Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## DISSERTATION

## Histologische Veränderungen des linken Ventrikels und der Niere nach experimenteller Reduktion einer definierten Anzahl von Nephronen und das protektive Potential einer ACE-Hemmung im Rattenmodell

zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jan Ebersohn

aus Mainz

## Gutachter:

1. Priv.-Doz. Dr. med. L. Rothermund

2. Prof. Dr. med. H. Peters

3. Prof. Dr. med. H. Theres

Datum der Promotion: 30.01.2009

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis       4         1. Einleitung       7         1.2 Arterielle Hypertonie       7         1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie       10         1.4 Die Brenner-Hypothese       11         1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       12         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       10         1.7 ACE-Hemmer       11         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.2.3 Protokollgruppen       22         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       22         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       23         2.4.1 Das Medikament Ramipril       24         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       24         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       24         2.5.3 Protein- und Kreatininbestimmung       24         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       24 <th>Da</th> <th>atum der Promotion:</th> <th>2</th>	Da	atum der Promotion:	2
1. Einleitung.	Al	bkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung       1.2 Arterielle Hypertonie       1.2         1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie       1.0         1.4 Die Brenner-Hypothese       1.1         1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       1.2         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       1.6         1.7 ACE-Hemmer       1.6         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.0 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.2.1 Tierstamm und Haltung       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie       22         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       22         2.4.1 Das Medikament Ramipril       22         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       22         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       22         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       25         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       24 <th></th> <th></th> <th>_</th>			_
1.2 Arterelle Hypertonie       10         1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie       10         1.4 Die Brenner-Hypothese       11         1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       11         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       10         1.7 ACE-Hemmer       19         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.4 Methoden       22         2.2.5 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.2.6 Protekollgruppen       20         2.2.7 Stotollgruppen       20         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       24         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       24         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       24         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       24         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       25         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       25         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       25	1.	Einleitung	7
1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie       11         1.4 Die Brenner-Hypothese       11         1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       12         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       16         1.7 ACE-Hemmer       19         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.1 Wethoden       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.2.3 Protokollgruppen       20         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       20         2.4.1 Das Medikament Ramipril       24         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       24         2.5 Lingewinnung im Stoffwechselkäfig       22         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       24         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       25         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       26         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       26		1.2 Arterielle Hypertonie	7
1.4 Die Brenner-Hypothese       11         1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       12         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       10         1.7 ACE-Hemmer       12         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       22         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.0 Methoden       22         2.2.1 Tierstamm und Haltung       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie       22         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       22         2.4.1 Das Medikament Ramipril       23         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       23         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       24         2.5 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       22         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       24		1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie	10
1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz       15         1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       16         1.7 ACE-Hemmer       16         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.2 Methoden       22         2.2.3 Protokollgruppen       22         2.2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie       22         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       22         2.4.1 Das Medikament Ramipril       22         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       22         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       22         2.5 Litdruck und Uringewinnung       22         2.5 Litdruck und Uringewinnung       22         2.5 Litdruck und Uringewinnung       22         2.6 Biochemische Analysen       22         2.6.1 Albuminbestimmung       23         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		1.4 Die Brenner-Hypothese	
1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems       16         1.7 ACE-Hemmer       15         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie       26         2.4.1 Das Medikament Ramipril       28         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       28         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz	15
1.7 ACE-Hemmer       15         1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2.0 Methoden       22         2.2.1 Tierstamm und Haltung       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.3 Protokollgruppen       26         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       28         2.4.1 Das Medikament Ramipril       28         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       28         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       29         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6.1 Albuminbestimmung       26         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems	16
1.8 Zielstellung dieser Arbeit       20         2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       24         2.2 Methoden       24         2.2.1 Tierstamm und Haltung       24         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       25         2.2.3 Protokollgruppen       26         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       26         2.4.1 Das Medikament Ramipril       26         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       26         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       26         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       26         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       26         2.6.1 Albuminbestimmung       26         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       36		1.7 ACE-Hemmer	19
2. Material und Methoden       21         2.1 Materialien       21         2.1.1 Lösungen       21         2.1.2 Chemikalien und Medikamente       22         2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial       22         2.1.4 Geräte       22         2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel       22         2.2 Methoden       22         2.2.1 Tierstamm und Haltung       22         2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign       22         2.2.3 Protokollgruppen       26         2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril       28         2.4.1 Das Medikament Ramipril       28         2.4.2 Verabreichung des Medikaments       26         2.5 Blutdruck und Uringewinnung       29         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6 Biochemische Analysen       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		1.8 Zielstellung dieser Arbeit	20
2.1 Materialien212.1.1 Lösungen212.1.2 Chemikalien und Medikamente222.1.3 Instrumente und Nahtmaterial222.1.4 Geräte222.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel222.1 Sonstige Materialien und Futtermittel222.2 Methoden222.2.1 Tierstamm und Haltung222.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign222.2.3 Protokollgruppen262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril262.4.1 Das Medikament Ramipril262.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30	2.	Material und Methoden	21
2.1.1 Lösungen212.1.2 Chemikalien und Medikamente222.1.3 Instrumente und Nahtmaterial222.1.4 Geräte222.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel242.2 Methoden242.2.1 Tierstamm und Haltung222.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril262.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments262.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.6.1 Albuminbestimmung292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.1 Materialien	21
2.1.2 Chemikalien und Medikamente222.1.3 Instrumente und Nahtmaterial222.1.4 Geräte222.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel242.2 Methoden242.2.1 Tierstamm und Haltung252.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen262.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.1.1 Lösungen	21
2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial.222.1.4 Geräte222.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel242.2 Methoden242.2.1 Tierstamm und Haltung.222.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments262.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.1.2 Chemikalien und Medikamente	22
2.1.4 Geräte222.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel242.2 Methoden242.2.1 Tierstamm und Haltung252.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril262.4.1 Das Medikament Ramipril262.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial	23
2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel.242.2 Methoden.242.2.1 Tierstamm und Haltung.252.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign.252.2.3 Protokollgruppen.262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie.262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril.282.4.1 Das Medikament Ramipril.282.4.2 Verabreichung des Medikaments.262.5 Blutdruck und Uringewinnung.292.5.1 Systolische Blutdruckmessung.292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig.292.6.1 Albuminbestimmung.292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung.30		2.1.4 Geräte	23
2.2 Methoden242.2.1 Tierstamm und Haltung242.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign242.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments262.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel	24
2.2.1 Tierstamm und Haltung252.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.2 Methoden	24
2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign252.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.2.1 Tierstamm und Haltung	25
2.2.3 Protokollgruppen262.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign	25
2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie262.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.2.3 Protokollgruppen	
2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril282.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie	
2.4.1 Das Medikament Ramipril282.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril	
2.4.2 Verabreichung des Medikaments282.5 Blutdruck und Uringewinnung292.5.1 Systolische Blutdruckmessung292.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig292.6 Biochemische Analysen292.6.1 Albuminbestimmung292.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung30		2.4.1 Das Medikament Ramipril	
2.5 Blutdruck und Uringewinnung       29         2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6 Biochemische Analysen       29         2.6.1 Albuminbestimmung       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		2.4.2 Verabreichung des Medikaments	
2.5.1 Systolische Blutdruckmessung       29         2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6 Biochemische Analysen       29         2.6.1 Albuminbestimmung       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		2.5 Blutdruck und Uringewinnung	
2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig       29         2.6 Biochemische Analysen       29         2.6.1 Albuminbestimmung       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		2.5.1 Systolische Blutdruckmessung	
2.6 Biochemische Analysen       29         2.6.1 Albuminbestimmung       29         2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung       30		2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig	
2.6.1 Albuminbestimmung    29      2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung    30		2.6 Biochemische Analysen	
2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung		2.6.1 Albuminbestimmung	
		2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung	
2.7 Tötung und Organentnahme		2.7 Tötung und Organentnahme	
2.8 Durchführung der histologischen Untersuchungen		2.8 Durchführung der histologischen Untersuchungen	
2.8.1 Paraffineinbettung der Organe		2.8.1 Paraffineinbettung der Organe	
2.8.2 Schneiden und Färben der Nieren		2.8.2 Schneiden und Färben der Nieren	

2.9 Bewertung der histologischen Untersuchungen	34
2.9.1 Bewertung der glomerulären Fläche	34
2.9.2 Semiquantitative Bewertung der Glomerulosklerose der Niere	35
2.9.3 Morphometrische Bildanalyse der interstitiellen Fibrose in der Niere	35
2.9.4 Semiquantitative Bewertung des tubulointertitiellen - damge - Index (TDI)	36
2.9.5 Morphometrische Bildanalyse der interstitiellen Fibrose des linken Ventrikels.	36
2.9.6 Morphometrische Bildanalyse der perivaskulären Fibrose des linken Ventrikels	s37
2.10 Statistische Analyse	38
3. Ergebnisse	39
3.1. Herzphysiologische Daten	39
3.1.1. Systolischer Blutdruck (SBP)	39
3.1.2 Linkes Herzgewicht (normalisiert zum Körpergewicht)	40
3.2 Parameter der Nierenfunktion	42
3.2.1 Kreatinin-Clearance	42
3.3 Histologische Daten der Niere	43
3.3.1 Fläche der Glomeruli	43
3.3.2 Glomeruläre Sklerose	44
3.3.3 Interstitielle Fibrose	45
3.3.4 TDI	46
3.4 Histologische Daten des linken Ventrikels	47
3.4.1 Interstitielle Fibrose	47
3.4.2 Perivaskuläre Fibrose	48
4. Diskussion	49
4.1 Nierenfunktionseinschränkung	49
4.2 Histologische Veränderungen an der Niere	53
4.2.1 Glomeruläre Fläche	53
4.2.2 Glomerulosklerose	55
4.2.3 TDI	60
4.2.4 Interstitielle Fibrose der Niere	61
4.3 Kardiale und hämodynamische Veränderungen	63
4.3.1 Systolischer Blutdruck	64
4.3.2 Linksventrikuläre Hypertrophie	66
4.3.3 Kardiale histologische Veränderungen	69
5. Zusammenfassung	76
Literaturverzeichnis	78
Erklärung	89
Curriculum vitae	90
Danksagung	91

# Abkürzungsverzeichnis

A. renalis	Arteria renalis
ACE	angiotensin - converting - enzyme (engl.)
AEU	Albuminexkretion im Urin
ACEI	angiotensin – converting – enzym - inhibitor
Ang II	Angiotensin II
BW	body weight (engl.)
CCL	Kreatinin-Clearance
FEM	Forschungsinstitut für experimentelle Medizin
FU	Freie Universität
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HW	Herzgewicht
HOPE	Heart Outcomes Prevention Evaluation (engl.)
KG	Körpergewicht
Ко	Kontroll- (Simulations-) OP
LV	linker Ventrikel
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
MWF	Munich-Wistar-Frömter
PEU	Proteinexkretion im Urin
NI, cNI	Niereninsuffizienz, chronische Niereninsuffizienz
Nx	5/6Nephrektomie
OP	Operation
р	p-Wert für Signifikanz
PAS	Periodic Acid Shiff
RAAS	Renin - Angiotensin - Aldosteron - System
Rami	Ramipril
RV	rechter Ventrikel
SBD	systolischer Blutdruck
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
SNGFR	single nephron glomerular filtraion rate ( engl.)
TSE Bad Homburg	Technical & Scientific Equipment GmbH Bad Homburg
UKBF	Universitätsklinikum Benjamin Franklin
WHO	World Health Organisation (engl.)
Ztm	Zentrales Tierlaboratorium Medizinische Hochschule Hannover

Synonyme:

KG=Körpergewicht = bodyweight = BW Subtotale Nephrektomie = renale Ablation = 5/6Nephrektomie = Nx

verwendete Einheiten und chemisch-/physikalische Abkürzungen:

°C Grad Celsius				
cm Zentimeter				
1	Liter			
mg/d Milligramm pro Tag				
mg/g	Milligramm pro Gramm			
mg/kg, mg/g KG Milligramm pro Kilogramm bzw. Gramm Körpergewich				
mg/ml Milligramm pro Milliliter				
ml Milliliter				
ml/min Milliliter pro Minute				
mmHg Millimeter Quecksilbersäule				
µl Mikroliter				
$\mu m^2$	μm <sup>2</sup> Quadratmikrometer			
pH potentia hydrogenii (lat.)				
% Prozent				
Synonyme:				
$KG=K\"orpergewicht = bodyweight = BW$				
Subtotale Nephrektomie = renale Ablation = $5/6$ Nephrektomie = Nx				

## 1. Einleitung

Chronische Nierenerkrankungen sind weltweit häufig und ihre Inzidenz ist weltweit ansteigend <sup>1</sup>. Bei unterschiedlicher Genese - an erster Stelle steht der Diabetes mellitus (33%) gefolgt von hypertoniebedingten Nierenschäden (24%) und Glomerulonephritiden  $(17\%)^2$  – ist den Erkrankungen eine pathophysiologische Endstrecke gemeinsam, die in einem progredienten Untergang von Nephronen mündet und damit zum Funktionsverlust der Niere führt.

Diesem kompletten Funktionsverlust kann heutzutage mittels Dialyse oder durch eine Nierentransplantation Einhalt geboten werden: Die Nierenfunktion ist damit prinzipiell ersetzbar geworden, und ein Mensch mit einer terminalen Niereninsuffizienz muss nicht an dem Funktionsausfall dieses Organs sterben. So findet sich die Haupttodesursache der an chronischer Niereninsuffizienz Erkrankten auch nicht im Organ selbst, sondern vielmehr am linken Ventrikel. Patienten mit cNI haben ein vielfach erhöhtes Risiko (im Vergleich mit Patienten ohne cNI), an kardiovaskulären Erkrankungen zu erkranken und an ihren Komplikationen zu versterben<sup>3-5</sup>. Die cNI wirkt also beschleunigend auf die Entstehung kardialer Erkrankungen. Warum das so ist, konnte bisher nicht geklärt werden. Das kardiale und renale Erkrankungen miteinander vergesell-schaftet sind, wurde bereits von Richard Bright 1836 beschrieben<sup>6</sup>.

Man geht davon aus, dass die Ursachen der kardialen Veränderungen bei cNI multifaktoriell sind<sup>7,8</sup>. Einen wichtigen Faktor stellt das Auftreten eines renoparenchymalen Hypertonus bei einem Verlust von funktionsfähigem Nierengewebe dar. Ein chronisch erhöhter Blutdruck kann dann eine linksventrikuläre Hypertrophie mit konsekutiver diastolischer Dysfunktion nach sich ziehen<sup>5</sup> und schließlich in eine Herzinsuffizienz münden.

Klar ist, dass ein Hypertonus wie auch eine LVH voneinander unabhängige Risikofaktoren für das Entstehen weiterer kardiovaskulärer Erkrankungen bei Patienten mit cNI darstellen. Sie gehören außerdem zu den am frühesten darstellbaren und häufigsten kardiovaskulären Veränderungen bei cNI und senden somit die ersten Signale einer beginnenden kardialen Beeinträchtigung bei diesen Patienten. Möchte man also kardiale Veränderungen schon im frühen Stadium einer Nierenerkrankung untersuchen, sind ein erhöhter Blutdruck und eine LVH als Parameter gut geeignet. Die näheren Zusammenhänge beider Parameter mit Erkrankungen, die mit einem Nephronverlust einhergehen, soll im Folgenden weiter beleuchtet werden.

## **1.2 Arterielle Hypertonie**

Es ist bekannt, dass die arterielle Hypertonie ein Risikofaktor für die Entstehung verschiedener Krankheitsbilder darstellt. Diese können sich an verschiedenen Zielorganen wie z.B. dem Herz, der Niere, dem Gehirn oder dem Gefäßsystem manifestieren. Man spricht von sogenannten Endorganschäden.

Die Daten großer epidemiologischer Studien wie der Framingham-Studie zeigen, dass es mit zunehmendem arteriellem Blutdruckanstieg zu einem kontinuierlichen Anstieg der Erkrankungen von Zielorganen kommt<sup>9,10</sup>.

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert den Grenzwert des arteriellen Blutdrucks dort, wo das Risiko einer Schädigung der kardiovaskulären Endorgane signifikant zu steigen beginnt. Aktuell liegt der Wert systolisch bei 140 mmHg und diastolisch bei 90 mmHg<sup>11</sup>. Bei diesem Wert besteht ein 50% ig erhöhte Mortalität aufgrund kardiovaskulärer Erkrankungen gegenüber niedrigeren Werten.

Die Ursache des arteriellen Hypertonus ist bei bis zu 95% aller Hypertoniker nicht eindeutig zu diagnostizieren<sup>12</sup>. Man bezeichnet dies als "essentiellen" oder "primären" Hypertonus, dem gegenüber steht die sogenannte sekundäre Hypertonie, hervorgerufen durch z.B. endokrine Tumore, Nierenarterienstenosen usw. Diese ist potentiell kurativ therapierbar.

Die Ursache des primären Hypertonus ist trotz zahlreicher Hypothesen weiterhin nicht eindeutig geklärt. Das Spektrum der möglichen Pathomechanismen umfasst sowohl renale Ursachen wie minimale intrarenale Schädigungen<sup>13</sup>, intrarenale Ischämie<sup>14</sup>, verminderte Drucknatriurese<sup>15</sup>, heterogene Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems (RAS)<sup>16</sup>, einen genetischen Defekt der Natriumexkretion<sup>17</sup>, gesteigerte glomerulotubuläre Balance<sup>18</sup> und eine genetisch oder erworben verminderte Anzahl von Nephronen<sup>19-21</sup>, als auch extrarenale Faktoren wie Überaktivität des sympathischen Nervensystems<sup>12</sup>, zirkulierende Na+/K+-ATPase Hemmstoffe<sup>22</sup> und Mangel zir-kulierender Vasodepressoren<sup>23</sup>. Verschiedene Befunde deuten darauf hin, dass bestimmte Funktionsstörungen der Niere zusammen mit strukturellen Veränderungen der Niere notwendige Voraussetzung für die Manifestation einer Hypertonie<sup>24,25</sup> und der hypertensiven Endorganschäden sind.

Bei der essentiellen Hypertonie liegt die glomeruläre Filtrationsrate und die Nierenperfusion initial im Normbereich. Trotzdem ist bereits zu diesem Zeitpunkt die Nierenfunktion messbar eingeschränkt. Dabei ist nicht klar, ob diese Funktionseinschränkung Folge oder Ursache der Hypertonie ist. In jedem Fall tragen diese renalen Funktionsänderungen zur Progression der hypertensiven Nephropathie und der kardiovaskulären Endorganschäden bei<sup>26</sup>.

In Guyton's Modell des *renal body fluid-pressure control system*<sup>15</sup> sind die Nieren der zentrale Regulator des Langzeitblutdrucks.

Pathologische Funktionseinschränkungen der Niere führen nach diesem Konzept zu einer jeweils charakteristischen renal function curve, in der abhängig von der Natrium- und Wasserzufuhr nur ein bestimmter arterieller Blutdruck eine ausgeglichene Natrium- und Wasserbilanz ermöglicht<sup>15</sup>.

Die Physiologie und Pathophysiologie stellt sich wie folgt dar:

Um einen konstanten Blutdruck aufrecht zu erhalten, ist es von entscheidender Bedeutung, dass zwischen der Salz- und Wassereinfuhr und der renalen Exkretion selbiger Stoffe *steady-state* Bedingungen eingehalten werden. Ein nur geringes Abweichen aus dieser Balance würde zu einer starken Volumenexpansion bzw. zur Hypovolämie führen. Bei den meisten Menschen sorgen neurohumorale und intrinsische renale Mechanismen für die Aufrechterhaltung der normalen Salzund Wasserhomöostase. Über den Mechanismus der Druck-Natriurese kann dabei der Blutdruck sowie das Gesamtkörperwasser in engen Grenzen konstant gehalten werden. Z.B. führt die Steigerung des peripher vaskulären Widerstandes oder der Herzaktivität zu einer Erhöhung des arteriellen Blutdrucks. Der erhöhte Blutdruck bedingt eine Zunahme der Drucknatriurese und Diurese, sofern die Funktion der Niere nicht eingeschränkt ist. Solange die renale Flüssigkeitsexkretion die Salz- und Wasseraufnahme des Organismus übersteigt, sinkt das extrazelluläre Volumen. Der venöse Rückstrom zum linken Ventrikel nimmt ab. Die Reduzierung des Herzzeitvolumens senkt letztendlich den systemischen Blutdruck. Bei Erreichen des normalen Blutdrucks stehen die Drucknatriurese und Diurese wieder mit der Flüssigkeitseinfuhr im Gleichgewicht. Dabei wird die Drucknatriurese so lange aufrechterhalten, bis der systemische Blutdruck seinen Ausgangspunkt erreicht hat. Dieser wird durch zahlreiche intrinsische und neurohumorale Mechanismen, welche die renale Exkretionskapazität steuern, festgelegt<sup>15,27</sup>. Umgekehrt kommt es bei Blutdruckabfall zu einer Abschwächung der Drucknatriurese. Die Niere retiniert Salz und Wasser. Das extrazelluläre Volumen und der arterielle Blutdruck nehmen zu. In dieser Weise handelt es sich bei der Drucknatriurese um ein feed-back-System zur Aufrechterhaltung des normalen Blutdruckes und der Wasserhomöostase. Liegt nun eine renale Funktionseinschränkung vor, welche die Exkretion von Salz und Wasser vermindert, muss zur Aufrechterhaltung der Salz- und Wasserhomöostase eine Erhöhung des arteriellen Blutdruckes erfolgen. Nur so gelingt es der Niere, die notwendige Exkretion an die Einfuhr anzupassen. Die Folge ist eine langfristige Erhöhung des arteriellen Blutdrucks<sup>28-30</sup>.

Aus diesem Modell ist ableitbar, dass sich eine Hypertonie nur dann entwickeln kann, wenn ein Störfaktor die Fähigkeit der Niere beeinträchtigt, Salz und Wasser auszuscheiden. Dabei wird das Erreichen einer ausgeglichenen Salz-Wasserbilanz erst bei erhöhten Blutdruckwerten möglich und damit die renal function curve nach rechts zu höheren Blutdruckwerten hin verschoben.



Abbildung 1: Druck-Natriurese-Beziehung zur langfristigen Blutdruckregulation. An der Ordinate ist die Höhe des Natrium/Wasser-Durchsatzes (Einfuhr = Ausfuhr), an der Abszisse der mittlere arterielle Blutdruck dargestellt. Jeder pathologischen Funktionseinschränkung der Niere ist eine charakteristische renal function curve zugeordnet (nach Guyton Am. J. Med 1972).

## 1.2 Zusammenhänge zwischen Schädigung der Niere und Hypertonie

Seit langem ist bekannt, dass die Niere eine zentrale Rolle bei der Blutdruckregulation spielt, aber auch, dass der Bluthochdruck im Rahmen einer hypertensiven Nephropathie eine Verschlechterung der Nierenfunktion hervorruft.

Erstmals wurde dieser Zusammenhang von Richard Bright 1836 beobachtet <sup>6</sup>, ("The hypertrophy of the heart seems in some degree to have kept pace with the advance of the disease in the kidneys") und von Franz Volhard 1914 <sup>31</sup> dokumentiert. Er war auch der erste, der die Hypertonie als den wichtigsten Risikofaktor für die Progression einer chronischen Niereninsuffizienz identifizierte. Aktuell wurde die Bedeutung des Hypertonus für die Progression der cNI unter anderem in den MRFIT <sup>32</sup> - und der MDRD-Studien <sup>33,34</sup> nachgewiesen. In diesem Zusammenhang soll der Pathomechanismus der hypertensiven Nephropathie kurz beschrieben werden.



## **1.3 Hypertensive Nephropathie**

Eine hypertensive Nierenerkrankung ist mit einem Anteil von 13% eine der häufigsten Ursachen eines terminalen Nierenversagens (tNV) in Europa <sup>35</sup> und bis zu 28% in den USA <sup>35,36</sup>. Es ist weitgehend akzeptiert, dass eine maligne Hypertonie oft jüngerer Patienten bei einem Anstieg des diastolischen Blutdrucks über 120 mmHg neben einem Lungenödem, akuten retinalen Blutungen und einem Papillenödem zu einem sich schnell manifestierenden terminalen Nierenversagen führt<sup>37</sup>. Ob auch leichte bis mittelschwere Blutdruckerhöhungen mit dem histologischen Bild einer benignen hypertensiven Nephrosklerose zu einem tNV führen können, ist noch nicht abschließend geklärt <sup>38</sup>. In einer kleinen retrospektiven Untersuchung entwickelte sich innerhalb

des Untersuchungszeitraums von 5 Jahren ein tNV bei 15% der Patienten mit essentieller Hypertonie <sup>39</sup>. In einer großen Kohorten-Studie trat ein tNV nur bei 2% der hypertensiven Patienten nach 5 Jahren auf <sup>40</sup>. Die Diagnose einer isolierten benignen hypertensiven Nephrosklerose wird häufig dadurch erschwert, dass eine initial unerkannte andere renale Grunderkrankung wie zum Beispiel eine Glomerulonephritis oder eine vaskuläre Nephropathie vorliegt<sup>41,42</sup>. Klinisch ist die hypertensive Nephropathie durch einen Bluthochdruck, einen Abfall der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und eine zunehmende Proteinurie gekennzeichnet <sup>43</sup>.

Dem progredienten Nierenversagen bei arterieller Hypertonie liegt eine Abnahme der Anzahl funktionstüchtiger Nephrone durch eine Glomerulosklerose, eine Gefäßsklerose und eine tubulointerstitelle Fibrose zugrunde.

1969 zeigte Bricker<sup>44</sup> einen in diesem Zusammenhang wichtigen Befund. Seine sogenannte *Intact-nephron-Hypothese* beinhaltete, dass die Funktion der Niere bei der Progression einer Niereninsuffizienz nicht durch viele Nephrone, die in ihrer Funktion zu Teilen beeinträchtigt sind, aufrechterhalten wird, sondern durch einen sich konstant verkleinernden Pool voll funktionsfähiger oder überfunktionierender Nephrone erhalten wird, also für die Niere ein "all or nothing"-Prinzip gilt<sup>45</sup>. Die stattfindende Kompensation bei Nephronverlust konnte nach dieser Theorie also nur durch eine Hypertrophie/Überfunktion der verbleibenden Nephrone geleistet werden. Pathophysiologisch geht diese Kompensation wie folgt vonstatten:

Der Teufelskreis beginnt mit einer intraglomerulären Druckerhöhung, die zwei Ursachen haben kann: zum einen führt (bei der essentiellen Hypertonie) die systemische Druckerhöhung zu dieser intrarenalen Druckerhöhung, zum anderen (bei der cNI) führt ein Verlust an Nephronen bei unverändertem systemischem Blutdruck zu einer Druckerhöhung in den verbleibenden Nephronen<sup>45</sup>. Eine chronische intraglomeruläre Druckerhöhung ist für die Niere nun das Signal, dass die vorhandenen Funktionseinheiten die Filtration nicht mehr leisten können: es kommt zu einer glomerulären Hypertrophie, um die Filtrationsfläche der einzelnen noch funktionsfähigen Nephrone kompensatorisch zu vergrößern <sup>46,47</sup>. Diese glomeruläre Hypertrophie ist zunächst ein physiologischer Adaptionsmechanismus, der auch bei Patienten mit Einzelniere oder einer einseitigen Nephrektomie stattfindet <sup>19</sup>. Diese Patienten haben zunächst keine erhöhte Mortalität, weshalb auch die Lebendspende von Nieren innerhalb von Familien als unbedenklich angesehen wird. Persistiert jedoch die Druckerhöhung, so kommt es zur Schädigung der empfindlichen Architektur des Glomerulums und zur Schädigung der Nierengefäße. Diese kompensatorische Überfunktion geht dann in eine Maladaption über, und es treten irreversible Schädigungen des restlichen ursprünglich noch funktionsfähigen Gewebes auf <sup>48-50</sup>. Histologisch sind diese Schädigungen durch Atrophie des tubulären Apparats, interstitielle Fibrose und Glomerulosklerose gekennzeichnet <sup>49,50</sup>. Pathomechanisch führt nach Brenner die Hyperfiltration und Hyperperfusion der verbliebenen funktionsfähigen Nephrone durch den erhöhten intraglomerulären Druck zu einer Vergrößerung der Glomeruli. Dabei werden die Podozyten geschädigt und Proteinurie, Ablagerungen von Proteinen im Mesangium und schließlich eine irreversible Glomerulosklerose sind die Folgen <sup>51,52</sup>.

