

**Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Georg Ertl**

**Der Einfluss des HMG-CoA-Reduktase-Inhibitors Atorvastatin
auf die chronische Transplantatniereninsuffizienz der Ratte**

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

**vorgelegt von
Bernhard Flörchinger
aus Vilshofen**

Würzburg, Januar 2005

Referent: Professor Dr. med. Ekkehart Heidbreder

Koreferentin: Professor Dr. rer. nat. Ana Maria Waaga-Gasser

Dekan: Professor Dr. med. Stefan Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 18.01.2005

Der Promovend ist Arzt.

Meinem Beruf

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	Seite
1.1 Geschichte der Nierentransplantation	1
1.2 Definition der chronischen Transplantatnephropathie	2
1.3 Mögliche Ursachen der chronischen Transplantatnephropathie	3
1.4 Tiermodell	11
1.5 Wirkstoff	12
1.6 Fragestellung	13
2. Methodik	
2.1 Versuchstiere	15
2.2 Untersuchungsgruppen	15
2.3 Zeitlicher Ablauf	16
2.4 Durchführung der Untersuchung	16
2.4.1 Narkose	16
2.4.2 Lagerung der Tiere	17
2.4.3 Organentnahme	17
2.4.4 Organimplantation	19
2.4.5 Entnahme der rechten Empfängerniere	20
2.4.6 Immunsuppression	21
2.4.7 Applikation des Wirkstoffs	21
2.4.8 Blutentnahme	22
2.4.9 Uringewinnung	22
2.5 Berechnung der Labor-Parameter	22
2.6 Statistik	23

3. Ergebnisse

3.1 Gewicht	25
3.2 Urinvolumen	27
3.3 Serumkreatinin	29
3.4 Serumharnstoff	31
3.5 Kreatinin-Clearance	32
3.6 Proteinurie	34

4. Diskussion

4.1 Gewicht	37
4.2 Urinvolumen	39
4.3 Serum-Kreatinin	39
4.4 Serum-Harnstoff	40
4.5 Kreatinin-Clearance	40
4.6 Proteinurie	43
4.7 Weitere Effekte von Statinen	44

5. Zusammenfassung	46
---------------------------	----

6. Literaturverzeichnis	49
--------------------------------	----

Danksagung

Lebenslauf

1. Einleitung

1.1. **Geschichte der Nierentransplantation**

Erste Versuche, eine Niere zu transplantieren, sind bereits 1902 von Ullmann und Carell sowie 1933 von Yuri Voronov unternommen worden. Während Mitte des letzten Jahrhunderts erste Versuche begannen, die ausgefallene Nierenfunktion durch Dialysesysteme zu ersetzen, implantierte der Chirurg R. H. Lawler am St. Mary-Hospital in Chicago am 17. Juni 1950 erfolgreich die Niere einer Frau, die an einer Ösophagusvarizenblutung verstorben war, einer 49jährigen Frau mit der gleichen Blutgruppe orthotop – die Niere stellte ihre Funktion allerdings 9 Monate nach der Transplantation ein. 1954 führte Joseph E. Murray in Boston eine Nierentransplantation zwischen identischen Zwillingen durch, und 1958 erfolgte die erste Transplantation zwischen nicht-identischen Zwillingen unter Einsatz einer Ganzkörperbestrahlung (1, 2).

Mittlerweile stellt die Nierentransplantation einen Routineeingriff dar, verbessertes operatives und perioperatives Management, umfassende Kenntnisse transplantationsimmunologischer Prozesse und der Einsatz immunsuppressiver Medikamente, die effektiv eine akute Abstoßungsreaktion verhüten, haben zu einer erheblichen Verbesserung der Kurzzeitergebnisse sowie des Langzeitüberlebens der Transplantate in den letzten Jahren geführt – 80% der postmortalen Transplantationen und bis zu 95% der Lebendspenden überdauern das erste Jahr nach der Transplantation ohne relevante Funktionseinbußen. Langzeitbeobachtungen hingegen belegen, dass der Prozentsatz der funktionsfähigen Transplantate nach dem ersten Jahr stetig abnimmt – näherungsweise 70% der Lebendtransplantate und weniger als 50% der postmortalen Transplantate überdauern die 5– bis 10–Jahresgrenze, und nur 40% aller transplantierten postmortalen Nieren bleiben 8,5 Jahre funktionsfähig. Die Gesamtrate des chronischen Transplantatversagens hat sich in den letzten 20 Jahren nicht geändert (3).

1.2. Definition der chronischen Transplantatnephropathie

Allgemein bezeichnet dieser Begriff die zunehmende Funktionseinschränkung eines transplantierten Organs Monate bis Jahre nach Implantation; nach einer Nierentransplantation kommt es im Verlauf zu einer variablen, aber progredienten Verschlechterung der glomerulären Filtrationsrate, die schließlich im völligen Funktionsverlust des Organs endet.

Als morphologisches Korrelat der chronischen Funktionsverschlechterung findet sich bei organspezifischen Unterschieden eine progrediente Sklerosierung vaskulärer Strukturen als einheitliches Kriterium. Die Merkmale der chronischen Veränderungen in Organtransplantaten zeigen eher proliferativen Charakter im Gegensatz zur akuten Abstoßung, die durch eine zelluläre Infiltration mit Thrombosierung und Zellnekrosen gekennzeichnet ist; bei der akuten Abstoßung kommt es durch vom Empfänger gebildete Antikörper gegen Alloantigene des Transplantates über Proliferation und Aktivierung von T-Helfer-Zellen, welchen die entsprechenden Spender-Antigene präsentiert werden, zur Makrophagen- und CD8-Lymphozyten-Infiltration, zur Invasion von natürlichen Killerzellen und neutrophilen Granulozyten des Spenderorgans mit der Folge einer Vaskulitis und Tubulitis: Ödem und Schädigung der Tubuli sowie lymphozytäre Infiltration der Glomeruli, was insbesondere zur Obliteration dieser Strukturen führt. Eine Einteilung des Schweregrades je nach Ausprägung des aufgeführten Kriterien erfolgt nach der *Banff*-Klassifikation. 90% der akuten Abstoßungsreaktionen sind vorwiegend im Interstitium lokalisiert, je nach Ausmaß kommt eine vaskuläre Ausdehnung auf Glomeruli und/oder Gefäße hinzu.

Diese persistierende, zunächst gering ausgeprägte zelluläre Infiltration ist mit einer Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen und der Bildung chemotaktischer Faktoren verbunden und führt zu einer zunehmenden Gewebeschädigung. Zusätzlich verstärkt die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren die Endothel- und Fibroblastenaktivierung.

Bei den organspezifischen Veränderungen der Niere handelt sich um eine fibröse Verdickung der Intima von Arterien und Arteriolen, einer Glomerulosklerose, einer interstitiellen Fibrose, tubulärer Atrophie und der Zerstörung der Basalmembran peritubulärer Kapillaren (4,5).

1.3. Mögliche Ursachen der chronischen Transplantatnephropathie

Die Pathogenese der chronischen Transplantatnephropathie wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Einerseits bestimmen immunologische bzw. Antigen-abhängige Komponenten, andererseits nicht-immunologische bzw. Antigen-unabhängige Komponenten den Ablauf des chronischen Parenchymverlustes. Aufgrund von Beobachtungen im Tiermodell ist davon auszugehen, dass in der Frühphase der chronischen Nephropathie vor allem Antigen-abhängige Faktoren für die Nierenschädigung verantwortlich sind, diese verlieren später zunehmend an Bedeutung, während Antigen-unabhängige, nicht-immunologische Faktoren in den Vordergrund treten.

1.3.1. Immunbiologie der akuten Transplantatabstoßung

Das zentrale Problem der Transplantation allogener Organe ist die Immunantwort der Lymphozyten des Empfängers gegen die Fremdartigene des Spenders (6).

Direkte und indirekte Allogenpräsentation

Die Abstoßungsreaktion ist durch eine primäre Aktivierung der T-Zellen verursacht. T-Zellen exprimieren auf der Oberfläche entweder CD4- oder CD8-Glykoproteine (Abb.1.1). Man vermutet, dass CD4-Zellen, die sog. T-Helferzellen, eine sehr wichtige Rolle für die Initiierung der Abstoßungsreaktion spielen. Sie sind verantwortlich für die Produktion von Zytokinen, die die Immunantwort weiter stimulieren. Sie wirken autokrin auf T-Zellen, in parakriner Form aber auch auf CD8-Zellen, Natural Killer-Zellen (NK-Zellen) und

Makrophagen ein und führen zu einem ausgeprägten Entzündungsprozess mit Zelluntergang im transplantierten Organ (7).

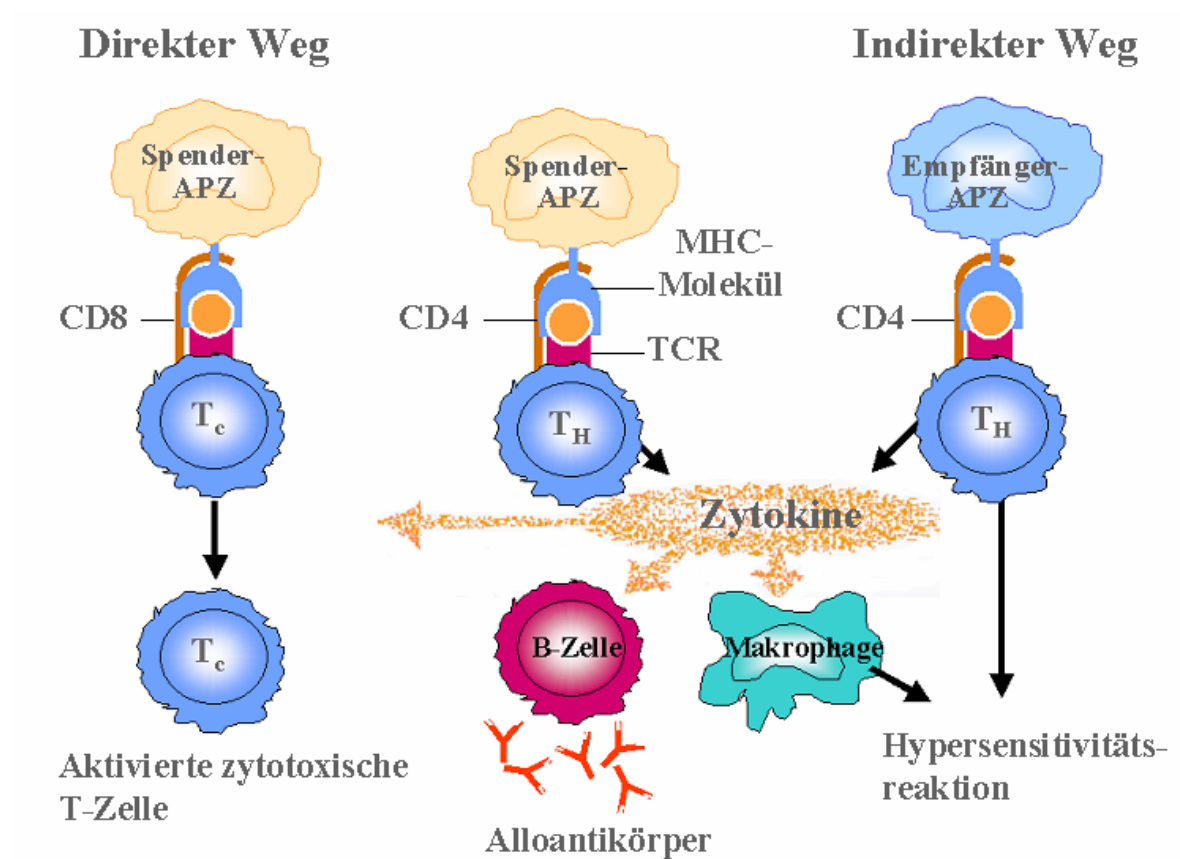


Abb.1: Direkte und indirekte Aktivierung der CD4- und CD8-T-Lymphozyten; Mechanismen der Entwicklung einer Immunantwort gegen das Transplantat (modifiziert nach Sayegh et al, 7).

Die Donorzellen des Transplantats setzen kontinuierlich Antigene frei. Die T-Zellen nehmen nur Peptidantigene wahr, die mit MHC-Klasse II-Molekülen assoziiert sind. Die T-Zellen (CD4-Zellen) werden von antigenpräsentierenden Zellen (APZ) – z.B. dendritischen Zellen – aktiviert, die selbst MHC-Klasse II-Moleküle tragen. Die Prozessierung von Antigenen, durch die die Peptide entstehen, die an MHC-Moleküle binden können, findet in intrazellulären Organellen der antigenpräsentierenden Zellen statt.

Direkte und indirekte Allogenpräsentation und –erkennung

Um eine Immunantwort zu initiieren, müssen zunächst einmal T-Zellen das Antigen auf direktem Weg oder indirektem Weg erkennen (Abb. 1.1). Die antigenpräsentierenden Zellen, die eine Abstoßungsreaktion aktivieren, stammen entweder vom Spender (direkter Weg) oder vom Empfänger (indirekter Weg). Beim direkten Weg treten im Transplantat sog. Passenger-Zellen (interstitielle dendritische Zellen) auf und induzieren eine Aktivierung von CD8-Zellen des Empfängers. Die antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers dagegen befinden sich im abführenden lymphatischen Gewebe, nehmen die vom Transplantat abgegebenen Antigene auf und präsentieren sie ebenfalls den CD4-Zellen des Empfängers. Damit wird eine indirekte Aktivierung ausgelöst.

Im direkten Weg erkennen T-Zellen das intakte Allo-Antigen auf der Oberfläche der Spenderzellen. Die T-Zellantwort, die bei der frühen akuten zellulären Abstoßung entsteht, wird zum großen Teil durch direkte Allo-Antigenerkennung vermittelt. Beim indirekten Weg erkennen T-Zellenprozessierte Antigene in antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers. Diese indirekte Antigenpräsentation ist möglicherweise wichtig für die Aufrechterhaltung und Perpetuierung der Abstoßungsreaktion, vor allem bei der chronischen Abstoßung.

T-Zellaktivierung und kostimulatorische Moleküle

Zur vollständigen Aktivierung benötigen T-Zellen neben dem ersten Erkennungssignal noch ein zweites Signal, das als kostimulatorisch bezeichnet wird und antigen-unspezifisch ist. Während das erste Signal die Spezifität der Immunantwort dadurch definiert, dass ein spezifisches Antigen in seinem MHC-Molekül auf der Oberfläche einer antigenpräsentierenden Zelle bindet, unterstützt das 2. Signal die weitere Aktivierung, indem eine zusätzliche Interaktion von antigenpräsentierender Zelle und T-Zelle stattfindet.

