

5059

# 8149290

Foreign Dissertation  
Univ. of Calif.  
San Francisco

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie  
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. Kewitz)  
und der Medizinischen Klinik und Poliklinik  
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin  
(Geschäftsführender Direktor im Klinikum: Professor Dr. R. Schröder)

UC-NRLF



B 3 383 075

**Ober den Einfluß von Spironolacton (Aldactone )  
auf den Stoffwechsel von Nebennierenrindenhormonen und  
von Testosteron bei Gesunden mit diätinduziertem  
Hyperaldosterismus**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung der Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Sieglinde Spörl**  
aus Hadernmannsgrün

Berlin 1978

**Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie  
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. Kewitz)  
und der Medizinischen Klinik und Poliklinik  
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin  
(Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. R. Schröder)**

**Ober den Einfluß von Spironolacton (Aldactone<sup>®</sup>)  
auf den Stoffwechsel von Nebennierenrindenhormonen und  
von Testosteron bei Gesunden mit diätinduziertem  
Hyperaldosterismus**

**INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung der Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Sieglinde Spörl  
aus Hadernmannsgrün**

**Berlin 1978**

Referent: Privat Dozent Dr. U. Abshagen

Korreferent: Professor Dr. G. Laudahn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 3. Mai 1979

Meinen lieben Eltern



# I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

## I. Einführung

- 1) Entdeckung des Aldosterons
- 2) Konzepte zur Beeinflussung der Aldosteronwirkung
  - 2.1. Synthesehemmung
  - 2.2. Rezeptorblockade
- 3) Entdeckung der Spirolactone - Wirkungsprinzipien
  - 3.1. Rezeptorblockade in der Niere
  - 3.2. extrarenale Wirkungen
    - 3.2.1. Synthesehemmung durch Konkurrenz mit den Steroidhydroxylasen
    - 3.2.2. Direkte, nicht kompetitive Blockade von Steroidhydroxylasen
    - 3.2.3. Synthesehemmung aller 17 $\alpha$ -Hydroxylase abhängigen Steroide (Cortisolreihe, Androgene)
      - 3.2.3.1. Testosteronrezeptorenblockade
  - 3.3. Enzyminduktion
- 4) Regulation der Steroidhormonsynthese in vivo  
- Biosynthese der Nebennierenrindensteroidhormone
- 5) Ziel: in-vivo-Versuchsanordnung, die therapeutischen Bedingungen entspricht, und die die Frage nach einer Synthesehemmung von Aldosteron beantwortet.

## II. Methodik und Materialien

- 1) Versuchsablauf
- 2) Methoden
  - 2.1. Elektrolytbestimmung
  - 2.2. Bestimmungen im Urin
    - 2.2.1. Aldosteron-18-Glucuronid-Exkretionsrate (AER)
    - 2.2.2. Aldosteronsekretionsrate (ASR)
  - 2.3. Bestimmungen im Blut

- 2.3.1. Plasmareninaktivität (PRA)
- 2.3.2. Angiotensin II (AT II)-Konzentration
- 2.3.3. Nebennierenrindensteroidhormone
- 2.3.4. Testosteron
- 2.4. Spezifität der Methoden zur Steroidhormonbestimmung
- 2.5. Canrenon, Canrenoat-Kalium
- 2.6. statistische Auswertung

### 3) Materialien

## III. Ergebnisse

- 1) Canrenon- und Canrenoat-K-Konzentrationen
- 2) Gewichtsverhalten
- 3) Urinvolumina
- 4) Urinelektrolyte
- 5) Plasmaelektrolyte
- 6) Plasmareninaktivität
- 7) Angiotensin II
- 8) Nebennierenrindenhormone
- 9) Testosteronkonzentration
- 10) Aldosteron-18-Glucuronid-Exkretionsrate
- 11) Aldosteronsekretionsrate

## IV. Diskussion

- 1) Methodenkritik
- 2) zur Vorperiode
  - 2.1. Diätische Induktion eines Hyperaldosteronismus; Intaktheit des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems
  - 2.2. Diät-bedingte Veränderungen der anderen Nebennierenrindenhormone und des Testosterons
- 3) zur Testperiode

- 3.1 Schnelligkeit des Wirkungseintritts von Spironolacton und Triamteren
  - 3.2 Verhalten der Urinelektrolyte
  - 3.3 Unterschiede zwischen Natrium- und Flüssigkeitsbilanz
  - 3.4 Verhalten der Serumelektrolyte
  - 3.5 Verhalten von Plasmapreninaktivität und Angiotensin II
  - 3.6 Verhalten von Aldosteron
  - 3.7 Verhalten der Aldosteronpräkursoren (11-Desoxycorticosteron, Corticosteron, 18-OH-Desoxycorticosteron)
  - 3.8 Verhalten von Cortisol und seiner Präkursoren (Progesteron, 17-OH-Progesteron, 11-Desoxycortisol)
  - 3.9 Verhalten von Testosteron
- 4) Zusammenfassung und Ausblick

V. Anhang: Tabellen

VI. Literaturverzeichnis





## EINFÜHRUNG

### 1. Entdeckung von Aldosteron

Bei der Suche nach Faktoren für die Ödementstehung wiesen Deming und Luetscher (26) bereits 1950 auf einen "sodium retaining factor" im Harn hin, der wenig später als Aldosteron identifiziert werden konnte.

### 2. Konzepte zur Beeinflussung der Aldosteronwirkung

Diese Entdeckung erbrachte einen ersten Ansatzpunkt für die Entwicklung eines arzneitherapeutischen Konzeptes zur kausalen Behandlung von Ödemen, die durch Natriumretention bedingt waren. Man konnte zum einen versuchen, die Ursachen für eine erhöhte Aldosteroproduktion zu beseitigen bzw. die Aldosteronsynthese in der Nebennierenrinde selbst zu hemmen; zum anderen bot sich die Möglichkeit, die Wirkung von Aldosteron am Tubulusapparat der Niere aufzuheben, d. h. den peripheren Rezeptor des Aldosterons zu blockieren.

### 3. Entdeckung der Spirolactone und ihrer Wirkungsprinzipien

Das Konzept der Rezeptorblockade schien in die Praxis umsetzbar, als Landau und Mitarb. (72) 1955 zeigen konnten, daß Progesteron die natriumretinierende Wirkung von  $11\beta$ -Desoxycorticosteron, einem anderen Mineralocorticoid, beim Addison-Kranken antagonistisch beeinflusste; spätere Untersuchungen belegten dies auch

für gesunde Personen (73,102).

1957 gelang der Arbeitsgruppe um Cella und Kagawa (19,61) die Synthese von zwei neuen Steroiden, die die Wirkung von Progesteron auf die Natriumexkretion weit übertrafen. Es handelte sich hierbei um 17-Spirolacton-Steroide, die wie 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron 11-Desoxy-Verbindungen waren, aber anstelle der  $\alpha$ -Ketol-Seitenkette und der Hydroxylgruppe an C 17 einen Propionsäure- $\gamma$ -lacton-Ring trugen. Die erste Substanz SC 5233 war aber nur parenteral wirksam, die zweite SC 8109, aus der ersten durch Substitution der Methylgruppe an C 19 durch ein H-Atom entstanden, erforderte hohe Dosen. Erst in der Substanz 9420 fand man eine oral hinreichend wirksame Verbindung (20,62); diese dritte Substanz war durch Substitution von Wasserstoff an C 7 durch eine Thioacetylgruppe entstanden. Sie hat als Spirolacton (Aldactone<sup>®</sup>; Searle/Boehringer Mannheim) Eingang in die klinische Behandlung gefunden.

Bei SL (Abkürzungen s. Tab. 1) handelt es sich chemisch um ein 3-(3-oxo-7 $\alpha$ -thioacetyl-17 $\beta$ -hydroxy-4-androsten-17 $\alpha$ -yl)-propionsäure- $\gamma$ -lacton, das weiße Kristalle bildet, in Wasser unlöslich, löslich dagegen in der Mehrzahl der organischen Lösungsmittel ist (71).

SL ist nach oraler Gabe im Plasma kaum meßbar (113). Seine Plasmahalbwertszeit liegt bei Hunden unter 10 Minuten (112), bei Ratten zwischen 4 und 5 Minuten (114); bei Menschen gibt es Hinweise auf eine etwas längere HWZ (2). Nach oraler Gabe wird es zu 79 Prozent in Canrenon umgewandelt (113), dem Hauptmetaboliten und neben anderen Abbauprodukten (108) wirksamsten Derivat von SL (46,65,66,113,149). Canrenon seinerseits wird wieder weiter verstoffwechselt, so daß nur ca. 4 bis 5 Prozent definitiv als Canrenon ausgeschieden werden (67,68). Die biologische HWZ liegt für Canrenon und Canrenoat-Kalium (63) zwischen 17 und 24 Stunden (113). Beim gesunden Men-

schen werden innerhalb von 6 Tagen 50 Prozent im Urin und in den Faezes 30 Prozent der oral gegebenen SL-Dosis in vollständig verstoffwechselter Form ausgeschieden (2).

Wechselwirkungen zwischen den Spirolactonen und Aldosteron:

### 3.1. Renale Wirkungen

Als erste Untersucher wiesen Kagawa und Mitarbeiter (61) darauf hin, daß Spirolactone nur in Gegenwart von Mineralocorticoiden wirksam sind; dies wurde auch von anderen bestätigt (78). Stop-flow-Untersuchungen (143) am Hund ergaben, daß die Spirolactone vorwiegend auf den distalen Abschnitt der Nierentubuli, den Ort der Aldosteronrezeptoren einwirken, indem sie den ersten Schritt im Aldosteronwirkungsmechanismus blockieren, nämlich die Bindung des Aldosterons an die zytoplasmatischen Rezeptoren (39,121,139); Funder et al. (44) konnten zeigen, daß die Affinität der Spirolactone zu den Rezeptoren von ihrer Molekülstruktur abhing.

Aus allem war ersichtlich, daß die Spirolactone nicht nur funktionelle, sondern kompetitive bzw. richtige Antagonisten, d. h. Antialdosterone waren.

### 3.2. Extrarenale Wirkungen

Die erste Mitteilung über hormonartige Wirkungen von Spirolactonen erschien 1958; darin wiesen Hertz und Tullner (56) bei den beiden ersten Spirolactonen eine progesteronartige Wirkung im Tierversuch nach.

Dennoch war man noch bis Anfang der 60er Jahre der Meinung, daß die Spirolactone nur eine aldosteron-antagonistische Wirkung besäßen (62,71), bis von mehreren Autoren klinische Veränderungen bei den mit SL behandelten Patienten berichtet wurden: Gynäkomastie (13,23,83), Libidoverlust (134) und Impotenz (132) bei Männern, Brustspannungen und Zyklusunregelmäßigkeiten (47,77) bei Frauen. Diese Mitteilungen führten zu Untersuchungen über die Frage, ob die beobachteten Nebenwirkungen auf Eingriffe der Spirolactone und ihrer Metabolite in den Hormonhaushalt des Körpers zurückzuführen waren.

### 3.2.1. Kompetitive Hemmung der Steroidhydroxylasen

Von dem Spirolacton SC 8109 war seit Ende der 50er Jahre bekannt, daß es zu erhöhter Synthese von Aldosteron *in vitro* (69) und *in vivo* (124) führt, wobei bei männlichen Ratten ein gleichzeitiger Abfall der Corticosteronkonzentration zu sehen war (69; zur Orientierung s. Abb. 1). Später wurden diese Veränderungen auch am Menschen festgestellt: Unter der Behandlung mit SL stieg die Plasmaaldosteronkonzentration stark an (70,94,144); Mroczek et al. (94) stellten außerdem, wie auch Esch und Mitarb. (37,38) und die Arbeitsgruppe um Brown (15) einen starken Anstieg der Plasmareninaktivität, einem wesentlichen Stimulator der Aldosteronsynthese, fest.

Seit Anfang der 70er Jahre mehrten sich je-

doch die Mitteilungen, die im Gegensatz dazu von einer Synthesehemmung des Aldosterons unter SL-Medikation sprachen: Nocke et al. (101) beobachteten, daß nach Gabe von 600 mg/die SL über drei Tage die Aldosteronexkretionsrate um mehr als die Hälfte abnahm, wenn vor Versuchsbeginn ein Hyperaldosteronismus bestand. Erbler (29) beobachtete im Verlauf von Untersuchungen über den Einfluß verschiedener zyklischer Nucleotide auf die Synthese von Aldosteron, daß es in Gegenwart von Spironolacton zu einer deutlichen Verminderung des stimulatorischen Effektes von Dibutyryl-cAMP (DBA) kam. Bei gezielten Untersuchungen fand er, daß ansteigende Mengen von SL eine dosisabhängige Hemmung der DBA-induzierten Aldosteronsynthese sogar im Basalsekretionsbereich verursachten; auch der durch Angiotensin II bzw. K-Ionen vermittelte Anstieg der Aldosteronproduktion war durch Zugabe von SL auf Werte unterhalb des Kontrollbereiches zu senken (30).

Auch Canrenon war in der Lage, den Aldosteronspiegel und zusätzlich die Konzentration der Aldosteronpräkursoren Corticosteron (zur Orientierung s. Abb. 1), 18-OH-Desoxycorticosteron und 18-OH-Corticosteron bei Ratten zu senken (31).

Zu den gleichen Ergebnissen wie in den Tierversuchen kam Erbler (33) bei seinen Untersuchungen am Menschen, wobei er einen sekundären Hyperaldosteronismus induzierte. Erhöhte

Aldosteronspiegel begannen bereits 3 Stunden nach der Einnahme von Canrenon abzusinken, nach 9 Stunden war der niedrigste Wert erreicht. Auch bei Langzeituntersuchungen über 7 Tage fand er (35), daß klinikübliche Dosierungen (5 mg/kg KG) von Spironolacton die Aldosteronsynthese ebensowenig steigerten wie kurzzeitige (über 3 Tage) hochdosierte (10 mg/kg KG) Applikation (35), obwohl bei dem zuletzt genannten Vorgehen erhebliche Natriumverluste aufgetreten waren.

Diese Befunde erklärten, weshalb die klinische Wirkung von Spironolacton bzw. seiner Metaboliten erhalten blieb, obwohl das Renin-Angiotensin-System gegenregulatorisch den diuresebedingten Natriumverlust auszugleichen versuchte.

Erbler (31) wies nach, daß die Metabolisierungsrate von Canrenon, das sich wegen seiner Lipophilie in der Nebennierenrinde anreichert, umgekehrt proportional der Syntheserate der Nebennierenrindensteroidhormone war; aus dem Auftreten von zwei vermutlich an C 11 und C 18 hydroxylierten Substanzen - auch Cheng und Mitarb. (21) konnten an Rinder- und Menschennebenierenrindenproben in vitro zwei hydroxylierte Canrenonmetaboliten nachweisen - schlossen beide, daß es durch kompetitive Hemmung der 11 $\beta$ - und 18-Hydroxylierung zu einer verringerten Synthese der nachfolgenden Hormone kommen müsse; so konnte Erbler (32) auch zeigen, daß ein an C 11 hydroxyliertes Spirolacton selektiv die Aldosteronsynthese verminderte.



### 3.2.2. Direkte, nicht kompetitive Blockade von Steroidhydroxylasen

Das Cytochrom P-450 ist ein wichtiger Sauerstoffüberträger der mischfunktionellen Oxydasen. Für die Hormonsynthese in den Gonaden und in der Nebennierenrinde ist bekannt, daß das Cholesterol-Side-Chain-Cleavage-System (123), die 17-Hydroxylase (85), die 11-Hydroxylase, die 21-Hydroxylase und die 18-Hydroxylase Cytochrom P-450 abhängig sind (86). Im Tierversuch zeigt sich, daß die Gabe von SL zeit-, und dosisabhängig zu einem Abfall der Cytochrom P-450-Konzentration in den Testes (89) und in Nebennierenrindeninkubaten - allerdings nur bei den vorwiegend Cortisol produzierenden Tieren - führt (48,90).

Möglicherweise zerstört SL Cytochrom P-450 durch Komplexbildung (48,89), denn der Abfall geht schneller vonstatten als es der HWZ des Proteins entsprechen würde; Cheng et al. (21) vermuteten, daß SL und Canrenon selbst unter Mitwirkung von Cytochrom P-450 hydroxyliert würden und deshalb der Sauerstoffüberträger nicht mehr nachweisbar war.

Der Schwund von Cytochrom P-450 führt in vitro zum Abfall der Aktivitäten der von ihm abhängigen Enzyme SCC (48), 17-Hydroxylase in Rattentestes (89) und -nebenierenrinde (90), 21-Hydroxylase (48,137) und 11-Hydroxylase (21,48) beim Rind. Auch in menschlichen Nebenniereninkubaten wurde mit

Canrenon eine wenn auch weit geringere Hemmung der 11-Hydroxylase beobachtet (21).

### 3.2.3. Veränderungen bei allen $17\alpha$ -Hydroxylase abhängigen Steroidhormonen

Ein Konzentrationsabfall aller  $17\alpha$ -Hydroxylase abhängigen Hormone unter dem Einfluß von SL und seiner Metaboliten war schon von Menard und Mitarb. (90) angenommen worden. Greiner et al. (48) gelang der Nachweis, daß es bei den vorwiegend Cortisol produzierenden Tieren zu einem Abfall der Cortisolkonzentration kam.

Eine andere wichtige, von der  $17\alpha$ -Hydroxylase abhängige Synthesekette ist die Bildung der Androgene; die schon weiter oben beschriebenen Nebenwirkungen könnten u. a. einer Hemmung der Testosteronbiosynthese durch SL zuzuschreiben sein.

Indirekt hatten schon Nocke und Mitarb. (101) darauf hingewiesen, als sie bei den von ihnen mit SL behandelten Schwangeren auf einen signifikanten Abfall der 17-Ketosteroide stießen. Bald wurde in einer Reihe von Arbeitsgruppen gefunden, daß der Testosteronspiegel beim Menschen sowohl nach einmaliger (28,34) wie nach chronischer Gabe (28,106,150) von Spironolacton oder seiner Hauptmetaboliten Canrenon und Canrenoat-Kalium bis auf 20 % der Ausgangskonzentration (122) absank; wie Erbler (34) zeigen konnte, ging der Abfall

sehr rasch vonstatten; bei chronischer SL-Applikation war auch nach mehr als zwei Monaten keine Rekompensation erkennbar (150).

Da der größte Teil des Testosterons aus den Testes kommt, hielten Dymling und Mitarb. (28) noch eine durch SL verursachte Sekretionshemmung aus den Testes für möglich. Menard et al. (89) konnten jedoch zeigen, daß SL die Testosteronsynthese direkt hemmt durch Destruktion von Cytochrom P-450, das für die Umwandlung von Pregnenolon zu Testosteron benötigt wird (81,88).

Auch eine Interferenz mit der mikrosomalen Desmolase - sie führt zur Synthese von Androstendion und Dehydroepiandrosteron aus 17-OH-Progesteron und 17-OH-Pregnenolon - scheint möglich (137), allerdings steht der Beweis bis jetzt noch aus.

### 3.2.3.1. Blockade der Testosteronrezeptoren

Schließlich schwächt SL durch Blockierung des Testosteronrezeptors (9,81) die Wirkung von Testosteron ab; so wirkt es dem stimulatorischen Effekt von 17-Methyltestosteron (7,133) entgegen, verhindert das Größenwachstum der Samenblasen (14,51) und senkt das Gewicht der Nieren (14).

### 3.3. Enzyminduktion in der Leber

SL senkt nicht nur Enzymaktivitäten durch kompetitive Blockade bzw. Zerstörung von Coenzymen wie Cytochrom P-450. Es kann in bestimmten Organen, wie der Leber, die Aktivität von Enzymen auch steigern.

So wurde der Abbau zahlreicher Pharmaka im Tierversuch beschleunigt, z. B. die Metabolisierung der Herzglykoside (120,131), von Indometazin (129), von Coumarin-Derivaten (128), von Anthrazen (130), von Barbituraten (40,51,125,136) und Äthylmorphin (49,51,89,136).

Allerdings war diese Enzyminduktion vorwiegend bei Untersuchungen an weiblichen Tieren (51,89, 125,127,135) zu beobachten. Die fehlende Reaktion bei männlichen Tieren führte man auf die durch SL bzw. seiner Metaboliten verminderte Testosteronbiosynthese und die Blockade des peripheren Testosteronrezeptors durch SL zurück. Menard und Mitarb. (89) konnten bei gonadektomierten Ratten mit SL und Androgenen, Greiner et al. (49) durch Testosteronapplikation bei weiblichen Tieren die vorher reduzierten Enzymaktivitäten steigern: Bestimmte Enzymaktivitäten sind durch Androgene zu verstärken; wenn nun Spironolacton die Testosteronkonzentration vermindert und zusätzlich den Rezeptor blockiert, resultiert daraus ein Abfall der Enzymaktivität. Dieser Abfall wird aber durch die SL-bedingte Enzyminduktion wieder aufgehoben, so daß männliche Tiere scheinbar nicht auf SL reagieren.

Aus zwei Untersuchungen am Menschen (60, 142) weiß man, daß SL auch hier als Enzyminduktor wirken kann, allerdings zu einem weit geringeren Teil als beim Tier.

Es bestände somit grundsätzlich die Möglichkeit, daß SL und seine Metaboliten sowohl den eigenen Abbau (126) wie auch den anderer Substrate durch Enzyminduktion der mischfunktionellen Oxydasen beeinflussen können.

#### 4. Regulation der Steroidsynthese in vivo

Die aufgeführten Untersuchungen am Tier und am Menschen weisen alle darauf hin, daß SL und seine Hauptmetaboliten nicht nur an den Nierentubulusepithelzellen wirksam sind, sondern daß sie auch direkt in die Synthese von körpereigenen Hormonen eingreifen. Die Theorie der Hemmung der Testosteronsynthese und der Testosteronrezeptorenblockade durch SL und seine Metaboliten ist allgemein anerkannt. Widersprüche gibt es dagegen bei den Untersuchungen, deren Ziel es war, den Einfluß von SL und seiner Metaboliten auf die Synthese von Nebennierenrindensteroiden, vor allem von Aldosteron, zu klären.

#### Biosynthese der Nebennierenrindensteroidhormone (Abb. 1)

Eine frühe Substanz in der Steroidsynthese ist Cholesterin, das durch Abspaltung der Seitenkette in Pregenolon umgewandelt wird. Aus ihm geht Progesteron, die Ausgangssubstanz für Gluco-, Mineralocorticoide und Sexualhormone, hervor.

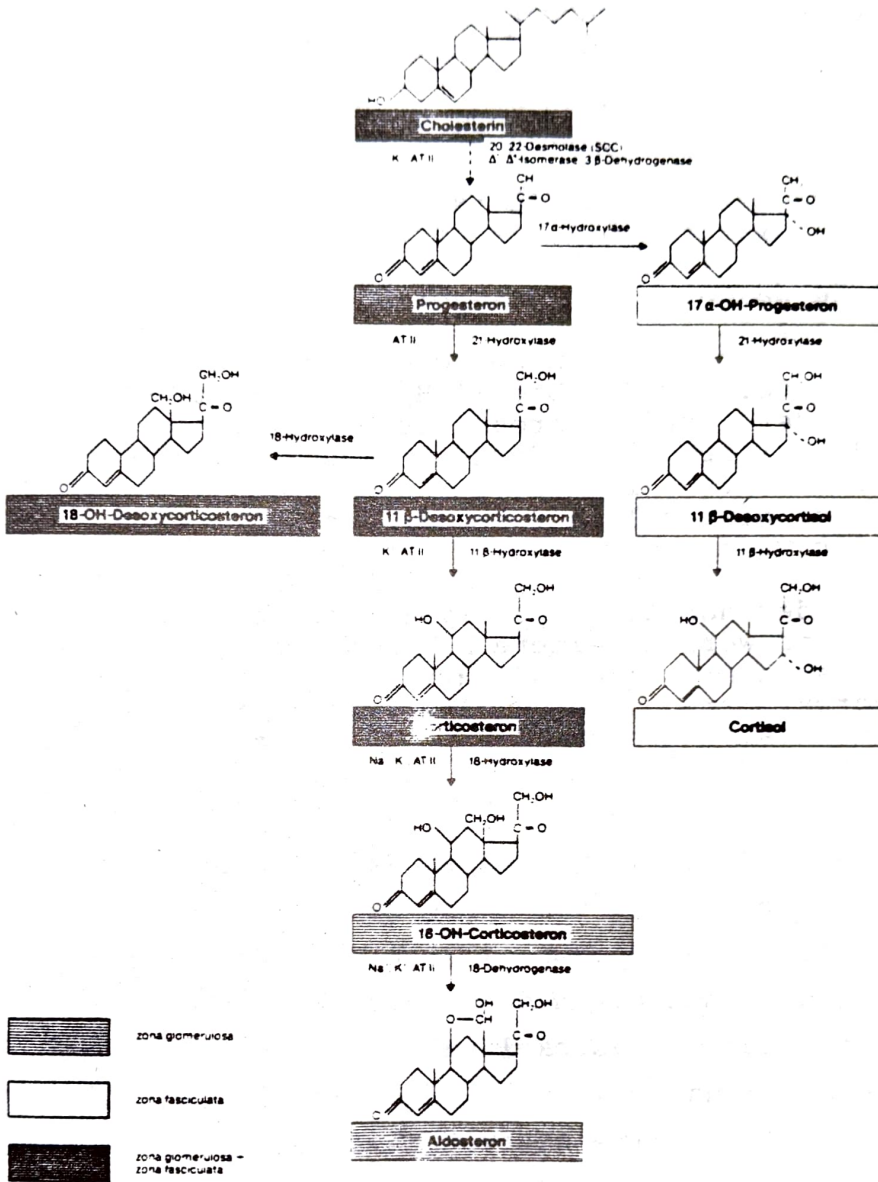


Abb. 1: Synthese der Nebennierenrindenhormone; Cortisol- und Aldosteronschlauch mit den bei den einzelnen Reaktionen beteiligten Enzymen. Es sind die möglichen Angriffspunkte von Kalium (K<sup>+</sup>), Natrium (Na<sup>+</sup>) und Angiotensin II (AT II) angegeben.

Durch 17-Hydroxylierung entsteht aus ihr 17 $\alpha$ -OH-Progesteron, diese Substanz ist das Substrat für die 21-Hydroxylase, die daraus 11 $\beta$ -Desoxycortisol bildet. Durch Hydroxylierung an C 11 entsteht Cortisol als Endprodukt der Glucocorticoidreihe.

Aus Progesteron geht andererseits durch 21-Hydroxylierung 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron hervor. An dieser Stelle teilt sich die Synthesekette wieder: Die 18-Hydroxylase wandelt DOC in 18-OH-Desoxycorticosteron um, das als ein Endprodukt angesehen wird, möglicherweise aber auch ein Zwischenprodukt zu Aldosteron darstellt (98). Die 11-Hydroxylase andererseits bildet Corticosteron, das seinerseits durch 18-Hydroxylierung in 18-OH-Corticosteron umgewandelt wird. Mit Hilfe der 18-Dehydrogenase, die nur in der Zona glomerulosa vorkommt, entsteht als Endprodukt der Mineralocorticoidreihe Aldosteron.

Zusätzlich zu der normalen Hydroxylierungssequenz des Progesterons werden weitere Nebenwege zu Aldosteron diskutiert (11-18-21-Hydroxylierung; 21-18-11-Hydroxylierung, 18-21-11-Hydroxylierung, usw.), deren physiologische Bedeutung allerdings noch unklar ist (86,98).

Es zeigt sich, daß allein bei allen Progesteron nachgeschalteten Schritten SL und seine Metaboliten eine Reihe von möglichen Angriffspunkten haben. Es sei nur an die Arbeiten erinnert, in denen eine kompetitive Hemmung der 11- und 18-Hydroxylase - durch Konkurrenz mit der Hydroxylierung von SL und C - wahrscheinlich gemacht oder in denen eine Aktivitätsminderung von Cytochrom P-450 abhängigen Enzymen festgestellt wurde.

Zusätzlich wirken in vivo ACTH, das Renin-Angiotensin-System, Katecholamine, Natrium, Kalium und andere Kationen, cAMP, andere Hormone wie Cortisol und Prostaglandine, biogene Amine wie Serotonin (97) und das vegetative Nervensystem auf die Aldosteronsynthese ein (74,86,151). Diese Faktoren sind ausgeschaltet bei den in vitro-Versuchen, müssen aber bei den in vivo-Versuchen berücksichtigt werden.

Die bei den Versuchen am Menschen erzielten Ergebnisse sind wiederum nicht alle miteinander vergleichbar; so schwanken die Dosierungen zwischen 100 mg/die (28) und mehr als 500 mg/die (35). Es wurde Spironolacton, Canrenon bzw. Canrenoat-K verabreicht, als Einzeldosis oder über den Tag verteilt, oral oder i.v. appliziert. Auch die Dauer der Behandlung reichte von einmaliger Gabe bis zu einer Dauermedikation von 96 Wochen (15)!

## 5. Problemstellung

Es war deshalb das Ziel der vorliegenden Studie, unter Berücksichtigung der klinischen Erfordernisse den Einfluß von Spironolacton auf die Hormonsynthese der Nebennierenrinde und der Gonaden zu untersuchen; besonderes Augenmerk wurde dabei der möglichen Synthesehemmung von Aldosteron geschenkt. Der renale Kompensationsmechanismus, das Renin-Angiotensin-System, war in die Untersuchung mit einbezogen, um die mögliche Stimulation der Aldosteronsynthese von dieser Seite abschätzen zu können. Mit Hilfe einer Natrium-armen Diät wurde versucht, einen sekundären Hyperaldosteronismus zu induzieren, um somit einerseits wesentliche Indikationssituationen für SL zu imitieren; zum anderen war zu erwarten, daß mögliche Eingriffe von SL in die Steroidsynthese bei erhöhter Syntheserate leichter erkennbar wären. Um den Einfluß des veränderten Elektrolythaushaltes auf die Syntheserate beurteilen zu können, wurde in der Kontrollgruppe Triamteren (Jatropur® Röhm Pharma) gegeben, das die gleichen Elektrolytwirkungen wie SL besitzt.

Chemisch handelt es sich um ein 2,4,7-triamino-6-phenylpteridin (152), das zu etwa 20 Prozent unverändert, zu etwa 70 Prozent als Schwefelsäureester des 2,4,7-triamino-



6-p-hydroxyphenylpteridin renal eliminiert wird (76).

Triamteren wirkt wie SL am distalen Konvolut des Nephrons (6), greift jedoch an einem anderen Rezeptor, der an der luminalen Seite der distal tubulären Zelle lokalisiert ist, an. Es ist daher kein eigentlicher Aldosteronantagonist wie SL, wenngleich es zu ähnlichen Elektrolytveränderungen führt (53). Im Gegensatz zu SL entfaltet TR seine Wirkung auch in Abwesenheit von aldosteronähnlichen Steroiden (79, 107). TR wirkt im Gegensatz zu SL nur auf die Nierentubulusepithelzellen und nicht auf andere Gewebe (6,54,79).