In-vitro-Perfusionsuntersuchungen an isolierten Glomeruli zeigten, dass ein erhöhter intraglomerulärer Druck zur Stimulierung der Kollagenbiosynthese der Glomeruli und zur Glomerulosklerose beitragen kann <sup>53,54</sup>.

Die Hypothese von Brenner beinhaltet des weiteren eine These, die besagt, dass eine gesteigerte Filtration von Primärharn zu einer sekundären Bedarfsadaption der Tubuluszellen führt, um die gesteigerte Rückresorption des Filtrates sicherzustellen.

Diese Adaption der Tubuluszellen ist als Hypertrophie der Zellen gekennzeichnet.

Diese Hypertrophie kann initial zwar den Verlust von anderen Tubulusapparaten durch die Mehrarbeit kompensieren, längerfristig kommt es jedoch, ähnlich wie bei den Glomeruli, zu Schäden wie der Ausbildung einer tubulointerstitiellen Fibrose und einer Atrophie der Zellen.

Diese strukturellen Veränderungen führen nach Brenner zu einer Progression der Nierenfunktionsfähigkeit und somit zu einem Circulus vitiosus zwischen dem Versuch der Kompensation und der damit unmittelbar verbundenen Verschlechterung der Funktionsfähigkeit der Niere.

Pathomorphologisch zeigt sich also eine hyaline Degeneration der Arteriolen, am Glomerulus ein Kollaps der Kapillarschlingen und eine Glomerulosklerose, im Niereninterstitium eine interstitielle Fibrose sowie eine ausgeprägte Tubulusatrophie.





A Wistar-Ratte mit ND 1,0; B Wistar-Ratte mit ND 0,16; C MWF-Ratte mit ND 0,6; D MWF-Ratte mit ND 0,10 mit zunehmender Reduzierung der Nephronzahl (A;C;B;D) kommt es zu einer Zunahme der Glomerulosklerose, zu einer Tubulusatrophie sowie zu einer Zunahme der interstitiellen Fibrose.

Die wesentlichen Folgen einer hypertensiven Nephropathie sind ein beschleunigter Nierenfunktionsverlust, eine Zunahme der Proteinausscheidung, ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko und schließlich eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität.

In dieser Reaktion spielen natürlich noch weitere Faktoren eine Rolle: das lokale und systemische RAS wird durch die lokale Ischämie, die durch die Druckschädigung des Glomerulums entsteht, aktiviert: dies führt über eine Vasokonstriktion der Vasa efferentia zu einer weiteren Druckerhöhung in den verbleibenden Glomeruli. Gleichzeitig kommt es durch die Reninausschüttung zu einer systemischen Vasokonstriktion und einer vermehrten Natrium- und H2O-Rückresorption. Dies verstärkt die systemische Druckerhöhung noch einmal. Das RAS wird im Verlauf der Arbeit noch näher beleuchtet.

Der Zusammenhang zwischen Nierenerkrankung und Hochdruck kann somit von zwei verschiedenen Seiten betrachtet werden. Zum einen verursacht eine (unbehandelte) essentielle Hypertonie regelmäßig eine Nierenschädigung im Sinne einer Nephrosklerose, also einen progredienten Verlust funktionsfähiger Nephrone. Zum anderen führt eine chronische renale Grunderkrankung, die ebenfalls mit dem progredienten Verlust funktionsfähiger Nephrone einhergeht, zu einem erhöhten systemischen Blutdruck. Die Mechanismen dieses komplexen Zusammenspiels sind viel beforscht worden, aber noch nicht ausreichend verstanden. Ein gemeinsamer Nenner dieser beiden geschilderten Krankheitsverläufe ist bereits gefunden: es ist der progrediente Nephronverlust. Da er sowohl Ursache als auch Folge beider Pathologien darstellt, ergibt sich aus diesen beiden zunächst voneinander unabhängigen Krankheitsverläufen ein Teufelskreis: der Nephronverlust führt zu einer weiteren Erhöhung der Hypertonie, die stärkere Hypertonie führt zu einem weiteren Nephronverlust etc.

## **1.4 Die Brenner-Hypothese**

Auf der Basis dieser pathophysiologischen Zusammenhänge stellten Brenner et al. 1988<sup>19</sup> eine These auf, die ein neues Licht auf die Zusammenhänge zwischen Niere und Bluthochdruck warf. Sie postulierten, dass jede Reduktion der Nephronzahl (ob durch operative oder chronische Schädigung der Niere oder auch durch eine kongenital verminderte Ausstattung mit Nephronen verursacht) eine Ursache für die Entwicklung einer essentiellen Hypertonie sein könnte: die verminderte Filtrationsfläche setzt die beschriebene pathophysiologische Kaskade von Hypertrophie und Glomerulumschädigung in Gang und es kommt zu einem progredienten Nephronverlust. Der Nephronmangel, der initial der gemeinsame Nenner von cNI und Hypertonie war, wird damit zu einem zentralen Risikofaktor für die Entwicklung eines Hypertonus und damit auch für die weitere Entwicklung kardialer Erkrankungen<sup>19</sup>. Diese Theorie wurde daher auch als die "*nephronunderdosing-hypothesis*" bekannt.

Bestätigung fand diese zentrale Rolle der Niere auch in verschiedenen Studien, in denen Überkreuztransplantationen zwischen normotonen und hypertensiven Rattenstämmen durchgeführt wurden <sup>55-58</sup>. Es zeigte sich, dass die normotonen Tiere, die eine Spenderniere von einer hypertensiven Ratte erhielten, postoperativ ebenfalls eine Hypertonie entwickelten. Dieses Konzept (*"Hypertension goes with the kidney*") konnte auch schon früher bei menschlichen Spenderorganen beobachtet werden <sup>59-61</sup>.

Ein weiterer Aspekt, um den die Nephronmangel-Hypothese erweitert wurde, trat mit verschiedenen Arbeiten aus der Arbeitsgruppe um Barker et al. auf. Er konnte zunächst ein Zusammenhang zwischen niedrigem Geburtsgewicht und einer erhöhten Prävalenz für eine koronare Herzkrankheit darstellen <sup>62</sup>. In darauf folgenden Arbeiten wurde dann deutlich, dass nicht das geringe Geburtsgewicht an sich, sondern vor allem ein disproportioniertes Wachstum, bei dem es zugunsten von Herz und ZNS zu einer verminderten renalen Durchblutung kommt, für kardiale Erkrankungen im Erwachsenenalter prädisponiert <sup>63</sup>. Die verminderte Nierendurchblutung gab einen weiteren Anhaltspunkt für eine besondere Rolle der Niere innerhalb dieser These.

In Untersuchungen an der ethnischen Gruppe der Aborigines in Australien, die bekanntermaßen eine höhere Rate an renalen Erkrankungen aufweisen, konnte dann auch ein Zusammenhang zwischen einem geringen Geburtsgewicht und dem späteren Auftreten renaler Erkrankungen gezeigt werden <sup>64</sup>. Das renale Gewicht allein kann keine Aussage über die Anzahl der Nephrone treffen. Da es aber noch kein nicht-invasives Verfahren für die Zählung der Nephrone gibt, sind solche Untersuchungen nur post-mortem möglich.

Eine dieser Untersuchungen, die 2003 von der Arbeitsgruppe Amann et al. durchgeführt wurde <sup>21</sup>, stützte die Brenner-Hypothese: Hier wurde die Nephronzahl bei 20 jüngeren Männern gezählt, die an einem Motorradunfall gestorben waren. Bei 10 dieser Männer war ein Hypertonus bekannt, die anderen 10 waren gesund. Es stellte sich heraus, dass die Nephronzahl in der Gruppe der Hypertoniker um fast die Hälfte geringer war als bei den gesunden Patienten. Dabei konnte ausgeschlossen werden, dass die verminderte Nephronzahl auf einen sekundären Organschaden durch die bestehende Hypertonie verursacht wurde. Mit dieser Untersuchung konnte die Brenner-Hypothese stark untermauert werden.

Für diese Arbeit ist auf der Basis der Brenner-Hypothese besonders interessant, welchen Einfluss der Nephronverlust auf die renale und kardiale Histologie hat.

Dazu musste auch untersucht werden, wie ausgeprägt die Veränderungen bei Oligonephronie sind, und ob sie sich von denen eines operativen Nephronverlustes unterscheiden. Des Weiteren sind makroskopisch morphologische Veränderungen des linken Ventrikels durch die Reduktion der Nephronzahl von Bedeutung. Deshalb soll auch die pathophysiologische Entwicklung der LVH kurz dargestellt werden.

## 1.5 Linksventrikuläre Hypertrophie und Herzinsuffizienz

Die LVH ist nicht nur die früheste diagnostizierbare kardiale Veränderung bei einer Niereninsuffizienz, ihr Auftreten stellt auch einen unabhängigen Risiko- und Prognosefaktor für weitere kardiale Erkrankungen bei Vorliegen einer cNI dar. Die linksventrikuläre Hypertrophie stellt zunächst eine adaptive physiologische Reaktion auf eine erhöhte Volumen- oder Druckbelastung dar. Sie tritt deshalb auch als häufigste Folge eines erhöhten Blutdrucks auf. Es kommt dabei zuerst zu einer erhöhten Wandspannung im linken Ventrikel, die im Sinne des La Place'schen Gesetzes mit einer Hypertrophie der Herzmuskelzellen und damit einer Zunahme der Wanddicke des Ventrikels beantwortet wird. Dies führt konsekutiv zu einer Verminderung der Wandspannung und zu einer Erhöhung der Kontraktilität. Es ist derselbe Mechanismus, der auch während des physiologischen Herzwachstums in Kindheit und Jugend zum Einsatz kommt. Es kommt dabei zu einer Polyploidie der Zelle, so dass die Zelle das Verhältnis DNA-Plasmavolumen aufrechterhalten kann.

Bei einer persistierenden Druck- oder Volumenbelastung, wie es beim unbehandelten Hypertonus oder bei der cNI der Fall ist, kommt es jedoch auch zu einer pathologischen Strukturveränderung des hypertrophierten linken Ventrikels. Diese Maladaption ist auch als myokardiales Remodeling bekannt.



#### Abbildung 4: Histologie des Myokards bei definierter Nephronzahl. A Wistar-Ratte mit normaler Nephronzahl (ND 1,0); B Wistar-Ratte mit reduzierter Nephronzahl (ND 0,16), deutlich erkennbar die starke Zunahme der extrazellulären Matrix mit ausgeprägter interstitiellen und perivaskulären Fibrose. Sirius Red Färbung des Kollagens.

Ursache ist unter anderem eine Stimulierung der Fibroblasten. Eine wichtige Rolle spielt in diesem Zusammenhang das Aldosteron <sup>65</sup>. Aldosteron wird durch das lokale RAS gebildet und hat eine proliferative Wirkung auf myokardiale Fibroblasten <sup>66</sup>.

Durch eine Hyperplasie, also eine Vermehrung der Fibroblasten, wird die Architektur des linken Ventrikels gestört. Der höhere fibrotische Anteil führt dazu, dass die Dehnbarkeit des Ventrikels empfindlich eingeschränkt wird. Es kommt zu einer vermehrten Kammersteifigkeit und damit wiederum zu einer diastolischen Dysfunktion. Dies führt zu einer Reduzierung der Koronarreserven und zu einer Verschiebung der diastolischen Druck-Volumen-Kurve nach links. Besonders bei Anstrengung (also bei höheren Herzfrequenzen) kann dieser Mechanismus eine Minderdurchblutung des Myokards auslösen. Neben den beschriebenen hämodynamischen Mechanismen und dem RAS, die zu einer LVH führen können, spielen auch andere humorale Systeme wie das Endothelinsystem und das sympathische Nervensystem eine Rolle bei der Entwicklung einer LVH.

Die Bedeutung dieser Faktoren insbesondere des RAS wird vor allem bei der LVH, die auf der Basis einer cNI entstanden ist, deutlich: im urämischen Tiermodell kann sich eine LVH entwikkeln, auch ohne dass der Blutdruck über längere Zeit erhöht gewesen ist <sup>67</sup>. Die meisten Untersuchungen gehen von einem Zusammenspiel von hämodynamischen und humoralen Faktoren bei der Entwicklung einer LVH aus. Welche Faktoren jedoch eine solche Hypertrophie unabhängig vom Blutdruck auslösen, ist nur unzureichend geklärt: in Betracht kommen unter anderem der Hyperparathyreoidismus und eine verminderte Vitamin D-Konzentration, diese Mechanismen sind jedoch weitestgehend ungeklärt.

In einem frühen Stadium ist das Remodeling und die LVH durch die Korrektur der hämodynamischen Parametern noch reversibel: Insbesondere eine Therapie mit ACE-Hemmern, die gleichzeitig den systemischen und glomerulären Hochdruck senken, sind hier die Therapie der Wahl<sup>68-71</sup>. Ein AT1-Blocker ist hier gegenüber den ACE-Hemmern als gleichwertig anzusehen <sup>71,72</sup>. Ihre Effektivität unterstreicht nochmals die wichtige Rolle des RAS in der Genese der LVH. (Die Wirkung eines ACE-Hemmers auf die Ausbildung des Remodeling konnte in dieser Arbeit ebenfalls gezeigt werden.)

Persistiert die Belastung durch einen hohen Blutdruck jedoch weiter (durch mangelnde Therapie oder bei cNI therapierefraktärität) so setzt sich der Remodeling - Prozess fort, und das Herz wird irreversibel geschädigt. Progredient entwickelt sich eine manifeste Herzinsuffizienz mit einer Einschränkung der systolischen Funktion, was die Prognose der Patienten noch einmal massiv verschlechtert. Ziel eines therapeutischen Ansatzes sollte es also sein, die Progression der Herzschädigung in ein irreversibles Stadium zu verhindern oder zu verzögern, um den Teufelskreis der weiteren Nierenschädigung, die wiederum systemische Schäden nach sich zieht, zu durchbrechen.

## 1.6 Die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems

Die Bedeutung des Renin-Angiotensin-Systems (RAS) als Mediator des arteriellen Blutdrucks und hochdruckinduzierter Endorganschäden wurde in den letzten Jahren intensiv untersucht. Ursprünglich wurde das RAS als endokrines System verstanden, das seine Wirkung über das Effektorpeptid Angiotensin II (Ang II) ausübt. Neuere Daten belegen die Existenz eines lokalen, gewebeständigen RAS, das durch parakrin-autokrine Mechanismen wirkt.

Der erste Schritt in der Ang II-Bildung ist die Abspaltung des Dekapeptids Angiotensin I (Ang I) von seinem Substrat Angiotensinogen (Aogen) durch die Aspartylprotease Renin (Abb. 5).

Der zweite Schritt ist die Konversion von Ang I zum Oktapeptid Ang II durch das Angiotensin-Konversionsenzym (ACE). Die Ang II-Bildung kann in manchen Geweben auch über alternative Wege erfolgen. Ein Beispiel dafür ist die Chymase des Herzgewebes <sup>73</sup>.

Die Bildung von Ang II erfolgt jedoch hauptsächlich über das ACE <sup>74</sup>. Durch verschiedene Enzyme wie Aminopeptidase [AngIII(2-8), Ang IV(3-8)] und Endopeptidase [Angiotensin (1-7)] wird Ang II zu aktiven und inaktiven Fragmenten abgebaut <sup>75</sup>. Im Gegensatz zu Renin, welches ein hochspezifisches Enzym für Aogen ist, degradiert das ACE auch Bradykinin und ist an der Biosynthese verschiedener Neuropeptide, wie zum Beispiel der Substanz P, beteiligt.

Die Angiotensinpeptide üben ihre Effekte über spezifische Angiotensin-Rezeptoren (AT-Rezeptoren) aus.

Durch spezifische nicht-peptid Antagonisten konnten zwei AT-Rezeptor Subtypen (AT1, AT2) identifiziert werden. Am besten sind die durch den AT1-Rezeptor vermittelten Wirkungen untersucht. Der AT1- Rezeptor ist ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, der die Ino-sitol-Diacylglyzerol-Kaskade aktiviert und das intrazelluläre Ca<sup>2+</sup> erhöht oder mit dem Adenylatzyklase-System interagiert. Die Rolle des AT2-Rezeptors ist noch nicht vollständig geklärt. Es gibt Hinweise darauf, dass der AT2-Rezeptor eine Tyrosin-Kinase-Aktivität und einen Einfluss auf Zellproliferationsprozesse und die fetale Entwicklung hat.

Verschiedene Wirkungen des Ang II spielen unter anderem bei der Pathogenese des arteriellen Hypertonus eine Rolle.



Abbildung 5: Darstellung des Renin-Angiotensin-Systems. ACE: Angiotensin Konversionsenzym,  $AT_1$ -Rezeptor: Angiotensin II Subtype 1 Rezeptor,  $AT_2$ -Rezeptor: Angiotensin II Subtype 2 Rezeptur;  $AT_X$ -Rezeptor: noch nicht identifizierte Angiotensin II Rezeptor Subtypen

In der Niere ist Ang II an der Regulation der glomerulären Filtrationsrate beteiligt und steigert die proximal tubuläre Natrium- und Bikarbonatrückresorption. Es ist gut belegt, dass das RAS bei chronischen Nierenerkrankungen aktiviert ist <sup>76-78</sup>. Ang II erhöht den Tonus des vasa efferens stärker als den des vasa afferens, was zu einem Anstieg des glomerulären Kapillardrucks und infolgedessen zu einer Größenzunahme der Poren der glomerulären Wand kommt <sup>79</sup>. Der glomeruläre Hochdruck und die gestörte Barriere-Selektivität für Makromoleküle können sowohl durch ACE-Hemmer als auch durch AT1 Rezeptor Antagonisten normalisiert werden <sup>80-82</sup> und wirken somit einer Progression der Nierenschädigung entgegen. Des Weiteren wird aktuell diskutiert, dass das Angiotensin II einen direkten Einfluss bei der Pathogenese der Glomerulosklerose und interstitiellen Fibrose an der Niere hat. Man geht davon aus, dass Angeotensin II über proinflammatorische Zytokin-Induktion und den Einfluss auf die Infiltration von Makrophagen eine zentrale Rolle bei der Progression der Glomerulosklerose und interstitiellen Fibrose an der Niere spielt <sup>52</sup>.

Im vaskulären System führt die Ang II-Gabe zu einer Konstriktion der Widerstandsgefäße und einem Anstieg des totalen peripheren Widerstandes. Ang II verstärkt die Antwort auf Noradrenalin in peripheren Effektorzellen und hat eine positiv inotrope Wirkung auf das Herz, bedingt durch eine Steigerung des Ca<sup>2+</sup>-Ionen-Einstroms während der Plateauphase des Aktionspotentials. Das RAS spielt eine besondere Rolle bei der Manifestation der LVH und LV Dysfunktion <sup>83</sup>. Eine Verbesserung der LV Funktionsstörung durch Hemmung des RAS ist gut belegt <sup>84</sup>. Wahrscheinlich spielen dabei neben der Senkung der Nachlast auch andere blutdruckunabhängige lokale Wirkungen des RAS auf Proliferation der Kardiomyozyten und die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix des linken Ventrikels eine Rolle.

In der Nebenniere stimuliert Ang II die Synthese und Sekretion von Aldosteron.

Im zentralen Nervensystem stimuliert Ang II die Freisetzung von Vasopressin und ACTH, hat Anteil an der Durstregulation und steigert die Aktivität des sympathischen Nervensystems.

Die intravenöse Gabe von Ang II führt unmittelbar zu einem Anstieg des arteriellen Blutdruckes. Es gibt keine Befunde für eine Toleranzentwicklung bei chronischer Ang II-Gabe. Längerfristige Applikation erhöht sogar die Ang II-*efficacy*.

Abgesehen von der Bedeutung bei der sekundären arteriellen Hypertonie widersprechen sich die Befunde hinsichtlich der Plasma-Konzentrationen von Renin und Ang II als Pathomechanismus der essentiellen Hypertonie. Anfangs wurde die Plasma-Ang II-Bildung als entscheidender Faktor der RAS-Aktivität betrachtet. In letzter Zeit gibt es verstärkt Hinweise dafür, dass die lokale, gewebeabhängige Ang II-Produktion der zentrale Mechanismus bei der Pathogenese des arteriellen Bluthochdruckes und blutdruckbedingter Endorganschäden ist <sup>85, 86</sup>.

Es ist deshalb wichtig darauf hinzuweisen, dass die Plasmakonzentration der verschiedenen Komponenten des RAS kein zuverlässiger Indikator für die Aktivität des RAS ist, da keine Rückschlüsse auf die Aktivität des lokalen, gewebeständigen RAS gezogen werden können. Das Angiotensin Konversionsenzym (ACE) ist eine Zink-Metallopeptidase, die Ang I in Ang II konvertiert und Bradikinin inaktiviert. Im Gegensatz zur Degradation von Aogen zu Ang I durch Renin wird angenommen, dass das ACE kein Schrittmacherenzym im RAS ist. Das humane somatische ACE gibt es in einer membrangebunden und in einer löslichen, im Plasma zirkulierenden Form. Es weist bisher jedoch nichts darauf hin, dass eine erhöhte Plasmakonzentrationen der zirkulierenden Form des ACE mit dem Auftreten eines arteriellen Hypertonus in Verbindung steht. In der Normalpopulation des Menschen unterscheiden sich die Plasma ACE Konzentrationen extrem zwischen einzelnen Individuen.

Zusammengefasst nimmt das RAS eine zentrale Stellung bei der Pathophysiologie der arteriellen Hypertonie, der hypertensiven Endorganschäden und der Progression einer Nierenschädigung ein. Es gibt momentan verschiedene Möglichkeiten, das RAS pharmakologisch zu beeinflussen. Am häufigsten werden hier der ACE-Hemmer sowie der AT1-Blocker verwendet. Renin-Antagonisten werden zurzeit klinisch getestet <sup>87</sup>.

Wir verwendeten in der vorliegenden Arbeit zur pharmakologischen Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Systems den ACE-Hemmer Ramipril.

## **1.7 ACE-Hemmer**

Eine Hemmung des Angiotensin-Converting-Enzyms durch einen ACE-Hemmer wie z.B. Ramipril und damit eine verminderte Bildung des Angiotensin II hat demnach Einfluss auf den peripheren Widerstand, auf die Nierenfunktion und auf kardiovaskuläre Strukturen.

Über eine Abnahme des Angiotensin II kommt es zu einer verminderten Vasokonstriktion, einer Abnahme der sympathischen Aktivität durch eine verminderte noradrenerge Neurotransmission und einer verminderten Freisetzung von Katecholaminen aus dem NNM. Des Weiteren kommt es zu einer Abnahme der Aldosteron-Sekretion, was wiederum zu einer verminderten Rückresorption von Natrium und Wasser in der Niere führt und es somit zu einer Reduzierung des intravasalen Volumens kommt. Da Angiotensin II zu den Wachstumsfaktoren für Fibroblasten und Myozyten im Myokard zählt, kommt es durch die Abnahme von Angiotensin II zu einer Hemmung bzw. Rückbildung der Myokard- und Gefäßhypertrophie sowie zu einer Verhinderung des Remodeling nach Myokardinfarkt. Eine verminderte renale Proteinurie und damit eine verminderte Progression der Nierenerkrankung durch eine verminderte renale Vasokonstriktion erklärt unter anderem die nephroprotektive Wirkung eines ACE-Hemmers. Da der ACE-Hemmer auch in den Stoffwechsel des Kallikrein-Kinin-Systems eingreift, kommt es zu einer Wirkungsverlängerung des vasodilatierenden Bradykinins und damit zu einer weiteren Senkung des peripheren Widerstandes.

## 1.8 Zielstellung dieser Arbeit

Eine verminderte Nierenfunktion geht mit einer hohen Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen einher. Führend sind dabei eine arterielle Hypertonie, eine Linksherzhypertrophie und eine Herzinsuffizienz. Die Nierenfunktion ist wesentlich von der Nephronzahl abhängig. Die kausalen Vorgänge für kardiovaskuläre Veränderungen auf dem Boden eines Nephronmangels sind bisher nur unzureichend untersucht. Eine wichtige Ursache für die Ausbildung dieser Endorganschäden ist die zur Verfügung stehende Anzahl funktionstüchtiger Nephrone.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit beschäftigt sich mit den renalen histologischen Veränderungen bei einer definierten Änderung der funktionsfähigen Nephronzahl.

Insbesondere ist nicht geklärt, inwieweit eine quantitative Beziehung zwischen den zur Verfügung stehenden funktionsfähigen Nephronen und dem Ausmaß histologischer renaler sowie kardialer Veränderungen bestehen. Des Weiteren wird das protektive Potential eines ACE-Hemmers bei definierter Nephronzahl untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, histologische Veränderungen an der Niere und dem linken Ventrikel bei definiert veränderter Nephronzahl zu charakterisieren.

Ausgehend von den hämodynamischen Veränderungen bei Nephronmangel werden in dieser Arbeit verschiedene histologische Parameter am Nierengewebe und Herzgewebe des linken Ventrikels untersucht.

Im Detail werden folgende Parameter untersucht: Kreatininclearance als Parameter der Nierenfunktion Höhe des systolischen Blutdrucks Ausmaß der linksventrikulären Hypertrophie Histologische Veränderungen an der Niere A: glomeruläre Fläche B: Glomerulosklerose C: Tubulo-interstitielle Schädigung (TDI) D: Interstitielle Fibrose Histologische Veränderungen an dem linken Ventrikel A: Interstitielle Fibrose

B: Perivaskuläre Fibrose

Die Analyse der Ergebnisse erfolgt im Hinblick auf zwei Aspekte:

Besteht ein quantitativer Zusammenhang zwischen dem untersuchten Parameter und der Anzahl der funktionsfähigen Nephrone?

