

- Zusammenfassung -

Markus Großmüller
Dr. med.

Wirkung von TGF- β auf Apoptose, Zellmigration und Zytoskelett kultivierter Maus-Podozyten

Fach / Einrichtung: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Burkhard Tönshoff

Ausgangspunkt dieser Arbeit war die Bedeutung von TGF- β in glomerulären Schädigungsprozessen, insbesondere für das Phänomen der Podozytopenie *in vitro* genauer zu untersuchen. Für eine Reihe von Nierenerkrankungen konnte eine erhöhte intraglomeruläre Expression von TGF- β nachgewiesen werden (Sayers et al 1999, Lee und Song 2010). Darüber hinaus wird TGF- β in der Folge einer podozytären Schädigung oder als Reaktion der Podozyten auf mechanischen Stress sezerniert (Perico et al 2016). Bisherige *in vitro* Untersuchungen konnten TGF- β als Auslöser zellulärer Apoptose identifizieren (Schiffer et al 2001, Böttinger und Bitzer 2002). Interessanterweise scheint der Vorgang der podozytären Apoptose *in vivo* aber eine geringe Relevanz zu haben, da histopathologisch zumeist keine apoptotischen Podozyten nachweisbar sind (Kriz et al 2013). Allerdings könnte dieser mangelnde Nachweis durch den Verlust apoptotischer Podozyten in den Urin erklärt sein. Gegen diese Sichtweise spricht, dass sich lebensfähige Podozyten im Urin nachweisen und rekultivieren lassen (Vogelmann 2003, Wiggins 2007 sowie Kriz et al 2013).

Unter der Behandlung mit TGF- β in niedrigen Konzentrationen zeigte sich *in vitro* keine vermehrte Apoptoserate der Podozyten. Unter diesen nicht-apoptotischen TGF- β -Konzentrationen wurde unter supraphysiologischen Scherkräften eine erhöhte podozytäre Abrissrate mit Hilfe der Flusskammer-Experimente nachgewiesen. Darüber hinaus konnte mittels *Wound Healing-Assay*, *Live Cell Imaging* und *Cell Tracking* eine erhöhte Migrationsrate detektiert werden.

Eine mögliche Ursache für ein vermehrtes Ablösen stellen die bekannten Expressionsveränderungen der Verankerungsproteine der Integrine dar (Dessapt et al 2009). Ferner konnte in dieser Arbeit eine Umverteilung fokaler Bindungsstellen gezeigt werden. Die Podozyten entwickelten unter nicht-apoptotischen TGF- β -Konzentrationen kleinere fokale Adhäsionen und bildeten gleichzeitig mehr fokale Adhäsionen aus. Diese morphologische Veränderung der fokalen Bindungsstellen scheint mit einer schwächeren Adhäsion der Podozyten assoziiert zu sein. Eine genauere Quantifizierung der Adhäsionskraft mit Hilfe einer

Kultivierung der Podozyten auf Mikrosäulen war das Ziel weiteren Untersuchungen, gelang *in vitro* allerdings nicht.

Darüber hinaus fördert TGF- β die Remodellierung des Aktinzytoskelett mit einer vermehrten Ausbildung von Zellprotrusionen und einem veränderten Aktinverteilungsmuster vergleichbar demjenigen in anderen beweglichen Zelltypen (Hotulainen und Lappalainen 2006).

Inwiefern der Vorgang der Migration auch *in vivo* eine Rolle spielt, bleibt weiterhin unklar. So konnte die Arbeitsgruppe um Peti-Peterdi in Glomeruli Migration von Podozyten nachweisen (Peti-Peterdi und Sipos 2010). Kriz und Kollegen schätzten den Vorgang der Migration für die Podozyten als risikoreiches und daher seltenes Manöver ein, mit der Gefahr des *detachements* (Kriz et al 2013). Untersuchungen von Brähler et al beschrieben Podozyten *in vivo* als stationäre Zellen ohne signifikante Migration (Brähler et al 2016). Denkbar erscheint, dass Migration als Bestandteil eines Anpassungsmechanismus mit zunächst erhöhter podozytärer Migration zum Schließen aufgetretener Lücken im podozytären Zellverband verstanden werden kann. Ergebnisse dieser Arbeit stützen die Rolle von TGF- β in diesem Prozess. Umgekehrt scheint TGF- β dann aber auch die podozytäre Adhärenz zu senken und somit eine Verstärkung des *detachements* z.B. unter erhöhtem *Shear Stress* zu unterstützen. Wie in anderen Prozessen, könnte TGF- β durch ein grundsätzlich reversibles *Remodeling* somit zunächst eher protektive Effekte für den Erhalt der podozytären Filtrationsbarriere haben, um dann bei prolongierter Exposition in einen eher progressiv schädigenden Prozess überzugehen, der mit vermehrtem *detachment* die Podozytopenie vorantreibt.