

Der angeborene nephrogene Diabetes insipidus

Vom klinischen Erscheinungsbild bis zum molekularen Defekt* ■ Von Walter Rosenthal

In den letzten drei Jahren ist es uns gelungen, die häufigste molekulare Ursache für den angeborenen nierenbedingten Diabetes insipidus zu klären. Mithilfe der Gentechnik konnten wir ein Eiweiß identifizieren, das bei den betroffenen Patienten Veränderungen (Mutationen) aufweist. Ziel dieses Beitrags ist es, den Diabetes insipidus vom klinischen Erscheinungsbild bis hin zum molekularen Defekt darzustellen.

Der Diabetes mellitus, volkstümlich „Zuckerkrankheit“ genannt, ist eine häufige Erkrankung. Das Wort „Diabetes“ kommt aus dem Griechischen und heißt „überschreiten“ oder „passieren“, denn bei der Zuckerkrankheit werden große Mengen eines wenig konzentrierten, also hellen Harns ausgeschieden. Der Zusatz „mellitus“ heißt „süß wie Honig“. Der Name hat historische Wurzeln: Früher waren Ärzte eher hemdsärmelige Genossen. Bei der Diagnose des Diabetes mellitus verließen sie sich ganz auf ihren Geschmack: Bei den Patienten mit Diabetes mellitus schmeckte der Harn aufgrund seines hohen Zuckergehaltes süß. (Heute nippt man ja auch wieder am Urin, allerdings weniger aus diagnostischen als mehr aus therapeutischen Gründen.)

Es kam auch vor, daß Patienten große Mengen eines geschmacklosen, zumindest nicht süßen Urins ausschieden. Dann wurde ein „geschmackloser“ Diabetes, ein Diabetes insipidus diagnostiziert. Das Krankheitsbild wurde bereits vor einhundert Jahren in der britischen Zeitschrift „Lancet“ eingehend beschrieben.

Die Hauptsymptome des Diabetes insipidus: Polyurie und Polydipsie

Normalerweise scheidet derjenige viel Urin aus, der viel Flüssigkeit zu sich nimmt, es sei denn, der Flüssigkeitsverlust über die Haut oder die Lunge ist stark erhöht, zum Beispiel bei körperlicher Ar-

beit oder Hitze. Beim Diabetes mellitus und insipidus wird dagegen primär viel Harn ausgeschieden; diesen Sachverhalt beschreibt man mit dem Wort „Polyurie“. Aus der Polyurie und dem damit verbundenen Flüssigkeitsverlust folgt die „Polydipsie“. Das Wort bedeutet „viel Durst haben“, wohlgernekt aufgrund von Flüssigkeitsmangel und nicht aus anderen Gründen. In die Praxis umgesetzt bedeutet Polydipsie viel trinken (aber nicht über den Durst trinken). Polyurie und Polydipsie sind die Hauptsymptome beider Diabetes-Formen.

Zunächst soll das klinische Erscheinungsbild des Diabetes insipidus etwas genauer beschrieben werden. Das Ausmaß der Polyurie kann beträchtlich sein. Im Extremfall scheiden die Patienten pro Tag 30 l Harn aus. So transportieren zwei von der Erkrankung betroffene Brüder, beide Maurer, den Flüssigkeitsvorrat für einen Tag – sieben oder mehr Getränke – auf einem eigens zu diesem Zweck angeschafften PKW-Anhänger. Dieses Beispiel veranschaulicht, daß bei schweren Formen des Diabetes insipidus der Tag und – vielleicht noch gravierender – die Nacht durch die häufigen Toilettengänge und ständiges Trinken bestimmt und förmlich zergliedert werden.

Im Unterschied zum Diabetes mellitus ist beim Diabetes insipidus die täglich ausgeschiedene Harnmenge konstant. Sie nimmt auch dann nicht ab, wenn der Patient wenig Flüssigkeit zu sich nimmt

oder viel Flüssigkeit verloren hat. Dies ist dadurch bedingt, daß die Niere einfach nicht in der Lage ist, den in der Niere einmal gebildeten Harn durch Wasserentzug zu konzentrieren und damit die ausgeschiedene Urinmenge zu reduzieren. Der Harn ist bei diesen Patienten daher immer hell und enthält nur wenig gelöste Stoffe. Bei Neugeborenen, die besonders empfindlich auf Flüssigkeitsmangel reagieren, kommt es zu Fieber („Durstfieber“) und Erbrechen. Da diese Symptome bei vielen Erkrankungen auftreten, ist es schwierig, die relativ seltene Erkrankung zu erkennen. Ist sie einmal diagnostiziert, bleibt es für die Eltern mühsam, den kleinen Patienten ausreichende Mengen an Flüssigkeit zuzuführen. Aus Verärgerung über den hohen Windelverbrauch oder die vielen nassen Hosen wird häufig sogar die Flüssigkeitszufuhr eingeschränkt. Dies ist natürlich völlig sinnlos, da die Harnausscheidung nicht an die Flüssigkeitszufuhr angepaßt werden kann. Bei einer Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr kommt es vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern leicht zu einem gesundheitsbedrohlichen Flüssigkeitsdefizit – man spricht von einer Dehydratation. Bei wiederholter schwerer Dehydratation ist mit bleibenden körperlichen und geistigen Behinderungen zu rechnen. Wird die Flüssigkeitszufuhr an die erhöhte Harnausscheidung angepaßt, ist eine völlige normale Entwicklung zu erwarten.