Unterscheiden sich die Veränderungen des untersuchten Parameters zwischen dem operativ, akutem und dem genetisch, chronischem Nephronmangel?

Wie wirkt sich die Hemmung des RAS durch einen ACE-Hemmer auf die Parameter aus?

## 2. Material und Methoden

## **2.1 Materialien**

## 2.1.1 Lösungen

Coating-Lösung	Rattenserum-Albumin	0,2 mg/ml
Fixierlösung für Nieren (Methacarn)	Methanol Chloroform Eisessig	60 ml 30 ml 10 ml
Fixierlösung für linken Ventrikel	Ethanol 80 % Pikrinsäure Formaldehyd 37 % Eisessig	150     ml       1     g       60     ml       5 ml     ml
Rattenantikörper	mit Puffer 1:9000	A verdünnt
Puffer A	Diethylmalonsäure Natriumchlorid Di-Natrium-EDTA -Dihydrat Tween 20 ad 800 ml 1 M pH ad 1 l Gelatine	20         mM           150         mM           0,1         mM, pH         8,0           0,1%         ,         w/v           Aqua         bidest.           Kaliumchlorid         7,4           Aqua         bidest.           5 g         9
Rattenserum-Albumin- stock-Lösung	Rattenserum-Albumin Natriumhydrogencarbonat	1,0 mg/ml 0,1M
Substratlösung	3,3',5,5' TMB Aqua bidest. Puffer A Wasserstoffperoxid	2 Tabletten 10 ml 10 ml 4 μ1
Schwefelsäure	2 M	

ACE-Hemmer Ramirpil	Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Bad Soden			
2-Propanol 70 %	B. Braun Melsungen AG, Melsungen			
Bepanthen Augensalbe	Roche, Grenzach-Wyhlen			
Esketaminhydrochlorid 43mg/kg KG	Parke-Davis, nun Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe			
(Ketanest S 25 mg/ml)				
Novaminsulfon	Ratiopharm GmbH, Ulm			
Paracetamol-Saft	Ratiopharm GmbH, Ulm			
Schwefelsäure 96 %, v/v	Merck KGaA, Darmstadt			
Tween 20 BioRad,	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Xylazin Hydrochlorid 13 mg/kg KG Rompun 2 %	Bayer Vital GmbH Leverkusen			
Rattenserum-Albumin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Albumin-Rat Polyclonal Antibody	ICN Pharmaceuticals Germany GmbH, Frankfurt			
Gelatine (75 bloom)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Ethanol	Mallinckrodt Baker Chemikalen, Groß-Gerau			
Formaldehyd 37 %, v/v	Mallinckrodt Baker Chemikalen, Groß-Gerau			
Pikrinsäure Merck	Merck KGaA, Darmstadt			
Chloroform	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Diethylmalonsäure 98 %, w/w	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Natriumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt			
Di-Natrium-EDTA-Dihydrat	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karslruhe			
(Titrierkomplex III, MG=372,24)				
Wasserstoffperoxid 30 %, v/v	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Natriumhydrogencarbonat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Isotone Natriumchloridlösung 0,9 %	B.Braun Melsungen AG, Melsungen			
Povidon-Iod (Braunol)	B. Braun Melsungen AG, Melsungen			
Essigsäure 100 %	Merck KGaA, Darmstadt			
Methanol	Mallinckrodt Baker Chemikalen, Groß-Gerau Baker,			
3,3',5,5' Tetramethylbenzidin-	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim			
Dihydrochlorid (TMB) Tabletten				
Histoclear	Shandon			
Paraffin, Paraplast Plus	Sherwood Meical Co			
Perjodsäure	Merck			
Schiffsreagens	Merck			
Pikinsäure	Merck			
Sirius-Rot F3BA	Chroma			

## 2.1.2 Chemikalien und Medikamente

## 2.1.3 Instrumente und Nahtmaterial

Anatomische Pinzette	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Standard BD 4// BD 35		
Chirurgische Pinzette	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Standard BD 557		
Chirurgische Schere	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Standard-Modell BC 320		
Feine Präparierschere BC 2	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Sterican Kanülen Gr.1, Gr. 12, Gr. 26	B. Braun Melsungen AG, Melsungen	
Micro-Pinzette Uhrmacher	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Modell BD 329		
Mikro-Nadelhalter Barraquer FD 230	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Nadelhalter Crile-Murray BM 219	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Wundspreizer Mellinger OA 241	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen	
Nahtmaterial Perma Handseide 0	Sutupak, Ethicon, Norderstedt	
Nahtmaterial geflochten 3-0, Dexon II	B. Braun-Dexon GmbH, Tuttlingen	
Nahtmaterial Monofilament 6-0, Biosyn	Tyco Healthcare, Basingstoke, UK	
Sterile Einwegspritzen 2 ml, 5 ml, 10 ml	B. Braun Melsungen AG, Melsungen	
Sterile Einwegspritzen 1 ml	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg	

## 2.1.4 Geräte

Analysewaage	Satorius AG, Göttingen		
Blutdruckmessgerät	TSE, Bad Homburg		
ELISA-MRX-Plate-Reader	Dynex Technologies, Inc. Chantilly, USA		
Haarschneider	Braun, Kronberg		
Mikrotiterplattenschüttler	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karslruhe		
Neigungswaage	Bizerba, Sauter KG. Ebingen		
Präzisionswaage	Satorius AG, Göttingen		
Zentrifuge,	Eppendorf AG, Hamburg		
Tischzentrifuge 5415C, 5417R			
Färbeautomat Robet-Stainer HM 760	Microm		
Histokinettenautomat	British American Optical Co.Ltd.		
Photomikroskop Axiophot	Carl Zeiss, Oberkochen		
Power Macintosh 8200/120	Apple Computer		
Rotationsmikrotom HM 355	Microm		
Videosystem	AVT-Horn		

Glasgefäße mit Schraubverschluss,	Packard BioScience, jetzt PerkinElmer,			
20 ml Econo Glas	Wellesley, USA			
Haltungsfutter für Ratten	Ebeco, Castrop-Rauxel			
Kryobox				
Leukosilk 2,5 cm	Beiersdorf, Hamburg			
Makrolonkäfige	Ebeco, Castrop-Rauxel			
Messzylinder	Schott Duran GmbH & Co. KG, Mainz			
Pipette Reference 10-100 µl, 100-1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg			
Reaktionsgefäße Safe-Lock 1,5 ml, 2 ml	Eppendorf AG, Hamburg			
Standardtips 20 µ1, 100 µ1, 1000 µ1	Eppendorf AG, Hamburg			
Sterile Mullkompressen 5 x 5 mm	Lohmann Rauscher International GmbH & Co. KG, Rengsdorf			
Stoffwechselkäfige für Ratten	Techniplast Deutschland GmbH, Hohenpeißenberg			
Thermo-Fast 96-Mikrotiterplatten	ABgene Deutschland, Hamburg			
Untersuchungshandschuhe, Safeskin PFE	Hakle-Kimberly Deutschland GmbH, Mainz			
Wattestäbchen 15 cm	Lohmann Rauscher International GmbH & Co. KG, Rengsdorf			
Glasplatte, zugeschnitten, gerader Schliff				
Objektträger	Menzel Gläser			
Szintilationsgefäße aus Glas	Packard			

## 2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel

## 2.2 Methoden

Die tierexperimentellen Untersuchungen, welcher dieser Doktorarbeit zugrunde, liegen erstreckten sich über einen Zeitraum von insgesamt acht Monaten. Innerhalb dieses Untersuchungszeitraums wurde das durch Vorversuche festgelegte methodische Vorgehen nicht verändert. Alle Tierversuche wurden unter Einhaltung der deutschen Tierschutzgesetze durchgeführt. Sie standen im Einklang mit den Richtlinien für Tierversuche des Instituts für Klinische Pharmakologie, Campus Benjamin Franklin, Charité. Unter der Genehmigungsnummer G 0093 / 01 wurden die beschriebenen Tierversuche durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt.

#### 2.2.1 Tierstamm und Haltung

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir insgesamt 53 männliche MWFFU - Ratten und 50 männliche Wistar-Ratten als Kontrolltiere. Der MWFFU - Rattenstamm wurde 1996 am Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin, durch Inzucht etabliert <sup>88</sup>. Die Parenteraltiere für diese Zucht entstammten der Kolonie von MWF/Ztm - Ratten aus dem Zentralen Tierlaboratorium der Medizinischen Hochschule Hannover. Männliche Wistar - Ratten wurden gewichtsgematched von Charles River bezogen.

Das mittlere Körpergewicht der Wistar - Ratten am Operationstag betrug 308 g  $\pm$  1g, wohingegen das mittlere Gewicht der MWF - Ratten bei 298 g  $\pm$  4 g lag.

Die Haltung der Ratten erfolgte in den Räumen der Forschungsanstalt für Experimentelle Medizin (FEM) der Freien Universität Berlin. Bei freiem Zugang zu Wasser und Standard-Rattenfutter (20% Proteinanteil) lebten maximal sechs Ratten in einem Makrolon - Gemeinschaftskäfig (Typ 4). Die Temperatur in den Haltungs- und Versuchsräumen des FEM betrug durchgehend 20 °C, die Luftfeuchtigkeit lag bei 50%. Ein natürlicher zwölfstündiger Tag - Nacht - Rhythmus wurde durch eine automatisierte Beleuchtung gewährleistet.

#### 2.2.2 Gruppeneinteilung und Studiendesign

Im Alter von 12 Wochen wurden insgesamt 53 MWF - Ratten in drei Gruppen randomisiert eingeteilt. In unseren Vorversuchen zeigte sich, dass in den Gruppen der subtotal nephrektomierten MWFNx wie WistarNx ein hoher Anteil an Ratten vor Ablauf des Untersuchungszeitraumes verstarb. Um am Ende einigermaßen gleichstarke Tiergruppen zu erhalten, wurden den Gruppen mit nephrektomierten MWFNx wie WistarNx mehr Tiere zugeteilt. So ergeben sich die anfänglich unterschiedlich starken Gruppen. Die Einteilung in die entsprechenden Gruppen zeigt Tabelle 0.1. Die Ratten in Gruppe 1 wurden sham - operiert. MWF - Ratten der zweiten Gruppe unterzogen wir einer subtotalen Nephrektomie (Nx), wohingegen die Ratten der Gruppe 3 nach erfolgter subtotaler Nephrektomie ab dem Operationstag täglich mit einem Angiotensin - Conversionsenzym -Hemmer (ACE-Hemmer) behandelt wurden. Über das Trinkwasser erhielten die Ratten den ACE-Hemmer Ramipril in einer Dosierung von 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag. Die Ramipril Substitution wurde bis zum Tötungstag am Ende der vierten postoperativen Woche beibehalten. Insgesamt 50 Wistar-Ratten wurden ebenfalls in drei, den Protokollgruppen der MWF - Ratten entsprechende Gruppen, randomisiert eingeteilt.

Nges = 50

ius one i							
Protokoll - Gruppe	Stamm	Α	n	Z	a	h	l
		der op	erierten	Ratten	Ratte	n gesamt	
Gruppe 1	MWFsham	N = 13	5				
Gruppe 2	MWFNx	N = 29	)				
Gruppe 3	MWFNxACEI	N = 11			Nges	= 53	
Gruppe 4	Wistarsham	N = 14					
Gruppe 5	WistarNx	N = 21					

### 2.2.3 Protokollgruppen

## Tabelle 1

Gruppe 6

*MWF: Munich-Wistar-Frömter - Ratte; Wistar: Wistar - Ratten; sham: sham - operiert; Nx: subtotale Nephrektomie; ACEI: behandelt mit einem ACE-Hemmer.* 

N = 15

## 2.3 Durchführung der 5/6-Nephrektomie

WistarNxACEI

Die Narkotisierung der Tiere erfolgte mittels intraperitonealer Injektion von Ketanest S25 (0,174 mg/100g KG) plus Xylazin 2% (0,065 mg/100 g KG); bei unzureichender Narkosetiefe wurden jeweils die Hälfte der Initialdosis von Ketanest bis zum Erreichen der ausreichenden Narkosetiefe nachappliziert. Die Narkosetiefe wurde während des Eingriffs mehrmals überprüft und bei Bedarf weitere Dosen Ketanest gegeben. Die Tiere wurden in Rückenlage auf dem OP-Tisch fixiert und der Bauch rasiert. Zum Schutz vor Austrocknung bestrichen wir die Augen der Ratten mit Bepanthen - Augensalbe. Eine Intubation war bei persistierender Spontanatmung der Tiere obsolet.

Nach großzügiger Desinfektion mit Braunol erfolgte die Eröffnung der Abdominalhöhle durch einem 4cm langen Medianschnitt. Zunächst wurde durch Verdrängung von Darm, Magen und Milz die freie Einsehbarkeit des linken Nierenlagers gewährleistet. Die weiteren Operationsschritte wurden bei neunfacher Vergrößerung unter Zuhilfenahme eines binokulären Operationsmikroskops der Firma Zeiss durchgeführt.

Das Peritoneum parietale wurde hilusnah inzidiert, die Vena und Arteria renalis wurden durch stumpfe Präparation mittels eines Wattestäbchens von Peritoneum und Fettgewebe befreit. In ca. 80% der Fälle teilte sich die Arteria renalis vor Eintritt in die Niere dichotom in einen ventralen und einen dorsalen Ast. Durch Unterstechung und Ligatur des ventralen Astes mit Monofilament 6-0 wurde die arterielle Versorgung des ventralen Nierenparenchyms unterbrochen. Das ischämische Nierengewebe färbte sich innerhalb weniger Sekunden dunkel, so dass eine Kontrolle des Infarktgebietes in situ möglich war. Dank recht konstanter anatomischer Verhältnisse reichte die

Unterbindung eines Arterienastes in der Regel aus, um ein Infarktgebiet von 80% des Nierengewebes zu erhalten. In Ausnahmefällen musste ein weiterer Nebenast der Arteria renalis ligiert werden, um die angestrebten 80% - Infarktgebiete zu erreichen.

Zur Darstellung der rechten Niere und ihrer versorgenden Gefäße wurden Darm und Magen auf die linke Seite verlagert. Durch stumpfe Präparation wurde die Niere aus ihrem Lager gelöst sowie Ureter und Nierenhilus von Peritoneum und Fettgewebe befreit. Der Ureter sowie die Vena und Arteria renalis wurden mit einer gebogenen Pinzette umstochen und mit Dacron - Handseide der Stärke 0 ligiert und durchtrennt. Anschließend wurde die rechte Niere in toto entfernt. Die rechte Nebenniere wurde unter Schonung in situ belassen. Nach Kontrolle der Gefäßstümpfe war die 5/6-Nephrektomie abgeschlossen. Peritoneum und Bauchmuskulatur wurden mit fortlaufender Naht verschlossen. Die abschließende Hautnaht wurde intrakutan genäht, um ein eigenständiges Eröffnen der Wunde durch die Ratten zu unterbinden. Im Untersuchungszeitraum eröffnete sich keines der Tiere die Wunde. Nach Säuberung der Bauchdecke konnte die Operation abgeschlossen sen werden.

Die Kontrolloperationen folgten in Vorbereitung und Narkose dem beschriebenen Ablauf. Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurde das Peritoneum über der linken und rechten Niere stumpf mit einem Watteträger entfernt. Eine weitere Manipulation erfolgte nicht, beide Nieren wurden in ihrer vollen Integrität belassen. Die Versorgung der Bauchdecken und die abschließende Hautnaht erfolgten wie beschrieben.

Die frisch operierten Ratten kamen in Käfige mit Zellstoffauslegung. Eine Wärmematte unter dem Käfig sorgte in der ersten Stunde für eine Erhöhung der Umgebungstemperatur. Die aufwachenden Tiere hatten sofort Zugriff auf Trinkwasser und Futter. Zur postoperativen Schmerztherapie versetzten wir das Trinkwasser an den folgenden drei Tagen mit Paracetamol - Saft (20 mg/kg KG).

Die Ratten erholten sich in der Regel sehr schnell von der subtotalen Nephrektomie.

Nach erfolgreicher Operation wurden die Tiere drei weitere Wochen in ihren Gemeinschaftskäfigen gehalten. Sie hatten während der gesamten Versuchsdurchführung freien Zugang zu Wasser und Futter. Ihr Allgemein- wie Ernährungszustand wurde täglich kontrolliert. Marker hierfür waren das Aussehen des Fells, der Bewegungsradius sowie der allgemeine Eindruck, den die Ratten in ihren Käfigen erweckten. Tiere in sehr schlechtem Allgemein- wie Ernährungszustand wurden eingeschläfert, um ein unnötiges Leiden der Tiere zu vermeiden. In der vierten postoperativen Woche erfolgten die abschließenden Untersuchungen.

## 2.4 Der ACE-Hemmer Ramipril

## 2.4.1 Das Medikament Ramipril

Ramipril ist ein Arzneistoff der Gruppe der ACE-Hemmer, der zur Behandlung der arteriellen Hypertonie (Bluthochdruck) und der Herzinsuffizienz und zur Vorbeugung des Herzinfarktes eingesetzt wird. Ramipril ist ein inaktives Prodrug, was durch Veresterung der freien Carbonsäurefunktion mit Ethanol erreicht wurde. Diese Ethanolgruppe wird im Organismus in der Leber durch Esterasen abgespalten, wodurch das aktive Ramiprilat entsteht.

Sein Wirkprinzip beruht nach Aktivierung zum Ramiprilat auf der Hemmung des Angiotensin -Converting – Enzyms (ACE). In Deutschland ist Ramipril als Ramigamma®, Delix® und Vesdil® sowie in Form zahlreicher Generika auf dem Markt.

Summenformel	$C_{23}H_{32}N_2O_5$
Molare Masse	416,511 g/mol

Abbildung 6: Strukturformel von Ramipril (Aus Wikipedia, der freien Enzyklopädie)



IUPAC-Name:(2S,3aS,6aS)-1-[(S)-2-[(S)-1-(Ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]octahydrocyclopenta[b]pyrrol-2-carbonsäure

### 2.4.2 Verabreichung des Medikaments

Die Gruppe MWF-Nx-Rami und die Gruppe Wistar-Nx-Rami erhielten jeweils eine postoperative Medikation mit Ramipril. Direkt nach der Operation wurde das Trinkwasser der Tiere mit wasserlöslichem Ramiprilpulver versetzt. Die Tagesdosis betrug 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Die Lösung wurde bis zum Tag der Tötung alle zwei Tage erneuert.

## 2.5 Blutdruck und Uringewinnung

#### 2.5.1 Systolische Blutdruckmessung

Die Messungen wurden am wachen Tier mittels Schwanzplethysmografie nicht invasiv durchgeführt. Es handelte sich um eine automatisierte, computergestützte, oszillatorische Technik mit einem Butdruckmessgerät der FirmaTSE Bad Homburg. Einzeln wurden die Tiere in einen vorgewärmten Restrainer, einen röhrenartigen Metallkäfig, gebracht, aus dem lediglich der Schwanz herausragte. In dieser Konstruktion kommt das Tier nun in einen vorgewärmten Behälter, und nach 30 Minuten Aufwärmphase bei 38 °C konnten eine Blutdruckmanschette und ein Transducer am Schwanz des Tieres angebracht werden.

Zur Gewöhnung an diese Bedingungen wurden die Messungen an drei aufeinander folgenden Tagen durch denselben Untersucher, unter gleichen Bedingungen und zu möglichst ähnlicher Tageszeit durchgeführt. Es erfolgten jeweils drei Messungen. In jeder Messung wurden zwei Werte für den systolischen Blutdruck bestimmt, wobei daraus als Ergebnis einer Messung der Mittelwert gebildet wurde. Die Daten der Messungen wurden dann auf einen Computer übertragen und pro Individuum gemittelt.

#### 2.5.2 Uringewinnung im Stoffwechselkäfig

Ebenfalls in der vierten postoperativen Woche wurde ein 24-Stunden-Urin gewonnen. Hierzu mussten die Tiere über 24 Stunden in einen Stoffwechselkäfig gesetzt werden. In diesem Käfig hatten die Tiere freien Zugang zu Nahrung und Wasser. Der ausgeschiedene Urin wurde darin vom Kot getrennt und in Glasgefäße abgefüllt. Die Bestimmung des Volumens erfolgte durch Auswiegen: 1 g Urin ~ 1 ml Urin. Nach der Entnahme aus dem Stoffwechselkäfig wurde ca. 1 ml Urin in ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß dekantiert, welches dann bei 900 Upm für zehn Minuten zentrifugiert wurde, um eventuelle Verunreinigungen der Urinproben zu entfernen. Zur Aufbewahrung wurde der restliche Urin in Kunststoffgefäße gegeben und bei -20 °C gelagert.

## 2.6 Biochemische Analysen

### 2.6.1 Albuminbestimmung

Die Messung der Albuminurie erfolgte über eine direkte Bestimmungsmethode, einen "enzyme linked immunosorband essay" (ELISA). Die Methode wurde im Institut für Klinische Pharmakologie, Charité Universätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, etabliert.

Der ELISA, bei dem eine Farbreaktion katalysiert wird, wodurch das Albumin photometrisch bestimmt werden kann, findet in einer 96 - Loch - Mikrotiterplatte statt. Hierzu wurden 100  $\mu$ l des albuminspezifischen Antikörpers ("*Coating*-Lösung") pro Loch in die Mikrotiterplatte pipettiert. Es folgte eine Inkubation der Platte: drei Stunden bei 37 °C und 15 Stunden bei 4 °C. Um Verdunstungen zu vermeiden, wurde die Platte in Folie gewickelt. Nach der Inkubation wurde die

Coating-Lösung aus der Platte ausgeklopft, danach wurde sie für vier Minuten mit 100  $\mu$ l Pufferlösung (Puffer A) pro Loch bei 600 Upm auf einem Mikrotiterplattenschüttler gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Dieser Waschvorgang wurde insgesamt drei - mal durchgeführt und die Pufferlösung zwischendurch jeweils ausgeklopft.

40  $\mu$ l der Urinproben wurden nun mit Puffer A verdünnt und zwar je nach der zu erwartenden Albuminkonzentration auf 1:50, 1:500, 1:5000 und 1:20.000.

Pro Loch wurden dann 50  $\mu$ l Puffer A als Leerwert und 50  $\mu$ l Standard- bzw. Urinprobenverdünnungen jeweils als Doppelbestimmung in die Platte pipettiert.

Es folgte die Zugabe von 50  $\mu$ l Rattenantikörper pro Loch, welches den zweiten Antikörper im ELISA enthält. Die Mikrotiterplatte wurde dann eine Stunde bei 37 °C inkubiert.

Danach musste der Inhalt der Platte erneut ausgeklopft und die Platte, wie zuvor beschrieben, vier Minuten mit Puffer A gewaschen werden, dieses Mal erfolgten vier Waschvorgänge.

Für die Farbreaktion wurden 200  $\mu$ l Substratlösung pro Loch in die Platte gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde dann für 15 Minuten auf dem Mikrotiterplattenschüttler bei 600 Upm geschüttelt. Durch 50  $\mu$ l Schwefelsäure pro Loch konnte die Farbreaktion gestoppt werden. Die Farbreaktion, bei der ein blauer Farbkomplex entstand, ist invers, das heißt, eine geringere Blaufärbung zeigt höhere Albuminwerte und eine stärkere Blaufärbung niedrigere Albuminwerte an. Nun erfolgte die photometrische Messung der optischen Dichte mittels eines ELISA-MRX-Plate-Readers bei 450 nm.

Für die Bestimmung des Albumins musste eine Eichgerade erstellt werden. Hierzu wurden 100  $\mu$ l Rattenserum-Albumin-Stock-Lösung (1 mg/ml), mit 100 ml Puffer A verdünnt. Daraus wurden folgende Standardkonzentrationen jeweils in mg/l angesetzt: 0,00; 0,03; 0,05; 0,07; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 und 1 mg/l. Lagen die Extinktionen der Proben nicht mittig der Kalibriergeraden, musste eine entsprechend andere Verdünnung gewählt werden (s.o.).

Die Erstellung der Eichgeraden, das Ablesen der Extinktion und der Ausdruck der Endwerte in mg/l erfolgten mit Hilfe des Computers. Zum Schluss wurde aus den Werten in g/l durch Beziehung der Urinproben auf die Verdünnung und auf das tägliche Urinvolumen die Albuminauscheidung in mg pro 24 Stunden berechnet.

### 2.6.2 Protein- und Kreatininbestimmung

Es wurde im Labor der Klinischen Pharmakologie, Charitè-Unversitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, aus dem 24-Stunden-Urin das Gesamtprotein nach der Bradford-Methode17 bestimmt.

Sowohl im 24-Stunden-Urin als auch in dem bei der Tötung entnommenen Serum wurde das Kreatinin gemessen und später die Kreatinin-Clearance berechnet.

Diese Messungen erfolgten über Standardmethoden im Labor 28, Mecklenburgische Straße 28, 14197 Berlin.

Die Berechnung der Kreatinin-Clearance erfolgte nach der Formel:

Abbildung 7:

## 2.7 Tötung und Organentnahme

Am Ende der vierten postoperativen Woche wurden die Tiere aus dem FEM in die Räume der Klinischen Pharmakologie gebracht. Sie wurden aus ihren Gemeinschaftskäfigen in Einzelkäfige umgesetzt, gewogen und der Allgemeinzustand des Tieres wurde eingeschätzt. Die Tiere wurden auf die gleiche Weise, wie zur Operation beschrieben, narkotisiert. Das weitere Vorgehen entsprach bis auf Desinfektion und Rasur ebenfalls dem in Absatz 2.3.1. beschriebenen.

Die Tötung erfolgte, nach einer für eine andere Studie verwendete Herzkatheter-untersuchung, durch Exsangierung über eine im linken Ventrikel befindliche Braunüle.

Ein bis drei Milliliter Blut wurden dabei in Eppendorf-Röhrchen aufgefangen, um Serum zu gewinnen. Durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 8000 U/min und 4 °C (Eppendorf, Zentrifuge 5417 R) wurde das Serum von korpuskulären Bestandteilen getrennt, abpipettiert und in 2 ml-Eppendorf-Röhrchen schockgefroren.

Sofort nach dem Ausbluten erfolgte die Sektion mit Organentnahme. Das Abdomen sowie der Thorax wurden großflächig eröffnet. Herz, Lunge, Leber und Niere wurden makroskopisch begutachtet. Bei den Tieren mit Nx wurde der Anteil des vorhandenen Nierengewebes beurteilt, um die Reduktion um 5/6 des Nierengewebes zu kontrollieren.

Den Tieren wurden die Nieren und linken Ventrikel entnommen:

1. Herz:

Nach Entfernung der großen Gefäße wurde das Herz gewogen. Der rechte Ventrikel wurde septumnah vom linken Ventrikel abgetrennt und in einem 2 ml Eppendorf-Röhrchen in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

Der linke Ventrikel mit Septum interventrikulare wurde erneut gewogen. Es wurde die Herzspitze abgetrennt, dann eine Scheibe aus der Herzmitte herausgetrennt und in Duboscq-Brasil-Lösung für die anschließende histologische Beurteilung fixiert. Die Herzspitze und der Rest des Organs wurden ebenfalls schockgefroren.

