

10 Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation behandelt die Untersuchung der Effekte von 5-Aminosalicylsäure, Prednisolon und einer immunmodulierenden Therapie mit Subreum[®] auf die Stickstoffmonoxid-Synthese in Abhängigkeit von der Krankheitsaktivität bei Ratten mit Adjuvansarthritis.

In der ersten Studie wird das Medikament Subreum[®] der *Fa. Tosse* in differierenden Dosierungen und Zeiträumen an männlichen Ratten mit Adjuvansarthritis im Vergleich zu einer placebobehandelten Kontrollgruppe getestet. Bei Subreum[®] handelt es sich um einen lyophilisierten Extrakt aus bestimmten *E. coli*-Stämmen mit immunaktiven Peptidanteilen.

Die Studie hat folgendes Design: Der Tag an dem die Adjuvansarthritis induziert wird, ist per definitionem Tag 0. Jede Rattengruppe wird 24 Tage lang untersucht. Der Behandlungsbeginn wird auf den Tag 13 gelegt, da an diesem Tag bei allen Versuchstieren eine ausgeprägte Polyarthritis zu erwarten ist. Die Therapie wird bis zum Tag 23 fortgeführt. Ab Tag 7 wird die Entwicklung der Krankheitsaktivität in festgelegten Intervallen anhand der Parameter Pfortenvolumen, Arthritiscore, körperliche Entwicklung, Nahrungsaufnahme und Nitrat Ausscheidung dokumentiert. Eine Ausnahme bildet eine Gruppe mit einem früheren Therapiebeginn ab Tag 3. Bei diesem Kollektiv beginnt die Dokumentation der Arthritisentwicklung entsprechend am 3. Tag. Die späteren Untersuchungstermine orientieren sich an den Schemata der übrigen Gruppen. Zur Parametererhebung werden die Tiere 24 Stunden vor Versuchsbeginn zur Akklimation in spezielle Stoffwechsellkäfige umgesetzt. Während der Versuchsperioden erhalten die Tiere Futter und Wasser ad libitum. Die durchzuführenden Messungen werden als Doppelbestimmungen vorgenommen.

Die Messung des Pfortenvolumens erfolgt mittels eines Plethysmographen über die Wasserverdrängung. Die Bestimmung des Arthritiscores wird nach einem Punktesystem durchgeführt, das an den humanen Rheumaindex angelehnt ist.

Die Nitratbestimmung im 24-h-Urin erfolgt nach einer gaschromatographisch-massenspektrometrischen Methode.

Die Arzneimitteldosis wird täglich kollektivweise berechnet; das Medikament wird per os über eine Schlundsonde appliziert. Am Tag 24 werden die Versuchstiere dekapitiert und das Blut zur nachfolgenden Untersuchung aufgefangen. Abschließend erfolgen die Sektion, die Milzentnahme zur Bestimmung der Milztrockengewichte und die Gelenkpräparation zur Bestimmung des Nitratgehaltes der Gelenkhomogenate.

Als Ergebnis kann festgehalten werden, daß eine Tagesdosis von 40mg/kgKGW einen positiven Effekt auf die Krankheitsaktivität bei Ratten mit Adjuvansarthritis ausübt. Dieser Effekt wird durch einen frühen Behandlungsbeginn verstärkt. Eine höhere Dosierung (400mg/kgKGW) bewirkt nur eine geringe Verbesserung bei den erhobenen Parametern. Bei einer Medikation mit 4mg/kgKGW zeigen die Ratten eine geringgradig höhere Krankheitsaktivität im Vergleich zum placebobehandelten Kontrollkollektiv.

In der zweiten Studie erfolgt die Testung von 5-Aminosalicylsäure. In Bezug auf die Wirksamkeit und den Wirkmechanismus soll geklärt werden, ob eine direkte Verbindung zur Nitratausscheidung besteht.

Zur Studie gehören 3 Rattenkollektive mit jeweils 12 Tieren. Die 5-ASA-Gruppe wird gegenüber einem gesunden Kollektiv, sowie gegenüber einer Gruppe unter Prednisolon-Therapie getestet. Da das Studiendesign im zeitlichen Ablauf, der Parametererhebung und der Behandlungsphase der ersten Studie entspricht, werden die Daten des placebobehandelten Kontrollkollektivs der ersten Studie übernommen, um unnötige Tierversuche zu vermeiden.

Die mit 5-ASA behandelte Gruppe zeigt eine eindeutige Abnahme der Krankheitsaktivität, die der Gruppe unter Glukokortikoidtherapie gleicht. Bei beiden Gruppen ist die Urinnitratausscheidung gegenüber der Kontrollgruppe deutlich vermindert. Dies deutet als Wirkmechanismus auf eine Inhibition der induzierbaren NOS hin.

11 Summary

Robert Alz

A study about the effect of 5-aminosalicylic acid, prednisolone and Subreum® on nitric oxide synthesis in dependence to the disease activity in rats with adjuvant arthritis.

In the first trial we tested Subreum®, a lyophilised extract of *Escherichia coli*. It is an orally active immunomodulatory compound which has been shown to suppress adjuvant arthritis in rats and to improve the clinical parameters of rheumatoid arthritis without serious side effects.

To induce the tolerance we treated the rats 13 days after arthritis induction for 10 days. We treated 3 groups, each group at a different dose (4mg/kg; 40mg/kg and 400mg/kg). At a fourth group (40mg/kg) we started treatment at day 3 for 20 days. The control animals received a placebo-treatment.

Paw volume and arthritisscore were measured at days 7-10, 14/15, 19/20 and 23/24. At the same days we assessed the body weight, the food and the water intake. The 24h-urine-samples were collected in metabolism cages at day 9, 15, 20 and 24. Urinary nitrate was determined by a gaschromatographic/mass spectrometric method.

The group treated since day 3 showed a statistically significant reduction of the arthritic index and a decrease of body weight in comparison to the control animals and to the low dose treated group. There were no correlations between disease activity and endogenous NO synthesis.

In the second study we compared the effect of 5-ASA, a compound of sulphasalazine, with a prednisolone-treated group and a placebo-treated control group. The exact mechanism of action of 5-ASA in RA remains unknown, but one possibility was that it modulates the endogenous nitric oxide formation. To test this theory we have used the model explained above, with the start of treatment at day 13 after induction of the adjuvant arthritis. In

comparison to the control group the treated groups showed a significant reduction in the arthritic score and the paw swelling and a significant decrease of the body weight. There were no significant differences between the effects of 5-ASA and prednisolone on any of the study parameters. The treated groups showed also a significant reduction in urine nitrate excretion. Our data suggest, that the antiinflammatory effects of 5-ASA in adjuvant arthritic rats are in part due to its suppression of enhanced NO synthesis.