

3 Ergebnisse

3.1 Protokoll 1 - Wirkung von FTY720 auf die Mesangialzellschädigung bei akuter Anti-Thy1-Glomerulonephritis

3.1.1 Gewichtsverhalten

Die Tiere in Protokoll 1 erreichten am Tag der Nierenentnahme die in Tab. 9 dargestellten Gewichte. Unterschiede innerhalb der Gruppen erreichten keine statistische Signifikanz.

Protokoll 1 Gruppe	Gewicht in g
aGN	247 ± 9
aGN und FTY720	257 ± 2
Gesunde Kontrollen	255 ± 3

Tab.9: Körpergewicht je Behandlungsgruppe 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $P = NS$

3.1.2 Aufgenommene Menge von FTY720

In Protokoll 1 betrug die tatsächlich aufgenommene Menge des Medikaments FTY720: $0,29 \pm 0,08$ mg/kg Körpergewicht/Tag und erreichte damit fast genau die erstrebte Zielgröße von $0,3$ mg/kg Körpergewicht/Tag. Die Gabe begann 5 Tage vor Injektion des Antikörpers und wurde bis zum Zeitpunkt der Nierenentnahme fortgeführt.

3.1.3 Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut

Die Gabe von FTY720 bewirkte bei den behandelten Tieren eine signifikante Abnahme der Leukozytenzahlen um 78 % einen Tag nach der Induktion der akuten Glomerulonephritis und 6 Tage nach Beginn der Behandlung mit FTY720. Bei den gesunden Kontrolltieren konnten Leukozytenzahlen von $7,7 \pm 0,8 \times 1000/\mu\text{l}$, bei den kranken unbehandelten Tieren von $5,0 \pm 0,4 \times 1000/\mu\text{l}$ und bei den mit FTY720 behandelten kranken Tieren von $1,1 \pm 0,05 \times 1000/\mu\text{l}$ gemessen werden (Abb. 1).

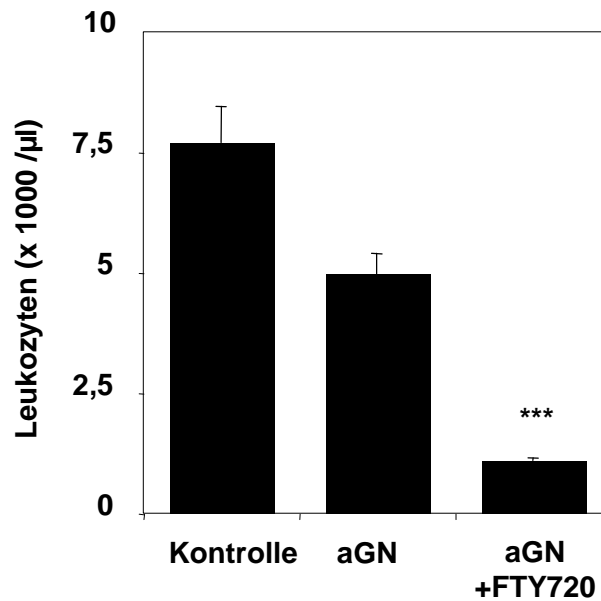


Abb.1: Leukozytenzahl je Behandlungsgruppe 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Leukozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt.
*** $P < 0,001$ vs. aGN

In der Differentialblutbildanalyse zeigte sich, dass dieser Abfall der Leukozytenzahlen überwiegend durch den 89%igen Abfall der Lymphozytenzahl bedingt war. Wie in dem nachfolgenden Diagramm dargestellt, wiesen die gesunden Kontrolltiere Werte von $6,4 \pm 0,8 \times 1000/\mu\text{l}$, die kranken unbehandelten Tiere Werte von $3,7 \pm 0,3 \times 1000/\mu\text{l}$ und die FTY720 behandelten Tiere Werte von $0,4 \pm 0,04 \times 1000/\mu\text{l}$ auf (Abb.2).

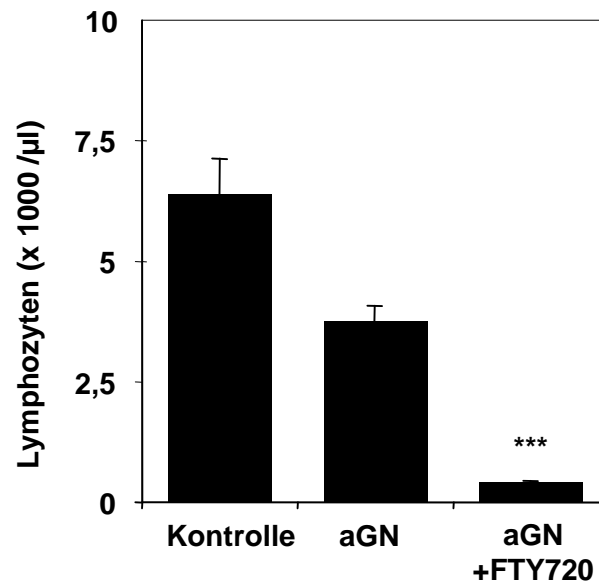


Abb.2: Lymphozytenzahl je Behandlungsgruppe 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Lymphozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt. *** $P < 0,001$ vs. aGN

3.1.4 Blutdruck und Herzfrequenz

Die mittleren Werte der systolischen Blutdruckmessungen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen. Bei allen Tieren konnten normotensive Werte gemessen werden. Gesunde Kontrolltiere wiesen einen Blutdruck von 124 ± 2 mmHg, unbehandelte Kontrolltiere einen Blutdruck von 126 ± 5 mmHg und die mit FTY720 behandelten kranken Tiere Werte von 126 ± 2 mmHg auf. Die folgende Abbildung stellt diese Daten graphisch dar (Abb.3).

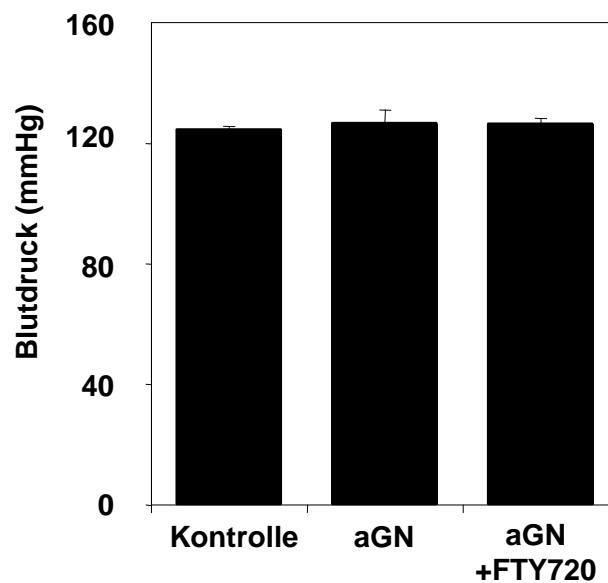


Abb.3: Systolischer Blutdruck je Behandlungsgruppe bei morgendlicher Messung 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Der Blutdruck wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

Auch die Daten der Herzfrequenzmessungen zeigten keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen. Gesunde Kontrolltiere hatten Herzfrequenzen von 425 ± 24 Schlägen pro Minute, unbehandelte Kontrolltiere lagen mit 395 ± 12 Schlägen pro Minute nur wenig darunter. Die FTY720 behandelten Tiere wiesen Werte von 410 ± 5 Schlägen pro Minute auf (Abb.4).

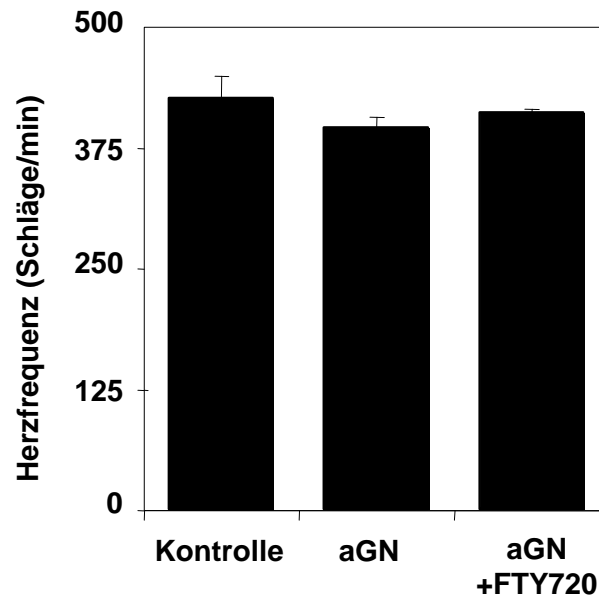


Abb.4: Herzfrequenz je Behandlungsgruppe bei morgendlicher Messung 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Herzfrequenz wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

3.1.5 Proteinurie

Im Vergleich zu den gesunden Kontrolltieren (Kontrolle: $3,4 \pm 1,1$ mg/24h) stieg die Proteinurie bei den unbehandelten kranken Tieren signifikant auf $12,1 \pm 2,7$ mg/24h an. In der mit FTY720 behandelten Tiergruppe ($5,3 \pm 0,9$ mg/24h) wurde die Proteinausscheidung im 24-Stunden Sammelurin signifikant gesenkt. (Abb.5)

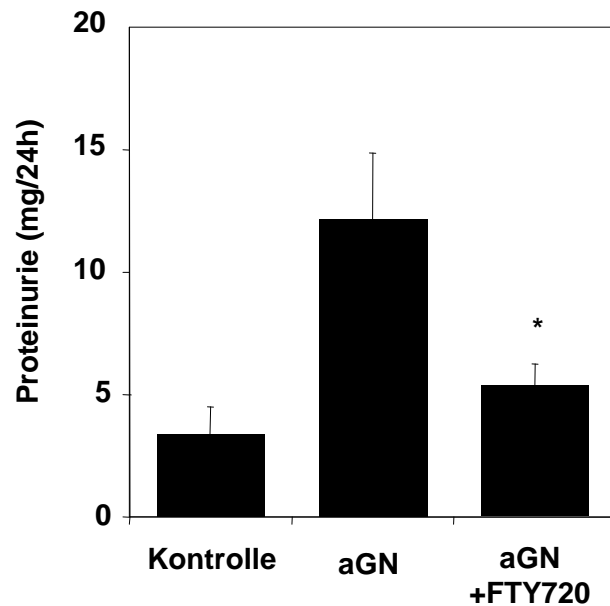


Abb.5: Effekt auf die Proteinurie je Behandlungsgruppe 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $*P < 0,05$ vs. aGN

3.1.6 Mesangialzellschädigung

Die Injektion des OX-7-Antikörpers führte zu einer starken Abnahme der Zellzahl im Glomerulum 24 Stunden nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Bei den normalen Kontrolltieren fanden sich im Mittel $62,5 \pm 0,7$ Zellkerne pro Glomerulum. Bei den unbehandelten Kontrollen verringerte sich die Zellzahl pro Glomerulum auf $45,5 \pm 0,9$. Die Vorbehandlung mit FTY720 führte zu keiner Veränderung der Mesangialzelllyse ($45,1 \pm 0,8$ Zellkerne pro Glomerulum) (Abb.6).

