**Preisverleihung des Verbands Deutsche Nierenzentren (DN) e.V.**

Am 10. November 2018 verlieh der DN e.V. den mit 8.000 Euro dotierten Bernd Tersteegen Preis an Herrn Prof. Dr. Johan Lorenzen aus Zürich, für seine Arbeit „Schauerte et al. Antagonism of pro-fibrotic microRNA-21 improves outcome of murine chronic renal allograft dysfunction. Kidney Int 2017, 92(3):646-656. (JIF 8.4) (Citations: 3)“.

Die chronische Dysfunktion des Nierentransplantats (CAD) ist ein wesentlicher limitierender Faktor für das langfristige Überleben des Organs. Sie ist gekennzeichnet durch eine interstitielle Fibrose und tubuläre Atrophie. Die zugrunde liegenden Pathomechanismen sind nicht vollständig verstanden. MicroRNAs sind kurze, nicht-kodierende RNA-Moleküle, welche vermögen posttranskriptionell die Genexpression durch direkte Bindung an Erkennungsmerkmale in der 3‘-UTR von mRNA Molekülen zu regulieren. Die Arbeitsgruppe hat ein Mausmodell der allogenen Nierentransplantation etabliert, welches 6 Wochen nach der Transplantation zu einer CAD führte. Hier konnte durch Genom-weite Expressionsanalyse miR-21a-5p als eine der am stärksten heraufregulierten microRNAs identifiziert werden. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass in renalen Fibroblasten miR-21a-5p über eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors STAT3 nach Interleukin-6-Behandlung induziert wurde und so zur Fibrose und Entzündung des Gewebes führt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass miR-21a-5p von Makrophagen in kleinen Vesikeln sekretiert und von renalen Fibroblasten internalisiert wurde, wodurch profibrotische und proinflammatorische Effekte hervorgerufen wurden. Der Notch2-Rezeptor wurde als potentielles Zielgen von miR-21a-5p identifiziert und durch Luciferase-Gen-Reporterassays validiert. Das therapeutische Inaktivieren von miR-21a-5p in Mäusen nach allogener Nierentransplantation führte zu einer Verbesserung der CAD, was sich in einer Verringerung des Fibrosegrads, der Infiltration von Entzündungszellen, des Gewebeschadens und BANFF-Lesion scoring manifestierte. In einem „life-supporting“ Modell der Transplantation hatte der Antagonismus von miR-21a-5p protektive Effekte auf den Erhalt der Nierenfunktion. Eine therapeutische Modulation von miR-21a-5p stellt somit eine vielversprechende therapeutische Option in der Behandlung von Patienten nach einer Nierentransplantation dar, um die Entwicklung von CAD zu stoppen.

Den mit 2.600 Euro dotierten Georg Haas-Preis, die Auszeichnung des DN e.V. für herausragende Promotionsarbeiten, erhielt Dr. med. Sebastian Stefan Röder aus Erlangen für seine Arbeit „CD44 de novo Expression in Parietalen Epithelzellen wird durch ERKAktivierung vermittelt und führt zu Matrixakkumulation und erhöhter Zellmigration in Fokal Segmentaler Glomerulosklerose“.

Die Studie hatte die Beantwortung zweier Fragen zum Ziel:

1. Ist das Glykoprotein CD44 ein reiner Marker für ‚aktivierte’ PECs oder spielt die CD44 *de novo* Expression pathophysiologisch eine Rolle?
2. Könnte die kürzlich von uns beschriebene Ko-Expression von pERK (phosphorylated extracellular signal-regulated kinase) und CD44 in PECs (Eng et al., 2015, Roeder et al., 2015) einen potentiellen Regulationsmechanismus durch den MAP-Kinase-Weg darstellen?

Mittels eines podozytotoxischen Antikörpers (Ohse et al., 2010) wurde in CD44 knockout Mäusen (-/-) und in Wildtyp-Tieren (+/+) experimentelle FSGS induziert. Albuminurie wurde an den Tagen 7, 14 und 28 nach Induktion gemessen. Die Nieren der Versuchstiere wurden zum Zeitpunkt 0, 14 und 28 Tage mittels Immunhistochemie und -fluoreszenz hinsichtlich Glomerulosklerose, Kollagen IV-Ablagerung und PECMigration untersucht. Als Nächstes wurde CD44 durch retrovirale Infektion in einer transient immortalisierten murinen PEC-Zelllinie (Ohse et al., 2010) überexprimiert. Diese wurde im Anschluss hinsichtlich Kollagen IV-Produktion mittels Western Blot und hinsichtlich PEC-Migration mit Hilfe eines ‚*scratch assays’* untersucht. In mit CD44 transfizierten PECs wurde dann die ERK-Phosphorylierung mittels des Inhibitors UO126 blockiert. Außerdem wurde in einem weiteren Experiment die ERKPhosphorylierung durch Transfektion der PECs mit der Kinase MEK gesteigert. In allen Zelllinien wurden dann CD44-Level und PEC-Migration gemessen.

Die Studie konnte zeigen, dass CD44 nicht nur einfacher Marker für ‚aktivierte’ PECs in FSGS ist, sondern im Gegenteil an der Pathogenese der FSGS maßgeblich beteiligt ist. CD44 spielt *in vitro* und *in vivo* eine Rolle in der Produktion von extrazellulärer Matrix, insbesondere von Kollagen IV. Weiter wurde klar, dass die Phosphorylierung und damit Aktivierung von ERK die Expression von CD44 steigert, was wiederum zu einer gesteigerten Migration der PECs führt. ERKDephosphorylierung führt im Gegensatz dazu zu einer erniedrigten CD44-Expression und verringerter Zellmigration.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass ein durch CD44 vermittelter pro-sklerotischer und pro-migratorischer Phänotyp der PECs in FSGS von Nachteil ist. Ob dies eventuell an einer verminderten Trans-Differenzierung in Podozyten durch diese Zellen liegt, muss in nachfolgenden Experimenten untersucht werden.

