

## Kontrollstellen des *lac*-Operons in der rekombinanten Expression von Proteinen

Zur **gentechnischen Expression von Proteinen** werden vielfach DNA-Plasmide, die für das gewünschte Protein codieren, als Expressionskonstrukte verwendet. Die Proteinbiosynthese findet in einem geeigneten Wirtszellsystem wie *E.-coli*-Bakterien statt (► Kap. 5.5). Die Expressionskonstrukte sind vom Grundsatz her so aufgebaut, dass die codierende Sequenz für das Zielprotein hinter einem starken prokaryotischen Promotor liegt, sodass die Sequenz in den Wirtszellen effektiv abgelesen werden kann.

Dabei ist es jedoch nicht unbedingt wünschenswert, dass die Wirtszellen sofort nach der Aufnahme des DNA-Plasmids mit der energieaufwendigen Produktion des rekombinanten Proteins beginnen – vielmehr sollen sie zunächst die Gelegenheit bekommen, sich in der Kultur zu vermehren, bevor die Expression gestartet wird. Zu diesem Zweck wird in den entsprechenden DNA-Konstrukten häufig nach dem prokaryotischen Promotor die Operator-Stelle des *lac*-Operons eingebaut: Der in *E. coli* konstitutiv exprimierte Repressor verhindert in Abwesenheit eines Induktors weitgehend die Expression des Zielproteins. Soll nun die rekombinante Expression induziert werden, wird dem Zellkulturmedium ein geeigneter Induktor zugegeben. Anstelle der verstoffwechselbaren Allolactose wird hierfür oftmals das metabolisch stabile Analogon Isopropylthiogalactosid (IPTG) verwendet. Nach dem Freischalten der Transkription wird das Zielprotein in den hochgewachsenen Wirtszellen gebildet und kann anschließend daraus isoliert werden (◉ Abb. 4.62).

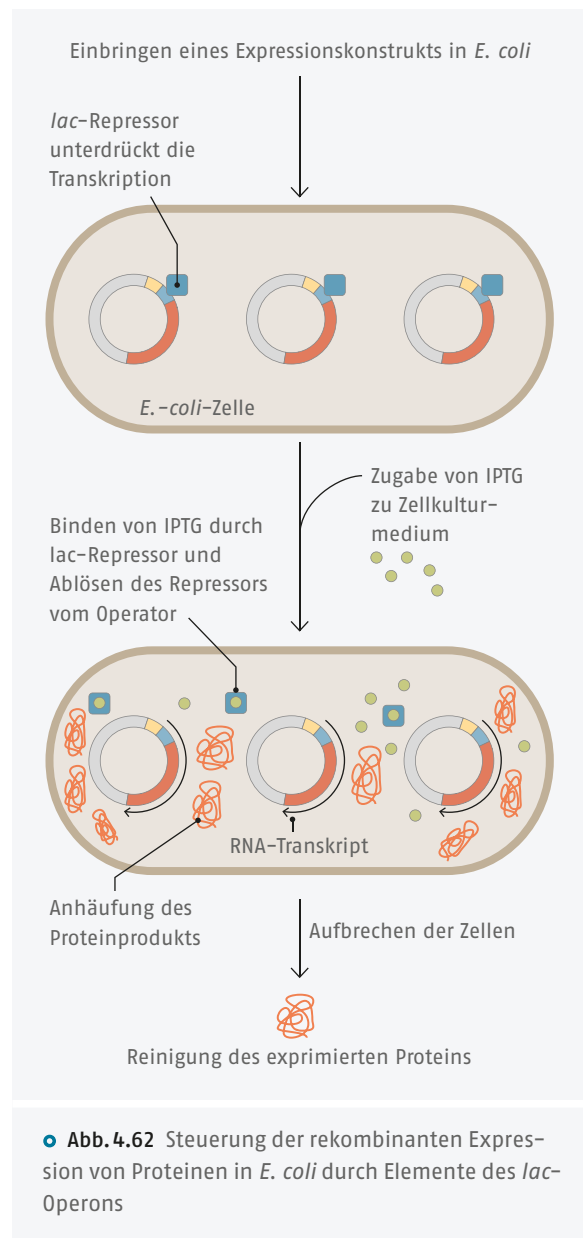
### 4.6.4 Kontrolle der Genexpression bei Eukaryoten

#### Übersicht

Wie wir eingangs festgestellt haben, kann die Genexpression in Eukaryoten auf folgenden fünf Ebenen kontrolliert werden: **Transkription**, **mRNA-Prozessierung**, **mRNA-Transport**, **mRNA-Stabilität** und **Translation** (◉ Abb. 4.63). Von diesen Ebenen erfährt die **Transkription** die intensivste Regulation und liegt daher im Hauptfokus der folgenden Kapitel.

Für das Verständnis der **Mechanismen der Transkriptionsregulation** ist zunächst wichtig festzuhalten, dass die Transkription eines eukaryotischen Gens an zwei Voraussetzungen gekoppelt ist:

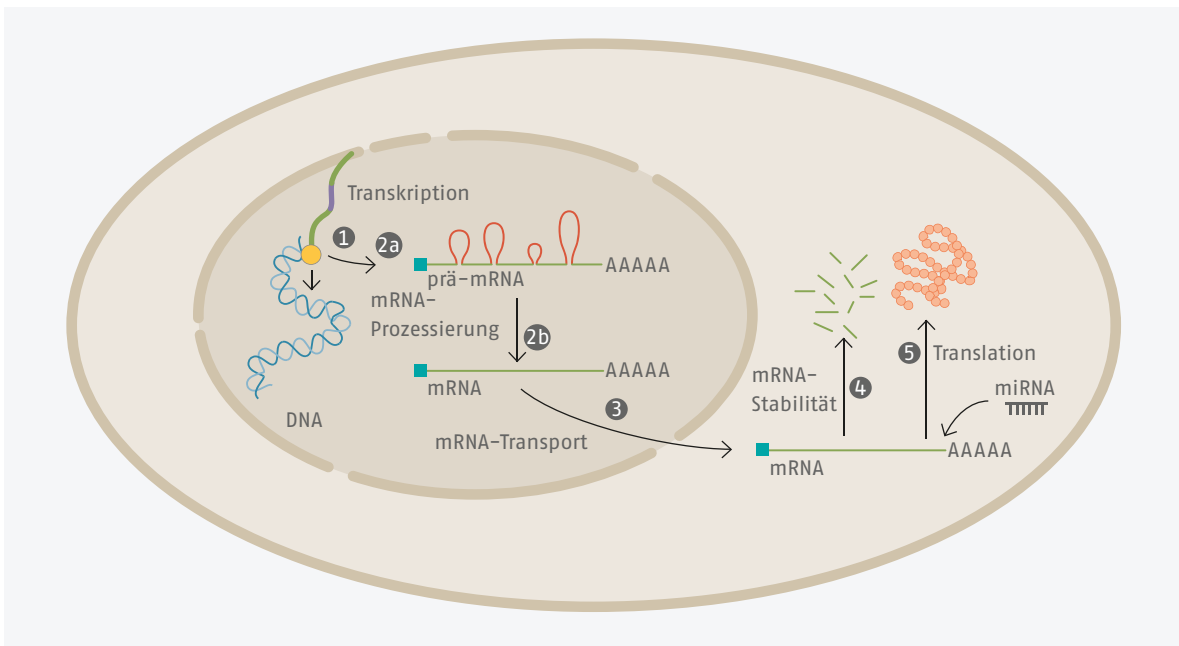
- Die DNA am Genort muss für den basalen Transkriptionsapparat **zugänglich** sein, d. h. es ist erforderlich, dass die Chromatinstruktur dort aufgelockert ist.
- Die **RNA-Polymerase** im basalen Transkriptionsapparat bedarf der Aktivierung durch Protein-Protein-Interaktionen. Dies ist für eine erfolgreiche Initiation



notwendig, bei vielen Genen zusätzlich für den Übergang zu einer produktiven Elongation.

In beiden Fällen spielen **Transkriptionsfaktoren** eine entscheidende Rolle. Sie können im Zusammenspiel mit anderen Proteinen sowohl dafür sorgen, dass das Chromatin am Genort geöffnet wird bzw. geschlossen bleibt, als auch die RNA-Polymerase über Protein-Protein-Interaktionen aktivieren bzw. hemmen. Dabei kann die Aktivität der Transkriptionsfaktoren über das Expressionsniveau in der Zelle und/oder über regulatorische Signale gesteuert werden.

Ein weiterer Faktor, der die Zugänglichkeit der DNA steuert, ist der sogenannte **epigenetische Code** der Zelle. Zu den molekularen Merkmalen des epigeneti-



• **Abb. 4.63** Ebenen der Genexpressionskontrolle bei Eukaryoten. Eukaryoten können die Genexpression auf mehreren Ebenen steuern: beim Umschreiben informationstragender DNA-Abschnitte in DNA (Transkription (1), bei der mRNA-Prozessierung (Capping (2a), Polyadenylierung, Spleißen (2b), beim Übertritt der reifen mRNA vom Zellkern ins Zytoplasma (mRNA-Transport (3)), auf Ebene der mRNA-Stabilität (4) und der Translation (5). Bei den letzten beiden Ebenen spielen microRNAs (miRNAs) eine bedeutende Rolle (►Kap. 4.6.4).

schen Codes gehören die Methylierung der DNA sowie bestimmte posttranslationale Modifikationen an Histon-Proteinen (u. a. Acetylierung, Methylierung), die zusammen als Histon-Code bezeichnet werden.

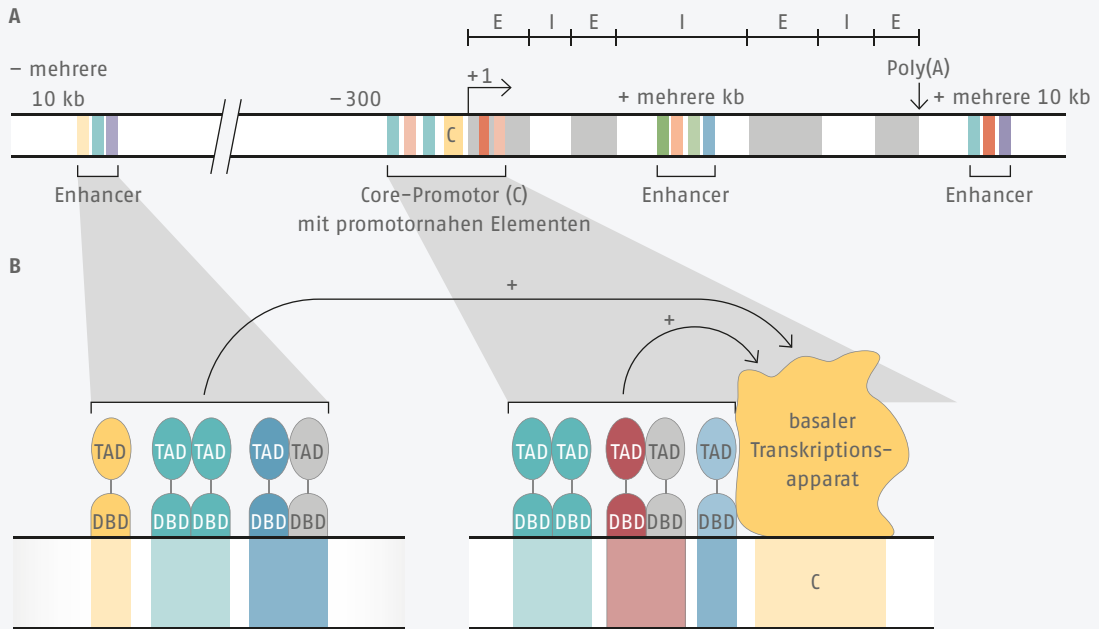
In den folgenden Kapiteln werden zunächst die grundlegenden Eigenschaften der Transkriptionsfaktoren und die Bedeutung der Chromatinarchitektur für die transkriptionelle Regulation eingeführt. Als besonders arzneistoffrelevante Gruppe der Transkriptionsfaktoren werden die nukleären Rezeptoren näher besprochen. Zum Abschluss werden die epigenetischen Mechanismen der Transkriptionssteuerung und die Prinzipien der Genregulation durch miRNA und siRNA dargestellt.

### Transkriptionsfaktoren

Wie bereits ausgeführt, muss bei den eukaryotischen Transkriptionsfaktoren zwischen allgemeinen und spezifischen Transkriptionsfaktoren unterschieden werden (►Kap. 4.4.4). Die **spezifischen Transkriptionsfaktoren** (im Folgenden nur als Transkriptionsfaktoren bezeichnet) nehmen in der eukaryotischen Kontrolle der Genexpression eine Schlüsselrolle ein: Sie stimulieren den basalen Transkriptionsapparat, der für sich alleine keine nennenswerte Transkriptionsaktivität entfalten kann. Dadurch haben sie einen wesentlichen Einfluss auf den Phänotyp einer Zelle sowie an die Anpassung einer Zelle an innere und äußere Reize.

Zur Ausübung der Transkriptionskontrolle binden Transkriptionsfaktoren durch **sequenzspezifische Erkennung** an Bindestellen in regulatorischen Elementen, zu denen die Promotoren und Enhancer zählen. Typisch für eukaryotische Gene ist, dass sich zahlreiche Transkriptionsfaktoren, deren Bindestellen in den Promotoren und Enhancern im Gen weit voneinander entfernt liegen können, gemeinsam an der Steuerung der Transkription beteiligen. •Abb. 4.64 zeigt den prototypischen Aufbau eines eukaryotischen Gens mit multiplen Transkriptionsfaktor-Bindestellen, die bei der Kontrolle der Expression des Gens zusammenwirken.

Bei der Transkriptionsinitiation wirkt eine Vielzahl von Transkriptionsfaktoren orchestriert zusammen, indem sie einen übergeordneten Multiproteinkomplex mit dem basalen Transkriptionsapparat ausbilden. Um dieses Zusammenspiel möglich zu machen, ist eine besondere Raumanordnung der DNA erforderlich: Der DNA-Strang bildet eine **Schleife** aus, sodass auch solche Proteine beteiligt werden können, die an weit auseinanderliegenden Orten im Gen gebunden haben. Zentral für den Aufbau des übergeordneten Multiproteinkomplexes, der erhebliche Dimensionen annehmen kann, ist eine Struktur, die als **Mediator** bezeichnet wird. Dabei handelt es sich selbst um einen Multiproteinkomplex, der als zentrale Schaltstelle an der Transkriptionsregulation fast aller menschlichen Gene beteiligt ist. Er kann



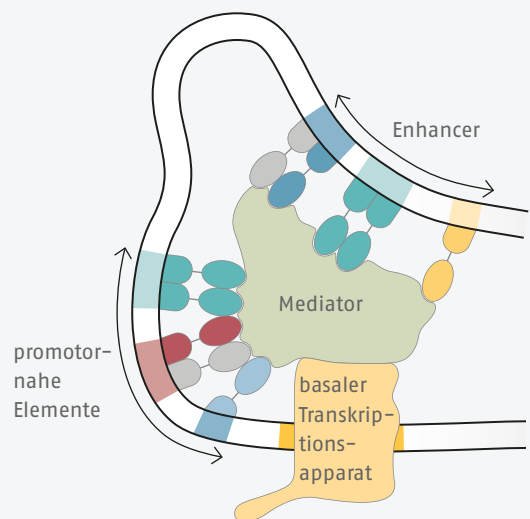
• **Abb. 4.64** A Schematische Darstellung des Aufbaus eines eukaryotischen Gens mit den regulatorischen Elementen. Promotornahen Elemente liegen im Abstand von ca. ± 300 bp um den Core-Promotor (C) herum und damit teilweise im ersten Exon (E). Enhancer können bis zu mehrere 10 kb (Kilobasenpaare) *upstream* oder *downstream* vom Promotor liegen und auch in Introns (I) lokalisiert sein. B Schematische Dar-

stellung der Bindung von Transkriptionsfaktoren an promotornahen Elemente oder Enhancer. Dargestellt sind Transkriptionsfaktoren, die als Monomere, Homodimere oder Heterodimere an ihre Erkennungssequenzen binden. Die dargestellten Transkriptionsfaktoren wirken aktivierend (+) auf den basalen Transkriptionsapparat ein.

sowohl als Gerüst für den Aufbau des basalen Transkriptionsapparats dienen als auch als Brücke zwischen den Transkriptionsfaktoren der promotornahen Elemente/Enhancer und dem basalen Transkriptionsapparat fungieren. Damit spielt der Mediator-Komplex eine zentrale Rolle bei der Übermittlung eines integrierten Aktivierungssignals an die RNA-Polymerase (• Abb. 4.65).

