9 the experiments with a new direct vasodilator, endralazine, are described. Infusion of this drug during normothermic perfusion induced vasodilation without affecting renin secretion. This indicates that in the intact organism the increase in renin, during treatment with this drug is not due to a local effect on the kidney.

During hypothermic perfusion endralazine also caused vasodilation. At a high dose, endralazine transiently inhibited suppression of renin secretion during hypothermia; however, with prolonged perfusion similar results were obtained as during control studies. A transiently stimulating effect of high dose endralazine, overruled by the influence of hypothermia during prolonged perfusion, seems to be the most logical explanation for these results.

Chapter 10 deals with the effects of verapamil infusion. During normothermic perfusion a weak vasodilation was observed, without alterations in renin secretion rate. Inhibition of calcium influx into the juxtaglomerular cell did not

affect renin secretion rate, as is consistent with results obtained in the intact organism. During hypothermic perfusion verapamil infusion did not affect renin secretion rate. Thus, suppression of renin secretion during hypothermic perfusion could not be attributed to an influx of calcium in the juxtaglomerular cells.

Chapter 11 describes the results of converting enzyme inhibition with captopril on vascular tone and renin secretion. This study was performed in rats maintained on a low sodium diet for two weeks. The diet in itself caused a marked increase in renin secretion rate when compared to that in rats on a liberal diet. However, infusion of captopril in this "stimulated" preparation did not affect vascular tone or renin secretion. From this we concluded that in the isolated perfused rat kidney vascular tone is not dependent on a local renin-angiotensin system. Furthermore suppression of renin secretion by hypothermic perfusion did not appear to be caused by intrarenal angiotensin II formation.

In chapter 12 the results of prazosin infusion are discussed. Because infusion of this drug during normothermic perfusion caused vasodilation, residual α_1 -adrenergic activity in the isolated rat kidney is supposed to be present. Renin secretion, on the contrary, was not influenced by prazosin infusion.

During hypothermic perfusion, infusion of a high dose of prazosin caused an increase in renin secretion. This observation may shed some light on the mechanism by which hypothermia suppresses renin secretion: it may be speculated that this involves activation of an α_1 -receptor on the juxtaglomerular cell. Flow rate, which was already increased during hypothermic perfusion, rose further during administration of prazosin. It may be speculated that hypothermia causes arteriovenous shunts to open up concurrently with cortical arteriolar vasoconstriction which is due to α -adrenergic stimulation. By acutely abolishing the adrenergic mediated cortical vasoconstriction, a further increase in flow during infusion of prazosin could then be established.

The overall impression gained from these studies is, that thermal manipulation of the isolated rat kidney widens the

spectrum of possibilities to test the mechanism of action of certain hypotensive drugs.

L I T E R A T U R L I J S T

- ABBRECHT, P.H. & A.J. Vander (1970): Effects of chronic potassium deficiency on plasma renin activity. *J Clin Invest* 49: 1510
- ABE, K., T. Ito, M. Sato et al. (1980): Role of prostaglandin in the antihypertensive mechanism of captopril in low renin hypertension. *Clin Sci* 59: 141s
- ADLKOFER, F., D.B. Ramsden, M.C. Wusteman et al. (1977): Metabolism of thyroid hormones by the isolated perfused rabbit kidney. *Horm Metab Res* 9: 400.
- AMERY, A., L. Billiet & R. Fagard (1974): Beta receptors and renin release. *N Engl J Med* 290: 284
- AMERY, A., P. Lijnen, R. Fagard et al. (1976): Plasma renin activity vs. concentration. *N Engl J Med* 295: 1198.
- AMMONS, W.S., S. Koyama & J.W. Manning (1982): Neural and vascular interaction in renine response to graded renal nerve stimulation. *Am J Physiol* 242: R552.
- ANTONACCIO, M.J. & L. Kerwin (1981): Pre- and postjunctional inhibition of vascular sympathetic function by captopril in SHR. *Hypertension* 3: I-54.
- AOI, W., M.B. Wade, D.R. Rosner et al. (1974): Renin release by rat kidney slices in vitro: effects of cations and catecholamines. *Am J Physiol* 227: 630.
- ATLAS, S.A., J.H. Laragh, J.E. Sealey et al. (1980): An inactive, prorenin-like substance in human kidney and plasma. *Clin Sci* 59: 29s.
- AUSIELLO, D.A., J.I. Kreisberg, C. Roy et al. (1980): Contraction of cultured rat glomerular cells of apparent mesangial origin after stimulation with angiotensin II and arginine vasopressin. *J Clin Invest* 65: 754.
- AYERS, C.R., R.E. Katholi, R.M. Carey et al. (1981): Acute and chronic intrarenal alpha- and beta-adrenergic receptor stimulation of renine release in the conscious dog. *Hypertension* 3: 615.
- BAER, P.G., L.G. Navar & A.C. Guyton (1970): Renal autoregulation, filtration rate, and electrolyte excretion during vasodilatation. *Am J Physiol* 219: 619.
- BALLIE, M.D., F.C. Rector & D.W. Seldin (1971): Angiotensin II in arterial and renal venous plasma and renal lymph in the dog. *J Clin Invest* 50: 119.
- BAINBRIDGE, F.A. & C.L. Evans (1914): The heart, lung, kidney preparation. *J Physiol (Lond)* 48: 278.
- BARAJAS, L. & H. Latta (1963): A three-dimensional study of the juxtaglomerular apparatus in the rat; light and electron microscopic observations. *Lab Invest* 12: 257.
- BARAJAS, L. (1964): The innervation of the juxtaglomerular apparatus; an electron microscopic study of the innervation of the glomerular arterioles. *Lab invest* 13: 916.
- BARAJAS, L. & H. Latta (1967): Structure of the juxtaglomerular apparatus. *Circ Res* 20/21: II-15.
- BARAJAS, L. (1981): The juxtaglomerular apparatus: Anatomical considerations in feedback control of glomerular filtration rate. *Fed Proc* 40: 78.
- BARRETT, J.D., P. Eggena & M.P. Sambhi (1982): In vivo and in vitro alterations of active and inactive plasma renins in the rat. *Hypertension* 4: II-75.
- BAUMAN, A.W., T.W. Clarkson & E.M. Miles (1963): Functional evaluation of isolated perfused rat kidney. *J Appl Physiol* 18: 1239.
- BAUMBACH, L., P.P. Leyssac & S.L. Skinner (1976): Studies on renine release from isolated superfused glomeruli: effects of temperature, urea, ouabain and ethacrynic acid. *J Physiol (Lond)* 258: 243.

- BAUMBACH, L. & P.P. Leyssac (1977): Studies on the mechanism of renin release from isolated superfused rat glomeruli: effects of calcium, calcium ionophore and lanthanum. *J Physiol (Lond)* 273: 745.
- BAUMBACH, L. & O. Skøtt (1981): Renin release from isolated rat glomeruli: seasonal variations and effects of D600 on the response to calcium deprivation. *J Physiol (Lond)* 310: 285.
- BELZER, F.O., B.S. Ashby, J.S. Huang et al. (1968): Etiology of rising perfusion pressure in isolated organ perfusion. *Ann Surg* 168: 382.
- BENEDICT, C.R., M. Fillenz & S.C. Stanford (1977): Plasma noradrenaline levels during exposure to cold. *J Physiol (Lond)* 269: 47p.
- BENJAMIN, J.L. & K.W. Sell (1972): Effects of temperature on kidneys preserved by hypothermic perfusion. *Transplantation* 14: 501.
- BLAINE, E.H., J.O. Davis & R.L. Prewitt (1971): Evidence for a renal vascular receptor in control of renin secretion. *Am J Physiol* 220: 1593.
- BLAIR, M.L., I.A. Reid, L.C. Keil et al. (1979): Role of peripheral adrenoreceptors and vasopressin in the suppression of plasma renin activity by L-dopa in carbidopa-treated dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 210: 368.
- BLAIR, M.L. (1981): Inhibition of renin secretion by intrarenal α -adrenoceptor blockade. *Am J Physiol* 240: E682.
- BLAIR-WEST, J.R., J.P. Coghlan, D.A. Denton et al. (1971): The effect of the heptapeptide (2-8) and hexapeptide (3-8) fragments of angiotensin II on aldosterone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 32: 575.
- BLAQUIER, P., S.W. Hoobler, J. Schroeder et al. (1962): Effect of bilateral nephrectomy on pressor response to renin. *Am J Physiol* 203: 339.
- BLENDSTRUP, K., P.P. Leyssac, K. Poulsen et al. (1975): Characteristics of renin release from isolated superfused glomeruli in vitro. *J Physiol (Lond)* 246: 653.
- BORLE, A.B. (1973): Calcium metabolism at the cellular level. *Fed Proc* 32: 1944.
- BOWMAN, R.H., J. Dolgin & R. Coulson (1973): Furosemide, ethacrynic acid, and iodoacetate on function and metabolism in perfused rat kidney. *Am J Physiol* 224: 416.
- BOWMAN, R.H. & T. Maack (1974): Effect of albumin concentration and ADH on H₂O and electrolyte transport in perfused rat kidney.
- BOYD, G.W. (1977): An inactive higher-molecular-weight renin in normal subjects and hypertensive patients. *Lancet* I: 215.
- BRANDENBERGER, G., M. Follenius & S. Oyono (1980): Effect of propranolol on aldosterone response to heat exposure in sodium-restricted men. *J Endocrinol Invest* 4: 395.
- BRAVERMAN, B., R.H. Freeman & H.H. Rostorfer (1971): The influence of dietary sodium chloride on in vitro renin release from rat kidney slices. *Proc Soc Exp Biol Med* 138: 81.
- BRENNER, B.M. & J.L. Troy (1971): Postglomerular vascular protein concentration: evidence for a causal role in governing fluid reabsorption and glomerulotubular balance by the renal proximal tubule. *J Clin Invest* 50: 336.
- BRENNER, B.M., N. Schor & I. Ichikawa (1982): Role of angiotensin II in the physiologic regulation of glomerular filtration. *Am J Cardiol* 49: 1430.
- BRITTINGER, W.D., A. Schwarzbeck, K.W. Wittenmeier et al. (1970): Klinisch-experimentelle Untersuchungen über die Blutdrucksenkende Wirkung von Verapamil. *Dtsch Med Wochenschr* 95: 1871.
- BROGDEN, R.N., R.C. Heel, T.M. Speight et al (1977): Prazosin: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in hypertension. *Drugs* 14: 163.
- BROWN, J.J., D.L. Davies, A.F. Lever et al. (1963a): Influence of sodium loading and sodium depletion on plasma-renin in man. *Lancet* II: 278.

