

Jürgen Doderer
Dr. med.

Expression der induzierbaren NO-Synthase in Endothelzellen und vaskulären glatten Muskelzellen von Mensch und Ratte - Einfluß von Nifedipin

Geboren am 04.06.1971 in Pforzheim
Staatsexamen am 24.10.2001 an der Universität Göttingen

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hecker

Die induzierbare NO-Synthase (iNOS) spielt in der Entstehung der Arteriosklerose eine bedeutende Rolle. Eine vorausgehende Studie in glatten Gefäßmuskelzellen der Ratte konnte zeigen, dass Nifedipin die Zytokin-induzierte iNOS-Expression steigert und parallel die Expression proarteriosklerotische Genprodukte hemmt.

Im Anschluß an diese Studie wurde zunächst der Einfluss verschiedener Zytokine sowie deren Kombination auf die iNOS-Expression in glatten Gefäßmuskelzellen der Ratte mittels RT-PCR und Westernblot Analytik untersucht. Dabei zeigte sich, dass es unter der Stimulation mit Interleukin-1 β und Tumornekrosefaktor- α (TNF α) sowie Interferon- γ und TNF α nach 6 bzw. 18 Stunden zu einem signifikanten Anstieg der iNOS-mRNA bzw. des iNOS-Proteins kommt, wobei die Kombination mit Interferon- γ einen deutlich stärkeren Stimulationseffekt hatte. Mit Hilfe der dODN-Technik erfolgte anschließend die Charakterisierung der bei der Induktion der iNOS-Expression in diesen Zellen beteiligten Transkriptionsfaktoren. Dabei konnte die Zytokin-induzierte Expressionssteigerung der iNOS durch ein C/EBP dODN signifikant gehemmt werden, während die Expression des Adhäsionsmoleküls VCAM-1 unbeeinflusst war.

Im nächsten Schritt wurde untersucht, inwieweit der Calciumantagonist Nifedipin ebenfalls die Zytokin-stimulierte Expression der iNOS in humanen kultivierten Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen beeinflusst. Dazu musste zunächst die Isolierung und Kultivierung dieser Zellen etabliert werden. Zum Vergleich der effektiven Wirkdosis der Calciumantagonisten Nifedipin und Verapamil, erfolgten Organbaduntersuchungen an nativen Umbilikalvenensegmenten. Dennoch zeigte Nifedipin keinen Effekt auf die Zytokin-stimulierte iNOS-Expression in den humanen kultivierten Gefäßzellen.

Schließlich konnte mit Hilfe der dODN-Technik gezeigt werden, dass in humanen Monozyten (Zelllinie THP-1) und glatten Gefäßmuskelzellen die Regulation der Expression der iNOS wesentlich komplexer ist, als beispielsweise in den glatten Gefäßmuskelzellen der Ratte und einer bestimmten Kombination der vorgenannten Zytokine bedarf, wobei bakterielles Lipopolysaccharid einen ausgeprägten synergistischen Effekt hat, und demzufolge von einer Reihe von Transkriptionsfaktoren (AP-1, C/EBP, NF- κ B, STAT-1 und IRF-1) gesteuert wird. Dabei werden die stärksten Hemmeffekte beim Einsatz der gegen IRF-1 bzw. STAT-1 gerichteten dODN beobachtet. Diese beiden Transkriptionsfaktoren werden Interferon- γ -abhängig aktiviert.

Möglicherweise könnte ein auf dieser Basis entwickelte dODN-Ansatz von therapeutischem Nutzen für die Hemmung der überschießenden iNOS-Expression beim septischen Schock und der damit assoziierten hypotensiven Krise sein.