Transkriptionsaktivierende eukaryotische Transkriptionsfaktoren sind vom Grundprinzip her modular aufgebaut. Der allgemeine Bauplan beinhaltet eine **DNA-bindende Domäne**, die sequenzspezifisch mit DNA-Elementen interagiert, sowie eine oder mehrere **transaktivierende Domänen**. Die Funktion der transaktivierenden Domänen besteht darin, über dazwischengeschaltete Proteinkomplexe den basalen Transkriptionsapparat zu aktivieren, vielfach interagieren sie jedoch auch mit Proteinen, die die Chromatinstruktur regulieren. Bei der Bindung an die DNA treten Transkriptionsfaktoren als Mono- oder Oligomere auf; bei Oligomeren handelt es sich oftmals um Homo- oder Heterodimere (• Abb. 4.63 B).

Neben den aktivierenden Transkriptionsfaktoren sind auch transkriptionshemmende Vertreter bekannt,



• **Abb. 4.65** Der Mediator-Komplex: das Zusammenwirken vieler Proteine bei der Transkriptionsinitiation wird durch Schleifenbildung der DNA ermöglicht.

◉ **Abb. 4.66** Struktur motive in eukaryotischen Transkriptionsfaktoren.

A Das **Helix–Turn–Helix–Motiv** umfasst zwei dicht aufeinanderfolgende  $\alpha$ -Helices, die durch eine kurze Kehre miteinander verbunden sind. Eine der beiden  $\alpha$ -Helices dient als Erkennungshelix. B Das **Zinkfinger–Motiv** existiert in mehreren Varianten. Alle Vertreter enthalten DNA-bindende Einheiten, die durch zentrale Zinkionen stabilisiert werden („Zinkfinger“). In einem Zinkfinger komplexieren mehrere kurze Abschnitte des Proteins (hier: 2  $\beta$ -Faltblätter und eine Erkennungshelix) über Cysteinreste und ggf. auch Histidinreste ein zentrales Zinkion. C Transkriptionsfaktoren mit **Leucin–Zipper–Motiv** treten als Dimere auf. Bei

der Dimerisierung bilden zwei lange,  $\alpha$ -helicale Monomere über ihre C-terminalen Bereiche eine Doppelwendel aus, die über hydrophobe Leucin-Reste stabilisiert wird, indem die Leucin-Reste eine reißverschlussartige Anordnung einnehmen („Zipper“). Zur DNA-Erkennung dienen die helicalen Abschnitte der N-terminalen Bereiche. Sie sind durch basische Reste positiv geladen und umgreifen scherenartig die DNA. D Transkriptionsfaktoren mit **Helix–Loop–Helix–Motiv** kommen i. A. als Dimere vor. Die jeweiligen Monomere enthalten kurze  $\alpha$ -Helices, die über flexible Schleifenbereiche mit Erkennungshelices verbunden sind. Die Erkennungshelices tragen basische Reste.

die sogenannten **Repressoren**. Diese sind jedoch noch nicht gut charakterisiert und werden hier nicht weitergehend besprochen. Allerdings werden wir als Transkriptionsfaktorklasse, die sowohl aktivierend als auch repressorisch wirken kann, die **nukleären Rezeptoren** kennenlernen (► Kap. 4.6.4).

Damit ein Transkriptionsfaktor selektiv in die Regulation bestimmter Zielgene eingreifen kann, muss die DNA-bindende Domäne in der Lage sein, die regulatorischen Elemente des Zielgens basenspezifisch zu erkennen. Anhand charakteristischer Struktur motive werden die Transkriptionsfaktoren in vier Hauptgruppen eingeteilt, die Helix–Turn–Helix-, Zinkfinger-, Leucin–Zipper- und die Helix–Loop–Helix–Transkriptionsfaktoren (◉ Abb. 4.66). Allen Klassen ist gemeinsam, dass die spezifische Interaktion mit der DNA über eine  $\alpha$ -Helix, die sogenannte Erkennungshelix, erfolgt, die sich in die große Furche der DNA „hineinschmiegt“ (◉ Abb. 4.66). Für die sequenzspezifische Interaktion der entsprechenden Aminosäuren mit der DNA sind hauptsächlich Wasserstoffbrücken verantwortlich, daneben spielen unter anderem ionische Interaktionen mit dem Zucker-Phosphat-Rückgrat eine Rolle.

Neben der Klassifizierung anhand der DNA-bindenden Domänen unterteilt man die Transkriptionsfaktoren nach ihrem Aktivitätsprofil, wobei zwischen den **konstitutiv aktiven** und den **signalabhängigen** Transkriptionsfaktoren unterschieden wird. Bei den konstitutiv aktiven Transkriptionsfaktoren kennt man solche, die in fast allen Geweben vorkommen, beispielsweise das Zinkfingerprotein Sp1 (▣ Tab. 4.5), aber auch solche, die nur zelltypspezifisch bzw. entwicklungsabhängig exprimiert werden wie die Oct-Proteine (Oktamerbindende Proteine). Die Oct-Proteine sind Schlüsselfaktoren für viele Entwicklungs- und Differenzierungsprozesse und gehören zu den Helix–Turn–Helix–Transkriptionsfaktoren. Bei den signalabhängigen

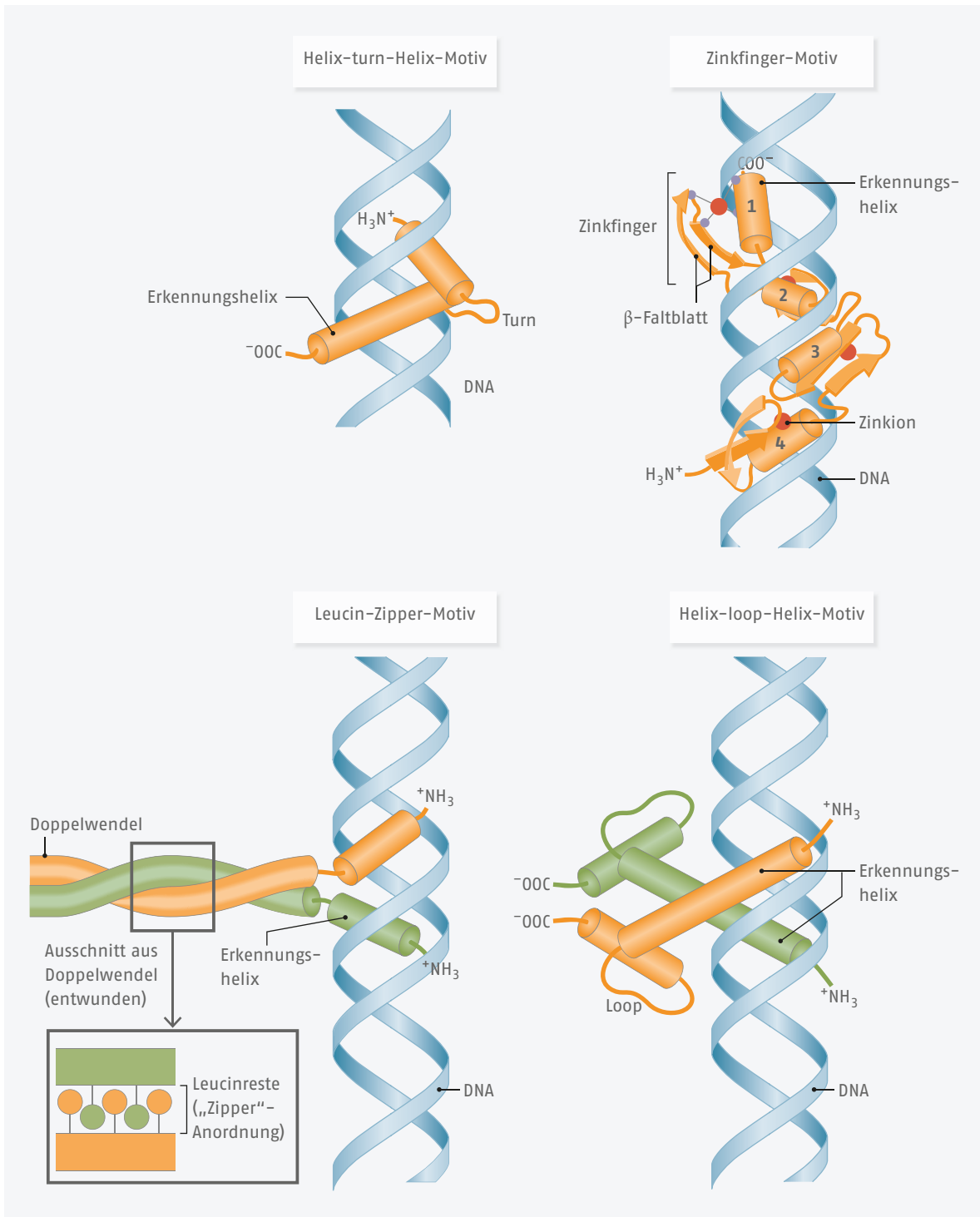
Transkriptionsfaktoren unterscheidet man zwischen den nukleären Rezeptoren, die durch endokrine Hormone aktiviert werden wie beispielsweise der Glucocorticoidrezeptor (▣ Tab. 4.5), den Rezeptoren für innere Signale wie das p53-Protein, das als Sensor für DNA-Schäden dient (► Kap. 10.3.2), und den Transkriptionsfaktoren, die durch Transmembranrezeptor-Signalling aktiviert werden, beispielsweise AP-1 (▣ Tab. 4.5).

Das menschliche Genom umfasst insgesamt rund 20 000 proteincodierende Gene, wovon etwa 1600 für Transkriptionsfaktoren codieren. Durch Mechanismen wie dem alternativen Spleißen entstehen aus diesen Genen etwa 3000 verschiedene Transkriptionsfaktoren – somit liegt das Verhältnis zwischen der Anzahl der Gene und den darauf einwirkenden Regulatorproteinen im Menschen unter 10:1.

### Chromatinarchitektur und die Kontrolle der Transkription

Bei Eukaryoten liegt die genomische Erbinformation in Form linearer Einheiten, den **Chromosomen**, in den Kernen der Zellen vor. Das Erbgut in dieser Form platzsparend zu verpacken, stellt für die Zellen jedoch eine besondere Herausforderung dar, da die Gesamtlänge der chromosomalen DNA ein Vielfaches der durchschnittlichen Zellgröße beträgt. Bei einer menschlichen Zelle liegt der typische Zelldurchmesser bei ca. 10–100  $\mu\text{m}$ , von dem der Zellkern rund die Hälfte einnimmt. Auf diesem Raum muss allerdings ein diploider Satz von  $2 \times 23$  Chromosomen mit  $6 \times 10^9$  bp DNA untergebracht werden, der sich zusammen auf eine erstaunliche Länge von etwa 2 m DNA beläuft! Diese Verhältnisse machen deutlich, dass die platzsparende Verpackung der eukaryotischen DNA eine besondere Strategie erfordert.

Um eine ausreichende Kompaktierung zu erreichen, liegt die eukaryotische DNA in den Zellen nicht nackt

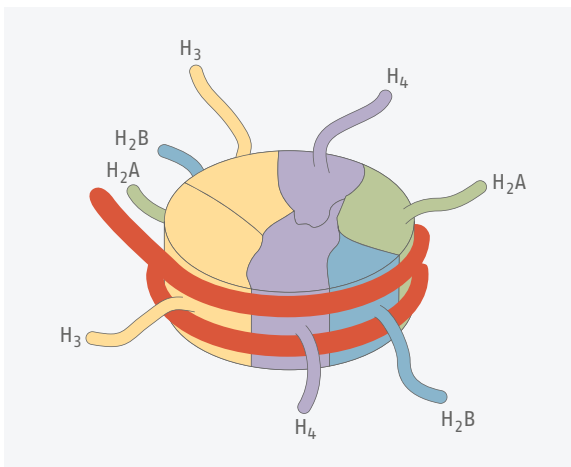


vor, sondern ist etwa im Masseverhältnis 1:1 an Proteine gebunden. Dieser Komplex aus DNA und daran assoziierten Proteinen wird als **Chromatin** bezeichnet. Von den Proteinen im Chromatin machen die **Histone** den Hauptteil aus. Histone sind Kernproteine, die durch einen hohen Anteil an den Aminosäuren Lysin und Arginin stark basisch sind, wodurch sie unter physiolo-

gischen Bedingungen positiv geladen sind und gut mit der negativ geladenen DNA interagieren können. Bei den Histonen unterscheidet man 5 Klassen, dies sind die Histone des Typs H1 und die funktionell zusammengehörigen vier Typen H2A, H2B, H3 und H4. Die Histone H2A bis H4 bilden zusammen mit der DNA die Grund-

■ Tab.4.5 Beispiele menschlicher Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktor	Klasse	Monomer, Dimer	Konsensussequenz	Funktion
Sp1 (specificity protein 1)	Zinkfinger	Monomer	GGGCGG (GC-Box)	Ubiquitärer Transkriptionsfaktor, u. a. Regulation von <i>housekeeping genes</i>
GR (Glucocorticoidrezeptor)	Zinkfinger	Dimer (bildet Homodimere mit dem <i>retinoid X receptor RXR</i> )	AGAACA(N) <sub>3</sub> TGTTCT	Vermittler der genomischen Effekte des Hormons Cortisol (►Kap. 4.6.4)
AP-1 (activator protein 1)	Leucinzipper	Dimer (Heterodimer aus Jun und Fos)	TGACTCA	Vermittler genomischer Effekte von Wachstumsfaktoren und Stressreizen (z. B. Entzündungssignalen) Regulation von Wachstum, Differenzierung und Apoptose (►Kap. 9.7.1)



● Abb. 4.67 Nukleosomen-Struktur. In einem Nukleosom assoziieren je zwei H2A/H2B-Dimere mit einem H3/4-Tetramer. Dieses Oktamer bildet den Kern der Struktur und wird von ca. 1,6 Windungen DNA umwickelt.

einheit der DNA-Verpackung, die sogenannten Nukleosomen, aus.

