

## **2 Literaturübersicht**

Chronische Nierenerkrankungen nehmen weltweit einen hohen Stellenwert in der Skala behandlungs- und kostenintensiver Erkrankungen ein. Die Deutsche Gesellschaft für Nephrologie (GfN) bezifferte die Zahlen dialysepflichtiger Patienten in den Jahren von 1995-2003 von 41.000 auf 57.000 steigend (35. Kongress der GfN, Basel, Schweiz 2004). Die Therapiekosten beliefen sich dabei auf 2 Mrd. € im Jahr 2003. Erklärtes Ziel kann es daher nur sein, Strategien zu entwickeln, die Progression chronischer Nierenerkrankungen frühzeitig zu beeinflussen und Therapien zu entwickeln, die im günstigsten Falle Nierenersatzbehandlungen und Transplantation verhindern können.

### **2.1 Klinische Aspekte**

#### **2.1.1 Allgemeines**

In der Humanmedizin werden bereits in großem Umfang Dialyseverfahren und Transplantationen durchgeführt, um den durch urämisches Nierenversagen bevorstehenden Tod der Patienten zu verhindern. Trotzdem besteht ein großes Bestreben nach Etablierung anderer Therapiestrategien, die ein konservatives Management ermöglichen. Dieses Bestreben resultiert zum einen aus der Tatsache heraus, dass nur eine begrenzte Anzahl transplantationsfähiger Nieren zur Verfügung stehen und zum anderen aus den enormen Kosten, die sowohl Dialyse, als auch Transplantation nach sich ziehen.

Auch in der Kleintierpraxis nehmen Nierenerkrankungen einen wichtigen Stellenwert ein. So ist die Mortalität auf Grund von chronischen Nierenerkrankungen bei Hunden höher als die Mortalität auf Grund von Unfällen, Lungentumoren, Brustkrebs oder AIDS beim Menschen [1]. Ebenso stellen chronische Nephropathien auch für Katzen eine der häufigsten Todesursachen dar [2].

Dialyse und Transplantation können auch alternativ in der Behandlung renalen Versagens von Hund und Katze zum Einsatz gelangen, doch sind gerade in der Veterinärmedizin die Behandlungsmöglichkeiten in Abhängigkeit des zu betreibenden finanziellen Aufwandes limitiert.

#### **2.1.2 Therapeutische Prinzipien**

Trotz dem zunehmenden Verständnis in der Pathogenese chronischer Glomerulonephritiden gibt es bis heute allerdings noch kein zufriedenstellendes Therapiekonzept. Allein der Verlauf der Erkrankung kann im günstigsten Falle verlangsamt, aber nicht aufgehalten oder gar rückgängig gemacht werden [3]. Somit stellt die Behandlung der chronischen

Glomerulonephritis sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin eine große Herausforderung dar, deren gemeinsames Ziel es nur sein kann supportiv einzugreifen und das Befinden der Patienten in einem Zustand des relativen Komforts längstmöglich zu erhalten [4].

So werden in der Humanmedizin Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz therapieunterstützend einer restriktiven Eiweißdiät und der Behandlung mit ACE-Hemmern unterzogen [3]. Hierbei scheinen die ACE-Hemmer einen renoprotektiven Wirkmechanismus zu entwickeln, der über die alleinige Senkung des Blutdruckes hinauszugehen scheint [5]. Die Gabe von Antagonisten des Renin-Angiotensinogen Systems (RAS) konnte eine positive Wirkung hinsichtlich der Modifikation von Proteinurie und Ausprägung von fibrotischem Organumbau im Tiermodell bewirken [6, 7, 8]. Hier seien vor allem Blocker des Angiotensin II Typ 1 Rezeptors zu nennen, deren supportive Effekte ebenfalls in einigen Tiermodellen belegt werden konnte.

Ähnliche Therapieansätze gibt es bei der Behandlung chronischer Niereninsuffizienz bei Hund und Katze, wobei zunächst als Hauptelement der konservativen Therapie eine diätetische Behandlung angestrebt wird, die zwar die Progression der Erkrankung verlangsamen, aber ebenfalls zu keiner Ausheilung führen kann [1].

Eine Reihe von Arbeiten konnte zeigen, dass die günstigen Effekte der ACE-Hemmung und die Einschränkung der Proteinzufuhr sehr eng mit der Verminderung renaler Matrixexpansion und der Expression des profibrotischen Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$  korrelieren [3]. Bei Modellen zu progressiver glomerulärer Sklerose konnte durch die Verabreichung von ACE-Hemmern die Entwicklung sklerotischer Veränderung effektiv beeinflusst werden [9, 10, 11, 12]. Somit wird ein Teilaspekt der Arbeitshypothese der vorliegenden Arbeit unterstrichen, in der davon ausgegangen wird, dass Matrixexpansion und TGF- $\beta$ -Überexpression eine zentrale Rolle im Fortschreiten der chronischen Niereninsuffizienz einnehmen.

Therapieerschwerend kommt hinzu, dass eine Vielzahl der Erkrankungen auf Grund ihrer anfänglichen Symptomarmut erst sehr spät diagnostiziert werden und die eigentliche Ursache häufig ungeklärt bleibt. So beeinflussen zwar Faktoren wie der Schweregrad der Proteinurie und das Vorliegen von Hypalbuminurie, Proteinfehlernährung, Ödem und Urämie die Prognose eines Patienten, jedoch kann keiner dieser Faktoren allein zur genauen Einschätzung der Umkehrbarkeit von glomerulären Läsionen herangezogen werden [1].

Zur Entwicklung neuer Therapieansätze, die über eine Verlangsamung der Progression hinausgehen, besteht daher erhöhter Forschungsbedarf, die Mechanismen der an der

Entstehung und dem Fortschreiten der chronisch-progredienten Niereninsuffizienz beteiligten Faktoren und Zusammenhängen noch intensiver zu untersuchen.

## 2.2 Theoretisch-experimentelle Grundlagen

### 2.2.1 Eigenständige Progredienz von chronischer Niereninsuffizienz

Der Nierenfunktionsverlust bei Hunden, Ratten und Menschen ist in der Regel progredient [1]. Als ursächlich können hierfür mehrere Faktoren angeführt werden:

- (1) Fortdauern der Grunderkrankung, welche im Zuge des Krankheitsgeschehens initial für die Entwicklung der Niereninsuffizienz war,
- (2) andere oder zusätzliche Niereninsulte,
- (3) Ereignisse, welche durch eine chronische Niereninsuffizienz selbst hervorgerufen werden können, wie Infekte der ableitenden Harnwege, damit verbunden oder auch als eigenständig anzusehende Steinbildung und Ausbildung systemischer Hypertonie [1].

Darüber hinaus konnte im Tiermodell gezeigt werden, dass eine Niereninsuffizienz auch dann noch progredient verlaufen kann, wenn der als eindeutig belegte auslösende Faktor eliminiert werden konnte. Somit aktiviert die Niere selbst Mechanismen, welche zu einer autonomen Unterhaltung des Krankheitsverlaufes führen und in einer irreversiblen Schädigung enden können [13].

In diesem Zusammenhang gilt die Annahme gemeinhin als wahrscheinlich, dass der Verlust normaler Nierenfunktion zu einer spontanen selbstperpetuierenden Nephronenschädigung führt (s. Abb.1, S.14). Diese „sich selbst unterhaltenden Mechanismen“ gehen aus der Fähigkeit der Niere hervor längstmöglich den Zustand der Homeostase des Körpers bezüglich der Regulation im Plasma gelöster Ionen und der Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen aufrecht zu erhalten [14]. Diese dann überregulierten „biologischen“ Anpassungsprozesse können folgende Schäden verursachen: (1) *glomeruläre Hypertonie und Hyperfiltration*, (2) *glomeruläre Hypertrophie*, (3) *erhöhte Ammoniogenese* und (4) *erhöhter Sauerstoffverbrauch* in der Niere [1].