Funktion der Niere

Vor einer Beschreibung des funktionellen Defekts beim angeborenen nierenbedingten Diabetes insipidus soll die normal funktionierende Niere kurz dargestellt werden.

In der Niere bilden mikroskopisch kleine, spezialisierte Blutgefäße

*Nach einem Vortrag am „Tag der Forschung“, Gießen, 17. Juni 1994

funktionelle Einheiten mit ebenfalls mikroskopisch kleinen Gangsystemen, den Harnkanälchen. Eine solche Einheit bezeichnet man als Nephron. Jede Niere enthält etwa eine Million dieser Einheiten. Um die Funktionsweise der Niere prinzipiell zu verstehen, nehmen wir an, daß eine Niere nur einen Harnkanal enthält, der in der Abbildung 1 trichterförmig dargestellt ist. Durch unsere beiden Nieren fließen pro Tag insgesamt etwa 1500 l Blut, eine gewaltige Menge. Durch den Druck in den Blutgefäßen werden die flüssigen Bestandteile des Blutes, das Blutplasma, wie durch einen Filter in den Harnkanal gepreßt. Das Gesamtvolumen dieses Filtrats, das als Primärharn bezeichnet wird, beträgt pro Tag für beide Nieren immerhin noch ca. 170 l. Wie kommt es nun, daß ein Gesunder pro Tag nur etwa 1 bis 2 l Harn ausscheidet? Dies geschieht dadurch, daß das Filtrat auf dem Weg bis zur „Mündung“ praktisch vollständig von der Niere aufgenommen („rückresorbiert“) und dem Blutkreislauf wieder zugeführt wird. Ungefähr ein Prozent (1 bis 2 l) des Filtrats gelangt über Nierenbecken und Harnleiter in die Blase und wird schließlich über die Harnröhre ausgeschieden. In den Kanälchen wird der Harn aber nicht nur volumenmäßig reduziert, sondern auch in seiner Zusammensetzung so verändert, daß nur die für den Organismus schädlichen oder nicht notwendigen Stoffe wie zum Beispiel Harnstoff und Harnsäure oder überschüssiges Wasser ausgeschieden werden. Das Endprodukt ist ein – je nach Wasserbestand des Organismus – mehr oder weniger konzentrierter Harn. Beim Diabetes mellitus ist die Konzentration von Zucker (Glukose) im Blut aufgrund eines Mangels an dem Hormon Insulin erhöht. Entsprechend hoch ist die Glukosekonzentration im Harn. Da eine hohe Konzentration von gelösten Teilchen im Harn die Rückresorption von Wasser limitiert, steigt die ausgeschiedene Urinmenge an. Durch seine zentrale Rolle bei der Kontrolle des Blutzuckerspiegels kann Insulin die täglich ausgeschiedene Urin-

menge beeinflussen, ohne direkt an der Niere anzugreifen.

Die Wirkung von Vasopressin

Die Harnaufbereitung unterliegt aber auch einer effizienten Steuerung durch verschiedene Hormone, die direkt auf die Niere einwirken. In diesem Zusammenhang soll nur ein Hormon, Vasopressin, dargestellt werden. Vasopressin ist ein Peptid, das aus neun Aminosäuren besteht, den gleichen Bausteinen, aus denen sich auch die großen Eiweiße (Proteine; siehe Seite 33) zusammensetzen. Bei funktioneller Betrachtung erinnert das Hormon an einen Januskopf: Es hat zwei Gesichter und daher auch zwei Namen. Es heißt „Vasopressin“, weil es durch eine Engstellung der arteriellen Blutgefäße den Blutdruck steigert. Daneben wird es auch antidiuretisches Hormon (abgekürzt ADH) genannt. Das Wort antidiuretisch setzt sich zusammen aus der Vorsilbe anti-, dem griechischen Wort für „durch“ und dem griechischen Wort für „Harn“. Denn antidiuretisches Hormon konzentriert den Urin und reduziert dadurch die ausgeschiedene Urinmenge. Da sich die Bezeichnung Vasopressin international durchgesetzt hat, wird sie im Weiteren verwendet, auch wenn an dieser Stelle die Wirkung des Hormons auf die Niere im Vordergrund steht. Vasopressin kontrolliert nur den letzten Teil des Harnkanals, das „Sammelrohr“ (in Abbildung 1 durch Wellen hervorgehoben). Ist kein Vasopressin vorhanden (diese Situation wird durch das Minuszeichen angedeutet), ist die Wasserdurchlässigkeit des Sammelrohrs sehr gering. Demzufolge kann dem Restfiltrat in den Sammelrohren – dabei handelt es sich immerhin um 5 bis 30 l pro Tag – kaum Wasser entzogen werden; es kann somit auch nicht wesentlich volumenmäßig reduziert werden. Unter der Wirkung von Vasopressin (Pluszeichen) nimmt die Wasserdurchlässigkeit des Sammelrohrs dramatisch zu, so daß der allergrößte Teil des Filtrats von der Niere aufgenommen und über die Gefäße dem Organismus wieder zugeführt werden kann. Der Rest (1 bis 2 l) wird schließlich