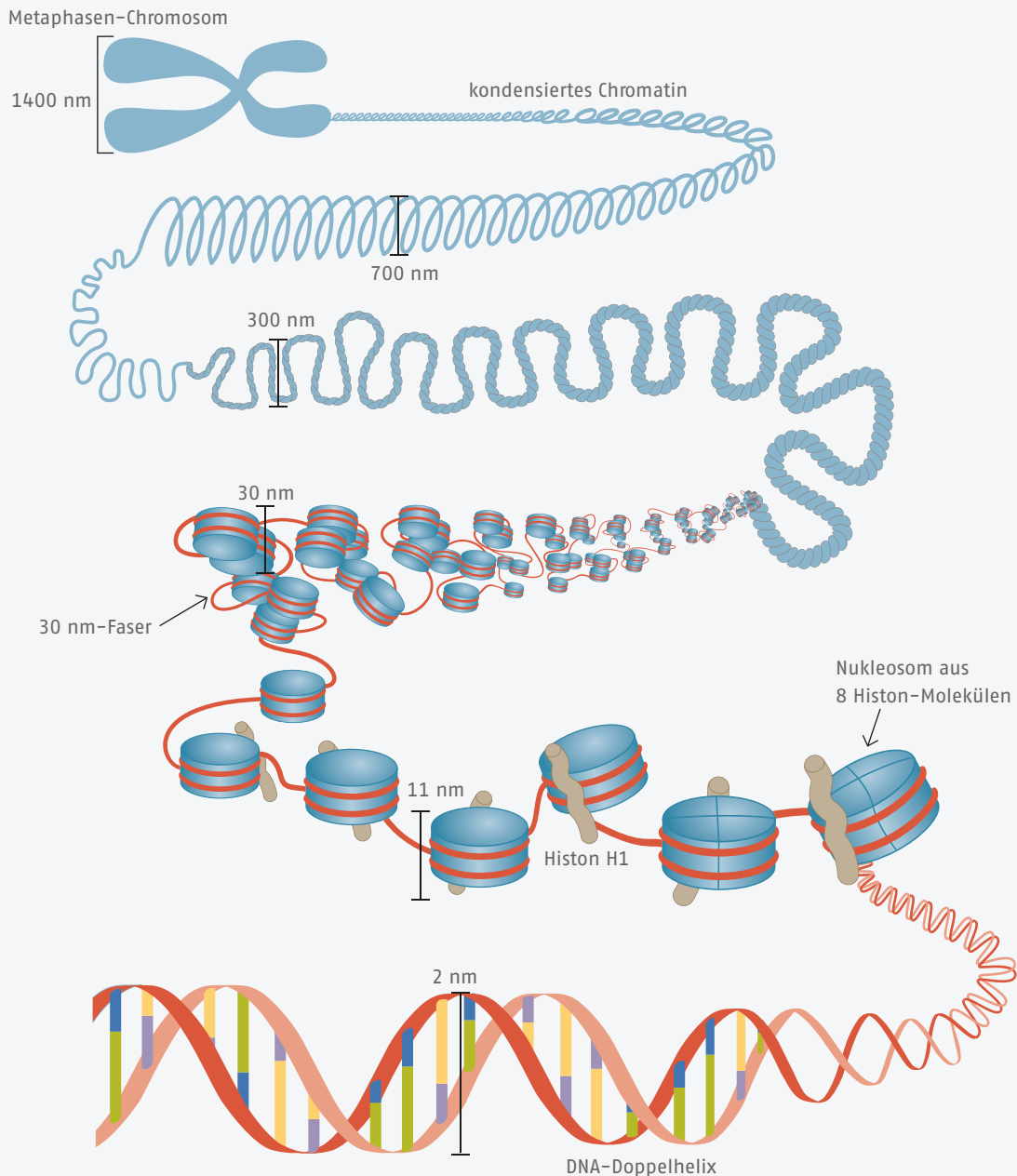
**Nukleosomen** haben einen scheibenförmigen Kern, der aus einem Oktamer von je zwei Histonen des Typs H2A, H2B, H3 und H4 besteht und von 147 bp DNA umwunden wird. Aus diesem Kern ragen die N-Termini der Histone heraus, die stark basisch sind und mit der DNA interagieren (●Abb. 4.67). Ein weiterer DNA-Abschnitt von 10–90 bp Länge bildet die Verbindung zum benachbarten Nukleosom, sodass bei linearer Anordnung eine **perlenkettenartige Struktur** entsteht.

Diese Raumorganisation stellt die elementare Verpackungsebene eukaryotischer DNA dar.

Mithilfe des Histons H1 können Nukleosomen Strukturen höherer Ordnung ausbilden. Durch enge Zusammenlagerung entsteht dabei eine kondensierte Anordnung, die als **30-nm-Faser** bezeichnet wird, deren exakte Raumstruktur jedoch trotz intensiver Bemühungen noch nicht ganz aufgeklärt ist. Über die 30-nm-Faser hinaus sind weitere Strukturebenen höherer Ordnung möglich: So muss die DNA für die Zellteilung in einer hoch kondensierten Form vorliegen, um eine störungsfreie Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen zu ermöglichen. Diese Kondensierung erfolgt über intensive **Schleifenbildung** bis hin zur mikroskopisch sichtbaren Form der Metaphasen-Chromosomen, die die dichteste Verpackungsform darstellen (●Abb. 4.68).

In den Chromosomen der **Interphase** ist die DNA weder maximal kompaktiert wie in der Mitose-Phase, noch maximal aufgelockert, wie es in der Synthesephase des Zellzyklus der Fall ist (►Kap. 10). In dieser Phase stellt die **30-nm-Faser** die Struktur **transkriptionell inaktiver Bereiche** dar und die **perlenkettenartige Anordnung** entspricht der Struktur **transkriptionell aktiver Bereiche**. Diese Regionen können nach Anfärbung der DNA in den Zellen mikroskopisch unterschieden werden: Die helleren Bereiche, in denen Transkription stattfinden kann, werden als **Euchromatin** bezeichnet, die dicht erscheinenden, transkriptionell inaktiven Bereiche der DNA sind das sogenannte **Heterochromatin**.

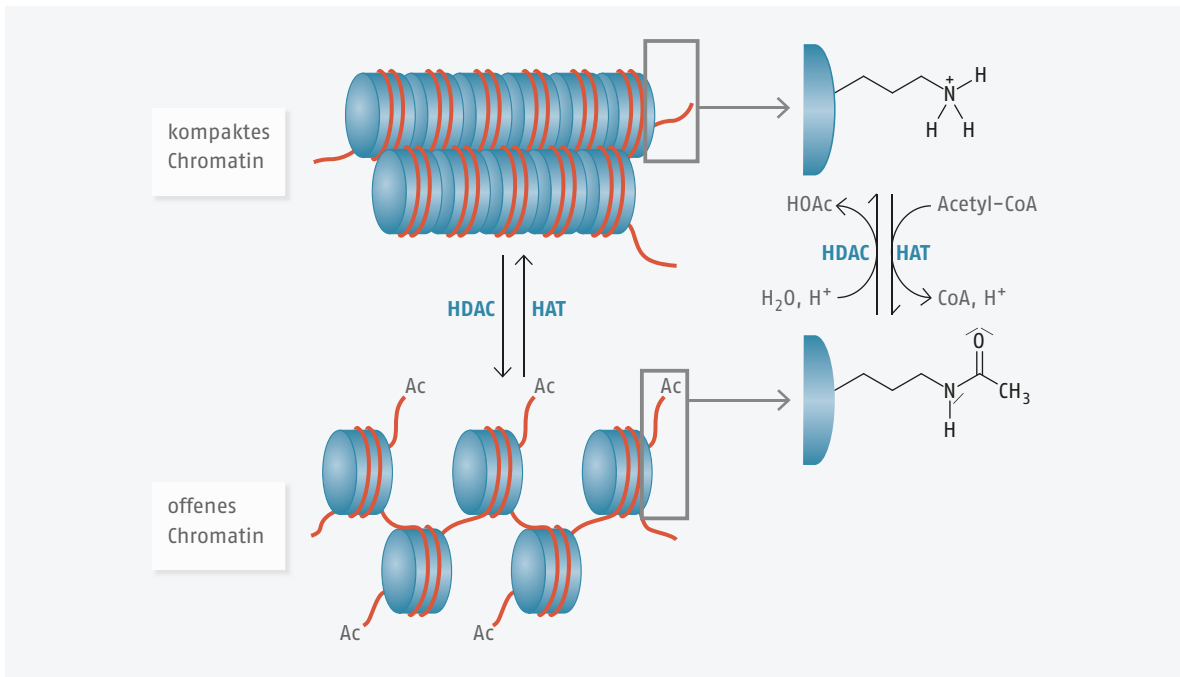
Wie bereits einführend erläutert, ist die Zugänglichkeit der DNA eine entscheidende Voraussetzung für den Aufbau des Transkriptionsapparats. Ein Wechsel von der unzugänglichen, kompakten Form des Chromatins zur



• **Abb. 4.68** Ebenen der Raumorganisation des Chromatins im Metaphasen-Chromosom. Durch Assoziation der Nucleosomen mit den Histonen H1, die als Verbindungselemente dienen, entstehen 30 nm lange Fasern. Die weitere Kompaktierung des Chromatins erfolgt über die Bildung von Schleifen, die sich zusammenlagern.

aufgelockerten, transkriptionell permissiven Struktur (oder umgekehrt) kann durch proteinvermittelte **Chromatinumwandlung** (*chromatin remodelling*) vollzogen werden. In diesem Prozess spielen reversible posttranslationale Modifikationen an den N-terminalen Histonresten, die zum Histon-Code gehören, eine entscheidende Rolle. Unter diesen Strukturveränderungen ist die

Bedeutung der **Acetylierung/Deacetylierung von Lysinresten** besonders hervorzuheben, deren Funktion an dieser Stelle erläutert werden soll: Wird die terminale Aminogruppe in der Seitenkette des Lysins durch **Histonacetyltransferasen** (HAT) acetyliert, verliert sie ihre Basizität, da das freie Elektronenpaar des Aminrests in die Mesomerie der Acetylgruppe einbezogen ist. In der



• **Abb. 4.69** Funktion der Histonacetyltransferasen (HAT) und Histondeacetylasen (HDAC) im *chromatin remodeling*.

Folge liegt die Lysin-Seitenkette bei physiologischem pH-Wert nicht mehr protoniert vor, sie verliert also ihre positive Nettoladung und damit die Affinität zur negativ geladenen DNA. Hierdurch können Histonacetyltransferasen eine Dekompaktierung des Chromatins einleiten – ein Prozess, der durch die antagonistisch wirkende Enzymklasse der **Histondeacetylasen** (HDAC) revertiert werden kann (• Abb. 4.69). Die beiden Enzymklassen stellen somit wichtige Gegenspieler bei der Regulation der Chromatinarchitektur und damit der Genexpression dar.

Das *chromatin remodelling* zur Auflockerung der DNA eines Genorts, der transkribiert werden soll, wird häufig durch bestimmte Transkriptionsfaktoren initiiert. Hierzu zählen die **Pionierfaktoren**, die bei zellulären Differenzierungsprozessen eine Schlüsselrolle spielen. Sie verfügen über eine DNA-bindende Domäne, die an die jeweiligen Consensussequenzen auch bei kompakt vorliegender DNA-Struktur binden kann. Eine weitere Klasse von Transkriptionsfaktoren, die zur Öffnung von Chromatin in der Lage ist, sind **nukleäre Rezeptoren**, die ligandenabhängig in Zusammenarbeit mit Histonacetyltransferasen einen Genort für die Transkription zugänglich machen können.

### Nukleäre Rezeptoren

Wie wir einführend erfahren haben, sind bestimmte Klassen von Transkriptionsfaktoren durch **Signale** steuerbar (► Kap. 4.6.2). In vielen Fällen werden diese

Signale von **hydrophilen und/oder großen Signalmolekülen** vermittelt, die an **membranständigen Rezeptoren** angreifen und in der Zelle bestimmte Signalkaskaden in Gang setzen. Diese Signalwege können zur Aktivierung oder Inaktivierung von Transkriptionsfaktoren führen, beispielsweise indem die Transkriptionsfaktoren an regulatorischen Stellen phosphoryliert werden. Häufig ist die Zellantwort, die zu einer genomischen Wirkung führt, nur ein Teil der gesamten Auswirkung der aktivierten Signalwege auf die Zelle (► Kap. 9).

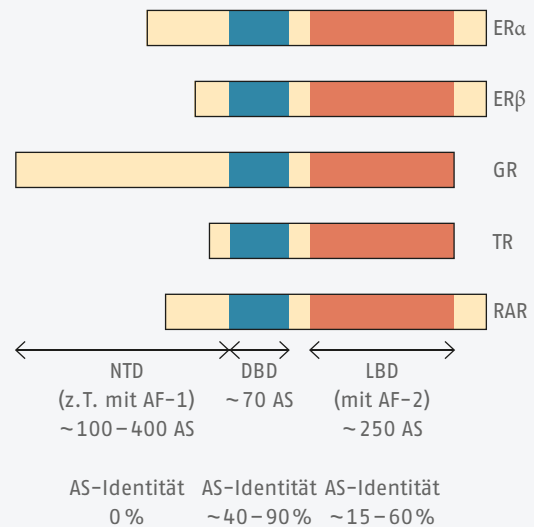
Im Gegensatz dazu gibt es eine Gruppe **kleiner und lipophiler Signalmoleküle**, die zur Membranpassage befähigt sind und eine genomische Antwort über **intrazellulär lokalisierte Rezeptoren** auslösen. Diese Botenstoffe haben typischerweise ungefähr die Größe des Membranbausteins Cholesterol (< 500 g/mol) und entfalten ihre Wirkung als Liganden von **nukleären Rezeptoren** (► Kap. 9.9). Diese Klasse von Transkriptionsfaktoren wirkt auf die Transkription im Allgemeinen aktivierend ein, bestimmte Typen können in Abwesenheit eines Liganden jedoch auch als Repressoren fungieren.

Im Menschen sind 48 verschiedene nukleäre Rezeptoren bekannt, die einen charakteristischen Grundaufbau gemeinsam haben. Dieser umfasst folgende Domänen:

- eine sehr variable, N-terminale Domäne (NTD),
- in der Mitte eine stark konservierte **DNA-bindende Domäne (DBD)** mit Zinkfinger-Motiv, über die der Rezeptor charakteristische Consensussequenzen auf der DNA erkennt,



• **Abb. 4.70** Allgemeines Bauprinzip der nukleären Rezeptoren am Beispiel der Vertreter Estrogenrezeptor  $\alpha$  und  $\beta$  (ER $\alpha$  und ER $\beta$ ), Glucocorticoid-Rezeptor GR, Schilddrüsenhormonrezeptor TR und Vitamin-A-Säure-Rezeptor RAR. Die N-terminale Domäne (NTD) ist bei den einzelnen Rezeptoren in ihrer Länge und Sequenz stark variabel, während die DNA-bindende Domäne (DBD) und die Ligandenbindungsdomäne (LBD) einen hohen bzw. mittleren Konservierungsgrad zeigen. Einige Vertreter verfügen über eine ligandenunabhängige Aktivierungsfunktion in der NTD, die *activation function-1* (AF-1), während die LBD die ligandenabhängige Aktivierungsfunktion vermittelt (AF-2). Die AF-1 spielt häufig eine untergeordnete Rolle, jedoch wird ihre Funktion beispielsweise als Erklärung für die gewebsspezifischen Effekte der Estrogenrezeptor-Isoformen ER $\alpha$  und ER $\beta$  betrachtet. ER $\alpha$  und ER $\beta$  werden gewebsspezifisch exprimiert, sie unterscheiden sich in der NTD und dadurch in der AF1. Zwischen der DBD und der LBD liegt eine flexible Scharnierregion (Hinge-Region).



