



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

Der Einfluss eines Lichtimpulses auf die periphere Expression von Uhrengenen bei Sprague-Dawley Ratten

Autor: Kathleen Kraus
Institut / Klinik: Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Fakultät für
Klinische Medizin Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Björn Lemmer

Circadiane Rhythmen werden durch eine Innere Uhr reguliert, welche im Nucleus suprachiasmaticus (SCN) lokalisiert ist, und nach heutigem Erkenntnisstand durch die rhythmische Expression von Uhrengenen im SCN, unter anderem von Per1 und Per2, generiert. Die Expression und Funktion dieser Uhrengene in den peripheren Organen und ihre Verbindung zum SCN sind immer noch nicht vollständig untersucht.

Die vorliegende Arbeit soll daher klären, ob die Uhrengene Per1 und Per2 auch in peripheren Organen rhythmisch exprimiert werden und ob diese Rhythmen endogenen Ursprungs sind. Mittels eines Lichtimpulses soll untersucht werden, wie die Peripherie auf äußere Signale reagiert und welche Steuerungsmechanismen zwischen dem SCN und den peripheren Organen sich daraus ableiten lassen. Zu diesem Zweck wurde die mRNA Expression von rPer1 und rPer2 in Leber, Niere und Nebenniere von Sprague-Dawley Ratten (SDR) unter Freilauf-Bedingungen und die Reaktion auf einen einstündigen Lichtimpuls untersucht. Zwei Gruppen von SDR, mit jeweils 45 Tieren, wurden 24 Stunden im Dauerdunkel gehalten. Die Untersuchungsgruppe wurde einem einstündigen 100 Lux Lichtimpuls um CT 20 ausgesetzt, die Kontrollgruppe verblieb im Dauerdunkel. Die Tiere wurden durch Dekapitation in den ersten 4 Stunden stündlich, dannach alle 4 Stunden über einen Zeitraum von 48 Stunden getötet. Die relative Genexpression von rPer1 und rPer2 wurde mit Hilfe der real-time-PCR unter Benutzung der $2^{-\Delta\Delta CT}$ Methode quantifiziert. Die Datenanalyse erfolgte mit den nichtlinearen Anpassungsprogrammen Chronolab und ABPM-Fit, durch deren Hilfe sich Cosinusfunktionen mit 24h-Periodenlänge an die experimentellen Daten anpassen lassen.

In der vorliegenden Studie wurde erstmals eine circadiane, also endogene Expression von rPer1 und rPer2 in der Nebenniere und von rPer1 in der Leber nachgewiesen; eine circadiane Expression rPer2 in der Leber konnte nur mit einer der zwei verwendeten Analysemethoden signifikant nachgewiesen werden. In der Niere konnte keine rhythmische Expression von rPer1 und rPer2 gezeigt werden. Der Lichtimpuls hatte keinen Einfluss auf die rPer1 Expression in der Nebenniere, bewirkte aber eine 1,67 stündige Phasenverkürzung in der rPer2 Expression dieses Organs. Die Expression von rPer1 in der Leber wurde durch den Lichtimpuls um 4,24 Stunden verkürzt; der Lichtimpuls hatte aber auf rPer2 keinen Einfluss.

Diese Ergebnisse, zusammen mit parallel durchgeführten Untersuchungen zur Corticosteron-Ausschüttung, verstärken die Vermutung, dass Glucokortikoide einen wichtigen Einfluss auf die peripheren Oszillatoren haben. rPer1 in der Leber scheint ein direkter Angriffspunkt von Glucokortikoiden zu sein, da unter gleichen experimentellen Bedingungen der Lichtimpuls zu einer Phasenverkürzung von ca. 3h in der Corticosteronkonzentration und ca. 4 h in der rPer1 Expression führte. In den Zellen der Nebennierenrinde, die Glucocortikoide produzieren, wird auch rPer2 besonders exprimiert. In eben diesen Zellen führte der Lichtimpuls zu einer Phasenverkürzung von rPer2. Dies spricht dafür, dass rPer2 in der Nebenniere eine wichtige Rolle in der Übermittlung von chronobiologischen Signalen vom SCN in die Peripherie spielt, zum Beispiel über die Steuerung der ACTH-Sensitivität nach Input durch neuronale Signale aus dem SCN. Die so gesteuerte ACTH-Sensitivität führt zur entsprechenden circadianen Ausschüttung von Glucocorticoiden und Weiterleitung der rhythmischen Signale in die Peripherie. Glucokortikoide sind jedoch nicht die einzigen Zeitgeber für die Peripherie, sollen aber ein Mittel des SCN sein, um ein zu schnelles Entkoppeln der peripheren Oszillatoren vom SCN bei veränderten Umweltbedingungen zu verhindern.