Reduziert man experimentell die Nierenmasse, so kommt es zu einer verstärkten Perfusion der verbliebenen Glomeruluskapillaren und einem damit verbundenen *Druckanstieg*. In den funktionsfähigen remanenten Nephronen erhöht sich das Glomerulusfiltratvolumen. Dieser kompensatorische Versuch des Organismus auf die reduzierte Nephronenzahl zu reagieren

kann sich zeitweilig positiv auswirken. Bei Anhalten einer vermehrten Beanspruchung intakter Nephrone treten allerdings unvermeidliche hämodynamische Veränderungen auf, die schließlich zu einer Verschlechterung der Nierenfunktion führen.

Bei Ratten wird der Anstieg der glomerulären *Filtrationsrate* hauptsächlich durch einen verstärkten Plasmafluß in den Glomeruli verursacht; in geringerem Maße können auch die Erhöhung des mittleren transkapillären hydraulischen Drucks in den Glomeruli (P) und der Glomerulus-Ultrafiltrationskoeffizient (*k<sub>f</sub>*) zu dem Anstieg beitragen. Zwar steigt bei einer Ratte nach Entfernung einer Niere der Blutdruck nicht an, doch tritt nach einer ausgedehnten Nierenresektion gewöhnlich eine Hypertonie auf. Anders verhält es sich allerdings bei Hunden, denn bei diesen tritt auch nach ausgedehnter Nierenresektion keine systemische Hypertonie auf, während der Druck nur leicht, der Ultrafiltrationskoeffizient aber deutlich erhöht ist.

Auf molekularer Ebene sind wahrscheinlich eine Erhöhung von Angiotensin II, die Bildung von Renin in schwach durchströmten Nephrone, die Wirkung vasomotorischer Hormone wie atriales natriuretisches Peptid (ANP) und/ oder eine verstärkte Synthese von Prostaglandinen und Thromboxan A<sub>2</sub> einflussnehmend auf glomeruläre Hypertonie und Hyperfiltration [1].

Experimentell konnte belegt werden [15, 16, 17], dass nach einer Teilresektion der Nieren bei Ratten und Hunden das Glomerulusvolumen und die glomeruläre Filtrationsrate parallel zueinander ansteigen. Die Volumenzunahme zeigt sich vor allem durch die Expansion extrazellulärer Matrix. Dieses Phänomen tritt nicht nur als Folge glomerulärer Hypertonie auf, sondern auch bei Hyperglykämie, Inflammation oder anderen Schädigungsreizen und kann als Teil eines Wundheilungsprozesses gewertet werden [3]. Im Gegensatz zur kontrollierten Wundheilung, welche in die Phasen der Schädigung, Matrixexpansion und schließlich der Resolution mit Normalisierung der extrazellulären Matrixmenge gegliedert werden kann, ist auf Grund oben genannter nierenimmanenter, selbstperpetuierender Mechanismen keine Ausheilung möglich, sondern es tritt gegenteilig eine übersteigerte Wundheilung auf. Somit entwickeln glomeruläre Hypertonie, Hyperfiltration und Hypertrophie synergistische Effekte.

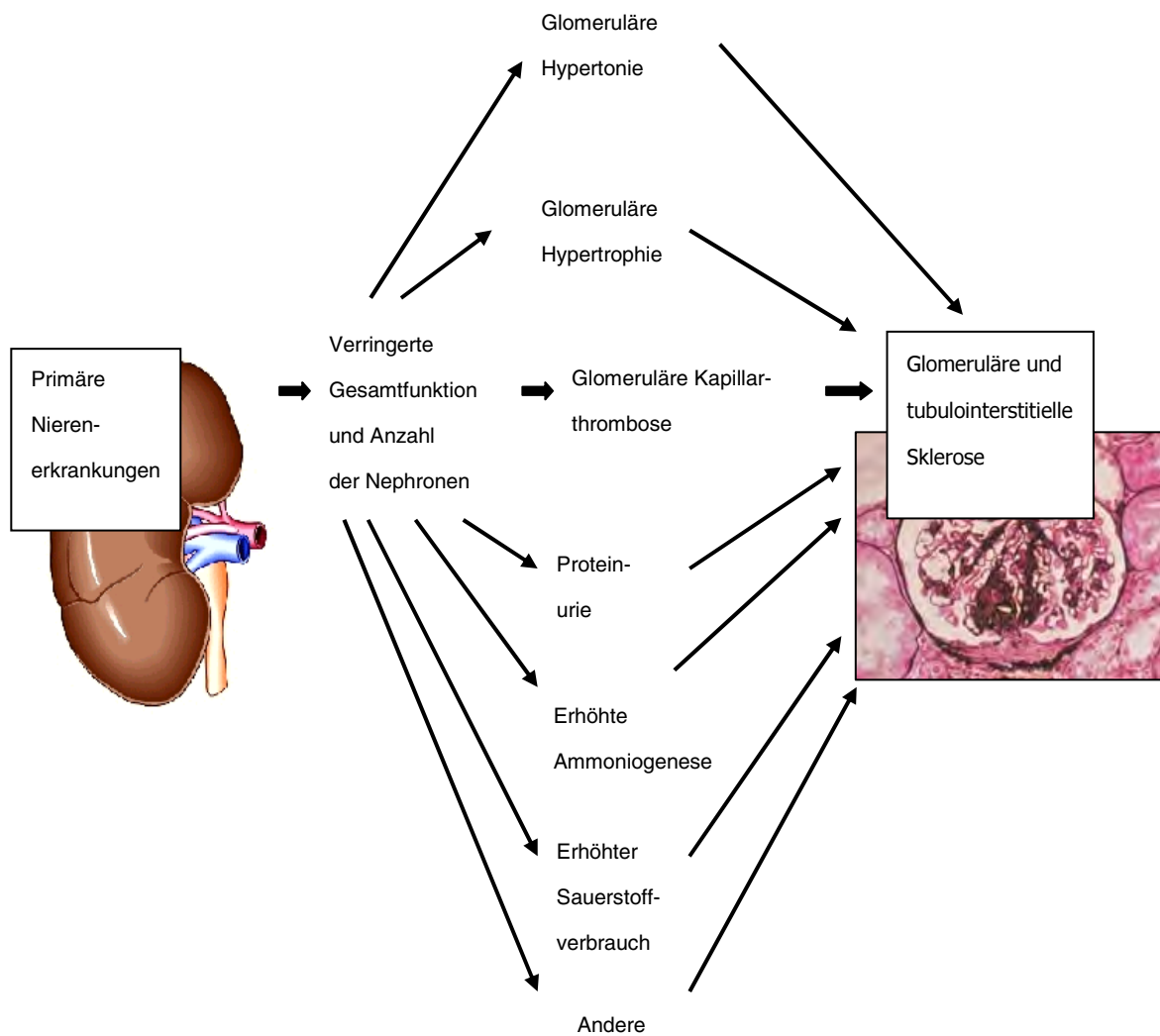
Glomeruläre Proteinurie wird als eine aus einer Störung des glomerulären Filterapparates resultierende Veränderung beschrieben [18]. Obwohl der Pathomechanismus noch nicht vollständig geklärt worden ist, wird eine Herabsetzung der ladungs- als auch der größenspezifischen Permselectivität diskutiert. Weiterhin wird vermutet [19], dass neutralisierende Lipoproteine und kationische Proteine in der glomerulären Basalmembran und im Mesangium akkumulieren und so eine Reduktion der ladungsabhängigen Filtrationsbarriere verursachen. Die Verminderung der größenspezifischen Permselectivität

könnte durch eine Größenzunahme der Glomeruli mit Zunahme der Porenweite, als Folge bereits oben beschriebener autoregulatorischer Vorgänge, bedingt sein. Das Fortschreiten der Glomerulonephritis wird oft dadurch gekennzeichnet, dass durch das Überangebot an glomerulär filtriertem Protein tubuläre Veränderungen hervorgerufen werden. Man findet Obstruktionen und Dilatationen mit anschließender Ruptur tubulärer Basalmembranen. Somit können interstitielle Proteinextravasate auftreten, die ihrerseits wiederum interstitielle Reaktionen hervorrufen können [19].

