

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Körpergewicht**

Zwischen den Gruppen der SHR-Tiere (SHR-Sham und SHR-NX-NaCl) gab es keine signifikanten Gewichtsunterschiede zum Beobachtungszeitpunkt. Hingegen zeigten die mit einer Salzdiät und einseitiger Nephrektomie behandelten SHRSP-Tiere (SHRSP-NX-NaCl) ein signifikant geringeres Gewicht als ihre Kontrolle (SHRSP-Sham). Der Unterschied zwischen den Kontrollen (SHR-Sham und SHRSP-Sham) war nicht signifikant. Das bedeutend geringere Gewicht der SHRSP-NX-NaCl-Tiere war auch im Vergleich zur entsprechenden SHR-Gruppe (SHR-NX-NaCl) statistisch signifikant (siehe Tabelle 3-1).

<b><i>Tiergruppe</i></b>	<b><i>KG in g</i></b>
SHR-Sham	259 ± 6,8
SHR-NX-NaCl	259 ± 6,3
SHRSP-Sham	231 ± 10,4
SHRSP-NX-NaCl	176 ± 9,6 <sup>*+</sup>

**Tabelle 3-1: Körpergewicht**  
in *Gramm* im Alter von 12 Wochen  
(\* p<0,05 vs. SHRSP-Sham; + p<0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.2 Das relative Nierengewicht

Tiere der SHR-Sham-Gruppe weisen in Bezug auf das Körpergewicht ein geringeres Nierengewicht als die einseitig nephrektomierten und mit Salzdiät behandelten Tiere des gleichen Stammes (SHR-NX-NaCl) auf. Dieser Unterschied, der oberhalb des Signifikanzniveaus blieb, erlangte beim Vergleich der SHRSP-Gruppen (SHRSP-Sham und SHRSP-NX-NaCl) untereinander Signifikanz. Der Unterschied zwischen den jeweiligen Kontrollen (SHR-Sham und SHRSP-Sham) und den behandelten Gruppen (SHR-NX-NaCl und SHRSP-NX-NaCl) war dagegen nicht so ausgeprägt.

<i>Tiergruppe</i>	<i>NG/KG in mg/g</i>
SHR-Sham	3,1 $\pm$ 0,06*+
SHR-NX-NaCl	5,5 $\pm$ 0,10
SHRSP-Sham	4,2 $\pm$ 0,16
SHRSP-NX-NaCl	8,1 $\pm$ 0,39*+

**Tabelle 3-2: Nierengewicht**

Angaben in Relation zum Körpergewicht in *Milligramm/Gramm* im Alter von 12 Wochen  
(\* p<0,05 vs. SHRSP-Sham; + p<0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.3 Die Kreatininclearance

Die Kreatininclearanceleistung der Niere bleibt bei den SHR-Tieren nach salzangereichertem Futter und Nephrektomie konstant. In der SHRSP-Gruppe verhält sich die Clearanceleistung der Niere anders, sie sinkt signifikant nach Salzfutter und Nephrektomie gegenüber der scheinbehandelten Gruppe. Die SHR-NX-NaCl-Gruppe weist eine fast doppelt so große Clearanceleistung, wie die SHRSP-Tiere unter denselben Bedingungen, Salzfutter und einseitige Nephrektomie, auf (siehe Tabelle 3-3).

<i>Tiergruppe</i>	$C_{krea}$ in $ml \cdot min^{-1}$
SHR-Sham	$0,66 \pm 0,10$
SHR-NX-NaCl	$0,77 \pm 0,11$
SHRSP-Sham	$0,75 \pm 0,06$
SHRSP-NX-NaCl	$0,38 \pm 0,09^{*+}$

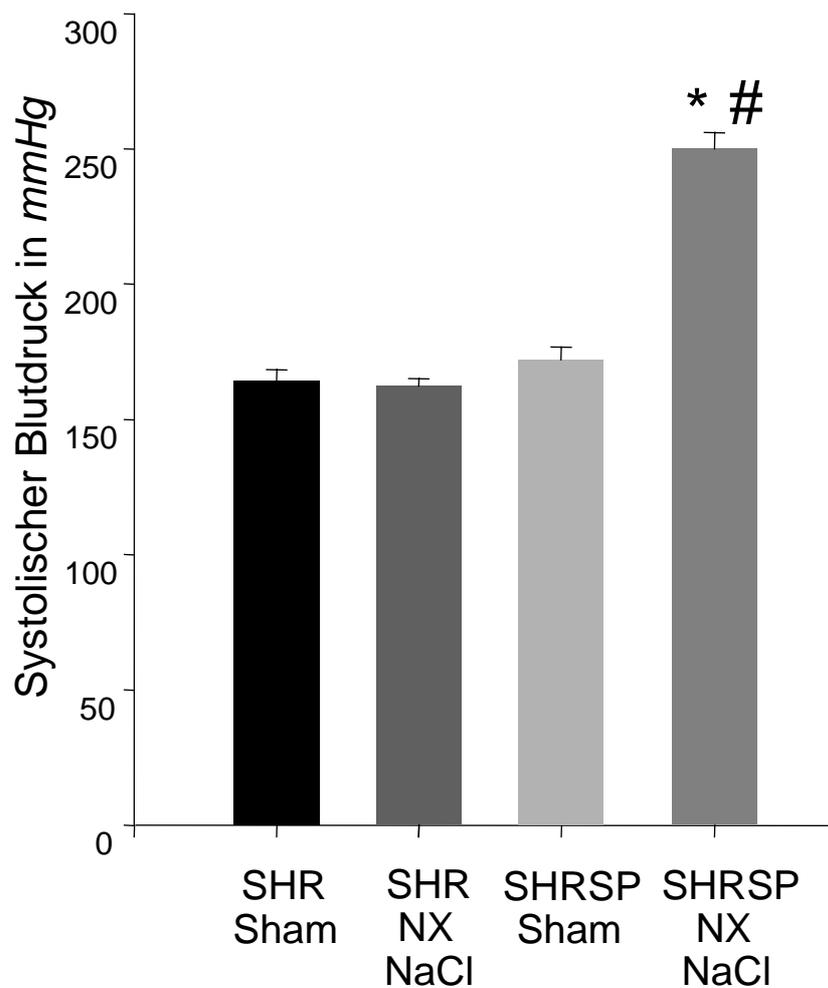
**Tabelle 3-3: Kreatininclearance**

in *Milliliter/Minute*

(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; +  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.4 Blutdruck

