

Judith Baghdadi  
Dr. med.

## **Expression einer Gephyrin-positiven Struktur in normalen und pathologisch veränderten Geweben und Zelllinien**

Fach/Einrichtung: Anatomie und Zellbiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Ralph Nawrotzki, MME, DPhil

Gephyrin ist ein 93 kDa großes, multifunktionales Protein, dessen essenzielle Funktionen die Verankerung von Glycin- und GABA-Rezeptoren am Zytoskelett neuronaler Zellen und die Katalysierung der letzten beiden Schritte der Molybdän-Cofaktor-Biosynthese in nicht-neuronalen Zellen sind. Gephyrin wurde bisher in neuronalen postsynaptischen Verdichtungen und in neuronalen und nicht-neuronalen Zellen zytosolisch lokalisiert nachgewiesen. Darüber hinaus konnte PD Dr. Dr. Nawrotzki Gephyrin in einem bisher unbeschriebenen, subzellulären, zytosolisch lokalisierten Aggregat (Gephyrin-positive Struktur) in Astrozyten der Ratte und Hepatozyten der Maus nachweisen. Diese Strukturen haben eine runde Form und liegen nur einmal pro Zelle vor. In weiteren Arbeiten der Arbeitsgruppe um PD Dr. Dr. Nawrotzki wurden Gephyrin-positive Strukturen bisher ausschließlich in murinen Geweben untersucht.

Die vorliegende Dissertationsarbeit hatte zum Ziel, die Vorarbeiten auf Reproduzierbarkeit zu überprüfen, das Vorkommen der Gephyrin-positiven Strukturen in verschiedenen Spezies, insbesondere humanem Gewebe, zu untersuchen und eine mögliche Induktion der Gephyrin-positiven Strukturen unter pathologischen Bedingungen und zellulärem Stress herauszuarbeiten. Diese Forschungsarbeiten wurden anhand von Immunfluoreszenzfärbungen und immunhistochemischen Färbungen auf kryokonserviertem Gewebe, Paraffingewebe und Zellkulturen vorgenommen.

Das Vorkommen der Gephyrin-positiven Strukturen in Astrozyten der Ratte und in Hepatozyten der Maus konnte verifiziert werden. Neu ist ihr Nachweis in perizentralen (und nicht periportal) Hepatozyten des Schweins und der NMRI-Maus sowie ihr Fehlen in der Leber des Menschen, des Kaninchens und des Rindes. Im Menschen exprimieren weiterhin Azinuszellen der Parotis und des Pankreas, Thymusepithelzellen, Parietalzellen des Magens, Gallenblasenepithelzellen, Zellen des distalen Tubulus und vermutlich Podozyten der Nieren die Gephyrin-positiven Strukturen. Ein wesentlicher und neuer Befund dieser Arbeit ist daher,

dass die Gephyrin-positiven Strukturen spezies-, gewebs- und zelltypspezifisch exprimiert werden und in den einschlägigen Zellen bisher ungeklärte Aufgaben übernehmen könnten. In pathologischen Geweben (Leberpathologien, Tumorgeweben) wird die Expression der Gephyrin-positiven Strukturen nicht induziert, jedoch führt eine Entartung von Gephyrin-positiven Strukturen-tragenden Zelltypen zu einem Verlust von Gephyrin-positiven Strukturen. Unter zellulärem Stress, ausgelöst durch Hypoxie-induzierendes Cobaltchlorid in Kombination mit HBSS-Glucose, konnten Gephyrin-positive Strukturen in murinen NIH-3T3-Zellen und primären Astrozyten der Ratte mehrfach pro Zelle induziert werden. Nach Entzug dieser Stressoren bildeten sich die Strukturen über einen Zeitraum von mehreren Stunden wieder zurück.

Aufgrund der Reproduzierbarkeit der Vorarbeiten der Arbeitsgruppe sowie der hier nachgewiesenen spezies-, gewebs- und zelltyp-spezifischen Expression der Gephyrin-positiven Strukturen, ist es sehr unwahrscheinlich, dass es sich bei den Gephyrin-positiven Strukturen um artifizielle Aggregate handelt.

Als Gemeinsamkeit der Zelltypen, die Gephyrin-positive Strukturen tragen, fällt auf, dass alle (außer Mesangiumzellen) epithelialen Ursprungs sind, exokrine Funktionen des jeweiligen Organs übernehmen und abgesehen von der Gallenblase GABA-Rezeptoren auf der Zelloberfläche tragen. Aufgrund dieser Gemeinsamkeiten wird eine Funktion der Gephyrin-positiven Strukturen in der exokrinen Funktion der Organe vermuten. Darüber hinaus wäre ein möglicher Zusammenhang der Gephyrin-positiven Strukturen mit der Molybdän-Cofaktor-Biosynthese denkbar. Möglich wäre weiterhin die Entstehung der Gephyrin-positiven Strukturen durch Phasenseparation oder durch Proteinaggregation im Proteinabbau. Vergleiche zwischen bekannten phasenseparierten biomolekularen Kondensaten bzw. Proteinaggregaten im Proteinabbau und den Gephyrin-positiven Strukturen zeigten, dass es sich tatsächlich um bisher unbekannte Zellorganellen handelt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Gephyrin neben den bisher bekannten Lokalisationen an der postsynaptischen Membran und im Zytosol in selektiven humanen und tierischen nicht-neuronalen Geweben eine bisher unbeschriebene subzelluläre Struktur ausbildet. Diese Gephyrin-positiven Strukturen werden spezies-, gewebe-, und zelltypspezifisch exprimiert. In physiologischem Zustand liegen sie nur einmal pro Zelle vor, unter Einwirkung von zellulärem Stress in Zellkulturen jedoch mehrfach pro Zelle. Die genaue Funktion der

Gephyrin-positiven Strukturen konnte im Rahmen der vorliegenden Dissertationsarbeit nicht geklärt werden., jedoch ist eine Beteiligung an der exokrinen Aktivität der Gephyrin-positiven Zelltypen oder auch eine Funktion in der Molybdän-Cofaktor-Biosynthese denkbar.