

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Ertl

**Einfluss des Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten Valsartan auf die
chronische Nierentransplantat-Insuffizienz der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität
zu Würzburg

vorgelegt von
Dominic Brookman-Amisshah
aus
Weiden i.d.Opf.

Würzburg, Dezember 2006

Referent: Prof. Dr. med. E. Heidebreder

Korreferentin: Prof. Dr. rer. nat. A. Waaga-Gasser ✓

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 31.07.2007

Der Promovend ist Arzt.

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung	1
1.1 Historische Vorbemerkungen	1
1.2 Die akute Transplantatabstoßung	3
1.3 Die chronische Transplantatnephropathie	4
1.4 Immunbiologische Vorgänge bei der Transplantatabstoßung	6
1.5 Nichtimmunologische Ursachen der CAN	10
1.6 Das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem (RAAS): Wirkmechanismen von AT-II-Rezeptorantagonisten	12
1.7 Der AT-II-Rezeptorantagonist Valsartan	15
1.8 Tiermodell	18
2. Fragestellung	18
3. Methodik	19
3.1 Versuchstiere	19
3.2 Versuchsgruppen	20
3.3 Versuchsablauf	20
3.4 Versuchsdurchführung	21
3.4.1 Anästhesieverfahren	21
3.4.2 Lagerung	21
3.4.3 Nierenentnahme beim Spendertier	22
3.4.4 Organimplantation	23
3.4.5 Entnahme der rechten Eigenniere des Empfängers	25
3.4.6 Immunsuppression	26
3.4.7 Zubereitung und Applikation des Prüfmedikaments	26
3.4.8 Blutentnahme	27
3.4.9 Gewinnung des 24-Stunden-Sammelurins	27
3.5 Berechnung der renalen Funktionsparameter	28

3.6	Statistik	29
4.	Ergebnisse	30
4.1	Gewichtsverlauf nach Transplantation	30
4.2	Urinvolumen	32
4.3	Serumkreatinin	34
4.4	Blut-Harnstoff-Stickstoff	36
4.5	Kreatinin-Clearance	38
4.6	Proteinurie	41
5.	Diskussion	43
6.	Zusammenfassung	55
7.	Literaturverzeichnis	57

Abkürzungen

ACE	angiotensin converting enzyme
AP-1	Aktivator Protein 1
APC	Antigen präsentierende Zellen
AT ₁ -R	Angiotensin-II-Rezeptor Typ 1
AT ₂ -R	Angiotensin-II-Rezeptor Typ 2
AT-I	Angiotensin I
AT-II	Angiotensin II
BUN	Blut-Harnstoff-Stickstoff
cAMP	cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat
CAN	chronic allograft nephropathy
CD4, CD28,...	cluster of differentiation 4 u.s.w.
CMV	Cytomegalie-Virus
CsA	Cyclosporin A
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte antigen-4
DGF	delayed graft function
DOCA	Deoxycorticosteron
ERK 1/2	extracellular signal-regulated kinase 1/2
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HLA	humanes Leukozytenantigen
IL-2, IL-3,...	Interleukin-2, Interleukin-3 u.s.w.
IP ₃	Inositoltrisphosphat
LAK	lymphokin-aktivierte Killerzelle
MHC	major-histo-compatibility-complex
MW	Mittelwert
NF-κB	Nuclear Factor -κB
NK	natürliche Killerzelle
PDGF	platelet derived growth factor
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SEM	standard error of the mean
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF-β	transforming growth factor - β

Th1-Zellen

Th2-Zellen

TNF- α

t-PA

T-Helferzellen Typ 1

T-Helferzellen Typ 2

Tumor Nekrosefaktor - α

tissue plasminogen activator

1. Einleitung

1.1 Historische Vorbemerkungen

Die Idee, Organteile oder ganze Organe zu verpflanzen, ist uralt und schon in vormittelalterlichen Legenden dokumentiert. Schon die alten Heiligen Cosmas und Damian sollen diese Idee realisiert haben, indem sie einem Patienten mit einem Tumor des linken Beins das gesunde Bein eines Äthiopiens transplantierten. Erste wissenschaftliche Transplantationen lassen sich jedoch erst im 18. Jahrhundert belegen, indem Gewebeübertragungen, insbesondere der Haut, vorgenommen und erforscht wurden. Einen ersten Meilenstein der Transplantationsmedizin setzte der deutsche Chirurg Emmerich Ullmann 1902 in Wien mit der ersten technisch erfolgreichen Nierentransplantation beim Hund. Den entscheidenden Schritt vollzog 1905 Alexis Carrell mit der Verbesserung der Gefäßnaht; simultan legte C. C. Guthrie grundlegende experimentelle Ergebnisse über die Organperfusion und Organkonservierung durch Hypothermie vor. 1909 gelang erstmals Ernst Unger in Berlin eine Nierentransplantation beim Menschen, indem er eine Affenniere an die Oberschenkelgefäße eines jungen Mädchens anschloss.

Nachdem in den frühen fünfziger Jahren in zunehmendem Maße die Rolle der immunologisch bedingten Organzerstörung erkannt worden war und damit das Haupthindernis einer erfolgreichen Transplantation definiert war, beschäftigten sich zwei Arbeitsgruppen, eine in Paris (R. Küss, J. Hamburger) und eine in Boston (D. Hume) mit den Problemen der klinischen Nierentransplantation. Dies gipfelte in der erfolgreichen Transplantation einer Zwillingnniere durch J. Murray und J. Merrill (Abb. 1). Dadurch war eindrucksvoll die Wertigkeit der genetischen Kompatibilität und die Rolle des Immunsystems für das Transplantatüberleben belegt worden.

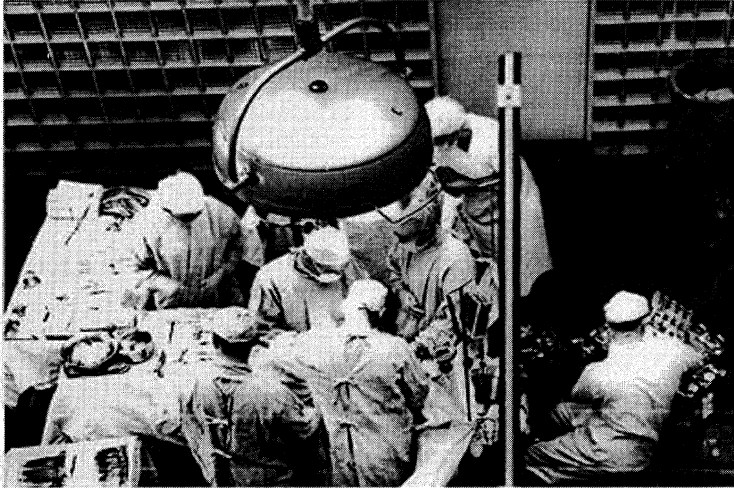


Abb. 1: Die erste Nierentransplantation bei eineiigen Zwillingen, durchgeführt am 23. Dezember 1954, Photograph courtesy of Brigham an Women´s Hospital [40]

Als immunsuppressive Substanzen standen zunächst nur Azathioprin und Kortikosteroide zur Verfügung. Den entscheidenden Durchbruch erlangte die Transplantationsmedizin mit der klinischen Einführung des Cyclosporin A im Jahre 1981.

Mit Beginn des 21. Jahrhunderts ist die Transplantation von Organen wie der Niere, Leber, Herz, Pankreas, Dünndarm u.a. ein standardisiertes Routineverfahren geworden. Der Erfolg ist allerdings an die Entwicklung und Verfügbarkeit neuer, weniger toxischer Immunsuppressiva geknüpft. Heute sind vor allem Nierentransplantationen weitgehend Routineeingriffe und die erfolgreiche Prävention der akuten Abstoßungsreaktion hat in den letzten Jahrzehnten das Risiko frühzeitiger Organverluste seltener gemacht. Jedoch bereiten die völlig unzureichende Zahl von Spendernieren und vor allem die noch nicht ausreichend geklärten Mechanismen, die auf die chronische

Nierentransplantat-Insuffizienz Einfluss nehmen, nach wie vor doch große Probleme [1, 33].

Die bedrohliche Transplantatinsuffizienz hat sich somit von den Folgen der akuten Abstoßungsreaktion hin zu dem irreversiblen Verlust des Transplantats im Zuge der chronischen Transplantatnephropathie verschoben. Die Inzidenz der akuten Organabstoßung innerhalb eines Jahres nach Transplantation ist deutlich rückläufig, von 38,5% im Jahr 1991 ist sie auf 16,6% im Jahr 2000 abgefallen. 80% der transplantierten Leichennieren und bis zu 95% der transplantierten Lebendspenden überdauern mittlerweile ohne relevante Funktionseinbußen das erste Jahr nach der Transplantation.

Im Gegensatz dazu bleibt die chronische Transplantatinsuffizienz der Niere ein Problem, das sich nach unterschiedlich langer Latenz klinisch offenbart, nicht selten eine erneute Transplantation erforderlich macht und sich nach ihrer Manifestation keiner immunsuppressiven Therapie zugänglich zeigt.

Langzeitbeobachtungen belegen, dass der Prozentsatz der funktionsfähigen Transplantate nach dem ersten Jahr stetig abnimmt. Näherungsweise überdauert die Funktion von 80% der Lebendtransplantate und weniger als 50% der postmortalen Transplantate die 10-Jahresgrenze. Die Gesamtrate des Transplantatversagens hat sich in den letzten 20 Jahren damit kaum verändert. Nach wie vor bleiben etwa nur 50% aller postmortalen Transplantate durchschnittlich 8,5 Jahre funktionsfähig [3, 37]. Es bleibt somit nach wie vor eine Herausforderung, die immunbiologischen Mechanismen der chronischen Transplantatinsuffizienz durch Verbesserung der Immunsuppression zu hemmen und somit die Funktionsfähigkeit der Transplantate langfristig zu erhalten.

1.2 Die akute Transplantatabstoßung

Im Gegensatz zur chronischen Transplantatinsuffizienz, die histologisch vor allem durch eine proliferative, bindegewebige Verdickung der Gefäßintima, eine eher diskrete Infiltration und eine Glomerulosklerose gekennzeichnet ist, zeigt sich bei der akuten Form der Transplantatabstoßung das Bild einer

ausgeprägten interstitiellen, leukozytären Infiltration mit Vaskulitis, Ödembildung, Arteriosklerose, Tubulitis und Nekrose. Klinisch manifestiert sich ein akut-progredienter Verlust der Organfunktion, der in ein irreversibles Organversagen münden kann.

Es handelt sich hierbei um eine vorwiegend zellvermittelte Immunreaktion innerhalb der ersten 6 Monate nach Organübertragung, wobei CD4⁺- und CD8⁺-T-Lymphozyten als Effektorzellen eine wichtige Funktion zukommt. Auch wenn viele weitere Zelltypen wie z.B. Makrophagen, natürliche Killerzellen u.a. für den Ablauf einer akuten Transplantatabstoßung erforderlich sind, erscheinen doch T-Lymphozyten dominant zu sein. Dies belegen Studien mit genetisch induzierter T-Lymphozyten-Defizienz bei Mäusen, die ein Ausbleiben der Abstoßungsreaktion infolge der fehlenden Antigenerkennung nachweisen konnten [38,39].

1.3 Die chronische Transplantatnephropathie

In der aktuellen klinischen Transplantationsmedizin spielt die chronische Transplantatnephropathie (Chronic Allograft Nephropathy, CAN) eine übergeordnete Rolle. Charakteristisch für die chronische Transplantatnephropathie ist ein im Verlauf zwar variabler, aber schleichend fortschreitender Abfall der glomerulären Filtrationsrate, der letztendlich, nach einigen Berichten in bis zu 90% der Fälle, zu einem Organversagen führt. Ein adäquates Ansprechen auf eine Änderung der immunsuppressiven Therapie wurde bei der CAN eher selten beobachtet. Klinisch im Vordergrund steht die progrediente Abnahme der renalen Funktion, d.h. die Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) mit einer stetigen Zunahme des Serumkreatinins beginnend 3-6 Monate nach Transplantation, meist in Kombination mit einer Proteinurie (gewöhnlich 1-2 g/d) und einer arteriellen Hypertonie [4, 36, 37].

Bei der CAN führen rezidivierende strukturelle Organschädigungen im Sinne der „tissue response to injury“ - Theorie zu immer wiederkehrenden, stereotypen Entzündungsreaktionen. In ihrem Gefolge werden durch die

infiltrierenden Zellen multiple Mediatoren synthetisiert und freigesetzt. Folge ist neben einer obstruierenden Proliferation vaskulärer Strukturen eine progrediente Sklerosierung und Atrophie des Nierenparenchyms. Neben proinflammatorischen Zytokinen, Enzymen und Wachstumsfaktoren (z.B. PDGF, IL-1 β , TNF- α , Angiotensin II) spielt bei der CAN vor allem eine erhöhte Gewebekonzentration des Transforming Growth Factors (TGF- β) eine wesentliche Rolle bei der fortschreitenden Nephrosklerose. Das biologisch aktive TGF- β ist ein multifunktionelles Zytokin: Je nach Produktionsrate im renalen Gewebe, der enzymatischen Freisetzung aus größeren Proteinkomplexen und dem Vorhandensein entsprechender Rezeptoren oder Bindungsmoleküle der Effektorzellen führt es zu einer Zunahme der extrazellulären Matrix und somit zu einer progredienten Gewebsvernarbung.

Histologisch zeigt die chronische Transplantatinsuffizienz vor allem eine Proliferation der vaskulären glatten Muskelzellen mit bindegewebiger Verdickung der Intima renaler Arterien und Arteriolen, Risse und zum Teil Duplizierung der Basalmembran der peritubulären Kapillaren, eine diskrete entzündliche Infiltration, eine Glomerulosklerose, eine interstitielle Fibrose sowie eine tubuläre Atrophie [39].

Der histologische Schweregrad einer CAN wird auf der Basis des Ausmaßes der tubulären Atrophie und der interstitiellen Fibrose mittels der Banff-Klassifikation von 1997 eingeteilt:

Grad I: Geringgradige interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie

- I a: mit spezifischen Veränderungen einer CAN
- I b: ohne spezifische Veränderungen einer CAN

Grad II: Mittelgradige interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie

- II a: mit spezifischen Veränderungen einer CAN
- II b: ohne spezifische Veränderungen einer CAN

Grad III: Hochgradige interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie

- III a: mit spezifischen Veränderungen einer CAN
- III b: ohne spezifische Veränderungen einer CAN

Allerdings ist keines dieser histologischen Merkmale absolut beweisend für eine CAN, so dass andere mögliche Ursachen einer Dysfunktion des Transplantats wie eine akute Abstoßung, die Nephrotoxizität von Medikamenten oder das Auftreten eines Rezidivs der Grunderkrankung bzw. eine neu auftretende renale Erkrankung vor Diagnosestellung einer CAN ausgeschlossen werden müssen.

Da Immunglobulin- und Komplementablagerungen sowie Antigen-Antikörper Komplexe häufig gemeinsam mit den charakteristischen feingeweblichen Veränderungen der Niere nachgewiesen wurden, stellte sich zunächst ausschließlich der Verdacht einer immunologischen Genese der chronischen Transplantatinsuffizienz. Nach zahlreichen weiteren Untersuchungen ist nunmehr ein Zusammenspiel multipler Faktoren ursächlich für die Entstehung einer CAN eher verantwortlich zu machen.

In diesem pathogenetischen Konzept spielen diverse prädisponierende Risikofaktoren sowie spezifische und unspezifische immunologische Mechanismen eine wichtige Rolle. Allerdings lassen sich aufgrund einer einzelnen Gewebläsion (z.B. Schweregrad der interstitiellen Fibrose, Verdickung der Intima oder Akkumulation extrazellulärer Matrix) keine eindeutigen Hinweise über die Prognose des weiteren Verlauf der Transplantatinsuffizienz erzielen. Somit wird anstelle des Ausdrucks „chronische Transplantatabstoßung“ nunmehr der Term „chronic allograft nephropathy“ (CAN) – chronische Transplantatnephropathie – als Oberbegriff sowohl für die histologischen Veränderungen, die bei der chronischen Transplantatinsuffizienz auftreten, als auch für die funktionellen Ausfälle verwendet [2, 5, 37].

1.4 Immunbiologische Vorgänge bei der Transplantatabstoßung

Der initiale immunologische Mechanismus, der für die Entstehung einer akuten Transplantatabstoßung, aber auch einer CAN, eine zentrale Rolle spielt, ist das Erkennen von Alloantigenen durch T-Lymphozyten, insbesondere durch sogenannte T-Helferzellen.

