

**Aus der Medizinischen Klinik IV (WE 28) für Endokrinologie und Nephrologie  
des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin**

**Leiter: Prof. Dr. med. Walter Zidek**

**Abteilung für Nephrologie**

**Direktor: Prof. Dr. med. Walter Zidek**

**Diätetische Modifikation der L-Arginin- und Proteinzufuhr als  
Therapieansatz zur Regression glomerulosklerotischer  
Veränderungen bei experimenteller Glomerulonephritis**

**Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde des  
Fachbereichs Humanmedizin der Freien Universität Berlin**

**Vorgelegt von: Andreas Poppelbaum**

**Aus: Uelzen**

**Referent: Prof. Dr. med. Armin Distler**

**Koreferent: Prof. Dr. med. Walter Zidek**

**Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin der  
Freien Universität Berlin**

**Promoviert am: 6. April 2001**

***Meiner lieben Diemut***

## **INHALTSVERZEICHNIS:**

<b>1 Einleitung</b> .....	5
1.1 Klinische Aspekte.....	5
1.1.1 Allgemeines.....	5
1.1.2 Therapeutische Prinzipien .....	6
1.2 Theoretisch-experimentelle Grundlagen .....	7
1.2.1 Allgemeines.....	7
1.2.2 Pathogenetisch relevante Mediatoren .....	7
1.2.3 Das L-Arginin-/NO-System .....	9
1.2.3.1 Historischer Überblick .....	9
1.2.3.2 Die Familie der NO-Synthasen .....	9
1.2.3.3 NO und die Niere .....	11
1.2.3.4 Andere Stoffwechselwege von L-Arginin .....	11
1.3 Vorangehende Versuche und Fragestellung.....	13
<b>2 Material und Methoden</b> .....	15
2.1 Tierversuch .....	15
2.1.1 Tiermodell.....	15
2.1.2 Tiere .....	16
2.1.3 Versuchstierhaltung.....	16
2.1.4 Kontrolle des Injektionserfolges.....	17
2.1.5 Studienprotokoll.....	17
2.1.6 Meßparameter .....	19
2.1.7 Nierenperfusion und Probengewinnung .....	20
2.1.8 Isolation der Glomeruli.....	21
2.2 Darstellung der Meßmethoden.....	22
2.2.1 Messung der Albuminurie (Albumin-ELISA) .....	22
2.2.2 PAS-Färbung/Bestimmung der glomerulären Matrixexpansion.....	24
2.2.3 Isolation der glomerulären RNA .....	25
2.2.3.1 Beladen der Ultrazentrifuge .....	25
2.2.3.2 Phenol-Chloroform-Extraktion und Ethanol-Präzipitation.....	26
2.2.3.3 Bestimmung von RNA-Gehalt und -Qualität .....	27

2.2.4 RT-PCR.....	28
2.2.4.1 DNase-Verdau.....	29
2.2.4.2 Reverse Transkription.....	29
2.2.4.3 Semiquantitative PCR.....	30
2.2.5 Zellkultur.....	34
2.2.6 Nitrat- und Nitrit-Messung (Griess-Assay).....	34
2.2.7 Messung der Arginase-Aktivität (Arginase-Assay).....	35
2.2.8 Messung der ODC-Aktivität (ODC-Assay).....	37
2.2.9 Messung der der Aminosäuren-Serumkonzentrationen.....	39
2.2.10 Statistische Auswertung.....	39
<b>3 Ergebnisse</b> .....	<b>40</b>
3.1 Körpergewicht.....	40
3.2 Auswertung der PAS-Histologie.....	40
3.2.1 Morphologische Beschreibung.....	40
3.2.2 Semiquantitative Auswertung.....	42
3.3 Urinausscheidung.....	44
3.4 Albuminurie.....	44
3.5 Glomeruläre NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -Produktion.....	46
3.6 Arginase-Aktivität.....	48
3.7 Semiquantitative RT-PCR.....	49
3.7.1 Glomeruläre bNOS-mRNA-Expression.....	49
3.7.2 Glomeruläre Renin-mRNA-Expression.....	50
3.8 ODC-Aktivität.....	51
3.9 Serum-Aminosäuren.....	53
<b>4 Diskussion</b> .....	<b>55</b>
4.1 Interpretation der Ergebnisse.....	55
4.1.1 Histo-Score.....	55
4.1.2 Albuminurie.....	56
4.1.3 Glomeruläre Nitrat-/Nitrit-Produktion.....	57
4.1.4 bNOS-/Renin-mRNA-Expression.....	58
4.1.5 Arginase-Aktivität.....	58
4.1.6 Aktivität der Ornithin-Decarboxylase (ODC).....	59
4.1.7 Serumspiegel der Aminosäuren.....	59

4.1.8 Zusammenfassung .....	60
4.2 Vergleich mit anderen Studien .....	60
4.2.1 L-Arginin-/NO-System .....	60
4.2.1.1 ecNOS .....	60
4.2.1.2 iNOS .....	61
4.2.1.3 bNOS .....	64
4.2.2 Renin-Angiotensin-System .....	65
4.2.3 L-Arginin-Stoffwechsel via Arginase/ODC .....	68
4.2.4 Serum-Aminosäuren und „low-protein“-Diät .....	71
4.3 Fazit .....	73
Referenzen .....	76
Danksagung .....	84
Anhang I: Verwendete Puffer, Stammlösungen und Chemikalien .....	85
Anhang II: Zusammensetzung der Diäten .....	90