

3. Ergebnisse

3.1. Genotypische Charakterisierung des konsomen Stammes MWF-6^{SHR}

Nach der Etablierung des konsomen Stammes MWF-6^{SHR} wurde zur endgültigen Koloniedefinition eine systematische Genomanalyse mit 237 polymorphen Mikrosatellitenmarkern im Abstand von 10 cM vorgenommen. Im Rahmen dieser abschließenden genotypischen Charakterisierung wurde der Nachweis erbracht, dass der zuvor von Schulz et al. (2003) in der Kopplungsanalyse der MWF x SHR-Backcross-Population für das MWF-Allel identifizierte QTL-Bereich (Abb. 6) im konsomen Stamm MWF-6^{SHR} eliminiert wurde, und dass das gesamte Chromosom 6 durch zwei SHR-Allele ersetzt worden ist.

Des Weiteren wurden mit Hilfe dieser genetischen Überprüfung Tierverwechslungen bei der Zucht des Stammes ausgeschlossen und die genetische Reinheit des Stammes bestätigt. Als Ergebnis dieser Untersuchung konnten von den getesteten Tieren, die alle ein für das SHR-Allel homozygotes Chromosom 6 und für das MWF-Allel homozygote Hintergrundchromosomen aufwiesen, 1 MWF-6^{SHR}-Männchen und 3 MWF-6^{SHR}-Weibchen zur Erhaltungszucht des Stammes ausgewählt werden, die frei von spontan auftretenden Mutationen waren.

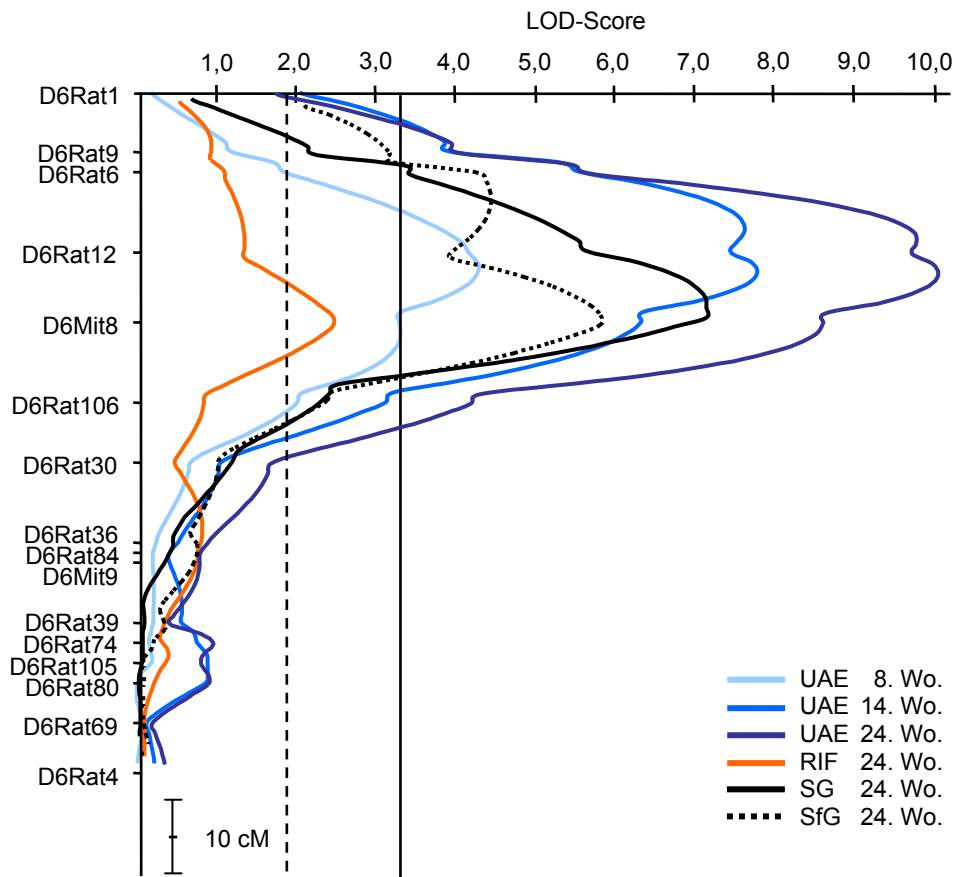


Abb. 6: QTL auf Chromosom 6 der Ratte aus der MWF x SHR-Backcross-Population (Schulz et al., 2003).

LOD-Plots für Albuminurie (UAE) in der 8., 14. und 24. Woche; für renale interstitielle Fibrose (RIF), oberflächliche Glomeruli mit (SG) und ohne (SfG) Kapselkontakt in der 24. Woche.

gepunktete Linie bei LOD-Score 1,9 = Grenzwert für wahrscheinliche Kopplung, durchgezogene Linie bei LOD-Score 3,3 = Grenzwert für signifikante Kopplung.

3.2. Vergleichende phänotypische Charakterisierung männlicher MWF-6^{SHR}-Tiere

Um den Einfluss und die Bedeutung des zuvor in der Kosegregations- und Kopplungsanalyse identifizierten QTL auf Chromosom 6 der MWF-Ratte zu untersuchen (Schulz et al., 2003), wurde ein Versuchsprotokoll gewählt, welches eine phänotypische Charakterisierung der MWF-6^{SHR}-Tiere im direkten Vergleich zu den Parentaltieren MWF und SHR gewährleistet. Im Rahmen der Verlaufsstudie wurden 10 SHR-Männchen und aufgrund der natürlichen Schwankungsbreite der Albuminurie je 18 MWF- und MWF-6^{SHR}-Männchen hinsichtlich des

systolischen Blutdruckes, des altersabhängigen Albuminurieverlaufes, sowie biochemischer und organspezifischer Parameter charakterisiert.

Die Albuminurieverlaufsstudie wurde in der 4. Woche, dem frühesten möglichen Zeitpunkt zur Urinsammlung im metabolischen Käfig, begonnen. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich bei allen drei Stämmen eine Albuminausscheidung im physiologischen Bereich von unter 1 mg/24h (SHR-Männchen $0,09 \pm 0,09$ mg/24h; MWF-6^{SHR}-Männchen $0,19 \pm 0,07$ mg/24h; MWF-Männchen $0,12 \pm 0,05$ mg/24h).

In der 8. Woche zeigte sich der frühzeitige Beginn der Albuminurie bei den MWF-Männchen mit einem Anstieg auf 55-fach erhöhte Werte im Vergleich zu den SHR-Männchen ($18,14 \pm 8,39$ vs. $0,33 \pm 0,23$ mg/24h, $p < 0,0001$). Bei den MWF-6^{SHR}-Männchen wurde eine Albuminexkretion von $0,71 \pm 0,50$ mg/24h gemessen, die signifikant geringer war, verglichen mit den MWF-Männchen ($p < 0,0001$), aber sich nicht signifikant von den Werten der SHR-Männchen unterschied. Signifikant erhöhte Albuminuriewerte gegenüber SHR und MWF-6^{SHR} traten bei der F1-Generation auf, die aus MWF- und MWF-6^{SHR}-Ratten generiert wurde ($5,74 \pm 6,64$ mg/24h, $p < 0,05$). Im Vergleich zu den MWF-Männchen wies die männliche F1-Generation jedoch signifikant niedrigere Werte auf (Abb. 7, $p < 0,0001$).