Theoretisch können viele T-Zellmoleküle als Liganden für kostimulatorische Moleküle auf antigenpräsentierenden Zellen dienen. Das CD28-Molekül ist

beispielsweise der Ligand für B7-1 (CD80) und B7-2 (CD86), da beide auf aktivierten antigenpräsentierenden Zellen exprimiert werden. T-Zellen exprimieren wiederum auch CTLA-4-Moleküle, die den CD28-Molekülen sehr ähnlich sind und auch B7 binden, jedoch inhibitorische Signale aussenden und die T-Zellantwort beenden. (Abb. 1.2).

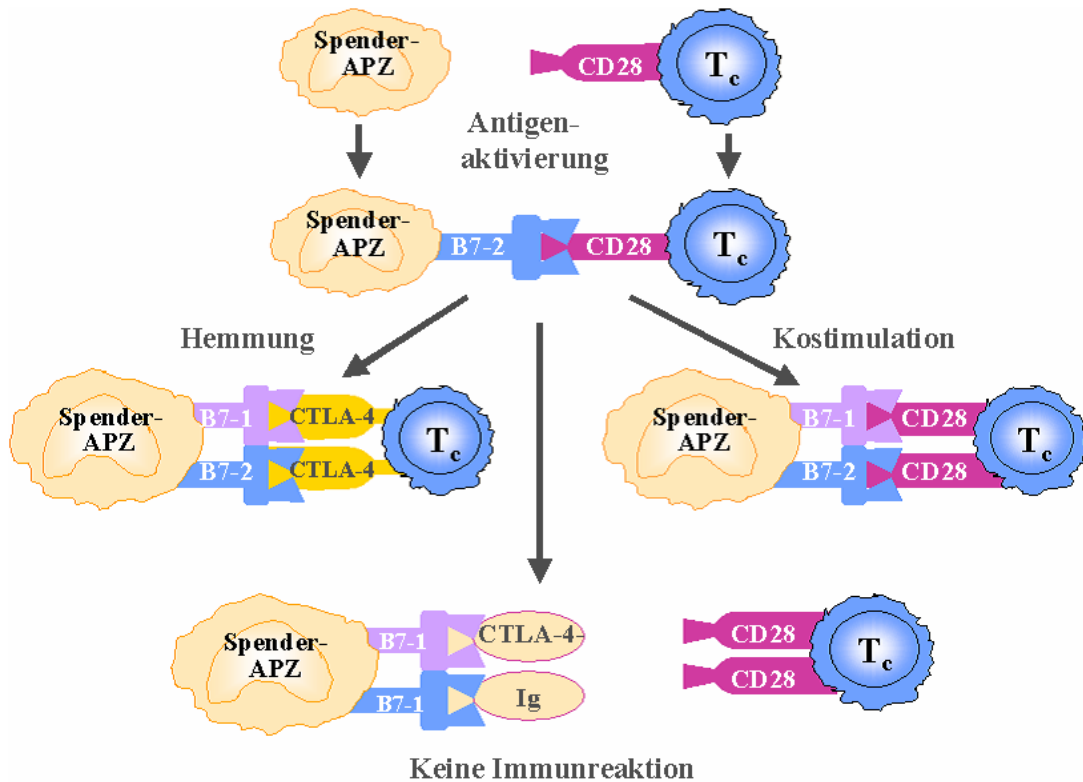


Abb.2: Kostimulation und Inhibition einer T-Lymphozyten-Aktivierung durch CD28- und CTLA-4-Rezeptoren (modifiziert nach Sayegh et al, 7).

Als weiteres kostimulatorisches Ligandenpaar ist das CD40/CD40L-Molekülpaar (Abb. 1.3) beschrieben worden (8). CD40 ist auf antigenpräsentierenden Zellen vorhanden, aber auch auf Endothelzellen und bindet CD40L (CD154) auf aktivierten T-Zellen. Die dadurch hervorgerufene Stimulation von CD40 induziert die B7-Expression auf antigenpräsentierenden Zellen und vermittelt somit die Kostimulation durch B7/CD28. CD40 induziert außerdem die Expression von Adhäsionsmolekülen und anderer inflammatorischer Zytokine.

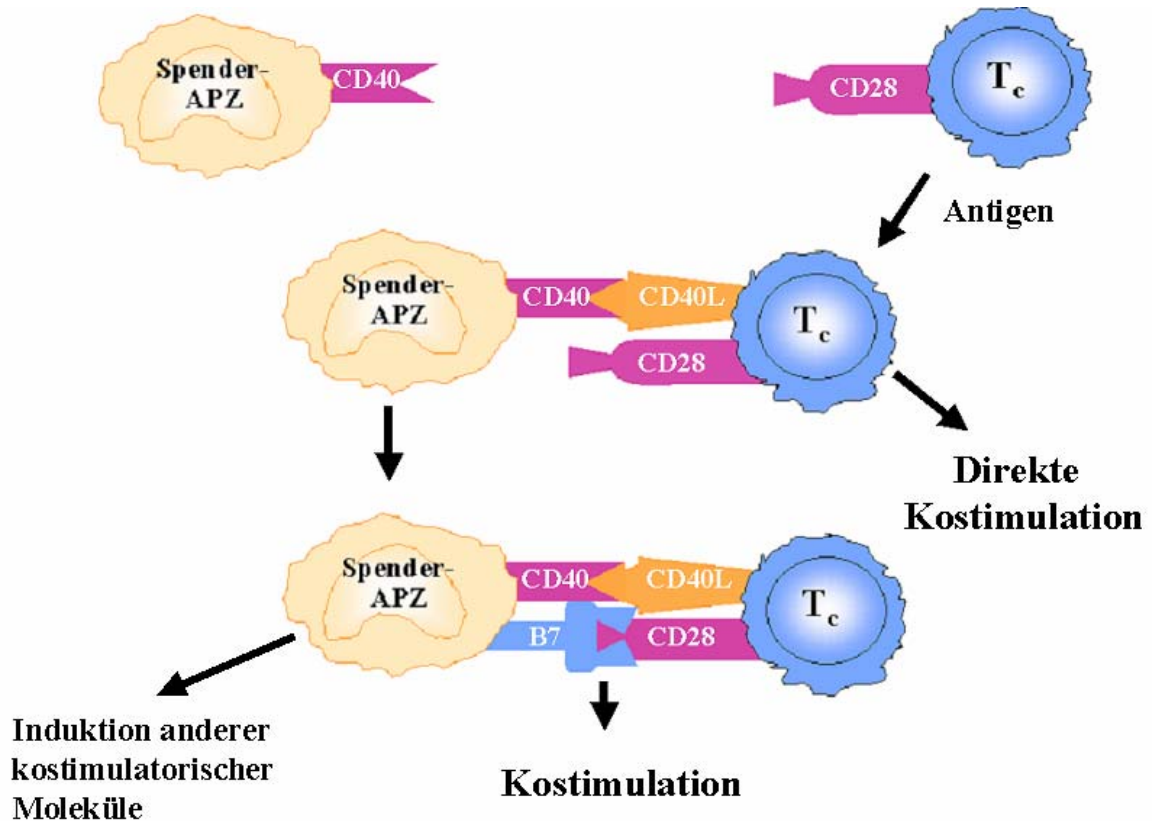


Abb.3: Kostimulatorische Effekte durch das Antigen-präsentierende Zelloberflächen-Molekül CD40 und seinen gleichnamigen Liganden (modifiziert nach Sayegh et al, 7).

T-Zellproliferation

Helfer-T-Zellen werden aktiviert und proliferieren, differenzieren und sezernieren eine Reihe von Zytokinen wie z.B. Interleukin 2, Interferon γ und Tumornekrose-Faktor α .

Um eine Abstoßung auszulösen, müssen nicht alle Komponenten des Transplantats angegriffen werden. Die kritischen Zielzellen sind die vaskulären Endothelzellen und spezialisierte Zellen des transplantierten Organs, wie z.B. Nierentubuluszellen. Interferon γ ist beispielsweise in der Lage, einerseits Endothelzellen zu veranlassen, MHC Klasse II-Moleküle zu exprimieren, an-

dererseits auch die Expression von Klasse I- und Klasse II-Molekülen auf Organparenchymzellen zu induzieren.

1.3.2. Chronische Abstoßungsreaktion und Transplantatnephropathie

Chronische Abstoßungsreaktionen treten im Zeitraum von Monaten bis Jahren auf und scheinen gegenüber der konventionellen Immunsuppression resistent zu sein.

Immunologische und nicht-immunologische Faktoren werden für sie verantwortlich gemacht.

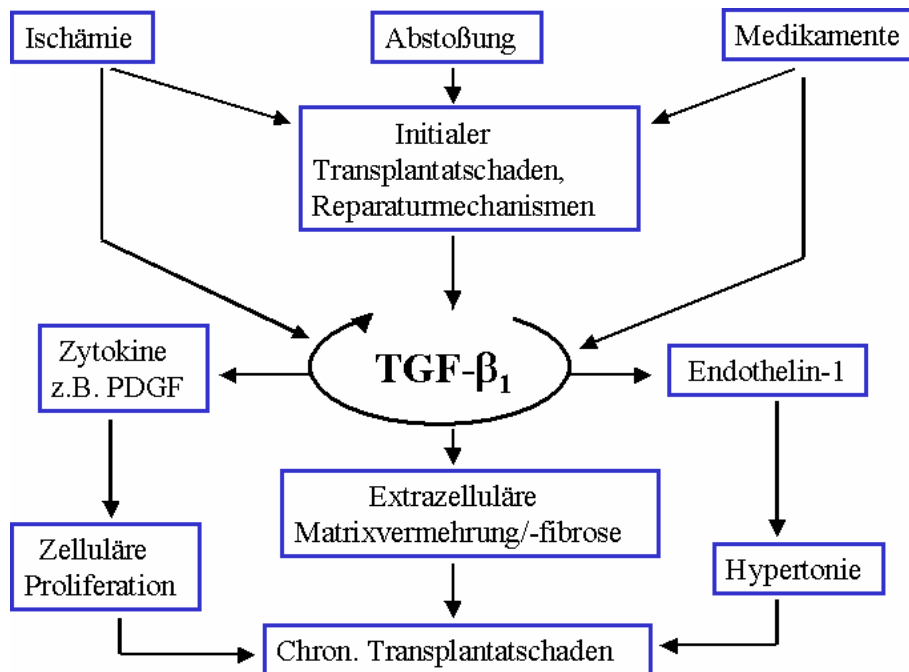


Abb.4: Pathogenese der chronischen Transplantat-Nephropathie; intrarenale Expression von TGF-β stellt den Schlüssel-Prozeß auf Molekularebene für die Entwicklung einer chronischen Transplantat-Abstoßung dar; Stimulation der Endothelin-1- Expression und der Zytokin-Freisetzung (z.B. PDGF) durch TGF-β. (modifiziert nach (9)).

Immunologische Faktoren

Bei der Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie dominiert die Immunantwort der Typ-2-T-Helfer-Zellen. Zytokine, von aktivierten T-Lymphozyten und Makrophagen sezerniert, veranlassen Endothelzellen zur Expression von Adhäsionsmolekülen und MHC-Molekülen, die eine weitere Aktivierung von Lymphozyten induzieren. T-Zellen, Makrophagen und aktivierte Endothelzellen sezernieren Wachstumsfaktoren, die durch Förderung der Proliferation von glatten Muskelzellen Intima-Wucherungen, interstitielle Fibrose und Ablagerung von extrazellulären Matrixproteinen, Kollagen und Lipiden hervorrufen.

Man unterscheidet zwei Typen von CD4-T-Helfer-Zellen:

Typ-1-T-Helfer-Zellen produzieren Interleukin-2 und Interferon- γ , die eine Makrophagenaktivierung und eine Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ, dem eigentlichen Mechanismus der akuten Abstoßungsreaktion, vermitteln. Typ-2-T-Helfer-Zellen sezernieren Interleukin(IL)-4, IL-6, IL-10 und IL-13, welche die Ausdifferenzierung und Proliferation von B-Lymphozyten zu Antikörper-produzierenden Plasmazellen vermitteln. Typ-2-T-Helfer-Zellen supprimieren Typ-1-T-Helfer-Zellen und schützen das Transplantat vor akuter Abstoßung, jedoch spielen sie unter Vermittlung der Antikörper-Produktion der Plasmazellen eine große Rolle bei der späteren Schädigung des Gefäßendothels in der Niere.

Zur vollen Aktivierung der T-Lymphozyten sind jedoch zwei verschiedene, aber synergistische Prozesse notwendig: zum einen die Bindung des Antigens an den T-Zell-Rezeptor, welche verantwortlich ist für die Spezifität der Immunantwort, zum anderen eine antigen-unabhängige Kostimulation durch Bindung an bestimmte Rezeptoren auf der Zelloberfläche.

Bei Fehlen einer solchen Kostimulation bleiben die Zytokin-Produktion und Zellteilung nicht nur aus, sondern darüber hinaus kommt es zu einer Anergie hinsichtlich Stimulation durch präsentierte Fremdpeptide oder gar zur Apoptose der betreffenden Zelle.

Schließlich erhöhen akute Abstoßungsreaktionen darüber hinaus frühzeitig das Risiko der Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie; trotz vermeintlich ausreichender Immunsuppression können akute Abstoßungsreaktionen auf subklinischem Niveau persistieren und dann in eine chronische Transplantatschädigung übergehen.

Eine unzureichende Immunsuppression, z. B. durch variable Absorption von Cyclosporin A, begünstigt diesen Vorgang und stellt einen weiteren Risikofaktor dar (7).

Nicht-immunologische Faktoren

Die Wirkung Antigen-unabhängiger Faktoren ist durch einen progressiven interstitiellen und glomerulären Schaden bei Isograft-Transplantaten sowie eine Verschlechterung der Nierenfunktion belegt. Als wichtige Faktoren sind der chirurgische Eingriff selbst, die verlängerte Transplantatischämie oder der hieraus resultierende Reperfusionsschaden zu nennen, die zu einer initialen Endothelschädigung führen. Gemäß der „Response to injury“-Theorie entwickeln sich in der Folge arteriosklerotische Veränderungen (10); nach Adhäsion und Migration von T-Lymphozyten und Monozyten/Makrophagen akkumulieren diese Zellen im subendothelialen Raum. Es kommt zur Bildung fibröser Plaques aus Schaumzellen, T-Zellen und glatten Muskelzellen. Die weitere Expression von Wachstumsfaktoren und Zytokinen führt zur Progression dieser arteriosklerotischen Veränderungen. Zusätzlich kann sich die Nephrotoxizität immunsuppressiver Medikamente wie Cyclosporin A auswirken.