- eine etwas weniger stark konservierte C-terminale Region, die die **Ligandenbindungsdomäne (LBD)** beinhaltet; diese Domäne vermittelt die **signalabhängige Aktivität** des Rezeptors (• Abb. 4.70).

Die charakteristischen Bindungsstellen (Konsensussequenzen) auf der DNA, die von den nukleären Rezeptoren erkannt werden, werden als *response elements* bezeichnet, da sie sozusagen die genomische Antwort auf das Signal vermitteln, das durch den Liganden übertragen wird.

Die beiden wichtigsten Klassen der nukleären Rezeptoren sind die **Steroidhormonrezeptoren** (Steroidrezeptoren) und die **RXR-Heterodimer-bildenden Rezeptoren**,

die sich in mehrerer Hinsicht unterscheiden. Ein prominenter Unterschied besteht darin, dass die RXR-Heterodimer-bildenden Rezeptoren im Gegensatz zu den Steroidrezeptoren in Abwesenheit eines Liganden als Repressoren der Transkription wirken können (■ Tab. 4.6).

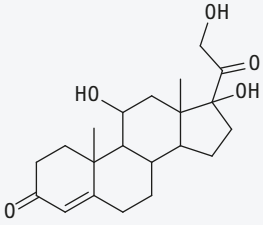
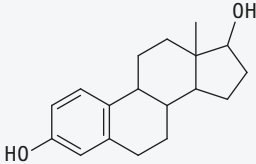
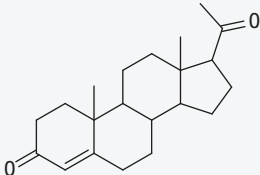
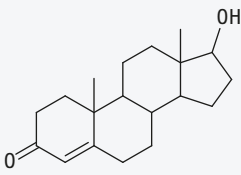
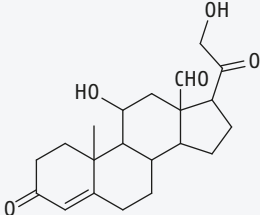
Zur ersten Klasse, den **Steroidrezeptoren**, gehören die Glucocorticoidrezeptoren (GR) sowie die Rezeptoren für die Sexualhormone und das Aldosteron. Bei den Liganden handelt es sich durchweg um Hormone mit Steroidgrundgerüst. ■ Tab. 4.7 bietet einen Überblick über die entsprechenden Rezeptorbezeichnungen, ihre Liganden und deren wichtigste physiologische Funktionen.

Die Steroidrezeptoren binden typischerweise an *response elements*, die aufgrund ihrer charakteristischen

■ **Tab. 4.6** Vergleich der beiden wichtigsten Klassen nukleärer Rezeptoren

Unterscheidungskriterium	Steroidrezeptoren	RXR-Heterodimer-bildende Rezeptoren
Dimerisierungsverhalten	Homodimere	Heterodimere (mit dem nukleären Rezeptor RXR)
Zelluläre Lokalisation ohne Ligandenbindung	Zytosolisch	Nukleär
Art der Liganden	Steroide	Nichtsteroidal, strukturell divers
Struktur der response elements	Inverse Wiederholungen (inverted repeats) von Hexamer-Basenabfolgen	Direkte Wiederholungen (direct repeats) von Hexamer-Basenabfolgen
Wirkungsweise	Ligandengebunden: Aktivatoren der Transkription	Nicht ligandengebunden: Repressoren; ligandengebunden: Aktivatoren der Transkription

■ Tab.4.7 Steroidrezeptoren: Liganden und Funktionen

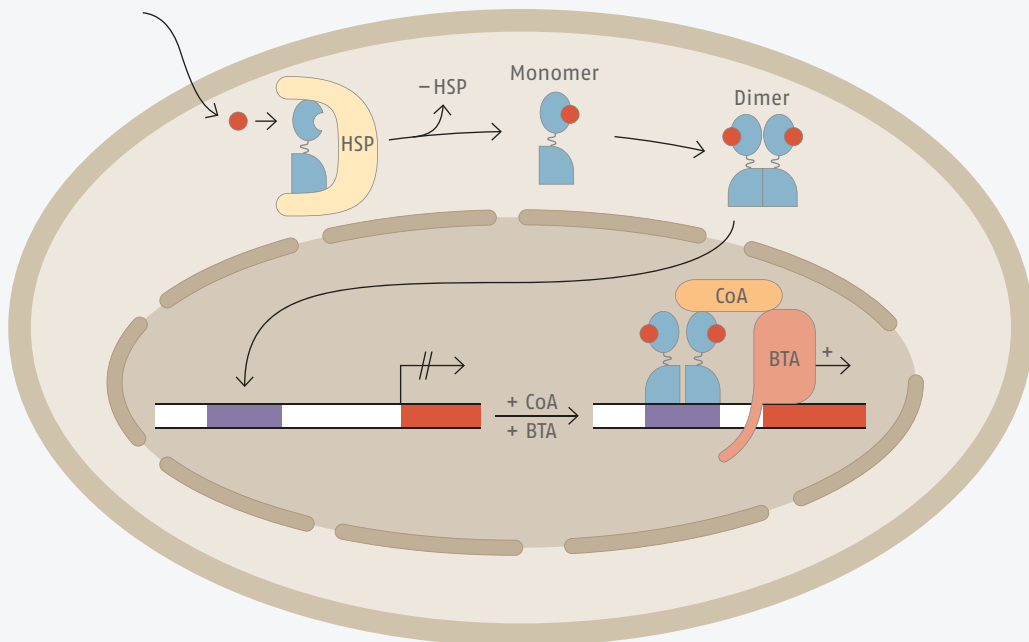
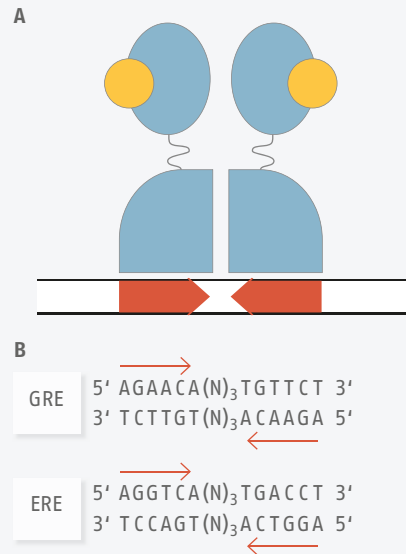
Rezeptor	Physiologischer Ligand	Physiologische Hauptfunktionen
Glucocorticoid-rezeptor (GR)	 <p>Cortisol</p>	Metabolische Regulation: Kohlenhydrat-, Protein- und Fettstoffwechsel, Immunregulation
Estrogenrezeptor (ER)	 <p>Estradiol</p>	Steuerung reproduktives System: Ausprägung und Funktion (weiblicher) Geschlechtsmerkmale; Schwangerschaftserhaltung
Progesteron-rezeptor (PR)	 <p>Progesteron</p>	
Androgenrezeptor (AR)	 <p>Testosteron</p>	Steuerung reproduktives System: Ausprägung und Funktion (männlicher) Geschlechtsmerkmale, sexualunabhängige Effekte: protein-anabole Wirkung
Mineralocorticoid-rezeptor (MR)	 <p>Aldosteron</p>	Regulation des Elektrolyt- und Wasserhaushalts

Symmetrieeigenschaften als *inverted repeats* (IR) bezeichnet werden. Diese Elemente bestehen aus zwei Hälften zu je sechs Nukleotiden, die in einer umgekehrten Orientierung angeordnet sind, wodurch der Sequenzbereich palindromische Eigenschaften erhält. Da die beiden sogenannten *half sites* durch drei Spacer-

Nukleotide voneinander getrennt sind, bezeichnet man diesen Typ als IR3-Elemente (● Abb. 4.71).

Nach der Bindung eines Liganden translozieren Steroidrezeptoren vom Zytoplasma in den Zellkern, wo sie an die *response elements* ihrer Zielgene binden und mithilfe von **Coaktivator-Proteinen** die Transkription akti-

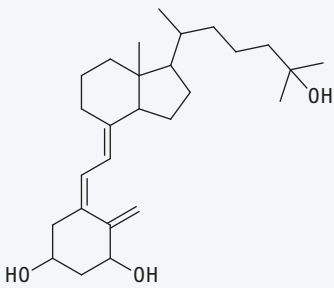
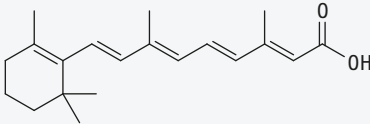
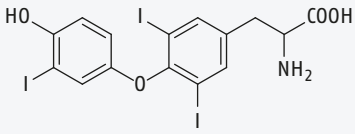
● **Abb. 4.71** Steroidrezeptoren und ihre *response elements*. A Steroidrezeptoren binden als Homodimere „Rücken an Rücken“ an *inverted repeat elements*. Die beiden *half sites* des Elements werden schematisch durch zwei Pfeile in umgekehrter Orientierung dargestellt. B Prototypische Sequenz eines Glucocorticoid-*response elements* (GRE) und eines Estrogen-*response elements* (ERE) als Vertreter der IR3-Elemente.



● **Abb. 4.72** Steroidrezeptor-Signalling. Steroidrezeptoren liegen im ligandungebundenen Zustand an Hitzeschockproteine (HSP) gebunden im Zytoplasma vor. Lipophile, niedermolekulare Liganden, die die Zellmembran durchdringen können, binden an den Rezeptor und bewirken eine Konformationsänderung, die zur Dissoziation der Steroidrezeptoren von den HSP führt. Nach der (Homo)Dimerisierung gelangen die Rezeptoren in den Nukleus, wo sie an *response elements* binden und mithilfe von Coaktivatoren (CoA)

den basalen Transkriptionsapparat (BTA) rekrutieren und aktivieren. Zu den Coaktivatoren gehören Proteinkomplexe mit Histonacetyltransferase (HAT)-Aktivität, die das Chromatin auflockern (►Kap. 4.6.4); *chromatin remodelling engines*, die durch Chromatinumbau Raum für den basalen Transkriptionsapparat schaffen und der Mediator-Komplex, der den Transkriptionsapparat rekrutiert und aktiviert (►Kap. 4.6.4).

■ Tab. 4.8 RXR-Heterodimer bildende Rezeptoren: Liganden und Funktionen

Rezeptor	Physiologischer Ligand	Physiologische Hauptfunktionen
Vitamin-D-Rezeptor (VDR)	 <p>Calcitriol (1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>)</p>	Regulation des Calcium- und Phosphatstoffwechsels, Regulation der Proliferation und Differenzierung u. a. von Leukozyten, Zellen der Haut
Vitamin-A-Säure-Rezeptor (RAR)	 <p>Vitamin-A-Säure</p>	Embryonalentwicklung, Regulation der Proliferation und Differenzierung u. a. von Leukozyten, Zellen der Haut, Lungen-/ Darmepithel
Schilddrüsenhormonrezeptor (TR)	 <p>Triiodthyronin (T<sub>3</sub>)</p>	Regulation Wachstum und Reifung des Organismus, Regulation des Grundstoffwechsels

vieren. Der allgemeine Mechanismus des Steroidrezeptor-Signallings ist in [Abb. 4.72](#) im Detail dargestellt.

Die zweite Klasse der nukleären Rezeptoren umfasst die **RXR-Heterodimer-bildenden Rezeptoren**. Zu ihnen zählen unter anderem der **Vitamin-D-Rezeptor (VDR)**, der **Vitamin-A-Säure-Rezeptor (retinoic acid receptor, RAR)** und der **Schilddrüsenhormonrezeptor (thyroid hormone receptor, TR)**. Ihre Bezeichnung rührt daher, dass sie ihre Funktion in Form von Heterodimeren mit dem nukleären Rezeptor RXR (*retinoid X receptor*) ausüben. [Tab. 4.8](#) zeigt die Liganden dieser Rezeptoren und fasst die physiologischen Hauptfunktionen der zugehörigen Signalwege zusammen.

Der **Retinoid-X-Rezeptor (RXR)** besitzt als Rezeptorprotein eine duale Funktion. Gut charakterisiert ist seine Rolle als gemeinsamer Bindungspartner der RXR-Heterodimer-bildenden Rezeptoren VDR, RAR und TR. Diese Funktion kann der RXR im nicht liganden gebundenen Zustand ausüben, sie wird durch Ligandenbindung nur moduliert. Weiterhin ist bekannt, dass RXR auch eigenständig, in Form von Homodimeren, als Rezeptor für den Liganden 9-*cis*-Retinsäure dienen kann. Die physiologische Bedeutung dieses Signallings ist jedoch noch unklar.

Die **RXR-Heterodimere** binden auf der DNA zumeist an sogenannte *direct repeats*. Diese Elemente bestehen

aus zwei Hälften zu je sechs Nukleotiden, die durch eine bestimmte Anzahl an Spacer-Nukleotide voneinander getrennt sind. Je nachdem ergeben sich die sogenannten DR3-, DR4-, bzw. DR5-Elemente. Die Anzahl der Spacer-Nukleotide ist entscheidend dafür, welcher der RXR-Heterodimer bildenden Rezeptoren daran bindet: Der VDR bevorzugt Elemente mit drei Spacer-Nukleotiden (DR3-Elemente), der TR bindet an DR4-Elemente und der RAR an DR5-Sequenzen ([Abb. 4.73](#)).

**RXR-Heterodimer bildende Rezeptoren** sind in der Zelle unabhängig von der Ligandenbindung nukleär lokalisiert und üben auch im nicht liganden gebundenen Zustand eine genregulatorische Rolle aus. Sie liegen an die *response elements* ihrer Zielgene gebunden vor und interagieren in Abwesenheit eines Liganden mit sogenannten Corepressoren, die für eine lokale Verdichtung des Chromatins sorgen und damit die Transkription unterdrücken ([Abb. 4.74 A](#)). Bindet jedoch ein Ligand, wird eine Konformationsänderung ausgelöst, die zum Austausch von Corepressoren durch Coaktivatoren führt. Coaktivatoren sind Proteinkomplexe, die eine Auflockerung des Chromatins bewirken und dafür sorgen, dass der basale Transkriptionsapparat rekrutiert und aktiviert wird ([Abb. 4.74 B](#)).

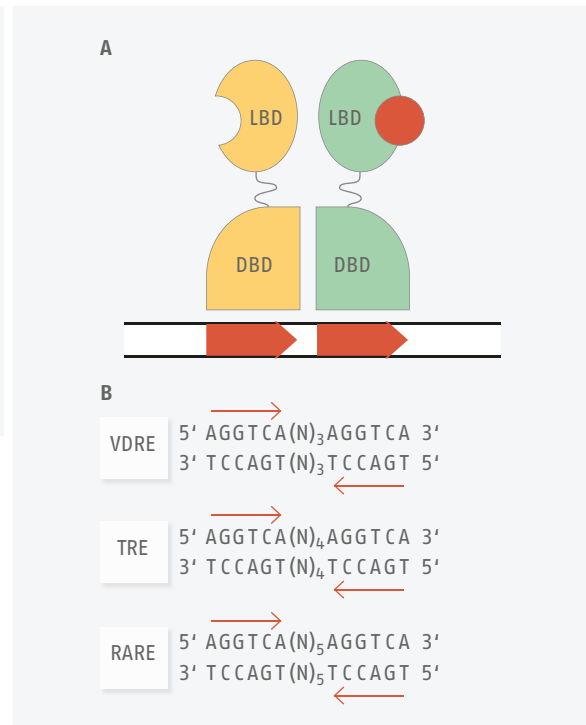
Wie im Bisherigen deutlich wurde, sind nukleäre Rezeptoren ansteuerbare „Genschalter“, die gewebsspe-

zifisch die Zellproliferation, Zelldifferenzierung und den zellulären Metabolismus steuern können, wodurch sie an fast allen physiologischen Prozessen beteiligt sind. Aufgrund dieser zentralen Rolle im Organismus sind die nukleären Rezeptoren bedeutende pharmakotherapeutische Targets. In [Tab. 4.9](#) und [Tab. 4.10](#) werden beispielhaft Arzneistoffe gezeigt, die an den bisher vorgestellten Rezeptoren angreifen.