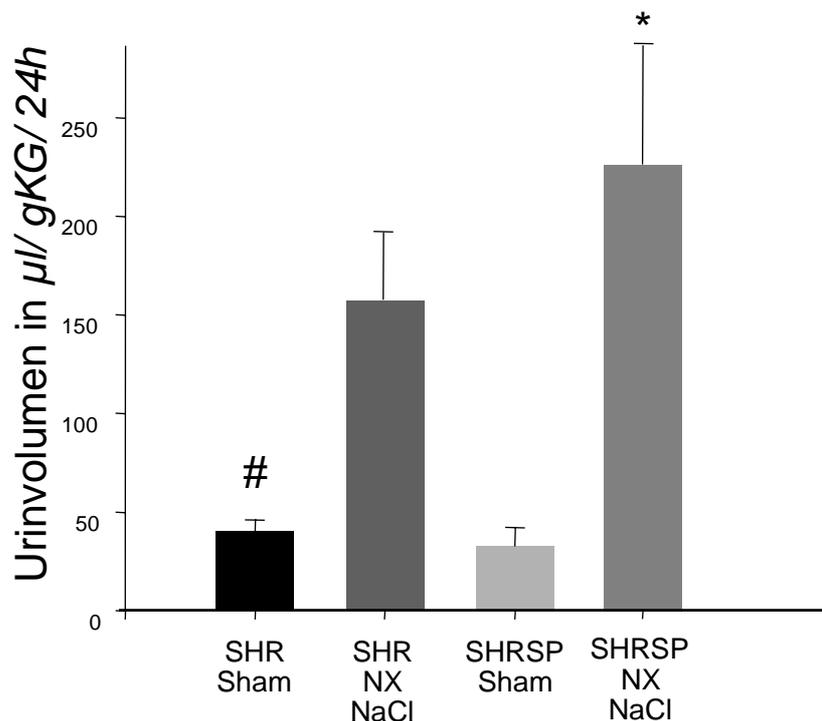
Der Blutdruck wurde mittels Schwanzplethysmographie im Alter von 12 Wochen gemessen. Innerhalb der SHR-Gruppe verändert sich der Blutdruck unter einseitiger Nephrektomie mit Salzbelastung gegenüber den unbelasteten SHR-Tieren nicht. Innerhalb der SHRSP-Gruppe sieht es anders aus: dort wird die einseitige Nephrektomie mit konsekutiver Salzbelastung mit einem signifikanten Blutdruckanstieg gegenüber den unbehandelten SHRSP-Tieren beantwortet. Der Blutdruck der SHR-Sham-Tiere unterscheidet sich nicht von den SHRSP-Sham-Tieren, wohingegen er bei der SHRSP-Tieren mit einseitiger Nephrektomie und salzreicher Fütterung deutlich höher gemessen wurde, als bei den SHR-Tieren unter derselben Behandlung. Die graphische Darstellung ist in Abbildung 3.1 zu sehen.



**Abbildung 3.1: Systolischer Blutdruck**  
Im Alter von 12 Wochen in *MillimeterHg*  
(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.5 Das Urinvolumen und Natriumexkretion

Wie in Abbildung 3.2 zu erkennen ist, beläuft sich das 24 h Urin-Sammelvolumen in der SHR-, als auch in der SHRSP-Gruppe nach einseitiger Nephrektomie und Salzbelastung auf mehr als doppelt so viel, gegenüber den unter Normalbedingungen gehaltenen Kontrolltieren. Im Vergleich der behandelten Tierstämme untereinander ist bei den SHRSP-NX-NaCl-Tieren ein höheres Sammelvolumen als bei den SHR-NX-NaCl-Tieren zu beobachten, das angesichts der hohen Variabilität allerdings oberhalb des Signifikanzniveaus bleibt.

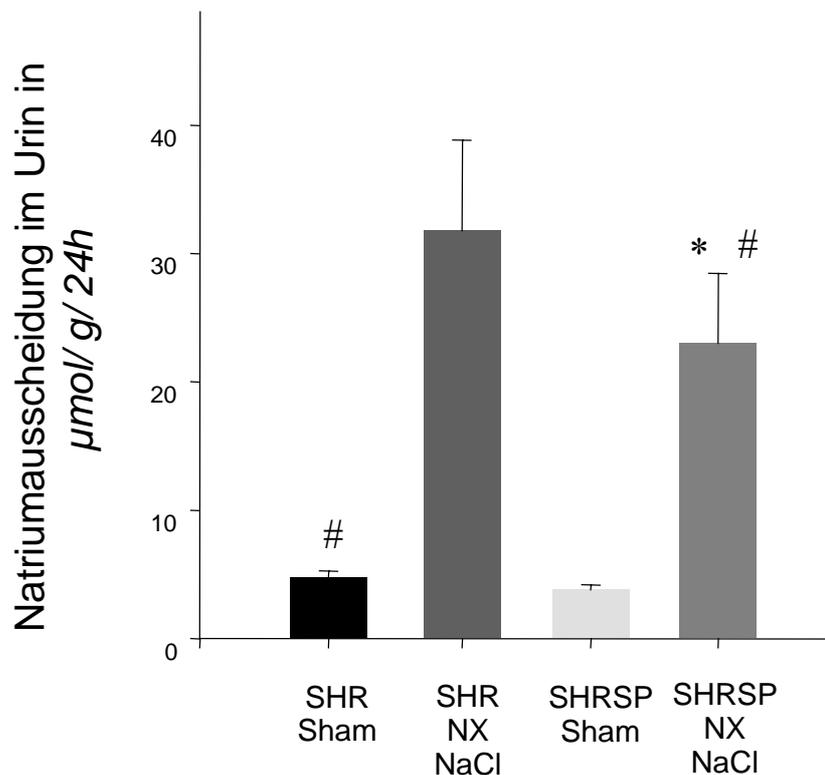


**Abbildung 3.2: 24 h Urin-Volumen**

Das Tagesurinvolumen in Relation zum Körpergewicht in *Mikroliter/ Gramm Körpergewicht/ 24Stunden*