Auch scheint das Verhältnis von Organmasse, d.h. die Anzahl übertragener intakter Nephrone, zum Körpergewicht des Empfängers von Bedeutung zu sein (11). So finden sich die charakteristischen Zeichen der chronischen Transplantatnephropathie auch bei anderen Krankheitsbildern, die mit einer Reduktion der Organmasse einhergehen wie dem Diabetes mellitus oder der unilateralen Nierenagenesie. Eine zu geringe Zahl von Nephrone setzt ei-

nen Prozess in Gang, bei dem es durch Hyperfiltration und begleitendem glomerulären Hochdruck zu einer zunehmenden Proteinurie kommt, die Folge sind eine glomeruläre Obliteration und eine interstitielle Entzündungsreaktion. Ein Teil der filtrierte Makromoleküle wird im proximalen Tubulus reabsorbiert und führt zu einer Aktivierung von Tubuluszellen, die wiederum inflammatorische und vasoaktive Proteine exprimieren und somit zu einer längerfristigen Schädigung der Nieren beitragen.

Auch metabolische Faktoren wie die orale Protein- und Lipidzufuhr können zu der progressiven Zerstörung von Organtransplantaten beitragen: dementsprechend hat die diätetische Proteinrestriktion eine verbesserte Langzeitfunktion von Nierentransplantaten gezeigt.

Nicht zuletzt beeinflussen Alter und Geschlecht der Spender die Prognose: so wiesen Transplantate sehr junger (< 3 Jahren) oder älterer (> 60 Jahre) Spender in einigen Untersuchungen schlechtere Langzeitergebnisse (4,5) auf.

1.4. Tiermodell

Das Untersuchungsmodell mit der Spender-/Empfängerkombination von Fisher 344-Ratten (R+1^{evl}) nach Lewis-Ratten (R+1^l) wurde eingehender 1969 von White, Hildeman und Mullen (12) beschrieben. In Nierenallotransplantaten mit dieser Kombination finden sich der humanen Situation vergleichbare funktionelle und strukturelle Langzeitschäden. Spender- und Empfängertiere unterscheiden sich in zwei MHC-Klasse-II-Gen-Loci und in verschiedenen nicht-MHC-assoziierten Genen (2). Bei dieser Tierkombination muss, um eine akute Abstoßungsreaktion zu verhindern, eine kurzzeitige „low dose“-Immunsuppression durchgeführt werden; je nach Dosierung (1,5mg bzw.

5mg/kg/die) findet sich bei den Tieren nach 12-16 bzw. nach 24 Wochen eine ausgeprägte Manifestation eines chronischen Transplantatschadens (2).

1.5. Wirkstoff

Atorvastatin ist ein synthetisch hergestellter Cholesterinsyntheseesterase (CSE) -Hemmer; seine Wirkung beruht auf der reversiblen Hemmung der HMG-CoA-Reduktase, dem Enzym, das die Reaktion von Hydroxy-Methylglutaryl-CoA in Mevalonat katalysiert. Diese Hemmung verursacht eine verminderte intrazelluläre Cholesterinsynthese und somit einer vermehrte Expression von Low-density-Lipoprotein-Rezeptoren auf der Zelloberfläche von Hepatozyten. Die erhöhte Expression dieser Rezeptoren auf der Zelloberfläche führt zur gesteigerten Aufnahme von LDL-Cholesterin aus dem Plasma in die Zelle – der Cholesterinspiegel im Plasma sinkt. Effektiv können Statine beim Menschen das Serumcholesterin um 20-40% und Triglyzeride um 10-30% senken. Durch die Hemmung der HMG-CoA-Reduktase werden auch intrazellulär weniger Mevalonat und dessen Stoffwechselprodukte, welche in Muskelzellen essentiell benötigt werden, synthetisiert. Statine haben einen hemmenden Effekt auf Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen. Schwerwiegende Nebenwirkungen wie eine Myopathie oder Rhabdomyolyse bis hin zum Nierenversagen sind vermutlich auf ein Absinken der Mevalonat-Konzentration zurückzuführen; die häufigste unerwünschte Nebenwirkung ist jedoch eine dosisabhängige, reversible Hepatotoxizität.

Die Metabolisierung erfolgt über das Isoenzym CYP3A4 des Cytochrom-P-450-Systems, welches Atorvastatin in aktive Metaboliten mit längerer Halbwertszeit überführt; Atorvastatin wird hauptsächlich biliär ausgeschieden. Allgemein besteht bei HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren wegen ihres Abbaus durch das Cytochrom-P-450-System eine Interferenz mit Immunsuppressiva,

insbesondere mit Cyclosporin A, wenn es als Dauermedikation eingesetzt wird. Die Konzentrations-Zeit-Kurve von Statinen ist dann signifikant erhöht. Im Falle einer Komedikation von Atorvastatin und Cyclosporin nach Organtransplantation fanden Asberg und Mitarbeiter sechsfach erhöhte Plasmaspiegel von Atorvastatin, während die Maximal- und Tal-Spiegel von Atorvastatin nur leicht im Sinne einer Reduzierung beeinflusst wurden (13). Dieser Effekt wird aber nicht nur auf den gemeinsamen Metabolisierungsweg Cytochrom P450, sondern auch auf einen verminderten Transport von Statinen durch Cyclosporin zurückgeführt (14,15).

1.6. Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Effekt von Atorvastatin als Dauermedikation auf die Nierenfunktion von Ratten nach Transplantation zu untersuchen. Für die Beurteilung der Nierenfunktion sind die Parameter Serumkreatinin, Serum-Harnstoff, Kreatinin im Urin, Proteinurie und Urinvolumen besonders wichtig.

Die Frage einer verbesserten Nierenfunktion ist vor allem im Zusammenhang mit der Wirkung von HMG-CoA-Reduktase-Hemmern, den Cholesterin- und den Triglyzerid-Gehalt im Serum zu reduzieren, zu sehen. Die Tatsache, dass einerseits die chronische Transplantatnephropathie und die Atherosklerose histologisch gewisse Ähnlichkeiten aufweisen, andererseits aber die Hyperlipidämie bei der Entwicklung der Atherosklerose eine wichtige Rolle spielt, legt die Vermutung nahe, dass erhöhte Blutfette bei der nicht-immunologischen Pathogenese einer chronischen Abstoßungsreaktion möglicherweise beteiligt sind. In verschiedenen Studien ist von einem Zusammenhang zwischen erhöhten Cholesterin- bzw. Triglyzeridwerten und Nierenfunktionsparametern (Serumkreatinin, Proteinurie), ebenso von einer positi-

ven Korrelation zwischen einem histologisch nachweisbaren Nierenschaden und erhöhten Cholesterin- bzw. Triglyzeridwerten berichtet worden.

Alonso et al. waren die ersten, die eine akzelerierte kardiale Transplantat-Atherosklerose bei Cholesterin-gefütterten Kaninchen festgestellt haben (16). Andere Untersucher haben diese Befunde bestätigt (17,18), wiederum andere wie Adams und Karnofsky (19) sowie Mennander und Mitarbeiter (20) haben dagegen keine Zunahme der Atherosklerose unter erhöhter Cholesterinzufuhr feststellen können. Eine weitere und später publizierte Untersuchung (Räisänen-Sokolowski et al., 21) beschreibt allerdings erneut die Akzeleration der Atherosklerose bei chronischer Abstoßung bei Ratten. Klinisch entspricht den experimentellen Studien mit positiven Resultaten unter Cholesterinzufuhr die Untersuchung von Dimeny et al. (22), die höhere VLDL-, LDL-, Gesamtcholesterin – und Triglyzeridwerte sowie eine höhere atherogene Verteilung der Lipoproteine bei nierentransplantierten Patienten mit chronischer Abstoßung im Vergleich zu Kontrollpatienten fanden.

Zusätzlich haben sich Statine nach einer Untersuchung von Kwak et al. als Inhibitoren der Induktion einer MHC-II-Molekül-Expression durch Interferon- γ und somit als hemmende Faktoren der MHC-II-vermittelten T-Zell-Aktivierung erwiesen. Diese MHC-II-Inhibition ist spezifisch nur für die induzierbare Form nachgewiesen worden und betrifft nicht die konstitutionelle Expression durch Antigen-präsentierende Zellen wie B-Lymphozyten oder Makrophagen. Auch die MHC-I-Expression bleibt von der Statinwirkung unbeeinträchtigt. Dieser Effekt ist dosisabhängig und hängt zusätzlich vom Wirkstoff selbst ab: Atorvastatin hat sich als der Stoff mit der höchsten inhibitorischen Potenz gezeigt. Somit besitzen Statine eine immunmodulatorische Wirkung, von der auch eine Verbesserung der Nierenfunktion nach Transplantation erwartet werden kann (23,24).

2. Methodik

2.1. Versuchstiere

Als Organspender wurden je nach Versuchsgruppe männliche Ratten der Gattung Fischer 344 oder Lewis und als Empfänger männliche Ratten der Gattung Lewis (beide Gattungen Fa. Charles River Deutschland GmbH, Sulzfeld) verwendet.

Die Tiere hatten während der gesamten Untersuchungszeit Zugang zu standardisierter Kost (Altromin 1324, Altromin GmbH, Sulzfeld), entsprechend der Versuchsgruppe mit oder ohne Zusatz des Medikamentes und Wasser ad libitum.

Das Gewicht der Tiere wurde jeden zweiten Tag mit einer Waage (Fa. A. Sauter KG, Ebingen) bestimmt. Der Gesundheitszustand der Tiere wurde während des gesamten Versuchs einmal wöchentlich anhand eines Punkteschemas (Quelle: Dr.Wolfgang Geise, Tierschutzbeauftragter der Universität Würzburg) beurteilt. Bei deutlicher Verschlechterung des Allgemeinzustandes wurden die Tiere euthanasiert.

2.2. Untersuchungsgruppen

Das Versuchsmodell umfaßte insgesamt fünf Gruppen mit je acht Tieren, die sich folgendermaßen verteilten:

- Gruppe 1: Transplantation einer Niere von Lewis-Ratten auf Lewis-Ratten (Kontrollgruppe, isogene Transplantation)
- Gruppe 2: Transplantation einer Niere von Lewis-Ratten auf Fisher 344

- Ratten (Kontrollgruppe, allogene Transplantation, mit Gabe von Cyclosporin A)
- Gruppe 3: Transplantation einer Niere von Lewis-Ratten auf Fisher 344
–Ratten mit Gabe von Atorvastatin

2.3. Zeitlicher Ablauf

Den Versuchstieren wurde unmittelbar nach linksseitiger Nephrektomie die rechte Niere des Spendertiers orthotop implantiert. Es folgte eine zehn Tage währende Phase, in der den Tieren zur Verhinderung einer akuten Abstoßungsreaktion einmal täglich Cyclosporin A subkutan injiziert wurde. Am zehnten postoperativen Tag erfolgte die Nephrektomie der rechten, noch verbliebenen Empfängerniere. Jeweils am dreißigsten, sechzigsten, neunzigsten und am einhundertzwanzigsten postoperativen Tag wurde den Tieren Blut abgenommen und über vierundzwanzig Stunden Urin gesammelt. Im Anschluss daran wurden die Tiere am einhunderteinundzwanzigsten Tag getötet und die transplantierten Nieren entnommen.

2.4. Durchführung der Untersuchung

Die mikrochirurgischen Eingriffe wurden mit Hilfe eines Operationsmikroskopes (OPMI-19FC, Fa. Carl Zeiss, Jena) durchgeführt.

2.4.1. Narkose

Die Tiere wurden mit einem Ketaminhydrochlorid (Ketavet, Fa. Pharmacia&Upjohn GmbH, Erlangen)-/ Xylazinhydrochlorid (Rompun 2%, Fa. Bay-

erVital GmbH&Co .KG, Leverkusen)-Gemisch narkotisiert, welches vor Versuchsbeginn intramuskulär injiziert wurde.

Die Dosierung für Ketaminhydrochlorid betrug 115 mg / kg Körpergewicht bzw. 1 ml / kg KG; (entsprechend für Rompun 2% 11,5 mg/kg KG bzw. 0,5 ml/kg KG). Bei Bedarf erfolgte eine Vertiefung der Narkose durch Aufträufeln des Anästhesiegemisches auf die Leber.

Für die Abnahme von Blut wurden die Tiere ebenfalls mit einem Ketaminhydrochl./ Xylazinhydrochl.-Gemisch im Verhältnis 1:1 i.m. narkotisiert. Hierbei lag die Dosis für Ketamin bei 23 mg/kg KG bzw. 0,2 ml/kg KG, für Xylazin bei 4,8 mg/kg KG bzw. 0,2 ml/kg KG.

2.4.2. Lagerung

Für die Explantation der Spenderniere und deren Implantation befanden sich die Tiere in Rückenlage, während die Explantation der zweiten verbliebenen Empfängerniere am zehnten postoperativen Tag in Linksseitenlage durchgeführt wurde. Die Lagerung der Tiere erfolgte auf einer Korkplatte mit einer sauberen, nicht sterilen Abdeckung.

2.4.3. Organentnahme

Nach Anästhesie des Spendertieres erfolgte zunächst die Rasur der Bauchwand, anschließend die Lagerung des Tieres und Desinfektion der Bauchwand. Als nächstes wurde eine mediane Laparotomie von der Regio pubica bis zur Höhe des Xiphoids durchgeführt, daraufhin die schichtweise Durchtrennung der Bauchmuskulatur inklusive Peritoneum in der Medianlinie von etwa 1 cm über dem Penis bis über das Xiphoid mit gleichzeitiger Präparation des umgebenden Bindegewebes. Nun erfolgte das Einlegen von Spreizhaken auf beiden Seiten und Fixierung mit Kanülen. Um freien Zugang zu Retroperitoneum und linker Niere zu gewährleisten, wurde Dünn- und Dickdarm mit Hilfe von Wattestäbchen nach rechts oben geschlagen, und der

Magen mit Hilfe einer Arterienklemme zusammen mit der Milz nach links oben geschlagen. Um das Transplantat vor Austrocknung zu schützen, wurde es mit einem Stück Plastikfolie abgedeckt und regelmäßig mit isotoner Flüssigkeit beträufelt.

