

ZUSAMMENFASSUNG

Die Regulation von biologischen Signalwegen während und nach der Aktivierung von Zellmembran-Rezeptoren durch primäre Botenstoffe ist ein wichtiger Mechanismus zur Steuerung der Signalintensität und der zellulären Antworten. Die chronische Einwirkung solcher Botenstoffe führt in vielen Fällen zu einer regulierten Abnahme der Anzahl der betreffenden Rezeptoren an der Zelloberfläche, die als Internalisierung oder Endozytose bezeichnet wird.

Drei als primäre Botenstoffe agierende Peptide sind das „atriale natriuretische Peptid“ (ANP), das „brain natriuretic peptide“ (BNP) und „C-type natriuretic peptide“ (CNP). Sie benutzen Zellmembranrezeptoren, die intrazellulär eine enzymatische Domäne zur Erzeugung des sekundären Botenstoffs zyklisches GMP (cGMP) enthalten, zur Signaltransduktion. Die beiden vom Herz ausgeschütteten Hormone ANP und BNP binden an und stimulieren einen als „guanylyl cyclase-A“ (GC-A) bezeichneten Rezeptor, während ein zweiter Rezeptor (GC-B) spezifisch und selektiv mit dem CNP interagiert. Im Gegensatz zu den meisten anderen Signalsystemen, wird die zelluläre Aktivität dieser Rezeptoren *in vivo* nicht durch Veränderungen ihrer Anzahl, sondern durch Phosphorylierungen/Dephosphorylierungen an intrazellulären Aminosäureresten reguliert. Bei Dephosphorylierung kommt es hierbei zu einer als Desensitisierung bezeichneten Abnahme an Stimulierbarkeit.

Die so genannten natriuretischen Peptide spielen eine wesentliche Rolle im Organismus, z. B. bei der Blutdruckregulation, und haben in vielen verschiedenen Geweben und Zelltypen spezifische Funktionen. Seit kurzem haben zudem synthetische Analoga (des ANP und des BNP) eine klinische Anwendung gefunden. Daher sind ein Verständnis der Rezeptor-Regulationsmechanismen und das Wissen um zelltypspezifische Phänomene von breitem Interesse.

In dieser Arbeit habe ich zwei Zelllinien benutzt, die entweder nur GC-A (MA-10 Leydigzellen) oder GC-A und GC-B (α T3 Hypophysenzellen) exprimieren, um gezielt diesbezügliche Fragen untersuchen zu können.

Experimente mit MA-10-Zellen zeigten, dass sowohl ANP als auch das biologisch wirksame Lipid Lysophosphatidsäure (LPA) eine Desensitisierung des

ANP-Rezeptors GC-A hervorrufen können. Beide Reaktionen wiesen ähnliche Kinetiken auf und führten zu einer gleich starken Abnahme (um 40%) der hormonabhängigen Stimulierbarkeit. Die ANP-induzierte („homologe“) Desensibilisierung, nicht aber die LPA-induzierte („heterologe“) Desensibilisierung wurde durch einen Inhibitor der cAMP-abhängigen Proteinkinase PKA vollständig blockiert, was auf verschiedene Signalwege und eine essentielle Rolle der PKA bei der homologen Desensibilisierung hindeutet. Inkubationen mit LPA, aber nicht mit ANP resultierten in einer Aktivierung der „extracellular signal-regulated kinase“ (ERK) und induzierten eine dramatische Re-Organisation der zellulären Aktinfilamente. Die LPA-Effekte deuteten auf Rezeptor-vermittelte Aktionen hin und waren konsistent mit dem Auffinden von Genexpression des LPA-Rezeptors LPA₂. Diese Studien wiesen erstmals nach, dass homologe und heterologe Desensibilisierungen über unterschiedliche intrazelluläre Signalwege vermittelt werden und dass PKA ein entscheidender Faktor bei homologen Desensibilisierungen darstellt. Außerdem konnten erstmals Kreuzreaktionen zwischen LPA- und ANP-medierte Signalaktivitäten gezeigt werden. Die in den MA-10-Zellen identifizierten Kontrollmechanismen lassen spezifische Funktionen in Leydigzellen bei der Regulation der Testosteronsynthese und bei der Kontrolle von Zellwachstum und Differenzierung vermuten. Aufgrund der ausgeprägten Effekte von LPA kann angenommen werden, dass Phospholipide einen wesentlichen Einfluss auf die Leydigzell-Physiologie haben.

In den Studien mit α T3-Zellen konnte erstmals (a) eine Kreuzreaktion zwischen ANP- und CNP-vermittelten Signalaktivitäten auf zellulärer Ebene nachgewiesen und (b) gezeigt werden, dass extrazelluläre Signale nicht nur eine Abnahme (Desensibilisierung) sondern auch eine Zunahme (Sensibilisierung) der Rezeptoraktivität induzieren können. Diese Befunde haben insbesondere in Hinsicht auf das Vorkommen diverser Zelltypen *in vivo*, die sowohl als Zielzellen des Hormons ANP als des autokrinen/parokrinen Faktors CNP gelten, Bedeutung.

Diese Arbeit liefert Informationen, die zu einem besseren Verständnis der lokalen Aktivitäten der natriuretischen Peptide und ihrer Rezeptoren beitragen können.