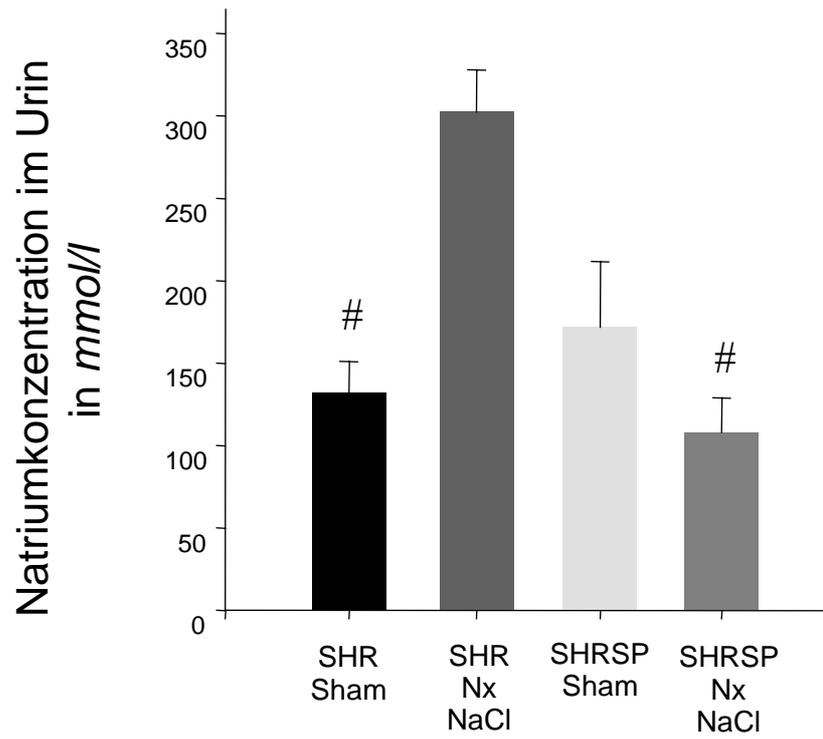
(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)

Die jeweiligen Kontrollgruppen (SHR-Sham und SHRSP-Sham) weisen eine annähernd gleiche Natriumausscheidung im Urin auf. Tiere der SHR- und SHRSP-Gruppen, die Salzfutter bekommen haben und einseitig nephrektomiert wurden, scheiden dagegen bedeutend mehr Natrium aus (siehe Abbildung 3.3). Die SHR-NX-NaCl-Tiere sind dabei in der Lage, in 24 Stunden signifikant mehr Natrium auszuscheiden, als die gleich behandelte SHRSP-NX-NaCl-Gruppe. Da die SHR-NX-NaCl-Tiere aber ein viel geringeres Urinvolumen in 24h aufweisen (siehe Abbildung 3.2), ist es ihnen offensichtlich möglich, in einem viel geringeren Urinvolumen viel mehr Natrium auszuscheiden, die Konzentrationsfähigkeit der Niere ist viel größer (siehe Abbildung 3.4). Bei der SHRSP-NX-NaCl-Gruppe scheint dagegen die Konzentrationsfähigkeit der Niere völlig aufgehoben zu sein. Die Natriumkonzentration des Urins ist vergleichbar mit derjenigen der unbehandelten Tiere beider Stämme. Die Natriumausscheidung der SHRSP-NX-NaCl-Tiere kann allenfalls noch durch ein erhöhtes Ausscheidungsvolumen kompensiert werden.



**Abbildung 3.3: 24 h Natriumausscheidung**

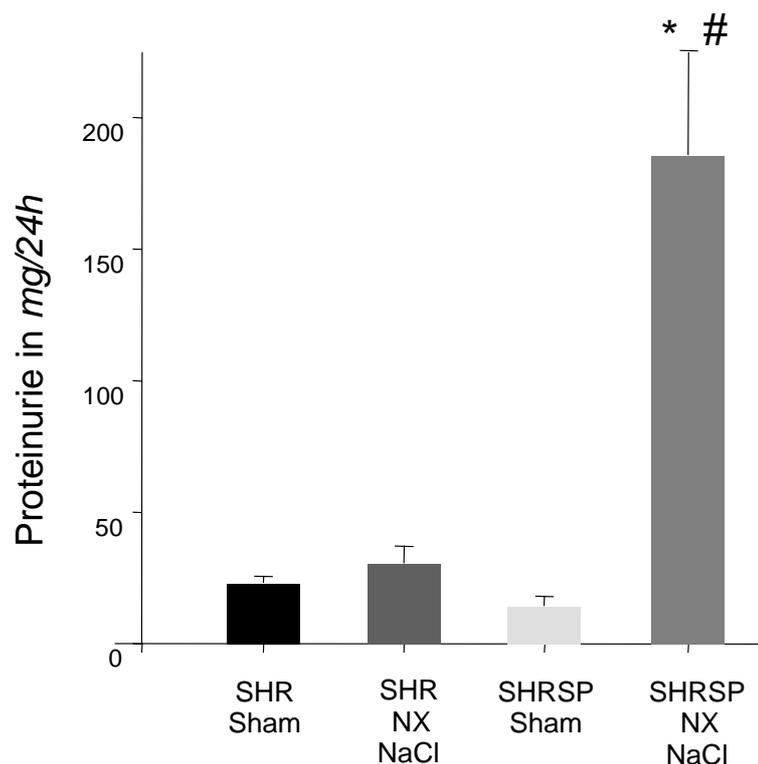
Bezogen auf das Körpergewicht in *Mikromol/Gramm Körpergewicht/ 24 Stunden*  
 (\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)