- BROWN, J.J., D.L. Davies, A.F. Lever et al. (1963b): Assay of renin in single glomeruli; renin distribution in the normal rabbit kidney. *Lancet* II: 668.
- BRUBACHER, E.S. & A.J. Vander (1968): Sodium deprivation and renin secretion in unanesthetized dogs. *Am J Physiol* 214: 15.
- BRULL, L. & D. Louis-Bar (1957): Toxicity of artificially circulated heparinized blood on the kidney. *Arch Int Physiol Biochim* 65: 470.
- BRUNNER, H., P.R. Hedwall & M. Meier (1967): Influence of adrenergic beta-receptor blockade on the acute cardiovascular effects of hydralazine. *Br J Pharmacol* 30: 123.
- BRUNNER, H.R., L. Baer, J.E. Sealey et al. (1970): The influence of potassium administration and of potassium deprivation on plasma renin in normal and hypertensive subject. *J Clin Invest* 49: 2128.
- BRUNNER, H.R., H. Gavras, B. Waeber et al. (1979): Oral angiotensin-converting enzyme inhibitor in long-term treatment of hypertensive patients. *Ann Intern Med* 90: 19.
- BRUNNER, H.R., H. Gavras, B. Waeber et al. (1980): Clinical use of an orally acting converting enzyme inhibitor: captopril. *Hypertension* 2: 558.
- BUEHLER, F.R., G. Marbet, U. Patel et al. (1975). *Clin Sci* 48: 61s.
- BUNAG, R.D., I.H. Page & J.W. McCubbin (1967): Inhibition of renin release by vasopressin and angiotensin. *Cardiovasc Res* 1: 67.
- CALDWELL, P.R.B., B.C. Seegal & K.C. Hsu (1976): Angiotensin-converting enzyme: vascular endothelial localization. *Science* 191: 1050.
- CAMBRIDGE, D., M.J. Davey & R. Massingham (1977): Prazosin, a selective antagonist of post-synaptic α -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 59: 514p.
- CAMPBELL, W.B., R.M. Graham & E.K. Jackson (1980): Inhibition of hydralazine-induced renin release by indomethacin in the rat. *Arch Int Pharmacodyn* 246: 315.
- CAPPONI, A.M. & M.B. Vallotton (1976): Renin release by rat kidney slices incubated in vitro: role of sodium and of α - and β -adrenergic receptors, and effect of vincristine. *Circ Res* 39: 200.
- CARRETERO, O.A., S. Miyazaki & A.G. Scicli (1981): Role of kinins in the acute antihypertensive effect of the converting enzyme inhibitor, captopril. *Hypertension* 3: 18.
- CARVALHO, J.S. & J.K. Cherkas (1982): Renin Release by pentobarbital anesthesia in the rat: a role for vascular mechanisms. *Life Sci* 30: 887.
- CASELLAS, D., A. Mimran, M. Dupont et al. (1980): Attenuation by SQ 14, 225 (Captopril) of the vascular response to noradrenaline in the rat isolated kidney. *Br J Clin Pharmacol* 10: 621.
- CASELLAS, D. & A. Mimran (1981): Shunting in renal vasculature of the rat: a scanning electron microscopic (SEM) study of corrosion replicates (CR). *Eur J Clin Invest* 11 (Abstracts): 6.
- CAVALLI, G., A.M. Casali, G. Re et al. (1981): Arteriovenous anastomoses in the juxtamedullary cortex of human kidney. *Experientia* 37: 595.
- CAVERO, I. (1976): Cardiovascular effects of prazosin in dogs. *Clin Sci* 51: 609s.
- CELIO, M.R. & T. Inagami (1981): Angiotensin II immunoreactivity coexists with renin in the juxtaglomerular granular cells of the kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 3879.
- CHANG, J.J., M. Kisaragi, H. Okamoto et al. (1981): Isolation and activation of inactive renin from human kidney and plasma: plasma and renal inactive renins have different molecular weights. *Hypertension* 3: 509.
- CHAPMAN, B.J., K.A. Munday, R.A. Willson et al. (1975): Regional renal blood flows in the hypothermic rat and dog. *J Physiol (Lond)* 251: 20P.
- CHEN, D.S. & A.M. Poisner (1976): Direct stimulation of renin release by calcium. *Proc Soc Exp Biol Med* 152: 565.

- CHIBA, S., C.P. Quilley & J.C. McGiff (1982): Decreased vascular responsiveness produced by angiotensin converting enzyme inhibitors in the rat isolated kidney. *Hypertension* 4: II-80.
- CHRISTLIEB, A.R., N.P. Couch, E.A. Amsterdam et al. (1968): Renin extraction by the human liver. *Proc Soc Exp Biol Med* 128: 821.
- CHURCHILL, P.C. (1981): Calcium dependency of the inhibitory effect of antidiuretic hormone on in vitro renin secretion in rats. *J Physiol (Lond)* 315: 21.
- CHURCHILL, P.C., F.D. McDonald & M.C. Churchill (1981): Effect of diltiazem, a calcium antagonist, on renin secretion from rat kidney slices. *Life Sci* 29: 383.
- CLAPPISON, B.H., J.A. Millar, D.J. Casley et al (1980): Renal, adrenal and vascular changes during inhibition of converting enzyme with captopril. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 7: 493.
- CLOUGH, D.P., R. Hatton & S.C. Matthewman (1980): Effect of angiotensin converting enzyme inhibitor on neurogenic vasoconstriction in the pithed rat. *Br J Pharmacol* 73: 296p.
- COLLINS, K.J. & J.D. Few (1979): Secretion and metabolism of cortisol and aldosterone during controlled hypertermia. *J Physiol (Lond)* 292: 1.
- COLLIS, M.G. & J.R. Keddie (1981): Captopril attenuates adrenergic vasoconstriction in rat mesenteric arteries by angiotensin-dependent and -independent mechanisms. *Clin Sci* 61: 281.
- CONSTANTINE, J.W., W.K. McShane, A. Scriabine et al. (1973): Analysis of the hypotensive action of prazosin. In: *Hypertension: Mechanisms and Management*; ed. by G. Onesti, K.E. Kim & J.H. Moyer. New York etc., Grune & Stratton. pp 429.
- COOKE, C.R., T.C. Brown, B.J. Zacherle et al. (1970): The effect of altered sodium concentration in the distal nephron segments on renin release. *J Clin Invest* 49: 1630.
- COOK, W.F. (1971): Cellular localization of renin. In: *Kidney hormones*; ed. by J.W. Fisher. London etc, Academic Press. pp 117.
- COOPER, R.M., D.H. Osmond, K.D. Scaiff et al. (1974): Increase in "angiotensin I" (AT) production upon incubation of human plasma with trypsin. *Fed Proc* 33: 584.
- COOTE, J.H., E.J. Johns, V.H. MacLeod et al. (1972): Effect of renal nerve stimulation, renal blood flow and adrenergic blockade on plasma renin activity in the cat. *J Physiol (Lond)* 226: 15.
- COREA, L., M. Bentivoglio, E. Agabiti Rosei et al. (1981): Plasma catecholamines and plasma renin activity changes in controls and hypertensives induced by acute and chronic verapamil administration. Are they dose-related? *Acta Ther* 7: 107.
- CORSINI, W.A., K.L. Crosslan & M.D. Bailie (1974): Renin secretion by rat kidney slices. *Proc Soc Exp Biol Med* 145: 403.
- CORWIN, E.J., K. Woo Cho & R.L. Malvin (1982): Temperature-induced conversion of the renal adrenoreceptor: modulating renin release. *Am J Physiol* 243: F23.
- CRANTZ, F.R., S.L. Swartz, N.K. Hollenberg et al. (1980): Differences in response to the peptidyl dipeptide hydrolase inhibitors SQ 20,881 and SQ 14,225 in normal-renin essential hypertension. *Hypertension* 2: 604.
- CUNNINGHAM, J., M.J. Vandenburg, J.M.P. Holly et al. (1981): Impaired response of plasma renin activity to tilting after renal transplantation. *Clin Sci* 61: 69.
- CUNNINGHAM, S.G., E.O. Feigl & A.M. Scher (1978): Carotid sinus reflex influence on plasma renin activity. *Am J Physiol* 234: H670.
- CUYPERS, Y., A. Nizet & G. Barac (1959): Action directe de la 5-hydroxytryptamine, de l'adrénaline, de l'artérenol et de l'histamine sur le débit sanguin rénal chez le chien. *C R Soc Biol (Paris)* 151: 1768.

