

4 Ergebnisse

4.1 Körpergewichte

Alle zwei Wochen wurden die Tiere gewogen.

Die sham-operierten unbehandelten Tiere hatten die größten Gewichtszunahmen. Die Tiere beider 5/6 nephrektomierten Gruppen blieben kleiner als die sham-operierten. Die behandelten sham-operierten nahmen nicht in demselben Maß zu wie die unbehandelten.

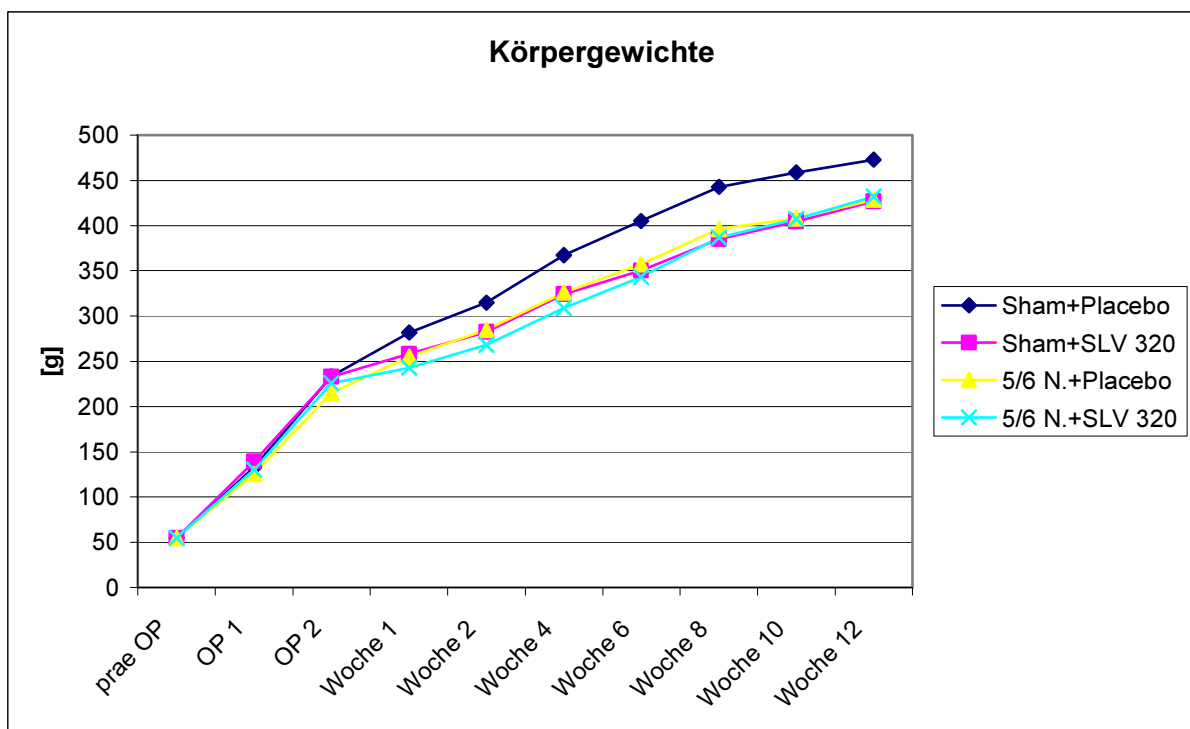


Diagramm 1: Körpergewichte [g]. Die verwendeten Werte sind Mittelwerte.

4.2 Organgewichte

Nach der Tötung wurden sofort die Nieren respektive der verbliebene Nierenrest und das Herz entnommen und gewogen.

Das relative Nierengewicht ist das Nierengewicht [g] bezogen auf das Körpergewicht [g] in %. Aus Tabelle 1 geht hervor, dass bei den 5/6 nephrektomierten Tieren das relative Gewicht der linken Niere signifikant höher ist als bei den sham-operierten.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=11	5/6N.+Placebo n=12	5/6N.+SLV320 n=11
relatives Nierengewicht links [%]	0,3100±0,0094	0,3290±0,0108	0,3876±0,0154*#	0,4087±0,0128*#

*Tabelle 1: Relatives Nierengewicht. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,01$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,01$ vs. Sham+SLV320*

Das relative Herzgewicht ist das Herzgewicht [g] bezogen auf das Körpergewicht [g] in %. Tabelle 2 zeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede im relativen Herzgewicht bei den verschiedenen Gruppen gibt.

	Sham+Placebo n=8	Sham+SLV320 n=10	5/6N.+Placebo n=12	5/6N.+SLV320 n=11
relatives Herzgewicht [%]	0,2867±0,0084	0,3189±0,0048	0,3103±0,0082	0,3108±0,0122

Tabelle 2: Relatives Herzgewicht. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM.