#### 2. Niere:

Die linke Niere wurde aus ihrer Kapsel gelöst. Gefäße und Ureter wurden aus dem Hilum entfernt. Das Ausmaß der Nekrose wurde bestimmt und notiert. Dabei gingen die Tiere nur in die Untersuchungen ein, wenn ca. 5/6 des Nierengewebes makroskopisch als nekrotisch erkennbar waren.

Ein kleiner Teil des verbleibenden funktionstüchtigen Nierengewebes wurde abgetrennt und in Methacarn-Lösung fixiert, um die histologische Begutachtung durchführen zu können. Der Organrest wurde wiederum schockgefroren.

Die Lagerung der Organproben und des Serums erfolgte in 2 ml Eppendorf-Röhrchen bei -81 °C in den Räumen der klinischen Pharmakologie, Campus Benjamin Franklin.

Die Tierkadaver wurden separat gesammelt und durch die Tierkörperbeseitigung entsorgt.

## 2.8 Durchführung der histologischen Untersuchungen

#### 2.8.1 Paraffineinbettung der Organe

Die für 24 h in Dubosq- Brasil und für weitere 24 h in 80% igen Ethanol aufbewahrten Organe wurden in Histologie-Kassetten umgelagert. Die Entwässerung und Paraffineinbettung erfolgte in einem Histokinettenautomaten nach dem Tauchprinzip. Hierbei wurden die Präparate in aufsteigender Alkoholreihe 2 Stunden in 90% igem, 4 Stunden in 100% igem Ethanol und 2 Stunden in Isopropylalohol entwässert sowie anschließend 6 Stunden in Intermedium und 3 Stunden in einem Wärmetopf mit einem Gemisch aus Intermedium und Paraffin im Verhältnis 1:1 der Alkohol entfernt. Im letzten Schritt dieser Einbettung kamen die Kassetten für 24 h in einen Wärmetopf aus reinem Paraffin.

#### 2.8.2 Schneiden und Färben der Nieren

Um die Nieren schneiden zu können, mussten sie in dafür geeignete Einbettungsringe mit reinem Paraffin umgelagert werden. Dies erfolgte mit einer Einbettvorrichtung. Um eine optimale Oberfläche zwischen oberen Nierenpol und Hilus zu erhalten, wurde die Transversalebene gewählt. So ist sichergestellt, dass sowohl superfizielle als auch juxtamedulläre Glomeruli sowie der Übergang von Nierenrinde und Mark mit Einschluss des S3-Segmentes im Präparat vorhanden sind. Die Schnittfläche beträgt 3  $\mu$ m und wurde mit einem Rotationsmikrotom der Firma Microm durchgeführt (Abb. 8).



**Abbildung 8:** Schema der Nierenstruktur modifiziert nach Kritz et al. 1988. 1 = Corpusculum renale, 2 = Pars convoluta des proximalen Tubulus, <math>3 = Pars recta des proximalen Tubulus, 4 = Pars descendens des intermediären Tubulus, 5 = Pars ascendens des intermediären Tubulus, 6 = Pars recta des distalen Tubulus, 7 = Macula densa, 8 = Pars convoluta des distalen Tubulus, <math>9 = Verbindungstubulus, 10 = kortikales Sammelrohr, 11 = Sammelrohr im äußeren Mark, 12 = Sammelrohr inneres Mark.

Danach sind jeweils 8 Schnitte auf 2 Objektträger für die PAS- und Sirius-Rot übertragen worden. Nachdem der Objektträger auf einer mit 37 °C eingestellten Wärmeplatte getrocknet war, erfolgte die Färbung nach "*Periodic Acid Shiff*" (PAS) und Sirius-Rot in einem Färbeautomat der Firma Microm. Die Färbeschritte wurden wie folgt durchgeführt: Histoclear für 30 Minuten, absteigende Alkoholreihe; 100% iger Alkohol für 5 Minuten, 90% iger Alkohol für 5 Minuten, 80% iger Alkohol für 5 Minuten, 70% iger Alkohol für 5 Minuten, spülen in H20 für 3 Minuten, Aqua dest. für 2 Minuten, 0,8% ige wässrige Perjodsäure für 15 Minuten, spülen in H2O für 4 Minuten, Aqua dest. für 1 Minute, Schiffsreagens für 15 Minuten, SO2 (300 ml Aqua dest., 15 ml 1 N HCL und 18 ml einer 10% igen wässrigen Lösung von Natriumdisulfit) für 3 Minuten, SO2 für 3 Minuten, spülen in H2O für 5 Minuten, aufsteigende Alkoholreihe; 90% iger Alkohol für 4 Minuten, 95% iger Alkohol für 5 Minuten, 95% iger Alkohol für 5 Minuten, 100% Alkohol für 5 Minuten, 100% Alkohol für 5 Minuten.

## b) Sirius-Rot:

Histoclear für 30 Minuten, absteigende Alkoholreihe; 100% iger Alkohol für 5 Minuten, 90% iger Alkohol für 5 Minuten, 80% iger Alkohol für 5 Minuten, 70% iger Alkohol für 5 Minuten, spülen in H2O für 3 Minuten, Aqua dest. für 2 Minuten, Sirius-Rot F3BA für 60 Minuten, 0,01 N HCL für 4 Minuten, aufsteigende Alkoholreihe; 70% iger Alkohol für 3 Minuten, 90% iger Alkohol für 3 Minuten, 90% iger Alkohol für 5 Minuten, 95% iger Alkohol für 5 Minuten, 95% iger Alkohol für 5 Minuten, Histoclear für 30 Minuten.

## 2.9 Bewertung der histologischen Untersuchungen

## 2.9.1 Bewertung der glomerulären Fläche

Für die Bewertung der glomerulären Fläche wurden die Schnitte geblindet, in einem ersten Durchgang gesichtet und in einem zweiten Durchgang befundet. Für alle Präparate wurden die gleichen Einstellungen am Mikroskop vorgenommen. Untersuchungsmaterial war der beste von 8 Schnitten auf einem Objektträger der Sirius - Red - Färbung. Je Gruppe wurden 6 Schnitte bewertet (N=6). Für die Aufnahme der Bilder wurde das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, verwendet, welches mit einem Videosystem der Firma AVT-HORN verbunden war. Dieses Videosystem beinhaltet eine Farb-Videokamera mit drei <sup>1</sup>/<sub>2</sub>"-CCD-Chips, ein externes Kamerasteuergerät und einen Frame Grabber. Um von dem angegebenen Bereich in der Niere digitale Bilder zu erhalten, wurde die Farb-Videokamera mit dem externen Kamerasteuergerät an einen Computer, Power Macintosh 8200/120, und dem Frame Grabber angeschlossen. Alle Bilder wurden nach einer Aufwärmzeit der Bildanalyseeinheit von 10 Minuten mit den gleichen Einstellungen am Mikroskop und der Kamera digitalisiert, im Tagged-Image-File- Format (TIFF) gespeichert, eine Sicherungskopie auf einer beschreibbaren CD vorgenommen und mit dem Freeware-Programm "Scion Image 1.62a" ausgewertet. Zunächst wurden von einem Schnitt willkürlich 40 verschiedene Glomeruli mit der Maus umfahren, anschließend erfolgte die Auswertung der glomerulären Fläche durch die im Bildanalyseprogramm (Scion Image 1.62a) integrierte Makrosprache Pascal.

#### 2.9.2 Semiquantitative Bewertung der Glomerulosklerose der Niere

Für die Bewertung der Glomerulosklerose wurden die Schnitte geblindet, in einem ersten Durchgang gesichtet und in einem zweiten Durchgang befundet. Darüber hinaus wurde eine zeitliche Vorgabe von vier Wochen definiert, innerhalb derer die Glomeruli kontinuierlich bewertet werden mussten. Als Untersuchungsgerät diente das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss. Für alle Präparate wurden die gleichen Einstellungen am Mikroskop vorgenommen. Untersuchungsmaterial war der beste von 8 Schnitten auf einem Objektträger.

Für die GSI wurden 30 Glomeruli, superfizielle und juxtamedulläre, in der PAS-Färbung in 200facher Vergrößerung nach einem Score von 0 bis 4 bewertet (Raij et al. 1984). Schädigungsparameter bei der semiquantitativen Bewertung der Glomeruli war die Ablagerung von PAS-positivem Material in das Mesangium und um die Kapillarschlingen, segmental oder diffus, wobei 0 keine Veränderung, 0,5 = Veränderungen, die weniger als 12 % betreffen. 1 = Veränderungen zwischen 12 und 25 %, 1,5 = Veränderungen zwischen 25 und 37 %, 2 = Veränderungen zwischen 37 und 50 %, 2,5 = Veränderungen zwischen 50 und 62 %, 3 = Veränderungen zwischen 62 und 75 %, 3,5 = Veränderungen zwischen 75 und 90 % und 4 = Veränderungen, die mehr als 90 % des Glomeruli betreffen. Die Einteilung der Bewertungsskala diente einer feineren Differenzierung zwischen den Schäden der einzelnen Glomeruli. Es wurde ein kumulativer Index gebildet und der Mittelwert berechnet. Zusätzliche Schädigungsmuster wie die Hyperzellularität, die Dicke der Bowman schen-Kapsel und die Größe der glomulären Fläche im Nierenschnitt kennzeichnen das Gesamtausmaß der histophatologischen Veränderungen des Glomerulus.

#### 2.9.3 Morphometrische Bildanalyse der interstitiellen Fibrose in der Niere

Die computergestützte Auswertung der RIF erfolgte mit einem Bildausschnitt, beginnend im Übergangsbereich zwischen Nierencortex und Nierenmark und endet im Innenstreifen der mit Sirius-Rot gefärbten Präparate. In dem angegebenen Nierenbereich befinden sich die mitochondrienreichen proximalen Tubuli (S3 Segment). Die Sirius-Rot-Färbung ist spezifisch für Gesamtkollagen und detektiert damit das Ausmaß der interstitiellen Fibrose in der Niere. Glomeruli sind in diesem Areal nicht enthalten. Für die Quantifizierung wurden im Durchlicht 10 unterschiedliche Bildausschnitte bei 100facher Vergrößerung entlang der beschriebenen Region mit jeweils einer metrischen Flächengröße von 301146,94  $\mu$ m<sup>2</sup> aufgenommen.

Für die Aufnahme der Bilder wurde das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, verwendet, welches mit einem Videosystem der Firma AVT-HORN verbunden war. Dieses Videosystem beinhaltet eine Farb-Videokamera mit drei 1/2"-CCD-Chips, ein externes Kamerasteuergerät und einen Frame Grabber. Um von dem angegebenen Bereich in der Niere digitale Bilder zu erhalten, wurde die Farb-Videokamera mit dem externen Kamerasteuergerät an einen Computer, Power Macintosh 8200/120, und dem Frame Grabber angeschlossen. Alle Bilder wurden nach einer Aufwärmzeit der Bildanalyseeinheit von 10 Minuten mit den gleichen Einstellungen am Mikroskop und der Kamera digitalisiert, im *Tagged-Image-File-Format* (TIFF) gespeichert, eine Sicherungskopie auf einer beschreibbaren CD vorgenommen und mit dem Freeware-Programm "Scion Image 1.62a" ausgewertet. Für die Messung der gefärbten Flächen wurde die Bildanalyseeinheit zunächst mit einem Objektmikrometer auf metrische Einheit kalibriert. Die Software wandelt das Bild auf der Grundlage von Grauwerten in schwarze und weiße Bereiche um. Die schwarzen Areale entsprechen dem mit Sirius-Rot gefärbten Gesamtkollagen, der weiße Hintergrund dem nicht mit Sirius-Rot gefärbten Gewebe. Der Schwellenwert für die Detektierung der fibrotischen Areale wird automatisch gesetzt und nach Vergleich mit dem Farbbild gegebenenfalls neu eingestellt. Die schwarzen Areale werden gemessen und als prozentualer Anteil vom Gesamtbild angegeben. Die Auswertung der Bilddaten konnte durch die im Bildanalyseprogramm integrierte Makrosprache Pascal weitgehend automatisiert werden, wobei das Prinzip dieser Bildanalyse als halbautomatisches Verfahren einzustufen ist. Von allen ausgemessenen 10 Bildausschnitten pro Schnitt wurde ein Mittelwert gebildet.

#### 2.9.4 Semiquantitative Bewertung des tubulointertitiellen - damge - Index (TDI).

Für die Bewertung des tubulointerstitiellen - damage - Index (TDI) wurden die Schnitte geblindet, in einem ersten Durchgang gesichtet und in einem zweiten Durchgang befundet. Darüber hinaus wurde eine zeitliche Vorgabe von vier Wochen definiert, innerhalb derer das Tubulointerstitium kontinuierlich bewertet werden musste. Als Untersuchungsgerät diente das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss. Für alle Präparate wurden die gleichen Einstellungen am Mikroskop vorgenommen. Untersuchungsmaterial war der beste von 8 Schnitten auf einem Objektträger.

Das Tubulointerstitium wurde nach einem Score von 1-4 (1 = keine Veränderung; 2 = Veränderung, die weniger als 25% betreffen; 3 = Veränderungen, die 25-50% der Untersuchungsprobe betreffen; 4 = Veränderungen, die mehr als 50% betreffen) bewertet. Die Parameter der Schädigung für die Tubuli sind die Atrophie des Epithels, Zylinder in den Tubuli und die Dilatation der Tubuli, für das Interstitium die Infiltration von inflammatorischen Zellen in das Interstitium und die interstitielle Fibrosierung.

#### 2.9.5 Morphometrische Bildanalyse der interstitiellen Fibrose des linken Ventrikels

Die computergestützte Auswertung der interstitiellen Fibrose des linken Ventrikels erfolgte mit einem Bildausschnitt, der mit Sirius-Rot gefärbten Präparate. Es wurden möglichst gefäßfreie Areale als Bildausschnitt gewählt. Die Sirius-Rot-Färbung ist spezifisch für Gesamtkollagen und detektiert damit das Ausmaß der interstitiellen Fibrose in dem linken Ventrikel. Große Gefäße sind in diesem Areal nicht enthalten. Für die Quantifizierung wurden im Durchlicht 10 unter-
schiedliche Bildausschnitte bei 100facher Vergrößerung entlang der beschriebenen Region mit jeweils einer metrischen Flächengröße von 301146,94  $\mu$ m<sup>2</sup> aufgenommen.

Für die Aufnahme der Bilder wurde das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, verwendet, welches mit einem Videosystem der Firma AVT-HORN verbunden war. Dieses Videosystem beinhaltet eine Farb-Videokamera mit drei <sup>1</sup>/<sub>2</sub>"-CCD-Chips, ein externes Kamerasteuergerät und einen Frame Grabber. Um von dem angegebenen Bereich in der Niere digitale Bilder zu erhalten, wurde die Farb-Videokamera mit dem externen Kamerasteuergerät an einen Computer, Power Macintosh 8200/120, und dem Frame Grabber angeschlossen. Alle Bilder wurden nach einer Aufwärmzeit der Bildanalyseeinheit von 10 Minuten mit den gleichen Einstellungen am Mikroskop und der Kamera digitalisiert, im Tagged Image File Format (TIFF) gespeichert, eine Sicherungskopie auf einer beschreibbaren CD vorgenommen und mit dem Freeware-Programm "Scion Image" 1.62a ausgewertet. Für die Messung der gefärbten Flächen wurde die Bildanalyseeinheit zunächst mit einem Objektmikrometer auf metrische Einheiten kalibriert. Die Software wandelt das Bild auf der Grundlage von Grauwerten in schwarze und weiße Bereiche um. Die schwarzen Areale entsprechen dem mit Sirius-Rot gefärbten Gesamtkollagen, der weiße Hintergrund dem nicht mit Sirius-Rot gefärbten Gewebe. Der Schwellenwert für die Detektierung der fibrotischen Areale wird automatisch gesetzt und nach Vergleich mit dem Farbbild gegebenenfalls neu eingestellt. Die schwarzen Areale werden gemessen und als prozentualer Anteil vom Gesamtbild angegeben. Die Auswertung der Bilddaten konnte durch die im Bildanalyseprogramm integrierte Makrosprache Pascal weitgehend automatisiert werden, wobei das Prinzip dieser Bildanalyse als halbautomatisches Verfahren einzustufen ist. Von allen ausgemessenen 10 Bildausschnitten pro Schnitt wurde ein Mittelwert gebildet.

### 2.9.6 Morphometrische Bildanalyse der perivaskulären Fibrose des linken Ventrikels

Die computergestützte Auswertung der perivaskulären Fibrose des Linken Ventrikels erfolgte mittels Bildausschnitten der mit Sirius-Rot gefärbten Präparate. Es wurden pro Schnitt möglichst drei mittelgroße bis große Gefäße gewählt. Von diesen Gefäßen wurden jeweils beginnend links oben und dann im Uhrzeigersinn weiterführend ausgehend vom inneren Rand der Gefäße drei Bildausschnitte gewählt. Die Sirius-Rot-Färbung ist spezifisch für Gesamtkollagen und detektiert damit das Ausmaß der Fibrose im linken Ventrikel in den entsprechenden Bereichen. Für die Quantifizierung wurden im Durchlicht 3 unterschiedliche Bildausschnitte bei 100facher Vergrößerung entlang der beschriebenen Region beurteilt. Für die Aufnahme der Bilder wurde das Photomikroskop Axiophot der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, verwendet, welches mit einem Videosystem der Firma AVT-HORN verbunden war. Dieses Videosystem beinhaltet eine Farb-Videokamera mit drei <sup>1</sup>/<sub>2</sub>"-CCD-Chips, ein externes Kamerasteuergerät einen Frame Grabber. Um von dem angegebenen Bereich digitale Bilder zu erhalten, wurde die Farb-Videokamera mit dem externen Kamerasteuergerät an einen Computer, Power Macintosh 8200/120, und dem Frame

Grabber angeschlossen. Alle Bilder wurden nach einer Aufwärmzeit der Bildanalyseeinheit von 10 Minuten mit den gleichen Einstellungen am Mikroskop und der Kamera digitalisiert, im *Tagged-Image-File- Format* (TIFF) gespeichert, eine Sicherungskopie auf einer beschreibbaren CD vorgenommen und mit dem Freeware-Programm "Scion Image 1.62a" ausgewertet. Für die Messung der gefärbten Flächen wurde die Bildanalyseeinheit zunächst mit einem Objektmikrometer auf metrische Einheiten kalibriert. Die Software wandelt das Bild auf der Grundlage von Grauwerten in schwarze und weiße Bereiche um. Die schwarzen Areale entsprechen dem mit Sirius-Rot gefärbten Gesamtkollagen, der weiße Hintergrund dem nicht mit Sirius-Rot gefärbten Gesentkollagen, der Messen der fibrotischen Areale wird automatisch gesetzt und nach Vergleich mit dem Farbbild gegebenenfalls neu eingestellt. Die schwarzen Areale werden gemessen und als prozentualer Anteil vom Gesamtbild angegeben. Die Auswertung der Bildaten konnte durch die im Bildanalyseprogramm integrierte Makrosprache Pascal weitgehend automatisiert werden, wobei das Prinzip dieser Bildanalyse als halbautomatisches Verfahren einzustufen ist.

# 2.10 Statistische Analyse

Die Auswertung der experimentell erhobenen Daten erfolgte unter Zuhilfenahme des Statistikprogrammes SPSS 11.0 für Windows, der Firma SPSS Inc. 1981-2001. Alle Werte werden als Mittelwert  $\pm$  Standartabweichung des Mittelwertes (mean  $\pm$  SEM) angegeben. Die statistische Analyse erfolgte durch den nicht-parametrischen Mann-Whitney Test mit anschließender Adjustierung nach Bonferroni zur Berücksichtigung der alpha-Fehler-Kumulierung. Zum Vergleich der beiden Rattenstämme verwendeten wir eine univariate Varianzanalyse. Unterschiede wurden bei einem p < 0,05 als signifikant angenommen.

Der Gebrauch der SEM weist den Vorteil auf, dass seine Anwendung - bis zu einer gewissen Grenze - auch bei Stichproben möglich ist, die nicht aus einer symmetrischen eingipfligen Grundgesamtheit stammen. Die Verwendung der Standardabweichung des Mittelwertes bietet sich somit bei geringen Gruppengrößen an.

# 3. Ergebnisse

# 3.1. Herzphysiologische Daten

## 3.1.1. Systolischer Blutdruck (SBP)

Abbildung 9 zeigt die in der vierten postoperativen Woche gemessenen systolischen Blutdruckwerte. Eine 5/6-Nephrektomie führte während des vierwöchigen Untersuchungszeitraums sowohl bei MWF-Nx als auch bei den Wistar-Nx-Tieren zu einem signifikanten Anstieg des Blutdrucks im Vergleich zu der entsprechenden nicht -nephrektomierten Kontrollgruppe (p < 0,05). Die höchsten Blutdruckwerte weisen die MWF-Nx-Tiere auf. Ihre systolischen Blutdruckwerte liegen signifikant höher als die der Wistar-Nx-Gruppe. Zwischen den nephrektomierten und mit einem ACE-Hemmer behandelten Tieren (Wistar-Nx-ACEI und MWF-Nx-ACEI ) und der entsprechenden nicht-nephrektomierten Kontrollgruppe existieren keine signifikanten Blutdruckunterschiede. Die Blutdruckwerte der nephrektomierten MWF-Tiere, welche mit einem ACE-Hemmer behandelten wurden (MWF-Nx-ACEI), liegt signifikant über den Werten der nephrektomierten und mit einem ACE-Hemmer behandelten Wistar-Tieren (Wistar-Nx-ACEI). Signifikant höhere systolische Blutdruckwerte finden sich bereits bei der nicht-nephrektomierten MWF-Kontrollgruppe im Vergleich zur entsprechenden Wistar-Kontrollgruppe. Protokoll- unabhängige Testung auf Stammunterschiede führt zu signifikant höheren Blutdruckwerten des MWF-Stammes im Vergleich zum Wistar - Rattenstamm mit p < 0,05.



#### **Abbildung 9:**

SBP: Systolischer Blutdruck in mmHg; \* signifikant (P<0.05) versus Wistar-Ko, § signifikant (P<0.05) versus MWF Nx, ## signifikant (P<0.05) versus W-NxACEI, x signifikant (P<0.05) versus MWF-Ko (N = 11-17 Ratten pro Gruppe).

### 3.1.2 Linkes Herzgewicht (normalisiert zum Körpergewicht)

Tabelle 2 zeigt die mittleren Herzgewichte aller Gruppen. Dabei wird differenziert zwischen dem Gesamtherzgewicht (Hwt) und dem Gewicht des linken Ventrikels

(LVwt). Bei der Analyse der Körpergewichte zeigten sich am Tötungstag signifikante Unterschiede der Körpergewichte zwischen den Gruppen. Da das Herzgewicht direkt mit dem Körpergewicht korreliert, ist es sinnvoll, die absoluten Herzgewichte nach dem Körpergewicht zu normalisieren, um eine Vergleichbarkeit auch bei unterschiedlichen Körpergewichten zu ermöglichen. Um dies zu erreichen, bildet man den Quotienten aus dem Herzgewicht und dem Körpergewicht am Tötungstag (Hwt / KG(t)). Analog erhält man die normalisierten Werte für den linken Ventrikel (LVwt / KG(t)).

Gruppe	Hwt in mg	Hwt/KG(t) in mg/g	LVwt mg	in LVwt/KG(t) mg/g	in Anzahl N
Wistar sham	812 <b>±</b> 24	2,16±0,04 <sup>x</sup>	636±20	1,7±0,03 <sup>x</sup>	13
MWF Nx	942±13	3,48±0,06 <sup>x</sup>	784±12	2,9±0,06 <sup>x</sup>	17
Wistar Nx	980±33	3,02±0,12 <sup>§*</sup> ##	816±32	2,5±0,11 <sup>§ * ##</sup>	12
MWF Nx ACEI	745±15	2,48±0,04 <sup>§</sup> ##	573±9	1,9±0,04 <sup>§ ##</sup>	11
Wistar Nx ACEI	650±17	2,11±0,05	500±10	1,6±0,03	13

#### Tabelle 2

*Hwt: Herzgewicht; KGt: Körpergewicht am Tötungstag; LVwt: Gewicht des linken Ventrikels; RVwt: Gewicht des rechten Ventrikels; Anzahl N: Ratten pro Gruppe; Werte in mean*±*SEM;* 

\* signifikant (P<0.05) versus Wistar-Ko, o signifikant (P<0.05) versus MWF Nx, ## signifikant (P<0.05) versus W-NxACEI, x signifikant (P<0.05) versus MWF-Ko

Eine subtotale Nephrektomie führt innerhalb des vierwöchigen Untersuchungszeitraumes bei beiden Rattenstämmen zu einer signifikanten Erhöhung des normalisierten Herzgewichtes sowie zu einer Erhöhung des normalisierten Gewichtes des linken Ventrikels im Vergleich zu den nicht nephrektomierten Kontrollgruppen. Eine ACE-Hemmertherapie bei den nephrektomierten Tieren verhindert diese Erhöhung bei beiden Ratten-Stämmen vollständig. Es ließen sich zwischen MWF-Ko und MWF-Nx-ACEI, bzw. zwischen Wistar-Ko und Wistar-Nx-ACEI keine signifikanten Unterschiede feststellen. Ein stammabhängiger Vergleich zeigte signifikant höhere normalisierte Herzgewichte und normalisierte linksventrikuläre Gewichte bei den MWF-Tieren im Vergleich zu den Wistar -Tieren (Abb. 10).



**Abbildung 10:** Gewicht des linken Ventrikels (zum Körpergewicht normalisiert). W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.\* signifikant (P<0.05) versus W-Ko, # signifikant versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACEI, + signifikant versus MWF-Ko

# 3.2 Parameter der Nierenfunktion

# 3.2.1 Kreatinin-Clearance

Abbildung 11 zeigt die renale Clearance von Kreatinin.

Innerhalb des MWF-Stammes ist die Kreatinin-Clearance bei der nephrektomierten Gruppe am niedrigsten.

Die Clearance der unbehandelten nephrektomierten MWF-Tiere ist um fast 40% im Vergleich zu den mit einem ACE-Hemmer behandelten nephrektomierten Tieren und um mehr als 70% zu den nicht - nephrektomierten Tieren reduziert.

Die Clearance bei den unbehandelten nephrektomierten Wistar-Tieren ist signifikant um 83% im Vergleich zu den nicht - nephrektomierten Wistar-Tieren und 60% zu den nephrektomierten und mit einem ACE-Hemmer behandelten Tieren reduziert.

Im Stammvergleich war keiner der Vergleiche MWF-Nx versus Wistar-Nx,

MWF-Nx-Rami versus Wistar-Nx-Rami und MWF-Ko versus Wistar-Ko signifikant unterschiedlich.



