

Lena Weber  
Dr. med.

## **Vergleich der Wirkung von Everolimus und Sirolimus auf humane Podozyten *in vitro*, insbesondere auf Zytoskelett und Strukturproteine**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. V. Schwenger

Nierentransplantationen erfordern nachfolgend den Einsatz immunsuppressiver Medikamente, um immunologischen Schädigungen des transplantierten Organs entgegenzuwirken und insbesondere akute Rejektionen zu verhindern. CNI-sparende und gegebenenfalls sogar -freie Therapieschemata sind theoretisch attraktiv, da akute und chronische CNI-Nephrotoxizität vermieden werden könnten, und somit auch das Risiko für die Entstehung einer chronischen Transplantatdysfunktion. Sinn neuer immunsuppressiver Medikamente und Konzepte ist es, eine für den Patienten sichere Reduktion und gegebenenfalls sogar den Entzug von CNIs zu ermöglichen. Zu diesen vielversprechenden Ersatzsubstanzen zählen mTOR-Inhibitoren wie Sirolimus und sein Derivat Everolimus. In der Zwischenzeit ist allerdings bekannt, dass die Behandlung mit mTOR-Inhibitoren zu einem Neuauftreten oder einer Verschlechterung einer vorbestehenden Proteinurie führen kann. Proteinurie nach Nierentransplantation ist wiederum mit einem geringeren Transplantatüberleben assoziiert. Pathomechanistisch ist ein direkt schädigender Effekt der mTOR-Inhibitoren auf Podozyten anzunehmen. Den Podozyten kommt durch die Beteiligung am Aufbau der Schlitzmembran eine Schlüsselrolle bei der Entstehung glomerulärer Proteinurien zu. Unter Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren wie z.B. renale Grunderkrankung, Transplantatschädigung oder auch CNI-Toxizität ist ein besseres Verständnis des zugrunde liegenden Pathomechanismus essentiell, um beurteilen zu können, welcher Patient von einer Therapie mit einem mTOR-Inhibitor profitieren könnte. Im Hinblick darauf war das Ziel dieser Arbeit zu analysieren, ob und wie Everolimus und Sirolimus – im Vergleich – über Hemmung der zellulären mTOR-Signalkaskade die regelrechte Funktion humaner Podozyten beeinflussen und zu einer gesteigerten Permeabilität der Schlitzmembran führen können. Hierzu wurde in der vorliegenden Arbeit zum Einen die Regulation von Proteinen der mTOR-Signalkaskade analysiert, zum Anderen die Expression podozytärer Strukturproteine sowie die Organisation des Aktinzytoskeletts untersucht. Nach Durchführung von *In-vitro*-Experimenten mit konditionell immortalisierten humanen Podozyten, die für 48 h mit Everolimus und Sirolimus in physiologischen Dosen inkubiert wurden, zeigte sich eine Inhibition der Funktion der mTOR-Komplexe, wodurch unter

anderem maßgeblich die zelluläre Proteintranslation beeinflusst werden kann. Ebenso konnte eine Reorganisation des Aktinzytoskeletts beobachtet werden, sowie eine reduzierte Expression der Aktin-assoziierten Proteine  $\alpha$ -Actinin-4 und Synaptopodin. Nephrin und Podocin, zum Proteinkomplex der Schlitzmembran gehörend, wurden ebenfalls vermindert exprimiert. Die Beeinträchtigung des molekularen Aufbaus podozytärer Fußfortsätze wirkt sich auf komplexe Weise auf die Signaltransduktion sowie auf Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte aus und stört die regelhafte Zellfunktion, wie Wundheilungsassays zeigen konnten. Diese Ergebnisse des Podozytenmodells *in vitro* erweitern das Verständnis eines möglichen Pathomechanismus des proteinurischen Effekts der beiden mTOR-Inhibitoren *in vivo*, wobei anzunehmen ist, dass dieser nicht zwingend eines renalen (glomerulären) Vorschadens bedarf. Die podozytäre Schädigung scheint unter Everolimus weniger ausgeprägt zu sein als unter Sirolimus. Diese Ergebnisse geben Anstoß, im Weiteren eine Korrelation des Effekts von Everolimus auf molekularer Ebene *in vitro* mit einem eventuell geringeren proteinurischen Effekt von Everolimus *in vivo* – im Vergleich zu Sirolimus – zu untersuchen. Hierzu könnten renale Biopsien von transplantierten Patienten, die Everolimus oder Sirolimus erhalten, analysiert und mit der Ausprägung ihrer Proteinurie verglichen werden. Zu berücksichtigen sind hierbei natürliche weitere Einflussfaktoren wie z.B. renale Grunderkrankung oder Transplantatvorschädigung. Möglicherweise ergibt sich hierdurch eine Implikation für einen spezifischeren klinischen Einsatz der mTOR-Inhibitoren zur Immunsuppression nach Nierentransplantation.