Anschließend erfolgte die Präparation und Durchtrennung des Mesenteriums von Kolon und Rektum, danach das Fixieren des Rektums auf der rechten Seite, wodurch die Sicht auf Aorta und Vena cava freigegeben wurde. Es folgte die Präparation, Koagulation und Durchtrennung der Aa. / Vv. lumbales, testiculares und spinales bis auf Höhe des Abganges der Arteria mesenterica superior. In gleicher Weise wurde die Präparation, Koagulation und Durchtrennung der A. und V. suprarenalis sinistra in Abgangsnähe von den Nierengefäßen durchgeführt. Nun folgte das Freipräparieren der linken Niere unter Belassen der Nierenkapsel und eines Streifens perirenal Fettgewebes ohne Mitnahme der linken Nebenniere; ebenso die Präparation des Ureters am Übergang vom mittleren zum distalen Drittel mit Belassen von etwas periureteralem Fettgewebe. Im Anschluß daran wurden Aorta und V. cava im Gebiet des Abgangs der linken A. und V. renalis dargestellt, es erfolgte die Ligatur von Aorta und V. cava unmittelbar proximal der Bifurkation sowie anschließend die Ligatur von Aorta und V. cava jeweils einzeln proximal des Abgangs der linken A. / V. renalis. Daraufhin wurde ein Ligaturfaden unter die Aorta distal des A.renalis-Abganges eingelegt und distal der Ligatur das Gefäß eröffnet und eine 20G-Einmalkanüle mit 10ml-Spritze mit 10ml eisgekühlter 0,9% Natriumchlorid-Lösung mit 0,25ml Heparin-Natrium (Liquemin N, Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) eingeführt und mit der Ligatur fixiert. Daraufhin wurde der Ureter an der freigelegten Stelle durchtrennt und die V. cava nahe der Einmündung der V. renalis eröffnet. Es folgte die vorsichtige, pulsierende Perfusion der Niere bis zur Blutleere. Schließlich wurden A. und V. renalis möglichst abgangsnah, jedoch distal der abgehenden Nebennierengefäße, durchtrennt und das Transplantat in gekühlte 0,9% NaCl-Lösung transferiert.

Die Euthanasie der Spendertiere erfolgte durch Lösen der Ligatur an Aorta und Ausblutenlassen nach intrakardialer Injektion eines Ketaminhydrochlorid-/Xylazinhydrochlorid-Gemisches.

Der Zeitpunkt der Ligatur der Aorta proximal des A. renalis-Abganges wurde zur Bestimmung der kalten Ischämiezeit dokumentiert.

2.4.4. Organimplantation

Die Vorbereitung des Empfängertieres – Narkose, Rasur der Bauchwand, Lagerung, Eröffnen des Bauches, Freilegung und –präparation des Operationsgebiets – erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Organentnahme.

Ohne vorherige Durchtrennung der Aa. und Vv. lumbales, testiculares und spinales erfolgte dann die möglichst schonende Darstellung des Abganges der linken A. renalis bzw. der Einmündung der linken V. renalis und des Ureters am Übergang vom proximalen zum mittleren Drittel mit Belassen von periureteralem Fett. Anschließend wird die linke Niere ohne umgebendes Fettgewebe und unter Schonung der linken Nebenniere freipräpariert. Als nächstes erfolgte der Verschluss von Arterie und Vene mit je einer Arterienklemme distal der Nebennierengefäße und die Durchtrennung von Arterie und Vene, dann das Durchtrennen des Ureters und die Entnahme der linken Empfängerniere.

Nach orthotoper Positionierung des Transplantates erfolgte als erstes die Anastomosierung der beiden Nierenarterienstümpfe End-zu-End mit einem armierten 10-0 Faden (Fa. Medipoint GmbH, Hamburg) in Einzelknopfnahntechnik nach Setzen von zwei Eckknoten. Danach wurde die Anastomosierung der Venen ebenfalls mit einem armierten 10-0 Faden, zuerst als fortlaufende transluminale Naht der Venenhinterwand, dann als fortlaufende Naht der Vorderwand mit abschließendem Verknoten der beiden Fäden auf jeder Seite durchgeführt. Daraufhin wurde eine Arterienklemme auf die A. renalis

distal der Anastomosen gesetzt und durch probeweises Öffnen der proximalen Arterienklemme die Funktionstüchtigkeit der Anastomosen überprüft, gegebenenfalls erfolgte die Übernähung. Anschließend wurden die distale und proximale Arterienklemme und die Klemme auf der Vene geöffnet, die Anastomose mit Tabotamp–Gazestreifen umlegt (Fa.Ethicon, Norderstedt) und gegebenenfalls eine Blutung tamponiert. Es folgte die Überprüfung der Nierenperfusion. Bei erhaltener Organdurchblutung wurde der Ureter ebenfalls mit einem 10-0 Faden (armiert) in Einzelknopfnahntechnik anastomosiert und das periureterale Fettgewebe adaptiert und das Transplantat an das die Nebenniere umgebende Fettgewebe und an das Peritoneum fixiert. Abschließend erfolgte die Spülung des Bauchraums mit 0,9% NaCl-Lösung unter Zusatz von Benzylpenicillin (Penicillin Grünenthal 1 Mega, Fa. Grünenthal GmbH, Aachen) in der Dosierung 100.000 I.E./kg Körpergewicht, dann das Zurückklappen des Magens und des Darmes, der Verschluss der muskulären Bauchdecke und der äußeren Bauchhaut mit jeweils einem armierten 4-0-Faden (Fa. Medipoint GmbH, Hamburg) in fortlaufender Nahttechnik und die Desinfektion des Operationsgebietes mit Braunol (Fa. B.Braun AG, Melsungen).

Nach Beendigung der Operation wurden die Tiere bis zum Aufwachen in einen Käfig auf eine saubere, trockene Unterlage unter eine Wärmelampe gelegt. Der Zeitpunkt des endgültigen Öffnens der distalen Klemme auf der A. renalis wurde zu Feststellung der kalten Ischämiezeit wiederum dokumentiert.

2.4.5. Entnahme der rechten Empfängerniere

Nach Narkose und Rasur des Operationsgebiets am rechten Rippenbogen erfolgte die Lagerung der Tiere in Linksseitenlage, anschließend eine Sprühdessinfektion. Es folgte die Eröffnung der Haut mit einem parallel zur Wirbelsäule gelegenen, am Unterrand des Rippenbogens beginnenden, ca. 4 cm langen Schnitt; in gleicher Weise wurde die Muskeldecke inklusive Perito-

neum eröffnet. Im nächsten Schritt wurde die rechte Niere aufgesucht und retroperitoneal bis zum Nierenhilus präpariert. Es folgte das Aufsuchen des Harnleiterabgangs und das großzügiges Koagulieren und Durchtrennen des Harnleiters im oberen Drittel. Danach wurden die Gefäße des Freipräparieren und Ligieren des Nierenhilus freigelegt und ligiert, danach nach Koagulation durchtrennt. Dann wurde die Niere möglichst schonend aus dem perirenenalen Fett herauspräpariert und entfernt. Abschließend erfolgte die Kontrolle auf eine Blutung, der Verschluss der muskulären Bauchdecke und der Haut jeweils mit einem armierten 4-0-Faden (Fa. Medipoint, Hamburg) sowie Desinfektion mit Braunol (Fa. B. Braun, Melsungen)

Wie nach der Transplantation wurden die Tiere bis zum Aufwachen auf einer sauberen, trockenen Unterlage unter eine Wärmelampe gelegt. Ebenso erfolgte vor Verschluss der Bauchdecke die Instillation von Penicillin (Penicillin „Grünenthal“ 1Mega, Fa. Grünenthal, Aachen) in der Dosierung 100000 I.E./kg Körpergewicht.

2.4.6. Immunsuppression

Um einer akuten Abstoßung des Transplantats vorzubeugen, wurde den Tieren direkt im Anschluss an die Implantation der Niere und an den folgenden neun Tagen jeweils einmal täglich Cyclosporin A (Sandimmun, Fa. Novartis, Nürnberg) gelöst in reinem Olivenöl in der Dosierung 0,1ml / kg Körpergewicht s.c. injiziert.

2.4.7. Applikation des Wirkstoffs

Der Wirkstoff Atorvastatin (Fa. Gödecke GmbH, Freiburg) wurde den Tieren mit Hilfe des gemahlene Futters (Haltungsfutter für Ratten, Fa. Altromin, Lage) in einer Dosierung von 100mg / kg x Tag (25) für den gesamten Untersuchungszeitraum verabreicht; die Futterdosierung betrug 1,5 mg / g Futter.

2.4.8 Blutentnahme

Nach Anästhesie wurde den Tieren aus der Schwanzvene mehrere Tropfen Blut entnommen und in eine heparinisierte Kapillare (Microvette CB300, Fa. Sarstedt, Nümbrecht) aufgesogen. Diese Kapillare wurde anschließend in einer Zentrifuge (5415C, Fa.Eppendorf, Hamburg) zehn Minuten lang bei 4000 Umdrehungen / Minute zentrifugiert. Das Serum wurde danach in ein Eppendorf-Cup pipettiert und auf Harnstoff- und Kreatinin-Gehalt untersucht.

2.4.7. Uringewinnung

Zur Gewinnung des Sammelurins wurden die Tiere für 24 Stunden in einen Stoffwechselkäfig gesetzt; während dieser Zeit hatten die Tiere freien Zugang zu Wasser und Futter. Nach Ablauf der 24 Stunden wurde die Urinmenge vermerkt, und der Urin in zwei Urinmonovetten (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) umgefüllt. Eine Urinmonovette wurde ebenfalls auf Kreatinin- und Proteingehalt untersucht.

2.5. Berechnung der Laborparameter

Bei der Blutuntersuchung wurden Serum-Kreatinin und Serum-Harnstoff erfaßt; die Urinuntersuchung diente der Ermittlung von Kreatinin im Urin sowie des Gesamtproteingehalts; das Urinvolumen wurde gemessen.

Die Kreatinin-Clearance wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{CreaCl} = U \times V / S \times 1 / 1440 \quad [\text{ml/min}]$$

Erläuterung: U = Kreatininkonzentration im Urin [mg/dl]

S = Kreatininkonzentration im Serum [mg/dl]

V = Urinvolumen über 24 Stunden [ml]

CreaCl = Kreatinin-Clearance

Die Berechnung der Proteinurie erfolgte nach folgender Formel:

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

Erläuterung: UTP = Gesamtprotein im Urin [mg/l]

V = Urinvolumen über 24 Stunden [l]

P = Proteinurie

2.6. 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 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von < 5 % behaftet waren ($p < 0,05$). Initial wurden die Ergebnisse pro Gruppe zu jedem Zeitpunkt mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests auf Normalverteilung hin untersucht.

Bestand Normalverteilung, wurde mittels des Students-T-Testes untersucht, ob die Mittelwerte der voneinander unabhängigen Gruppen signifikante Unterschiede aufwiesen.

Bestand keine Normalverteilung, so wurde mit dem U-Test nach Mann und Whitney die Rangsummenverteilung überprüft und auf diese Weise ein möglicher Unterschied errechnet.

3. Ergebnisse

3.1. Gewicht

In Tabelle 3.1 und Abbildung 3.1 ist der Verlauf des Gewichts der Versuchstiere der drei Gruppen, nämlich Lewis/Lewis Kontrolle (LL Kon), Fisher/Lewis Kontrolle (FL Kon) und Fisher/Lewis Atorvastatin (FL Ator) bis zum hundertzwanzigsten Tag dargestellt.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 0	264,7	8,7	243,2	32,5	230,4	14,4
Tag 30	281,0	7,8	278,9	20,5	196,5	20,5
Tag 60	316,7	10,1	316,6	20,9	239,9	23,6
Tag 90	338,9	11,1	336,9	29,9	265,4	30,5
Tag 120	360,4	15,7	356,1	31,9	281,0	38,0

Tab.3.1: Gewichtsverlauf (MW und SEM) der Versuchstiere in Gramm (g)

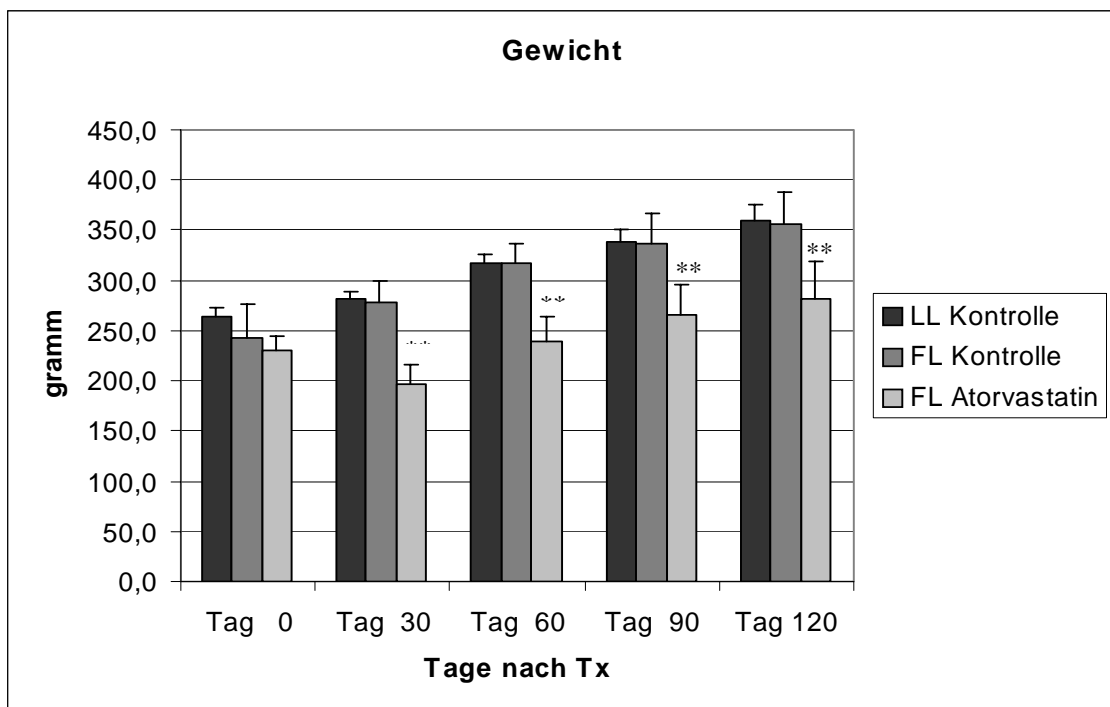


Abb. 3.1: Gewicht der Versuchstiere (MW und SEM)

Der Vergleich der Gewichtsverläufe beider Kontrollgruppen und der Atorvastatin-Gruppe ergibt zu allen Zeitpunkten mit Ausnahme der ersten Messung – nämlich am dreißigsten, sechzigsten, neunzigsten und am hundertzwanzigsten Tag – ein signifikant niedrigeres Körpergewicht der Versuchstiere, denen Atorvastatin verabreicht wurde.

