

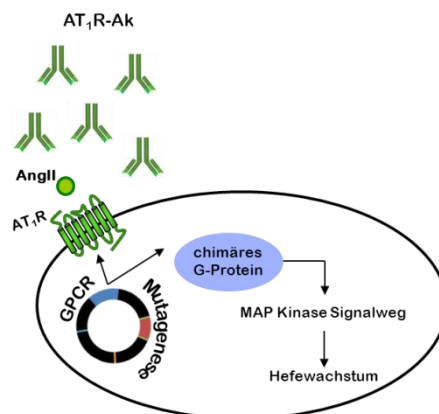
Strukturelle und funktionelle Grundlagen der Angiotensin II (AngII) und pathogener IgG vermittelten Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT₁R) Aktivierung

Projektleiterin: Duska Dragun

Mitarbeiter: Aurélie Philippe, Rusan Catar

Kooperationen: Harald Heidecke, Patrick Scheerer, Peter Hildebrand, Michal Szczepek, Simon Dowell (Stevenage)

Der Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT₁R) gehört zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR). Die Stimulation von GPCR mit natürlichen oder endogenen Liganden führt zu strukturellen Konformationsänderungen der Rezeptoren, wodurch ligandenspezifische intrazelluläre Signalwege aktiviert werden. Die durch den natürlichen Liganden Angiotensin II (Ang II) oder durch pathogene Autoantikörper (AT₁R-Ak) vermittelte AT₁R-Stimulation ist ein pathologisches Merkmal der Transplantat- und immunvermittelten Vaskulopathie. In unseren Publikationen konnten wir die unterschiedlichen intrazellulären Signalantworten der AngII und AT₁R-Ak vermittelten Rezeptoraktivierung nachweisen und charakterisieren. Die pharmakologische Modulation der biologischen Effekte des AT₁R mit Hilfe einer Vielzahl etablierter AT₁R-Agonisten ist seit Jahren möglich, obgleich die resultierenden Konformationsänderungen und funktionellen Auswirkungen noch immer weitestgehend unbekannt sind. Zur molekularbiologischen Charakterisierung der unterschiedlichen intrazellulären Effekte einer AngII oder AT₁R-Ak vermittelten Rezeptoraktivierung haben wir ein neuartiges Hefemodell entwickelt. In diesem Modell ist das Hefewachstum an die Expression eines funktionellen AT₁R geknüpft, welches es uns ermöglicht, gezielte Mutationen des Rezeptors auf deren funktionelle Auswirkungen hin zu untersuchen.



Eine Behandlung der Hefen mit AngII oder AT₁R-Ak führt zu einer dosisabhängigen Erhöhung des Hefewachstums. Dabei löst die Stimulation mit AT₁R-Ak eine stärkere und länger andauernde Aktivierung des Rezeptors im Vergleich zu AngII aus. Um die durch endogene oder immunvermittelte Stimulation hervorgerufenen Strukturveränderungen des Rezeptors zu untersuchen, haben wir verschiedene Mutationen des Rezeptors generiert, die vor allem extrazelluläre Loops und kurze Bereiche, welche für die Ausbildung von Disulfidbrücken zwischen den extrazellulären Domänen verantwortlich sind, beinhalten. In Experimenten mit diesen modifizierten Hefen sollen essentielle Bereiche, die an der Rezeptoraktivierung beteiligt sind, identifiziert werden.