ausgeschieden. Die Anpassung der Nierenfunktion an die aktuellen Erfordernisse des Organismus geschieht unter anderem dadurch, daß das Gehirn kontinuierlich den Wasserbestand des Organismus erfaßt und die richtige Vasopressindosis ausrechnet. Die Sensoren für diese Messung liegen in einem Bereich des Gehirns, den man als Hypothalamus be-

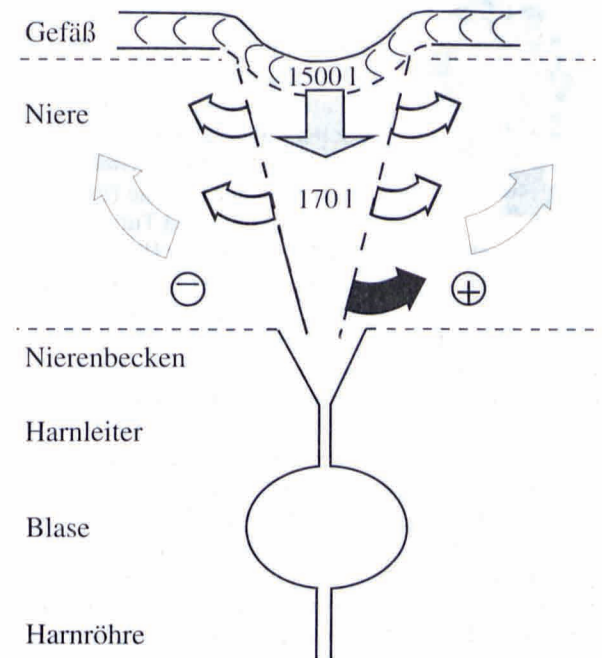


Abb. 1 Funktionsweise der Niere. Stark vereinfachte Darstellung der wesentlichen Vorgänge in der Niere (Filtration, Rückresorption, Ausscheidung). Der Wirkort von Vasopressin ist durch Wellen markiert.

zeichnet. Vasopressin ist in der Hirnanhangdrüse (Hypophyse) gespeichert, die über einen kleinen Stiel mit der Unterseite des Gehirns verbunden ist. Von dort wird es – wie alle Hormone – ständig ins Blut abgegeben. Auf dem Blutweg gelangt Vasopressin dann in die Niere und reduziert die Harnausscheidung. Wenn im Organismus ein Wassermangel herrscht (zum Beispiel durch zu wenig Trinken oder Flüssigkeitsverlust durch Schwitzen), wird dies von den Sensoren im Gehirn erfaßt. Diese melden über Nervenfasern an die Hirnanhangdrüse, daß mehr Vasopressin ausge-



Walter Rosenthal ist seit August 1993 am Rudolf-Buchheim-Institut für Pharmakologie der Justus-Liebig-Universität tätig. Sein Arbeitsgebiet ist die Signalverarbeitung durch Zellen unter Beteiligung von G-Proteinen. Seit einem Forschungsaufenthalt als Heisenberg-Stipendiat und Visiting Professor am Department of Cell Biology im Baylor College of Medicine in Houston (Texas) von 1991 bis 1993 beschäftigt er sich mit den molekularen Grundlagen der Regulation des Wasserhaushalts durch die Niere.

schüttet werden soll. Außerdem sorgen die Sensoren dafür, daß wir Durst bekommen und trinken. Beide Maßnahmen wirken dem Wassermangel entgegen. Herrscht dagegen ein Überschuß an Wasser im Organismus, wird die Vasopressinausschüttung vermindert. Die Folge ist eine Steigerung der Harnausscheidung.