Harnstoff ist das Hauptendprodukt des Eiweißstoffwechsels bzw. dem Abbau von Aminosäuren, Purin- und Pyrimidinbasen der Nukleinsäuren sowie der biogenen Amine [20]. Aus dem Stickstoff, der beim Eiweißabbau anfällt, wird in der Leber Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) gebildet. Aus Ammoniak und Kohlendioxyd ( $\text{CO}_2$ ) entsteht Harnstoff. In der Niere wird ebenfalls Ammoniak aus Glutaminsäure und Glycin gebildet und in den Harn ausgeschieden. Ammoniak wird im proximalen Tubulus synthetisiert, durch die Henlesche Schleife konzentriert [21] und in die Luminalflüssigkeit des Sammelrohrsystems sekretiert. Eine *erhöhte Ammoniogenese* (Bildung von Ammoniumionen,  $\text{NH}_4^+$ , aus Ammoniak) und vermehrte Ammoniakkonzentration in renalem Gewebe sind mit einer metabolische Azidose und Hypokaliämie angesehen. Eine Erhöhung der Ammoniakkonzentration führt zu akuter intrazellulärer Alkalisierung, die von einer vermehrten zellulären Ansäuerung gefolgt wird. Diese intrazelluläre Ansäuerung findet sich vor allem in den interkalierten Zellen des kortikalen Sammelrohrsystems. Als möglicher Mechanismus der Ansäuerung wird vermutet, dass Ammoniak in Lösung bevorzugt als schwache Säure vorliegt und ein erhöhter Uptake die Ansäuerung bewirkt. Alternativ wird die direkte Beteiligung an der Aktivierung von Protonen- und Bikarbonattransportern diskutiert [21].

Ungefähr 20% des täglichen *Sauerstoffumsatzes* werden im Säugetierorganismus für Stoffwechselvorgänge in der Niere verwendet. Dabei besteht vor allem ein hoher tubulärer Bedarf. Das bei chronischer Glomerulosklerose zu beobachtende Fortschreiten der pathologischen Veränderungen vom glomerulären in den tubulointerstitiellen Raum wird durch die spezielle anatomische Anordnung des Gefäß- und Tubulussystems der Niere erklärt. Treten initial Veränderungen am Glomerulum auf, die in schwersten Fällen mit Schlingenkollaps und Verödung einhergehen, so wird die kapilläre Sauerstoffversorgung der folgenden Strukturen ebenfalls beeinträchtigt. Bei bestehenden glomerulären Läsionen, kann es im angeschlossenen tubulären Gebiet zu Sauerstoffmangel kommen bzw. besteht in intakten Gebieten auf Grund der kompensatorisch bedingten verstärkten Stoffwechselleistung ein relativer Mehrbedarf an Sauerstoff. Entsteht nun ein Mangel an Sauerstoff kann es, bedingt durch partielle Reduktion von Sauerstoff zu einer erhöhten

Generation sogenannter Reaktive Oxygen Species (ROS) [22] und freier Radikale [23] kommen. Diese werden in geringen konstanten Mengen im aeroben Metabolismus physiologischer Weise produziert und nehmen wichtige Aufgaben in der normalen Zellphysiologie, v.a. im Rahmen von Signaltransduktion, wahr. Unter pathophysiologischen Bedingungen allerdings werden sie zu relevanten Faktoren in der Initiation und Amplifikation von strukturdegradierenden Prozessen, wie sie bei Entzündungen, der Onkogenese und degenerativen Erkrankungen zu beobachten sind.



**Abbildung 1:** Ereignisse, die zur Autoproggression der Niereninsuffizienz beitragen können.

### 2.2.2 Das pathohistologische Erscheinungsbild

Unabhängig von der ursprünglichen Krankheitsentität zeigen die progressiven Nephropathien auch auf pathohistologischer Ebene ein gemeinsames Bild [24]. Ein auffälliges Kennzeichen eines histologischen Präparates einer chronisch kranken Niere ist das gleichzeitige Vorkommen von Arealen, die durch fibrotischen Organumbau und Arealen, die durch einen Influx mononukleärer Entzündungszellen, geprägt sind. Grundsätzlich gehorchen Entzündungen am Glomerulum den allgemeinen Gesetzmäßigkeiten von Entzündungen: Exsudation bedeutet Durchtritt von Blutplasma und Anschoppung von Granulozyten und Proliferation kann das Mesangium, das Endothel, das Kapselblatt und die Basalmembran betreffen [25]. Die Terminalstadien der Glomerulonephritiden werden durch eine diffuse, überwiegend globale Glomerulumverödung gekennzeichnet. Man findet diffuse

Atrophie von Nephronen sowie eine multifokale bis diffuse Fibrosierung und tubulozystische Veränderungen. Die Glomerulumverödung resultiert aus der enormen Expansion von mesangialen Strukturen und Matrix. Ergänzend finden sich in Abhängigkeit zu tubulären Läsionen, gekennzeichnet durch Epithelveränderungen und teils degenerativen und atrophischen, aber auch regenerativen und hyperplastischen Prozessen, interstitielle Fibrosen und Entzündungszellinfiltrate, die sich immunhistologisch überwiegend als Monozyten und Lymphozyten identifizieren lassen.

### 2.2.3 Pathomechanismen renaler Schädigung

Unabhängig von der Ursache renaler Schädigungen scheinen Faktoren wie *Zellproliferation*, die *Expansion extrazellulärer Matrix* und *Zellinfiltration* mononukleärer Zellen direkt an der Ausprägung progressiver Nierenerkrankungen und der Glomerulosklerose beteiligt zu sein [26].

*Zellproliferation*. Im adulten Säugetierorganismus beträgt die physiologische Wachstumsrate mesangialer Zellen weniger als 1% [27]. In einem Rattenmodell der Anti-Thy1-Nephritis wurde Ratten ein pharmakologischer Inhibitor der cyclinabhängigen Kinase2 (CDK2) verabreicht. Diese Kinase kontrolliert im Zusammenspiel mit anderen regulatorischen Untereinheiten und Kinasen den zeitlich gestaffelten Zellteilungszyklus eukaryotischer Zellen [28]. Es konnte gezeigt werden, dass mit einsetzender mesangialer Zellproliferation ein signifikanter Anstieg von Cyclin A, einer regulatorischen Untereinheit der CDK2, sowie der CDK2 selbst zu verzeichnen ist [29]. Diese Daten verdeutlichen, dass den aktivierten, proliferierenden Zellsystemen, aber auch regulatorische Prozesse der ruhenden mesangialen Strukturen wichtige Effekte auf Funktion und Struktur sowohl in der gesunden, als auch der erkrankten Niere zukommen. Ebenso findet man unter normalen Bedingungen einen ausgewogenen Auf- und Abbau der Bestandteile extrazellulärer Matrix, deren Menge physiologischer Weise einer strikten Konstanz unterliegt. Im Zusammenhang mit progressiven Glomerulonephritiden geht eine Zunahme extrazellulärer Matrix immer mit gesteigerter Proliferation mesangialer Zellen einher, wie tierexperimentelle Daten zeigten [30, 31]. Im Umkehrschluß konnte demonstriert werden, dass eine Reduktion mesangialer Zellteilung mit einer auffälligen Reduktion extrazellulärer Matrixakkumulation korreliert [32].

