

6 Diskussion

Der fortschreitende Verlust der Nierenfunktion ist eine Gemeinsamkeit einer Vielzahl von chronischen Nierenerkrankungen und lässt vermuten, dass es unabhängig von der Grunderkrankung eine gemeinsame Endstrecke gibt, welche in terminalem Nierenversagen mündet. Eine Schlüsselposition nimmt dabei zum einen das pathohistologische Bild tubulointerstitieller Zellinfiltration, geprägt von Makrophagen- und Lymphozyten-Influx, zum anderen die tubulointerstitielle Matrixproteinexpansion ein. Ein autonom fortschreitender Verlust renaler Funktionen kann auch dann beobachtet werden, wenn der ursprüngliche Auslöser der Erkrankung eliminiert werden konnte. Klahr et. al. beschreiben daher die Progression chronischer Nierenerkrankungen als einen sich selbst unterhaltenden intrarenalen Mechanismus, der sich nach Erreichen eines kritischen Punktes einstellt und unwiederbringlich ist [129].

Tubulointerstitielle Inflammation und Fibrose stellen Eckpfeiler chronisch progressiver Nierenerkrankungen dar. Ziel dieser Arbeit sollte es sein, die funktionellen Zusammenhänge zwischen Zellinfiltration und Matrixproteineexpansion weiter zu charakterisieren. Dazu wurden eine anti-inflammatorische Substanz, das Immunsuppressivum MMF, eine anti-fibrotische Substanz, der ACE-Hemmer Enalapril und beide Substanzen kombiniert, Ratten in einem Modell der Anti-Thy1-induzierten chronisch-progressiven Glomerulosklerose verabreicht.

MMF entfaltet seine eigentliche Wirkung über die Blockade der IMPDH und verhindert dadurch die enzymatische Katalyse von Inosin zu Guanosin-Monophosphat (GMP). GMP ist ein essentielles Nukleosid der Purinsynthese und stellt einen wichtigen Bestandteil der Zellteilung dar. T- und B-Lymphozyten beschreiten ausschließlich den de novo-Stoffwechselweg der Purin-Synthese und sind daher besonders anfällig für die Hemmung der IMPDH [130,131]. Bei einer durch IMPDH-Mangel verursachten Reduktion der Guanosine und der von ihnen abgeleiteten Deoxyguanosine kommt es zu einer verminderten Bildung von Effektorzellen für T-Zell-vermittelte Funktionen und Antikörperproduktion [132]. Begleitend tritt eine Reduktion T-Zell-abhängiger Zytokine wie Interleukin (IL)-2 und IL-4, sowie Interferon- γ auf [133,134].

Enalapril ist eine klinisch etablierte Substanz, die allerdings nicht in der Lage ist das Fortschreiten chronischer Nierenerkrankungen zu verhindern, sondern diesen Vorgang nur verlangsamen kann. Da diese beiden therapeutischen Ansätze in ihrer pharmakologischen

Wirkweise formal mit unterschiedlichen Pathomechanismen interferieren, wurde eine weitere Gruppe mit kombinierter Therapie hinzugenommen, die eine mögliche Additivität aufzeigen sollte. Die Effekte der Therapien wurden an Parametern gemessen, die das Ausmass chronischer Nierenerkrankungen aufzeigen können. Reflektierend auf die mononukleäre Zellinfiltration wurde das Vorkommen von Subsets dieser Zellen im histologischen Präparat quantifiziert. Da sich die Progression an dem Ausmaß des fibrotischen Organumbaus manifestiert, wurden Marker der Fibrose auf verschiedenen molekularen Ebenen bestimmt. Zur Überprüfung der funktionellen Nierenkapazität wurden entsprechende Parameter im Serum und Harn untersucht. Zusammenfassend reflektiert die Gesamtheit der Untersuchungen ein gutes Korrelat bezüglich des morphologischen und funktionellen Zustandes des Niere und erlaubt somit Rückschlüsse auf die Wirksamkeit in Hinblick auf die Beeinflussbarkeit der Progression zu ziehen.