Als Hauptunterscheidungsmerkmal exprimieren T-Lymphozyten auf ihrer Zellmembran entweder CD4 - oder CD8-Glykoproteine. Die wichtigsten Zellen zu Beginn einer Immunreaktion stellen die CD4⁺-T-Lymphozyten dar. Nach der Erkennung der Alloantigene produzieren diese die spezifischen Zytokine, die für die weitere Stimulation des Immunsystems verantwortlich sind. Auf parakrinem und autokrinem Weg führt dies zu einer Aktivierung, Maturation und Proliferation weiterer CD4⁺-T-Lymphozyten sowie von Effektorzellen: Makrophagen, (zytotoxischen) CD8⁺-T-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen (NK), lymphokin-aktivierten Killerzellen (LAK) und Alloantikörper produzierenden B-Lymphozyten. Bisher wurden zwei Vorgänge, die eine Immunreaktion in Gang setzen, beschrieben [39]:

- Auf dem ersten, dem „*direkten*“ Weg erkennen CD4⁺-T-Zellen intakte allo-major-histo-compatibility-complex-Moleküle vom Typ II (allo-MHC-II) auf den Oberflächen antigenpräsentierender Zellen (APC) des Spenders. Dieser Vorgang der frühen T-Zell-Aktivierung tritt überwiegend bei der akuten Form der Transplantatabstoßung auf.
- Auf dem zweiten, dem „*indirekten*“ Weg erkennen CD4⁺-T-Zellen bereits prozessierte, alloantigene Proteinfragmente, die auf körpereigenen MHC-II-Molekülen auf APC des Empfängers präsentiert werden. Man geht aber davon aus, dass dieser Prozess der Aktivierung durch körpereigene APC schleichend und persistierend verläuft und bei der Entstehung einer CAN die dominante Rolle spielt [16, 17].

Die Aktivierung von CD4⁺-T-Zellen erfolgt allerdings nicht allein über den alloantigen-spezifischen Kontakt zwischen dem T-Zell-Rezeptor (TCR) und dem jeweiligen MHC-Molekül. Ein essentielles Moment der CD4⁺-T-Lymphozyten-Aktivierung stellt die nicht-alloantigen-spezifische Kostimulation über Oberflächenmoleküle mit einem entsprechenden Liganden dar:

- a) Zu dem am besten charakterisierten Vertreter dieser aktivierenden, kostimulatorischen Moleküle auf CD4⁺-T-Lymphozyten gehört das CD28.

CD28 besitzt zwei bekannte Liganden: CD80 (auch B7-1) und CD86 (auch B7-2). Diese Liganden werden auf der Oberfläche aktivierter APC exprimiert. Ferner setzt 24 Stunden nach Transplantation vaskularisierter allogener Organe die Expression von CD 80/ CD86 auf deren Endothelzellen ein, bei genetisch identischen Transplantaten bleibt dagegen dieser Vorgang aus.

- b) Ein weiteres, dem CD28 strukturell sehr ähnliches Molekül ist das CTLA-4. Auch dieses bindet CD80 und CD86. Aber anders als durch CD28 kommt es durch CTLA-4 zu einer inhibitorischen Signaltransduktion, welche die Immunreaktion beendet.
- c) Die Interaktion zwischen CD40 und dem dazugehörigen Liganden CD156 (oder CD40-Ligand) spielt eine weitere Schlüsselrolle in der Kostimulation von CD4⁺-T-Lymphozyten. CD 40 wird auf der Oberfläche von APC - wie dendritischen Zellen, B-Lymphozyten und Makrophagen - exprimiert, CD156 dagegen auf der Oberfläche von aktivierten CD4⁺-T-Lymphozyten. Kostimulation via CD40 transduziert wichtige Signale für die Antikörperproduktion durch Plasmazellen (vermutet als ein Faktor der CAN) und setzt massiv die Expression von CD80 und CD86 auf APC in Gang. Ferner kommt es über diese Kostimulation zu einer Expression von Adhäsionsmolekülen und Zytokinen, die ihrerseits eine progrediente Infiltration durch Lymphozyten und Aktivierung von CD4⁺-T-Lymphozyten zur Folge hat.

Fehlen diese kostimulatorischen Signale, kommt es zu einer über mehrere Wochen anhaltenden Anergie der CD4⁺-T-Lymphozyten ohne adäquate Reaktion auf weitere Stimulation oder zum programmierten Zelltod (Apoptose). Unabhängig davon, ob die T-Zell-Aktivierung auf dem direkten oder indirekten Weg erfolgt, zeigt sich nach erfolgreicher Kostimulation eine Reifung und Proliferation zweier Typen von CD4⁺-T-Lymphozyten.

Typ I dieser T-Helferzellen (Th1-Zellen) produziert Interleukin 2 (IL-2) und Interferon γ . Durch Produktion und Sekretion von löslichen Mediatoren wie z.B. dem Tumor-Nekrose-Factor (TNF) und durch eine Stimulation von

Effektorzellen (v.a. Makrophagen) kommt es zu einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ IV (delayed type hypersensitivity). Dieser Vorgang wird vor allem bei der akuten Abstoßungsreaktion beobachtet.

Typ 2-T-Helferzellen (Th2-Zellen) sezernieren IL-4, IL-6, IL-10 und IL-13, welche die Differenzierung von B-Zellen zu Antikörper produzierenden Plasmazellen stimulieren. Dieser Vorgang ist ausschlaggebend für die akzelerierte Form der akuten Abstoßung oder der sogenannten hyperakuten Abstoßung sowie möglicherweise ein wichtiger Teilmechanismus bei der Ausbildung einer chronischen Transplantatnephropathie. Bei dieser Form der akuten Abstoßungsreaktion geht man davon aus, dass bereits früher eine Sensibilisierung des Organempfängers gegenüber den entsprechenden Alloantigenen (z.B. durch Bluttransfusionen oder vorherige Transplantationen) stattgefunden hat [18, 39].

Die von den aktivierten CD4⁺-T-Lymphozyten und Effektorzellen produzierten Zytokine stimulieren die Gefäßendothelzellen des Transplantats zur Synthese von Adhäsionsproteinen sowie von MHC Typ I und II. Dieser Prozess führt wiederum zur Aktivierung und Invasion weiterer CD4⁺-T-Lymphozyten und Effektorzellen. Die T-Zellen, Makrophagen und aktivierten Endothelzellen sezernieren Wachstumsfaktoren, die zur Proliferation von glatten Muskelzellen der renalen Gefäße, zu einer interstitiellen Fibrose und zur Ablagerung von Proteinen im Extrazellularraum führen. Resultat ist eine bindegewebige Vernarbung des Nierenparenchyms und eine vaskuläre Okklusion durch Verdickung der Intima, was schließlich zu einer stetigen Abnahme der Organfunktion und zu dem bereits beschriebenen histologischen Bild der chronischen Gewebedegeneration führt [21].

Es ist noch unbekannt, welche der beiden Gruppen von T-Helferzellen den größeren Einfluss auf die Entwicklung einer CAN hat. Möglicherweise hemmen die Th2-Zellen die Th1-Zellen, was bei der akuten Form der Abstoßung einen protektiven Effekt für das Transplantat bewirkt. Andererseits induzieren die Th2-Zellen die Produktion von Alloantikörpern durch Plasmazellen, was eine Schädigung des vaskulären Endothels des Transplantats zur Folge hat [19].

Immunohistochemische Untersuchungen der CAN bei Ratten haben gezeigt, dass es infolge der Aktivierung beider Komponenten des Immunsystems zu zwei immunologisch verankerten Schädigungsmechanismen kommt:

- Infiltration des renalen Gewebes durch CD4⁺-T-Lymphozyten und Makrophagen
- Immunglobulinablagerungen in den Gefäßendothelien der transplantierten Niere.

Diese beiden Prozesse münden schließlich zur Reduktion in der renalen Funktionsfähigkeit und im narbigen Umbau des Nierengewebes [20].

1.5 Nichtimmunologische Ursachen der CAN

Langzeitergebnisse in Tierversuchen haben gezeigt, dass es auch in genetisch identischen Transplantaten zu charakteristischen Organfunktions- und Gewebsveränderungen im Sinne einer CAN kommt. Dieser Befund spricht dafür, dass auch antigen-unabhängige, d.h. nicht ausschließlich immunbiologische Mechanismen als mögliche Ursachen einer CAN verantwortlich zu machen sind.

Zu diesen Faktoren zählt man unter anderem die verlängerte Ischämiezeit des Transplantats, den Reperfusionsschaden nach Transplantation sowie heterogene Schädigungen des transplantierten Gewebes [6].

Bereits eine, vor allem aber mehrere Episoden einer akuten Transplantatabstoßung begünstigen die Entstehung der CAN. Eine entscheidende Rolle spielt dabei, wie schwer der Verlauf der akuten Organabstoßung ist und zu welchem Zeitpunkt sie erfolgt. Zum Beispiel besteht bei der späten Form der akuten Abstoßung, die erst nach einem oder mehr Jahren nach der Transplantation auftreten kann, ein dreifach erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie [12].

Auch das Alter des Spenders und die Verminderung der transplantierten Gewebsmasse spielen eine wichtige Rolle als Risikofaktoren der CAN. Diese beiden Faktoren determinieren maßgeblich die Anzahl der funktionsfähigen Nephronen im Transplantat [7]. Postmortale Organspenden von Menschen in

einem Alter von über 50 Jahren sowie von unter 10 Jahren sind mit einer verminderten Überlebenszeit des Transplantats assoziiert. Bei Menschen fortgeschrittenen Alters geht man von einer altersbedingten Reduktion der Nephronanzahl in den Nieren aus. Bei sehr jungen Spendern vermutet man, dass es initial zu einem rapiden Wachstum der kleinen Niere im Organismus eines adulten Empfängers kommt, mit dem das kindliche Organ den metabolischen Anforderungen des adulten Organismus zu entsprechen versucht [11]. In beiden Fällen weist das Transplantat eine inadäquate Masse, assoziiert mit einer reduzierten Anzahl an funktionsfähigen Nephrons („body size - mismatch“), auf.

Die hämodynamische Antwort auf eine Reduktion der Nephronanzahl ist ein verringerter renaler Blutfluss und ein gesteigerter intraglomerulärer Druck [9]. Diese glomeruläre Hypertonie erzeugt eine verstärkte Filtration von Makromolekülen, v.a. von Proteinen, welche überwiegend im proximalen Tubulus wieder reabsorbiert werden. Dadurch kommt es zu einer Aktivierung des Tubulusepithels sowie zu einer gesteigerten Expression inflammatorisch wirksamer, vasoaktiver Substanzen. Die hinzutretende und meist progrediente Proteinurie verstärkt selbst perpetuierend die interstitielle und glomeruläre Entzündung. Schließlich kommt es zu einer Narbenbildung und zu einer tubulären Atrophie [8, 10].

Zum Beispiel sind das Auftreten einer verzögerten Transplantatfunktion unmittelbar nach Transplantation („delayed graft function“, DGF), postoperative Infektionen (z.B. durch CMV) sowie ein überhöhter Body-mass-Index und eine zum Teil damit verbundene Hyperlipoproteinämie des Empfängers eng mit einer reduzierten Transplantatüberlebenszeit assoziiert [13]. Letztlich stellt vor allem die arterielle Hypertonie, entweder vorbestehend oder als Folge der Transplantation, ein Hauptproblem bei der Verbesserung der Transplantatüberlebenszeit dar [14].

1.6 Das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem (RAAS): Wirkmechanismen von AT-II-Rezeptor-Antagonisten

Die Niere unterliegt dem Einfluss diverser endo- und parakriner Regelkreise, durch welche die Nierenfunktion moduliert wird. Neben dem Sympathikus spielt das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) hierbei eine Schlüsselrolle. Dementsprechend kommt der Wirkung von Arzneimitteln, die in diesen Regelkreis eingreifen, eine besondere Rolle zu.

Das RAAS wird durch die Freisetzung von Renin aus dem juxtaglomerulären Apparat der Niere reguliert. Hauptsächliche Auslöser für die Reninsynthese und Freisetzung sind:

- ein reduzierter Perfusionsdruck im Vas afferens
- der Sympathikotonus über β_1 -Rezeptoren der juxtaglomerulären Zellen
- eine Hyponatriämie über Erfassung der Natriumkonzentration im distalen Tubulus durch Zellen der Macula densa.

Das Enzym Renin, eine Aspartylprotease, bildet aus dem in der Leber synthetisierten Glykoprotein Angiotensinogen das Dekapeptid Angiotensin I (AT-I). Durch die Abspaltung eines Dipeptids vom N-terminalen Ende des Angiotensin I durch die zinkhaltige Peptidase Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) entsteht der terminale Effektor des Systems, das Oktapeptid Angiotensin II (AT-II). Das ACE ist nur zu einem geringen Teil im Plasma gelöst. Der größere Teil ist als Exoenzym an der Plasmaseite des Endothels fixiert. Die höchste vaskuläre Konzentration konnte im Lungenkreislauf gefunden werden.

Zunächst vermutete man ein systemisch angelegtes Hormonsystem. Die bereits oben angeführten Erkenntnisse zeigten jedoch, dass es sich hier um eine überwiegend parakrin, auf lokaler Ebene wirkende Hormonkaskade handelt. Die entscheidenden Enzyme der Kaskade – Renin und ACE – sind nicht streng substratspezifisch und können durch verschiedene lokale Proteinasen ersetzt werden. So katalysiert das ACE (= Kininase II) beispielsweise neben der Bildung von AT-II aus AT-I auch den Abbau von Bradykinin zu inaktiven Bradykininfragmenten. Umgekehrt kann – je nach Gewebe oder Organsystem –

trotz ACE-Hemmung die Bildung von AT-II durch andere Proteinasen (t-PA, Kathepsin G, Tonin, Chymase) im unterschiedlichen Ausmaß erfolgen [22,23]. Der Abbau von AT-II zu inaktiven Peptidfragmenten wird durch Angiotensinasen katalysiert [28].

Die Wirkungen von AT-II in der Niere werden durch mindestens zwei Subtypen von Zellmembranrezeptoren vermittelt, dem Angiotensin-II-Rezeptor Typ 1 (AT₁-R) und dem Angiotensin-II-Rezeptor Typ 2 (AT₂-R). Beim Menschen wird der AT₁-R auf dem Chromosom 3, der AT₂-R auf dem X-Chromosom genetisch kodiert. In der Niere lassen sich AT₁-R in den glomerulären Kapillaren, dem glomerulären und extraglomerulären Mesangium sowie in verschiedenen Abschnitten des Tubulussystems nachweisen. Die Expression und die Rezeptordichte von AT₁-R werden durch unterschiedliche Mechanismen reguliert. So hemmt zum Beispiel AT-II, im Sinne eines negativen Feedbacks, die AT₁-R-Genexpression. Im Gegensatz dazu führt eine langfristige Hyponatriämie bzw. reduzierte NaCl-Zufuhr zu einer Stimulation der AT₁-R-Genexpression. Im Tierversuch wurde beobachtet, dass es auch unter dem Einfluss eines AT-II-Rezeptoragonisten bei erniedrigter NaCl-Gabe zu einer Erhöhung der AT₁-R-mRNA kommt. Dies spricht für weitere, noch weitgehend unbekannte Faktoren, die einen Einfluss auf die Rezeptordichte und deren Expression ausüben.

AT₂-R werden überwiegend in der Embryonalphase während der Entwicklung der Niere exprimiert. Beim Erwachsenen konnten sie in der Niere auch in den Arteriae arcuatae und in den Interlobulararterien nachgewiesen werden. Experimentelle Beobachtungen lassen vermuten, dass die Rezeptordichte der AT₂-R bei der Wundheilung und bei entzündlichen Veränderungen eine Rolle spielen, da sie bei diesen Prozessen ansteigt.

Neben den klassischen AT₁- und AT₂-Rezeptorsubtypen gibt es weitere Bindungsstellen für AT-II und seine aktiven Peptidfragmente (AT-III, AT-IV, AT 1-7). Deren Funktion ist noch nicht abschließend geklärt [22].

AT-II zählt wegen seiner kurzen Halbwertszeit von vier Minuten zu den lokalen Hormonen [25], wirkt direkt vasokonstriktorisch und hat eine bis zu 40mal stärkere vasokonstriktorische Wirksamkeit als Noradrenalin [24]. Diese direkte

Vasokonstriktion wird an den glatten Muskelzellen des Gefäßsystems über den an das G-Protein gekoppelten Rezeptor, mittels Aktivierung der Phospholipase C und des IP_3 -Calciumsystems, vermittelt [23]. Intrarenal kommt es dabei zu einer AT_1 -R vermittelten Kontraktion des Vas afferens und mehr noch des Vas efferens. Summarisch resultiert in der Niere aus hämodynamischer Sicht eine Verminderung des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate. Gleichzeitig kommt es zu einer Steigerung der Filtrationsfraktion und einem Anstieg des glomerulären Kapillardrucks [22].

AT-II stellt im renalen Gewebe einen hochaktiven Proliferationsaktivator dar. Es aktiviert mittels des AT_1 -R eine Proteinkinase, welche die Expression von Wachstumsfaktoren steuert, maßgeblich TGF- β (Transforming growth factor-beta). TGF- β ist der Prototyp einer Familie strukturell verwandter, multifunktionaler, auto- und parakriner Wachstumsfaktoren. Es findet sich in vielen Geweben und ist in viele physiologische und pathologische Prozesse eingebunden, beispielsweise Wachstum und Entwicklung, Immunmodulation, Wundheilung, aber auch Entzündung oder Onkogenese [41].