Während sich die beiden Kontrollgruppen während der Medikationsphase maximal um 4,3 Gramm unterscheiden (120. postoperativer Tag), beträgt die Differenz der Mittelwerte zwischen der Fischer/Lewis-Kontrollgruppe und der Atorvastatin-Gruppe mindestens 71,5 Gramm, nämlich am neunzigsten postoperativen Tag; die Differenz zwischen der Lewis/Lewis-Kontrollgruppe und der Atorvastatin-Gruppe ist mit mindestens 73,5 Gramm durchgehend noch höher.

Die Ergebnisse der Signifikanzberechnung sind in Tabelle 3.2 wiedergegeben.

d0	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,06	0,08
FL Kon	0,29	

d30	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,001*	0,007*
FL Kon	0,45	

d60	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,001*	0,001*
FL Kon	0,37	

d90	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,010*	0,003*
FL Kon	0,43	

d120	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,015*	0,001*
FL Kon	0,56	

Tab.3.2: Signifikanzwerte des Gewichtsvergleichs

3.2. Urinvolumen

Mittelwerte und Standardabweichungen gemessener Urinvolumina der drei Versuchsgruppen über die gesamte Versuchslaufzeit sind in Tabelle 3.3 und in Abbildung 3.2 wiedergegeben.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	33,9	7,0	26,3	7,6	50,3	12,8
Tag 60	28,7	6,6	22,2	5,5	42,0	9,0
Tag 90	31,9	7,4	20,0	5,6	35,1	7,4
Tag 120	32,6	4,0	25,0	10,2	30,4	7,5

Tab.3.3: Urinvolumina (MW und SEM) in ml/die

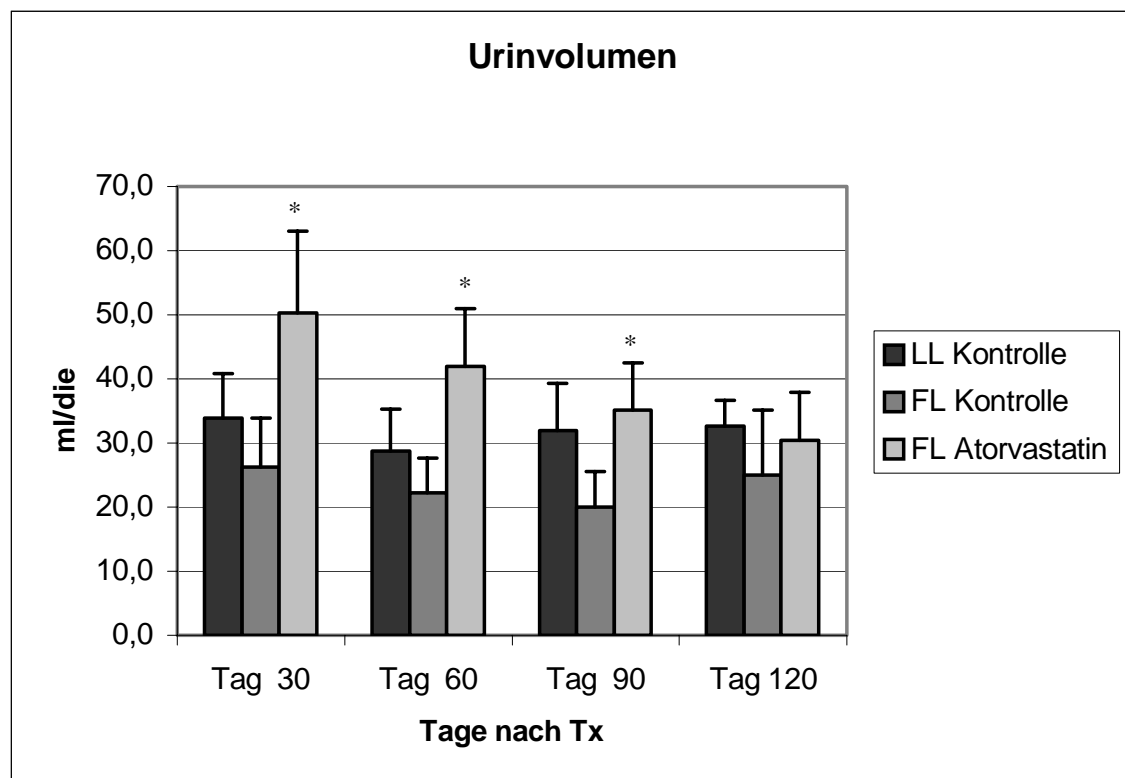


Abb. 3.2: Urinvolumina (MW+SEM)

Bei der ersten Bestimmung der Urinvolumina findet sich in der Atorvastatin-Gruppe eine höhere Diurese als in beiden Kontrollgruppen, wobei die Lewis/Lewis-Gruppe wiederum ein höheres Urinvolumen pro Tag zeigt als die Fisher/Lewis-Kontrollgruppe.

Die gleiche Konstellation erscheint ebenfalls bei den zwei folgenden Messungen am sechzigsten und am neunzigsten postoperativen Tag, jedoch ändern sich die Urinvolumina der beiden Kontrollgruppen nur geringfügig und bleiben annähernd gleich: bei der Lewis/Lewis-Gruppe um maximal 5,2 ml, bei Fisher/Lewis-Kontrolle um maximal 6,3 ml.

Die mittlere Urinmenge der Atorvastatin-Gruppe nimmt mit jeder Messung stetig ab, so dass sich die Urinvolumina der drei Gruppen langsam angleichen. Die vierte Volumenbestimmung ergibt schließlich bei der Lewis/Lewis-Gruppe eine höhere mittlere Urinmenge als bei der Atorvastatin-Gruppe, während das mittlere Urinvolumen der Fisher/Lewis-Kontrollgruppe wie bei den drei vorherigen Bestimmungen den niedrigsten Wert aufweist.

Ein signifikanter Unterschied der Urinmenge ergibt sich nur zwischen der Fisher/Lewis-Kontrollgruppe und der Atorvastatin-Gruppe, nämlich ein signifikant geringeres Urinvolumen bei den ersten drei Bestimmungen der gesamten Versuchslaufzeit. Die Signifikanzen zeigt Tabelle 3.4.

d30	LL Kon	FL Kon	d60	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,19	0,007*	FL Ator	0,15	<0,001*
FL Kon	0,19		FL Kon	0,16	

d90	LL Kon	FL Kon	d120	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,27	0,006*	FL Ator	0,79	0,12
FL Kon	0,07		FL Kon	0,15	

Tab.3.4: Signifikanzwerte der Urinvolumina

3.3. Serum-Kreatinin

Tabelle 3.5 und Abbildung 3.3 zeigen die bei den Blutentnahmen gewonnenen Werte des Serum-Kreatinins in Mittelwerten mit Standardabweichung.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	1,0	0,1	0,8	0,2	0,9	0,3
Tag 60	0,9	0,1	0,8	0,3	0,8	0,2
Tag 90	0,9	0,2	0,9	0,3	0,8	0,3
Tag 120	1,1	0,2	1,0	0,5	0,8	0,2

Tab3..5: Serum-Kreatinin (MW und SEM) in mg/dl

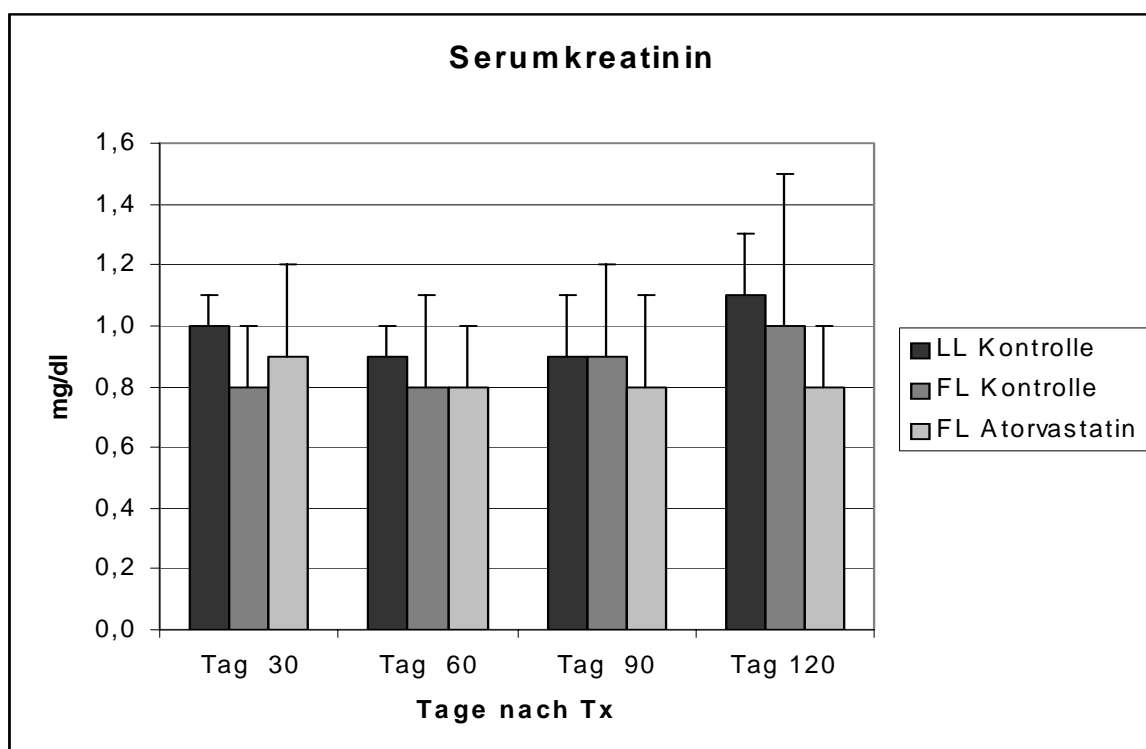


Abb.3.3: Serumkreatinin in mg/dl (MW und SEM)

Am dreißigsten postoperativen Tag ergibt die Messung des Serum-Kreatinins den höchsten Wert bei der Lewis/Lewis-Kontrollgruppe; der niedrigste Wert findet sich bei der Fisher/Lewis-Kontrollgruppe, während die Atorvastatin-Gruppe zwischen den beiden Kontrollgruppen liegt. Dieser Wert der Atorvastatin-Gruppe stellt auch den höchsten Wert der Gruppe dar – bei den folgenden Bestimmungen beträgt das Serum-Kreatinin der Gruppe konstant 0,8 mg/dl. Tiere der Lewis/Lewis-Kontrollgruppe weisen bei jeder Bestimmung die höchsten Serum-Kreatinin-Werte auf, am deutlichsten bei der ersten und letzten Messung; nur bei der Messung am neunzigsten postoperativen Tag ist der Kreatinin-Gehalt im Serum der Tiere aus der Fischer/Lewis-Kontrollgruppe genauso hoch, nämlich 0,9 mg/dl.

Während die Kreatinin-Bestimmung am dreißigsten und am sechzigsten Tag bei der Fisher/Lewis-Gruppe identische Werte ergeben, steigt der Gehalt des Kreatinins bei den letzten beiden Messungen an, zuletzt auf 1,0 mg/dl. In Bezug auf den Kreatinin-Gehalt im Serum ergeben sich zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede.

3.4. Serum-Harnstoff

Tabelle 3.6 und Abbildung 3.4 geben den Verlauf des Harnstoff-Gehaltes im Serum über hundertzwanzig Tage – ebenfalls erfaßt in vier Messungen – wieder.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	39,7	7,5	32,1	6,4	53,0	22,0
Tag 60	44,0	5,0	38,9	21,5	48,5	18,6
Tag 90	40,3	10,5	36,0	17,3	49,5	19,6
Tag 120	46,4	11,4	41,2	25,0	46,3	17,6

Tab. 3.6: Serum-Harnstoff in mg/dl (MW und SEM)

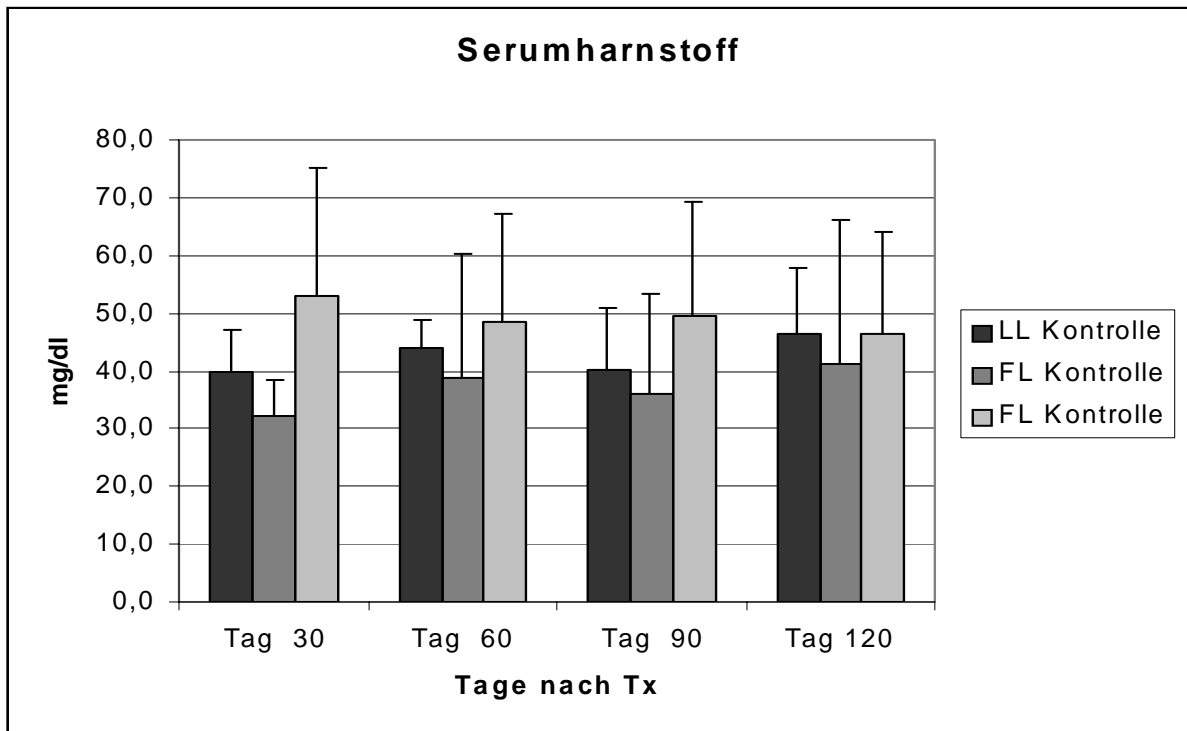


Abb.3.4: Serum-Harnstoff in mg/dl (MW und SEM)

Bei allen vier Messungen während der Untersuchung zeigt sich folgendes Bild: Der Serum-Harnstoff bei Tieren der Atorvastatin-Gruppe erreicht den

höchsten Wert im Vergleich mit den beiden Kontrollgruppen, gefolgt von der Lewis/Lewis–Gruppe; den niedrigsten Wert weist die Kontrollgruppe mit der Kombination Fisher/Lewis auf.

