

Linda Prüß
Dr. med.

Die Entwicklung der zirkadianen Genexpression in der Rattenniere

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Franz Schaefer

Das Leben auf der Erde ist stark geprägt von sich wiederholenden, zirkadianen Mustern. Dies zeigt sich im Wechsel zwischen Tag und Nacht, aber auch auf molekularer Ebene in zirkadianen Rhythmen der Genexpression, welche es dem Organismus erlauben sich vorrausschauend auf wiederkehrende äußere Signale anzupassen. Generell gibt es einen übergeordneten, zentralen molekularen Schrittmacher im hypothalamischen Nucleus suprachiasmaticus und viele periphere Schrittmacher auf Organ- bzw. Gewebsebene. Die peripheren Schrittmacher werden durch den zentralen Schrittmacher synchronisiert, können aber auch eigenständige Rhythmen ausbilden und aufrechterhalten. Die vorliegende Arbeit befasste sich mit der Ontogenese der peripheren zirkadianen Genexpression in der Rattenniere.

Das Ziel dieser Grundlagenforschung war der Nachweis eines zirkadianen molekularen Uhrwerks in der Rattenniere zum Zeitpunkt der Geburt sowie die Charakterisierung von postnatalen Veränderungen der Ausprägung und ‚Taktung‘ des zirkadianen Uhrwerks bis zum Erreichen des Erwachsenenalters. Zudem wurde die Rolle der Nahrungsaufnahmezeiten im Entrainment dieses peripheren molekularen Uhrwerks näher untersucht.

Hierfür wurden schwangere Ratten bei 12 Stunden Helligkeit und Dunkelheit im Wechsel (12 Stunden Helligkeit gefolgt von 12 Stunden Dunkelheit) gehalten. Zu verschiedenen Alterszeitpunkten der Jungtiere (einen Tag vor der erwarteten Geburt, eine Woche, vier Wochen und 12 Wochen alt) wurde jeweils eine Gruppe männlicher Nachkommen getötet und die Nieren entnommen. Dabei wurde jeweils ein 24-stündiger Zeitraum abgebildet, innerhalb dessen alle vier Stunden Versuchstiere getötet wurden. Die Genexpression von bekannten, ubiquitär vorkommenden Clock-Genen (Clock, Per1, Per2, Cry1, Cry2, Bmal1 und Rev-erb α) sowie den in der Niere exprimierten Clock-kontrollierten Genen (α ENaC, SGK1, NHE3 und AVPR2) wurden mittels real-time PCR untersucht.

In einem zweiten Versuch wurden die Jungen nach der Geburt täglich für 4 Stunden von der Mutter getrennt und im Alter von einer Woche entsprechend der oben beschriebenen Methode getötet und mit der Kontrollgruppe verglichen. Zudem wurden per Video und manueller Auswertung Verhaltensanalysen der Ratten ermittelt.

Die Untersuchungen zeigten eine zirkadiane Rhythmik der meisten untersuchten Gene bereits bei der Geburt sowie eine generelle Amplitudenzunahme der Genexpression bei den Clock-Genen im Laufe der postnatalen Entwicklung. Im Alter von einer Woche zeigte sich außerdem eine Phasenumkehr beim Expressionsrhythmus der Gene, als dessen Ursache die intermittierende Futteraufnahme durch die Jungtiere im Rahmen des Säugens während der mütterlichen Ruhephase vermutet wurde. Im Alter von vier Wochen, nach dem Abstillen und Übergang auf freie Nahrungszufuhr, kam es erneut zu einer Phasenverschiebung. Dies markierte den Übergang zur typischen adulten Rhythmik der zirkadianen Genexpression.

In der zweiten Versuchsreihe erfolgte die Nahrungsaufnahme von einer Woche alten Jungtieren durch vorübergehende Trennung von der Mutter zeitverschoben. Hier blieb lediglich für Bmal1 ein signifikanter Rhythmus erhalten. Die in diesem Entwicklungsstadium in der Kontrollgruppe beobachtete Phasenumkehr blieb aus. Durch die Verhaltensbeobachtung wurde dokumentiert, dass statt des üblichen Säugens während der Helligkeitsphase (der Ruhephase des Muttertiers), die Tiere mit Entzug des Muttertiers eine kompensatorisch erhöhte Säugungsrate vor und nach der Trennung von der Mutter aufwiesen. Somit konnte gefolgert werden, dass die Nahrungsaufnahme einen starken Taktgeber für das Entrainment des peripheren molekularen

Uhrwerks der Niere darstellt. Allerdings ließ sich die Möglichkeit nicht ausschließen, dass die Trennung von der Mutter nicht nur den Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme veränderte, sondern auch eine Stressreaktion auslöste, die die zirkadiane Genexpressionsrhythmik möglicherweise zusätzlich störte.

In meiner Forschungsarbeit konnte ich zeigen, dass bereits zum Zeitpunkt der Geburt in der Rattenniere eine zirkadiane Rhythmik der Genexpression vorhanden ist, die während der postnatalen Entwicklung weiter ausreift. Zudem konnte ich nachweisen, dass extrinsische Faktoren wie die Nahrungsaufnahme einen starken, von der Licht-induzierten zentralen Synchronisierung unabhängigen Reiz für das Entrainments dieser peripheren molekularen Uhr darstellen.

Die Erkenntnisse aus dieser Grundlagenforschung am Rattenmodell sind zwar nicht direkt auf den Menschen übertragbar, erschließen aber wichtige Fragestellungen für zukünftige Untersuchungen am Menschen. Von Interesse wären Studien zur postnatalen Reifung der zirkadianen Rhythmik der Funktionen der Nieren, ihre mögliche Beeinflussung durch Ernährungs- und andere externe Faktoren sowie die Anwendung des erworbenen Wissens für personalisierte ‚chronotherapeutische‘ Ansätze.