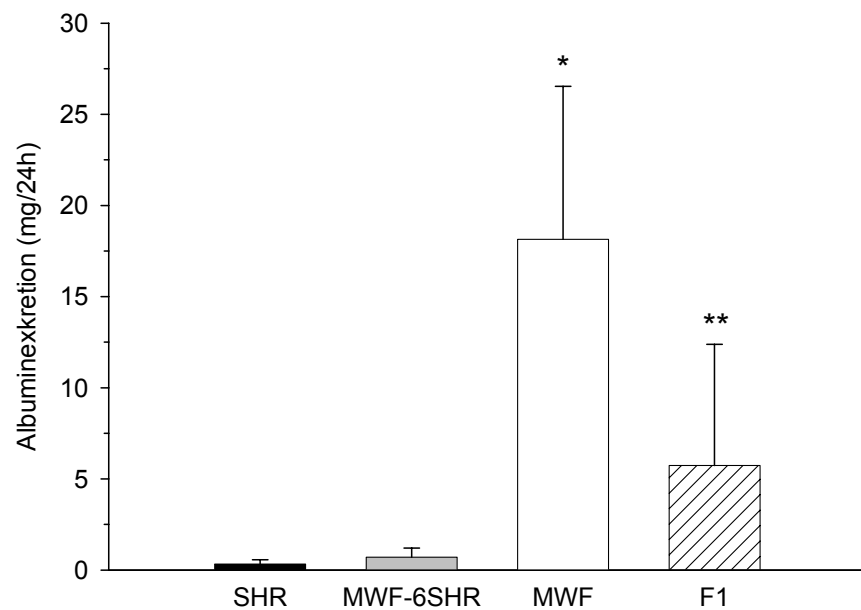


Abb. 7: Albuminexkretion bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}-, MWF- und F1-Ratten in der 8. Woche.

* $p < 0,0001$ vs. SHR, MWF-6^{SHR} und F1; ** $p < 0,05$ vs. SHR und MWF-6^{SHR}.

Der altersabhängige Verlauf der Albuminausscheidung bei den SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Männchen in der 12. bis zur 24. Woche ist in der Abb. 8 dargestellt. Es zeigte sich ein mit dem Alter fortschreitender deutlicher Anstieg der Albuminurie bei den MWF-Männchen auf Werte über 160 mg/24h ab der 18. Woche. Die Albuminausscheidung der SHR-Männchen wies nur eine geringfügige Zunahme auf Werte um 2 mg/24h mit steigendem Alter auf. Bei den MWF-6^{SHR}-Männchen war ein moderater Anstieg der Albuminausscheidung ab der 12. Woche ($2,51 \pm 1,66$ mg/24h) sowie in der 18. und 24. Woche ein signifikanter Anstieg der Albuminuriewerte gegenüber altersentsprechenden SHR-Männchen zu verzeichnen ($4,16 \pm 3,58$ vs. $1,40 \pm 0,73$ mg/24h in der 18. Woche bzw. $16,56 \pm 15,19$ vs. $2,32 \pm 1,07$ mg/24h in der 24. Woche, $p < 0,05$). Zu allen gemessenen Zeitpunkten war die Albuminausscheidung der MWF-6^{SHR}-Männchen sowie der SHR-Männchen hoch signifikant niedriger im Vergleich zu den MWF-Männchen ($p < 0,0001$).

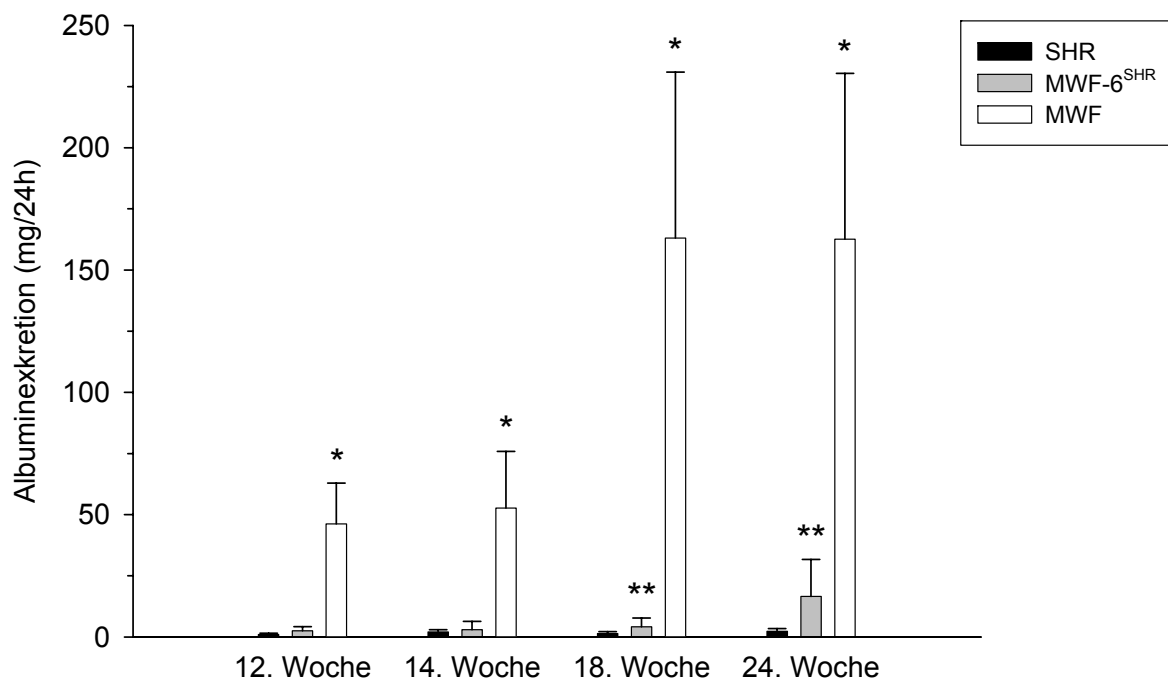


Abb. 8: Verlauf der Albuminexkretion bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten von der 12. bis zur 24. Woche.
für die jeweilige Altersstufe: * $p < 0,0001$ vs. SHR und MWF-6^{SHR}; ** $p < 0,05$ vs. SHR.

Die Messungen des systolischen Blutdruckes mittels nicht-invasiver Tailcuff-Methode in der 14. und 24. Woche ergaben signifikante Unterschiede zwischen den drei Stämmen ($p < 0,0001$). Männliche SHR-Ratten wiesen in der 14. Woche einen systolischen Blutdruck von $177,49 \pm 7,21$ mmHg auf, der deutlich signifikant erhöht war ($p < 0,0001$) im Vergleich zu den Blutdruckwerten der MWF-6^{SHR}-Männchen ($151,05 \pm 8,74$ mmHg) und MWF-Männchen ($146,02 \pm 4,52$ mmHg), die sich voneinander nicht signifikant unterschieden. Auch in der 24. Woche zeigten die SHR-Männchen einen signifikant erhöhten Blutdruck ($175,34 \pm 8,96$ mmHg) im Vergleich zu den MWF-6^{SHR}- und MWF-Männchen (Abb. 9, $p < 0,0001$). Im Gegensatz zur 14. Woche konnte in der 24. Woche ein signifikant erhöhter Blutdruck der MWF-6^{SHR}-Männchen verglichen mit den MWF-Männchen beobachtet werden ($151,00 \pm 6,76$ vs. $145,13 \pm 4,71$ mmHg, $p = 0,037$).