Während der Serum–Harnstoff der Atorvastatin–Gruppe bis zum 120. postoperativen Tag langsam auf 46,3 mg/dl abfällt, zeigen sowohl die Lewis/Lewis– als auch die Fisher/Lewis – Kontrolltiere zum gleichen Zeitpunkt die höchsten Werte im Versuch: 46,4 bzw. 41,2 mg/dl; bei der ersten Messung differieren somit die Werte am stärksten, und es kommt im weiteren Verlauf tendenziell zu einer Annäherung der gemessenen Werte.

Ein signifikant unterschiedlicher Serum-Harnstoffgehalt findet sich zwischen der Fisher/Lewis–Gruppe und der Atorvastatin–Gruppe am sechzigsten und am neunzigsten postoperativen Tag, wie Tabelle 3.7 zeigt.

d30	LL Kon	FL Kon	d60	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,29	0,06	FL Ator	0,69	0,017*
FL Kon	0,09		FL Kon	0,67	

d90	LL Kon	FL Kon	d120	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,39	0,013*	FL Ator	0,98	0,07
FL Kon	0,06		FL Kon	0,30	

Tab. 3.7: Signifikanz bei Serum-Harnstoffwerten

3.5. Kreatinin–Clearance

Die aus Urinvolumen, Serum-Kreatinin und Urin-Kreatinin berechneten Ergebnisse der Kreatinin–Clearance sind in Tabelle 3.8 und Abbildung 3.5 dargestellt.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	0,85	0,10	0,87	0,20	0,91	0,25
Tag 60	0,90	0,10	1,46	0,27	0,89	0,27
Tag 90	0,97	0,14	1,26	0,44	0,96	0,30
Tag 120	0,93	0,18	1,26	0,28	1,07	0,23

Tab. 3.8: Kreatinin-Clearance in ml/min (MW und SEM)

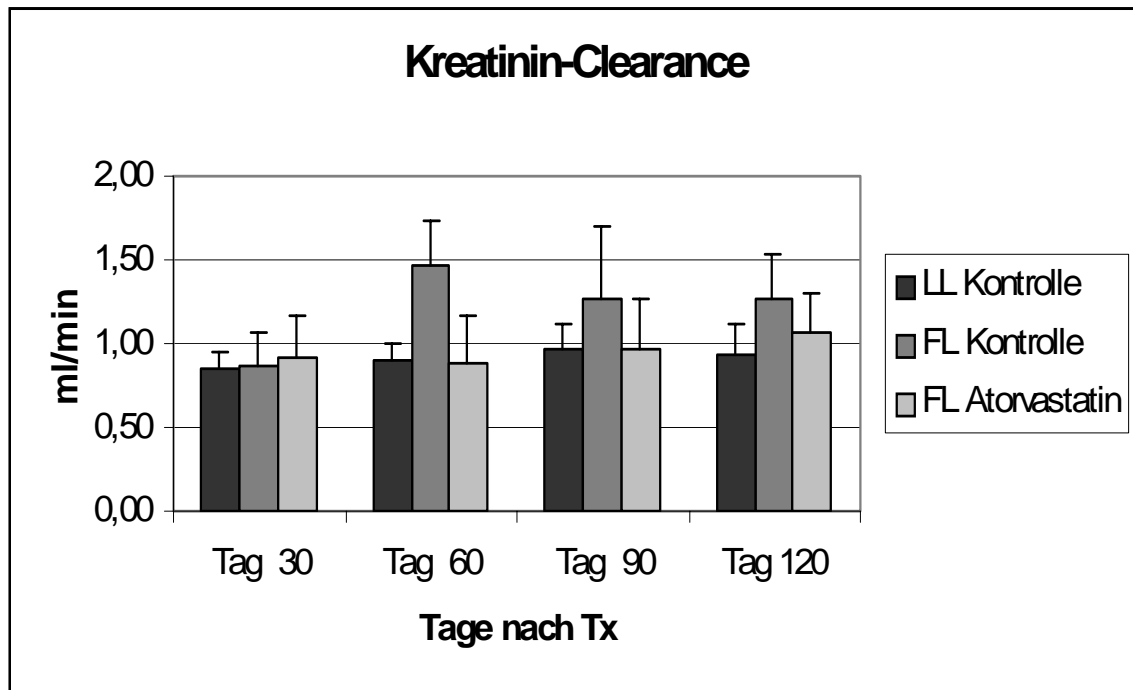


Abb.3.5: Kreatinin-Clearance in ml/min (MW und SEM)

Die erste Bestimmung der Kreatinin-Clearance am dreißigsten postoperativen Tag zeigt für alle drei Gruppen ähnliche Werte ohne signifikante Unterschiede: Den niedrigsten Wert weist die Lewis/Lewis-Gruppe auf mit 0,85 ml/min; mit einer Clearance von 0,91 ml/min stellt die Atorvastatin-Gruppe die Gruppe mit dem höchsten Wert dar – die Fisher/Lewis-Gruppe liegt mit 0,87 ml/min dazwischen.

Bei den darauffolgenden Messungen erreicht die Fisher/Lewis-Kontrollgruppe im Vergleich mit den anderen beiden Gruppen eine bessere Nierenfunktion, wobei sich der absolut höchste Wert, 1,46 ml/min, am sechzigsten Tag findet; die Messungen am neunzigsten und am hundertzwanzigsten Tag erbringen ähnliche Werte um 1,3 ml/min.

Die Clearancewerte der Lewis/Lewis- und der Atorvastatin-Gruppe dagegen bleiben auch bei den drei letzten Messungen auf dem Niveau der ersten, sie liegen auch im Vergleich im gleichen Bereich, wobei die Atorvastatin-Gruppe gegenüber der Lewis/Lewis-Kontrollgruppe am hundertzwanzigsten Tag eine etwas höhere Kreatinin-Clearance aufweist.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erbringt keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen.

3.6. Proteinurie

Die gewonnenen Daten stellen Tabelle 3.9 und Abbildung 3.6 in Mittelwerten und Standardabweichung tabellarisch und graphisch dar.

	LL Kon		FL Kon		FL Ator	
	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
Tag 30	29,0	7,7	21,1	6,8	12,2	5,1
Tag 60	52,4	21,0	35,4	19,6	15,6	9,4
Tag 90	32,6	27,3	42,1	22,4	24,4	13,5
Tag 120	39,6	36,5	56,6	38,4	68,4	40,1

Tab. 3.9: Proteinurie in mg/die (MW und SEM)

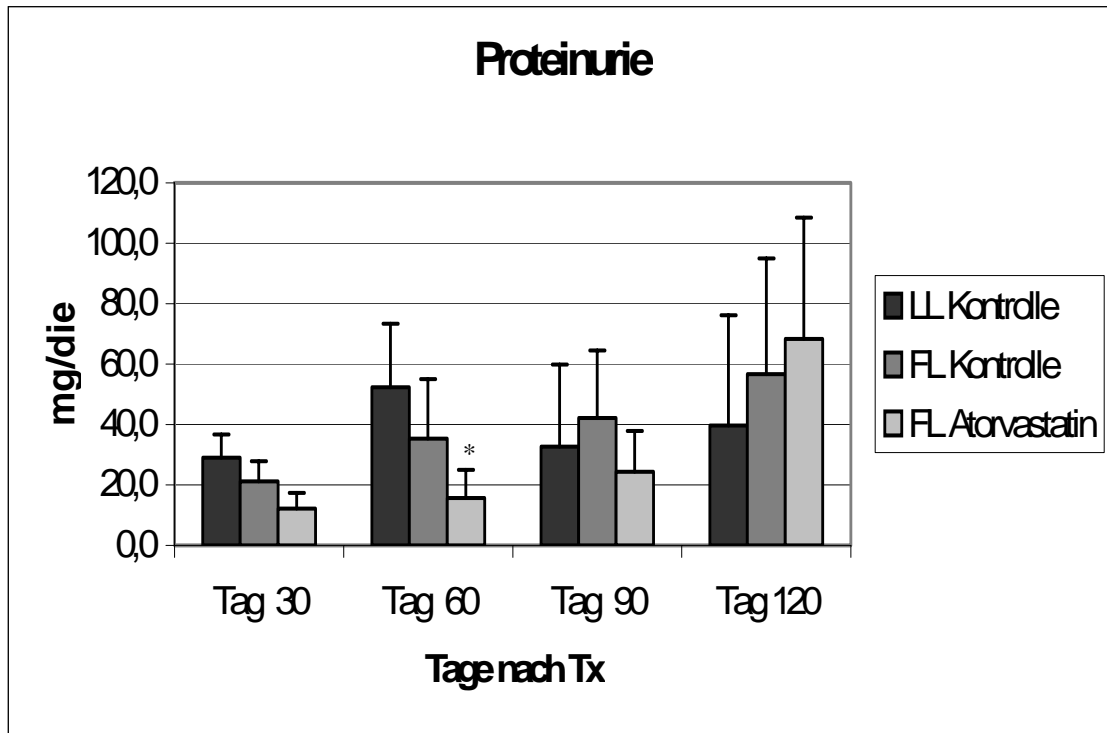


Abb.3.6: Proteinurie in mg/die (MW und SEM)

Die Bestimmung der Proteinurie bei Lewis/Lewis-Tieren ergab bei den ersten zwei Messungen höhere Werte als in den beiden anderen Versuchsgruppen; am neunzigsten und am hundertzwanzigsten postoperativen Tag erweist sich die Proteinurie in dieser Gruppe als deutlich niedriger im Gruppenvergleich.

Sowohl in der Fisher/Lewis – als auch in der Atorvastatin-Gruppe nimmt die Proteinurie vom dreißigsten bis zum hundertzwanzigsten Tag zu; die Werte der Atorvastatin-Gruppe sind hier jedoch tendenziell deutlich niedriger. Nur am hundertzwanzigsten Tag ist der Wert in der Fisher/Lewis-Kontrollgruppe leicht niedriger als der Wert der Atorvastatin-Gruppe.

Bei der statistischen Auswertung ergibt sich am sechzigsten ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Versuchsgruppen: Die Proteinurie der Ator-

vastatin–Gruppe ist zu diesem Zeitpunkt signifikant niedriger als die der beiden anderen Gruppen (Tab. 3.10).

d30	LL Kon	FL Kon	d60	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,12	0,07	FL Ator	0,024*	0,018*
FL Kon	0,17		FL Kon	0,07	

d90	LL Kon	FL Kon	d120	LL Kon	FL Kon
FL Ator	0,45	0,17	FL Ator	0,38	0,19
FL Kon	0,83		FL Kon	0,66	

Tab. 3.10: Signifikanz der Proteinurie

4. Diskussion

4.1. Gewicht

Ein signifikant reduziertes Körpergewicht unter der Gabe von Atorvastatin ist in der bisherigen Literatur zu diesem Thema nicht beschrieben worden. Als unerwünschte Nebenwirkungen von Statinen sind zwar gastrointestinale Beschwerden wie Dyspepsie, Meteorismus und epigastrale Schmerzen beobachtet worden (26,27). Ob diese Nebenwirkungen oder eine Senkung des Serum-Cholesterins selbst während der Wachstumsphase mit dem niedrigeren Gewicht der Versuchstiere in ursächlichen Zusammenhang stehen, bleibt offen.

In klinischen Studien beim Menschen finden sich Dosierungen von Atorvastatin bis zu 80 mg täglich, jedoch ist in den meisten Studien eine niedrigere Dosierung gewählt worden, um unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen, insbesondere eine Myopathie bis hin zu einer Rhabdomyolyse mit Kreatinphosphokinase-Erhöhung sowie hepatotoxische Nebenwirkungen, weitgehend auszuschließen. Oft werden die Atorvastatin-Dosierungen so titriert, dass Zielwerte des LDL-Cholesterins (unter 120 bzw. unter 100 mg / dl) erreicht werden (28).

Demetriou et al. berichten von einem Fall, bei dem nach Einnahme von Atorvastatin Myalgien aufgetreten sind, was zum Absetzen des Medikaments bzw. zum Ausschluss aus der Studie geführt hat – in diesem Fall betrug die Dosierung 10 mg einmal täglich (29).

Insbesondere bei Patienten, die mittels Cyclosporin A immunsupprimiert werden, kann es, wie Renders et al. berichten, zur Akkumulation von Atorvastatin kommen (30). Aufgrund des gemeinsamen Metabolisierungsweges von Cyclosporin A und vielen HMG-CoA-Reduktase-Hemmern durch das Cytochrom P450 3A4-Enzym-System besteht die Gefahr einer verminderten

Konjugation / Metabolisierung von Atorvastatin mit konsekutiv erhöhten Serum-Spiegeln, gleiches gilt für die Verabreichung von Statinen mit Kalzium-Antagonisten, Makrolid-Antibiotika oder Ketokonazol. In der von Renders et al. durchgeführten Studie war bei kombinierter Gabe von Cyclosporin A und Atorvastatin – im Gegensatz zu der Kombination Cyclosporin A / Cerivastatin – eine Dosisreduktion von Cyclosporin A in vier von zehn Fällen erforderlich. Fluvastatin wird gänzlich ohne Beteiligung des CYP 3A4-Systems verstoffwechselt, Cerivastatin kann alternativ auch durch Cytochrom P450 2C8, welches nicht am Cyclosporin-Metabolismus beteiligt ist, metabolisiert werden. Cerivastatin ist allerdings aufgrund unerwünschter Nebenwirkungen vom Markt genommen worden. Auch in dieser Studie (30) und einer Untersuchung von Christians et al. (31) traten keine unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen auf. In der oben aufgeführten Studie erfolgte eine Dauermedikation mit Cyclosporin A bei nierentransplantierten Patienten, eine für insgesamt zehn Tage durchgeführte Immunsuppression mit Cyclosporin A zur Prophylaxe einer akuten Abstoßung, wie in der hier berichteten Studie, sollte jedoch bei einer Halbwertszeit von zwei bzw. 24 Stunden einen deutlich geringeren Effekt auf die Serumspiegel von Atorvastatin haben.