## Methodik

### 1. Versuchsablauf

Die Versuchspersonen, 10 gesunde, männliche Studenten (23 bis 30 Jahre) waren über Ablauf und Risiko der Untersuchung aufgeklärt worden und hatten schriftlich ihre Einwilligung mitgeteilt. Sie wurden gebeten, innerhalb der Untersuchungsperiode auf körperliche Anstrengungen, wie Sport und Nacharbeit, zu verzichten. Die Probanden erhielten über den gesamten Zeitraum hinweg eine standardisierte Diät mit 25 mval Na<sup>+</sup> und ca. 75 mval K<sup>+</sup>, zusätzlich 3 g Kochsalz zur beliebigen Verteilung auf alle Mahlzeiten, so daß die tägliche Aufnahme insgesamt ca. 75 mval Natrium und ca. 75 mval Kalium betrug. Die tägliche Trinkmenge war frei, alle natrium- und kaliumhaltigen Getränke waren jedoch verboten. Nach Ablauf der Kontrollperiode (7 Tage) erhielten 5 Probanden 3 x 100 mg/die Spiro-nolacton, die anderen 5 2 x 100 mg/die Triamteren für weitere 7 Tage. Am 5. und 12. Tag wurde allen Probanden je 1 µCi Tritium-markiertes Aldosteron zur Bestimmung der Aldosteron-Sekretionsrate injiziert.

Die Versuchspersonen wurden vom 1. Tag an jeden Morgen gewogen. Der Urin wurde in 24-Stunden-Portionen gesammelt zur Bestimmung der Elektrolyte Natrium und Kalium, der Exkretionsrate des Aldosteron-18-Glukuronids und jeweils an den beiden letzten Tagen der Kontrollperiode und der Testperiode der Aldosteron-Sekretionsrate (Abb. 2).

Vom 4. Tag der Kontrollperiode bis zum Ende der Testperiode erfolgten morgens um 8.00 Uhr Blutabnahmen bei

Untersuchungen	Vorperiode								Spironolacton: 3 x 100 mg/die Triamteren : 2 x 100 mg/die						Bedarf pro Bestimmung (ml)	Körperflüssigkeit	
	0.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8/1	9/2	10/3	11/4	12/5	13/6			14/7
Nebennierenrindenhormone					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	3,0	Serum Blut
Progesteron					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	3,0	
Testosteron					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	3,0	
Serumelektrolyte					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	1,0	
PRA						x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	2,5	Plasma
Angiotensin II						x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	7,5	
Canrenon, Canrenoat-Kalium																1,0	
ml Blut/die					27,0	27,0	45,0	29,0	37,0	54,0	30,0	37,0	33,0	37,0	60,0	60,0	
Natrium	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	1,0	Urin
Kalium	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	1,0	
Aldosteron- exkretionsrate	x								x	x	x	x	x	x	x	10,0	
Aldosteronsekretionsrate wiegen																10,0	
Diat																	

§ Injektion von 1 µCi 1,2-<sup>3</sup>H-Aldosteron

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

den noch nüchternen Probanden; aus dem Serum wurden die Elektrolyte  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ , die Nebennierenrinden-Hormone Progesteron,  $17\alpha\text{-OH}$ -Progesteron,  $11\beta$ -Desoxycortisol,  $11\beta$ -Desoxycorticosteron, Corticosteron, Aldosteron und  $18\text{-OH}$ -Desoxycorticosteron und Testosteron, aus dem Plasma die Plasmareninaktivität, Angiotensin II, Canrenon und Canrenoat-Kalium bestimmt. Die größte Blutmenge, die pro Tag abgenommen wurde, betrug 60 ml.

## 2. Bestimmungsmethoden

### 2.1. Elektrolytbestimmung

Die Bestimmung von  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$  sowohl im Serum als auch im Urin erfolgte flammenphotometrisch mit einem Eppendorff-Photometer (Zeiss).

### 2.2. Bestimmungsmethoden im Urin

#### 2.2.1. Bestimmung der Aldosteron-18-Glukuronid-Exkretionsrate

Die Bestimmung erfolgte nach einer von Vecsei et al. (146) beschriebenen Methode. Der Urin wurde dazu in 24-Stunden-Urinportionen gesammelt und Aliquots bis zur Weiterverwendung eingefroren. Zur Bestimmung wurden ca. 3 ml Urin mit jeweils dem doppelten Volumen Dichlormethan zweimal extrahiert. 2 ml des so gereinigten Harns wurden mit einem Tropfen  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und ca. 50  $\mu\text{l}$  Puffer-

Titrisol auf pH 1 eingestellt. Die Zugabe von 100 µl einer  $^3\text{H}$ -Aldosteron-Lösung (15 000 Cpm/100 µl) diente zur Bestimmung der Verlustrate bei Extraktion und Chromatographie. Nach Hydrolyse des glukuronierten Aldosterons erfolgte anschließend dessen Extraktion mit 7 ml Dichlormethan. Die Dichlormethanphase wurde durch Waschen mit 1 ml 0,1 normaler NaOH und nachfolgend zweimal mit je 1 ml  $\text{H}_2\text{O}$  gereinigt und dann im Luftstrom bei ca.  $30^\circ\text{C}$  eingengt. Der verbleibende Rückstand wurde mit 2 mal 100 µl Dichlormethan aufgenommen, auf Whatman-II-Papierstreifen aufgetragen und einer chromatographischen Trennung unterworfen. Das Chromatographie-System entsprach dem in 2.3.3. für Fraktion 4 angegebenen. Die Papierstreifen mit den Probenextrakten wurden erst nach ca. 24stündigem Äquilibrieren mit dem Dampfgemisch ca. 16 Stunden lang chromatographiert. Nach Lokalisation der jeweiligen Aldosteronzone mit Hilfe eines Radiochromatogramm-Scanners (Packard Instruments, Modell 7201) wurde das Aldosteron mit ca. 5 ml Methanol vom Papier eluiert, das Eluat im Stickstoffstrom bei Zimmertemperatur eingengt und der Rückstand mit jeweils 5 ml Puffer aufgenommen. Zur Bestimmung des extraktions- und chromatographiebedingten Verlustes wurden je 500 µl abgenommen und nach Zugabe von 10 ml Szintillationslösung in einem Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer (Packard Instruments, Modell 2450) gemessen. Die Standardkurve für den RIA wurde

aus einer Aldosteron-Standardlösung in einer 1 : 2-Verdünnungsreihe erstellt, die von 800 pg/100 µl bis 6,25 pg/100 µl reichte. Pro Ansatzröhrchen wurden einpipettiert: 100 µl Eluat in den Verdünnungsstufen 50-25-12,5 bzw. 100 µl der Standardlösungs-Verdünnungsreihe, 100 µl einer  $^3\text{H}$ -Aldosteron-Lösung (ca. 5000 Cpm/100 µl) und 200 µl der Aldosteron-Antikörper-Suspension (Verdünnung 1 : 600 000). Nach kurzem Schütteln wurde der gesamte Ansatz über Nacht im Kühlschrank bei 4° C inkubiert und nach Zugabe von 100 µl einer Lösung mit dextranbeschichteter Kohle mit ca. 3000 U/min zentrifugiert. Die Überstände wurden simultan dekantiert und die AK-gebundene Aktivität nach Zusatz von 10 ml Szintillationslösung im Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer gemessen. Die Auswertung erfolgte an einem IBM-1800-Computer mit einem Computer-Programm (118).

Bei stationär liegenden Patienten gelten als Normalwert 1 bis 10 µg/24 h, bei ambulanten Patienten 3 bis 12 µg/24 h.

#### 2.2.2. Bestimmung der Aldosteron-Sekretionsrate

Die Bestimmung der Aldosteron-Sekretionsrate erfolgte nach der von Lommer et al. (80) angegebenen Methode. Die Probanden bekamen morgens nach der Blutabnahme 1 µCi 1,2- $^3\text{H}$ -Aldosteron in 0,9 %iger Kochsalzlösung intravenös injiziert, und die Ausscheidung der Radioaktivität im Urin wurde über zweimal

24 Stunden verfolgt. Aus der ersten Urinportion wurden 100 ml zum Nachweis der Aldosteron-18-Glukuronidkonzentration im RIA abpipettiert. Zur radioimmunologischen Bestimmung wurden von dem zuletzt genannten Aliquot 10 ml zweimal mit je 10 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, durch Zugabe von 4 Tropfen konzentrierter  $H_2SO_4$  und von 200  $\mu l$  Puffer-Titrisol auf pH 1 eingestellt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach erfolgter Hydrolyse wurden die Proben mit je 100  $\mu l$  einer  $^3H$ -Cortisol-Lösung (15.000 Cpm/100  $\mu l$ ) markiert; die Zugabe des radioaktiven Cortisols diente erstens zur Messung der Verlustrate, die durch Extraktion und Chromatographie verursacht war, und zweitens zur indirekten Lokalisation des Aldosterons auf den Papierstreifen. Nach weiteren 24 Stunden Inkubation erfolgte eine erneute Extraktion der Proben mit 10 ml  $CH_2Cl_2$  mit anschließendem Waschen mit 2 ml 0,1 n NaOH und nachfolgend zweimal mit je 2 ml aqua dest.. Nach Absaugen der wässrigen Phase und Klärung des Extraktes mit  $Na_2SO_4$ -Puffer wurde dieser im Luftstrom bei Zimmertemperatur eingeengt, der Rückstand mit zweimal 100  $\mu l$  Dichlormethan aufgenommen und auf Whatman-II-Papierstreifen aufgetragen. Die Papierchromatographie erfolgte wie in 2.2.1. beschrieben; die Laufzeit betrug allerdings nur 14 Stunden. Mit Hilfe des Radiochromatogramm-Scanners wurden die Radioaktivitäts-Maxima von Cortisol auf den Streifen festgestellt. Aus einem gleichfalls chromatographierten Kontrollstreifen, auf dem hohe

Konzentrationen von  $^3\text{H}$ -Cortisol und  $^3\text{H}$ -Aldosteron aufgetragen waren, wurde aus dem Verhältnis der Laufstrecken der relative RF-Wert errechnet, mit dessen Hilfe sich auch auf den Probestreifen Aldosteron lokalisieren ließ. Nach Elution der betreffenden Stellen mit 5 ml Methanol wurden die Eluate bei Zimmertemperatur im Stickstoffstrom eingeengt und mit 2,5 ml Puffer aufgenommen; 0,5 ml wurden zur Bestimmung der Verlustrate nach Zugabe von 10 ml Szintillationslösung in einem Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer gemessen. Ein Aliquot des Eluats wurde im Verhältnis 1 : 10 verdünnt; mit dieser Ausgangslösung wurde der Radioimmunoassay wie bei der oben beschriebenen Bestimmung der Aldosteron-18-Glucuronid-Exkretionsrate durchgeführt (s. 2.2.1.). Um die ASR zu erhalten, waren die radioimmunologisch ermittelten Werte mit einem Korrekturfaktor zu multiplizieren, der sich als Quotient der als Prozent der Dosis ausgedrückten, im Urin ausgeschiedenen Radioaktivität des ersten und des zweiten Tages ergab.

Die Normalwerte liegen bei normaler Diät bei 135  $\mu\text{g}/24\text{ h}$  (Bereich: 67 - 221  $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ).

## 2.3. Bestimmungsmethoden im Blut

### 2.3.1. Bestimmung der Plasmareninaktivität

Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von



Haber et al. (50), modifiziert durch Oelkers et al. (102). 10 ml Blut wurden in EDTA-haltige (1 mg/ml Blut) Röhrchen gefüllt und sofort in ein Eisbad gestellt. Das in einer Kühlzentrifuge (Sorvall-Zentrifuge) bei 0° C gewonnene Plasma wurde bis zur Weiterverarbeitung eingefroren. Zur Durchführung des Radioimmunoassays wurden je 2 ml in Dialyseschläuchen 4 Stunden gegen einen plasmaisotonen (285 mosmol/l) Cl-freien Na-Phosphat-Puffer mit pH 6 dialysiert. Unter Zugabe von 10 µl von 1,10-Phenanthrolin, einem Angiotensinase-Inhibitor, wurden die Proben bei 37° C eine Stunde lang inkubiert, um die Bildung von Angiotensin I zu fördern. Bei 0° C inkubierte Aliquots dienten als Nullwert. Anschließend wurde der gesamte Ansatz bei 4° C bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt. Im Radioimmunoassay wurden die Proben in vier oder auch mehr Verdünnungsstufen, je nach der erwarteten Angiotensin I-Konzentration, die Nullwerte in zwei Stufen vorgelegt. Für die Standardkurve wurde eine 1 : 2-Verdünnungsreihe des zu bestimmenden Hormons AT-I von 500 pg/100 µl bis 15,6 pg/100 µl hergestellt. Pro Röhrchen wurden eingefüllt: jeweils 100 µl der Proben bzw. der Standardkurvenkonzentration, 100 µl  $J^{125}$ -AT-I mit einer Aktivität von ca. 5000 Cpm/100 µl, 100 µl AT-I-Antikörperlösung (Verdünnung etwa 1 : 64 000) und 1 ml Lysozym-puffer. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden wurden mit Hilfe von je 1 ml Kohle-Dextran-Lösung antikörpergebundene und freie Aktivität voneinander getrennt und beides in

einem  $\gamma$ -Counter (Packard Instruments) gemessen. Die Auswertung erfolgte mit einem Computer-Programm (118).

Bei diesem Vorgehen liegen die Ruhewerte bei gesunden Probanden und normaler Diät bei 1,84 ng/ml/h (Schwankungsbereich: 0,6 bis 4,3 ng/ml/h); nach zweistündiger Orthostase findet man 2- bis 3fach höhere Werte.

### 2.3.2. Bestimmung der Angiotensin II-Konzentration

Die Bestimmung erfolgte in modifizierter Form nach der von Düsterdieck und McElwee (27) angegebenen Methode: Dazu wurden 20 ml Blut mit einer Spritze abgenommen, die bereits 1 ml Inhibitorlösung enthielt. 10 ml Plasma wurden mit 400 mg Dowex 50-100 mesh extrahiert und das Dowex anschließend zweimal mit 4 ml 0,3 % Neomycin aqua dest., sowie zweimal mit je 4 ml Methanol gereinigt. Das an das gewaschene Dowex adsorbierte AT II wurde mit zweimal 2 ml einer Elutionslösung abgetrennt, die Lösung im Luftstrom bei 37° C eingeeengt und der Rückstand mit je 0,2 ml 0,05 m Trispuffer aufgenommen. Die Standardkurve reichte von 500 pg/100  $\mu$ l bis 7,25 pg/100  $\mu$ l. Den Ansatz bildeten jeweils 100  $\mu$ l der Standardkurven-Verdünnungsstufen bzw. 100  $\mu$ l der Eluate in einer 100 : 50 : 25 Verdünnungsreihe, 50  $\mu$ l J<sup>125</sup>-Angiotensin II-Lösung, 50  $\mu$ l Antikörperlösung (in entsprechender Verdünnung) und 300  $\mu$ l Puffer.

Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden wurde die AK-gebundene Aktivität mit jeweils 200  $\mu$ l Kohle-Dextran-Suspension abgetrennt und im  $\gamma$ -Counter gemessen. Die Ergebnisse wurden gleichfalls mit dem weiter oben genannten Computer-Programm (s. 2.3.1.) ausgewertet.

Die Ruhewerte bei Normalpersonen und normaler Diät liegen bei 12,8 pg/ml (Schwankungsbereich: 6 bis 36 pg/ml).

#### 2.3.3. Bestimmung der Nebennierenrindensteroidhormone

Die Bestimmung erfolgte nach der von Schoeneshöfer (117) angegebenen Methode, mit der alle acht gemessenen Nebennierenrindenhormone gleichzeitig aus einer Serumprobe bestimmt werden konnten.

Im ersten Teil der Methode wurden die im Serum vorhandenen Substanzen in 4 Fraktionen mittels einer Flüssigkeits-Flüssigkeits-Trennung aufgeteilt. 3 ml pro Probe wurden mit je 50  $\mu$ l Tritium-markierten Steroids von jedem zu bestimmenden Hormon - insgesamt 400  $\mu$ l - markiert - die einzelnen Konzentrationen sind aus der Tabelle 2 ersichtlich - und zweimal mit je 3 ml i-Octan extrahiert. Der Überstand, d. h. die i-Octan-Phase wurde abgetrennt und als Fraktion 1 bezeichnet; in ihr waren Progesteron und unpolare Steroide enthalten.

Anschließend wurden die lipophilen Substanzen in zweimal 5 ml Dichlormethan überführt und der nach dem Einengen vorhandene Rückstand mit 1 ml NaOH aufgenommen. Deren i-Octanextrakt (2 mal 5 ml) stellte die Fraktion 2 dar; sie enthielt die Hormone  $17\alpha$ -OH-Progesteron,  $11\beta$ -Desoxycorticosteron und andere gleich polare Steroide wie z. B. Testosteron. Die Gewinnung der Fraktion 3 erfolgte durch Extraktion der wässrigen Phase mit 8 ml Tetrachlorkohlenstoff; in ihr fanden sich im wesentlichen die Hormone 18-OH-DOC, Corticosteron und  $11\beta$ -Desoxycortisol. Nochmalige Extraktion der wässrigen Phase mit 9 ml Dichlormethan führte zu Fraktion 4, welche die Hormone Cortisol und Aldosteron enthielt.

Durch Papierchromatographie wurden die in den einzelnen Fraktionen enthaltenen Steroidhormone untereinander und von evtl. vorhandenen Verunreinigungen getrennt (zur Durchführung s. 2.2.1.). Je nach Fraktion wurden verschiedene Chromatographiesysteme benötigt:

Fraktion 1:

stationäre Phase: Methanol : Wasser = 80 : 20  
mobile Phase: n-Hexan = 100

Fraktion 2:

stationäre Phase: Methanol : Wasser = 70 : 30  
mobile Phase: n-Hexan = 100

Fraktion 3:

stationäre Phase: Methanol : Wasser = 35 : 65  
mobile Phase: n-Hexan : Benzol = 60 : 40

Fraktion 4:

stationäre Phase: Methanol : Wasser = 50 : 50  
mobile Phase: n-Hexan : Benzol = 20 : 80

Die einzelnen Fraktionen unterschieden sich auch in den Chromatographie-Laufzeiten:

Fraktion 1: 3 Stunden  
Fraktion 2: 18 Stunden  
Fraktion 3: 20 Stunden  
Fraktion 4: 14 Stunden

Mit dem Radiochromatogramm-Scanner wurden die Hormone direkt lokalisiert, deren Ausgangsaktivität über 5 000 Cpm/50 µl lag; die Laufstrecke der anderen Hormone wurde mit Hilfe des RF-Wertes, wie in 2.2.2. beschrieben, ermittelt; die Elution aller Hormone erfolgte mit je 3 ml Methanol.

Vor Durchführung des Radioimmunoassays wurden die Proben bei Zimmertemperatur im Stickstoffstrom eingengt und der Rückstand mit der Pufferlösung (Corticosteron, Desoxycortisol, 18-OH-DOC, Cortisol und Aldosteron)

bzw. mit Äthanol (Progesteron, 17-OH-Progesteron und DOC) aufgenommen; die genauen Volumina sind der Tab. 2 zu entnehmen. Nach Entnahme eines Aliquots zur Messung der Wiederauffindungsrate (Recovery) wurden die Cortisol enthaltenden Eluate im Verhältnis eins zu fünf verdünnt. Für jedes Hormon wurde eine eigene Standardkurve in gleicher Weise wie in 2.2.1. erstellt, die von 3,12 pg/100 µl bis 800 pg/100 µl reichte; die Verdünnung der Originallösungen erfolgte für Progesteron, 17-OH-P und DOC mit Äthanol, für die restlichen Hormone mit der Pufferlösung. Von den Eluaten wurden Duplikate (17-OH-P, 18-OH-DOC) bzw. Triplikate (die übrigen Hormone) in einer Menge von je 100 µl in die Ansatzröhrchen pipettiert und nach Zugabe von 100 µl des jeweiligen <sup>3</sup>H-markierten Hormons (Konzentrationen s. Tab. 2) und 200 µl der jeweiligen Antikörpersuspension (Verdünnung s. Tab. 2) über Nacht bei 4<sup>o</sup> C inkubiert; bei der Bestimmung von Progesteron, 17-OH-P und DOC wurde der jeweilige Ansatz nach Zugabe des <sup>3</sup>H-markierten Hormons eingeengt und der verbliebene Rückstand mit je 400 µl AK-Lösung aufgenommen (Konzentrationen s. Tab. 2). Das weitere Vorgehen war bei allen 8 Steroidhormonbestimmungen wieder gleich. Die Abtrennung der AG-AK-Komplexe und die Messung der AK-gebundenen Radioaktivität erfolgte wie in 2.2.1. beschrieben. Die Auswertung erfolgte mit dem bereits genannten Computer-Programm (118).

Die Sensibilität der Methode (untere Nachweisgrenze, Inter- und Intraassay-Variabilität) ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Die Normalwerte bei dieser Methode sind bei ambulanten Personen:

Progesteron:	17,9±10	ng/100 ml	5-47	ng/100 ml
17α-OH-P:	179±61	ng/100 ml	73-317	ng/100 ml
DOC:	6,6±2,6	ng/100 ml	3,1-13,7	ng/100 ml
Corticosteron:	421±217	ng/100 ml	85-915	ng/100 ml
11β-Desoxycortisol:	49±27	ng/100 ml	15-103	ng/100 ml
18-OH-DOC:	20±11	ng/100 ml	9-51	ng/100 ml
Aldosteron:	12,4±5,0	ng/100 ml	5,3-24,4	ng/100 ml
Cortisol:	14,5±4,9	µg/100 ml	6-22,8	µg/100 ml

#### 2.3.4. Bestimmung der Testosteronkonzentration

Die Bestimmung der Testosteronkonzentration erfolgte in Anlehnung an die zuletzt beschriebene Methode. 3 ml Serum wurden mit 100 µl <sup>3</sup>H-Testosteron (8000 Cpm/50 µl s. Tab. 2) markiert. Die Proben wurden zweimal mit 3 ml i-Octan extrahiert und die organische Phase verworfen. Der anschließend gewonnene Diäthylätherextrakt (2 mal 3 ml) wurde bei 30° C im Luftstrom eingeeengt und die Papierchromatographie danach wie bei 2.2.1. durchgeführt. Das Chromatographiesystem entsprach dem der Fraktion 2 aus 2.3.3., die Laufzeit betrug 18 bis 20 Stunden. Die Lokalisation

des Testosterons auf den Streifen und die Elution mit 3 ml Methanol erfolgte wie in 2.2.1.. Das weitere Vorgehen entsprach dem in 2.3.3. beschriebenen, die einzelnen Konzentrationen sind der Tab. 2 zu entnehmen.

Zur Charakterisierung der Methode:

Von einer definierten  $^3\text{H}$ -Testosteron-Menge waren nach der zweifachen Extraktion mit *i*-Octan im Diäthylätherextrakt noch 81 % nachweisbar; in System II (siehe 2.3.3.) betrug die Laufstrecke nach 20 Stunden 19,8 cm; das Verhältnis der Laufstrecken von 17-OH-P und Testosteron betrug 0,82, das von Testosteron und DOC 1,09. Die 50%ige Verdrängung von  $^3\text{H}$ -Testosteron lag bei 99 pg/100  $\mu\text{l}$ . Die gemessenen Werte entsprechen den in der Literatur angegebenen Konzentrationen (34).

#### 2.4. Spezifität der Steroidhormonbestimmung - Interferenzen mit SL und seinen Metaboliten

Zur Quantifizierung von Meßfehlern, bedingt durch Mitreaktion von SL und seinen Metaboliten, wurde untersucht, wie sich SL und seine Metaboliten bei Extraktion, Papierchromatographie und im RIA verhielten.

Zur Extraktion: Definierte Mengen von SL und Canrenon wurden Serumproben, die weder SL noch einen seiner Metaboliten enthielten, zugesetzt und die nach der Extraktion in den Fraktionen 1 bis 4



und im Äthylätherextrakt enthaltene Menge bestimmt. Die Extraktionsschritte entsprachen den bei 2.3.3. und 2.3.4. beschriebenen.

Zur Papierchromatographie: Bekannte Mengen von  $^3\text{H}$ -SL und Canrenon wurden auf Chromatographiepapierstreifen aufgetragen. Nach den für die einzelnen Systeme geltenden Laufzeiten wurden die Streifen in 3 cm lange Stücke geschnitten und die Elution wie in 2.3.3. durchgeführt. Die in jedem Papierabschnitt enthaltene  $^3\text{H}$ -SL-Menge wurde aus einem Aliquot, dessen Radioaktivität im Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer gemessen wurde, ermittelt. Die Canrenonkonzentration wurde nach dem gleichen Verfahren fluorometrisch bestimmt (111). Der  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Extrakt einer Versuchsperson, die  $^3\text{H}$ -SL erhalten hatte, und in welchem weitere lipophile Metabolite des SL angereichert waren, wurde gleichfalls aufgetragen und das Chromatographieverhalten in den vier Systemen beobachtet.

Zum Radioimmunoassay: Kreuzreaktionen wurden mit dem DOC-AK, dem Testosteron-AK und dem Cortisol-AK durchgeführt für SL, Canrenon,  $7\alpha$ -thiomethylspiro lacton (nur mit dem Testosteron-AK),  $7\alpha$ -methylsulfinylspiro lacton,  $6\beta$ -OH- $7\alpha$ -methylsulfinylspiro lacton. Zur Herstellung der Originallösungen (20  $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ ) wurden die einzelnen Substanzen in Äthanol eingewogen und danach im Verhältnis 1 : 10 bis auf 20  $\text{pg}/100 \mu\text{l}$  verdünnt. Die Standardkurven von DOC und Testosteron reichten von 800  $\text{pg}/100 \mu\text{l}$  bis 3,12  $\text{pg}/100 \mu\text{l}$ . Pro Ansatzröhrchen wurden einpipettiert: 100  $\mu\text{l}$  Standardkurvenlösung von DOC bzw. Testosteron bzw. 100  $\mu\text{l}$  der Verdünnungen von

SL oder seiner Metaboliten in den Verdünnungsstufen 100 : 50 : 25; 100  $\mu$ l  $^3$ H-DOC bzw.  $^3$ H-Testosteron (Konzentrationen s. Tab. 2) und 200  $\mu$ l der DOC- bzw. Testosteronantikörpersuspension (Verdünnung s. Tab. 2).

Der Radioimmunoassay wurde anschließend wie in 2.3.3. und 2.3.4. beschrieben durchgeführt.

Die Berechnung der Kreuzreaktionen erfolgte nach Abraham (1) auf dem 25 %- , dem 50 %- und dem 75 %-Bindungsniveau, da die Bindungskurven von SL und seinen Metaboliten andere Steigungen aufwiesen als die Standardkurven von DOC und Testosteron.

Dadurch ließ sich die Spezifität der Steroidhormonbestimmung folgendermaßen charakterisieren:

#### 2.4.1. Spironolacton

Nach der Extraktion wurden nur in den Fraktionen 1 und 2 wesentliche Konzentrationen von SL gefunden; 24 Prozent der zugegebenen Dosis in Fraktion 1, 44 Prozent in Fraktion 2. Nach der Chromatographie wurden noch 0,04 Prozent der ursprünglichen Dosis am Lokalisationspunkt des Progesteron, 0,33 Prozent bzw. 0,22 Prozent bzw. 0,11 Prozent an den Stellen von 17-OH-P, Testosteron und DOC gefunden (Tab. 4). Es wurde das Ausmaß der Kreuzreaktion mit SL für den DOC- und den Testosteronantikörper bestimmt: Auf dem 50 %-Bindungsniveau betrug die Kreuzreaktion für den DOC-AK 0,00041 Prozent, für den T-AK 0,0055 Prozent; die Werte für die beiden anderen Bindungsniveaus sind der Tabelle 5, Zeile 1 zu entnehmen.

#### 2.4.2. Canrenon

Canrenon war nach der Extraktion nur in Fraktion 1 (39,3 Prozent) und 2 (56,7 Prozent) der Bestimmungsmethode der NNR-Hormone bzw. im Diäthylätherextrakt (44,2 Prozent) der Testosteronbestimmungsmethode nachweisbar. Nach der Chromatographie wurden an den Lokalisationspunkten von Progesteron noch 0,07 Prozent, von 17-OH-P, Testosteron und DOC noch 7,1 bzw. 22,1 bzw. 49,6 Prozent der ursprünglich in der Probe vorhandenen Dosis gefunden (Tab. 4).

Die Kreuzreaktionen auf den drei oben genannten Bindungsniveaus waren mit Canrenon z. B. auf dem 50 %-Bindungsniveau für den DOC-AK 0,0056 Prozent, für den Testosteronantikörper 0,0068 Prozent. Auch hier wurde mit steigender Bindung die Kreuzreaktion stärker (Tab. 5).

#### 2.4.3. Andere SL Metaboliten

Nach der Papierchromatographie zeigte sich, daß sich diese lipophilen SL-Derivate außer in der Fraktion 4 nur wenig vom Startpunkt entfernt hatten; aber auch in dieser Fraktion war die Laufstrecke der Metaboliten kürzer als die von Cortisol und Aldosteron (Tab. 4). Die für 3 Metaboliten ( $7\alpha$ -thiomethyl-spirolacton,  $7\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton und  $6\beta$ -OH- $7\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton) mit dem DOC- und dem Testosteronantikörper auf den oben genannten

drei Niveaus bestimmten Kreuzreaktionen waren minimal bzw. nicht meßbar (Tab. 5). Die Bestimmung der Testosteronkonzentration im Serum ergab, daß die meisten Meßwerte auf dem 25 %-Bindungsniveau der Testosteronstandardkurve lagen; wie aus Tabelle 5 ersichtlich, waren die Kreuzreaktionen auf diesem Niveau vernachlässigbar gering, d. h., daß die Testosteron-Meßwerte durch das im Serum vorhandene SL bzw. seine Metaboliten nicht verfälscht wurden.

Bei der Bestimmung der DOC-Konzentration zeigte sich, daß die meisten Meßwerte auf dem 50 %-Bindungsniveau der DOC-Standardkurve lagen; d. h., daß für die Berechnung der DOC-Konzentration die Kreuzreaktionen auf diesem Niveau (siehe Tab. 5) berücksichtigt werden mußten.

Die Kreuzreaktionen mit dem Cortisolantikörper wurden zu einem früheren Zeitpunkt bestimmt (4); sie zeigten, daß die radioimmunologische Bestimmung von Cortisol durch SL und seine Metabolite nur unwesentlich beeinflußt wurde.

## 2.5. Bestimmung von Canrenon und Canrenoat-Kalium

Die Bestimmung der Canrenon- und Canrenoat-K-Konzentration im Plasma erfolgte fluorometrisch nach einer von Sadée und Mitarb. (111) angegebenen Methode. Das Blut wurde ca. 14 Stunden nach der letzten Einnahme von 100 mg SL gleichzeitig mit dem Blut

für die anderen Bestimmungen abgenommen; erst anschließend wurde die neue Dosis eingenommen.

## 2.6. Statistische Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach einem Rechnermodell an einem IBM-1800-Computer (118) bzw. mit einem Olivetti-Programm.

Die Signifikanzprüfung erfolgte mit dem Student's T-Test für ungepaarte Kollektive. In den Abbildungen repräsentieren die einzelnen Punkte das arithmetische Mittel und die Abweichungen den mittleren Fehler des Mittelwertes (sem).

