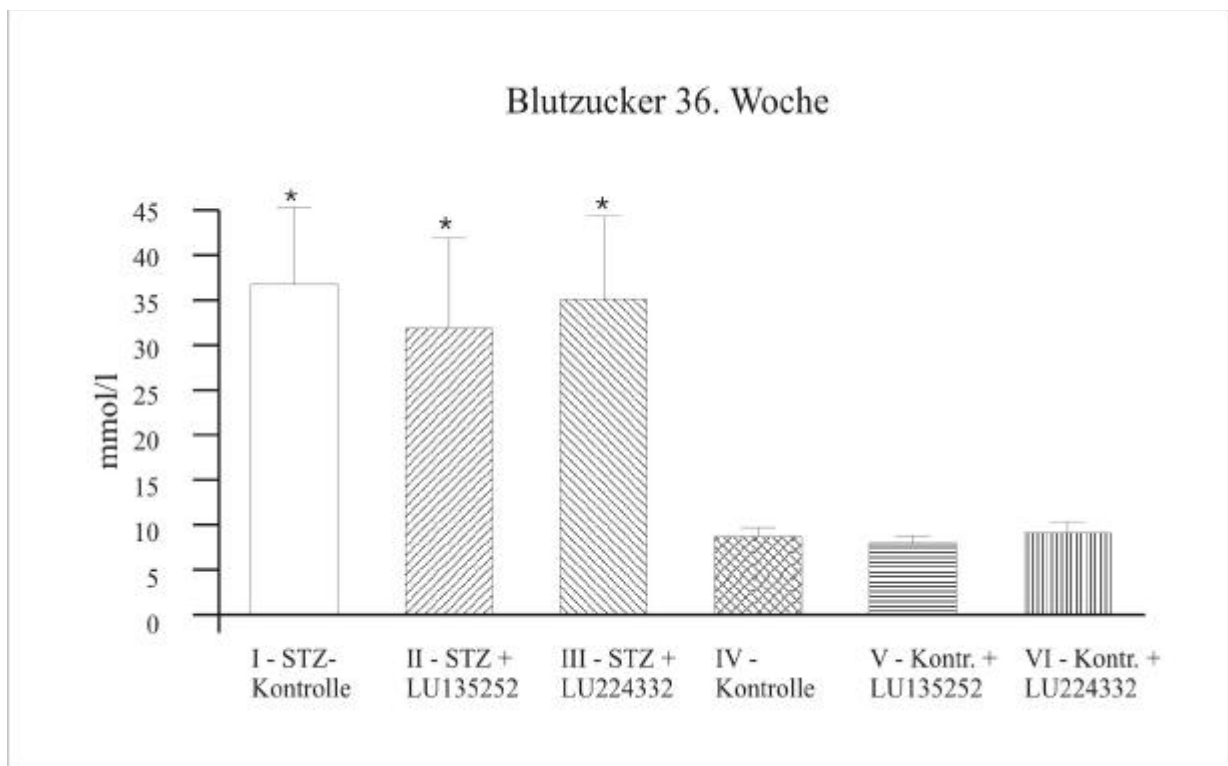


## C Ergebnisse

### 1. Blutglukosekonzentration, Gewichtsverlauf, Urinmengen, Kreatinin-Clearance

In die Diabetischen Versuchsgruppen wurden nur Ratten mit Plasmaglukosekonzentrationen von über 15 mmol/l eingeschlossen. Diese Tiere waren während des gesamten Beobachtungszeitraums diabetisch. Die Blutglukosekonzentrationen am Ende des Versuchs (nach 36 Behandlungswochen) sind in Diagramm 1 im Vergleich zu den Nicht-Diabetischen Ratten dargestellt. Die Zugabe der beiden Endothelin-Rezeptor-Antagonisten LU 135252 (ETA-Rezeptorantagonist) bzw. LU 224332 (kombinierter ETA/ETB-Rezeptor-Antagonist) hatte keinen Einfluss auf die Blutzuckerspiegel.