4.3 Futter- und Wasseraufnahme

Die Fütterung erfolgte ad libitum und wurde täglich kontrolliert. Die regelmäßige Futteraufnahme bestätigt sich in der kontinuierlichen Gewichtszunahme aller Tiere, wenn diese auch bei den 5/6 nephrektomierten Tieren geringer ausfiel (siehe Diagramm Körpergewichte).

Bei den Stoffwechselfersuchen prae operationem und in Woche 12 wurde die Trinkwasseraufnahme für jedes einzelne Tier protokolliert. Prae OP bestanden keine Unterschiede. In Woche 12 zeigte sich, dass die behandelten 5/6 nephrektomierten und die behandelten sham-operierten Tiere signifikant mehr Wasser aufnahmen in 24 Stunden als die unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tiere. Auch im Vergleich zu den unbehandelten sham-operierten Tieren wurde von den unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tieren im Mittel weniger Wasser aufgenommen; dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV 320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV 320 n=11
Trinkwasseraufnahme prae OP [ml]	7,33±2,03	6,25±1,4	8,92±2,02	6,55±1,93
Trinkwasseraufnahme Woche 12[ml]	11,56±2,95	11,92±1,23	6,92±1,03 *#	12,91±1,21

*Tabelle 3: Trinkwasseraufnahme. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * p = 0,005 vs. Sham+SLV320
p = 0,002 vs. 5/6 N.+SLV320*

4.4 Blutwerte in Woche 12

Das Blut wurde bei der Tötung durch Blutentzug gewonnen. Es wurde in mit Lithium-Heparin beschichtete Röhrchen überführt, gekühlt und innerhalb von zwei Stunden zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma bis zur Analyse bei einer Temperatur von -20 Grad aufbewahrt.

4.4.1 Plasmakreatinin und –harnstoff

Aus den erhobenen Daten geht hervor, dass die 5/6 nephrektomierten Tiere signifikant höhere Plasmakreatinin und –harnstoffspiegel aufweisen.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=11
Plasma-Kreatinin [$\mu\text{mol/l}$]	41,3 \pm 6,3	37,6 \pm 5,5	65,6 \pm 8,8 * #	66,7 \pm 10,7 * #
Plasma-Harnstoff [mmol/l]	6,0 \pm 0,7	6,0 \pm 0,5	11,3 \pm 2,5 * #	10,7 \pm 2,0 * #

Tabelle 4: Plasmakreatinin und –harnstoff. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,01$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,01$ vs. Sham+SLV320

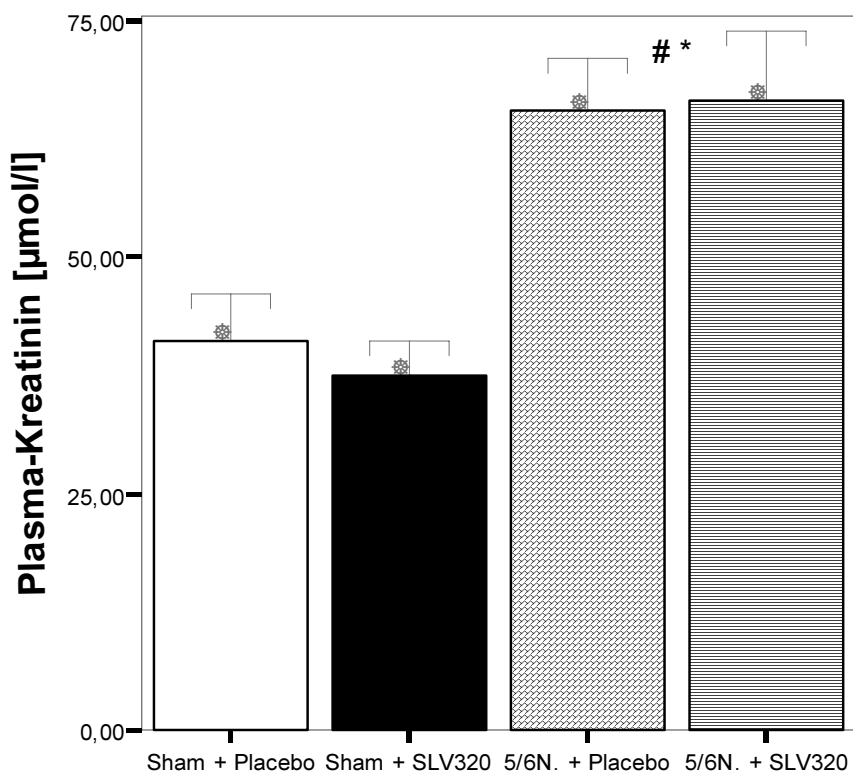


Diagramm 2: Plasmakreatinin [$\mu\text{mol/l}$]. Die verwendeten Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,01$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,01$ vs. Sham+SLV320

