

Helmar Weiß
Dr. med.

Wirkung von hypotoner Schwellung auf die intrazelluläre Calciumkonzentration in Podozyten

Geboren am 20.09.1977 in Rheinbach
Staatsexamen am 06.12.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie und Zellbiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. K. Endlich

Podozyten als Teil des renalen Glomerulums bilden zusammen mit dem Kapillarendothel und der Basalmembran die Wand der glomerulären Kapillaren. In vivo sind die Podozyten einer mechanischen Belastung sowohl durch einen hydrostatischen Druck (durch den Blutdruck) als auch einer Schubspannung durch das Ultrafiltrat ausgesetzt. Seit den ersten Versuchen mit biaxial-zyklischem Stress an Podozyten konnte in einer Reihe weiterer Experimente die Mechanosensibilität der Podozyten belegt werden; Podozyten scheinen sowohl Dehnungs- als auch Schubspannung wahrnehmen zu können.

Durch hypotones Schwellen der Zellen kam es zu einem Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$, welche bei Beendigung der Superfusion reversibel war. Diesem Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ ging ein Schwellen der Zelle voraus; es konnte gezeigt werden, dass ein gewisses Schwellen der Zelle (respektive eine gewisse Membrandehnung) notwendig war, um eine Calcium-Antwort zu provozieren. Die Zellen desensitivierten bei wiederholtem Schwellen. Ein isoosmotisches Schwellen mit einer Harnstofflösung führte zu einem Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$, was dafür spricht, dass eine Membrandehnung und nicht der Abfall der Osmolarität für den Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ verantwortlich ist. Eine isotone, aber um 50% an Ionen reduzierte Versuchslösung führte zu keiner Veränderung des zytosolischen Calciums. Durch eine Präinkubation mit Cytochalasin D kam es im Vergleich mit Kontrollzellen zu einem deutlich ausgeprägteren Anstieg der $[Ca^{2+}]_i$ während des Schwellvorgangs, was einen modulierenden Effekt des Aktin-Zytoskeletts auf den Membrankanal oder die Membransteifigkeit wahrscheinlich macht. Experimente mit $NiCl_2$ bestätigten die Vermutung, dass ein Ca^{2+} -Einstrom von extrazellulär während des Schwellvorgangs für das Ansteigen des zytosolischen Calciums verantwortlich sein könnte, da 68% der Calcium-Antwort unterdrückt wurden. Gadolinium, eine klassische Hemmsubstanz für SAC, führte ebenfalls zu einer Reduktion der Calcium-Antwort um 60%, was die Involvierung eines dehnungsaktivierbaren Ionenkanals wahrscheinlich macht. In einer weiteren Versuchsreihe wurde überprüft, ob ein Einstrom von Ca^{2+} aus dem Extrazellulärraum, eine Speicherfreisetzung oder eine Kombination aus beidem für den $[Ca^{2+}]_i$ -Anstieg unter hypotonem Schwellen verantwortlich ist. Versuche mit Ca^{2+} -freier EGTA-Lösung zeigten, dass (je nach Versuchsschema) zwischen 53 und 59% der Calcium-Antwort durch den Einstrom von extrazellulär bedingt sind. Eine Entleerung des Endoplasmatischen Retikulums mit Thapsigargin reduzierte das Calciumsignal um 53% unter

hypotonem Schwellen. Die Experimente weisen sowohl die Bedeutung einer Speicherfreisetzung als auch eines Ca^{2+} -Einstroms für den Anstieg des zytosolischen Calciums unter hypotonem Schwellen nach.

Die durchgeführten Versuche zeigen, dass Podozyten einen dehnungs-aktivierbaren, Gadolinium-empfindlichen Membrankanal besitzen. Unter hypotonem Schwellen als Form der mechanischen Belastung kommt es zu einem Anstieg der $[\text{Ca}^{2+}]_i$ durch einen Einstrom über einen Membrankanal in Kombination mit einer Speicherfreisetzung. Dieser Kanal könnte eine Rolle in der Mechanotransduktion des Podozyten spielen, sowohl bei der Wahrnehmung von Dehnung als auch in der Volumenregulation. Ob dieser Kanal zu den kürzlich im Podozyten gefundenen TRPC-Kanälen gehört oder ob eine funktionelle Interaktion mit einem unlängst nachgewiesenen BK-Kanal besteht, muss durch weitere Studien evaluiert werden.