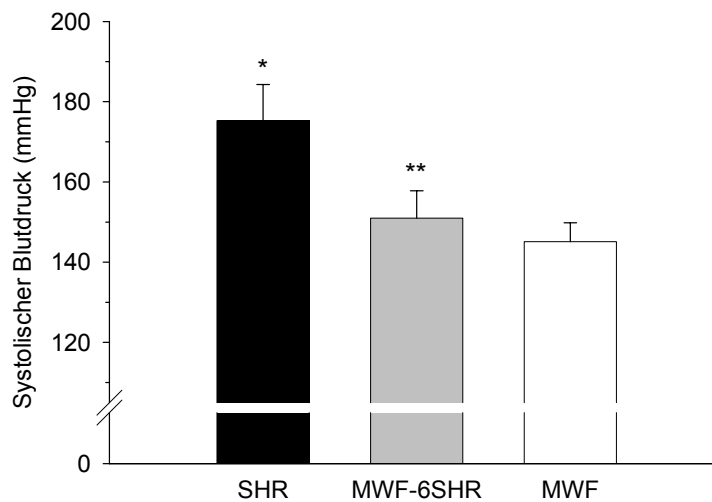


Abb. 9: Systolischer Blutdruck bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

* $p < 0,0001$ vs. MWF-6^{SHR} und MWF; ** $p = 0,037$ vs. MWF.

Die Auswertung der in der 24. Woche erhobenen biochemischen Daten zeigte hinsichtlich des Kreatinins im Serum und der errechneten Kreatinin-Clearance keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Stämmen, während die Harnstoffwerte im Serum signifikant voneinander differierten ($p < 0,0001$). Die MWF-Männchen wiesen mit $9,39 \pm 0,79$ mmol/l Harnstoff im Serum signifikant erhöhte Konzentrationen im Vergleich zu SHR ($7,07 \pm 0,39$ mmol/l) und MWF-6^{SHR} ($7,50 \pm 0,74$ mmol/l) auf. Die gemessenen Parameter für den Fettstoffwechsel, Triglyceride, LDL, HDL und Gesamtcholesterin im Serum, waren bei den MWF- und MWF-6^{SHR}-Männchen

gegenüber den SHR-Männchen erhöht. Eine signifikante Reduktion der LDL-, HDL- und Gesamtcholesterinwerte, aber nicht der Triglyceridwerte, konnte bei den MWF-6^{SHR}-Männchen im Vergleich zu den MWF-Männchen verzeichnet werden (Tab. 1).

Zur Beurteilung von Organschädigungen insbesondere der Nieren und des Herzens der drei verschiedenen Rattenstämme wurden die absoluten und relativen Organgewichte ermittelt. Es zeigte sich in der 24. Woche kein signifikanter Unterschied im Körpergewicht zwischen den Stämmen. Beim absoluten und, bezogen auf das Körpergewicht, relativen Nierengewicht wurden signifikant niedrigere Werte bei den MWF-Männchen im Vergleich zu den SHR-Männchen gemessen ($p < 0,05$), die MWF-6^{SHR}-Männchen wiesen intermediäre Werte auf. Das absolute und relative Herzgewicht, sowie das relative linksventrikuläre Gewicht differierten signifikant zwischen den Stämmen ($p < 0,0001$). Die SHR-Männchen waren durch die jeweils höchsten Werte gekennzeichnet, die sich hoch signifikant von den intermediären Werten der MWF-6^{SHR}-Männchen unterschieden ($p < 0,0001$). Das absolute und relative Herzgewicht, aber nicht das relative linksventrikuläre Gewicht waren bei den MWF-6^{SHR}-Männchen im Vergleich zu den MWF-Männchen signifikant erhöht (Tab. 1, $p < 0,05$).

Tab. 1: Phänotypische Charakterisierung von männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

	SHR (n=10)	MWF-6 ^{SHR} (n=9)	MWF (n=9)	p- ANOVA	p-MWF vs. SHR	p-MWF vs. MWF- 6 ^{SHR}	p-MWF- 6 ^{SHR} vs. SHR
Kreatinin im Serum ($\mu\text{mol/l}$)	35,7 \pm 3,3	37,9 \pm 4,9	37,6 \pm 3,4	0,43			
Harnstoff im Serum (mmol/l)	7,07 \pm 0,39	7,50 \pm 0,74	9,36 \pm 0,79	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,51
Kreatinin-Clearance (ml/min*100g)	0,52 \pm 0,25	0,59 \pm 0,11	0,46 \pm 0,15	0,33			
Triglyceride (mmol/l)	0,70 \pm 0,12	1,23 \pm 0,30	1,08 \pm 0,37	0,001	0,03	0,78	0,001
LDL (mmol/l)	0,21 \pm 0,04	0,31 \pm 0,06	0,80 \pm 0,13	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,05
HDL (mmol/l)	1,26 \pm 0,13	1,47 \pm 0,15	2,18 \pm 0,31	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,10
Gesamtcholesterin (mmol/l)	1,58 \pm 0,14	1,93 \pm 0,17	3,16 \pm 0,55	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,10
Körpergewicht (g)	377,5 \pm 14,0	375,0 \pm 26,6	363,9 \pm 33,9	0,49			

	SHR (n=10)	MWF-6^{SHR} (n=9)	MWF (n=9)	p- ANOVA	p-MWF vs. SHR	p-MWF vs. MWF- 6^{SHR}	p-MWF- 6^{SHR} vs. SHR
Nierengewicht (g)	2,23±0,08	2,11±0,22	1,99±0,23	0,03	0,03	0,57	0,51
Nierengewicht / KG (mg/g)	5,90±0,16	5,62±0,55	5,44±0,18	0,02	0,02	0,85	0,25
Herzgewicht (g)	1,11±0,04	0,93±0,06	0,83±0,05	<0,0001	<0,0001	0,0004	<0,0001
Herzgewicht / KG (mg/g)	2,93±0,10	2,47±0,14	2,30±0,11	<0,0001	<0,0001	0,012	<0,0001
Rel. linksventri- kuläres Gewicht (mg/g)	2,51±0,09	1,96±0,12	1,86±0,68	<0,0001	<0,0001	0,10	<0,0001

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen der Nieren in der 24. Woche sind in Tab. 2 zusammenfassend dargestellt. Die Anzahl der gezählten subkapsulären Glomeruli mit und ohne Kapselkontakt pro Nierenschnitt war bei den MWF- und MWF-6^{SHR}-Männchen gegenüber den SHR-Männchen signifikant erhöht. Bei den MWF-6^{SHR}-Männchen zeigte sich eine signifikante Reduktion der Anzahl oberflächlicher Glomeruli mit Kapselkontakt, nicht jedoch der oberflächlichen Glomeruli ohne Kapselkontakt, im Vergleich zu den MWF-Männchen (p=0,01). Der Glomeruloskleroseindex, der Index der tubulointerstitiellen Schädigungen sowie das Ausmaß der renalen interstitiellen Fibrose waren bei den MWF-Männchen signifikant erhöht verglichen mit den SHR-Männchen und bei den MWF-6^{SHR}-Männchen signifikant erniedrigt im Vergleich zu den MWF-Männchen. Verglichen mit den SHR-Männchen waren GSI und RIF der MWF-6^{SHR}-Männchen signifikant erhöht, das Ausmaß der tubulointerstitiellen Schädigungen unterschied sich jedoch nicht signifikant zwischen den zwei Stämmen.