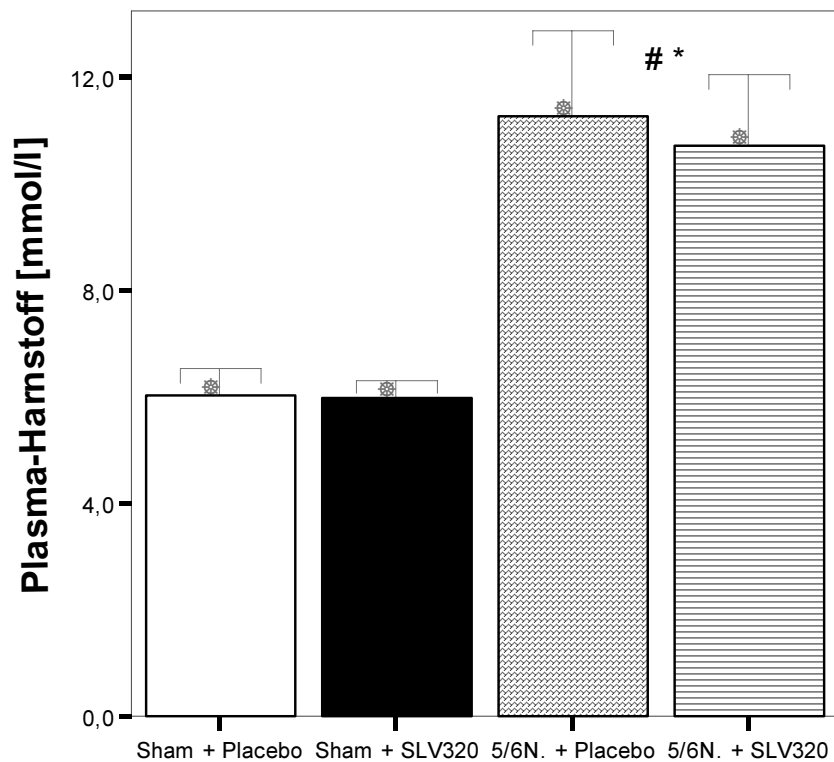


Diagramm 3: Plasmaharnstoff [mmol/l]. Die verwendeten Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,01$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,01$ vs. Sham+SLV320

Die Balkendiagramme verdeutlichen den signifikanten Unterschied zwischen den 5/6 nephrektomierten und den sham-operierten Tieren.

4.4.2 Plasma-Creatinkinase (CK)

Das Balkendiagramm zeigt den signifikanten Unterschied in der Plasma-Aktivität der CK bei den behandelten Tieren verglichen mit den unbehandelten.

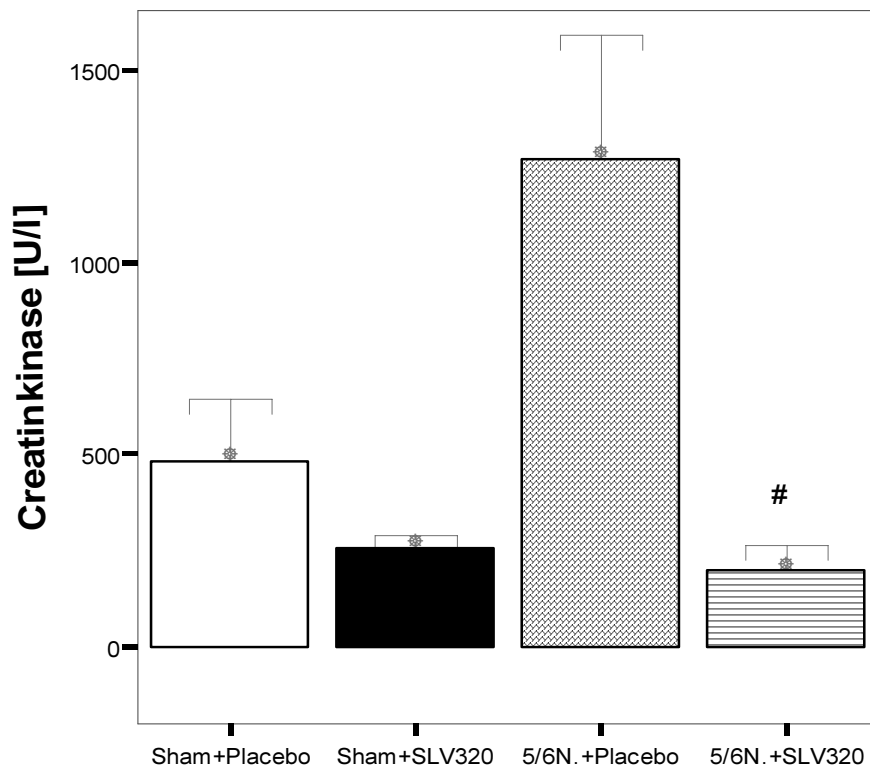


Diagramm 4: Plasma-CK [U/l]. Die verwendeten Werte sind mit Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: # $p < 0,01$ vs. 5/6 N.+Placebo, Sham+Placebo