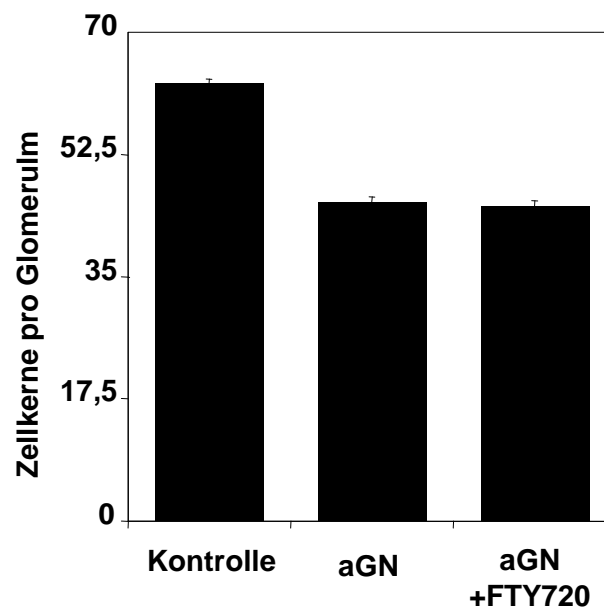


Abb.6: Mesangialzelllyse je Behandlungsgruppe 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Dargestellt ist die glomeruläre Zellzahl. $P = NS$ vs. aGN

3.1.7 Glomeruläre NO-Produktion

Bei den kranken, unbehandelten Tieren fand sich ein im Vergleich zu den gesunden Kontrolltieren ($0,7 \pm 0,3$ nmol/ml) signifikanter Anstieg der NO_x-Konzentration auf $4,1 \pm 1,3$ nmol/ml, so dass hier von einer höheren endogenen NO_x-Produktion auszugehen ist. Ein signifikanter Anstieg konnte auch in der FTY720 behandelten Gruppe ($7,0 \pm 1,6$ nmol/ml) gemessen werden, jedoch unterschied sich deren NO-Konzentration nicht signifikant von den kranken unbehandelten Tieren (Abb.7).

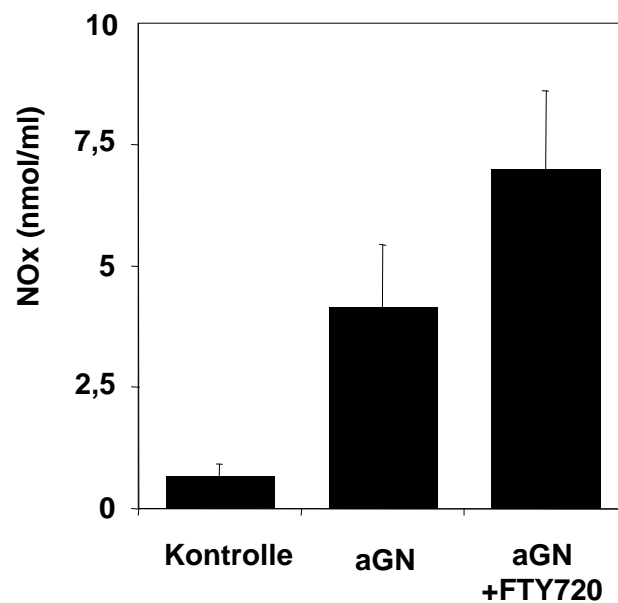


Abb.7: Glomeruläre basale NO_x-Synthese 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $P = NS$ vs. aGN

Im Zellüberstand der LPS-stimulierten Glomerulikulturen ergab sich ein vergleichbares Bild. Normale Kontrollen wiesen eine LPS-stimulierte NO_x-Produktion von $1,9 \pm 0,7$ nmol/ml auf. Während bei nephritischen Tieren ohne Behandlung ($30,8 \pm 4,2$ nmol/ml) und nephritischen Tiere mit FTY720 Behandlung ($35,9 \pm 5,6$ nmol/ml) ein deutlicher Anstieg der LPS-stimulierten NO_x-Produktion zu verzeichnen war (Abb.8).

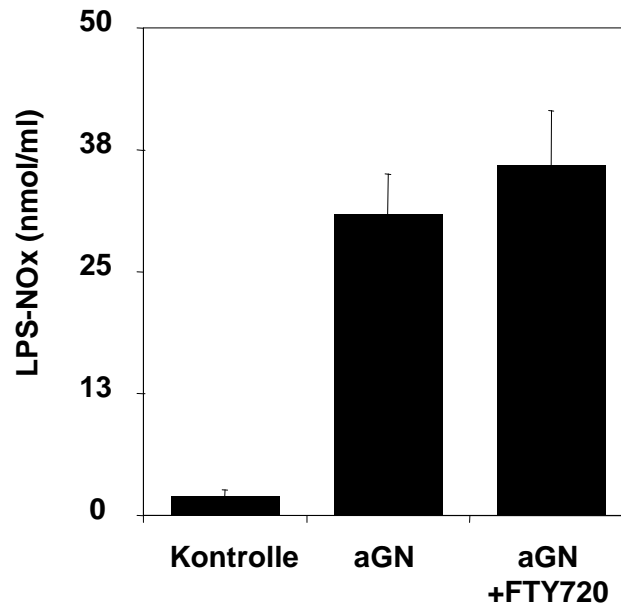


Abb.8: Glomeruläre LPS-stimulierte NO_x-Synthese 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $P = NS$ vs. aGN

3.1.8 Zusammenfassung Protokoll 1

Bei den FTY720-behandelten Tieren erhielten kranke Tiere das Medikament 5 Tage vor Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers in einer Dosierung von $0,29 \pm 0,08$ mg/kg Körpergewicht/Tag. Erwartungsgemäß führte FTY720 zu einer hochsignifikanten Reduktion der Leukozytenzahl und Lymphozytenzahl im peripheren Blut, hatte jedoch keinerlei Einfluss auf das Körpergewicht der Tiere, auf Blutdruck und Herzfrequenz, auf Parameter der Mesangialzelllyse und auf die basale und LPS-stimulierte glomeruläre NO_x-Proteinexpression. Dennoch konnte die Proteinausscheidung durch die FTY720-Gabe deutlich reduziert werden.

3.2 Protokoll 2 - Wirkung von FTY720 auf die TGF- β 1-Expression und Matrixexpansion nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis

3.2.1 Gewichtsverhalten

Bis zum Tag der Nierenentnahme erreichten die Tiere folgende Gewichte (Tab.10). Bei der statistischen Auswertung zeigten sich keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Protokoll 2 Gruppe	Gewicht in g
aGN	254 \pm 12
aGN und FTY720	250 \pm 12
Gesunde Kontrollen	244 \pm 2

Tab.10: Körpergewicht je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $P = NS$

3.2.2 Aufgenommene Menge von FTY720

In Protokoll 2 erhielten die Tiere FTY720 in einer Dosierung von $0,29 \pm 0,11$ mg/kg Körpergewicht/Tag. Diese Dosierung entspricht der Zielkonzentration (0,3 mg/kg Körpergewicht/Tag). Mit der Gabe wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen.

3.2.3 Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut

Erwartungsgemäß bewirkte die Gabe von FTY720 auch hier eine hoch signifikante Reduktion der Leukozytenzahl um 74 % im peripheren Blut am Tag 7 nach Induktion der Glomerulonephritis. Bei gesunden Kontrolltieren wurde eine Leukozytenzahl von $7,6 \pm 0,8 \times 1000/\mu\text{l}$, bei den kranken unbehandelten Tieren von $5,7 \pm 0,3 \times 1000/\mu\text{l}$ und bei den FTY720 behandelten kranken Tieren von $1,5 \pm 0,1 \times 1000/\mu\text{l}$ gemessen (Abb.9).

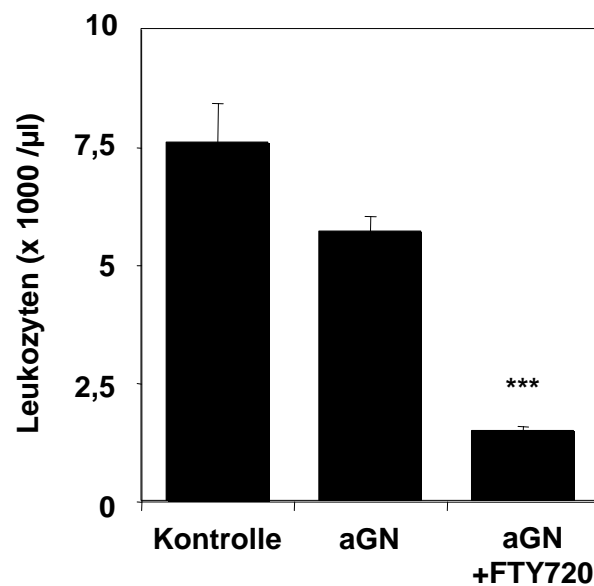


Abb.9: Leukozytenzahl je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Leukozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

*** $P < 0,001$ vs. aGN

In der Differentialblutbildanalyse zeigte sich, dass dieser Abfall der Leukozytenzahlen hauptsächlich durch einen 90%igen Abfall der Lymphozytenzahl bedingt war. Die Vergleichsgruppe der gesunden Kontrolltiere wies Lymphozytenzahlen um $6,7 \pm 0,9 \times 1000/\mu\text{l}$ und die Gruppe der unbehandelten Tiere $4,6 \pm 0,3 \times 1000/\mu\text{l}$ auf. Währenddessen kam es zu einem Abfall der Lymphozyten in der Gruppe der FTY720 behandelten Tiere auf $0,6 \pm 0,04 \times 1000/\mu\text{l}$ (Abb.10).

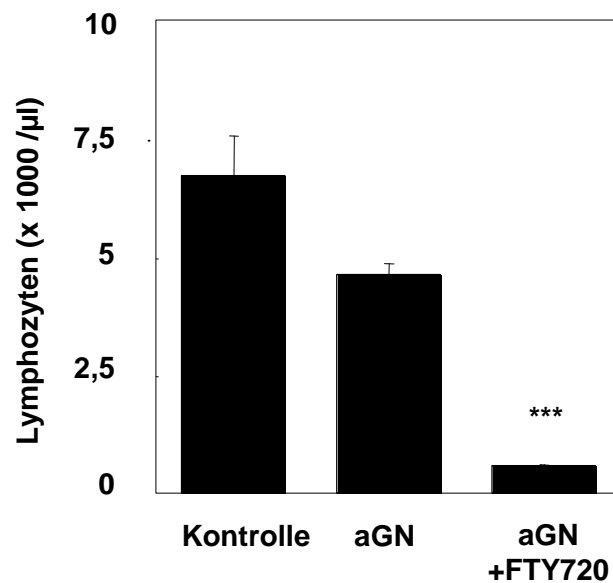


Abb.10: Lymphozytenzahl je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1 Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Lymphozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt. *** $P < 0,001$ vs. aGN

3.2.4 Blutdruck und Herzfrequenz

Die Gabe von FTY720 hatte keinen Einfluss auf den systolischen Blutdruck der Tiere (Abb.11). So wurden Werte von 124 ± 2 mmHg bei den normalen Kontrollen, 126 ± 4 mmHg bei den unbehandelten, kranken Tieren und 126 ± 2 mmHg bei den mit FTY720 behandelten GN-Tieren gemessen.

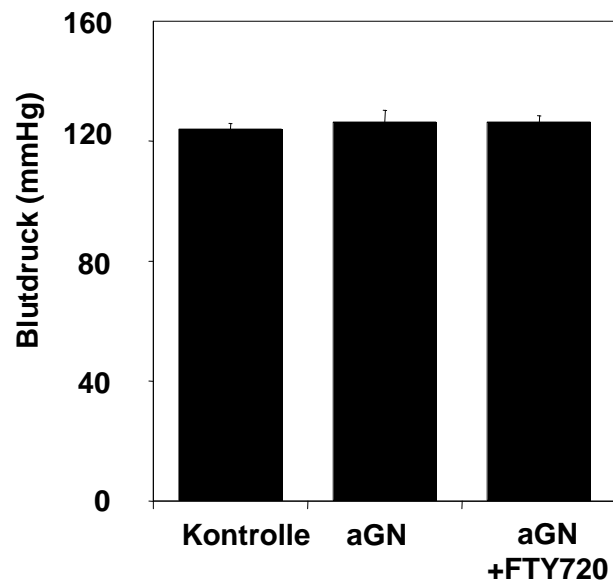


Abb.11: Systolischer Blutdruck je Behandlungsgruppe 6 Tage nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Der Blutdruck wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

Ebenso zeigten die Daten der Herzfrequenz keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen. Gesunde Kontrolltiere wiesen Herzfrequenzen um 409 ± 38 Schlägen/min, kranke unbehandelte Tiere Herzfrequenzen von 386 ± 8 Schlägen/min und die FTY720 behandelten, kranken Tiere Frequenzen von 408 ± 7 Schlägen/min auf (Abb.12).

