

Aus der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Nephrologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Effekte des Lymphozytenmodulators FTY720 auf den Verlauf der
akuten und chronischen
Anti-Thy1-induzierten renalen Matrixexpansion

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Sebastian Martini

aus Leipzig

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. H. Peters
2. Prof. Dr. med. M. van der Giet
3. Prof. Dr. med. F. Strutz

Datum der Promotion: 23. Juni 2006

Für Helge und Lothar Martini

1	Einleitung	7
1.1	Epidemiologie chronischer Niereninsuffizienz	8
1.2	Nierenfibrose als Folge überschießender Gewebsreparatur	8
1.3	Histologie und molekulare Mechanismen der Matrixakkumulation	9
1.4	Transforming Growth Factor- β als Schlüsselmediator der Matrixakkumulation	9
1.5	Therapeutische Strategien bei Nierenfibrose	10
1.6	Makrophagen und Lymphozyten bei Nierenerkrankungen	11
1.7	Lymphozytenmodulator FTY720	12
1.8	Modell der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis und chronischen Anti-Thy1- Glomerulosklerose	12
1.9	Fragestellung	14
2	Material und Methoden	16
2.1	Materialien	16
2.2	Tierversuch	17
2.2.1	Tiere und Tierhaltung	18
2.2.2	Herstellung des OX-7 Antikörpers	18
2.2.3	Antikörper mAb 1-22-3	19
2.2.4	Induktion der Erkrankung	20
2.3	Futter und Trinkwasser	20
2.3.1	Wirkstoff FTY720	21
2.3.2	Wirkstoffzubereitung	22
2.4	Studienprotokolle	23
2.4.1	Protokoll 1 – Einfluss von FTY720 auf die Mesangialzellyse bei akuter Anti-Thy1- Glomerulonephritis	23
2.4.2	Protokoll 2 – Einfluss von FTY720 auf die Matrixexpansion bei akuter Anti-Thy1- Glomerulonephritis	23
2.4.3	Protokoll 3 – Einfluss von FTY720 auf die Progression chronischer Anti-Thy1- Glomerulosklerose	24
2.5	Versuchsparameter	25
2.5.1	Blutdruckmessung	25
2.5.2	Urinsammlung	25
2.5.3	Nierenentnahme	26
2.5.4	Nierenaufarbeitung und Isolierung der Glomerula für die Zellkultur	26
2.5.5	Kortikale und glomeruläre Zellkultur	27
2.6	Messung der Krankheitsparameter	28
2.6.1	Messung der Proteinurie	28
2.6.2	Histologie	28

2.6.3	Immunhistologie.....	31
2.6.4	Enzym Linked Immuno Sorbent Assay – ELISA.....	32
2.6.5	Blutuntersuchungen	35
2.7	Statistische Auswertung	36
3	Ergebnisse	37
3.1	Protokoll 1 - Wirkung von FTY720 auf die Mesangialzellschädigung bei akuter Anti-Thy1-Glomerulonephritis	37
3.1.1	Gewichtsverhalten	37
3.1.2	Aufgenommene Menge von FTY720.....	37
3.1.3	Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut	38
3.1.4	Blutdruck und Herzfrequenz.....	40
3.1.5	Proteinurie	42
3.1.6	Mesangialzellschädigung	43
3.1.7	Glomeruläre NO-Produktion.....	44
3.1.8	Zusammenfassung Protokoll 1.....	45
3.2	Protokoll 2 - Wirkung von FTY720 auf die TGF- β 1-Expression und Matrixexpansion nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis	46
3.2.1	Gewichtsverhalten	46
3.2.2	Aufgenommene Menge von FTY720.....	46
3.2.3	Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut	47
3.2.4	Blutdruck und Herzfrequenz.....	49
3.2.5	Proteinurie	51
3.2.6	Glomerulärer Matrixgehalt.....	52
3.2.7	Glomeruläre TGF- β 1- Expression	53
3.2.8	Glomeruläre Fibronektinexpression	54
3.2.9	Glomeruläre PAI-1- Expression.....	55
3.2.10	Zusammenfassung Protokoll 2.....	55
3.3	Protokoll 3 - Wirkung von FTY720 20 Wochen nach Induktion der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose	57
3.3.1	Gewichtsverhalten	57
3.3.2	Aufgenommene Menge von FTY720.....	57
3.3.3	Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut	58
3.3.4	Blutdruck und Herzfrequenz.....	60
3.3.5	Proteinurie	62
3.3.6	Lichtmikroskopie	63
3.3.7	Tubulointerstitielle Matrixakkumulation.....	64
3.3.8	Tubulointerstitielle TGF- β 1- Expression	65

3.3.9	Tubulointerstitielle Fibronectinexpression	66
3.3.10	Tubulointerstitielle PAI-1- Expression.....	67
3.3.11	Glomeruläre Matrixakkumulation.....	68
3.3.12	Glomeruläre TGF- β 1- Expression	69
3.3.13	Glomeruläre Fibronectinexpression.....	70
3.3.14	Glomeruläre PAI-1- Expression.....	71
3.3.15	Nierenfunktionsparameter	71
3.3.16	Renale Leukozyteninfiltration im Tubulointerstitium.....	74
3.3.17	Renale Leukozyteninfiltration im Glomerulum	76
3.3.18	Zusammenfassung Protokoll 3.....	78
4	Diskussion.....	79
4.1	Methodenkritik	79
4.2	Fibroseparameter	81
4.3	Wirkung der FTY720-Gabe auf die Mesangialzellschädigung bei akuter Anti-Thy1- Glomerulonephritis (Protokoll 1)	82
4.3.1	Wirkung von FTY720 auf Mesangialzellschädigung und Proteinurie	82
4.3.2	Wirkung von FTY720 auf Blutdruck und Herzfrequenz.....	82
4.4	Wirkung der FTY720-Gabe auf die Matrixexpansion nach Induktion akuter Anti-Thy1- Glomerulonephritis (Protokoll 2)	83
4.4.1	Wirkung von FTY720 auf glomeruläre Matrixakkumulation und Proteinurie	83
4.4.2	Wirkung von FTY720 auf Blutdruck und Herzfrequenz.....	85
4.5	Wirkung der FTY720-Gabe auf die Progression der chronischen Anti-Thy1- Glomerulosklerose (Protokoll 3)	85
4.5.1	Wirkung von FTY720 auf tubulointerstitielle Matrixakkumulation und Proteinurie ..	85
4.5.2	Wirkung von FTY720 auf glomeruläre Matrixakkumulation	86
4.5.3	Wirkung von FTY720 auf die Nierenfunktion.....	87
4.5.4	Wirkung von FTY720 auf Lymphozyten	87
4.6	Lymphozyten und renale Matrixakkumulation	88
4.7	FTY720 im Vergleich zu Mycophenolat-Mofetil (MMF).....	89
4.8	Lymphozyten und Progression chronischer Erkrankungen – ein Ausblick.....	91
5	Zusammenfassung.....	93
	Literaturverzeichnis	95
	Erklärung	101
	Curriculum vitae	102
	Danksagung.....	104