4.4.3 Plasma-AST und -ALT

Tabelle 6 gibt Auskunft über die Aktivität von ALT und AST im Plasma.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=11
Plasma-ALT [U/l]	36,22±1,36	34,17±3,46	44,75±2,15	31,27±1,19 #
Plasma-AST [U/l]	42,44±2,78	46,92±6,46	65,75±6,9	37±1,91 #

Tabelle 6: Plasma-ALT und -AST. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen der Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: # $p < 0,01$ vs. 5/6 N.+Placebo

Die ALT- und AST-Werte im Plasma der SLV320 behandelten 5/6 nephrektomierten Tiere sind signifikant niedriger als die der unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tiere. Die unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tieren zeigen einen deutlichen Trend zu erhöhten Plasma-ALT- und AST-Werten im Vergleich zu den shamoperierten Tieren.

4.5 Urinwerte

Der Urin wurde während eines 24-Stunden-Stoffwechsel-Versuchs in speziellen Stoffwechselkäfigen für Ratten gesammelt und anschließend bei einer Temperatur von -20 Grad aufbewahrt.

Klinisch-chemische Werte aus dem Urin wurden mittels Autoanalyser erhoben.

4.5.1 Proteinurie und Albuminurie

Stoffwechselversuche fanden vor der ersten Operation und am Ende von Woche 12 statt. Es wurde jeweils 24 Stunden Urin gesammelt.

In Tabelle 7 sind Absolutwerte von Totalprotein (TP) und Albumin im Urin angegeben.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=11
Urin-Alb prae OP [g/l]	0,02±0,01	0,02±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01
Urin-Alb Wo 12 [g/l]	0,03±0,02	0,04±0,01	1,02±0,20 * #	0,57±0,11 * #
Urin-TP prae OP [g/l]	0,13±0,05	0,15±0,07	0,36±0,28	0,23±0,14
Urin-TP Wo 12 [g/l]	0,37±0,14	0,45±0,19	1,40±0,29 * #	1,76±0,36 * #

Tabelle 7: TP [mg/dl] und Albumin [mg/l] im Urin. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,01$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,01$ vs. Sham+SLV320

Die Proteinurie bzw. Albuminurie [mg/24h] errechnet sich aus gemessenem TP [mg/dl] bzw. Albumin [mg/l] im Urin multipliziert mit dem in 24 Stunden abgesetzten Urinvolumen [ml].

Tabelle 8 gibt Auskunft über die renale Gesamtprotein- und Albuminausscheidung in 24 Stunden, wegen der besseren Vergleichbarkeit bezogen auf 100g Körpergewicht.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=11
Albuminurie prae OP [mg/24h]	0,0203±0,0035	0,0158±0,0027	0,0150±0,0031	0,0183±0,0047
Albuminurie Woche 12 [mg/24h]	00,0125±0,0038	0,0167±0,0053	0,5447±0,938 *#	0,3116±0,0659 *#
Proteinurie prae OP [mg/24h]	1,1041±0,0803	0,9871±0,0430	1,0295±0,0721	0,9949±0,0841
Proteinurie Woche 12 [mg/24h]	1,6891±0,2474	2,0723±0,1647	6,8818±1,3148 *#	9,0100±1,7162 *#

Tabelle 8: Gesamtprotein- und Albuminausscheidung in 24 Stunden bezogen auf 100g Körpergewicht. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet: * $p < 0,001$ vs. Sham+Placebo
$p < 0,001$ vs. Sham+SLV320

Die 5/6 nephrektomierten Tiere zeigen in Woche 12 eine signifikant erhöhte Ausscheidung an Gesamtprotein und Albumin über den Urin verglichen mit den sham-operierten Tieren.

4.6 Glomeruläre Filtrationsrate Woche 12

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist das Volumen des Glomerulumfiltrats pro Zeiteinheit. Die GFR ist der Quotient aus Kreatinin im Urin (U_K) und Kreatinin im Plasma (P_K) multipliziert mit dem Urinfluss (U_{vol}) in ml/min.

$$GFR = U_K \times U_{vol} / P_K$$

In Tabelle 9 ist die Größe der glomerulären Filtrationsrate (GFR) aufgeführt. Sie wird auf das Körpergewicht der Tiere bezogen, um Größenunterschiede der Tiere zu nivellieren.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=11
GFR Woche 12 [ml/min]	0,52±0,08	0,52±0,02	0,32±0,02**	0,31±0,01**

Tabelle 9: Glomeruläre Filtrationsrate. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet wie folgt: ** $p < 0,02$ vs. Sham

Aus Tabelle 9 geht hervor, dass die 5/6 nephrektomierten Tiere in Woche 12 eine signifikant verminderte GFR aufweisen im Vergleich zu den sham-operierten.

4.7 Blutdruck- und Herzfrequenzmessungen

Der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden alle zwei Wochen nicht-invasiv mittels tail-cuff-Methode mit integriertem optischem Pulsaufnehmer gemessen.