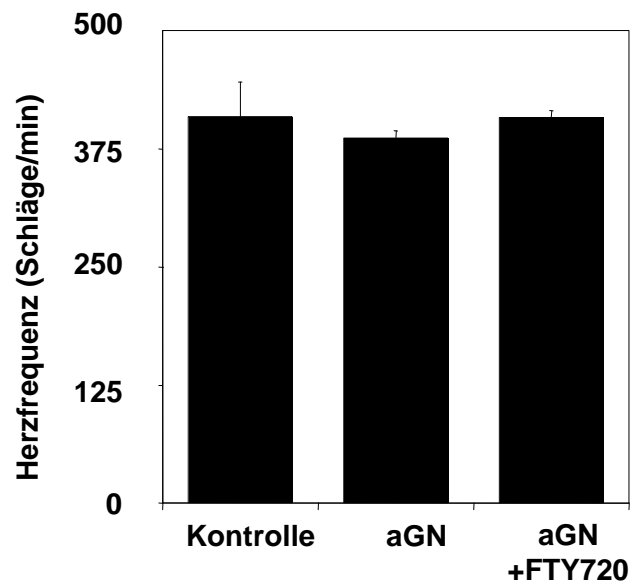


Abb.12: Herzfrequenz je Behandlungsgruppe 6 Tage nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Herzfrequenz wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

3.2.5 Proteinurie

Die Behandlung der Tiere mit FTY720 führte bei den nephritischen Tieren ($28,4 \pm 2,9$ mg/24h) zu einer signifikanten Verminderung der Proteinurie verglichen mit den unbehandelten nephritischen Tieren ($45,5 \pm 7,6$ mg/24h). Erwartungsgemäß wiesen die gesunden Kontrolltiere nur eine geringe Proteinausscheidung im 24 Stunden Sammelurin auf ($5,5 \pm 1,4$ mg/24h) (Abb.13).

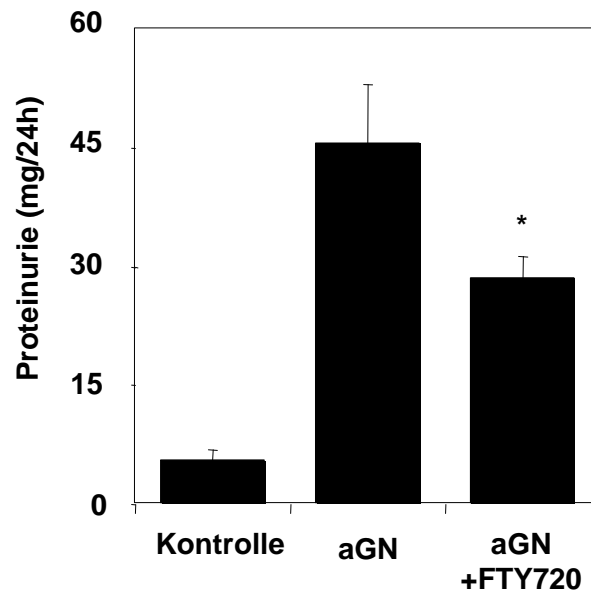


Abb.13: Proteinurie im 24 h Sammelurin je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. $*P < 0,05$ vs. GN

3.2.6 Glomerulärer Matrixgehalt

Die Gabe von FTY720 hatte auch auf den glomerulären Matrixgehalt 7 Tage nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis einen signifikanten Einfluss. Gesunde Kontrolltiere erreichten einen Matrixscore von $0,7 \pm 0,1$, während bei nephritischen Tieren ohne Medikamentengabe ein Matrixscore von $3,1 \pm 0,1$ bestimmt wurde. Die Gabe von FTY720 reduzierte bei aGN-Tieren den glomerulären Matrixgehalt auf einen Score von $2,8 \pm 0,1$ (Abb.14).

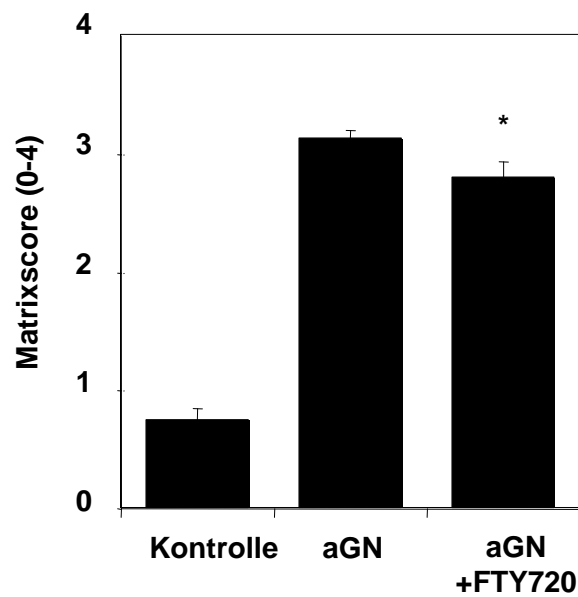


Abb.14: Glomeruläre Matrixakkumulation je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Beim Matrixscore handelt es sich um einen semiquantitativen Score für den Matrixanteil im Glomerulum. * $P < 0,05$ vs. GN

3.2.7 Glomeruläre TGF- β 1- Expression

Verglichen mit den unbehandelten nephritischen Tieren (1189 ± 128 pg/ml) verminderte die Gabe von FTY720 signifikant die TGF- β 1-Expression im Zellüberstand kultivierter Glomeruli (725 ± 84 pg/ml). Gesunde Kontrolltiere zeigten eine TGF- β 1-Konzentration von 117 ± 19 pg/ml (Abb.15).

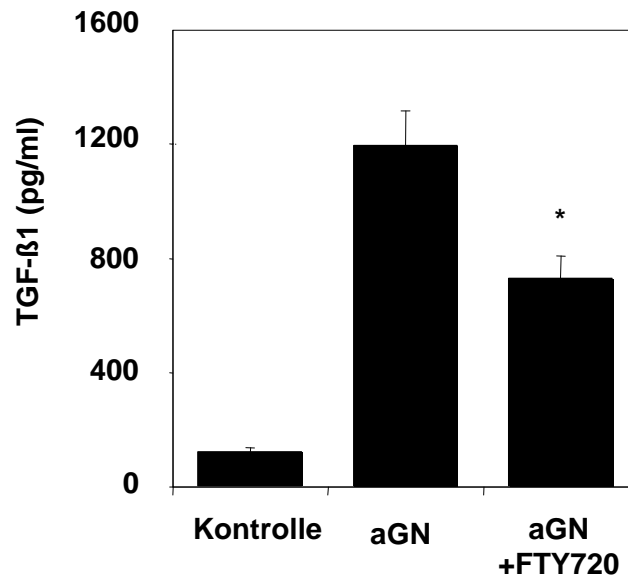


Abb.15: Glomeruläre TGF- β 1-Expression je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die TGF- β 1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. * $P < 0,05$ vs. GN

3.2.8 Glomeruläre Fibronektinexpression

Vergleichbare Daten wie für die TGF- β 1 Messung wurden auch für die Fibronektinexpression gefunden. Bei den normalen Kontrollen fand sich 1424 ± 260 ng/ml Fibronektin im Überstand kultivierter Glomeruli und bei den GN-Tieren 22718 ± 1066 ng/ml. Im Vergleich zu den GN-Tieren bewirkte die FTY720-Gabe eine moderate, aber signifikante Abnahme der glomerulären Fibronektinexpression (19691 ± 748 ng/ml) (Abb.16).

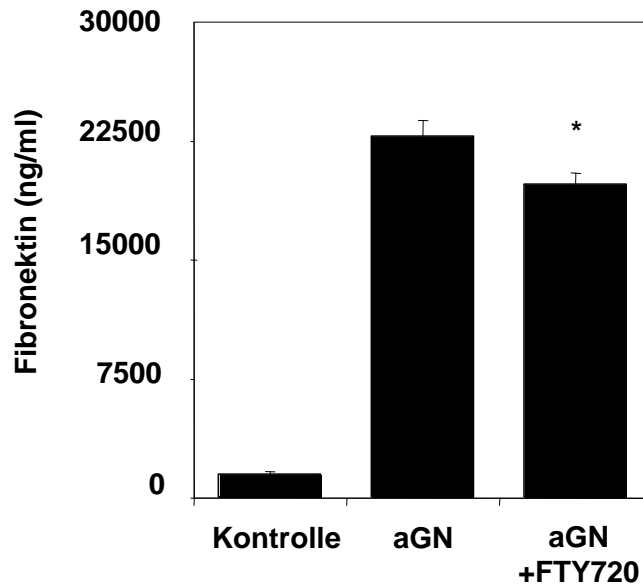


Abb.16: Glomeruläre Fibronektinexpression je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Fibronektin-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. * $P < 0,05$ vs. GN

3.2.9 Glomeruläre PAI-1- Expression

Im Gegensatz zu den vorhergehenden Parametern der Matrixexpansion ergab sich bei der Messung der PAI-1-Expression im glomerulären Zellüberstand kein signifikanter Unterschied zwischen den unbehandelten (848 ± 47 pg/ μ l) und den FTY720-behandelten Tieren (774 ± 18 pg/ μ l). Bei den gesunden Kontrolltieren fiel die PAI-1-Expression erwartungsgemäß deutlich niedriger aus (499 ± 27 pg/ μ l) (Abb.17).

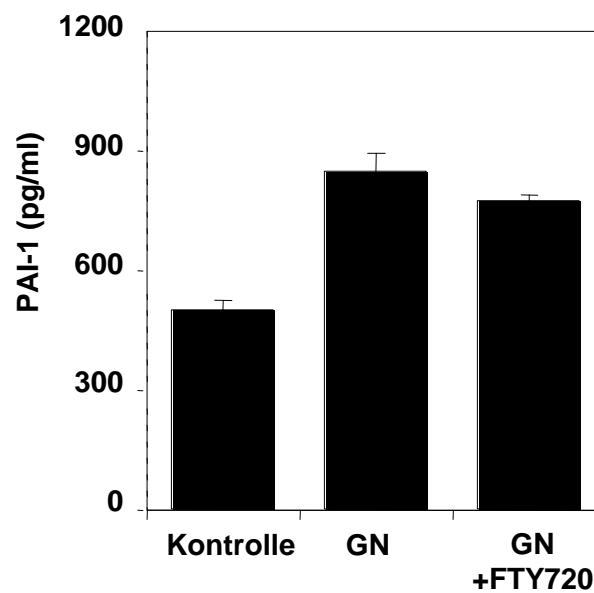


Abb.17: Glomeruläre Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI)-1-Expression je Behandlungsgruppe am Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Die Behandlung mit FTY720 wurde 24 Stunden nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die PAI-1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. $P = NS$ vs. aGN

3.2.10 Zusammenfassung Protokoll 2

Die Behandlung mit FTY720 24 Stunden nach Induktion der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis bis Tag 7 führt zu einer deutlichen blutdruck- und herzfrequenzunabhängigen Reduktion der renalen Matrixexpansion. So konnten bei den FTY720-behandelten Tieren ein verringerter renaler Matrixscore und eine verminderte TGF- β 1 und Fibronectin-Proteinexpression gemessen werden. Lediglich die Ergebnisse der Messungen zur Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI)-1-Expression erreichten nicht statistische Signifikanz. Als Ausdruck der geringeren Nierenschäden verbesserte sich bei den FTY720-behandelten Tieren auch die Proteinausscheidung. Wie zu erwarten, konnte auch bei den

Versuchen des Protokolls 2 eine sehr deutliche Reduktion der Leukozytenzahlen und Lymphozytenzahlen im peripheren Blut nachgewiesen werden.