## 3. Materialien

Alle organischen Lösungsmittel waren von Merck, Darmstadt, pro analysi; Puffer-Titrisol von Merck, Darmstadt für 2.2.1.; Lysozym einheitlich von Merck, Darmstadt für 2.3.1.; Neomycinsulfat von Merck, Darmstadt für 2.3.1., 2.3.2.; 1,1 o-Phenanthrolin von Sigma, London für 2.3.1.; Humanalbumin von Behring M/R, Frankfurt/Main für 2.3.1., 2.3.2.;  $\gamma$ -Globulin von Kabi, Stockholm für 2.2.1., 2.2.2., 2.3.3.; Dowex 50-100 mesh von Serva, Heidelberg für 2.3.2.; Dextran T 40 von Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala für 2.3.2.; Dextran T 70 von Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala für 2.2.1., 2.2.2., 2.3.3., 2.3.4.; Norit A von Serva, Heidelberg für 2.2.1., 2.2.2., 2.3.1., 2.3.2., 2.3.3., 2.3.4.

Szintillationslösung Insta-Gel von Packard Instruments; Chromatographiepapier: Whatman-I-Papier zur Präparation der Chromatographietanks, Whatman-II-Papier in Streifen von 53 cm Länge und 3 cm Breite von W & R. Walston Ltd.

Lösungen:

0,1 m Borat-Puffer mit pH 8, 0,6 % Human- $\gamma$ -Globulin und 2 % Äthylenglykol für 2.2.1., 2.2.2., 2.3.3., 2.3.4.;

Trispuffer: 0,05 m Trishydroxymethan mit 0,05 m HCl auf pH 7,5 einstellen, 0,3 % Neomycinsulfat und 1 % Humanalbumin für 2.3.1., 2.3.3.;

Lysozym-Puffer: 0,1 m Trisazetat-Puffer pH 7,4, 1 mg Lysozym pro 1 ml Puffer für 2.3.1.

Na-Phosphat-Puffer: 113,6 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 61,4 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 23 g Titriplex III, 9,8 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ad 10 ml aqua dest. für 2.3.1.

Inhibitorlösung: 2,32 g Titriplex III- $\text{Na}_2\text{ÄDTA}$ , 0,25 g 1,1 o-Phenanthrolin in 50 ml 0,3 % Neomycin aqua dest. für 2.3.1.

Elutionslösung: 90 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 10 ml Methanol für 2.3.2.

Kohle-Dextran-Lösung: 5 g Norit A in 80 ml Puffer, 100 mg Dextran T 70 in 80 ml Puffer lösen und beide Lösungen vor Versuchsbeginn im Verhältnis 1 : 5 mischen für 2.2.1., 2.2.2., 2.3.3., 2.3.4.

Kohle-Dextran-Lösung: 0,5 g Dextran T 40 in 180 ml Puffer, 5 g Norit A in 200 ml Trispuffer für 2.3.1.

Kohle-Dextran-Lösung: 3 g Norit A zweimal mit je 100 ml aqua dest. waschen, aufnehmen in 100 ml Trispuffer, Zugabe von 250 mg Dextran T 40 und 250 mg Humanalbumin für 2.3.2.

Nicht radioaktiv markierte Hormone:

AT I aus einem Angiotensin-I-Radioimmunoassay-Kit von Schwartz und Mann, Orangeburg, N.Y. für 2.3.1.

AT II entspricht Hypertensin von Ciba, Wehr/Baden für 2.3.2.

Progesteron, 17 $\alpha$ -OH-Progesteron, 11 $\beta$ -Desoxycortisol, Cortisol, 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron, Corticosteron,

Aldosteron für 2.3.3., Testosteron für 2.3.4. von Merck, Darmstadt; 18-OH-Desoxycorticosteron von Steraloids, Pawlings, USA für 2.3.3.

Radioaktiv markierte Hormone:

$J^{125}$ -Angiotensin I aus einem Angiotensin-I-Radioimmunoassay-Kit von Schwartz und Mann, Orangeburg, N.Y. für 2.3.1.

$J^{125}$  zur Markierung von Angiotensin II von New England Company, Dreieichenhain für 2.3.2.

1.2- $^3$ H-Progesteron (48 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-17-OH-Progesteron (44.8 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-Desoxycorticosteron (45.9 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-Corticosteron (54.5 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-Desoxycortisol (43 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-Cortisol (40 Ci/mmol), 1.2- $^3$ H-Aldosteron (57 Ci/mmol) für 2.3.3., 1.2- $^3$ H-Testosteron (40 - 60 Ci/mmol) für 2.3.4. von New England Nuclear Company, Dreieichenhain, Frankfurt/Main; 1.2- $^3$ H-18-OH-Desoxycorticosteron (51 Ci/mmol) für 2.3.3. von Amersham-Buchler, Braunschweig. Die markierten Hormone wurden vor der Verwendung papierchromatographisch gereinigt.

Antikörper:

Angiotensin-I-Antikörper aus einem Angiotensin-I-Radioimmunoassay-Kit von Schwartz und Mann, Orangeburg, N.Y.

Antikörper für Progesteron, 11 $\beta$ -Desoxycortisol, Cortisol und Corticosteron von Dr. P. Vecsei, Pharmakologisches Institut, Heidelberg

Antikörper für Angiotensin II und 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron von Dr. R. Fraser, MRC Blood Pressure Unit, Glasgow

Antikörper für Aldosteron vom National Institute of Health, Bethesda, MD

Antikörper für Testosteron von der Fa. Schering, Berlin.

Der  $11\beta$ -Desoxycortisol-Antikörper zeigte komplette Kreuzreaktion mit  $17\alpha$ -OH-Progesteron und wurde deshalb für dessen radioimmunologische Bestimmung verwendet; der Antikörper gegen Corticosteron zeigte partielle Kreuzreaktion mit  $18$ -OH-Desoxycortico-steron und wurde deshalb für dessen Bestimmung benutzt.

Spironolacton, Canrenon kristallisiert, reinst (Boehringer, Mannheim);  $7\alpha$ -thiomethyl-spirolacton,  $7\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton,  $6\beta$ -OH- $7\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton krist., reinst (Searle & Co, Chicago); Aldactone 50<sup>®</sup> Drag. (Boehringer, Mannheim), Jatropur<sup>®</sup> Kps. (Röhm Pharma, Darmstadt).



## ERGEBNISSE

### 1. Canrenon- und Canrenoat-K-Konzentrationen

An den Einnahmetagen 4 bis 7 wurden Canrenon und Canrenoat-K im Plasma der unter SL-Behandlung stehenden Probanden gemessen. Die Canrenonkonzentration blieb in dieser Zeit weitgehend konstant, da offensichtlich nach 4 Tagen bereits das Kumulationsgleichgewicht erreicht war; der niedrigste Wert wurde am letzten Tag mit  $124,0 \pm 9,9$  ng/ml (die Werte sind angegeben als  $x \pm \text{sem}$ ), der höchste am 5. Tag mit  $143,1 \pm 58,5$  ng/ml gefunden. Die Canrenoat-K-Konzentration hatte ihren niedrigsten Wert am 4. Tag mit  $146,2 \pm 28,7$  ng/ml, den höchsten am 6. Tag mit  $209,7 \pm 34,1$  ng/ml (Tab. 6).

### 2. Gewichtsverhalten

Bei ungefähr gleichen Ausgangskörpergewichten ( $75.3 \pm 1.4$  kg in der SL-Gruppe,  $72.8 \pm 3.4$  kg in der Kontrollgruppe) waren in beiden Gruppen unterschiedliche Gewichtsabnahmen zu verzeichnen. Während die Probanden, die mit Spironolacton behandelt wurden, über den gesamten Beobachtungszeitraum im Durchschnitt 3,6 kg verloren, kam es in der Kontrollgruppe nur zu einem Gewichtsverlust von im Durchschnitt 1,7 kg. In der Vorperiode ging das Gewicht der Versuchspersonen in der SL-Gruppe um durchschnittlich 1,2 kg, etwa 2 % des Ausgangsgewichts, im Kontrollkollektiv um 0,7 kg, dies entspricht 1 % des Ausgangsgewichts, zurück. In der eigentlichen Behandlungsperiode verloren die Probanden, die SL einnahmen, durchschnittlich 2,4 kg, die Versuchspersonen

des Vergleichskollektivs dagegen nur 1,1 kg, d. h. unter dem Einfluß von SL und TR war der Gewichtsverlust doppelt so groß wie in der gleichlangen behandlungsfreien Vorperiode. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen bestanden zu keinem Zeitpunkt (Tab. 7).

### 3. Urinvolumina

Es waren große inter- und intraindividuelle Schwankungen zu beobachten. Während der Vorperiode waren keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden Gruppen feststellbar, dagegen kam es unter diuretischer Behandlung bei den mit TR behandelten Probanden zu einer deutlichen Mehrausscheidung; infolgedessen war der Unterschied zwischen der Gesamtausscheidung von Vorperiode und Testzeitraum bei der Kontrollgruppe größer als bei der SL-Gruppe ( $3,59\Delta l/7$  Tage gegenüber  $1,29\Delta l/7$  Tage; Tab. 7).

### 4. Urinelektrolyte

Unter der Na-armen Diät ( $75 \text{ mval Na}^+/\text{die}$ ) kam es in der Vorperiode bei beiden Gruppen zu einem Rückgang der Natriumausscheidung, von  $134,8\pm 24,2 \text{ mval/die}$  am 1. Tag auf  $68,2\pm 10,2 \text{ mval/die}$  am letzten Tag der Vorperiode bei der SL-Gruppe und von  $146,6\pm 44,0 \text{ mval/die}$  auf  $67,6\pm 14,0 \text{ mval/die}$  im Kontrollkollektiv (Tab. 8, Abb. 3).

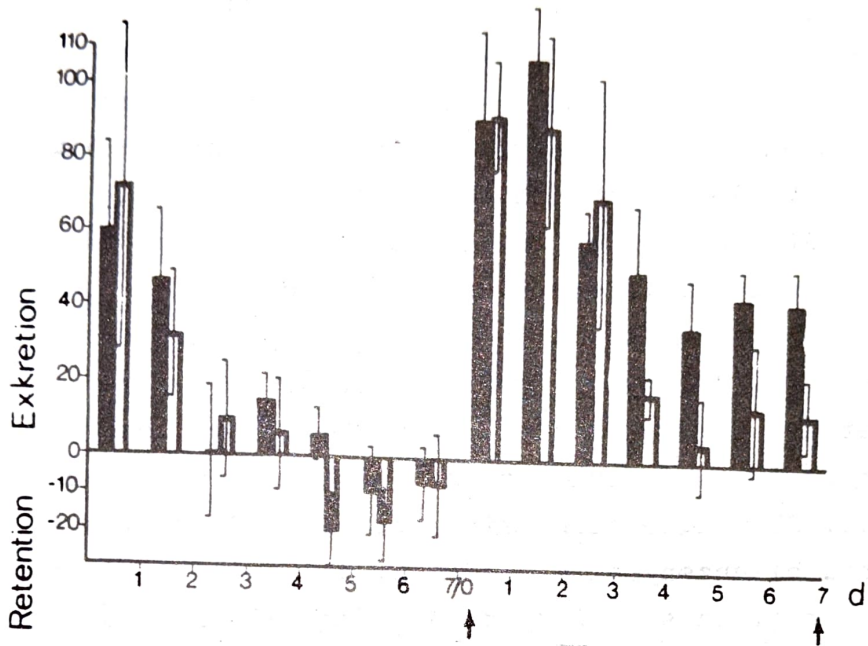
Die kumulative Natriumbilanz zeigte, daß das Natriumdefizit, bedingt durch die Diuretika, bis zum Ende der Testperiode weiter zunahm, von  $122,0\pm 29,3 \text{ mval}$

(Mittelwert der letzten 3 Tage der Vorperiode) auf  $547,2 \pm 104,4$  mval in der SL-Gruppe, von  $80,3 \pm 44,0$  mval auf  $373,6 \pm 141,6$  mval in der Kontrollgruppe; in beiden Gruppen bestanden signifikante Unterschiede zum Ende der Vorperiode ( $p < 0,005$  ab 2. Behandlungstag bei SL,  $p < 0,05$  vom 3. Behandlungstag ab bei TR). Die Kurven der kumulativen Natriumbilanz beider Gruppen unterschieden sich jedoch nicht, obwohl es in der TR-Gruppe durch zunehmende Angleichung der Na-Ausscheidung an die Na-Aufnahme zu einer deutlichen Abflachung der Kumulationskurve kam (Abb. 4).

Abb. 3: Natrium- und Kaliumbilanz im Urin ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die gefüllten Balken entsprechen der Gruppe, die mit 3 mal 100 mg/die SL über 7 Tage behandelt wurde, die offenen Balken der Kontrollgruppe, die über den gleichen Zeitraum mit 2 mal 100 mg/die TR behandelt wurde; über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde eine Diät mit 75 mval  $\text{Na}^+$  und ca. 75 mval  $\text{K}^+$  eingenommen (Abb. 3, s. Seite 43).

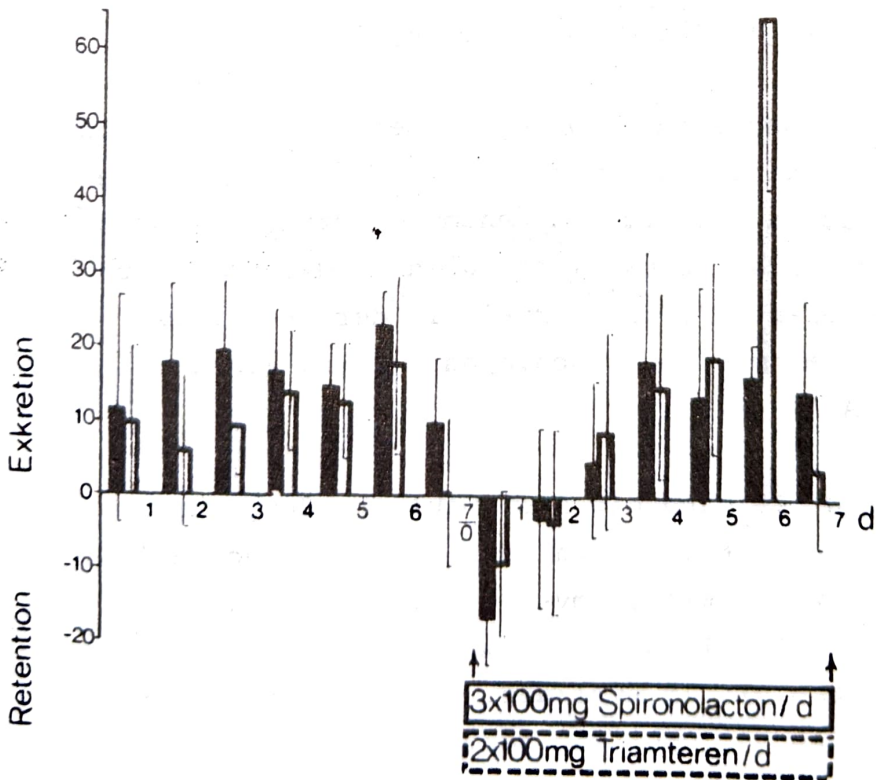
mval  
24 h

### Natriumbilanz im Urin



mval  
24 h

### Kaliumbilanz im Urin



Bemerkenswert war die nach Gabe beider Diuretika bereits am 1. Tag prompt einsetzende Natriurese von nahezu identischem Ausmaß (von -6,8 auf -91,6 mval/die unter SL und von -7,4 auf -92,6 mval/die unter TR). In der TR-Gruppe war dies auch der größte pro 24 Stunden auftretende Natriumverlust; in der SL-Gruppe war der Verlust nur noch am 2. Tag höher als in den ersten 24 Stunden. In den folgenden Tagen nahmen die diuresebedingten Natriumverluste in beiden Gruppen wieder ab. Während jedoch in der SL-Gruppe auch noch am letzten Tag  $43,6 \pm 9,1$  mval/die mehr ausgeschieden als zugeführt wurden, hatte sich nach 7tägiger Behandlung mit TR dessen natriuretische Wirksamkeit nahezu erschöpft. So zeigte sich beim tageweisen Vergleich der Natriumbilanzen beider Gruppen, daß vom 4. Tag an zunächst fraglich signifikante Unterschiede sichtbar wurden, die am letzten Tag ein Signifikanzniveau von 5 Prozent erreichten, d. h., vom 4. Tag der Behandlung an wurde unter SL deutlich mehr Natrium ausgeschieden als in der Vergleichsgruppe (Tab. 8, Abb.3).

Die Kalium-Ausscheidung in der Vorperiode blieb durch die Diät unbeeinflusst. Insgesamt ging renal etwas mehr Kalium verloren als oral aufgenommen wurde. Nach 7tägiger diätetischer Behandlung waren in der SL-Gruppe über die Nieren  $113,7 \pm 30,3$  mval, in der TR-Gruppe  $69,6 \pm 45,5$  mval mehr ausgeschieden worden. (Tab. 8a, Spalte 2; Abb. 4).

Unter SL bzw. TR ging die Kaliumausscheidung auf  $60,6 \pm 6,6$  bzw.  $66,6 \pm 10,1$  mval/die am 1. Tag und auf  $71,8 \pm 11,8$  bzw.  $71,6 \pm 12,4$  mval/die am 2. Tag zurück (Tab. 8a, Spalte 1) und war somit geringer als die orale Aufnahme mit 75 mval/die. Vom 3. Behandlungstag ab war die Kaliumbilanz jedoch wieder negativ,

wobei vom 4. Tag ab die Kaliumausscheidung in beiden Gruppen konstant blieb (Abb. 3). Am 6. Tag lag

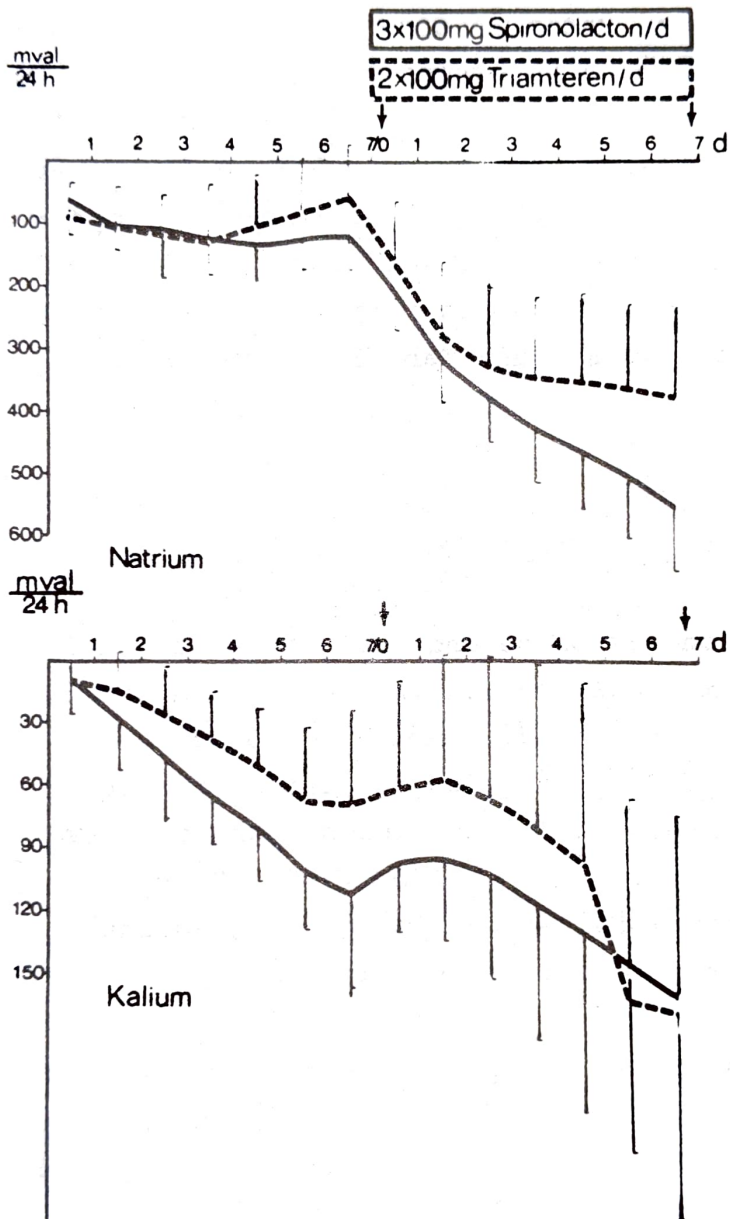


Abb. 4: Kumulative Na<sup>+</sup>- und K<sup>+</sup>-Bilanz (x±sem); die durchgezogenen Linien entsprechen der SL-Gruppe (n = 5), die unterbrochenen Linien der TR-Gruppe (n = 5)

die Kaliumexkretion in der Kontrollgruppe mit 140 mval sehr hoch, dieser Wert war bedingt durch die außerordentlich hohe Ausscheidung eines Probanden. Obwohl die  $K^+$ -Verluste unter der Behandlung mit SL und TR im Mittel weiter zunahmen, waren infolge der großen Streuungen keine signifikanten Unterschiede zur Vorperiode zu sichern. Am Ende der Vorperiode und in den ersten 24 Stunden der diuretischen Behandlung bestand ein Unterschied zwischen beiden Gruppen in der kumulativen  $K^+$ -Bilanz, der am Ende nicht mehr vorhanden war, d. h. unter TR verloren die Probanden mehr Kalium als unter SL (99.8 mval bzw. 40.6 mval; Tab. 8 a, Spalte 3; Abb. 4).

#### 5. Plasmaelektrolyte

Bei den mit Spironolacton behandelten Probanden fiel der Plasmanatriumspiegel innerhalb von 7 Tagen von  $145.2 \pm 1.3$  mval/l auf  $139.2 \pm 1.6$  mval/l ( $p < 0.025$ ), dagegen veränderte er sich bei den mit Triamteren behandelten Versuchspersonen nicht wesentlich: dort betrug der Mittelwert der Vorperiode  $143.8 \pm 1.0$  mval/l, die Natriumkonzentration am letzten Tag der Behandlung mit Triamteren  $145.0 \pm 1.0$  mval/l.

Die Plasmakaliumspiegel stiegen in beiden Kollektiven im gleichen Zeitraum deutlich an: In der Testgruppe von  $4.29 \pm 0.1$  mval/l auf  $4.66 \pm 0.16$  mval/l, im Vergleichskollektiv von  $4.05 \pm 0.1$  mval/l auf  $4.41 \pm 0.15$  mval/l (Tab. 9, Abb. 5).

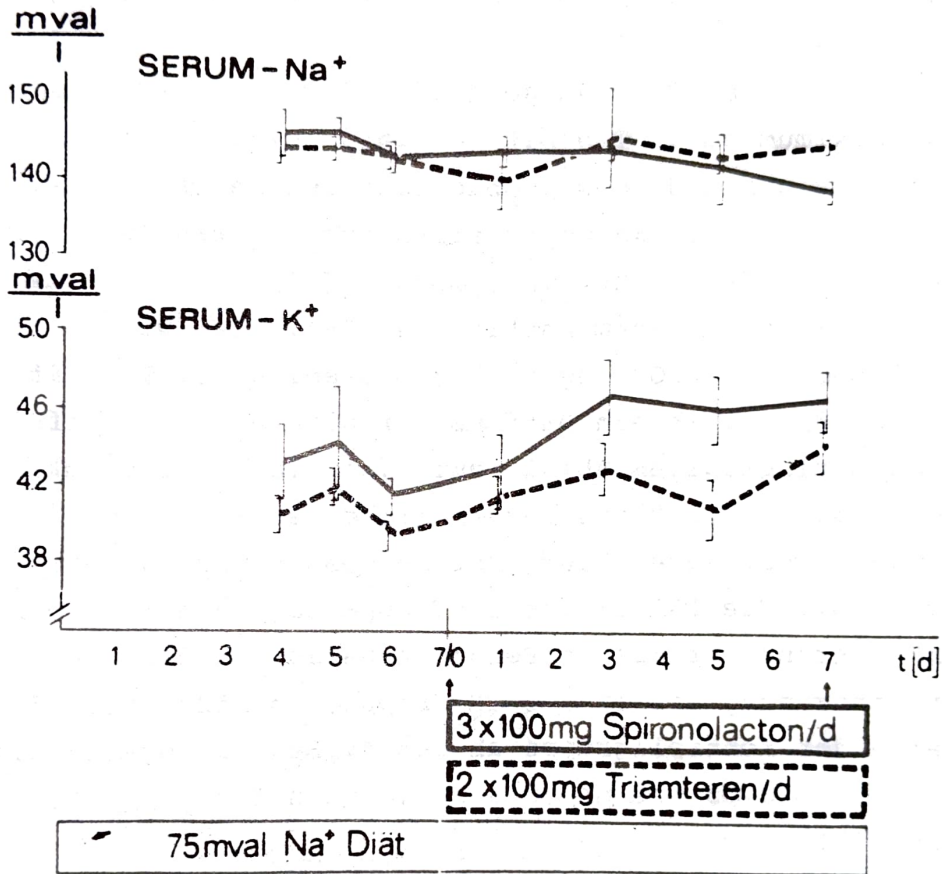


Abb. 5: Konzentrationen der Serumelektrolyte ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ;  $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogenen Linien entsprechen der SL-Gruppe (n = 5), die unterbrochenen Linien der TR-Gruppe (n = 5)



## 6. Plasmareninaktivität

In der Vorperiode wurde die PRA am 5. und am 6. Tag bestimmt. Die sich aus den Einzelwerten beider Tage ergebenden Mittelwerte betragen in der SL-Gruppe  $4,2 \pm 0,5$  ng/ml/h, im Kontrollkollektiv  $4,81 \pm 0,9$  ng/ml/h.

Unter SL stieg die PRA ab dem 2. Tag an, erreichte ihr Maximum am 4. Tag mit  $20,4 \pm 5,5$  ng/ml/h und blieb dann bis zum Ende des Beobachtungszeitraums annähernd konstant. Signifikante Unterschiede zum Basalwert traten vom 2. Tag an auf ( $p < 0,0025$ ). Triamteren führte gleichfalls zu einem Anstieg der PRA. Hier wurden nach 48 Stunden  $6,62 \pm 0,5$  ng/ml/h gemessen, am 4. Tag mit  $8,82 \pm 1,8$  ng/ml/h ein Maximum durchlaufen mit nachfolgend geringfügigem Abfall auf  $7,31 \pm 1,8$  ng/ml/h am letzten Tag. Signifikante Unterschiede verglichen mit dem Ausgangswert waren hier erst ab dem 4. Tag nachweisbar ( $p < 0,05$ ). Die PRA in der SL-Gruppe lag in der Vorperiode und während der ersten Behandlungstage in der gleichen Größenordnung wie in der TR-Gruppe, übertraf aber die Werte der Kontrollgruppe ab dem 4. Behandlungstag signifikant ( $p < 0,05$  bis  $p < 0,025$  am letzten Tag; Tab. 10, Abb. 6).

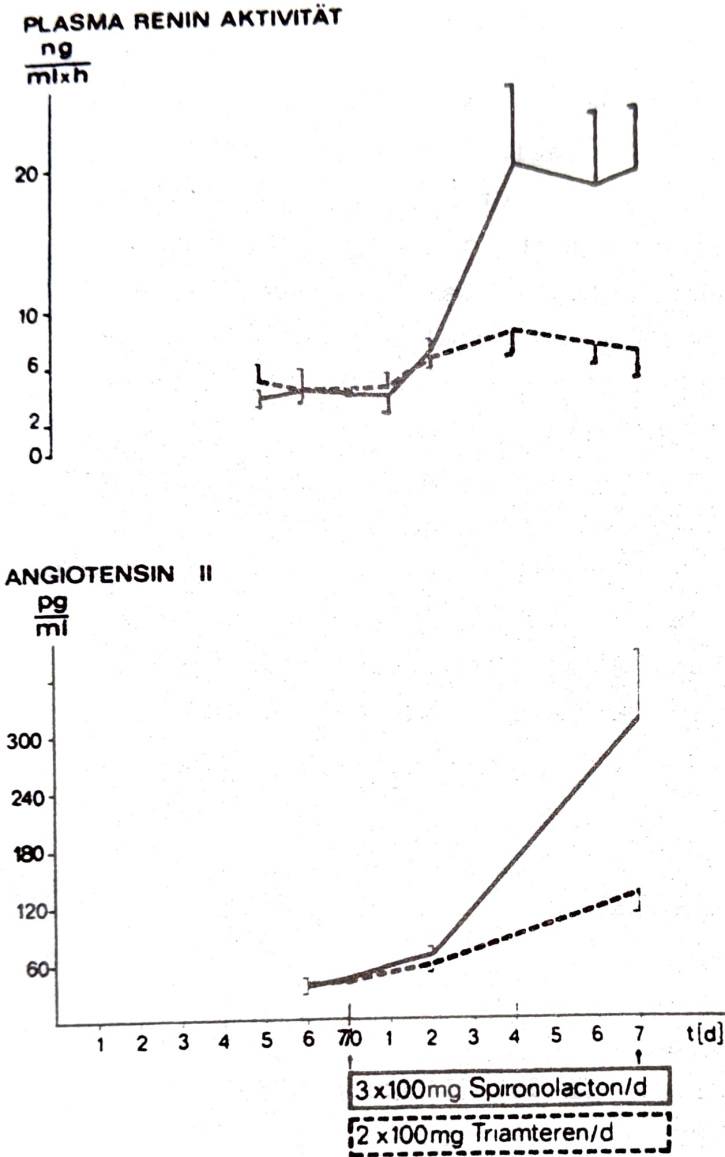


Abb. 6: Plasmareninaktivität und Angiotensin II-Konzentrationen im Plasma ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogenen Linien entsprechen der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochenen Linien der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

## 7. Angiotensin II

Angiotensin II-Bestimmungen wurden am 6. Tag der Vorperiode, 48 Stunden nach Beginn der diuretischen Behandlung und am letzten Tag der Testperiode durchgeführt. Im wesentlichen liefen die AT II-Konzentrationen der PRA parallel (Abb. 6). Der Basiswert in der SL-Gruppe lag bei  $33,9 \pm 6,1$  pg/ml, in der TR-Gruppe bei  $37,7 \pm 7,6$  pg/ml. Unter SL stieg der AT II-Spiegel innerhalb von 48 Stunden auf  $65,1 \pm 9,4$  pg/ml ( $p < 0,0125$ ), bis zum Ende auf  $318,5 \pm 73,8$  pg/ml an ( $p < 0,0025$ , verglichen mit dem Basiswert); TR dagegen führte zu einem Anstieg der AT II-Konzentration auf  $53,4 \pm 6,7$  pg/ml am 2. Tag und auf nur  $131,2 \pm 52,5$  pg/ml am letzten Tag ( $p < 0,05$ ), so daß am 7. Tag ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bestand (Tab. 10).