Prof. Dr. med. Ferruh Artunc aus Tübingen erhielt die Sonderauszeichnung des Wissenschaftlichen Instituts für Nephrologie für seine Arbeit „Aprotinin prevents proteolytic epithelial sodium channel (ENaC) activation and volume retention in nephrotic syndrome“. Das nephrotische Syndrom kann als Maximalausprägung einer proteinurischen Nierenerkrankung aufgefasst werden und weist als Leitsymptom die Ödementstehung infolge einer renalen Natriumretention auf. Bis heute wird die Genese der Ödementstehung kontrovers diskutiert, wobei traditionell zwei gegensätzliche Ansätze angeführt werden (Underfill- vs. Overfill-Theorie) 1. Ältere Studien an mikrodissezierten Tubuli nephrotischer Ratten hatten gezeigt, dass die Ödementstehung auf eine Aktivierung des epithelialen Natriumkanals ENaC im distalen Tubulus zurückgeführt werden kann 2. Eine charakteristische Eigenschaft von ENaC ist dessen posttranslationale Aktivierbarkeit durch extrazelluläre Serinproteasen, die die Offenwahrscheinlichkeit durch Proteolyse der γ-Untereinheit steigern 3. Im Jahre 2009 wurde vorgeschlagen, dass die Serinprotease Plasmin den ENaC bei glomerulärer Proteinurie aktiviert und so eine Natriumretention bedingen könnte 4. Die Autoren fanden, dass aberrant filtriertes Plasminogen als Zymogen im Tubuluslumen durch die dort exprimierte Urokinase zu aktivem Plasmin umgesetzt wird, was den ENaC durch Proteolyse *in vitro* aktivieren konnte. Dieser Mechanismus könnte eine neuartige Erklärung für die Ödementstehung im Sinne der Overfill-Theorie darstellen. Allerdings fehlte ihr bislang ein tierexperimenteller Nachweis, dass dieser Mechanismus tatsächlich *in vivo* eine entscheidende Rolle spielt. Sollte der ENaC bei nephrotischem Syndrom proteolytisch durch Plasmin aktiviert werden, müsste eine Hemmung der Urin-Plasminaktivität mittels pharmakologischen Inhibitoren die Ödementstehung verhindern. Zur Klärung dieses Ansatzes wurde eine Studie an Wildtyp-Mäusen durchgeführt, die nach Induktion eines experimentelles nephrotisches Syndrom mit dem Protease-Inhibitor Aprotinin oder dem ENaC-Blocker Amilorid behandelt wurden 5.

Bei Wildtyp-Mäusen kam es nach Induktion eines experimentellen nephrotischen Syndroms mittels einmaliger Doxorubicin-Injektion zu einer großen Proteinurie ab Tag 5, die von einer parallelen Urin-Ausscheidung von aktiven Serinproteasen wie z.B. Plasmin begleitet wurde. In der Folge fand sich ein Abfall der Urin-Natrium-Konzentration als Korrelat der ENaC-Aktivierung und eine Natriumretention mit Gewichtszunahme. Die Behandlung nephrotischer Mäuse mit dem Serinprotease-Hemmstoff Aprotinin hemmte die Urin-Serinprotease-Aktivität und verhinderte die ENaC-Aktivierung, so dass die Natriumretention ausblieb. Die Behandlung mit dem ENaC-Blocker Amilorid verhinderte die Natriumretention ebenfalls. Elektrophysiologische Untersuchungen zeigten, dass Aprotinin den ENaC nur indirekt in Anwesenheit von aktivierenden Serinproteasen hemmte und keinen direkten hemmenden Effekt auf ENaC ausübte.

Diese Studie zeigt zum ersten Mal, dass die Natriumretention und Ödementstehung beim nephrotischen Syndrom auf eine Ausscheidung von aktiven Serinproteasen im Sinne einer Proteasurie zurückgeführt werden können. Die pharmakologische Hemmung der Proteasurie ist hocheffektiv, um die Ödementstehung durch die proteolytische ENaC-Aktivierung zu verhindern. Diese Proof-Of-Principle-Studie schafft die Grundlage, diesen innovativen Ansatz zur Behandlung der Ödeme bei proteinurischen Patienten weiterzuverfolgen.

Literatur

1. Bockenhauer D. Over- or underfill: not all nephrotic states are created equal. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2013; **28:** 1153–1156.

2. Deschenes G, Wittner M, Stefano A*, et al.* Collecting duct is a site of sodium retention in PAN nephrosis: a rationale for amiloride therapy. *J Am Soc Nephrol* 2001; **12:** 598-601.

3. Kleyman TR, Carattino MD, Hughey RP. ENaC at the cutting edge: regulation of epithelial sodium channels by proteases. *The Journal of biological chemistry* 2009; **284:** 20447–20451.

4. Svenningsen P, Bistrup C, Friis UG*, et al.* Plasmin in nephrotic urine activates the epithelial sodium channel. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2009; **20:** 299–310.

5. Bohnert BN, Menacher M, Janessa A*, et al.* Aprotinin prevents proteolytic epithelial sodium channel (ENaC) activation and volume retention in nephrotic syndrome. *Kidney international* 2018; **93:** 159-172.