

Acute podocyte injury is not a stimulus for podocytes to migrate along the glomerular basement membrane in zebrafish larvae

Florian Siegerist, Antje Blumenthal, Weibin Zhou, Karlhans Endlich, Nicole Endlich



Scientific Reports

März 2017

Institut für Anatomie und Zellbiologie

Universitätsmedizin Greifswald

Wie mobil sind Podozyten?

von Florian Siegerist & Nicole Endlich
 editiert von Markus Kipp (LMU München)

Einleitung

Podozyten, die viszeralen Epithelzellen des renalen Glomerulus, haben eine beeindruckende dreidimensionale Struktur. Von den Zellkörpern gehen lange Primärfortsätze aus, die wiederum Ursprung von den namensgebenden Fußfortsätzen sind. Diese interdigitieren reißverschlussartig auf der glomerulären Basalmembran und ermöglichen, zusammen mit den kapillären Endothelzellen, eine hochselektive Filtration des Blutes.

Bisher vertraten einige Wissenschaftler die Ansicht, Podozyten seien *in situ* mobile Zellen und würden, besonders in erkrankten Nieren, entlang der Basalmembran wandern. Da ein größerer Verlust von Podozyten zu chronischen Nierenerkrankungen führt, was letztendlich im kompletten Versagen der Niere endet, wäre eine Migrationsfähigkeit der Podozyten auch eine essentielle Voraussetzung für die vielfach kontrovers diskutierte Regenerationsmöglichkeit von geschädigten postmitotischen Podozyten durch das Einwandern von Vorläuferzellen.

Um diese zentrale Frage zu beantworten haben wir mithilfe einer speziellen Technik, der 2-Photonenmikroskopie, das Verhalten von einzelnen Fluoreszenz-markierten Podozyten in der vereinfachten Niere der Zebrafischlarve, dem Pronephros, untersucht.

Das Podozytenschädigungsmodell für die *in vivo* Mikroskopie

Wir nutzen einen transgenen Zebrafischstamm, der neben Fluoreszenzproteinen podozytenspezifisch auch ein Gen exprimiert, welches aus dem Antibiotikum Metronidazol eine toxische Substanz generiert, die zur spezifischen Apoptose von Podozyten führt. Durch den Einsatz der *in vivo* 2-Photonenmikroskopie, konfokaler Laser Scanning Mikroskopie (LSM), klassischer Histologie und der Elektronenmikroskopie (TEM) konnten wir zeigen, dass Podozyten in diesem Schädigungsmodell ihre typische Fußfortsatz-Morphologie verlieren und sich sub-podozytäre Pseudozysten bilden, in deren Bereichen sich die Podozyten von der glomerulären Basalmembran ablösen. Somit entstehen, analog zur Erkrankung im Menschen, Bereiche nackter glomerulärer Basalmembran.

Da in unserem Schädigungsmodell nur ein Teil der Podozyten auf diese Weise geschädigt wurde, konnten wir das Verhalten von den *in situ* verbliebenen Podozyten über einen Zeitraum von 24 Stunden beobachten. Während dieser Zeit konnten wir keine signifikante laterale Migration der Podozyten auf der Basalmembran beobachten, sodass wir heute davon ausgehen, dass Podozyten auch im Krankheitsfall keine laterale Bewegungen durchführen.

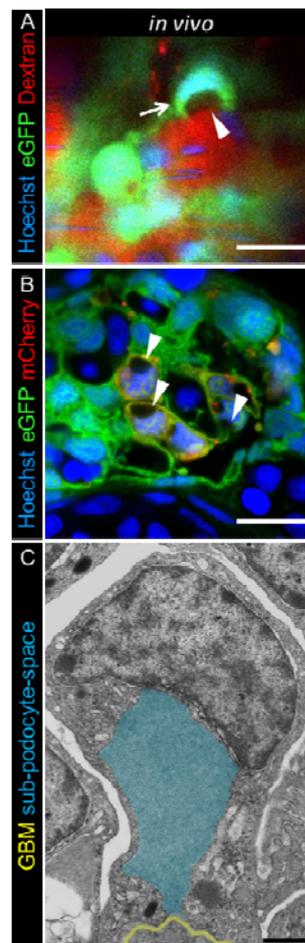


Fig. 1 zeigt eine sub-podozytäre Pseudozyste (Pfeilspitze in A) mit Hilfe der *in vivo* 2-PM (Podozyten in grün, glomeruläre Kapillaren in rot durch Injektion von TRITC-Dextran), (B) im LSM (Pfeilspitze) und TEM (blauer Bereich in C). Skalierung: 5 μ m in A, B und 1 μ m in C. Hoechst: Zellkerne

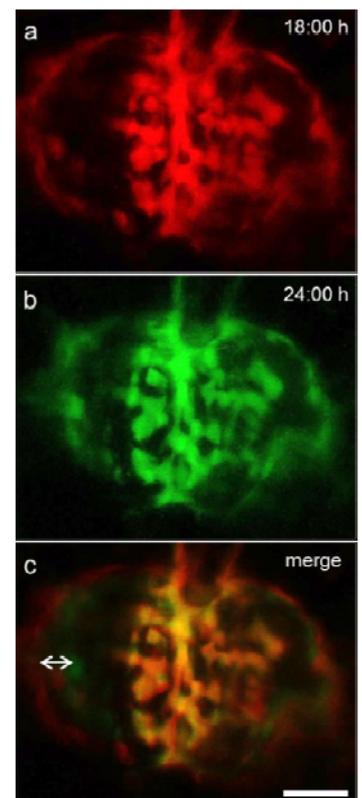


Fig. 2 zeigt eine 3D-Rekonstruktion des selben Glomerulus bei $t=18$ und $t=24$ h. Die Podozyten (grün und rot), die auf den glomerulären Kapillaren sitzen, überlagern nahezu vollständig (gelb). Erweiterung der Bowman Kapsel (Pfeil). Skalierung: 25 μ m

Weitere Informationen

Prof. Dr. rer. nat. Nicole Endlich
 Institut Anatomie und Zellbiologie
 Friedrich-Loeffler-Str. 23c
 17487 Greifswald
nicole.endlich@uni-greifswald.de