Ein Diabetes insipidus kann auf zwei verschiedene Weisen zustande kommen: Einmal gibt es Patienten, bei denen die Vasopressin-Freisetzung aus der Hirnanhangdrüse unzureichend ist. Bei diesen Patienten liegt ein *zentraler* Diabetes insipidus vor. Der Defekt liegt im Gehirn (im Zentralnervensystem). Relativ häufige (erworbene) Ursachen sind Tumoren des Gehirns und der Hirnanhangdrüse; dagegen ist der angeborene zentrale Diabetes insipidus selten. Bei anderen Patienten ist zwar die Ausschüttung des Hormons ausreichend oder gar überschießend, eine Wirkung auf die Niere ist jedoch nicht zu beobachten. Bei diesen Patienten liegt ein Resistenz der Niere gegen Vasopressin vor. Man spricht deshalb vom nierenbedingten oder *nephrogenen* Diabetes insipidus. Die Ursachen für den nephrogenen Diabetes insipidus sind vielfältig. Er kann durch Medikamente ausgelöst werden und kommt im Rahmen von sogenannten Autoimmunerkrankungen vor, bei denen der Organismus Antikörper gegen eigene Strukturen bildet und diese dadurch schädigt oder zerstört. Neben diesen erworbenen Formen gibt es einen angeborenen nephrogenen Diabetes insipidus, um den es in diesem Beitrag hauptsächlich geht. Um den Defekt beim angeborenen nephrogenen Diabetes insipidus zu verstehen, muß die Wirkung von Vasopressin auf der Ebene der Zelle betrachtet werden. Wie jeder Hohlraum in einem Organismus ist auch das Sammelrohr mit einer Zellschicht, einem Epithel, ausgekleidet (Abb. 2a). In diesem Fall besteht es aus nur einer Lage von Zellen; an ihnen entfaltet Vasopressin seine Wirkung. Das Hormon erreicht die Niere auf dem Blutweg, tritt auf dem Gefäßen aus und bindet an Struktu-

ren, die aus der Basis oder den seitlichen Anteilen der Epithelzellen herausragen (Abb. 2b). Diese antennenartigen Strukturen, die unter Hunderten von „extrazellulären Signalen“ (zum Beispiel Hormone, Pharmaka) nur eines „erkennen“ und nach dem Erkennen des Signals eine zelluläre Reaktion auslösen, werden allgemein als Rezeptoren bezeichnet. An einer vergrößert dargestellten Zelle (siehe Abb. 2b) wird angedeutet, daß das richtige Hormon, Vasopressin (Dreieck), in den Rezeptor wie ein Schlüssel in ein Schloß paßt. Ein anderes Hormon (Viereck) kann nicht vom Rezeptor erkannt werden und damit auch keine zelluläre Reaktion auslösen. Epithelzellen werden wie alle Zellen durch eine Plasmamembran begrenzt. Der zum Sammelrohr hin orientierte Teil der Plasmamembran („apikale Plasmamembran“) der Epithelzellen der Sammelrohre hat direkten Kontakt mit dem Inhalt des Sammelrohrs, während die gegenüberliegenden und seitlichen Anteile, die funktio-

nell einheitlich als „basolaterale Plasmamembran“ betrachtet werden können, über einen Zwischenraum mit den Blutgefäßen der Niere kommunizieren (siehe Abb. 2a). Die Wasserdurchlässigkeit der apikalen Plasmamembran ist in Abwesenheit von Vasopressin sehr gering (durchgezogene Linie), die der basolateral Plasmamembran dagegen immer („konstitutiv“) groß (gestrichelte Linie). Die Wirkung von Vasopressin besteht darin, die Wasserdurchlässigkeit der apikalen Membran dramatisch zu erhöhen, so daß eine effektive Aufnahme von Wasser aus dem Sammelrohr stattfinden kann. Dies geschieht auf folgende Weise: Vasopressin bindet an Rezeptoren der basolateralen Membran. Dieser Vorgang, der weiter unten näher beschrieben wird, führt zur Bildung eines intrazellulären Signalmoleküls, das zyklisches AMP heißt. Dieses bewirkt seinerseits, daß „Wasserkannäle“, bei denen es sich um porenbildende Eiweiße handelt, aus einer Parkposition im Zellinneren heraus in die apikale Plasmamembran umgelagert werden. Durch diese in die Plasmamembran eingelagerten Poren (wiederum ist der Übersicht wegen nur eine dargestellt) kann Wasser aus dem Sammelrohr in die Zelle fließen. Es verläßt die Zelle auf der basolateralen Seite, wird zunächst in den Zwischenraum aufgenommen und gelangt schließlich in die Gefäße (siehe Abb. 2a). Die treibende Kraft für den Flüssigkeitsstrom ist ein osmotischer Gradient: Die Menge der gelösten Teilchen (Osmolarität) steigt vom Sammelrohr über das Innere der Epithelzelle bis zum Zwischenraum an. Die Aufgabe von Vasopressin besteht lediglich darin, die Schleusen an der entscheidenden Stelle zu öffnen; die Richtung des Wasserstroms ist durch den osmotischen Gradienten festgelegt, auf dessen Zustandekommen hier nicht eingegangen werden soll.

Der Vasopressin-V2-Rezeptor

Nach der Ebene der Zelle soll nun die Ebene der Moleküle dargestellt werden. In Abgrenzung zum Vasopressin-Rezeptor der Gefäße, der V1-Rezeptor genannt wird,

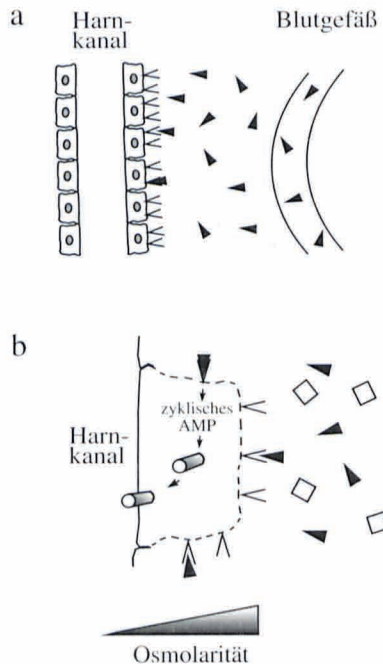


Abb. 2 Die Wirkung von Vasopressin auf der Ebene der Zelle. Ausgefüllte Dreiecke: Vasopressin; V-förmige Strukturen auf der Zelloberfläche: Vasopressin-Rezeptoren. Die osmotische Gradient (unten) gilt für beide Abbildungsteile.