Die Grundlage dieser Arbeit stellt das Modell der Anti-Thy1-induzierten chronischen Glomerulosklerose dar. Hierzu wurde zuvor einseitig nephrektomierten Ratten mit einer einmaligen Injektion ein Antikörper gegen Thy1-Epitope verabreicht, die sich in hoher Zahl im Glomerulum der Rattenniere finden, und der hier eine Komplement-abhängige Mesangialzelllyse induziert. Ausgehend von diesem einmaligen Insult entwickelt sich ein sich selbstunterhaltender Prozess, welcher nach einem Zeitraum von ca. drei Monaten in terminalem Nierenversagen mündet. Die Niere ist dabei keinen zusätzlichen extrarenalen Mechanismen ausgesetzt, welche das Krankheitsgeschehen in seinem Verlauf beeinflussen können, wie es z.B. bei hypertensiven Modellen oder bei der diabetischen Nephropathie der Fall ist. Die Antikörperinjektion ist tatsächlich als einmaliger Insult zu werten, der nicht wiederkehrend ist. Die mittels Schwanzvenen-Injektion verabreichten Antikörper sind schon nach kürzester Zeit im Glomerulum zu finden und die Mesangialzelllyse setzt bereits nach einer Stunde post injectionem ein. In eigenen immunhistologischen Voruntersuchungen konnte ich andererseits feststellen, dass die intraglomerulären Antikörper-vermittelten Immunkomplexablagerungen nach einem Zeitraum von 48 h nicht mehr auffindbar sind. Somit stellt dieses Modell kein immunologisches Modell dar, in dem eine fortdauernde Zirkulation von Antigen-Antikörper-Komplexen auftritt.

Die zeitlich gestaffelten Umbauprozesse in der Niere sind vergleichbar mit denen, wie sie in der gemeinsamen Endstrecke vieler Nierenerkrankungen unabhängig von dem auslösenden Moment zu finden sind. Die Schädigung schreitet dabei ausgehend vom Glomerulum in den tubulointerstitiellen Raum fort. Es finden sich die klassischen Zeichen der Entzündung, sowie des fibrotischen Organumbaus in einem histologischen Präparat. In fortgeschritteneren

Stadien finden sich zunehmend untergegangene glomeruläre Strukturen und tubuläre Degeneration. Der Startpunkt der Therapie erfolgte nach vorausgegangener Nierenschädigung mit bereits vorliegender Proteinurie. Dies ist vergleichbar mit dem klinischen Alltag, da bei Patienten eine Nierenschädigung auch häufig erst nach ausgeprägter gesundheitlicher Beeinträchtigung festgestellt wird.

Das international anerkannte Modell der Anti-Thy1-induzierten chronisch-progressiven Glomerulosklerose repräsentiert die gemeinsame Endstrecke vieler chronischer Nierenerkrankungen und offeriert die einzigartige Möglichkeit intrarenale Mechanismen zu charakterisieren, welche das Fortschreiten chronischer Nierenerkrankungen beeinflussen [135, 136, 137].

Als eine zentrale Frage galt es zu klären, welche Effekte die eingesetzten Substanzen allein und in Kombiotion auf das Fortschreiten der chronischen Glomerulosklerose haben. Das Immunsuppressivum MMF entfaltete dabei seine Wirkung mit großer Wahrscheinlichkeit über dessen charakteristische Eigenschaft, das Hauptenzym der Lymphozytenproliferation, die IMPDH, zu blockieren. Im Vergleich zu den untherapierten nephrotischen Tieren zeigten dabei alle therapierten Gruppen eine deutliche Lymphozyten-Reduktion sowohl im Glomerulum als auch im Tubulointerstitium. Die Fähigkeit des ACE-Hemmers Enalapril, den Influx von Lymphozyten zu reduzieren, wird wahrscheinlich über eine Hemmung der Angiotensin II induzierten Hochregulierung chemotaktischer Zytokine, vermittelt. Es gibt bisher keine Hinweise dafür, dass Angiotensin II direkten Einfluss auf entzündungsrelevante oder immunkompetente Zellen hat, daher vermutet man, dass die dabei auftretenden Wechselwirkungen Zytokin-vermittelt sind. In der Gruppe mit kombinierter Therapie zeigten sich keine weiteren additiven Effekte im Vergleich zu den Monotherapien. Dies kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass die Steuerung dieser regulatorischen Prozesse über identische oder zumindest sehr ähnliche Mechanismen verläuft und eventuell eine Differenzierung in unterschiedliche Pathways nicht erfolgen kann.