- DAMBACH, G. & N. Friedmann (1974): The effects of varying ionic composition of the perfusate on liver membrane potential, gluconeogenesis and cyclic AMP responses. *Biochim Biophys Acta* 332: 374.
- DATA, J.L., J.G. Gerber, W.J. Crump et al. (1978): The prostaglandin system: a role in canine baroreceptor control of renin release. *Circ Res* 42: 454.
- DÁVALOS, M., N.S. Frega, B. Saker et al. (1978): Effect of exogenous and endogenous angiotensin II in the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 235: F605.
- DAVIS, J.O. (1973): The control of renin release. *Am J Med* 55: 333.
- DAVIS, J.O. & R.H. Freeman (1976): Mechanisms regulating renin release. *Physiol Rev* 56: 1.
- DE MELLO, G. & T. Maack (1976): Nephron function of the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 231: 1699.
- DERKX, F.H.M., J.M.G. v. Gool, G.J. Wenting et al. (1976): Inactive renin in human plasma. *Lancet* II: 496.
- DERKX, F.H.M., H.L. Tan-Tjong, A.J. Man in 't Veld et al. (1979a): Activation of inactive plasma renin by plasma and tissue kallikreins. *Clin Sci* 57: 351.
- DERKX, F.H.M. B.N. Bouma, H.L. Tan-Tjong et al. (1979b): Activators of inactive renin ("prorenin") in human plasma: their connection with kinin formation, coagulation and fibrinolysis. *Clin Sci* 57: 89s.
- DESAULLES, E., F. Miesch & J. Schwartz (1978): Evidence for the participation of β_1 -adrenoceptors in isoprenaline-induced renin release from rat kidney slices in vitro. *Br J Pharmacol* 63: 421.
- DE SENARCLENS, C.F., C.E. Pricam, F.D. Banichahi et al. (1977): Renin synthesis, storage, and release in the rat: a morphological and biochemical study. *Kidney Int* 11: 161.
- DE VITO, E., S.B. Gordon, R.R. Cabrera et al. (1970): Release of renin by rat kidney slices. *Am J Physiol* 219: 1036.
- DIBONA, G.F. (1971): Effect of mannitol diuresis and ureteral occlusion on distal tubular reabsorption. *Am J Physiol* 221: 511.
- DI SALVO, J., A. Peterson, C. Montefusco et al. (1971): Intrarenal conversion of angiotensin I to angiotensin II in the dog. *Circ Res* 29: 398.
- DI SALVO, J., S. Britton, P. Galvas et al. (1973): Effects of angiotensin I and angiotensin II on canine hepatic vascular resistance. *Circ Res* 32: 85.
- DOXEY, J.C., C.F.C. Smith & J.M. Walker (1977): Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic α -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 60: 91.
- DOYLE, A.E., S.N. Anavekar & L.E. Oliver (1981): A clinical trial of verapamil in the treatment of hypertension. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil; Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October, 1980; ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam etc., Excerpta Medica, pp 252.
- EDELMAN, R. & P.M. Hartroft (1961): Localization of renin in juxtaglomerular cells of rabbit and dog through the use of the fluorescent-antibody technique. *Circ Res* 9: 1069.
- EISMAN, M.M. & L.B. Rowell (1977): Renal vascular response to heat stress in baboons - role of renin-angiotensin. *J Appl Physiol* 43: 739.
- ELLIOTT, H.L., K. Mclean, R.J. Donnelly et al. (1981): An evaluation of endralazine (BQ 22-708), a new vasodilator, in essential hypertension. Abstract/Meeting Scottish Society for Experimental Medicine, Dundee, January 31st.

- ENDERT, E. (1979): Determination of noradrenaline and adrenaline in plasma by a radio-enzymatic assay using high pressure liquid chromatography for the separation of the radiochemical products. *Clin Chim Acta* 96: 233.
- ERDOS, E.G. & E.M. Sloane (1962): An enzyme in human blood plasma that inactivates bradykinin and kallidins. *Biochem Pharmacol* 11: 585.
- ERDOS, E.G. (1977): The angiotensin I converting enzyme. *Fed Proc* 36: 1760.
- FAARUP, P. (1968): Renin location in the different parts of the juxtaglomerular apparatus in the cat kidney. *Acta Pathol Microbiol Scand* 72: 109.
- FAGARD, R., E. Eyskens, H. Delooz et al. (1973): The clearance of endogenous renin in the anhepatic anephric dog. *Clin Sci* 45: 225s.
- FARAGGIANA, T., E. Gresik, T. Tanaka et al. (1982): Immunohistochemical localization of renin in the human kidney. *J. Histochem Cytochem* 30: 459.
- FERNANDES, M., I. Sanford Smith, A. Weder et al. (1975): Prazosin in the treatment of hypertension. *Clin Sci* 48: 181s.
- FOLLENIUS, M., G. Brandenberger, B. Reinhardt et al. (1979): Plasma aldosterone, renin activity, and cortisol responses to heat exposure in sodium depleted and repleted subjects. *Eur J Appl Physiol* 41: 41.
- FONTELES, M.C. & A.M. Karow (1976): An alpha-adrenotropic study of the isolated rabbit kidney at normo- and hypothermia. *Arch Int Pharmacodyn* 223: 196.
- FOREMAN, J., R. Dvôrák & D.E. Pegg (1981): Measurement of function during hypothermic renal perfusion. *J Surg Res* 31: 246.
- FORSYTH, R.P. (1976): Effect of propranolol on stress-induced hemodynamic changes in monkeys. In: Beta-adrenoceptor blocking agents; the pharmacological basis of clinical use. Ed. by P.R. Saxena & R.P. Forsyth. Amsterdam etc., North Holland Publishing Company. pp 317.
- FRANKE, H., H. Huland, C. Weiss et al. (1971): Improved net sodium transport of the isolated rat kidney. *Z Gesamte Exp Med* 156: 268.
- FRAY, J.C.S. (1976): Stretch receptor model for renin release with evidence from perfused rat kidney. *Am J Physiol* 231: 936.
- FRAY, J.C.S., L.G. Siwek, W.M. Strull et al. (1976): Influence of dietary sodium on renin activity and arterial pressure during anesthesia. *Am J Physiol* 231: 1185.
- FRAY, J.C.S. (1978): Stretch receptor control of renin release in perfused rat kidney: effect of high perfusate potassium. *J Physiol (Lond)* 282: 207.
- FRAY, J.C.S. & C.S. Park (1979): Influence of potassium, sodium, perfusion pressure, and isoprenaline on renin release induced by acute calcium deprivation. *J Physiol (Lond)* 292: 363.
- FRAY, J.C.S. & A.S. Karuza (1980): Influence of raising albumin concentration on renin release in isolated perfused rat kidneys. *J Physiol (Lond)* 299: 45.
- FRAY, J.C.S. (1980): Stimulus-secretion coupling of renin; role of hemodynamic and other factors. *Circ Res* 47: 485.
- FREEMAN, R.H., J.O. Davis, R.W. Gotshall et al. (1974): The signal perceived by the macula densa during changes in renin release. *Circ Res* 35: 307.
- FRÖLICH, J.C., J.W. Hollifield, J.C. Dormois et al. (1976): Suppression of plasma renin activity by indomethacin in man. *Circ Res* 39: 447.
- FUNAKAWA, S., T. Higashio & K. Yamamoto (1978): Renin release from renin granules in the dog. *Clin Sci* 55:11.
- FYNN, M., N. Onomakpome & W.S. Peart (1977): The effects of ionophores (A23187 and R02-2985) on renin secretion and renal vasoconstriction. *Proc R Soc Lond (Biol)* 199: 199.

- GENEST, J., W. Nowaczynski, E. Koiv et al. (1960): Adrenocortical function in essential hypertension. In: Essential hypertension; an international symposium; Ed. by K.D. Bock & P.T. Cottier. New York etc., Springer Verlag. pp 126.
- GERBER, J.G., R.D. Olson & A.S. Nies (1981): Interrelationship between prostaglandins and renin release. *Kidney Int* 19: 816.
- GERKENS, J.F., A. Williams & R.A. Branch (1981): Effect of precursors of the 1, 2, and 3 series prostaglandins on renin release and renal blood flow in the dog. *Prostaglandins* 22: 513.
- GILLIES, A., T. Morgan & W. Fitzgibbon (1980): Active and inactive renin in individual juxtaglomerular apparatus. *Clin Sci* 59: 35s.
- GLORIOSO, N., P. Madeddu, P. Dessi'-Fulgheri et al. (1983): Trypsin-activatable inactive renin in rat plasma. *Clin Sci* 64: 137.
- COMEZ, D.M. (1951): Evaluation of renal resistances, with special reference to changes in essential hypertension. *J Clin Invest* 30: 1143.
- GOORMACHTIGH, N. (1939): Existence of an endocrine gland in the media of the renal arterioles. *Proc Soc Exp Biol Med* 42: 688.
- GORDON, R.D., O. Küchel, G.W. Liddle et al. (1967): Role of the sympathetic nervous system in regulating renin and aldosterone production on man. *J Clin Invest* 46: 599.
- GORDON, R.D. & C.G.K. Pawsey (1971): Relative effects of serum sodium concentration and the state of body fluid balance on renin secretion. *J Clin Endocrinol* 32: 117.
- GOTSHALL, R.W., J.O. Davis, R.E. Shade et al. (1973): Effects of renal denervation on renin release in sodium-depleted dogs. *Am J Physiol* 225: 344.
- GOTTSCHALK, C.W. & P.P. Leyssac (1968): Proximal tubular function in rats with low insulin clearance. *Acta Physiol Scand* 74: 453.
- GOULD, A.B. & S.A. Goodman (1970): The effect of hypoxia on the renin-angiotensinogen system. *Lab Invest* 22: 443.
- GOULD, B.A., S. Mann, H. Kieso et al. (1981): The 24-hour intra-arterial ambulatory profile of blood pressure reduction with verapamil. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil; Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October 1980; Ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam Etc., Excerpta Medica p.p. 280.
- GRAHAM, R.M., M.R. Muir & J.M. Hayes (1974): Effects of prazosin on blood pressure and plasma renin activity in the anaesthetised dog. *Aust NZ J Med* 4: 424.
- GRAHAM, R.M., H.F. Oates, L.M. Stoker et al. (1977): Alpha blocking action of the antihypertensive agent, prazosin. *J Pharmacol Exp Ther* 201: 747.
- GRAHAM, R.M. & W.A. Pettinger (1979): Effects of prazosin and phentolamine on arterial pressure, heart rate, and renin activity: evidence in the conscious rat for the functional significance of the presynaptic α -receptor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1: 497.
- GRANGER, P., H. Dahlheim & K. Thurau (1972): Enzyme activities of the single juxtaglomerular apparatus in the rat kidney. *Kidney Int* 1: 78.
- GRUN, G. & A. Fleckenstein (1972): Die elektromechanische Entkoppelung der glatten Gefäßmuskulatur als Grundprinzip der Coronardilatation durch 4-(2'-Nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4 -dihydropyridin-3,5dicarbonsäure-dimethylester (BAY a 1040, Nifedipine). I. Die Bedeutung der Ca^{2+} -Ionen für die bioelektrische und mechanische Aktivität der glatten Muskulatur. *Arzneimittelforsch* 22: 334.
- GUILLEVIN, L., M-D. Lardoux & P. Corvol (1981): Effects of captopril on blood pressure, electrolytes, and certain hormones in hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 29: 699.