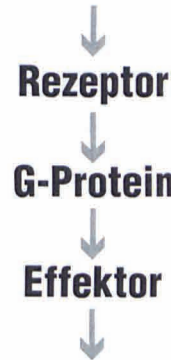
wird der Vasopressin-Rezeptor der Niere als V2-Rezeptor bezeichnet. Abbildung 3 zeigt ein Modell des menschlichen V2-Rezeptors der Niere. Wie bei den Wasserkanälen handelt es sich beim V2-Rezeptor um ein Eiweiß (Protein), das heißt um ein Makromolekül aus Aminosäuren. Jeder Kreis des Modells steht für eine Aminosäure; die Buchstaben in den Kreisen bezeichnen eine der 23 verschiedenen Aminosäuren, aus denen Eiweiße zusammengesetzt sind. Das Rezeptormodell zeigt die vermutete räumliche Anordnung des aus einer Aminosäurekette (371 Aminosäuren) bestehenden Rezeptors in der Plasmamembran, die durch die beiden Linien angedeutet ist. Oberhalb der Plasmamembran befindet sich der Extrazellulärraum, unterhalb der Intrazellulärraum. Das charakteristische Merkmal des V2-Rezeptors sind die sieben Membrandurchgänge der Aminosäurekette. Diese beginnt extrazellulär, windet sich siebenmal durch die Membran und endet intrazellulär. Die extrazellulären Schleifen sind entscheidend an der Bindung von Vasopressin beteiligt. Die intrazellulären Schleifen sind dafür verantwortlich, daß eine Folgereaktion ausgelöst wird, die zur Bildung des intrazellulären Signalmoleküls, des zyklischen AMP, führt.

Signalumsetzung durch Vermittlung von G-Proteinen

Die Strukturaufklärung des V2-Rezeptors bestätigte zahlreiche experimentelle Hinweise, nach denen der V2-Rezeptor zu den sogenannten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehört. Die Anzahl dieser Rezeptoren im menschlichen Organismus wird auf über eintausend geschätzt. Gemeinsam sind ihnen die sieben Membrandurchgänge. Als membrandurchspannende („transmembranäre“) Proteine haben sie direkten Kontakt sowohl zum extrazellulären als auch zum intrazellulären Milieu. Zuerst interagieren sie auf der Außenseite der Plasmamembran mit einem extrazellulären Signal. Daraufhin treten sie an der Innenseite der Plasmamembran mit Eiweißen in Wechselwirkung,

die als G-Proteine bezeichnet werden. Die über Rezeptoren „aktivierten“ G-Proteine regulieren ihrerseits Eiweiße, die ein intrazelluläres Signal erzeugen und „Effektoren“ genannt werden. Ein Beispiel für ein intrazelluläres Signal ist das zyklische AMP (siehe Abb. 2), das durch ein Enzym, die Adenylcyclase (Effektor), gebildet wird. Mit der Entstehung des intrazellulären Signals ist die Signalumsetzung an der Plasmamembran abgeschlossen. Ein Eindringen des extrazellulären Signals in die Zelle ist für den Vorgang nicht erforderlich. Die Signalumsetzung unter Beteiligung von G-Proteinen ist das häufigste, wenn auch nicht das einzige Prinzip, nach dem ein extrazelluläres Signal in ein intrazelluläres Signal umgewandelt wird. Die Vielseitigkeit der G-Protein-vermittelten Signalumsetzung ist an den unterschiedlichen extrazellulären Signalen erkennbar, die von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren erkannt werden. Dazu gehören zahlreiche körpereigene Stoffe (Hormone und Botenstoffe von Ner-

Extrazelluläres Signal



Intrazelluläres Signal

Abb. 4
Signalumsetzung an der Plasmamembran durch das Drei-Komponentensystem bestehend aus Rezeptor, G-Protein und Effektor. Mit Hilfe eines solchen Systems werden die meisten körpereigenen und körperfremden Signale, die auf Zellen einwirken, verarbeitet.