## 8. Nebennierenrindenhormone

### a) Progesteron

Der Basalwert betrug in der SL-Gruppe  $18,1 \pm 1,6$  ng/100 ml, in der TR-Gruppe lag er bei  $15,0 \pm 1,4$  ng/100 ml; die Differenz war fraglich signifikant ( $p < 0,1$ ). Unter SL bewegte sich die Konzentration von Progesteron nach einem initialen Anstieg auf  $24,7 \pm 7,0$  ng/100 ml; dies entsprach einem Anstieg des Progesteronspiegels um 19 %. In der Kontrollgruppe war der Verlauf mit einem mittleren Anstieg um 27,3 % auf  $18,4 \pm 0,7$  ng/100 ml gleichartig (Tab. 11; Abb. 7). Im Gegensatz zu den zwischen den Basal- und den Funktionswerten bestehenden Unterschieden war zwischen den Funktionswerten der SL-

Gruppe und der TR-Gruppe zu keinem Zeitpunkt eine statistisch signifikante Differenz feststellbar (wegen der unterschiedlich hohen Basalwerte wurden die prozentualen Werte zum Vergleich herangezogen).

b) 17 $\alpha$ -Hydroxy-Progesteron

Hier lagen die Basalwerte bei 177,3 $\pm$ 12,2 ng/100 ml in der SL-Gruppe und bei 156,3 $\pm$ 13,9 ng/100 ml in der TR-Gruppe. Weder die Verabreichung von SL noch von TR führten zu nennenswerten Änderungen der Serumkonzentration von 17-OH-P. Am 5. Tag der Behandlung mit SL war der Serumspiegel vorübergehend auf 67 Prozent abgesunken, am letzten Tag auf 121 Prozent angestiegen. Auch bei diesem Steroidhormon waren keine als signifikant zu wertenden Unterschiede zwischen den Funktionswerten beider Gruppen zu verzeichnen (Tab. 11; Abb. 7).

c) 11 $\beta$ -Desoxycortisol

Die inter- und intraindividuellen Streuungen waren sehr groß, so daß dadurch die Aussagekraft der Ergebnisse eingeschränkt war. In der SL-Gruppe betrug der Basalwert 40,1 $\pm$ 7,3 ng/100 ml, im Vergleichskollektiv 49,2 $\pm$ 7,9 ng/100 ml. Unter SL stiegen die Desoxycortisolspiegel kontinuierlich bis auf 66,7 $\pm$ 20,8 ng/100 ml ( $p < 0,1$ ) am letzten Tag an, d. h. auf 174 Prozent des Ausgangswertes. In der TR-Gruppe dagegen tendierten die Desoxycortisolkonzentrationen insignifikant nach unten mit dem niedrigsten Wert am 7. Tag von 29,9 $\pm$ 7,0 ng/100 ml (bei den Mittelwerten der letzten drei Tage wurden nur 4 der insgesamt 5 Einzelwerte berücksichtigt, da die Meßwerte eines

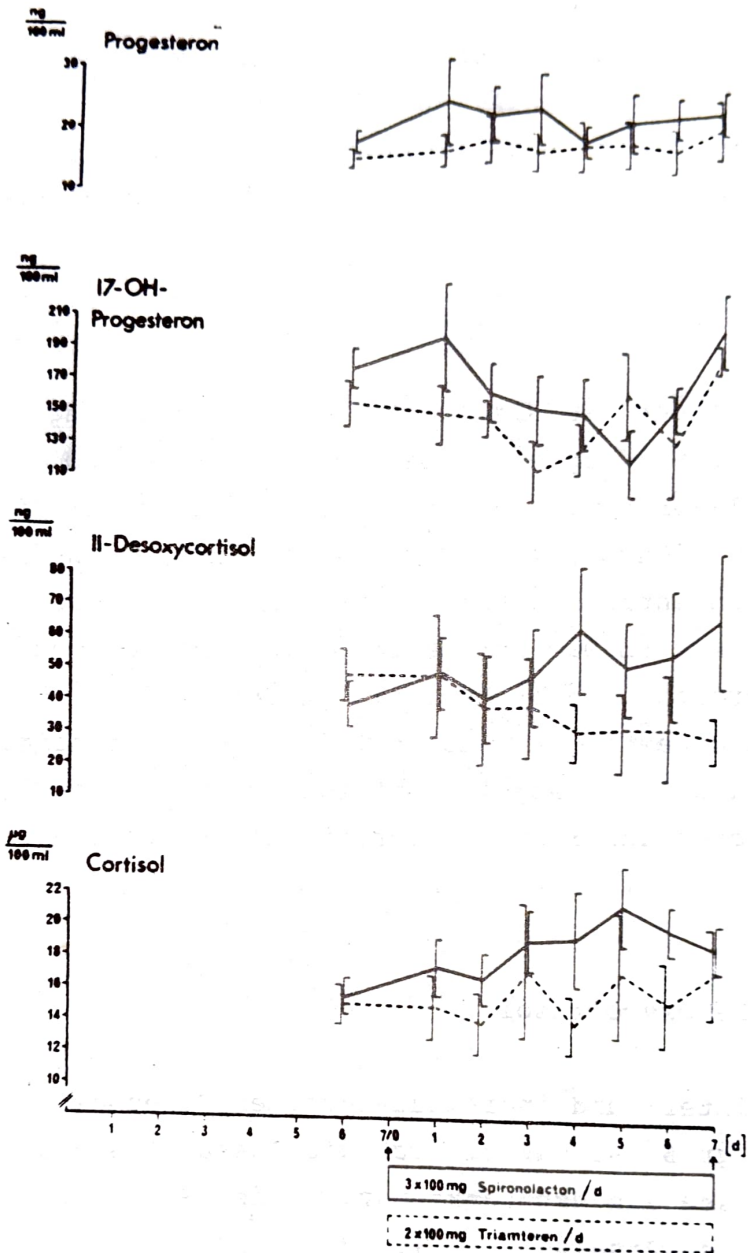


Abb. 7: Serumkonzentrationen von Progesteron, 17-OH-Progesteron, 11-Desoxycortisol und Cortisol ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogenen Linien entsprechen der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochenen Linien der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

Probanden weit außerhalb der Streubreite lagen). Trotz der tendenziell entgegengesetzt verlaufenden Kurven beider Gruppen wurden nur an den Tagen 4 und 5 signifikante Unterschiede verzeichnet; auch hier wurden zum Vergleich wegen der unterschiedlichen Ausgangswerte die prozentualen Werte herangezogen (Tab. 11, Abb. 7).

d) Cortisol

Die Basalwerte unterschieden sich nicht:  $15,6 \pm 1,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in der SL-Gruppe,  $15,2 \pm 1,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  in der TR-Gruppe. Unter dem Einfluß von SL stieg die Cortisolkonzentration innerhalb von 5 Tagen auf  $21,5 \pm 7,5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  ( $p < 0,025$ ) an, um dann wieder auf  $18,7 \pm 1,4 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$  abzusinken, wohingegen die Gabe von Triamteren die Cortisolkonzentration unbeeinflusst ließ. So ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen an den Tagen 4 und 6 ( $p < 0,05$ ; Tab. 11; Abb. 7).

e) 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron

Bei diesem Hormon waren die Basalwerte in der SL-Gruppe mit  $9,0 \pm 1,1 \text{ ng}/100 \text{ ml}$  und in der TR-Gruppe mit  $8,7 \pm 1,0 \text{ ng}/100 \text{ ml}$  in gleicher Größenordnung. 24 Stunden nach der ersten Applikation von SL war die DOC-Konzentration bereits auf  $18,5 \pm 2,5 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ , d. h. auf 214 Prozent angestiegen, nach 4 Tagen waren  $26,4 \pm 3,8 \text{ ng}/100 \text{ ml}$  erreicht; dies entsprach 304 Prozent des Ausgangswertes ( $p < 0,0005$ ). Danach bildete sich ein Plateau mit einem Endwert von  $26,9 \pm 4,8 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ .

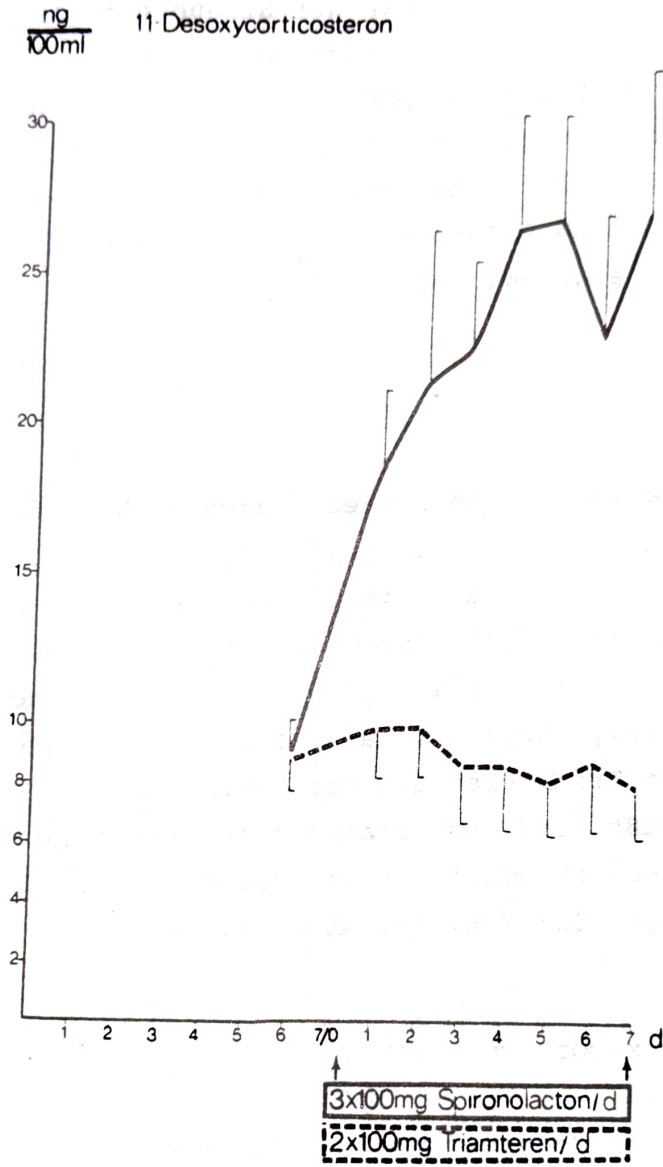


Abb. 8: Serumkonzentrationen von 11-Desoxycortico-steron ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

In der Kontrollgruppe stieg der DOC-Serumspiegel nur in den ersten 48 Stunden vorübergehend unbedeutend an auf  $9,8 \pm 1,6$  ng/100 ml und pendelte sich in den folgenden Tagen auf Werte etwas unterhalb des Ausgangswertes ein. Offenbar wurde die DOC-Konzentration im Serum durch TR im Gegensatz zu SL nicht beeinflusst.

Der Vergleich der Mittelwerte aus beiden Gruppen in der Funktionsperiode zeigte daher an allen Tagen signifikant höhere DOC-Konzentrationen in der mit SL behandelten Gruppe (Tab. 12, Abb. 8).

f) Corticosteron

Hier lag der Mittelwert der Vorperiode in der SL-Gruppe bei  $718,7 \pm 181,0$  ng/100 ml, in der TR-Gruppe bei  $915,5 \pm 249,5$  ng/100 ml. Im Gegensatz zu Desoxycorticosteron änderten sich die Corticosteronspiegel in den ersten 48 Stunden unter SL wenig; dann folgte aber in dieser Gruppe ein steiler Anstieg bis auf  $1509,0 \pm 627,1$  ng/100 ml am 4. Tag, was einem Anstieg auf 230 Prozent ( $p < 0,0005$ ) entsprach. Danach änderte sich der Corticosteronserumspiegel nur noch wenig - am letzten Tag wurden 263 Prozent des Basalwertes ( $p < 0,0005$ ) erreicht.

Unter der Behandlung mit TR dagegen sank die Konzentration von Corticosteron im Serum bis zum 2. Tag auf  $462,6 \pm 140,5$  ng/100 ml ab; der Abfall war infolge der außerordentlichen interindividuellen Variation statistisch jedoch nicht zu sichern. Bis zum Ende der Untersuchungsperiode stieg der Corticosteronspiegel zwar wieder an, blieb aber



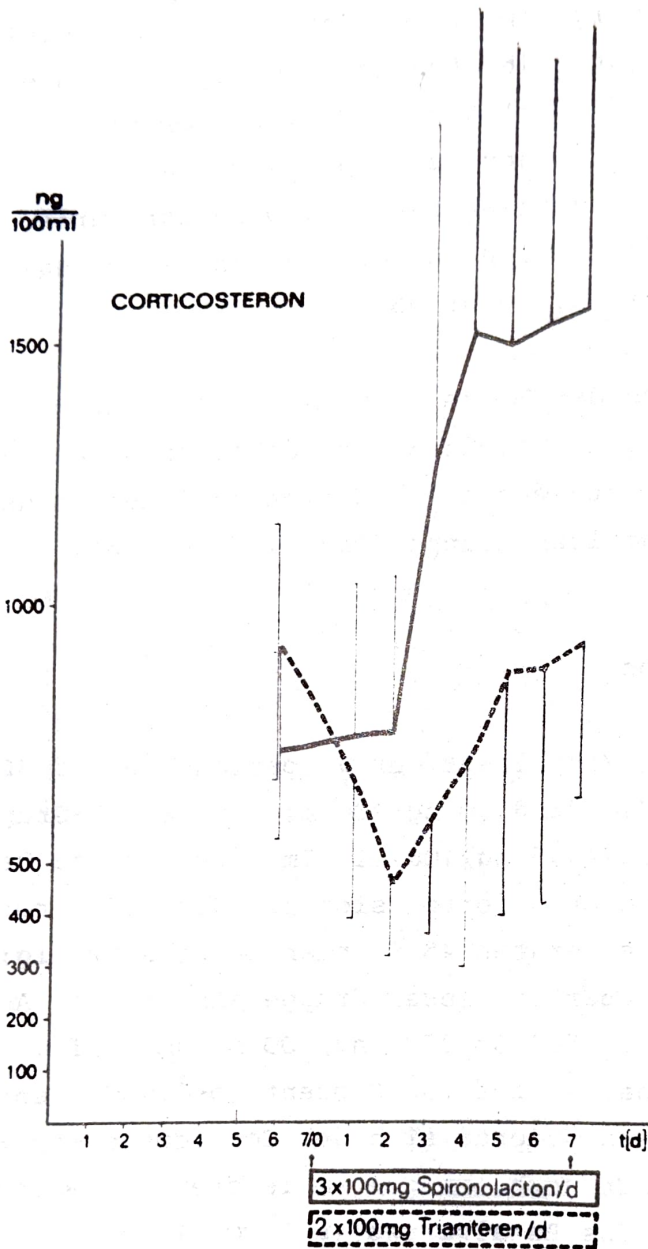


Abb. 9: Serumkonzentrationen von Corticosteron ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

auch dann noch unter dem Ausgangswert. Wählt man die Relativdarstellung, wobei die Konzentrationen jedes Probanden während der Funktionsperiode auf den Mittelwert seiner eigenen Vorperiode bezogen werden, ergibt sich, daß die Serumkonzentration auf maximal 71 Prozent abfiel. Statistisch gesicherte Unterschiede traten jedoch auch bei dieser Darstellungsweise an keinem Tag auf.

Der Vergleich der in den beiden Kollektiven einander entsprechenden Relativwerte zeigte allerdings ab dem 3. Behandlungstag signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen; die größte Differenz bestand am 4. Tag, an dem die Corticosteronkonzentration unter SL-Zufuhr 230 Prozent des Ausgangswertes erreicht hatte, der Spiegel unter TR-Medikation aber auf 74 Prozent abgefallen war ( $p < 0,0005$ ). In den letzten Tagen näherten sich die Kurven wieder einander an, am 7. Tag ließ sich ein Unterschied zwischen den beiden Kurven statistisch nicht mehr sichern (Tab. 12; Abb. 9).

g) 18-Hydroxy-Desoxycorticosteron

In der Vorperiode betrug der Mittelwert in der SL-Gruppe  $11,2 \pm 2,3$  ng/100 ml, in der TR-Gruppe  $12,9 \pm 2,8$  ng/100 ml. 24 Stunden nach Beginn der Behandlung mit SL war die Serumkonzentration insignifikant auf  $9,9 \pm 3,2$  ng/100 ml abgesunken, nach weiteren 24 Stunden war mit  $12,1 \pm 3,8$  ng/100 ml das Ausgangsniveau wieder erreicht. Zwischen dem 2. und 3. Tag nahm die 18-OH-DOC-Konzentration etwa um den Faktor 2 zu, am 3. Tag wurden im Mittel  $21,4 \pm 10,8$  ng/100 ml, d. h.

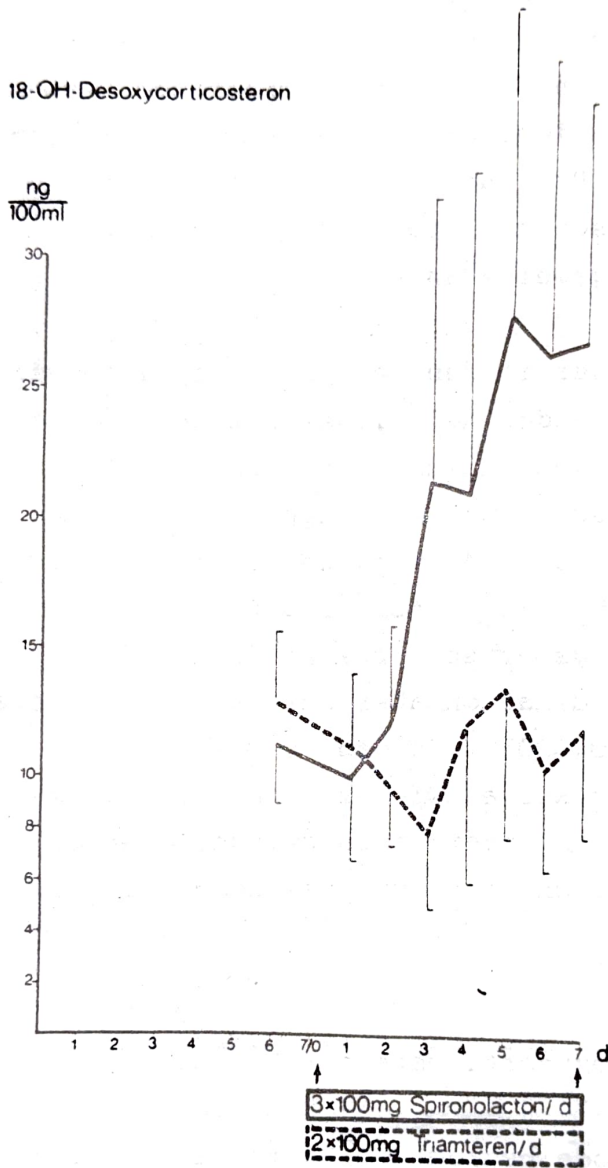


Abb. 10: Serumkonzentrationen von 18-OH-Desoxycorticosteron ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

ein Anstieg auf 164 Prozent ( $p < 0.025$ ) gemessen; bis zum 5. Tag stieg die Konzentration auf  $27,7 \pm 11,7$  ng/100 ml an, was 256 Prozent entsprach. Danach änderte sich der 18-OH-DOC-Serumspiegel nicht mehr.

Die Einnahme von TR führte im Mittel zu einem statistisch nicht signifikanten Abfall der 18-OH-DOC-Konzentration auf  $10,9 \pm 0,7$  ng/100 ml; dabei wurde der niedrigste Wert am 3. Tag mit  $7,8 \pm 3,0$  ng/100 ml gefunden.

Zum Vergleich der einzelnen Funktionswerte aus beiden Gruppen miteinander wurden wieder Relativwerte verwandt, da die beiden Mittelwerte der Vorperiode, wenn auch nicht signifikant, voneinander unterschieden waren. Es zeigte sich, daß nach dem parallel verlaufenden Abfall der beiden Kurven am 1. Tag ihr Abstand durch den Anstieg der SL-bedingten Kurve von Tag zu Tag größer wurde, bis am 5. Tag ein statistisch gesicherter Unterschied entstand ( $p < 0,05$ ); an diesem Tag betrug die 18-OH-DOC-Konzentration in der SL-Gruppe 256 Prozent der Ausgangskonzentration, in der TR-Gruppe 110 Prozent (Tab. 12, Abb. 10).

#### h) Aldosteron

Die Basalwerte in beiden Kollektiven waren in gleicher Größenordnung: in der SL-Gruppe  $23,0 \pm 3,4$  ng/100 ml, in der TR-Gruppe  $21,3 \pm 2,1$  ng/100 ml. Innerhalb von 24 Stunden nach der ersten Einnahme von SL fiel Aldosteron im Serum leicht ab auf  $16,1 \pm 2,1$  ng/100 ml, um anschließend bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes kontinuierlich anzusteigen. Zwischen dem 3. und dem 4. Tag kam es zu einer Ver-

ALDOSTERON

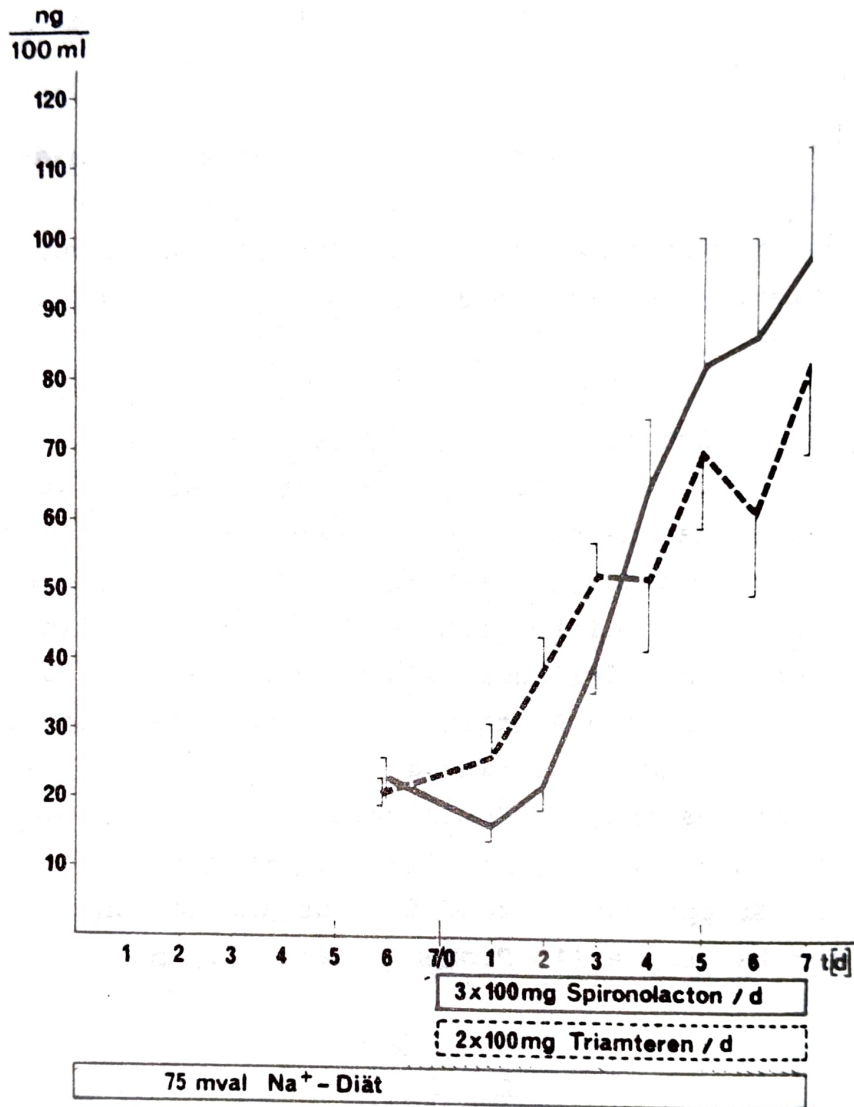


Abb. 11: Serumkonzentrationen von Aldosteron ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

dopplung der Konzentration von  $33,9 \pm 4,5$  ng/100 ml auf  $65,4 \pm 9,0$  ng/100 ml. Nach 7 Tagen war sie auf  $98,2 \pm 14,9$  ng/100 ml ( $p < 0,0005$ ) angestiegen. Mit 163 Prozent der Ausgangskonzentration war jedoch erstmals am 3. Tag eine Signifikanz gegenüber der Vorperiode zu sichern ( $p < 0,01$ ).

Die Behandlung mit TR hatte dagegen von Anfang an einen Aldosteronanstieg zur Folge. So waren bereits nach 24 Stunden die Aldosteronkonzentration auf  $26,2 \pm 5,1$  ng/100 ml angestiegen ( $p < 0,1$ ) und erreichten am Ende der Behandlung  $82,5 \pm 13,2$  ng/100 ml ( $p < 0,0005$ ) einem Anstieg auf 423 Prozent entsprechend.

Zum Vergleich der Daten beider Gruppen in der Funktionsperiode wurden die Relativwerte benutzt; so war der Fehler, der durch die etwas verschiedenen Basiswerte ( $23,0$  ng/100 ml und  $21,3$  ng/100 ml) bestand, eliminiert. Bedingt durch den Abfall der Aldosteronkonzentrationen unter SL-Behandlung auf 76 Prozent, während diese unter TR auf 128 Prozent anstiegen, ergab sich am 1. Tag ein statistisch signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen beiden Gruppen, der bis zum 3. Tag nach Behandlungsbeginn nachweisbar blieb ( $p < 0,025$ ). Infolge des nach dem 3. Behandlungstag einsetzenden steilen Anstiegs der Aldosteronkonzentration in der SL-Gruppe lagen die jeweiligen Werte beider Gruppen aber dann in gleicher Größenordnung (Tab. 12, Abb. 11).

### 9. Testosteron im Serum

In der SL-Gruppe lag der Basalwert bei  $704,6 \pm 55,5$  ng/100 ml, in der TR-Gruppe bei  $593,8 \pm 33,6$  ng/100 ml. Spironolacton führte zu einem Abfall der Serumkonzentration bis auf  $508,4 \pm 45,9$  ng/100 ml am 6. Tag; dieser Wert, wie der Wert vom Vortag,  $525,2 \pm 85,7$  ng/100 ml war statistisch nahezu signifikant ( $p < 0,1$ ). Die Behand-

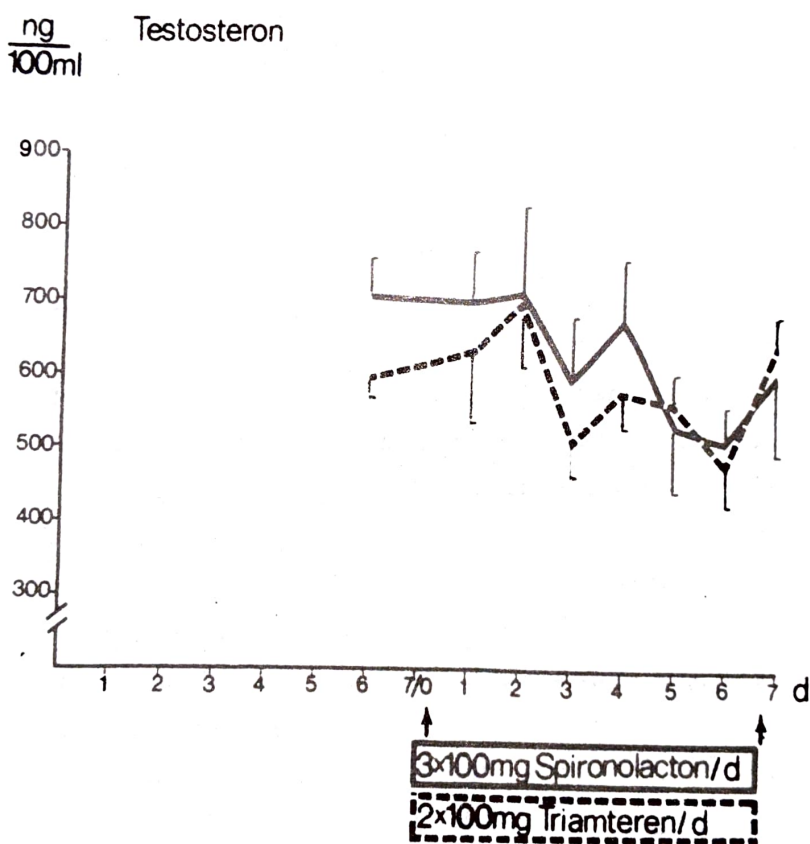


Abb. 12: Testosteronkonzentrationen im Serum ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

lung mit TR beeinflusste die Testosteron-Konzentration im Serum kaum.

Wegen der unterschiedlich hohen Basalwerte ( $p < 0,1$ ) wurden die Daten beider Gruppen anhand der Relativwerte miteinander verglichen; dabei zeigte sich, daß lediglich am letzten Tag ein wesentlicher Unterschied bestand ( $p < 0,01$ ): Unter SL war Testosteron im Serum um 11 Prozent abgefallen, unter TR um 9 Prozent angestiegen (Tab. 13; Abb. 12).

#### 10. Aldosteron-18-Glucuronid-Exkretionsrate im Urin

Aldosteron-Exkretionsraten wurden in der Vorperiode aus dem Sammelurin des 1. Tages und dem gepoolten Urin der beiden letzten Tage, in der Testperiode aus den Einzelportionen der ersten 3 Tage und den vereinigten Urinportionen des 4. und 5. Tages und des 6. und 7. Tages bestimmt. In der SL-Gruppe stieg die AER in der Vorperiode von  $11,7 \pm 2,5$   $\mu\text{g}/\text{die}$  auf  $18,3 \pm 3,2$   $\mu\text{g}/\text{die}$  an; der Anstieg war statistisch nahezu signifikant ( $p < 0,1$ ). Im Kontrollkollektiv wurden Werte von  $7,9 \pm 1,7$   $\mu\text{g}/\text{die}$  bzw.  $23,6 \pm 4,3$   $\mu\text{g}/\text{die}$  gefunden; dieser Unterschied war statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0005$ ).

Unter SL ging die AER in den ersten 24 Stunden auf  $17,4 \pm 4,7$   $\mu\text{g}/\text{die}$  zurück, um anschließend bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes kontinuierlich bis auf  $97,9 \pm 16,1$   $\mu\text{g}/\text{die}$  ( $p < 0,0025$ ) anzusteigen. Vom 3. Tag an war die AER signifikant höher als am Ende der Vorperiode.