- GUTMANN, F.D., H. Tagawa, E. Haber et al. (1973): Renal arterial pressure, renin secretion, and blood pressure control in trained dogs. *Am J Physiol* 224: 66.
- HALL, J.E., A.C. Guyton & A.W. Cowley (1977a): Dissociation of renal blood flow and filtration rate autoregulation by renin depletion. *Am J Physiol* 232: F215.
- HALL, J.E., A.C. Guyton, T.E. Jackson et al. (1977b): Control of glomerular filtration rate by renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 233: F366.
- HALL, J.E., T.G. Coleman, A.C. Guyton et al. (1981): Control of glomerular filtration rate by circulating angiotensin II. *Am J Physiol* 241: R190.
- HALL, J.E. & J.P. Granger (1982): Mechanism of the blood pressure and renal hemodynamic effects of captopril. *Am J Cardiol* 49: 1527.
- HARADA, E. & R.P. Rubin (1978): Stimulation of renin secretion and calcium efflux from the isolated perfused cat kidney by noradrenaline after prolonged calcium deprivation. *J Physiol (Lond)* 274: 367.
- HARRIS, P.J. & J.A. Young (1977): Dose-dependent stimulation and inhibition of proximal tubular sodium reabsorption by angiotensin II in the rat kidney. *Pflügers Arch* 367: 295.
- HARTROFT, P.M. & W.S. Hartroft (1953): Studies on renal juxtaglomerular cells. I. Variations produced by sodium chloride and desocyclocorticosterone acetate. *J Exp Med* 97: 415.
- HARTROFT, P.M. (1966): Electron microscopy of nerve endings associated with juxtaglomerular (JG) cells and macula densa. *Lab Invest* 15: 1127.
- HARTROFT, W.S. & P.M. Hartroft (1961): New approaches in the study of cardiovascular disease: aldosterone, renin, hypertension and juxtaglomerular cells. *Fed Proc* 20: 845.
- HARVEY, R.B. (1959): Effect of temperature on function of isolated dog kidney. *Am J Physiol* 197: 181.
- HEACOX, R., A.M. Harvey & A.J. Vander (1967): Hepatic inactivation of renin. *Circ Res* 21: 149.
- HEMINGWAY, A. (1931): Some observations on the perfusion of the isolated kidney by a pump. *J Physiol (Lond)* 71: 201.
- HENRICH, W.L. (1981): Role of prostaglandins in renin secretion. *Kidney Int* 19: 822.
- HESSE, B. & I. Nielsen (1977): Suppression of plasma renin activity by intravenous infusion of antidiuretic hormone in man. *Clin Sci* 52: 357.
- HINSHAW, L.B., F.D. Masucci, C.M. Brake et al. (1965): Renal vascular response to hypothermia. *Proc Soc Exp Biol Med* 118: 623.
- HOFFMAN, B.B. & R.J. Lefkowitz (1980): Alpha-adrenergic receptor subtypes. *N Engl J Med* 302: 1390.
- HOLLENBERG, N.K., L.G. Meggs, G.H. Williams et al. (1981): Sodium intake and renal responses to captopril in normal man and in essential hypertension. *Kidney Int* 20: 240.
- HORIUCHI, K.H. Tanaka, K. Yamamoto et al. (1971): Distribution of renin in the dog kidney. *Life Sci* 10: 727.
- HORKY, K., J.M. Rojo-Ortega, J. Rodriguez et al. (1971): Renin, renin substrate, and angiotensin I-converting enzyme in the lymph of rats. *Am J Physiol* 220: 307.
- HOUSSAY, B.A., E. Braun-Menendez L. Dexter (1942): The destruction and elimination of renin in the dog. *Ann Intern Med* 17: 461.
- HULAND, H., H.J. Seitz, W. Tarnowsky et al. (1972): Substrate utilisation by rat kidney. Abstract 891/5th international congress of nephrology, Mexico.
- IMAI, Y., K. Abe, M. Seino et al. (1982): Attenuation of pressor responses to norepinephrine and pitressin and potentiation of pressor response to angiotensin II by captopril in human subjects. *Hypertension* 4: 444.

- ISHIKAWA, H. J. Fukumura, H. Ito et al. (1973): Renin release and hypoxia in kidney. *Jpn Circ J* 37: 1219.
- IWAO, H. & A.M. Michelakis (1981): Effect of furosemide and dietary sodium on kidney and plasma big and small renin. *Proc Soc Exp Biol Med* 168: 361.
- JANSSENS, W.J. & P.M. Vanhoutte (1978a): Instantaneous changes of alpha-adrenoceptor affinity caused by moderate cooling in canine cutaneous veins. *Am J Physiol* 234: H330.
- JANSSENS, W.J. & P.M. Vanhoutte (1978b): Effects of cooling on COMT activity in canine saphenous vein homogenates determined by a micro radioenzymatic assay. *Arch Int Pharmacodyn* 236: 305.
- JANSSENS, W.J. & P.M. Vanhoutte (1979): Effect of cooling on efflux of (³H)-noradrenaline in canine cutaneous veins. *Br J Pharmacol* 66: 148p.
- JOHNS, E.J., H.K. Richards & B. Singer (1975): Effects of adrenaline, noradrenaline, isoprenaline and salbutamol on the production and release of renin by isolated renal cortical cells of the cat. *Br J Pharmacol* 53: 67.
- JOHNSON, B.F., I.K. Smith, J. LaBrooy et al. (1976a): The nature of the β -adrenoreceptor controlling plasma renin activity in man. *Clin Sci* 51: 646.
- JOHNSON, J.A., J.O. Davis & R.T. Witty (1971): Effects of catecholamines and renal nerve stimulation on renin release in the nonfiltering kidney. *Circ Res* 29: 646.
- JOHNSON, J.A., J.O. Davis, R.W. Gotshall et al. (1976b): Evidence for an intrarenal beta receptor in control of renin release. *Am J. Physiol* 230: 410.
- JOHNSON, V. & T. Maack (1977): Renal extraction, filtration, absorption, and catabolism of growth hormone. *Am J Physiol* 233: F185.
- JOHNSTON, C.I., J.A. Millar, B.P. McGrath et al. (1979): Long-term effects of captopril (SQ14 225) on blood-pressure and hormone levels in essential hypertension. *Lancet* II: 493.
- JONGE, A. de, B. Wilffert, H.O. Kalkman et al. (1981): Captopril impairs the vascular smooth muscle contraction mediated by postsynaptic α_2 -adrenoreceptors in the pithed rat. *Eur J Pharmacol* 74: 385.
- JONGE, A. de, B. Wilffert, H.O. Kalkman et al. (1982): Effect of captopril on the regulation of noradrenaline release in the heart and vascular smooth muscle of the pithed rat. *Br J Pharmacol* 75: 134p.
- JOVER, B., D. Casellas, M. Dupont et al. (1982): Influence of nifedipine on vascular reactivity: studies in the isolated perfused rat kidney. *Eur Heart J* 3 (Suppl. C): 15.
- JULIAN, B.A., J.H. Galla, G.P. Guthrie et al. (1982): Renin and aldosterone responses to short-term NaCl or NaHCO₃ loading in man. *J Lab Clin Med* 100: 261.
- KALOYANIDES, G.J., G.F. Dibona & P. Raskin (1971): Pressure natriuresis in the isolated kidney. *Am J Physiol* 220: 1660.
- KALOYANIDES, G.J., R.D. Bastron & G.F. Dibona (1973): Effect of ureteral clamping and increased renal arterial pressure on renin release. *Am J Physiol* 225: 95.
- KANTER, G.S. (1968): Hypothermic hemoconcentration. *Am J Physiol* 214: 856.
- KARLBERG, B.E., T. Thulin, S.E. Fagerberg et al. (1979): Effects of prazosin on plasma renin activity and blood pressure. *J Clin Pharmacol* 19: 357.
- KAWAMURA, M., S. Akabane, K. Ito et al. (1982): The storage form of human renal renin. *Hypertension* 4: 211.
- KEETON, T.K. & W.A. Pettinger (1979): The dominance of adrenergic mechanisms in mediating hypotensive drug-induced renin release in the conscious rat. *J Pharmacol Exp Ther* 208: 303.