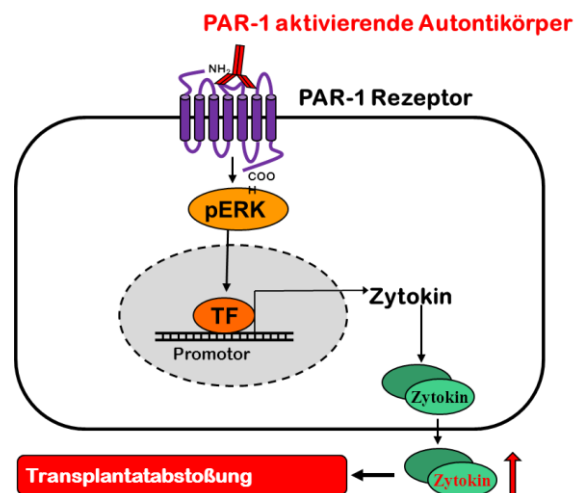
Autoimmune Aktivierung des Protease-aktivierter Rezeptor 1 (PAR-1) bei Inflammation

Projektleiterin: Duska Dragun

Mitarbeiter: Rusan Catar, Aurélie Philippe, Angelika Kusch, Isa Anett Hosp, Christian Lücht

Kooperationen: Harald Heidecke, Patrick Scheerer, Peter Hildebrand, Michal Szczepek, Ralf Schülein, Heike Biebermann

Autoantikörper vermittelte Rejektionen sind eine der häufigsten Ursachen der akuten und Langzeit schädigung der Niere und anderer Organtransplantate. Der Hauptangriffspunkt der Antikörper ist dabei das mikrovaskuläre Endothel. Unsere Arbeitsgruppe konnte durch mehrere *in vivo* und *in vitro* Studien zeigen, dass Antikörper, die gegen Angiotensin II Typ 1 Rezeptor (AT1R) und Endothelin-1 Typ A Rezeptor (ETAR) gerichtet sind, eine pathophysiologische Rolle in der akuten und chronischen Schädigung der Nierentransplantate haben. Im Kontext der autoimmunen Erkrankung verursachen AT1R und ETAR pathologische Gefäßumbauprozesse durch Aktivierung von inflammatorischen Zytokinen. Während der Transplantationsprozedur wird durch Trauma und Ischämie die homöostatische Mikroumgebung zerstört, was zur Freisetzung von Zytokinen führt. Dadurch wird die endotheliale Dysfunktion durch die erhöhte Expression von G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR) an der Zelloberfläche verstärkt. Diese dienen dann als Ziel für Antikörper oder Effektor zytotoxischer CD8+ T-Zellen, die konsekutiv Schädigungen verursachen und im Transplantat einen Zustand der ständigen Inflammation aufrechterhalten.



Neuere Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe weisen auf eine spezifische Rolle eines neuen GPCR Typ A Kandidaten, nämlich des PAR-1 bei der Induktion von verschiedenen Zytokinen in Endothelzellen durch Patienten-IgG hin. Basierend auf diesen Erkenntnissen vermuten wird, dass die Freisetzung von Zytokinen durch Endothelzellen nach der Aktivierung des PAR-1 durch PAR-1 Antikörper ein kritischer Faktor bei der Nierentransplantatabstoßung ist.

Die mTOR-Signaltransduktion ist Bestandteil der weiblichen Kardioprotektion und von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung einer adaptiven myokardialen Hypertrophie