Tab. 2: Auswertung der Nierenhistologie bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

	SHR (n=10)	MWF-6 ^{SHR} (n=9)	MWF (n=9)	p- ANOVA	p-MWF vs. SHR	p-MWF vs. MWF- 6 ^{SHR}	p-MWF- 6 ^{SHR} vs. SHR
Oberflächliche Glomeruli ohne Kapselkontakt (n)	0,3±0,3	15,2±3,1	16,7±3,1	<0,0001	<0,0001	0,66	<0,0001
Oberflächliche Glomeruli mit Kapselkontakt (n)	0,0±0,0	1,6±1,2	3,8±2,2	<0,0001	<0,0001	0,01	0,08
Glomerulosklerose- index	0,9±0,1	1,3±0,1	1,7±0,25	<0,0001	<0,0001	0,006	0,0006
Tubulärer Schädigungsindex	0,04±0,03	0,11±0,09	0,38±0,14	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,4
Renale interstitielle Fibrose (%)	3,1±0,5	5,4±1,0	7,5±1,3	<0,0001	<0,0001	0,0003	0,0002

In der Abb. 10 ist an exemplarischen histologischen Nierenschnitten von SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Männchen der zwischen den Stämmen unterschiedlich ausgeprägte Grad der renalen interstitiellen Fibrosierung sowie der glomerulosklerotischen Veränderungen dargestellt. Die meisten histopathologischen Auffälligkeiten sind entsprechend der errechneten Indices bei den Nieren der MWF-Männchen zu erkennen. Als Korrelat der interstitiellen Fibrose lässt sich am Nierenpräparat der MWF-Männchen in der Sirius-Rot-Färbung (B) die im Vergleich zu den MWF-6^{SHR} (D)- und SHR-Nierenpräparaten (F) deutlich vermehrte Ansammlung rot angefärbter Kollagenfasern beobachten. In der PAS-Färbung zeigt sich vor allem bei dem MWF-Nierenpräparat (A) eine segmentale bis diffus verbreitete Ablagerung von PAS-positiven Material im Mesangium der Glomeruli mit einer teilweisen Verlegung des extrakapillären Raumes. Neben dieser für die Glomerulosklerose typischen Hyalinisierung der Glomeruli sind im MWF-Nierenpräparat atrophische und dilatierte Tubuli mit PAS-positiv gefärbten Zylindern als Ausdruck der vorangeschrittenen tubulären Schädigung zu erkennen.

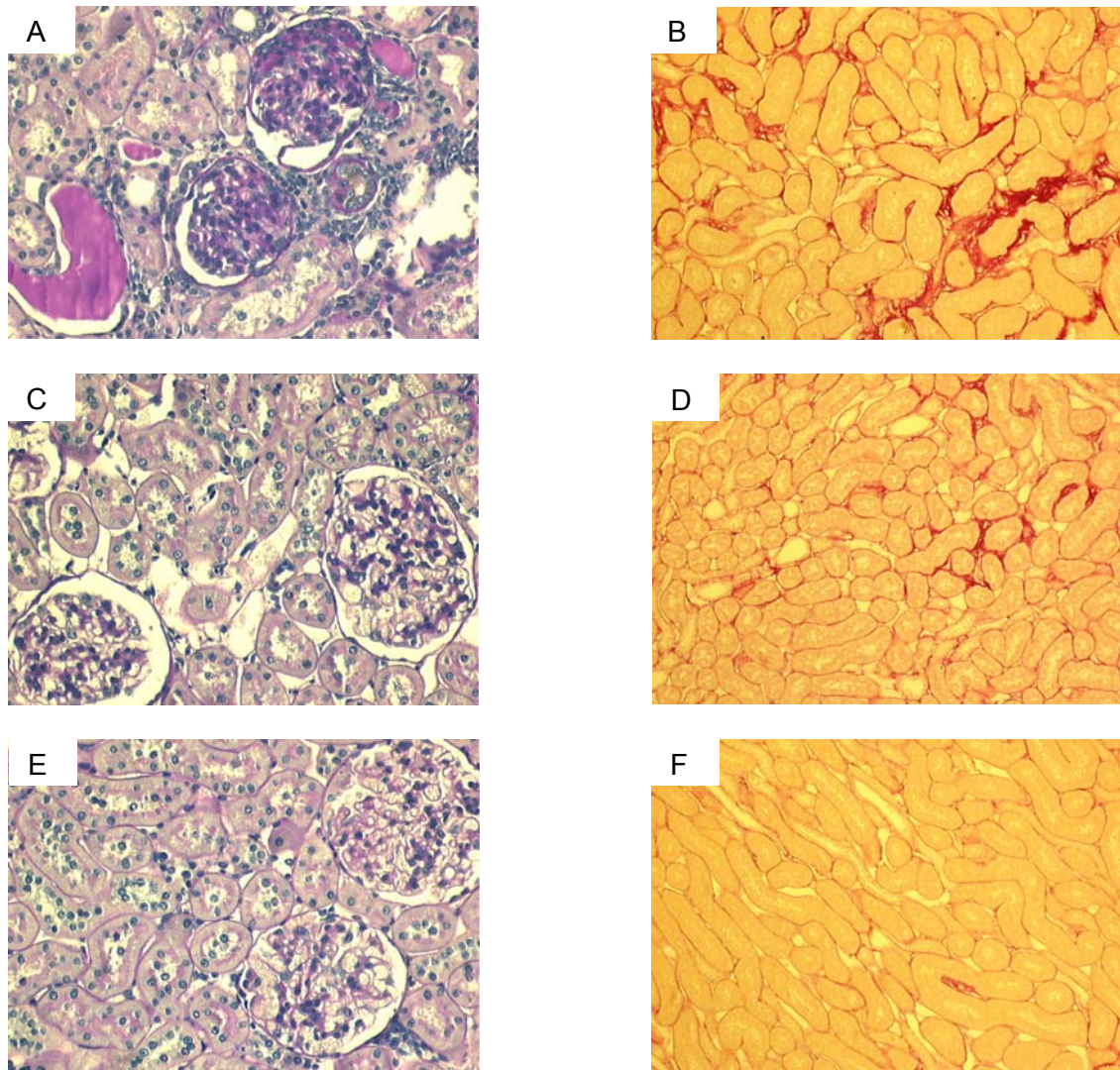


Abb. 10: Histologische Nierenschnitte von männlichen SHR, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

PAS-Färbung: Abb. A, C, E; Sirius-Rot-Färbung: Abb. B, D, F.

Abb. A und B = MWF; Abb. C und D = MWF-6^{SHR}; Abb. E und F = SHR.

Bei einer weitergehenden Beobachtung einer Subgruppe bestehend aus je 9 MWF-6^{SHR}- und MWF-Männchen, zeigte sich die Manifestation der Proteinurie bei den MWF-Männchen mit einem Mittelwert der Albuminausscheidung von $354,61 \pm 112,92$ mg/24h in der 32. Woche. Des Weiteren war ein signifikanter Anstieg der Albuminexkretion der MWF-6^{SHR}-Männchen auf $48,79 \pm 41,74$ mg/24h in der 32. Woche zu verzeichnen. Dieser Wert lag deutlich unter den im Vergleich 7-fach erhöhten Werten der MWF-Männchen (Abb. 11, $p < 0,0001$).