3.3 Protokoll 3 - Wirkung von FTY720 20 Wochen nach Induktion der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose

3.3.1 Gewichtsverhalten

Als Ausdruck der chronischen Nierenerkrankung wiesen die kranken Tiere am Ende des Versuchs ein signifikant geringeres Gewicht als die Tiere der Kontrollgruppen mit zwei bzw. einer Niere auf. Die unterschiedlichen Körpergewichte von kranken unbehandelten Tieren und FTY720 behandelten Tieren waren statistisch nicht signifikant (Tab.10).

Protokoll 3 Gruppe	Gewicht in g
2-Nieren	562 ± 21
1-Niere	564 ± 3
cGS	533 ± 12*
cGS+FTY720	519 ± 16*

Tab.10: Mittleres Körpergewicht je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose. * $P < 0,05$ vs. 2-Nieren, 1-Niere

3.3.2 Aufgenommene Menge von FTY720

Über den gesamten Versuchszeitraum unterschieden sich Nahrungs- und Trinkwasseraufnahme zwischen den Behandlungsgruppen nicht. Die aufgenommenen FTY720 Mengen in Woche 2, 10 und 20 entsprachen der gewünschten Zieldosis von 0,3 mg/kg Körpergewicht/Tag (Tab.11).

Protokoll 3 Gruppe cGN+FTY720	FTY720 in mg/kg Körpergewicht/Tag
Woche 2	0,29 ± 0,01
Woche 10	0,31 ± 0,06
Woche 20	0,27 ± 0,03

Tab.11: Aufgenommene Menge von FTY720 der Gruppe cGN+FTY720 in den Wochen 1, 10 und 20 nach Induktion der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose in mg/kg Körpergewicht/Tag.

3.3.3 Leukozyten und Lymphozytenzahl im peripheren Blut

Verglichen mit der Gruppe der unbehandelten cGS-Tiere ($6,86 \pm 0,46 \times 1000/\mu\text{l}$) bewirkte die Gabe von FTY720 ($1,97 \pm 0,14 \times 1000/\mu\text{l}$) ebenso wie in den Versuchen von Protokoll 1 und Protokoll 2 eine hoch signifikante Reduktion der Leukozytenzahl im peripheren Blut um 71 % 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Gesunde Tiere mit zwei Nieren wiesen Leukozytenzahlen von $5,17 \pm 0,96 \times 1000/\mu\text{l}$, mit einer Niere von $6,86 \pm 1,32 \times 1000/\mu\text{l}$ auf (Abb.18).

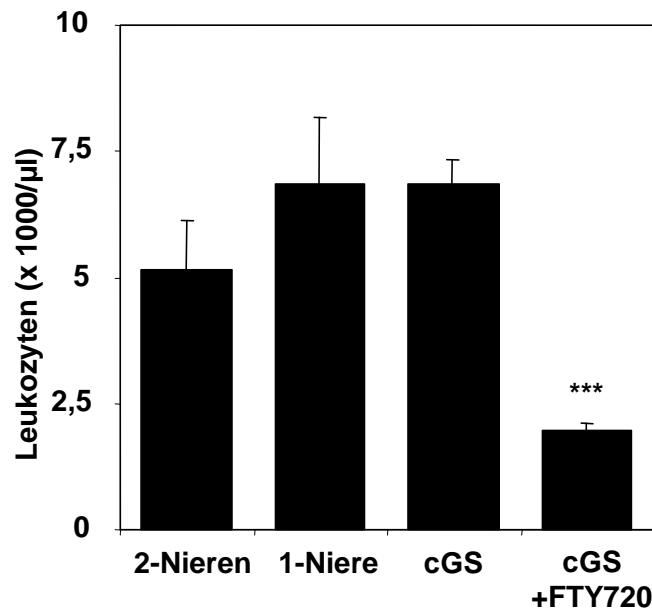


Abb.18: Leukozytenzahl je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Leukozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

*** $P < 0,001$ vs. cGS

Erwartungsgemäß kam es durch die Behandlung mit FTY720 zu einem hochsignifikanten Abfall der Lymphozytenzahl im peripheren Blut ($0,47 \pm 0,04 \times 1000/\mu\text{l}$) sowohl im Vergleich zu den unbehandelten, kranken Tieren ($4,92 \pm 0,33 \times 1000/\mu\text{l}$), als auch im Vergleich zu den gesunden ein- ($5,25 \pm 1,14 \times 1000/\mu\text{l}$) und zweinierigen ($3,78 \pm 0,74 \times 1000/\mu\text{l}$) Kontrollen (Abb.19).

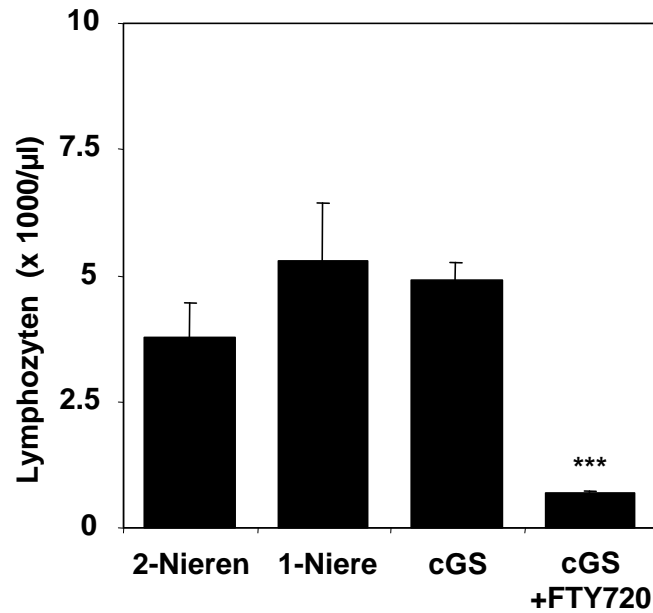


Abb.19: Lymphozytenzahl je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Lymphozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

*** $P < 0,001$ vs. cGS

3.3.4 Blutdruck und Herzfrequenz

Die Gabe von FTY720 hatte keinen bedeutsamen Einfluss auf den systolischen Blutdruck der Tiere (Woche 2: 124 ± 10 , Woche 20: 125 ± 2 mmHg). Auch zwischen den Kontrollgruppen mit einer (Woche 2: 125 ± 7 , Woche 20: 125 ± 4 mmHg) oder zwei Nieren (Woche 2: 133 ± 4 , Woche 20: 127 ± 3 mmHg) bzw. bei den kranken, unbehandelten Tieren (Woche 2: 128 ± 7 , Woche 20: 130 ± 3 mmHg) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abb.20).

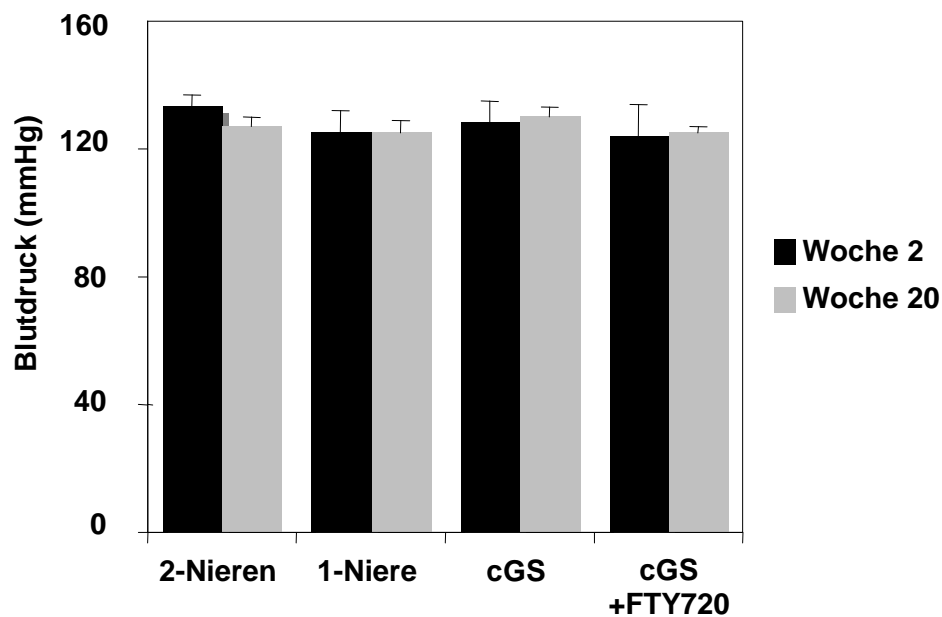


Abb.20: Systolischer Blutdruck je Behandlungsgruppe in Woche 2 und Woche 20 nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Der Blutdruck wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

In vergleichbarer Weise zeigten die Herzfrequenzdaten keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Behandlungsgruppen. Gesunde Kontrolltiere mit 2 Nieren wiesen Herzfrequenzen von 327 ± 15 Schlägen/min in Woche 2 und 362 ± 16 Schlägen/min in Woche 20 auf. Tiere mit einer Niere zeigten Herzfrequenzen von 380 ± 4 Schlägen/min in Woche 2 und 369 ± 10 Schlägen/min in Woche 20. Bei cGS-Tieren ohne Behandlung konnten 409 ± 7 Schläge/min in Woche 2 und 396 ± 9 Schläge/min in Woche 20 gemessen werden. Während es beim Menschen nach Medikation mit FTY720 vereinzelt zu transienten, interventionspflichtigen Bradykardien kam [23], kam es bei den FTY720 behandelten Tieren nur zu einer leichten Verringerung der Herzfrequenz (Woche 2: 388 ± 13 Schläge/min, Woche 20: 380 ± 8 Schläge/min) (Abb.21).