#### Diagramm 1:

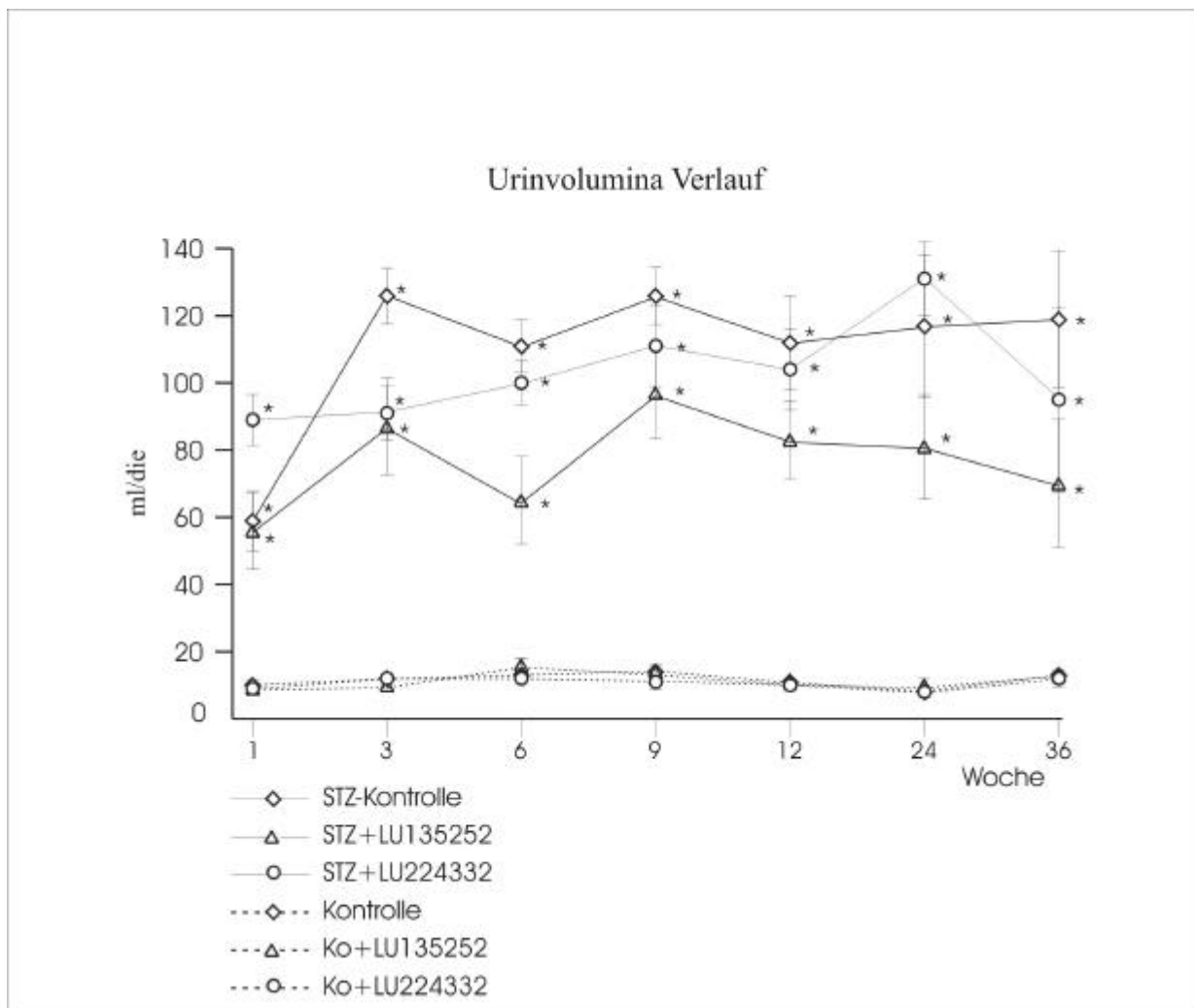
Blutzuckerkonzentrationen am Ende des Experiments (36. Woche)

\*  $p < 0,01$  vs. Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

Die Blutzuckerkonzentrationen sind bei den Diabetischen Tieren deutlich erhöht.

Wenn die erhöhten Blutzuckerkonzentrationen die Kapazität der renalen Glukose-Rückabsorptionsmechanismen übersteigen, tritt Zucker im Harn auf. Da dieser osmotisch wirksam ist, kommt es zur vermehrten Urinausscheidung, die so charakteristisch ist, dass sie der

Erkrankung den Namen gegeben hat (Diabetes mellitus – griech.: diabeinein = durchfließen, lat.: mellitus = honigsüß). Entsprechend waren die Urinmengen der Diabetischen Ratten (ohne Einfluss der Rezeptorenblocker) zu allen Zeitpunkten signifikant höher als bei den Nichtdiabetischen Ratten (s. Diagramm 2).



