

Carolin Susanne Schildhorn  
Dr.med.

## Ischämie-Reperfusion der Niere in der Telomerase (TERC<sup>-/-</sup>)-Knockout-Maus

Promotionsfach: Kinderheilkunde  
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. Anette Melk, Ph.D

Die chronische Transplantatnephropathie (CAN) stellt die häufigste Ursache für das Nierentransplantatversagen im Kindesalter dar. In Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass die CAN sowie Stressfaktoren, die die CAN begünstigen, mit Zeichen akzelerierter Alterung assoziiert sind. Auf Zellebene wird Alterung u.a. durch eine Verkürzung der Chromosomenenden, der Telomere, mit jeder Zellteilung verursacht. Das Erreichen einer kritischen Telomerlänge induziert einen irreversiblen Zellzyklusarrest (zelluläre Seneszenz) oder Apoptose. Humane Nieren weisen mit zunehmendem Alter kürzere Telomere auf. In Mäusen verhindert das Enzym Telomerase eine kritische Telomerverkürzung. Telomerase-Knockout (TERC KO)-Mäuse höherer Generation mit kritisch kurzen Telomeren zeigen phänotypische Merkmale beschleunigter Alterung.

Ziel der Studie war es, den Einfluss kurzer Telomere auf die Regenerationsfähigkeit nach induziertem Nierenschaden (Ischämie-Reperfusion, IR) in TERC KO-Mäusen zu untersuchen. Nach 30-minütiger IR wurden die Nieren von TERC KO-Mäusen der 4. Generation (KO F4) mit Nieren von TERC KO-Mäusen der 1. Generation (KO F1) und von Wildtyp (WT)-Mäusen an Tag 1, 3, 7 und 30 (n≥6) verglichen: Akute Tubulusnekrose und chronischer Nierenschaden (tubuläre Atrophie, TA und interstitielle Fibrose, IF) wurden in PAS- und Masson-Trichrom-gefärbten Schnitten beurteilt. Die Expression der Zellzyklusinhibitoren p21<sup>WAF/CIP1</sup>, p53 und p16<sup>INK4a</sup> wurde in der Real-time-PCR bestimmt. Der Proliferationsmarker Ki 67 wurde an Tag 3 und Tag 30 immunhistologisch ausgewertet. Zur Beurteilung der Nierenfunktion wurde die Kreatinin-Clearance 7 und 30 Tage nach 15-minütiger IR bestimmt.

Hinsichtlich der Telomerlängen zeigten nicht-operierte KO F4-Tiere eine signifikant niedrigere mittlere Telomerfluoreszenzintensität (TFI) als WT-Tiere. Die durch IR hervorgerufene Schädigung führte bei beiden Mausgruppen zu einer ausgeprägten Telomerverkürzung, die mit einem signifikant erhöhten Prozentsatz kritisch kurzer Telomere in KO F4 gegenüber WT einherging.

Akute Tubulusnekrose trat insbesondere an Tag 1 und 3 auf und war in KO F4 signifikant höher als in WT und KO F1. TA und IF, beide Ausdruck chronischen Nierenschadens, traten ab Tag 7 auf. An Tag 30 fand sich signifikant mehr IF in KO F4 verglichen mit KO F1 und WT. Einhergehend mit der Entwicklung der chronischen Schädigung kam es 30 Tage nach IR zu einer signifikant erniedrigten Kreatinin-Clearance in KO F4 im Vergleich zu WT.

Der Zellzyklusinhibitor p21<sup>WAF/CIP1</sup> war in allen Gruppen nach IR erhöht. Die Expression von p21<sup>WAF/CIP1</sup> war in KO F4 verglichen mit WT und KO F1 an Tag 30 signifikant höher. p16<sup>INK4a</sup> zeigte an Tag 30 in KO F4 und KO F1 eine signifikant gesteigerte Expression im Vergleich zu WT. Für p53 konnte ein Anstieg nach IR verzeichnet werden ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Proliferation tubulärer und interstitieller Zellen war in KO F4 an Tag 3 und Tag 30 signifikant niedriger als in WT und KO F1.

Wir zeigen, dass TERC KO-Mäuse höherer Generation mit kritisch kurzen Telomeren vermehrt akuten und chronischen Schaden nach IR der Niere aufweisen. Vermehrter Schaden in KO F4 geht einher mit gesteigerter Seneszenz und einer konsekutiv reduzierten Proliferationsrate. Es ist davon auszugehen, dass der Telomerlängenmechanismus Ursache der beobachteten verminderten Regenerationsfähigkeit ist. Zelluläre Seneszenz hat damit eine

besondere Bedeutung für die Funktionalität der Niere und könnte ein wesentlicher Pathomechanismus für die Entstehung der Transplantatnephropathie sein.