In einer Vielzahl experimenteller Modelle chronischer Niereninsuffizienz, konnte festgestellt werden, dass Schäden an den Podozyten glomeruläre Schädigungen initiieren und progressiv wirken [33]. Podozyten selbst sind hochspezialisierte Zellen, die als wichtigstes Strukturmerkmal interdigitierende Fußausläufer ausbilden können. Diese sind wiederum mit schlitzartigen Diaphragmen verbunden. Funktionell dienen sie zum einen der Stabilität der



glomerulären Architektur, zum anderen bilden sie mittels ihrer Diaphragmen eine große Filtrationsoberfläche. Sie machen ca. 40 % des hydraulischen Widerstandes der Filtrationsbarriere aus. Die Fußausläufer besitzen kontraktile Elemente die aus Molekülen wie Aktin, Myosin, alpha-Actinin, Vinculin und Talin bestehen und sind über einen alpha3beta1-Komplex mit der glomerulären Basalmembran verbunden. Diese kontraktilen Elemente reagieren vermutlich auf vasoaktive Hormone und beeinflussen damit den Ultrafiltrationskoeffizient  $K_f$ . Podozytäre Schädigungen führen zu größen- und ladungsbedingten Veränderungen der Filtrationsbarriere durch Retraktion ihrer Fußausläufer bzw. durch vollständige zelluläre Degradation und somit zu Proteinurie.

Es wird auch diskutiert, dass die biologisch signifikanten Veränderungen der Podozyten-Struktur vor allem hormonell vermittelt sind [34]. Als mögliche Wege werden zum einen hormonell-induzierte zelluläre Signale angesehen, welche kontraktile Strukturen über einen intrazellulären Kalziumanstieg bzw. eine Zunahme von zyklischem Adenosin Monophosphat (cAMP) beeinflussen. Zum anderen wird vermutet, dass eine Gruppe vasoaktiver Hormone die Ladungen der Podozyten beeinflussen. Sowohl im Zuge der akuten, als auch der chronischen Glomerulonephritis wird eine Beteiligung von Angiotensin II als wahrscheinlich angesehen, unabhängig von dessen Einfluß auf den Tonus der glomerulären Arteriolen [34].

Expansion extrazellulärer Matrix. Ein Charakteristikum der mesangioproliferativen Glomerulonephritis stellt die Akkumulation extrazellulärer Matrix dar. Da der fibrotische Organumbau als ein „aus der Bahn geratener“ Wundheilungsprozess verstanden werden kann, bei dem die Phase der Reparatur überschießend erfolgt, findet sich ein Nebeneinander von gesteigerter Matrixproteinsynthese bei gleichzeitig gehemmten Matrixabbau. Es lassen sich hierbei folgende wichtige Einzelkomponenten differenzieren [3]:

- 1) eine gesteigerte Synthese von Matrixproteinen (u.a. Fibronectin, Proteoglykane, Kollagen I, III und IV, Laminin, Vitronectin, Tenascin, Heparansulfat)
- 2) ein gehemmter Matrixabbau durch die verminderte Bildung von Gewebsproteinasen (z.B. Matrix-Metalloproteinasen = MMP's, MMP-1 = Kollagenase I, MMP-2 = Gelatinase B, Elastase, Serin-Proteasen), sowie die gesteigerte Bildung von Protease-Inhibitoren (z.B. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases = TIMP's, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Type-1 = PAI-1)
- 3) die lokale Überexpression von Matrix-bindenden Rezeptoren (Integrine, z.B. alpha5beta1-Integrin = Fibronectinrezeptor, alpha1beta1-Integrin = Kollagen- und Lamininrezeptor, alpha2beta1-Integrin = Kollagenrezeptor)

Zellinfiltration. Das mononukleäre Zellinfiltrat setzt sich im Wesentlichen aus zwei Zellspezies zusammen: Makrophagen und T-Lymphozyten.

Die Effektor-Funktionen von Makrophagen beeinflussen in hohem Maße Intensität und Dauer der meisten entzündlichen Reaktionen. Ursprünglich wurde den Makrophagen die Rolle der Antigen-präsentierenden Zelle zugewiesen, die proinflammatorische und antimikrobiell-wirksame Mediatoren sezerniert [35]. Heute vermutet man allerdings, dass die Funktionen wesentlich komplexer sind und dass es eine Vielzahl von unterschiedlichen Phänotypen mit unterschiedlichen Funktionen gibt [36]. In Abhängigkeit ihres Aktivierungstypus (klassisch: über Interferon  $\gamma$ -Rezeptor/ alternativ: unabhängig von Interferon auch über Interleukine) werden zwei, auf alternativ aktiviertem Wege, Typen von Makrophagen beschrieben, von denen der eine vorrangig inflammatorische Prozesse, den Abbau extrazellulärer Matrix und Apoptose begünstigt und ein anderer den Aufbau von extrazellulärer Matrix, Zellproliferation und Angiogenese [37]. Allgemein kann festgehalten werden, dass die auf klassischem Wege aktivierten Makrophagen chronische Entzündungsvorgänge und Gewebeschäden provozieren, während die alternativ aktivierten Phänotypen entzündliche Vorgänge abschwächen und Reparaturvorgänge fördern [38]. Grundsätzlich gehören diese Phänotypen Komponenten des adaptiven Immunsystems an.

In einigen vorhergehenden Studien konnte in Modellen inflammatorischer renaler Erkrankungen gezeigt werden, daß T-Lymphozyten eine wichtige Rolle in der Entstehung renaler Läsionen spielen [39, 40]. Ein erhöhter lymphozytärer Influx konnte dabei sowohl in Modellen autologer Immunreaktion-vermittelter Modelle z.B. durch Injektion endogener bzw. exogener Antigene [41, 42], aber auch bei passiven Modellen, bei denen sich ein injizierter Antikörper direkt gegen bestimmte glomeruläre Strukturen richtet [43, 44], nachgewiesen werden.

Während die humorale Immunantwort am wirksamsten bei der Bekämpfung von Bakterien und Viren in extrazellulären Medien ist, kommt den T-Zellen als Träger der zellulären Immunantwort in der Zerstörung von virusinfizierten Zellen, Parasiten und Krebszellen die größte Bedeutung zu. Auch wenn die Rolle der T-Lymphozyten in der Pathogenese der Glomerulonephritiden noch nicht geklärt werden konnte [45, 46], so gibt es doch zelluläre und molekulare Prozesse, die die Funktionsweise der T-Lymphozyten in immunologischen Reaktionen beschreiben [47].