**Abbildung 11:** Kreatinin-Clearance in Milliliter pro Minute (n = 8 - 20 Tiere pro Gruppe) .\* signifikant (P < 0.05) versus W-Ko, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACEI, + signifikant versus MWF-Ko

# 3.3 Histologische Daten der Niere

## 3.3.1 Fläche der Glomeruli

Die Fläche der Glomeruli ist in Abbildung 12 dargestellt. Die 5/6-Nephrektomie führte bei den Wistar-Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Vergrößerung der Glomeruli um 30%. Eine unmittelbar postoperative Behandlung der 5/6-nephrektomierten Wistar-Tiere mit einem ACE-Hemmer verhinderte die Zunahme der Fläche nicht. Hier zeigte sich ebenfalls eine Zunahme der Größe um 30% im Vergleich zu den nicht-nephrektomierten Wistar-Tieren. Ein signifikanter Unterschied der behandelten und nicht behandelten nephrektomierten Tiere bestand bei den Wistar-Tieren nicht.

Die nephrektomierten MWF-Tiere zeigten gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe eine signifikante Abnahme der glomerulären Fläche um 19 %. Die mit einem ACE-Hemmer behandelten nephrektomierten Tiere der MWF-Gruppe zeigten keinen signifikanten Unterschied zu den unbehandelten nephrektomierten und zu den nicht nephrektomierten Tieren.

Vergleicht man die einzelnen Testgruppen, also jeweils die Gruppen Wistar-Ko zu MWF-Ko, W-Nx zu MWF-Nx und W-NxACE zu MWF-NxACE miteinander, so war die glomeruläre Fläche bei den Wistar-Tieren in der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe signifikant um 73% und bei den behandelten nephrektomierten Tieren signifikant um 31% größer.

In der Gruppe der unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tiere zeigte sich kein signifikanter Unterschied.



**Abbildung 12:**\_Glomeruläre Fläche. W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril Img/kg; n=8-10.\* signifikant (P<0.05) versus W-Ko, # signifikant versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACE, + signifikant versus MWF-Ko

### 3.3.2 Glomeruläre Sklerose

Die glomeruläre Sklerose ist in Abbildung 13 dargestellt. In den Wistar-Gruppen war die glomeruläre Sklerose bei den nephrektomierten Tieren gegenüber den kontrolloperierten Tieren signifikant um 21% erhöht.

Die postoperative Ramipril-Gabe konnte hier eine Veränderung bewirken: In der mit einem ACE-Hemmer behandelten Gruppe zeigte die glomeruläre Sklerose keinen signifikanten Unterschied gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe. Es konnte aber ein signifikanter Unterschied zu der nicht mit einem ACE-Hemmer behandelten nephrektomierten Gruppe gezeigt werden.

In den Gruppen des MWF-Stammes war die glomeruläre Sklerose der 5/6 Nephrektomierten signifikant, um 15,09% zu den nicht nephrektomierten MWF-Tieren erhöht. Der ACE-Hemmer bewirkte auch hier eine Reduktion der Sklerose auf den Wert der Kontrollgruppe, so dass sich hier kein signifikanter Unterschied nachweisen ließ.

Im Stammvergleich war die glomeruläre Sklerose in der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe bei dem MWF-Stamm signifikant um 21%, bei den 5/6 Nephrektomierten signifikant um 15% und bei einer Behandlung mit einem ACE-Hemmer signifikant um 25% im Vergleich zu der entsprechenden Wistar-Gruppe erhöht.



Abbildung 13: Glomerulosklerose. W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.# signifikant (P<0.05) versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACE, + signifikant versus MWF Ko

### 3.3.3 Interstitielle Fibrose

In Abbildung 14 ist die interstitielle Fibrose der Niere in den verschiedenen Gruppen dargestellt. Bei den Wistar-Tieren mit 5/6 Nephrektomie fand sich eine mit 36% signifikant erhöhte interstitielle Fibrose im Vergleich zu der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe und eine 29,6% ige Erhöhung zu den Tieren, welche nach Nephrektomie mit einem ACE-Hemmer behandelten wurden. Zwischen den nicht nephrektomierten und den nephrektomierten Tieren, die eine ACE-Hemmer-Behandlung bekamen, ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

Die Werte für die MWF-Tiere zeigten einen signifikanten Anstieg der interstitiellen Fibrose, bei den 5/6 Nephrektomierten zur nicht nephrektomierten Kontrollgruppe von 55% und einen signifikanten Anstieg gegenüber den mit einem ACE-Hemmer behandelten Tieren um 45,5%. Zwischen den nicht nephrektomierten und den nephrektomierten Tieren, die eine ACE-Hemmer-Behandlung bekamen ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

Im Stammvergleich zeigten die MWF-Tiere eine signifikant höhere interstitielle Fibrose bei den Gruppen der nicht-nephrektomierten (19,5%) und nephrektomierten (36%) Tiere. Bei den mit einem ACE-Hemmer behandelten Tieren ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den MWF- und den Wistar-Tieren nachweisen.



**Abbildung 14:** Interstitielle Fibrose der Niere. W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.# signifikant (P<0.05) versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, + signifikant versus MWF Ko

### 3.3.4 TDI

Der TDI ist in Abbildung 15 dargestellt.

Im Wistar-Stamm fand sich bei den nephrektomierten Tieren eine Erhöhung um 27% des TDI im Vergleich zu der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied zu den Tieren, welche nach der Nephrektomie mit einem ACE-Hemmer behandelt wurden, ließ sich nicht nachweisen. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe und der nephrektomierten und mit einem ACE-Hemmer behandelten Gruppe. Im MWF-Stamm zeigte die 5/6 Nephrektomie gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe eine signifikante Erhöhung des TDI um 62% und gegenüber der mit einer ACE-Hemmer behandelten Gruppe zeigte einen signifikanten Anstieg gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe um 15,6%.

Im Stammvergleich stellte sich ein Unterschied zwischen den Nephrektomie-Gruppen dar: Der MWF-Stamm zeigte einen Anstieg um 49,01% gegenüber den nephrektomierten Wistar-Tieren. Bei den Kontrollgruppen sowie bei den behandelten Gruppen war der Anstieg ebenfalls bei dem MWF-Stamm erhöht. In den Kontrollgruppen um 16,65% und bei den behandelten Tieren um 22,23%.



**Abbildung 15:** Tubulointerstitieller-damage-Index (TDI). W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.# signifikant (P<0.05) versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACE, + signifikant versus MWF-Ko

# 3.4 Histologische Daten des linken Ventrikels

### **3.4.1 Interstitielle Fibrose**

Die interstitielle Fibrose am Herz ist in Abbildung 16 dargestellt.

Bei den Wistar-Tieren fand sich ein signifikanter Anstieg um mehr als das 2,3fache (116%) der nephrektomierten Tiere gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrolltieren und ein signifikanter Anstieg um mehr als 2,6fache (133,64%)gegenüber der nephrektomierten Gruppe, welche mit einem ACE-Hemmer behandelt wurde. Die interstitielle Fibrose in der Gruppe der mit einem ACE-Hemmer behandelten nephrektomierten Tiere zeigte keinen signifikanten Unterschied gegenüber der nicht nephrektomierten Gruppe.

Innerhalb des MWF-Stammes konnten signifikante Unterschiede zwischen den unbehandelten nephrektomierten Tieren und den nicht-nephrektomierten Tieren um die mehr als das 2 fache (107,62%) gezeigt werden. Des Weiteren zeigte sich ein signifikanter Anstieg von über 44% der nach Nephrektomie mit einem ACE-Hemmer behandelten Gruppe gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe. Keine signifikanten Unterschiede konnten zwischen den nephrektomierten Tieren mit und ohne ACE-Hemmer-Behandlung nachgewiesen werden.

Im Stammvergleich zeigte sich in allen Gruppen des Wistar-Stammes eine deutlich stärker interstitielle Fibrose. Im Vergleich der nicht nephrektomierten Kontrollgruppen zeigte sich eine vermehrte Fibrose von mehr als dem 2,5 fachen (126%), bei den nephrektomierten Gruppen betrug der Unterschied 136% und bei der nephrektomierten Gruppe, welche mit einem ACE-Hemmer behandelt wurde, waren es 45%.



Abbildung 16: Interstitielle Fibrose des linken Ventrikels. W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.\* signifikant (P<0.05) versus W-Ko, # signifikant versus W-Nx, ## signifikant versus W-NxACE, \$ signifikant versus MWF Nx, + signifikant versus MWF-Ko

### 3.4.2 Perivaskuläre Fibrose

Die Werte für die perivaskuläre Fibrose sind in Abbildung 17 dargestellt.

Innerhalb des Wistar-Stammes fand sich eine signifikanten Erhöhung der perivaskulären Fibrose der nephrektomierten Tiere mit 63% gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe und gegenüber der nach Nephrektomie mit einem ACE-Hemmer behandelten Tiere (Anstieg 58%). Zwischen der Kontrollgruppe und der mit einem ACE-Hemmer behandelten Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Die MWF-Tiere zeigten eine signifikante Erhöhung der perivaskulären Fibrose bei den nephrektomierten Tieren gegenüber der nicht nephrektomierten Kontrollgruppe um fast das Doppelte (95%) und gegenüber der behandelten Gruppe um mehr als das Doppelte (102%).

Im Stammvergleich zeigte sich, dass die Fibrose bei allen Wistar-Gruppen signifikant höher ist als bei den entsprechenden MWF-Tieren. In der Wistar-Kontrollgruppe zeigte sich eine vermehrte Fibrose von 122% im Vergleich zu den MWF-Kontrolltieren. Bei den nephrektomierten Tieren zeigte sich eine vermehrte Fibrose von 84% und bei den Tieren, die mit einem ACE-Hemmer behandelten wurden, eine vermehrte Fibrose von 137% gegenüber den entsprechenden MWF-Gruppen .



Abbildung 17: Perivaskuläre Fibrose des linken Ventrikels. W, 16 Wochen alte Wistar-Ratten; MWF, 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; ACE, 4 Wochen Ramipril 1mg/kg; n=8-10.\* signifikant (P<0.05) versus W-Ko, # signifikant versus W-Nx, § signifikant versus MWF Nx, ## signifikant versus W-NxACE, +signifikant versus MWF-Ko

# 4. Diskussion

# 4.1 Nierenfunktionseinschränkung

Der dieser Arbeit zugrunde liegende Tierversuch wurde an zwei Rattenstämmen durchgeführt. Beim ersten Stamm handelt es sich um die in unserer Einrichtung gezüchtete und gehaltene Munich-Wistar-Frömter-Ratte (MWF-Ratte). Für die Kontrollgruppe entschieden wir uns für einen Wistar-Stamm. Das Munich Wistar Frömter (MWF) Rattenmodell ist das einzige bisher morphologische und funktionell ausreichend charakterisierte Rattenmodell mit ausgeprägter kongenitaler Oligonephronie.

Die Arbeitsgruppe der Dres. Guiseppe und Andrea Remuzzi, Bergamo, hat in den letzten Jahren wesentliche Untersuchungen bei MWF-Ratten durchgeführt <sup>82,89-93</sup>. Sie konnten in einer gemeinsamen Arbeit mit der Arbeitsgruppe um Brenner (Boston) auf die Bedeutung der MWF-Ratte zum Studium der Pathogenese des arteriellen Hypertonus und der progredienten chronischen Niereninsuffizienz hinweisen <sup>94</sup>.

Als zweiten Rattenstamm verwendeten wir Wistar-Ratten. Diese liegen genetisch sehr nahe am Ursprungstamm der MWF-Ratte. Genetische Heterogenität bei den zu untersuchenden Pathologien konnte somit auf ein geringes Maß reduziert werden. Der Hauptunterschied beider Rattenstämme liegt in der Gesamtzahl an funktionsfähigen Nephronen.

Es konnte bereits in anderen Arbeiten gezeigt werden, dass im Vergleich zur Wistar-cryptorchic-(WC/Ztm-) Ratte die Glomeruluszahl bei MWF/Ztm-Tieren um 27% reduziert ist.

Unsere Arbeitsgruppe stellte bei männlichen MWF-Ratten eine um 40% reduzierte Gesamtnephronzahl gegenüber männlichen Wistar-Ratten fest <sup>95</sup>. Dies stellt den genetischen Unterschied beider Stämme in Bezug auf die Nephronzahl dar. Des Weiteren wurden an beiden Stämmen eine einseitige 5/6 Nephrektomie durchgeführt, so dass wir vier Gruppen mit einer unterschiedlich definierten Anzahl an Nephronen für unsere Untersuchungen hatten. Hier sei nochmals erwähnt, dass an diesem Modell sowohl eine genetische, chronische sowie eine operative, akute Reduzierung der Nephrone und dessen Auswirkungen auf die Nierenfunktion untersucht wurden.

Um die Ergebnisse in Abhängigkeit der unterschiedlichen Nephronzahl zu diskutieren, führten wir die sogenannte Nephrondosis (ND) ein. Hierzu setzten wir die Gesamtzahl der Nephrone in beiden Nieren der Wistar-Ratten gleich 1,0. Für Wistar-Ratten ergibt sich somit die Nephrondosis ND = 1,0. Ausgehend von den vorgeschriebenen Veröffentlichungen liegt bei MWF-Ratten eine Reduzierung der Nephrondosis um 40% vor. Die Nephrondosis bei MWF-Ratten liegt bei ND = 0,6. Die 5/6-Nephrektomie reduziert die ND bei den Wistar-Tieren auf ND = 0,16 bzw. bei den MWF-Tieren auf ND = 0,10. Zur besseren Verständlichkeit zeigt die Abbildung 18 die abnehmende Nephrondosis innerhalb der vier Gruppen.



**Abbildung 18:** Darstellung des Modells der definierten Nephrondosisreduktion mittels Munich-Wistar-Frömter (MWF)- wie Wistar-Ratten unter Berücksichtigung der Gruppen mit 5/6-Nephrektomie. (n = 9 bis 15 Ratten). Nephrondosis (ND). Ko: Schein-operiert. Nx: 5/6-Nephrektomie.

Die Kreatinin-Clearance, welche wir als einen Ausdruck der Nierenfunktion sehen, zeigte bei den nephrektomierten Tieren eine deutliche signifikante Abnahme gegenüber den entsprechenden nicht nephrektomierten Gruppen. Ähnliches zeigten Ergebnisse von Remuzzi et al. nach unilateraler Nephrektomie <sup>90</sup>.

Eine deutliche akute Abnahme der Nephronzahl bedingt demnach eine deutliche Abnahme der Kreatinin-Clearance und ein Anstieg des Serum-Kreatinins und zeigt somit eine deutliche Nierenfunktionseinschränkung.

Hingegen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden nicht nephrektomierten MWF- und Wistar-Tieren gezeigt werden, obwohl hier, wie oben bereits beschrieben, bei den MWF-Tieren eine um 40% geringere Nephronzahl vorhanden war. Dieser genetische Unterschied der Nephronzahl ist aufgrund der Dauer als chronisch anzusehen.



**Abbildung 19:** Serum-Kreatinin-Werte in der 4. postoperativen Woche. Bestimmt in allen Protokollgruppen (N= 9-15 Ratten pro Gruppe). Nx: Nephrektomie; Ko: Schein-operiert. MWF: Munich-Wistar-Frömter Ratte. +: p<0,05 vs. MWFKo; §: p<0,05 vs. MWFNx;

Dies zeigt, dass man keinen direkten proportionalen Zusammenhang zwischen der Anzahl der Glomeruli und der Kreatinin-Clearance und damit der Nierenfunktion herstellen kann. Es muss also kompensatorische Mechanismen geben, welche den Nephronverlust ausgleichen können. Dieses Phänomen kann man im Kontext der Brenner´schen Hypothese diskutieren.

1969 stellte Bricker <sup>44</sup> einen in diesem Zusammenhang wichtigen Befund dar. Seine sogenannte *Intact-nephron-Hypothese* beinhaltete, dass die Funktion der Niere bei einer Niereninsuffizienz nicht durch viele Nephrone, die in ihrer Funktion zu Teilen beeinträchtigt sind, aufrechterhalten wird, sondern durch einen Pool voll funktionsfähiger oder überfunktionierender Nephrone. Ein sogenanntes *"all or nothing"-Prinzip* <sup>45</sup>. Die stattfindende Kompensation bei Nephronverlust konnte nach dieser Theorie also nur durch eine Hypertrophie/Überfunktion der verbleibenden Nephrone geleistet werden. Pathophysiologisch soll diese Kompensation wie folgt vonstatten gehen:

Eine intraglomerulären Druckerhöhung durch einen chronischen Verlust von Nephronen oder/und einem bestehenden Hypertonus ist für die Niere nun das Signal, dass die vorhandenen Funktionseinheiten die Filtration nicht mehr leisten können: es kommt zu einer glomerulären Hypertrophie, um die Filtrationsfläche der noch funktionsfähigen bzw. vorhandenen Nephrone kompensatorisch zu vergrößern, um die "Mehrarbeit" leisten zu können <sup>96-99</sup>. Diese glomeruläre

Hypertrophie ist zunächst ein physiologischer Adaptionsmechanismus. Dies könnte erklären, warum kein signifikanter Unterschied der Kreatinin-Clearance zwischen der nicht nephrektomierten Wistar-Gruppe und der nicht nephrektomierten MWF-Gruppe besteht, obwohl bei den MWF-Tieren ein chronisches Nephrondefizit von 40% besteht. Eine 5/6 Nephrektomie reduziert die Nephronzahl akut, so dass hier noch keine adäquaten physiologischen Adaptionsmechanismen greifen können. Des Weiteren wird die Zahl der Nephrone bei den 5/6 nephrektomierten MWF-Tieren so stark reduziert, dass diese Adaptionsmechanismen wahrscheinlich nicht mehr greifen würden.

Eine Hyperfiltration und Hypertrophie der noch funktionsfähigen Nephrone könnte demnach das Filtrationsdefizit bis zu einem gewissen Grad kompensieren. Dies bedeutet, dass nicht alleine die Anzahl der Nephrone sondern auch der erhöhte glomeruläre Plasmafluss und der gesteigerte intraglomeruläre Druck, welche für die Hyperfiltration und damit für die Vergrößerung der Filtrationsfläche der einzelnen Nephrone verantwortlich sind, eine wesentliche Rolle spielen <sup>100</sup>. Des Weiteren spielt anscheinend der zeitliche Verlauf des Nephrondefizits eine Rolle bei der Ausprägung einer Niereninsuffizienz bzw. dem Anstieg der Kreatininclearance und deren Progredienz. Die in dieser Arbeit im Weiteren diskutierten histologischen Befunde der Niere untermauern diese Hypothese.

Da bei der Ratte Kreatinin im Gegensatz zum Menschen verstärkt tubulär sezerniert wird, ist eine Aussage über die Nierenfunktion aber nur eingeschränkt möglich.

Die Behandlung der nephrektomierten Tiere mit einem ACE-Hemmer zeigte bei beiden Stämmen eine signifikante Erhöhung der Kreatinin - Clearance im Vergleich zu den nicht behandelten nephrektomierten Tieren und zeigt damit eine deutlich protektive Potenz. Diese protektive Wirkung wurde bereits in mehreren großen Studien beschrieben <sup>101,102</sup>.

Hier ist zu diskutieren, ob die physiologischen Adaptionsmechanismen, welche im weiteren Verlauf der Erkrankung bzw. des Nephronmangels in eine Maladaption mit irreversiblen Schädigungen der restlichen, ursprünglich noch funktionsfähigen Nephronen umschlägt, durch eine ACE-Hemmer Therapie evtl. reduziert werden.

Histologisch sind diese Schädigungen durch Atrophie des tubulären Apparats, interstitielle Fibrose und Glomerulosklerose gekennzeichnet. Pathomechanisch führt nach Brenner die Hyperfiltration und Hyperperfusion der verbliebenen funktionsfähigen Nephrone durch den erhöhten intraglomerulären Druck zu einer Vergrößerung der Glomeruli. Dabei werden die Podozyten geschädigt und Proteinurie, Ablagerungen von Proteinen im Mesangium und schließlich eine irreversible Glomerulosklerose sind die Folgen <sup>100,103-106</sup>. In-vitro-Perfusionsuntersuchungen an isolierten Glomeruli zeigten, dass ein erhöhter intraglomerulärer Druck zur Stimulierung der Kollagenbiosynthese der Glomeruli und zur Glomerulosklerose beitragen kann <sup>53,54</sup>. Der ACE-Hemmer senkt z.B. den intraglomerulären Druck und könnte somit eine weitere Progredienz des Nephronverlustes und damit der Niereninsuffizienz verhindern. Im Weiteren wird diese These histologisch untermauert.

### 4.2 Histologische Veränderungen an der Niere

#### 4.2.1 Glomeruläre Fläche

Die glomeruläre Fläche spielt bei dem Versuch der Niere, einen Nephronverlust zu kompensieren, nach der Hypothese von Brenner wie bereits erwähnt, eine entscheidende Rolle. Nach Brenner kommt es durch einen systemisch gesteigerten Blutdruck sowie eine Hyperfiltration der noch funktionsfähigen Glomeruli zu einer Vergrößerung der Fläche und somit zu einer Vergrößerung der Filtrationskapazität <sup>45</sup>.

In dieser Arbeit konnte diese Hypothese in Abhängigkeit zu der Anzahl funktionsfähiger Nephrone untersucht werden. Die Zunahme der Fläche bei einem Mangel an funktionsfähigen Nephronen stellte sich hier in der Wistar 5/6 Nx-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe sowie in einem hohen Wert der MWF-Kontrollgruppe dar (Abb.12). Die glomeruläre Fläche der Wistar-Ko-Gruppe war denen anderer normotensiver Ratten vergleichbar. Eine 5/6-Nephrektomie führte bei den Wistar-Tieren zu einer signifikanten Zunahme der glomerulären Fläche (Abb. 12). Dies ist als Ausdruck einer Vergrößerung der glomerulären Filtrationsfläche nach akuter Reduktion der Nephronzahl durch 5/6 Nephrektomie bei den Wistar-Tieren im Sinne einer kompensatorischen Hyperfiltration zurückzuführen <sup>45</sup> und unterstützt die Brenner`sche Hypothese.

Es ist bemerkenswert, dass in der MWF-Ko-Gruppe (geschätzte Nephronzahl 60%) im Vergleich zu der Wistar 5/6 Nx-Gruppe (geschätzte Nephronzahl 16%) trotz einer größeren Anzahl von Nephronen die glomeruläre Fläche vergrößert ist. Dies zeigt klar, dass die glomeruläre Fläche nicht alleine von der Anzahl der funktionsfähigen Nephrone sondern auch von anderen Faktoren abhängt. Ein möglicher Faktor ist neben genetischen Stammunterschieden u.a. die Dauer des bestehenden Nephrondefizits. Im MWF-Stamm ist die Nephronzahl bereits zum Zeitpunkt der Geburt bzw. sogar intrauterin reduziert <sup>95</sup>. In der MWF-Ko-Gruppe besteht das Nephrondefizit damit bei Versuchsende seit mindestens 16 Wochen. In der Wistar- Gruppe ist der Nephronmangel erst seit 4 Wo bis zum Versuchsende vorhanden (5/6 Nx in der 12. Woche). Damit besteht das Nephrondefizit bei den MWF-Kontroll-Tieren mindestens 12 Wo länger. Das viermal längere Vorhandensein des Nephronmangels kann deshalb eine mögliche Ursache der vergrößerten glomerulären Fläche trotz erhöhter Nephronzahl (im Vergleich zur Nx-Gruppe) in der MWF-Ko-Gruppe sein. Es zeigt, dass der physiologische Adaptionsmechanismus zwar auch nach einer akuten Reduktion (Vgl. Wistar-Ko und Wistar-Nx) der Nephrone eine Vergrößerung der glomerulären Fläche bewirkt, dieser aber stärker bei einer chronischen Reduktion (MWF-Ko) zur Geltung kommt.

Weiterhin zeigte sich bei der 5/6-Nx-MWF-Gruppe, also der Gruppe mit der geringsten Nephronzahl (geschätzte Nephronzahl 10%), eine signifikant kleinere Fläche gegenüber der MWF-Kontrollgruppe (Abb. 20).



Abbildung 20:\_Glomeruläre Fläche. MWF; 16 Wochen alte Munich-Wistar-Frömter-Ratten; Ko, kontrolloperiert in Woche 12; Nx, 5/6-Nephrektomie in Woche 12; n=8-10.\* signifikant (P<0.05) § signifikant versus MWF Nx

Dies bedeutet, dass ein Zusammenhang zwischen der Abnahme von funktionsfähigen Nephronen und der Zunahme der glomerulären Fläche nur bis zu einer bestimmten unteren Grenze an Nephronen besteht. Darüber hinaus könnte im Rahmen der bereits erwähnten Maladaption mit den entsprechenden histologischen starken Veränderungen eine Schrumpfung durch eine starke Sklerose bis zum völligen Untergang der Glomeruli (Abnahme der glomerulären Größe) der bis dato funktionsfähigen Glomeruli verantwortlich sein.

Die Maladaption, wie auch von Brenner beschrieben, besagt, dass die Vergrößerung (und damit Hyperfiltration) eines Glomerulus nur begrenzt möglich ist <sup>107</sup>. Bei den MWF-Ko Tieren sind die Glomeruli bereits durch den genetischen Nephronmangel und die dadurch chronische Belastung der Nephrone bereits vergrößert, eine weitere "Belastung" (durch akuten Nephronverlust nach 5/6 Nx) des Glomerulus induziert eine beginnende bzw. zunehmende Glomerulosklerose. Diese führt zu einer narbigen Schrumpfung des Glomerulus und die Filtrationsfläche nimmt wieder ab. Es zeigt sich also, dass der Adaptionsmechanismus der Niere, einen Nephronmangel auszugleichen und damit die nötige Filtrationskapazität wieder herzustellen, begrenzt ist. Bei Unterschreitung einer bestimmten Nephronzahl kommt es bei chronisch bestehendem Nephrondefizit zur Größenabnahme der Glomeruli mit letztendlichem Untergang der noch funktionsfähigen Nephrone. Dies ist der zentrale Pathomechanismus des progredienten chronischen Nierenversagens und zeigt sich in unseren Ergebnissen wieder. Bei einem sehr starken Mangel von Nephronen (MWF-Nx-Tieren) ist die Fläche der Glomeruli im Vergleich zu den nicht nephrektomierten MWF-Tieren signifikant verringert. In anderen Abschnitten der Diskussion wird dieser Zusammenhang in anderem Kontext erneut aufgegriffen.

Darüber hinaus bestehen wahrscheinlich relevante genetisch determinierte Unterschiede zwischen der Abhängigkeit von Nephronzahl und der glomerulären Fläche. Um den wahrscheinlichen Einfluss der Dauer des Nephrondefizits auf die glomeruläre Fläche zu klären, könnte in zukünftigen Versuchen ein operativ induzierter Nephronmangel (5/6Nx) bei Wistar-Tieren zu verschiedenen definierten Zeitpunkten über mehrere Monate untersucht werden.

Eine Behandlung mit einem ACE-Hemmer konnte eine signifikante Zunahme der Fläche bei den Wistar-Tieren nicht verhindern. Allerdings zeigte sich bei den mit einem ACE-Hemmer behandelten Tieren im MWF-Stamm gegenüber den unbehandelten Tieren keine signifikante Reduzierung im Vergleich mit den nicht nephrektomierten Tieren, was als protektive Wirkung im Sinne einer verminderten Schrumpfung der Glomeruli zu sehen ist.