Über eine signifikante Änderung des Körpergewichts, der Leberfunktion oder der Serum-Kreatinphosphokinasespiegel bei den Patienten wird in diesen Untersuchungen nichts berichtet (29, 30, 31).

Das Gewicht der Versuchstiere nimmt kontinuierlich zu und erreicht am hundertzwanzigsten postoperativen Tag den höchsten Wert. Auch das Befinden der Tiere ist sich zu keinem Zeitpunkt des Versuches durch das niedrigere Gewicht beeinträchtigt. Ein direkter negativer Effekt wird also nicht offenbar.

4.2. Urinvolumen

Die gemessenen höheren Urinvolumina in der Atorvastatin-Gruppe stellen keineswegs ein Indiz für eine bessere Nierenfunktion dar, als solches ist ein Anstieg der glomerulären Filtrationsrate (GFR) besser geeignet. Aus der stärkeren Diurese ergibt sich kein erkennbarer positiver Effekt. Für die Bewertung der glomerulären Funktion ist vor allem Berechnung der Kreatinin-Clearance erforderlich.

4.3. Serum-Kreatinin

In der Atorvastatin-Gruppe findet sich, außer bei der ersten Messung nach Transplantation, tendenziell durchgehend der niedrigste Kreatinin-Wert, ohne dass signifikante Unterschiede nachweisbar sind. Ob sich der tendenziell erkennbare Unterschied bei einer höheren Zahl an Versuchstieren auch signifikant niedergeschlagen hätte, kann nicht beantwortet werden.

Eine von Trimarchi et al. an insgesamt 97 nierentransplantierten Patienten durchgeführte retrospektive Analyse (33) zeigte in der Gruppe, die postoperativ mit HMG-CoA-Reduktase-Hemmern behandelt worden war (38 Patienten), einerseits einen signifikant niedrigeren Serum-Kreatinin-Wert, andererseits eine ebenfalls signifikant höhere Funktionsrate der Transplantate im Vergleich zu einer Kontrollgruppe aus 59 Patienten ohne Statin-Therapie (33).

In dem von Demetriou et al. durchgeführten Vergleich bei 18 nierentransplantierten Patienten mit besonderer Berücksichtigung des Fettstoffwechsels unter Atorvastatin konnte jedoch keine signifikante Veränderung der Serum-Kreatinin-Werte festgestellt werden (30). Ebenso fanden Renders et al. keine

Auswirkungen auf die Serum-Kreatinin-Spiegel unter Einnahme von Atorvastatin oder Cerivastatin (31).

Der augenscheinlichste Effekt war eine signifikante Verminderung der Serum-Cholesterol- und LDL-Spiegel – ähnlich wie von Alvarez et al. (33) und von Jones et al. (34) bei Patienten mit Hypercholesterinämie ohne Nierenerkrankung beobachtet .

4.4. Serum-Harnstoff

Die Serum-Harnstoff-Werte sind insgesamt in der Atorvastatin-Gruppe deutlich höher als in den Vergleichsgruppen, ein positiver Effekt der Wirkstoffverabreichung auf den Gehalt an Harnstoff im Blutserum läßt sich nicht feststellen. Ein erhöhter Harnstoff-Wert ist am ehesten als Ausdruck eines verminderten Glomerulumfiltrates (Anstieg ab <25% der Norm) bzw. einer verminderten Harnstoff-Rückdiffusion anzusehen, dazu passen auch - mit Ausnahme des 30. postoperativen Tags – die erniedrigten Kreatinin-Clearance-Werte im Vergleich zur FL-Kontroll-Gruppe. Mit fortschreitender Untersuchungszeit werden die Unterschiede zwischen den Gruppen zunehmend geringer.

4.5 Kreatinin-Clearance

Mit Ausnahme der ersten Bestimmung zeigt die Fisher-/Lewis-Gruppe die höchsten Clearance-Werte; dieser Befund kann als Korrelat einer Hyperfiltration bewertet werden. Ein ähnlicher Effekt findet sich mutmaßlich auch beim Menschen, so zum Beispiel bei einseitiger Nierenagenesie, bei Diabetes mellitus oder chirurgischer Reduktion der Nierenmasse, etwa bei Lebend-

Nierenspendern oder nach Tumornephrektomie. Sola et al. (35) zeigten durch Bestimmung intrarenaler hämodynamischer Parameter wie des vaskulären Widerstands in den afferenten/efferenten Arteriolen, des glomerulären Kapillardrucks, der Filtrationsfraktion, des renalen Plasmaflusses sowie durch direkten Vergleich zwischen gesunden Nierenspendern und nierentransplantierten Patienten mit stabiler Nierenfunktion, dass sich beim gesunden Spender eine physiologische Adaption einstellt (35). Die glomeruläre Filtrationsrate sowie der renale Plasmafluß bleiben im Normbereich, ein im Vergleich mit den afferenten Arteriolen höherer Widerstand in den efferenten Arteriolen führt zu einem gesteigerten glomerulären Kapillardruck, die Filtrationsfraktion jedoch bleibt normal. Es kommt allerdings zu keiner glomerulären Hyperfiltration, und eine Verschlechterung der Nierenfunktion im Sinne eines progressiven Nierenversagens tritt ebenfalls nicht auf (35).

Bei den nierentransplantierten Patienten dagegen findet sich eine glomeruläre Hyperfiltration in 14% der Fälle, der Widerstand in den afferenten Arteriolen erweist sich hier als signifikant höher als in der Kontroll-Gruppe. Bei den Patienten mit einer Hyperfiltration ist auch der efferente Gefäßwiderstand erhöht.

Sola et al. führen diese Befunde auf die Wirkung von vermehrt freigesetztem Angiotensin II zurück, das den efferenten Gefäßtonus steigert und somit die GFR in den einzelnen Nephronen (SNGFR) erhöht (35). Gestützt wird ihre These durch die Tatsache, dass sich die Hyperfiltration und der glomeruläre Hypertonus im Bereich der Glomeruli durch Angiotensinogen-converting-enzym (ACE)-Inhibition vermindern lassen.

Dieser Angiotensin II-Effekt der glomerulären Hyperfiltration wird als einer der Hauptgründe für einen Transplantat-Verlust durch die sogenannte chronische Transplantat-Nephropathie jenseits des ersten Jahrs nach Transplantation angesehen (35).

In der Frühphase nach Transplantation wird eine angemessene glomeruläre Filtrationsrate durch die Hyperfiltration des einzelnen Nephrons gewährleistet. Im weiteren Verlauf kommt es jedoch zum Rückgang der Filtration, es folgen Proteinurie, später auch Glomerulosklerose und chronisches Nierenversagen. Ähnlich fällt auch bei der allogenen Fisher-/Lewis-Kontrollgruppe die glomeruläre Filtration nach dem dreißigsten postoperativen Tag ab. Eine chronische Hyperfiltration, auch in Verbindung mit einer Reduktion der Nierenmasse, führt zu einer progredienten glomerulären und vor allem interstiellen Schädigung, die bis zum terminalen Transplantatversagen fortschreitet. Dieser verhängnisvollen Entwicklung kann eventuell durch die Transplantation von zwei Nieren bzw. durch ein besseres „Matching“ des Gewichtes des Spenders (oder auch der transplantierten Niere) mit dem Gewicht des Empfängers entgegengewirkt werden (11).

Für die Behandlung mit Atorvastatin ergibt sich im Vergleich zu den Kontrollgruppen keine positive Auswirkung auf die glomeruläre Filtrationsrate, ein negativer Einfluss im Sinne einer Verminderung der Filtration wie etwa bei dem Vergleich der Serum-Harnstoffwerte ist ebenfalls nicht erkennbar. Cianciaruso et al. kommen bei transplantierten Patienten zu ähnlichen Ergebnissen: Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz bringt die Gabe von Atorvastatin zwar eine signifikante Verringerung des Gesamtcholesterinspiegels, ein positiver Effekt auf die glomeruläre Filtration, den renalen Plasmafluß oder den arteriellen Blutdruck kann nicht verzeichnet werden (36). In einer von Bianchi et al. durchgeführten Untersuchung (28) zeigt sich bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz nach einjähriger Behandlung mit Atorvastatin neben einer signifikanten Verminderung der Blutcholesterin- und LDL-Spiegel eine nicht signifikante, allenfalls leichte Verminderung der Kreatinin-Clearance gegenüber einer signifikanten Verminderung der Clearance bei der Kontroll-Gruppe ohne Atorvastatin-Medikation (28). Bianchi et al. (28) sehen aufgrund der Ergebnisse der Arbeiten von Maschio et al. (36), Samuelsen et al. (38), Krolewski et al. (39), Ravid et al. (40) und Yang et al.

(41) einen Zusammenhang zwischen erhöhten Blutfettwerten und der Progression einer Nierenerkrankung.

In unserer Versuchsanordnung werden eventuelle Auswirkungen auf die tubuläre Funktion durch die Bestimmung der Kreatinin-Clearance nicht erfasst.

4.6 Proteinurie

Während der ersten drei Monate scheint Atorvastatin einen positiven progressionsverzögernden Effekt auf das Transplantat auszuüben, dieser Befund ist vor allem aber zwei Monate nach Transplantation mit einem signifikanten Unterschied zu den Kontrollgruppen feststellbar. Dieser Befund ist vier Monate nach Transplantation allerdings nicht mehr nachweisbar. Bemerkenswerterweise weist die höhere Proteinurie in der Atorvastatin-Gruppe zu diesem Zeitpunkt sogar auf einen größeren Schaden des glomerulären Filters hin und damit auch auf eine zunehmende Verschlechterung der Nierenfunktion im Langzeitverlauf. Bianchi et al. stellen bei ihrer Untersuchung von 56 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz einen günstigen Effekt von Atorvastatin auf Proteinurie und Progression der Niereninsuffizienz mit deutlicher Reduktion der Eiweiß-Ausscheidung (neben einer effektiven Senkung des Gesamt- und des LDL-Cholesterins) fest (28); ähnliche Befunde haben Lee et al. erhoben: Bei Patienten mit gut eingestellter Hypertonie ist nach sechsmonatiger Pravastatin-Gabe die Proteinurie um 54% gesunken, wobei sich keine Korrelation zwischen den Veränderungen des Lipidstoffwechsels und der verminderten Proteinurie nachweisen lässt (42). Dieser Befund lässt den Schluss zu, dass der Proteinurie-verniedernde protektive Mechanismus nicht unbedingt mit dem, den Fettstoffwechsel beeinflussenden Mechanismus in Zusammenhang steht (42).

Keinen positiven Effekt der HMG-CoA-Reduktase-Inhibition auf die Eiweiß-Ausscheidung haben Cianciaruso et al. in ihrer Untersuchung an neun Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, welche sich einer vierwöchigen Medikation mit Atorvastatin unterzogen hatten, festgestellt; ebenso ist aus dieser Untersuchung keine Verbesserung der Nierenfunktion und der Endothelfunktion im Sinne eines protektiven Effektes erkennbar (36). Asberg und Mitarbeiter berichten über eine Verbesserung der Endothelfunktion mit konsekutiver Erhöhung der Plasma-NO-Spiegel und nehmen - wie andere Autoren auch (43, 44, 45) - deshalb an, dass die Behandlung Nierentransplantierte Patienten mit niedrig dosiertem Atorvastatin einer vorzeitigen Atherosklerose entgegenwirkt (13).

Vasquez-Perez et al. berichten ebenfalls über eine protektive Wirkung von Atorvastatin auf die renale Glomerulosklerose und endotheliale Dysfunktion bei Kaninchen mit erhöhten Cholesterin-Blut-Spiegeln (46). Sie finden eine verringerte glomeruläre Hypertrophie sowie weniger morphologische Veränderungen der Glomeruli durch die Hypercholesterinämie. Mit diesen Befunden stimmen auch die Ergebnisse der Studien von Rubin et al. (47), Wheeler et al. (48) und Oda et al. (49) überein.

4.7. Weitere Effekte der Statine

Neben diesen bereits aufgeführten Befunden einer inhibitorischen Wirkung auf die Expression von MHC II-Molekülen (Kwak et al. (24), Palinski et al. (50), Mach (51)) berichten Palinski und Mitarbeiter außerdem über einen weiteren immunsuppressiven Effekt (49), nämlich der selektiven Blockierung des „Leukozyten-Funktion-Antigens-1“ (LFA1) oder des CD11a/CD18-Moleküls, das auf der Zelloberfläche von Leukozyten exprimiert wird und nach Aktivierung an das „Interzelluläre Adhäsions-Molekül 1“ (ICAM1) bindet. Neben dieser Bedeutung für Leukozyten-Adhäsion ist LFA1 auch ein Kostim-

mulator von T-Lymphozyten. Statine binden an LFA1 und verhindern so eine LFA1-vermittelte Adhäsion und Stimulation von Leukozyten (24, 50, 51, 52). Palinski et al. sehen einen Zusammenhang zwischen diesen Hemmeffekten der Statine und der chronischen Rejektion sowie einer verminderten Transplantat-Atherosklerose (50) ebenso wie andere Autoren auch aufgrund ihrer Untersuchungsergebnisse an herztransplantierten Ratten (53) und lebertransplantierten Ratten (54).

Laufs et al. berichten über eine Verbesserung der Endothel-Funktion verbunden mit der Förderung der endothelialen NO-Produktion sowie über eine Inhibierung der Proliferation von glatten Muskelzellen durch HMG-CoA-Reduktase-Hemmer. Als Folge der gesteigerten NO-Bildung werden eine arterielle Vasodilatation und eine verminderte Atherosklerose-Neigung genannt (55).

Abschließend ist festzustellen, dass einige klinische und experimentelle Untersuchungen die Hypothese stützen, dass die Hyperlipidämie eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Transplantat-Atherosklerose spielt. Obwohl Lipidveränderungen bei Nierentransplantierten durch eine begleitende Niereninsuffizienz und/oder eine Proteinurie hervorgerufen werden, finden sich vergleichbare atherosklerotische Befunde bei herztransplantierten Patienten mit chronischer Abstoßungsreaktion, aber ohne begleitende Nierenveränderungen. Es ist allerdings zu vermuten, dass die Intensität der Transplantat-Gefäßschädigung durch immunologische Faktoren die Auswirkungen konventioneller Risikofaktoren wie die der Hyperlipidämie überlagert und verdeckt, zumal es längere Zeit, evtl. bis zu mehreren Jahren, dauert, bis diese atherogenen Effekte der Hyperlipidämie klinisch sichtbar werden. In diesem Sinn schließt die vorliegende Untersuchung keineswegs aus, dass dieser Risikofaktor langfristig doch eine erhebliche Rolle bei der chronischen Abstoßungsreaktion spielt.