Bei der Analyse der Nierenfunktionsparameter waren signifikant niedrigere Konzentrationen von Harnstoff (Abb. 12) und Kreatinin (Tab. 3) im Serum der MWF-6^{SHR}-Männchen zu ermitteln sowie eine signifikant höhere Kreatinin-Clearance (Abb. 13) im Vergleich zu den MWF-Männchen.

Die MWF-Männchen wiesen verglichen mit den MWF-6^{SHR}-Männchen signifikant höhere Triglyceridkonzentrationen auf (Abb. 14, $p=0,0006$) sowie hoch signifikant erhöhte LDL-, HDL- (Tab. 3) und Gesamtcholesterinkonzentrationen (Abb. 15, $p<0,0001$).

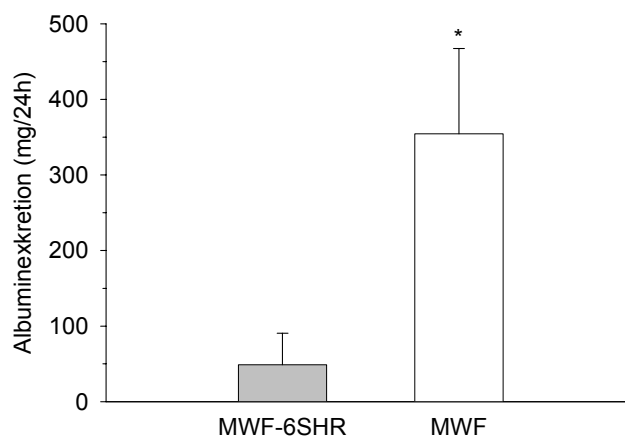


Abb. 11: Albuminexkretion bei männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche. * $p<0,0001$.

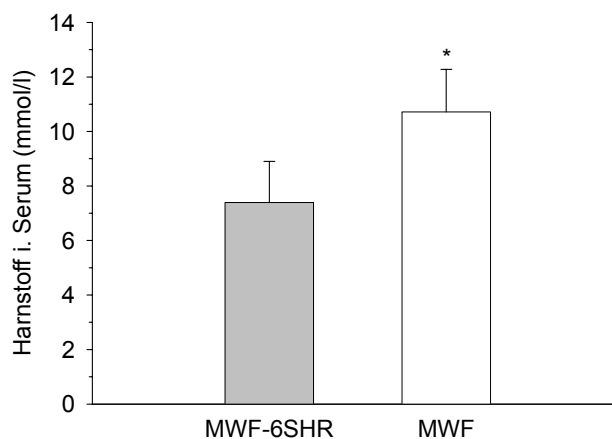


Abb. 12: Harnstoff im Serum bei männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche. * $p=0,0004$.

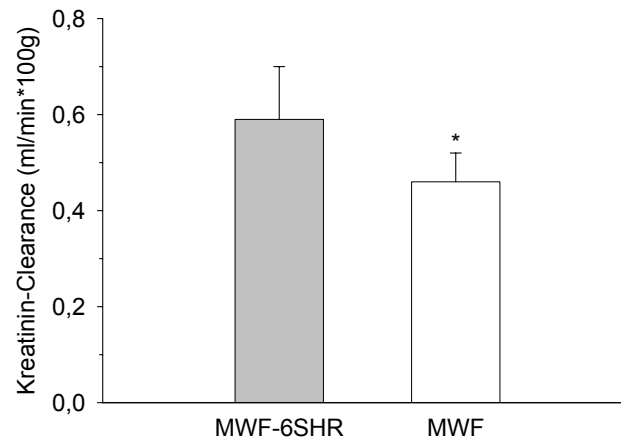


Abb. 13: Kreatinin-Clearance bei männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche. * p=0,01.

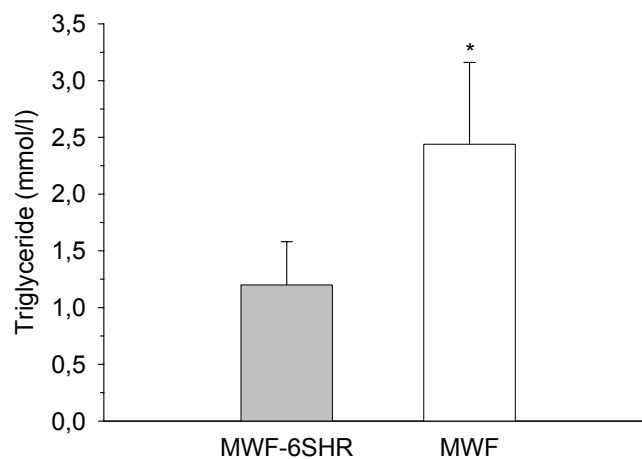


Abb. 14: Triglyceride bei männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche. * p=0,0006.

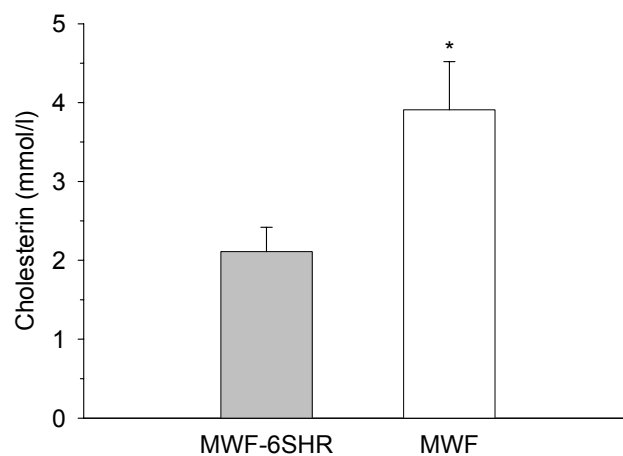


Abb. 15: Gesamtcholesterin bei männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche. * p=0,0001.

Der Vergleich des Körpergewichtes und des absoluten und relativen Nierengewichtes erbrachte in der 32. Woche keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Stämmen. Die MWF-6^{SHR}-Männchen wiesen gegenüber den MWF-Männchen ein höheres absolutes und relatives Herzgewicht sowie ein höheres relatives linksventrikuläres Gewicht auf, der Unterschied war jedoch nur beim absoluten Herzgewicht signifikant (Tab. 3, p=0,001).

Tab. 3: Phänotypische Charakterisierung von männlichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche.

	MWF-6^{SHR} (n=9)	MWF (n=9)	Statistik Mann-Whitney
Körpergewicht (g)	405,5±39,3	390,0±28,1	p=0,55
Nierengewicht (g)	2,34±0,23	2,15±0,17	p=0,07
Nierengewicht / KG (mg/g)	5,79±0,33	5,53±0,25	p=0,11
Herzgewicht (g)	0,94±0,05	0,86±0,04	p=0,001
Herzgewicht / KG (mg/g)	2,32±0,13	2,21±0,19	p=0,08
Rel. linksventrikuläres Gewicht (mg/g)	1,92±0,11	1,85±0,11	p=0,24
Kreatinin im Serum (µmol/l)	37,5±3,2	41,2±2,3	p=0,006
LDL (mmol/l)	0,36±0,07	0,83±0,14	p<0,0001
HDL (mmol/l)	1,59±0,22	2,31±0,33	p<0,0001

3.3. Differentielle Genexpressionsanalyse

Für die weitergehende Beurteilung des Ausmaßes der Nierenschädigung wurde eine differentielle Genexpressionsanalyse bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Männchen in der 24. Woche durchgeführt. Als Parameter für eine fortschreitende Fibrosierung der Niere mit konsekutiver Einschränkung der Organfunktion wurde die relative Kollagen III mRNA-Expression in der Niere mittels Real-Time-PCR gemessen. Die Auswertung zeigte, dass die bei den MWF-Männchen beobachtete signifikant erhöhte Kollagen III mRNA-Expression im Vergleich zu den SHR-Männchen bei den MWF-6^{SHR}-Männchen normalisiert war, und sich nicht signifikant von den Werten der SHR-Männchen unterschied (Abb. 16).