Ein wichtiger Parameter zur Beschreibung des Ausmaßes der Progredienz renaler Erkrankungen ist die Bestimmung des profibrotischen Zytokins TGF- β . In der Niere wird TGF- β in den Glomeruli und hauptsächlich in den distalen Tubuli exprimiert. Die mRNA von TGF- β 1 konnte in epithelialen glomerulären und tubulären Zellen, Mesangialzellen und in interstitiellen Fibroblasten-ähnlichen Zellen nachgewiesen werden. Die Überexpression dieses Zytokins fand sich bei einer Vielzahl fibrotischer Erkrankungen, auch an der Niere, wie in Modellen akuter mesangioproliferativer Glomerulonephritis demonstriert werden

konnte. Die Wirkung von TGF- β wird dabei hauptsächlich durch eine Dosis-abhängige Steigerung der Matrixprotein-Synthese, bei reduzierter Matrixprotein-Degradation vermittelt. Die hier ermittelten Ergebnisse weisen sowohl auf Protein- als auch mRNA-Ebene eine deutliche Reduktion der TGF- β -Proteinexpression aller therapierten Gruppen für glomeruläres und tubulointerstitielles Gewebe im Vergleich zu den nicht-therapierten, nephritischen Tieren auf. Das Ausmaß der Reduktion bei den drei Therapiegruppen zeigte dabei im Gruppenvergleich keinen deutlichen Unterschied. Die Wirkung von MMF ist dabei sicherlich auf das anti-fibrotische Potential der Substanz zurückzuführen. Es scheint so zu sein, dass dieses Potential offensichtlich vergleichbar mit dem anti-fibrotischen Potential des Enalaprils ist. Bei den Tieren mit Kombinationstherapie kann keine Reduktion, welche über das Maß der Reduktion der Monotherapien hinausgeht, beobachtet werden. Somit kann vermutet werden, dass die Wirkweisen beider Substanzen ähnlichen Mechanismen unterliegen und somit keine ergänzenden Wirkungen erzielt werden, die zu einer weiteren Reduktion der TGF- β -Proteinexpression führen könnten.

Der Nachweis von Fibronectin und PAI-1 erfolgte zur Darstellung weiterer Parameter des fibrotischen Organumbaus auf Ebene der Strukturproteine und auf Ebene der Inhibitoren des proteindegradierenden Systems.

Im Rahmen renaler Erkrankungen kann ein vermehrtes Vorkommen von Fibronectin im Glomerulum und im peritubulären Interstitium beobachtet werden [138]. Physiologischer Weise findet sich Fibronectin im Bindegewebe, auf Zelloberflächen, im Plasma und anderen Körperflüssigkeiten [139]. Chemisch gesehen handelt es sich um ein Glycoprotein, dessen vielfältige Bindungsmöglichkeiten sich aus einer großen Anzahl von unterschiedlichen Bindungsdomänen ergeben. Es interagiert mit diversen Makromolekülen, wie Komponenten des Zytoskelettes und der ECM, zirkulierenden Komponenten des Gerinnungssystems, des fibrinolytischen Systems, Akute-Phase-Proteine und des Komplementsystems. Desweiteren kann es Bindungen mit Oberflächenrezeptoren von Fibroblasten, Neuronen, Phagozyten und Bakterien eingehen [140]. Fibronectin kann ebenfalls Bindungen mit sich selbst eingehen, wobei die Einzelheiten der Umwandlung löslichen (Plasma) Fibronectins in fibrilläre Strukturen noch nicht vollständig geklärt sind. Zusätzlich bindet Fibronectin an kleine Moleküle, wie Ganglioside, Zucker und Kalzium-Ionen [141,142].