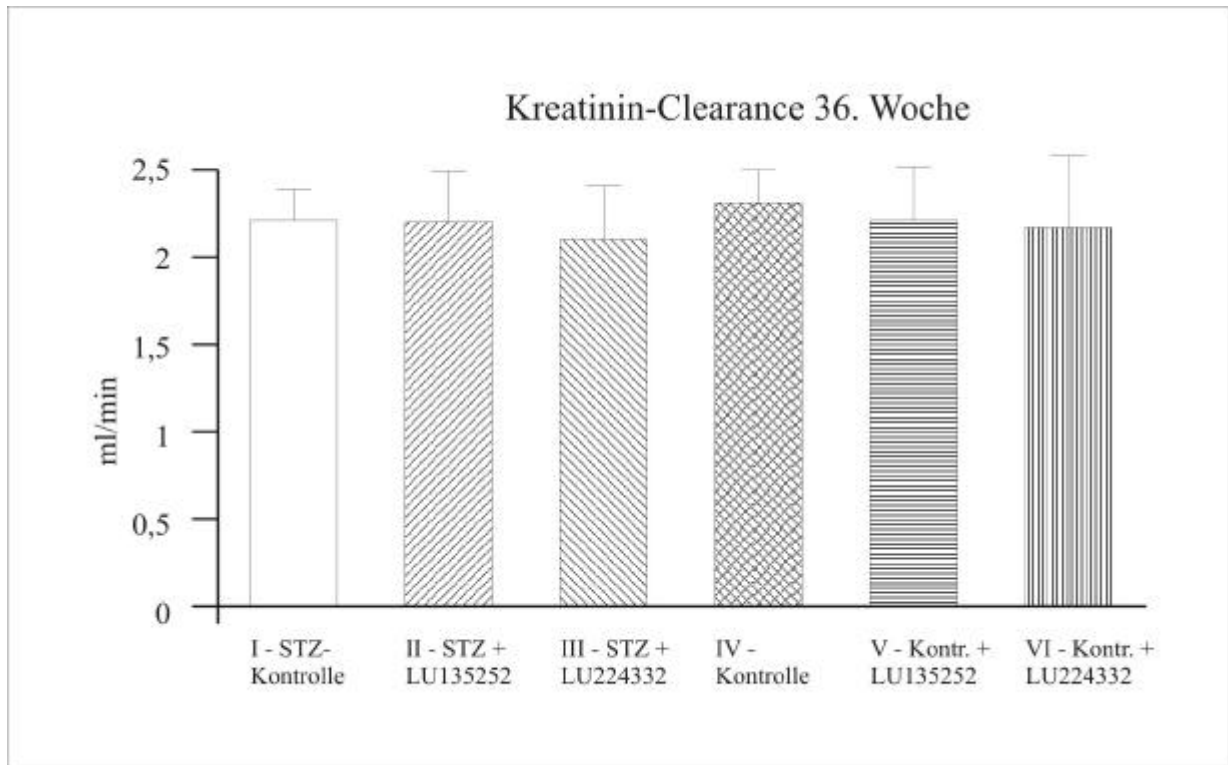
**Diagramm 2:**

Urinvolumina pro 24 h über den gesamten Beobachtungszeitraum

\*  $p < 0,01$  vs. Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

Die 24h-Urinmengen sind bei den Diabetischen Ratten etwa um den Faktor 10 erhöht.

Die endogene Kreatinin-Clearance war bei den diabetischen und nicht-diabetischen Ratten gleich und blieb von der Behandlung mit den Endothelinrezeptorantagonisten unbeeinflusst (s. Diagramm 3).

