

ZUSAMMENFASSUNG:

Fragestellung: Die verschiedenen Isoenzyme des L-Arginin-/NO-Systems spielen in der Physiologie der Niere und der Pathogenese von glomerulären Erkrankungen unterschiedliche Rollen: Die endotheliale NO-Synthase (ecNOS) ist bedeutsam für die Regulation der glomerulären Hämodynamik, die v.a. in der Macula densa lokalisierte neuronale NOS (bNOS) reguliert die Renin-Sekretion, und die NO-Synthase durch die induzierbare NOS (iNOS) wird als pathophysiologisch relevanter Mediator bei glomerulär-entzündlichen Prozessen betrachtet. Wir untersuchten in dieser experimentellen Studie den therapeutischen Einfluß einer modifizierten Substratzufuhr auf die NO-Synthase und dessen Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf einer chronischen mesangioproliferativen Glomerulonephritis der Ratte.

Methodik: Induktion der Anti-Thy1-Glomerulonephritis durch i.v.-Injektion des monoklonalen ER4-Antikörpers bei männlichen LEW/Maa-Ratten; Fütterung von Diäten mit niedrigem, normalem und hohem L-Arginin-Gehalt in Verbindung mit hoher bzw. niedriger Eiweißzufuhr (Beginn der Diäten: 7 Tage nach Krankheitsinduktion, Follow-up für 4 Monate); Messungen der Albuminurie; Histologie (PAS-Färbung) und Bewertung der Glomerulosklerose nach definiertem Matrix-Score; Bestimmung der glomerulären NO-Synthase durch Messung der Nitrat-Produktion *ex vivo* kultivierter Glomeruli (Griess-Assay); Bestimmung der glomerulären Arginase- und Ornithin-Decarboxylase-Aktivität durch spezifische Enzym-Substrat-Assays; Bestimmung der glomerulären Genexpression von bNOS und Renin mittels semi-quantitativer Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR); HPLC-Messungen der Aminosäure-Serumkonzentrationen.

Ergebnisse: Die Modifikation der L-Arginin-Zufuhr zeigte keine signifikanten Effekte auf den Krankheitsverlauf (Eiweißausscheidung, Glomerulosklerose) der chronischen Anti-Thy1-Glomerulonephritis bei LEW/Maa-Ratten. Ein L-Arginin-Entzug in Verbindung mit einer eiweißreduzierten Diät führte zu einer vermehrten L-Arginin-Biosynthese.

Zusammenfassung: Bei Beginn in der Postinflammationsphase der chronischen Anti-Thy1-Glomerulonephritis (7 Tage nach Induktion) zeigen weder die Substratlimitation noch die L-Arginin-Supplementation relevante Effekte auf den Verlauf dieses Modells. Diese Daten stehen im Gegensatz zu unveröffentlichten Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe, in denen die L-Arginin- bzw. Eiweiß-Restriktion zum Zeitpunkt der Glomerulonephritis-Induktion den initialen, inflammationsbedingten glomerulären Schaden signifikant verringert. Diese diskrepanten Beobachtungen könnten begründet sein durch Kompensationsmechanismen (z.B. L-Arginin-Biosynthese, Arginaseaktivität) oder durch eine mittlerweile abgeklungene glomeruläre iNOS-Aktivität. Therapiestudien unter Verwendung selektiver Inhibitoren der verschiedenen NOS-Isoformen könnten perspektivisch helfen, die physiologische bzw. pathophysiologische Relevanz des glomerulären L-Arginin-/NO-Systems aufzuklären.

ABSTRACT:

Introduction: The different isoforms of nitric oxide synthases (NOS) play distinct roles in renal physiology and in the pathogenesis of glomerular diseases: endothelial NOS (ecNOS) plays an important role in the regulation of glomerular hemodynamics, neuronal NOS (bNOS) - located mainly in the macula densa - contributes to the regulation of renin release, and high-level NO synthesis by the inducible NOS (iNOS) may have cytotoxic effects during inflammatory glomerular processes. In this experimental study, we examined the therapeutic influence of L-arginine-modified diets on NO synthesis and on the disease course of chronic mesangioproliferative glomerulonephritis in the rat.

Methods: aThy1-Glomerulonephritis was induced in male LEW-Maa-rats by single-bolus i.v.-injection of the monoclonal antibody ER4. Diets with low, normal and high L-arginine contents combined with high and low protein supplies were fed (start of diets: 7 days after induction of disease, follow-up for 4 months). Measurements of albuminuria and PAS-staining for calculating a glomerulosclerosis index using a defined matrix-score were performed. Glomerular NO-synthesis was determined by measuring nitrate production in supernatants of *ex vivo* cultivated glomeruli (Griess-assay). Measurements of glomerular arginase and ornithine-decarboxylase activity by specific enzyme-substrate-assays were also performed. Glomerular gene expression of bNOS and renin was detected by semiquantitative reverse-transcriptase-polymerase-chain-reaction (RT-PCR). Amino acid concentrations in rat serum were determined by HPLC.

Results: Dietary L-arginine (substrate) modifications had no significant effects on the disease course (albuminuria, glomerulosclerosis index) of chronic aThy1-glomerulonephritis in LEW/Maa-rats. Depletion of L-arginine in combination with a low protein diet caused compensatory increases in L-arginine biosynthesis.

Summary: Neither substrate limitation nor supplementation had relevant effects on the disease course of chronic aThy1-glomerulonephritis when started after cessation of the initial glomerular inflammation. Established glomerular injury and sclerosis could thus not be reversed by dietary interventions targeting the L-arginine/NO-system. These results may be explained by compensatory mechanisms including L-arginine biosynthesis and glomerular arginase activity, or by the lack of potentially cytotoxic iNOS activity at this stage of disease. Pharmacological studies using selective inhibitors of different NOS-isoforms may help unravelling the physiological and pathophysiological relevance of the glomerular L-arginine-/NO-system in experimental glomerulonephritis in the future.