- KELJZER, M.H. de, A.P. Provoost & F.H.M. Derkx (1982): Absence of activation in vitro of renin in rat plasma. *Clin Sci* 62: 435.
- KHAYAT, A., S. Gonda, S. Sen et al. (1981): Responses of juxtaglomerular cell suspensions to various stimuli. *Hypertension* 3: 157.
- KIKTA, D.C. & M.J. Fregly (1982): Effect of in vitro administration of captopril on vascular reactivity of rat aorta. *Hypertension* 4: 118.
- KIRCHNER, K.A. & R. Mueller (1982): Effects of acute potassium infusions with salts other than chloride on plasma renin activity. *Am J Physiol* 242: F463.
- KOLETSKY, R.J., R.G. Dluhy, R.G. Cheron et al. (1981): Dietary chloride modifies renin release in normal humans. *Am J Physiol* 241: F361.
- KOLSTERS, G. (1976): De bloedsomloop door de nieren bij essentiële hypertensie. Proefschrift Rotterdam.
- KONZETT, H., H. Hörtnagl, H. Hörtnagl et al. (1971): On the urinary output of vasopressin, epinephrine and norepinephrine during different stress situations. *Psychopharmacologia (Berl)* 21: 247.
- KOPP, U., M. Aurell, M. Sjölander et al. (1981): The role of prostaglandins in the alpha- and beta-adrenoceptor mediated renin release response to graded renal nerve stimulation. *Pflügers Arch* 391: 1.
- KOPP, U., M. Aurell, L. Svensson et al. (1981): Effect of prealterol, a β_1 -adrenoceptor agonist, on renin secretion rate in the anaesthetized dog. *Acta Pharmacol Toxicol* 49: 230.
- KOSHY, M.C., D. Mickley, J. Bourgoignie et al. (1977): Physiologic evaluation of a new antihypertensive agent: prazosin HCl. *Circulation* 55: 533.
- KOTCHEN, T.A., J.H. Galla & R.G. Luke (1976): Failure of NaHCO_3 and KHCO_3 to inhibit renin in the rat. *Am J Physiol* 231: 1050.
- KOTCHEN, T.A., J.H. Galla & R.G. Luke (1978): Contribution of chloride to the inhibition of plasma renin by sodium chloride in the rat. *Kidney Int* 13: 201.
- KREYE, V.A.W. & F. Gross (1971): Conversion of angiotensin I to angiotensin II in peripheral vascular beds of the rat. *Am J Physiol* 220: 1294.
- KUNOS, G. & M. Szentiványi (1968): Evidence favouring the existence of a single adrenergic receptor. *Nature* 217: 1077.
- KUNOS, G., M.S. Yong & M. Nickerson (1973): Transformation of adrenergic receptors in the myocardium. *Nature* 241: 119.
- KUNOS, G. & M. Nickerson (1976): Temperature-induced interconversion of α - and β -adrenoceptors in the frog heart. *J Physiol (Lond)* 256: 23.
- LARAGH, J.H., M. Angers, W.G. Kelly et al. (1960): Hypotensive agents and pressor substances; the effect of epinephrine, norepinephrine, angiotensin II, and others on the secretory rate of aldosterone in man. *JAMA* 174: 234.
- LARAGH, J.H., L. Baer, H.R. Brunner (1972): Renin, angiotensin and aldosterone system in pathogenesis and management of hypertensive vascular disease. *Am J Med* 52: 633.
- LECKIE, B.J. (1981): Inactive renin: an attempt at a perspective. *Clin Sci* 60: 119.
- LEDERBALLE PEDERSEN, O., E. Mikkelsen & K.E. Andersson (1979): Comparison of the in vitro effects of prazosin, nifedipine, and dihydralazine in isolated human mesenteric and crural vessels. *Arch Int Pharmacodyn* 241: 224.
- LEENEN, F.H.H., D.P. Redmond & R.H. McDonald (1975): Alpha and beta adrenergic-induced renin release in man. *Clin Pharmacol Ther* 18: 31.
- LEEUW, P.W. de, A.J.P.M. Smout, P.J. Willemsse et al. (1981): Effects of verapamil in hypertensive patients. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil; Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October 1980; Ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam etc., Excerpta Medica. pp 233.

- LEHMANN, H.U., G. Meyer-Estorf & H. Hochrein (1978a): Die klinische Wirksamkeit von BQ 22-708, einem Pyridopyridazinderivat, bei der Behandlung des fixierten essentiellen Hochdrucks. *Med Welt* 29: 1007.
- LEHMANN, H.U., E. Witt & H. Hochrein (1978b): Hochdruckbehandlung durch Kombination eines Pyridopyridazinderivats mit einem Betarezeptorenblocker: hämodynamische Verlaufsuntersuchungen. *MMW* 120: 803.
- LEONEITTI, G., C. Pasotti, G.P. Ferrari et al. (1981): Double blind comparison of the antihypertensive effects of verapamil and propranolol. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil; Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October 1980; ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam etc., *Excerpta Medica*. pp 260.
- LEVER, A.F. & W.S. Peart (1962): Renin and angiotensin-like activity in renal lymph. *J Physiol (Lond)* 160: 548.
- LEVY, M.N. (1959): Oxygen consumption and blood flow in the hypothermic, perfused kidney. *Am J Physiol* 197: 1111.
- LEWIS, G.B.J., D.J. Stewart, B.M. Lewis et al. (1981): The antihypertensive effect of oral verapamil - acute and long-term administration and its effects on the high-density lipoprotein values in plasma. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October 1980; ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam etc., *Excerpta Medica*. pp 270.
- LIN, C.S., H. Iwao, S. Puttkammer et al. (1981): Prostaglandins and renin release in vitro. *Am J Physiol* 240: E609.
- LINAS, S.L. (1981): Mechanism of hyperreninemia in the potassium-depleted rat. *J Clin Invest* 68: 347.
- LITTLE, J.R. & J.J. Cohen (1974): Effect of albumin concentration on function of isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 226: 512.
- LJUNGVIST, A. (1963): The intrarenal arterial pattern in the normal and diseased kidney. *Acta Med Scand Suppl.* 401.
- LOGAN, A.G. & A. Chatziliadis (1980): The role of calcium in the control of renin release from the isolated rat kidney. *Can J Physiol Pharmacol* 58: 60.
- LOHMEIER, T.E., A.W. Cowley, N.C. Trippodo et al. (1977): Effects of endogenous angiotensin II on renal sodium excretion and renal hemodynamics. *Am J Physiol* 233: F388.
- LOPEZ, G.A., I.A. Reid, J.C. Rose et al. (1978): Effect of norepinephrine on renin release and the cyclic AMP content of rat kidney slices: modification by sodium deficiency and α -adrenergic blockade. *Neuroendocrinology* 27: 63.
- LUKE, R.G., R.H. Iyerly, J. Anderson et al. (1982): Effect of potassium depletion on renin release. *Kidney Int* 21: 14.
- LUMBERS, E.R. (1971): Activation of renin in human amniotic fluid by low pH. *Enzymologia* 40: 329.
- LIJNEN, P.J., A.K. Amery, R.H. Fagard et al. (1978): Radioimmunoassay of angiotensin II in unextracted plasma. *Clin Chim Acta* 88: 403.
- LIJNEN, P., R. Fagard, J. Steassen et al. (1981): Role of various vasodepressor systems in the acute hypotensive effect of captopril in man. *Eur J Clin Pharmacol* 20: 1.
- MAACK, T. (1980): Physiological evaluation of the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 238: F71.
- MCCROREY, H.L., T. Berl, T.J. Burke et al. (1980): Effect of calcium transport inhibitors on renal hemodynamics and electrolyte excretion in the dog. *Dev Endocrinol* 10: 113.
- MCGIFF, J.C. & H.D. Itskovitz (1973): Prostaglandins and the kidney. *Circ Res* 33: 479.

- McGIFF, J.C. (1980): Interactions of prostaglandins with the kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems. *Clin Sci* 59: 105s.
- McPHERSON, G.A. & R.J. Summers (1981): (³H)Prazosin and (³H)clonidine binding α -adrenoceptors in membranes prepared from regions of rat kidney. *J Pharm Pharmacol* 33: 189.
- MALIK, K.U. & J.C. McGiff (1975): Modulation by prostaglandins of adrenergic transmission in the isolated perfused rabbit and rat kidney. *Circ Res* 36: 599.
- MALIK, K.U. & A. Nasjletti (1976): Facilitation of adrenergic transmission by locally generated angiotensin II in rat mesenteric arteries. *Circ Res* 38: 26.
- MAN IN 'T VELD, A.J., I.M. Schicht, F.H.M. Derkx et al. (1980): Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor (captopril) on blood pressure in anephric subjects. *Br Med J* 280: 288.
- MASSINGHAM, R. & M.L. Hayden (1975): A comparison of the effects of prazosin and hydralazine on blood pressure, heart rate and plasma renin activity in conscious renal hypertensive dogs. *Eur J Pharmacol* 30: 121.
- MAULL, K.I., T.A. Kotchen, J.M. Kotchen et al. (1975): Effect of calcium gluconate (CaGluc) on renin release. *Clin Res* 23: 369A.
- MEEL, J.C.A. van, A. de Jonge, H.O. Kalkman et al. (1981): Vascular smooth muscle contraction initiated by postsynaptic α_2 -adrenoceptor activation is induced by an influx of extracellular calcium. *Eur J Pharmacol* 69: 205.
- MEEL, J.C.A. van, A. de Jonge, H.O. Kalkman et al. (1981): Organic and inorganic calcium antagonists reduce vasoconstriction in vivo mediated by postsynaptic α_2 -adrenoceptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 316: 288.
- MENDELSON, F.A.O. (1979): Evidence for the local occurrence of angiotensin II in rat kidney and its modulation by dietary sodium intake and converting enzyme blockade. *Clin Sci* 57: 173.
- MERRILL, E.W., E.F. Gilliland, G. Cokelet et al. (1963): Rheology of human blood, near and at zero flow; effects of temperature and hematocrit level. *Biophys J* 3: 199.
- METZ, J.E. de & P.A. van Zwieten (1981): Differential effects of dihydroergotamine on the circulatory actions of arterial and venous dilators in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 3: 217.
- MEYER, P., J. Menard, N. Papanicolaou et al. (1968): Mechanism of renin release following furosemide diuresis in rabbit. *Am J Physiol* 215: 908.
- MICHELAKIS, A.M. (1971): The effect of sodium and calcium on renin release in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med* 137: 833.
- MICHELAKIS, A.M. & R.G. McAllister (1972): The effect of chronic adrenergic receptor blockade on plasma renin activity in man. *J Clin Endocrinol Metab* 34: 386.
- MIMRAN, A., R. Targhetta & B. Laroche (1980): The antihypertensive effect of captopril; evidence for an influence of kinins. *Hypertension* 2: 732.
- MIMRAN, A., D. Casellas, C. Chevillard et al. (1982): Evidence for a postsynaptic effect of captopril in isolated perfused rabbit kidney. *Am J Cardiol* 49: 1540.
- MOGIL, R.A., H.D. Itskovitz, J.H. Russell et al. (1969): Renal innervation and renin activity in salt metabolism and hypertension. *Am J Physiol* 216: 693.
- MORGAN, T. & J.M. Davis (1975): Renin secretion at the individual nephron level. *Pflügers Arch* 359: 23.
- MORGANTI, A., C. Sala, A. Palermo et al. (1981): α_1 -adrenoceptor blockade: dissociation of its effects on renin release and arterial blood pressure in man. *Clin Sci* 61: 307s.
- MORMOTO, S., K. Yamamoto, K. Horiuchi et al. (1970): A release of renin from dog kidney cortex slices. *Jpn J Pharmacol* 20: 536.