Zusammenfassend kann man sagen, dass es durch einen Nephronmangel bzw. Nephronenverlust zu einer Vergrößerung der glomulären Fläche im Rahmen der Brenner'schen Hypothese kommen kann. Diese Größenzunahme der Glomeruli ist aber nicht allein von der Anzahl der zur Verfügung stehenden funktionstüchtigen Nephrone sondern auch von anderen Faktoren abhängig. Ein möglicher Faktor könnte die Dauer des bestehenden Nephrondefizits sein. Des Weiteren ist davon auszugehen, dass es ab einem kritischen unteren Wert der Nephronzahl zu einer Glomerulosklerose mit deutlicher Abnahme der glomerulären Fläche ("Schrumpfung") kommt. Auch hier spielt die Dauer des Nephronmangels eine wesentliche Rolle.

Eine ACE-Hemmer-Behandlung konnte eine Größenzunahme der Glomeruli bei den nephrektomierten Wistar-Tieren nicht verhindern. Die Verhinderung der Schrumpfung der Glomeruli bei den behandelten nephrektomierten MWF-Tieren im Vergleich zu den nicht behandelten Tieren könnte aber als morphologisches Korrelat der nephroprotektiven Wirkung zu sehen sein.

Weiteren experimentellen Untersuchungen bleibt es vorbehalten, die genaue Bedeutung der Dauer des Nephronmangels zu klären.

### 4.2.2 Glomerulosklerose

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit einer Abnahme der funktionsfähigen Nephronzahl eine Zunahme der Glomerulosklerose einhergeht. Die Wistar-Ko- Gruppe lag signifikant unter dem Glomerulosklerose-Index der 5/6-Nx-Wistar-Gruppe. Ebenso konnte eine Zunahme der glomerulären Sklerose bei der 5/6 Nx-MWF-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse wurden 2001 von Woods veröffentlicht, der bei einseitig neonataler Nephrektomie bei Ratten ebenfalls die Entstehung einer fokalen Glomerulosklerose sowie eine Zunahme des glomerulären Volumens, eine Proteinurie und einen Hypertonus beschrieb <sup>108</sup>. Dies kann man im Rahmen der Hypothese von Brenner diskutieren. Nach Brenner kommt es durch die Hyperfiltration und Hyperperfusion der verbliebenen funktionsfähigen Nephrone durch den erhöhten intraglomerulären Druck zu einer Vergrößerung der Glomeruli. Pro Nephron findet dann eine erhöhte Ultrafiltration statt <sup>94,109,110</sup>, d.h. die Filtration jedes einzelnen Nephrons, engl. "*single nephron glomerular filtration rate*" (SNGFR), nimmt zu.

Dabei werden die Podozyten geschädigt und Proteinurie, Ablagerungen von Proteinen im Mesangium und schließlich eine irreversible Glomerulosklerose sind die Folgen <sup>49</sup>.

Dieser hämodynamische Mechanismus stellt initial eine Anpassungssituation dar, mit der die Niere auf die Reduktion der Nephrone reagiert, was später in einem "*final common pathway*" <sup>45,111</sup> zu glomerulärer Schädigung mit weiterem Nephronverlust führen kann <sup>112</sup> und was dann einen Teufelskreis unterhält.

Der Pathomechanismus stellt sich wie folgt dar:

Teilungsunfähige postmitotische Podozyten sind das Hauptziel glomerulärer Schädigung. In großen bzw. hyperfiltrierten Glomeruli muss deshalb jeder einzelne Podozyt eine immer größere Fläche der Basalmembran bedecken. Der Podozyt ist ab einer gewissen Fläche nicht mehr in der Lage, die Basalmembran komplett zu bedecken, es kommt zur Bildung von Synechien durch Verklebung der Basalmembran mit dem parietalen Blatt der Bowman-Kapsel. Des Weiteren kommt es durch eine Schädigung glomerulärer Epithelzellen zu einem Verlust elektrostatischer und mechanischer Schranken. Durch die Unterbrechung dieser Schranken (Filtrationsschlitze und Schlitzdiaphragmen) gelangen große Mengen an Plasmaproteinen in das Glomerulofiltrat. Proteinurie und eine Glomerulosklerose sind die Folgen <sup>49,113</sup>.

Pathophysiologisch bewirkt die hämodynamischen Veränderung, dass die renale Autoregulation gestört ist <sup>114,115</sup>. Die Kapillardrücke passen sich in schädlicher Weise dem systemischen Blutdruck an.

Diese Anpassung nach einem Nephronverlust resultiert aus einer Widerstandsabnahme im *Vasa afferens* und *-efferens* der Niere. Da im Verhältnis die Reduktion des Widerstandes im Vasa afferens größer ist als im *Vasa efferens*, erhöht sich der hydrostatische Druck in den Kapillaren. Dadurch wiederum steigt der glomeruläre Plasmafluss in den restlichen noch funktionsfähigen Nephronen und führt in diesen zu einer Erhöhung der SNGFR <sup>110</sup>.

Durch die Erhöhung des intraglomerulären Drucks kommt es zur Arteriosklerose und einer Verengung des *Vasa afferens*. Diese relative Stenose des *Vasa afferens* kommt dem Effekt einer Nierenarterienstenose gleich und erhöht über eine RAS-Aktivierung auch den systemischen Blutdruck.

Wir konnten zeigen, dass es zwischen dem systolischen Blutdruck und der Entstehung einer Glomerulosklerose (r=0,597; p<0,002) ein signifikanter Zusammenhang besteht (Abb. 21).



Abbildung 21: Korrelation zwischen dem systolischen Blutdruck (SBP) und der Glomerulosklerose (n=21)

Des Weiteren bewirkt die Druckerhöhung in den Kapillaren der verbleibenden funktionsfähigen Glomeruli eine Zunahme des Partikelflux über die Zellmembranen. Dies trägt unter anderem zum Übertritt von Proteinen ins Ultrafiltrat bei, so dass bereits eine glomeruläre Druckerhöhung eine Proteinurie begünstigt <sup>116</sup>.

Die Filtrationsbarriere besteht aus den glomerulären Endothelzellen, einer hauptsächlich kollagenen Schicht und den Podozytenfüßchen. Das exakte Zusammenspiel der Kräfte und Mechanismen ist hier bisher noch nicht geklärt.

Bekannt ist, dass die Größe und Ladung der Proteine sowie die Permeabilität der Barriere Faktoren sind, von denen ein Übertritt von Proteinen über die glomeruläre Filtrationsbarriere abhängt.

In einem funktionierenden Tubulussystem können Proteine, insbesondere kleine, aus dem Ultrafiltrat rückresorbiert werden. Ist die Kapazität der Tubuluszellen überschritten bzw. sind diese geschädigt, kommt es zu einer Proteinurie. In renalen Ablationsmodellen kommt es regelmäßig nach der Nephrektomie zu einer Proteinurie <sup>109,117</sup>.

Macconi zeigte bereits, dass initial eine funktionelle Veränderung der Membran zunächst ohne strukturelle Änderung stattfindet <sup>92</sup>. Proteinfehlfunktionen in der Membran der glomerulären Barriere werden hier für eine erhöhte Proteinausscheidung verantwortlich gemacht <sup>92</sup>.

Durch die Druckerhöhung in den glomerulären Kapillaren kommt es zu einer Erweiterung der Poren der Membran <sup>76</sup>, was im weiteren Verlauf zu strukturellen Schäden führt <sup>40,76,118</sup>.

Hierbei könnte die Zunahme der Glomerulären-Fläche durch die Erhöhung des intraglomerulären Drucks eine wichtige Rolle spielen.

Unsere Ergebnisse zeigen signifikante Zusammenhänge zwischen der Entstehung einer Glomerulosklerose und der Proteinurie (r=0,657; p<0,014) bzw. der Zunahme der glomerulären Fläche (r=0,457; p<0,012) (Abb. 23/24).



Abbildung 22: Korrelation zwischen der glomerulären Fläche und der Proteinurie (n=11)



Abbildung 23: Korrelation zwischen der Glomerulosklerose und der glomerulären Fläche (n=24).

Durch die Proteinurie kommt es zu einer Schädigung der Zellstruktur sowie zu einer Sklerose. Oxidative Prozesse an den Membranproteinen stellen hier eine mögliche Erklärung dar <sup>92</sup>.

Der genaue Mechanismus dabei bezieht sich immer wieder auf Entzündungsprozesse und Wachstumsfaktoren und ist Gegenstand aktueller Forschung <sup>112</sup>.

Die Glomerulosklerose ist somit unter anderem das Resultat einer strukturellen und funktionellen Fehlfunktion der Niere, welche eine Proteinurie begünstigt.

Unsere Ergebnisse zeigen diese Abhängigkeit deutlich. In unseren Untersuchungen korreliert das Ausmaß der Glomerulosklerose gut mit der Höhe der Albuminurie (r=0,788; p<0,001) und der Proteinurie (r=0,852; p<0,000).



Abbildung 24: Korrelation zwischen der Proteinurie und der Glomerulosklerose (n=11).

Durch die Glomerulosklerose selbst aber steigt wiederum der intraglomeruläre Druck <sup>109</sup>, weil die Elastizität der Gefäße abnimmt. Diese weitere Drucksteigerung führt wiederum zu einer Zunahme der Proteinurie, was letztlich in einem Circulus vitiosus endet und als eine Erklärung für die Progredienz einer Nierenfunktionsstörung zu sehen ist.

Die Entstehung einer Glomerulosklerose ist allerdings nicht ausschließlich auf den oben beschriebenen Pathomechanismus zurückzuführen.

In-vitro-Perfusionsuntersuchungen an isolierten Glomeruli zeigten, dass schon alleine ein erhöhter intraglomerulärer Druck zur Stimulierung der Kollagenbiosynthese der Glomeruli und damit zur Glomerulosklerose beitragen kann<sup>53,54</sup>.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass nicht alleine die Anzahl der Nephrone und damit auch die "Mehrbelastung" der einzelnen noch funktionsfähigen Nephrone ausschlaggebend für die Stärke der Glomerulosklerose sind.

Da die MWF-Ko-Gruppe mit einer geschätzten Anzahl ND 0.60 funktionsfähiger Nephrone einen ähnlich hohen Glomeruloskleroseindex aufweist wie die 5/6-Nx-Wistar-Gruppe mit einer geschätzten Anzahl von ND 0,16% funktionsfähigen Nephronen, muss man davon ausgehen, dass auch andere Faktoren bei der Ausbildung einer Glomerulosklerose eine Rolle spielen. Ähnlich wie in der Diskussion zur glomerulären Fläche kann auch für die Glomerulosklerose der zeitliche Verlauf der glomerulären Mehrbelastung ein entscheidender Faktor sein. Man muss bei der MWF-Gruppe von einem eher chronischen Verlauf bzw. längeren Verlauf der Mehrbelastung ausgehen, da der Nephronmangel (und damit auch eine erhöhte glomeruläre "Filtrationslast") schon intrauterin manifest ist <sup>95</sup>. Diese zusätzliche "Filtrationslast" wird bei der Wistar-Nx-Gruppe erst ab der 12. Lebenswoche wirksam. Wie schon bei der Diskussion der glomerulären Fläche beschrieben, kann die Dauer der bestehenden "Filtrationslast" an den funktionsfähigen Nephronen eine mögliche Ursache für die sklerotischen Veränderungen sein. Je länger diese Mehrbelastung besteht, desto ausgeprägter ist die Entwickelung einer Glomerulosklerose.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass bei der Entwicklung einer Glomerulosklerose die Anzahl der Nephrone und die damit verbundene Hyperfiltration eine wichtige Rolle spielen. Es existieren aber Stammunterschiede und die Dauer der Mehrbelastung der Glomeruli sowie die Stärke der Albuminurie/Proteinurie und die Höhe des systolischen Blutdrucks leisten einen nicht unwesentlichen Beitrag zur Entstehung der Glomerulosklerose.

### 4.2.3 TDI

Der TDI setzt sich aus verschiedenen Kriterien zusammen. Die Parameter der Schädigung für die Tubuli sind die Atrophie des Epithels, Zylinder in den Tubuli und die Dilatation der Tubuli, für das Interstitium die Infiltration von inflammatorischen Zellen in das Interstitium und die interstitielle Fibrosierung.

Die Ermittlung des TD-Index zeigte ein ähnliches Ergebnis wie das der Glomerulosklerose. Hier konnte, ähnlich wie bei der Glomerulosklerose, ein Zusammenhang zwischen der Anzahl an funktionsfähigen Nephronen und der Erhöhung der tubulointerstitiellen Schädigung aufgezeigt werden. Wie von Adamzyk 2003 beschrieben, stieg der TDI bei den nephrektomierten Tieren signifikant gegenüber der jeweiligen Kontrollgruppe an <sup>119,</sup> d.h. je geringer die Anzahl der funktionsfähigen Nephrone ist, desto höher stellt sich der TDI als Zeichen einer tubulointerstitiellen Schädigung innerhalb der einzelnen Gruppen dar. Allerdings zeigte sich auch hier, dass nicht alleine die Anzahl der Nephrone entscheidend für die Ausprägung der tubulointerstitiellen Schädigung ist. Da schon bei der MWF-Ko-Gruppe (ND 0,60) ein ähnlich hoher TDI wie die 5/6-Nx-Wistar-Gruppe (ND 0,16) festgestellt werden konnte, muss man auch hier davon ausgehen, dass zum einen die Dauer der renalen Schädigung bzw. die Zeit zwischen dem Verlust von Nephronen und der Entwicklung der Schädigung einer tubulointerstitiellen Schädigung geben könnte. Unklar bleibt weiterhin, ob es sich bei der tubulointerstitiellen Schädigung um einen sekundären Prozess im Rahmen der Schädigung der Glomeruli oder eine direkte Veränderung durch die quantitative Veränderung der tubulären Transportmechanismen bei glomerulärer Hyperfiltration handelt. Es wird aktuell diskutiert, dass die Hypertrophie der tubulären Zellen, wie sie bei der glomulären Hyperfiltration als Bedarfsadaption zur gesteigerten Rückresorption des Filtrats besteht, über verschieden Mechanismen mit zu einem Anstieg des TDI beitragen. Hier stehen vor allem die vermehrte Produktion von Endothelin und Angiotensin II (stimuliert die Produktion unter anderem von TGF $\beta$ ), der hypertrophierten Tubuluszellen sowie chemotaktischer Faktoren (RANTES, MCP-1, PDGF  $\rightarrow$  Einwanderung von Makrophagen und T-Lymphozyten) im Mittelpunkt der Diskussion <sup>52,120,121</sup>. Weiterhin werden der erhöhte Sauerstoffverbrauch und die vermehrte Bildung von Ammoniak in den hypertrophierten Zellen diskutiert <sup>46,122</sup>. Diese Faktoren führen direkt oder indirekt zu einer gesteigerten Aktivität und Proliferation ortsständiger Fibroblasten und Myofibroblasten, die letztendlich für die bindegewebige Umwandlung verantwortlich sind.

Festzustellen bleibt, dass die Entwicklung einer Glomerulosklerose und die Entwicklung der tubulointerstitiellen Schädigung in den verschieden Gruppen einen ähnlichen Verlauf nahmen. Es zeigten sich, ähnlich wie bei der Glomerulosklerose, signifikante Zusammenhänge zwischen dem TDI und dem systolischen Blutdruck (r=0,787; p<0,000), dem TDI und der Proteinurie (r=0,729; p<0,005), dem TDI und der Albuminurie (r=0,657; p<0,010). Es konnte allerdings kein signifikanter Zusammenhang zur glomerulären Fläche gezeigt werden.

Zusammenfassend können wir aus unseren Befunden schließen, dass die Entwicklung der tubulointerstitiellen Schädigung innerhalb der einzelnen Gruppen eine Abhängigkeit zu der Nephronzahl aufzeigt, jedoch auch der längere zeitliche Verlauf des Nephronmangels und damit eine längere kompensatorische Mehrbeanspruchung des Nephrons im Rahmen der Hyperfiltration der einzelnen noch funktionsfähigen Nephrone eine Rolle spielen. Stammunterschiede könnten ebenfalls dazu beitragen. Wie bei der Glomerulosklerose führt die Dauer der Mehrbeanspruchung der einzelnen noch funktionsfähigen Nephrone zu einer stärkeren Schädigung der Tubuli.

### 4.2.4 Interstitielle Fibrose der Niere

Unsere Ergebnisse zeigen, dass es bei einer Abnahme der Nephronzahl zu einem Anstieg der interstitiellen Fibrose kommt. Der Verlauf der interstitiellen fibrotischen Veränderungen zeigte zunächst einen linearen Anstieg mit der Reduktion der Nephronzahl. Es zeigte sich ein kontinuierlicher Anstieg von der Wistar-Ko-Gruppe über die MWF-Ko-Gruppe bis zu der Wistar-5/6-Nx-Gruppe. Bei einem Unterschreiten der Grenze von ND 0,16 funktionsfähiger Nephrone zeigte sich ein sehr starker und nicht mehr linearer Anstieg der interstitiellen Fibrose, die in dem Wert der MWF-Nx Gruppe sich widerspiegelt (Abb. 14). Da ein ähnlicher Verlauf auch bei der Schädigung des tubuläreninterstitiellen Abschnitte festgestellt werden konnte (Abb. 15), kann man durchaus einen direkten Zusammenhang zwischen der tubulointerstitiellen Schädigung und dem bindegewebigen Umbau des Interstitiums herstellen. Zum einen sieht man in der gesteigerten Proteinurie eine Ursache des tubulären und interstitiellen Umbaus <sup>121</sup>. Zum anderen wird aktuell diskutiert, dass die Hypertrophie der tubulären Zellen, wie sie bei der glomulären Hyperfiltration als Bedarfsadaption zur gesteigerten Rückresorption des Filtrats besteht, wie schon bei der tubulointerstiellen Schädigung über verschieden Mechanismen mit zu einer interstitiellen Fibrose beitragen. Vor allem die vermehrte Produktion von Endothelin und Angiotensin II (stimuliert die Produktion von TGFβ) der hypertrophierten Tubuluszellen sowie chemotaktischer Faktoren (RANTES, MCP-1, PDGF → Einwanderung von Makrophagen und T Lymphozyten) stehen hier wie schon im Abschnitt 4.2.3 erwähnt im Mittelpunkt der Diskussion <sup>52,120,121</sup>. Der erhöhte Sauerstoffverbrauch und die vermehrte Bildung von Ammoniak in den hypertrophierten Zellen ist ebenfalls Inhalt der momentan geführten Diskussion <sup>46,122</sup>. Diese Faktoren führen direkt oder indirekt zu einer gesteigerten Aktivität und Proliferation ortsständiger Fibroblasten und Myofibroblasten, die letztendlich für die bindegewebige Umwandlung verantwortlich sind.

Es konnte gezeigt werden, dass es, ähnlich wie schon bei der Glomerulosklerose und dem TDI, signifikante Zusammenhänge zwischen der interstitiellen Schädigung der Niere zu der Proteinurie (r=0,589; p<0,001), zu der Albuminurie (r=0,594; p<0,001) und zu dem systolischen Blutdruck gibt.



Abbildung 25: Zusammenhang zwischen dem systolischen Blutdruck und der interstitiellen Fibrose der Niere (n=37).



Abbildung 26: Zusammenhang zwischen der Proteinurie und der interstitiellen Fibrose der Niere (n=24).

Zusammenfassend zeigt sich, dass eine Abnahme der Nephronzahl mit einem Anstieg der interstitiellen Fibrose einhergeht. Dieser Anstieg zeigt einen ähnlichen Verlauf wie der Anstieg der tubulointerstitiellen Schädigung und korreliert mit diesem gut (r=0,705; p<0,000). Der Anstieg der Fibrose nimmt linear mit dem Verlust an Nephronen zu, bis ein gewisser Schwellenwert erreicht ist und steigt danach sehr stark an. Ursachen dafür können sowohl in dem glomerulären Schaden und der damit verbundenen Proteinurie, der Hypertrophie tubulärer Zellen und der damit verbunden Aktivierung von Fibroblasten sowie der geänderten Stoffwechsellage der hypertrophierten Zellen gesehen werden.

# 4.3 Kardiale und hämodynamische Veränderungen

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Auswirkung der Niereninsuffizienz auf Veränderungen des kardiovaskulären Systems.

Die Erhöhung der kardiovaskulären Mortalität wurde in zwei großen epidemiologischen Studien in einen direkten Zusammenhang mit einer verminderten Nierenfunktion bzw. reduzierten Nephronzahl beschrieben. Die HOORN-Studie zeigte eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität die mit der Abnahme der errechneten GFR in der Normalpopulation ansteigt <sup>123</sup>. Ähnliche Ergebnisse zeigte die HOPE-Studie. In einer Studie von Mann konnte eine starke Korrelation zwischen einem Patientenkollektiv mit kardiovaskulärem Risikoprofil und dem Serumkreatininspiegel gezeigt werden <sup>124</sup>.

Daten unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass es in Abhängigkeit der noch funktionsfähigen Nephrone (genetisch bedingt, wie auch durch 5/6-Nephrektomie) zur Entwicklung eines Nierenversagens mit deutlichem Anstieg der serologischen Retentionsparameter kam. Parallel stieg der systolische Blutdruck auf teils schwere hypertensive Werte an. Es entwickelte sich eine deutliche Zunahme vor allem des linksventrikulären Gewichtes, welches durch die Zunahme des Verhältnisses von Herzgewicht zu Körpergewicht widergespiegelt wird.

Es konnte also eine signifikante Korrelation zwischen der Nephronendosis und Kreatininclearance, der Nephronendosis und des LV-Gewichts als auch zwischen der Nephronendosis und der Zunahme des systolischen Blutdrucks gezeigt werden.

Die vorgelegte Arbeit zeigt Veränderungen des links ventrikulären Interstitiums in Abhängigkeit von der Nephronzahl.

### **4.3.1 Systolischer Blutdruck**

Schon in den 80iger Jahren konnte man Zusammenhänge zwischen der Anzahl der Glomeruli und dem systolischen Blutdruck herstellen.

Bereits 1988 postulierten Brenner et al. die Hypothese, dass ein bereits bei der Geburt bestehender Mangel an Glomeruli (fetale "*Nephron-Unterdosing*") einen Bluthochdruck im erwachsenen Organismus zu Folge haben kann <sup>19</sup>. Einer der Ausgangspunkte der Brenner-Hypothese war die von Osmond und Barker gemachte Beobachtung, dass sich bei Individuen mit einem niedrigen Geburtsgewicht später als Erwachsene gehäuft Bluthochdruck und kardiovaskuläre Erkrankungen ausbilden können <sup>62</sup>. Eine zentrale Rolle spielt hierbei die verminderte Zahl von Glomeruli bei Geburten mit niedrigem Gewicht, die in weiteren Veröffentlichungen bestätigt wurden. Dieses Phänomen wird "fetale Programmierung" genannt <sup>125-127.</sup>

Die Brenner-Hypothese wurde am beeindruckendsten in einer 2003 publizierten Arbeit von Keller et al. <sup>21</sup> bestätigt. Hier wurden Autopsien von 10 Nieren von hypertensiven Unfallopfern und 10 Nieren normotensiver Kontrollindividuen untersucht. Die Individuen mit Bluthochdruck hatten 50% weniger Glomeruli pro Niere als die entsprechenden normotonen Kontrollen.

Die Ursachen für eine verminderte Nephronzahl sind in ihrer Genese nicht von entscheidender Bedeutung. Es kann sowohl eine operative Reduktion der Nierenmasse, ein degenerative Glomerulosklerose sowie eine kongenitale Oligonephronie zugrunde liegen.

Bisher ist noch nicht eindeutig geklärt, in welcher quantitativen Relation der Anstieg des systolischen Blutdrucks zu der Anzahl der funktionsfähigen Nephrone steht. Die Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass mit einer Abnahme der Nephronzahl (sowohl durch genetische als auch durch operative Manipulation) ein stetiger Anstieg des Blutdrucks einhergeht.



Abbildung 27: Abhängigkeit des systolischen Blutdrucks zur Anzahl der funktionsfähigen Nephrone.

Diese Ergebnisse stimmen mit einer Reihe ähnlicher Untersuchungen überein und bestätigen diese. Anzuführen sind hier vor allem die Arbeiten von Kennedy 2003<sup>128</sup>, Remuzzi 1995<sup>90</sup> und 1998<sup>51</sup> sowie Fassi 1998<sup>94,</sup> bei denen ebenfalls in Rattenmodellen ein Anstieg des Blutdrucks bei gleichzeitiger Abnahme der funktionsfähigen Nephrone beschrieben wurde. Der Anstieg des Blutdrucks bei einem entsprechenden Verlust von Nephronen liegt bei den verschiedenen Rattenmodellen in diesen Arbeiten etwa in dem Bereich unserer Ergebnisse. Hier zeigte sich ein Anstieg des Blutdrucks bei den 5/6 Nx gegenüber den entsprechenden Kontrollgruppen. Die Differenz bei dem nephrektomierten unbehandelten Wistar-Stamm lag hier um 63 mmHg höher als bei der Kontrollgruppe. Bei dem MWF-Stamm war der Blutdruck der 5/6-Nx gegenüber der Kontrollgruppe um 78 mmHg erhöht.

Des Weiteren zeigten sich deutliche Zusammenhänge zwischen dem systolischen Blutdruck und den histologischen Veränderungen an der Niere im Sinne einer renalen Schädigung.

Diese Arbeit zeigt signifikante Korrelationen zwischen dem SBP und der interstitiellen Fibrose an der Niere (r=0,612; p<0,000), zwischen dem SBP und der Glomerulosklerose (r=0,597; p<0,002) und zwischen dem SBD und dem tubulointerstitiellen-damage-Index (TDI) (r=0,787; p<0,000).



*Abbildung 28:* Korrelation zwischen dem systolischen Blutdruck (SBP) und der interstitiellen Fibrose an der Niere (n=37)

Dies macht deutlich, wie eng die renale Schädigung und der systolische Blutdruck zusammenhängen und sich gegenseitig beeinflussen.

Die Gabe eines ACE-Hemmers konnte den Blutdruck bei den 5/6 Nx sogar leicht unter den Druck der Kontrolltiere senken. Gleichzeitig erhöhte das Medikament die Kreatininclearance deutlich und senkte somit den Plasmakreatininspiegel.

In einer Arbeit von Ots et al. zeigte eine Gruppe 5/6-nephrektomierter Ratten, denen zusätzliches Nierengewebe transplantiert worden war, eine deutliche Senkung des zuvor erhöhten Blutdruckes <sup>129</sup>. Als Ursache der Blutdrucksenkung wurde hier ebenfalls der enge Zusammenhang zwischen Nephronzahl und Höhe des Blutdrucks diskutiert.

# 4.3.2 Linksventrikuläre Hypertrophie

Ein weiterer wichtiger Punkt sind die kardialen Veränderungen bei einer Reduzierung der funktionsfähigen Nephronzahl.

Linksventrikuläre Veränderungen und vor allem die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) sind bei Patienten mit einer progredienten cNI eine der schwerwiegendsten und häufig lebenslimitierenden Komplikationen. Kardiovaskuläre Komplikationen sind bei Patienten im Endstadium der cNI zu 40% die Todesursache <sup>130</sup>. Hierbei spielen der Herzinfarkt, das Herzversagen und die Kardiomyopathie die Hauptgründe der Todesursachen kardialer Genese bei ESRD <sup>131-134</sup>.