.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss eines HMG-CoA-Synthase-Hemmers (Atorvastatin) auf die Nierenfunktion bei nierentransplantierten Ratten untersucht und der Frage nachgegangen, ob sich mit dieser Substanz die Entwicklung der chronischen Transplantat-Nephropathie hemmen lässt. Während sich inzwischen eine Verminderung akuter Abstoßungsreaktionen durch Behandlung mit Statinen durch klinische Studien bisher nicht hat belegen lassen, fand sich tierexperimentell ebenfalls keine signifikante, allenfalls eine tendenzielle Verbesserung der Nierenfunktion nach Transplantation im Langzeitverlauf.

Die anfangs höheren Urinvolumina sind nicht als Indiz einer besseren Nierenfunktion verwertbar, zumal ihre Werte bis zum Versuchsende bis auf das Niveau der Kontrollgruppen absinken.

Auch die Kreatinin-Clearance zeigt ebenfalls keine signifikant bessere Ergebnisse für die mit Statin behandelte Gruppe.

Dagegen zeigt das Serum-Kreatinin niedrigere Werte bei den Statin-behandelten Tieren, jedoch ohne Signifikanz.

Die Serum-Harnstoff-Werte der mit Atorvastatin behandelten Tiere sind höher als die der Kontrollgruppen, sodass auf keine günstige Auswirkung durch die Gabe von Atorvastatin geschlossen werden kann. Die Werte der Proteinurie weisen zunächst einen positiven Effekt auf, der sich zu Versuchsende in einen eher negativen Einfluss durch Atorvastatin-Behandlung umkehrt.

Ein signifikant niedrigeres Gewicht der mit Atorvastatin behandelten Tiere hat für die Fragestellung nur untergeordnete Bedeutung.

Auch unter Berücksichtigung der kontroversen Ergebnisse vieler klinischer Untersuchungen über den Einfluss von CSE-Hemmern auf die Transplantat-

funktion hat auch diese tierexperimentelle Studie keine günstige Wirkung des Atorvastatin auf die chronische Transplantatnephropathie nachgewiesen. Offenbar scheint sich nur die effiziente Senkung von erhöhten LDL-Cholesterin-Spiegeln belegen zu lassen und sich bei der Therapie der Hyperlipidämie nach Nierentransplantation zu bewähren.

Trotz der deutlichen Verbesserung der Kurzzeitergebnisse nach Organtransplantation durch die Entwicklung neuer Immunsuppressiva bleibt die chronische Transplantat-Abstoßung immer noch ein nicht beherrschbares Problem.

Eine Verbesserung der immunsuppressiven Möglichkeiten durch neue Wirkstoffe und bessere Behandlungsoptionen der metabolischen Probleme nach Transplantation wie Diabetes mellitus und Hyperlipidämie sind für das Langzeit-Transplantatüberleben dringend wünschenswert.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Eckart W.; Geschichte der Medizin, 4. Auflage, Springer-Verlag 2001; 379-381.
- (2) Tullius S.G.; Die chronische Transplantatschädigung – Mechanismen, Risikofaktoren, Therapie; Habilitationsschrift; medizinische Fakultät der Humboldt-Universität Berlin, 2000; 5-6, 23-25.
- (3) Remuzzi G., Perico N.; Protecting single-kidney allograft from long-term functional deterioration; Journal Am. Soc. Nephrology 9, 1998, 1321-1332.
- (4) L. C. Paul.; Pathogenesis of chronic allograft nephropathy; Nephrology & Hypertension 1998, 7; 635-637.
- (5) Tullius S. G.; Biologie der chronischen Abstoßung; Transplantationsmedizin 1997, 9. Jahrgg., 97-104.
- (6) Krensky A.M., Weiss, A., Crabtree, G., Davis, M., Parham, P.; T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection; New Engl. J. Medicine 322, 1990; 510 – 517.
- (7) Sayegh H.M., Turka L.A.; The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection; New England Journal of Medicine 338, 1998, 1813-1821.
- (8) Yang Y., Wilson J.M.; CD40 ligand-dependent T cell activation: requirement of B7-CD28-signaling through CD40; Science 273, 1996, 1862 – 1864.
- (9) Suthanthiran, M.; Human allograft rejection: Molecular characterization; Nephrology Dialysis Transplantation 13 Suppl. 1998, S21 – S24

(10) Ross R., Glomset J. A.; Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the growing of the lesions of atherosclerosis; *Science*, (1977); 1332-1339.

(11) Brenner B.M., Milford E.L.; Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure; *American Journal of Kidney Disease*, Vol.21, No 5, 1993, 66-72

(12) White, E., Hildeman, W.H., Mullen, Y.; Chronic kidney allograft reactions in rats; *Transpl.* 8, 1969, 602 – 609.

(13) Asberg A., Hartmann A.; Atorvastatin improves endothelial function in renal-transplant recipients; *Nephrology Dialysis Transplantation* 16 (2001); 1920-1924.

(14) Feuring M., Wahling M.; Unterschiede im Metabolismus von CSE-Hemmern, *Der Internist*, 40, 1999, 235-236.

(15) Deuber H.J., Keller F., Schwarz A.; *Nierenfunktion und Arzneimittel*, wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2001; 256-258.

(16) Alonso, DR, Storek, PK, Minick, R.; Studies on the pathogenesis of atherosclerosis induced in rabbit cardiac allografts by the synergy of graft rejection and hypercholesterolemia; *Am J. Pathol.* 87, 1977, 415 – 421.

(17) Kuwahara, M., Jacobsson, J., Kuwahara, M., Kagan, R., Ramwell, P.W., Foegh, M.L.; Coronary artery ultrastructural changes in cardiac transplant atherosclerosis in rabbit; *Transplantation* 52, 1991, 759 – 764.

(18) Fellström, B., Dimeny, E., Larsson, E., Claesson, K., Tufveson, G.; Rapidly proliferating arteriopathy in cyclosporin-induced permanently surviving

rat cardiac allografts simulating chronic vascular rejection; Clin Exp. Immunol. 80, 1990,288 – 293.

(19) Adams, D.H., Karnovsky, M.J.; Hypercholesterolemia does not exacerbate arterial intimal thickening in chronically rejecting rat cardiac allografts; Transplant. Proc. 21, 1989, 437 – 438.

(20) Mennander, A.A., Tikkanen, M.J., Räisänen-Sokolowski, A.K., Ustinov, J., Häyry ,P.; Chronic rejection in rat allografts. VI. Effect of hypercholesterolemia in allograft atherosclerosis; J. Heart Lung Transplant 12, 1993, 123 – 129.

(21) Räisänen-Sokolowski, A.K., Tilly-Kiesi, M., Ustinov, J., Mennander,A., Paavonen, T., Tikkanen, M.J., Häyry, P.; Hyperlipidemia accelerates allograft arteriosclerosis (chronic rejection) in the rat; Arterioscler. Thromb. 14, 1994, 2032 – 2038.

(22) Dimeny, E., Fellström, B., Larsson, E., Tufveson, G., Lithell, H.: Chronic vascular rejection and hyperlipoproteinemia in renal transplant patients; Clin. Transplant. 7, 1993, 482 – 489.

(23) Guijarro C. et al.; Clinical correlation between renal allograft failure and hyperlipidemia, Kidney international, 48, 52, 1995, 56-59.

(24) Kwak et al.; Statins as a newly recognized type of immunomodulator; Nature medicine,Vol. 6, 12/2000; 1399-1400.

(25) Krause, B. R., Newton, R. S.; Lipid-lowering activity of atorvastatin and lovastatin in rodent species: triglyceride-lowering in rats correlates with efficacy in LDL animal models: Atherosclerosis 1995,117, 237 – 244.

(26) Forth W., Henschler D., Rummel W.; Pharmakologie und Toxikologie, 7. Auflage, Spektrum Verlag 1996; 557-559.

(27) Fülgraff G., Palm D.; Pharmakotherapie, 10. Auflage, Gustav Fischer Verlag 1997, 289-293.

(28) Bianchi S., Bigazzi R.; A controlled, prospective Study of the effects of Atorvastatin on Proteinuria and Progression of Kidney Disease; American Journal of Kidney Diseases, Vol 41, No 3 (march),2003, 565-570.

(29) Demetriou D. Shabpar A.; Beneficial effects of Atorvastatin in the treatment of hyperlipidemia after renal transplantation; Wiener Klinische Wochenschrift (2000), 212/8, 358.361.

(30) Renders L., Mayer-Kadner I.; Efficacy and drug interactions of the new HMG-CoA reductase inhibitors cerivastatin and atorvastatin in CsA-treated renal transplant recipients; Nephrology Dialysis Transplantation (2001), 16, 141-146.

(31) Christians U., Jacobsen W.; Metabolism and drug interaction of HMG-CoA-Reductase-Inhibitors in transplant patients: are statins mechanistically similar?; Pharmacological Therapy 1998, 80; 1-34.

(32) Trimarchi H.M., Brennan S.; Effects of Statins in kidney transplantation; Medicina 2000, 60, 457-465.

(33) Alvarez M.L., Errasti P.; Effect of atorvastatin of the treatment of hypercholesterolemia after renal transplantation; Clin. Nephrology 15: 309-313.

(34) Jones P.; Kafonek S.; Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia; AM J. Cardiology 81: 582-587.

- (35) Sola R., Paredes D.; Glomerular hyperfiltration, intrarenal hemodynamics, and chronic allograft nephropathy: physiopathology of chronic allograft nephropathy; *Transplantation Proceedings* (2002), 34, 340-342.
- (36) Cianciaruso B., Torraca S.; Effects of atorvastatin on renal function in patients with chronic renal failure; *Nephrology Dialysis Transplantation* 17 (2002); 1858.
- (37) Maschio G., Oldrizzi L.; Serum lipids in patients with chronic renal failure in long term protein restricted diets; *Am. J. Med.* 1989; 87: 51N-54N.
- (38) Samuelsson O., Aurell M.; Apolipoprotein-B-containing lipoproteins and the progression of renal insufficiency ; *Nephron* 1993; 63: 279-285.
- (39) Krolewski A. S., Warram J. H.; Hypercholesterolemia a determinant of renal function loss and deaths in IDDM patients with nephropathie; *Kidney Int.* 1994; 45: 125-131.
- (40) Ravid R., Brosh D.; Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure and hyperglycemia; *Arch. Intern. Med.* 1998; 158: 998-1004.
- (41) Yang W. Q., Song N.G.; Serum lipid concentrations correlate with the progression of chronic renal failure; *Clin. Lab. Sci.* 1999; 12: 104-108.
- (42) Lee T.M., Su S.F.; Effect of pravastatin on proteinuria in patients with well-controlled hypertension; *Hypertension* 40 (2002); 40-67.
- (43) O' Driscoll G., Green D.; Simvastatin – an HMG-Coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month; *Circulation* 1997; 95: pp 1126-1131.

- (44) Williams J.K., Sukhova G.K.; Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys; *J. Am. Col. Cardiology* 1998; 31; 684-691.
- (45) Järvisalo M.J., Toikka J.O.; HMG-CoA reductase inhibitors are related to improved systemic endothelial function in coronary artery disease; *Atherosclerosis* 1999; 147: 237-242.
- (46) Vazquez-Perez S., Aragoncillo P.; Atorvastatin prevents glomerulosclerosis and renal endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits; *Nephrol.- Dial.- Transplant* 2001; 16: pp40-44.
- (47) Rubin R., Silbiger S.; Combined antihypertensive and lipid-lowering therapy in experimental glomerulonephritis; *Hypertension* 1994; 23: 92-95
- (48) Wheeler D.C.; Are there potential non-lipid-lowering uses of statins?; *Drugs* 1998; 56: 517-522.
- (49) Oda H., Keane W.F.; Recent advances in statins and the kidney; *Kidney Int.* 1999; 71: S2-S5.
- (50) Palinski W., Tsimias S.; Immunomodulatory effects of statins: mechanisms and potential impact on Arteriosclerosis; *Journal of the American Society of Nephrology* (2002), 13, 1673-1681
- (51) Mach F.; Statins as immunomodulators; *Transplant Immunology* (2002) 9, 197-200.
- (52) Weitz-Schmidt G., Welzenbach K.; Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site; *Nature Medicine* (2001) 7, 687-692.

(53) Lefer A.M., Campbell B.; Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts; *Circulation* (1999) 100; 178-184.

(54) Kakkis J.L., Ke B.; Pravastatin increases survival and inhibits natural killer cell enhancement factor in liver transplanted rats; *J Surgery Res.* (1997); 393-397.

(55) Laufs U., Liao J.K.; Direct vascular effects of HMG-CoA-Reduktase-Inhibitors; *Trends of cardiovascular medicine* (2000) 10; 143-148.

Danksagung

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

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

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

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

Meinem Kollegen Herrn Dominic Brookman-Amisshah danke ich für die gute Zusammenarbeit und für die Unterstützung 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 Marita Bartrow und Frau Elke Baumeister.

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

Lebenslauf

Name:	Bernhard Flörchinger
Adresse:	Winklergasse 10 93047 Regensburg
Telefon:	0941/9467093
E-mail:	b.floerchinger@gmx.net
Geburtsdatum:	09. Juni 1975
Geburtsort:	Essen
Konfession:	katholisch
Familienstand:	ledig

Schul Ausbildung

1981 - 1985	Grundschule Aunkirchen
1985 - 1994	Gymnasium Leopoldinum Passau
Juni 1994	Abitur

Wehrdienst

Juli 1994 – Juni 1995	Grundwehrdienst Bayerwald-Kaserne Regen
-----------------------	--------------------------------------------

Hochschulausbildung

November 1995 – September 1997	vorklinischer Studienabschnitt an der Universität Regensburg
September 1997	Physikum
November 1997 - März 2001	klinischer Studienabschnitt an der Uni- versität Würzburg
März 1999	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prü- fung
April 2001 - März 2002	Praktisches Jahr

Mai 2002

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Ärztliche Tätigkeit

Juli 2002-Dezember 2003

Tätigkeit als Arzt im Praktikum an der Klinik für Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie der Universität Regensburg

Seit 01. Januar 2004

Tätigkeit als wissenschaftlicher Assistent an der Klinik für Herz-, Thorax- und herznahe Gefäßchirurgie der Universität Regensburg