- MORRIS, B.J. & E.R. Lumbers (1972): The activation of renin in human amniotic fluid by proteolytic enzymes. *Biochim Biophys Acta* 289: 385.
- MORRIS, B.J., R.L. Nixon & C.I. Johnston (1976): Release of renin from glomeruli isolated from rat kidney. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 3: 37.
- MUESAN, G., E. Agabiti-Rosei, C. Alicandri et al. (1981): Influence of verapamil on catecholamines, renin and aldosterone in essential hypertensive patients. In: Calcium antagonism in cardiovascular therapy: experience with verapamil; Proceedings of the international symposium on calcium antagonism in cardiovascular therapy, Florence, 2nd-4th October 1980; ed. by A. Zanchetti & D.M. Krikler. Amsterdam etc., Excerpta Medica. pp 238.
- MULLANE, K.M. & S. Moncada (1980): Prostacyclin release and the modulation of some vasoactive hormones. *Prostaglandins* 20: 25.
- MURLOW, P.J. (1976): Renal hormones. In: The kidney; ed. by B.M. Brenner & F.C. Rector. Philadelphia etc., W.B. Saunders.
- MURRAY, R.D. & R.L. Malvin (1979): Intrarenal renin and autoregulation of renal plasma flow and glomerular filtration rate. *Am J Physiol* 236: F559.
- MURTHY, V.S., T.L. Waldron & M.E. Goldberg (1978): Inhibition of angiotensin-converting enzyme by SQ 14,225 in anesthetized dogs: hemodynamic and renal vascular effects. *Proc Soc Exp Biol Med* 157: 121.
- NAFTILAN, A.J. & S. Oparil (1982): The role of calcium in the control of renin release. *Hypertension* 4: 670.
- NAKANE, H., Y. Nakane, P. Corvol et al. (1979): Effect of acid, trypsin and cold treatment and of renin-plasma interaction on the activity of renin secreted by rat kidney. *Clin Sci* 57: 233.
- NAKANE, H., Y. Nakane, A. Roux et al. (1980a): Effects of selective and nonselective beta adrenergic agents on renin secretion in isolated perfused rat kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 212: 34.
- NAKANE, H., Y. Nakane, J. Misumi et al. (1980b): A comparison of multiple forms of renin in rat renal perfusate with those in renal extract. *Clin Sci* 59: 37s.
- NARUSE, K., T. Inagami, M.R. Celio et al. (1982): Immunohistochemical evidence that angiotensins I and II are formed by intracellular mechanism in juxtaglomerular cells. *Hypertension* 4: II-70.
- NASH, F.D., H.H. Rostorfer, M.D. Bailie et al. (1968): Renin release; relation to renal sodium load and dissociation from hemodynamic changes. *Circ Res* 22: 473.
- NASJLETTI, A. & K.U. Malik (1979): Relationships between the kallikrein-kinin and prostaglandin systems. *Life Sci* 25: 99.
- NAVAR, L.G., D. Jirakulsomchok, P.D. Bell et al. (1982): Influence of converting enzyme inhibition on renal hemodynamics and glomerular dynamics in sodium-restricted dogs. *Hypertension* 4: 58.
- NEWSOME, H.H. & F.C. Bartter (1968): Plasma renin activity in relation to serum sodium concentration and body fluid balance. *J Clin Endocrinol Metab* 28: 1704.
- NG, K.K.F. & J.R. Vane (1967): Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Nature* 216: 762.
- NIELSEN, I. & I. Møller (1967): Simultaneous determination of renin activity and angiotensin concentration levels in human plasma. *Acta Med Scand* 182: 263.
- NINOMIYA, I. & S. Fujita (1976): Reflex effects of thermal stimulation on sympathetic nerve activity to skin and kidney. *Am J Physiol* 230: 271.
- NISHIITSUTSUJI-UWO, J.M., B.D. Ross & H.A. Krebs (1967): Metabolic activities of the isolated perfused rat kidney. *Biochem J* 103: 852.
- NIZET, A., Y. Cuyppers, L. Massillon et al. (1957): Mise en évidence de facteurs réduisant le débit sanguin rénal et libérés par les hématies. *Arch Int Physiol Biochim* 65: 568.

- NIZET, A. (1975): The isolated perfused kidney: possibilities, limitations and results. *Kidney Int* 7: 1.
- QATES, H.F., R.M. Graham & G.S. Stokes (1977): Mechanism of the hypotensive action of prazosin. *Arch Int Pharmacodyn* 227: 41.
- QATES, H.F. & L.M. Stoker (1981): Studies in the rat on endralazine, a new antihypertensive drug structurally related to hydralazine. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 8: 133.
- OGIHARA, T., T. Yasui, H. Nakane et al. (1982): Direct renal action of captopril (SQ 14225): dissociation of natriuretic and vascular actions in isolated perfused rat kidney. *Am J Cardiol* 49: 1511.
- OLIVER, W.J. & G.L. Brody (1965): Effect of prolonged hypoxia upon granularity of renal juxtaglomerular cells. *Circ Res* 16: 83.
- QMVIK, P, E. Enger & I. Eide (1976): Effect of sodium depletion on plasma renin concentration before and during adrenergic β -receptor blockade with propranolol in normotensive man. *Am J Med* 61: 608.
- ONO, H., H. Kokubun & K. Hashimoto (1974): Abolition by calcium antagonists of the autoregulation of renal blood flow. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 285: 201.
- OPARIL, S., C.A. Sanders & E. Haber (1970): In-vivo and in-vitro conversion of angiotensin I to angiotensin II in dog blood. *Circ Res* 26: 591.
- OSBORN, J.L., G.F. DiBona & M.D. Thames (1982): Role of renal α -adrenoceptors mediating renin secretion. *Am J Physiol* 242: F620.
- PARK, C.S. & R.L. Malvin (1978): Calcium in the control of renin release. *Am J Physiol* 235: F22.
- PARK, C.S., D.S. Han & J.C.S. Fray (1981): Calcium in the control of renin secretion: Ca^{2+} influx as an inhibitory signal. *Am J Physiol* 240: F70.
- PASSON, P.G. & J.D. Peuler (1973): A simplified radiometric assay for plasma norepinephrine and epinephrine. *Anal Biochem* 51: 618.
- PEART, W.S. (1975): Renin-angiotensin system. *N Engl J Med* 292: 302.
- PEDRINELLI, R., P. Sassano, F. Arzilli et al. (1981): Mediation of renin release in essential hypertension by α -adrenoreceptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 3: 1153.
- PEGG, D.E. (1970): Some effects of dextran and of bovine serum albumin on the isolated perfused rabbit kidney. *Cryobiology* 6: 419.
- PETTINGER, W.A. & K. Keeton (1973): Altered renin release and synergistic antihypertensive activity of vasodilating drugs and propranolol. *Clin Res* 21: 472.
- PETTINGER, W.A., W.B. Campbell & K. Keeton (1973): Adrenergic component of renin release induced by vasodilating antihypertensive drugs in the rat. *Circ Res* 33: 82.
- PETTINGER, W.A., K. Tanaka, K. Keeton et al (1975): Renin release, an artifact of anesthesia and its implications in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 148: 625.
- PETTINGER, W.A. & K. Keeton (1975): Altered renin release and propranolol potentiation of vasodilatory drug hypotension. *J Clin Invest* 55: 236.
- PETTINGER, W.A., T.K. Keeton, W.B. Campbell et al (1976): Evidence for a renal α -adrenergic receptor inhibiting renin release. *Circ Res* 38: 338.
- PICOTTI, G.B., M.O. Carruba, C. Ravazzani et al (1981): Plasma catecholamines in rats exposed to cold: effects of ganglionic and adrenoreceptor blockade. *Eur J Pharmacol* 69: 321.
- PITCOCK, J.A. & P.M. Hartroft (1958): The juxtaglomerular cells in man and their relationship to the level of plasma sodium and to the zona glomerulosa of the adrenal cortex. *Am J Pathol* 34: 863.
- POWELL, H.R., D.A. McCredie & E. Rotenberg (1978): Renin release by parathyroid hormone in the dog. *Endocrinology* 103: 985.

- REEVES, G., L.M. Lowenstein & S.C. Sommers (1963): The macula densa and juxtaglomerular body in cirrhosis. *Arch Intern Med* 112: 708.
- RIX, E., D. Ganten, B. Schüll et al (1981): Converting-enzyme in the choroid plexus, brain and kidney; immunocytochemical and biochemical studies in rats. *Neurosci Lett* 22: 125.
- ROSENHEIM, T. (1888): Experimentelle zur Theorie der Quecksilberdiurese. *Z Klin Med* 14: 170.
- ROSS, B.D., F.H. Epstein & A. Leaf (1973): Sodium reabsorption in the perfused rat kidney. *Am J Physiol* 225: 1165.
- ROSS, B.D. (1978): The isolated perfused rat kidney. *Clin Sci* 55: 513.
- ROSS, B., J. Tange, K. Enslie et al (1980): Paracetamol metabolism by the isolated perfused rat kidney. *Kidney Int* 18: 562.
- RUSCH, N.J., J.T. Shepherd & P.M. Vanhoutte. The effect of profound cooling on adrenergic neurotransmission in canine cutaneous veins. *J Physiol (LOND)* 311: 57.
- RUYTER, J.H.C. (1925): Ueber einen merkwürdigen Abschnitt der Vasa afferentia in der mäuseniere. *Z Zellforsch.* 2: 242.
- RYAN, J.W., J.M. Stewart, W.P. Leary et al (1970): Metabolism of angiotensin I in the pulmonary circulation. *Biochem J* 120: 221.
- SAGNELLA, G.A. & W.S. Peart (1979): Studies on the isolation and properties of renin granules from the rat kidney cortex. *Biochem J* 182: 301.
- SALVETTI, A., L. Poli, F. Arzilli et al (1978): Effects of salbutamol and metoprolol on plasma renin activity and plasma potassium of normal subjects and of hypertensive patients. *J Endocrinol Invest* 1: 1.
- SARUTA, T. & S. Matsuki (1975): The effects of cyclic AMP, theophylline, angiotensin II and electrolytes upon renin release from rat kidney slices. *Endocrinol Jpn* 22: 136.
- SCHAECHTELIN, G., D. Regoli & F. Gross (1964): Quantitative assay and disappearance rate of circulating renin. *Am J Physiol* 206: 1361.
- SCHALEKAMP, M.A.D.H., J.H.B. de Bruyn, G.J. Wenting et al (1980): Een nieuw aangrijpingspunt voor de behandeling van hypertensie: captopril, een oraal werkzame remmer van de enzymatische omzetting van angiotensine I in angiotensine II. *Ned Tijdschr Geneeskd* 124: 1996.
- SCHNEIDER, E.G., R.E. Lynch, L.R. Willis et al (1972): The effect of potassium infusion on proximal sodium reabsorption and renin release in the dog. *Kidney Int* 2: 197.
- SCHOR, N., I. Ischikawa & B.M. Brenner (1980): Glomerular adaptations to chronic dietary salt restriction or excess. *Am J Physiol* 238: F428.
- SCHOR, N., I. Ischikawa & B.M. Brenner (1981): Mechanisms of action of various hormones and vasoactive substances on glomerular ultrafiltration in the rat. *Kidney Int* 20: 442.
- SCHOR, N. & B.M. Brenner (1981): Possible mechanism of prostaglandin-induced renal vasoconstriction in the rat. *Hypertension* 3: 11-81.
- SCHUREK, H.J., J.P. Brecht, H. Lohfert et al (1975): The basic requirements for the function of the isolated cell free perfused rat kidney. *Pflügers Arch* 354: 349.
- SCHUREK, H.J. & J.M. Alt (1981): Effect of albumin on the function of perfused rat kidney. *Am J Physiol* 240: F569.
- SEALEY, J.E., I. Clark, M.B. Bull et al (1970): Potassium balance and the control of renin secretion. *J Clin Invest* 49: 2119.
- SEALY, J.E., F.R. Bühler, J.H. Laragh et al (1973): The physiology of renin secretion in essential hypertension; estimation of renin secretion rate and renal plasma flow from peripheral and renal vein renin levels. *Am J Med* 55: 391.
- SEALY, J.E., C. Moon, J.H. Laragh et al (1976): Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects. *Am J Med* 61: 731.