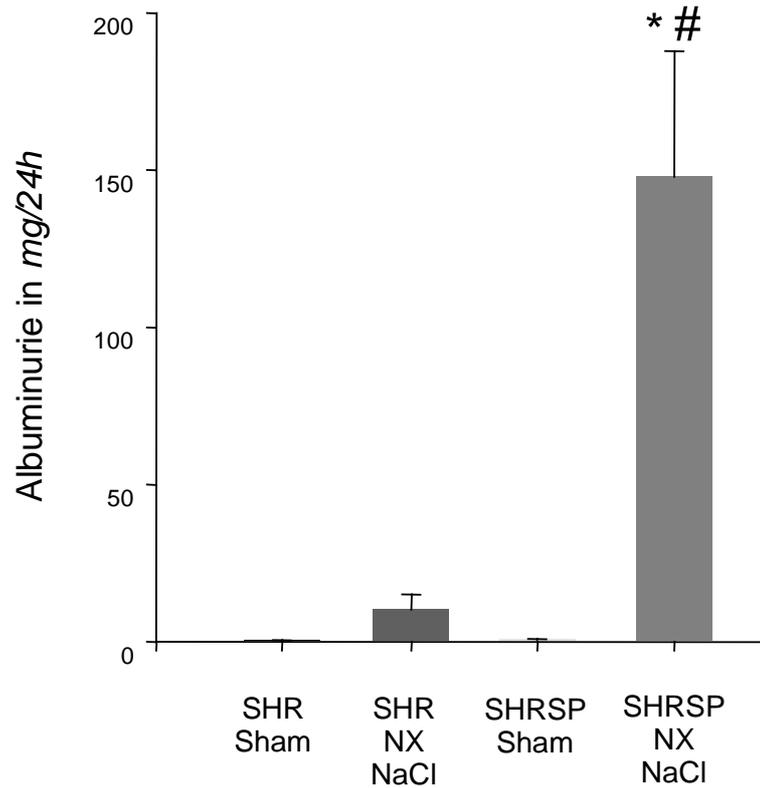
**Abbildung 3.4: Natriumkonzentration im Urin**  
in Millimol/Liter  
(#  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.6 Proteinurie, Albuminurie und ET-1-Ausscheidung im Urin

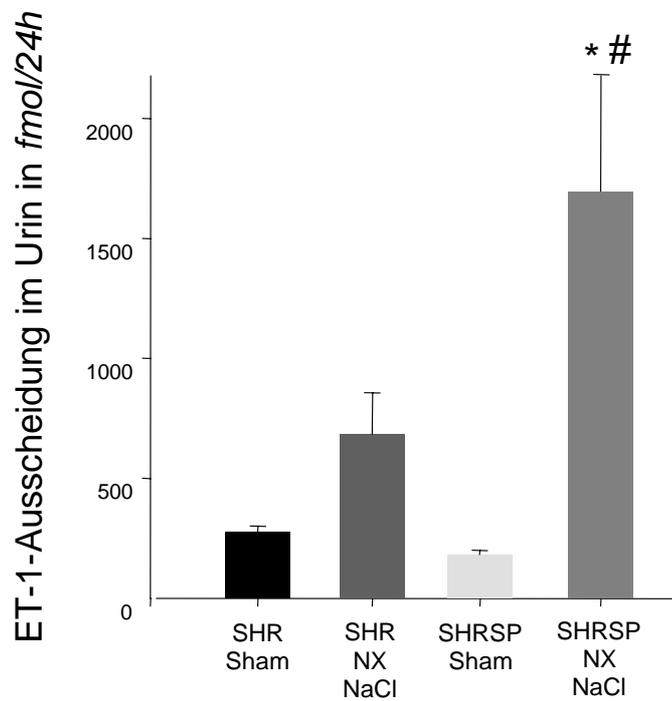
Die Gesamtprotein-, Albumin- und ET-1-Exkretion im Urin verändert sich innerhalb der SHR-Gruppen, auch nach einseitiger Nephrektomie und kochsalzreichem Futter nicht (siehe Abbildung 3.5, Abbildung 3.6 und Abbildung 3.7). Dagegen steigt in der SHRSP-Gruppe die Proteinausscheidung im Urin nach einseitiger Nephrektomie und Salzdiät im Vergleich zu den scheinoperierten Tieren 7,5fach an (siehe Abbildung 3.5). Bei der Albuminausscheidung ist der Unterschied zwischen SHRSP-Sham und SHRSP-NX-NaCl noch ausgeprägter: SHRSP-NX-NaCl-Tiere scheiden etwa die 120-fache Menge an Albumin aus (siehe Abbildung 3.6). Genauso verhält es sich bei der ET-1-Exkretion mit dem Urin: in der SHRSP-Gruppe ist nach einseitiger Nephrektomie und Salzdiät ein starker Anstieg der ET-1-Exkretion erkennbar (siehe Abbildung 3.7). Dagegen ist im Vergleich zwischen den verbleibenden Gruppen (SHR-Sham, SHR-NX-NaCl und SHRSP-Sham) kein signifikanter Unterschied bei allen erhobenen Laborparametern erkennbar.



**Abbildung 3.5: Gesamtproteinausscheidung im Urin**  
in Milligramm/ 24 Stunden  
(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR/NX/NaCl)



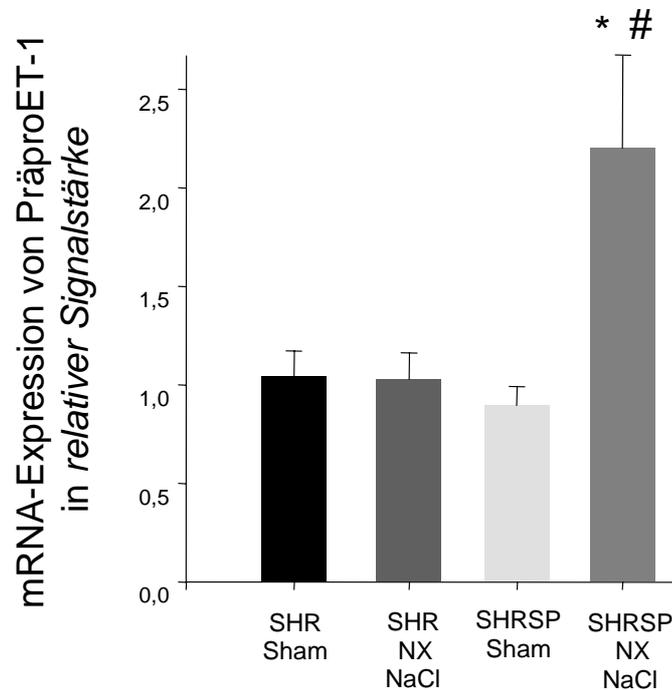
**Abbildung 3.6: Albuminausscheidung im Urin**  
in Milligramm/ 24 Stunden  
(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR/NX/NaCl)



**Abbildung 3.7: Endothelin-1-Ausscheidung im Urin**  
in Femtomol/ 24 Stunden  
(\*  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR/NX/NaCl)