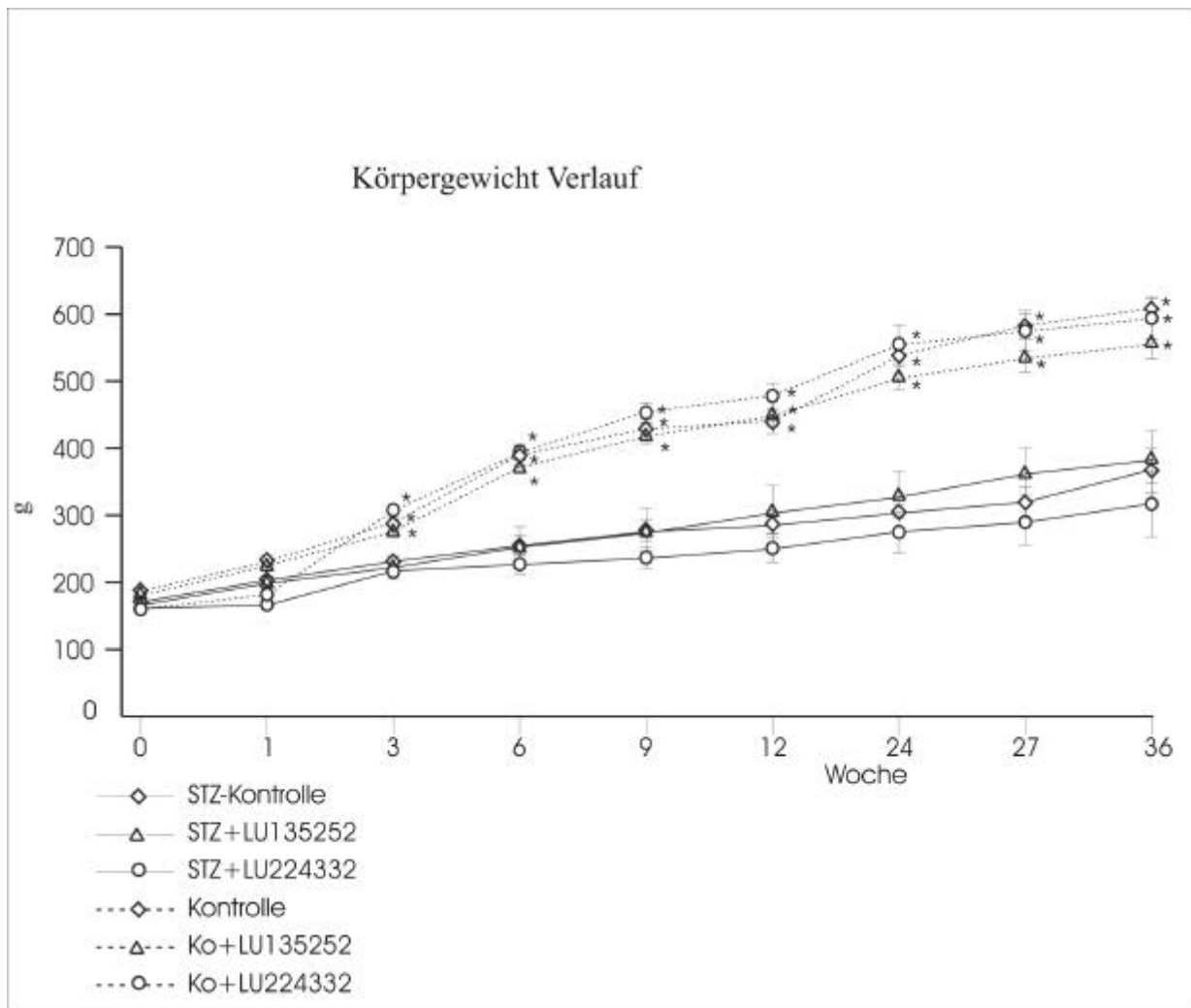


**Diagramm 3:**

Kreatinin-Clearance am Ende des Experiments (36. Woche)

Die endogene Kreatinin-Clearance weist keine signifikanten Unterschiede zwischen Diabetischen und Nicht-Diabetischen Tieren auf, sie bleibt auch vom Einsatz der Endothelin-Rezeptor-Antagonisten unbeeinflusst.

Als Zeichen der schweren Stoffwechselerkrankung, der die STZ-behandelten Ratten ausgesetzt sind, ist die gestörte Entwicklung dieser Tiere zu betrachten, die sich in einer deutlich reduzierten Gewichtszunahme äußert. Der Verlauf der Gewichtsentwicklung über den gesamten Beobachtungszeitraum ist in Diagramm 4 dargestellt. Bereits von der 3. Woche an bleiben die diabetischen Ratten in ihrer Gewichtsentwicklung hinter den nicht-diabetischen Ratten zurück, die Unterschiede zwischen den STZ-behandelten Tieren und den nichtdiabetischen Kontrollgruppen sind fortan zu allen Zeitpunkten signifikant. Die Behandlung mit den Endothelin-Rezeptorblockern ist ohne erkennbaren Einfluss auf die Gewichtsentwicklung.