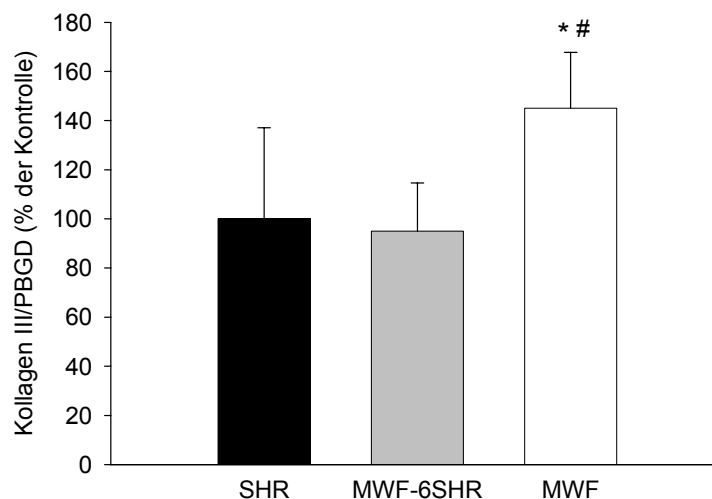


Abb. 16: Relative Kollagen III mRNA-Expression bei männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

* $p=0,002$ vs. MWF-6^{SHR}; # $p=0,005$ vs. SHR.

3.4. Vergleichende phänotypische Charakterisierung weiblicher MWF-6^{SHR}-Tiere

Analog zu der phänotypischen Charakterisierung der männlichen Tiere des konsomen Stammes MWF-6^{SHR} wurden die weiblichen MWF-6^{SHR}-Tiere im Vergleich zu den weiblichen Parentaltieren MWF und SHR hinsichtlich des systolischen Blutdruckes, der Albuminexkretion im Urin und organspezifischer Parameter untersucht. Angelehnt an das Versuchsprotokoll der

Männchen konnten die gewonnenen Befunde der Weibchen mit denen der Männchen im Anschluss vergleichend bewertet werden.

Die Daten der Albuminurieverlaufsstudie der Weibchen sind in Tab. 4 zusammengefasst dargestellt. In der 4. Woche war bei allen drei Stämmen eine Albuminausscheidung unterhalb von 1 mg/24h zu beobachten. Bei den MWF-Weibchen war verglichen mit den MWF-6^{SHR}- und SHR-Weibchen in der 8. Woche ein hoch signifikanter Anstieg der Albuminexkretion auf Werte von $5,22 \pm 3,62$ mg/24h zu verzeichnen ($p < 0,0001$), während sich die Albuminuriewerte der MWF-6^{SHR}- und SHR-Weibchen in einem Bereich von unter 1 mg/24h nicht signifikant voneinander unterschieden. Die Weibchen der aus MWF- und MWF-6^{SHR}-Ratten gezüchteten F1-Generation zeigten eine Albuminurie von $2,32 \pm 1,93$ mg/24h, die signifikant erniedrigt war im Vergleich zu den MWF-Weibchen ($p = 0,006$) und signifikant erhöht verglichen mit den MWF-6^{SHR}-Weibchen ($p = 0,001$) und SHR-Weibchen (Abb. 17, $p < 0,0001$).

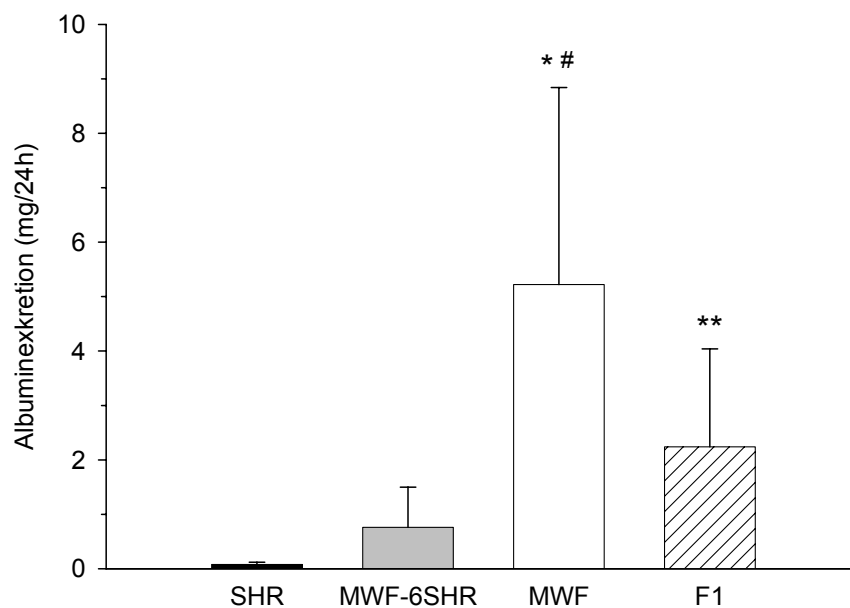


Abb. 17: Albuminexkretion bei weiblichen SHR-, MWF-6^{SHR}-, MWF- und F1-Ratten in der 8. Woche.

* $p < 0,0001$ vs. SHR und MWF-6^{SHR}; # $p = 0,006$ vs. F1; ** $p = 0,001$ vs. MWF-6^{SHR} und $p < 0,0001$ vs. SHR.

Bei der altersabhängigen Verlaufsbeobachtung war kein wesentlicher Anstieg der Albuminausscheidung bei den SHR-Weibchen bis zur 24. Woche festzustellen ($0,21 \pm 0,10$ mg/24h). Die MWF-6^{SHR}-Weibchen zeigten einen leichten Anstieg der

Albuminexkretion mit inter- und intraindividuellen Schwankungen auf Werte um 1 mg/24h und einen signifikanten Anstieg in der 24. Woche mit Werten von $1,71 \pm 1,67$ mg/24h gegenüber den SHR-Weibchen. Im Gegensatz dazu wiesen die MWF-Weibchen eine deutliche Progredienz der Albuminurie auf, die zu jedem Zeitpunkt hoch signifikant oberhalb der Werte der MWF-6^{SHR}- und SHR-Weibchen lag ($p < 0,0001$). Die Albuminausscheidung der MWF-Weibchen betrug in der 24. Woche $24,02 \pm 22,77$ mg/24h und war somit im Vergleich zu den MWF-6^{SHR}-Weibchen ($1,71 \pm 1,67$ mg/24h) um das 14-fache erhöht. Bei der weiteren Beobachtung einer Subgruppe bestehend aus 9 MWF-6^{SHR}- und 8 MWF-Weibchen ergaben sich in der 32. Woche bei den MWF-Weibchen Albuminuriewerte von $17,07 \pm 8,61$ mg/24h, die 20-fach erhöht waren im Vergleich zu den $0,82 \pm 0,37$ mg/24h der MWF-6^{SHR}-Weibchen ($p < 0,0001$) und keine Reduktion der Albuminurie mit dem Alter darstellen, sondern als Ausdruck der zum Teil erheblichen intra- und interindividuellen Schwankungen zu betrachten ist.