TR steigerte die AER vom 1. Tag an, nach 48 Stunden



war sie mit  $38,8 \pm 5,6 \mu\text{g}/\text{die}$  signifikant höher als der Basalwert ( $p < 0,05$ ), im Poolurin des 4. und 5. Tages

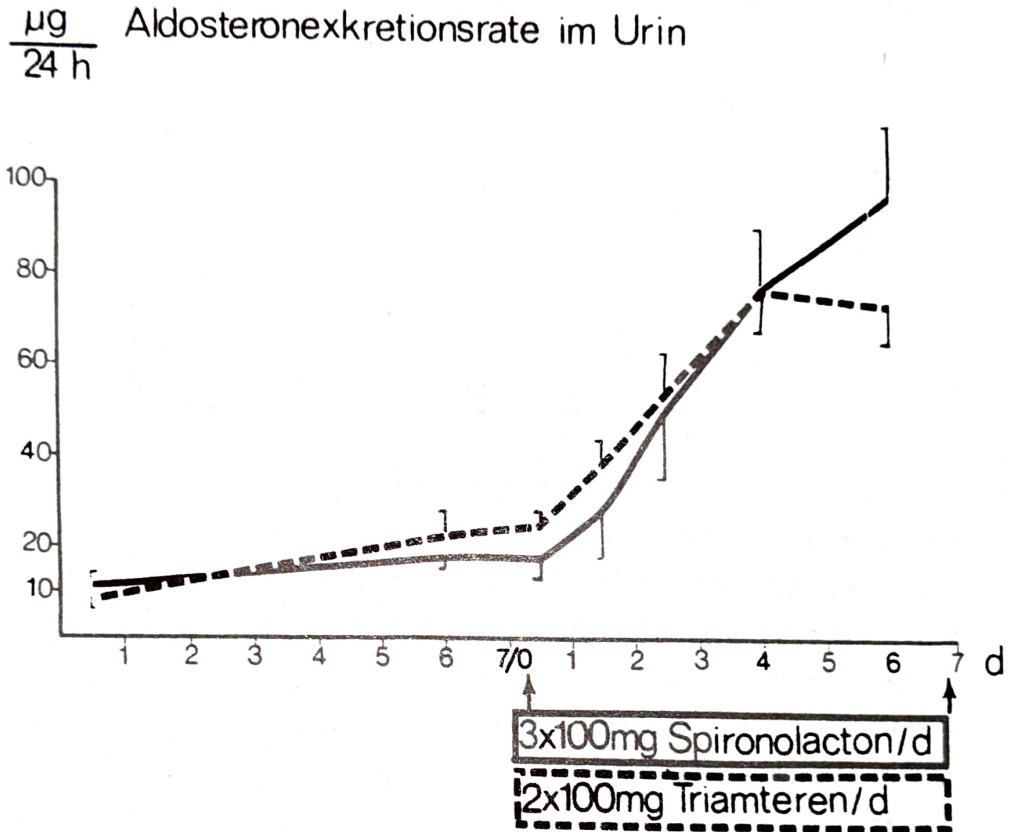


Abb. 13: Aldosteron-Exkretionsraten im Urin ( $\bar{x} \pm \text{sem}$ ); die durchgezogene Linie entspricht der SL-Gruppe ( $n = 5$ ), die unterbrochene Linie der TR-Gruppe ( $n = 5$ )

erreichte sie mit  $77,0 \pm 8,9 \mu\text{g}/\text{die}$  ihr Maximum ( $p < 0,05$ ), im letzten Poolurin waren noch  $73,4 \pm 6,9 \mu\text{g}/\text{die}$  zu finden.

Trotz des verzögerten Anstiegs der AER in der SL-Gruppe, verglichen mit der TR-Gruppe, waren signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen zu keinem Zeitpunkt feststellbar (Tab. 14, Abb. 13).

#### 11. Aldosteron-Sekretionsrate im Urin

Die ASR wurde jeweils an den beiden letzten Tagen der Vorperiode und der Testperiode bestimmt. Am Ende der Vorperiode wurden in der SL-Gruppe  $188,0 \pm 25,4$   $\mu\text{g}/\text{die}$ , in der TR-Gruppe  $198,2 \pm 29,3$   $\mu\text{g}/\text{die}$  sezerniert. Am Ende der Funktionsperiode war die ASR unter SL auf  $867,1 \pm 161,8$   $\mu\text{g}/\text{die}$ , unter TR auf  $748,3 \pm 40,9$   $\mu\text{g}/\text{die}$  angestiegen. In beiden Gruppen unterschieden sich Basal- und Funktionswerte signifikant voneinander (bei SL  $p < 0,0025$ , bei TR  $p < 0,0005$ ), ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen am Ende der Funktionsperiode war wie in der Vorperiode nicht vorhanden (Tab. 14; Abb. 14).

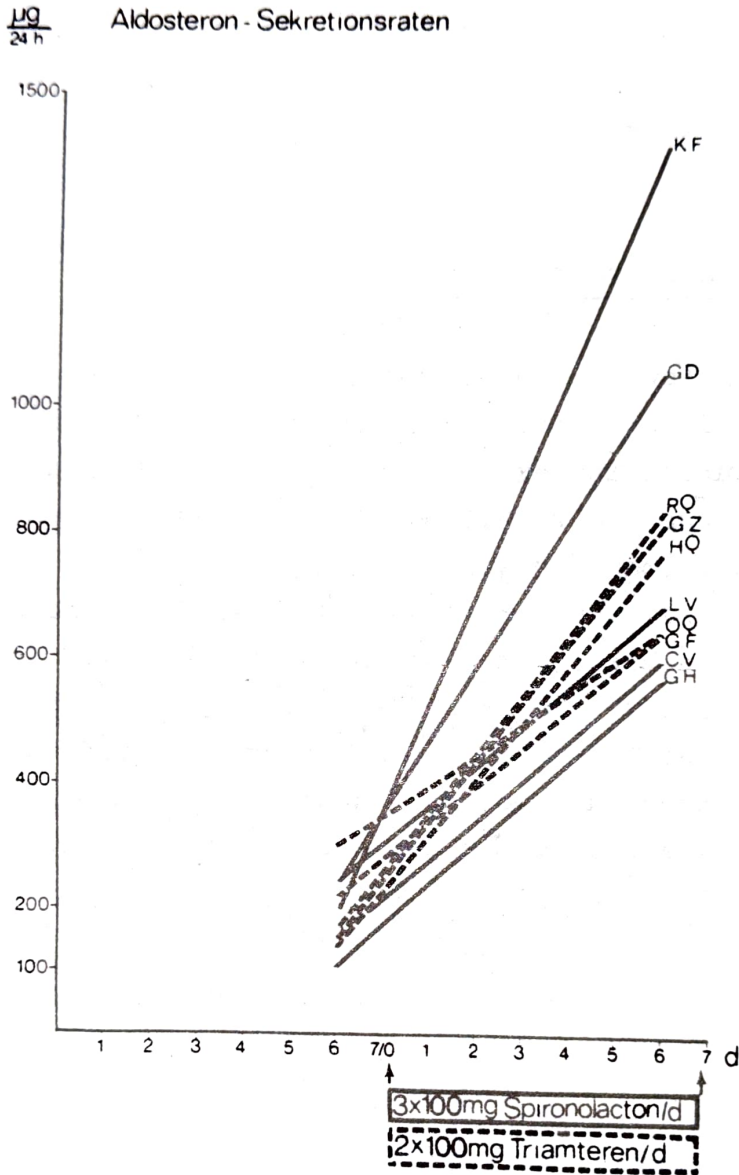


Abb. 14: Aldosteronsekretionsraten aller Versuchspersonen; die durchgezogenen Linien repräsentieren die Probanden, die 3 mal 100 mg/die SL, die unterbrochenen Linien die, die 2 mal 100 mg/die TR einnahmen

## DISKUSSION

### 1. Methodenkritik: Spezifität der Hormonbestimmungen

Von Tan et al. (140) und Mulrow et al. (99) wurde festgestellt, daß der Zusatz von SL bzw. seinen Metaboliten die DOC-Konzentrationen - im Proteinbindungssassay ohne vorherige Chromatographie gemessen - infolge von Kreuzreaktionen bis um das 10fache höher erscheinen läßt; ähnliches wurde auch für Aldosteron (115) und Progesteron (153) berichtet.

In der vorliegenden Arbeit waren bei den radioimmunologischen Bestimmungen die Flüssigkeits-Flüssigkeits-Auftrennung und die Papierchromatographie als wesentliche Schritte vorgeschaltet. Sie ermöglichten eine Abtrennung der Steroidhormone von SL bzw. seinen Metaboliten. Canrenoat-K sowie alle anderen ringoffenen Metabolite verblieben auf Grund ihrer Hydrophilie im Serum, lediglich Canrenon, das im Plasma in Konzentrationen von 57 ng/ml bis 202 ng/ml zum Zeitpunkt der Blutentnahme vorhanden war, gelangte bei der Vorfraktionierung nahezu zur Hälfte in Fraktion 2, wo es vor allem mit dem DOC- und Testosteron-RIA, weniger mit dem 17-OH-P-RIA interferierte (3).

Unter Berücksichtigung des Ausmaßes der Kreuzreaktionen auf dem 50 %-Bindungsniveau war aber selbst bei einem angenommenen Canrenonspiegel von 200 ng/ml nur mit einem um 0,56 ng/100 ml zu hoch gemessenen DOC-Spiegel zu rechnen; die Bestimmung von Testosteron wurde durch SL bzw. seine Metaboliten überhaupt nicht gestört.

## 2. Vorperiode

### 2.1. Induktion eines Hyperaldosteronismus durch Natriumrestriktion

Die Synthese von Aldosteron kann durch eine Reihe von Faktoren gesteigert werden (17, 75, 86, 151).

Hierzu gehört die Natriumrestriktion, die in der vorliegenden Studie in milder Form angewandt wurde. Natriummangel führt zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems, das seinerseits die Aldosteronsynthese stimuliert (86, 91, 151). Wie aus dem Verhalten des Plasmaaldosteronspiegels, der AER und der ASR am Ende der Vorperiode ersichtlich ist, wurde mit der Diät das Ziel erreicht, einen sekundären Hyperaldosteronismus zu induzieren.

Die Steigerung der Aldosteronsynthese ließ sich auch am Verhalten der Elektrolyte erkennen; am Ende der Vorperiode war die eingangs negative Natriumbilanz wieder ausgeglichen, d. h. es wurde mehr Natrium retiniert (Tab. 8). So hatte sich bereits nach 3 Tagen ein neues Gleichgewicht in der Natriumhomöostase eingestellt, welches in der SL-Gruppe etwas deutlicher als in der TR-Gruppe zum Ausdruck kam. Die Kaliumbilanz - soweit sie überhaupt alleine aus der Urinausscheidung kalkulierbar ist - blieb dagegen während der ganzen Vorperiode leicht negativ und wurde offenbar durch die Diät nicht beeinflusst.

Ein noch gelegentlich benutzter Index für den

Hyperaldosteronismus ist der Na/K-Quotient im Urin (119); dieser wurde schon zu Beginn der diätetischen Behandlung, als die AER noch im Normalbereich war, kleiner als 2 gefunden und wies damit auf einen Hyperaldosteronismus hin; er sollte daher heute durch die direkte Messung der AER bzw. des Serumaldosteronspiegels ersetzt werden.

## 2.2. Beeinflussung der anderen Hormone durch Natriumrestriktion

Da die Konzentration der NNR-Hormone und des Testosterons erst in den letzten vier Tagen der Vorperiode bestimmt wurden, zog man zum Vergleich die mit der gleichen Methode an einem ambulanten Normalkollektiv erhaltenen Werte heran (117). Es zeigte sich, daß die die Cortisolsynthesekette bildenden Steroidhormone Progesteron,  $17\alpha$ -OH-Progesteron,  $11\beta$ -Desoxycortisol und Cortisol und Testosteron durch die Diät nicht beeinflußt wurden, dagegen waren die Konzentrationen der Aldosteronpräkursoren  $11\beta$ -Desoxycorticosteron und Corticosteron im oberen, die  $18$ -OH-Desoxycorticosteronkonzentrationen im unteren Normbereich. Inwieweit diese tendenziellen Veränderungen diätbedingt sind, soll unter 3.7. diskutiert werden.

## 3. Funktionsperiode

### 3.1. Zur Geschwindigkeit des Wirkungseintrittes von SL und TR

In einer Reihe von Arbeiten wird ein sehr rascher Wirkungseintritt von SL bzw. seiner Metaboliten Canrenon und Canrenoat-Kalium beschrieben (35, 57, 71, 94, 108); in anderen (18) wird dagegen von einer fehlenden oder stark abgeschwächten Wirkung in den ersten 8 Stunden berichtet. Bei der hier vorliegenden Untersuchung trat ein ausgeprägter saluretischer Effekt gleichen Ausmaßes unmittelbar nach Gabe von SL bzw. TR ein, der in den ersten Tagen am größten war.

Möglicherweise beruhen diese Diskrepanzen auf den unterschiedlichen Ausgangsbedingungen (58): Casals-Stenzel et al. (18) testeten Versuchspersonen, die keinen Hinweis für einen Hyperaldosteronismus boten und der Versuch dauerte nur 8 Stunden; unter einer zusätzlichen Infusion von Aldosteron dagegen trat die natriuretische Wirkung von SL bzw. Canrenoat-K auch in dieser Studie prompt ein. Bei den eigenen Untersuchungen bestand jedoch bereits vor Beginn der diuretischen Therapie ein Hyperaldosteronismus, der eine gesteigerte Natriumrückresorption zur Folge hatte.

Offenbar macht sich die Blockade des Aldosteronrezeptors an der distal tubulären Zelle durch das im Überschuß vorhandene SL bzw. Canrenon bei zuvor gesteigerter Reabsorption früher und ausgeprägter bemerkbar als unter Normalbedingungen. Der Wirkungseintritt von SL ebenso wie von Canrenoat-Kalium, der injizierbaren Form, scheint somit wesentlich von der Ausgangslage des Systems abzuhängen.

### 3.2. Zum Verhalten der Urinelektrolyte

Wie schon oben angeführt, trat sowohl unter SL als auch unter TR die saluretische Wirkung prompt ein; dabei bestand in den ersten 72 Stunden kein Unterschied zwischen beiden Gruppen, d. h., die gewählten Dosierungen waren in diesem Zeitraum einander äquivalent.

Danach ging die Natriumausscheidung in beiden Kollektiven zurück, wobei dieses Escape-Phänomen (55) unter TR wesentlich deutlicher ausgeprägt war als unter SL. Dies ist aber weder auf ungleichwertige Dosierung beider Diuretika zurückzuführen, wie die ersten 3 Tage beweisen, noch auf höhere Aldosteronkonzentrationen in der TR-Gruppe - vielmehr war der Aldosteronspiegel in der SL-Gruppe zu diesem Zeitpunkt, wenn auch nicht signifikant, höher.

Der Unterschied beruht deshalb möglicherweise auf den unterschiedlichen Wirkungsmechanismen von SL und TR: Triamteren hemmt die Na-Reabsorption an der luminalen Seite der Tubulusepithelzelle, während das an der basalen Membran die ATP-ase aktivierende Aldosteron ab einer gewissen Höhe durch Aufbau eines Konzentrationsgradienten für Natrium die TR-bedingte Blockade zu antagonisieren vermag. Dagegen kann SL bzw. seine wirksamen Metabolite den Aldosteronrezeptor an der basalen Zellseite durch Konkurrenz offenbar so weitgehend blockieren, daß auch höhere Aldosteronkonzentrationen, wie sie bei den Probanden bestanden, nicht ausreichen, diesen SL-Effekt aufzuheben.



### 3.3. Diskrepanzen zwischen Natrium- und Flüssigkeitsverlust

Die Urinvolumina und der aufgetretene Gewichtsverlust der Probanden entsprachen nicht dem in der jeweiligen Gruppe beobachteten Natriumverlust: Die Urinverluste waren trotz geringerer Natriumexkretion in der TR-Gruppe größer als in der SL-Gruppe (Tab. 7, 8). Da in der TR-Gruppe außerdem die Gewichtsabnahme pro Zeiteinheit geringer war, muß angenommen werden, daß die Trinkmenge, die nicht protokolliert worden war, in dieser Gruppe höher war als im Testkollektiv.

### 3.4. Veränderungen der Serumelektrolyte

Der Verlauf der Serum-Na-Spiegel entsprach dem Verhalten der Urinelektrolyte. So war der leichte Abfall des Serum-Na unter SL deutlicher ausgeprägt als unter TR. Der in beiden Kollektiven auftretende Anstieg des Kaliums im Serum lag dagegen in der gleichen Größenordnung (Abb. 5).

In der vorliegenden Untersuchung war der im Serum auftretende Kaliumanstieg durch eine renal bedingte Kaliumretention allein nicht zu erklären, denn mit Ausnahme der ersten beiden Tage der Funktionsperiode war die Kaliumbilanz stets negativ (Tab. 8 a).

Angaben über Kaliumbilanzen sind aber nur mit Einschränkung zu verwerten: denn erstens ist der Kaliumgehalt einer Diät nur schwer zu standardisieren - die Probanden erhielten ca. 75 mval Kalium

pro Tag. Zweitens geht ein beträchtlicher Teil des Kaliums mit den Faezes verloren. Möglicherweise hemmen Spironolacton bzw. seine Mataboliten die Aldosteron abhängige Kaliumexkretion des distalen Anteils des Dickdarms (36), so daß es auf diesem Weg zum Anstieg der Serumkaliumkonzentration kommen kann.

### 3.5. Über das Verhalten von PRA und AT II unter SL und TR

Flüssigkeitsentzug (25, 91) und Natriumverarmung bedingt durch verringerte Zufuhr (25, 41, 151) bzw. durch forcierte Exkretion (37, 42, 100) steigern die Plasmareninaktivität; die Konzentration von AT II, einem unter Einwirkung von Renin entstandenen Oktapeptid, steigt parallel dazu gleichfalls an und stimuliert in der NNR die Synthese von Aldosteron (8, 12, 17, 95, 105, 151).

In der vorliegenden Arbeit waren schon in der Vorperiode, in der die Natriumzufuhr eingeschränkt war, die PRA und die Angiotensin II-Konzentration auf Werte an der oberen Normgrenze liegend angestiegen, die SL- und TR-bedingte Salurese führte zu einer weiteren Zunahme. In der TR-Gruppe stiegen mit der Plasmareninaktivität und der AT II-Konzentration gleichzeitig auch der Aldosteronspiegel an - die durch die AT II-Stimulation hervorgerufene Steigerung der Aldosteronsynthese läßt sich bereits nach 30 Minuten nachweisen (42). Aldosteron reduzierte den Natriumverlust und verringerte damit wiederum die Stimulation der PRA- und AT II-Synthese.

In der SL-Gruppe dagegen stieg der Aldosteronspiegel mit einer zeitlichen Verzögerung von 24 Stunden an und auch danach konnte Aldosteron an dem durch SL bzw. seine Metaboliten blockierten Aldosteronrezeptor nicht seine volle Wirkung entfalten. Dadurch persistierten die erhöhten Natriumverluste, so daß die Stimulation für die PRA- und AT II-Bildung bestehen blieb. Dies war vermutlich die Ursache dafür, daß nach 7 Tagen die Plasmareninaktivität und Angiotensin II-Konzentration in der SL-Gruppe wesentlich stärker als in der TR-Gruppe angestiegen waren (Tab. 10).

### 3.6. Zum Verhalten von Aldosteron

Die Aldosteronsekretionsrate ist ein Maß für die Ausschüttung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde. Die Serumaldosteronkonzentration resultiert aus der Nebennierenrindensekretionsleistung und der Metabolisierungsrate. Die Verstoffwechslung erfolgt zu 85 - 90 Prozent (80) in der Leber (86). Etwa 10 Prozent des Aldosterons (86) werden in der Niere (22, 82, 93) in das Aldosteron-18-Glukuronid umgewandelt, dessen Ausscheidung zum größten Teil renal erfolgt (86).

Es existieren widersprüchliche Angaben darüber, ob die Metabolisierungsrate von Aldosteron durch Natriumentzug bzw. AT II-Infusion verändert wird; einige Untersucher (75) halten im Natriumdefizit eine verminderte, Read et al. (110) und Vetter et al. (148) eine erhöhte Metabolisierungsrate für wahrscheinlich; Oelkers et al. (103, 105) und Ford et al. (41) konnten keine Verschiebung feststellen.

TR führte vom ersten Tag an zu einem kontinuierlichen, parallelen Anstieg der Aldosteronkonzentration im Blut und im Urin, so daß eine Änderung der Metabolisierungsrate unwahrscheinlich schien. Das Renin-Angiotensin-System konnte für den initialen Aldosteronanstieg jedoch nicht verantwortlich gemacht werden, da Aldosteron im Serum vor der Plasmareninaktivität anstieg. Auch dürfte der weitere Anstieg des Aldosteronspiegels (vor allem vom 4. Tag ab) nicht auf die Wirkung von Angiotensin II allein zurückzuführen sein, da sich in den letzten 4 Tagen die Plasmareninaktivität nicht mehr änderte.

Als zusätzliche stimulierende Faktoren sind daher noch folgende zu diskutieren.

a) Natriumdefizit:

Im Natriumdefizit reagiert die Nebennierenrinde auf gleichhohe AT II-Spiegel mit einer höheren Aldosteronausschüttung als bei einer ausgeglichenen Natriumbilanz (10, 16, 45, 59, 103, 104, 105).

Die Natriumverluste in den ersten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn zusammen mit dem Verlust während der ersten Tage der Vorperiode könnten aber auch die Aldosteronproduktion in der Nebennierenrinde direkt stimulieren (80).

Den terminalen Anstieg der Aldosteronkonzentration würde aber auch das Natriumdefizit nicht hinreichend erklären, da die Natrium-

exkretion nach drei Tagen diuretischer Behandlung nur noch wenig über der oralen Aufnahme lag.

b) Kaliumretention:

Sie führt gleichfalls zu einer erhöhten Aldosteronsynthese (8, 11, 17, 43, 75). Zwar findet sich zu Beginn der diuretischen Behandlung mit TR keine Veränderung des Serumkaliumspiegels, aber die positive Urinkaliumbilanz weist auf einen Anstieg des Kaliumgehaltes im Körper hin. Der innerhalb von sieben Tagen erzielte Anstieg der Serumkaliumkonzentration liegt mit 0,43 mval/l deutlich über dem von Boyd et al. (11) als untere Grenze für eine Stimulation angegebenen Wert von 0,3 mval/l, somit könnte der Kaliumanstieg an der Zunahme der Aldosteronproduktion wesentlich mitbeteiligt sein.

Möglicherweise ist aber auch nur die Höhe der intrazellulären Kaliumkonzentration (43) für die Aktivierung der Aldosteronsekretion ausschlaggebend, wie in vitro-Versuche von Boyd et al. (11) anzeigen. Daher könnte eine Stimulation auch bei noch normal erscheinenden Serumkaliumspiegeln, wie dies in den ersten Stunden der diuretischen Behandlung der Fall war, auftreten (75, 105).

Natriummangel und Kaliumretention, wie sie unter TR auftraten, addieren sich in ihrer Wirkung auf die Zona glomerulosa der Nebennierenrinde (8, 16, 43).

c) ACTH:

Von diesem Hormon ist gleichfalls bekannt, daß es die Aldosteronsekretion steigert (17, 75, 86, 91, 105, 151). ACTH steigert aber, sofern kein primärer Hyperaldosteronismus vorliegt, zuerst die Cortisol synthese und erst in wesentlich höheren Dosen auch die Aldosteronproduktion; da die Cortisolkonzentration unter TR nicht verändert war, scheidet ACTH als Ursache für den Anstieg der Aldosteronkonzentration aus.

d) Metabolisierungshemmung:

Ein Anstieg des Serumaldosteronspiegels tritt auch auf, wenn die Metabolisierungsrate von Aldosteron verringert ist. In der vorliegenden Untersuchung wurden sowohl die Serumaldosteronkonzentration als auch die AER bestimmt; da beide gleichzeitig und parallel anstiegen, kann davon ausgegangen werden, daß Natriumentzug bzw. Ansteigen der Angiotensin II-Konzentration die Clearancerate von Aldosteron nicht ändern. Am Ende des Testzeitraumes wurde die ASR selbst bestimmt, wodurch ersichtlich war, daß nach einer Woche die Aldosteronsekretion aus der Nebennierenrinde hochsignifikant gesteigert war (s. Tab. 14; 43, 74, 80).

Trotz vergleichbarer Stimulation infolge der Elektrolytveränderungen wie unter TR führte die Behandlung mit Spironolacton zu einer Suppression der Aldosteronkonzentration im Serum

und zu einer Verringerung der Aldosteron-  
exkretionsrate in den ersten 24 Stunden.

Obwohl die Serumkaliumkonzentration um  
0.53 mval/l innerhalb der ersten 72 Stun-  
den angestiegen war, und die renalen Na-  
triumverluste sowie die Steigerung der PRA  
sich nicht von denen der TR-Gruppe unter-  
schieden, blieb die Serumaldosteronkonzent-  
ration und die AER einschließlich des drit-  
ten Tages nach Beginn der SL-Behandlung un-  
ter dem Niveau der Kontrollgruppe.

Eine Abbauehemmung von Aldosteron durch SL ist  
unwahrscheinlich, da SL, wenn überhaupt, durch  
Enzyminduktion eher zu einer Zunahme der Aldo-  
steronclearance führen würde; dagegen sprechen  
auch die parallelen Veränderungen von Aldoste-  
ron im Serum und der AER.

Der Abfall der Aldosteronkonzentration ist in  
Übereinstimmung mit Befunden anderer Untersu-  
cher (30, 31, 32, 33, 35, 36, 101, 138, 147,  
148) daher besser mit der Hemmung der Aldoste-  
ronsynthese durch Spironolacton zu erklären;  
auch Mroczek et al. (94) konnten einen signi-  
fikanten Anstieg der Aldosteronkonzentration  
erst vom dritten Tag nach Behandlungsbeginn an  
angeben.

Die Blockierung der Aldosteronproduktion kann  
auch für die folgenden Tage angenommen werden,  
an denen die Aldosteronkonzentrationen in der  
gleichen Größenordnung wie im Vergleichskollek-  
tiv lagen: Denn trotz wesentlich stärkerer

Stimuli auf die Aldosteronsynthese - fast 3fach höhere PRA und AT II-Konzentrationen sowie stärkeres Natriumdefizit - verglichen mit der TR-Gruppe, konnte unter SL die Aldosteronsynthese, gemessen an den Serumkonzentrationen, nicht entsprechend gesteigert werden.

So unterscheiden sich weder die Serumaldosteronkonzentrationen noch die AER noch die in beiden Gruppen erhöhte ASR nach sieben Tagen diuretischer Behandlung signifikant voneinander.

Mitteilungen, in denen von einer Stimulation der Aldosteronsynthese unter SL berichtet wird (69, 70, 94, 124, 144), müssen nicht gegen die Theorie einer Hemmung der Aldosteronproduktion sprechen, denn dort wurden die Aldosteronkonzentrationen teilweise erst nach einem längeren Behandlungszeitraum bestimmt. Um die Synthesehemmung direkt zu erkennen, ist aber die Bestimmung der Aldosteronkonzentrationen in den ersten Tagen der Behandlung erforderlich, da die gegenregulatorischen Mechanismen das Bild innerhalb kurzer Zeit verwischen.

Als indirekten Hinweis kann man den Befund ansehen (144), daß die PRA prozentual - wie auch in der vorliegenden Arbeit - stärker angestiegen war als die Aldosteronkonzentrationen. Während der Quotient aus prozentualem Anstieg der PRA zu prozentualem Anstieg der Aldosteronkonzentrationen 0,35 unter TR betrug, lag er unter SL bei 1,12 (Tab. 10, 12).



### 3.7. Zum Verhalten der Aldosteronpräkursoren

Triamteren führte ausschließlich zu einer Zunahme der Aldosteronkonzentration. Die Aldosteronpräkursoren Progesteron,  $11\beta$ -Desoxycorticosteron und 18-OH-Desoxycorticosteron blieben in ihren Konzentrationen unverändert; die Corticosteronkonzentration wurde in den ersten 4 Tagen sogar erniedrigt gefunden, der Abfall war aber wegen der großen interindividuellen Streuungen zu keinem Zeitpunkt signifikant (Abb. 15).

Als möglicherweise wichtigster Stimulator der Aldosteronsynthese gilt Kalium: Mögliche Angriffspunkte sind die Umwandlung von Cholesterin zu Pregnenolon (75, 95), von Desoxycorticosteron zu Corticosteron (17, 43) und von Corticosteron zu Aldosteron (75, 105). Natriummangel scheint die Konversionsrate von Corticosteron zu Aldosteron zu steigern (17, 24, 96) und die Aktivität der 18-Hydroxylase und der 18-Dehydrogenase (98) zu erhöhen. Für AT II werden als Angriffspunkte diskutiert vor der Progesteronbildung gelegene Syntheseschritte (17, 75, 91), die Bildung von DOC (12, 64, 109) und die Bildung von Aldosteron aus Corticosteron (5, 42, 52; Abb. 1). Oelkers et al. (105) fanden bei natriumbelasteten Probanden, denen über 12 Stunden Angiotensin II infundiert worden war, außer einem kurzfristigen Anstieg des 18-OH-DOC-Spiegels nur die Aldosteronkonzentration erhöht, alle anderen Hormone - auch der Cortisol synthese kette - waren unverändert. Sie nahmen daher einen späten Angriffspunkt des Angiotensins in der Aldosteronsynthesekette an.

Da zu Beginn der Behandlung mit Triamteren Angiotensin II als Stimulans ausscheidet, scheinen zu dieser Zeit nur Kaliumretention und Natriummangel die Aktivität der Nebennierenrinde zu beeinflussen.

Die Tatsache, daß lediglich Aldosteron, nicht aber

### Triamteren

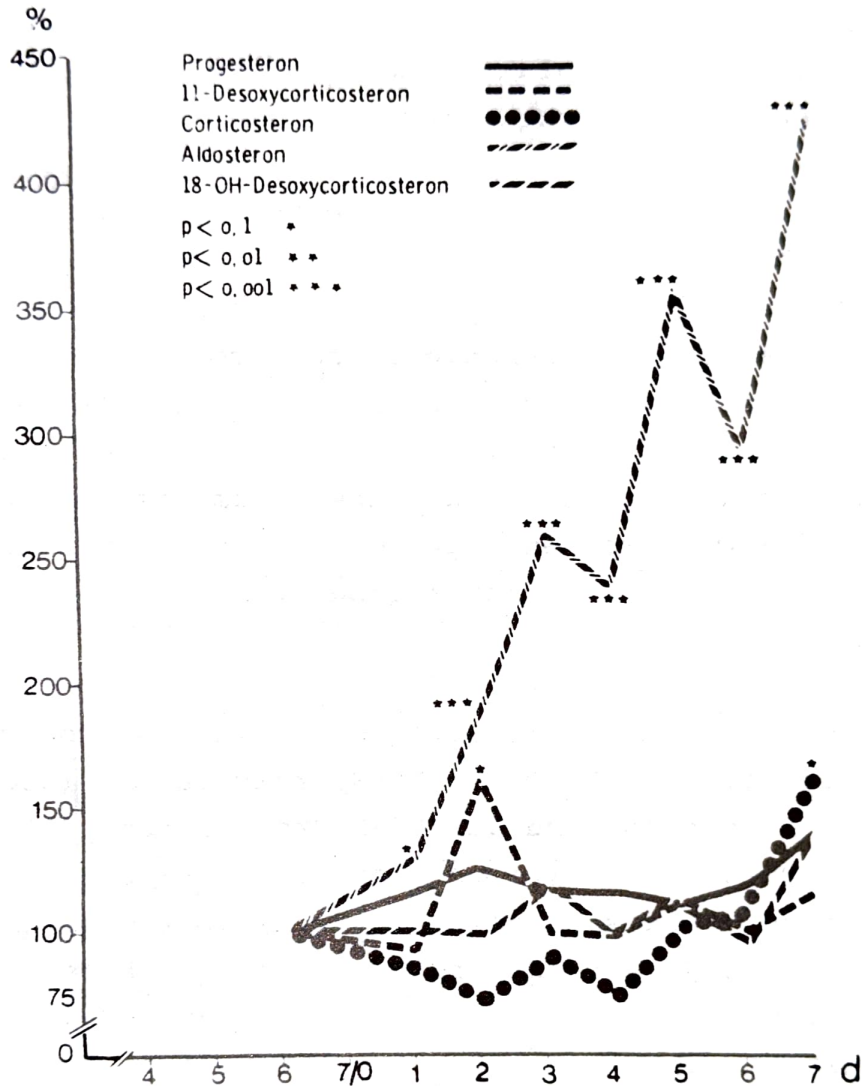


Abb. 15: Veränderungen der Serumspiegel von Aldosteron und seinen Präkursoren unter der Behandlung mit 2 mal 100 mg/die TR (n = 5). Der Mittelwert der Vorperiode - jeweils gleich 100 Prozent gesetzt - ist Bezugspunkt für die Werte in der Behandlungsperiode. Die in der Abbildung angegebenen Signifikanzschranken beziehen sich auf den Vergleich zwischen den Testwerten und dem Basiswert.

seine Präkursoren im Serum vermehrt gefunden werden, wäre mit der Annahme einer Stimulation der letzten Syntheseschritte (Corticosteron zu Aldosteron) vereinbar (Abb. 15). Diese Annahme ist jedoch spekulativ und aufgrund der vorliegenden Daten nicht zwingend.