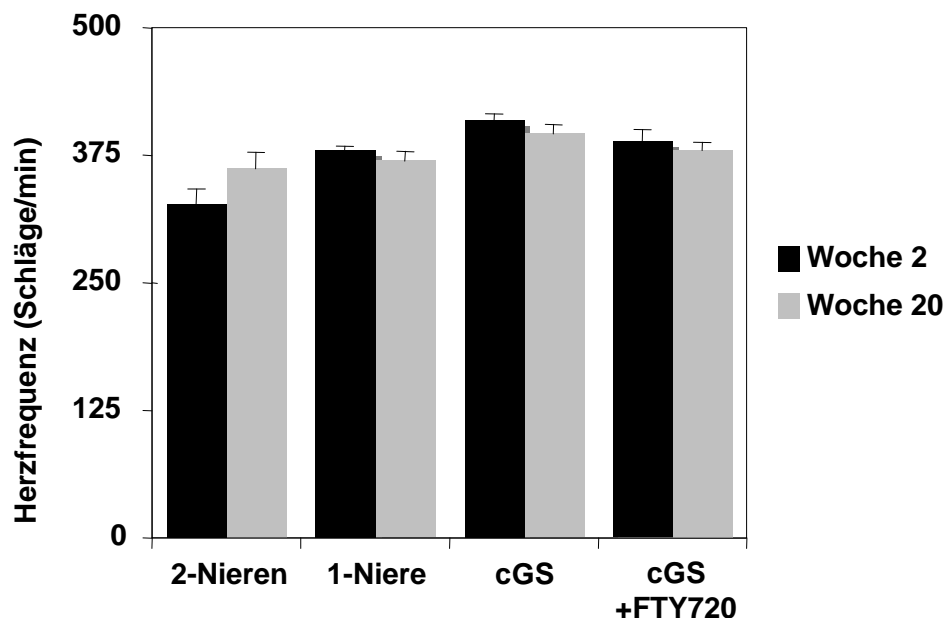


Abb.21: Herzfrequenz je Behandlungsgruppe in Woche 2 und Woche 20 nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Herzfrequenz wurde bei wachen Tieren mittels Schwanzplethysmographie ermittelt. $P = NS$

3.3.5 Proteinurie

Wie in Abb.22 gezeigt, stieg die Proteinurie bis zum Tag 7 nach Induktion der Anti-Thy1-Glomerulosklerose in beiden nephritischen Gruppen (cGS: 98 ± 8 mg/24h vs. cGS+FTY720: 95 ± 8 mg/24h, $P = \text{NS}$) an und fiel dann bis einschließlich Woche 8 leicht ab. Danach wurde eine steigende Proteinurie in der cGS-Gruppe gemessen, während in der FTY720 behandelten Gruppe sich diese über den gesamten Versuchszeitraum relativ stabil verhielt. Die Proteinausscheidung war in Woche 20 signifikant geringer in der FTY720 behandelten Gruppe als bei den unbehandelten kranken Kontrollen (cGS+FTY720: 73 ± 19 mg/24h vs. cGS: 171 ± 35 mg/24h, $P < 0,05$). Bei den gesunden Kontrolltieren blieb die Eiweißausscheidung über den gesamten Versuchszeitraum auf konstant niedrigem Niveau. Der leicht ansteigende Trend in der einnierigen Kontrollgruppe ab Woche 16 bis 20 war nicht signifikant im Vergleich mit den zweinierigen Kontrolltieren (1-Niere: 35 ± 18 mg/24h vs. 2-Nieren: 17 ± 3 mg/24h).

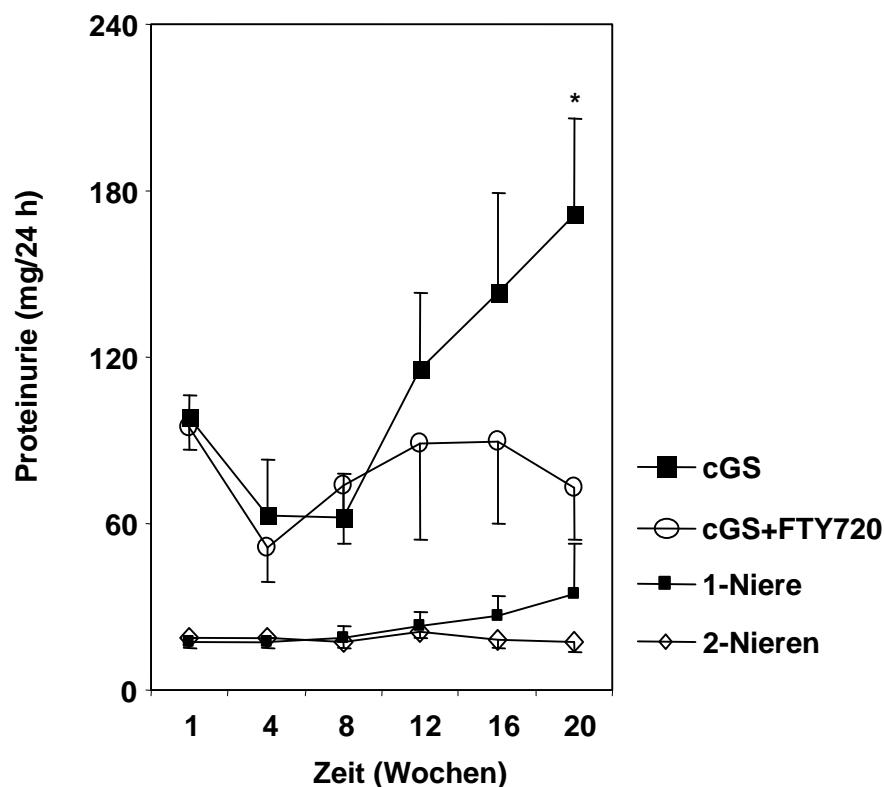


Abb.22: Proteinurie im 24 h-Sammelurin je Behandlungsgruppe der Wochen 1 bis 20 nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. * $P < 0,05$ vs. GN

3.3.6 Lichtmikroskopie

Die folgenden Abbildungen zeigen kortikale Gewebeschnitte in einer PAS-Färbung einzelner Tiere der jeweiligen Behandlungsgruppen. Bereits lichtmikroskopisch lassen sich bei den kranken Tieren (C) erweiterte Tubuli und ein zell- und matrixreiches Interstitium erkennen. Diese Krankheitserscheinungen der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose treten bei den FTY720 behandelten Tieren (D) in deutlich abgeschwächter Form auf.

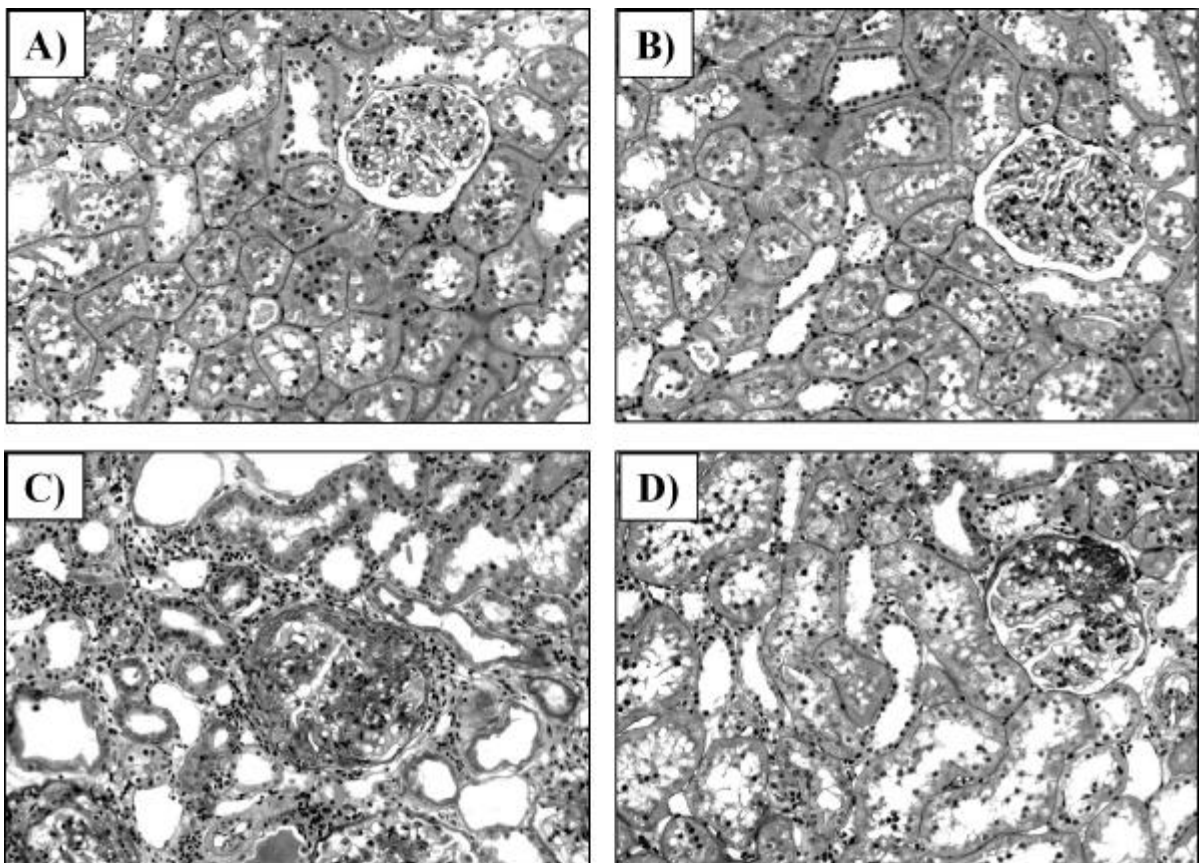


Abb.23: Charakteristische lichtmikroskopische Abbildungen (PAS-Färbung) eines gesunden, zweinierigen Kontrolltieres (A) 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Bild (B) zeigt den kortikalen Ausschnitt eines gesunden, einnierigen Kontrolltieres, (C) eines unbehandelten, kranken Tieres und Bild (D) eines FTY720 behandelten Tieres. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen (200-fache Vergrößerung).

3.3.7 Tubulointerstitielle Matrixakkumulation

Verglichen mit den gesunden Kontrolltieren (2-Nieren: $0,02 \pm 0,01$, 1-Niere: $0,02 \pm 0,01$) war bei den kranken Tieren (cGS: $1,88 \pm 0,45$) eine Zunahme der tubulointerstitiellen Matrixakkumulation und damit des semiquantitativen Scores zu beobachten. Die Behandlung mit FTY720 verhinderte diesen Anstieg signifikant (cGS+FTY720: $0,58 \pm 0,15$) (Abb.24).

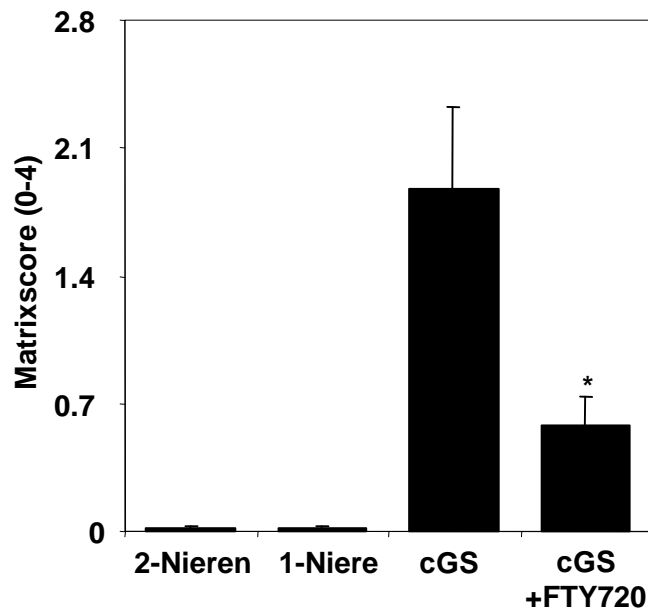


Abb.24: Tubulointerstitieller Matrixgehalt je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Beim Matrixscore handelt es sich um einen semiquantitativen Score für den Matrixanteil im Glomerulum. * $P < 0,05$ vs. cGS

3.3.8 Tubulointerstitielle TGF- β 1- Expression

Auch die Expression von TGF- β 1 im Tubulointerstitium zeigte signifikante Unterschiede. Die unbehandelten, nephritischen Tiere wiesen im Kulturüberstand eine TGF- β 1-Konzentration von 187 ± 16 pg/ml auf. FTY720-Gabe reduzierte die TGF β 1-Expression im Tubulointerstitium deutlich auf 136 ± 7 pg/ml ($P < 0,05$ vs. cGS). Gesunde Kontrolltiere mit zwei Nieren erreichten eine Konzentration von 103 ± 19 pg/ml, gesunde Kontrolltiere mit einer Niere eine Konzentration von 115 ± 5 pg/ml (Abb.25).