Als Strukturprotein verfügt es über eine Vielzahl von Möglichkeiten mit Matrixkomponenten, wie den Kollagenen, Glykosaminoglykanen (GAG), Proteoglykanen und Integrinen, zu interagieren [143].

Das Matrixstrukturprotein Fibronectin wird im Zuge der glomerulosklerotischen Umbildung und der anschließenden tubulointerstitiellen Progression bei den nicht-therapierten nephritischen Kontrollen sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene hochreguliert. Dies entspricht dem zu erwartendem Ergebnis, da TGF- β zu einer Rekrutierung von Fibroblasten in das affizierte Gewebe führt und direkt eine gesteigerte Synthese von Fibronectin induzieren kann. In allen therapierten Gruppen kann eine deutliche Reduktion des Fibronectin-Vorkommens verzeichnet werden, aber auch hier ist keine weitere Reduktion in der Gruppe mit Kombinationstherapie zu erkennen.

Die Plasminogen-Aktivator-Plasmin-Kaskade spielt eine zentrale Rolle bei Vorgängen, die mit einer bestimmten Lebenszeit von Proteinen (Proteolyse) einhergehen, wie z.B. dem Auflösen von Blutgerinnseln, Gewebserneuerung und Tumorzellinvasion. PAI-1 stellt dabei den physiologisch wichtigsten Inhibitor der Plasminogen-Aktivierung dar [144], unterdrückt die Fibrinolyse und die Plasmin-vermittelte MMP-Aktivierung.

Prozesse, die mit einer erhöhten Akkumulation von extrazellulärer Matrix einhergehen, werden häufig von einer erhöhten Expression von Matrix-abbauenden Enzymen begleitet. Diese gesteigerte proteolytische Aktivität wird vermutlich benötigt, um den Umbau von normaler extrazellulärer Matrix in abnormale, bedingt durch den Einstrom inflammatorischer und fibroblastischer Zellen in das Entzündungsgebiet, zu verhindern. Als wichtigste Systeme mit proteolytischer Aktivität werden das MMP- und das Plasmin-aktivierende System (Pas) angesehen [145,146]. Beide Systeme stehen durch unterschiedliche Verknüpfungen miteinander in Verbindung. Eine Schlüsselrolle in der renalen Fibrogenese wird dabei dem Hauptinhibitor des Pas zugeschrieben, dem PAI-1. In der gesunden Niere von Mäusen, Ratten und Menschen können keine bemerkenswerten PAI-1-Spiegel ermittelt werden. Im Gefolge von unterschiedlichen Formen von Nierenerkrankungen findet man allerdings eine starke Induktion der PAI-1-Expression, die im Zusammenhang mit renaler Fibrose und terminalem Nierenversagen stehen [147]. Allerdings ist es schwierig seine spezifische Funktion zu ermitteln, da die Progression renaler Erkrankungen mit der Ausprägung einer Vielzahl an profibrotischen Signalen assoziiert ist [148].

PAI-1 ist ein 50 kDA schweres Glycoprotein und gehört zur sog. SERPIN-Familie (SERin Protease INhibitor). Unter physiologischen Bedingungen synthetisieren die Thrombozyten den größten Anteil an zirkulierendem PAI-1. Aber auch andere Zellen sind zu seiner Bildung befähigt, wie Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Hepatozyten, Fibroblasten und diverse Entzündungszellen [146]. Unter Zellkulturbedingungen konnte nachgewiesen werden, daß

auch Nierenzellen selbst PAI-1 produzieren können. PAI-1 inhibiert die tissue-type (t-PA) und urokinase-type (u-PA) Plasminogen-Aktivatoren, aber nicht Plasmin selbst, durch Ausbildung stöchiometrischer Komplexe mit den aktiven Formen der PA's. Diese Komplexe werden dann durch Endozytose aufgenommen und degradiert.