Die Behandlung mit SL führte neben der bereits beschriebenen Suppression der Aldosteronsynthese während der ersten 3 Tage zu einem deutlichen Anstieg der  $11\beta$ -Desoxycorticosteronkonzentrationen um 105 % innerhalb der ersten 24 Stunden. Dagegen war es am ersten Tag wie bei Aldosteron zu einem leichten Abfall des Serumspiegels von 18-OH-DOC gekommen; die Corticosteronkonzentration war zum gleichen Zeitpunkt im wesentlichen unverändert.

Dies kann mit einer Blockade der Aldosteronsynthese auf der Höhe der 11-Hydroxylierung (DOC zu Corticosteron) und der 18-Hydroxylierung (DOC zu 18-OH-DOC und Corticosteron zu 18-OH-Corticosteron), wie sie Erbler (31, 32) postuliert hatte, erklärt werden. Offenbar wird in Übereinstimmung mit Cheng et al. (21) die 18-Hydroxylase stärker gehemmt als die 11-Hydroxylase, da die Corticosteronkonzentration nach dem 2. Tag der Behandlung mit SL gleichfalls anstieg (Tab. 12, Abb. 16). Erbler (31) gelang auch der Nachweis, daß unter SL neben 18-OH-DOC auch die Konzentration von 18-OH-Corticosteron vermindert war, ein Befund, der deshalb wichtig ist, weil in der Nebennierenrinde offensichtlich zwei verschiedene 18-Hydroxylasen existieren (84, 98).

### Spirolacton

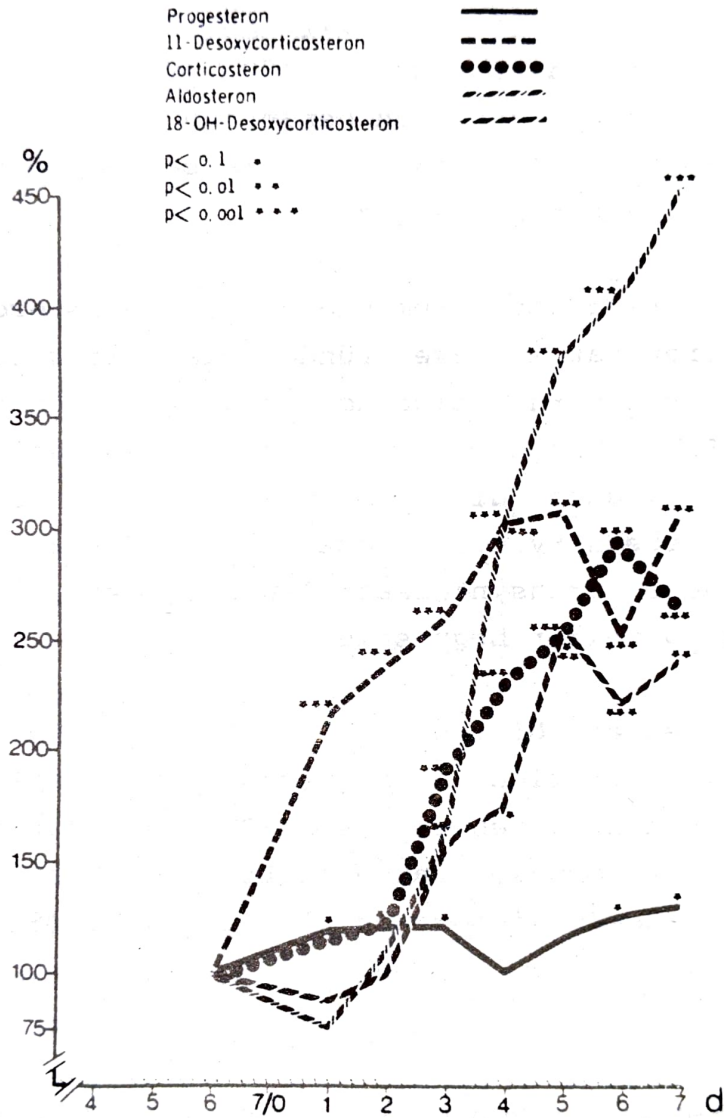


Abb. 16: Veränderungen der Serumspiegel von Aldosteron und seinen Präkursoren unter der Behandlung mit 3 mal 100 mg/die SL (n = 5); weitere Erläuterungen s. Abb. 15

Die Synthesehemmung kommt wahrscheinlich durch direkte Konkurrenz von Spironolacton bzw. seiner Metaboliten mit den zu hydroxylierenden Hormonen zustande (21, 31). Inwieweit eine Destruktion von Cytochrom P-450 (48, 90), von dem die Aktivität der oben genannten Hydroxylasen abhängig ist (21, 48, 86), hierbei bedeutsam ist, bedarf weiterer Klärung.

Der Anstieg der Serumspiegel der Aldosteronpräkursoren hat mehrere Gründe: Die weiter oben beschriebenen Enzymblockaden führen zum Anstieg der Serumspiegel der vor der Blockade gelegenen Hormone; durch die Stimulation seitens des Renin-Angiotensin-Systems nimmt die Durchflußrate durch den Aldosteronsyntheseschlauch zu, was die Stau- bildung weiter begünstigt.

Eine weitere Ursache für den Anstieg der Aldosteronkonzentration ist möglicherweise die Synthese über einen Seitenweg aus 18-OH-Desoxycorticosteron, wenn die normale Synthesekette über Corticosteron und 18-OH-Corticosteron blockiert ist (86, 98, 145).

### 3.8. Zum Verhalten von Cortisol und seinen Präkursoren

Wie aus den in vitro-Versuchen und den Tierversuchen außerdem hervorgeht, vermindert die Verabreichung von Spironolacton bzw. Canrenon auch die Aktivität der Enzyme 17-Hydroxylase und 21-Hydroxylase; beides Enzyme, die wie die 11-Hydroxylase, an der Cortisol synthese beteiligt sind.

Die TR-bedingten Veränderungen waren gering; außer einem leichten Ansteigen der Progesteronkonzentration und einem vorübergehenden Abfall der Desoxycortisolkonzentration waren die Serumspiegel unauffällig. Die unveränderten Cortisolspiegel wiesen aber darauf hin, daß ACTH in die Gegenregulation der Elektrolytveränderungen nicht miteinbezogen war (Abb. 17).

Auch SL beeinflusste die Cortisol synthese weniger als die Aldosteronproduktion. Weder konnte die von Menard et al. (90) beobachtete Hemmung der 17-Hydroxylase bestätigt werden - die Progesteronkonzentration stieg allenfalls tendenziell an - noch eine Blockade der 21-Hydroxylase (48, 137) und der in der Zona fasciculata lokalisierten 11-Hydroxylase (21); allerdings konnten auch Greiner und Mitarb. (49) später die Hemmung der 21-Hydroxylase nicht mehr nachweisen.

Bekanntlich reagieren eine Reihe von Antikörpern mit SL bzw. seinen Metaboliten (115, 140, 141, 153), so daß diese Unterschiede zu anderen in vivo-Untersuchungen methodisch bedingt sein könnten.

Die Cortisolkonzentration stieg in der vorliegenden Studie um etwa 30 Prozent an; es ist fraglich, ob dies eine Folge der Spironolactonbehandlung war, da in einer anderen Untersuchung mit gleicher Methodik die Cortisolkonzentrationen unter SL unverändert blieb (4; Abb. 17).

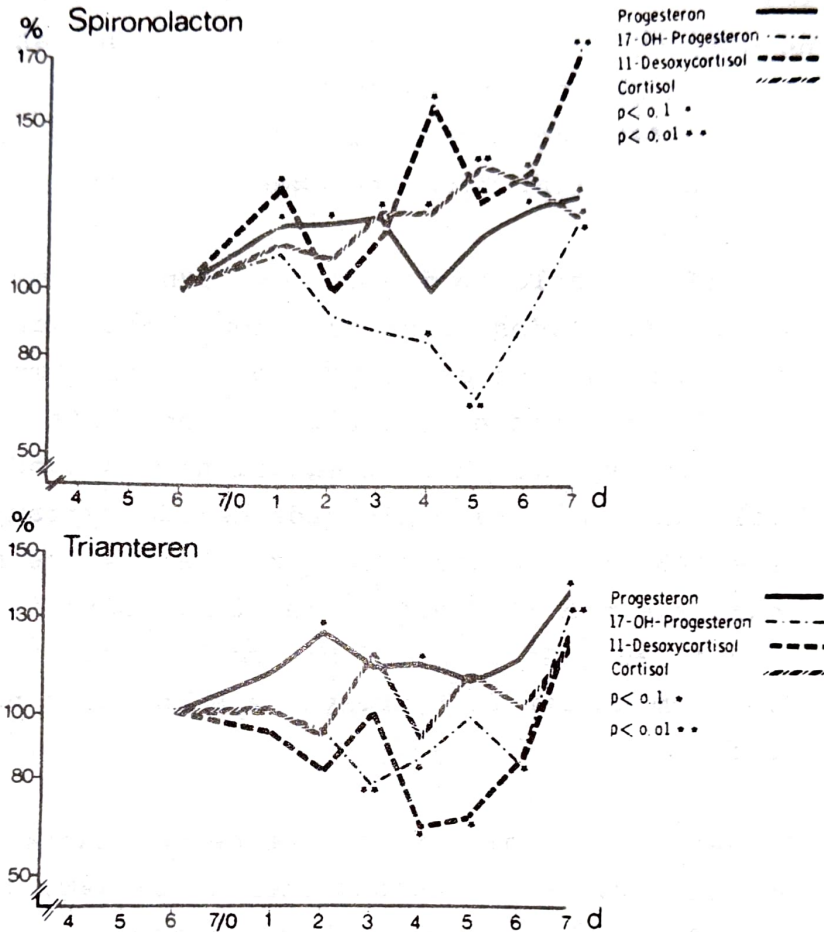


Abb. 17: Veränderungen der Serumspiegel von Cortisol und seinen Präkursoren unter der Behandlung mit 3 mal 100 mg/die SL (oben) bzw. 2 mal 100 mg/die TR (unten; jeweils n = 5); weitere Erläuterungen s. Abb. 15

### 3.9. Zum Verhalten von Testosteron

Auch auf die Testosteronsynthese hatte Triamteren keinen Einfluß; die Behandlung mit Spironolacton führte dagegen wie nach den Ergebnissen anderer Untersucher (28, 34, 89, 101, 106, 150) zu erwarten war, zu einem Abfall der Testosteronkonzentration. In unserer Studie wurde dies jedoch erst nach 72 Stunden deutlich, was vermutlich in den unterschiedlichen zeitlichen Untersuchungsschemata und der unterschiedlichen Dosierung begründet war: Dymling et al. (28) und Erbler (34) konnten nach Gabe von 1 mal 200 mg bzw. 1 mal 300 mg die niedrigste Testosteronkonzentration nach ca. 12 Stunden feststellen mit einem nachfolgenden Wiederanstieg.



## Zusammenfassung

Ziel vorliegender Arbeit war es, angesichts der diesbezüglich widersprüchlichen Berichte aus der Literatur zu klären, ob und in welcher Art SL den Stoffwechsel der NNR-Steroide, insbesondere den des Aldosterons, zu beeinflussen vermag. Um diese Frage zu beantworten, war zum einen die Anwendung sensibler und spezifischer Nachweismethoden der interessierenden Steroide erforderlich. Zum andern wurde eine Versuchsanordnung gewählt, die sowohl dem klinischen Indikationsgebiet des SL angepaßt war als auch erwarten ließ, einen etwaigen Eingriff des SL in die Steroidsynthese besser erkennen zu können. Diese Bedingungen erschienen durch Erzeugung eines diät-induzierten Hyperaldosteronismus bei gesunden Versuchspersonen gegeben. Um den Einfluß der durch SL-Gabe hervorgerufenen Elektrolytveränderungen und des konsekutiv zu erwartenden Aktivitätsanstiegs des Renin-Angiotensin II-Systems von etwaigen direkten Eingriffen des SL in die Steroidsynthese trennen zu können, wurde ein Kontrollkollektiv unter sonst gleichen Bedingungen statt mit SL mit TR behandelt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

- 1) Eine siebentägige milde Natriumrestriktion von 75 mval/die führte zu einem mäßigen Hyperaldosteronismus, der am Ende der Vorperiode für die Einstellung eines neuen Gleichgewichtes in der Natriumbilanz verantwortlich war.
- 2) Die Gabe von 3 mal 100 mg SL bzw. 2 mal 100 mg TR täglich erwies sich hinsichtlich der natriuretischen Wirkung während der ersten drei Behandlungstage als äqui-

potent. Nach dem 3. Behandlungstag zeigte sich ein Escape-Phänomen, das unter TR deutlich stärker als unter SL ausgeprägt war. Dies dürfte auf dem unterschiedlichen Wirkungsmechanismus der beiden Diuretika beruhen.

- 3) Bei gleichem Anstieg des Kaliums im Serum wurde das Serum-Na unter SL stärker gesenkt als unter TR.
- 4) Während unter TR die PRA und die AT II-Konzentration mäßig anstiegen, wurden sie durch SL nach vier Tagen Behandlung wesentlich stärker gesteigert.
- 5) Weder SL noch TR führten zu nennenswerten Veränderungen der Konzentrationen von Progesteron, 17-OH-P, 11-Desoxycortisol und Cortisol.
- 6) Während die Konzentrationen von DOC, 18-OH-DOC und Corticosteron unter TR unbeeinflusst blieben, nahm das Aldosteron im Serum vom ersten Tag der TR-Gabe an kontinuierlich zu. Im Gegensatz dazu fiel der Serumaldosteronspiegel in den ersten 24 Stunden nach SL-Gabe ab, lag während der ersten drei Tage der Behandlung signifikant unter den entsprechenden Werten der TR-Gruppe, stieg dann allerdings steil an, so daß anschließend kein Unterschied zwischen beiden Gruppen mehr feststellbar war. Außerdem wurde unter SL ein hochsignifikanter Anstieg des DOC, 18-OH-DOC und Corticosterons beobachtet.

Die Ergebnisse werden interpretiert als Ausdruck einer Hemmung der Aldosteronbiosynthese durch Blockade der 11- und 18-Hydroxylase durch SL und seine Metabolite, die zum Anstieg der Präkursoren dieser Stoffwechselschritte und zum passageren Abfall des Sukzessors Aldosteron führt.

Dieser Effekt ist jedoch nur kurzfristig und wird durch Gegenregulationsmechanismen des Organismus rasch überspielt; er dürfte für die Langzeittherapie daher wenig Bedeutung haben.

Ungeklärt ist dagegen, ob und in welcher Beziehung die persistierend hohen Konzentrationen der PRA, des AT II, der Hormone DOC, Corticosteron und 18-OH-DOC unter SL, verglichen mit TR, etwa biologisch bedeutsam sind. Es gibt Hypertonieformen, die allein durch erhöhte 11-Desoxycorticosteron, Corticosteron, 18-OH-DOC- und 18-OH-Corticosteronspiegel bedingt zu sein scheinen (87, 92).

A n h a n g

Tabellen

- Tab. 1: Aufstellung der Abkürzungen
- Tab. 2: Multiple - Assay: Reagenzien und ihre Konzentrationen bzw. Volumina
- Tab. 3: Multiple - Assay: Intra- und Interassay-variabilitäten, untere Nachweisgrenze
- Tab. 4: SL, Canrenon und Urinextrakt bei Extraktion und Chromatographie
- Tab. 5: Kreuzreaktionen von SL und Metaboliten
- Tab. 6: Canrenon- und Canrenoat-K-Konzentrationen
- Tab. 7: Körpergewicht und Urinvolumina
- Tab. 8: Natriumexkretion, -bilanz, kumulative Na-Bilanz
- Tab. 8a: Kaliumexkretion, Urin-K-Bilanz, kumulative K-Bilanz
- Tab. 9: Serumkonzentrationen von Natrium und Kalium
- Tab. 10: Plasmareninaktivität, Angiotensin II-Konzentrationen
- Tab. 11: Serumkonzentrationen von Progesteron, 17 $\alpha$ -OH-Progesteron, 11 $\beta$ -Desoxycortisol und Cortisol
- Tab. 12: Serumkonzentrationen von 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron, Corticosteron, 18-OH-DOC und Aldosteron
- Tab. 13: Testosteronkonzentrationen im Serum
- Tab. 14: Aldosteron-Exkretionsraten, Aldosteron-Sekretionsraten

AER	Aldosteron-18-Glukuronid-Exkretionsrate
AG	Antigen
AK	Antikörper
Aldo	Aldosteron
ASR	Aldosteronsekretionsrate
AT I	Angiotensin I
AT II	Angiotensin II
C	Canrenon
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
C-K	Canrenoat -Kalium
DOC	11 $\beta$ -Desoxycorticosteron
HWZ	Halbwertszeit
K <sup>+</sup>	Kalium
Na <sup>+</sup>	Natrium
NNR	Nebennierenrinde (n)
Prog	Progesteron
PRA	Plasmareninaktivität
RIA	Radioimmunoassay
SCC	Cholesterol-side-chain-cleavage-system (Seitenketten abspaltendes Enzymsystem)
SL	Spironolacton
T	Testosteron
TR	Triamteren
6 $\beta$ -OH-7 $\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton	3-(3-oxo-7 $\alpha$ -methylsulfinyl-6 $\beta$ , 17 $\beta$ -dihydroxy-4-androsten-17 $\alpha$ -yl) propionsäure- $\gamma$ -lacton
7 $\alpha$ -methylsulfinyl-spirolacton	3-(3-oxo-7 $\alpha$ -methylsulfinyl-17 $\beta$ -hydroxy-4-androsten-17 $\alpha$ -yl) propionsäure- $\gamma$ -lacton
7 $\alpha$ -thiomethyl-spirolacton	3-(3-oxo-7 $\alpha$ -methylthio-17 $\beta$ -hydroxy-4-androsten-17 $\alpha$ -yl) propionsäure- $\gamma$ -lacton
17-OH-P	17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron
18-OH-DOC	18-Hydroxy-11 $\beta$ -Desoxycorticosteron

Tab. 1: Aufstellung der in der vorliegenden Arbeit  
benutzten Abkürzungen

Tabelle 2

Steroid	radioaktiv markiertes Hormon [Cpm/50 µl]	Aufnahmevolumen [µl]	Alliquot zur Messung der Recovery [µl]	Lösungsmittel im RIA	radioaktiv markiertes Hormon [Cpm/100 µl]	AK-Endverdünnung
Progesteron	7500	500	100	Äthanol	7000	1: 50000
17-OH-Progesteron	12000	800	200	Äthanol	7000	1: 100000
DOC	3500	350	100	Äthanol	7500	1: 20000
Corticosteron	15000	1500	500	Puffer	9500	1: 30000
11-Desoxycortisol	4500	500	200	Puffer	7500	1: 100000
18-OH-DOC	8000	350	100	Puffer	10000	1: 20000
Aldosteron	4000	350	100	Puffer	7000	1: 1200000
Cortisol	20000	5000	500	Puffer	6500	1: 60000
Testosteron*	8000	800	200	Puffer	8000	1: 60000

\* eigene Ergebnisse

Tabelle 2: Multiple assay zur simultanen Bestimmung der NNR-Steroide:

Spalte 1 bezeichnet das jeweilige Steroidhormon,

Spalte 2 die von der Extraktion zugegebenen Radioaktivitätskonzentrationen,

Spalte 3 das Volumen, in dem einzelne Hormone nach der Chromatographie aufgenommen werden,

Spalte 4 das jeweilige Alliquot, in dem die nach Extraktion und Chromatographie noch vorhandene Radioaktivität bestimmt wird;

in Spalte 5 sind die im RIA benutzten Lösungsmittel

in Spalte 6 und 7 die in den einzelnen RIA's benötigten Radioaktivitätskonzentrationen und Antikörperverdünnungen (bezogen auf das Endvolumen) aufgeführt.

Bis auf die Angaben für die Testosteronbestimmung sind die Werte der Arbeit von Schöneshöfer (118) entnommen.

Tabelle 3

Steroid	Intraassay Variation		Interassay Variation		untere Nachweisgrenze Mittelwert + Standard- abweichung (pg)
	Mittelwert (ng/100 ml)	N	Variationskoeffizient [%]	Mittelwert [ng/100 ml]	
Progesteron	16,1	5	13,8	10,3	8
	45,6	11	4,81	16,2	8
	106,0	9	12,6	30,4	7
17-OH-Progesteron	46,1	10	11,4	50,9	6
	73,3	9	7,5	110,3	14
	161,7	12	8,6	205,0	7
DOC	6,4	10	8,6	6,7	10
	13,2	9	10,4	7,4	6
	24,0	10	17,8	14,8	5
Corticosteron	74,0	8	13,9	70,6	7
	549	8	83	217,0	5
	1255	7	10,6	483,8	5
11-Desoxycortisol	14,7	6	14,1	12,7	4
	37,9	8	9,5	17,0	8
	142,0	8	8,3	43,7	4
18-OH-DOC	19,8	10	17,9	7,5	5
	30,3	8	11,2	33,2	5
	64,7	10	15,5	67,1	5
Aldosteron	15,8	10	7,7	3,5	5
	10,0	9	10,1	6,1	6
	19,9	10	13,9	17,9	13
Cortisol	4900	10	15,7	5900	13
	9850	10	16,0	10600	8
	13700	12	8,2	15800	8

Tabelle 3: Intra- und Interassayvariabilitäten der Methode zur simultanen Bestimmung der NNR-Steroidhormone bei drei verschiedenen Hormonkonzentrationen; die untere Nachweisgrenze ist als Maß für die Sensibilität der Methode (aus der Arbeit von Schöneshöfer 1977) angegeben.

Tabelle 4:

Spirorolacton			Canrenon				andere Metabolite ( Urinextrakt )				
Fraktion	nach Extraktion	Hormon	nach Chromatographie	n. Extr. n. Chr.	Fraktion	n. Extraktion	Hormon	n. Chr.	n. Extr. n. Chr.	Fraktion	nach Chromatographie
I	24	Prog.	0,17	0,04	I	39,3	Prog.	2,27	0,07	I	am Startpunkt
II	44	17-OH-P	0,75	0,33	II	56,7 (1)	17-OH-P	12,5	7,1	II	am Startpunkt
		T DOC	0,5 0,25	0,22 0,11			T DOC	49,5 87,5	22,1 49,6		
III	2,0	18-OH-DOC	0,2	$4 \times 10^{-3}$	III	0,0	18-OH-DOC	./ (2)	./	III	ca. 4 cm
		Cortico-steron	0,3	$6 \times 10^{-3}$			Cortico-steron	./	./		
		Desoxy-cortisol	0,1	$2 \times 10^{-3}$			Desoxy-cortisol	./	./		
IV	0,4	Cortisol	0,2	$8 \times 10^{-4}$	IV	0,0	Cortisol	./	./	IV	Ca. 11 cm
		Aldo	0,1	$4 \times 10^{-4}$			Aldo	./	./		

1 im Diäthylätherextrakt 44,24

2 nicht untersucht, weil in dieser Fraktion nach Extraktion nicht nachweisbar (s. Spalte 2 im Block "Canrenon")

**Tabelle 4:** Verhalten von SL, Canrenon und einem Urinextrakt bei Extraktionen und Chromatographie: In jedem Block gibt die Spalte 1 die bei der Extraktion erhaltenen Fraktionen, die Spalte 3 die in den einzelnen Fraktionen auftretenden Hormone an. Spalte 2 gibt an, wieviel Prozent der vor der Extraktion zugesetzten  $^3\text{H}$ -SL- und Canrenonmengen in den einzelnen Fraktionen, Spalte 4, wieviel Prozent einer auf dem Chromatographiestreifen aufgetragenen Menge nach Chromatographie in gleicher Höhe wie das jeweilige Hormon zu finden sind. Spalte 5 ergibt sich aus der Verknüpfung der beiden Arbeitsgänge; sie zeigt, wieviel Prozent einer vor Extraktion und Chromatographie zugesetzten Dosis vor Durchführung des RIA's im Eluat vorhanden sind.

Bei dem Urinextrakt (letzter Block) wurde nur die Laufstrecke der Metabolite (in cm) in den 4 Chromatographiesystemen bestimmt.



Tabelle 5:

Substanz	DOC-AK			T-AK		
	25%	50%	75%	25%	50%	75%
	Spirolacton	0.00063	0.00041	0.0021	0	0.0055
Canrenon	0.00172	0.0056	0.025	0	0.006875	0.0103
7 $\alpha$ -thiomethyl-spirolacton	0	0.000215	0.0001	0	0.001	0.016
7 $\alpha$ -methylsulfanyl-spirolacton	0	0	0	./.	./.	./.
6OH-7 $\alpha$ -methylsulfanyl-spirolacton	0	0	0.0005	./.	./.	./.

Tabelle 5: Kreuzreaktion von SL und einigen seiner Metabolite mit dem DOC- und T-Antikörper auf drei verschiedenen Bindungsniveaus der DOC- bzw. der T-Standardkurve; die Angaben erfolgen in Prozent.

Tabelle 6:

Zeit (d)	Canrenon (ng/ml)	Canrenoat-K (ng/ml)
Test 4	128,0±56,9 (25,9)	146,2±64,1 (28,7)
5	143,1±83,7 (58,5)	175,1±38,5 (26,9)
6	126,0±21,5 (9,6)	209,7±76,0 (34,1)
7	124,0±22,1 (9,9)	180,5±59,1 (26,5)

Tabelle 6: Canrenon- und Canrenoat-K-Konzentrationen (x±s (sem) ) in den letzten 4 Tagen der Testperiode bei 5 Probanden, die 3 x 100 mg/die SL erhielten. Die Abnahme des Blutes erfolgte ca. 14 Stunden nach Einnahme der letzten und vor der Einnahme der neuen Dosis.

Tabelle 7

Zeit	Spironolacton		Triamteren	
	Körpergewicht (kg)	Urinvolumina (ml/24 h)	Körpergewicht (kg)	Urinvolumina (ml/24 h)
Vorperiode 1	75,3±3,1 (1,4)	1340±503,2 (225,0)	72,8±7,6 (3,4)	1428±886,7 (396,5)
	74,9±2,8 (1,25)	1474±719,3 (321,7)	72,6±7,5 (3,4)	1514±315,8 (141,2)
	74,6±3,6 (1,6)	1412±544,1 (243,3)	72,4±7,6 (3,5)	1363±267,7 (119,7)
	74,3±3,4 (1,5)	1066±418,8 (187,3)	72,2±7,6 (5,4)	1246±587,4 (262,7)
	74,4±3,6 (1,6)	1140±462,0 (206,6)	72,2±7,7 (3,4)	1144±454,0 (203,0)
	74,3±5,7 (1,6)	992±174,3 (77,9)	72,5±7,5 (3,3)	1274±471,3 (210,8)
	74,1±3,7 (1,7)	1136±299,0 (133,7)	72,2±7,3 (3,2)	1144±591,3 (264,5)
Test	74,0±3,5 (1,6)	1444±594,2 (265,7)	71,9±7,4 (3,3)	1774±573,4 (256,4)
	73,2±3,6 (1,6)	1424±304,7 (136,3)	71,6±7,1 (3,2)	1654±319,1 (142,7)
	72,8±3,4 (1,5)	1148±243,4 (108,8)	71,6±7,2 (3,2)	1758±147,7 (66,1)
	72,2±3,6 (1,6)	1626±307,9 (137,7)	71,4±7,1 (3,2)	1908±129,7 (58,0)
	72,1±3,4 (1,5)	1176±273,9 (122,5)	71,3±7,0 (3,1)	1824±393,7 (176,1)
	72,0±3,0 (1,3)	1340±286,4 (128,1)	71,3±7,3 (3,2)	1898±399,8 (178,8)
	71,7±3,2 (1,4)	1658±527,1 (235,7)	71,0±7,0 (3,1)	1950±136,7 (61,1)

Tabelle 7: Körpergewicht und Urinvolumina ( $\bar{x}$ ±s (sem); n = 5) unter Natriumrestriktion (Vorperiode) und unter zusätzlicher Gabe von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR ("Test").