Die häufigste und früheste kardiale Komplikation einer progredienten cNI ist die linksventrikuläre Hypertrophie <sup>135</sup>, die zugleich ein unabhängiger Prognosefaktor für die kardiovaskuläre Mortalität darstellt <sup>124,136</sup>. Es liegen ebenfalls Daten vor, die zeigen, dass beim Menschen die LVH mit dem Schweregrad der präterminalen cNI assoziiert ist <sup>135,137</sup>.

Noch nicht geklärt ist, ob auch ein quantitativer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß LVH (der kardialen Veränderungen) und der Anzahl funktionstüchtiger Nephrone existieren.

Unsere Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass sich sowohl bei einer genetisch verminderten Nephronzahl als auch bei einer Reduktion der Nephronzahl durch eine 5/6 Nx eine LVH entwikkelt. Hierbei zeigte sich, dass die Ausprägung der LVH umso stärker ist, je weniger funktionsfähige Nephrone vorhanden sind.

Die Ursache des Nephronverlustes spielt hier anscheinend keine Rolle.

Die Erkenntnisse bestätigen Ergebnisse mehrerer Arbeitsgruppen, nach denen die Entwicklung einer LVH am Modell der 5/6-Nx ebenfalls nachgewiesen werden konnten <sup>128,138</sup>.

Der quantitative Zusammenhang zwischen der Anzahl funktionsfähiger Nephrone und LVH stellt sich analog zu unseren Ergebnissen zwischen dem systolischen Blutdruck und der funktionsfähigen Nephronzahl dar. Dies lässt auf eine starke Abhängigkeit zwischen der Höhe des Blutdrucks und der Entstehung einer LVH schließen.



Abbildung 29: Korrelation zwischen dem systolischen Blutdruck (SBP) und dem linksventrikulären Gewicht/Körpergewicht (LV/BW) (n=73).

Weiterhin unklar bleibt allerdings, inwieweit die Einflüsse nicht-hämodynamischen Faktoren eine Rolle bei der Entwicklung einer LVH spielen. Hier gibt es experimentelle Ansätze unter der Hypothese der urämischen Kardiomyopathie, in der urämiespezifische Faktoren, unabhängig von dem Blutdruck, verantwortlich gemacht werden <sup>139,140</sup>.

Zu diesen Faktoren gehört die renale Anämie <sup>141</sup>, eine Störung des Kalzium-Haushaltes durch Vitamin-D-Mangel und sekundärer Hyperparathyreoidismus <sup>142,143</sup>, Störung durch Zunahme des oxitativen Stresses <sup>144-146</sup>, endotheliale Dysfunktionen <sup>8,147-149</sup>, zirkulierende endotheliale Zellen <sup>150-152</sup>, reduzierte Verfügbarkeit von NO <sup>153</sup>, ein lokal aktiviertes RAS <sup>154</sup> und Endothelin-System <sup>155-157</sup> und ein erhöhter Sympatikotonus <sup>158</sup>.

Unveröffentlichte Daten unserer Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass die cNI in dem untersuchten Tiermodell der 5/6-Nx zu keiner relevanten renalen Anämie bei Ratten führt (Die Rücksprache mit der AG Eckart in Nürnberg/Erlangen bestätigt diesen Befund). Sie wurde daher in unseren Untersuchungen nicht berücksichtigt. Andere genannte Faktoren waren nicht Teil des Versuchsaufbaus dieser Arbeit und wurden daher nicht direkt (auf ihre spezifische Wirkung) untersucht. Sie werden Inhalt weiterer experimenteller Untersuchungen der Arbeitsgruppe sein.

Die Gabe von Ramipril konnte die Entwicklung einer LVH über das stammspezifische Niveau hinaus verhindern. Die Regression der LVH durch Ramipril erfolgte trotz der Tatsache, dass die untersuchten Tiere beider Stämme nachweislich Niedrigreninmodelle sind. Daher ist zu vermuten, dass der Effekt von Ramipril auch durch direkte antiproliferative Einflüsse auf lokales Aldosteron und ATII im Myokard zustande kommt <sup>65</sup>.

Solche über die reine Blutdrucksenkung hinausgehenden Effekte von Ramipril auf die Regression der LVH konnten außerdem am experimentellen Modell <sup>138</sup> sowie an Patienten mit cNI <sup>159-161</sup> und in der HOPE-Studie gezeigt werden.

Sie sind Hinweis dafür, dass die LVH bei cNI partiell unabhängig von der Blutdruckerhöhung entsteht.

Des Weiteren zeigt diese Arbeit Zusammenhänge zwischen der LVH und histologischen Veränderungen der Niere als Ausdruck einer renalen Schädigung. Signifikante Korrelationen bestanden zwischen der LVH und der Glomerulosklerose (r=0,653; p<0,000); der LVH und der interstitiellen Fibrose (r0560; p<0,000) und der LVH und dem tubulointerstitiellen-damage-Index (TDI) (r=0,781; p<0,000)



**Abbildung 30:** Korrelation zwischen der Glomerulosklerose und dem linksventrikulären Gewicht/Körpergewicht (LV/BW) (n=24).

### 4.3.3 Kardiale histologische Veränderungen

Schon in den frühen 40iger Jahren wurde ein Anstieg der intermyozytären Fibrose bei renalem Versagen beschrieben. Diese Erkenntnis wurde durch verschiedene Kurz- und Langzeitstudien bei experimentalem Nierenversagen <sup>140</sup> und urämischen Patienten <sup>162</sup> bestätigt. Für die Entstehung einer myokardialen Fibrose werden sowohl hämodynamische sowie nicht-hämodynamische Faktoren verantwortlich gemacht <sup>8,163</sup>. Zu den hämodynamischen Faktoren zählen der Hypertonus und die konsekutive LVH. Unsere Ergebnisse zeigen, dass diese Aussage zwar eine Gültigkeit innerhalb der einzelnen Stämme besitzt, jedoch nicht verallgemeinert werden kann. Es zeigte sich zwar innerhalb der einzelnen Stämme ein Anstieg des SBP sowie einer Vergrößerung des linken Ventrikels. Jedoch haben der Anstieg des SBP und die LVH durch eine Verminderung der Nephronzahl innerhalb der einzelnen Stämme verschieden starken Einfluss auf die Entwicklung einer interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel (Abb. 31).

Es zeigte sich, dass die Fibrose der MWF-Gruppen deutlich unter der Fibrose der entsprechenden Wistar-Tiere lag, obwohl diese sowohl eine geringere Nephronzahl, einen höheren SBD und eine stärkere Hypertrophie des linken Ventrikels aufwiesen.



Abbildung 31: Darstellung der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel in Abhängigkeit zu dem linksventrikulären Gewicht/Körpergewicht (n=40).

Es lässt sich nun diskutieren, ob es eventuelle adaptive Mechanismen gibt, die bei chronischer Belastung einen gewissen protektiven Schutz ausüben (höhere Drucktoleranz) oder ob genetische Unterschiede als Ursache für dieses Ergebnis anzusehen sind. Ein weiterer Punkt könnte auch in den nicht-hämodynamischen Faktoren gesehen werden. Hier werden sowohl Fibrose stimulierende als auch inhibirende Faktoren diskutiert. Zu den stimulierenden Faktoren zählen unter anderem Angiotensin II, Endothelin I, Katecholamine, Aldosteron, basic fibroblast growth faktor, insulin like growth faktor etc., zu den inhibirenden Faktoren zählen unter anderem Prostaglandine, nitric oxide, natriuretische Peptide ect. <sup>164</sup>, Angiotensin II stimuliert die Proliferation von Fibroblasten <sup>165</sup>.

Aufgrund dieser stammspezifischen Unterschiede verglichen wir die einzelnen Parameter mit der perivaskulären und interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel nur innerhalb der einzelnen Stämme miteinander.

Bei den Wistar-Tieren zeigte sich, dass es eine positive Korrelation zwischen der glomerulären Fläche und der interstitiellen Fibrose (r=0,675; p<0,008)(Abb.) sowie zwischen der glomerulären Fläche und der perivaskulären Fibrose (r=0,607; p<0,018) am linken Ventrikel gab. Dies zeigt, dass es zum einen bereits im Stadium der kompensatorischen Hyperfiltration zu einer kardialen Schädigung kommt und dass das Ausmaß der fibrotischen Veränderung am linken Ventrikel gut mit der Intensität der kompensatorischen Hyperfiltration an den noch funktionsfähigen Glomeruli einhergeht.



Abbildung 32: Korrelation zwischen der glomerulären Fläche und der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel bei dem Wistar-Stamm (n=12).

Die Albuminurie als Ausdruck einer Schädigung der Filtrationsbarriere, welche durch eine Schädigung der Podozyten und der Epithelzellen im Rahmen der Hyperfiltration des Glomerulum zu erklären ist <sup>100,103,104,106</sup>, zeigt ebenfalls eine positive Korrelation zu der interstitiellen Fibrose (r=0,504; p<0,02) und der perivaskulären Fibrose (0,470; p<0,029).

Des Weiteren zeigte sich bei den Wistar-Tieren eine positive Abhängigkeit zwischen der Schädigung der Nephrone, aufgezeigt durch die tubulointerstitielle Schädigung und die Glomerulosklerose und der perivaskulären und interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel. Hierbei zeigte der TDI als Zeichen einer tubulointerstitiellen Schädigung sowohl zu der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel(r=957; p<0,000), wie auch zu der perivaskulären Fibrose am linken Ventrikel (r=0,762; p<0,002) eine noch stärkere positive Korrelation als die glomeruläre Schädigung, welche sich im Vergleich der Glomerulosklerose zur interstitiellen Fibrose (r=0,675; p<0,008) und zur perivaskulären Fibrose am linken Ventrikel (r=0,617; p<0,017) festmachen ließ.



*Abbildung 33:* Korrelation zwischen dem tubulointerstitiellen damage Index und der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel bei dem Wistar-Stamm (n=12).

Das Gleiche zeigte sich auch bei der interstitiellen Schädigung der Niere, hier gemessen an der interstitiellen Fibrose der Niere und der interstitiellen Fibrose (r=0,529; p<0,008) bzw. perivaskulären Fibrose (r=0,418; p<0,034) am linken Ventrikel.

Die Einschränkung der Filtrationskapazität der Niere, welche sich in einer erhöhten Kreatinin Clearance widerspiegelt, war umgekehrt zu den Herzparametern interstitieller Fibrose (r=-0,755; p< 0,000) und zu der perivaskulären Fibrose (r=-0,559; p<0,012) abhängig. D.h. je geringer die Kreatinin Clearance als Zeichen eines renalen Funktionsverlust war, desto stärker zeigte sich eine kardiale Fibrose als Zeichen einer kardialen Schädigung.



Abbildung 34: Korrelation zwischen der Kreatinin Clearance und der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel bei dem Wistar-Stamm (n=16).
In der vorgelegten Arbeit konnten wir aufgrund dieser Ergebnisse zeigen, dass es einen direkten Zusammenhang zwischen den histologischen Veränderungen am linken Ventrikel und den verschiedenen Veränderungen an der Niere, welche sowohl funktionelle Aspekte wie die Albuminurie und die Kreatinin Clearance wie auch histologische Aspekte wie die Veränderung der glomerulären Größe im Rahmen der Hyperfiltrationstheorie nach Brenner oder die direkte Schädigung der Niere, welche sich in der glomerulären Schädigung (Glomerulosklerose), der tubulointerstitiellen Schädigung sowie der Schädigung des Interstitiums der Niere widerspiegelt, bestehen. Weiteren Arbeiten bleibt es vorbehalten, die genetischen sowie die humoralen Einflüsse, welche auf die Veränderung beider Organe Einfluss haben, wie z.B. das RAS und Endothelin genauer zu untersuchen.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Dauer der Nierenfunktionseinschränkung bzw. des bestehenden Nephronmangels.

Da aufgrund des Zeitpunkts der operativ beigeführten Reduktion der Niere (5/6 Nephrektomie) und der Entnahme des Herzens lediglich 4 Wochen lagen, also die Niereninsuffizienz letztendlich nur 4 Wochen bestand, zeigten sich doch deutliche histologische Veränderungen am linken Ventrikel. D.h. zum einen, dass eine akut entstandene Niereninsuffizienz kardiale Veränderungen hervorruft und dass der Zeitraum der Veränderung relativ schnell in direkter Abhängigkeit zu der Schwere der Niereninsuffizienz bzw. zu der möglichen kompensatorischen Reaktion der Niere nach Nephrektomie steht.

Bei den MWF-Tieren zeigte sich ein ähnliches Bild, allerdings war die Herzfibrose sowohl interstitiell wie auch perivaskulär auf einem allgemein niedrigeren Niveau als bei dem Wistar-Stamm ausgebildet.

Es zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen der tubulointerstitiellen Schädigung, gemessen durch den TDI, und der interstitiellen Fibrose (r=0,654; p<0,011) sowie der perivaskulären Fibrose (r=0,751; p<0,002) am linken Ventrikel. Ein Zusammenhang zwischen der interstitiellen Fibrose der Niere und der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel (r=0,547; p<0,008) bzw. der perivaskulären Fibrose am linken Ventrikel ((r=0,564; p<0,006) konnte ebenfalls bei den MWF-Tieren gezeigt werden.

Paradoxerweise war ein umgekehrter Zusammenhang zwischen der glomerulären Fläche und der interstitiellen (r=-667; p<0,009) sowie der perivaskulären linksventrikulären Herzfibrose (r=-723; p< 0,004) nachweisbar. D.h. die MWF- Kontrollgruppe zeigt, wie schon in der Diskussion der Niere beschrieben, eine signifikant höhere glomeruläre Fläche als die 5/6 Nephrektomierten (Abb. 35). Die kardiale Fibrose war aber bei den 5/6 nephrektomierten Tieren wie zu erwarten deutlich stärker ausgeprägt.



Abbildung 35: Korrelation zwischen der glomerulären Fläche und der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel bei dem MWF-Stamm (n=12).

Dies kann man damit erklären, dass die kleinere glomeruläre Fläche bei den 5/6 nephrektomierten Tieren nicht darauf zurückzuführen ist, dass dort keine oder nur eine geringere Hyperfiltration stattgefunden hat, welche die glomeruläre Fläche vergrößerte bzw. nicht vergrößerte, sondern im Gegenteil, dass es eine so starke Hyperfiltration aufgrund der deutlichen Reduktion der funktionsfähigen Nephrone gab, dass (zum einen genetisch bedingt, zum anderen durch 5/6 Nephrektomie bedingt; ND 0.1) es zu einer "Überfiltration" mit anschließendem Untergang und damit wieder zu einer Schrumpfung der Glomeruli kam. Da also hier die Größe der Glomeruli bzw. die Reduzierung der Fläche nicht Ausdruck einer normalen Morphologie ist, sondern als ein fortgeschrittenes Stadium der renalen Schädigung angesehen wird, ist die umgekehrte Korrelation zu der Herzfibrose schlüssig zu erklären.

Ein deutlicher ebenfalls umgekehrter Zusammenhang, welche diese These stützt, ist der Zusammenhang zwischen der Kreatinin Clearance als Zeichen der renalen Funktion und der kardialen Fibrose. Hier war zwischen der interstitiellen Fibrose am linken Ventrikel und der Kreatinin Clearance (r=-0,678; p<0,003) sowie zwischen der Kreatinin Clearance und der perivaskulären Fibrose (r=-0,656; p<0,004) ein signifikanter Zusammenhang nachweisbar. Je geringer die renale Funktion war, desto stärker zeigte sich eine kardiale Fibrose.

Die Therapie mit einem ACE-Hemmer zeigte eine deutliche Reduzierung der kardialen Fibrose. Es zeigte sich, dass eine Behandlung mit einem ACE-Hemmer nach 5/6 Nephrektomie eine deutliche Minderung des kardialen Remodelings bewirkte. Hierbei zeigte sich bei dem Wistar-Stamm eine weitaus deutlichere Reduktion der kardialen Fibrose als bei dem MWF-Stamm. Hier kann man einen Ansatz dafür sehen, dass ein ACE-Hemmer nicht nur über die Senkung des Blutdrucks Einfluss auf die Ausbildung einer kardialen Fibrose nimmt, sondern auch über die Hemmung der Bildung von Angiotensin II. Es gibt verschiedene Studien, die zeigen, dass die Entstehung bzw. sogar eine Regression schon bestehender Fibrose durch den ACE-Hemmer positiv beeinflusst werden kann und dass der ACE-Hemmer im Vergleich mit anderen Blutdrucksenkern diesen überlegen ist <sup>138,166,167</sup>.

Unsere Ergebnisse zeigen ebenfalls eine stark reduzierte Fibrose unter der Behandlung mit einem ACE-Hemmer im Vergleich zu den jeweiligen nicht behandelten Gruppen. Die Ergebnisse lagen hier bei der Wistar-Gruppe sogar unter denen der Kontrollgruppe. Es stellt sich die Frage, ob die sehr starke Wirkung des ACE-Hemmers bei der Wistar-Gruppe eventuell auf einen stärkeren Einfluss von Angiotensin II bei der Ausbildung der kardialen Fibrose schließen lässt oder sensibler auf eine akute Blutdruckerhöhung bzw. -senkung reagiert. Dies würde auch die trotz niedrigerem Blutdruck und geringerer LV-Hypertrophie weitaus höhere fibrotische Veränderungen der Wistar-Gruppe gegenüber der MWF-Gruppe erklären.

Zusammenfassend kann geschlossen werden, dass die Entwicklung der kardialen Fibrose mit Abnahme der Nephronzahl zunimmt, diese Aussage aber nur Gültigkeit bei einem Vergleich innerhalb eines Stammes hat. Das Gleiche gilt für den SBD und die LV Hypertrophie, die zwar innerhalb der einzelnen Stämme bei Anstieg bzw. Vergrößerung zu einer vermehrten Fibrose führen, doch es anscheinend andere Faktoren wie z.B. Angiotensin II gibt, die verschieden starke kardial fibrotische Wirkungen in den unterschiedlichen Stämmen aufweisen.

## 5. Zusammenfassung

Der aktuelle Stand der Forschung legt eine wesentliche Rolle der Nierenfunktion für kardiovaskuläre Erkrankungen nahe. Die Nierenfunktion hängt im Wesentlichen von der Anzahl funktionsfähiger Nephrone ab.

Ursache für eine verminderte Nephronzahl können ein angeborenes genetisches Nephrondefizit, eine degenerative Glomerulosklerose sowie eine operative Reduktion der Nierenmasse sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb der Zusammenhang zwischen einer definiert veränderter Nephronzahl und kardialen histologischen Veränderungen untersucht. Darüber hinaus sollten mögliche Unterschiede zwischen genetisch determiniertem und operativ induziertem Nephronmangel identifiziert werden.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit beschäftigt sich mit den renalen Veränderungen bei einer definierten Änderung der Nephronzahl und dem protektiven Einfluss eines ACE-Hemmers.

Zu diesem Zweck wurden Untersuchungen an einem gesunden (Wistar) und einem Rattenstamm mit genetisch verminderter Nephronzahl (MWF) durchgeführt. Ratten beider Stämme wurden einer 5/6-Nephrektomie unterzogen, so dass vier Gruppen mit definiert veränderter Anzahl zur Verfügung stehender Nephrone gebildet wurden (W-Ko, MWF-Ko, W-Nx, MWF-Nx). Zusätzlich wurde 5/6-nephrektomierten Tieren beider Stämme postoperativ ein ACE-Hemmer verabreicht, um das nephro- und kardioprotektive Potential bei einem Nephronmangel zu untersuchen.

Bereits in Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion der Nephronzahl zu einer Abnahme der Nierenfunktion führt. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der Nephrone und der Kreatinin Clearance. Der systolische Blutdruck und das linksventrikuläre Gewicht nahmen mit Abnahme der Zahl funktionsfähiger Nephrone zu.

Mit Abnahme funktionsfähiger Nephrone manifestierte sich eine Proteinurie bzw. Albuminurie bei den jeweiligen Tieren.

Die vorgelegte Arbeit konnte nachweisen, dass es durch einen Nephronmangel bzw. Nephronverlust zu einer Vergrößerung der glomulären Filtrationsfläche kommen kann. Bei einer länger andauernden Hyperfiltration bzw. einer weiteren Abnahme der Nephronzahl kommt es aber durch die starke Zunahme der fokal segmentalen Glomerulosklerose zu einer narbigen Schrumpfung der zuvor hypertrophierten Glomeruli. Die Zunahme der glomerulären Filtrationsfläche ist aber nicht allein von der Anzahl der zur Verfügung stehenden funktionstüchtigen Nephrone sondern auch von anderen Faktoren abhängig.

Die Dauer des bestehenden Nephronmangels spielt hier wahrscheinlich eine wesentliche Rolle. Eine pharmakologische ACE-Hemmung konnte eine Größenzunahme der Glomeruli bei den nephrektomierten Wistar-Tieren nicht verhindern. Bei den behandelten nephrektomierten MWF-Tieren verhinderte die Behandlung mit einem ACE-Hemmer eine Zunahme der Sklerosierung und somit die narbige Schrumpfung der Glomeruli. Dies ist als Ausdruck der nephroprotektiven Wirkung zu interpretieren. Bei der Entwicklung einer Glomerulosklerose, einer tubulointerstitiellen Schädigung sowie einer interstitiellen Fibrose an der Niere spielt die Anzahl der Nephrone eine wichtige Rolle. Neben der Anzahl funktionsfähiger Nephrone haben aber auch noch andere Faktoren einen wesentlichen Einfluss. Die Dauer des bestehenden Nephronmangels sowie die Stärke der Albuminurie/Proteinurie und die Höhe des arteriellen Blutdrucks leisten einen nicht unwesentlichen Beitrag zur Entstehung bzw. Progredienz der morphologischen Schädigung an der Niere.

Eine Behandlung mit einem ACE-Hemmer konnte die renalen histologischen Veränderungen reduzieren und zeigte somit eine deutliche protektive Wirkung.

Am linken Ventrikel zeigte sich, dass es Stammunterschiede in der Ausprägung der perivaskulären und interstitiellen Fibrose gab. Die Fibrose war bei den Wistar-Tieren allgemein deutlich stärker ausgeprägt als bei den MWF-Tieren. Aus diesem Grund verglichen wir die verschiedenen Parameter nur innerhalb der einzelnen Rattenstämme miteinander. Es zeigte sich, dass es bei einer Abnahme an funktionsfähigen Nephronen innerhalb der einzelnen Stämme zu einem signifikanten Anstieg des linksventrikulären Gewichts und der kardialen Fibrose kam. Des Weiteren konnten signifikante Zusammenhänge zwischen einer Abnahme der Nierenfunktion (Kreatinin Clearance) und der Zunahme einer kardialen Fibrose aufgezeigt werden.

Histologische Veränderungen der Niere wie die Glomerulosklerose, der tubulointerstitielle-danage-Index (TDI) und die interstitielle renale Fibrose korrelieren ebenfalls positiv signifikant mit der kardialen Fibrose.

Wir konnten somit einen direkte Abhängigkeit zwischen der linksventrikulären Hypertrophie, der kardialen Fibrose und einer funktionellen und morphologischen Veränderung der Niere nachweisen.

Die Anzahl der funktionstüchtigen Nephrone hat einen entscheidenden Einfluss auf die Morphologie und Funktion der Niere, das linksventrikuläre Gewicht und die Morphologie und Funktion des linken Ventrikels.

## Literaturverzeichnis

- Levey AS, Beto JA, Coronado BE, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. Am J Kidney Dis. 1998 Nov;32:853-906.
- 2. Skorecki GB. Chronic Renal Failure. Harrison's principles of internal medicine (vol15), edit by Buchwald F, Kasper, Hauser, Longo; Jameson, . 2001:1551-62.
- Muntner P, He J, Hamm L, Loria C, Whelton PK. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. J Am Soc Nephrol. 2002 Mar;13:745-53.
- 4. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. Circulation. 2003 Oct 28;108:2154-69.
- 5. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. Am J Kidney Dis. 1998 Nov;32(5 Suppl 3):S112-9.
- 6. Bright R. Cases and observation, illustrative of renal dsease accompanied with the secretion of albuminous urine. Guy's Hospital Report (vol1), London. 1836:338-400.
- Amann K, Ritz E. Cardiac disease in chronic uremia: pathophysiology. Adv Ren Replace Ther. 1997 Jul;4:212-24.
- Amann K, Wanner C, Ritz E. Cross-talk between the kidney and the cardiovascular system. J Am Soc Nephrol. 2006 Aug;17:2112-9.
- 9. Kannel WB. Role of blood pressure in cardiovascular disease: the Framingham Study. Angiology. 1975 Jan;26(1 Pt. 1):1-14.
- Klag MJ, Whelton PK, Randall BL, Neaton JD, Brancati FL, Stamler J. End-stage renal disease in African-American and white men. 16-year MRFIT findings. Jama. 1997 Apr 23-30;277:1293-8.
- 11. WHO. International Society of Hypertension Guidlines for the Managment of Hypertension. J Hypertens. 1999:17, 151-83.
- Julius S, Schork MA. Predictors of hypertension. Ann N Y Acad Sci. 1978 Mar 30;304:38-58.
- 13. Johnson RJ, Alpers CE, Yoshimura A, et al. Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. Hypertension. 1992 May;19:464-74.
- Cowley AW, Jr., Mattson DL, Lu S, Roman RJ. The renal medulla and hypertension. Hypertension. 1995 Apr;25(4 Pt 2):663-73.

- 15. Guyton AC, Coleman TG, Cowley AV, Jr., Scheel KW, Manning RD, Jr., Norman RA, Jr. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. Am J Med. 1972 May;52:584-94.
- Sealey JE, Blumenfeld JD, Bell GM, Pecker MS, Sommers SC, Laragh JH. On the renal basis for essential hypertension: nephron heterogeneity with discordant renin secretion and sodium excretion causing a hypertensive vasoconstriction-volume relationship. J Hypertens. 1988 Oct;6:763-77.
- 17. Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. Science. 1996 May 3;272:676-80.
- Kurokawa K. Kidney, salt, and hypertension: how and why. Kidney Int Suppl. 1996 Jun;55:S46-51.
- Brenner BM, Garcia DL, Anderson S. Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? Am J Hypertens. 1988 Oct;1:335-47.
- 20. Mackenzie HS, Lawler EV, Brenner BM. Congenital oligonephropathy: The fetal flaw in essential hypertension? Kidney Int Suppl. 1996 Jun;55:S30-4.
- 21. Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. N Engl J Med. 2003 Jan 9;348:101-8.
- 22. Blaustein MP, Hamlyn JM. Pathogenesis of essential hypertension. A link between dietary salt and high blood pressure. Hypertension. 1991 Nov;18(5 Suppl):III184-95.
- Muirhead EE. Renal vasodepressor mechanisms: the medullipin system. J Hypertens Suppl. 1993 Dec;11:S53-8.
- 24. Cowley AW, Jr., Roman RJ. The role of the kidney in hypertension. Jama. 1996 May 22-29;275:1581-9.
- Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Schreiner GF, Rodriguez-Iturbe B. Subtle acquired renal injury as a mechanism of salt-sensitive hypertension. N Engl J Med. 2002 Mar 21;346:913-23.
- 26. Wright JT, Jr., Bakris G, Greene T, et al. Effect of blood pressure lowering and antihypertensive drug class on progression of hypertensive kidney disease: results from the AASK trial. Jama. 2002 Nov 20;288:2421-31.
- 27. Hall JE, Guyton AC, Brands MW. Pressure-volume regulation in hypertension. Kidney Int Suppl. 1996 Jun;55:S35-41.
- 28. Hall JE, Mizelle HL, Hildebrandt DA, Brands MW. Abnormal pressure natriuresis. A cause or a consequence of hypertension? Hypertension. 1990 Jun;15:547-59.
- Cowley AW, Jr. Long-term control of arterial blood pressure. Physiol Rev. 1992 Jan;72:231-300.
- Roman RJ. Pressure diuresis mechanism in the control of renal function and arterial pressure. Fed Proc. 1986 Dec;45:2878-84.

