



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Wirkung eines hyperglykämischen Milieus auf die
Heparansulfatproteoglykansynthese der glomerulären
Basalmembran durch Hemmung bzw. Hochregulation der DAST1-
mRNA-Expression**

Autor: Hanno Keller
Einrichtung: V. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. F. J. van der Woude

In der vorliegenden Arbeit sollte die Deckert-Hypothese (Steno-Hypothese) überprüft werden. Im Vordergrund stand die Annahme Deckerts einer durch einen genetischen Polymorphismus des Enzyms DAST hervorgerufenen Expression diverser DAST-Iso-Enzyme, welche in unterschiedlicher Art und Weise auf ein hyperglykämisches Milieu reagierten.

Wir wollten diesen Sachverhalt in Experimenten mit Fibroblasten-Zellkulturen aus Hautbiopsaten von Patienten mit Diabetes mellitus Typ II und DN (Mikroalbuminurie/Proteinurie), Patienten mit Diabetes mellitus Typ II ohne DN und einer gesunden Kontrollgruppe näher analysieren. Des weiteren analysierten wir die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Ang. II auf Mesangialzellen und Endothelzellen (HUVEC). Ferner wurde die DAST1-mRNA-Expression der oben aufgeführten Zelltypen unter normo- [5mM D-Glucose] und hyperglykämischen [25mM D-Glucose] Bedingungen untersucht. Im Falle der Mesangial- und Endothelzellen zeigten wir den Einfluß von Ang. II auf die DAST1-mRNA-Expression auf.

Unsere Ergebnisse zeigen bei Gesunden (Gruppe IV, Kap. 3.1, S.51, Grafik 4) eine Hochregulation der DAST1-mRNA-Expression in hyperglykämischem Milieu. Dabei verzeichneten wir einen Anstieg des DAST1/GAPDH-Quotienten, was darauf hindeutet, daß die DAST1-mRNA-Expression unter hyperglykämischen im Vergleich zu normoglykämischen Bedingungen einer signifikanten Hochregulation bei Gesunden unterliegt ($p=0,01$). Somit scheint eine gesunde Population durch einen Anstieg der DAST1-mRNA-Expression sensibel auf ein hyperglykämisches Milieu zu reagieren.

Innerhalb der diabetischen Gruppen I-III konnten keine signifikanten Ergebnisse bezüglich einer Hochregulation bzw Hemmung der DAST1-mRNA-Expression unter normo- und hyperglykämischen Bedingungen aufgezeigt werden ($p>0,05$).

Ein Vergleich der Gruppen I-IV der mit den gleichen Kulturmedien stimulierten Fibroblasten-Zellkulturen durch eine ANOVA-Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede der DAST1-mRNA-Expression ($F>0,05$).

Weiterhin konnten wir in Experimenten mit Mesangialzellen und Endothelzellen (HUVEC) die Wirkung von Ang. II auf die DAST1-mRNA-Expression aufzeigen. Dabei erfolgte eine signifikante Hochregulation der DAST1-mRNA-Expression durch Ang. II.

Des weiteren belegen Forschungsergebnisse, daß hyperglykämische Bedingungen zu einer Hemmung der HSPG-Synthese und einem verminderten Gehalt an Agrin (HSPG-Core Protein) in der GBM führen. Womöglich könnte eine Abnahme von Agrin einen hemmenden Einfluß auf die DAST-Aktivität haben. Weiterhin könnte es aufgrund eines genetischen Polymorphismus zur Expression von DAST-Iso-Enzymen mit eingeschränkter Aktivität kommen. Daher könnte eine Störung auf der Aktivitätsebene der DAST1 bei Diabetikern zu suchen sein.

In unserer Arbeit konnten wir somit eine Hochregulation der DAST1-mRNA-Expression unter hyperglykämischen Bedingungen bei Gesunden aufzeigen, weshalb wir hier einen Mechanismus zur Aufrechterhaltung einer suffizienten Sulfatierung der HS-GAGs vermuten.

Vorherige Studien belegen eine Hemmung der HSPG-Synthese durch Ang. II. Überraschenderweise konnten wir eine Hochregulation der DAST1-mRNA-Expression durch Ang. II in Endothel- und Mesangialzellen nachweisen.

Die hier vorgelegten Daten weisen nicht darauf hin, daß ein genetischer Polymorphismus des Enzyms DAST1 zu einer erhöhten Empfindlichkeit für die Entwicklung einer DN führt. Weitere Studien über mögliche Polymorphismen des Enzyms DAST2 sollten unsere Daten ergänzen.