Tabelle 8:

Zeit (d)	Natriumsekretion (mval/24 h)		Urin-Na-Bilanz (mval/24 h)		Kum.-Na-Bilanz (mval)	
	SL	TR	SL	TR	SL	TR
Vorperiode 1	134,8±54,1(24,2)	146,6±98,5(44,0)	59,8±54,1(24,2)	71,6±98,5(44,0)	59,8±54,1(24,2)	71,6±98,5(44,0)
2	122,4±39,7(17,7)	106,6±38,9(17,4)	47,4±39,7(17,7)	31,6±38,9(17,4)	107,2±84,6(37,8)	103,2±135,2(60,5)
3	96,4±69,9(31,2)	85,4±34,1(15,3)	1,4±41,9(18,7)	10,4±34,1(15,2)	108,6±115,0(51,4)	113,6±163,4(73,1)
4	90,0±16,5(7,4)	81,4±34,7(15,5)	15,0±16,5(7,4)	6,4±34,7(15,5)	123,6±126,8(56,7)	120,4±181,9(81,4)
5	81,2±15,6(7,0)	51,0±16,5(7,4)	6,2±15,6(6,9)	-19,6±22,6(10,1)	130,0±127,5(57,0)	100,8±180,0(80,5)
6	66,4±27,2(12,2)	57,4±23,4(10,4)	-8,6±27,2(12,2)	-17,6±23,4(10,5)	121,4±116,8(52,2)	83,2±189,8(84,9)
7	68,2±22,7(10,2)	67,6±31,2(14,0)	-6,8±22,7(10,2)	-7,4±31,2(14,0)	114,6±122,1(54,6)	57,0±178,8(79,9)
Test 1	166,6±54,9(24,6)	168,0±33,3(14,9)	91,6±54,9(24,5)***	92,6±32,8(14,7)***	206,2±135,1(60,4) <sup>(*)</sup>	149,6±222,9(99,7)
2	183,4±34,1(15,2)	164,2±58,2(26,3)	108,4±34,0(15,3)***	89,2±58,8(26,3)***	319,6±147,4(65,9)**	238,8±266,9(119,3) <sup>(*)</sup>
3	133,0±21,8(9,7)	144,8±75,4(33,7)	58,0±21,8(9,7)***	69,8±75,4(33,7)***	372,6±159,6(71,4)**	308,6±281,6(125,9)*
4	125,8±44,2(19,8)	93,0±12,3(5,5)	50,8±39,8(17,8)***	18,0±12,3(5,5) <sup>(a)</sup>	423,4±194,3(86,9)***	326,6±277,6(124,1)*
5	110,8±32,5(14,5)	80,2±31,3(19,0)	35,8±32,5(14,5)**	5,2±28,9(12,9) <sup>(*)</sup> (a)	459,2±214,3(95,8)**	331,8±306,4(137,0)*
6	119,4±18,9(8,5)	74,0±17,3(8,6)	44,4±18,9(8,5)***	15,2±39,2(17,5) <sup>(*)</sup> (a)	503,6±223,3(99,8)***	347,0±302,5(135,3)*
7	118,6±20,3(9,1)	89,0±22,4(10,0)	43,6±20,3(9,1)***	13,6±22,4(10,0) <sup>(a)</sup>	547,2±233,4(104,4)***	373,6±316,5(141,6)*

Tabelle 8 a:

Zeit (d)	Kaliumsekretion (mval/24 h)		Urin-K-Bilanz (mval/24 h)		Kum. Urin-K-Bilanz (mval)	
	SL	TR	SL	TR	SL	TR
Vorperiode 1	96,4±34,4(15,4)	85,0±22,8(10,2)	11,4±34,4(15,4)	10,0±22,8(10,2)	11,4±34,4(15,4)	10,0±22,8(10,2)
2	93,1±23,1(10,3)	80,8±23,3(10,4)	18,1±23,1(10,3)	5,8±23,3(10,4)	29,5±54,6(24,4)	15,8±42,1(18,8)
3	94,4±20,6(9,2)	84,6±15,2(6,8)	19,5±20,6(9,2)	9,6±15,2(6,8)	48,9±60,2(26,9)	25,4±50,0(22,4)
4	92,2±17,6(7,9)	88,8±17,4(7,8)	17,2±17,6(7,9)	13,8±17,4(7,8)	66,1±52,9(23,6)	39,2±54,7(24,5)
5	90,2±12,2(5,5)	87,6±17,3(7,7)	14,8±12,2(5,5)	12,6±17,3(7,7)	80,9±59,3(26,5)	51,8±64,3(28,7)
6	118,2±9,8(4,4)	92,4±26,7(11,9)	22,8±9,8(4,4)	17,4±26,7(11,9)	103,7±63,0(28,2)	69,2±81,3(36,4)
7	85,4±19,6(8,7)	95,4±21,9(9,8)	10,0±19,6(8,7)	0,4±21,9(9,8)	113,7±67,6(30,3)	69,6±101,8(45,5)
Test 1	60,6±14,7(6,6)	66,6±22,5(10,1)	-14,4±14,7(6,6)***	-8,8±22,5(10,1)	99,3±75,2(33,6)	60,8±115,3(51,6) <sup>(a)</sup>
2	71,8±26,4(11,8)	71,6±27,7(12,4)	-3,2±26,4(11,8)*	-3,4±27,7(12,4)	96,1±89,6(40,1)	57,4±134,9(60,3)
3	79,4±23,8(10,6)	84,2±28,8(12,9)	4,4±23,8(10,6)	9,2±28,8(12,9)	100,5±112,5(50,3)	66,6±154,3(69,0)
4	93,4±32,5(14,5)	90,2±28,3(12,7)	18,4±32,5(14,5)	15,2±28,3(12,7)	118,9±143,1(64,0)	81,8±180,4(80,7)
5	89,2±32,0(14,3)	93,8±29,1(13,0)	14,2±32,0(14,3)	18,8±29,1(13,0)	133,1±173,8(77,7)	100,6±200,5(89,7)
6	92,0±10,3(4,6)	139,8±51,4(23,0)	16,6±10,3(4,6)	64,8±51,4(23,0) <sup>(*)</sup> a	149,7±182,7(81,7)	165,4±160,5(71,8)*
7	89,6±28,0(12,5)	99,0±23,5(10,5)	14,8±28,0(12,5)	4,0±23,5(10,5)	164,3±196,2(87,8)	169,4±223,1(99,8)

Tabelle 8, 8a: Natrium- und Kaliumausscheidung im Urin ( $\bar{x} \pm s$  (sem); n = 5) unter diätetischer Natriumrestriktion (Vorperiode) und unter zusätzlicher Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR. Signifikanzschranken für den Vergleich von Vorperiode und Behandlungszeitraum ("Test"): (\*) p < 0,1; \* p < 0,05; \*\* p < 0,005; \*\*\* p < 0,0005. Für den Vergleich der SL-Gruppe mit der TR-Gruppe: (a) p < 0,1; a p < 0,05; b p < 0,005; c p < 0,0005.

Tabelle 9:

Zeit (d)	Natrium (mval/l,%)		Kalium (mval/l,%)	
	SI.	TR	SL	TR
Vorperiode 4	145,8±7,0 (3,2)	144,0±5,2 (2,3)	4,33±0,5 (0,2)	4,04±0,3 (0,1)
5	146,6±4,5 (2,0)	144,4±3,3 (1,4)	4,42±0,5 (0,3)	4,19±0,3 (0,1)
6	143,2±4,0 (1,8)	142,8±3,4 (1,5)	4,14±0,3 (0,1)	3,93±0,2 (0,08)
x (B <sub>4-6</sub> )	145,2±5,2 (1,3) 100,0±2,4 (0,62)	143,8±3,9 (1,0) 100,0±1,4 (0,4)	4,29±0,5 (0,1) 100,0±4,8 (1,2)	4,05±0,3 (0,1) 100,0±4,2 (1,1)
Test 1	144,2±4,6 (2,1) 99,3±2,5 (1,1)	140,6±6,5 (2,9) 97,7±3,0 (1,3)*	4,28±0,49 (0,22) 99,5±2,0 (0,9)	4,15±0,22 (0,09) 102,4±2,2 (1,0)
3	143,4±2,3 (1,0) 98,8±2,9 (1,3)	145,8±14,4 (6,5) 101,3±9,0 (4,0)	4,67±0,52 (0,23)* 109,0±5,1 (2,3)**	4,30±0,32 (0,14)* 106,0±3,8 (1,7)*
5	141,8±9,6 (4,3) 97,6±5,3 (2,4)*	143,6±4,6 (2,1) 99,8±3,5 (1,6)	4,60±0,41 (0,18)* 107,5±3,9 (1,8)**	4,08±0,38 (0,17) 100,7±7,6 (3,4)
7	139,2±3,5 (1,6)* 95,9±1,3 (0,6)**	145,0±2,3 (1,0) 100,8±3,1 (1,4)	4,66±0,36 (0,16)* 108,7±3,0 (1,3)**	4,41±0,34 (0,15)* 109,0±4,7 (2,1)***

Tabelle 9: Serumkonzentrationen von Natrium und Kalium (x±s (sem); n = 5) in der Vorperiode und unter zusätzlicher Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR. Der Mittelwert der Vorperiode wurde gleich 100 Prozent gesetzt; auf ihn beziehen sich die Werte in der Behandlungsperiode ("Test"), der prozentuale Wert ist jeweils in der 2. Zeile jeden Behandlungstages aufgeführt. Signifikanzschranken s. Tab. 8

Tabelle 10:

Zeit (d)	Plasmareninaktivität (ng/ml/h;%)		Angiotensin II (pg/ml;%)	
	SL	TR	SL	TR
Vorperiode 5	3,91±1,5(0,6)	4,97±2,9(1,3)		
6	4,48±1,8(0,8)	4,65±3,1(1,4)	33,9±13,7(6,1)	37,7±17,1(7,6)
x (B <sub>5-6</sub> )	4,20±1,56(0,50) 100,0±10,4(3,3)	4,81±2,84(0,9) 100,0±22,3(7,1)		
Test 1	4,30±3,0(1,3) 133,5±69,9(34,9) <sup>*</sup>	4,69±2,5(1,1) 104,4±25,8(11,5)		
2	7,38±1,8(0,8)** 200,6±88,9(39,8)**	6,62±1,1(0,5) <sup>*</sup> 173,4±84,6(37,8)*	65,1±21,1(9,4)* 222,6±96,7(43,2)	53,4±15,0(6,7) <sup>*</sup> 155,2±54,2(24,2)
4	20,40±12,2(5,5)*** 549,2±368,0(164,6)***	8,82±4,0(1,8) <sup>*a</sup> 194,8±35,9(16,1) <sup>***a</sup>		
6	18,84±11,4(5,1)** 498,1±287,8(128,7)***	7,77±3,4(1,5) <sup>*a</sup> 173,4±61,0(27,3) <sup>***a</sup>		
7	20,02±10,2(4,6)*** 505,0±201,5(90,1)***	7,31±4,0(1,8) <sup>*</sup> <sup>a</sup> 150,2±20,0(8,9) <sup>***b</sup>	318,5±165,0(73,8)** 932,2±323,7(144,7)	131,2±105,0(52,5) <sup>*a</sup> 322,0±175,5(87,7) <sup>b</sup>

Tabelle 10: Plasmareninaktivität und Angiotensin II-Konzentrationen ( $\bar{x} \pm s$  (sem); n = 5) unter Natriumresektion (Vorperiode) und unter zusätzlicher Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR; weitere Erläuterungen siehe Tabelle 8, 9.

Tabelle 11:

Zeit (d)	Progesteron (ng/100 ml;%)		17 α-OH-Progesteron (ng/100 ml;%)	
	SL	TR	SL	TR
Vorperiode	18,1±7,1 (1,6) 100,0±20,6 (4,7)	15,0±6,5 (1,4) <sup>(a)</sup> 100,0±19,7 (4,4)	177,3±54,7 (12,2) 100,0±20,3 (4,5)	156,3±62,2 (13,9) 100,0±15,2 (3,4)
Test 1	24,7±13,9 (7,0) <sup>(*)</sup> 120,3±34,5 (17,3) <sup>*</sup>	16,7±6,0 (2,7) 113,0±14,6 (6,5)	197,7±73,9 (33,1) 110,9±31,8 (14,2)	150,6±40,8 (18,2) 99,8±11,6 (5,2)
2	22,5±10,1(4,5) 120,2±38,2 (17,1) <sup>(*)</sup>	18,5±8,4 (3,8) 125,8±43,6 (19,5) <sup>(*)</sup>	163,0±40,8 (18,2) 92,5±11,5 (5,2)	148,1±24,4 (10,9) 94,9±22,8 (10,2)
3	23,5±13,0 (5,8) 121,9±21,1 (9,5) <sup>*</sup>	16,7±7,0 (3,2) 113,6±37,0 (16,5)	154,2±47,4 (21,2) 88,2±21,6 (9,6)	116,5±42,7 (19,1) <sup>(*)</sup> 78,4±22,9 (10,3) <sup>*</sup>
4	18,2±6,0 (2,7) 100,9±22,5 (10,1)	17,7±9,1 (4,1) 115,1±22,2 (9,9) <sup>(*)</sup>	152,2±47,9 (21,4) 85,0±12,9 (5,8) <sup>(*)</sup>	130,1±36,9 (16,5) 86,3±12,0 (5,4) <sup>*</sup>
5	21,4±10,8 (4,8) 117,3±51,9 (23,2)	18,0±7,7 (3,8) 110,4±25,5 (12,8) <sup>(*)</sup>	121,7±46,4 (20,8) <sup>*</sup> 66,8±10,5 (4,7) <sup>**</sup>	164,3±59,9 (26,8) 99,4±7,1 (3,6)
6	22,6±7,1 (3,2) 124,9±22,7 (12,4) <sup>°</sup>	17,1±8,3 (3,7) 117,1±32,6 (23,5)	156,3±31,3 (14,0) 90,8±19,5 (8,7)	133,6±71,2 (31,9) 84,5±17,2 (7,7) <sup>*</sup>
7	23,6±8,0 (3,6) <sup>(*)</sup> 128,4±26,3 (10,9) <sup>°</sup>	21,2±9,5 (4,8) <sup>(*)</sup> 138,2±72,2 (36,1) <sup>°</sup>	205,0±51,1 (22,9) 120,6±44,3 (19,8)	188,1±17,5 (7,8) 131,6±36,6 (16,4) <sup>(*)</sup>
Zeit (d)	11 B-Desoxycortisol (ng/100 ml;%)		Cortisol (µg/100 ml;%)	
	SL	TR	SL	TR
Vorperiode	40,1±32,6 (7,3) 100,0±38,0 (8,5)	49,2±35,5 (7,9) 100,0±40,6 (9,1)	15,6±5,2 (1,2) 100,0±22,5 (5,0)	15,2±5,6 (1,2) 100,0±21,5 (5,0)
Test 1	49,9±22,5 (11,0) 131,7±41,8 (18,7) <sup>(*)</sup>	49,5±42,5(19,0) 94,3±61,4 (27,4)	17,5±4,0 (1,8) 112,7±16,5 (7,4)	15,0±4,4 (2,0) 101,7±28,3 (12,7)
2	41,9±30,5 (13,6) 99,9±24,7 (11,0)	39,4±38,7 (17,3) 81,1±53,6 (24,0)	16,8±3,6 (1,6) 108,7±15,5 (6,9)	14,1±4,2 (1,9) 94,2±18,0 (8,0)
3	49,2±33,4 (14,9) 116,9±30,0 (13,4)	40,4±34,8 (15,6) 100,4±68,3 (30,5) <sup>(a)</sup>	19,2±4,2 (1,9) <sup>(*)</sup> 123,8±9,3 (4,2) <sup>*</sup>	17,4±9,3 (4,2) 118,2±67,3 (30,1)
4	63,9±43,3 (19,4) <sup>(*)</sup> 156,4±81,8 (36,6)	32,1±20,1 (9,0) 64,7±13,4 (6,0) <sup>*a</sup>	19,5±6,8 (3,0) <sup>(*)</sup> 122,9±24,7 (11,0) <sup>*</sup>	13,9±4,1 (1,8) <sup>a</sup> 92,6±13,1 (5,8) <sup>a</sup>
5	51,6±32,0 (14,3) 126,2±29,9 (13,4) <sup>(*)</sup>	32,0±24,7 (12,4) 68,2±14,0 (2,0) <sup>*b</sup>	21,5±5,5 (2,5) <sup>*</sup> 137,7±16,1 (7,2) <sup>**</sup>	17,3±8,7 (3,9) <sup>(a)</sup> 112,6±46,9 (21,0) <sup>(a)</sup>
6	56,2±44,3 (19,8) 135,6±40,8 (18,3) <sup>*</sup>	33,0±27,5 (13,7) 85,4±50,8 (25,4) <sup>(*)a</sup>	20,1±3,3 (1,5) <sup>*</sup> 132,2±26,3 (11,8) <sup>*</sup>	15,5±5,8 (2,6) <sup>a</sup> 102,0±21,3 (9,5) <sup>a</sup>
7	66,7±46,4 (20,8) <sup>(*)</sup> 173,5±53,9 (24,1) <sup>**</sup>	29,9±13,9 (7,0) 126,5±149,3(74,6) <sup>(*)a</sup>	18,7±3,1 (1,4) 121,6±11,7 (5,2) <sup>*</sup>	17,4±6,2 (2,8) 119,7±51,1 (22,9)

Tabelle 11: Konzentrationen der Nebennierenrindenhormone Progesteron, 17-OH-Prog, 11β-Desoxycortisol und Cortisol in der Vorperiode (  $\bar{x} \pm s$  (sem); n = 20 ) und unter Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR ( n = 5 ); weitere Erläuterungen siehe Tabelle 8, 9.

Tabelle 12

Zeit (d)	11 $\beta$ -Desoxycorticosteron (ng/100 ml;%)		Corticosteron (ng/100 ml;%)	
	SL	TR	SL	TR
Vorperiode	9,0 $\pm$ 5,1 (1,1) 100,0 $\pm$ 37,6 (8,4)	8,7 $\pm$ 4,5 (1,0) 100,0 $\pm$ 30,9 (6,9)	718,7 $\pm$ 809,3 (181,0) 100,0 $\pm$ 41,6 (9,3)	915,5 $\pm$ 1115,6 (249,5) 100,0 $\pm$ 51,1 (11,4)
Test 1	18,5 $\pm$ 5,7 (2,5) ** 213,8 $\pm$ 28,8 (12,9) ***	9,75 $\pm$ 3,6 (1,6) <sup>b</sup> 111,5 $\pm$ 17,7 (7,9) <sup>b</sup>	751,5 $\pm$ 656,0 (293,4) 116,6 $\pm$ 24,0 (10,7)	662,5 $\pm$ 598,0 (267,0) 86,8 $\pm$ 67,3 (30,1)
2	21,3 $\pm$ 11,2 (5,0) ** 238,7 $\pm$ 57,6 (25,8) ***	9,8 $\pm$ 3,3 (1,6) <sup>a</sup> 159,8 $\pm$ 96,5 (48,2) <sup>b</sup>	756,2 $\pm$ 679,2 (303,7) 121,6 $\pm$ 47,7 (21,3)	462,6 $\pm$ 314,2 (140,5) 71,2 $\pm$ 39,1 (17,5) <sup>a</sup>
3	22,4 $\pm$ 6,7 (3,0) *** 258,9 $\pm$ 53,9 (24,1) ***	8,5 $\pm$ 4,3 (1,9) <sup>a</sup> 99,2 $\pm$ 29,3 (13,1) <sup>c</sup>	1265,7 $\pm$ 1324,0 (592,1) 186,2 $\pm$ 75,5 (33,8) **	583,1 $\pm$ 507,5 (227,0) 88,4 $\pm$ 74,6 (33,3) <sup>a</sup>
4	26,4 $\pm$ 8,5 (3,8) *** 303,6 $\pm$ 58,8 (26,3) ***	8,6 $\pm$ 4,9 (2,2) <sup>b</sup> 97,7 $\pm$ 29,8 (13,3) <sup>c</sup>	1509,1 $\pm$ 1402,3 (627,1) <sup>(*)</sup> 229,8 $\pm$ 57,1 (25,5)	692,5 $\pm$ 869,3 (388,8) 76,0 $\pm$ 17,7 (7,9) <sup>b</sup>
5	26,7 $\pm$ 8,0 (3,6) *** 307,6 $\pm$ 39,6 (17,7) ***	8,0 $\pm$ 3,7 (1,9) <sup>b</sup> 110,3 $\pm$ 24,7 (12,3) <sup>c</sup>	1486,8 $\pm$ 1301,0 (581,8) <sup>(*)</sup> 249,2 $\pm$ 103,3 (46,2) ***	869,4 $\pm$ 957,9 (478,0) 98,1 $\pm$ 46,5 (32,2) <sup>a</sup>
6	22,7 $\pm$ 9,4 (4,2) *** 252,1 $\pm$ 42,0 (18,8) ***	8,6 $\pm$ 4,9 (2,2) <sup>a</sup> 99,3 $\pm$ 22,9 (10,2) <sup>c</sup>	1524,7 $\pm$ 1112,7 (497,6) <sup>*</sup> 292,6 $\pm$ 192,8 (86,2) ***	873,7 $\pm$ 1016,6 (454,6) 105,0 $\pm$ 61,2 (27,4)
7	26,9 $\pm$ 10,7 (4,8) *** 305,0 $\pm$ 59,5 (26,4) ***	7,8 $\pm$ 3,4 (1,7) <sup>b</sup> 114,9 $\pm$ 44,2 (22,1) <sup>c</sup>	1549,0 $\pm$ 1217,4 (544,5) <sup>*</sup> 262,6 $\pm$ 103,4 (46,2) ***	837,6 $\pm$ 435,7 (217,8) 160,4 $\pm$ 171,0 (85,5) (a)
Zeit (d)	18-OH-DOC (ng/100 ml;%)		Aldosteron (ng/100 ml;%)	
	SL	TR	SL	TR
Vorperiode	11,2 $\pm$ 9,9 (2,3) 100,0 $\pm$ 13,1 (9,9)	12,9 $\pm$ 11,6 (2,8) 100,0 $\pm$ 49,7 (12,1)	23,0 $\pm$ 15,3 (3,4) 100,0 $\pm$ 40,6 (9,1)	21,3 $\pm$ 9,4 (2,1) 100,0 $\pm$ 33,9 (7,6)
Test 1	9,9 $\pm$ 7,3 (3,2) 88,6 $\pm$ 14,3 (6,4)	11,1 $\pm$ 6,4 (2,9) 100,5 $\pm$ 31,7 (14,2)	16,1 $\pm$ 4,8 (2,1) 75,8 $\pm$ 25,2 (11,3)	26,2 $\pm$ 11,4 (5,1) <sup>a</sup> 128,1 $\pm$ 50,7 (22,7) <sup>a</sup>
2	12,1 $\pm$ 7,6 (3,8) 100,3 $\pm$ 31,7 (15,8)	9,5 $\pm$ 4,9 (2,2) 97,3 $\pm$ 68,4 (30,6)	22,1 $\pm$ 8,6 (3,8) 110,0 $\pm$ 53,8 (24,1)	39,2 $\pm$ 10,0 ((4,5) <sup>***</sup> 189,4 $\pm$ 52,0 (23,3) <sup>a</sup>
3	21,4 $\pm$ 21,6 (10,8) <sup>(*)</sup> 163,9 $\pm$ 87,9 (44,0) <sup>*</sup>	7,8 $\pm$ 6,0 (3,0) 116,7 $\pm$ 103,7 (51,8) <sup>*</sup>	33,9 $\pm$ 10,4 (4,5) <sup>(*)</sup> 162,8 $\pm$ 60,2 (26,9) <sup>*</sup>	52,7 $\pm$ 10,3 (4,6) <sup>a</sup> <sup>***</sup> 259,0 $\pm$ 62,9 (28,1) <sup>a</sup>
4	21,0 $\pm$ 21,1 (12,2) <sup>(*)</sup> 172,7 $\pm$ 120,9 (69,8) <sup>*</sup>	12,1 $\pm$ 13,9 (6,2) 98,5 $\pm$ 68,2 (30,5)	65,4 $\pm$ 20,1 (9,0) <sup>***</sup> 307,4 $\pm$ 104,8 (46,9) <sup>***</sup>	52,1 $\pm$ 23,3 (10,4) <sup>***</sup> 237,6 $\pm$ 62,9 (28,1) <sup>***</sup>
5	27,7 $\pm$ 26,2 (11,7) <sup>*</sup> 255,6 $\pm$ 138,4 (62,0) <sup>***</sup>	13,4 $\pm$ 11,7 (5,8) 110,1 $\pm$ 70,8 (35,4) <sup>†</sup>	81,1 $\pm$ 40,6 (18,2) <sup>***</sup> 377,2 $\pm$ 165,11 (73,8) <sup>***</sup>	700 $\pm$ 24,8 (11,1) <sup>***</sup> 356,8 $\pm$ 163,4 (73,1) <sup>***</sup>
6	26,2 $\pm$ 24,3 (10,9) <sup>*</sup> 219,5 $\pm$ 83,3 (37,3) <sup>***</sup>	10,3 $\pm$ 8,8 (3,9) 95,5 $\pm$ 66,6 (29,8) <sup>b</sup>	86,2 $\pm$ 31,8 (14,2) <sup>***</sup> 404,0 $\pm$ 151,11 (67,6) <sup>***</sup>	61,5 $\pm$ 24,9 (11,1) <sup>***</sup> 291,6 $\pm$ 123,9 (55,4) <sup>***</sup>
7	26,7 $\pm$ 20,1 (9,0) <sup>*</sup> 240,6 $\pm$ 138,0 (61,7) <sup>**</sup>	11,8 $\pm$ 9,3 (4,2) <sup>a</sup> 138,2 $\pm$ 143,6 (64,2) <sup>a</sup>	98,2 $\pm$ 33,3 (14,9) <sup>***</sup> 450,8 $\pm$ 121,3 (54,2) <sup>***</sup>	82,5 $\pm$ 29,5 (13,2) <sup>***</sup> 423,4 $\pm$ 201,3 (90,0) <sup>***</sup>

Tabelle 12: Konzentration der Nebennierenrindenhormone 11 $\beta$ -Desoxycorticosteron, Corticosteron, Aldosteron und 18-OH-Desoxycorticosteron in der Vorperiode (x $\pm$ s (sem); n = 20) und unter zusätzlicher Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal 100 mg/die TR (n = 5); weitere Erläuterungen siehe Tabelle 8,9.



Tabelle 13

Zeit	Testosteron i. Serum (ng/100 ml;%)	
	S L	T R
Vorperiode	704,6±248,3 (55,5) 100,0±26,1 (5,8)	593,8±145,7 (33,6) <sup>(a)</sup> 100,0±19,3 (4,4)
Test 1	702,0±134,6 (67,3) 93,0±18,8 (9,4)	629,8±215,8 (96,5) 104,0± 27,2 (12,2)
2	708,6±269,8 (120,7) 108,4± 23,9 (10,7)	701,4±202,5 (90,6) <sup>(*)</sup> 115,6± 17,7 (7,9) <sup>(*)</sup>
3	593,0±183,6 (82,1) 90,8± 16,1 (7,2) <sup>(*)</sup>	507,0± 99,2 (44,7) 85,8± 16,4 (7,4) <sup>(*)</sup>
4	671,2±187,7 (84,0) 107,2± 32,5 (14,6)	576,2±108,7 (48,6) 96,4± 5,1 (2,3)
5	525,2±191,5 (85,7) <sup>(*)</sup> 83,0± 29,9 (13,4) <sup>(*)</sup>	557,4±102,6 (45,9) 93,0± 7,6 (3,4)
6	508,4±102,6 (45,9) <sup>(*)</sup> 85,2± 35,4 (15,8) <sup>(*)</sup>	477,2±113,6 (50,8) <sup>(*)</sup> 79,6± 12,4 (5,6) <sup>*</sup>
7	597,0±231,7 (103,6) 89,0± 13,2 (5,9) <sup>(*)</sup>	645,8± 70,6 (31,6) 109,0± 7,7 (3,4) <sup>a</sup>

Tabelle 13: Testosteronkonzentration im Serum ( $\bar{x} \pm s$  (sem))  
in der Vorperiode (n = 20) und unter zusätzlicher  
Applikation von 3 mal 100 mg/die SL bzw. 2 mal  
100 mg/die TR (n = 5);  
weitere Erläuterungen s. Tab. 8, 9

Tabelle 14

Zeit [d]	Aldosteron-Exkretionsrate [ $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ]		Aldosteron-Sekretionsrate [ $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ]	
	SL	TR	SL	TR
Basis 0-1	11,7 $\pm$ 5,7 (2,5)	7,9 $\pm$ 3,9 (1,7)		
5-7	18,3 $\pm$ 7,1 (3,2) (*)	23,6 $\pm$ 9,6 (4,3) **	188,0 $\pm$ 56,8 (25,4)	198,2 $\pm$ 65,4 (29,3)
Test 0-1	17,4 $\pm$ 10,6 (4,7)	24,8 $\pm$ 6,5 (3,3)		
1-2	28,2 $\pm$ 19,4 (8,7)	38,8 $\pm$ 12,5 (5,6) *		
2-3	50,7 $\pm$ 33,8 (15,1) *	55,1 $\pm$ 19,4 (8,7) *		
3-5	77,9 $\pm$ 29,6 (13,2) **	77,0 $\pm$ 19,9 (8,9) ***		
5-7	97,9 $\pm$ 35,9 (16,1) **	73,4 $\pm$ 15,5 (6,9) ***	867,1 $\pm$ 361,8 (161,8) **	748,3 $\pm$ 91,5 (40,9) ***

Tabelle 14: Aldosteron-18-Glukuronid-Exkretions- und Aldosteronsekretionsraten (x $\pm$ s(sem)) unter Na-armer Diät (Vorperiode) und unter zusätzlicher täglicher Medikation von 3 mal 100 mg SL bzw. 2 mal 100 mg TR (n=5)  
 Im Hinblick auf statistisch zu sichernde Unterschiede wurden miteinander verglichen: In der Vorperiode B<sub>0-1</sub> gegen B<sub>5-7</sub>; der letzte Wert der Vorperiode B<sub>5-7</sub> mit den einzelnen Werten in der Behandlungsperiode.