- 31. Volhard F, Fahr, T. Die Brightsche Nierenkrankheit- Klink, Pathologie und Atlas. Springer, Berlin. 1914.
- Neaton JD, Blackburn H, Jacobs D, et al. Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Arch Intern Med. 1992 Jul;152:1490-500.
- 33. Klahr S, Levey AS, Beck GJ, et al. The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. N Engl J Med. 1994 Mar 31;330(13):877-84.
- Peterson JC, Adler S, Burkart JM, et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. Ann Intern Med. 1995 Nov 15;123:754-62.
- 35. Valderrabano F, Gomez-Campdera F, Jones EH. Hypertension as cause of end-stage renal disease: lessons from international registries. Kidney Int Suppl. 1998 Dec;68:S60-6.
- 36. USRDS. US renal data system 2006 Annual data report. Available at: http://www.usrdsorg/atlas\_2006htm. 2006.
- 37. Bönner G. Hypertensive Krise. In: Scholze J Hypertonie Risikokonstelationen und Begleiterkrankungen Blackwell WissenschaftsVerlag, Berlin 2 Auflage. 1999:607-18.
- Freedman BI, Iskandar SS, Appel RG. The link between hypertension and nephrosclerosis. Am J Kidney Dis. 1995 Feb;25:207-21.
- 39. Rostand SG, Brown G, Kirk KA, Rutsky EA, Dustan HP. Renal insufficiency in treated essential hypertension. N Engl J Med. 1989 Mar 16;320:684-8.
- 40. Shulman NB, Ford CE, Hall WD, et al. Prognostic value of serum creatinine and effect of treatment of hypertension on renal function. Results from the hypertension detection and follow-up program. The Hypertension Detection and Follow-up Program Cooperative Group. Hypertension. 1989 May;13:I80-93.
- 41. Zucchelli P, Zuccala A. The diagnostic dilemma of hypertensive nephrosclerosis: the nephrologist's view. Am J Kidney Dis. 1993 May;21:87-91.
- 42. Harvey JM, Howie AJ, Lee SJ, et al. Renal biopsy findings in hypertensive patients with proteinuria. Lancet. 1992 Dec 12;340:1435-6.
- 43. Innes A, Johnston PA, Morgan AG, Davison AM, Burden RP. Clinical features of benign hypertensive nephrosclerosis at time of renal biopsy. Q J Med. 1993 Apr;86:271-5.
- 44. Bricker NS. On the meaning of the intact nephron hypothesis. Am J Med. 1969 Jan;46:1-11.
- 45. Brenner BM. Nephron adaptation to renal injury or ablation. Am J Physiol. 1985 Sep;249:F324-37.
- 46. Brenner RM, Brenner BM. Anpassungsmechanismen an eine Nierenschädigung. In: Harrison's. Principles of Internal Medicin, Sixteenth Edition. 2005:1755-60.

- 47. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, Brenner BM. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. J Clin Invest. 1985 Aug;76:612-9.
- Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM. The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. Am J Med. 1982 Mar;72:375-80.
- 49. Miller PL, Rennke HG, Meyer TW. Glomerular hypertrophy accelerates hypertensive glomerular injury in rats. Am J Physiol. 1991 Sep;261:F459-65.
- 50. Ingelfinger JR. Is microanatomy destiny? N Engl J Med. 2003 Jan 9;348:99-100.
- 51. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. N Engl J Med. 1998 Nov 12;339:1448-56.
- 52. Taal MW, Zandi-Nejad K, Weening B, et al. Proinflammatory gene expression and macrophage recruitment in the rat remnant kidney. Kidney Int. 2000 Oct;58:1664-76.
- 53. Krepinsky JC, Li Y, Chang Y, et al. Akt mediates mechanical strain-induced collagen production by mesangial cells. J Am Soc Nephrol. 2005 Jun;16:1661-72.
- 54. Yasuda T, Kondo S, Homma T, Harris RC. Regulation of extracellular matrix by mechanical stress in rat glomerular mesangial cells. J Clin Invest. 1996 Nov 1;98:1991-2000.
- 55. Bianchi G, Fox U, Di Francesco GF, Giovanetti AM, Pagetti D. Blood pressure changes produced by kidney cross-transplantation between spontaneously hypertensive rats and normotensive rats. Clin Sci Mol Med. 1974 Nov;47:435-48.
- Dahl LK, Heine M, Thompson K. Genetic influence of the kidneys on blood pressure. Evidence from chronic renal homografts in rats with opposite predispositions to hypertension. Circ Res. 1974 Jan;40:94-101.
- 57. Rettig R, Folberth C, Stauss H, Kopf D, Waldherr R, Unger T. Role of the kidney in primary hypertension: a renal transplantation study in rats. Am J Physiol. 1990 Mar;258:F606-11.
- Patschan O, Kuttler B, Heemann U, Uber A, Rettig R. Kidneys from normotensive donors lower blood pressure in young transplanted spontaneously hypertensive rats. Am J Physiol. 1997 Jul;273:R175-80.
- 59. Curtis JJ, Luke RG, Dustan HP, et al. Remission of essential hypertension after renal transplantation. N Engl J Med. 1983 Oct 27;309:1009-15.
- Strandgaard S, Hansen U. Hypertension in renal allograft recipients may be conveyed by cadaveric kidneys from donors with subarachnoid haemorrhage. Br Med J (Clin Res Ed). 1986 Apr 19;292:1041-4.
- 61. Strandgaard S, Hansen U. The donor factor in hypertension after renal transplantation. Acta Med Scand Suppl. 1986;714:49-53.
- 62. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. Bmj. 1989 Mar 4;298:564-7.

- Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. Mol Med Today. 1995 Dec;1:418-23.
- 64. Hoy WE, Rees M, Kile E, Mathews JD, Wang Z. A new dimension to the Barker hypothesis: low birthweight and susceptibility to renal disease. Kidney Int. 1999 Sep;56:1072-7.
- 65. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. Circulation. 1991 Jun;83:1849-65.
- Stockand JD, Meszaros JG. Aldosterone stimulates proliferation of cardiac fibroblasts by activating Ki-RasA and MAPK1/2 signaling. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003 Jan;284:H176-84.
- McMahon AC, Greenwald SE, Dodd SM, Hurst MJ, Raine AE. Prolonged calcium transients and myocardial remodelling in early experimental uraemia. Nephrol Dial Transplant. 2002 May;17:759-64.
- 68. Cruickshank JM, Lewis J, Moore V, Dodd C. Reversibility of left ventricular hypertrophy by differing types of antihypertensive therapy. J Hum Hypertens. 1992 Apr;6:85-90.
- 69. Dahlof B, Pennert K, Hansson L. Reversal of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. A metaanalysis of 109 treatment studies. Am J Hypertens. 1992 Feb;5:95-110.
- 70. Jennings G, Wong J. Regression of left ventricular hypertrophy in hypertension: changing patterns with successive meta-analyses. J Hypertens Suppl. 1998 Oct;16:S29-34.
- Klingbeil AU, Schneider M, Martus P, Messerli FH, Schmieder RE. A meta-analysis of the effects of treatment on left ventricular mass in essential hypertension. Am J Med. 2003 Jul;115:41-6.
- 72. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial—the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. Lancet. 2000 May 6;355:1582-7.
- 73. Morgan K. Diverse factors influencing angiotensin metabolism during ACE inhibition: insights from molecular biology and genetic studies. Br Heart J. 1994 Sep;72:S3-10.
- Zisman LS, Abraham WT, Meixell GE, et al. Angiotensin II formation in the intact human heart. Predominance of the angiotensin-converting enzyme pathway. J Clin Invest. 1995 Sep;96:1490-8.
- 75. Peters J. Molecular basis of human hypertension: the role of angiotensin. Baillieres Clin Endocrinol Metab. 1995 Jul;9:657-78.
- Benigni A, Perico N, Remuzzi G. Research on renal endothelin in proteinuric nephropathies dictates novel strategies to prevent progression. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2001 Jan;10:1-6.
- Anderson S, Jung FF, Ingelfinger JR. Renal renin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical, and molecular biological correlations. Am J Physiol. 1993 Oct;265:F477-86.

- 78. Bohrer MP, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Mechanism of angiotensin II-induced proteinuria in the rat. Am J Physiol. 1977 Jul;233:F13-21.
- 79. Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? Kidney Int. 1990 Sep;38:384-94.
- 80. Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. J Clin Invest. 1986 Jun;77:1993-2000.
- Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. J Clin Invest. 1986 Jun;77:1925-30.
- 82. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. J Clin Invest. 1990 Feb;85:541-9.
- 83. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? Circ Res. 1999 Oct 1;85:643-50.
- Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. The SOLVD Investigators. N Engl J Med. 1991 Aug 1;325:293-302.
- 85. Lee MA, Bohm M, Paul M, Bader M, Ganten U, Ganten D. Physiological characterization of the hypertensive transgenic rat TGR(mREN2)27. Am J Physiol. 1996 Jun;270:E919-29.
- Pieruzzi F, Abassi ZA, Keiser HR. Expression of renin-angiotensin system components in the heart, kidneys, and lungs of rats with experimental heart failure. Circulation. 1995 Nov 15;92:3105-12.
- 87. Nussberger J, Gradman AH, Schmieder RE, Lins RL, Chiang Y, Prescott MF. Plasma renin and the antihypertensive effect of the orally active renin inhibitor aliskiren in clinical hypertension. Int J Clin Pract. 2007 Sep;61:1461-8.
- Kreutz R, Kovacevic L, Schulz A, Rothermund L, Ketteler M, Paul M. Effect of high NaCl diet on spontaneous hypertension in a genetic rat model with reduced nephron number. J Hypertens. 2000 Jun;18:777-82.
- Remuzzi A, Fassi A, Bertani T, Perico N, Remuzzi G. ACE inhibition induces regression of proteinuria and halts progression of renal damage in a genetic model of progressive nephropathy. Am J Kidney Dis. 1999 Oct;34:626-32.
- Remuzzi A, Benigni A, Malanchini B, Bruzzi I, Foglieni C, Remuzzi G. ACE inhibition prevents renal failure and death in uninephrectomized MWF/Ztm rats. Kidney Int. 1995 May;47:1319-26.
- Remuzzi A, Imberti O, Puntorieri S, et al. Dissociation between antiproteinuric and antihypertensive effect of angiotensin converting enzyme inhibitors in rats. Am J Physiol. 1994 Dec;267:F1034-44.

- 92. Macconi D, Ghilardi M, Bonassi ME, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on glomerular basement membrane permeability and distribution of zonula occludens-1 in MWF rats. J Am Soc Nephrol. 2000 Mar;11:477-89.
- Zoja C, Remuzzi A, Corna D, Perico N, Bertani T, Remuzzi G. Renal protective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in aging rats. Am J Med. 1992 Apr 27;92:60S-3S.
- 94. Fassi A, Sangalli F, Maffi R, et al. Progressive glomerular injury in the MWF rat is predicted by inborn nephron deficit. J Am Soc Nephrol. 1998 Aug;9:1399-406.
- 95. Rothermund L, Nierhaus M, Fialkowski O, et al. Genetic low nephron number hypertension is associated with dysregulation of the hepatic and renal insulin-like growth factor system during nephrogenesis. J Hypertens. 2006 Sep;24:1857-64.
- 96. Hoy WE, Hughson MD, Bertram JF, Douglas-Denton R, Amann K. Nephron number, hypertension, renal disease, and renal failure. J Am Soc Nephrol. 2005 Sep;16:2557-64.
- 97. Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. Kidney Int Suppl. 2003 Feb:S31-7.
- 98. Douglas-Denton R HW, Bertram JF, Hughson MD, . Kidney mass, glomerular number, mean glomerular corpuscle volume and total renal corpuscle volume in Aboriginal and nonAboriginals Australians at autopsy. Nephrology 8 (Suppl): A59. 2003.
- 99. Hoy WE D-DR, Hughson MD, Bertram JF. Nephron defizit and hypertension in Australien Aboriginal people. Nephrology (Abstract). 2005.
- 100. Brenner BM, Lawler EV, Mackenzie HS. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. Kidney Int. 1996 Jun;49:1774-7.
- Chiurchiu C, Remuzzi G, Ruggenenti P. Angiotensin-converting enzyme inhibition and renal protection in nondiabetic patients: the data of the meta-analyses. J Am Soc Nephrol. 2005 Mar;16 Suppl 1:S58-63.
- 102. Ruggenenti P, Perna A, Loriga G, et al. Blood-pressure control for renoprotection in patients with non-diabetic chronic renal disease (REIN-2): multicentre, randomised controlled trial. Lancet. 2005 Mar 12-18;365:939-46.
- 103. Fogo A, Ichikawa I. Evidence for a pathogenic linkage between glomerular hypertrophy and sclerosis. Am J Kidney Dis. 1991 Jun;17:666-9.
- 104. Young RJ, Hoy WE, Kincaid-Smith P, Seymour AE, Bertram JF. Glomerular size and glomerulosclerosis in Australian aborigines. Am J Kidney Dis. 2000 Sep;36:481-9.
- 105. Hughson MD, Johnson K, Young RJ, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular size and glomerulosclerosis: relationships to disease categories, glomerular solidification, and ischemic obsolescence. Am J Kidney Dis. 2002 Apr;39:679-88.
- 106. Kriz W, LeHir M. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases-insights from animal models. Kidney Int. 2005 Feb;67:404-19.

- 107. Brenner BM, Mackenzie HS. Nephron mass as a risk factor for progression of renal disease. Kidney Int Suppl. 1997 Dec;63:S124-7.
- 108. Woods LL, Weeks DA, Rasch R. Hypertension after neonatal uninephrectomy in rats precedes glomerular damage. Hypertension. 2001 Sep;38:337-42.
- Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. Am J Physiol. 1981 Jul;241:F85-93.
- 110. Deen WM, Maddox DA, Robertson CR, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. VII. Response to reduced renal mass. Am J Physiol. 1974 Sep;227:556-62.
- 111. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. N Engl J Med. 1982 Sep 9;307:652-9.
- 112. Nadim MK, Brenner BM. Glomerular normalcy and pathosis: a "fin de millenaire" perspective. J Nephrol. 1999 Jul-Aug;12 Suppl 2:S16-28.
- 113. Gross ML, Adamczak M, Amann K, Ritz E. Mediators of inflammatory and ischemic renal damage: the role of neoangiogenesis. J Nephrol. 2005 Sep-Oct;18:513-20.
- 114. Bidani AK, Schwartz MM, Lewis EJ. Renal autoregulation and vulnerability to hypertensive injury in remnant kidney. Am J Physiol. 1987 Jun;252:F1003-10.
- 115. Pelayo JC, Westcott JY. Impaired autoregulation of glomerular capillary hydrostatic pressure in the rat remnant nephron. J Clin Invest. 1991 Jul;88:101-5.
- 116. Howie AJ, Bliss DJ, Brewer DB. The glomerular ultrastructural distribution of immunoglobulin G in hyperalbuminaemic (protein-overload) proteinuria. J Pathol. 1985 Mar;145:213-27.
- Chauntin A, Ferris, E. Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomie. Arch Intern Med 49. 1932:767.
- 118. Shimamura T, Morrison AB. A progressive glomerulosclerosis occurring in partial fivesixths nephrectomized rats. Am J Pathol. 1975 Apr;79:95-106.
- 119. Adamczak M, Gross ML, Krtil J, et al. Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotally nephrectomized rats. J Am Soc Nephrol. 2003 Nov;14:2833-42.
- Zoja C, Donadelli R, Colleoni S, et al. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cells depending on NF-kappa B activation. Kidney Int. 1998 Jun;53:1608-15.
- 121. Abbate M, Zoja C, Corna D, Capitanio M, Bertani T, Remuzzi G. In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. J Am Soc Nephrol. 1998 Jul;9:1213-24.

- 122. Nath KA, Hostetter MK, Hostetter TH. Pathophysiology of chronic tubulo-interstitial disease in rats. Interactions of dietary acid load, ammonia, and complement component C3. J Clin Invest. 1985 Aug;76:667-75.
- 123. Henry RM, Kostense PJ, Bos G, et al. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The Hoorn Study. Kidney Int. 2002 Oct;62:1402-7.
- 124. Mann JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. Ann Intern Med. 2001 Apr 17;134:629-36.
- 125. Barker DJ, Bagby SP, Hanson MA. Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. Nat Clin Pract Nephrol. 2006 Dec;2:700-7.
- 126. Barker DJ. The fetal and infant origins of disease. Eur J Clin Invest. 1995 Jul;25:457-63.
- 127. Barker DJ. Growth in utero and coronary heart disease. Nutr Rev. 1996 Feb;54:S1-7.
- 128. Kennedy D, Omran E, Periyasamy SM, et al. Effect of chronic renal failure on cardiac contractile function, calcium cycling, and gene expression of proteins important for calcium homeostasis in the rat. J Am Soc Nephrol. 2003 Jan;14:90-7.
- 129. Ots M, Troy JL, Rennke HG, Mackenzie HS, Brenner BM. Impact of the supplementation of kidney mass on blood pressure and progression of kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2004 Feb;19:337-41.
- 130. US Renal Data System. USRDS 1991 Annual Report, The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD. 1991.
- 131. London GM, Marchais SJ, Guerin AP, Fabiani F, Metivier F. Cardiovascular function in hemodialysis patients. Adv Nephrol Necker Hosp. 1991;20:249-73.
- 132. Harnett JD, Kent GM, Barre PE, Taylor R, Parfrey PS. Risk factors for the development of left ventricular hypertrophy in a prospectively followed cohort of dialysis patients. J Am Soc Nephrol. 1994 Jan;4:1486-90.
- Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uraemia. Nephrol Dial Transplant. 1996 Jul;11:1277-85.
- Harnett JD, Foley RN, Kent GM, Barre PE, Murray D, Parfrey PS. Congestive heart failure in dialysis patients: prevalence, incidence, prognosis and risk factors. Kidney Int. 1995 Mar;47:884-90.
- 135. Paoletti E, Bellino D, Cassottana P, Rolla D, Cannella G. Left ventricular hypertrophy in nondiabetic predialysis CKD. Am J Kidney Dis. 2005 Aug;46:320-7.
- 136. Silberberg JS, Barre PE, Prichard SS, Sniderman AD. Impact of left ventricular hypertrophy on survival in end-stage renal disease. Kidney Int. 1989 Aug;36:286-90.
- 137. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, et al. Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. Kidney Int. 1995 Jan;47:186-92.

- 138. Amann K, Tyralla K, Gross ML, et al. Cardiomyocyte loss in experimental renal failure: prevention by ramipril. Kidney Int. 2003 May;63:1708-13.
- 139. Amann K, Kronenberg G, Gehlen F, et al. Cardiac remodelling in experimental renal failure—an immunohistochemical study. Nephrol Dial Transplant. 1998 Aug;13:1958-66.
- 140. Mall G, Rambausek M, Neumeister A, Kollmar S, Vetterlein F, Ritz E. Myocardial interstitial fibrosis in experimental uremia—implications for cardiac compliance. Kidney Int. 1988 Apr;33:804-11.
- 141. Levin A, Thompson CR, Ethier J, et al. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. Am J Kidney Dis. 1999 Jul;34:125-34.
- 142. Rostand SG, Drueke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. Kidney Int. 1999 Aug;56:383-92.
- 143. Amann K, Ritz E, Wiest G, Klaus G, Mall G. A role of parathyroid hormone for the activation of cardiac fibroblasts in uremia. J Am Soc Nephrol. 1994 Apr;4:1814-9.
- 144. Raj DS, Choudhury D, Welbourne TC, Levi M. Advanced glycation end products: a Nephrologist's perspective. Am J Kidney Dis. 2000 Mar;35(3):365-80.
- 145. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. J Immunol. 1998 Sep 1;161:2524-32.
- Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. Kidney Int. 2002 Nov;62:1524-38.
- 147. Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Safar ME, London GM. Postischemic vasodilation, endothelial activation, and cardiovascular remodeling in end-stage renal disease. Kidney Int. 2000 Mar;57:1091-9.
- 148. Stam F, van Guldener C, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. Nephrol Dial Transplant. 2003 May;18:892-8.
- 149. Stam F, van Guldener C, Becker A, et al. Endothelial dysfunction contributes to renal function-associated cardiovascular mortality in a population with mild renal insufficiency: the Hoorn study. J Am Soc Nephrol. 2006 Feb;17:537-45.
- 150. Amabile N, Guerin AP, Leroyer A, et al. Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure. J Am Soc Nephrol. 2005 Nov;16:3381-8.
- 151. Koc M, Bihorac A, Segal MS. Circulating endothelial cells as potential markers of the state of the endothelium in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis. 2003 Oct;42:704-12.
- 152. Koc M, Richards HB, Bihorac A, Ross EA, Schold JD, Segal MS. Circulating endothelial cells are associated with future vascular events in hemodialysis patients. Kidney Int. 2005 Mar;67(:1078-83.

- 153. Boger RH. [Asymmetrical methylarginine (ADMA) as a cardiovascular risk factor: epidemiological and prospective data]. Dtsch Med Wochenschr. 2004 Apr 8;129:820-4.
- 154. Heymes C, Bendall JK, Ratajczak P, et al. Increased myocardial NADPH oxidase activity in human heart failure. J Am Coll Cardiol. 2003 Jun 18;41:2164-71.
- 155. Amann K, Rychlik I, Miltenberger-Milteny G, Ritz E. Left ventricular hypertrophy in renal failure. Kidney Int Suppl. 1998 Dec;68:S78-85.
- 156. Amann K, Miltenberger-Miltenyi G, Simonoviciene A, Koch A, Orth S, Ritz E. Remodeling of resistance arteries in renal failure: effect of endothelin receptor blockade. J Am Soc Nephrol. 2001 Oct;12:2040-50.
- 157. Demuth K, Blacher J, Guerin AP, et al. Endothelin and cardiovascular remodelling in endstage renal disease. Nephrol Dial Transplant. 1998 Feb;13:375-83.
- 158. Converse RL, Jr., Jacobsen TN, Toto RD, et al. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. N Engl J Med. 1992 Dec 31;327:1912-8.
- 159. Cannella G, Paoletti E, Delfino R, Peloso G, Rolla D, Molinari S. Prolonged therapy with ACE inhibitors induces a regression of left ventricular hypertrophy of dialyzed uremic patients independently from hypotensive effects. Am J Kidney Dis. 1997 Nov;30:659-64.
- 160. Dyadyk AI, Bagriy AE, Lebed IA, Yarovaya NF, Schukina EV, Taradin GG. ACE inhibitors captopril and enalapril induce regression of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 1997 May;12:945-51.
- 161. Suzuki H, Schaefer L, Ling H, et al. Prevention of cardiac hypertrophy in experimental chronic renal failure by long-term ACE inhibitor administration: potential role of lysosomal proteinases. Am J Nephrol. 1995;15:129-36.
- 162. Amann K, Breitbach M, Ritz E, Mall G. Myocyte/capillary mismatch in the heart of uremic patients. J Am Soc Nephrol. 1998 Jun;9:1018-22.
- 163. Cuspidi C, Ciulla M, Zanchetti A. Hypertensive myocardial fibrosis. Nephrol Dial Transplant. 2006 Jan;21:20-3.
- 164. Weber KT. Fibrosis and hypertensive heart disease. Curr Opin Cardiol. 2000 Jul;15:264-72.
- 165. Campbell JE JJ, Weber KT, . Temporal differences in fibroblast proliferation and phenotype expression in response ti chronic administration of angiotensin II ir aldosteron. J Mol Cell Cardiol ; 27:. 1995:1545-60.
- 166. Brilla CG, Funck RC, Rupp H. Lisinopril-mediated regression of myocardial fibrosis in patients with hypertensive heart disease. Circulation. 2000 Sep 19;102:1388-93.
- Schäfers R, Nürnberger, J. Nephroprotektive Effekte von Antihypertensiva. J Hyperton; 11 2007:12-9.

## Erklärung

Ich, Jan Ebersohn, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

"Histologische Veränderungen des linken Ventrikels und der Niere nach experimenteller Reduktion einer definierten Anzahl von Nephronen und das protektive Potential einer ACE-Hemmung im Rattenmodell" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe."

Datum 11.07.2008

Unterschrift

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Danksagung

Ich möchte hiermit die Gelegenheit nutzen, mich bei allen herzlich zu bedanken, die mir bei der Durchführung und Anfertigung dieser Dissertation behilflich waren.

Mein besonderer Dank gilt meinem wissenschaftlichen Betreuer und Doktorvater PD Dr. Lars Rothermund für die freundliche Überlassung des Themas, für die hervorragende und intensive wissenschaftliche Betreuung und dem immerwährenden und inspirierenden Optimismus auch in schwierigen Phasen dieser Arbeit.

Für die geduldige Betreuung, Beratung und Unterstützung in histologischen Fragen und die Einführung in die histologischen Methoden danke ich besonders Dr. P. Koßmehl sowie Frau Helga Stürje.

Meinen Mitdoktoranden Anne Schnieber, Markus Lorenz, Iris Bauhaus und Florian Freese danke ich für die wissenschaftlichen und auch nicht-wissenschaftlichen Diskussion, die gegenseitige Hilfe, Unterstützung und Motivation.

Hr. Walter Kreuzinger für das "die Korrekturlesung" der Arbeit sowie Hr. Mario Weber (M+W Druck) für die Druckarbeiten der Dissertation gebührt ebenfalls mein Dank.

Es ist mir sehr wichtig, mich auch bei meiner Familie und meinen Freunden zu bedanken. Sie haben mir das, was ich bis jetzt erreicht habe erst ermöglicht.

Den größten Dank schulde ich meinen Eltern, die mir in meinem Leben zu jedem Zeitpunkt mit Rat, Kritik und Unterstützung bedingungslos zur Seite standen. Ebenfalls möchte ich mich bei meiner Tante Siegried und ihrem Mann Arthur für die materielle und beratende Unterstützung bedanken.

Des Weiteren bedanke ich mich für die mentale Unterstützung bei meinem Onkel Rolf und seiner Familie (Solveig und Jasper), meiner Schwester Katrin, sowie ganz besonders bei meiner Freundin und meiner Oma.