Von den genannten Arzneistoffen werden die Wirkmechanismen der Glucocorticoide und des Tamoxifens im Folgenden kurz erläutert.

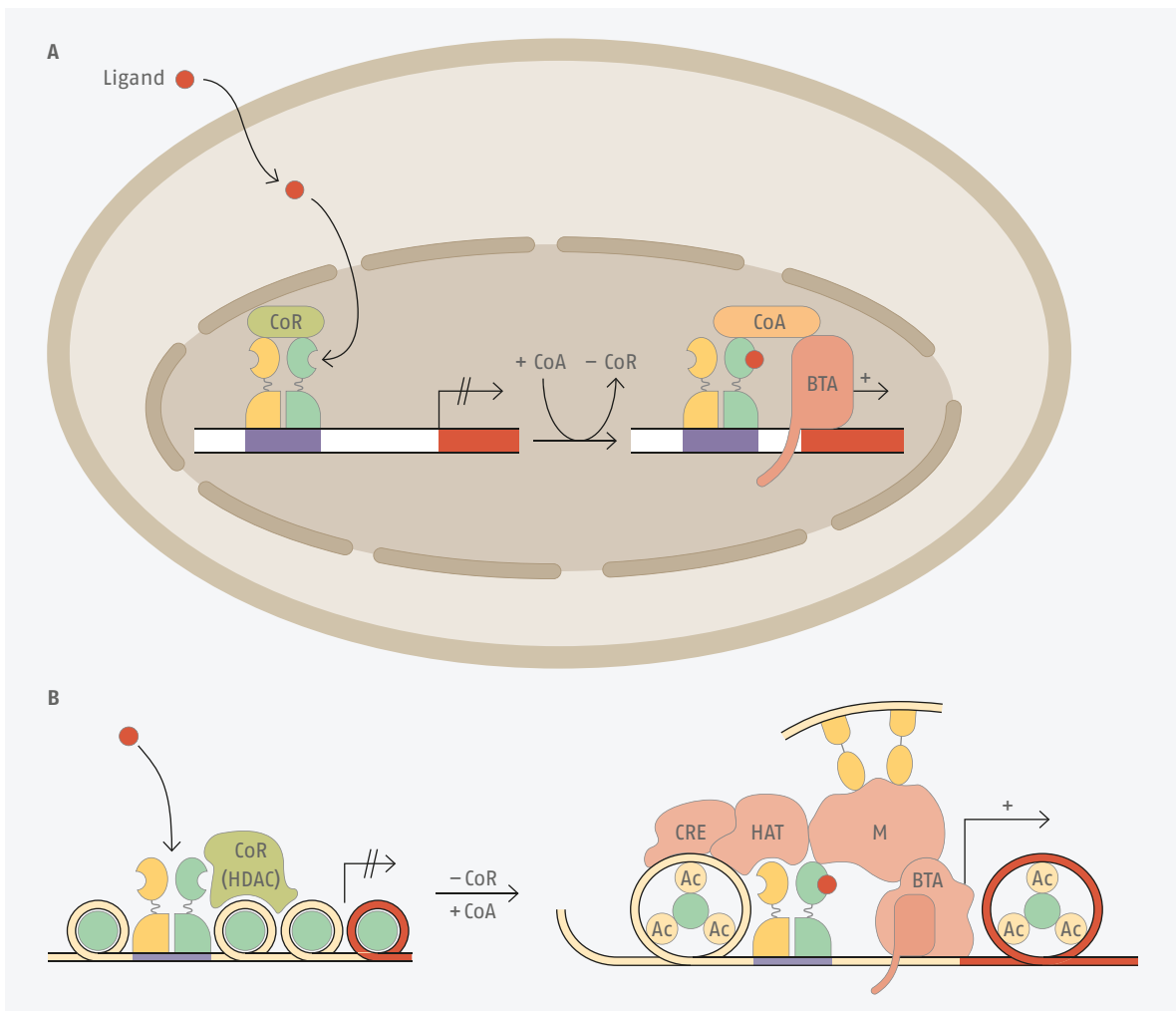
Die **Glucocorticoide** werden vor allem aufgrund ihrer antiinflammatorischen Eigenschaften eingesetzt. Diese Wirkung beruht auf einem dualen Mechanismus: Glucocorticoide aktivieren antientzündliche Gene und unterdrücken gleichzeitig die Expression proentzündli-

• **Abb. 4.73** RXR-Heterodimer-bildende Rezeptoren und ihre *response elements*. A RXR-Heterodimer bildende Rezeptoren binden „Kopf an Rücken“ mit ihrem Bindungspartner RXR (*retinoid X receptor*) an *direct repeat elements*. Die *half sites* des Elements werden schematisch durch zwei Pfeile in umgekehrter Orientierung dargestellt. B Prototypische Sequenz eines Vitamin-D-response elements (VDRE, ein DR3-Element), eines Thyroidhormon-response elements (TRE, ein DR4-Element) und eines response elements für Vitamin A-Säure (*retinoic acid response element*, RARE, ein DR5-Element).



■ **Tab. 4.9** Steroidrezeptoren als Arzneistofftargets

Rezeptor	Arzneistoff (Rezeptorwirkung)	Indikation
Glucocorticoid-rezeptor (GR)	Dexamethason (Agonist)	Antientzündliche und immunsupprimierende Therapie, u. a. in der Rheumatologie, Gastroenterologie, Dermatologie, Allergologie, Notfallmedizin
Estrogenrezeptor (ER)	Ethinylestradiol (Agonist), Tamoxifen (Prodrug für einen Antagonisten)	Substitutionstherapie im Klimakterium, Rezidivprophylaxe Mammakarzinom
Progesteron-rezeptor (PR)	Levonorgestrel (Agonist), Mifepriston (Antagonist)	Kontrazeption (in Kombination mit anderen Arzneistoffen), Schwangerschaftsabbruch
Androgenrezeptor (AR)	Testosteron (Agonist), Bicalutamid (Antagonist)	Substitutionstherapie, Prostatakarzinom
Mineralocorticoid-rezeptor (MR)	Eplerenon (Antagonist)	Herzinsuffizienz nach Herzinfarkt



● **Abb. 4.74** Signalling der RXR-Heterodimer-bildenden Rezeptoren. **A** Vereinfachte Darstellung: Die RXR-Heterodimere binden im nicht ligandengebundenen Zustand an die *response elements* der Zielgene und unterdrücken dort im Komplex mit Corepressor-Proteinen (CoR) die Transkription. Lipophile, niedermolekulare Liganden, die die Zellmembran durchdringen können, binden an den Rezeptor und bewirken über eine Konformationsänderung den Austausch von Corepressoren gegen Coaktivatoren (CoA), die den basalen Transkriptionsapparat rekrutieren und aktivieren. **B** Mechanismus im Detail: Die im nicht liganden gebundenen Zustand am Rezeptor gebundenen Corepressoren sind Proteinkomplexe mit Histonde-

acetylase(HDAC)-Aktivität, wodurch die DNA kompakt gehalten und die Transkription unterdrückt wird (►Kap. 4.6.4). Ligandenbindung führt zum Austausch von Corepressoren gegen Coaktivatoren, zu denen folgende Proteine bzw. Proteinkomplexe gehören: (1) Histonacetyltransferasen (HATs), die das Chromatin durch die Übertragung von Acetylresten (Ac) auf Histone auflockern, (2) *Chromatin remodelling engines* (CRE), die durch Verschieben von Nukleosomen Raum für den basalen Transkriptionsapparat schaffen, (3) der Mediator-Komplex (M), der aufgrund des aktivierenden Signals der RXR-Heterodimere (und anderer Transkriptionsfaktoren, nicht gezeigt) den basalen Transkriptionsapparat (BTA) rekrutiert und aktiviert (►Kap. 4.6.4).

cher Gene. Die Aktivierung der entzündungshemmenden Gene erfolgt, wie bereits kennengelernt, indem der Glucocorticoidrezeptor (GR) an *response elements* in den Kontrollregionen der entsprechenden Zielgene bindet und deren Transkription initiiert (●Abb. 4.72). Dieses Wirkprinzip wird auch als **Transaktivierung**

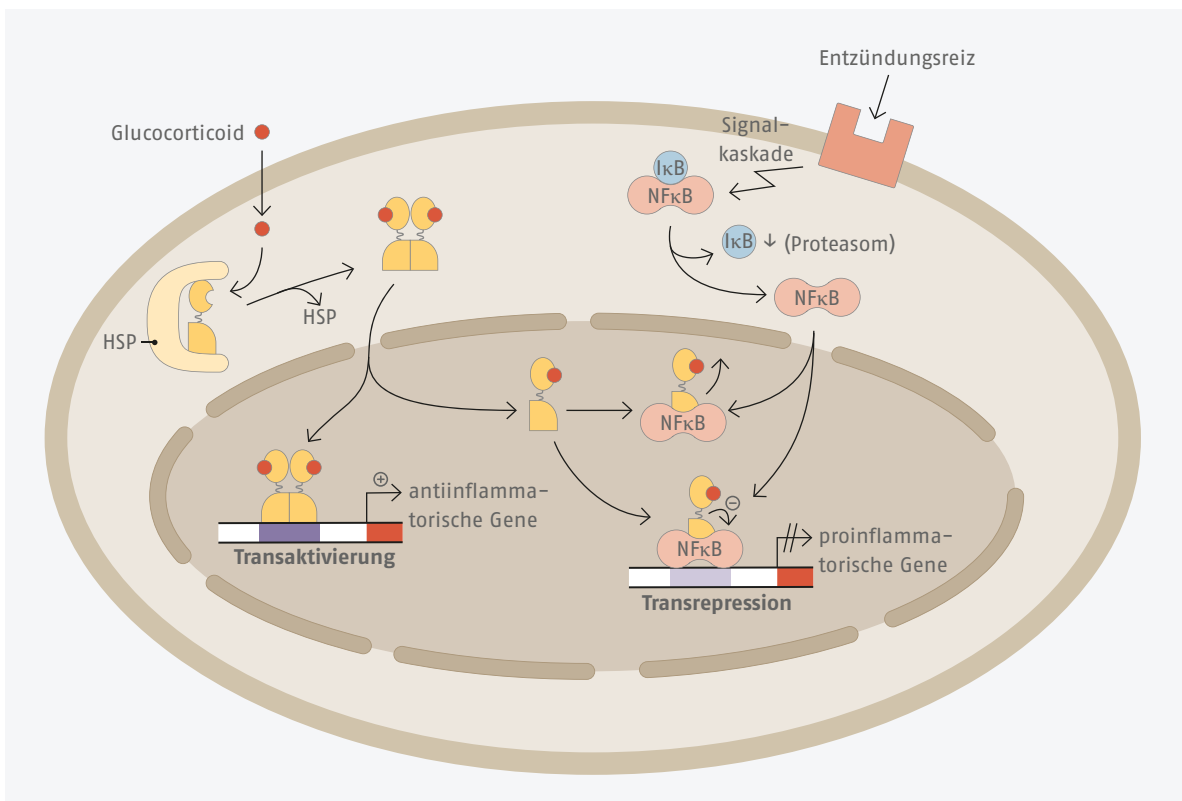
bezeichnet. Die Hemmung entzündungsfördernder Gene beruht hingegen auf der sogenannten **Transrepression**. Darunter versteht man die Hemmung von Transkriptionsfaktoren proentzündlicher Signalwege durch direkte Interaktion mit dem ligandengebundenen GR. Dieses Prinzip ist für den NFκB-Signalweg gut

untersucht. Das Protein NF $\kappa$ B (*nuclear factor kappa B*) ist ein Transkriptionsfaktor, der im Entzündungs-geschehen eine zentrale Rolle einnimmt: Auf entzündliche Zellreize hin kann NF $\kappa$ B das „Genprogramm“ einer Entzündungsreaktion anschalten, unter anderem durch die Aktivierung verschiedener Zytokin-Gene. In dieses

Signalling kann der ligandengebundene GR hemmend eingreifen, indem er entweder den aktivierten NF $\kappa$ B „aus dem Verkehr zieht“, bevor er an die DNA bindet, oder die Aktivität von bereits an die DNA gebundenem NF $\kappa$ B unterdrückt (● Abb. 4.75).

■ Tab. 4.10 RXR-Heterodimer bildende Rezeptoren als Arzneistofftargets

Rezeptor	Arzneistoff (Rezeptorwirkung)	Indikation
Vitamin-D-Rezeptor (VDR)	Tacalcitol (Agonist)	Psoriasis
Vitamin-A-Säure-Rezeptor (RAR)	Isotretinoin (Agonist)	Schwere Akne
Schilddrüsenhormonrezeptor (TR)	Triiodthyronin (T <sub>3</sub> ) bzw. Tetraiodthyronin (T <sub>4</sub> als Vorstufe für T <sub>3</sub> )	Substitutionstherapie



● **Abb. 4.75** Dualer Wirkmechanismus der Glucocorticoide. **Transaktivierung:** Durch Bindung der Glucocorticoide werden die zytosolisch lokalisierten Glucocorticoidrezeptoren von den Hitzeschockproteinen (HSP) abgelöst, translozieren in den Zellkern und aktivieren dort antiinflammatorische Gene. **Transrepression** durch Inhibition des NF $\kappa$ B-Signalwegs: In Abwesenheit eines entzündlichen Reizes wird der proinflammatorische Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B durch Bindung an das Protein I $\kappa$ B (Inhibitor von NF $\kappa$ B) im inaktiven Zustand im Zyto-

sol gehalten. Ein an membranständigen Rezeptoren ankommender **Entzündungsreiz** löst über eine Signalkaskade den proteasomalen Abbau von I $\kappa$ B aus, sodass NF $\kappa$ B in den Zellkern translozieren kann, um proinflammatorische Gene zu aktivieren. Dies wird durch aktivierte Glucocorticoidrezeptoren verhindert, die (vermutlich als Monomere) NF $\kappa$ B vor der Bindung an das Zielgen abfangen oder bereits am Gen gebundenes NF $\kappa$ B hemmen.

Der Wirkstoff **Tamoxifen** wird zur Rezidivprophylaxe bei estrogenempfindlichem Brustkrebs eingesetzt. Tamoxifen wird im Körper in den aktiven Metaboliten Endoxifen umgewandelt, der als Antagonist am Estrogenrezeptor (ER) wirkt und dadurch das Wachstum estrogenabhängiger Tumorzellen hemmen kann. Aufgrund seiner Strukturähnlichkeiten zum endogenen Liganden Estradiol bindet Endoxifen an den ER, jedoch verhindern sterisch anspruchsvolle Gruppen im Molekül die aktivierende Konformationsänderung des Proteins. Dadurch wird die Expression von Zielgenen des Estrogens, die die Zellproliferation antreiben, unterdrückt. Hierzu gehören unter anderem die Gene bestimmter Zellzyklus-aktivierender Kinasen (◉ Abb. 4.76).