Ein weiterer potenter Stimulator der PAI-1-Synthese ist TGF- β mittels der Aktivierung von Smad3 und Smad4 [149]. Allerdings ist noch nicht endgültig geklärt, welche Auswirkungen die Beziehung von PAI-1 zu TGF- β tatsächlich auf die renale Fibrogenese hat. Zum einen sind Plasmin und in geringerem Maße auch u-PA in der Lage TGF- β durch Abspaltung von seiner latenten Form zu aktivieren. Zum anderen stimuliert TGF- β wie bereits beschrieben die Proteinsynthese, erhöht die PAI-1-Produktion und inhibiert dadurch die weitere Plasminogenierung und dadurch die TGF- β -Aktivierung. Unter diesen Umständen würde PAI-1 eine präventive Rolle bezüglich der TGF- β -Aktivierung und der Entwicklung fortschreitender Fibrose zukommen. Man vermutet allerdings, daß die Plasmin-TGF- β -Beziehung einen autolimitierten Prozess darstellt, der eine zeitlich regulierte Degradation und Synthese von extrazellulärer Matrix katalysieren soll [147].

Erstmals wurde in einem Ratten-Modell der in vivo Nachweis über den direkten Bezug von Ang II zur PAI-1-Expression über den AT1-Rezeptor erbracht [150]. Die Ang II vermittelten Effekte waren dabei blutdruckunabhängig und es wird vermutet, dass dem Ang II vermittelten PAI-1-Anstieg eine Schlüsselrolle in der Ang II induzierten Gewebeschädigung zukommt. Auch konnte der Zusammenhang zwischen dem RAS und der PAI-1-Expression in vitro demonstriert und nachgewiesen werden, dass der Hexapeptid-Metabolit von Ang II, Ang IV, eine PAI-1-Stimulation in der glatten Gefäßmuskulatur über AT4-Rezeptoren induziert. Diese Beobachtung konnte wenig später in einem Tiermodell der bovinen Aortenschädigung [151] und in einem Rattenmodell mit renalen mikrovaskulären Verletzungen [152] nachvollzogen werden. Die Arbeitsgruppe um Wayne Border [153] konnte darüber hinaus den Nachweis erbringen, dass die Ang II vermittelten Wirkungen auf PAI-1 in der Frühphase der Induktion TGF- β -unabhängig verlaufen.

Die Ergebnisse für die Bestimmung der PAI-1 Expression auf Protein- und mRNA-Ebene zeigten keine signifikanten Veränderungen der therapierten Gruppen im Vergleich zu den nicht-therapierten nephritischen Tieren, allerdings sind deutliche Reduktionen in allen therapierten Gruppen erkennbar. In der Bestimmung der glomerulären PAI-1 Protein-Expression rangieren alle Gruppen, inklusive der 2-K-, bzw. 1-K-Control-Gruppen, auf einem ähnlichen Niveau. Eine mögliche Erklärung hierfür kann darin gefunden werden, dass die

PAI-1-Aktivitäten auf glomerulärer Ebene im Zuge der Progredienz der Erkrankung bereits erschöpft sind.

Der systolische Blutdruck der therapierten Tiere lag in den für die gesunden Tiere ermittelten Bereichen. Bei dem Modell der chronischen Anti-Thy1-vermittelten Glomerulosklerose handelt es sich primär nicht um ein hypertensives Modell. Die bei den nicht-therapierten nephritischen Tieren beobachteten Blutdruckerhöhungen, sind vermutlich als das Resultat hämodynamischer Veränderungen zu werten, welche sich aus den strukturellen Verschiebungen in der glomerulären Architektur ergeben. Es gibt keine Hinweise darauf, dass MMF einen direkten Einfluss auf hämodynamische Stellgrößen hat. Die MMF-vermittelte Blutdrucksenkung ergibt sich daher vermutlich aus seinem anti-inflammatorischen Potential und der daraus resultierenden Verbesserung für die glomeruläre Integrität. Die Blutdrucknivellierung der Enalapril-therapierten Tiere erklärt sich, aus den für einen ACE-Hemmer postulierten Wirkmechanismen, welche in einer Reduktion des vasokonstriktorisches Peptids Angiotensin II resultieren. In der Tiergruppe mit gleichzeitiger Gabe von MMF und Enalapril konnte keine zusätzliche Blutdrucksenkung festgestellt werden. Allerdings lässt sich bei diesem Parameter keine Aussage zur Additivität formulieren, da in beiden Gruppen mit Monotherapie bereits Werte, die im Bereich der gesunden Kontrollen lagen, erreicht wurden. Allgemein kann für das Modell der chronisch-progressiven Anti-Thy1-induzierten Glomerulosklerose festgehalten werden, dass durch die Verhinderung von Nierenschädigung die Ausbildung eines renalen Hochdrucks ebenso verhindert werden kann.