**Diagramm 4:**

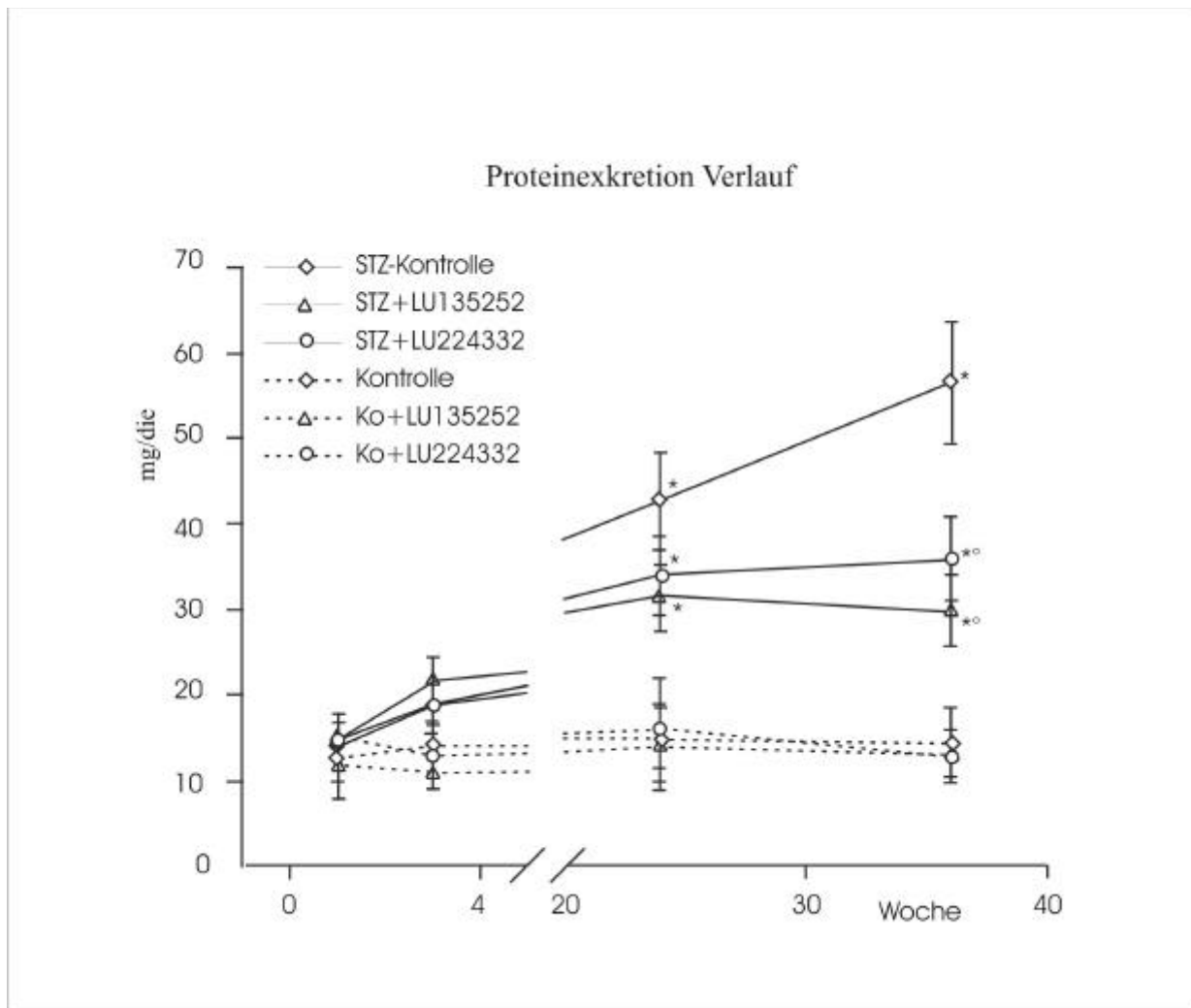
Darstellung der Entwicklung des Körpergewichts über den Beobachtungszeitraum

\*  $p < 0,01$  vs. Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

Die Entwicklung der Diabetischen Tiere bleibt im Vergleich zu den Kontrolltieren deutlich zurück.

## 2. Proteinurie und Albuminurie

Die Eiweißausscheidung im Urin wurde 1, 3, 24 und 36 Wochen nach Beginn des Experiments gemessen. Bei der Gruppe der nichtbehandelten diabetischen Ratten ist eine progrediente Zunahme der Proteinurie zu beobachten. Sowohl der ETA-Rezeptorantagonist LU 135252 als auch der kombinierte ETA/ETB-Rezeptorantagonist LU 224332 reduzierten die tägliche Proteinausscheidung bis zu etwa 50% im Vergleich zu den nichtbehandelten diabetischen Ratten. Die zusätzliche Blockade des ETB-Rezeptors durch den kombinierten ETA/ETB-Rezeptorantagonisten LU 224332 brachte keine weitere Senkung der Proteinausscheidung im Vergleich zu den mit dem ETA-Rezeptorantagonisten LU 135252 behandelten Tieren (s. Diagramm 5).