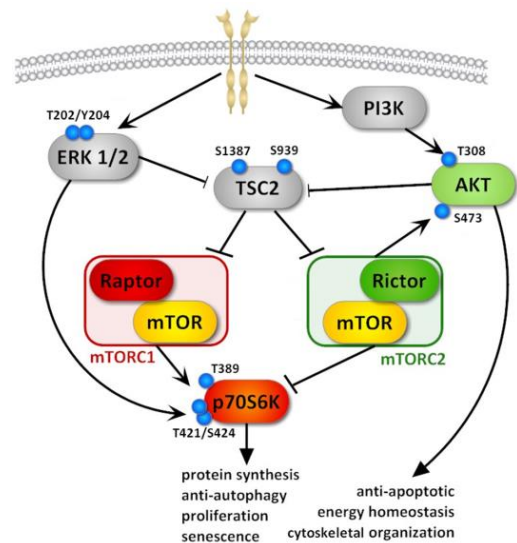
Projektleiter: Duska Dragun

Mitarbeiter: Angelika Kusch, Dennis Gürgen

Kooperationen: Tobias Huber, Marijke Brink, Thorsten Mielke, Jörn Dengjel

Kardiomyozyten sind terminal differenzierte Zellen, so dass jegliche kardiale Anpassung auf einen erhöhten Funktionsbedarf des Herzens nicht durch Zellproliferation, sondern nur durch die Zunahme der individuellen Zellgröße realisiert werden kann. Die Entwicklung einer kardialen Hypertrophie wird dabei in Abhängigkeit einer gesteigerten Proteinsynthese und durch Koordination eines erhöhten metabolischen Bedarfs gesteuert. mTOR (mechanistic target of rapamycin) fungiert als zellulärer Wachstumsregulator und kontrolliert metabolische Prozesse durch die biologischen Funktionen zweier Multiproteinkomplexe, mTORC1 und mTORC2. Während mTORC1 über die Aktivierung der S6-Kinase und des eukaryotischen Translationsfaktors (4-EBP1) die Initiation der Proteinbiosynthese einleitet, reguliert mTORC2 über die Phosphorylierung seines bedeutendsten Effektors, der Proteinkinase B, das Zellschicksal, sowie die zelluläre Seneszenz und die Organisation des Zytoskeletts.

Die geschlechtsspezifische kardiale Anpassung im renokardialen Syndrom der Maus wurde von uns in einem normotensiven DOCA-Salz Modell untersucht. Hierbei kommt es nach Heminephrektomie und nachfolgender Mineralokortikoidbehandlung zu einer pathologischen Myokardhypertrophie, die durch Hypertrophie einzelner Kardiomyozyten und Ausbildung einer Myokardfibrose gekennzeichnet ist. Weibliche Mäuse zeichnen sich hierbei durch geringere Myozytenhypertrophie und weniger Fibroseentwicklung aus. Wir konnten zeigen, dass der Östrogenrezeptor Beta (ER β), sowie eine intrinsisch hohe mTORC1 und kompensatorische mTORC2 Aktivierung funktionelle Bestandteile der Kardioprotektion in weiblichen Mäusen sind. Sowohl die genetische Deletion des ER β als auch die pharmakologische mTORC1-Inhibition mittels systemischer Administration von Rapamycin induzierten einen dilatativen Phänotyp des linken Ventrikels und myokardiale Fibrose. Demzufolge kann eine ausbalancierte Aktivierung der beiden mTOR-Signalkomplexe und ein intakter Hormonstatus als intrinsische Mechanismen der kardialen Protektion in weiblichen Mäusen angenommen werden. Die Reduktion der mTORC1-Aktivität durch Rapamycin wirkte sich nur im männlichen Geschlecht positiv auf die Funktion und die Herzmorphologie aus, wohingegen weibliche Tiere einen inversen und maladaptiven Phänotyp mit Funktionsverlust und vermehrter Fibrose entwickelten.



mTOR (mechanistic target of rapamycin) als zentraler Regulator der PI3K/AKT/ mTOR-Signaltransduktion: Die beiden individuellen Multiproteinkomplexe mTORC1 und mTORC2 kontrollieren das zelluläre Wachstum und Zellschicksalsprogramme und sind darüber hinaus ein wichtiger Bestandteil bei der Regulation des Energiehaushaltes der Zelle.