Auf der Oberfläche von T-Zellen befinden sich spezifische Transmembranproteine, welche die T-Zellrezeptoren darstellen. Durch Bindung fremder Strukturen an diese Rezeptoren wird die T-Zell Immunantwort ausgelöst. Die T-Zellen können fremde Strukturen aber nur dann binden, wenn sich diese an Oberflächen von Zellen befinden und ihnen von bestimmten

Membranproteinen, die vom Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC, major histocompatibility complex) codiert werden, präsentiert werden [48]. In dieser Form erkennen T-Zellrezeptoren dann relativ kurze Peptide, die meist weniger als zehn Reste lang sind und in Lösung keine spezifische Struktur aufweisen und daher nicht von Antikörpern gebunden werden können. Es werden verschiedene T-Zellen unterschieden: Zytotoxische T-Zellen zerstören Zellen mit einem fremden Epitop, das mit einem MHC verknüpft ist. Dies veranlasst die T-Zelle zur Sekretion von in Granula gespeichertem Perforin, einem Protein, welches unter Bildung von 10 nm weiten Transmembrankanälen polymersiert und somit zur Lysis der Zielzelle führt [49,50]. T-Helferzellen binden an B-Zellen, welche ein fremdes Epitop an ihrer Oberfläche tragen und stimulieren deren Proliferation durch Ausschüttung eines Wachstumsfaktors. Die MHC-Proteine werden in drei Klassen eingeteilt. Die Proteine der Klasse I präsentieren den zytotoxischen T-Zellen fremde Epitope, die der Klasse II den T-Helferzellen und die Proteine der Klasse III stellen Komponenten der Komplementkaskade dar. Die Proteine der Klasse I und II binden Peptide, die aus fremden Proteinen stammen, aufgenommen und lysosomal verdaut werden [51, 52]. Als Bindungsvoraussetzung müssen diese Peptide über eine dem MHC-Protein in Teilen homologe Sequenz verfügen. Das setzt voraus, daß die MHC-Proteine hochvariabel sein müssen, um die Vielzahl unterschiedlicher Fremdpeptide präsentieren zu können. Die Bindung der T-Zellrezeptoren an die kombinierten Epitope bestehend aus Fremdpeptid und MHC-Komplex erfolgt über variable Regionen. Die Domänen der Rezeptoren sind in Sequenz und dreidimensionaler Struktur den V- und C-Domänen der Immunglobuline homolog. In diesen Regionen existieren hypervariable Sequenzen, welche Bindungsstellen für fremde Epitope bilden und durch Kombination mindestens  $10^7$  verschiedene Spezifitäten entstehen lassen können [53].

An der Bindung sind weiterhin Oberflächenproteine der T-Zellen, die der Erkennung der MHC-Proteine dienen, beteiligt.

### 2.2.4 Einflußgrößen auf Fibrose bei chronischen Nierenerkrankungen

Das profibrotische, multifunktionale Zytokin Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$  nimmt wahrscheinlich eine Schlüsselrolle bei der Matrixakkumulation in der Niere und anderen Organen ein [3]. Es gibt für die Zytokine keine wirklich kurze Definition, doch kann folgende Formulierung für diese *hormonähnlichen* Mediatoren als allgemein gültig angesehen werden [54]: Zytokine sind regulatorische Proteine, die von Leukozyten und einer Reihe weiterer Zellen produziert werden; die pleiotropen Funktionen der Zytokine schließen zahlreiche Effekte auf Zellen des Immunsystems und die Regulierung entzündlicher Prozesse ein. Im Gegensatz zu den Hormonen werden Zytokine von zahlreichen verschiedenen Zelltypen produziert, die in ihren Eigenschaften redundant und pleiotrop sind. Sie haben meist

zahlreiche Zielzellen und wirken autokrin, parakrin, juxtakrin, aber seltener endokrin wie vorzugsweise Hormone [54]. TGF- $\beta$  ist ein wichtiger Modulator von Wachstum, Differenzierung, sowie einer Vielzahl anderer biologischer Aktivitäten von Zellen [55]. Es wird als Proteinkomplex, bestehend aus einem 25 kDA großem Homodimer und einem dazugehörigen 75 kDA „Latency Associated Peptide“ (LAP) sezerniert. Thrombozyten sezernieren TGF- $\beta$  zusätzlich mit dem „Latent TGF- $\beta$  Binding Protein“ (LTBP). LAP und LTBP schützen die aktive TGF- $\beta$  Form, das Homodimer, vor schnellem proteolytischen Abbau und vor unkontrollierten Interaktionen mit seinen Rezeptoren, die auf einer Vielzahl von Zellen vorkommen [56]. In vivo erfolgt die Aktivierung über proteolytische, rezeptorische Spaltung mittels Proteasen wie Plasmin, Kathepsin D, Proteinase 3 oder Elastase. Die TGF- $\beta$ -Rezeptorbindung erfolgt zunächst an einen Typ II-Rezeptor, der dann zu einem Typ I-Rezeptor rekrutiert [57]. Dieser aktivierte Rezeptorkomplex aktiviert seinerseits Kinasen und sendet Signale an spezifische TGF- $\beta$ -Signaltransduktionsmoleküle, die sog. Smad [58]. Die Kinasen phosphorylieren die Smad-Moleküle, welche daraufhin in der Lage sind in den Zellkern einzudringen, an Transkriptionsfaktoren anzudocken und die Transkription TGF- $\beta$ -spezifischer Gene zu induzieren [59].

TGF- $\beta$ -Wirkung erstreckt sich dabei direkt auf den Zellzyklus. Durch die verstärkte Bildung von Inhibitoren der CDK's, kommt es zu einem Arrest des Zyklus in der späten G1-Phase, also vor dem Eintritt in die S-Phase [60].

So kann TGF- $\beta$  stimulierend auf die Proliferation von Fibroblasten, auf Fibrosierungsprozesse, Angiogenese und Wundheilungsprozesse wirken [61]. Weiterhin ist es das potenteste immunsuppressive Zytokin durch seine Fähigkeit der Hemmung der Proliferation von T-Lymphozyten und NK-Zellen, bei gleichzeitiger Verstärkung der Chemotaxis von Neutrophilen und Monozyten [62].

In vitro und in vivo, sowie im akuten Modell der Anti-Thy1-Nephritis konnte gezeigt werden, dass TGF- $\beta$  als besonders starker Stimulator der Matrixproduktion und Inhibitor des Matrixabbaus wirkt. Durch Gabe eines natürlich vorkommenden TGF- $\beta$ -Antagonisten, Decorin, konnte die Matrixvermehrung signifikant vermindert werden [3].

Folgende Faktoren, können an der Niere die Induktion einer TGF- $\beta$ -Überexpression hervorrufen:

- 1) hämodynamische Faktoren: Shear Stress; mesangialer Zellstretch [63]
- 2) Wachstumsfaktoren: ANG II [64]; Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) [65]; Endotheline [66]

- 3) Chemokine: Macrophage Chemotactic Proteine-1 (MCP-1) [67]
- 4) Hyperglykämie [68]
- 5) Hypoxie [69]
- 6) Immunmediatoren: Immunkomplexe [70]; freie Radikale [71]

Die Überexpression mündet in vermehrter Bildung von Matrixproteinen, in reduziertem Matrixabbau und verstärkter Ausbildung Matrix-bindender Rezeptoren. Klinisch findet sich das Bild einer manifesten Organfibrose [72].

Ein wichtiger renaler Wachstumsfaktor, der in Abhängigkeit es vorliegenden Zelltypus Hyperplasie/ Hypertrophie induzieren kann, ist das Hauptpeptid des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAS), das Angiotensin II (Ang II). Dieses vasoaktive Peptid aktiviert mesangiale und tubulärer Zellstrukturen und interstitielle Fibroblasten und vermag so die Expression und Synthese extrazellulärer Matrixproteine steigern [73,74]. Klassischer Weise ist das RAS an der Regulation des arteriellen Blutdrucks, sowie des Wasser- und Elektrolythaushalts beteiligt. In den letzten Jahren erkannte man aber, dass das RAS über seine rein systemische Wirkung noch weiterreichende Funktionen wahrnimmt. Der wichtigste Effektor des RAS ist das Ang II. Bezüglich seiner Synthese unterscheidet man verschiedene Entstehungswege [75]:

#### Der klassische Weg der Ang II-Synthese:

Die Peptidase Renin, mit einem Molekulargewicht von 40 kDA, wird in den Zellen des juxtaglomerulären Apparates synthetisiert und gespeichert, welche sich in den Wänden der afferenten Arteriolen befinden, die das Glomerulum versorgen. Hier sind ebenfalls Barorezeptoren, die auf Blutfluss- und Druckveränderungen reagieren, lokalisiert. Die Zellen der Macula densa reagieren auf Veränderungen der Kationen im Urin, wie Kalzium, Natrium und dem Anion Chlorid. Gemeinsam bilden die afferenten Arteriolen, die Zellen des juxtaglomerulären Apparates und die Macula densa den juxtaglomerulären Apparat. Zur Renin-Freisetzung kommt es durch einen Anstieg der Blutosmolarität oder durch Hypovolämie. In der Niere spaltet Renin Angiotensinogen zu Angiotensin I. Das Globulin Angiotensinogen mit einem Molekulargewicht von 60 kDA wird kontinuierlich in der Leber synthetisiert und an die Blutbahn abgegeben. Angiotensin I wird durch ein Converting Enzyme, welches sich in verschiedenen Geweben wie Gefässendothel, Niere, Lunge u.a. befindet in das biologisch aktive Oktapeptid Ang II umgewandelt [76].