Der systolische Blutdruck und die Herzfrequenz weisen während des Verlaufs von 12 Wochen zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Weder die 5/6 nephrektomierten noch die shamoperierten Tiere zeigen während dieser Zeit eine Steigerung des Blutdrucks.

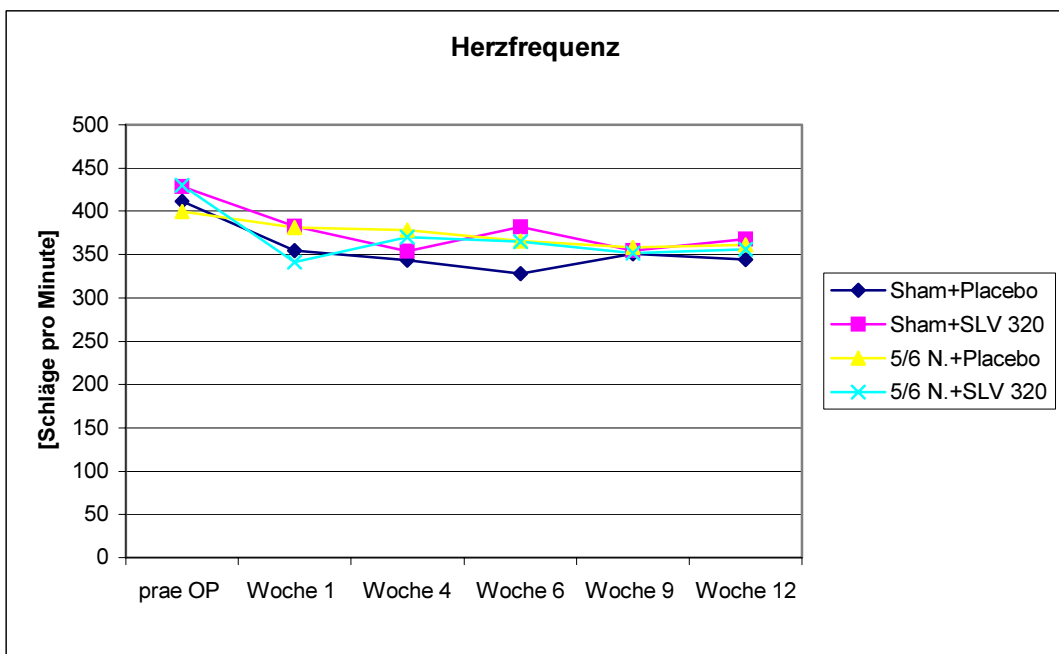
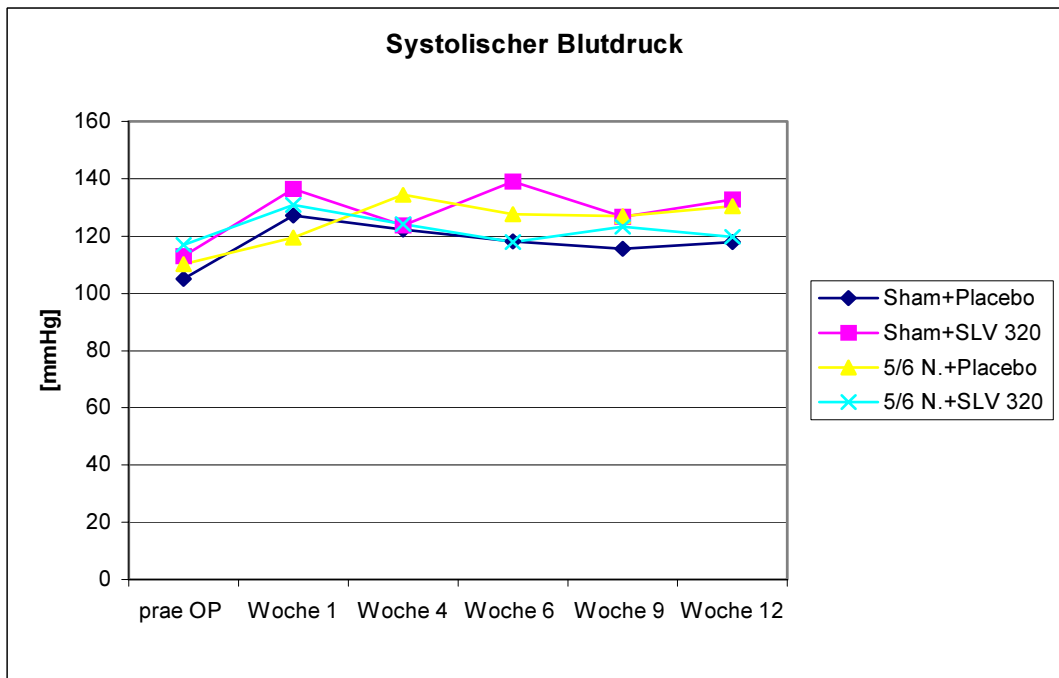


Diagramm 5 und 6: Systolischer Blutdruck [mm/Hg] und Herzfrequenz [Schläge pro Minute]. Die verwendeten Werte sind Mittelwerte.