Als Stimulus, vor allem für TGF- β , induziert AT-II eine Vermehrung der mesangialen Matrix. Bereits in geringer Konzentration führt AT-II – vermutlich durch den PDGF stimuliert – zu einer massiven Hypertrophie von kultivierten Mesangiumzellen. Infolge Aktivierung von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor wird der Abbau dieser Matrix durch Metalloproteasen gehemmt [22, 24]. Ferner erhöht AT-II die Aktivität der sympathischen Synapsen und stimuliert die Aldosteronsynthese und -sekretion in der Nebennierenrinde [23]. Eine erhöhte Aldosteron-Konzentration im Blut führt zu einer gesteigerten Natrium- und Wasserretention. Gleichzeitig verstärkt Aldosteron die Erregbarkeit der glatten Gefäßmuskulatur gegenüber konstriktiven Reizen. Beide Mechanismen unterstützen die blutdruck- und volumensteigernde Wirkung von AT-II.

Durch direkte Wirkung steigert AT-II in unterschiedlichen Abschnitten des Tubulussystems die Reabsorption von Natrium. Bei hohen AT-II-Konzentrationen wird im proximalen Tubulus die Adenylatcyclase gehemmt. Die verminderte Bildung von cAMP stimuliert den luminalen Natrium-Protonen-Austausch und erhöht somit die Wasser- und Kochsalzreabsorption. Sowohl im

proximalen als auch im distalen Tubulus führt AT-II zu einer vermehrten Reabsorption von Bikarbonat, was eine Ansäuerung des Urins zur Folge hat [22].

Über AT-II-Rezeptoren im zentralen Nervensystem (ZNS) erfolgt eine Stimulierung der zentralen Kreislaufregulation. Dies verstärkt die vasokonstriktorische Wirkung an den Arteriolen. Außerdem löst AT-II im Hypothalamus den Durstmechanismus aus und steigert den Appetit auf NaCl. Die verantwortliche AT-II-Fraktion wird vermutlich im ZNS selbst synthetisiert [26].

Der Renin-Angiotensin-Mechanismus erreicht seine volle Wirksamkeit nach etwa 20 Minuten und behält sie in der Folgezeit leicht abgeschwächt bei [28]. Die Wirkung von Aldosteron setzt zwar nach Stunden ein, erreicht jedoch ihr Maximum erst nach Tagen [27].

Das RAAS trägt bei jeder Form der renalen Minderdurchblutung, sei es wegen einer systemischen Blutdrucksenkung oder wegen einer lokalen vasokonstriktorischen Reaktion bzw. einer pathologischen Veränderung der Nierengefäße, zur Verbesserung des renalen Perfusionsdrucks bei. Es unterstützt wesentlich die physiologische Normalisierung der Kreislauffunktionen bei pathologisch reduziertem Blutdruck oder bei verringertem Blutvolumen [28].

1.7 Der AT-II-Rezeptorantagonist Valsartan

Außer Hemmung der Umwandlung von AT-I zu AT-II durch ACE-Hemmer kann der Effektor des RAAS, das AT-II, durch AT-II-Rezeptorantagonisten an seinem Zielort blockiert werden.

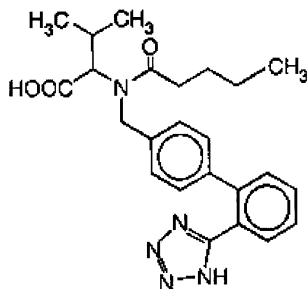


Abb.2: Valsartan (N-(1-oxopentyl)-N-[[2-(1H-tetrazol-5-yl)[1,1-biphenyl]-4-yl]methyl-L-Valin]), aus: E. Mutschler, Arzneimittelwirkungen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 8. Auflage, 2001

Valsartan ist ein nicht-peptidischer, kompetitiver AT-II-Rezeptorantagonist, der selektiv AT₁-R blockiert. Dadurch werden nahezu alle kardiovaskulären Wirkungen des AT-II antagonisiert. Die orale Bioverfügbarkeit dieses Wirkstoffs beträgt ungefähr 25%. Wie alle Sartane weist er eine hohe Proteinbindung (>95%, vor allem an Serumalbumin) auf.

Nach oraler Applikation erfolgt die Elimination überwiegend biliär bzw. fäkal (ca. 83% der Dosis) und nur zu einem geringen Teil renal (ca.13% der Dosis). Die durchschnittliche Eliminationshalbwertszeit beträgt ca. sechs Stunden. Nur 20% der Wirkstoffdosis wird im Körper metabolisiert. Der Hauptmetabolit (ca. 9% der Dosis) ist das Valeryl-4-hydroxy-Valsartan. Es existieren aber keine Hinweise auf Metaboliten mit einer höheren Affinität zum AT₁-R, wie es zum Beispiel bei Losartan der Fall ist. Die Enzyme, welche die Elimination von Valsartan katalysieren, sind bislang noch nicht identifiziert. Es scheint sich jedoch nicht um Cytochrom-P450-Isoenzyme zu handeln [30].

Valsartan wirkt antihypertensiv durch Senkung des peripheren Widerstandes, durch Reduktion der peripheren Sympathikusaktivität und Hemmung der Aldosteronsekretion [23]. Durch die selektive AT₁-R-Blockade wird zusätzlich die proliferative Wirkung des AT-II auf die glatte Gefäßmuskulatur gehemmt [29]. Der Wirkungseintritt erfolgt – unabhängig von der Dosis – nach ca. zwei Wochen, das Maximum wird nach vier Wochen erreicht [30].

Im Gegensatz zu den ACE-Hemmstoffen treten bei der Anwendung von Sartanen weniger unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf. Durch Hemmung des ACE, welches identisch mit dem Enzym Kininase II ist, kommt es zu einem verminderten Abbau von Bradykinin. Ein trockener Reizhusten sowie angioneurotische Ödeme können Folge dieser Erhöhung der Bradykinin-Aktivität sein [24]. Bei den Sartanen, welche ausschließlich den Effektor des RAAS, das AT-II, von seinem Rezeptor kompetitiv verdrängen, wurden solche Nebenwirkungen nicht als typisch beschrieben. Die häufigsten unerwünschten Wirkungen bei der Gabe von Sartanen sind Schwindel und Kopfschmerzen, daneben wurden auch Verwirrheitszustände und Infektionen des oberen Respirationstrakts beobachtet [25]. Einige Nebenwirkungen und damit Kontraindikationen entsprechen denen der ACE-Hemmstoffe. Bei Patienten mit Flüssigkeits- oder Salzverlust, z.B. nach Diuretikagabe, kann es infolge des vorab aktivierten RAAS bei Verabreichung von Sartanen zu starkem Blutdruckabfall kommen. Eine gleichzeitige Einnahme von Kaliumsalzen oder kaliumretinierenden Diuretika bringt die Gefahr der Hyperkaliämie mit sich. Während der Schwangerschaft und Stillzeit dürfen Sartane nicht verabreicht werden. Eine weitere Kontraindikation ist das Vorliegen einer Nierenarterienstenose. Die Gabe von Sartanen würde dann durch Verringerung des Gefäßwiderstandes der Vasa efferentia zu einer drastischen Abnahme des Filtrationsdrucks führen [25, 31].

Nach der Applikation von Valsartan sind eine Erhöhung der Plasminogenaktivität um das zwei- bis dreifache und ein konsekutiver Anstieg der Plasma-AT-II-Konzentration beobachtet worden. Dieser Effekt, der sich bei allen Sartanen zeigt, wird auf den Wegfall der negativen Rückkopplung von AT-II auf die Reninfreisetzung zurückgeführt. Man nimmt an, dass dieses negative Feedback über AT₁-R vermittelt wird. Die erhöhte AT-II-Konzentration hat aber keinen wesentlichen Einfluss auf die Wirkung von Valsartan [30].

1.8 Tiermodell

1968 beschrieben White und Hilderman erstmalig das Versuchsmodell der Transplantation von Fischer-344-Rattennieren auf Lewis-Ratten (Fischer-Lewis-Modell). In der Langzeitbeobachtung zeigten sich bei dieser Kombination in den transplantierten Rattennieren – den menschlichen Transplantaten vergleichbare – funktionelle und strukturelle Schädigungen.

Spender- und Empfängertiere unterscheiden sich genetisch sowohl im MHC-II als auch im MHC-I-Molekül. Auch auf nicht-MHC-assoziierten Genen wurden Differenzen nachgewiesen. Um bei den Lewis-Ratten eine akute Abstoßungsreaktion zu verhindern, wird nach einer Transplantation eine kurzzeitige Low-dose-Immunsuppression durchgeführt. Je nach Dosierung (1,5mg bzw. 5mg/kg) findet sich bei den Tieren eine ausgeprägte Manifestation eines chronischen Transplantatschadens. In der niedrigen Dosierung nach 12 - 16 Wochen, bei der höheren Dosis nach 24 Wochen, [5, 32].

2. Fragestellung

Gegenstand dieser Arbeit ist die Frage nach den Auswirkungen einer Langzeittherapie mit dem AT₁-R-Antagonisten Valsartan auf die Transplantatfunktion.

Insbesondere gilt die Frage einer möglichen organprotektiven Wirkung von Valsartan, wie es in vielen Studien über eine Dauermedikation mit anderen AT₁-R-Antagonisten oder ACE-Hemmern beschrieben wurde.

Wie oben dargestellt, zeigt die chronische Transplantatinsuffizienz im Gegensatz zur akuten Form der Abstoßung als histologisches Kriterium eine progrediente Sklerosierung und Stenosierung luminärer Strukturen. Es lässt sich vermuten, dass Valsartan durch seine antihypertensive und antiproliferative Wirkung diesen Prozessen entgegenwirken kann. Nach erfolgreicher Nierentransplantation stellt vor allem die arterielle Hypertonie ein allgemein nachweisbares Problem dar, die Prävalenz liegt zwischen 60% und 85% bei

Nierenempfängern, welche mit Calcineurin-Inhibitoren behandelt wurden. Es konnte gezeigt werden, dass die arterielle Hypertonie nach Organübertragung mit einer erhöhten Mortalität, Morbidität und einer entsprechend hohen Transplantatverlustrate korreliert ist. Durch die konsequente Behandlung der arteriellen Hypertonie nach Transplantation ist eine Verbesserung der Langzeitüberlebensrate der Transplantate zu erwarten [35]; andererseits können vor allem die Senkung des glomerulokapillären Perfusionsdrucks und die Verringerung der Filtration diverser Makromoleküle, insbesondere von Proteinen, und deren tubuläre Reabsorption der Entstehung einer Glomerulosklerose und einer Tubulusatrophie entgegenwirken [34]. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, dass AT_1 -R neben der Blutdruckerhöhung auch für die Zellproliferation verantwortlich sind. Eine Stimulation von AT_2 -R hingegen bewirkt eine Proliferationshemmung sowie eine Vasodilatation. Valsartan ist ein selektiver AT_1 -R-Antagonist. Daraus ergibt sich eine überwiegende Bindung des AT-II an die AT_2 -R. Es wäre denkbar, dass die resultierende Vasodilatation und die Proliferationshemmung dem progredient stenosierenden und sklerosierenden Prozess der chronischen Transplantatinsuffizienz entgegenwirken [29].

Folgende Parameter wurden zur Kontrolle und Auswertung von Veränderungen der Organfunktion bestimmt: Proteinurie, Serum-Kreatinin, Kreatininkonzentration im Urin, Blut-Harnstoff-Stickstoff und Urinvolumen.

3. Methodik

3.1 Versuchstiere

Für die Versuche wurden junge, männliche Ratten der Gattungen Fischer-344 und Lewis verwendet (Fa. Charles River Deutschland GmbH, Sulzfeld). Ihr Körpergewicht betrug bei Lieferung ca. 200g. Als Empfänger der Transplantate dienten ausschließlich Lewis-Ratten, als Spender je nach Versuchsgruppe entweder Lewis- oder Fischer-344-Ratten.

Innerhalb des Versuchszeitraums hatten die Tiere Zugang zu standardisierter Tiernahrung (Altromin 1324, Altromin GmbH, Sulzfeld) und zu Leitungswasser ad libitum. Je nach Versuchsgruppe war dem Wasser das Medikament zugesetzt.

Jeden zweiten Tag wurde das Gewicht der Versuchstiere bestimmt (Waage: Fa. August Sauter KG, Ebingen). Zusätzlich wurde einmal wöchentlich der Gesundheitszustand der Ratten anhand einer Punktetabelle (Quelle: Dr. Wolfgang Geise, Tierschutzbeauftragter der Universität Würzburg) festgestellt. Zeigten die Versuchstiere eine deutliche Verschlechterung ihres Allgemeinzustands, so wurden sie noch vor Verstreichen der angesetzten Versuchsdauer getötet.

3.2 Versuchsgruppen

Für die Versuchsreihe wurden 24 Ratten drei Gruppen zu je acht Tieren zugeteilt:

1. Gruppe: Nierentransplantation von Lewis-Ratten auf Lewis-Ratten (isogene Kontrollgruppe) – LL-Gruppe
2. Gruppe: Nierentransplantation von Fischer-344-Ratten auf Lewis-Ratten (allogene Kontrollgruppe) – FL-Gruppe
3. Gruppe: Nierentransplantation von Fischer-344-Ratten auf Lewis-Ratten mit Applikation von Valsartan – FL-Gruppe + Val

3.3 Versuchsablauf

Den Empfängern der Versuchsgruppen wurde nach linksseitiger Nephrektomie die Niere des Spendertieres orthotop implantiert. Während der ersten zehn Tage nach der Transplantation wurde den Empfängertieren täglich eine dem jeweiligen Körpergewicht angepasste Dosis Cyclosporin A (CsA, Dosis s. Abschnitt 3.4.6) verabreicht, die Applikation erfolgte durch intramuskuläre Injektion. Nach Ablauf dieser niedrigdosierten Immunsuppression wurde den Empfängertieren am zehnten Tag post OP die zweite, noch verbliebene

Eigenniere entfernt. Innerhalb des Versuchszeitraums von einhundertzwanzig Tagen wurde den Empfängertieren jeweils am dreißigsten, sechzigsten, neunzigsten sowie dem einhundertzwanzigsten Tag postoperativ eine Blutprobe entnommen und für 24 Stunden Urin gesammelt. Jedes Empfängertier wurde nach Ablauf der 120 Tage euthanasiert.

3.4 Versuchsdurchführung

Die mikrochirurgische Nierentransplantation erfolgte unter Verwendung von geeignetem mikrochirurgischem Operationsbesteck unter einem Operationsmikroskop (OPMI-19FC, Fa. Carl Zeiss, Jena).

3.4.1 Anaesthesie

Vor Beginn der chirurgischen Eingriffe wurden die Versuchstiere mit einem Gemisch aus Ketaminhydrochlorid (Ketavet, Fa. Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen) und Xylazinhydrochlorid (Rompun 2%, Fa. Bayervital GmbH & Co KG, Leverkusen) narkotisiert. Das Verhältnis von Ketaminhydrochlorid zu Xylazinhydrochlorid betrug 1:4. Das Gemisch wurde den Versuchstieren intramuskulär injiziert. Ketaminhydrochlorid wurde in einer Dosierung von 115 mg/kg Körpergewicht (KG) bzw. 1 ml/kg KG und Xylazinhydrochlorid in einer Dosierung von 11.5 mg/kg KG bzw. 0,5 ml/kg KG verabreicht. Um bei zunehmender Operationsdauer eine ausreichend tiefe Narkose zu erhalten, wurde bei Bedarf das Narkotikagemisch auf die Leber oder das Peritoneum geträufelt.

3.4.2 Lagerung

Die Organentnahme bzw. die Organimplantation erfolgte in Rückenlage. Die Nephrektomie der rechtsseitig verbliebenen Eigenniere zehn Tage nach der Transplantation wurde in Linksseitenlage vorgenommen. Die Versuchstiere wurden für die Lagerung auf einer Korkplatte fixiert.

