

Judith Reinhardt-Klötzke

Dr. med.

Die Bedeutung des ‚Signal Transducer and Activator of Transcription 3‘ im Tiermodell der obstruktiven Uropathie sowie im Zellmodell nach mechanischer Dehnung.

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Dr. med., apl. Prof. Franz Schäfer

Konatale obstruktive Uropathien sind die häufigste Ursache für chronisch terminale Niereninsuffizienz im Kindesalter. Bisher fehlen frühzeitige Therapiekonzepte um die progrediente Verschlechterung der Niereninsuffizienz zu verhindern. Für die Entwicklung medikamentöser Therapieansätze ist es von großer Bedeutung die zugrunde liegenden pathophysiologischen Veränderungen genau zu kennen. Diese sind durch eine zytokinvermittelte Entzündungsreaktion und die Entwicklung interstitieller Fibrose gekennzeichnet. Dabei vermittelt der ‚Signal Transducer and Activator of Transcription 3‘ (STAT3) die Zellantwort von Zytokinen und ist an der Entwicklung interstitieller Fibrose beteiligt. Ein Mechanismus bei der Entstehung interstitieller Fibrose ist die Umwandlung von renalen Tubuluszellen in Myofibroblasten. Merkmale dieser epithelialen Myofibroblasten Transition (EMT) sind der tubuläre Verlust von E-Cadherin, der Nachweis von Vimentin und α -SMA im renalen Interstitium.

Wir untersuchten die Expression von STAT 3 und verschiedener EMT- und Fibrosemarker sowohl in vivo im neonatalen Tiermodell der obstruktiven Uropathie als auch in vitro in proximalen Tubuluszellen nach biomechanischer Dehnung.

Dazu wurde bei neugeborenen Mäusen am 2. Lebenstag entweder eine unilaterale Ureterligatur (UUO) oder eine Schein-Operation durchgeführt. Postoperativ wurden die Nieren am 3., 7. oder 14. Lebenstag entnommen und die Expression von STAT 3 und verschiedenen Fibrosemarkern gemessen.

Es zeigte sich, dass die unilaterale Ureterligatur in der neonatalen Mausniere STAT 3 aktiviert. Diese Aktivierung war sowohl in tubulären als auch in interstitiellen Zellen der Niere nachweisbar und erreichte ihr Maximum am dritten Lebenstag. In den scheinoperierten Nieren und den intakten kontralateralen Nieren konnte keine signifikante STAT 3-Aktivierung gezeigt werden. Als Hinweis für die epitheliale Myofibroblasten Transition in den ureterligierten Mausnieren war der Verlust von E-Cadherin sowie eine Zunahme der mesenchymalen Marker Vimentin und α -SMA nachweisbar.

Darüber hinaus konnte die Zunahme des Fibrosemarkers TIMP-1, einem Zielgen von STAT 3, in den UUO-Nieren nachgewiesen werden. Neben STAT 3 wurden auch die Inhibitoren des STAT-Signalweges durch die unilaterale Ureterligatur induziert.

Parallel zum in vivo Modell wurden als in vitro Modell der obstruktiven Uropathie proximale Tubuluszellen (PKSV-PR) auf flexiblen kollagenbeschichteten Membranen kultiviert und in einer Flexercell-Strain-Unit (FX-3000) dynamisch gedehnt. Die Elongation der Zellen betrug dabei 10% bis 20%, die Dauer der biomechanischen Dehnung 30 min bis 6h. Auch in diesem in vitro Modell der obstruktiven Uropathie wurde die Aktivierung von STAT 3 und verschiedenener Fibrosemarker in gedehnten Tubuluszellen untersucht. Zusätzlich wurde die tubuläre Apoptose mittels TUNEL-Assay nach biomechanischer Dehnung gemessen.

In vitro bewirkte die biomechanische Stimulation eine signifikante STAT3-Aktivierung in proximalen Tubuluszellen der Maus mit Maximum nach 2h bis 6h Dehnung. Als Marker der EMT waren in vitro sowohl die Abnahme von E-Cadherin als auch die verstärkte Expression von Vimentin in Tubuluszellen nachweisbar. Auch TIMP-1 wurde nach Dehnung vermehrt exprimiert. Parallel zum Tiermodell der obstruktiven Uropathie, bei

dem es zu einer Zunahme tubulärer und interstitieller Apoptose kam, führte die biomechanische Dehnung zur Zunahme der Apoptose.

Zusammenfassend induziert die unilaterale Ureterligatur - als Modell für konnatale obstruktive Uropathien - sowohl eine STAT 3-Aktivierung als auch die Umwandlung epithelialer Tubuluszellen in Myofibroblasten. Durch biomechanische Dehnung können diese Signalwege in Tubuluszellen aktiviert und molekularbiologisch analysiert werden. Der frühe Nachweis der STAT 3 Aktivierung ist somit Ausdruck einer früh einsetzenden Schädigung der sich entwickelnden Niere mit obstruktiver Uropathie. Eine Hemmung von STAT 3 stellt möglicherweise einen vielversprechenden Ansatz in der Therapie der obstruktiven Uropathie dar.