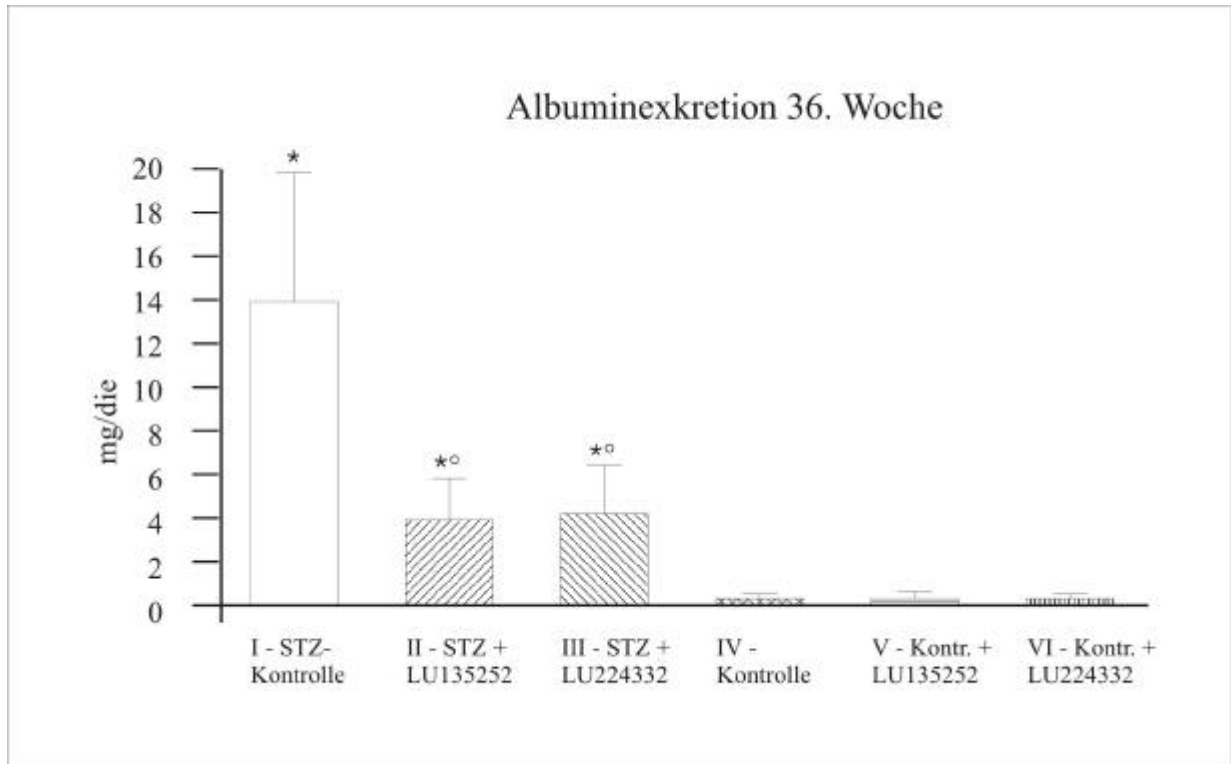
**Diagramm 5:**

Verlauf der Proteinurie am Ende des Experiments (36. Woche)

\*  $p < 0,01$  vs. Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

o  $p < 0,05$  vs. Diabetische Kontrollgruppe (STZ-Kontrollgruppe)

Die Untersuchung der Albuminausscheidung im Urin ergab vergleichbare Ergebnisse. Sie ist bei den diabetischen Ratten im Gegensatz zu den nichtdiabetischen Tieren signifikant erhöht, beide Endothelinrezeptorantagonisten führen zu einer deutlich reduzierten Albuminausscheidung im Vergleich zur nichtbehandelten diabetischen Gruppe (s. Diagramm 6).



**Diagramm 6:**

Albuminextraktion am Ende des Experiments (36. Woche)

\*  $p < 0,01$  vs. Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

°  $p < 0,05$  vs. Diabetische Kontrollgruppe

Die 24h-Albuminurie ist bei den Diabetischen Kontrolltieren deutlich ausgeprägt und wird durch den Einsatz der Endothelinrezeptor-Antagonisten signifikant vermindert.

Die Überwachung der Albuminausscheidung ist (neben der Überwachung und Therapie der Grundkrankheit) die wichtigste Untersuchung der diabetischen Nephropathie. Im frühen Stadium des Diabetes mellitus kommt es zur Hyperplasie der Glomerula, die Filtrationsfläche vergrößert sich und entsprechend steigt das Glomerulumfiltrat an. Die Hyperfiltration der Basalmembran beim Insulinmangel führt zur Albuminurie und ist bei optimaler Insulintherapie und Normalisierung des Glomerulumfiltrats reversibel. Besteht die Albuminurie bei fehlender Uringlucoseausscheidung fort und ist das Glomerulumfiltrat trotz optimaler BZ-Werte vermindert, so besteht der Verdacht auf eine diabetische Nephropathie. Hat diese einen gewissen

Grad erreicht (GFR < 60 ml/min) kommt es zur gesteigerten Ausscheidung von Immunglobulin G, d.h. die Proteinurie wird unselektiv. Im Zuge des Fortschreitens der Nephropathie kommt es zur Verdickung der glomerulären Basalmembran und zur Einschränkung der Nierenfunktion durch Glomerulosklerose und Verminderung des Filtrats.

Als Zeichen der gestörten renalen Funktion sind die Urinkonzentrationen von Natrium und Kalium zu allen Zeitpunkten bei den diabetischen Ratten deutlich geringer als bei den Kontrolltieren, die 24-Stunden-Ausscheidung beider Ionen ist dennoch (entsprechend den deutlich größeren täglichen Urinmengen) höher als bei den Kontrollgruppen (s. Tab. 1).

