

**Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Herz- und Thoraxchirurgie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

(Direktor: Prof. Dr. med R.-E. Silber)



**Die altersabhängige Expression von
Advanced Glycation Endproducts (AGE) - Rezeptoren
am menschlichen Herzen**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

Vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Christian Andreas Caßelmann
geboren am 08.05.1977 in Kassel

Gutachter :

Univ.-Doz. Dr. Simm
Prof. Dr. Isenberg
Prof. Dr. Weiß

verteidigt am 08.12.2005

urn:nbn:de:gbv:3-000009899

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000009899>]

Gewidmet

meinen lieben Eltern

Kurzreferat

Zielsetzung

Den Endprodukten der Maillardreaktion, auch Advanced Glycation Endproducts (AGE) genannt, und der Interaktion mit ihren Rezeptoren, wird eine Rolle in der Änderung der Zellfunktion während des Alterns zugesprochen. Man vermutet weiter eine Mitbeteiligung bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen. Daher wurde die Expression von den bekannten fünf AGE-Rezeptoren in Abhängigkeit vom Alter am menschlichen Herzen untersucht und mit klinischen Parametern verglichen.

Material und Methoden

Die während kardiochirurgischen Eingriffen gewonnenen rechten Herzohren wurden mittels PCR und Western-Blot auf die Genexpression der AGE-Rezeptoren RAGE, AGE-R1, -R2, -R3 und des Scavengerrezeptors ScR-II untersucht. Es wurden drei Altersgruppen gebildet: Kinder ($2,4 \pm 1,1$ Jahre), Erwachsene ($45,3 \pm 0,8$ Jahre) und Senioren ($76,4 \pm 0,4$ Jahre). Innerhalb dieser drei Gruppen wurde die altersabhängige Expression der Rezeptoren untersucht. Die klinischen Parameter ergaben sich aus der postoperativen Phase der Patienten.

Ergebnisse

Im Vergleich der drei Altersgruppen ließen sich signifikante Unterschiede in der Expression von mRNA und Protein bei den Rezeptoren AGE-R3, ScR-II und RAGE beweisen. In diesem Zusammenhang zeigte sich, daß die Expression der RNA von AGE-R3 und RAGE nicht mit der Expression des Proteins korreliert. In Bezug auf die gewonnenen klinischen Parameter zeigte sich, daß die AGE-R3-Proteinexpression mit der Anzahl von implantierten Bypässen und einer prolongierten ITS-Aufenthaltsdauer steigt und die RAGE-Proteinexpression bei verminderter Herzleistung signifikant steigt.

Schlussfolgerung

Es steht fest, daß sich die Expression von AGE-R3, ScR-II und RAGE auf RNA- und Proteinebene im Laufe des Alterns am menschlichen Herzen signifikant verändert. Die unterschiedliche RNA- und Protein Expression von AGE-R3 und RAGE läßt eine posttranskriptionelle Modifizierung vermuten. Die Signifikanzen in Bezug auf die klinischen Parameter lassen den Schluss zu, daß AGE Rezeptoren auf zellulärer Ebene weitreichende Konsequenzen für das Herz-Kreislauf-System des Menschen entfalten können.

Caßelmann, Christian: Die altersabhängige Expression von Advanced Glycation Endproducts (AGE)-Rezeptoren am menschlichen Herzen. Halle, Martin-Luther-Universität., Med.Fak., Diss., 72 Seiten, 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Altern.....	1
1.2	Advanced Glycation Endproducts (AGEs).....	2
1.2.1	Entstehung von AGEs	2
1.2.2	Pharmakokinetische und pathologische Eigenschaften der AGEs.....	5
1.2.3	Therapeutische Ansätze	7
1.3	AGE Rezeptoren.....	9
1.3.1	AGE-R1 (OST-48).....	9
1.3.2	AGE-R2 (80 K-H).....	10
1.3.3	AGE-R3 (Galectin-3).....	10
1.3.4	Macrophage Scavenger Receptor II (ScR-II).....	11
1.3.5	Receptor for AGEs (RAGE)	12
1.4	Zielsetzung	13
2	Material und Methoden.....	14
2.1	Material.....	14
2.1.1	Chemikalien	14
2.1.2	Verwendete Puffer und Lösungen.....	16
2.1.3	Geräte	19
2.1.4	Sonstige Materialien.....	20
2.2	Methoden.....	20
2.2.1	Menschliches Herzohrgewebe	20
2.2.2	RNA-Isolierung.....	22
2.2.2.1	RNA Konzentrationsbestimmung	23
2.2.2.2	RNA Gelelektrophorese	23
2.2.3	Reverse Transkription (RT)	23
2.2.4	Polymerasekettenreaktion (PCR)	25