Identifikation intrinsischer Protektionsmechanismen im akuten Nierenschaden

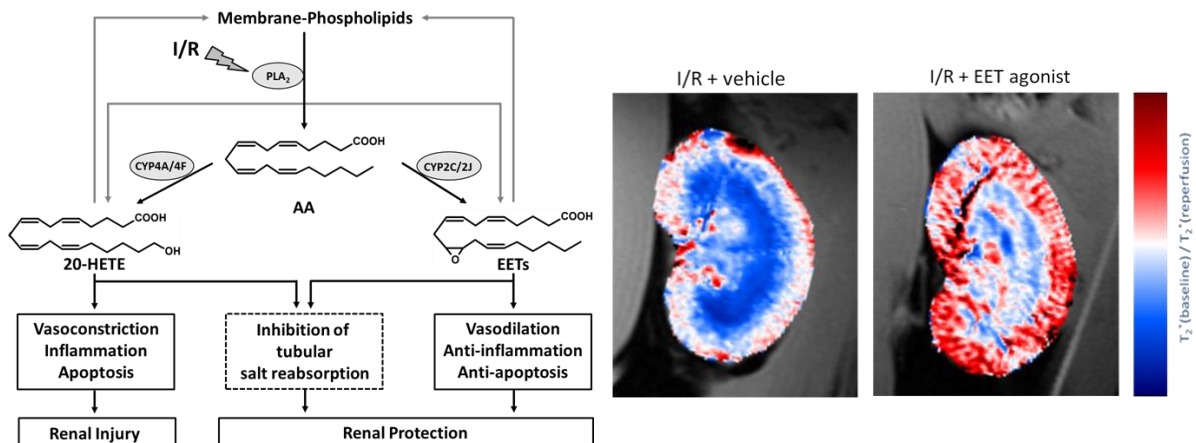
Projektleiter: Duska Dragun, Wolf-Hagen Schunck

Mitarbeiter: Dennis Gürgen, Angelika Kusch

Kooperationen: Toralf Niendorf, Tobias Huber

Die Identifikation von intrinsischen renoprotektiven Mechanismen ist eine wichtige Voraussetzung zur Etablierung neuartiger Strategien zur Prävention einer akuten Nierenschädigung. Innerhalb der DFG geförderten Forschergruppe „FOR 1368 - Hemodynamic Mechanisms of Acute Kidney Injury“ konnten wir gegensätzliche Wirkungsweisen der Arachidonsäuremetabolite (20-Hydroxyeicosatetraensäure (20-HETE) und Epoxyeicosatriensäuren (EETs)) in der Ischämie-Reperfusion (I/R) induzierten akuten Nierenschädigung nachweisen. Während nach 20-HETE Behandlung aufgrund der vaso-konstriktorischen, pro-inflammatorischen und pro-apoptotischen Wirkung eine schlechtere Regeneration nach I/R beobachtet wurde, konnte die Intervention mit EETs diese frühen I/R-induzierten Mechanismen deutlich abmildern. Inwieweit bereits eine verminderte Degradierung von EETs in der Lage ist, einen I/R-induzierten Nierenschaden abzumildern, wird derzeit mit Hilfe eines genetischen Tiermodells mit sEH defizienten Mäusen weiter untersucht.

Im Rahmen der Forschergruppe haben wir ein besonderes neues Tool zum *in vivo* life imaging der Nierenoxygenierung entwickelt. Diese *in vivo* Live-Imaging-Methode ermöglicht uns eine kontinuierliche Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in der Niere vor und während der Ischämie sowie in der anschließenden Reperfusionsphase mittels eines 9.4 T MRT.



Rolle der CYP-Eicosanoide in der ischämie/reperfusion-induziertem akute Nierenschädigung. Die Metabolisierung von Arachidonsäureestern aus membranständigen Phospholipiden führt zur Generierung von CYP-Eicosanoiden wie der 20-Hydroxyeicosatetraensäure (20-HETE) und Epoxyeicosatriensäuren (EETs). Unterschiedliche biologische Wirkungsmechanismen der Substanzklassen führen zur Induktion von schädigenden Prozessen oder vermitteln protektive Effekte (Schema links). Die farblich animierte Kartierung einer Niere nach experimenteller I/R mit oder ohne Behandlung mittels 9.4 T MRT-Aufnahmen der Nierenoxygenierung charakterisiert eine verbesserte Versorgung des Organs mit Sauerstoff nach EET Intervention (Bild rechts).