- SEALY, J.E., S.A. Atlas & J.H. Laragh (1982): Plasma prorenin: physiological and biochemical characteristics. *Clin Sci* 63: 133s.
- SELL, K.W., A. Small & J.L. Benjamin (1972): Renal function in the hypothermic perfused state. *Transplant Proc* 4: 617.
- SENEDECOR, G.W. & W.C. Cochran (1967), *Statistical Methods*. Iowa State University Press.
- SHADE, R.E., J.O. Davis, J.A. Johnson et al (1972): Effects of renal arterial infusion of sodium and potassium on renin secretion in the dog. *Circ. Res* 31: 719.
- SHADE, R.E., J.O. Davis, J.A. Johnson et al (1973): Mechanism of action of angiotensin II and antidiuretic hormone on renin secretion. *Am J Physiol* 224: 926.
- SHANNON, J.A. & F.R. Winton (1949): The renal excretion of inulin and creatinine by the anaesthetized dog and the pump-lung-kidney preparation. *J Physiol (LOND)* 98: 97.
- SHULKES, A.A., R.R. Gibson & S.L. Skinner (1978): The nature of inactive renin in human plasma and amniotic fluid. *Clin Sci* 55: 41.
- SHUM, A., G.E. Johnson & K.V. Flattery (1969): Influence of ambient temperature on excretion of catecholamines and metabolites. *Am J Physiol* 216: 1164.
- SILBERBAUER, K., B. Stanek & H. Tempf (1982): Acute hypotensive effect of captopril in man modified by prostaglandin synthesis inhibition. *Br J Clin Pharmacol* 14: 87s.
- SINAIKO, A.R., M.J. Cooper & B.L. Mirkin (1980): Effect of neonatal sympathectomy with 6-hydroxydopamine on reactivity of the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci* 59: 123.
- SINAIKO, A.R. (1981): Influence of adrenergic nervous system on vasodilator-induced renin release in the conscious rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 167: 25.
- SINGH, B.N., G. Ellrodt & C.T. Peter (1978): Verapamil: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs* 15: 169.
- SKEGGS, L.T., K.E. Lentz, A.B. Gould et al (1976a): Biochemistry and kinetics of the renin-angiotensin system. *Fed Proc* 26: 42.
- SKEGGS, L.T., F.E. Dorer, J.R. Kahn et al (1976b): The biochemistry of the renin-angiotensin system and its role in hypertension. *Am J Med* 60: 737.
- SKINNER, S.L., J.W. McCubbin & I.H. Page (1963): Renal baroreceptor control of renin secretion. *Science* 141: 814.
- SKINNER, S.L., J.W. McCubbin & I.H. Page (1964): Control of renin secretion. *Circ Res* 15: 64.
- SKINNER, S.L. (1967): Improved assay methods for renin "concentration" and "activity" in human plasma; methods using selective denaturation of renin substrate. *Circ Res* 20: 391.
- SMALL, A., R.T. Bell, R.S. Filo et al (1973): Measurement of intracortical flow distribution in hypothermic isolated perfused kidneys. *Am J Physiol* 225: 1199.
- SOMLYO, A.P. & A.V. Somlyo (1968): Vascular smooth muscle. I. Normal structure pathology, biochemistry, and biophysics. *Pharmacol Rev* 20: 197.
- SOTTIURAI, V.S. & R. Malvin (1982): Intracellular sodium in macula densa cells and renin release. *J Surg Res* 32: 401.
- SPOKAS, E.G. & H.H. Wang (1980): Regional blood flow and cardiac responses to hydralazine. *J Pharmacol Exp Ther* 212: 294.
- STEPHENS, G.A., J.O. Davis, R.H. Freeman et al (1978): Effects of sodium and potassium salts with anions other than chloride on renin secretion in the dog. *Am J Physiol* 234: F10.
- STOKES, G.S. & M.A. Weber (1974): Prazosin: preliminary report and comparative studies with other antihypertensive agents. *Br Med J* II: 298.

- STRANG, K.D. (1978): De rol van renale alpha-receptoren bij de regulatie van de reninesecretie door de geïsoleerde rattenier. Proefschrift Rotterdam.
- SUKI, W.N., G. Eknoyan, F.R. Rector et al (1969): The renal diluting and concentrating mechanism in hypercalcaemia. *Nephron* 6: 50.
- SUTHERLAND, L.E. (1970): A fluorescent antibody study of juxtaglomerular cells using the freeze-substitution technique. *Nephron* 7: 512.
- SWARTZ, S.L., G.H. Williams, N.K. Hollenberg et al (1980): Increase in prostaglandins during converting enzyme inhibition. *Clin Sci* 59:133s.
- TAQUINI, A.C., P. Blaquier & A.C. Taquini Jr (1964): On the production and role of renin. *Can Med Assoc J* 90: 210.
- TAUGNER, R. & E. Hackenthal (1981): Angiotensin II in epitheloid (renin containing) cells of rat kidney. *Histochemistry* 72: 499.
- TAUGNER, R., E. Hackenthal, E. Rix et al (1982): Immunocytochemistry of the renin-angiotensin system: renin, angiotensinogen, angiotensin I, angiotensin II, and converting enzyme in the kidneys of mice, rats, and tree shrews. *Kidney Int* 22, suppl 12:33.
- THURAU, K., J. Schnermann, W. Nager et al (1967): Composition of tubular fluid in the macula densa segment as a factor regulating the function of the juxtaglomerular apparatus. *Circ Res* 22/23:II-79.
- THURAU, K., A. Grüner, J. Mason et al (1982): Tubular signal for the renin activity in the juxtaglomerular apparatus. *Kidney Int* 22, suppl 12: 55.
- TIGERSTEDT, R. & P.G. Bergmann (1898): Niere und Kreislauf. *Skand Arch Physiol* 8: 223.
- TIMMERMANS, P.B.M.W.M., B. Wilffert, H.O. Kalkman et al (1982): Selective inhibition of α_1 -adrenoceptor mediated vasoconstriction in vivo by captopril and MK-421. *Br J Pharmacol* 75: 135p.
- TOBIAN, L., J. Janecek & A. Tomboulian (1959): Correlation between granulation of juxtaglomerular cells and extractable renin in rats with experimental hypertension. *Proc Soc Exp Biol Med* 100: 94.
- TOBIAN, L., M. Braden & J. Maney (1964): The effect of unilateral renal denervation on the secretion of renin. *J Lab Clin Med* 64: 1011.
- TORELLI, G., E. Milla, L.I. Kleinman et al (1973): Effect of hypothermia on renal sodium reabsorption. *Pflügers Arch* 342: 219.
- TRIMBLE, M.E. & R.H. Bowman (1973): Renal Na^+ and K^+ transport: effects of glucose, palmitate, and α -bromopalmitate. *Am J Physiol* 225: 1057.
- TUCK, M.L., R.G. Dluhy & G.H. Williams (1974): A specific role for saline or the sodium ion in the regulation of renin and aldosterone secretion. *J Clin Invest* 53: 988.
- UEDA, H., Y. Kaneko, T. Takeda et al (1970): Observations on the mechanism of renin release by hydralazine in hypertensive patients. *Circ Res* 26/27: II-201.
- VANDER, A.J. & R. Miller (1964): Control of renin secretion in the anesthetized dog. *Am J Physiol* 207: 537.
- VANDER, A.J. (1967): Control of renin release. *Physiol Rev* 47:359.
- VANDER, A.J. (1968): Inhibition of renin release in the dog by vasopressin and vasotocin. *Circ Res* 23: 605.
- VANDER, A.J. (1970): Direct effects of potassium on renin secretion and renal function. *Am J Physiol* 219: 455.
- VANDONGEN, R., W.S. Peart & G.W. Boyd (1973): Adrenergic stimulation of renin secretion in the isolated perfused rat kidney. *Circ Res* 32:290.
- VANDONGEN, R., W.S. Peart & G.W. Boyd (1974): Effect of angiotensin II and its nonpressor derivatives on renin secretion. *Am J Physiol* 226: 227.
- VANDONGEN, R. & W.S. Peart (1974a): Calcium dependence of the inhibitory effect of angiotensin on renin secretion in the isolated perfused kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 50: 125.

