

Volker Haxsen
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zur Wirkung von Retinoiden auf glatte Gefäßmuskelzellen – Hemmung von Angiotensin II

Geboren am 05.02.1968 in Falls Church, Virginia (USA)
Reifeprüfung am 03.06.1987
Studiengang der Fachrichtung Diplom-Biologie vom WS 1988 bis SS1996
Vordiplom am 25.09.1990 an der Universität Oldenburg
Diplom am 11.07.1996 an der Universität Oldenburg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. E. Ritz

Retinoide hemmen die Angiotensin II (AngII)-induzierte Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen (VSMC)

In dieser Arbeit wurden am Modell der VSMC-Primärzellkulturen die antiproliferativen Eigenschaften der Retinoide auf die AngII-induzierte Proliferation untersucht. Sowohl mehrtägige Wachstumsexperimente, als auch die Inkorporation von markiertem Thymidin- und Prolin belegten eindeutig die dosisabhängige Hemmung der AngII-stimulierten VSMC-Proliferation durch all-trans Retinsäure (RA). Grundlage für die Wirkung der Retinoide ist die zelluläre Expression von Retinoidrezeptoren. Sowohl Retinoic Acid Receptors (RARs) als auch Retinoic X Receptors (RXRs) werden von VSMC auf der Ebene von mRNA und Protein exprimiert. Mithilfe spezifischer Agonisten für RARs (all-trans RA, AM580) und RXRs (9-cis RA, BMS649) wurde ferner demonstriert, daß die antiproliferative Wirkung von Retinoiden bei VSMC von beiden Retinoidrezeptorklassen ausgeht.

All-trans RA hemmt die AngII-stimulierte AP-1-Aktivität

Eine der Wirkungsmechanismen von Retinoiden ist die Hemmung von Activator Protein-1 (AP-1). Anhand von Reporter-Gen-Assays konnte gezeigt werden, daß die mit AngII stimulierte AP-1-Aktivität durch all-trans RA gesenkt wird. Kotransfektionen von RAR- oder RXR-kodierenden Plasmiden belegten darüberhinaus die Beteiligung beider Rezeptorklassen an der Anti-AP-1-Wirkung von all-trans RA in VSMC.

All-trans RA hemmt die Expression des (Angiotensin-) AT₁-Rezeptors über AP-1

Für die Vermittlung der AngII-Wirkungen wie Proliferation und Stimulation der Matrixsynthese ist der AT₁-Rezeptor zuständig. Anhand der mRNA-Expression und des Bindungsverhaltens gegenüber dem AT₁-spezifischen Liganden Losartan[®] (DuP753) wurde der Einfluß von all-trans RA auf den AT₁-Rezeptor in VSMC untersucht. Innerhalb von 24h halbierten sich mRNA-Expression und Rezeptoranzahl durch all-trans RA. Da der Promoter des AT₁-Rezeptors eine AP-1-Bindungsstelle enthält, lag es nahe, die Rolle dieser Bindungsstelle bei der Hemmung der Expression des Rezeptors durch all-trans RA zu untersuchen. Dazu wurden Reporter-Genkonstrukte des AT₁-Rezeptorpromotors erstellt. Um die Funktion der AP-1-Bindungsstelle in diesem Promoter zu evaluieren, wurde über eine Punktmutation diese AP-1-Bindungssequenz inaktiviert. AngII stimulierte die AT₁-

Promotoraktivität, all-trans RA senkte die AngII-induzierte Promotoraktivität. All-trans RA war durch die fehlende AP-1-Sequenz nicht mehr in der Lage, die durch AngII stimulierte AT₁-Promoteraktivität zu senken.

Diese Untersuchungen belegten, daß Retinoide über ihre inhibierende Wirkung auf die AP-1-Aktivierung nicht nur die Auswirkungen der AngII-Stimulation wie der VSMC-Proliferation, sondern auch die Sensitivität der Zielzellen gegenüber AngII durch die Hemmung der AT₁-Rezeptorexpression zu beeinflussen vermögen.

All-trans RA hemmt die mRNA-Expression von TGF- β 1 (Transforming Growth Factor) und extrazellulärer Matrix

All-trans RA inhibiert die AngII-stimulierte mRNA-Expression von TGF- β 1 in VSMC komplett. Ruhende VSMC, die mit all-trans RA behandelt wurden, wiesen im Vergleich zu Kontrollkulturen neben der verringerten TGF- β 1-mRNA-Expression auch eine reduzierte Expression von Fibronectin und Kollagen-IV auf. Die enge Korrelation verringerter mRNA-Expression von TGF- β 1 einerseits und extrazellulärer Matrix andererseits legt eine gekoppelte Regulation nahe und befindet sich in Übereinstimmung mit der Literatur.