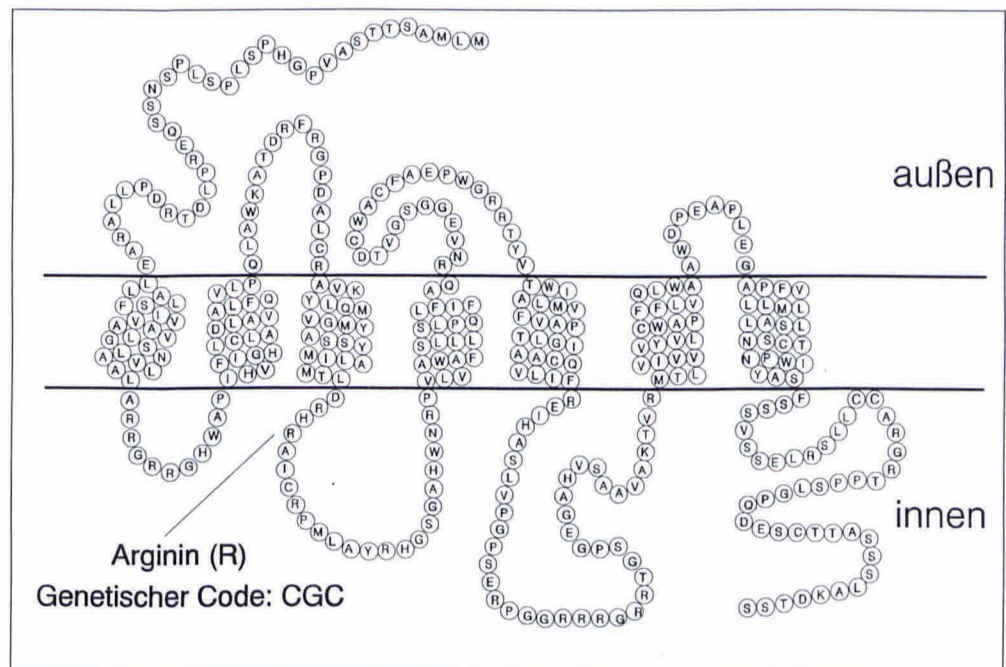


Abb. 3
Die Aminosäuresequenz des menschlichen Vasopressin-V2-Rezeptors und seine vermutete Anordnung in der Plasmamembran. Exemplarisch ist der genetische Code (CGC) für die Aminosäure Arginin (Ein-Buchstaben-Abkürzung R) angegeben.

venzellen), ferner exogene Stimuli wie Geruchs- und Geschmacksstoffe. Auch das Licht trifft im Auge auf einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor. Schließlich entfaltet eine sehr große Zahl von Arzneimitteln und Suchtstoffen, wie Heroin und Haschisch, ihre Wirkung über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Die Entdeckung und Beschreibung des hier nur kurz skizzierten Signalumsetzungsprinzips, insbesondere die Entdeckung und Charakterisierung der G-Proteine, wurde im vergangenen Jahr mit der Vergabe des Nobelpreises für Medizin an die Forscher M. Rodbell und A.G. Gilman (beide USA) gewürdigt.

Der molekulare Defekt beim angeborenem nephrogenen Diabetes insipidus

Für die Funktion eines Proteins ist die Abfolge der Aminosäuren, die Aminosäuresequenz, essentiell. Diese Sequenz ist in den Genen eines Lebewesens festgelegt. Gene bestehen aus Nukleinsäuren. Bei der Übersetzung eines Gens in ein Eiweiß muß daher eine Nukleinsäuresequenz in eine Aminosäuresequenz „umgeschrieben“ werden. Im Gegensatz zu den Eiweißen, die sich aus mehr als 20 verschiedenen Aminosäuren zusammensetzen, finden wir in den Genen aber nur vier verschiedene Bausteine oder – wie man häufig sagt – Buchstaben; dabei handelt es sich um Nukleinsäuren, die man mit den Buchstaben A (für Desoxyadenosinmonophosphat), C (für Desoxycytosinmonophosphat), G (für Desoxyguanosinmonophosphat) und T (für Desoxythymidinmonophosphat) abkürzt. Aus der unterschiedlichen Anzahl von Bausteinen für Gene und Proteine ergibt sich die Notwendigkeit, zur Bezeichnung einer Aminosäure eine Kombination von Nukleinsäuren zu verwenden. Vor etwa 30 Jahren konnte gezeigt werden, daß eine Aminosäure durch eine Dreierkombination von Nukleinsäuren festgelegt wird („genetischer Code“). So wird die Aminosäure in Position 137 des V2-Rezeptors, die Arginin heißt, abgekürzt R, auf Genebene CGC geschrieben (siehe Abb. 3). Wir sind nun der Frage nachge-

