

Moritz Alexander Vogel
Dr. med.

**Expression des Natrium/Phosphat-2 Kotransporters und
Expression von Erythropoetin im Han:SPRD Rattenmodell
der Autosomal Dominanten Polyzystischen Nierenerkrankung.**

Geboren am 30.04.1971 in Tübingen
Reifeprüfung am 21.7.1990 in Montezuma, New Mexico, USA
Studienfach der Fachrichtung Medizin von SS 1991 bis SS 1999
Physikum am 24.03.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Hong Kong und Heidelberg
Staatsexamen am 12.05.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie
Doktorvater: Prof. Dr. S. Bachmann

Einleitung. Die Nierenveränderungen im Han:SPRD Rattenmodell der Autosomal Dominanten Polyzystischen Nierenerkrankung betreffen primär proximale Tubuli und das sie umgebende interstitielle Gewebe. Die vorliegende Arbeit untersucht einerseits die Expression des NaPi-2 Kotransporters als wichtigem Produkt des proximal tubulären Epithels im Verlauf der Zystenentwicklung. Darüber hinaus analysiert sie die Auswirkungen der zystischen Umbauvorgänge auf Erythropoetin synthetisierende Fibroblasten als funktional wesentlicher, interstitieller Zellgruppe. Die morphologischen Ergebnisse werden mit Laborparametern der Niereninsuffizienz, des Kalzium/Phosphat-Haushaltes und der Erythropoese korreliert und in ihrer klinischen Relevanz gewichtet.

Material und Methoden. Untersucht wurden heterozygot erkrankte, männliche Han:SPRD Ratten im Alter von zwei und acht Monaten im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren. Dabei wurde die NaPi-2 Kotransporter mRNS mittels Digoxigenin-markierter *in situ* Hybridisierung auf einem Schnitt kolokalisiert mit dem immunhistochemisch markierten NaPi-2 Protein dargestellt. Die Intensität der Signale in der *in situ* Hybridisierung und Immunhistochemie wurde semiquantitativ in hoch, mittel und niedrig eingeteilt. Die Expression von Erythropoetin wurde nach hypoxischer Stimulation ebenfalls mittels Digoxigenin-markierter *in situ* Hybridisierung nachgewiesen.

Ergebnisse. In den Nieren gesunder Ratten sind NaPi-2 Kotransporter mRNS und Protein im gesamten proximalen Tubulus kolokalisiert. Die Signale für beide Parameter kommen in unterschiedlich hoher Intensität zur Darstellung. Es zeigt sich eine von Nephronlage und Tubulusabschnitt abhängige Verteilung. In den Partes convolutae sind die Signalintensitäten für NaPi-2 Kotransporter mRNS und Protein proportional zueinander, in den Partes rectae dagegen disproportional. Das Maximum der Signalintensität liegt für beide Parameter im Bereich juxtamedullärer proximaler Konvolute.

Im Frühstadium der zystischen Degeneration lassen sich inmitten normal erscheinender Epithelzellen einzelne, morphologisch veränderte Zellen abgrenzen, die zwar NaPi-2 mRNS exprimieren, in denen NaPi-2 Protein jedoch nicht im

Bürstensaum, sondern unscharf begrenzt intrazellulär lokalisiert ist. Andere, ebenfalls morphologisch veränderte Zellen exprimieren weder NaPi-2 Kotransporter mRNA noch Protein. Im fortgeschrittenen Stadium entstehen Zysten, die weitgehend von einem flachen, undifferenzierten Epithel ausgekleidet sind, das nur vereinzelt Inseln morphologisch intakten Epithels mit NaPi-2 Kotransporter mRNA und Protein Expression enthält. Die Sonderform der von hypertroph/hyperplastischem Epithel ausgekleideten Zysten läßt sich durch den Nachweis von neutraler Endopeptidase in den Epithelzellen dem S3 Segment zuordnen. Ihr Epithel exprimiert in der Regel NaPi-2 Kotransporter mRNA und Protein in hoher Intensität. Hinsichtlich der Signalintensitäten zeigt sich bei den verbliebenen relativ intakten Nephronen allgemein eine Verlagerung hoher Signalintensitäten für NaPi-2 mRNA und Protein von juxtamedullären zu midkortikalen und subkapsulären Nephronen. Die Analyse der Urin- und Serumparameter zeigt, daß die Tiere der Versuchsgruppe bis zum achten Monat eine kompensierte Niereninsuffizienz entwickeln. Für die Kalzium/Phosphat-Homöostase ergibt sich abgesehen von einer erhöhten, fraktionellen Phosphatexkretion keine signifikante Veränderung.

Die Zahl Erythropoetin synthetisierender Fibroblasten nimmt bei acht Monate alten heterozygoten Han:SPRD Ratten im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren sowohl pro Flächeneinheit als auch absolut deutlich ab. Die verbliebenen Zellen liegen mehrheitlich zwischen noch intakten Tubuli und zeigen keine perizystische Häufung. Eine kompensatorische EPO Synthese in der Leber der Han:SPRD Ratten ließ sich nicht nachweisen. Klinisch waren die Tiere gemessen an Hb und Hämatokrit im gesamten Beobachtungszeitraum zu einer suffizienten Erythropoese in der Lage.

Schlußfolgerungen. Bei gesunden Tieren liegt der Schwerpunkt der Expression des NaPi-2 Kotransporters im Bereich juxtamedullärer Nephrone, während midkortikalen und subkapsulären Nephronen am ehesten eine Funktion als regulatorische Reserve zukommt. Mit dem Verlust juxtamedullärer Nephrone im Rahmen der Zystenentwicklung nimmt die Expression von NaPi-2 mRNA und Protein in superfiziell gelegenen Nephronen kompensatorisch zu. Auf zellulärer Ebene sind im Frühstadium der Erkrankung im Einklang mit der Zweitmutationshypothese zunächst einzelne, morphologisch auffällige Zellen von der Entdifferenzierung betroffen. Die morphologischen Veränderungen scheinen mit einem stadienhaften Verlust der NaPi-2 Expression einherzugehen, was auf die Notwendigkeit einer intakten Zellstruktur für die normale Expression des NaPi-2 Kotransporters schließen läßt. Eine Sonderform der Zystenentwicklung stellen Tubuli mit hypertroph/hyperplastischem Epithel dar. Sie entstehen aus dem S3 Segment midkortikaler und subkapsulärer Nephrone und sind hinsichtlich der NaPi-2 Expression differenziert. Die Kalzium/Phosphat-Homöostase ist nach acht Monaten trotz ausgeprägter morphologischer Veränderungen nicht wesentlich beeinträchtigt.

Die Verminderung Erythropoetin synthetisierender Fibroblasten führt bis zum Alter von acht Monaten trotz fehlender Kompensationsmechanismen nicht zu einer Beeinträchtigung der Erythropoese. Möglicherweise erlaubt die fokale Krankheitsentstehung eine ausreichende EPO Synthese in den verbleibenden relativ intakten Nierenbereichen.