

Štefan Porubský
Dr.med.

Einfluss von nativen und oxidativ modifizierten low density Lipoproteinen auf die Genexpression in humanen proximalen Tubulusepithelien in Kultur. Korrelation zu humanen Nierenbiopsien.

Geboren am 25.8.1977 in Pressburg (Bratislava, Slowakei)
Reifeprüfung am 31.5.1996 in Prag (Tschechische Republik)
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996 bis SS 2003
Physikum am 30.6.1998 an der Universität Prag
Klinisches Studium in Prag und in Heidelberg
Praktisches Jahr in Prag
Staatsexamen am 4.6.2003 an der Universität Prag

Promotionsfach: DKFZ
Doktorvater: Univ. Prof. Dr. med. Hermann-Josef Gröne

Eine Proteinurie tritt bei mehreren renalen Erkrankungen mit unterschiedlicher Genese auf. Sie wird allerdings nicht nur als eine gemeinsame Folge unterschiedlicher Pathomechanismen, die den glomerulären Filtrationsvorgang stören, diskutiert, sondern auch als ein pathophysiologischer Faktor, der sich selbst an der Progression von Nierenerkrankungen beteiligt. Exzessive Proteinkonzentrationen im Primärharn führen zu einer erhöhten Resorptions- und Speicheraktivität der Tubuluszellen. Dies kann einerseits eine aktivierende Auswirkung auf die Tubulusepithelien haben, andererseits werden diese auch den potentiell toxischen Effekten, welche die im Tubulus erscheinenden Proteine haben können, ausgesetzt. Die filtrierte Plasmaproteine stellen eine heterogene Gruppe von Molekülen dar, die in Tubuluslumina nicht nur in ihrem natürlichen Zustand, sondern auch in einer oxidativ veränderten Form auftreten können. Diese Modifikation ist auf Sauerstoffradikale und Hypochlorsäure (HOCl) zurückzuführen, die durch mononukleäre inflammatorische und renale Zellen produziert werden. Die oxidative Modifikation verändert die biologischen Eigenschaften der Plasmaproteine. Dies konnte auch für Lipoproteine überzeugend gezeigt werden. Deshalb wurde die Hypothese aufgestellt, dass sich natives und HOCl-modifiziertes LDL (HOCl-LDL) in ihren Effekten auf proximale Tubuluszellen unterscheiden, und dass HOCl-LDL in den Tubuluszellen einen erhöhten Zellstress und eine ausgeprägte Hochregulation von proinflammatorischen Mediatoren hervorruft.

Als Modell diente eine immortalisierte Zelllinie proximaler Tubulusepithelien: HK-2, zu der natives bzw. HOCl-modifiziertes LDL gegeben wurde. Zuerst wurden die Proliferations- und Apoptoserate unter ihren Einflüssen getestet. Expressionsanalyse mit cDNA-Makroarrays gefolgt von quantitativer RT-PCR identifizierte dann die differentiell exprimierte Gene. Die biologische Relevanz dieser Ergebnisse wurde *in vivo* für eine Gruppe dieser Gene mittels quantitativer RT-PCR in mikrodisszezierten Tubulointerstitia humaner Nieren untersucht. Es wurden Nieren mit (1) Proteinurie ohne Tubulusschaden (minimal change disease, MCD), (2) Proteinurie und Tubulusschaden (membranöse Glomerulonephritis, MGN) und (3) akuten Tubulusschäden (Transplantatnieren ohne Rejektion mit akutem Tubulusschaden, ATD) verwendet. MCD und MGN-Biopsien mit Kreatininwerten unter 1.2mg/dl, in denen trotz bestehender Proteinurie keine bzw. wenige HOCl-modifizierte Proteine immunhistochemisch nachweisbar waren, dienten als Analogie zu den dem nativen LDL exponierten Zellen.

Es wurde gezeigt, dass natives LDL und HOCl-modifiziertes LDL unterschiedliche Effekte auf proximale Tubuluszellen aufweisen. HOCl-LDL beeinträchtigt wesentlich die Proliferation und verursacht einen frühen Expressionsanstieg von Enzymen, die typisch für Abwehr gegen den durch die reaktiven Sauerstoffspezies vermittelten Stress und DNA-Beschädigung sind (Häm-Oxygenase 1, Thioredoxin-Reduktase, Cytochrom-b5-Reduktase, growth arrest and DNA-damage inducible transcript 3 und heat shock protein 70). Außerdem wurden Gene früher und deutlicher hochreguliert, die an interstitieller Entzündung und Matrixumbau beteiligt sind, und somit zur interstitiellen Fibrose beitragen können (connective tissue growth factor, vascular cell adhesion molecule 1, Interleukin 1 β , Matrix-Metalloproteinase 7 und vascular endothelial growth factor). Die präsentierten Daten unterstützen die mögliche pathophysiologische Rolle der HOCl-modifizierten Proteine auch *in vivo*, indem sie die Expression einer Gruppe der gefundenen Gene ausschließlich in denjenigen Krankheitsbildern (ATD und MGN mit Kreatinin \geq 1.2mg/dl) demonstrieren, in denen HOCl-modifizierte Proteine nachzuweisen sind, und die eine Progression der Nierenerkrankung aufweisen. Die Radikalproduktion und die oxidativ modifizierten Proteine scheinen somit eine bedeutsame Rolle in der Progression von Nierenerkrankungen zu spielen.