

Tanja Tamara Wlodkowski  
Dr. sc. hum.

## **Pharmakologische Interventionen zur Nierenfunktionserhaltung bei experimentellem nephrotischen Syndrom**

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Franz Schaefer

Das idiopathische nephrotische Syndrom ist eine seltene Nierenerkrankung, welche hauptsächlich im Kindesalter auftritt. Die Krankheit ist gekennzeichnet durch einen Verlust der glomerulären Permeabilität, der zu einer ausgeprägten Proteinurie führt. Einem Teil der Fälle von steroidresistentem nephrotischen Syndrom (SRNS) liegen monogene hereditäre Anomalien zugrunde, die zu strukturellen und funktionellen Defekten der glomerulären Podozyten führen und regelhaft zu einem progredienten Verlust der globalen Nierenfunktion führen. Das am häufigsten von Mutationen betroffene Protein ist das podozytäre Membranprotein Podocin. Die häufigste humane Mutation, R138Q, die 30% aller Podocin-Mutationen ausmacht, führt durch einen Aminosäureaustausch zu einer Fehlfaltung des Podocin-Proteins. Hierdurch wird der intrazelluläre Transport von Podocin zur Basalmembran verhindert.

Bisher existieren keine kausalen Therapien für hereditäre Formen des SRNS. Unsere Arbeitsgruppe entwickelte ein induzierbares Podocin *knock-in*-Mausmodell der R138Q Podocin-assoziierten Glomerulopathie (*Nphs2*<sup>lox2/R140Q</sup>, Cre<sup>+</sup>), dessen Phänotyp dem humanen Krankheitsbild stark ähnelt und das erstmals die Möglichkeit bietet, pharmakologische Behandlungsansätze zur Senkung der Proteinurie und zum Erhalt der Nierenfunktion *in vivo* zu testen. Die vorliegende Arbeit liefert detaillierte Erkenntnisse zu den Effekten und Wirkmechanismen von bereits empirisch eingesetzten ebenso wie von neuartigen Therapiekonzepten zur antiproteinurischen und nephroprotektiven Behandlung des Podocin-R140Q-assoziierten nephrotischen Syndroms.

Die duale Blockade des Renin-Angiotensin-Systems mittels ACE-Inhibition und AT<sub>1</sub>-Rezeptorblockade wurde im Hinblick auf ein mögliches nephroprotektives Potential bei genetisch bedingten Podozytopathien untersucht. Hierbei wurde eine frühzeitige 'prophylaktische' Therapie mit einer späteren, bei bereits histologisch fixierten Läsionen begonnenen Behandlung verglichen. Prophylaktische RAS-Blockade führte zu einer ausgeprägten und anhaltenden Senkung der Proteinurie um 85-90% bei stark verbessertem Erhalt der Podozyten und einer verlangsamten Glomerulosklerose, was mit einer verbesserten Erhaltung der Nierenfunktion und einer verlängerten Überlebenszeit der Tiere einherging. Ultrastrukturelle Analysen zeigten eine weitgehende Erhaltung der podozytären Fußfortsätze trotz fast vollständigen Verlusts an funktionsfähigem Podocin. Diese Daten geben Hinweise darauf, dass die RAS-Blockade eine Stabilisierung der podozytären Fußfortsätze bewirkt und so womöglich zum Erhalt der Podozyten beiträgt. Als Mechanismen der Podozytenstabilisierung wurden eine verminderte Apoptose und eine erhöhte Regenerationsrate immunhistologisch ausgeschlossen, so dass eine verminderte mechanische

Ablösung der Podozyten von der Basalmembran als wahrscheinlichster zellulärer Effekt der RAS-Blockade zu postulieren ist. Auch eine erst in fortgeschrittenem Krankheitsstadium begonnene Therapie zeigte noch positive Effekte auf Proteinurie, Glomerulosklerose und Podozytenzahl, war aber weniger nephroprotektiv wirksam als die prophylaktische Behandlung. Alle beobachteten Effekte waren nach Absetzen der Therapie rasch reversibel. Neben den Studien zur RAS-Blockade untersuchte ich die Wirksamkeit innovativer molekularer Therapieansätze. Die Antagonisierung des Endothelin-1A-Rezeptors, die in aktuellen klinischen Studien bei verschiedenen erworbenen Glomerulopathien einen zusätzlichen antiproteinurischen Effekt zeigte, war in unserem Modell einer genetisch verursachten Podozytopathie weitgehend unwirksam.

Die Gabe der Chaperone-Substanz 4-Phenylbutyrat unter der Vorstellung, das Trafficking von mutiertem Podocin-Protein an die Zelloberfläche zu erhöhen, führte trotz positiver *in vitro*-Vorbefunde *in vivo* weder zu einer Verminderung der Proteinurie noch zu verbessertem Podozytenerhalt.

Schließlich führte ich eine Experimentalserie mit dem Proteasom-Inhibitor Bortezomib durch, das *in vitro* die beschleunigte intrazelluläre Degradation von R140Q-Podocin wirksam hemmt. Leider erwies sich die Substanz als stark toxisch und führte zu einer Aggravation von Proteinurie und glomerulärer Sklerose.

Die Ergebnisse meiner Arbeit bieten eine experimentelle Grundlage für die systematische klinische Exploration des nephroprotektiven Potentials einer intensiven RAS-Blockade bei hereditären Podozytopathien. Auch konnten mehrere bereits für andere Indikationen zugelassene Pharmaka wegen fehlender Wirksamkeit bzw. Toxizität als klinische Therapiealternativen für die R138Q-Podocin-Glomerulopathie ausgeschlossen werden. Für zukünftige Projekte bildet die von mir entwickelte experimentelle Testbatterie ein effizientes Instrumentarium zur effizienten Prüfung neuer Kandidatensubstanzen oder gentherapeutischer Ansätze.