Tab. 4: Altersabhängiger Verlauf der Albuminexkretion bei weiblichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten.

	SHR (n)	MWF-6 ^{SHR} (n)	MWF (n)
4. Woche	$0,02 \pm 0,02$ (10)	$0,12 \pm 0,04$ (18)	$0,10 \pm 0,04$ (18)
8. Woche	$0,08 \pm 0,04$ (10)	$0,76 \pm 0,74$ (18)	$5,22 \pm 3,62$ (18)
12. Woche	$0,13 \pm 0,09$ (10)	$1,02 \pm 1,12$ (18)	$4,34 \pm 2,85$ (18)
14. Woche	$0,48 \pm 0,66$ (10)	$0,40 \pm 0,40$ (18)	$9,71 \pm 7,48$ (17)
18. Woche	$0,15 \pm 0,06$ (10)	$0,81 \pm 0,57$ (18)	$9,38 \pm 6,29$ (17)
24. Woche	$0,21 \pm 0,10$ (10)	$1,71 \pm 1,67$ (18)	$24,02 \pm 22,77$ (17)
32. Woche		$0,82 \pm 0,37$ (9)	$17,07 \pm 8,61$ (8)

Bei der vergleichenden Analyse der Albuminuriedaten der weiblichen und männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten ließ sich als Gemeinsamkeit eine Albuminausscheidung von unter 1 mg/24h bei allen Tieren in der 4. Woche beobachten. Ab der 8. Woche stiegen die Albuminuriewerte sowohl der MWF-Männchen als auch der MWF-Weibchen hoch signifikant im Vergleich zu MWF-6^{SHR} und SHR an, wobei die Werte der MWF-Männchen deutlich über denen der MWF-Weibchen lagen ($p < 0,0001$). Während die Männchen des konsomen Stammes

MWF-6^{SHR} mit steigendem Alter eine Albuminurie entwickelten, mit einem deutlichen Anstieg der Werte zwischen der 18. und der 24. Woche auf über 15 mg/24h, zeigten die MWF-6^{SHR}-Weibchen nur einen moderaten Anstieg auf leicht über 1 mg/24h erhöhte Werte in der 24. Woche ($1,71 \pm 1,67$ mg/24h). Ähnliche Werte der Albuminexkretion erreichten die SHR-Männchen mit $2,32 \pm 1,07$ mg/24h in der 24. Woche, die sich nicht signifikant von denen der MWF-6^{SHR}-Weibchen unterschieden, aber im Vergleich mit den Werten der SHR-Weibchen in der 24. Woche ($0,21 \pm 0,10$ mg/24h) signifikant erhöht waren (Abb. 18). Der Vergleich der Albuminausscheidung zwischen den weiblichen und männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche zeigt eine deutlich signifikant erhöhte Albuminexkretion der Männchen im Vergleich zu den Weibchen des gleichen Stammes. Diese im Vergleich zu den Weibchen erhöhten Werte der Albuminurie bei den Männchen eines Stammes lassen sich bei Überschreiten der physiologischen Albuminausscheidung von ca. 1 mg/24h zu allen Zeitpunkten feststellen und sind für die 24. Woche nur exemplarisch dargestellt.

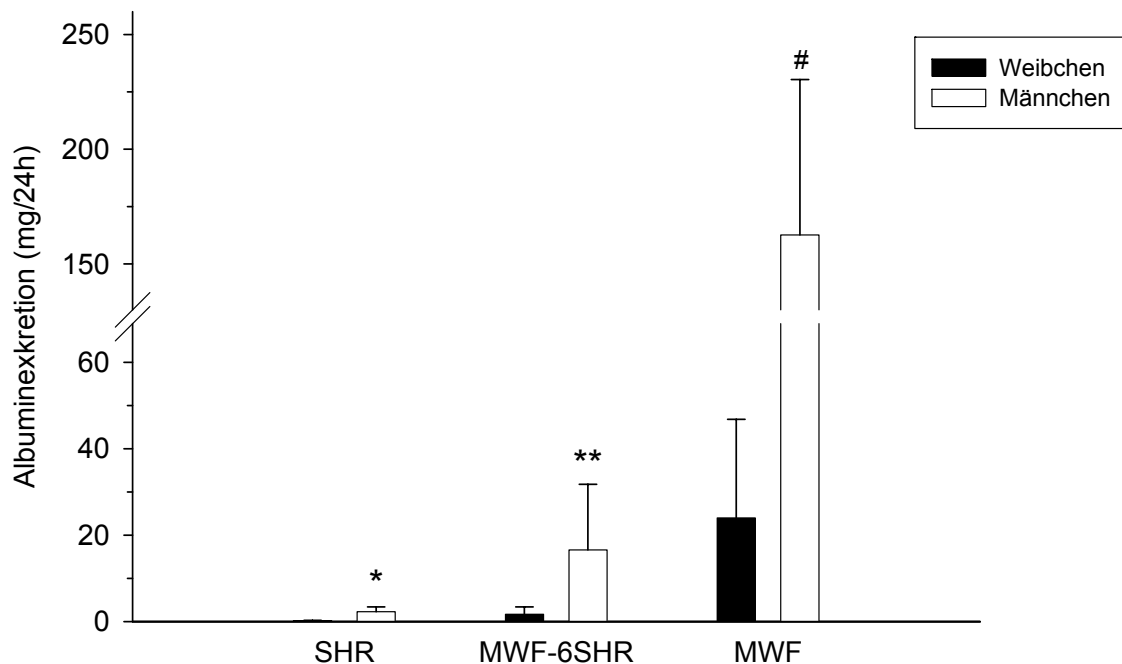


Abb. 18: Albuminexkretion bei weiblichen und männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

* $p < 0,0001$ vs. SHR-Weibchen; ** $p < 0,0001$ vs. MWF-6^{SHR}-Weibchen; # $p < 0,0001$ vs. MWF-Weibchen.

Die Messungen des systolischen Blutdruckes bei den Weibchen in der 14. und 24. Woche ließen signifikante Unterschiede zwischen den Stämmen erkennen ($p < 0,0001$), es ergaben sich aber keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Messzeitpunkten. In der 14. Woche zeigten die SHR-Weibchen einen systolischen Blutdruck von $157,6 \pm 6,9$ mmHg, der signifikant erhöht war ($p < 0,0001$) im Vergleich zu den Werten der MWF-6^{SHR}-Weibchen ($142,8 \pm 7,2$ mmHg) und der MWF-Weibchen ($142,5 \pm 7,5$), die sich voneinander nicht signifikant unterschieden (Abb. 19).

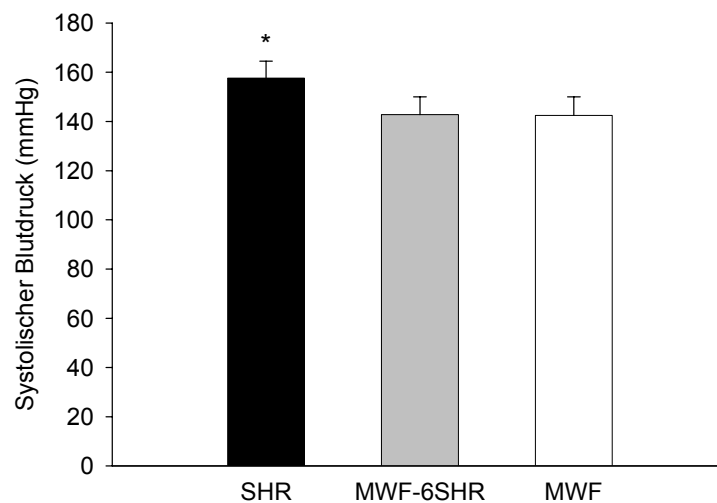


Abb. 19: Systolischer Blutdruck bei weiblichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 14. Woche.