Bei dem Versuch Gewebsinflammation und/ oder Gewebsfibrose pharmakologisch zu beeinflussen, zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass es direkte und indirekte Hinweise darauf gibt, dass tubulointerstitielle Zellinfiltration und Matrixproteinexpansion funktionell ähnlichen bzw. eng verbundenen Mechanismen unterliegen, welche die Progression renaler Erkrankungen bedingen. Indirekte Hinweise für diese Annahme ergeben sich aus dem direkten Vergleich beider Monotherapien miteinander. Es wäre zu erwarten gewesen, dass der anti-inflammatorische Therapieansatz mit MMF dem anti-fibrotischen bezüglich der Fähigkeit mononukleäre Zellinfiltration zu limitieren, überlegen sei und dass umgekehrt das anti-fibrotische Potential von Enalapril größer ist als das der anti-inflammatorischen Substanz. Die Ergebnisse zeigen aber, dass tubulointerstitielle Inflammation und tubulointerstitielle Fibrose in vergleichbar effektiver Weise in beiden monotherapierten Gruppen erzielt werden konnten, unabhängig davon ob sie mit MMF oder Enalapril behandelt wurden. Besonders hervorzuheben ist der direkte Vergleich beider

monotherapierten Gruppen mit der kombinierten anti-inflammatorischen, anti-fibrotischen Therapiegruppe. Im Falle der Kombinationstherapie wären zusätzliche nierenprotektive Effekte zu erwarten gewesen, wenn tatsächlich komplementäre Wege bezüglich Inflammation und Fibrose existieren, die in terminalem Nierenversagen münden. Tatsächlich zeigen aber die Ergebnisse keine additiven günstigen Effekte im Verlauf der chronisch-progressiven Anti-Thy1-induzierten Glomerulosklerose. Die dabei zugrundeliegenden Parameter stellen wichtige Messgrößen zur Erfassung einer chronischen Nierenerkrankung dar, wie die Bestimmung der Proteinurie, Blutdruck, tubulointerstitielle und glomeruläre TGF- β -Überexpression und Matrixproteinakkumulation, sowie mononukleäre Zellinfiltration in das Gewebe mit Lymphozyten und Makrophagen. Zusätzlich konnte die Äquivalenz der drei therapeutischen Interventionen durch eine vergleichbare Reduktion des Plasmakreatinins und Harnstoff und in Verbesserung der glomerulären Filtrationsrate gezeigt werden.

