



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

TRPC5 Inhibition Preserves the Podocyte Actin Cytoskeleton

Autor: Thomas Schaldecker
Institut / Klinik: Institut für Anatomie und Zellbiologie, Heidelberg
Doktorvater: Prof. Dr. W. Kriz

Die Funktion des glomerulären Filters in der Niere ist abhängig von der Struktur des Aktin-Zytoskeletts der Podozyten. Akute sowie chronische Dysregulation des Zytoskeletts führen zu Proteinurie, welche nicht nur ein früher Marker für Nierenschädigung ist, sondern auch einen Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellt. Das Aktin-Zytoskelett wird von einer Vielzahl von Proteinen reguliert. Die Rho-GTPasen RhoA und Rac1 regulieren die Bildung und den Abbau der formgebenden Aktin-Stressfasern. Außerdem spielen zwei Vertreter der klassischen transient-receptor-potential Kanäle (TRPCs) eine wichtige Rolle in der Dynamik des Aktin-Zytoskeletts. TRPC5 und TRPC6 haben entgegengesetzte Effekte: TRPC6 aktiviert RhoA und führt damit zur Bildung von Stressfasern, während TRPC5 Rac1 aktiviert, was den Zerfall von Stressfasern zur Folge hat.

Unsere Hypothese war, dass das TRPC5-vermittelte Signal die Ursache für den Umbau des Aktin-Zytoskeletts ist, der auftritt, wenn Podozyten *in vitro* mit Protaminsulfat behandelt werden. Die Protaminsulfat-Behandlung stellt ein Modell für Veränderungen der Podozytenmorphologie dar, die mit Proteinurie *in vivo* assoziiert werden. Verminderung oder Inhibition von TRPC5 sollte also vor diesen Veränderungen im Aktin-Zytoskelett der Podozyten schützen.

Mit der neu in Podozyten etablierten Lifeact Methode konnte in Echtzeitaufnahmen des Podozyten-Zytoskeletts gezeigt werden, dass Protaminsulfat zu morphologischen Veränderungen im Aktin-Zytoskelett führt. Lamellipodien entstehen, Stressfasern zerfallen und die Zelle kollabiert. Nachdem überprüft worden war, dass TRPC5 in Podozyten exprimiert und lokalisiert ist, wurden TRPC5-knock-down-Podozyten mit Protaminsulfat behandelt. Diese Podozyten waren vor den beschriebenen Veränderungen des Aktin-Zytoskeletts und vor Abbau von Synaptopodin geschützt, einem Protein, das essentiell für die Struktur von Aktin-Stressfasern ist. Des Weiteren schützte auch die pharmakologische Inhibition von TRPC5 vor Stressfaser-Zerfall und Synaptopodin-Abbau mit einer klar erkennbaren Dosis-Wirkungs-Beziehung. Dazu wurde ML204, ein neuartiger, spezifischer und reversibler niedermolekularer Hemmstoff von TRPC5 verwendet. Um den Mechanismus weiter zu untersuchen, wurde die Aktivierung von Rac1 nach Protaminsulfat-Behandlung gemessen. Tatsächlich verhinderte TRPC5-Inhibition die Aktivierung von Rac1, welche zum Zerfall von Stressfasern führt.

Diese Arbeit zeigt, dass TRPC5 verantwortlich ist für die Veränderungen der Podozytenmorphologie nach Protaminsulfat-Behandlung. Interessanterweise konnte eine Folgearbeit zeigen, dass TRPC5-Inhibition auch *in vivo* die Struktur des Podozyten-Zytoskeletts nach Perfusion mit Protaminsulfat schützt. Außerdem verhinderte TRPC5-Inhibition Proteinurie in Mäusen, denen Lipopolysaccharide injiziert wurden, einem *in-vivo*-Modell für akute Podozytenschädigung und Proteinurie.

Zusammengefasst weisen diese Daten darauf hin, dass TRPC5 eine Rolle in der Pathogenese der Proteinurie spielt und einen potentiellen therapeutischen Ansatzpunkt darstellt.