* $p < 0,0001$ vs. MWF-6^{SHR} und MWF.

Der Vergleich der systolischen Blutdrücke zwischen den weiblichen und männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten ist in Abb. 20 exemplarisch für die 24. Woche dargestellt. Die Männchen sind gegenüber den Weibchen desselben Stammes gekennzeichnet durch signifikant erhöhte Blutdruckwerte sowohl in der 14. als auch in der 24. Woche. Stammspezifisch betrachtet, zeigten die SHR-Ratten die höchsten Blutdruckwerte. Der im Vergleich zu den SHR-Männchen um ca. 18 mmHg niedrigere Blutdruck der SHR-Weibchen in der 24. Woche war signifikant erhöht verglichen mit den Werten der MWF-Männchen ($157,1 \pm 9,1$ vs. $145,1 \pm 4,7$ mmHg; $p = 0,001$), aber nicht signifikant erhöht verglichen mit den Werten der MWF-6^{SHR}-Männchen ($151,0 \pm 6,8$ mmHg).

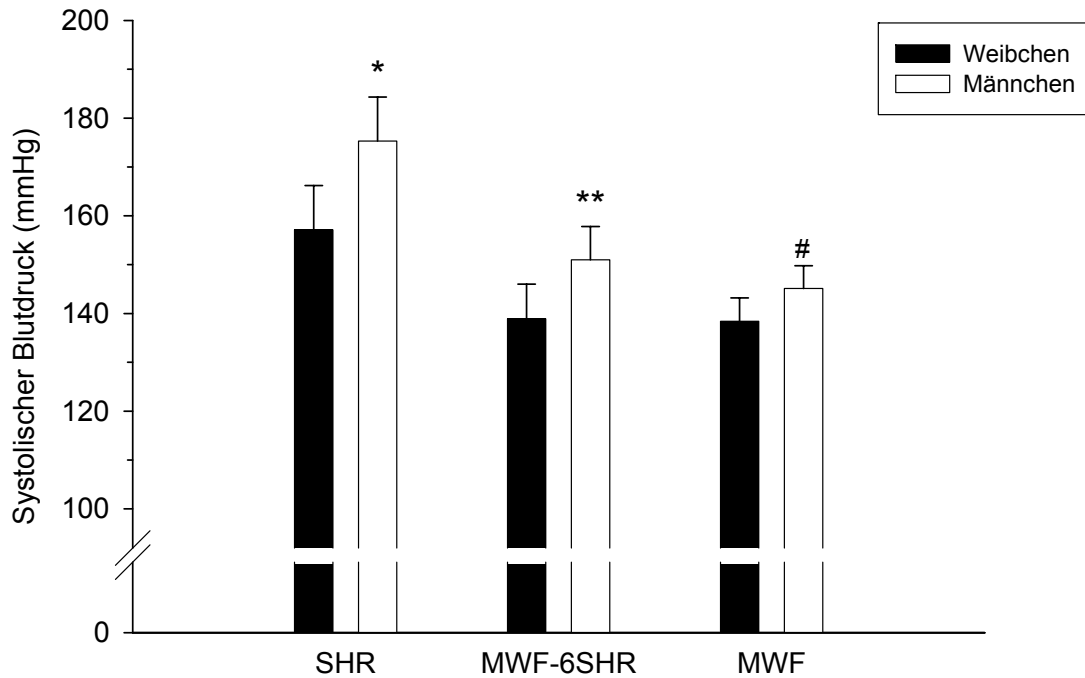


Abb. 20: Systolischer Blutdruck bei weiblichen und männlichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

* $p=0,0007$ vs. SHR-Weibchen; ** $p<0,0001$ vs. MWF-6^{SHR}-Weibchen; # $p=0,0004$ vs. MWF-Weibchen.

Die Auswertung der organspezifischen Parameter erbrachte in der 24. Woche bei den Weibchen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stämmen hinsichtlich des Körpergewichtes und des absoluten und relativen Nierengewichtes. Die SHR-Weibchen zeigten verglichen mit den MWF-6^{SHR}- und MWF-Weibchen ein signifikant erhöhtes absolutes und relatives Herzgewicht, sowie relatives linksventrikuläres Gewicht. Die Werte für das absolute und relative Herzgewicht waren bei den MWF-6^{SHR}-Weibchen intermediär, aber unterschieden sich wie das relative linksventrikuläre Gewicht nicht signifikant von den Werten der MWF-Weibchen (Tab. 5).

Tab. 5: Phänotypische Charakterisierung von weiblichen SHR-, MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 24. Woche.

	SHR (n=10)	MWF-6 ^{SHR} (n=9)	MWF (n=9)	p- ANOVA	p-MWF vs. SHR	p-MWF vs. MWF- 6 ^{SHR}	p-MWF- 6 ^{SHR} vs. SHR
Körpergewicht (g)	208,0±17,5	214,4±15,7	207,2±3,6	0,49			
Nierengewicht (g)	1,28±0,15	1,30±0,16	1,20±0,08	0,26			
Nierengewicht / KG (mg/g)	6,15±0,51	6,06±0,49	5,78±0,39	0,22			
Herzgewicht (g)	0,77±0,10	0,66±0,10	0,62±0,02	0,001	0,001	0,78	0,03
Herzgewicht / KG (mg/g)	3,67±0,32	3,08±0,29	2,98±0,07	<0,0001	<0,0001	1,00	0,0001
Rel. linksventrikuläres Gewicht (mg/g)	3,02±0,23	2,45±0,27	2,42±0,12	<0,0001	<0,0001	1,00	<0,0001

Bei der Untersuchung der Subgruppe aus 9 MWF-6^{SHR}-Weibchen und 8 MWF-Weibchen in der 32. Woche ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Stämmen hinsichtlich des Körpergewichtes, des absoluten und relativen Nierengewichtes, des absoluten Herzgewichtes sowie des relativen linksventrikulären Gewichtes. Das relative Herzgewicht der MWF-6^{SHR}-Weibchen war mit 2,88±0,11 mg/g gegenüber den 2,79±0,09 mg/g der MWF-Weibchen grenzwertig signifikant erhöht (Tab. 6, p=0,05).

Tab. 6: Phänotypische Charakterisierung von weiblichen MWF-6^{SHR}- und MWF-Ratten in der 32. Woche.

	MWF-6 ^{SHR} (n=9)	MWF (n=8)	Statistik Mann-Whitney
Körpergewicht (g)	218,3±7,1	220,6±10,5	p=0,8
Nierengewicht (g)	1,29±0,08	1,24±0,07	p=0,1
Nierengewicht / KG (mg/g)	5,92±0,34	5,60±0,24	p=0,06
Herzgewicht (g)	0,63±0,03	0,61±0,03	p=0,4
Herzgewicht / KG (mg/g)	2,88±0,11	2,79±0,09	p=0,05
Rel. linksventrikuläres Gewicht (mg/g)	2,32±0,08	2,33±0,08	p=0,7