2.2.5	Genbanken und Computerprogramme	27
2.2.6	Proteinpräparation	28
2.2.6.1	Proteinkonzentrationsbestimmung	28
2.2.7	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE).....	29
2.2.8	Western-Blot	30
2.2.9	Herzindexmessung	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Altersabhängige Expression der AGE-Rezeptoren auf mRNA und Proteinebene	33
3.1.1	Altersabhängige Genexpression der AGE-Rezeptoren.....	33
3.1.2	Altersabhängige Expression der AGE-Rezeptoren auf Proteinebene	36
3.2	Expression der AGE-Rezeptoren auf mRNA und Proteinebene in Abhängigkeit von klinischen Parametern	39
3.2.1	Expression der mRNA- und Proteinexpression von RAGE in Abhängigkeit vom Herzindex	39
3.2.2	Expression der mRNA- und Proteinexpression von AGE-R3 in Abhängigkeit von dem Herzindex	39
3.2.3	Expression der mRNA- und Proteinexpression von RAGE und AGE-R3 in Abhängigkeit von dem postoperativen Intensivstationaufenthalt	42
3.2.3.1	Expression der mRNA- und Proteinexpression von RAGE in Abhängigkeit von dem postoperativen Intensivstationaufenthalt	42
3.2.3.2	Expression der mRNA- und Proteinexpression von AGE-R3 in Abhängigkeit von dem postoperativen Intensivstationaufenthalt	43
3.2.4	Expression der mRNA- und Proteinexpression von RAGE und AGE-R3 in Abhängigkeit von der Anzahl der implantierten Bypässe	46
3.2.4.1	Expression der mRNA- und Proteinexpression von RAGE in Abhängigkeit von der Anzahl der implantierten Bypässe.....	46

3.2.4.2	Expression der mRNA- und Proteinexpression von AGE-R3 in Abhängigkeit von der Anzahl der implantierten Bypässe.....	46
4	Diskussion	49
4.1	Expression von AGE-Rezeptoren am menschlichen Herzen in verschiedenen Altersgruppen	49
4.2	Post-transkriptionelle Regulation des RAGE und AGE-R3.....	56
4.3	Auswirkung der Expression von AGE-R3 und RAGE auf klinische Parameter	57
4.4	Ausblick.....	58
5	Literaturverzeichnis	59
6	Thesen	72

Abkürzungen und Symbole

°C	Grad Celsius
A	Ampère
Abb.	Abbildung
ACB	Aorto-coronare-Bypässe
AGE	Advanced Glycation Endproduct
ALT-711	4,5-Dimethyl-3-Phenacylthiazolchlorid
APS	Ammoniumpersulfat
ASD	Vorhofseptumdefekt
BCA	Bichinonsäure-Lösung
Bp	Basenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
cDNA	complementary DNA
CIHK	chronisch ischämischen Herzkrankheit
CML	N ^ε -(carboxymethyl)Lysin
ddH ₂ O	doppelt destilliertes Wasser
DDT	Dithiothreitol
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
dsDNA	double-stranded DNA
EDTA	Ethylendinitrietetraessigsäure
FGF	Fibroblast Growth Factor
g	Erdbeschleunigung
GTC	Guanidinthiocyanat
HMV	Herzminutenvolumen
IL-6	Interleukin-6
ITS	Intensivstation
kD	kilo Dalton
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-Density-Lipoproteins
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck

M	Molar
MAPK	Mitose-aktivierende Proteinkinase
MMP	Matrix Metalloprotease
mRNA	messenger RNA
NF- κ B	nuclear factor - κ B
NMDA	N-methyl-D-Aspartat
NOD	non obese diabetic
NYHA	New York Heart Association
OST-48	Oligosaccharyltransferasekomplex 48
oxLDL	oxidierte Low-Density-Lipoproteins
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PCR	Polymerasekettenreaktion
PKC	Proteinkinase C
PTB	N-Phenacylthiazolbromid
RAGE	Receptor for Advanced Glycation Endproducts
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reactive oxygen species
mRNA	messenger RNA
rRNA	ribosomale RNA
RT	Reverse Transkription
ScR-II	macrophage scavenger receptor II
SDS	Natriumdodecylsulfat
sRAGE	soluble RAGE
ssDNA	single-stranded DNA
TEMED	N,N,N',N',Tetramethylendiamin
TGF- β	Transforming Growth Factor- β
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
Tris	Tris-hydroxymethyl-aminomethan
V	Volt
VSD	Ventrikelseptumdefekt