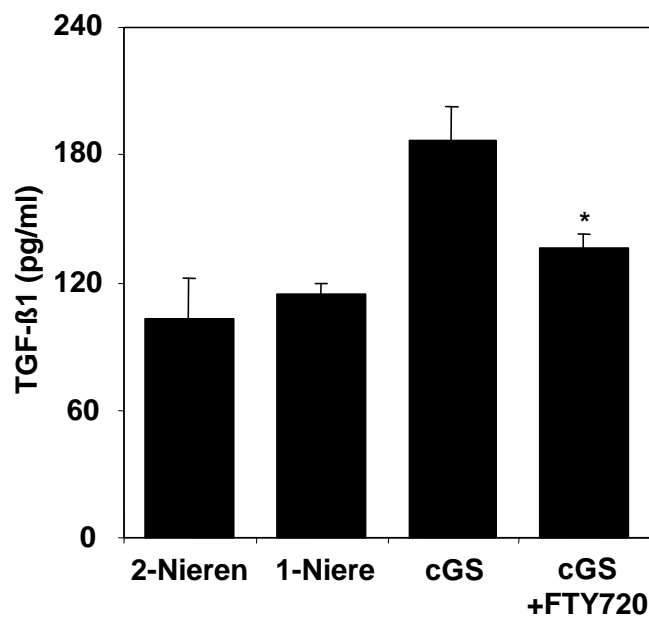


Abb.25: Tubulointerstitielle TGF- β 1-Expression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die TGF- β 1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierten Kortexgewebes mittels ELISA gemessen. * $P < 0,05$ vs. cGS

3.3.9 Tubulointerstitielle Fibronektinexpression

Die Messung der Fibronektinkonzentrationen im Zellkulturüberstand zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede. Im Tubulointerstitium von kranken, unbehandelten Tieren wurde eine Fibronektinkonzentration von 1838 ± 228 ng/ml gemessen. Gesunde Kontrolltiere mit zwei Nieren wiesen eine Konzentration von 684 ± 96 ng/ml und Kontrolltiere mit einer Niere eine Konzentration von 588 ± 163 ng/ml auf. Verglichen mit den unbehandelten, kranken Tieren führte die Behandlung mit FTY720 zu einer deutlich reduzierte Expression von Fibronektin (1139 ± 146 ng/ml) im Kulturüberstand kultivierten Kortexgewebes (Abb.26).

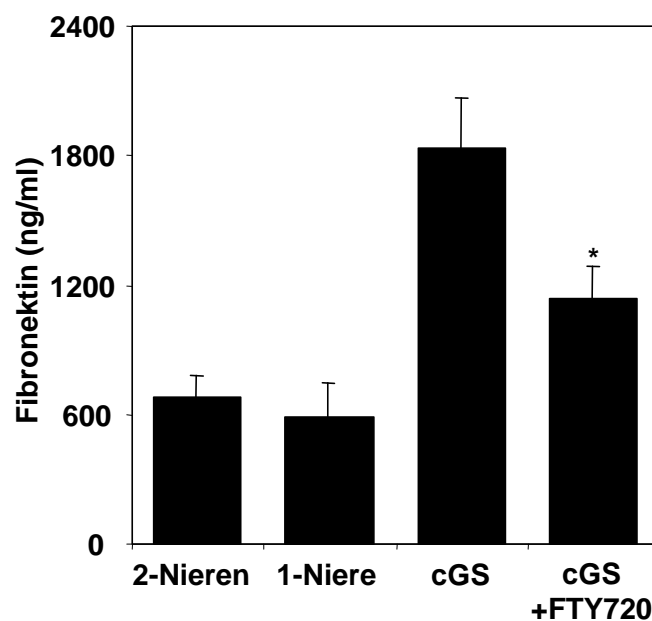


Abb.26: Tubulointerstitielle Fibronektinexpression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Fibronektinexpression wurde aus dem Kulturüberstand kultivierten Kortexgewebes mittels ELISA gemessen. * $P < 0,05$ vs. cGS

3.3.10 Tubulointerstitielle PAI-1- Expression

Auch die Messungen der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 Proteinexpression konnten den positiven Trend in der Verminderung renaler Matrixexpansion im Tubulointerstitium bei den FTY720 behandelten Tieren (55 ± 8 ng/ml) bestätigen. Jedoch fielen die Unterschiede zu den unbehandelten, kranken Tieren (64 ± 6 ng/ml) eher moderat aus und erreichten nicht statistische Signifikanz. Geringere PAI-1 Konzentrationen wurden bei Tieren mit zwei Nieren (49 ± 4 ng/ml) und einer Niere (32 ± 3 ng/ml) gemessen (Abb. 27).

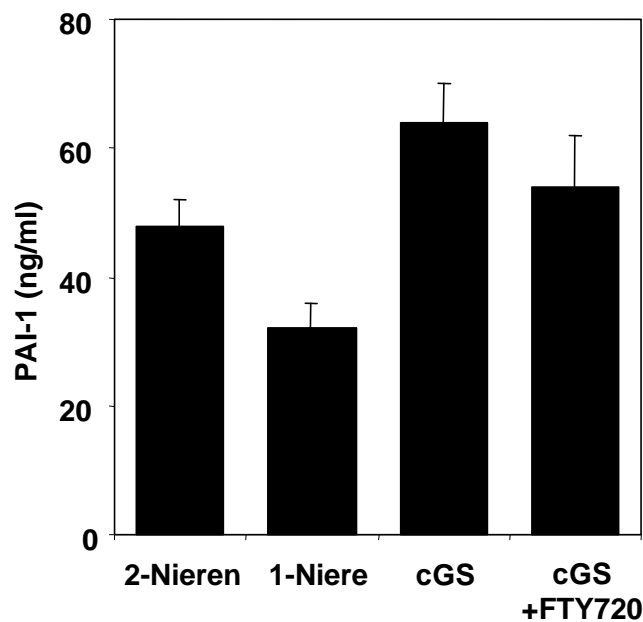


Abb.27: Tubulointerstitielle PAI-1-Expression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die PAI-1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierten Kortextgewebes mittels ELISA gemessen. $P = NS$ vs. cGS

3.3.11 Glomeruläre Matrixakkumulation

Auf die glomeruläre Matrixakkumulation hatte die Gabe von FTY720 einen moderaten, aber nicht signifikanten Einfluss. Unbehandelte Tiere mit chronischer Glomerulosklerose wiesen einen Matrixscore von $2,08 \pm 0,24$ auf. Die Behandlung mit FTY720 verminderte diesen auf $1,56 \pm 0,12$. Die histologische Auswertung der Tiere mit zwei Nieren ergab einen Score von $1,12 \pm 0,12$. Gesunde Tiere mit einer Niere zeigten im Mittel einen Matrixscore von $1,16 \pm 0,04$ (Abb. 28).

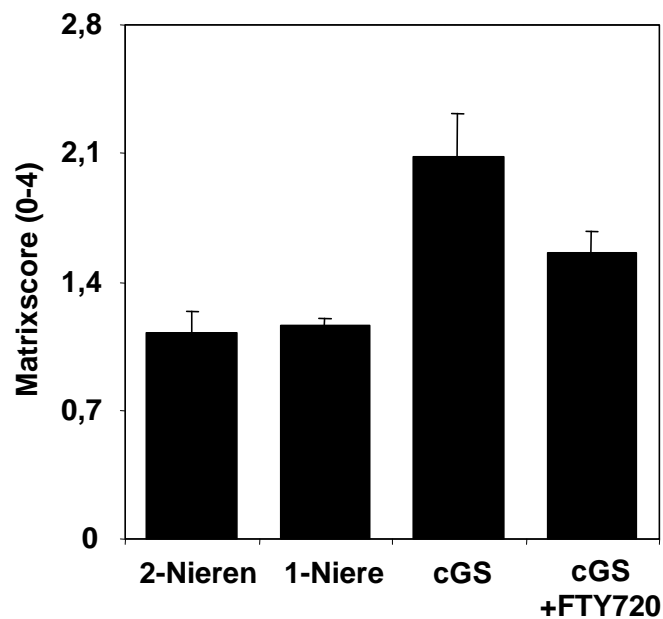


Abb.28: Glomerulärer Matrixgehalt je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Beim Matrixscore handelt es sich um einen semiquantitativen Score für den Matrixanteil im Glomerulum. $P = NS$ vs. cGS

3.3.12 Glomeruläre TGF- β 1- Expression

Im Zellüberstand kultivierter Glomeruli wurde bei nephritischen Tieren eine TGF- β 1 Konzentration von 149 ± 22 pg/ml gemessen. FTY720-behandelte Tiere wiesen reduzierte Werte von 103 ± 20 pg/ml auf. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Gesunde Kontrolltiere erreichten niedrigere Werte (1-Niere: 53 ± 24 pg/ml; 2-Nieren: 58 ± 14 pg/ml) (Abb.29).

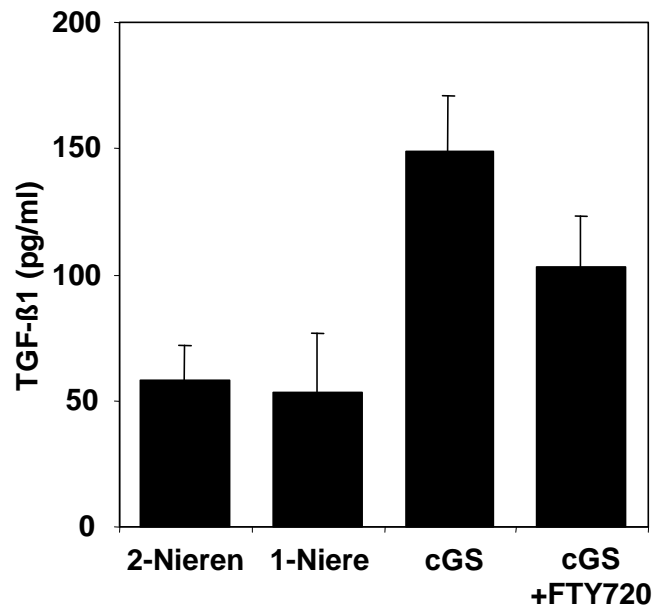


Abb.29: Glomeruläre TGF- β 1-Expression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die TGF- β 1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. $P = NS$ vs. cGS

3.3.13 Glomeruläre Fibronektinexpression

Auch die Expression des Fibrosemarkers konnte im Vergleich zu den unbehandelten, kranken Tieren (3586 ± 690 ng/ml) durch die FTY720-Gabe vermindert werden (2655 ± 236 ng/ml), ohne dass dieser Unterschied statistische Signifikanz erreichte. Deutlich niedrigere Werte erbrachten Messungen bei gesunden Tieren mit einer Niere (1034 ± 55 ng/ml) und zwei Nieren (721 ± 74 ng/ml) (Abb.30).

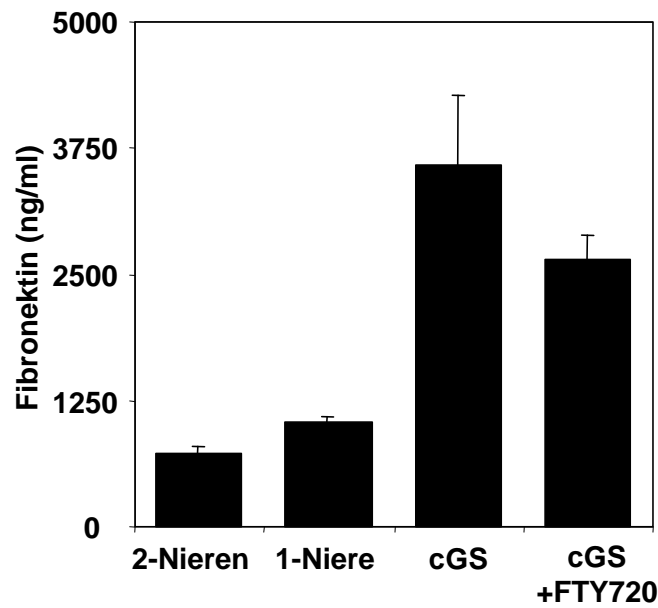


Abb.30: Glomeruläre Fibronektinexpression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Fibronektin-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. $P = NS$ vs. cGS

3.3.14 Glomeruläre PAI-1- Expression

Die chronische Anti-Thy1-Glomerulosklerose führte zu einem deutlichen Anstieg der PAI-1-Expression im glomerulären Überstand (79 ± 5 ng/ml). Bei den Tieren mit FTY720-Supplementation zeigten sich moderate, nicht signifikante Verbesserungen (69 ± 9 ng/ml). Gesunde Kontrolltiere mit einer Niere wiesen Konzentrationen von 36 ± 2 ng/ml, mit zwei Nieren von 36 ± 2 ng/ml auf (Abb.31).

