



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

**Aldosteron-regulierte Gene: Identifizierung und Charakterisierung
früh-induzierter Gene in primären humanen renalen Epithelzellen**

Autor: Markus Kellner
Institut / Klinik: Institut für Klinische Pharmakologie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Wehling

Physiologische Wirkungen von Steroidhormonen werden über Interaktionen mit spezifischen Steroidhormon-Rezeptoren vermittelt. Steroidhormone diffundieren aufgrund ihres lipophilen Charakters durch die zelluläre Plasmamembran und binden an die im Zytosol lokalisierten spezifische Steroidhormon-Rezeptoren. Der gebildete Hormon-Rezeptor-Komplex wirkt als Transkriptionsfaktor, der an spezifische Bereiche der DNA, die „Hormone Responsive Elements“ (HRE), bindet und so die Genexpression reguliert. Diese über den genomischen Weg vermittelten Wirkungen sind zeitverzögert und entfalten sich frühestens 10 Minuten nach Stimulation. Neben diesen genomischen Steroideffekten sind auch schnelle, innerhalb weniger Minuten auftretende nichtgenomische Effekte nachweisbar, die nicht durch die klassischen Transkriptions- und Translationsblocker inhibierbar sind. Diese nichtgenomischen Effekte werden vermutlich über membranständige Rezeptoren und intrazelluläre „Second Messenger“ vermittelt. Beide, die genomischen wie auch die nichtgenomischen Mechanismen stehen in enger Wechselwirkung, die als „Cross-Talk“ bezeichnet wird. Einige Steroide wie z. B. Glukokortikoide und Mineralokortikoide ist dieser „Cross-Talk“ bereits ansatzweise charakterisiert.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Regulation früher Aldosteron-induzierter Gene in primären humanen renalen Epithelzellen bzw. distalen Tubulus-Epithelzellen untersucht werden. Mit Hilfe der cDNA Array-Technologie konnten wir eine vergleichsweise große Zahl von Genen auf eine durch Aldosteron-Stimulation veränderte Transkription hin untersuchen. Aus den etwa 1.400 Genen (HRE) bzw. 8.300 Genen (D-TEC), die mittels „Expression Array“ auf differentielle Genexpression getestet wurden, zeigten 2 % der Gene aus HRE bzw. 4 % der Gene aus D-TEC differentielle Signale, die anschließend mit weiteren molekularbiologischen Methoden wie RT-PCR, Northern-Blot und Western-Blot verifiziert wurden. Bei der Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Genexpression konnten Gene identifiziert werden, deren mRNA-Expression langsam über einen längeren Zeitraum kontinuierlich anstieg. Andere Gene hingegen erreichten ihre maximale Expressionsstärke innerhalb 1 Stunde, teilweise mit biphasischen Verlauf.

Zur Aufklärung der Mechanismen der Geninduktion wurden Versuche mit Inhibitoren gemacht, durch die auch ein Gen identifiziert werden konnte, das unabhängig von den Mineralokortikoid- und Glukokortikoid-Rezeptoren über andere Signalwege moduliert wird.

Es gibt mehrere Hinweise darauf, dass nichtgenomische Mechanismen unter Beteiligung von cAMP, Proteinkinase A und CREB an dieser Art der Genregulation beteiligt sind. Die Identifizierung eines Spironolaktone-insensitiven, durch Aldosteron induzierten Transkriptionsfaktors könnte die Entwicklung neuer Therapieansätze zur Hemmung der Progression renaler bzw. kardialer Erkrankungen ermöglichen.