Abschließend soll erwähnt werden, dass die Anwendung von Liganden nukleärer Rezeptoren am Menschen nicht nur in therapeutisch begründeten Fällen stattfindet, sondern auch missbräuchliche Verwendung zu verzeichnen ist – beispielsweise werden Agonisten am Androgenrezeptor zu Dopingzwecken eingesetzt (s. Kasten).



### Partywissen

#### Doping mit anabolen Steroiden

Im Leistungssport, aber auch unter Amateuren, werden mit dem Ziel der Leistungssteigerung missbräuchlich Anabolika eingesetzt. Darunter versteht man Mittel, die den „aufbauenden Stoffwechsel“, den Anabolismus, unterstützen sollen. Die beim Doping zumeist verwendeten anabolen Steroide sind Liganden am Androgenrezeptor, dessen natürlicher Ligand das Testosteron ist. Testosteron ist ein genregulatorisches Hormon, das im Prinzip zwei Wirkqualitäten hat: Die sexualspezifischen Wirkungen sorgen für die Ausprägung und Funktionssteuerung männlicher Geschlechtsmerkmale, die sexualunspezifischen Wirkungen umfassen unter anderem eine eiweiß-anabole Wirkung, die beim Doping im Zentrum steht. Anders als es die Bezeichnung vermuten lässt, haben jedoch auch die „anabolen“ Steroide eine sexualspezifische Wirkung, da sich die beiden Wirkungsqualitäten nicht ganz voneinander trennen lassen. Die Anwendung anaboler Steroide ist mit zahlreichen Risiken behaftet. Dazu gehören mögliche Veränderungen an den Geschlechtsmerkmalen wie eine Brustbildung beim Mann, die auf einer Verschiebung des Hormonhaushalts zugunsten weiblicher Sexualhormone beruht. Außerdem erhöht sich das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und es können psychische Veränderungen auftreten, darunter eine erhöhte Aggressivität oder Depressivität.

## Epigenetische Mechanismen in der Kontrolle der eukaryotischen Genexpression

Wie in der einführenden Übersicht bereits kurz skizziert wurde, greifen bei der Kontrolle der eukaryotischen Genexpression mehrere Mechanismen ineinander (► Kap. 4.6.4). Einer der entscheidenden Faktoren in diesem Zusammenspiel ist der sogenannte **epigenetische Code**, der im Feld der **Epigenetik** eine wichtige Rolle spielt.

Die Epigenetik beschäftigt sich mit den Mechanismen, durch die phänotypische Veränderungen von Zellen vererbt werden können, die nicht auf Veränderungen in der DNA-Sequenz beruhen. Diese Art der Erbllichkeit lässt sich anhand bestimmter Zelltypen in der Hämatopoese verdeutlichen (► Kap. 14). Bei der Entstehung der menschlichen Blutzellen entwickeln sich aus den hämatopoetischen Stammzellen zunächst Vorläuferzellen für die einzelnen Blutzelltypen, die sogenannten myeloischen und lymphatischen Stammzellen. Es handelt sich dabei um vermehrungsfähige Zellen, die über das spezifische Differenzierungspotenzial für die Entwicklung der verschiedenen reifen myeloiden Zelltypen bzw. der Lymphozyten verfügen (► Kap. 14.2.2). Diese Vorläuferzellen weisen dieselbe DNA-Sequenz auf wie die übergeordneten hämatopoetischen Stammzellen, allerdings unterscheiden sie sich in ihrem epigenetischen Programm und damit in ihrem Phänotyp. Dies wird sichtbar durch ihre unterschiedlichen Genexpressionsmuster und Differenzierungspotenziale. Diese Eigenschaften können sie mithilfe epigenetischer Mechanismen stabil an ihre Tochterzellen vererben, die damit weiterhin als Vorläufer für die einzelnen nachgeordneten, reifen Blutzelltypen dienen können.

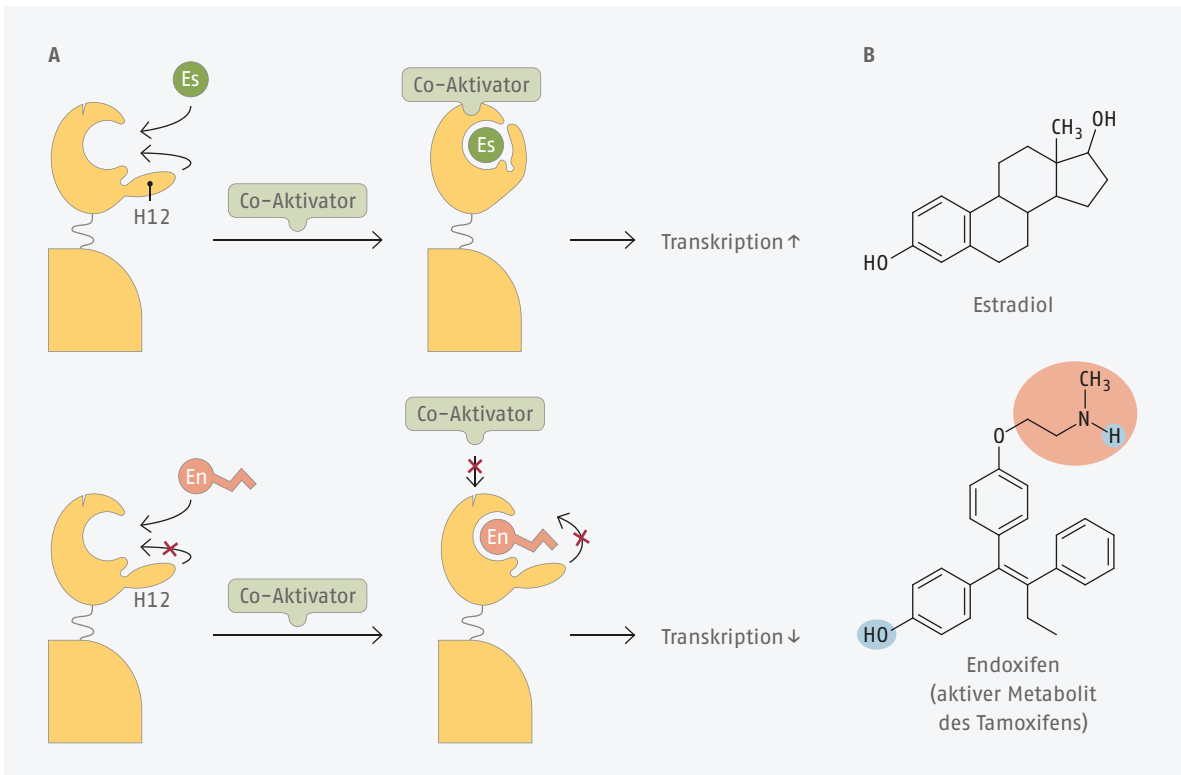
Die beiden prominentesten Elemente des epigenetischen Codes (epigenetische Markierungen) sind die **DNA-Methylierung** und bestimmte **kovalente Histonmodifikationen**, die im Folgenden besprochen werden.

Für die **DNA-Methylierung** als epigenetisches Merkmal sind die **GC-reichen Promotoren** von besonderer Bedeutung. Diese Promotorklasse verfügt in ihrer Sequenz über charakteristische **CpG-Inseln** (► Kap. 4.4.4), deren **Methylierung** zu einer **Repression** der Expression des entsprechenden Gens führt.

Die DNA-Methylierung findet durch spezialisierte Enzyme an definierten Positionen der CpG-Inseln statt, und zwar durch DNA-Methyltransferasen, die jeweils eine Methylgruppe an die Position Nr. 5 der Base Cytosin in der Basenabfolge CpG übertragen. Das entstehende **5-Methylcytosin** (◉ Abb. 4.77) wird oftmals als fünfte Base der DNA bezeichnet, was insofern berechtigt ist, als mehr als 4% der Cytosin-Basen im menschlichen Genom methyliert vorliegen.

Mechanistisch beruht dieses *gene silencing* durch DNA-Methylierung hauptsächlich darauf, dass die methylierten CpG-Sequenzen durch spezialisierte Pro-





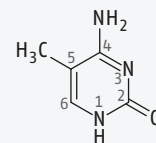
• **Abb. 4.76** Aktivierung des Estrogenrezeptors und Wirkmechanismus von Tamoxifen  
A Bindung des Estrogens (Es) an seinen Rezeptor führt zum Umklappen der Helix 12 der Ligand-Bindedomäne. Durch diese Konformationsänderung kommt es zur Bindung von Coaktivatoren und damit zur Transkriptionsaktivierung. Endoxifen (En), der aktive Metabolit des Tamoxifens, bindet ebenfalls am Estro-

genrezeptor, verhindert jedoch durch sterisch anspruchsvolle Gruppen am Molekül (siehe B) das Umklappen der Helix 12 und damit die Transkriptionsaktivierung. B Strukturformeln des Estradiols und des Endoxifens. Endoxifen entsteht aus Tamoxifen durch N-Demethylierung und Hydroxylierung (blaue Markierungen). Der für die Wirkung entscheidende, sterisch anspruchsvolle Rest ist rot markiert.

teine erkannt werden, die Methyl-bindende Domänen besitzen. Diese sogenannten **MBD-Proteine** rekrutieren Proteinkomplexe, die zur Verdichtung des Chromatins führen. Maßgebliche Bestandteile der rekrutierten Proteinkomplexe sind Histondeacetylasen, deren Aktivität die Affinität der Histone zur DNA erhöht, wodurch die Chromatinstruktur kompaktiert wird (► Kap. 4.6.4).

Das spezifische **DNA-Methylierungsmuster** einer Zelle kann im Zuge der DNA-Replikation bei der Zellteilung **vererbt** werden (• Abb. 4.78 A).

Die zweite bedeutende Klasse epigenetischer Markierungen umfasst eine Reihe **posttranslationaler Modifikationen von Histonen**. Die spezifischen Modifikationen treten an charakteristischen Positionen der aminoterminalen Histonreste auf. In ihrer Gesamtheit stellt die Kombination der einzelnen Markierungen den sogenannten **Histon-Code** eines Gens dar. Die beiden am besten erforschten Modifikationen im Histon-Code sind die **Acetylierung** und die **Methylierung von Lysinresten**, deren Vorhandensein mit einem bestimmten



• **Abb. 4.77** 5-Methylcytosin

Status der Transkription assoziiert ist (▣ Tab.4.11). Neben diesen beiden Markierungen sind unter anderem die Ubiquitynylierung von Lysinresten, die Methylierung von Argininresten und die Phosphorylierung von Serin- oder Threonin-Seitenketten an bestimmten Positionen einzelner Histon-Klassen bekannt.

Die Struktur des Histon-Codes eines Gens wird für die einzelnen Modifikationen durch **antagonistisch wirkende Enzyme** bestimmt, die sozusagen die

„Schreib- bzw. LösCHFunktion“ für die jeweilige Modifikation ausüben. Beispielsweise regulieren **Histonacetyltransferasen** bzw. **Histondeacetylasen** den Acetylierungsstatus des Chromatins an einem Genort. Hierbei ist die Hyperacetylierung des Chromatins charakteristisch für aktive Gene, während inaktive Gene hypoacetyliert sind. Der Methylierungsstatus der Lysinreste in den Histonen eines Gens wird durch **Histonmethyltransferasen** bzw. **Histondemethylasen** reguliert. Die entsprechenden Lysinreste können durch die Methyltransferasen einfach, zweifach oder dreifach methyliert werden. Die Auswirkung einer Lysin-Methylierung auf die Genexpression ist **abhängig von der Position** des modifizierten Lysins in der Aminosäurekette des Histons: Manche sind mit einer aktiven Genexpression assoziiert, andere mit deren Hemmung; Beispielsweise handelt es sich bei einer Methylierung von H3K4 (d. h. am Lysinrest an Position 4 im Histon H3) um eine transkriptionsaktivierende Modifikation, während die Methylierung von H3K9 repressorisch ist. (▣ Tab. 4.11).

Acetylierung und Methylierung unterscheiden sich beträchtlich in der Umsatzrate, mit der diese Modifikationen an der DNA angebracht bzw. davon entfernt werden. Der Acetylierungsstatus der Histone wird recht kontinuierlich und dynamisch angepasst, während die Umsatzrate bei der Lysin-Methylierung an den meisten Positionen im Gen zumeist sehr langsam ist. Dadurch ist die **Methylierung** tendenziell die **langlebigere Histonmodifikation** und gilt hinsichtlich der Vererbbarkeit des Histon-Codes demzufolge als die bedeutendere Markierung. Abbildung ◉ Abb. 4.78 B stellt die Aufrechterhaltung des Methylierungsmuster im Chromatin der Tochterzellen nach der Zellteilung dar.

Der genaue Mechanismus, durch den die einzelnen Histon-Modifikationen mit der Regulation der Transkription zusammenhängen, ist noch nicht entschlüsselt. Bereits bekannt ist zum einen, dass sich der **Histon-Code** direkt auf die **nukleosomale Chromatinstruktur** auswirkt, was die Zugänglichkeit für den Transkriptionsapparat reguliert. Zum anderen kann er durch bestimmte **Proteine mit „Lesefunktion“** erfasst werden,

die zusammen mit weiteren Proteinen Einfluss auf die Genexpression nehmen. Beispielsweise wird methyliertes H3K9 spezifisch durch das Protein HP1 (*heterochromatin protein 1*) erkannt, wodurch es in der Folge zur Verdichtung der Chromatinstruktur und zur Hemmung der Genexpression kommt. Andere Proteine, die Histon-Markierungen erkennen, können als regulatorische Proteine mit dem Transkriptionsapparat interagieren oder Teil des Transkriptionsapparats sein.

### Eukaryotische Transkriptionskontrolle im Überblick

Wie wir in den vorhergehenden Kapiteln erfahren haben, werden im Ablauf der eukaryotischen Transkription mehrere Schritte durchlaufen, die der Kontrolle dieses Prozesses dienen. Die wesentlichen Punkte sind:

- **Öffnung des Chromatins**, um den Aufbau des basalen Transkriptionsapparats zu erlauben,
- **Aufbau des Präinitiationskomplexes** unter Mithilfe aktivierender, spezifischer Transkriptionsfaktoren und des Mediatorkomplexes,
- **Initiation der Transkription**,
- **Pausieren** der RNA-Polymerase II,
- weitere Aktivierung der RNA-Polymerase II und Übergang zur **Elongation**.

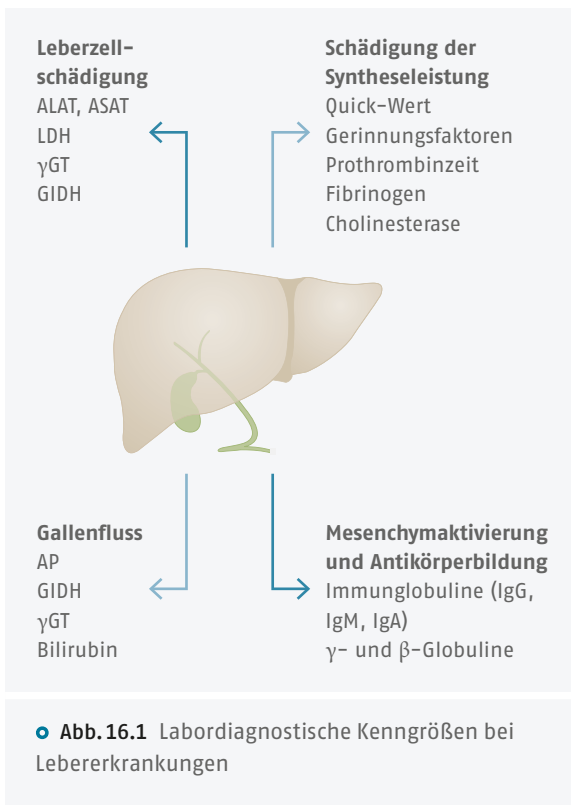
Der gesamte Ablauf ist in ◉ Abb. 4.79 im Überblick dargestellt.