3.4.3 Nierenentnahme beim Spendertier

Zunächst wurde das Versuchstier für den Eingriff vorbereitet. Nach der Anaesthetie erfolgte die Rasur der Bauchwand, anschließend wurde die Ratte in Rückenlage auf der Operationsplatte fixiert und der rasierte Bauchdeckenbereich desinfiziert. Nach einem Medianschnitt, ausgehend von ca. einem Zentimeter kranial des Penis bis zur Höhe des Xiphoids, erfolgte, ebenfalls in der Medianlinie und entlang des Hautschnitts, die Durchtrennung der muskulären Schichten der Bauchwand und des parietalen Peritoneums mit simultaner Präparation des umgebenden Bindegewebes. Auf beiden Seiten wurden nun Spreizhaken eingelegt und mit Wattestäbchen das Intestinum nach rechts kranial geschlagen, um freie Sicht auf das Operationsfeld und das linksseitige Retroperitoneum zu erlangen. Zusätzlich wurde der Magen zusammen mit der Milz mittels einer Arterienklemme nach links kranial verlagert und fixiert. Um der Austrocknung der nach außen geschlagenen Organe vorzubeugen, wurden sie von mit isotoner NaCl-Lösung getränkten Kompressen umhüllt und mit Plastikfolie abgedeckt. Während des gesamten Eingriffs wurden sie regelmäßig mit isotoner NaCl-Lösung beträufelt. Danach erfolgte die Präparation und Durchtrennung des Mesenteriums von Kolon und Rektum. Das Kolon wurde mit einem stumpfen Haken nach rechts verlagert und somit freie Sicht auf die Aorta und Vena cava sowie auf den linken Retroperitonealraum mit der linken Niere und Nebenniere erzielt. Als nächstes wurden Aorta und Vena cava sowie deren Abgänge vorsichtig freipräpariert die Aa. und Vv. lumbales, spinales und testiculares von proximal der Bifurkation bis zur Höhe des Abgangs der A. mesenterica superior durchtrennt und koaguliert. In gleicher Weise wurden die A. und V. suprarenalis sinistra abgangsnah von der A. und V. renalis sinistra getrennt. Nun folgten die Präparation der linken Niere aus dem Nierenlager unter Belassung eines dünnen perirenenalen Fettstreifens sowie die Präparation des Ureters bis zum Übergang vom mittleren zum distalen Drittel. Ein Teil des periuretralen Fettgewebes wurde dabei belassen. Die bindegewebigen Umscheidungen von Aorta und V. cava wurden auf Höhe des Abgangs der Nierengefäße stumpf voneinander getrennt

und beide Gefäße zur Darstellung gebracht. Unmittelbar proximal der Bifurkation wurden Aorta und V. cava zusammen ligiert. Zwischen dem Abgang der Nierengefäße und dem Abgang der A. mesenterica superior erfolgte danach jeweils einzeln eine Ligatur der V. cava sowie der Aorta. Ein weiterer Ligaturfaden wurde distal des Abgangs der A. renalis sinister unter der Aorta positioniert und distal dieses Ligaturfadens die Aorta sodann durch eine kleine Längsinzision eröffnet. In diese Inzisionsstelle wurde dann eine 20G–Einmalkanüle mit einer 10ml-Spritze eingeführt und mit der Ligatur fixiert, diese enthielt als Spüllösung ein Gemisch aus eisgekühlter 0,9% NaCl-Lösung und 0,25 ml (250 E) Heparin-Natrium (Liquemin-N, Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen). Für die Spülung der Niere wurde der Ureter auf Höhe des distalen Drittels durchtrennt und die V. cava distal der Einmündung der V. renalis sinistra eröffnet. Danach begann die vorsichtige Perfusion der Niere bis zur Blutleere, die Nierengefäße wurden distal der Abgänge der Nebennierengefäße durchtrennt und das Spenderorgan wurde in einen Behälter mit eisgekühlter 0,9% NaCl-Lösung überführt. Der Beginn der kalten Ischämiezeit wurde mit dem Zeitpunkt der Ligatur der Aorta, proximal des Abgangs der A. renalis sinistra, festgelegt.

Durch intrakardiale Injektion eines Ketaminhydrochlorid- und Xylazinhydrochlorid-Gemisches wurden die Spendertiere euthanasiert.

3.4.4 Organimplantation

Die Vorbereitung, das Freipräparieren und die Darstellung des linken Retroperitonealraums für die Organimplantation erfolgte nach demselben Schema wie bei der Organentnahme (Abschnitt 3.4.3).

Nach freier Sicht auf das Operationsfeld wurde unter Belassung der Aa. lumbales, spinales und testiculares die linke Niere des Empfängertieres vorsichtig aus dem Nierenlager freipräpariert. Zusätzlich wurden der Abgang der A. renalis sinistra sowie die Mündung der V. renalis sinistra unter Schonung der Abgänge der Nebennierengefäße dargestellt. Der Ureter wurde auf Höhe des proximalen Drittels unter Belassung periuretralen Fettgewebes

freipräpariert. Vor der Entnahme der linken Eigenniere des Empfängers wurde die A. und die V. renalis sinistra jeweils mit einer Arterienklemme distal von den Abgängen der Nebennierengefäße verschlossen. Danach wurden die Nierengefäße distal der Klemmen und der Ureter an der freipräparierten Stelle durchtrennt. Im Anschluss wurde die Eigenniere entfernt.

Nachfolgend wurde die Spenderniere in eine orthotope Position gebracht und mit der Anastomosierung der Arterienstümpfe begonnen. Für die End-zu-End-Anastomose wurden die Gefäßstümpfe nach Adaption der Lumina mit einem armierten 10-0-Faden (Fa. Medipoint, Hamburg) nach Setzen von zwei Eckknoten in Einzelknopfnahntechnik miteinander vernäht. Anschließend wurden die beiden venösen Gefäßstümpfe nach Adaption der Länge ebenfalls mit einem armierten 10-0-Faden nach Setzen zweier Eckknoten anastomosiert. Für diese Anastomose wurde die Niere zunächst nach rechts umgelegt, um mittels einer fortlaufenden Naht mit anschließendem Verknoten mit einem Eckknoten die Hinterwand verschließen zu können. Danach wurde die Niere wieder in orthotope Lage zurückverlagert, um nach dem gleichen Schema die Vorderwand nähen zu können.

Eine weitere Arterienklemme wurde distal der arteriellen Anastomose angebracht und durch vorsichtiges Lösen der proximalen Arterienklemme die Suffizienz der Anastomose getestet. Bei einer größeren Leckage wurde gegebenenfalls übernäht. Vor Entfernung der Arterienklemmen an der Arterie und Vene wurden die Anastomosen mit Tabotamp-Gazestreifen (Fa. Ethicon, Norderstedt) umlegt. Kleinere Blutungen, die eventuell nach Öffnen der Klemmen entstanden waren, wurden tamponiert.

Anschließend wurde die Reperfusion des Transplantats überprüft und bei suffizienter Organdurchblutung damit begonnen, die Ureterstümpfe zu adaptieren. Die Anastomose der Ureteren erfolgte auf Höhe des Überganges vom proximalen zum mittleren Drittel durch Einzelknopfnahntechnik. Verwendet wurde hierfür wiederum ein armierter 10-0-Faden. Es wurde darauf geachtet, möglichst das periuretrale Fettgewebe zu erhalten und zu adaptieren, um die weitere Gefäßversorgung der Ureteren zu gewährleisten. Schließlich wurde das

Transplantat am restlichen Fettgewebe des Nierenlagers und am Peritoneum pexiert.

In den letzten Schritten der Implantation wurde die Bauchhöhle mit 0,9% NaCl-Lösung unter Zusatz von Benzylpenicillin (Penicillin Grünenthal 1Mega, Fa. Grünenthal GmbH, Aachen) in der Dosierung von 100000 I.E./kg KG gespült und der Dünndarm, der Magen sowie die Milz zurückverlagert. Der Verschluss der muskulären Bauchwand zusammen mit dem Peritoneum erfolgte durch eine fortlaufende Naht mit einem armierten 4-0-Faden (Fa. Medipoint, Hamburg). Mit gleichem Nahtmaterial und gleicher Nahttechnik wurde die Haut verschlossen und die Wunde anschließend mit Braunol (Fa. B. Braun AG, Melsungen) desinfiziert.

Nach der Implantation wurden die Tiere zum Aufwachen in ihrem Käfig auf eine saubere, trockene Unterlage gelegt und mit einer Wärmelampe bestrahlt.

Der Zeitpunkt der Öffnung der Gefäßklemmen an der Anastomose der A. renalis sinistra und damit der Beginn der Reperfusion wurde als Ende der kalten Ischämiephase definiert.

3.4.5 Entnahme der rechten Eigenniere des Empfängers

Nach Narkose wurde die rechte Flanke der Empfängertiere unterhalb des rechten Rippenbogens rasiert. Im Anschluss an Lagerung und Fixierung in Linksseitenlage wurde die rasierte Flanke desinfiziert. Der Eingriff begann mit einem pararektalen Hautschnitt von ca. vier bis fünf Zentimeter Länge. Anschließend wurden entlang dieses Hautschnitts die Schichten der schrägen Bauchwandmuskulatur sowie des parietalen Peritoneums durchtrennt. Nach Einlegen von Spreizhaken und Verschiebung von Dünndarmschlingen mittels eines stumpfen Hakens nach medial ergab sich ein freies Sichtfeld auf den rechten Retroperitonealraum.

Zunächst wurde der rechte Ureter auf Höhe des proximalen Drittels von periuretralem Fett- und Bindegewebe freipräpariert und nach ausgedehnter Koagulation der Ureter proximal von dem koagulierten Abschnitt durchtrennt. Anschließend wurde der rechte Nierenhilus dargestellt. Die Nierengefäße

wurden ligiert und distal der Ligatur koaguliert und durchtrennt. Die rechte Niere wurde darauf vorsichtig aus dem perirenal Fett herausgeschält und entfernt. Nach Beendigung dieses Eingriffs wurden das Operationsfeld und die Gefäßstümpfe auf Blutungen untersucht. Die Bauchhöhle wurde mit 0,9% NaCl-Lösung gespült und anschließend erfolgte wie bei der Transplantation die Instillation Penicillin (Penicillin „Grünenthal“ 1 Mega, Fa. Grünenthal, Aachen). Die Bauchdecken wurden mit einem armiertem 4-0-Faden (Fa. Medipoint, Hamburg) verschlossen, die Wunddesinfektion mit Braunol-Lösung (Fa. B. Braun, Melsungen) durchgeführt. Zum Aufwachen wurden die Tiere auf eine saubere, trockene Unterlage gelegt und mit einer Wärmelampe bestrahlt.

3.4.6 Immunsuppression

Zur Prophylaxe einer akuten Organabstoßung erhielten die Empfängertiere nach der Nierentransplantation innerhalb der ersten zehn Tage eine niedrigdosierte Immunsuppression mit CsA (Sandimmun, Fa. Novartis, Nürnberg). CsA wurde in einer Dosis von 0,1 ml/kg KG gelöst in reinem Olivenöl einmal täglich intramuskulär injiziert. Die erste Injektion erfolgte sofort nach der Transplantation.

3.4.7 Zubereitung und Applikation des Prüfmedikaments

Zur Applikation des Wirkstoffs Valsartan (Fa. Novartis, Erlangen, Deutschland) wurde den Versuchstieren Trinkwasser verabreicht. Die Medikamentdosis betrug 10 mg/kg KG pro die. Bei einem durchschnittlichen Gewicht von etwa 300 g sollte ein Tier damit 3 mg pro Tag erhalten (Dosierung nach Hutthen et al., Am J Hypertension 1996: 895-901).

Die renale Tagesausscheidung der Versuchstiere betrug im Mittel 33ml. Die tägliche Flüssigkeitszufuhr ist bei Ratten um ca. ein Drittel höher und wurde daher mit etwa 50ml angesetzt. Für die angestrebte Tagesdosis ergab sich somit bei unseren Versuchstieren eine Valsartan-Konzentration im Trinkwasser der von 0,06 mg/ml.

Der Wirkstoff Valsartan liegt als weißes, im alkalischen pH-Bereich lösliches Pulver vor. Um eine Valsartan-Lösung in oben genannter Dosis herzustellen, wurden zunächst 108mg Valsartan in 250ml Leitungswasser gelöst. Zur Alkalisierung wurden möglichst geringe Mengen von 0,1M KOH vorsichtig hinzu pipettiert. Anschließend wurde die Valsartan-Lösung durch Titration mit 1M HCl unter kontinuierlicher pH-Wert-Kontrolle auf einen pH-Wert von 7,3 eingestellt und mit Leitungswasser auf 1800ml verdünnt.

3.4.8 Blutabnahme

Vor der Blutabnahme wurden die Versuchstiere mit einem Ketamin-/Xylazinhydrochlorid – Gemisch im Verhältnis 1:1 narkotisiert. Die Ketamin-Dosis betrug 23mg/kg KG bzw. 0,2 ml/kg KG. Die Dosis für Xylazin betrug 4,8 mg/kg KG bzw. 0,2 ml/kg KG. Die Injektion erfolgte intramuskulär.

Nach Einsetzen der Anaesthetie wurde eine kleine Stichinzision an der Schwanzvene des Versuchstieres vorgenommen. Mittels heparinierter Kapillaren (Microvette CB300, Fa. Sarstedt, Nümbrecht) wurden einige Tropfen Blut aufgesogen. Anschließend wurden die Kapillaren in eine Zentrifuge (5415C, Fa. Eppendorf, Hamburg) gebracht und die korpuskulären Blutbestandteile zehn Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute abzentrifugiert. Das im Überstand befindliche Plasma wurde in Eppendorf-Cups pipettiert und im Zentrallabor der Universitätsklinik Würzburg die Plasmakonzentration von Kreatinin und Harnstoff des jeweiligen Tieres bestimmt.

3.4.9 Gewinnung des 24–Stunden–Sammelurins

Die Bestimmung des Eiweißgehaltes im Urin und die Kreatinin-Clearance der Versuchstiere erfolgte mit Hilfe der 24-Stunden-Urin-Analytik. Hierfür wurden die Tiere für 24 Stunden in einen Stoffwechsellkäfig gebracht und der Urin in einem gesonderten Auffangbehälter gesammelt. Während des Aufenthalts in dem Stoffwechsellkäfig hatten die Versuchstiere jederzeit Zugang zu

Trinkwasser und Nahrung. Die über 24 Stunden gesammelte Urinmenge wurde notiert und danach in Urinmonovetten zur Bestimmung der Kreatinin-Konzentration sowie des Gesamteiweißgehalts im Urin aufgesogen.

3.5 Berechnung der renalen Funktionsparameter

Im Zentrallabor der Universitätsklinik Würzburg wurden die Plasmakonzentrationen von Kreatinin und Harnstoff im Blut der jeweiligen Versuchstiere bestimmt sowie im Urin der jeweiligen Tiere das Gesamtprotein sowie die Urinkonzentration von Kreatinin ermittelt. Die 24-Stunden-Urinausscheidung wurde bei jedem Tier gemessen und dokumentiert.

Mittels dieser Daten wurde die Kreatinin-Clearance wie folgt berechnet:

$$\text{CreaCl} = \frac{\text{Crea}_U \times V_U}{\text{Crea}_{PL}} \times \frac{1}{1440} \quad [\text{ml/min}]$$

Erläuterung : CreaCl = Kreatinin-Clearance
Crea_U = Kreatininkonzentration im Urin [mg/dl]
V_U = Urinvolumen über 24 Stunden [ml]
Crea_{Pl} = Kreatininkonzentration im Plasma [mg/dl]

Berechnung der Eiweißausscheidung im Urin (P):

$$P = \text{UTP} \times V_U \quad [\text{mg}]$$

Erläuterung : P = Proteinurie
UTP = Gesamtprotein im Urin [mg/l]
V_U = Urinvolumen über 24 Stunden [l]

3.6 Statistik

Sämtliche statistischen Daten wurden mit Hilfe des Programmes SPSS for Windows, Version 6.0, erhoben. Angegeben sind jeweils Mittelwerte und die Standardabweichung des Mittelwertes (standard error of the mean, SEM).

Als signifikant wurden Ergebnisse bezeichnet, die eine Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % aufwiesen ($p < 0,05$). Initial wurden die Ergebnisse pro Gruppe zu jedem Zeitpunkt mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests auf Normalverteilung hin untersucht.

Bestand Normalverteilung, wurde mittels des Student-T-Testes untersucht, ob die Mittelwerte der voneinander unabhängigen Gruppen signifikante Unterschiede aufwiesen. Bestand keine Normalverteilung, wurde mit dem U-Test nach Mann und Whitney die Rangsummenverteilung überprüft und auf diese Weise ein bestehender Unterschied nachgewiesen.

4. Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse und die Daten der statistischen Auswertung der Langzeittherapie mit dem AT₁-R-Antagonisten Valsartan (Beobachtungszeitraum: 120 Tage) auf die renalen Funktionsparameter Eiweißausscheidung im Harn, Serumkreatinin, Serum-Harnstoff, Kreatinin-Clearance, Urinvolumen sowie des postoperativen Gewichtsverlaufs werden in diesem Abschnitt sowohl tabellarisch als auch in Form von Balkendiagrammen mit Angabe der Mittelwerte (MW) und der Standardabweichung des Mittelwerts (SEM) zusammengefasst wiedergegeben. Anschließend werden die Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen – LL-Gruppe, FL-Gruppe und FL-Gruppe+Val – miteinander verglichen.

4.1 Gewichtsverlauf nach Transplantation

In folgender Tabelle und Graphik sind die MW und SEM des Gewichtsverlaufs in Gramm der drei Versuchsgruppen am Tag 0 sowie am Tag 30, 60, 90 und 120 nach Transplantation dargestellt.