Literaturverzeichnis

- 1) Abraham, G.E., Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17 $\beta$ , J. Clin. Endocrinol. Metab. 29, 866 - 870, 1969
- 2) Abshagen, U., H. Rennekamp, G. Luszpinski, Pharmacokinetics of spironolactone in man, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 296, 37 - 45, 1976
- 3) Abshagen, U., S. Spörl, M. Schoeneshöfer, W. Oelkers, Increased plasma 11-deoxycorticosterone during spironolactone medication, J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 1190 - 1193, 1977
- 4) Abshagen, U., S. Spörl, M. L'age, Non-interaction of spironolactone medication and cortisol metabolism in man, Klin. Wochenschr. 56, 135 - 138, 1978
- 5) Anguilera, G., E.T. Marusic, Role of the renin-angiotensin-system in the biosynthesis of aldosterone, Endocrinology 89, 1524 - 1529, 1971
- 6) Baba, W.I., G.R. Tudhope, G.M. Wilson, Site and mechanism of action of the diuretic triamterene, Clin. Sci. 27, 181 - 193, 1964
- 7) Basinger, G.T., R.F. Gittes, Antiandrogenic effect of spironolactone in rats, J. Urol. 111, 77 - 80, 1974
- 8) Blair-West, J.R., J.P. Coghlan, D.A. Denton, J.R. Goding, M. Wintour, R.D. Wright, The control of aldosterone secretion, Recent Prog. Horm. Res. 19, 311 - 363, 1963
- 9) Bonne, C., J.P. Raynaud, Mode of spironolactone antiandrogenic action: inhibition of androstanolone binding to rat prostate androgen receptor, Mol. Cell. Endocrinol. 2, 59 - 67, 1974

- 10) Boyd, G.W., A.R. Adamson, V.H.T. James, W.S. Peart, The role of the renin-angiotensin system in the control of aldosterone in man, *Proc. R. Soc. Med.* 62, 1253 - 1254, 1969
- 11) Boyd, J.E., P.J. Mulrow, Intracellular potassium: the regulator of aldosterone production, *J. Clin. Invest.* 51, 13 a, 1972
- 12) Braverman, B., J.O. Davis, Adrenal steroid secretion in the rabbit: sodium depletion, angiotensin II, and ACTH, *Am. J. Physiol.* 225, 1306 - 1310, 1973
- 13) Bridgman, J.F., J.M.H. Buckler, Drug-induced gynaecomastia, *Br. Med. J.* 3, 520 - 521, 1974
- 14) Broulik, P.D., L. Starka, Antiandrogenic and anti-renotropic effect of spironolactone, *Endokrinologie* 68, 35 - 39, 1976
- 15) Brown, J.J., D.L. Davies, J.B. Ferriss, R. Fraser, E. Haywood, A.F. Lever, J.I.S. Robertson, Comparison of surgery and prolonged spironolactone therapy in patients with hypertension, aldosterone excess, and low plasma renin, *Br. Med. J.* 2, 729 - 734, 1972
- 16) Bühler, F.R., J.H. Laragh, J.E. Sealey, H.R. Brunner, Plasma aldosterone-renin interrelationships in various forms of essential hypertension, In: *Hypertension Manual*, J.H. Laragh (Ed.) Dun-Donnelly, New York, 353 - 369, 1974
- 17) Burwell, L.R., W.W. Davis, F.C. Bartter, Studies on the loci of action of stimuli of the biogenesis of aldosterone, *Proc. R. Soc. Med.* 62, 1254 - 1257, 1969
- 18) Casals-Stenzel, J., J. Schmalbach, W. Losert, Improved method for comparative evaluation of aldosterone antagonists in healthy man, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 12, 247 - 255, 1977

- 19) Cella, J.A., C.M. Kagawa, Steroidal lactones, J. Am. Chem. Soc. 79, 4808 - 4809, 1957
- 20) Cella, J.A., R.C. Tweit, Steroidal aldosterone blockers. II, J. Org. Chem. 24, 1109 - 1114, 1959
- 21) Cheng, S.Ch., K. Suzuki, W. Sadée, B.W. Harding, Effects of spironolactone, canrenone and canrenoate-K on cytochrome P-450, and 11 $\beta$ - and 18-hydroxylation in bovine and human adrenal cortical mitochondria, Endocrinology 99, 1097 - 1106, 1976
- 22) Cheville, R.A., J.A. Luetscher, E.W. Hancock, A.J. Dowdy, G.W. Nokes, Distribution, conjugation, and excretion of labelled aldosterone in congestive heart failure and in controls with normal circulation. Development and testing of a model with a analog computer, J. Clin. Invest. 45, 1302 - 1316, 1966
- 23) Clark, E., Spironolactone therapy and gynecomastia, J. Am. Med. Assoc. 193, 163 - 164, 1965
- 24) Davis, W.W., L.R. Burwell, G. Kelly, A.G.T. Caspar, F.C. Bartter, Studies of the loci of stimulation of aldosterone biosynthesis during sodium depletion, Biochem. Biophys. Res. Commun. 22, 218 - 222, 1966
- 25) Davis, J.O., The control of renin release, Am. J. Med. 55, 333 - 350, 1973
- 26) Deming, Q.B., J.A. Luetscher, Bioassay of deoxycorticosteronelike material in urine, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73, 171 - 175, 1950
- 27) Düsterdieck, G., G. McElwee, Estimation of angiotensin II Concentration in human plasma by radioimmunoassay. Some applications to physiological and clinical states, Eur. J. Clin. Invest. 2, 32 - 38, 1971
- 28) Dymling, J.F., K.O. Nilsson, B. Hökfeldt, The effect of soldactona® (canrenoate-potassium) on plasma testo-

- sterone and androstenedione and urinary 17-ketosteroids and 17-hydroxycorticosteroids, *Acta Endocrinol.* (Copenhagen), 70, 104 - 112, 1972
- 29) Erbler, H., Action of cyclic nucleotides on aldosterone synthesis in vitro, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Suppl.* 270, R 26, 1971
  - 30) Erbler, H.C., Stimulation of aldosterone production in vitro and its inhibition by spironolactone, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 273, 366 - 375, 1972
  - 31) Erbler, H.C., On the mechanism of the inhibitory action of the spiro lactone SC 9376 (aldadiene) on the production of corticosteroids in rat adrenals in vitro, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 277, 139 - 149, 1973
  - 32) Erbler, H.C., Selective inhibition of aldosterone synthesis by 11-hydroxylated spiro lactone in rat adrenals, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 280, 331 - 337, 1973
  - 33) Erbler, H.C., Inhibition of aldosterone production in diuretic-induced hyperaldosteronism by aldosterone antagonist canrenone in man, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 285, 395 - 401, 1974
  - 34) Erbler, H.C., Suppression by the spironolactone metabolite canrenone of plasma testosterone in man, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 285, 403 - 406, 1974
  - 35) Erbler, H.C., The effect of saluretics and spironolactone on aldosterone production and electrolyte excretion in man, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 286, 145 - 156, 1974
  - 36) Erbler, H.C., H. Wernze, M. Hilfenhaus, Effect of the aldosterone antagonist canrenone on plasma aldosterone concentration and plasma renin activity, and on the

- excretion of aldosterone and electrolytes by man, Eur. J. Clin. Pharmacol. 9, 253 - 257, 1976
- 37) Esch, I., P. Placheta, Behandlung essentieller Hypertoniker mit Spirolakton unter Berücksichtigung der Plasma-Renin-Aktivität, Wien. Klin. Wochenschr. 85, 413 - 417, 1973
- 38) Esch, I., P. Placheta, G. Gaul, Unterschiedliche Wirkung diuretischer Langzeitbehandlung auf die Plasmareninaktivität bei essentieller Hypertonie, Wien. Klin. Wochenschr. 88, 415 - 418, 1976
- 39) Fanestil, D.D., Mode of spiro lactone action: competitive inhibition of aldosterone binding to kidney mineralocorticoid receptors, Biochem. Pharmacol. 17, 2240 - 2242, 1968
- 40) Feller, D.R., M.C. Gerald, Interactions of spironolactone with hepatic microsomal drug-metabolizing enzyme systems, Biochem. Pharmacol. 20, 1991 - 2000, 1971
- 41) Ford, H.D., H.P. Pieters, R.E. Bailey, Aldosterone and sodium conservation: Effect of acute dietary sodium deprivation on the plasma concentration, the metabolic clearance and secretion and excretion rates of aldosterone in normal subjects, J. Clin. Endocrinol. Metab. 28, 451 - 459, 1968
- 42) Fraser, R., V.H.T. James, J.J. Brown, P. Isaac, A.F. Lever, J.I.S. Robertson, Effect of angiotensin and of frusemide on plasma aldosterone, corticosterone, cortisol, and renin in man, Lancet 2, 989 - 991, 1965
- 43) Funder, J.W., J.R. Blair-West, J.P. Coghlan, D.A. Denton, B.A. Scoggins, R.D. Wright, Effect of plasma ( $K^+$ ) on the secretion of aldosterone, Endocrinology 85, 381 - 384, 1969
- 44) Funder, J.W., D. Feldman, E. Highland, I.S. Edelman,

Molecular modifications of anti-aldosterone compounds: Effects on affinity of spiro lactones for renal aldosterone receptors, *Biochem. Pharmacol.* 23, 1493 - 1501, 1974

- 45) Ganong, W.F., E.G. Biglieri, P.J. Mulrow, Mechanisms regulating adrenocortical secretion of aldosterone and glucocorticoids, *Recent Prog. Horm. Res.* 22, 381 - 430, 1966
- 46) Gochman, N., C.L. Gantt, A fluorimetric method for the determination of a major spironolactone (aldactone) metabolite in human plasma, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 135, 312 - 316, 1962
- 47) Greenblatt, D.J., J. Koch-Weser, Adverse reactions to spironolactone, *J. Am. Med. Assoc.* 225, 40 - 43, 1973
- 48) Greiner, J.W., R.E. Kramer, J. Jarrell, H.D. Colby, Mechanism of action of spironolactone on adrenocortical function in guinea pigs, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198, 709 - 715, 1976
- 49) Greiner, J.W., R.E. Kramer, R.C. Rumbaugh, H.D. Colby, Differential control of adrenal drug and steroid metabolism in the guinea pig, *Life Sci.* 20, 1017 - 1026, 1977
- 50) Haber, E., Th. Körner, L.B. Page, B. Kliman, A. Purnode, Application of a radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects, *J. Clin. Endocrinol.* 29, 1349 - 1355, 1969
- 51) Hamrick, M.E., N.G. Zampaglione, B. Stripp, J.R. Gillette, Investigation of the effects of methyltestosterone, cortisone and spironolactone on the hepatic microsomal mixed function oxidase system in male and female rats, *Biochem. Pharmacol.* 22, 293 - 310, 1973



- 52) Haning, R., S.A.S. Tait, J.S. Tait, In vitro effects of ACTH, angiotensins, serotonin and potassium on steroid output, and conversion of corticosterone to aldosterone by isolated adrenal cells, *Endocrinology* 87, 1147 - 1167, 1971
- 53) Hansen, K.B., A.D. Bender, Changes in serum potassium levels occurring in patients treated with triamterene and a triamterene-hydrochlorothiazide combination, *Clin. Pharmacol. Ther.* 8, 392 - 399, 1967
- 54) Herken, H., Pseudoaldosterone-Antagonists, In: *Handbook Exp. Pharmacol.*, Bd. 24 - Diuretica, H. Herken (Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 494 - 549, 1969
- 55) Herken, H., Aldosterone-Antagonists, In: *Handbook Exp. Pharmacol.*, Bd. 24 - Diuretica, H. Herken (Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 436 - 493, 1969
- 56) Hertz, R., W.W. Tullner, Progestational activity of certain steroid-17-spirolactones (24380), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99, 451 - 452, 1958
- 57) Hofmann, L.M., Aldosterone antagonists in laboratory animals, In: *Recent advances in renal physiology and pharmacology*, L.G. Wesson and G.M. Fanelli (Ed.) University Park Press, Baltimore, 305 - 316, 1974
- 58) Hofmann, L.M., R.C. Polk, H.I. Maibach, Renal clearance of canrenoate in normal man, *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 748 - 756, 1975
- 59) Hollenberg, N.K., W.R. Chenitz, D.F. Adams, G.H. Williams, Reciprocal influence of salt intake on adrenal glomerulosa and renal vascular responses to angiotensin II in normal man, *J. Clin. Invest.* 54, 34 - 42, 1974
- 60) Huffman, D.H., D.W. Shoeman, P. Pentikainen, D.L.

- Azarnoff, The effect of spironolactone on antipyrine metabolism in man, *Pharmacology* 10, 338 - 344, 1973
- 61) Kagawa, C.M., J.A. Cella, C.G. Van Arman, Action of new steroids in blocking effects of aldosterone and deoxycorticosterone on salt, *Science* 126, 1015 - 1016, 1957
  - 62) Kagawa, C.M., Blocking the renal electrolyte effects of mineralocorticoids with an orally active steroidal spirolactone, *Endocrinology* 67, 125 - 132, 1960
  - 63) Kagawa, C.M., D.J. Bouska, M.L. Anderson, W.F. Krol, Pharmacological properties of a mineralocorticoid antagonist (SC-14 266), *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 149, 8 - 24, 1964
  - 64) Kaplan, N.M., The biosynthesis of adrenal steroids: Effects of angiotensin II, adrenocorticotropin, and potassium, *J. Clin. Invest.* 44, 2029 - 2039, 1965
  - 65) Karim, A., R.E. Ranney, H.J. Maibach, Pharmacokinetic and metabolic fate of potassium canrenoate (SC-14 266) in man, *J. Pharm. Sci.* 60, 708 - 715, 1971
  - 66) Karim, A., E.A. Brown, Isolation and identification of novel sulfur-containing metabolites of spironolactone (aldactone®), *Steroids* 20, 41 - 62, 1972
  - 67) Karim, A., J. Hribar, W. Aksamit, M. Doherty, L.J. Chinn, Spironolactone metabolism in man studied by gas chromatography-mass spectrometry, *Drug Metab. Dispos.* 3, 467 - 478, 1975
  - 68) Karim, A., J. Zagarella, J. Hribar, M. Dooley, Spironolactone. I. Disposition and metabolism, *Clin. Pharmacol. Ther.* 19, 158 - 169, 1976
  - 69) Kittinger, G.W., B.C. Wexler, B.F. Miller, Effect of aldosterone antagonist on in vitro production of aldosterone and corticosterone in rats, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 105, 394 - 395, 1960

- 70) Klumpp, F., B. Braun, D. Klaus, R. Lemke, J. Zehner, P. Zöfel, Spironolacton und Thiabutazid bei der Behandlung der essentiellen Hypertonie, Dtsch. Med. Wochenschr. 100, 577 - 584, 1975
- 71) Koczorek, K.R., Die aldosteron-antagonistischen Spirolactone. Grundlagen ihrer Indikation und Anwendung, Internist 2, 640 - 654, 1961
- 72) Landau, R.L., D.M. Bergenstal, K. Lugibihl, M.E. Kascht, The metabolic effects of progesterone in man, J. Clin. Endocrinol. Metab. 15, 1194 - 1215, 1955
- 73) Landau, R.L., K. Lugibihl, Inhibition of the sodium-retaining influence of aldosterone by progesterone, J. Clin. Endocrinol. Metab. 18, 1237 - 1245, 1958
- 74) Laragh, J.H., M. Angers, W.G. Kelly, S. Lieberman, Hypotensive agents and pressor substances: The effect of epinephrine, norepinephrine, angiotensin II and others on the secretory rate of aldosterone in man, J. Am. Med. Assoc. 174, 234 - 240, 1960
- 75) Laragh, J.H., J.E. Sealey, H.R. Brunner, The control of aldosterone secretion in normal and hypertensive man: abnormal renin-aldosterone patterns in low renin hypertension, In: Hypertension Manual, J.H. Laragh (Ed.) Dun-Donnelly, New York, 197 - 225, 1974
- 76) Lehmann, K., Trennung, Isolierung und Identifizierung von Stoffwechselprodukten des Triamterens, Arzneim.-Forsch. 15, 812 - 816, 1965
- 77) Levitt, J.I., Spironolactone therapy and amenorrhea, J. Am. Med. Assoc. 211, 2014 - 2015, 1970
- 78) Liddle, G.W., Aldosterone antagonists, Arch. Intern. Med. 102, 998 - 1004, 1958
- 79) Liddle, G.W., Aldosterone antagonists and triamterene, Ann. N.Y. Acad. Sci. 139, 466 - 470, 1966

- 80) Lommer, D., G. Düsterdieck, J. Jahnecke, P. Vecsei, H.P. Wolff, Sekretion, Plasmakonzentration, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung von Aldosteron bei Gesunden und Kranken, *Klin. Wochenschr.* 46, 741 - 751, 1968
- 81) Loriaux, D.L., R. Menard, A. Taylor, J.C. Pita, R. Santen, Spironolactone and endocrine dysfunction, *Ann. Intern. Med.* 85, 630 - 636, 1976
- 82) Luetscher, J.A., E.W. Hancock, C.A. Camargo, A.J. Dowdy, G.W. Nokes, Conjugation of 1,2-<sup>3</sup>H-Aldosterone in human liver and kidneys and renal extraction of aldosterone and labelled conjugates from blood plasma, *J. Clin. Endocrinol.* 25, 628 - 638, 1965
- 83) Mann, N.M., Gynecomastia during therapy with spironolactone, *J. Am. Med. Assoc.* 184, 778 - 780, 1963
- 84) Mason, P., R. Fraser, J. Morton, P. Semple, A. Wilson, The effect of angiotensin II infusion on plasma corticosteroid concentrations in normal man, *J. Steroid Biochem.* 7, 859 - 861, 1976
- 85) Mattern, H.R., W. Schaumann, Extrarenal effects of aldosterone antagonists in guinea pigs. I Enhanced transport of potassium into the cells, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 279, 1 - 8, 1973
- 86) Melby, J.C., Intermediary metabolism of aldosterone, In: *Handbook Exp. Pharmacol.*, Bd. 37 - Angiotensin, H. Herken (Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 298 - 321, 1969
- 87) Melby, J.C., S.L. Dale, T.E. Wilson, 18-Hydroxydeoxycorticosterone in human hypertension, *Circ. Res. Suppl.* 2 to 28 - 29, 143 - 152, 1971
- 88) Menard, R.H., J.L. Purvis, Studies of cytochrome P-450 in testis microsomes, *Arch. Biochem. Biophys.* 154, 8 - 18, 1973

- 89) Menard, R.H., B. Stripp, J.R. Gillette, Spironolactone and testicular cytochrome P-450: Decreased testosterone formation in several species and changes in hepatic drug metabolism, *Endocrinology* 94, 1628 - 1636, 1974
- 90) Menard, R.H., H.F. Martin, B. Stripp, J.R. Gillette, F.C. Bartter, Spironolactone and cytochrome P-450: Impairment of steroid hydroxylation in the adrenal cortex, *Life Sci.* 15, 1639 - 1648, 1975
- 91) Meurer, K.A., Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, In: *Kurzmonographien Sandoz*, Bd. 14, Sandoz AG (Ed.), Nürnberg, 1975
- 92) Mills, I.H., Primary aldosteronism, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 3, 593 - 608, 1974
- 93) Möhring, J., B. Möhring, W. Siegenthaler, Zum extrahepatischen Stoffwechsel von Aldosteron. III. Mitteilung. Bildung und Ausscheidung von 18-Aldosteron-glukuronid in den Nieren des Menschen, *Z. Gesamte Exp. Med.* 146, 336 - 345, 1968
- 94) Mroczek, W.J., M.E. Davidov, A. Horoschak, F.A. Finnerty, Canrenoate in normal man, *Clin. Pharmacol. Ther.* 16, 336 - 342, 1974
- 95) Müller, J., Aldosterone stimulation in vitro. III Site of action of different aldosterone-stimulating substances on steroid biosynthesis, *Acta Endocrinol. (Copenhagen)* 52, 515 - 526, 1966
- 96) Müller, J., Alterations of aldosterone biosynthesis by rat adrenal tissue due to increased intake of sodium and potassium, *Acta Endocrinol. (Copenhagen)* 58, 27 - 37, 1968
- 97) Müller, J., W.H. Ziegler, Stimulation of aldosterone biosynthesis in vitro by serotonin, *Acta Endocrinol. (Copenhagen)* 59, 23 - 35, 1968

- 98) Müller, J., Alternate pathways of aldosterone biosynthesis, *Acta Endocrinol.*, Suppl. 212, 91, 1977
- 99) Mulrow, P.J., R. Noth, S.Y. Tan, B. Forman, A. Fernandez-Cruz, Effect of antagonists of angiotensin II and aldosterone upon plasma levels of adrenal mineralocorticoids, In: *Systemic effects of anti-hypertensive agents*, M.P. Sambhi (Ed.), New York, Stratton, 465 - 478, 1976
- 100) Newsome, H.H., F.C. Bartter, Plasma renin activity in relation to serum sodium concentration and body fluid balance, *J. Clin. Endocrinol.* 28, 1704 - 1711, 1968
- 101) Nocke, L., H. Breuer, R. Klink, J.R. Lichton, W. Nocke, Wirkung von Spironolacton auf die Ausscheidung von C 21-, C 19- und C 18-Steroiden im Urin bei Schwangeren und Nichtschwangeren, *Acta Endocrinol.* (Copenhagen), Suppl. 152, 41, 1971
- 102) Oelkers, W., M. Schoeneshöfer, A. Blümel, Effects of progesterone and four synthetic progestagens on sodium balance and the renin-aldosterone system in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 882 - 890, 1974
- 103) Oelkers, W., J.J. Brown, R. Fraser, A.F. Lever, J.J. Morton, J.I.S. Robertson, Sensitization of the adrenal cortex to angiotensin II in sodium-deplete man, *Circ. Res.* 34, 69 - 77, 1974
- 104) Oelkers, W., M. Schoeneshöfer, G. Schultze, J.J. Brown, R. Fraser, J.J. Morton, A.F. Lever, J.I.S. Robertson, Effect of prolonged low-dose angiotensin II infusion on the sensitivity of adrenal cortex in man, *Circ. Res.*, Suppl. I to Vol. 36 - 37, 49 - 56, 1975
- 105) Oelkers, W., M. Schoeneshöfer, G. Schultze, M. Wenzler, B. Bauer, M. L'age, H.L. Fehm, Prolonged infusions of Ile<sup>5</sup>-Angiotensin-II in sodium replete and deplete man: effects on aldosterone, ACTH, cortisol, blood pressure,

and electrolyt-balance, J. Clin. Endocrinol. Metab. 46, 402 - 413, 1978

- 106) Pentikainen, P.J., L.A. Pentikainen, D.H. Huffmann, D.L. Azarnoff, The effect of spironolactone on plasma levels and excretion of testosterone and oestrogens in the urine in males, J. Int. Med. Res. 2, 439 - 443, 1974
- 107) Rado, J.P., I. Sawinsky, E. Juhos, Reversal of the suppressed potassium excretion during treatment with combinations of antikaliuretic drugs (spironolactone, canrenone, triamterene, amiloride) in patients with liver cirrhosis, Int. J. Clin. Pharmacol. 14, 163 - 176, 1976
- 108) Ramsay, L., J.R. Shelton, D. Wilkinson, M.J. Tidd, Canrenone - the principal active metabolite of spironolactone, Br. J. Clin. Pharmac. 3, 607 - 612, 1976
- 109) Rapp, J.P., Adrenal steroidogenesis and serum renin in rats bred for iuxtaglomerular granularity, Am. J. Physiol. 216, 860 - 868, 1969
- 110) Read, V.H., C.S. McCaa, L.L. Sulya, Effect of sodium deprivation on the tissue uptake and metabolism of <sup>3</sup>H-1,2-d-aldosterone in rats, Endocrinology 85, 1079 - 1083, 1969
- 111) Sadée, W., M. Dagcioglu, S. Riegelmann, Fluorometric microassay for spironolactone and its metabolites in biological fluids, J. Pharm. Sci. 61, 1126 - 1129, 1972
- 112) Sadée, W., S. Riegelmann, S. Jones, Plasma levels of spironolactone in the dog, J. Pharm. Sci. 61, 1129 - 1132, 1972
- 113) Sadée, W., M. Dagcioglu, R. Schröder, Pharmacokinetics of spironolactone, canrenone and canrenoate-K in humans, J. Pharmacol. Exp. Ther. 185, 686 - 695, 1973

- 114) Sadée, W., U. Abshagen, C. Finn, N. Rietbrock, Conversion of spironolactone to canrenone and disposition kinetics of spironolactone and canrenoate-potassium in rats, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 283, 303 - 318, 1974
- 115) Sadée, W., A.M. Finn, P. Schmiedek, A. Baethmann, Aldosterone plasma radioimmunoassay interference by spiro lactone metabolite, *Steroids* 25, 301 - 311, 1975
- 116) Schaumann, W., Zum Wirkungsmechanismus von 2-, 4-, 7-Triamino-6-phenylpteridin (Triamteren), *Klin. Wochenschr.* 40, 756, 1962
- 117) Schoeneshöfer, M., Simultaneous determination of eight adrenal steroids in human serum by radioimmunoassay, *J. Steroid Biochem.* 8, 995 - 1009, 1977
- 118) Schoeneshöfer, M., Computer program for evaluation, physicochemical characterization and optimization of competitive protein binding assays: comparison of four curve-fitting models in peptide and steroid radioimmunoassays, *Clin. Chim. Acta* 77, 101 - 115, 1977
- 119) Schultis, K., J.C. Witgert, O. Hahn, Zum Effekt von Aldactone beim experimentellen Hyperaldosteronismus auf Nebennieren-Hormone und den Ionenhaushalt männlicher Probanden, In: *Extrarenal activity of aldosterone and its antagonists*, Excerpta Medica, Amsterdam, 28 - 30, 1972
- 120) Selye, H., I. Mécs, T. Tamura, Effect of spironolactone and norbolethone on the toxicity of digitalis compounds in the rat, *Br. J. Pharmacol.* 37, 485 - 488, 1969
- 121) Sharp, G.W., C.L. Komack, A. Leaf, Studies on the binding of aldosterone in the toad bladder, *J. Clin. Invest.*



- 45, 450 - 459, 1966
- 122) Siiteri, P., Comment on spironolactone inhibition of C 19-steroids, In: Normal and abnormal growth of the prostate, M. Goland (Ed.), Springfield, Illinois, 844 - 845, 1975
  - 123) Simpson, E.R., G.S. Boyd, The cholesterol side-chain cleavage system of bovine adrenal cortex, Eur. J. Biochem. 2, 275 - 285, 1967
  - 124) Singer, B., Effect of aldosterone-antagonist, SC 8109, on the secretion of aldosterone in normal rats, Endocrinology 65, 512 - 514, 1959
  - 125) Solymoss, B., H.G. Classen, S. Varga, Increased hepatic microsomal activity induced by spironolactone and other steroids, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132, 940 - 942, 1969
  - 126) Solymoss, B., S. Toth, S. Varga, M. Krajny, The influence of spironolactone on its own biotransformation, Steroids 16, 263 - 275, 1970
  - 127) Solymoss, B., S. Varga, H.G. Classen, Effect of various steroids on microsomal aliphatic hydroxylation and N-dealkylation, Eur. J. Pharmacol. 10, 127 - 130, 1970
  - 128) Solymoss, B., S. Varga, M. Krajny, J. Weringloer, Influence of spironolactone and other steroids on the enzymatic decay and anticoagulant activity of bishydroxycoumarin, Thromb. Diath. Haemorrh. 23, 562 - 568, 1970
  - 129) Solymoss, B., S. Varga, M. Krajny, Effect of spironolactone, norbolethone, progesterone, hydroxydione and  $\beta$ -dimethylaminoethyl diphenylpropylacetate on the disappearance rate of indometacin from blood, Arzneim.-Forsch. 21, 384 - 386, 1971
  - 130) Solymoss, B., A. Somogyi, K. Kovacs, Effect of spironolactone and proadifen on 7, 12-dimethylbenz(a) anthracene-induced haematologic changes, Haematologia 5, 87 - 96. 1971

- 131) Solymoss, B., S. Toth, S. Varga, H. Selye, Protection by spironolactone and oxandrolone against chronic digitoxin or indometacin intoxication, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 18, 586 - 592, 1971
- 132) Spark, R.F., J.C. Melby, Aldosteronism in hypertension: the spironolactone response test, *Ann. Intern. Med.* 69, 685 - 691, 1958
- 133) Steelman, S.L., J.R. Brooks, E.R. Morgan, D.J. Patanelli, Antiandrogenic activity of spironolactone, *Steroids* 14, 449 - 450, 1969
- 134) Stokes, J.F., Unexpected gynaecomastia, *Lancet* 2, 911 - 913, 1962
- 135) Stripp, B., M.E. Hamrick, N.G. Zampaglione, J.R. Gillette, The effect of spironolactone on drug metabolism by hepatic microsomes, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 176, 766 - 771, 1971
- 136) Stripp, B., R.H. Menard, N.G. Zampaglione, M.E. Hamrick, J.R. Gillette, Effect of steroids on drug metabolism in male and female rats, *Drug Metab. Dispos.* 1, 216 - 221, 1973
- 137) Stripp, B., A.A. Taylor, F.C. Bartter, J.R. Gillette, D.L. Loriaux, R. Easley, R.H. Menard, Effect of spironolactone on sex hormones in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41, 777 - 781, 1975
- 138) Sundsfjord, J.A., P. Marton, H. Jørgensen, A. Aakvaag, Reduced aldosterone secretion during spironolactone treatment in primary aldosteronism: report of a case, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 734 - 739, 1974
- 139) Swaneck, G.E., L.L.H. Chu, J.S. Edelman, Stereospecific binding of aldosterone to renal chromatin, *J. Biol. Chem.* 245, 5382 - 5389, 1970
- 140) Tan, S.Y., P.J. Mulrow, Interference of spironolactone in 11-deoxycorticosterone radioassays, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41, 791 - 792, 1975

- 141) Tan, S.Y., P.J. Mulrow, Plasma 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone in spironolactone-treated hypertensives, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44, 1200 - 1202, 1977
- 142) Taylor, S.A., M.D. Rawlins, S.E. Smith, Spironolactone - a weak enzyme inducer in man, *J. Pharm. Pharmacol.* 24, 578 - 579, 1972
- 143) Vander, A.J., W.S. Wilde, R.L. Malvin, Stop flow analysis of aldosterone and steroidal antagonist SC-8109 on renal tubular sodium transport kinetics, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 103, 525 - 527, 1960
- 144) Vaughan, E.D., J.H. Laragh, J. Gavras, F.R. Bühler, H. Gavras, H.R. Brunner, L. Baer, Volume factor in low and normal renin essential hypertension - treatment with either spironolactone or chlorthalidone, *Am. J. Cardiol.* 32, 523 - 532, 1973
- 145) Vecsei, P., D. Lommer, H.G. Steinacker, H.P. Wolff, Changes of 18-hydroxycorticosterone and aldosterone synthesis in rat adrenals in vitro after renal hypertension, nephrectomy, and variation of sodium intake in vivo, *Eur. J. Steroids* 1, 91 - 101, 1966
- 146) Vecsei, P., B. Penke, A. Joumaah, Radioimmunoassay of free aldosterone and its 18-oxo-glucuronide in human urine, *Experientia* 28, 622 - 624, 1972
- 147) Vetter, H., W. Vetter, R. Beckerhoff, K. Glänzer, J. Furrer, Ch. Hahn, R. Kolloch, F. Krück, K. Kutz, W. Siegenthaler, F. Witassek, Aldosteron und Renin bei Leberzirrhose mit Aszites, *Schweiz. Med. Wochenschr.* 107, 1755 - 1759, 1977
- 148) Vetter, H., M. Appenheimer, R. Lucas, H. Weiland, M.L. Herschbach, K. Glänzer, F. Witassek, F. Krück, Effect of a spironolactone on plasma and urinary aldosterone in primary aldosteronism, *Horm. Res.* 8, 23 - 28, 1977

- 149) Wagner, H., F. Weist, L. Zicha, Aldadien und andere Metaboliten im Blut und Harn nach rectaler Applikation von Spironolacton und intravenöser Injektion von Aldadien-Kalium, *Arzneim.-Forschung*. 17, 415 - 419, 1967
- 150) Walsh, P.C., P.K. Siiteri, Spironolactone-induced suppression of plasma testosterone, androstendione, and dehydroepiandrosterone in orchietomized men with carcinoma of the prostate, In: *Normal and abnormal growth of the prostate*, M. Goland (Ed.), Springfield, Illinois, 846 - 849, 1975
- 151) Werning, C., W. Siegenthaler, Die Regulation der Aldosteronsekretion, *Klin. Wochenschr.* 49, 375 - 384, 1971
- 152) Wiebelhaus, V.D., J. Weinstock, F.T. Brennan, G. Sosnowski, Th.J. Larsen, A potent, non steroidal orally active antagonist of aldosterone, *Fed. Proc.* 20, 409, 1961
- 153) YoungLai, E.V., S.L. Smith, E. Choy, Interference by spironolactone of radioassays for progesterone and estrogen, *Horm. Metab. Res.* 7, 364 - 365, 1975

Alle Abkürzungen für Zeitschriftentitel wurden - soweit vorhanden - entnommen aus "Bibliographic Guide for Editors and Authors", herausgegeben von "The American Chemical Society, Washington, D.C., 1974".



Meinen Dank möchte ich aussprechen

Herrn Priv.-Doz. Dr. U. Abshagen für die Überlassung des  
Themas und für die stetige Unterstützung und Beratung  
während der gesamten Arbeit,

den Herren Professor Dr. W. Oelkers, Priv.-Doz. Dr. L'age  
und Dr. M. Schoeneshöfer für die Hilfe bei der Einarbeitung  
in Thema und methodischer Ausführung,

Frau H. Salzmann für die Hilfe bei der Einarbeitung im Labor,  
Frau H. Harendt und Frau H. Zimmermann für die Durchführung  
von verschiedenen Bestimmungen.



## L E B E N S L A U F

Am 2. März 1952 wurde ich als erstes Kind des Landwirts Albin Spörl und seiner Ehefrau Johanna, geb. Barnickel in Hadermannsgrün geboren.

Von 1958 bis 1962 besuchte ich die einklassige Volksschule in Hadermannsgrün, daran schloß sich der Besuch des Städt. Mädchengymnasiums Hof an, wo ich 1971 die Reifeprüfung ablegte. Zum Wintersemester 1971/72 folgte die Zulassung zum Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Dort bestand ich 1972 die naturwissenschaftliche und 1973 die ärztliche Vorprüfung. Entsprechend der Approbationsordnung für Ärzte legte ich in den Jahren 1974, 1976 und nach Absolvierung des Praktischen Jahres 1977 die Abschnitte I bis III der Ärztlichen Prüfung ab. Am 24. Oktober 1977 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Seit dem 1. Dezember 1977 arbeite ich als Wissenschaftliche Assistentin unter der Führung von Herrn Priv.-Doz. Dr. U. Abshagen in der Abteilung für Klinische Pharmakologie der Fa. Boehringer Mannheim. Zur Zeit beschäftige ich mich dort vorwiegend mit pharmakodynamischen insbesondere kreislaufphysiologischen Untersuchungen.

Mit pharmakologisch-endokrinologischen Fragestellungen beschäftige ich mich seit 1975, zunächst im Rahmen der hier vorgelegten Dissertation, später in meiner Tätigkeit als Studentische Hilfskraft.