gangen, ob sich bei Patienten mit angeborenem nephrogenen Diabetes insipidus ein Fehler (eine Mutation) in das V2-Rezeptorgen eingeschlichen hat. Diese Untersuchungen wurden nicht auf der Eiweißebene durchgeführt – das wäre gar nicht möglich – sondern auf der Genebene mit Hilfe der Gentechnik. Dazu wurden Patienten und Familienangehörigen von Patienten einige Milliliter Blut aus einer Vene entnommen – genau wie bei anderen Routineuntersuchungen – und daraus mit einem einfachen Verfahren Nukleinsäuren (Gene) isoliert. Da die Anzahl bestimmter Gene in solchen Proben sehr klein ist, war eine Bestimmung der Nukleinsäuresequenz nicht unmittelbar möglich. Deshalb wurde zunächst, von den wenigen Genen als Vorlagen ausgehend, eine riesige Anzahl von Kopien (etwa eine Milliarde) angefertigt; dies geschah mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), die hier nicht näher erläutert werden kann. Damit stand ausreichend Material zur Bestimmung der Nukleinsäuresequenz des V2-Rezeptorgens zur Verfügung. Einen Ausschnitt aus der Nukleinsäuresequenz des V2-Rezeptorgens zeigt Abb. 5. In dem Fall wurde das Gen eines Patienten und seines gesunden Bruders analysiert. Wie das dargestellte Experiment durchgeführt wurde, soll nicht näher erläutert werden. Die Auswertung ist allerdings recht einfach. Horizontale Banden bedeuten einen Buchstaben des genetischen Alphabets, je nach

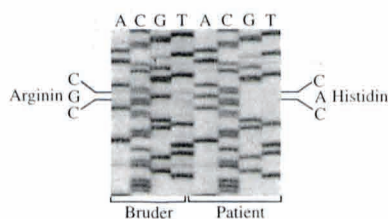


Abb. 5 Teil der Nukleinsäuresequenz des menschlichen V2-Rezeptors bei einem Patienten mit angeborenem Diabetes insipidus und seinem gesunden Bruder. Die dargestellte Region entspricht dem Bereich um die in Abbildung 3 hervorgehobene Aminosäure Arginin.

Spalte ein A, C, G oder T. Durch die vertikale Position innerhalb einer Spalte wird die Reihenfolge der Buchstaben festgelegt. Aus dieser Abbildung kann also die Nukleinsäuresequenz eines Genabschnitts abgelesen werden. An der bezeichneten Stelle lesen wir bei dem gesunden Bruder die Folge CGC, bei dem Patienten dagegen die Folge CAC. Einen solchen Austausch einer Nukleinsäure bezeichnet man als Punktmutation. Auf Proteinebene ergibt sich Folgendes: Die Kombination CGC, die wir beim gesunden Bruder finden, steht für die Aminosäure Arginin in der Position 137 (siehe Abb. 3). Die Kombination CAC, die wir beim Patienten finden, kodiert dagegen für die Aminosäure Histidin. Die Punktmutation im Gen führt in diesem Fall also zum Einbau einer falschen Aminosäure in Position 137; daher spricht man auch von einer „missense“-Mutation. Bei der funktionellen Charakterisierung ergab sich, daß der mutierte Rezeptor nicht in der Lage ist, nach der Bindung von Vasopressin die Bildung eines intrazellulären Signals, des zyklischen AMP, zu stimulieren. Insgesamt sind bereits über 50 verschiedene Mutationen im V2-Rezeptorgen beschrieben worden, die für einen angeborenen nephrogenen Diabetes insipidus verantwortlich sind. Diese Mutationen haben einen erheblichen Funktionsverlust des V2-Rezeptors zur Folge, so daß Vasopressin seine Wirkung an der Niere nicht mehr entfalten kann. Die Isolierung des V2-Rezeptorgens gestattete es auch, seine Lokalisation auf dem menschlichen Genom zu bestimmen. Es liegt am Ende des langen Arms des X-Chromosoms (männliches Geschlechtschromosom). Damit wird auch der „X-chromosomal-rezessive Erbgang“ des angeborenen nephrogenen Diabetes insipidus erklärbar. Er zeichnet sich dadurch aus, daß die Erkrankung bei Männern, die ein fehlerhaftes Rezeptorgen (Krankheitsgen) geerbt haben, manifest wird, während weibliche Trägerinnen des Krankheitsgens in der Regel keine Symptome aufweisen, die Erkrankung jedoch an ihre Nachkommen

weitergeben können. Mutationen im V2-Rezeptorgen sind die einzige bisher bekannte Ursache für den X-chromosomal-rezessiven Diabetes insipidus, der wiederum 90 Prozent aller Fälle mit angeborenem Diabetes insipidus ausmacht. In den vergangenen Monaten konnte gezeigt werden, daß eine sehr seltene Variante des angeborenen nephrogenen Diabetes insipidus mit einem „autosomal-rezessiven“ (geschlechtsunabhängigen) Erbgang auf Mutationen im Vasopressin-regulierten Wasserkanal (siehe oben) zurückzuführen ist.

Perspektiven

Nachdem die molekulare Diagnose beim X-chromosomal-rezessiven nephrogenen Diabetes insipidus gestellt ist, ergibt sich die Frage nach den Konsequenzen für die betroffenen Patienten und deren Familien.

(1) Wir können nun eine Mutation im V2-Rezeptor-Gen nachweisen und somit eine sichere Diagnose stellen. Dies ist von besonderem Interesse bei Neugeborenen, bei denen ein Verdacht auf angebore-

nen Mutante Hinweise für eine geeignete Arzneimitteltherapie ableiten lassen. Die Bestimmung der funktionellen Defekte von natürlich vorkommenden Mutanten sind außerdem von größter Wichtigkeit zum strukturellen und funktionellen Verständnis des V2-Rezeptors.

