

Paul Graf Basselet de La Rosée
Dr. med.

Die kardiale Proteinkinase C in der postnatalen Entwicklung und der chronischen myokardialen Hypertrophie der Ratte.

Geboren am 22.03.69 in Landshut
Reifeprüfung am 29.6.88 in Freising
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis WS 1998
Physikum am 24.03.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 17.04.1998

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktormutter: Prof. Dr. med. R.H. Strasser

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung der Expression der kardialen Proteinkinase C-Isoenzyme auf Proteinebene während myokardialer Hypertrophie der Ratte. Ausgehend vom physiologischen Wachstum des Herzens im Rahmen der Ontogenese wurde auch der Einfluß der Myokardhypertrophie auf die PKC unter pathologischen Bedingungen untersucht. Dabei wurde die Myokardhypertrophie durch experimentelle Aortenstenose (Druckhypertrophie) oder durch aortocavalen Shunt (Volumenhypertrophie) ausgelöst.

Durch in-vitro-Phosphorylierung von Histon-III-s als Substratprotein zum Nachweis der Enzymaktivität konnte gezeigt werden, daß die maximal stimulierbare spezifische Enzymaktivität der PKC im Verlauf der Ontogenese um mehr als 50 % in der zytosolischen Fraktion und um rund 70 % in der Plasmamembran abnimmt. Der stärkste Abfall ist hierbei in den ersten Lebenswochen, also in der Phase des schnellsten myokardialen Wachstums zu beobachten. Während in der frühen postnatalen Zeit noch rund 20 % der kardialen PKC-Aktivität membrangebunden ist, findet sich im Myokard der ausgewachsenen Ratte nurmehr 6 % der Gesamtzymaktivität in der Plasmamembran. Diese vermehrte Lokalisation der PKC in der Plasmamembran in der frühen postnatalen Zeit ist möglicherweise ein Hinweis auf die intrinsische Aktivierung der PKC im Rahmen des initial schnellen Wachstums der Ontogenese. Die Westernblotanalyse mit isotypspezifischen Antikörpern zeigte zwei unterschiedliche Regulationsmuster: Während PKC- α und stärker noch PKC- δ in beiden Fraktionen mit zunehmendem Alter signifikant schwächer exprimiert werden, wurde für PKC- ϵ im Zyotosol nach 4 Wochen ein 30 % stärkeres Signal gefunden als unmittelbar postnatal. In der partikulären Fraktion bleibt die Expression von PKC- ϵ nach einem initialen Abfall im weiteren Verlauf konstant. Dieses unterschiedliche Expressionsverhalten deutet auf unterschiedliche Regulationsmechanismen der PKC-Expression in der Ontogenese hin.

In der myokardialen Druckhypertrophie, ausgelöst durch Aortenstenose über einen Zeitraum von einem Tag bis vier Wochen, konnte zu keinem der Zeitpunkte eine veränderte spezifische

Kinaseaktivität der PKC gemessen werden. Durch Nachweis der Isoenzyme im Westernblot wurde jedoch gezeigt, daß PKC- α und - δ im Zytosol schon nach 3 Tagen Aortenstenose signifikant stärker exprimiert werden als in scheinoperierten Kontrolltieren. Die maximale Expressionssteigerung erfährt hierbei PKC- δ nach 7 und 28 Tagen Aortenstenose (300%). In der partikulären Fraktion konnte nur für PKC- δ eine signifikante Zunahme der Bandendichte nach 7 und 28 Tagen Aortenstenose gesehen werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die cPKC- α und die nPKC- δ an der Aufrechterhaltung der chronischen Myokardhypertrophie beteiligt sein könnten. Im Gegensatz dazu ist die Expression der nPKC- ϵ unbeeinflusst von der Drucküberlastung durch Aortenstenose, so daß man davon ausgehen kann, daß diese Isoform weniger wachstumsregulierende Eigenschaften hat. In der Erfassung der Gesamt-enzymaktivität bleibt diese Verschiebung der Expression der Isoenzyme unentdeckt.

In Untersuchungen der PKC in der durch vierwöchige Volumenüberlastung ausgelösten Hypertrophie konnte ebenfalls keine veränderte maximal stimulierbare spezifische Enzymaktivität gefunden werden. Die Westernblotanalyse zeigte, daß auch in der Volumenhypertrophie PKC- δ in beiden Fraktionen bis zu zweifach stärker exprimiert wird als in Kontrollherzen, anders als im Modell der Druckhypertrophie aber PKC- α nicht signifikant stärker exprimiert wird. PKC- ϵ bleibt auch in der Volumenhypertrophie stabil exprimiert. Das unterschiedliche Expressionsmuster der PKC-Isoenzyme in der Druck- und Volumenhypertrophie ist ein Hinweis dafür, daß den unterschiedlichen myokardialen Phänotypen auch verschiedene Signaltransduktionswege zur Induktion der Hypertrophie zugrunde liegen. Möglicherweise deuten diese Daten auch darauf hin, daß unterschiedliche endogene Substrate der PKC entscheidend sind für die Entwicklung dieser beiden Formen der Myokardhypertrophie.

Diese Befunde stützen die Hypothese der subtypspezifischen Funktionen der PKC-Isoenzyme. Vergleiche mit Arbeiten zum Remodelling des Herzens nach Myokardischämie unterstreichen die besondere Rolle von PKC- δ in der chronischen myokardialen Hypertrophie. Weiterführende Arbeiten, die sich auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergeben haben, sollten zunächst versuchen, die funktionelle Bedeutung von PKC- δ in der chronischen myokardialen Hypertrophie weiter aufzuklären. Ein wichtiger Schritt dazu ist der Nachweis der Phosphorylierung endogener Substrate in der Hypertrophie in vivo.