	LL-Gruppe		FL-Gruppe		FL-Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 0	264,7	8,7	243,2	32,5	279,4	15,1
Tag 30	281,0	7,8	278,9	20,5	270,1	16,9
Tag 60	316,7	10,1	316,6	20,9	297,3	27,2
Tag 90	338,9	11,1	336,9	29,9	323,3	25,9
Tag 120	360,4	15,7	356,1	31,9	342,1	29,4

Tab.1: Postoperativer Gewichtsverlauf der Versuchstiere (MW und SEM) in Gramm (g)

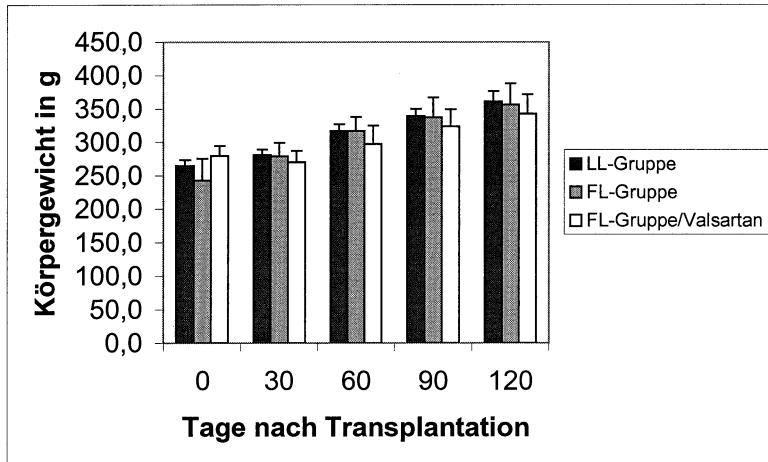


Abb.3: MW und SEM des postoperativen Gewichtsverlaufs

Im Vergleich des initialen mittleren Gewichts am Tag der Transplantation (entspricht 279,4g) mit dem Gewicht am ersten postoperativen Messzeitpunkt (Tag 30) kam es bei der FL-Gruppe+Val zu einem Gewichtsverlust von durchschnittlich 9,3g. Im weiteren Verlauf nahm das mittlere Gewichts bis zum Tag 120 nach Transplantation stetig zu, insgesamt um durchschnittlich 62,7g. Bei den beiden Kontrollgruppen war initial keine Abnahme des mittleren Ausgangsgewichts bis zum Tag 30 nach operativer Intervention feststellbar. Im weiteren Verlauf stieg das mittlere Gewicht vom ersten postoperativen Messzeitpunkt (Tag 30) stetig an, insgesamt um durchschnittlich 95,7g bei der LL-Gruppe und 112,9g bei der FL-Gruppe.

Der mittlere Gewichtsverlauf der beiden Kontrollgruppen zeigte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede, auch fanden sich statistisch keine signifikanten Unterschiede des mittleren Gewichts zwischen den Messungen der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe+Val (siehe Tab. 2).

Tendenziell zeigte sich allerdings eine reduzierte Entwicklung des mittleren Gewichts bei der FL-Gruppe+Val im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Die durchschnittliche Zunahme des mittleren Gewichts, bezogen auf die 4 Messzeitpunkte Tag 30 bis 120 und somit auf den Zeitraum der erwarteten

Medikamentenwirkung, betrug bei der LL-Gruppe 23,9g, bei der FL-Gruppe 28,2g und bei der FL-Gruppe+Val lediglich 15,7g.

Tag 0	FL+Val	LL
FL	0.80	0.29
LL	0.11	

Tag 30	FL+Val	LL
FL	0.28	0.45
LL	0.29	

Tag 60	FL+Val	LL
FL	0.20	0.37
LL	0.05	

Tag 90	FL+Val	LL
FL	0.20	0.43
LL	0.19	

Tag 120	FL+Val	LL
FL	0.20	0.43
LL	0.19	

Tab. 2: Statistischer Vergleich der Mittelwerte des Gewichts zwischen FL, LL und FL+Val, p-Werte im Student's T-Test

4.2 Urinvolumen

In folgender Tabelle und Graphik sind die MW und SEM der drei Versuchsgruppen hinsichtlich des Verlaufs des Urinvolumens in ml/d am Tag 30, 60, 90 und 120 nach Transplantation dargestellt.

	LL- Gruppe		FL –Gruppe		FL-Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	33,9	7,0	26,3	7,6	48,1	9,1
Tag 60	28,7	6,6	22,2	5,5	37,3	7,0
Tag 90	31,9	7,4	20,0	5,6	46,1	7,9
Tag 120	32,6	4,0	25,0	10,2	49,5	9,0

Tab. 3: MW und SEM des Urinvolumens (ml/d) der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe+ Val

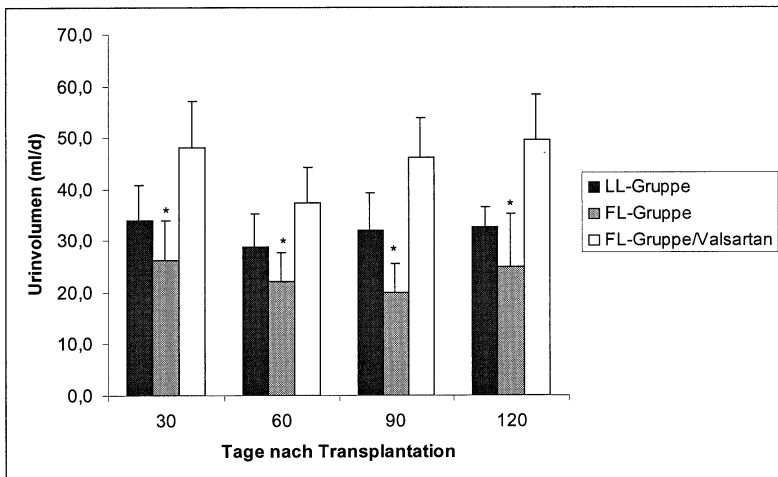


Abb.4: MW und SEM der Urinvolumina nach Transplantation

Bemerkenswerterweise lag das Urinvolumen der FL-Gruppe+Val mit $48,1 \pm 9,1$ ml/d 30 Tage nach Transplantation deutlich über den Vergleichswerten der beiden Kontrollgruppen.

In jeder Versuchsgruppe fand sich eine initiale Abnahme der mittleren Urinvolumina bis zum Messzeitpunkt am Tag 60 nach Transplantation: Bei der LL-Gruppe um 5,2ml/d, bei der FL-Gruppe um 4,1ml/d und bei der FL-Gruppe+Val um 10,8 ml/d. Während die mittleren Urinvolumina der LL-Gruppe und der FL-Gruppe+Val bis zum Messzeitpunkt Tag 90 nach Transplantation wieder anstiegen, nahm das mittlere Urinvolumen der FL-Gruppe bis zu diesem Messzeitpunkt um weitere 2,2 ml/d ab.

Bis zum Messzeitpunkt Tag 120 nach Transplantation erhöhte sich bei allen drei Versuchsgruppen das mittlere Urinvolumen bis auf Werte, die zum Zeitpunkt Tag 30 nach Transplantation gemessen wurden. Die Differenz zwischen dem mittleren Urinvolumen am Tag 30 und dem am Tag 120 betrug bei der LL- und FL-Gruppe lediglich 1,3ml/d, bei der FL-Gruppe+Val 1,4ml/d.

Für den Zeitraum der Medikamentwirkung zeigte die FL-Gruppe im Vergleich zur FL-Gruppe+Val zu jedem Zeitpunkt, also am Tag 30, 60, 90 und 120 nach

Transplantation, ein signifikant niedrigeres mittleres Urinvolumen, dagegen wies die LL-Gruppe zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede zu den Mittelwerten der täglichen Urinausscheidung, weder zur FL-Gruppe noch zur FL-Gruppe+Val (siehe Tab. 4), auf.

Tag 30	FL+Val	LL
FL	<0.001*	0.19
LL	0.19	

Tag 60	FL+Val	LL
FL	0.001*	0.10
LL	0.27	

Tag 90	FL+Val	LL
FL	<0.001*	0.07
LL	0.10	

Tag 120	FL+Val	LL
FL	<0.001*	0.15
LL	0.11	

Tab. 4: Statistischer Vergleich der MW der Urinvolumina zwischen LL, FL und FL+ Val, p-Werte im T-Test.

4.3 Serumkreatinin

In folgender Tabelle und Grafik werden die MW und SEM des Serumkreatinin in mg/dl zu den Messzeitpunkten Tag 30, 60, 90 und 120 nach Transplantation wiedergegeben.

	LL-Gruppe		FL-Gruppe		FL-Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	1,0	0,1	0,8	0,2	1,1	0,2
Tag 60	0,9	0,1	0,8	0,3	1,0	0,2
Tag 90	0,9	0,2	0,9	0,3	1,0	0,2
Tag 120	1,1	0,2	1,0	0,5	0,9	0,2

Tab. 5: MW und SEM des Serumkreatinins (mg/dl) der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe+Val

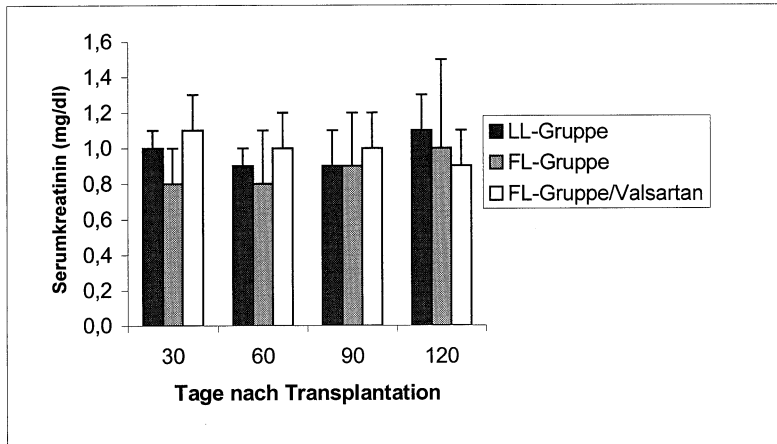


Abb.5: MW und SEM des Serumkreatinin nach Transplantation

Im Vergleich der 3 Gruppen untereinander wies die FL-Gruppe+Val am Tag 30 den höchsten Kreatininwert auf. Bei der LL-Gruppe sank hingegen der mittlere Serumkreatininwert an den Messzeiten Tag 60 und 90 nach Transplantation um 0,1mg/dl auf 0,9mg/dl, ausgehend vom Initialwert des Tages 30 nach Transplantation. Bis zum Tag 120 nach Transplantation stieg der MW wieder auf 1,1mg/dl an. Bei der FL-Gruppe zeigte sich ein über den Gesamtzeitraum zunehmender MW des Serumkreatinins um 0,2 mg/dl vom Ausgangswert am Tag 30 von 0,8mg/dl bis zum Endwert am Tag 120 von 1,0 mg/dl.

Im Gegensatz dazu ergab sich bei der FL-Gruppe+Val eine kontinuierliche Reduktion des mittleren Serumkreatininwertes von 1,1 mg/dl bei der ersten Messung am Tag 30 um 0,2 mg/dl auf einen Endmittelwert von 0,9 mg/dl am Tag 120. Wie in Tabelle 6 dargestellt, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der Entwicklung des mittleren Serumkreatininwertes der Kontrollgruppen zur FL-Gruppe+Val sowie der Kontrollgruppen untereinander.

Im Gruppenvergleich verhielt sich der MW des Serumkreatinins, ausgehend vom MW am Tag 30 nach Transplantation, bei der LL-Gruppe unter

Schwankungen gleichbleibend stabil, während der MW der FL-Gruppe zunahm und der MW der FL-Gruppe+Val dagegen abnahm.

Tag 30	FL-Val	LL
FL	0.20	0.30
LL	0.68	

Tag 60	FL-Val	LL
FL	0.50	0.57
LL	0.72	

Tag 90	FL-Val	LL
FL	0.08	0.14
LL	0.48	

Tag 120	FL-Val	LL
FL	0.08	0.36
LL	0.56	

Tab. 6: Statistischer Vergleich der MW des Serumkreatinins zwischen FL, LL und FL-Gruppe/Valsartan, p-Werte im t-Test

4.4 Blut-Harnstoff-Stickstoff (BUN)

In folgender Tabelle und Grafik werden die MW und SEM des BUN in mg/dl zu den vier Messzeitpunkten dargestellt.

	LL - Gruppe		FL- Gruppe		FL- Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	39,7	7,5	32,1	6,4	50,4	10,0
Tag 60	44,0	5,0	38,9	21,5	43,4	10,5
Tag 90	40,3	10,5	36,0	17,3	44,8	11,4
Tag 120	46,4	11,4	41,2	25,0	40,4	10,7

Tab. 7: MW und SEM des BUN (mg/dl) der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe+Val

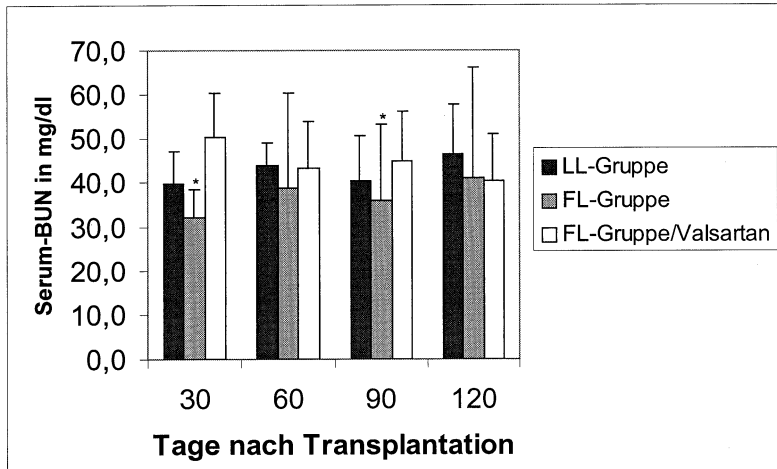


Abb.6: MW und SEM des BUN nach Transplantation

Bei der LL-Gruppe ergab sich eine Zunahme des mittleren BUN-Wertes über den Versuchszeitraum von 120 Tagen um 6,7 mg/dl von 39,7 mg/dl auf 46,4 mg/dl. Am Tag 90 nach Transplantation war allerdings eine geringfügige, nicht signifikante Reduktion des MW um 3,7 mg/dl von 44,0 mg/dl auf 40,3 mg/dl feststellbar.

Auch bei der FL-Gruppe fand sich eine Zunahme des mittleren BUN um 9,1mg/dl von 32,1 mg/dl auf 41,2 mg/dl. Wie in der LL-Gruppe kam es auch hier am Messzeitpunkt Tag 90 nach Transplantation zu einer geringen Reduktion des mittleren BUN um 2,9 mg/dl von 38,9 mg/dl auf 36,0 mg/dl.

Im Gegensatz zu den Kontrollgruppen war in der FL-Gruppe+Val insgesamt eine Abnahme des BUN-MW um 10 mg /dl von 50,4 mg/dl am Tag 30 nach Transplantation auf 40,4 mg/dl am Tag 120 nachweisbar, am Tag 90 nach Transplantation war der MW um 1,4 mg/dl von 43,4 mg/dl auf 44,8 mg/dl geringfügig angestiegen.

Während über den gesamten Untersuchungszeitraum die MW der Kontrollgruppen keine signifikanten Unterschiede aufwiesen, war in der FL-Gruppe+Val im Vergleich mit der FL-Gruppe an den Messzeitpunkten Tag 30

und Tag 90 nach Transplantation ein signifikant niedrigerer MW des BUN der FL-Gruppe nachweisbar (d30: $p=0,01$ und d90: $p=0,004$).

Signifikante Unterschiede zwischen den MW der LL-Gruppe und denen der FL-Gruppe+Val ergaben sich nicht (siehe Tab. 8).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der BUN-MW der FL-Gruppe+Val, ausgehend von einem initial deutlich höheren Wert, während der gesamten Untersuchungsdauer abfällt, während der MW der Kontrollgruppen im gleichen Zeitraum zunimmt, am deutlichsten in der FL-Gruppe.

Tag 30	FL+Val	LL
FL	0.01*	0.09
LL	0.15	

Tag 60	FL+Val	LL
FL	0.73	0.67
LL	0.94	

Tag 90	FL+Val	LL
FL	0.004*	0.06
LL	0.50	

Tag 120	FL+Val	LL
FL	0.22	0.30
LL	0.71	

Tab. 8: Statistischer Vergleich der BUN-Mittelwerte zwischen LL, FL und FL+Val, p-Werte im t-Test

4.5 Kreatinin-Clearance

In folgendem Abschnitt werden MW und SEM der Kreatinin-Clearance zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten zusammengestellt.