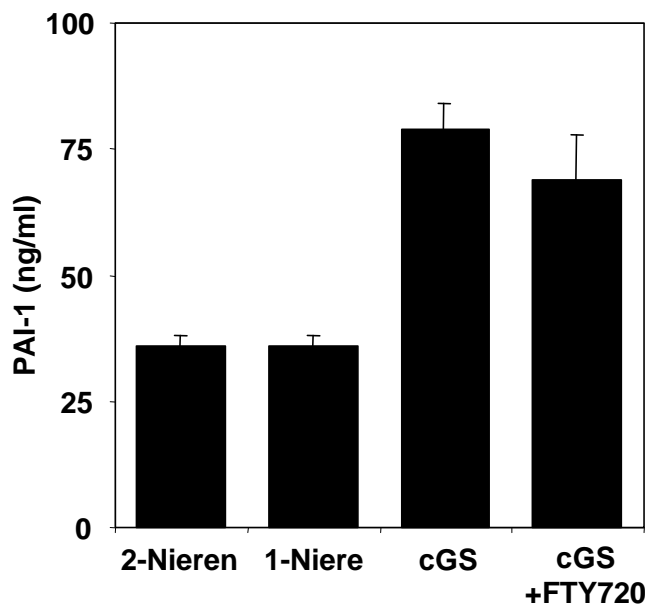


Abb.31: Glomeruläre PAI-1-Expression je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die PAI-1-Proteinexpression wurde aus dem Überstand kultivierter Glomeruli mittels ELISA gemessen. $P = NS$ vs. cGS

3.3.15 Nierenfunktionsparameter

Neben einer gesteigerten Matrixexpansion ist die chronische Anti-Thy1-Glomerulosklerose durch einen Anstieg der Retentionsparameter Serum-Harnstoff (cGS: 73 ± 11 mg/dl vs. 1-Niere: 45 ± 2 mg/dl vs. 2-Nieren: 40 ± 8 mg/dl) und Serum-Kreatinin (cGS: $0,75 \pm 0,05$ mg/dl vs. 1-Niere: $0,63 \pm 0,02$ mg/dl vs. 2-Nieren: $0,54 \pm 0,03$ mg/dl) und einen Abfall der Erythrozytenzahl (cGS: $7,1 \pm 0,2 \times 10^6/\mu\text{l}$ vs. 1-Niere: $8,1 \pm 0,4 \times 10^6/\mu\text{l}$ vs. 2-Nieren: $8,01 \pm 0,34 \times 10^6/\mu\text{l}$) gekennzeichnet. Die Behandlung mit FTY720 konnte den Anstieg des Serum-Harnstoffs (cGS+FTY720: 51 ± 4 mg/dl) und des Serum-Kreatinins (cGS+FTY720: $0,64 \pm 0,01$ mg/dl)

signifikant vermindern. Der durch die FTY720-Gabe bedingte verringerte Abfall der Erythrozytenzahl (cGS+FTY720: $7,7 \pm 0,2 \times 10^6/\mu\text{l}$, $P = 0,11$), im Sinne einer Verbesserung der renalen Anämie, erreichte jedoch nicht statistische Signifikanz.

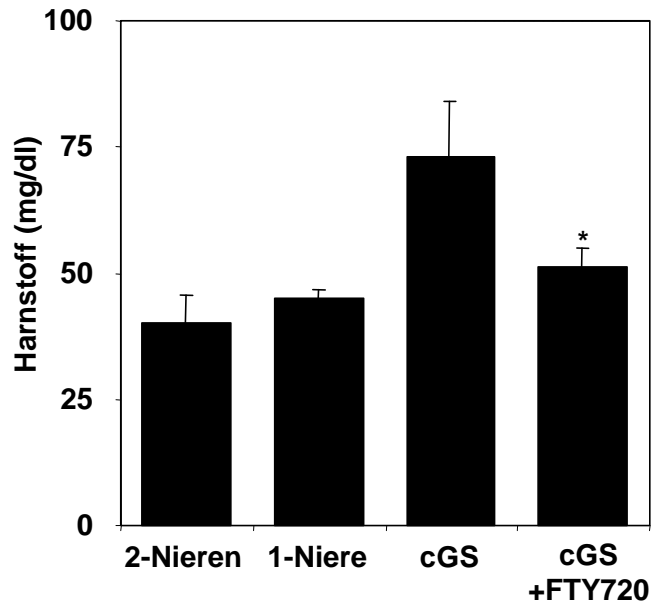


Abb.32: Serum-Harnstoff je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Serum-Harnstoffkonzentration wurde fotospektrometrisch bestimmt.
* $P < 0,05$ vs. cGS

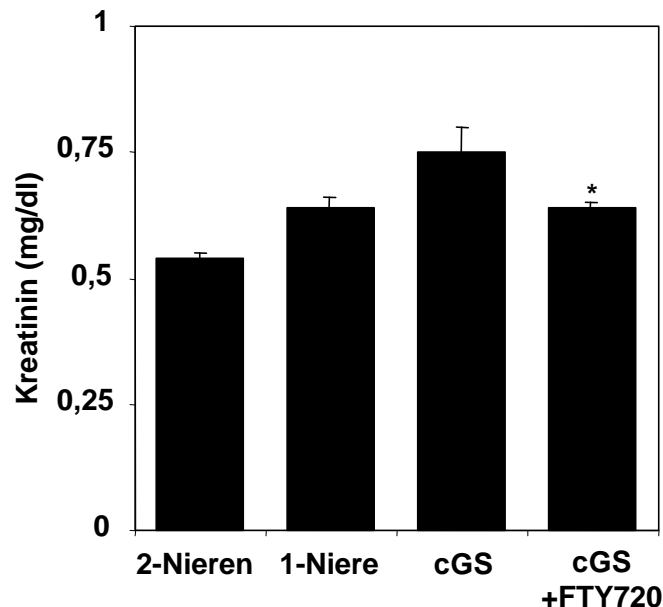


Abb.33: Serum-Kreatinin je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-

Antikörpers begonnen. Die Serum-Kreatininkonzentration wurde fotospektrometrisch bestimmt.

* $P < 0,05$ vs. cGS

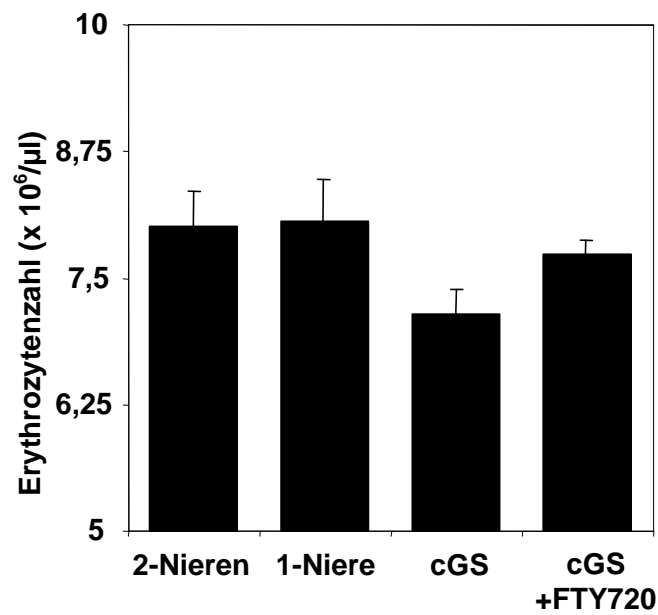


Abb.34: Erythrozytenzahl im peripheren Blut je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Erythrozytenzahl wurde mittels vollautomatischen Flow-Zytometer bestimmt. $P = NS$ vs. cGS

3.3.16 Renale Leukozyteninfiltration im Tubulointerstitium

Wie in den Abbildungen 35-37 gezeigt, war das histologische Bild der chronischen Anti-Thy1-Glomerulosklerose durch eine vermehrte Zellinfiltration des Tubulointerstitiums durch CD4-positive, CD8-positive (Lymphozyten) und ED1-positive Zellen (Makrophagen) gekennzeichnet. In den immunhistologischen Untersuchungen kortikaler Abschnitte bewirkte die FTY720-Gabe im Vergleich zu den unbehandelten, kranken Tieren ($26,8 \pm 2,7$ CD4-positive Zellen/Gesichtsfeld) eine Reduktion der CD4-positiven Zellen pro Gesichtsfeld um 59% auf $17,1 \pm 2,8$. Gesunde Tiere mit zwei Nieren ($9,7 \pm 1,2$ CD4-positive Zellen/Gesichtsfeld) und einer Niere ($10,8 \pm 1,5$ CD4-positive Zellen/Gesichtsfeld) wiesen demgegenüber nur eine geringe Anzahl von CD4-positiven Zellen im Tubulointerstitium auf (Abb.35).

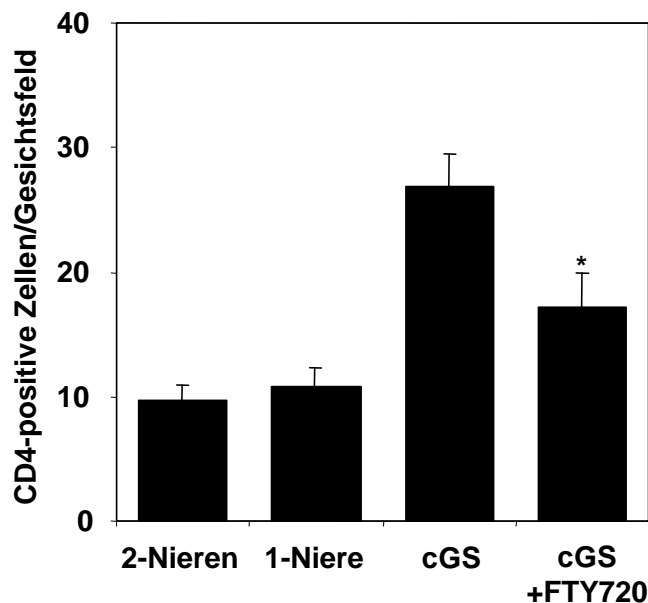


Abb.35: Tubulointerstitielle Zellinfiltration durch CD4-positive Zellen (Lymphozyten) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Zahl CD4-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. $P < 0,05$ vs. cGS

Durch die Behandlung mit FTY720 konnte auch die Zahl der CD8-positiven Zellen/Gesichtsfeld im Vergleich zu den unbehandelten, kranken Tieren um 83% reduziert werden (cGS+FTY720: $8,6 \pm 1,9$ CD8-positive Zellen/Gesichtsfeld vs. $23,4 \pm 4,2$ CD8-positive Zellen/Gesichtsfeld). Die Lymphozyteninfiltration bei den gesunden Kontrollen war deutlich niedriger (2-Nieren: $4,9 \pm 0,5$

CD8-positive Zellen/Gesichtsfeld vs. 1-Niere: $6,2 \pm 0,9$ CD8-positive Zellen/Gesichtsfeld) (Abb.36).

