

Ingo Lehrke  
Dr. sc. hum

## **Untersuchung des renalen Endothelinsystems bei chronischer Nierenerkrankung - Retinoide als neuartiger Therapieansatz?**

Geboren am 04.07.1968 in Lemgo

Reifeprüfung am 12.06.1987 in Lemgo

Studiengang der Fachrichtung Pharmazie vom SS 1992 bis SS 1996.

1. Staatsexamen am 10.03.1994 an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster
2. Staatsexamen am 08.10.1996 an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster
3. Staatsexamen am 06.11.1997 an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. E. Ritz

Während das Endothelinsystem *in vitro* und an experimentellen Modellen chronischer Nierenerkrankungen recht gut erforscht worden ist, ist nur wenig über das menschliche Endothelinsystem bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung bekannt.

Deshalb wurde im ersten Teil dieser Arbeit die renale Expression von humanem Endothelin-1 (ET-1) und den ET-Rezeptoren A und B in Nierenbiopsien von 26 Patienten mit verschiedenen Nierenerkrankungen untersucht. In dieser Studie (Studie I) wurde die renalen mRNA-Konzentrationen mittels quantitativer RT-PCR gemessen. In einer zweiten Studie (Studie II) wurde die Proteinexpression von ET-1 und ET-R<sub>B</sub> in einer homogenen Kohorte von 16 Patienten mit IgA Nephropathie mithilfe semiquantitativer Immunhistochemie bestimmt.

Beide Studien belegen, daß das renale Endothelinsystem bei starker Proteinurie aktiviert ist. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Grad der Proteinurie und der Expression von ET-1 und ET-R<sub>B</sub>. In Studie I wurde bei Patienten mit einer Proteinurie von über 2g/24h im Vergleich zu niedrigproteinurischen Patienten und Kontrollen eine hochsignifikante Erhöhung der renalen mRNA-Konzentrationen von Prepro-ET-1 und ET-R<sub>B</sub> gemessen. Bei dem ET-R<sub>A</sub> wurden keine Veränderung der mRNA-Expression festgestellt. Die semiquantitative immunhistochemische Auswertung der Biopsien von Patienten mit IgA Nephropathie in Studie II bestätigte den Zusammenhang zwischen Proteinurie und der Expression von ET-1 und ET-R<sub>B</sub> in proximalen tubulären Epithelzellen und von ET-1 in Glomeruli.

Studie I erbrachte weiterhin einen deutlichen Hinweis darauf, daß die Einnahme von ACE-Hemmern die Aktivierung des Endothelinsystems verhindert. Patienten mit hoher Proteinurie, die zum Zeitpunkt der Biopsie ACE-Hemmer einnahmen, zeigten weder für ET-1, noch für ET-R<sub>B</sub> erhöhte mRNA-Konzentrationen. Die Endothelinexkretion chronisch Nierenkranker war unter Einnahme von ACE-Hemmern erniedrigt. Die Tatsache, daß bei Patienten, die mit ACE-Hemmer behandelt worden waren, keine erhöhte Expression von ET-1 und ET-R<sub>B</sub> vorlag, deutet auf eine Interaktion des Renin-Angiotensin- und des Endothelinsystems hin.

Mit diesen Untersuchungen konnte zum ersten Mal *in vivo* am Menschen gezeigt werden, daß das Endothelinsystem bei der Progression der chronischen Nierenerkrankung aktiviert ist. Eine starke Proteinurie wurde dabei als der mutmaßliche Induktor des Endothelins identifiziert.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen ergab sich die Frage, welche Pharmaka geeignet sind, um ein aktiviertes renales Endothelinsystem zu inhibieren.

Deshalb untersuchten wir im zweiten Teil der Arbeit einen neuartigen pharmakologischen Therapieansatz: die Behandlung einer Glomerulonephritis mit Retinoiden. Retinoide wirken stark antiproliferativ und antiinflammatorisch und supprimieren ET-1 in vitro auf transkriptioneller Ebene.

Um die Wirkung von Rezeptor-spezifischen Retinoid-Agonisten auf das renale Endothelinsystem in vivo an der Ratte zu untersuchen, wurde das Tiermodell der mesangioproliferativen Anti-Thy-1.1 Glomerulonephritis gewählt, das der humanen IgA Glomerulonephritis weitgehend entspricht und ebenfalls durch ein aktiviertes Endothelinsystem gekennzeichnet ist.

Die glomerulonephritischen Tiere wurden mit einem spezifischen Retinoid-A-Rezeptor $\alpha$ -Agonisten (Arotinoid), einem Retinoid-X-Rezeptor $\alpha$ -Agonisten (Ro 257386), dem komplexen "dissoziierenden" Retinoid BMS 453 oder Plazebo behandelt. Jedes der drei Retinoide suppressierte die glomeruläre mRNA-Expression von ET-1, ET-R<sub>A</sub> und ET-R<sub>B</sub> bei glomerulonephritischen Ratten sehr effektiv. Bei retinoidbehandelten Tieren zeigte sich deutlich weniger immunreaktives ET-1 in Glomeruli und proximalen Tubuli. Die Genexpression von AP-1 und GATA-2, Transkriptionsfaktoren die den Endothelinpromoter steuern, wurde ebenfalls gehemmt.

Aus der Suppression des Endothelinsystems durch Retinoide resultierte eine stark reduzierte glomeruläre Proliferation. Die Einwanderung von Makrophagen/Monozyten in Glomeruli wurde ebenfalls gehemmt. Anzeichen für toxische Nebenwirkungen der Retinoide waren nicht erkennbar. Die drei Substanzen waren in ihrer antiproliferativen und antiinflammatorischen Wirkung vergleichbar. Eine rezeptorspezifische Wirkung über RAR $\alpha$ - oder RXR $\alpha$  wurde nicht beobachtet. Daraus läßt sich folgern, daß beide Retinoidrezeptor-Subtypen involviert sind. Die drei Substanzen unterschieden sich bezüglich der positiven Wirkung auf Blutdruck (Ro257386>BMS 453>Arotinoid), Albuminurie (BMS453>Ro257386>Arotinoid) und Kreatininclearance (Arotinoid>BMS 453>Ro257386). Die unterschiedlich starke Beeinflussung der renalen Funktionsparameter und des Blutdrucks könnte auf rezeptorspezifische Effekte hindeuten.

Die vorliegenden Daten unterstreichen die Wirksamkeit von Retinoiden bei der mesangioproliferativen Glomerulonephritis der Ratte und belegen eindrucksvoll, daß Retinoide geeignet sind, die Aktivierung des renalen Endothelinsystems zu verhindern. Aufgrund dieser Erkenntnisse sollte ein möglicher Einsatz von Retinoiden für die Therapie humaner Nierenerkrankungen geprüft werden.