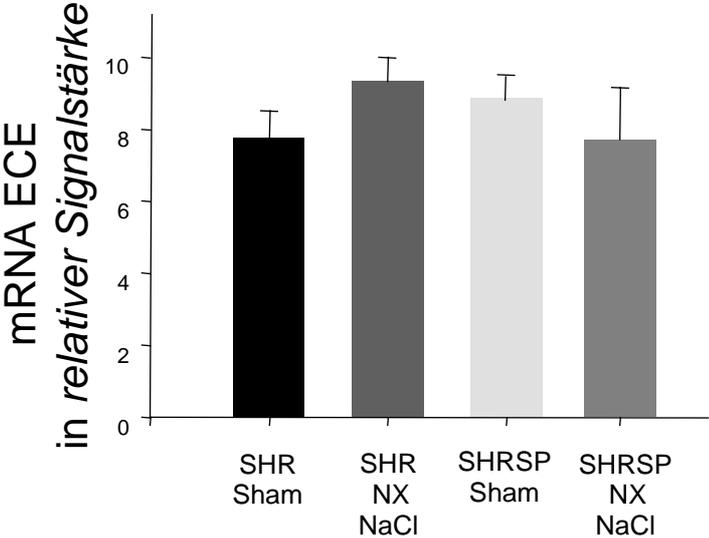
### 3.7 Northern-Blot-Ergebnisse

Die Expression der renalen mRNA von PräproET-1 weist beim Vergleich der unbehandelten SHR- und SHRSP-Gruppen keinen Unterschied auf. Ebenso wenig lässt sich ein signifikanter Unterschied in der Expression zwischen der SHR-Sham und der SHR-NX-NaCl-Gruppe feststellen. Dagegen findet sich ein deutlicher und signifikanter Anstieg der Expression bei den mit Salzfutter belasteten und einseitig nephrektomierten SHRSP-Tieren gegenüber den scheinoperierten mit Normalfutter sowie gegenüber den ebenso behandelten SHR-NX-NaCl-Tieren (siehe Abbildung 3.8).



**Abbildung 3.8: Renale PräproET-1 mRNA Expression**  
in relativer Signalstärke  
(\* p<0,05 vs. SHRSP-Sham; # p<0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

Bei der Expression der mRNA des ECE in der Niere lässt sich zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied feststellen (siehe Abbildung 3.9).

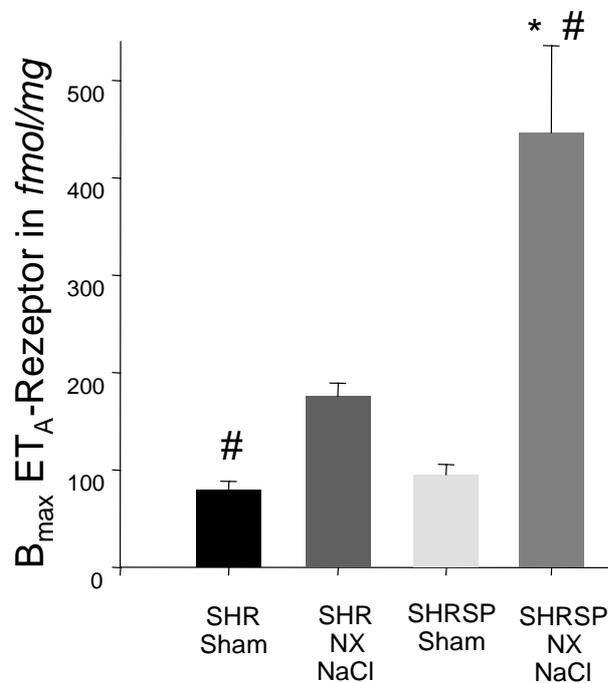


**Abbildung 3.9: Renale ECE-1 mRNA Expression**  
in *relativer Signalstärke*

### 3.8 Ergebnisse der ET<sub>A</sub>- und ET<sub>B</sub>-Rezeptorbindungsstudien

#### 3.8.1 ET<sub>A</sub>-Rezeptordichte (B<sub>max</sub>)

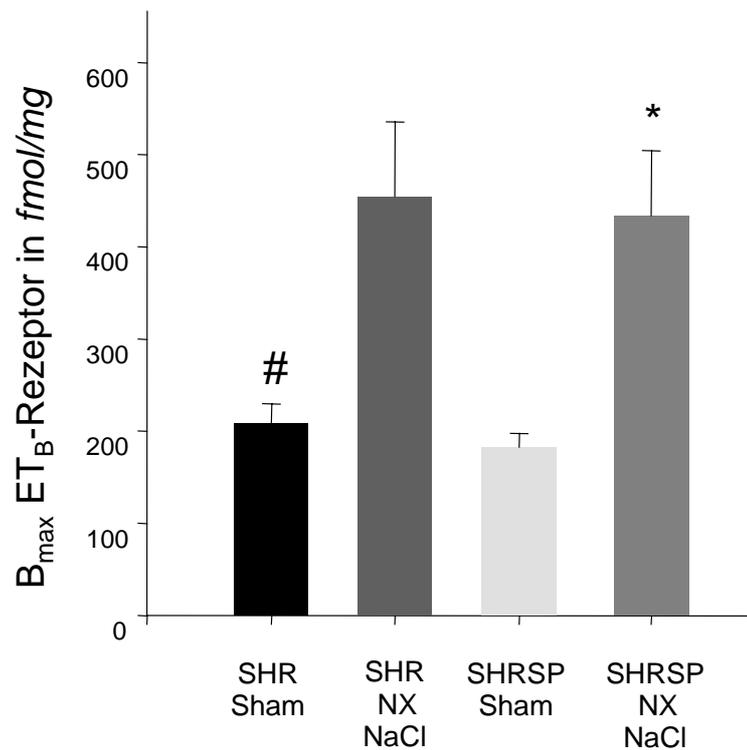
Die ET<sub>A</sub>-Rezeptordichte der Niere ist bei den scheinoperierten SHR- und SHRSP-Tieren in etwa gleich. Eine höhere Dichte zeigt sich bei der SHR-NX-NaCl-Gruppe, bzw. bei der SHRSP-NX-NaCl-Gruppe, verglichen mit der SHR-Sham-, bzw. der SHRSP-Sham-Gruppe. Eine deutliche Zunahme der Rezeptordichte kann auch beim Vergleich der SHR-NX-NaCl mit der SHRSP-NX-NaCl gesehen werden (siehe Abbildung 3.10).