Ang II ist der potenteste bekannte Vasokonstriktor. In peripheren Kapillaren erfolgt eine rasche biologische Inaktivierung durch Angiotensinasen. Ein dabei entstehendes Abbauprodukt ist u.a. Angiotensin III (Ang III), welches sich in großen Mengen in der Nebenniere findet und hier die Aldosteronfreisetzung stimuliert. Ang III verfügt jedoch über keine signifikante vasopressorische Wirkung. Bei Ang III handelt es sich um ein Heptapeptid, welches durch die Abspaltung der N-terminalen Asparaginsäure aus Ang II entsteht [76].

An der glatten Gefäßmuskulatur und am Herzen wirkt Ang II direkt vasokonstringierend und hat entscheidenden Einfluss auf die Regulation des arteriellen Blutdrucks [77,78]. Die Affinität der regionalen Gefäßsysteme ist dabei sehr unterschiedlich ausgeprägt. So reagieren die Gefäße der Nieren, der Haut und des Plexus mesentericus sehr stark auf Ang II, hingegen die Gefäße von Gehirn, Lunge und Skelettmuskulatur kaum eine Reaktion zeigen. Am Herzen erhöht Ang II die Kontraktionskraft und bewirkt einen erhöhten Kalziumeinstrom in der Plateauphase des Aktionspotentials, wodurch dieses verlängert wird.

An der Niere führt die Konstriktion der v.a. efferenten Arteriolen zu einer stärkeren Reduktion der glomerulären Filtrationsrate, als des renalen Blutflusses. Dies bewirkt einem Anstieg der Osmolarität in den zuführenden peritubulären Kapillaren, wodurch gelöste Teilchen und Wasser in die Tubuluszellen und von dort in die Blutbahn zurückgenommen werden [79]. Durch Konstriktion glomerulärer mesangialer Zellen kommt es zum Absinken der glomerulären Filtrationsrate. Ang II beeinflusst direkt die Tubuluszellen und bewirkt somit eine Stimulation der Natrium-Reabsorption [80]. An der Nebenniere kommt es durch Bindung an den Angiotensin-(AT)1-Rezeptor zur Steigerung der Aldosteronsynthese.

Am Nervensystem bindet Ang II an spezifische präsynaptische Rezeptoren auf sympathischen Nervenendigungen und führt zu einer gesteigerten Noradrenalinfreisetzung. Im Nebennierenmark führt es zur Depolarisation der chromaffinen Zellen und damit zur Freisetzung von Adrenalin. Im Hypophysenhinterlappen stimuliert Ang II die Vasopressinfreisetzung. Dieser Effekt wird durch Dehydratation verstärkt [81].

Ang II hat trophische Wirkungen auf glatte Gefäßmuskelzellen, Fibroblasten, adrenokortikale Zellen und auf mesangiale Zellen der humanen fetalen Niere [82,83].

#### Der alternative Weg der Ang II-Synthese:

Der alternative Weg der Ang II-Synthese ist vielgestaltiger als der klassische und kann aktiv in diversen Geweben unter der Beteiligung enzymatischer Systeme katalysiert werden, ohne das Renin oder ACE involviert sind [84]. Eine mögliche Umwandlung von Ang I in Ang II kann durch eine Chymase erfolgen, eine spezifische Ang II-Forming Serin Protease, und

Kathepsin G. Weiterhin kann Ang II unter Mitwirkung von Tissue Plasminogen Activator (t-PA) oder Tonin gebildet werden [85].

In der Niere finden sich alle Komponenten des RAS und können sowohl auf dem klassischen als auch auf dem alternativen Wege synthetisiert und aktiviert werden. So ist Angiotensinogen in mesangialen und tubulären Zellen lokalisiert, Renin in den Zellen des juxtaglomerulären Apparates und ACE, sowie die Chymasen in Gefäßendothelien [86].

### Angiotensin-Rezeptortypen

An der Niere konnten die Ang-2-Rezeptorsubtypen AT1 und AT2 in den Plasmamembranen der afferenten und efferenten Arteriolen, Glomeruli, mesangialen Zellen und den proximalen Tubuli lokalisiert werden [87]. AT1-Rezeptoren sind an der Regulation der Vasokonstriktion und der Natrium- und Wasserreabsorption beteiligt. Außerdem stimulieren sie Zellwachstum, Proliferation und kollagene Matrixdeposition. Die Funktion der AT2-Rezeptoren ist noch nicht vollständig bekannt. Man vermutet, dass sie den Gegenregulator zum AT1-Rezeptor darstellen, indem sie die Bradykinin-Synthese steigern, eine Stickoxyd (NO) und zyklische Guanosin Monophosphat (cGMP) vermittelte Vasodilatation bewirken, sowie die Zelldifferentiation und Apoptose fördern und antiproliferative Eigenschaften aufweisen [89].

Die beiden Rezeptoren bedienen sich dabei unterschiedlicher Signal-Transduktionswege. Die Aktivierung des AT1-Rezeptors wird durch Stimulation einer aktiven Phospholipase C eingeleitet, welche daraufhin zu einer rezeptorinternen Kalziumfreisetzung führt und darüber eine MAP-Kinase aktiviert. Der AT2-Rezeptor hingegen bewirkt einen Anstieg des cGMP-Levels und vermittelt darüber seine Signale [90, 91].

Noch nicht vollständig geklärt werden konnte der intrazelluläre Wirkmechanismus von Ang II und die Aufgabe des intrazellulär wirksamen Ang II (Ang Ili) selbst. Es wurden jedoch bereits Ang Ili-bindende Proteine in der Leber, kardialen Myocyten und mesangialen Zellen gefunden [92, 93, 94]. Man vermutet, dass Ang Ili seine pharmakologischen Wirkungen unabhängig von den plasmamembranständigen AT1- und AT2-Rezeptoren in verschiedenen Zelltypen entfaltet [95-98]. Dieses Phänomen wäre besonders aus pathophysiologischer Sicht bemerkenswert, da die bekannten Wirkungen der klassischen pharmakologischen Hemmstoffe der plasmamembranständigen Rezeptoren hier keinen Effekte erzielen könnten.

