

## 5 Zusammenfassung

Neben seiner Funktion als Tumorsuppressor ist das Wilmstumorgen WT1 für die normale Embryogenese erforderlich. Mausembryonen mit inaktiviertem Wt1 Gen ( $Wt1^{-/-}$ ) weisen u.a. eine gestörte Herzmuskelentwicklung auf, die durch ein hypoplastisches Ventrikelmyokard charakterisiert ist. Ursache für den myokardialen Phänotyp ist bei den  $Wt1^{-/-}$  Embryonen wahrscheinlich ein partieller Defekt des Epikards, dem regulären Ort der Wt1-Expression im Herzmuskel.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Expression von Wt1 nach experimentellem Myokardinfarkt bei Ratten aktiviert ist. Im Vergleich zum intakten rechtsventrikulären Gewebe, war Wt1 im infarzierten linken Ventrikel zwischen dem 1. Tag und der 9. Woche nach Ligation der linken Koronararterie um mehr als das Doppelte erhöht. Mittels mRNA in situ Hybridisierung und immunhistochemischer Verfahren konnte nachgewiesen werden, dass Wt1 nach Myokardinfarkt nicht mehr ausschließlich epikardial vorkommt, sondern auch in den infarktnahen Blutgefäßen exprimiert wird. Die Wt1-positiven Gefäßzellen konnten als Endothel- und glatte Muskelzellen identifiziert werden. Eine auffallend ähnliche Verteilung wiesen der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor VEGF und die zellulären Proliferationsmarker PCNA bzw. PECAM-1/CD31 in den Koronargefäßen des ischämischen Herzens auf.

Ähnlich der Wirkung einer regionalen Gewbeischämie konnte eine vaskuläre Expression von Wt1 im Herzmuskel auch durch systemische Exposition von Ratten bei 8% O<sub>2</sub> bzw. 0.1% CO ausgelöst werden. An Zellkulturen wurde der Mechanismus der sauerstoffabhängigen Regulation von WT1 näher untersucht. Die WT1-Expression wurde sowohl in einer Ostosarkomlinie (U2OS) als auch in lymphoblastären Zellen (Reh) durch Hypoxie (1% O<sub>2</sub>) und hypoxieähnliche Maßnahmen (Inkubation in Gegenwart von 100 µM CoCl<sub>2</sub> bzw. Desferrioxamin) stimuliert. Mit Hilfe von Reporterassays konnte nachgewiesen werden, dass der Promotor der Wt1-Gens durch Hypoxie induzierbar ist. Der hypoxieempfindliche Bereich im Wt1-Promotor wurde mittels gezielter Mutagenese und anhand von Gelshiftexperimenten als klassische Bindungsstelle für hypoxieinduzierbaren Faktor-1 (HIF-1) identifiziert.

Diese Resultate zeigen, dass lokale Gewbeischämie und Sauerstoffmangel die Expression von Wt1 in den Blutgefäßen des Herzmuskels stimulieren. Als ein Vermittler der Hypoxiewirkung spielt der Transkriptionsfaktor HIF-1 eine wichtige

Rolle. Die enge Assoziation mit Vaskulogenesefaktoren im ischämischen Herzmuskel deutet darauf hin, dass WT1 für die transkriptionelle Kontrolle der myokardialen Vaskularisation von Bedeutung sein könnte. Diese Möglichkeit wird durch den kürzlich erbrachten Nachweis gestützt, dass WT1 für die Vaskulogenese im embryonalen Myokard notwendig ist. Die Identifizierung molekularer WT1-Zielgene bei der Vaskularisation des Herzmuskels wird eine sowohl aus grundlagenwissenschaftlicher Sicht als auch aus klinischer Perspektive interessante Herausforderung für zukünftige Arbeiten darstellen.