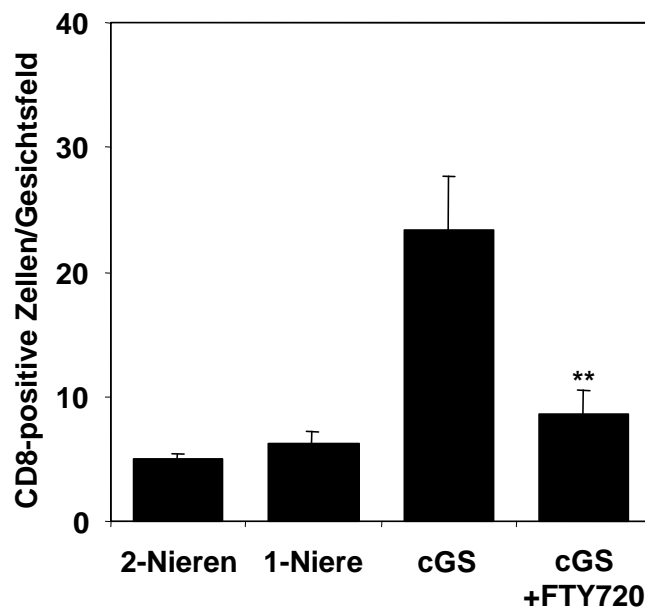


Abb.36: Tubulointerstitielle Zellinfiltration durch CD8-positive Zellen (Lymphozyten) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Zahl CD8-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. **** $P < 0,01$ vs. cGS**

Zum Nachweis der hohen Lymphozytenspezifität von FTY720 wurde im Folgenden auch die Zellinfiltration des Tubulointerstitiums durch Makrophagen bestimmt. Während die Erkrankung selbst durch einen Anstieg der Makrophagen im Tubulointerstitium gekennzeichnet war ($25,2 \pm 5,3$ ED1-positive Zellen/Gesichtsfeld), veränderte sich die Anzahl infiltrierender Makrophagen durch Medikation mit FTY720 nicht signifikant ($18,8 \pm 5,5$ ED1-positive Zellen/Gesichtsfeld). Auch hier fiel die Zellinfiltration bei den gesunden Kontrollen deutlich geringer aus (2-Nieren: $5,2 \pm 1,5$ ED1-positive Zellen/Gesichtsfeld vs. 1-Niere: $6,5 \pm 0,9$ ED1-positive Zellen/Gesichtsfeld) (Abb.37).

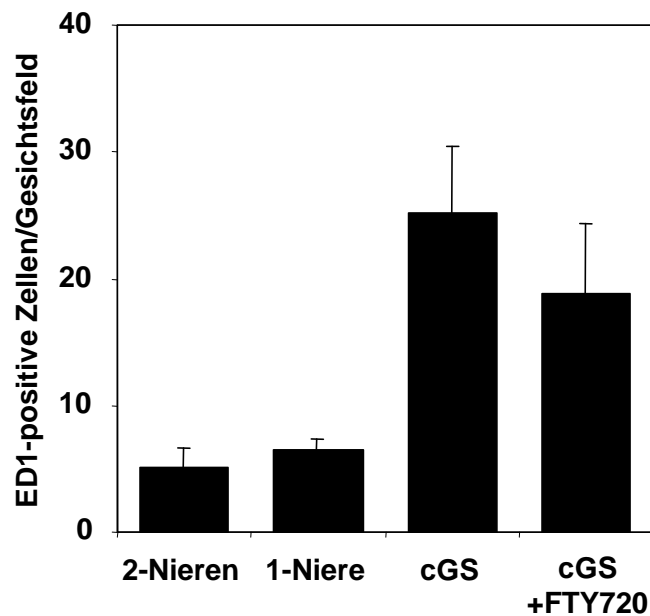


Abb.37: Tubulointerstitielle Zellinfiltration durch ED1-positive Zellen (Makrophagen) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Zahl ED1-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. $P = NS$ vs. cGS

3.3.17 Renale Leukozyteninfiltration im Glomerulum

Auch die Glomeruli der einzelnen Tiere wurden immunhistologisch auf CD4-/CD8- (Lymphozyten) und ED1-positive (Makrophagen) Zellen untersucht. FTY720 bewirkte in den Glomeruli eine Abnahme der CD4-positiven Zellen um 32% (cGS+FTY720: $1,2 \pm 0,4$ Zellen/Glomerulum vs. cGS: $1,7 \pm 0,4$ Zellen/Glomerulum, $P = NS$) und der CD8-positiven Zellen um 82% (cGS+FTY720: $0,4 \pm 0,1$ Zellen/Glomerulum vs. cGS: $1,1 \pm 0,2$ Zellen/Glomerulum, $P < 0,01$). Als Zeichen der hohen Lymphozytenspezifität hatte die Medikamentengabe keinen signifikanten Einfluss auf die Infiltration der Glomeruli durch Makrophagen (cGS+FTY720: $1,28 \pm 0,38$ Zellen/Glomerulum vs. cGS: $1,15 \pm 0,26$ Zellen/Glomerulum, $P = NS$). Die Zahl CD4- (1-Niere: $0,27 \pm 0,25$ Zellen/Glomerulum, 2-Nieren: $0,15 \pm 0,1$ Zellen/Glomerulum)/ CD8- (1-Niere: $0,23 \pm 0,05$ Zellen/Glomerulum, 2-Nieren: $0,23 \pm 0,07$ Zellen/Glomerulum) und ED1- (1-Niere: $0,31 \pm 0,03$ Zellen/Glomerulum, 2-Nieren: $0,29 \pm 0,06$ Zellen/Glomerulum) positiver Zellen in den Glomeruli gesunder ein- und zweinieriger Kontrolltiere war niedrig (Abb. 38-40).

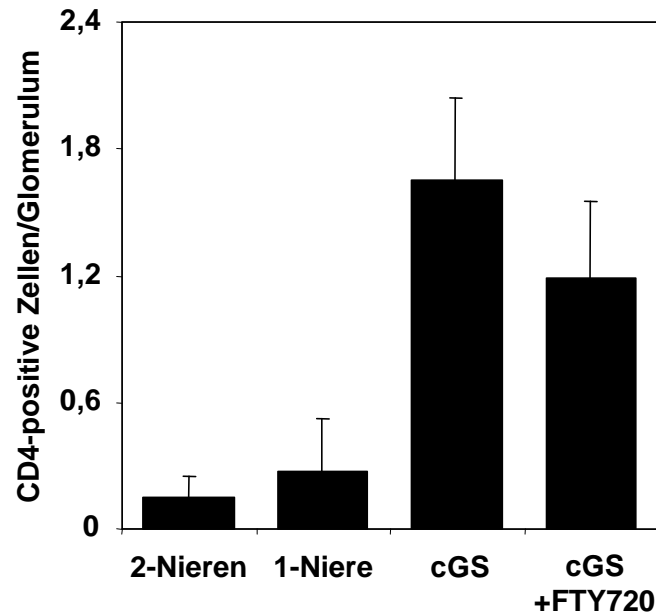


Abb.38: Glomeruläre Zellinfiltration durch CD4-positive Zellen (Lymphozyten) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Zahl CD4-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. $P = NS$ vs. cGS

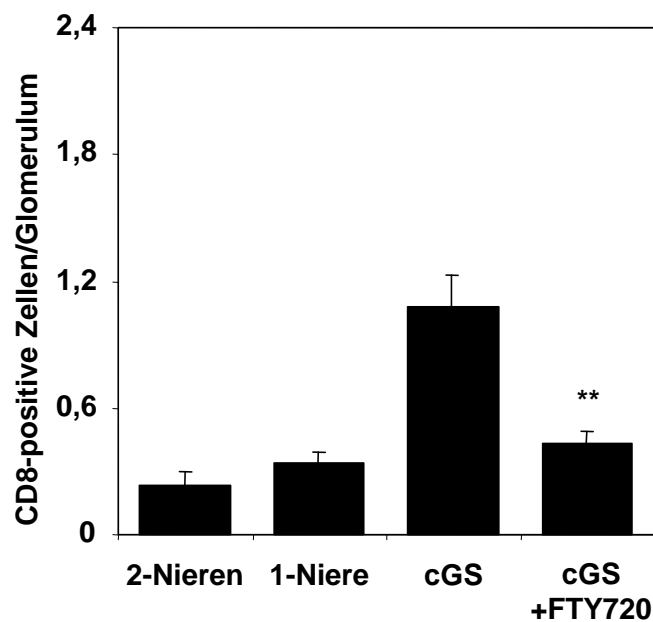


Abb.39: Glomeruläre Zellinfiltration durch CD8-positive Zellen (Lymphozyten) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die

Zahl CD8-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. $**P < 0,01$ vs. cGS

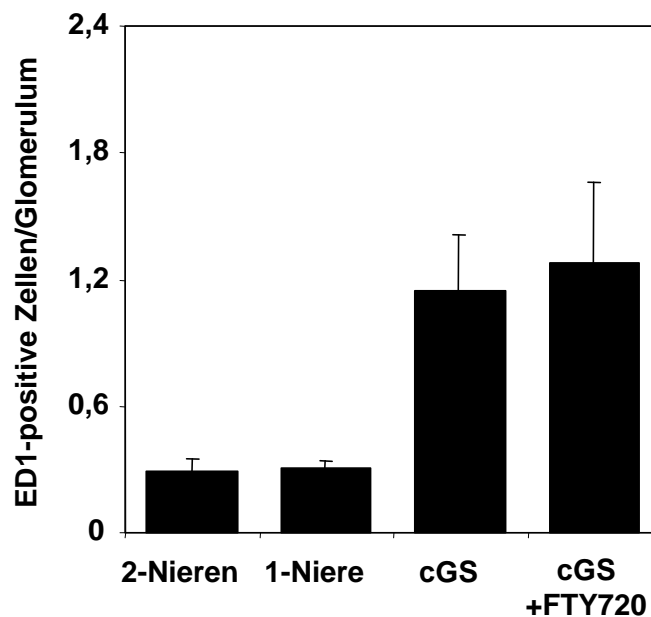


Abb.40: Glomeruläre Zellinfiltration durch ED1-positive Zellen (Makrophagen) je Behandlungsgruppe 20 Wochen nach Induktion der chronischen Glomerulosklerose. Die Behandlung mit FTY720 wurde 7 Tage nach Injektion des Anti-Thy1-Antikörpers begonnen. Die Zahl ED1-positiver Zellen wurde immunhistologisch mittels APAAP-Färbetechnik bestimmt. Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch bei 200-facher Vergrößerung. $P = NS$ vs. cGS

3.3.18 Zusammenfassung Protokoll 3

Die Ergebnisse aus dem Versuchsprotokoll 3 zeigen, dass FTY720 selektiv und sehr effektiv die Zahl der Lymphozyten im peripheren Blut und nachfolgend im kortikalen Nierengewebe reduziert. Diese selektive Lymphozyteninhibierung führte im Vergleich zu unbehandelten kranken Kontrolltieren zu einer deutlichen Reduktion der Nierenfibrose im Tubulointerstitium. Diese Reduktion der Matrixakkumulation bedingte im Vergleich zu den unbehandelten, kranken Kontrolltieren eine Verbesserung der Nierenfunktion mit niedrigeren Retentionsparametern Serum-Kreatinin und Serum-Harnstoff. Die FTY720-Gabe bewirkte zusätzlich auch eine Erhöhung der Erythrozytenzahl und eine Verminderung der Proteinurie im 24-Stunden-Sammelurin. Glomerulär wurden die Erscheinungen von Fibrosierung und Matrixexpansion durch FTY720 leicht gemindert, jedoch waren diese Ergebnisse statistisch nicht signifikant. Alle gefundenen Ergebnisse waren blutdruck- und herzfrequenzunabhängig.