Für das Design dieser Arbeit wurde MMF absichtlich auf seine primär anti-inflammatorischen Eigenschaften und Enalapril auf sein primär anti-fibrotisches Potential reduziert. Es handelt sich hierbei um eine stark vereinfachte Herangehensweise, aber es reflektiert die aktuelle und klinisch praktizierte Betrachtungsweise bezüglich inflammatorischer und fibrotischer Vorgänge in der Niere. In dem Verständnis renaler Erkrankungen werden inflammatorische sehr eindeutig von fibrotischen Nierenerkrankungen unterschieden, obwohl für inflammatorische Nierenerkrankungen wie der Lupus Nephritis auch gesteigerte Matrixproteinexpansion zu verzeichnen sind und bei fibrotischen Nierenerkrankungen wie der hypertensiven und diabetischen Nephropathie auffällige Infiltrationen mit Makrophagen und Lymphozyten auftreten [154,155]. In der Humanmedizin wird MMF primär für die Behandlung inflammatorischer Erkrankungen und Enalapril als antifibrotische Substanz mit blutdruckunabhängiger nierenprotektiver Wirkung zur Behandlung von z.B. diabetischer und hypertensiver Nephropathie eingesetzt [155]. Allerdings konnten Arbeiten der letzten Jahre zeigen, dass MMF ein antifibrotisches Potential hat und dass die Hemmung von Angiotensin II anti-inflammatorische Effekte bewirkt. ACE-Inhibitoren vermitteln diese Wirkungen wahrscheinlich über die direkte Induktion von ROS, Chemokinen und Transkriptionsfaktoren wie z.B. Nuclear Factor (NF)-KappaB. Bei der Betrachtung dieser in sich verwobenen Regulationsmechanismen bezüglich des Wirkspektrums von MMF und Enalapril und dem Unvermögen dieser Substanzen rein „anti-inflammatorisch“ oder rein „anti-fibrotisch“ zu wirken, könnte dies die Hypothese bestärken, dass renale Zellinfiltration und Matrixproteinexpansion funktionell ähnlichen Mechanismen unterliegen.

Ein weiteres wichtiges Anliegen im Design dieser Arbeit war die Frage zu klären, ob ein

kombinierter anti-inflammatorischer und anti-fibrotischer Behandlungsansatz additive Effekte aufweist und dadurch anzeigt, dass unterschiedliche Regulationsmechanismen zugrunde liegen. Eine mechanistische Additivität ist dann gegeben, wenn einer dieser Mechanismen maximal bzw. in hohem Maße mittels eines Therapieansatzes blockiert wird und ein zweiter zusätzlicher Therapieansatz zu zusätzlichen Effekten bezüglich der Erscheinungen beiträgt. Im Gegensatz hierzu steht die sogenannte therapeutische Additivität. Diese kann schon dadurch erzielt werden, indem entweder die Dosis einer Substanz verdoppelt wird oder aber zwei Substanzen gleichzeitig verabreicht werden, welche ein identisches Wirkprofil aufweisen. In der vorliegenden Arbeit wurde die für MMF maximal tolerierte und die für das Enalapril maximal anti-fibrotisch wirksame Dosis gewählt. In Vorarbeiten wurde konnte die Dosis von 20 mg/ kg KGW/ d für das MMF ermittelt, da weitere Dosissteigerungen zu gastrointestinalen Störungen führten. Wie die Ergebnisse jedoch zeigen, war die verabreichte Menge an MMF vergleichbar effektiv wie die das Enalapril, welches den sogenannten Goldstandard in Therapie fibrotischer Nierenerkrankungen repräsentiert [109]. Im Gegensatz zu MMF wurde die Dosis für das Enalapril mit 12 mg/ kg KGW/ d sehr hoch gewählt. Sie entspricht der maximal möglichen Reduktion tubulärer und glomerulärer TGF- β Überexpression in einem Dosis-Wirkungs-Experiment zur TGF- β -Produktion in einem Modell der akuten Anti-Thy1-Glomerulonephritis. Ebenso kann maximal eine 50%ige Reduktion pathologischer Matrixakkumulation in Tieren gefunden werden, bei denen genetisch das RAS disruptiert wurde [156]. Nimmt man diese Daten zusammen, so kann davon ausgegangen werden, dass die Dosis von Enalapril zumindest in einem sehr hohen Bereich liegt und daher Rückschlüsse auf additive Effekte und deren zugrundeliegenden Mechanismen gezogen werden können.

Bei der Frage nach mechanistischer Additivität, geht diese Arbeit vielleicht weiter als bisherige Untersuchungen, welche eine Additivität bezüglich renaler Protektion bei gleichzeitiger Gabe von MMF und Hemmern des RAS in nicht-immunvermittelten Tiermodellen beschreiben [106,157,158]. In diesen Studien wurden zum einen der ACE-Hemmer Lisinopril oder der AT1 Antagonist Losartan in Modellen mit renaler Massenreduktion verabreicht [106,157]. Ebenso wurden Losartan und MMF in einem Tiermodell mit Cyclosporin-induzierter Nephropathie in Kombinationstherapie gegeben [58]. In diesen Studien wurden aber sowohl das Lisinopril, als auch das Losartan in eher geringen Dosen eingesetzt, im Vergleich zu Arbeiten, in denen das RAS noch effektiver mit höheren Dosen beeinflusst werden konnte. Es kann daher vermutet werden, dass die Studien der renalen Massenablation und der Cyclosporin-induzierten Nephropathie eher als therapeutische Additivität gewertet werden können und das diese Effekte nicht aufgetreten

