

Maria Grafmann

Dr. med.

## **Glomeruläre Expression von alpha-Dystroglycan, Podocin und alpha-Actinin-4 bei Minimal Change Glomerulonephritis und Fokaler Segmentaler Glomerulosklerose im Kindesalter**

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Franz Schäfer

Das idiopathische Nephrotische Syndrom des Kindesalter ist in den meisten Fällen auf eine Minimal Change Nephrose (MCGN) und in geringerem Ausmaß auf eine Fokal-segmentale Glomerulosklerose (FSGS) zurückzuführen. Die initiale klinische Symptomatik der beiden Erkrankungen ist gekennzeichnet durch eine massive Proteinurie und eine Hypalbuminämie mit konsekutiven Ödemen. Während die MCGN zumeist im Pubertätsalter folgenlos ausheilt, führt die FSGS häufig zum terminalen Nierenversagen. Das einzige histomorphologische Korrelat beider Erkrankungen im Anfangsstadium ist eine Abflachung und Verplumpung der podozytären Fußfortsätze. Podozyten sind epitheliale Zellen des Glomerulus, die Bestandteil der glomerulären Filtrationsbarriere sind.

Methode: In dieser Arbeit wurde retrospektiv an Nierenbiopsien die Proteinexpression von  $\alpha$ -Dystroglycan, Podocin und  $\alpha$ -Aktinin-4 in einem pädiatrischen Kollektiv ( $n = 52$ ) aus den Jahren 1980 bis 2002 mit der Diagnose einer MCGN oder FSGS untersucht und der Einfluss klinischer Größen auf die Proteinexpression evaluiert. Die Patienten mit MCGN wurden anhand klinischer Parameter in drei Untergruppen unterteilt: steroidsensible MCGN im akuten Schub (MCCS-A) bzw. in Remission (MCCS-R) und steroidresistente MCGN (MCCR). Als Kontrollgruppe wurden Nierenbiopsien verwendet, die im Zeitraum zwischen den Jahren 1993 und 2001 an der Kinderklinik des Universitätskrankenhauses Heidelberg gewonnen wurden und keine pathologischen Auffälligkeiten oder nur minimale interstitielle Veränderungen, die keinen Einfluss auf glomeruläre Strukturen hatten, aufwiesen. Die Evaluation der mittels Immunhistochemie zur Darstellung der Proteinexpression gefärbten Paraffin-Schnitte erfolgte unter Zuhilfenahme des Softwareprogramms Optimas™. Jeder Glomerulus wurde dabei einzeln analysiert und alle Anteile des Glomerulus, die mit ihrer Farbintensität oberhalb der gewählten Schwelle lagen, wurden entsprechend ihrer Teilflächen aufaddiert. Berechnet wurde das Verhältnis dieser Fläche zur Gesamtfläche des Glomerulus (Gefärbte Glomerulusfläche in %), welches Ausdruck der Proteinexpression und damit unsere Zielgröße war.

Ergebnisse: Patienten mit FSGS weisen eine gleichwertige Expression von  $\alpha$ -DG zur Kontrollgruppe auf, während Patienten mit MCGN und der Untergruppe der steroidsensiblen MCGN hochsignifikant verminderte Werte aufweisen. Die Gruppe der

steroidresistenten Kinder nimmt eine Intermediärstellung zwischen Kontrollen und steroidsensiblen Patienten ein.

Auch Podocin wird bei Patienten mit MCGN und der Untergruppe der steroidsensiblen MCGN vermindert exprimiert und ebenfalls unabhängig davon, ob sich die Patienten im akuten Schub oder in Remission befinden. Die Gruppe der steroidresistenten Kinder nimmt hier ebenfalls eine Intermediärstellung ein; jedoch mit größeren Überlappungen und ohne statistisch signifikante Differenz zur Kontrollgruppe. Bei Patienten mit FSGS zeigt sich wie schon bei  $\alpha$ -DG ebenfalls keine signifikante Veränderung zur Kontrollgruppe.

Bei der Untersuchung der  $\alpha$ -Aktinin-4-Expression findet sich im Vergleich zur Kontrollgruppe lediglich bei Kindern mit FSGS eine **erhöhte** Expression von  $\alpha$ -Aktinin-4.

Des Weiteren haben wir beobachtet, dass eine inverse Korrelation zwischen der Expression aller Proteine und der Krankheitsdauer sowohl bei MCGN als auch FSGS vorliegt. Dies legt nahe, dass bei lang andauernder Krankheit die Proteinexpression der Schlüsselproteine unabhängig von der zugrunde liegenden Krankheit (im Falle von FSGS und MCGN) kontinuierlich absinkt und bestätigt die These des podozytären Netzwerkes. Dafür spricht ebenfalls, dass eine Korrelation zwischen der Expression von Podocin und  $\alpha$ -Aktinin-4 auf der einen Seite und der Expression von  $\alpha$ -Dystroglycan und sowohl Podocin als auch  $\alpha$ -Aktinin-4 auf der anderen Seite besteht.

Schlussfolgerung:  $\alpha$ -Dystroglycan ist als diagnostischer Marker für die MCGN geeignet. Podocin ist bei der MCGN ebenfalls vermindert, bietet jedoch größere Fehlerquellen durch stärkere Überlappungen der Gruppen und durch eine mögliche Verminderung bei einzelnen FSGS Patienten, da in vorangegangenen Studien eine genetische Komponente, im Sinne einer erhöhten Vulnerabilität nachgewiesen werden konnte.

Die Abnahme aller Proteinexpressionen mit zunehmender Krankheitsdauer und die Abhängigkeit der einzelnen Proteine voneinander sind Hinweise auf das fein austarierte System der Filtrationsbarriere: Der Funktionsverlust in einem Kompartiment, beeinflusst die anderen Kompartimente. So führen wahrscheinlich Defekte im Fokalen Adhäsionskomplex (DG) oder der Schlitzmembran (Podocin) zu feinen Veränderungen in der  $\alpha$ -Aktinin-4 Expression. Zugleich stellen diese Beobachtungen jedoch auch eine potenzielle Fehlerquelle für die jeweiligen Proteine als diagnostische Parameter dar, weil zu einem späten Zeitpunkt der Krankheit evtl. auch diese nur sekundär vermindert sind. In welchen pathogenetischen Kontext für die MCGN und die FSGS die veränderten Proteinexpressionen einzubinden sind, bedarf weiter Untersuchungen.