	LL - Gruppe		FL- Gruppe		FL- Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	0,85	0,10	0,87	0,20	0,65	0,28
Tag 60	0,90	0,10	1,46	0,27	0,74	0,20
Tag 90	0,97	0,14	1,26	0,44	0,85	0,27
Tag 120	0,93	0,18	1,26	0,28	1,02	0,26

Tab. 9: MW und SEM der Kreatinin-Clearance (ml/min) der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe + Val

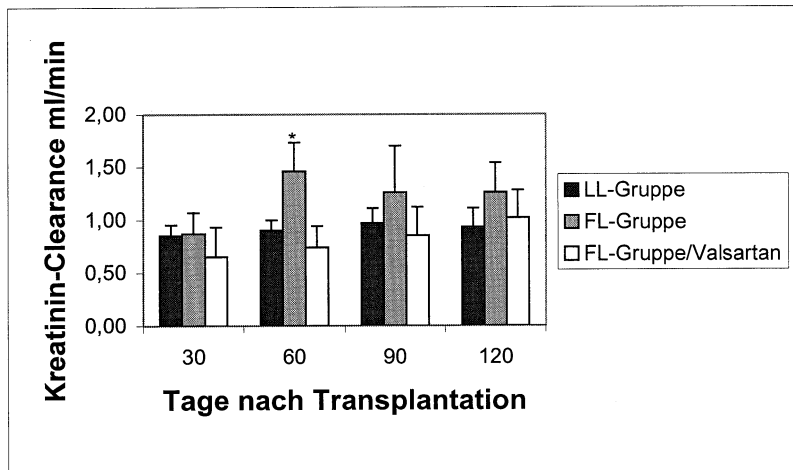


Abb.7: MW und SEM der Kreatinin-Clearance im Verlauf nach Transplantation

Bei der Auswertung der Kreatinin-Clearance der einzelnen Versuchsgruppen ergab sich in der LL-Gruppe nach initialem Abfall der Nierenfunktion auf 0,85 ml/min (am Tag 30 postinterventionell) eine stetige Verbesserung der renalen Funktion mit einem Anstieg der Kreatinin-Clearance um 0,12 ml/min auf eine MW von 0,97 ml/min am Tag 90 nach Transplantation. Lediglich innerhalb des letzten Untersuchungsabschnitts kam es zu einer leichten Abnahme der Kreatinin-Clearance um 0,4 ml/min auf einen MW von 0,93 ml/min.

Bei der FL-Kontrollgruppe zeigte sich postoperativ zunächst ein starker Anstieg der Kreatinin-Clearance-Werte von einem initial ebenso niedrigen MW von 0,87 ml/min auf 1,46 ml/min am Tag 30 nach Transplantation. Danach stellte sich ein Rückgang der Kreatinin-Clearance um 0,20 ml/min auf einen MW von 1,26 ml/min bis zum Tag 90 ein, eine weitere Veränderung des MW zum Versuchsendpunkt am Tag 120 nach Transplantation ergab sich nicht.

Die MW für die Kreatinin-Clearance in der FL-Gruppe+Val zeigten dagegen im gesamten Versuchszeitraum einen stetig zunehmenden Anstieg. Ausgehend von einem postoperativ deutlich verringerten MW von 0,65 ml/min stieg die Kreatinin-Clearance durchschnittlich um 0,09 ml/min innerhalb der zweiten 30 Tage auf einen MW von 0,74 ml/min. Innerhalb der dritten 30 Tage kam es zu

einer Zunahme der Kreatinin-Clearance um durchschnittlich 0,11 ml/min auf einen MW von 0,85 ml/min. Zum Zeitpunkt des Versuchsendes trat eine weitere Zunahme der Kreatinin-Clearance um 0,17 ml/min auf einen mittleren Endwert von 1,02 ml/min ein.

Im Vergleich der MW der LL-Gruppe und der FL-Kontrollgruppe mit der FL-Gruppe+Val ergab sich lediglich am Tag 60 nach Transplantation zwischen der FL-Kontrolle und der FL-Gruppe+Val ein signifikanter Unterschied. Der Vergleich der restlichen Daten, auch zwischen den beiden Kontrollen (LL-Gruppe und FL-Gruppe), zeigte keine signifikant veränderten MW innerhalb des Versuchszeitraums (siehe Tab 10).

Vergleicht man den Verlauf der MW der Kreatinin-Clearance der einzelnen Gruppen, so zeigt sich bei der FL-Gruppe+Val eine stetige Verbesserung der initial eingeschränkten Nierenfunktion mit der Tendenz zur Normalisierung. In der LL-Gruppe findet sich im Versuchszeitraum lediglich ein geringer Anstieg der Kreatinin-Clearance, allerdings lag bei dieser Gruppe im Vergleich zur FL-Gruppe+Val ein deutlich höherer Ausgangs-MW vor. Bei der FL-Kontroll-Gruppe kommt es dagegen zunächst zu einem starken Anstieg bis zur Hälfte der Beobachtungszeit, danach nimmt der MW für die Kreatinin-Clearance bis zum Untersuchungsende hin deutlich ab.

Tag 30	FL+Val	LL
FL	0.37	0.84
LL	0.33	

Tag 60	FL+Val	LL
FL	0.01*	0.11
LL	0.37	

Tag 90	FL+Val	LL
FL	0.10	0.32
LL	0.45	

Tag 120	FL+Val	LL
FL	0.25	0.19
LL	0.61	

Tab. 10: Statistischer Vergleich der Krea-Clearance-MW zwischen LL ,FL und FL- Valsartan, p-Werte im t-Test

4.6 Proteinurie

Hier werden ebenfalls zunächst Mittelwerte und SEM der Proteinausscheidung im Urin nach Transplantation demonstriert.

	LL - Gruppe		FL- Gruppe		FL- Gruppe + Val	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	29,0	7,7	21,1	6,8	21,8	6,6
Tag 60	52,4	21,6	35,4	19,6	16,3	4,6
Tag 90	32,6	27,3	42,1	22,4	21,1	6,2
Tag 120	39,6	36,5	56,6	38,4	29,5	16,3

Tab. 11: MW und SEM der Eiweißausscheidung im Urin (mg/d) der Kontrollgruppen und der FL-Gruppe+Val

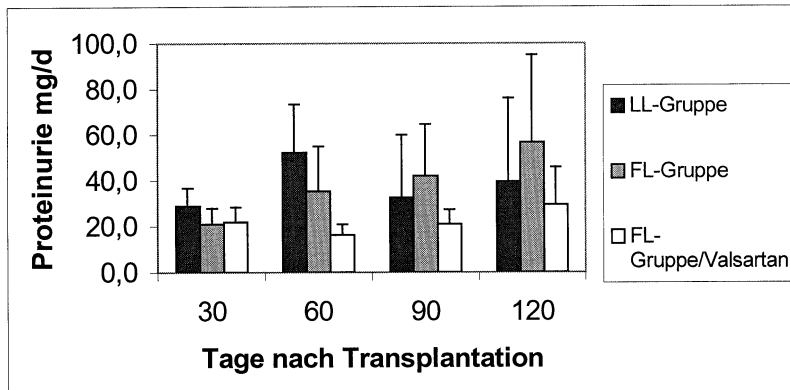


Abb. 8: MW und SEM der Eiweißausscheidung im Urin nach Transplantation

Bei der LL-Gruppe war von einem Ausgangs-MW von 29 mg/d aus ein Anstieg der Urin-Eiweißausscheidung um 23,4 mg/d auf einen MW von 52,4 mg/d bis Tag 60 nachweisbar. Im weiteren Verlauf ging die Eiweißausscheidung zunächst um 19,8 mg/d auf einen MW von 32,6 mg/d zurück, bis der MW zum Versuchsende am Tag 120 wieder auf 39,6 mg/d anstieg.

In der FL-Gruppe zeichnete sich ein stetiger Anstieg der Eiweißausscheidung um durchschnittlich 11,8 mg/d für jeweils ein 30-Tage-Intervall – ausgehend von

einem MW von 21,1 mg/d am Tag 30, über 35,4 mg/d am Tag 60 und 42,1 mg/d am Tag 90 – auf einen MW von 56,6 mg/d am Ende des Beobachtungszeitraums ab.

Ebenso wie bei den Vergleichsgruppen zeigte sich über den gesamten Beobachtungszeitraum bei der FL-Gruppe+Val ein Anstieg der Eiweißausscheidung. Ausgehend von einem MW von 21,8 mg/d am Tag 30 nach Transplantation kam es allerdings zunächst zu einer Reduktion des MW um 5,5 mg/d auf 16,3 mg/d bis zum Tag 60, danach nahm der MW für die Eiweißausscheidung stetig zu, um 4,8 mg/d auf 21,6mg/d am Tag 90 und um 8,4 mg/d auf 29,5 mg/d am Tag 120.

Weder zwischen den Kontrollgruppen (LL-Gruppe und FL-Gruppe) und der FL-Gruppe+Val noch unter den Kontrollgruppen selbst zeigten sich signifikante Unterschiede im Ausscheidungsmuster der Harnproteine nach Transplantation (siehe Tab 12).

Bei nahezu gleichen Ausgangswerten jedoch war beim Vergleich der FL-Kontrollgruppe und der FL-Gruppe+Val tendenziell ein deutlich schwächerer Anstieg der MW für die Eiweißausscheidung in der FL-Gruppe+Val nachweisbar. Zudem blieb der MW der FL-Gruppe+Val für die Proteinurie am Tag 120 unter dem Vergleichswert der LL-Gruppe.

Tag 30	FL+Val	LL
FL	0.59	0.17
LL	0.24	

Tag 60	FL+Val	LL
FL	0.09	0.07
LL	0.09	

Tag 90	FL+Val	LL
FL	0.10	0.83
LL	0.51	

Tag 120	FL+Val	LL
FL	0.38	0.66
LL	0.53	

Tab.12: Statistischer Vergleich der Mittelwerte der Proteinurie zwischen LL, FL und FL+Val, p-Werte im t-Test

5. Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Frage nachgegangen, ob die AT₁-R-Blockade durch Valsartan einen positiven, d.h. hemmenden Effekt auf die Ausbildung renaler Funktionseinschränkungen im Zuge einer CAN aufweist.

Gewicht

In unserem Versuch ließ sich bei den Tieren der Valsartan-Gruppe im Vergleich zu den Kontrollgruppen – über den gesamten Zeitraum der Medikamenteneinwirkung hin – eine nicht signifikante, jedoch tendenziell reduzierte Gewichtsentwicklung beobachten. Die Werte für das mittlere Körpergewicht der Kontrollgruppen wiesen untereinander allenfalls geringe Unterschiede auf, die körperliche Entwicklung schien lediglich durch den initialen operativen Eingriff diskret verzögert zu sein.

In verschiedenen klinischen Fallberichten wurden diverse fetale oder neonatale Schädigungen sowie Aborte unter Einnahme von Medikamenten, die direkten Einfluss auf das RAAS nehmen, beschrieben. Bei schwangeren Patientinnen im 2. oder 3. Trimenon zeigte sich unter der Gabe von RAAS hemmenden Medikamenten bei den Neugeborenen häufig eine Hypotonie verbunden mit einer Anurie sowie einem reversiblen oder sogar irreversiblen Nierenversagen mit dem Resultat einer verkürzten Lebensdauer. Andere Fälle waren unter dem Bild eines renal bedingten Oligohydramnion (infolge irreversibler fetaler Nierenschädigung durch die Medikation) mit einer kranio-fazialen Deformation und pulmonaler Hypoplasie assoziiert [30, 55, 56]. Ob eine zusätzlich beobachtete Verzögerung der humanen fetalen Gewichtsentwicklung mit der Einnahme dieser Medikamente in Verbindung steht, ist jedoch noch nicht hinreichend geklärt. Bei einer Schwangerschaft gilt daher die Einnahme von Valsartan bislang als kontraindiziert.

In Tierversuchen bei trächtigen Ratten und Mäusen mit oraler Applikation von 600mg Valsartan/kg Körpergewicht/Tag zeigten sich keine teratogenen Effekte auf die Leibesfrucht. Allerdings wurde eine signifikante Reduktion des fetalen

oder neonatalen Körpergewichts sowie der Lebensdauer der Neugeborenen beobachtet. Ferner fanden sich diskrete Entwicklungsverzögerungen des Nachwuchses unter Valsartan während der späten Gestation und der Stillzeit [30].

Eine unerwünschte Arzneimittelwirkung von Valsartan im Sinne einer Gewichtsreduktion wurde bei erwachsenen Patienten bisher nicht beschrieben. Untersuchungen in der Pädiatrie über die Pharmakokinetik, die pharmakologische Sicherheit oder mögliche Entwicklungsstörungen unter der Gabe von Valsartan sind bislang nicht erfolgt [30].

Auch in dieser tierexperimentellen Versuchsreihe zeigte sich lediglich eine geringe Beeinträchtigung der körperlichen Entwicklung der juvenilen Versuchstiere unter Valsartan.

Urinvolumen

Hohe Urinvolumina in der FL-Gruppe+Val ergaben trotz signifikant niedrigerer mittlerer Urinvolumina in der FL-Kontrollgruppe keinen eindeutigen Anhalt für eine Verbesserung der Nierenfunktion unter der Valsartanzufuhr. Während des gesamten Beobachtungszeitraums, also auch bereits am Tag 30 nach Transplantation, zeigte sich eine signifikante Verminderung der Urinausscheidung der FL-Gruppe gegenüber der FL-Gruppe+Val. Sowohl in der FL-Kontrollgruppe als auch in der FL-Gruppe+Val fanden sich keine signifikanten Unterschiede der Urinausscheidung im Vergleich zur isogenen LL-Gruppe. Vergleicht man die absoluten Mittelwerte der Urinvolumina zwischen Tag 30 und Tag 120 nach Transplantation, zeigt sich in allen Gruppen im Wesentlichen ein nahezu paralleler Verlauf der Ausscheidungsmengen.

Zur besseren Beurteilung der Nierenfunktion im Beobachtungszeitraum ist daher eine Bestimmung weiterer Parameter erforderlich, z.B. Entwicklung der GFR oder des Serum-Kreatinins.

Kreatinin-Clearance

Unabhängig von der Urinausscheidung, die in der FL-Gruppe gegenüber der FL-Gruppe+Val signifikant erniedrigt war, zeigten sich in der FL-Gruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum die höchsten Werte der Kreatinin-Clearance. Am Tag 30 nach Transplantation ergab sich ein signifikant höherer Kreatinin-Clearance-Wert der FL-Gruppe im Vergleich zur FL-Gruppe+Val. Auch die Kreatinin-Clearance-Werte der LL-Gruppe blieben bis zum Messzeitpunkt am Tag 90 nach Transplantation über den Werten der FL-Gruppe+Val. Als mögliche Ursache ist eine adaptive glomeruläre Hyperfiltration infolge einer Reduktion der Nierenmasse denkbar.

Nach Anderson et al. [46] führt der initiale Verlust an renalem Parenchym in den residualen, intakten Nephrons zu einer kompensatorischen Verminderung des Gefäßwiderstandes der Vasa afferentia bei gleichbleibendem Widerstand der Vasa efferentia. Als wichtige ursächliche Faktoren dieses Parenchymverlustes sind z.B. Reperfusionsschaden, Ischämie, akute Transplantatabstoßung, Medikamententoxizität oder CMV-Infektion zu nennen. Auch der Übertragung nur einer Niere und somit einer reduzierten Nephronmasse wird eine wichtige Rolle zugesprochen. Unter dem Einfluss dieser Faktoren kommt es zu einer Zunahme des glomerulären kapillären Drucks. Unter der Wirkung von AT-II erhöht sich zusätzlich der efferente Gefäßwiderstand mit Anstieg der Filtrationsfraktion. Daraus resultiert eine glomeruläre Hyperfiltration.

Dieser Adaptationsprozess wird als einer der grundlegenden Faktoren bei der Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie angesehen. Durch die glomerulär-kapilläre Hypertonie und Hyperfiltration kommt es nach Transplantation zunächst im Rahmen einer Adaption zu einer dem Gewebsverlust angepassten Filtration. Im späteren Verlauf jedoch wird durch diesen Kompensationsmechanismus die Ausbildung einer progredienten Proteinurie, interstitiellen Fibrose, Glomerulosklerose sowie einer arterieller Hypertonie begünstigt.

Sola et al. [42] zeigten bei einem Vergleich der intrarenalen Hämodynamik (afferenter und efferenter Gefäßwiderstand, renaler Plasmafluß, glomeruläre Filtrationsrate und Filtrationsfraktion) von Nierentransplantierten und gesunden Nierenspendern, dass es auch bei den Nierenspendern im Rahmen einer physiologischen Adaption zu einer Steigerung des glomerulären kapillaren Druckes, wie oben beschrieben, kommt. Eine Erhöhung des efferenten Widerstandes im Zuge der Entstehung einer glomerulären Hyperfiltration ist allerdings nicht nachgewiesen worden. In der Gruppe der Nierentransplantierten (n=116) ist bei 13,8% eine subklinische, glomeruläre Hyperfiltration mit entsprechender Erhöhung des efferenten Widerstands festgestellt worden, der afferente Kapillardruck erwies sich bei allen Transplantierten als signifikant erhöht. Die Beobachtung, dass ACE-Hemmer eine Reduktion des efferenten Gefäßwiderstandes herbeiführen, lässt auch hier den Schluss zu, dass AT-II über die Steigerung des efferenten Gefäßtonus eine wesentliche ursächliche Rolle spielt.

