

Manfred Borislav Klevesath  
Dr. med.

## **AGE/RAGE-vermittelte, kontinuierliche Aktivierung von NF- $\kappa$ B im Endothel**

Geboren am 31.07.1969 in Hamburg  
Reifeprüfung am 03.06.1988 in Hamburg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992 bis WS 1998  
Physikum am 31.03.1993 an der Universität Hamburg  
Klinisches Studium in Hamburg, Bordeaux (Frankreich) und Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg  
Staatsexamen am 05.11.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. P. P. Nawroth

Der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B spielt eine zentrale Rolle bei der Aktivierung eines Endothel-vermittelten entzündlichen Geschehens. Eine Vielzahl unterschiedlichster Stimuli führt dazu, daß er aus seinem zytoplasmatischen Komplex mit seinem Inhibitor freigesetzt wird, in den Zellkern transloziert und dort die Expression einer Reihe von Genen steuert, die an der Initiation und Erhaltung einer akuten entzündlichen Reaktion beteiligt sind. Seine Transkriptionsaktivität endet in der Regel nach einer kurzen, maximal einige Stunden andauernden Phase, indem er durch den neusynthetisierten Inhibitor wieder in den inaktiven Komplex überführt wird.

Neuere Untersuchungen belegen, daß NF- $\kappa$ B auch an der Pathogenese chronisch-entzündlicher Prozesse (wie z. B. der Atherosklerose) entscheidend beteiligt ist. Welche Aktivierungs- und Inaktivierungsmechanismen dieser lang andauernden Transkriptionsaktivität zugrunde liegen, ist bislang nur teilweise bekannt.

Ein anderes System, daß zur Entstehung Endothelzell-vermittelter, chronischer Entzündungen führt, ist das AGE-RAGE-System. AGEs (Advanced Glycation Endproducts, Fortgeschrittene Glykierungsendprodukte) entstehen über eine Reihe komplexer, Reaktionen nach lang andauernder Exposition von Proteinen oder Lipiden mit reduzierenden Zuckern, wie z. B. Glukose. Über anfänglich noch reversibel gebildete Zwischenprodukte entstehen schließlich nach intramolekularen Umlagerungen und Quervernetzungen die irreversiblen AGEs. Die Bildung von AGEs findet während des normalen Alterungsprozesses sowie in gesteigertem Maße u. a. bei Diabetes mellitus und der Alzheimer-Krankheit statt. Über die Bindung von AGEs an RAGE, den Rezeptor für AGE, kommt es zur Bildung von oxidativem Streß, zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B mit nachfolgender Induktion pathogenetisch relevanter Faktoren (wie z. B. dem VCAM-I) und damit zu einer Störung der endothelialen Homöostase. Die Interaktion von AGEs und RAGE ist daher u. a. für die Entstehung vaskulär bedingter diabetischer Komplikationen verantwortlich gemacht worden.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir anhand einer Rinderendothelzell-Kultur, nach welcher Kinetik die AGE-vermittelte Aktivierung von NF- $\kappa$ B abläuft. Als Vergleichskontrolle wählten wir die Aktivierung von NF- $\kappa$ B durch den klassischen Aktivator TNF- $\alpha$ . Zur Beurteilung der AGE-abhängigen Induktion von NF- $\kappa$ B nutzten wir die EMSA-Technik. Die transiente Transfektion von Rinderendothelzellen mit einem NF- $\kappa$ B-kontrollierten Luziferase-Reporter-Gen diente dazu, die funktionelle Wirksamkeit der AGE-vermittelten NF- $\kappa$ B-Induk-

tion zu überprüfen. Durch die Klonierung eines löslichen RAGE-Moleküls untersuchten wir, ob die AGE-abhängige Aktivierung von NF- $\kappa$ B über RAGE vermittelt wird.

Die Untersuchungen ergaben, daß sich die beiden Aktivatorsysteme TNF- $\alpha$  und AGE hinsichtlich ihrer Kinetik deutlich unterschieden: Während die TNF- $\alpha$ -vermittelte Induktion von NF- $\kappa$ B nur für wenige Stunden anhielt, ließ sich die Aktivität von NF- $\kappa$ B nach Stimulation mit AGE noch nach sechs Tagen nachweisen. Die Ergebnisse der transienten Transfektion zeigten, daß diese Aktivität auch funktionell wirksam war und zu einer über den gesamten Zeitraum anhaltenden Genaktivierung führte. Durch die Zugabe des löslichen RAGE als kompetitiven Inhibitor konnten wir schließlich nachweisen, daß die AGE-abhängige Aktivierung von NF- $\kappa$ B über den Rezeptor für AGE (RAGE) vermittelt wird.

Die vorliegenden Ergebnisse liefern damit ein Erklärungsmodell für die Entstehung eines Endothelzell-vermittelten, chronisch-entzündlichen Geschehens. Die normalerweise für die Homöostase der Zelle erwünschte rasche Inaktivierung von NF- $\kappa$ B findet bei der AGE-RAGE-vermittelten Induktion nicht statt. Statt dessen beobachteten wir eine über mehrere Tage anhaltende Aktivität von NF- $\kappa$ B, die über eine lang andauernde Expression von Entzündungsmediatoren die Entstehung eines chronisch-entzündlichen Prozesses erklären kann.

Ungeklärt bleibt bislang, wie sich die unterschiedlichen Aktivierungsmodi auf zytoplasmatischer Ebene unterscheiden. Der klassische Inaktivierungsweg über die Neusynthese des Inhibitors I $\kappa$ B scheint für die AGE-RAGE-vermittelte Induktion von NF- $\kappa$ B nicht zuzutreffen oder zumindest nicht auszureichen. Ob und wie er umgangen wird, bedarf noch weiterer Untersuchungen.

An dieser Stelle eröffnen sich dann auch therapeutische Ansätze zur Unterbindung einer Endothelzell-vermittelten chronischen Entzündung, die v. a. bei der Behandlung von vaskulär bedingten Spätkomplikationen chronischer Erkrankungen zur Anwendung kommen könnten.