Michael Heinz Bardutzky
Dr. med.

Rasterelektronenmikroskopische Darstellung des Cytoskelettes kultivierter Podocyten

Geboren am 26.03.1969 in Bretten
Staatsexamen am 14.11.1996 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach Anatomie und Zellbiologie
Doktorvater Prof. Dr. med. Wilhelm Kriz

Podocyten respektive ihre Zellausläufer bilden die dritte und zugleich effektivste Filtrationsbarriere im Glomerulum der Niere. Sie sind somit elementarer Bestandteil bei der Funktion der Niere als Ausscheidungsorgan.

Podocyten zeichnen sich durch ihren Reichtum an Mikrotubuli und Mikrofilamenten aus. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es, mittels unterschiedlicher Techniken diese Elemente, die in ihrer Gesamtheit das Cytoskelett bilden, darzustellen. Hierzu standen einerseits natives Nierengewebe, andererseits kultivierte Zellreihen zur Verfügung.

In Anlehnung an die Untersuchungen anderer Autoren wurden zunächst unter Verwendung von Nativgewebe die hierfür erforderlichen Extraktionsverfahren modifiziert und hinsichtlich der Fragestellung optimiert. Einer orientierenden Anschauung im Transmissionselektronenmikroskop mittels konventioneller Einbettungstechnik folgte der Versuch einer Wiedergabe mittels Repliken unter Zuhilfenahme der bereits seit längerem etablierten Quick-freeze / Deep-etch-Methodik.
Nachdem die Ergebnisse dieser Versuchsreihen zunächst hinter den Erwartungen zurückblieben und kultivierte Podocyten zur Verfügung standen, wurden letztere einer Darstellung im Rasterelektronenmikroskop zugeführt. Hier konnte schließlich in dreidimensionaler Qualität ein ausgesprochen gut erhaltenes Cytoskelett dieser Zellen nachgewiesen werden, wobei Aktinfilamente und vor allem Mikrotubuli zur Ansicht gelangten.
Deren Identität konnte in einer parallelen Versuchsreihe durch Markierung mit spezifischen Antikörpern im Immunfluoreszenzmikroskop verifiziert werden.

Trotz der eingreifenden Extraktionsprozeduren erwiesen sich die Podocyten sowohl in ihrer nativen als auch in ihrer kultivierten Form als äußerst robuste Zellen. Ihr Reichtum an Mikrotubuli und Aktinfilamenten konnte auch nach den jeweiligen Verfahren bestätigt werden.

Der Umstand, dass die wesentlichen Befunde nicht an nativen, sondern kultivierten Zellen erhoben wurden, schränkt die Aussagekraft in gewissem Maße ein. Die Verbindung des hier erarbeiteten Verfahrens mit Kryo-SEM-Techniken wird es jedoch ermöglichen, auch natives Gewebe in dieser Fragestellung zu untersuchen und zwar sowohl in orthologem Zustand als auch im Falle seiner pathologischen Alteration.