- VANDONGEN, R. & W.S. Peart (1974b): The inhibition of renin secretion by alpha-adrenergic stimulation in the isolated rat kidney. *Clin Sci* 47:471.
- VANDONGEN, R. (1975a): Direct intrarenal action of catecholamines on renin secretion. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2, suppl 2:103.
- VANDONGEN, R. (1975b): Inhibition of renin secretion in the isolated rat kidney by antidiuretic hormone. *Clin Sci*, 49: 73.
- VANDONGEN, R. & D.M. Greenwood (1975a): The stimulation of renin secretion by diazoxide in the isolated rat kidney. *Eur J Pharmacol* 33: 197.
- VANDONGEN, R. & D.M. Greenwood (1975b): The inhibition of renin secretion in the isolated rat kidney by clonidine hydrochloride (Catapres). *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2:583.
- VANDONGEN, R. (1976): Suppression of renin secretion in the isolated rat kidney by cycloheximide. *Eur J Pharmacol* 40: 179.
- VANDONGEN, R. (1977): Intrarenal stimulation of renin secretion by frusemide in the isolated kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 60: 73.
- VANDONGEN, R., M. Poessée, K.D. Strang et al (1977): Evidence that "inactive" renin is produced outside the kidney of the rat. *Clin Sci* 53: 189.
- VANDONGEN, R. & A. Tunney (1980): Renin secretion and renal vascular resistance following prolonged administration of desoxycorticosterone (DOC) in rats drinking normal saline. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 7: 391.
- VANDONGEN, R., A. Tunney, A. Barden et al (1982): Potentiation of bradykinin by captopril during suppression of prostacyclin synthesis. *Hypertension* 4: 642.
- VANHOUTTE, P.M. & J.T. Shepherd (1970): Effect of temperature on reactivity of isolated cutaneous veins of the dog. *Am J Physiol* 218: 187.
- VEYRAT, R., H.R. Brunner, E.L. Manning et al (1967): Inhibition de l'activité de la rénine plasmatique par le potassium. *J Urol (Paris)* 73: 271.
- VINCI, J.M., D. Horwitz, R.M. Zusman et al (1979): The effect of converting enzyme inhibition with SQ20,881 on plasma and urinary kinins, prostaglandin E, and angiotensin II in hypertensive man. *Hypertension* 1: 416.
- WAGERMARK, J., U. Ungerstedt & A. Ljungqvist (1968): Sympathetic innervation of the juxtaglomerular cells of the kidney. *Circ Res* 22: 149.
- WARD, P.E., C.D. Gedney, R.M. Dowben et al (1975): Isolation of membrane-bound renal kallikrein and kininase. *Biochem J* 151: 755.
- WATKINS, B.E, J.O. Davis, T.E. Lohmeier et al (1976): Intrarenal site of action of calcium on renin secretion in dogs. *Circ Res* 39: 847.
- WEBER, M.A., G.S. Stokes & J.M. Gain (1974): Comparison of the effects of renin release of beta adrenergic antagonists with differing properties. *J Clin Invest* 54: 1413.
- WEINBERG, M.H., W. Aoi, M.B. Wade et al (1976): Renin-like activity (RLA) in anephric man. *Kidney Int* 10: 537.
- WEISMANN, D.N. & H.E. Williamson (1981): Hypoxemia increases renin secretion rate in anesthetized newborn lambs. *Life Sci* 29: 1887.
- WEISS, C., H. Passow & A. Rothstein (1959): Autoregulation of flow in isolated rat kidney in the absence of red cells. *Am J Physiol* 196: 1115.
- WESTER, A. (1979): Vasodilatatie en beta-adrenerge blokkade bij de behandeling van hypertensiepatiënten; klinische, haemodynamische en endocrinologische effecten met speciale aandacht voor de impedantietechniek. Proefschrift Rotterdam.
- WHORTON, A.R., J.D. Lazar, M.D. Smigel et al (1981): Prostaglandins and renin release: III. Effects of PGE₁, I₂-, F₂- and D₂ on renin release from rabbit renal cortical slices. *Prostaglandins* 22: 455.
- WILLIAMS, G.H. & N.K. Hollenberg (1977): Accentuated vascular and endocrine response to SQ 20881 in hypertension. *N Engl J Med* 297: 184.

- WINNER, N., D.S. Chokshi, M.S. Yoon et al (1969): Adrenergic receptor mediation of renin secretion. *J Clin Endocrin* 29: 1168.
- WITNEY, W.R., B.J. Chapman & K.A. Munday (1975): Cause of the reduction in renal blood flow in the hypothermic (27°C) dog. *Resuscitation* 3: 265.
- WITNEY, W.R., B.J. Chapman & K.A. Munday (1976): Distribution of blood flow in the hypothermic (27°C) dog kidney. *Clin Sci* 51:583.
- WITTY, R.T., J.O. Davis, J.A. Johnson et al (1971): Effects of papaverine and hemorrhage on renin secretion in the nonfiltering kidney. *Am J Physiol* 221: 1666.
- WITTY, R.T., J.O. Davis, R.E. Shade et al (1972): Mechanisms regulating renin release in dogs with thoracic caval constriction. *Circ Res* 31: 339.
- WONG, P.C. & B.G. Zimmerman (1980): Role of extrarenal and intrarenal converting enzyme inhibition in renal vasodilator response to intravenous captopril. *Life Sci* 27: 1291.
- WONG, P.C, B.G. Zimmerman, E. Kraft et al (1981): Pharmacological evaluation in conscious dogs of factors involved in the renal vasodilator effect of captopril. *J Pharmacol Exp Ther* 219:646.
- WOOD, A.J., E.L. Phelan & F.O. Simpson (1975): Cardiovascular effects of prazosin in normotensive and genetically hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2: 297.
- YAMAMOTO, K., H. Tanaka, K. Horiuchi et al (1967): Release of renin from dog kidney cortex slices in vitro. *Jpn J Pharmacol* 17:685.
- YAMAMOTO, K., T. Hasegawa; M. Miyazaki et al (1969): Control of renin secretion in the anesthetized dog. 2. Relationship between renin secretion, plasma sodium concentration and GFR in the perfused kidney. *Jpn Circ J* 33: 593.
- YANG, H.Y.T. & E.G. Erdös (1967): Second kininase in human blood plasma. *Nature* 215: 1402.
- YUKIMURA, T. (1979): Effects of EDTA and verapamil on renin secretion. *Osaka City Med J* 28: 309.
- ZIEGLER, M. & F. Gross (1964): Effect of blood volume changes on renin-like activity in blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 116: 774.
- ZIMMERMAN, B.G. (1981): Adrenergic facilitation by angiotensin: does it serve a physiological function? *Clin Sci* 60: 343.

N A W O O R D

Gaarne dank ik aan het eind van dit proefschrift allen die door hun medewerking het totstandkomen mede hebben mogelijk gemaakt.

Dr. P.W. de Leeuw ben ik zeer erkentelijk voor zijn begeleiding. Het was een voorrecht te mogen putten uit zijn schier onbegrensde wetenschappelijke kennis. Zijn inspirerende leiding waarborgde de voortgang van dit onderzoek en zijn bijdrage aan dit proefschrift valt niet in enkele woorden aan te geven.

Prof. dr. W.H. Birkenhäger, mijn opleider en promotor, dank ik voor het stimuleren van het onderzoek en de kritische beoordeling van het resultaat.

Prof. dr. P.R. Saxena en Prof. dr. P.A. van Zwieten gaven mij waardevolle adviezen.

De experimenten werden aanvankelijk (in de moeizame aanloopfase) uitgevoerd in samenwerking met Paul van Es, waarna met Michel Schuitemaker de verdere onderzoekingen konden worden verricht. Zij verrichtten ook de grote hoeveelheid renine-bepalingen. Leo Huynen zorgde voor een constante aanvoer van proefdieren. Het enthousiasme van Paul, Michel en Leo, alsmede de prettige samenwerking, waren voor de voortgang van het onderzoek van onschatbare waarde.

De medewerking van de analisten van het klinisch-chemisch laboratorium wordt zeer gewaardeerd.

Drs. J.A.J. Spaas, patholoog-anatoom, was bereid een aantal nieren te beoordelen.

De heer A. v.d. Wiel (medisch-electronische dienst Sophia Kinderziekenhuis) construeerde en reviseerde de verwarmingsapparatuur, onontbeerlijk voor dit onderzoek.

De medewerkers van de medische bibliotheek, onder leiding van Mevr. I. v.d. Bergh-Snoek, ben ik erkentelijk voor hun hulp bij het verzamelen van de literatuur. Mevr. v.d. Bergh stelde op een deskundige manier de literatuurlijst samen, waarvoor mijn dank.

Carl Hubers van Assenraad verzorgde de talrijke illustraties van dit proefschrift.

Na het uitvallen van Ina wegens ziekte nam Irene Drost-Planqué het typewerk met voortvarendheid ter hand.

Ellen v.d. Wijgert verzorgde op een vakkundige manier de uiteindelijke tekstverwerking.

Alle collegae en analisten van de hypertensiegroep dank ik voor hun medewerking.

Ook allen, hier niet genoemd, die hebben bijgedragen aan het totstandkomen van dit proefschrift wil ik hartelijk danken.

Het schrijven van dit proefschrift in combinatie met mijn dagelijkse werkzaamheden was slechts mogelijk door de steun en het begrip van Ina.

C U R R I C U L U M V I T A E

De schrijver van dit proefschrift werd in 1953 te Dordrecht geboren. Hij volgde de opleiding H.B.S.-B. aan het Christelijk Lyceum te Almelo. In september 1970 begon zijn medische studie te Rotterdam en op 19 november 1976 werd aan de Erasmus Universiteit het artsdiploma behaald.

Van maart 1977 tot mei 1978 werd de militaire dienstplicht vervuld op de afdeling radiologie van het Militair Hospitaal Dr. A. Mathijssen te Utrecht (hoofden: Drs. A. v.d. Beek en Dr. J.M.H. Blom). In het kader van zijn opleiding tot internist was hij van mei 1978 tot november 1978 werkzaam op de afdeling interne geneeskunde van de Dr. Daniël den Hoedkliniek te Rotterdam (hoofd destijds: Drs. R.E. Treurniet), waarna de opleiding werd voortgezet in het Zuiderziekenhuis te Rotterdam onder leiding van Prof. dr. W.H. Birkenhäger. Op 1 november 1982 volgde inschrijving in het specialistenregister.

Thans is de promovendus werkzaam op de afdeling interne geneeskunde van het Zuiderziekenhuis als chef de policlinique.