wären, wenn die Dosen der aufgeführten Substanzen höher gewählt worden wären. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die erzielten divergierenden Ergebnisse bezüglich der Verwendung eines gleichzeitigen anti-inflammatorischen und anti-fibrotischen Therapieansatzes zum Teil auch von der Verwendung unterschiedlicher Tiermodelle herrühren können.

Die Ergebnisse dieser Arbeit erlauben neue Einblicke über die generellen Abläufe von Gewebeinflammation und Fibrose im Rahmen der Progression renaler Erkrankungen. Allerdings ermöglicht das Konzept dieser Arbeit nicht die Frage zu beantworten, auf welcher Ebene, zellulär oder molekular, die Verbindungen der Regulationsmechanismen zu finden sind. Es gibt Hinweise aus der aktuellen Literatur, dass es mehrere funktionelle Schnittstellen gibt. Auf extrazellulärer Ebene konnte gezeigt werden, dass inflammatorische Zytokine, wie Interleukin(IL)-1 oder der Tumornekrosefaktor(TNF)-alpha eine direkte TGF- β -Expression renaler Zellen induzieren kann und zur Matrixproteinproduktion, -proliferation in einigen Nierenzelltypen führt und darüber hinaus sogar eine epitheliale Myofibroblastentransdifferentiation (EMT), als wichtiges Kriterium der tubulointerstitiellen Fibrose, bewirken kann [159,160,161]. Andererseits wurde gezeigt, dass profibrotische Wachstumsfaktoren, wie das Angiotensin II, zur Verstärkung der renalen Makrophageninfiltration über die Induktion des Chemokins RANTES führen kann und direkt den proinflammatorischen Transkriptionsfaktor NF-kappaB induziert. Weiterhin kann die Produktion von IL-1 und TNF-alpha von kultivierten Monozyten in Gegenwart von extrazellulärer Matrix, insbesondere von Fibronectin, amplifiziert werden. Die Komplexität dieser Regelmechanismen wird dadurch verdeutlicht, dass die sogenannten proinflammatorischen und profibrotischen Faktoren in einem gewissen Ausmaß auf intrazellulärer Ebene über identische Signaltransduktionswege geschaltet werden, wie der Proteintyrosin-Kinase, NF-kappaB und den Mitogen-aktivierenden Proteinkinase (MAPK) cJun und p38 MAPK [162,163].

In der Humanmedizin stellt die IgA-Nephropathie die häufigste Form der Nephropathien dar. Das Modell der chronischen Anti-Thy1-induzierten Glomerulosklerose kann dabei als Modell progressiver menschlicher Nephropathien dienen, daher können die Ergebnisse dieser Arbeit relevant bezüglich des Verständnisses der Daten aus einer kürzlich veröffentlichten randomisierten Studie zur MMF-Therapie in Patienten mit IgA-Nephropathie und moderater Niereninsuffizienz sein. In dieser klinischen Studie wurde gezeigt, dass MMF in der verabreichten Dosis von 2 g pro Tag keine Verbesserung bezüglich der Serumkreatinin-Werte, der Inulin-Clearance, der glomerulären Filtrationsrate und der Proteinurie über einen

Zeitraum von drei Jahren im Vergleich zu einem Placebo bei diesen Patienten aufweisen konnte [164]. Dieses formal negative Ergebnis entspricht den in dieser Arbeit ermittelten Daten, da die Patienten bereits vor Beginn der Studie mit dem ACE-Hemmer Enalapril vorbehandelt wurden. Dieser Umstand kann eine Erklärung für die ausgebliebene klinische Additivität sein.