### Regulation der Genexpression durch miRNA und siRNA

In den Neunzigerjahren wurde bei Experimenten mit dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*, eines in der Entwicklungsbiologie beliebten Modellorganismus, eine neue Art zellulärer RNA entdeckt. Es handelte sich um eine sehr kleine RNA-Spezies, die dazu imstande war, die Expression proteincodierender Gene zu unterdrücken. Die identifizierten RNAs waren nur knapp über 20 Nukleotide lang, beeinflussten aber maßgeblich die Entwicklung der Fadenwürmer. In der Folgezeit wurde für diese RNA-Spezies die Bezeichnung

▣ Tab. 4.11 Elemente des Histon-Codes und Transkriptionsstatus

Histon-Modifikation	Modifizierte Histon-Klasse (charakteristische Position im Protein)	Assoziierter Status der Transkription
Lysin-Acetylierung	H2A, H2B, H3, H4 (diverse Positionen)	Aktivierung
Lysin-Methylierung	H3 (K4)	Aktivierung
	H3 (K9, K27), H4 (K20)	Repression



### Definition

Unter dem Begriff Biotransformation werden alle Reaktionen zusammengefasst, die zur Umwandlung von Stoffen (und damit auch von Arzneistoffen, also der Arzneistoff-Metabolismus) in wasserlösliche Substanzen und schließlich zu deren Ausscheidung (Niere, Galle) führen. Diese Vorgänge finden primär in der Leber statt. Man unterscheidet zwei Phasen: Phase I (chemische Umwandlung, z. B. Oxidation, Reduktion, Hydrolyse) und Phase II (Konjugationsreaktionen), die jeweils durch spezifische Enzyme bewirkt werden.

## 16.2 Nierenfunktionsdiagnostik

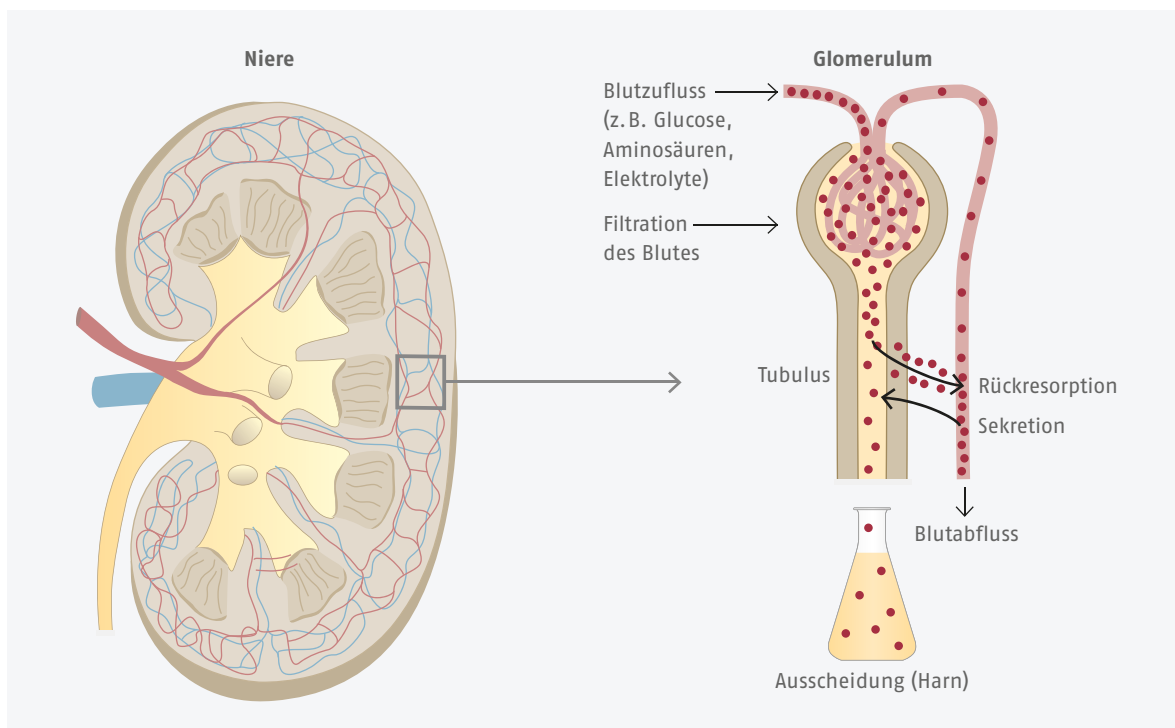
Die Niere sorgt für einen physiologisch ausgeglichenen Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt (Homöostase) sowie die Exkretion endogener und exogener Stoffe, was mit einer enormen Stoffwechselleistung einhergeht. Außerdem besitzt die Niere endokrine Funktionen, wie z. B. die Bildung von Renin und Erythropoetin, und ist an einem Teilschritt in der Biosynthese von Vitamin D beteiligt. Die Nierenfunktionsdiagnostik spielt deshalb im klinischen Alltag eine wesentliche

Rolle. Zur Abschätzung einer Nierenfunktionsstörung werden verschiedene Parameter ermittelt, die auf die glomerulären (► Kap. 16.2.1) und tubulären Funktionen (► Kap. 16.2.2) der Niere zurückgehen. Darüber hinaus kommt den Untersuchungen des Urinstatus (► Kap. 16.2.3) eine wichtige Bedeutung zu.

### 16.2.1 Glomeruläre Funktion

Im Glomerulus wird aus dem Blut, das die Glomeruluskapillare durchströmt, der sogenannte Primärharn (proteinarm) filtriert. Mit Ausnahme großer Proteine (MW > 10 kDa) werden alle anderen Bestandteile des Plasmas im Glomerulus ohne Einschränkung filtriert. Wichtige Stoffe werden in der Folge aktiv und passiv rückresorbiert. Der renale Blutfluss beträgt ca. 20 % des Herzzeitvolumens im Ruhezustand und ca. 10 % des renalen Blutflusses werden filtriert. Diese Menge wird als **glomeruläre Filtrationsrate (GFR)** bezeichnet. Die Messung der GFR gilt heute als einer der besten Marker zur Kontrolle der Nierenfunktion. Die einzelnen Stadien einer chronischen Niereninsuffizienz und bei akutem Nierenversagen (► Tab. 16.3) können über den GFR eingeschätzt werden (► Abb. 16.2). Ein erniedrigter GFR kann auf ein erhöhtes Toxizitätsrisiko bei Medikamenten und Diagnostika hinweisen. Zudem wird die sogenannte **Clearance (Cl)** bestimmt, d. h. das von einer bestimmten Substanz pro Minute befreite Plasmavolumen. Die Clearance entspricht demnach der GFR, wenn der Stoff frei filtriert und weder sezerniert, noch resorbiert oder metabolisiert wird. Als besonders geeignet hat sich hierfür das körpereigene **Kreatinin** (► Tab. 16.3), das aus Kreatinphosphat im Muskelgewebe gebildet wird, erwiesen. Die Serumkreatininkonzentration steigt an, wenn die GFR auf 50 % (oder darunter) reduziert ist. Neben Kreatinin wird die **Harnstoffkonzentration** im Serum zur Überprüfung der Nierenfunktion herangezogen. Beide Parameter dienen auch der Kontrolle von Dialyse- und medikamentös therapierten Patienten, im letztgenannten Fall insbesondere bei der Gabe von Zytostatika (z. B. Cisplatin) und Antibiotika (z. B. Aminoglykoside). Der Harnstoffspiegel im Serum ist zudem ein wichtiger Kontrollwert bei Niereninsuffizienz bis hin zu akutem Nierenversagen (Azotämie, ► Tab. 16.3, ► Tab. 16.4).

Eine weitere, hoch sensitive Methode zur Anzeige einer reduzierten GFR besteht in der Bestimmung des Plasmaproteins **Cystatin C**, einem Cysteinprotease-Inhibitor. Nach seiner Bildung wird es ins Plasma abgegeben, glomerulär filtriert und von den proximalen Tubuluszellen reabsorbiert und metabolisiert. Im Unterschied zu anderen Parametern ist die Serumkonzentration an Cystatin C unabhängig von Muskelmasse, Geschlecht und Alter (zwischen 1–50 Jahre), allerdings steigt sie ab dem 50. Lebensjahr an. Im



• **Abb. 16.2** Zur Untersuchung der Nierenfunktion wird die Clearance herangezogen. Dabei werden Sekretion und Rückresorption bestimmt.

Gegensatz zum Kreatinin führt bereits eine diskrete Einschränkung der GFR (auf 70–40 %) zu einer signifikanten Erhöhung von Cystatin C im Blut. Die Überlegenheit der Bestimmung zeigt sich daher besonders bei Patienten mit beginnender Nierendysfunktion bei noch normalem Kreatinin, da dieses erst bei einer etwa 50%igen GFR-Reduktion ansteigt.



#### Merke

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist das Gesamtvolumen des Primärharns, das alle Einzelglomerula beider Nieren pro Zeiteinheit bilden. Die Normwerte liegen beim Mann um  $127 \pm 20$  ml/min und bei der Frau bei  $118 \pm 20$  ml/min. Das entspricht ca. 170–180 Litern pro Tag.

### 16.2.2 Tubuläre Funktion

Das Tubulussystem hat die Aufgabe, 99 % des glomerulären Filtrats (Wasser, Elektrolyte, Aminosäuren, Glucose) aus dem Primärharn zurückzugewinnen. Als Maß für die Funktionsfähigkeit des Tubulus dient die Konzentrationsfähigkeit des Harns, genauer ein Vergleich zwischen Serum- und Urinosmolalität. Die menschliche Niere kann den Urin (tägliches Volumen ca. 1l) bei

Wassermangel auf das ca. 4-Fache konzentrieren. Die Normalwerte ( $> 600$  mosmol/kg) gehen in dem Fall auf ca. 290 mosmol/kg zurück. Ist der Quotient aus Urinosmolalität und Serumsmolalität  $\leq 1$  (Quotient bei intakter Funktion  $> 3$ ), so findet nahezu keine Wasserrückresorption statt. Eine Einschränkung der tubulären Funktion lässt z. B. auf Tubulopathien, Nephrokalzinose oder Gichtniere schließen.

### 16.2.3 Urinstatus

Urin ist als Endprodukt der renalen Filtrations-, Sekretions- und Resorptionsleistung ein ideales Untersuchungsmaterial zur Erfassung unerkannter Nierenerkrankungen und zur Verlaufskontrolle bei einer Therapie. Die Stoffwechsellistung der Niere wird anhand der Konzentration geeigneter Parameter im Urin und mit Clearance-Untersuchungen (►Kap.16.2.1) eingeschätzt. Quantitative Messungen werden mit Sammelurin über 24 Stunden für eine allgemeine Beurteilung der Stoffwechselprodukte, d.h. Proteinmetaboliten, Glucosemetaboliten und Elektrolyte, durchgeführt. Zur semiquantitativen Urinuntersuchung sind Teststreifen verfügbar, die einfach und schnell erste Hinweise auf Proteinurie, Hämaturie, Leukozyturie und Bakteriurie geben können. Durch Befeuhten der mit den entsprechenden Reagenzien versehenen Streifen mit Urin wird

■ **Tab.16.3** Stadien und Parameter bei chronischer Niereninsuffizienz und akutem Nierenversagen. Nach: KDIGO 2012

	Serumkreatinin	Urin-Ausscheidung
<b>Chronische Niereninsuffizienz</b>		
Stadium I (Latenzstadium)	(Normalwerte: Männer 0,6–1,2 mg/dl, Frauen 0,5–1,0 mg/dl)	
Stadium II (Kompensierte Retention)	<6 mg/dl	
Stadium III (Präterminale Niereninsuffizienz)	6–10 mg/dl	
Stadium IV (Terminale Niereninsuffizienz)	>10 mg/dl	
<b>Akutes Nierenversagen</b>		
Stadium 1	1,5–1,9-facher Anstieg in 7 Tagen oder $\geq 0,3$ mg/dl in 48 h	<0,5 ml/kg/h für >6 h
Stadium 2	2,0–2,9-facher Anstieg (>100%)	<0,5 ml/kg/h für >12 h
Stadium 3	$\geq 3$ -facher Anstieg (>200%) oder Anstieg um >0,5 mg/dl bei >4 mg/dl Serumkreatinin	<0,3 ml/kg/h für $\geq 24$ h oder fehlende Urin-Ausscheidung (Anurie) für $\geq 12$ h

die entsprechende Nachweisreaktion ausgelöst. Darüber hinaus wird der Urin makroskopisch (► Kap. 16.2.3) und mikroskopisch (► Kap. 16.2.3) beurteilt.

Prinzipiell beinhalten die Untersuchungen des Urins den Nachweis von Blut, Albumin, Glucose und Sediment. Im Harn eines gesunden Menschen finden sich Spuren an Albumin und Glucose, aber auch mitunter hohe Mengen an Harnsäure, Harnstoff und Elektrolyten. Letztere sind nahrungsabhängige Größen, genau wie der pH-Wert des Urins. Problematisch hinsichtlich der Einschätzung dieser Parameter ist die Tatsache, dass nicht jede Abweichung von Normwerten einen Hinweis auf eine Nierenfunktionsstörung darstellt und deshalb eine Reihe von physiologischen und pathophysiologischen Ursachen in Betracht gezogen werden müssen.

### Makroskopische Beurteilung des Urins (Urinstatus)

Der Urinstatus wird weitgehend zur Überprüfung der Nierenfunktion und Diagnose von Infektionen der Niere und Harnwege erfasst. Wichtige Kriterien zur Beurteilung sind **Klarheit, Farbe und Geruch**. Eine Trübung des Urins weist auf einen pathologischen Zustand hin (■ Tab.16.4), während ein auffälliger Geruch verschiedene Ursachen, z. B. Genuss bestimmter Nahrungsmittel, Ausscheidung von Ketonkörpern

bei Hunger oder Diabetes (► Kap. 15) sowie Medikamenteneliminierung, haben kann.

Außerdem kann die **Menge an ausgeschiedenem Urin** von großer Bedeutung sein, wobei die folgende Einteilung vorgenommen wird: **Normale Ausscheidung** (600–1800 ml pro Tag), **Oligurie** (bei Dehydratation und bestimmten Nierenerkrankungen, <400 ml/d), **Anurie** (bei Nierenversagen, obstruktiver Harnabflussstörung, <100 ml/d), **Polyurie** (krankhaft erhöhte Ausscheidung, >2–2,5 l/d), **Pollakisurie** (häufiges Wasserlassen in kleinen Mengen ohne erhöhte Ausscheidung pro Tag, z. B. bei Harnwegsinfekten) und **Nykturie** (häufiges nächtliches Wasserlassen, z. B. bei Herzinsuffizienz).

### Mikroskopische Beurteilung des Urins

Bei positiven Ergebnissen mit Teststreifen (► Kap. 16.2.3) werden mikroskopische Untersuchungen angeschlossen. Diese Beurteilung wird aber auch zur Verlaufskontrolle bei Nierenerkrankungen durchgeführt. Verwendet wird Spontanurin (Nacht- oder Morgenurin), der innerhalb von vier Stunden untersucht werden muss. Hauptsächlich wird auf drei Methoden fokussiert:

- Sedimentuntersuchung,
- semiquantitative Urinzellzählung und
- Addis-Count.

