



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

Die Modulation der Angiotensin II vermittelten Signale durch Heparansulfat-Glycosaminoglycane: eine mögliche Rolle von Syndecan-2

Autor: Hannes Köppel
Institut / Klinik: V. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. F. J. van der Woude

Mit der vorliegenden Studie sollte geklärt werden, ob und wie Heparin und Heparansulfat Glycosaminoglycane (HS-GAG) in der Lage sind, das von Angiotensin II (Ang II) vermittelte Signal auf humanen Mesangialzellen (MC) zu modulieren.

Hierzu wurden MC aus dem Kortex von humanen Nieren isoliert und in DMEM mit 20% FCS kultiviert. Für jedes Experiment wurde den Zellen mindestens einen Tag lang das Serum entzogen, um vor Ang II – Gabe ruhende, nicht vorstimulierte Zellen zu erhalten. Um die Effekte von Heparin auf das von Ang II vermittelte Kalzium-Signal (Ca^{2+} -Signal) zu studieren, wurde das freie intrazelluläre Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) über den Indikator Fura-2 gemessen und die Aktivierung des NF κ B mittels EMSA betrachtet.

Die Stimulation von MC mit 100 nM Ang II zeigte einen schnellen Anstieg des $[Ca^{2+}]_i$, gefolgt von einer raschen Abnahme zu Ausgangswerten. Die Beimengung von Heparin oder HS-GAG zum Ang II hatte ein oszillierendes Ca^{2+} -Signal zur Folge, dem initialen Anstieg folgten weitere, kleinere Erhöhungen des $[Ca^{2+}]_i$. Die erste, schnelle Spitze des $[Ca^{2+}]_i$ wurde von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern gespeist, während die anschließenden Oszillationen die Folge eines Einstroms von extrazellulärem Ca^{2+} waren. Heparin alleine bewirkte kein Ca^{2+} -Signal. Sowohl der initiale Ca^{2+} -Anstieg als auch die folgenden Oszillationen des $[Ca^{2+}]_i$ konnten mit Losartan, einem Ang II Rezeptor Typ 1 Antagonist, geblockt werden. Bei MC mit chemisch oder enzymatisch veränderten membranständigen HS-GAG resultierte die Stimulation mit Ang II in einer Oszillation des $[Ca^{2+}]_i$. Weiter zeigten auch MC, die mit einem Syndecan-2 Antisense Konstrukt transfiziert wurden, dieses oszillierende Ca^{2+} -Signal auf Ang II. Eine Stimulation dieser Zellen unter Beimengung von Heparin oder HS-GAG zum Ang II verhinderte die Oszillation und zeigte einen einfachen Anstieg des $[Ca^{2+}]_i$.

Die Aktivierung des NF κ B wurde nach Stimulation mit Ang II verstärkt, unter Heparin reduziert und unter Ang II mit Heparin überwog die Hemmung. Nach Veränderung des zellassozierten HS-GAG durch Kultivierung in Chlorat war jedoch unter Stimulation mit Ang II alleine keine Reduktion der Aktivierung zu beobachten. Dies läßt keine Verbindung der Hemmung der Aktivierung des NF κ B unter normalen Bedingungen durch Ang II + Heparin und der darunter gesehenen Ca^{2+} -Oszillation herstellen.

Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, daß die Veränderung der zellassozierten HS-GAG unter pathologischen Bedingungen wie denen der Diabetischen Nephropathie eine direkte funktionelle Konsequenz auf die lokalen Effekte des Ang II haben.