

## **Die Rolle des Aktinnukleators Spire-1 in der Anti-Podozyten Glomerulonephritis der Maus (*Mus musculus*, Linnaeus, 1758)**

Glomeruläre Nephropathien sind der häufigste Grund proteinurischer Nierenerkrankungen (Wasserstein AG, 1997; Glassock RJ, 2003; Fervenza FC, *et al.*, 2008). Häufig kommt es in diesen Erkrankungen zu einer Schädigung der glomerulären Filtrationsbarriere. Diese besteht aus drei Elementen: der vaskulären Endothelzellen, der GBM und den glomerulären Epithelzellen, den Podozyten. Den Podozyten wird durch die Ausbildung der Schlitzmembran die ausschlaggebende Funktion der Blutfiltration, hinsichtlich der Größenselektivität und Effizienz zugeschrieben. Podozyten spielen häufig eine entscheidende Rolle bei der Initiation und Progression immun- und nicht immunmediierter glomerulärer Schädigung. Dabei führt die Schädigung der Podozyten durch Fußfortsatzverschmelzung und/oder Schlitzmembranreorganisation zu massiver Proteinurie. Daher sind intakte Podozyten mit ihrem hochdifferenzierten Zytoskelett unabdingbar für eine ungestörte Funktion. Die zugrundeliegenden Mechanismen für podozytäre Fußfortsatzverschmelzung ist bis heute weitgehend ungeklärt. Um diese zu untersuchen wurde im Rahmen dieser Arbeit ein neues Modell einer immunvermittelten Podozytenschädigung, Anti-Podozyten-Nephritis genannt, in der Maus und der Zellkultur generiert. Dafür wurde ein Schaf-anti-Podozyten Serum produziert. Dieses sollte bei intravenöser Applikation in Mäusen eine glomeruläre Schädigung direkt am Podozyten induzieren. Schaf IgG Färbungen AP-Serum behandelte Tiere wiesen ein lineares Ablagerungsmuster entlang der GBM und den Podozyten auf, wogegen Kon-Serum behandelte Tiere kein solches Ablagerungsmuster aufwiesen. AP-Tiere wiesen weiterhin starke PAS positive Ablagerungen innerhalb der Glomeruli mit hochwahrscheinlichem Podozytenverlust auf. Eine immunologische Reaktion der AP-Tiere auf das injizierte Schafantiserum konnte durch Ablagerung von Maus IgG bestätigt werden. Diese Ablagerung fand ebenfalls linear entlang der GBM statt. Die renale Funktion war analog dazu schwer beeinträchtigt. AP-Tiere entwickelten ab etwa Tag 5 nach Injektion eine schwere Proteinurie mit progressivem Verlauf. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten proteinurische AP-Tiere starke Fußfortsatzverschmelzungen, subepitheliale Depots und Schaf IgG Ablagerungen in der GBM und an Podozyten. Im Rahmen der Experimente konnte der Aktinnukleator Spire-1 erstmals in der Mausniere dargestellt werden. Proteinurische Tiere wiesen in immunhistochemischen Färbungen von Organschnitten eine

verstärkte Spire-1 Expression auf. Zusammengefasst wurde ein neues Modell muriner glomerulärer Nephropathie mit schwerer podozytärer Schädigung generiert. Für weitere Untersuchungen podozytärer Reorganisation wurde ein analoges APN-Modell in Zellkultur etabliert. AP-Serum behandelte differenzierte Podozyten zeigten im Vergleich zu Kontrollzellen mit „arborisierten“ Phänotyp mit langen Zellfortsätzen und filigranen Zell-Zell Kontakten eine ausgeprägte Retraktion ihrer Fortsätze. Zell-Zell Kontakte zwischen AP-Serum behandelten Zellen erschienen verschmolzen, wobei die Zellmembranen benachbarter Zellen direkt aneinander anlagen. Diese Veränderungen sind Fußfortsatzverschmelzungen *in vivo* sehr ähnlich. Die Veränderungen waren ebenfalls auf zytoskeletaler Ebene sichtbar. Sowohl Aktin- als auch Tubulinfilamente erschienen zurückgezogen. Das hier vorgestellte Modell zeigt einen bemerkenswerten Unterschied zu anderen Zellkulturmodellen podozytärer Schädigung. Durch AP-Serum geschädigte Tiere zeigen weder aktinreiche Zentren (ARC) noch häufig auftretende Stressfasern wie sie für Schädigung durch mechanischen Stress oder LPS nachgewiesen sind, was einen von diesen abweichenden Mechanismus impliziert.

Um die Beteiligung von Spire-1 im Kontext dieser Veränderungen zu untersuchen, wurden stabile Spire-1 miRNA Einzelzelllinien generiert, bei denen die Expression um 72-77 % reduziert war. Diese Zellen wiesen keinen von Kontrollzellen abweichenden Phänotyp auf. Auch nach Induktion des APN-Modells wiesen sie weder in ihrer Morphologie noch auf zytoskeletaler Ebene Unterschiede zu Kontrollzellen auf. Demzufolge spielt Spire-1 keine nennenswerte Rolle bei der Fortsatzretraktion in diesem Modell. Weiterhin konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, dass der einzig erhältliche Spire-1 Antikörper in den durchgeführten Untersuchungen nicht geeignet ist Spire-1 zweifelsfrei darzustellen.

Zusammengefasst wurde ein neues immunmediertes Modell glomerulärer Schädigung mit Analogien zur membranösen Nephropathie im Mensch in der Maus und einem korrespondierenden Zellkultur Modell generiert werden. Dadurch wird es in Zukunft möglich sein immunvermittelte Pathologien podozytärer Schädigung *in vivo* und *in vitro* simultan in vergleichbaren Modellen zu untersuchen.