**Abbildung 3.10: Renale ET<sub>A</sub>-Rezeptordichte**  
in Femtomol/Milligramm  
(\* p<0,05 vs. SHRSP-Sham; # p<0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

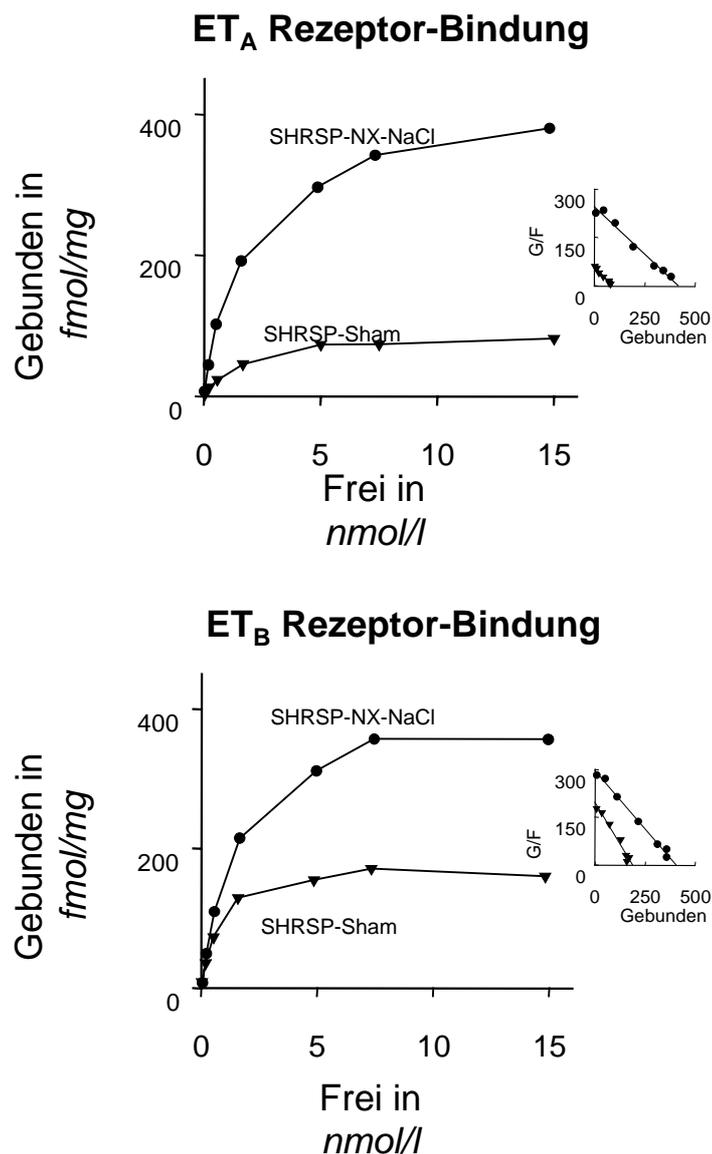
### 3.8.2 ET<sub>B</sub>-Rezeptordichte (B<sub>max</sub>)

Die Dichte der ET<sub>B</sub>-Rezeptoren in den Nieren ist ungefähr doppelt so hoch, wenn man SHR-Sham mit SHR-NX-NaCl vergleicht, was genauso auf den Vergleich zwischen SHRSP-Sham mit SHRSP-NX-NaCl zutrifft. Unter den scheinoperierten (SHR-Sham vs. SHRSP-Sham) und den behandelten Stämmen (SHR-NX-NaCl vs. SHRSP-NX-NaCl) besteht kein signifikanter Unterschied (siehe Abbildung 3.11).



**Abbildung 3.11: Renale ET<sub>B</sub>-Rezeptordichte**  
in Femtomol/Milligramm  
(\* p<0,05 vs. SHRSP-Sham; # p<0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

Typische Bindungskurven für die ET-1-Bindung an den ET<sub>A</sub> bzw. ET<sub>B</sub>-Rezeptoren sind in Abbildung 3.12 dargestellt. Sie zeigen deutlich, dass bei Vorlage einer größeren Menge freien Ligandens logarithmisch auch die Menge des gebundenen Ligandens ansteigt. Da nun ja bei den SHRSP-NX-NaCl-Tieren die ET<sub>A</sub>-Rezeptordichte viel größer ist, als bei den SHRSP-Sham-Tieren (siehe Abbildung 3.10: Renale ET<sub>A</sub>-Rezeptordichte, kann auch bei derselben Menge vorliegenden ungebundenen Ligandens deutlich mehr gebunden werden. Dasselbe kann man bei der ET<sub>B</sub>-Rezeptor-Bindung beobachten.

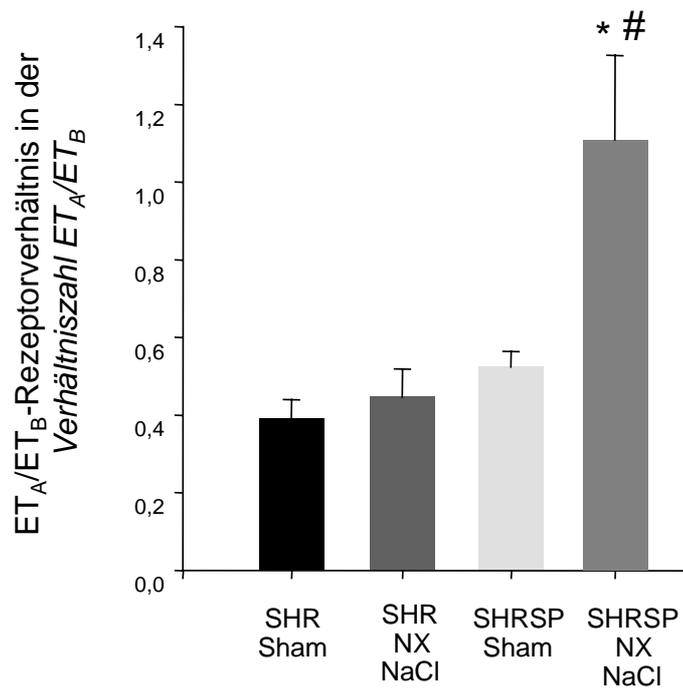


**Abbildung 3.12: ET-1 Bindung an der Niere**

Dargestellt ist die spezifische Bindung von mit I<sup>125</sup>-markiertem ET-1 an die Nierenmembranen von je einem typischen Beispiel aus den Gruppen SHRSP-Sham und SHRSP-NX-NaCl

### 3.9 Das Verhältnis zwischen $ET_A$ - und $ET_B$ -Rezeptoren

Betrachtet man das Verhältnis der  $ET_A$ - zu den  $ET_B$ -Rezeptoren, fällt auf, dass dasselbe Verhältnis innerhalb der SHR-Gruppen, trotz Intervention, immer gewahrt bleibt. Während das Verhältnis der Rezeptor-Subtypen innerhalb der SHR-Gruppen und der SHRSP-Sham-Gruppe annähernd gleich ist, verschiebt sich dieses Verhältnis im Vergleich aller anderen Gruppen zur SHRSP-NX-NaCl-Gruppe deutlich zugunsten der  $ET_A$ -Rezeptoren (siehe Abbildung 3.13).



