

Frank Hauptmann

Dr. med. dent.

Morphologische Untersuchungen zur Charakterisierung des renalen Phänotyps von Apolipoprotein (E) Knockout Mäusen vor und nach Induktion einer Niereninsuffizienz

Geboren am 20.10.1971 in Ludwigshafen

Reifeprüfung am 31.05.1991 in Ludwigshafen

Studiengang der Fachrichtung Zahnmedizin vom WS 1992 bis SS 1998

Physikum am 05.10.1995 an der Universität Heidelberg

Staatsexamen am 28.07.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach : Pathologie

Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. K. Amann

Verschiedene Formen von primären und sekundären Dyslipoproteinämien im Organismus stehen in Verdacht die Progression renaler Strukturschäden zu verstärken. Im Gegensatz dazu erwartet man, mit einer Umkehrung der Hyperlipidämie im Stoffwechsel das Fortschreiten der Nierenparenchymdestruktion verhindern zu können. Der transgene Apolipoprotein (E) Knockout (KO) an Mäusen ist hierbei ein ideales Tiermodell zur Erzeugung einer Dyslipidämie mit einhergehender Progression der Athero- und Glomerulosklerose. Für eine möglichst effiziente Steigerung der Progression glomerulärer und tubulointerstitieller Gewebeschädigungen erfolgt in unserer Studie eine Kombination des transgenen Apo (E) KO mit einer subtotalen Nephrektomie der Mäusenieren. Zum Einsatz kommen dabei C57-Black-6-Mäuse vom Jackson Stamm mit einem transgenen Apo (E) KO. Dieses transgene Tiermodell einer Dyslipoproteinämie wird im Experiment genutzt, um die mögliche nephrotoxische Wirkung des Apo (E) KO auf den Tierorganismus zu untersuchen. Die Fragestellung wird in Form von zwei Versuchen überprüft.

Der Aufbau unserer Studie gliedert sich in ein Pilot- und Hauptexperiment. Im 12-wöchigen Pilotexperiment werden 8 Apo (E) KO Mäuse unter standardisierten Laborbedingungen uninephrektomiert (UNX). 8 weitere scheinoperierte Tiere (SHAM Apo (E) KO) dienen als Kontrollgruppe. Ziel der Pilotstudie ist es, die renalen und arteriellen Strukturänderungen zu verifizieren und die Versuchsparemeter der Hauptstudie endgültig festzulegen.

Im Hauptversuch werden die männlichen, transgenen Apo (E) KO – und Kontrollmäuse scheinoperiert (SHAM), uninephrektomiert (UNX) und subtotal nephrektomiert (SNX) und anschließend in jeweils 3 Apo (E) KO und 3 Kontrollgruppen (Wildtyp) eingeteilt. Die Nahrungsaufnahme wird mittels Paarfütterungsprotokoll streng überwacht. Nach 12 Wochen erfolgt eine Perfusionsfixation mit abschließender Analyse nach quantitativen histologischen Methoden. Dabei werden die glomerulusgeometrischen Daten, die spezifischen Tierparameter, die klinische Blutchemie, Blutdruck und Herzfrequenz erfaßt. Die glomerulären Veränderungen sind anhand des GSI-Index, den tubulointerstiellen Veränderungen und den reno-vaskulären Schäden beurteilbar.

Infolge des Apo (E) KO und der operativen Nephrektomie sind bei den SHAM Apo (E) KO Mäusen im Vergleich mit den Kontrolltieren die Cholesterinserumwerte ($73,3 \pm 13,3$ mg/dl vs $675 \pm 85,6$ mg/dl), die Triglyceride ($40,6 \pm 16,5$ mg/dl vs $76 \pm 26,3$ mg/dl) und die LDL-Konzentrationen ($3 \pm 1,41$ mg/dl vs $478 \pm 92,4$ mg/dl) signifikant erhöht. Parallel dazu steigt der mittlere arterielle Blutdruck signifikant (116 ± 4 mmHg vs 137 ± 15 mmHg) an. In der gleichen SHAM Apo (E) KO Tiergruppe wird eine signifikante Zunahme des Glomerulosklerose-Index (SHAM WT $0,57 \pm 0,07$ vs SHAM Apo (E) KO $1,05 \pm 0,14$) beobachtet, währenddessen der tubulointerstitielle Index (SHAM WT $0,04 \pm 0,02$ vs SHAM Apo (E) KO $0,06 \pm 0,04$) nahezu unverändert bleibt. Auffällig ist dabei die signifikante Steigerung des Glomerulosklerose-Index nach subtotaler Nephrektomie (SHAM WT $0,57 \pm 0,07$ vs SNX WT $1,61 \pm 0,11$). Jedoch zeigen sich keine signifikanten Differenzen bezüglich der glomerulären Sklerose infolge des Apo (E) KO (SNX WT $1,61 \pm 0,11$ vs SNX APO (E) KO $1,75 \pm 0,16$). Ebenfalls mit einer signifikanten Hyperplasie der Gefäßmedia reagieren die Nierengefäße auf die operative Nephrektomie (SHAM WT $6,69 \pm 0,58$ μm vs SNX WT $7,47 \pm 0,05$ μm). Das Nierenparenchym zeigt uns erwartungsgemäß eine signifikante Glomerulusreduktion (SHAM WT 9576 ± 1089 vs SNX WT 3588 ± 1008) als Folge der Nephrektomie und reagiert mit einer signifikanten Zunahme des mittleren glomerulären Volumens (SHAM WT $0,74 \pm 0,09$ $10^6 \mu\text{m}^3$ vs SNX WT $1,33 \pm 0,23$ $10^6 \mu\text{m}^3$). Das finale Körpergewicht (25 ± 2 gr) innerhalb der gesamten Mäusepopulation stellt sich als homogen verteilt dar ohne signifikante Abweichungen. Währenddessen schwankt die Serum-Kreatinin- und Harnstoffkonzentration, sowie die Herzfrequenz in einem sehr geringen, therapeutisch und meßtechnisch, unbedeutenden Maße.

Die Interpretation der gewonnenen Daten lassen nun folgende Rückschlüsse zu. Aufgrund der signifikanten Hyperlipidämie im Mäusestoffwechsel kann gezeigt werden, daß der Apo (E) KO in Kombination mit der operativen Nephrektomie ein sehr effizientes Tiermodell zur experimentellen Erzeugung einer sekundären Dyslipoproteinämie darstellt. Unerwarteterweise findet jedoch in diesem transgenen Versuchsmodell trotz diskreter Glomerulosklerose-Progression und erhöhtem mittleren arteriellen Blutdruck keine Progression der renalen Schädigung statt. Der vermutete nephrotoxische Effekt des Apo (E) KO kann damit nicht bestätigt werden. Vielmehr kann die eingetretene Glomerulosklerosezunahme auf den systemischen Blutdruckanstieg zurückgeführt werden. Desweiteren führt der Apo (E) KO zu einem Anstieg der tubulointerstitiellen Entzündungsreaktionen, gleichwohl diese fibrolytischen und atrophischen Zellveränderungen sehr moderat ausfallen. Die Studienergebnisse führen zu der Annahme, daß noch weitere nicht identifizierte nephroprotektive Faktoren im Organismus existieren müssen, welche einen direkten Einfluß auf die Progression der Niereninsuffizienz besitzen. Die Hypercholesterinämie, aber auch die Hypertonie spielen in der Pathogenese von renalen und kardio-vaskulären Erkrankungen eine wichtige Rolle und lassen eine enge Korrelation zur Progression der Glomerulosklerose vermuten.