### 2.2.5 Charakterisierung der Inflammation bei chronischen Nierenerkrankungen

Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass inflammatorische Vorgänge eine entscheidende Rolle in der Pathogenese von Glomerulopathien einnehmen. Diese Vorgänge beinhalten die

Aktivierung von T-Lymphozyten, die Infiltration von Makrophagen und die Expression verschiedener Zytokine, Wachstumsfaktoren und Adhäsionsmoleküle [99]. Die Antwort auf einen schädigenden Reiz läuft in unterschiedlichen Gewebetypen relativ gleichförmig ab. Der initiale Auslöser führt unter Mitbeteiligung von Thrombozyten zu akuten lokalen entzündlichen Reaktionen, denen mesenchymale Zellrekrutierung, -proliferation und eine gesteigerte Matrixsynthese folgt. Gelingt es nicht, die inflammatorischen Vorgänge zu beheben, so folgen Prozesse, die als entgleiste Wundheilung betrachtet werden können und in unkontrollierter Matrixakkumulation, entgleisten Zytokin-Interaktionen und exzessiven Vernarbungsvorgängen resultieren [100].

Wie bereits beschrieben, stellen mononukleäre Zellen die Effektorzellen inflammatorischer Vorgänge dar. Faktoren die zu einer verstärkten Rekrutierung von Makrophagen führen, sind die Interferon Heraufregulation von den Adhäsionsfaktoren ICAM (Intercellular adhesion molecule)-1 und VCAM (Vascular cell adhesion molecule)-1 auf kapillären und tubulären Oberflächen und die so eine Makrophagen-Akkumulation und -Infiltration begünstigen [101]. Weitere proinflammatorische Stimuli stellen Interleukin-1 und TNF- $\alpha$  dar, welche über eine gesteigerte Expression der Selektine eine weitere Akkumulation mononukleärer Zelltypen fördern [102].

### 2.2.6 Eingesetzte Wirkstoffe

Mit dem Ziel, die funktionellen Interaktionen zwischen Inflammation und Fibrose im Geschehen der chronisch-progressiven Glomerulosklerose therapeutisch zu beeinflussen, wurden zwei Substanzen ausgewählt, die über ein primär anti-inflammatorisches bzw. primär anti-fibrotisches Potential verfügen. Die Substanzen sollen zum einen allein und in Kombinationstherapie eingesetzt werden, um so Rückschlüsse auf zugrunde liegende Regulationsmechanismen schließen zu können.

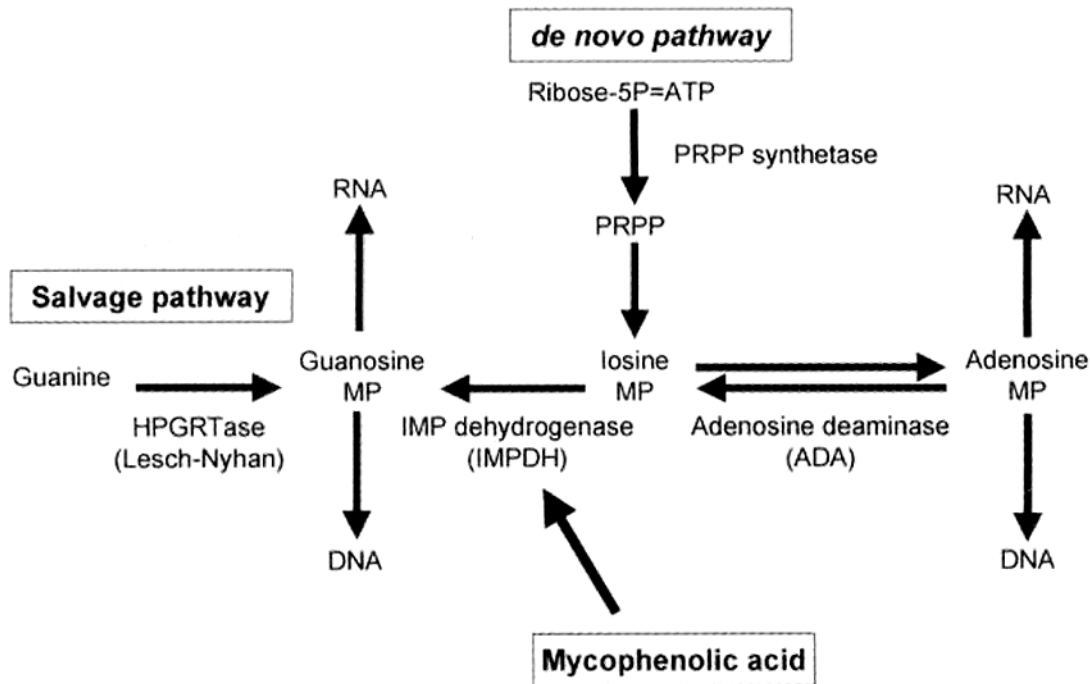
#### 2.2.6.1 Mykophenolat Mofetil (MMF)

Die Entwicklung von MMF geht auf die Entdeckung von Gosio (1896) zurück, dem es gelang, Mykophenolsäure aus *Penicillium*-Kulturen zu isolieren und der dieser Substanz eine gewisse antibakterielle Wirkung nachweisen konnte. Im Jahre 1960 gelang es amerikanischen Wissenschaftlern den Nachweis zu erbringen, dass Mykophenolsäure das Enzym Inosinmonophosphat Dehydrogenase (IMPDH) hemmen kann und über diesen Mechanismus die Proliferation einiger Krebszellen verhindern kann [103] (s.Abb.1.3.6.1; S.27). Eine Dekade später wurde Mykophenolsäure für die Behandlung der Schuppenflechte vorgeschlagen [104]. Im Jahre 1982 gelang es dem Amerikaner A.C.Allison das immunsuppressive Medikament Mykophenolat Mofetil herzustellen, welches selektiv die



Proliferation von Lymphozyten hemmen kann [105]. MMF ist ein halbsynthetisches Derivat der Mykophenolsäure (MPA)[106]. MPA ist die eigentliche pharmakologisch wirksame Substanz. MMF wird rasch nach seiner Aufnahme zu MPA konvertiert [107]. MMF wurde bereits erfolgreich im klinischen Alltag zur Vermeidung von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen eingesetzt. Hierzu liegt eine Vielzahl von Arbeiten vor, welche die Wirksamkeit von MMF darlegen [108, 109, 110]. Direkte Lymphotoxizität spielt bei Transplantatabstoßungen eine Hauptrolle. Im Gegensatz dazu wird vermutet, daß an der Entstehung von Glomerulonephritiden und deren Progression, Lymphozyten-vermittelte Prozesse eine entscheidende Rolle spielen [111].

MMF wird nach oraler Aufnahme vollständig zu MPA hydrolysiert, die biologische Verfügbarkeit der Substanz liegt bei 94% [112, 113]. Der Hauptmetabolit von MPA ist das pharmakologisch inaktive Phenolglucuronid (MPAG), welches überwiegend renal eliminiert wird [114, 115]. Ein kleinerer Teil des MPAG wird biliär sezerniert und unterliegt dann dem enterohepatischen Kreislauf und wird erneut zu MPA glukuronidiert [115]. In zahlreichen Toxizitätsstudien konnte eine hohe therapeutische Breite bei Labortieren dargestellt werden [116]. Im Langzeitversuch an Mäusen wurden weder karzinogene Wirkungen noch chromosomale Abberationen beobachtet. Chronische Toxizität betraf vor allem das hämatopoetische und lymphatische Gewebe und äußerte sich durch Abnahme der roten und weißen Blutkörperchen [116]. In eigenen Voruntersuchungen haben wir bei einigen Tieren anfangs Durchfall verzeichnet, der sich aber vermeiden ließ, wenn initial die halbe Dosis der Zieldosis verabreicht wurde, die dann bei guter Verträglichkeit langsam gesteigert wurde.