	Natrium im Urin (mmol/l)	Kalium im Urin (mmol/l)	24h-Ausscheidung Natrium (mmol/24h)	24h-Ausscheidung Kalium (mmol/24h)
<b>Diabetische Ratten</b>	55,0 *	60,9 *	6,5 *	7,2 *
<b>Diab. Ratten + LU135252</b>	54,4 *	96,0 *	4,4 *	7,8 *
<b>Diab. Ratten + LU 224332</b>	49,4 *	62,1 *	6,5 *	8,1 *
<b>Kontrolle</b>	312,9	595,9	2,4	4,6
<b>Kontrolle + LU135252</b>	196,2	456,3	1,9	4,5
<b>Kontrolle + LU224332</b>	235,9	554,0	1,8	4,3

**Tab. 1:**

Urin-Konzentrationen sowie die 24h-Ausscheidungsmengen von Natrium und Kalium zum Zeitpunkt 24. Behandlungswoche. Die Urin-Natriumkonzentration ist bei den diabetischen Ratten (STZ-Gruppen) erheblich vermindert, wegen der großen Urinmengen ist trotzdem die Ausscheidung von Natrium insgesamt deutlich höher als in den nichtdiabetischen Kontrollgruppen. Entsprechende Ergebnisse finden sich zu den anderen Untersuchungszeitpunkten. In gleicher Weise stellen sich auch die Urin-Konzentration bzw. 24h-Ausscheidung von Kalium zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten dar.

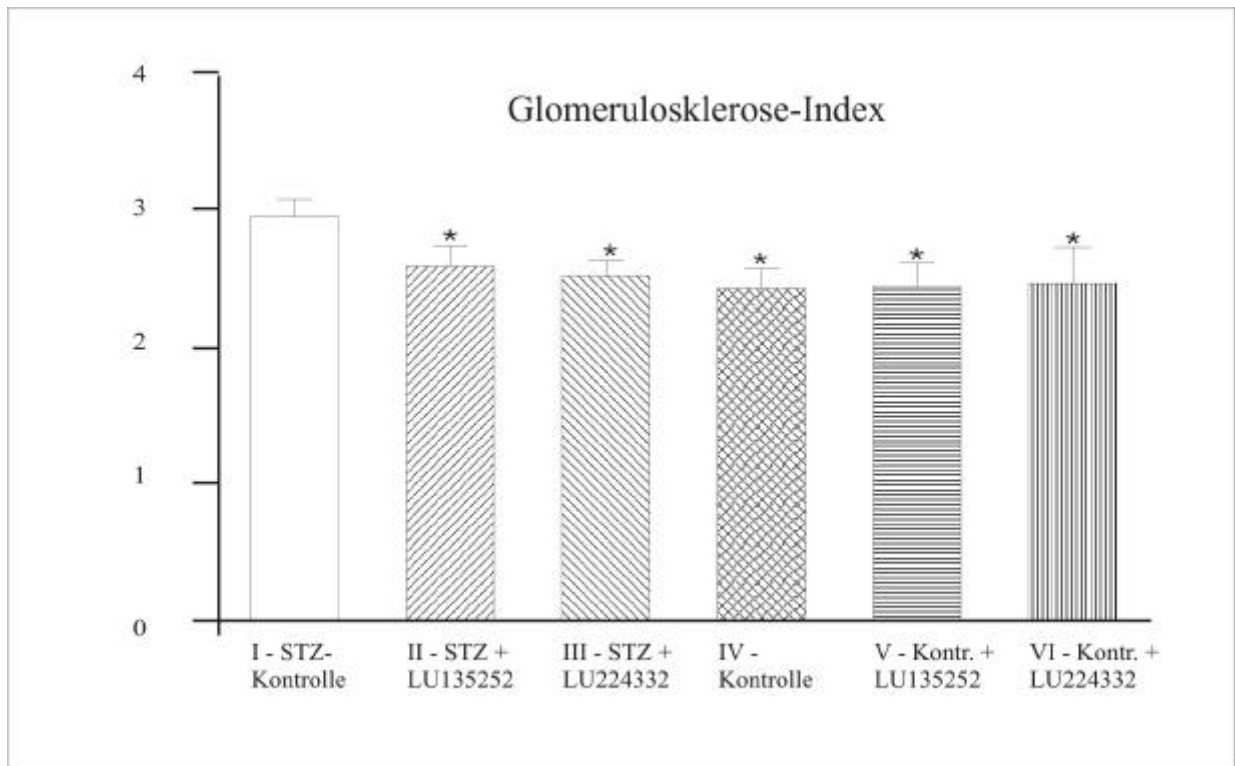
\*  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe (Nicht-Diabetische Ratten)

### 3. Interstitielle Fibrose

Gegenüber den nicht-diabetischen Kontrollgruppen war die Interstitielle Fibrose in den Nieren der diabetischen Ratten nicht erhöht. In einer weiteren Untersuchung an den gleichen Nieren, die nicht Bestandteil dieser Arbeit war, konnte aber immunhistochemisch gezeigt werden, dass sowohl der ETA- als auch der kombinierte ETA/ETB-Antagonist eine Reduktion des Auftretens von interstitiellem Typ-IV-Kollagen sowie von Fibronectin bewirken (HOCHER et al., 2001).