In den eigenen Untersuchungsergebnissen zeigen die Clearance-Werte der FL-Gruppe+Val gegenüber den Kontrollgruppen während des Zeitraums der Medikamentenwirkung eine insgesamt niedrigere Kreatinin-Clearance. Während postoperativ die Kreatinin-Clearance-Werte erwartbar stark reduziert waren, nahm danach die Clearance in 120 Tagen kontinuierlich zu und übertraf schließlich am letzten Messzeitpunkt die Werte der LL-Gruppe. Eine renoprotektive Wirkung des Valsartans durch Blockade der AT₁-R mit Verringerung des efferenten Widerstands und somit Vermeidung einer glomerulären Hyperfiltration kann als Erklärung des Anstiegs der glomerulären Filtrationsrate angenommen werden. Es bleibt allerdings ungeklärt, ob eine höhere Anzahl an Versuchstieren statistisch signifikante Ergebnisse erbringen würde.

Serum-Kreatinin

Muirhead et al. [43] untersuchten in einer Pilotstudie die pharmakologische Sicherheit und Effektivität des Valsartan bei Patienten mit einer chronischen Transplantatnephropathie unter dem Immunsuppressivum CsA als Dauertherapie. Renale Funktionsparameter (Serum-Kreatinin, Kreatinin-Clearance) sowie die Proteinurie wurden in dieser Studie eingehender überprüft. Neben verschiedenen bereits genannten und für die Entstehung einer chronischen Transplantatnephropathie relevanten Faktoren spielt CsA eine wichtige Rolle für die Entstehung hämodynamischer und struktureller Veränderungen, da CsA – wie auch AT-II – eine erhöhte Expression von TGF- β in mesangialen Zellen hervorruft. Nach Muirhead et al. stellt die AT₁-R-Blockade einen wirksamen Ansatz für die Reduktion der TGF- β -Expression und somit für die Protektion des Transplantats dar. Eine einjährige Verlaufskontrolle ergab eine deutliche Reduktion des arteriellen Blutdrucks sowie der Proteinurie. Neben einem leichten Anstieg des Serumkreatinins fand sich ein diskreter Abfall der GFR. Aufgrund der geringen Anzahl der Studienteilnehmer (n=10) waren die beobachteten Veränderungen statistisch nicht signifikant. Muirhead et al. schließen aus ihrer Untersuchung, dass Valsartan zu einer Reduktion des arteriellen Blutdrucks sowie der Proteinurie führt, ohne dass dabei renale Funktionsparameter wesentlich beeinflusst werden.

In einer anderen Studie von El-Agroudy et al. [44] wurden Losartan, Captopril und Amlodipin auf antihypertensive und renoprotektive Effekte analysiert und ein diskreter, statistisch nicht signifikanter Anstieg des Serumkreatinin in der Losartan-Subgruppe festgestellt..

Auch Campistol et al. [47] führten einen leichten Anstieg des Serumkreatinins unter Gabe von Losartan auf renale hämodynamische Veränderungen zurück.

Inigo et al. [48] beobachteten bei Patienten mit einer chronischen Transplantatnephropathie unter Losartan innerhalb der ersten 3 Monate einen

leichten Anstieg des Serumkreatinins, bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes allerdings war die Serumkonzentration des Kreatinins gegenüber dem Ausgangswert signifikant niedriger. Die Autoren erklären diesen initialen Anstieg des Serumkreatinins mit einem anfangs reduzierten intraglomerulären Druck.

Zaltzman et al. [51] wiesen in einer Untersuchung bei nierentransplantierten Patienten mit arterieller Hypertonie und histologisch nachgewiesener chronischer Transplantatnephropathie einen signifikant niedrigeren Anstieg des Serumkreatinins über 5 Jahre nach Therapiebeginn mit ACE-Hemmern (Enalapril oder Ramipril) oder AT₁-R-Blockern (Losartan) gegenüber dem Verlauf des Serumkreatinins 18 Monate vor Medikamenteinnahme nach. Die 5-Jahres-Überlebensrate der Transplantate betrug 83%. Sie folgerten daraus, dass eine RAAS-Blockade zu einer signifikant verlangsamten Progression der chronischen Transplantatnephropathie, assoziiert mit einem deutlich verbesserten Langzeitüberleben der Transplantate, führt.

Vergleicht man die Mittelwerte der Kreatinin-Konzentration im Serum der eigenen Studie, zeichnet sich eine tendenzielle Reduktion der Serumkonzentration in der FL-Gruppe+Val gegenüber den Kontrollgruppen ab. Zeigt sich zunächst ein initial erniedrigtes (FL-Kontrolle) oder sogar rückläufiges (LL-Kontrolle) Serumkreatinin – vermutlich zurückzuführen auf die oben erwähnte postoperative glomeruläre Hyperfiltration – steigt die Serumkonzentration bis zum Endpunkt der Untersuchung in beiden Kontrollgruppen an. Ursache dafür ist möglicherweise die durch die Hyperfiltration begünstigte progrediente Schädigung des Nierengewebes mit fibrotisch-sklerosierendem Umbau der tubulären und vaskulären Strukturen. Im Gegensatz dazu ist in der FL-Gruppe+Val nach initial hoher Serumkreatininkonzentration bis zum Endpunkt nach 120 Tagen, parallel zu einer Zunahme der Kreatinin-Clearance, eine stetige Reduktion des Serumkreatinins sichtbar. Auch ein initialer Anstieg des Serumkreatinins, wie in den anderen Studien beschrieben, ist ausgeblieben. Ob in der eigenen

Untersuchung eine höhere Anzahl an Versuchstieren eine statistische Signifikanz ergeben hätte, kann nicht beantwortet werden.

Serum-BUN

Parallel zum Verlauf der Serumkreatininwerte zeigt der Serum-BUN der FL-Gruppe+Val bei anfangs massiv erhöhten Werten eine tendenzielle Reduktion, während es in den Kontrollgruppen zu einem kontinuierlichen Anstieg der Serum-BUN-Konzentration kommt. Sowohl am Tag 30 als auch am Tag 90 nach Transplantation ist im Vergleich mit der FL-Gruppe+Val eine signifikant erniedrigte Serum-BUN-Konzentration der FL-Gruppe nachweisbar. Entsprechend des verzögerten Abfalls des Serumkreatinins am Tag 90 zeigt auch der Serum-BUN am Tag 90 nochmals einen diskreten Anstieg bei der FL-Gruppe+Val. Die Kreatinin-Clearance bleibt jedoch auch zwischen dem Tag 60 und 90 nach Transplantation progredient.

Der erhöhte Harnstoff-Wert ist am ehesten als Ausdruck eines Abfalls der GFR zu werten. Ein initiales Nierenversagen infolge der durch Valsartan gedrosselten Hyperfiltration mit einer im späteren Verlauf zunehmenden BUN-Ausscheidung durch die nunmehr wirksame Renoprotektion des Valsartans ist denkbar.

Proteinurie

Vergleicht man den Verlauf der Proteinurie in den einzelnen Versuchsgruppen der eigenen Untersuchung, findet sich über den gesamten Zeitraum ein stetiger Anstieg der Proteinurie. Für die Schwankungen, welche sich bei der Auswertung der Daten der LL-Kontrollgruppe ergeben, gibt es keine hinreichende Erklärung. Signifikante Unterschiede sind bei der statistischen Auswertung nicht festgestellt worden. Auffällig ist allerdings, dass bei der FL-Gruppe+Val eine deutlich geringere Zunahme der Eiweißausscheidung erkennbar ist als in den anderen beiden Gruppen. Mit gebotener Zurückhaltung

lässt sich feststellen, dass Valsartan auf den Verlauf der Proteinurie nach Transplantation eine durchaus günstige Auswirkung hat.

Amuchastegui et al. [44] wiesen in einem Tiermodell (Transplantation von Fisher-344-Rattennieren auf Lewis-Ratten) unter Blutdruckeinstellung mit dem AT-II-Rezeptor-Antagonisten Losartan im Vergleich mit dem Kalziumkanal-Antagonisten Lacidipin einen signifikant günstigeren Verlauf der Proteinurie sowie der strukturellen Veränderungen (Glomerulosklerose und tubulovaskuläre Fibrose) und der Gesamtüberlebenszeit des Transplantats nach. Die glomeruläre Filtrationsrate war in dem 6-monatigen Beobachtungszeitraum bei den Versuchstieren, die mit Losartan behandelt wurden, aber nicht signifikant erhöht.

6 Wochen nach Transplantation wurde ein Anstieg des glomerulär-kapillären Druckes festgestellt. Nach Amuchastegui et al. stellt dieser früh auftretende Effekt in Kombination mit immunologischen Faktoren einen wesentlichen pathogenen Faktor für die Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie dar; er kann durch die Blockade der AT-II-Rezeptoren und Normalisierung der glomerulären Hypertonie gehemmt werden.

Campistol et al. [47] fanden unter Blutdruckeinstellung mit Losartan bei Nierentransplantierten mit klinisch oder histologisch gesicherter chronischer Transplantatnephropathie einen signifikanten Abfall der Eiweißausscheidung. Die Teilnehmer wiesen signifikant höhere Serumwerte für den TGF- β auf als die Kontrollgruppe. Nach 4 und nach 8 Wochen zeigte sich bei allen Studienteilnehmern eine signifikante Reduktion des TGF- β und Endothelin-1 im Serum. Am Endpunkt war zwischen der Versuchsgruppe und der Kontrolle kein signifikanter Unterschied mehr bei den Serumwerten für TGF- β nachweisbar. Statistisch korrelierte der Rückgang des Serum-TGF- β mit der Hemmung der AT-II-Rezeptoren durch Losartan. Über den gesamten Behandlungszeitraum hin stieg der ACE-Serumspiegel signifikant an. Ein Zusammenhang zwischen verschiedenen Genotypen des ACE und der TGF β -Konzentration im Serum fand sich nicht.

Die Nierenfunktion unter Losartan blieb bei allen Teilnehmern stabil, hier fanden sich keine signifikanten Veränderungen. Der günstigere Verlauf der chronischen Transplantatnephropathie unter Losartan wird auf die Hemmung der Wirkung von AT-II auf die Expression von TGF- β und auf eine Reduktion des Endothelin-1 zurückgeführt.

Auch El-Agroudy et al. [44] beschrieben in einer Arbeit einen signifikanten Rückgang der Proteinurie sowie der histopathologischen Veränderungen bei nierentransplantierten Patienten sowohl unter Gabe von Losartan als auch unter Captopril. Andererseits wurde unter antihypertensiver Therapie mit dem Kalziumkanal-Blocker Amlodipin kein Rückgang der Proteinurie beobachtet. Allerdings zeigte sich nur bei Losartan ein signifikanter Abfall der TGF- β -Konzentration im Serum. Dieser Befund ist von El-Agroudy et al. auf die niedrige Dosis (25mg/d) des ACE-Hemmers zurückgeführt worden.

Akasu et al. [49] sowie Dzau et al. [50] beobachteten, dass AT-II sowohl via ACE als auch über andere Enzyme aus Angiotensin-I konvertiert wird. Demnach werden 80 % des im menschlichen Körper gebildeten AT-II durch andere Enzyme, welche nicht durch ACE-Inhibitoren gehemmt werden (z.B. Chymase oder Kathepsin), gebildet.

N. Muirhead et al. [43] nahmen an, dass AT₁-R-Blocker eine bessere Wirkung haben, weil sie die Effekte des AT-II unabhängig von seinem Wirkungsmuster hemmen. Neben einer möglicherweise zu geringen Captopril-Dosis stellt dieses Ergebnis eine weitere Erklärung für den weniger ausgeprägten Effekt des ACE-Hemmers auf die TGF- β -Konzentration im Serum dar.

Noris et al. [52] haben in einem Fisher-Lewis-Ratten-Transplantationsmodell nachgewiesen, dass eine RAAS-Blockade mit dem ACE-Hemmer Trandolapril auch nach Auftreten einer strukturellen und funktionellen Nierenschädigung im Zuge einer chronischen Transplantatnephropathie (7 Monate nach Transplantation) dennoch eine signifikante Besserung wichtiger renaler Funktionsparameter (Serumkreatinin, Proteinurie) zu erbringen vermag. Im weiteren Verlauf fand sich jedoch ein leichter Wiederanstieg der Proteinurie in

der Trandolapril-Gruppe. Beim Vergleich einer Biopsie vor Therapiebeginn und einer Kontrollbiopsie 5 Monate später zeigte sich in der mit ACE-Hemmern behandelten Versuchsgruppe ein signifikant langsames Fortschreiten der glomerulären und interstitiellen Gewebsschädigung gegenüber der allogenen Kontrollgruppe. Diese Autoren haben außerdem gezeigt, dass auch bei einer bereits fortgeschrittenen Nierenschädigung im Zuge einer chronischen Transplantatnephropathie die RAAS-Blockade mit Trandolapril eine weitgehende Normalisierung der Nierenfunktion sowie eine Stabilisierung der strukturellen Gewebsveränderungen herbeizuführen vermag. Der Wiederanstieg der Proteinurie wurde als Folge einer zu geringen Dosierung der ACE-Hemmer interpretiert, auch eine fortschreitende Gewebsschädigung auf einem AT-II unabhängigen Weg (z.B. über immunologische, allogenenabhängige Mechanismen) wurde in Betracht gezogen.

Unabhängig vom RAAS beschrieben Schindler et al. [53] in einem Rattenmodell (Nierentransplantation Fisher- auf Lewis-Ratten) eine deutliche Erhöhung der Expression von Wachstumsfaktoren (PDGF, TGF- β etc.) und des MHC-II, nachdem zuvor eine arterielle Hypertonie mit Deoxycorticosteron (DOCA) und Salzzufuhr bei den allogenen tierischen Organempfängern induziert worden war. Ob DOCA eine direkte Wirkung auf die Expression von MHC-II hat oder ob es eine Folge der Hypertonie ist, bleibt unklar. Da MHC-II-Rezeptoren perivaskulär vermehrt exprimiert wurden, vermutete man einen direkten Zusammenhang mit der Hypertonie. Die Synthese der Wachstumsfaktoren wurde als Folge der direkten Gefäßschädigung durch die Hypertonie interpretiert.

Berücksichtigt man diese Ergebnisse bei der Gesamtbetrachtung der eigenen Untersuchungsergebnisse, ist bei einer guten antihypertensiven Einstellung, vor allem mit RAAS-Blockern, und ihren zusätzlich hemmenden Effekten auf die Schädigung des renalen Gewebes durch AT-II eine deutlich verbesserte Transplantatüberlebenszeit anzunehmen.

Weitere Wirkungen von AT₁-R-Antagonisten

Antikörper gegen HLA-Antigene verursachen bei einigen nierentransplantierten Patienten eine kortikosteroidrefraktäre vaskuläre Organabstoßung. Die Rolle der nach Transplantation gebildeten Antikörper, die nicht gegen HLA-Rezeptoren gerichtet sind, ist bislang noch weitgehend unklar. Dragun et al. [54] fanden bei Schwangeren, dass es bei Präeklampsie nach der 20. Schwangerschaftswoche zur Bildung von agonistisch wirksamen Antikörpern gegen AT₁-R kommt. Diese Antikörper konnten sie auch bei nierentransplantierten Patienten, die gerade eine akute Abstoßungsreaktion erlitten hatten, nachweisen. Diese Autoren untersuchten auch die Serumantikörper gegen AT₁-R nierentransplantierten Patienten mit schwerer Transplantatinsuffizienz im Rahmen einer akuten vaskulären Abstoßung. Bei Patienten mit maligner Hypertonie, die bereits vor Transplantation bestand, fanden sich agonistisch wirksame IgG-Antikörper der Subklasse 1 und 3, die gegen 2 Epitope des extrazellulären Anteils der AT₁-R mit hoher Affinität gerichtet waren; Antikörper gegen HLA-Antigene waren dagegen nicht nachweisbar. Patienten ohne maligne Hypertonie wiesen diese Antikörper nicht auf, stattdessen jedoch Antikörper gegen HLA-Rezeptoren. Die Inzidenz für eine akute Abstoßung war bei beiden Subgruppen ähnlich. Dragun et al. konnten zeigen, dass diese AT₁-R-Antikörper eine Phosphorylierung der sog. Extracellular Signal-regulated Kinase 1/2 (ERK 1/2), eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors Activator Protein 1 (AP-1) und eine Verstärkung der DNS-Bindungsaktivität von Nuclear Factor- κ B (NF- κ B) in glatten Muskelzellen und im Endothel bewirken. Diese sind hochaktive Proteine, d.h. Mediatoren für eine Immunantwort mit der Folge einer entzündlichen Gewebsschädigung. Ferner führen NF- κ B und AP-1 zu einer Aktivierung des sog. Tissue Factor, welcher das extrinsische Blutgerinnungssystem anwirft und somit eine zusätzliche pathogenetische Rolle spielt.

