

Charité Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Institut für Physiologie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Axel R. Pries

**Charakterisierung der Genexpression von Thrombospondin –1 und
des humanen dezidualen Progesteron-induzierten Proteins (DEPP)
in humanen Endothelzellen durch Wandschubspannung
als Mechanismus der Angioadaptation**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der Charité Universitätsmedizin Berlin

vorgelegt von: Ernst Christian Bergmann

aus: Berlin

Referent: Prof. Dr. Axel R. Pries

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. H.-D. Orzechowski

Gedruckt mit freundlicher Genehmigung der Charité Universitätsmedizin Berlin

Promoviert am: 03.09.2004

Meiner Frau,
meinen Eltern und meinem Bruder,
die mich geduldig unterstützt haben

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Konzept der Angioadaptation	6
1.1.1	Mechanismen der Tonusregulation zur Anpassung an Strömungsbedingungen.....	6
1.1.2	Mechanismen der Angioadaptation	8
1.1.2.1	Gefäßsprossung.....	9
1.1.2.2	Intussuszeption.....	14
1.1.2.3	Arteriogenese	14
1.1.2.4	Pruning	15
1.2	Angioadaptative Triggermechanismen	15
1.2.1	Sauerstoffpartialdruck.....	16
1.2.1.1	HIF-1 α	16
1.2.1.2	HIF-1 α -regulierte Gene	18
1.2.2	Wandschubspannung.....	19
1.2.2.1	Mechanotransduktion in Endothelzellen	20
1.2.2.2	Mechanosensitive Signalkaskaden in Endothelzellen	21
1.2.2.3	Wandschubspannungsregulierte Gene	23
1.3	Regulation typischer angioadaptiver Prozesse durch Sauerstoffpartialdruck und Wandschubspannung.....	25
1.3.1	Kapillarsprossung	25
1.3.2	Kollateralisation	26
1.4	Thrombospondin-1 (TSP-1).....	27
1.4.1	Molekülstruktur, Vorkommen und Funktion	28
1.4.2	TSP-1 Domänen und ihnen zuzuordnende Funktionen.....	30
1.4.3	TGF- β -vermittelte Effekte von TSP-1	32
1.4.4	Proangiogene Effekte von TSP-1	32
1.4.5	Antiangiogene Effekte von TSP-1.....	37
1.4.6	Kontextabhängigkeit der TSP-1 Wirkung.....	39
1.5	9/B (DEPP= Decidual Protein Induced by Progesterone)	41
1.6	Fragestellung.....	41
2	Material und Methoden	42
2.1	Material.....	42
2.1.1	Chemikalien.....	42
2.1.2	Puffer und Lösungen	46
2.1.3	Kits	47
2.1.4	Geräte	48
2.2	Methoden	50
2.2.1	Zellkultur	50
2.2.2	Strömungsexposition	53
2.2.3	Transkriptionsblockade durch Actinomycin D	55
2.2.4	Northern Blot	56
2.2.4.1	RNA-Isolation	56

2.2.4.2	RT-PCR	56
2.2.4.3	Synthese einer RNA-Sonde	58
2.2.4.4	Gelelektrophorese	62
2.2.4.5	RNA-Transfer	62
2.2.4.6	Hybridisierungsreaktion	64
2.2.4.7	Nachweisreaktion	64
3	Ergebnisse	65
3.1	TSP-1	65
3.1.1	Expression in Abhängigkeit von der Passagezahl	65
3.1.2	Expression als Funktion der Wandschubspannung	65
3.1.3	Expressionsinhibition als Funktion der Zeit	66
3.1.4	Expression nach Strömungsstillstand	67
3.1.5	Auswirkung von VEGF auf die Expression von TSP-1	68
3.1.6	Auswirkung von Progesteron auf die Expression von TSP-1	70
3.1.7	Zelltypische Expressionsmuster von TSP-1	70
3.1.8	Stabilität der TSP-1-mRNA	72
3.2	9/B	73
3.2.1	Expression in Abhängigkeit von der Passage-Zahl	73
3.2.2	Expression als Funktion der Wandschubspannung	73
3.2.3	Expressionsinhibition als Funktion der Zeit	73
3.2.4	Expression nach Strömungsstillstand	75
3.2.5	Auswirkung von VEGF auf die Expression von 9/B	75
3.2.6	Auswirkung von Progesteron auf die Expression von 9/B	77
3.2.7	Gewebe- und zelltypische Expressionsmuster von 9/B	77
3.2.8	Stabilität der 9/B-mRNA	80
4	Diskussion	81
4.1	TSP-1	81
4.1.1	Expressionsregulation durch Wandschubspannung	81
4.1.2	Regulation der TSP-1 Expression durch VEGF, Sauerstoffpartialdruck und Progesteron	86
4.1.2.1	VEGF	86
4.1.2.2	Hypoxie	87
4.1.2.3	Progesteron	88
4.1.3	Zelltypische Expressionsmuster	89
4.1.4	Bedeutung für die Regulation der Angioadaptation	90
4.2	9/B	93
4.2.1	Expressionsregulation durch Wandschubspannung	93
4.2.2	Expressionsregulation durch VEGF und Progesteron	95
4.2.2.1	VEGF	95
4.2.2.2	Progesteron	95
4.2.3	Zell- und gewebetypische Expressionsmuster	96
4.3	Bedeutung für die Regulation der Angioadaptation	97

5	Ausblick	100
6	Zusammenfassung.....	104
7	Abkürzungsverzeichnis	106
8	Literaturverzeichnis	109
	Anhang:.....	128
	• Würdigung	
	• Lebenslauf	
	• Sequenzen	