#### 4. Glomerulosklerose-Index

In den Glomerula der Diabetischen Ratten konnte ein signifikant höherer Anteil PAS-positiven Materials gegenüber den gleichaltrigen Nicht-Diabetischen Ratten festgestellt werden. Sowohl die Behandlung mit dem ETA- als auch mit dem kombinierten ETA/ETB-Antagonisten führte im Vergleich zu den unbehandelten Diabetischen Ratten zu einer Senkung des PAS-positiven Anteils, und zwar auf das Niveau der Nicht-Diabetischen Ratten (Abb. 3; Diagramm 7).

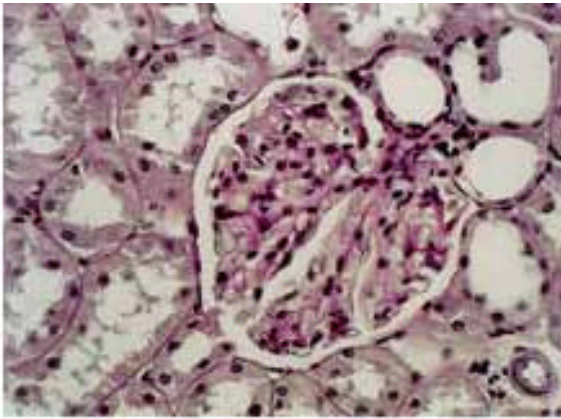


**Diagramm 7:**

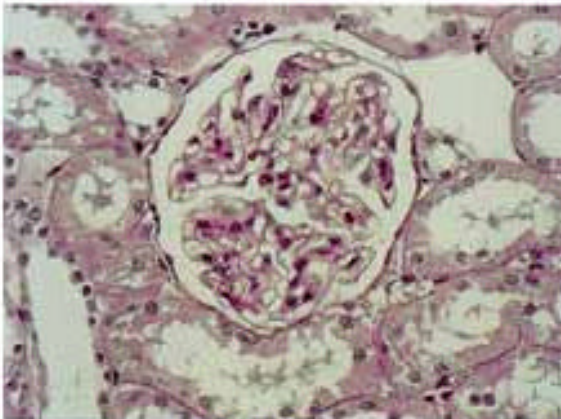
Glomerulosklerose-Index. Dargestellt sind die Wirkungen des ETA- bzw. kombinierten ETA/ETB-Antagonisten auf die Entwicklung der Glomerulosklerose 36 Wochen nach Diabetes-Induktion. Die bei den nichtbehandelten Diabetischen Ratten verstärkte Sklerose wird durch die Rezeptorantagonisten auf einen den Nicht-Diabetischen Tieren vergleichbaren Wert gesenkt.

\*:  $p < 0,05$  gegenüber Diabetische Kontrollgruppe

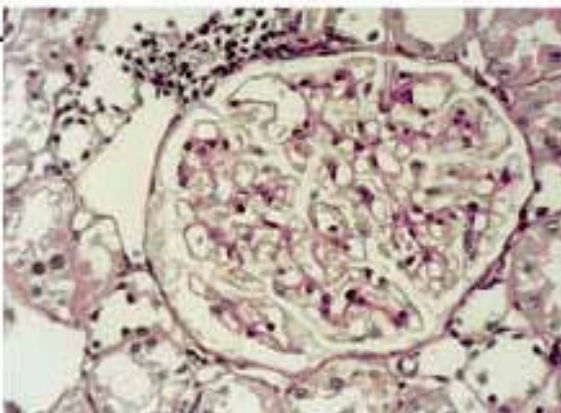




Typisches Bild der Glomeruli der unbehandelten diabetischen Ratten 36 Wochen nach Induktion des Diabetes: der Anteil des PAS-positiven Materials ist deutlich erhöht.



Im Vergleich dazu ist der Effekt der Behandlung mit dem ETA-Rezeptor-Antagonisten auf die glomeruläre Matrix der diabetischen Ratten nach 36 Wochen dargestellt.



Glomerulus einer nicht-diabetischen Kontrollratte.

**Abb. 3:**  
Histologisches Bild

## 5. Media/Lumen-Ratio

Hinsichtlich der Erhebung der Media/Lumen-Ratio lässt sich feststellen, dass sich die Diabetischen Ratten nicht von den gesunden Kontrolltieren unterscheiden, überdies konnte auch kein Effekt der Endothelinrezeptor-Blocker beobachtet werden.