**Abbildung 3.13: Renaler  $ET_A/ET_B$ -Quotient**

Dargestellt ist das Verhältnis der  $ET_A$  zu den  $ET_B$ -Rezeptoren in der Niere in einer Verhältniszahl  $ET_A/ET_B$

(+  $p < 0,05$  vs. SHRSP-Sham; #  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)

### 3.10 ET<sub>A</sub>- und ET<sub>B</sub>-Rezeptoraffinität in der Niere

<i>Tiergruppe</i>	<i>Bindungsaffinität (Kd) in nmol/l</i>	
	<i>ET<sub>A</sub>-Rezeptor</i>	<i>ET<sub>B</sub>-Rezeptor</i>
SHR-Sham	1,39 ± 0,21	1,25 ± 0,11
SHR-NX-NaCl	1,29 ± 0,10	1,06 ± 0,06
SHRSP-Sham	1,91 ± 0,50	0,94 ± 0,10
SHRSP-NX-NaCl	2,05 ± 0,32	1,68 ± 0,22 * #

**Tabelle 3-4: ET<sub>A</sub>- und ET<sub>B</sub>-Rezeptoraffinität in der Niere**  
in *Nanomol/Liter*  
(\* p < 0,05 vs. SHRSP-Sham; # p < 0,05 vs. SHR-NX-NaCl)

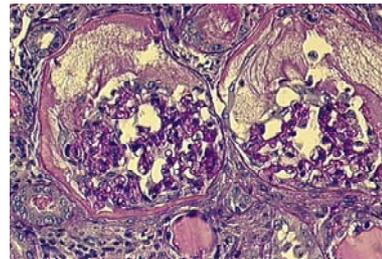
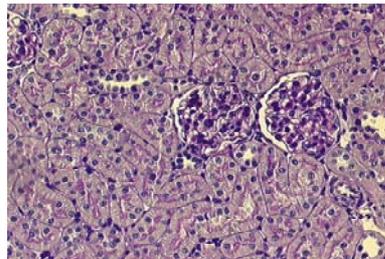
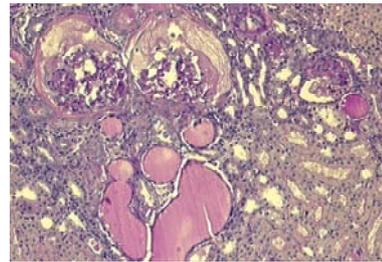
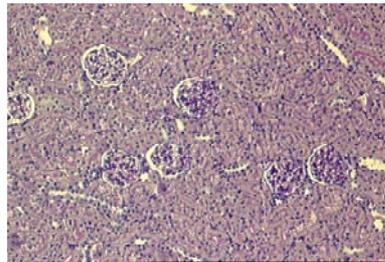
Die Dissoziationskonstante Kd gilt als Maß für die Rezeptoraffinität und ist definitionsgemäß durch Negativierung des Kehrwertes der Steigung der Regressionsgeraden im Scatchard-Plot erhältlich.

Bei der Untersuchung der Bindungsaffinität von ET-1 am ET<sub>A</sub>-Rezeptor findet sich innerhalb der SHR-Gruppe unter den verschiedenen Behandlungsbedingungen kein Unterschied in der Bindungsstärke. Tendenziell schwächer ist die Affinität bei der SHRSP-Gruppe, was jedoch oberhalb des Signifikanzniveaus liegt. Bei der Untersuchung der Bindungsaffinität von ET-1 am ET<sub>B</sub>-Rezeptor besteht innerhalb der SHR-Gruppe ebenso kein signifikanter Unterschied in der Stärke der Bindung. Innerhalb der SHRSP-Gruppe besteht ein Abfall der Affinität von den SHRSP-Sham- zu den SHRSP-NX-NaCl-Tieren. Es lässt sich bei den SHRSP-NX-NaCl-Tieren eine signifikant niedrigere Rezeptoraffinität gegenüber den SHR-NX-NaCl-, sowie den SHRSP-Sham-Tieren nachweisen. Die verschiedenen Werte von Kd finden sich in Tabelle 3-4.

### 3.11 Glomerulosklerose- und Fibroseindices in der Niere

#### 3.11.1 Glomerulosklerose

Betrachtet man die Glomeruloskleroseindices, stellen sich innerhalb der SHR-Gruppe keine Unterschiede dar. Tendenziell steigt der Grad der Schädigung bei den SHRSP-Tieren an – und ist bei der SHRSP-NX-NaCl-Gruppe am stärksten (siehe Abbildung 3.15) Einen Eindruck von den glomerulären Veränderungen vermittelt Abbildung 3.14.