**Abb. 1.3.6.1:** Stoffwechselwege der Purinsynthese und Wirkprofil des aktiven Metaboliten Mycophenolsäure von Mycophenolat Mofetil. (ATP-Adenosintriphosphat; DNA-Desoxyribonukleinsäure; HPGRT-Hypoxanthin Guanin Phosphoribosyltransferase; IMP-Inosin Monophosphat; MP-monophosphat; PRPP-Phosphoribosyl Pyrophosphat; RNA-Ribonukleinsäure) (Glander; Budde 2004)

#### 2.2.6.2 Enalapril

Ursprünglich wurden ACE-Hemmer zur Behandlung von Bluthochdruckerkrankungen entwickelt [117]. Es hat sich aber gezeigt, dass diese Substanzen sowohl bei Labortieren, als auch beim Menschen über ein großes antiproteinurisches und renoprotektives Potential verfügen [118]. In einer Vielzahl von Untersuchungen in Modellen akuter und chronischer Nierenerkrankungen konnte auch der limitierende Einfluss auf die Matrixexpansion nachgewiesen werden [119]. Die langfristigen Wirkungen der ACE-Hemmer lassen sich mit dem Wegfall der Ang II-Wirkungen erklären. Hierzu zählt der Abfall des arteriellen Blutdruckes, Verminderung des Tonus arterieller und venöser Gefäße, Abnahme des intraglomerulären Druckes der Niere. Daraus resultieren eine Verbesserung der Nierenfunktion und eine Entlastung des Herzens durch Verminderung der myocardialen Pre- und Afterload [120]. Enalapril wird oral als Enalapril-Maleat (MK 421), mit besserer gastrointestinaler Absorption, verabreicht. Es handelt sich dabei um eine sog. Prodrug, die in der Leber hydrolytisch in den eigentlich aktiven Metaboliten Enaprilat (MK 422, N-[(S)-1-carboxy-3-phenyl-propyl]-L-alanyl-L-proline) gespalten wird [121]. Enalapril an sich würde nur zu einem sehr geringen Anteil absorbiert werden können [122]. Die Ausscheidung von

Enaprilat erfolgt zu ca. 43% über den Urin. Der Ausscheidungsmodus ist dabei biphasisch, da ACE sowohl im Plasma, als auch im Gewebe vorkommt. Die initiale Elimination repräsentiert die renale Plasmafiltration. Die verlängerte Ausscheidungsphase ist ein Maß für die Verteilung der Substanz und deren Affinität zum Gewebe [122]. Es wird vermutet, dass in der verlängerten Gewebe-Phase die eigentlichen pharmakologischen Effekte der Substanz vermittelt werden [123]. Die Nebenwirkungen der ACE-Hemmer können unterteilt werden in solche, die allen Substanzen dieser Klasse gemein sind und solche, die durch die Präsenz einer Sulfhydryl-Gruppe vermittelt werden [117].

Eine Gemeinsamkeit aller antihypertensiven Substanzen ist ihr Vermögen hypotensive Zustände zu erzeugen. Bei ACE-Hemmern tritt Hypotension vermehrt in Verbindung mit salzarmen Diäten und bei gleichzeitiger Einnahme von Diuretika auf [124]. Die Hyperkaliaemie lässt sich durch eine reduzierte Aldosteronwirkung erklären [125]. Eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion kann auftreten, wenn eine Reduktion der glomerulären Perfusion vorliegt. Diese kann durch einen herabgesetzten arteriellen Druck hervorgerufen werden, der im Zuge von bilateraler Arteriosklerose, kongestivem Herzversagen oder Volumenmangel auftreten kann. Zur Aufrechterhaltung der glomerulären Filtrationsleistung reagiert die Niere mit einer Ang II-vermittelten Vasokonstriktion der efferenten Arteriole. Bei einer Blockade der Ang II-Wirkung durch ACE-Hemmer tritt aber eine Vasodilatation des Gefäßes ein und eine Herabsetzung der glomerulären Filtration ist die Folge [122].

### 2.2.7 Tiermodell der Anti-Thy1-induzierten chronischen Glomerulosklerose

Die Forschung zur Pathogenese und Therapie der progressiven Nephropathien war lange Zeit dadurch behindert, dass es kein hinreichend geeignetes Tiermodell gab. Unserer Arbeitsgruppe ist es jedoch kürzlich gelungen, ein reproduzierbares und praxisnahes Modell, vergleichbar der humanen progressiven IgA-Nephropathie, zu etablieren. Dieses Modell, die Anti-Thy1-induzierte, chronisch-fortschreitende Glomerulosklerose der Ratte, wird durch die einmalige Gabe von Anti-Thy1-Antikörpern (OX7) bei uni-nephrektomierten Ratten induziert. Nach kurzer inflammatorischer, mesangioproliferativer Glomerulonephritis kommt es zu einem eigenständigen Fortschreiten der Erkrankung in das Tubulus- und umliegende Bindegewebe, einhergehend mit zunehmender renaler Funktionseinschränkung. Ohne Intervention versterben die Tiere nach einem Zeitraum von ca. 20. Wochen nach Antikörpergabe an Urämie. Der Verlauf und die histologischen Veränderungen bei der Anti-Thy1-induzierten, chronischen Glomerulosklerose ähneln sehr der humanen progressiv verlaufenden IgA-Nephropathie.

Das Antigen für den über Schwanzvenen-Injektion verabreichten Antikörper sind die sogenannten Thy1-Epitope, die sich in hoher Zahl im Glomerulum der Ratte finden [126]. Bereits kurze Zeit nach der Injektion findet eine Komplement (C5b-9)-abhängige Mesangiolyse statt [127]. Nach ca. 48 h sind die OX7 Antikörper immunhistologisch nicht mehr nachweisbar.

Es ist absolut zwingend den Antikörper streng intravenös zu verabreichen, da eine paravenöse Injektion die Ausbildung der Glomerulosklerose verhindert. Die vor Antikörper-Injektion vorangestellte einseitige Nephrektomie ist ebenfalls ein notwendiger, den Krankheitsverlauf perpetuierender Faktor. Das Operations- bzw. Injektionsgewicht der Tiere liegt zwischen 150-180 g. Bei höherem Körpergewicht der Tiere ist eine höhere Rate der Spontanheilung zu beobachten. Es gibt bisher keine wissenschaftlich belegte Erklärung für dieses Phänomen, man vermutet aber, dass dies aus den enormen Selbstheilungskräften der Ratte heraus resultiert, da mit steigendem Körpergewicht in der Wachstumsphase der Tiere das Immunsystem an Kompetenz gewinnt.

### **3 Zielsetzung**

Die chronische Niereninsuffizienz ist uniform durch tubulointerstitielle Fibrose und Inflammation gekennzeichnet. Es wird heute allgemein angenommen, dass tubulointerstitielle Fibrose und Inflammation komplementäre Mechanismen repräsentieren, welche in terminaler Niereninsuffizienz münden. Neuere Studien zeigen in nicht-immunvermittelten experimentellen Nierenerkrankungen relevante funktionelle Verbindungen zwischen Zellinfiltration und Matrixproteinexpansion.

In der vorliegenden Arbeit sollten erstmalig im Modell der Anti-Thy1-induzierten chronisch-progressiven Glomerulosklerose der Ratte folgende Aufgaben experimentell erarbeitet werden:

1. Es soll der Versuch unternommen werden, die Progression der Erkrankung durch Gabe einer anti-inflammatorischen Substanz, einer anti-fibrotischen Substanz und einer Kombination aus beiden Substanzen zu verhindern.
2. Ziel ist es, mögliche relevante funktionelle Zusammenhänge zwischen renaler mononukleärer Zellinfiltration (als Kennzeichen der Inflammation) und gesteigerter Matrixproteinexpansion (als Kennzeichen der Fibrose) zu untersuchen.
3. Die gewonnenen Ergebnisse sollen bereits erfolgten Untersuchungen in anderen Modellen gegenübergestellt und erörtert werden.