In den Liniendiagrammen wird deutlich, dass während des Verlaufs von 12 Wochen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen beim systolischen Blutdruck sowie bei der Herzfrequenz auftreten. Die tendenziell niedrigeren Herzfrequenzen in Woche 12 sind auf die Gewöhnung der Tiere an die Messungen zurückzuführen.

4.8 Histologische Untersuchungen

4.8.1 Interstitielle Myokardfibrose

Die interstitielle Fibrose am Herzen wurde mit computergestützter Bildanalyse quantifiziert. Es interessiert der prozentuale Anteil interstitiellen Bindegewebes im Herzmuskel.

Bei den unbehandelten 5/6 nephrektomierten Tieren zeigt sich ein deutlicher Trend zu erhöhter Fibrosierung im Vergleich zu den sham-operierten Tieren. Bei den mit SLV320 behandelten 5/6 nephrektomierten Tieren ist die Fibrosierung signifikant vermindert verglichen mit den unbehandelten 5/6 nephrektomierten und sham-operierten Tieren.

Die Gruppe der behandelten sham-operierten Tiere zeigt ebenfalls eine Tendenz zu geringerer Fibrosierung im Vergleich zu beiden mit Placebo behandelten Gruppen; dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

	Sham+Placebo n=9	Sham+SLV320 n=12	5/6 N.+Placebo n=12	5/6 N.+SLV320 n=10
Fibrotische Fläche [% der Gesamtfläche]	1,81±0,13	1,61±0,11	1,93±0,16	1,40±0,09 #

Tabelle 11: Interstitielle Myokardfibrose, fibrotische Fläche [% der Gesamtfläche]. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet wie folgt:

$p = 0,02$ vs. 5/6 N.+Placebo, Sham+Placebo

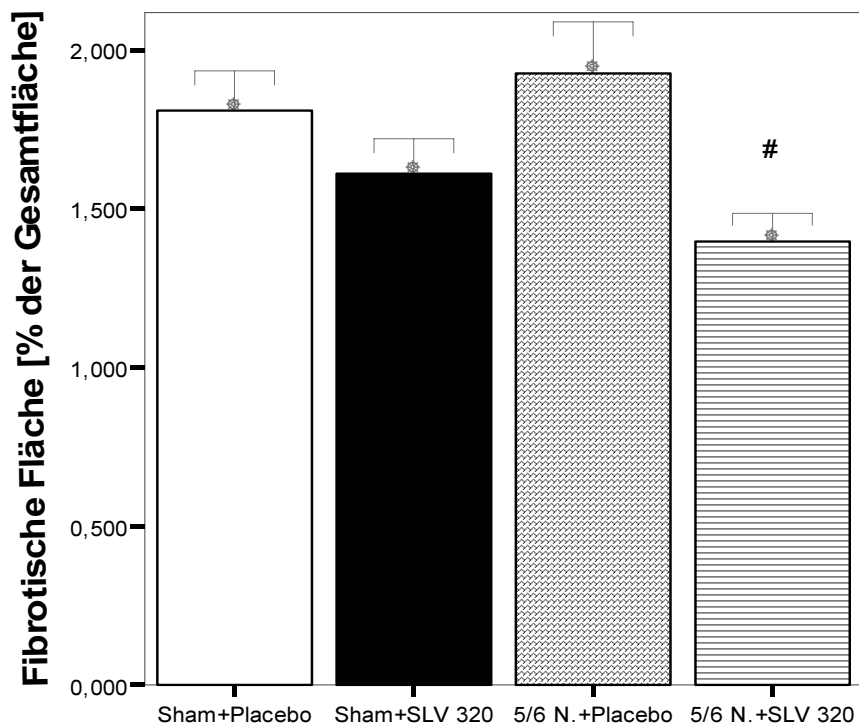


Diagramm 6: Interstitielle Fibrose Herz, fibrotische Fläche [% der Gesamtfläche]. Die verwendeten Werte sind Mittelwerte \pm SEM. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind wie folgt gekennzeichnet:
 # $p = 0,02$ vs. 5/6 N.+Placebo, Sham+Placebo

Die Fotos veranschaulichen den Unterschied im Grad des Fibrosierung zwischen den einzelnen Gruppen.