Glomeruli eines SHR-NX-NaCl-Tieres

*(man erkennt die Einlagerung von wenig PAS-positivem Material, aber keine Vergrößerung des Glomerulums, keine Hyperzellularität und keine Größenabnahme der Kapillarlichtung)*

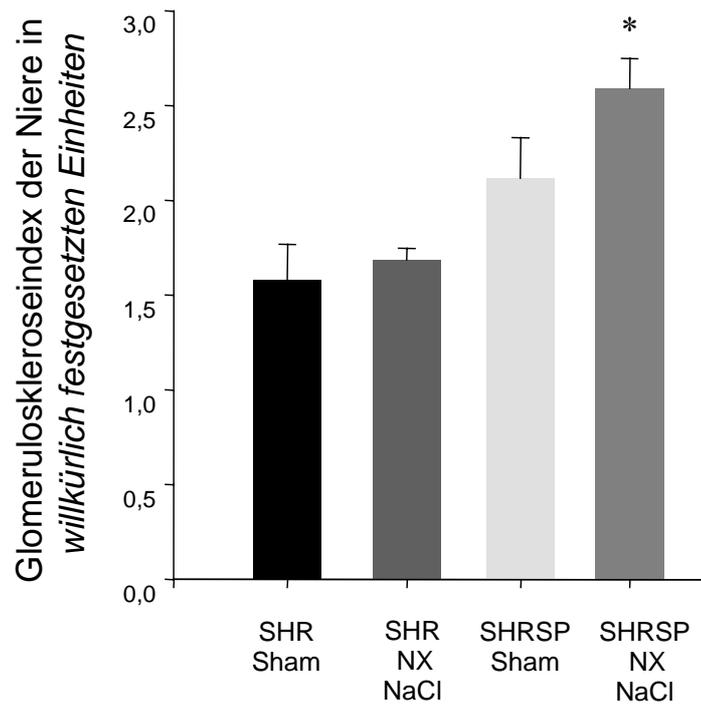
Glomeruli eines SHRSP-NX-NaCl-Tieres

*(hier ist die Einlagerung PAS-positiven Materials, eine deutliche Zunahme des glomerulären Volumens, die Hyperzellularität, sowie die fast nicht mehr erkennbare Kapillarlichtung zu sehen)*

**Abbildung 3.14: Glomerulosklerose SHR-NX-NaCl/SHRSP-NX-NaCl**

Oben: 120-fache Vergrößerung;

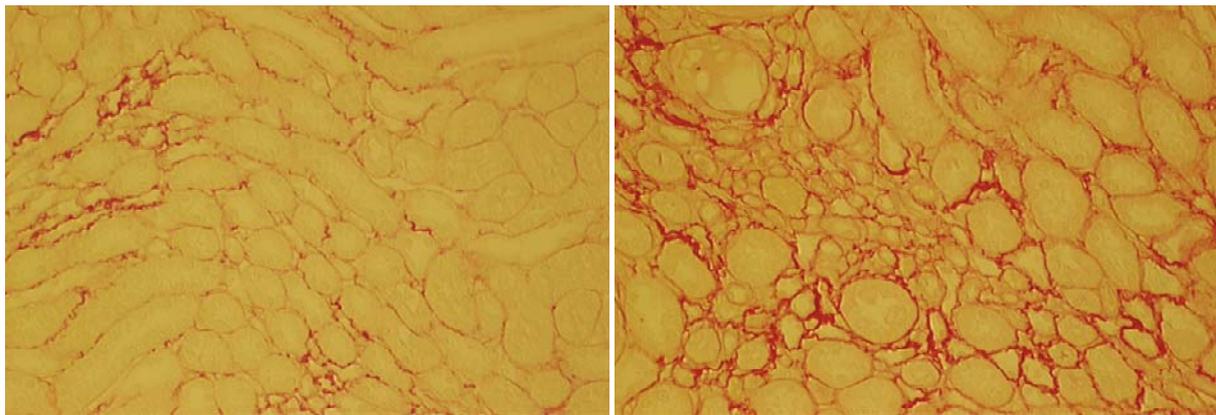
Unten: 250-fache Vergrößerung



**Abbildung 3.15: Glomeruloskleroseindices der Glomeruli in der Nierenrinde in willkürlich festgesetzten Einheiten (\*  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)**

### 3.11.2 Fibroseindex

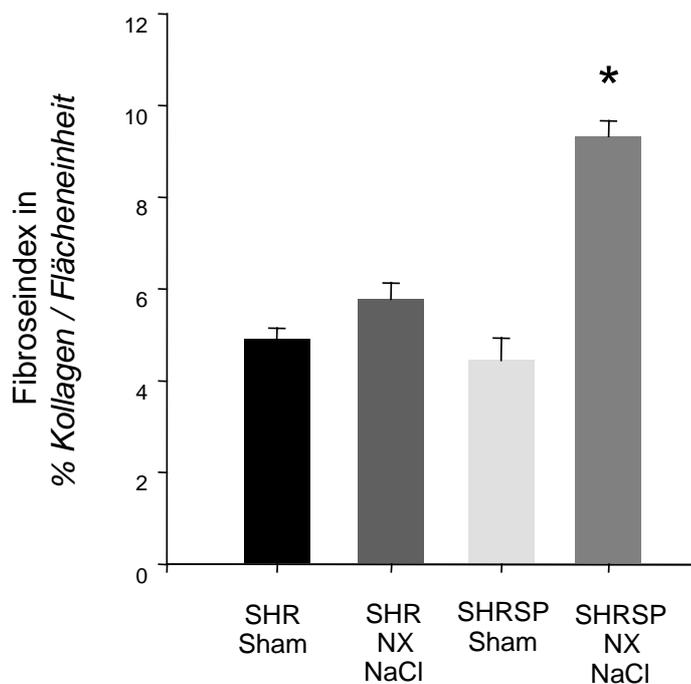
Die „Sirius-Red“-Färbung markiert die fibrosierten Areale deutlich. Innerhalb der SHR-Gruppe findet sich der geringste Fibrosierungsgrad bei den SHR-Sham-Tieren, höher liegt er in der SHR-NX-NaCl-Gruppe. In der SHRSP-Gruppe ist der Fibroseindex in der SHRSP-Sham-ungefähr halb so groß, wie bei der SHRSP-NX-NaCl-Gruppe (siehe Abbildung 3.17). Einen Eindruck von dem Bild in „Sirius-Red“-Färbung, das sich bei der Messung der Kollagenvermehrung pro Bildausschnitt bietet, vermittelt Abbildung 3.16.



Nierenschnitt von einem SHR-NX-NaCl-Tier

Nierenschnitt von einem SHRSP-NX-NaCl-Tier

**Abbildung 3.16: Renale Fibrose SHR-NX-NaCl/SHRSP-NX-NaCl**  
Darstellung von Tubuli in der Nierenrinde nach „Sirius- Red“- Färbung in 250facher Vergrößerung



**Abbildung 3.17: Grad der Fibrose in der Niere**  
in % Kollagen pro Flächeneinheit  
(\*  $p < 0,05$  vs. SHR-NX-NaCl)