■ **Tab. 16.4** Makroskopische Veränderungen des Urins und deren Ursachen

Status	Ursache
<b>Klarheit (Urintrübung)</b>	
Klar	(Normalbefund)
Hell	Massenhaft Leukozyten, Bakterien, Hefen
Hell nach Stehenlassen	Phosphate, Carbonate im alkalischen Urin; Urate, Harnsäure im sauren Urin
Rotbraun	Erythrozyten
Flockig nach Stehenlassen	Bakterien, Lipide
<b>Farbe (Urinfärbung)</b>	
Wasserklar	Polyurie
Intensiv gelb	Flavine, Phenacetin
Gelborange	stark konzentrierter Urin, Bilirubin/Urobilin, bei Fieber
Gelbgrün	Biliverdin, Pseudomonas-Infektion
Gelbbraun	Bilirubin, Biliverdin
Rot	Hämoglobin, Erythrozyten, Myoglobin, Porphyrine, auch rote Beete
Rotbraun	Methämoglobin
Braunschwarz	Methämoglobin, Homogentisinsäure, Porphyrine, Melanin, Methyldopa, L-Dopa

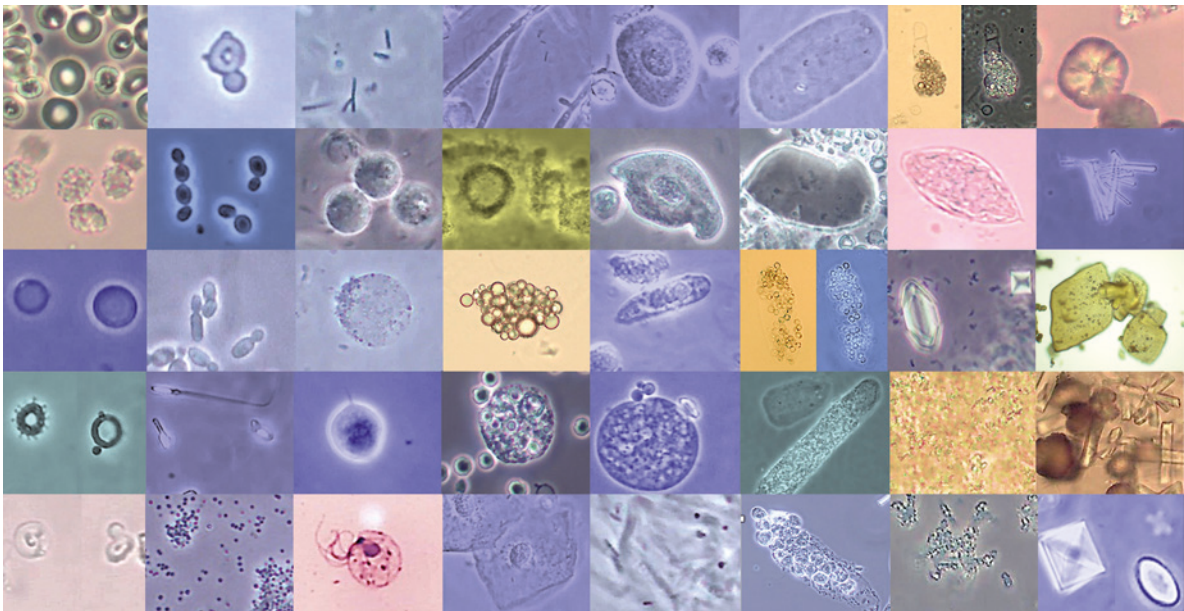
**Sedimentuntersuchung:** Feste, ungelöste Bestandteile des Harns, die unter physiologischen Bedingungen vorkommen, aber auch Hinweise auf einen pathologischen Zustand darstellen können, bilden das Sediment. Dazu wird eine bestimmte Menge Urin zentrifugiert und das Sediment anschließend ungefärbt auf einem Objektträger mikroskopisch untersucht. Es wird eine Auszählung der Zellen und Bestandteile im Sediment in einer Zählkammer vorgenommen (◉ Abb. 16.3). Mehr als 20 Erythrozyten pro Gesichtsfeld gelten als **zahlreich**, während > 50 als **massenhaft** bezeichnet werden (■ Tab. 16.4), der Normalwert liegt bei zwei Erythrozyten/Gesichtsfeld.

**Semiquantitative Urinzellzählung:** Hierfür wird unzentrifugierter Urin verwendet, der in eine Zählkammer überführt wird. Die Erfassung der Zellen erfolgt ebenfalls mikroskopisch. Die Werte werden dabei in Zählzahl/ $\mu\text{l}$  Urin angegeben, z. B. liegen die Referenzwerte

für Erythrozyten hier bei < 5/ $\mu\text{l}$  und bei Leukozyten bei < 10/ $\mu\text{l}$ .

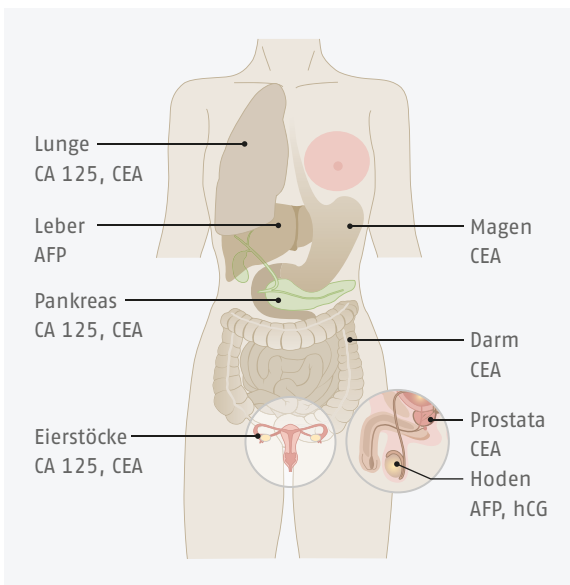
**Addis-Count:** Für diese Beurteilung muss der Urin in einer bestimmten Zeit (2 bis 4 Stunden) unter Diuresebedingungen gesammelt und in die Zählkammer gefüllt werden. Die Referenzwerte liegen hier für Erythrozyten bei < 2000/min und bei Leukozyten bei < 4000/min.

Die Urinbestandteile werden in **organisierte** (Erythrozyten, Leukozyten, Zylinder, Epithelien, Bakterien, Trichomonaden) und **nicht organisierte** Bestandteile (kristalline, z. B. Harnsäure, Oxalat, Tyrosin) unterteilt (◉ Abb. 16.3). Die größte Bedeutung haben die Zylinder, weil deren Auftreten mit einem hohen Zell- und Proteingehalt einhergeht und einen Hinweis auf eine Nierenparenchym-Schädigung gibt.



● **Abb. 16.3** Urinsedimente im Überblick. 1. Reihe, von oben nach unten: Eumorphe Erythrozyten, Diskusform; dto., Stechapfelform; dto., Blutschatten. Dysmorpher Erythrozyt und Akantozyt (Phasenkontrast); dto., (Hellfeld). 2. Reihe: Akantozyt (Phasenkontrast). Hefezellen, rund; Hefezellen, oval; Spermien; Bakterien (Kokken). 3. Reihe: Bakterien (Stäbchen); Leukozyten; Alter degenerierter Leukozyt; Trichomonade. Trichomonade (gefärbt). 4. Reihe: Pseudomycel; Nierenepithel; Fettkörnchenzelle; Histiozyt; Platten-

epithelien. 5. Reihe: Übergangsepithel; Übergangsepithel, geschwänzt; tiefe Urothelzelle. Altes, degeneriertes Epithel. Schleimfäden. 6. Reihe: Hyaliner Zylinder. Wachszylinder; Erythrozytenzylinder; granulierter Zylinder; Leukozytenzylinder. 7. Reihe: Lipidzylinder; *Schistosoma haematobium* (Ei); Tripelphosphate; Urate; Amorphe Erdalkaliphosphate. 8. Reihe: Leucin; kristalliner Artefakt; Harnsäurekristall (Rautenform); Ammoniumurate (rund, braun) und Calciumphosphate; Calciumoxalate (eckig und rundoval).



● **Abb. 16.4** Ausgewählte Tumormarker und korrespondierende Krebskrankungen

## 16.3 Tumordiagnostik

Unter dem Begriff Tumordiagnostik werden die zum Nachweis von Tumoren (maligne Erkrankungen, ▶Kap. 12) verwendeten Verfahren zusammengefasst. Dazu gehören zytogenetische Verfahren zum Nachweis bestimmter DNA-Sequenzen auf Chromosomen, biochemische Nachweismethoden basierend auf Tumormarkern oder Tumorantigenen und molekularbiologische Verfahren, mit deren Hilfe mutierte Gene z. B. durch Polymerasekettenreaktion (PCR, ▶Kap. 3) direkt nachgewiesen werden können. Im Folgenden werden ausschließlich Tumormarker (●Abb. 16.4) betrachtet.

Bei Tumormarkern handelt es sich um körpereigene Substanzen (Hormone, Enzyme, Serumproteine, Antigene), die auf eine Krebserkrankung hinweisen können. Eine solche Substanz kann sowohl von den Tumorzellen selbst als auch von gesunden Zellen als Antwort auf das Vorhandensein eines Tumors gebildet werden. Tumormarker weisen auf einen Tumor hin, weil sie entweder nur bei einer Krebserkrankung vorliegen oder weil sie bei Krebspatienten in auffällig anderer Menge gebildet

werden als bei Gesunden. Klassische Tumormarker werden in Blutproben oder anderen Körperflüssigkeiten nachgewiesen. Für die oben erwähnten anderen Analysen, insbesondere Untersuchungen von genetischen Veränderungen, ist meist ein höherer Aufwand erforderlich.

Prinzipiell können Tumormarker hilfreich bei der Identifizierung und Lokalisierung bestimmter Tumoren (Abb. 16.4), der Beurteilung der Prognose und der Verlaufskontrolle bei Therapie sein. Zu den bewährten Tumormarkern gehören Alpha-Fetoprotein (AFP), humanes Choriongonadotropin (hCG), karzinoembryo-

nales Antigen (CEA), CA15.3, CA19.9, CA125, Calcitonin (CT), Thyreoglobulin (TG), prostataspezifisches Antigen (PSA) und die neuronenspezifische Enolase (NSE; Tab. 16.5).

Neben den durch Tumorerkrankungen induzierten oder gebildeten Tumormarkern können auch die bereits in Kap. 16.1 besprochenen Marker (z. B. Enzyme) und andere laborchemische Parameter Veränderungen im Falle einer Tumorerkrankung aufweisen (Tab. 16.6). Außerdem können tumorbedingt Folgeerkrankungen auftreten. Das ist insbesondere bei hormone sezernierenden Tumoren der Fall, wie z. B. das Auftreten von

Tab. 16.5 Ausgewählte Tumormarker einschließlich korrespondierender Erkrankung und Referenzwerte

Marker	Indikation	Referenzwert	Erhöhter Wert unabhängig von Tumor bei	Beschreibung
AFP	Leberzellkarzinom, Keimzelltumor (Eierstock, Hoden), Hepatoblastom bei Kindern	(8,6–10,9 ng/ml)	Fötus bildet AFP, postnatal ersetzt durch Albumin	Sensitivität bei Leberzellkarzinom 60–80 %, bei Keimzellkarzinomen 50–70 %
hCG	Trophoblastentumor, Keimzelltumor (Eierstock, Hoden), Chorionkarzinom	< 5 ml/IU	Anstieg in der Schwangerschaft, Maximum zwischen 8. bis 19. Woche (→ Schwangerschaftstest)	gleichzeitige Bestimmung von AFP und hCG erhöht Sensitivität (Keimzelltumor), Sensitivität bei Trophoblastentumoren < 11 %
CEA	Kolorektales Karzinom, Brustkrebs, Lebermetastasen, Bronchialkarzinom	< 3 ng/ml (Nichtraucher), < 5 ng/ml (Raucher)	Vom Fötus gebildet, in Gelenkflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis, im Urin bei bakterieller Blasenentzündung	Nicht organspezifisch
CA 15.3	Brustkrebs, Eierstockkrebs	< 28 U/ml	Entzündungen (Leberzirrhose)	Bestimmung mit Antikörpern, Sensitivität ca. 50–80 %
CA 19.9	Tumorerkrankung von Bauchspeicheldrüse, Gallenwegen, Leber, Magen, Dickdarm	< 37 U/ml	Benigne Erkrankungen von Bauchspeicheldrüse, Galle, Leber, Magen, Darm; Nikotinkonsum	Bestimmung mit Antikörpern, Verlaufskontrolle gastrointestinaler Karzinome (Sensitivität bei Pankreaskarzinomen ca. 70–95 %), Dickdarmkarzinom 76 %, Magenkarzinom 32 %
CA 125	Eierstockkrebs, Pankreaskrebs, Tumor der Gallenwege, Leber	< 35 U/ml	Schwangerschaft, benigne Erkrankungen der Organe	Zweit- oder Drittmarker bei gastrointestinalen Tumoren, Sensitivität beim Eierstockkrebs 82–96 %



■ **Tab. 16.5** Ausgewählte Tumormarker einschließlich korrespondierender Erkrankung und Referenzwerte (Fortsetzung)

Marker	Indikation	Referenzwert	Erhöhter Wert unabhängig von Tumor bei	Beschreibung
CT	Bestimmte Schilddrüsentumore (v. a. medulläres Schilddrüsenkarzinom)	< 10 ng/l (Männer: 11,5 ng/l, Frauen: 4,6 ng/l)	–	Nur in Schilddrüse gebildet (C-Zellen)
TG	Bestimmte Schilddrüsentumore (v. a. follikuläres und papilläres Schilddrüsenkarzinom)	< 50 µg/l	–	Nur in Schilddrüse gebildet
PSA	Prostatakrebs	< 4 ng/ml	Entzündungen (Prostatitis), benigne Prostatahyperplasie	Organspezifisch, aber nicht karzinomspezifisch, 90 % gebunden an Antichymotrypsin, 10 % frei
NSE	Kleinzelliges Bronchialkarzinom, Nierentumore	15,7–17,0 ng/ml	Entzündungen/benigne Erkrankungen der Lunge, des ZNS	Zur Einschätzung einer Hirnschädigung bei Trauma oder nach Reanimation

■ **Tab. 16.6** Parameter der klinischen Diagnostik, die durch Tumorwachstum beeinflusst werden

Betroffenes Organ, Tumor	Konsequenz, Symptomatik	Parameter
Verschiedene Tumoren	Lebermetastasen	γGT ↑, AP ↑
Verschiedene (Leukämien, Lymphome)	Schnelles Tumorwachstum	LDH ↑
Pankreaskarzinom	Gallenwegsobstruktion	Bilirubin ↑, γGT ↑, AP ↑
Kleinzelliges Bronchialkarzinom	Hormonsekretion	ACTH ↑

Hyperkalzämie durch tumorbedingte Sekretion des Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP). Tumormarker geben, wie in ■ Tab. 16.5 gezeigt, nicht immer eindeutige Hinweise auf das Vorliegen einer Tumorerkrankung und sollten deshalb mit der entsprechenden

Vorsicht interpretiert werden. Besondere Bedeutung haben Tumormarker allerdings in der Verlaufskontrolle nach Therapie einer malignen Erkrankung und der Rezidiverkennung.