(3) Ob es sinnvoll ist und möglich wird, beim Nachweis einer Mutation durch somatische Gentherapie ein normales V2-Rezeptorgen in die Niere einzuführen und so die Nierenfunktion zu normalisieren, ist bisher nicht abschätzbar. Durch die Isolierung des V2-Rezeptorgens und die Aufklärung des molekularen Defekts beim X-chromosomal-rezessiven nephrogenen Diabetes insipidus ist dies prinzipiell möglich geworden.

Bisher sind acht Erkrankungen bekannt geworden, die auf Mutationen in einem G-Protein-gekoppelten Rezeptor zurückzuführen sind. Dazu gehören unter anderem Erkrankungen hormonproduzierender Organe wie der Schilddrüse und der Nebenniere sowie Erkrankungen des Auges; letztere werden durch Mutationen in

drüse. Aufgabe der Zukunft ist es, die rasch wachsenden Kenntnisse über die molekularen Ursachen von Erkrankungen zur Entwicklung therapeutischer Ansätze zu nutzen. ■

LITERATUR

- Birnbaumer, M., Seibold, A., Gilbert, S., Ishido, M., Barberis, B., Antaramian, A., Brabet, P., Rosenthal, W.: *Molecular cloning of the receptor for human antidiuretic hormone*. Nature 357, 333–335 (1992)
- Rosenthal, W., Seibold, A., Antaramian, A., Loneran, M., Arthus, M.-F., Hendy, G., Birnbaumer, M., Bichet, D.: *Molecular identification of the gene responsible for congenital nephrogenic diabetes insipidus*. Nature 359, 233–235 (1992)
- Seibold, A., Brabet, P., Rosenthal, W., Birnbaumer, M.: *Structure and chromosomal localization of the human antidiuretic hormone receptor gene*. Am. J. Hum. Genet. 51, 1078–1083 (1992)
- Bichet, D.G., Arthus, M.-F., Loneran, M., Hendy, G.N., Paradis, A.J., Fujiwara, T.M., Morgan, K., Gregory, M.C., Rosenthal, W., Antaramian, A., Didwania, A., Birnbaumer, M.: *X-linked nephrogenic diabetes insipidus in North America and the Hopewell Hypothesis*. J. Clin. Invest. 92, 1262–1268 (1993)
- Rosenthal, W., Antaramian, A., Gilbert, S. and Birnbaumer, M.: *Nephrogenic diabetes insipidus: a V2 vasopressin receptor unable to stimulate adenylyl cyclase*. J. Biol. Chem. 268, 13030–13033 (1993)
- Bichet, D.G., Birnbaumer, M., Loneran, M., Arthus, M.-F., Rosenthal, W., Goodyer, W., Nivet, H., Benoit, S., Giampietro, P., Siomontta, S., Fish, A., Whitley, C.B., Jaeger, P., Gertner, J., New, M., DiBona, F.J., Kaplan, B.S., Robertson, G.L., Hendy, G.N., Fujiwara, T.M., Morgan, K.: *Nature and recurrence of AVPR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus*. Am. J. Human Genet. 55, 278–286 (1994)
- Birnbaumer, M., Gilbert, S., Rosenthal, W.: *An extracellular CNDI mutation of the vasopressin receptor reduces cell surface expression, affinity for ligand and coupling to the Gs/adenylyl cyclase system*. Mol. Endocrinol. 8, 886–894 (1994)
- Oksche, A., Schülein, R., Dickson, J., Rosenthal, W.: *Molekulargenetische Diagnostik des kongenitalen nephrogenen Diabetes insipidus*. Med. Genetik 6, 389–391 (1994)

JUSTUS-LIEBIG-



Prof. Dr. Walter Rosenthal

Rudolf-Buchheim-Institut für Pharmakologie
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 107
35392 Gießen
Telefon (0641) 702-4136

nen nephrogenen Diabetes insipidus besteht. Wir können auch überprüfen, ob Mütter von Patienten Trägerinnen des Krankheitsgens sind. Dies ist von Wichtigkeit für die Familienplanung. Theoretisch ist auch eine pränatale Diagnostik möglich.

(2) Wird eine Mutation nachgewiesen, können wir die Restfunktion des V2-Rezeptors ermitteln. Es ist denkbar, daß sich aus der funktionellen Charakterisierung einer

Lichtrezeptoren (siehe oben) her-
vorgerufen. Die Mutationen führen zu einem Verlust der Rezeptorfunktion (ähnlich wie beim X-chromosomal-rezessiven nephrogenen Diabetes insipidus) oder zu einem auch in Abwesenheit eine extrazellulären Signals „senden“, also ständig aktiven und damit nicht steuerbaren Rezeptors. Mutationen in Genen für G-Proteine verursachen Erkrankungen der Hirnanhangdrüse und der Schild-