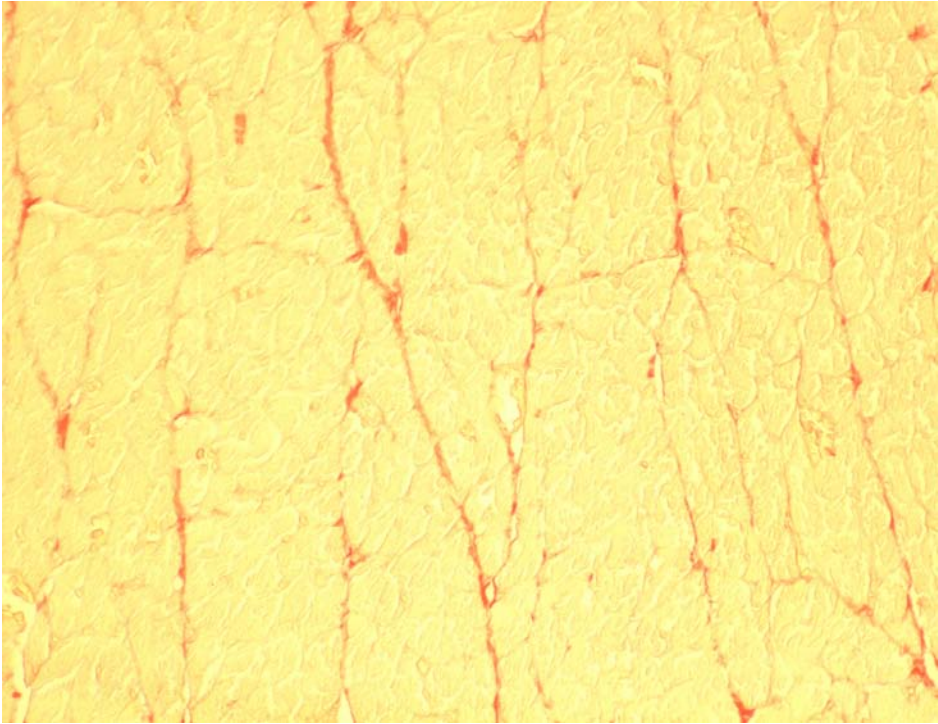


Bild 1: 5/6 Nephrektomie + Placebo

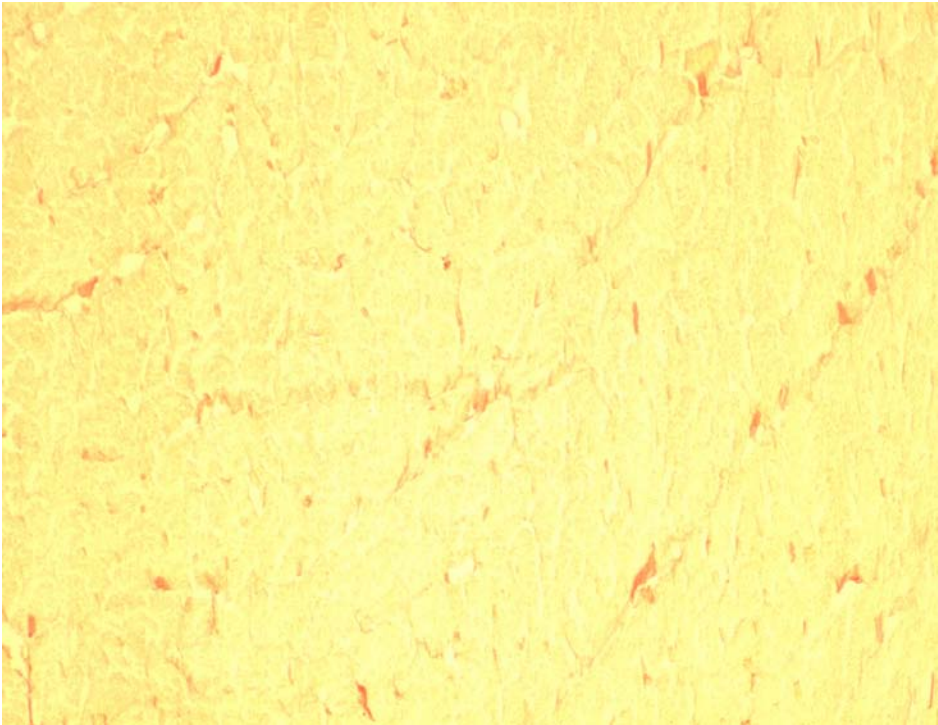


Bild 2: 5/6 Nephrektomie + SLV320

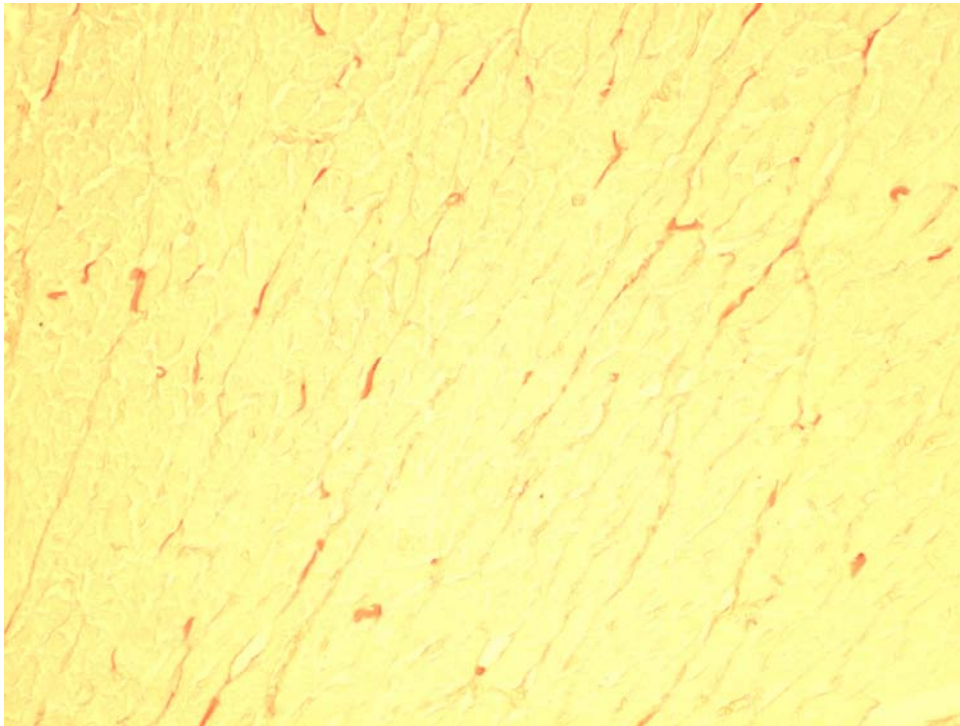


Bild 3: Sham + Placebo

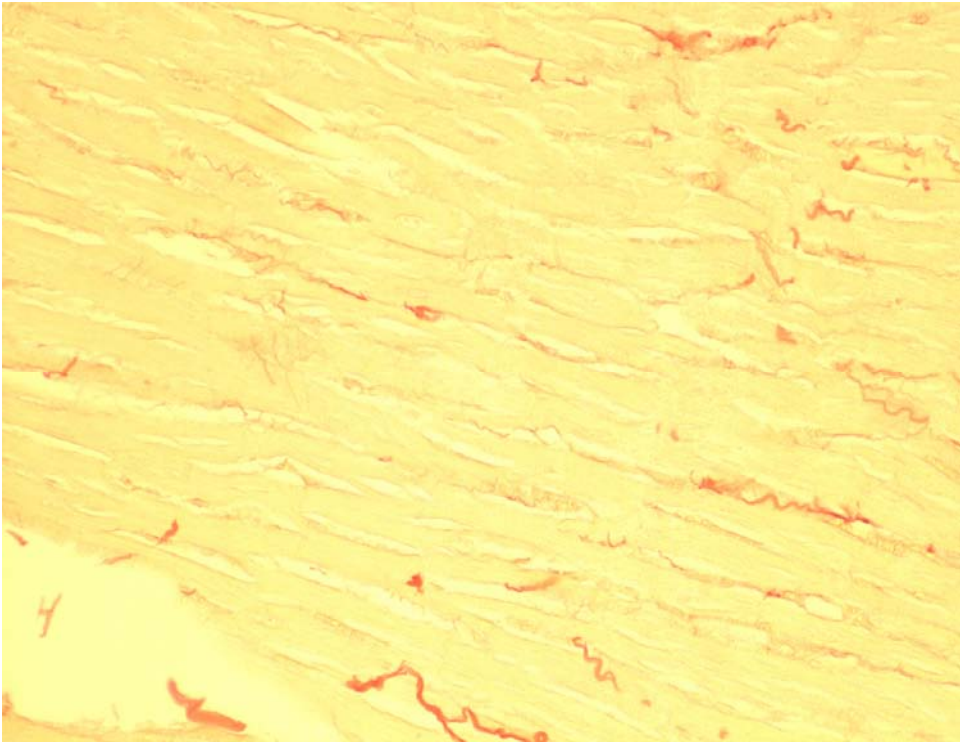


Bild 4: Sham + SLV320

4.8.2 Media-Lumen-Ratio und perivaskuläre Fibrose Herz

Aus Tabelle 12 geht hervor, dass bei der Untersuchung des Media-Lumen-Verhältnisses und der perivaskulären Fibrose an den Arterien des Herzens keine signifikanten Unterschiede festgestellt wurden.

	Sham+Placebo	Sham+SLV 320	5/6 N.+Placebo	5/6 N.+SLV 320
Media-Lumen-Ratio Herz	1,07±0,14	1,23±0,11	1,3±0,12	1,2±0,06
Perivaskuläre Fibrose Herz	2,66±0,11	2,5±0,09	2,69±0,09	2,61±0,13

Tabelle 12: Media-Lumen-Ratio und perivaskuläre Fibrose Herz. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung.

4.9 Mortalität

Während der Versuchsdauer von 12 Wochen verstarb ein Tier aus der Gruppe der 5/6 nephrektomierten, die den Wirkstoff erhielten. Alle anderen Tiere überlebten.