Histologisch zeigte sich bei den Patienten mit der akuten Abstoßung durch AT₁-R-Antikörper neben einem entzündlichen Infiltrat eine intensive Anfärbung der

tubulären Zellen und peritubulären Kapillaren (Färbung durch polyklonale Antikörper gegen C4d und Tissue Factor).

Wurden die Patienten mit Losartan und Plasmapherese behandelt, zeigte sich eine nur noch schwach positive Anfärbung des Gewebes.

Bei den Patienten mit nachgewiesenen AT₁-R-Antikörpern und gleichzeitiger akuter Abstoßung war die Transplantatüberlebenszeit gegenüber den Patienten mit Antikörpern gegen allogenes HLA (ohne AT₁-R-Antikörper) signifikant schlechter.

Eine Behandlung mit Plasmapherese, intravenösen Immunglobulinen und täglich 100mg Losartan führte zu einem signifikant verbesserten Transplantatüberleben verglichen mit Patienten, die eine Standard-Therapie gegen die akute Abstoßungsreaktion erhalten hatten.

In einem parallel dazu durchgeführten Tiermodell mit Fisher-344-/Lewis-Ratten konnte gezeigt werden, dass sich durch diese agonistischen AT₁-R-Antikörper auch eine akute vaskuläre Abstoßung induzieren ließ. In den Gewebeproben wurden die infundierten IgG-Antikörper in der geschädigten Gefäßmuskulatur nachgewiesen [54].

Eine direkte, aktivierende Wirkung der AT₁-R-Antikörper auf das Immunsystem ist nicht auszuschließen, zumal AT₁-R auf der Oberfläche humaner Monozyten exprimiert werden. Warum jedoch manche Patienten agonistische Autoantikörper gegen AT₁-R bilden, bleibt unklar. Mögliche Kreuzreaktionen infolge viraler oder bakterieller Infekte werden diskutiert.

Da das Auftreten und der Schweregrad von akuten Abstoßungsreaktionen einen wesentlichen Einfluss auf den Verlauf einer chronischen Transplantatnephropathie haben, ist die Berücksichtigung dieser durch AT₁-R-Antikörper vermittelten Form der humoralen Transplantatabstoßung und eines Antikörper-Screenings vor Transplantation zu empfehlen, um sie gegebenenfalls mit AT₁-R-Antagonisten nach Transplantation behandeln zu können. Allerdings ist auch auf eine mögliche Verschlechterung der Nierenfunktion unter AT₁-R-Antagonisten zu achten.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Einfluss des AT₁-R -Antagonisten Valsartan auf die Nierenfunktion bei nierentransplantierten Ratten mit der Fragestellung analysiert, ob eine Langzeittherapie mit diesem Wirkstoff einen positiven Effekt auf die Nierenfunktion entfaltet und sich somit sein Einsatz gegen die Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie empfiehlt.

Die über den gesamten Versuchszeitraum gegenüber der allogenen Kontrollgruppe signifikant erhöhten Urinvolumina stellen allein kein Indiz für eine bessere Nierenfunktion unter Therapie mit Valsartan dar. Dieses Ergebnis ist am ehesten durch Veränderungen der glomerulären Hämodynamik post transplantationem zu erklären.

Wie nunmehr in mehreren tierexperimentellen Untersuchungen und klinischen Patientenstudien nachgewiesen worden ist, zeigt sich auch in der Synopsis der eigenen Befunde ein signifikant günstigerer Verlauf des Serumkreatinins, des Serum-BUN, der Kreatinin-Clearance sowie der Proteinurie unter Blutdrucksenkung mit dem AT₁-R-Antagonisten Valsartan. An einigen Zeitpunkten der Studie waren die Ergebnisse allerdings statistisch nicht signifikant. Eine positive Wirkung auf die Transplantatfunktion und auf das Langzeitüberleben der Versuchstiere ist anzunehmen, ist aber in dieser Studie nicht weiter verfolgt worden. Eine Untersuchung mit einer größeren Anzahl von Versuchstieren und über einem längeren Versuchszeitraum hin scheint sinnvoll, um signifikante Unterschiede zwischen den Kontrollgruppen und der Versuchsgruppe unter Valsartan zu belegen.

Die im Vergleich zu den Kontrollgruppen geringere Entwicklung des Körpergewichts hatte bei der o.g. Fragestellung keine Relevanz.

Wie in zahlreichen klinischen Studien für die Progredienz des chronischen Nierenversagens seit längerem eindrucksvoll belegt ist, scheint eine pharmakologische Blockade des RAAS auch einen protektiven Effekt auf die

Entstehung einer chronischen Transplantatnephropathie zu entfalten. Die eigene Untersuchung liefert hinreichend Belege für diese Vermutung. Auch wenn in einzelnen Studien über negative Auswirkungen einer Blockade des RAAS auf die Transplantatfunktion berichtet worden ist, gibt es genügend Anhaltspunkte für einen günstigeren Verlauf nach Transplantation sowohl in Tierversuchen als auch für den transplantierten Patienten. Das allmähliche Fortschreiten der chronischen Transplantatnephropathie kann damit allerdings nicht ganz aufgehalten werden.

Somit bleibt trotz dieser erfolgversprechenden experimentellen Ergebnisse nach Organtransplantation durch diese neuen Therapieansätze (Immunsuppressiva, RAAS-Blockade, Plasmapherese u.a.) die chronische Transplantat-Abstoßung immer noch ein therapeutisch fortbestehendes Problem.

Weitere Untersuchungen über die Zusammenhänge immunologischer sowie nicht-immunologischer Ursachen einer chronischen Transplantatnephropathie und eine Optimierung der Immunsuppression sind deshalb auch weiterhin dringend erforderlich.

7. Literaturverzeichnis

1. Tilny N.L., Transplant. From Myth to Reality, Yale University, New Haven, 2003
2. Paul L.C., Pathogenesis of Chronic allograft nephropathy, Nephrol Hypertens 1998: 7; 635-637
3. Remuzzi G., Protecting single-kidney allograft from long-term functional deterioration, J Am Soc Nephrol, 1998: 9; 1321-1332
4. Kasiske B.L., Heim-Duthoy K.L., The variable nature of chronic declines in renal allograft function, Transplantation 1991: 51 (2); 330-334
5. Tullius S.G., H.D.Volk, et al., Biologie der chronischen Abstoßung, Transplantationsmedizin 1997: 9. Jahrgang; 96-104
6. Yilmaz S., Häyry P., Chronic rejection of rat renal allografts, II. The impact of prolonged ischemia time on transplant histology, Transplantation 1992: 53 (4); 823-827
7. Gjertson D.W., A multi-factor analysis of kidney graft outcomes at one and five years posttransplantation, , Clin Transpl, UNOS update 1996; 343-360
8. Rennke H.G., Klein P.S., Pathogenesis and significance of nonprimary focal and segmental glomerulosclerosis, Am J Kidney Dis 1989: 13; 443-456
9. Brenner B.M., Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of glomerular disease, Kidney Int 1983: 23; 647-655
10. Remuzzi G., Ruggenti P., Benigni A., Understanding the nature of renal disease progression, Kidney Int 1997: 51; 2-15
11. Rao K.V., Kasiske B.L., Odlund M.D., Ney A.L., Anderson R.C., Influence of cadaveric donor age on posttransplant renal function and graft outcome, Transplantation 1990: 49; 91-95
12. Massy Z.A., Guijarro C., Kasiske B.L., Clinical predictors of chronic renal allograft rejection, Kidney Int Suppl 1995: 52; S85-88
13. Terasaki P.I., Koyama H., Cecka J.M., Gjerston DW, The hyperfiltration hypothesis in human renal transplantation, Transplantation 1994: 57 (10); 1450-1454

14. Curtis J.J., Hypertension following kidney transplantation, *Am J Kidney Dis* 1994: 23 (3); 471-475
15. Shoskes D.A., Wood K.J., Indirect presentation of MHC antigens in transplantation, *Immunol Today* 1994: 15 (1); 32-38
16. Liu Z., Sun Y., Xi Y., Maffei A., Reed E., Harris P., Suci. Foca N., Contribution of direct and indirect recognition pathways to T cell alloreactivity, *J Exp Med* 1993: 177 (6); 1643-1650
17. Gallon L., Watschinger B., Murphy B., Akalin E., Sayegh M.H., Indirect pathway of allorecognition: The occurrence of selfrestricted T cell recognition of allo-MHC peptides early in acute allograft rejection and its inhibition by conventional immunosuppression, *Transplantation* 199: 59 (4); 612-616
18. Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W. et.al., Two types of murine T cell clones. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins, *J Immunol* 1986: 136 (7); 2348-2357
19. Sayegh M.H. et al., Tolerance and chronic rejection, *Kidney Int* 1997: 58; S11-14
20. Diamond J.R., Tilney N.L. et al., Progressive albuminuria and glomerulosclerosis in a rat model of chronic renal allograft rejection, *Transplantation* 1992: 54 (4); 710-716
21. Briscoe D.M. , Ganz P. et al., The problem of chronic rejection: Influence of leukocyte-endothelial interactions, *Kidney Int* 1997: 58; S22-27
22. Deuber, Keller, Schwarz, Nierenfunktion und Arzneimittel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2001, S.21-30
23. Oberdisse, Hackenthal, Kuschinsky, Pharmakologie und Toxikologie, Springer-Verlag 1997, S. 366-370
24. Forth W., Henschler D., Rummel W., Starke K., Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Spektrum-Verlag 1997, 7. Auflage, S. 443-447
25. Wellhöner H., Allgemeine und systemische Pharmakologie und Toxikologie, Springer-Verlag 1996, 6. Auflage, S. 196-201

26. Silbernagl S., Despopoulos A., Taschenatlas der Physiologie, Thieme Verlag 1991, 4. Auflage, S. 152
27. Schmidt F., Thews G., Physiologie des Menschen, Springer Verlag 1995, 26. Auflage, S.769-771
28. Schmidt F., Thews G., Physiologie des Menschen, Springer Verlag 1993, 25.Auflage, S.545
29. Mutschler E., Geisslinger G., Arzneimittelwirkungen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2001, 8. Auflage, S. 579-581
30. Novartis Pharmaceuticals Corporation, East Hanover–NJ, Diovan-Rev.: www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/Diovan_tabs_T2001-47.pdf, Juni 2001.
31. Fülgraff G., Palm D., Pharmakotherapie – Klinische Pharmakologie, Gustav Fischer Verlag 1997, 10. Auflage, S.208-209
32. Hancock W.W., Whitley W.D., et al., Cytokines, adhesion molecules, and the pathogenesis of chronic rejection of rat renal allografts, Transplantation 1993; 56 (3); 643-650
33. Tilney N.L., Whitley W.D., et al., Chronic rejection – an undefined conundrum, Transplantation 1991; 52(3); 389-398
34. Paul L.C., Glomerular hypertension – an under–appreciated aspect of chronic rejection, Nephrol Dial Transplant 2001, Vol. 16: 213-229
35. El-Agroudy A.E., Hassan N.A., Effect of Angiotensin II Receptor Blocker in Plasma Levels of TGF-Beta 1 and Interstitial Fibrosis in Hypertensive Kidney Transplant Patients, Am J Nephrol 2003; Vol. 23: 300-306
36. Shishido S., Asanuma H., The Impact of Repeated Subclinical Acute Rejection on the Progress of Chronic Allograft Nephropathie, J Am Soc Nephrol 2003, Vol.14: 1046-1052,
37. Aull M.J., Chronic allograft nephropathy: pathogenesis and management of an important posttransplant complication, Progress in Transplantation 2004, Vol. 14: 82-88,
38. Thomas C., Histopathologie, Schattauer-Verlag, 12. Auflage, 1998, S. 209
39. Saygeh H.M., Turka L.A., The Role of T-cell Costimulatory Activation Pathways in Transplant Rejection, N Engl J Med, Vol. 25: 1813-1821, 1998

40. Saygeh H.M., Carpenter C.B., Transplantation 50 Years Later – Progress, Challenges, and Promises, *N Engl J Med* 2004, 26: 2761-2766
41. Clark D., Coker R., Transforming growth factor beta (TGF-beta): *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1998, 30: 293-298
42. Sola R., Paredes D., Antonijoan R.M., Glomerular Hyperfiltration, Intrarenal Hemodynamics and Chronic Allograft Nephropathy: Pathophysiology of Chronic Allograft Nephropathy, *Transplantation Proceedings* 2002, 34: 340-342
43. Muirhead N., House A., Effect of Valsartan on Urinary Protein Excretion and Renal Function in Patients With Chronic Allograft Nephropathy, *Transplantation Proceedings* 2003, 35: 2412-2414
44. El-Agroudy A. E., Hassan N.A., Effect of Angiotensin II Receptor Blocker on Plasma Levels of TGF- β 1 and Interstitial Fibrosis in Hypertensive Kidney Transplant Patients, *Am J Nephrol* 2003, 23: 300-306
45. Amuchastegui S.C., Azzolini N., Chronic Allograft Nephropathy in rats Is Improved by Angiotensin II Receptor Blockade But Not by Calcium Channel Antagonism, *J Am Soc Nephrol* 1998, 9: 1948-1955
46. Anderson S., Meyer T.W. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass, *J Clin Invest* 1985, 76: 612-619
47. Campistol J. M., Inigo P., Losartan plasma levels of TGF- β 1 in transplant patients with chronic allograft nephropathy, *Kidney International* 1999, Vol. 56: 714-719
48. Inigo P., Campistol J., Renoprotective Effects of Losartan in Renal Transplant Recipients, *Nephron Clin Pract* 2003, 95: c84-c90
49. Akasu M., Urata H., Differences in tissue angiotensin II-forming pathways by species and organs in vitro, *Hypertension* 1998, 32(3):514
50. Dzau V.J., Sasamura H., Heterogeneity of angiotensin synthetic pathways and receptor subtypes: physiological and pharmacological implications. *J Hypertens Suppl* 1993,11(3):13

51. Zaltzman J.S., Nash M., Reini-Angiotensin System Blockade in Biopsy-Proven Allograft Nephropathy, Transplantation Proceedings 2003, 35 : 2415-2417
52. Noris M., Mister M., ACE inhibition limits chronic injury of Kidney transplant even with treatment started when lesions are established, Kidney International 2003, Vol. 64: 2253-2261
53. Schindler, R., Tullius S.G., Hypertension increases expression of growth factors and MHC II in chronic allograft nephropathy, Kidney International 2003, Vol. 63: 2302-2308
54. Dragun D., Müller D.N., Angiotensin II Type 1-Receptor Activating Antibodies in Renal-Allograft Rejection, N Engl J Med 2005, 352: 558-569
55. Bos-Thompson M.A., Hillaire-Buys D., Fetal toxic effect of angiotensin receptor antagonists: case report and follow-up after birth, Ann Pharmacother 2005, 39: 157-161
56. Briggs G.G., Nageotte M.P., Fatal fetal outcome with the combined use of valsartan and atenolol, Ann Pharmacother 2001, 35: 859-861

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. E. Heidbreder danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie der Arbeitsmaterialien zur Durchführung der Versuche, nicht zuletzt auch für die Hilfestellung während des Promotionsverfahrens.

Herrn Dr. med. K. Lopau danke ich für die engagierte Betreuung der Arbeit und die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.

Bei Herrn Professor Dr. med. C. Wanner bedanke ich mich für die Möglichkeit, im nephrologischen Labor der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg zu arbeiten.

Frau Professor Dr. rer. nat. A. Waaga-Gasser danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Meinem Kollegen Herrn Dr. med. B. Flörchinger danke ich für die gute Zusammenarbeit bei der Durchführung der Versuchsreihen sowie bei der Erhebung der Messwerte.

Für die Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der labortechnischen Messungen und Arbeiten danke ich stellvertretend für alle Mitarbeiter des nephrologischen Labors Frau M. Bartrow und Frau E. Baumeister.

Bei Frau E. Reichert und Herrn P. Link bedanke ich mich für die gute Betreuung der Versuchstiere.

Schließlich danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre anhaltende Unterstützung.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Dominic Kojo Brookman-Amisshah
Geburtsdatum 9. September 1974
Geburtsort Weiden i. d. Opf.

Schulbildung

09/1980 – 07/1984 Clausnitzer -Grundschule, Weiden
09/1984 – 07/1993 Johannes-Kepler-Gymnasium, Weiden

Zivildienst

09/1993 – 11/1994 Mobiler sozialer Hilfsdienst,
Allgemeiner Rettungsverband, Oberpfalz e.V.,
Weiden

Hochschulausbildung

11/1994 – 04/1997 Vorklinisches Studium an der Universität
Regensburg
04/1997 – 10/2000 Klinisches Studium an der Universität Würzburg
10/2000 – 10/2001 Praktisches Jahr an der Universität Würzburg

Ärztliche Prüfung Oktober 2001

Berufstätigkeit Seit Oktober 2002 Arzt in der Medizinischen Klinik 2
des Krankenhauses Barmherzige Brüder,
Regensburg



