

Katja Birkner
Dr. med.

Einfluß von immunsuppressiv wirkenden Medikamenten am Beispiel des Cyclosporin A und chronischer β -adrenerger Stimulation durch Isoproterenol auf die Entstehung einer myokardialen Hypertrophie und die mRNA-Expression der kardialen Isoformen α , δ und ϵ der Proteinkinase C bei der Ratte

Geboren am 31.05.1970 in Kronberg/Ts
Reifeprüfung am 25.04.1989 in Pforzheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1993 bis SS 1999
Physikum am 27.03.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 18.05.1999 an der Universität Heidelberg

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

Die Proteinkinase C ist eines der zentralen wachstumsvermittelnden Enzyme. Bisher ist nicht bekannt, ob dieser Signaltransduktionsweg im Rahmen der myokardialen Hypertrophie bei chronischer β -adrenerger Stimulation und unter dem Einfluß des immunsuppressiv wirkenden Cyclosporin A von Bedeutung ist. Klinische Beobachtungen in der Transplantationsmedizin lassen aber einen Zusammenhang vermuten. Bekannt ist bereits, dass die Proteinkinase C im Rahmen der Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz aktiviert wird. Ob aber umgekehrt eine Veränderung der Expression der Proteinkinase C-Isoenzyme eine myokardiale Hypertrophie zur Folge hat, wurde bislang nicht untersucht.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte anhand zweier unterschiedlicher Modelle der myokardialen Hypertrophie untersucht werden, ob eine differentielle Regulation der Proteinkinase C-Isoenzyme unter Therapie mit Cyclosporin A oder chronischer β -adrenerger Stimulation mit Isoproterenol nachweisbar ist.

Cyclosporin A wurde über einen Zeitraum von drei Wochen einmal täglich in einer Konzentration von 15 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert (je Woche $n = 5$ Tiere), während die Kontrolltiere lediglich die Trägerlösung (steriles Olivenöl) erhielten (jeweils $n = 3$). Nach ein, zwei und drei Wochen wurden Körpergewicht, Herz- und Lungengewicht sowie der Cyclosporin A-Spiegel im venösen Blut bestimmt und die Gesamt-RNA aus den Herzen isoliert.

Es konnte gezeigt werden, dass die mit Cyclosporin A behandelten Tiere nach drei Wochen ein signifikant reduziertes Körpergewicht aufwiesen ($319 \pm 2,5$ g vs. $278 \pm 3,8$ g, $p \leq 0,01$), das relative Herzgewicht, d.h., das Herzgewicht bezogen auf das Körpergewicht dagegen keine Veränderungen zeigte ($2,7 \pm 0,05$ vs. $2,8 \pm 0,07$ g/kg KG). Das relative Lungengewicht war nach 21 Tagen Therapie signifikant erhöht ($3,97 \pm 0,1$ vs. $4,4 \pm 0,06$ g/kg KG, $p \leq 0,01$). Mit Hilfe der RT-PCR wurde die Expression der PKC-Isoformen α , δ und ϵ untersucht. Sowohl für PKC- α als auch PKC- ϵ waren keine signifikanten Änderungen in ihrer Expression nachweisbar. Nach dreiwöchiger Therapie konnte aber für die PKC- δ eine signifikante

Erhöhung des mRNA-Spiegels gemessen werden ($432,5 \pm 18,8$ vs. $503,4 \pm 6,1$ ag/ng Gesamt-RNA, $p \leq 0,01$).

Bekannt ist bereits, dass Cyclosporin A durch eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems häufig eine arterielle Hypertonie verursacht. In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass es zu einer signifikanten Reduktion des Körpergewichts der mit Cyclosporin A behandelten Tiere kommt und dass ausschließlich die PKC- δ nach dreiwöchiger Therapie eine vermehrte mRNA-Expression zeigt.

Die Applikation des Isoproterenols erfolgte über subkutan implantierte osmotische Minipumpen mit einer Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht/Tag über sieben Tage. In jeder Gruppe waren $n = 8$ Tiere. Am Versuchsende wurden Körper-, Herz- und Lungengewicht bestimmt und die Gesamt-RNA aus den Herzen isoliert.

Nach siebentägiger Infusion von Isoproterenol war kein Unterschied im Körpergewicht nachweisbar ($240,4 \pm 3,3$ g vs. $238,9 \pm 3,4$ g). Dagegen hatten relatives Herz- und Lungengewicht der mit Isoproterenol behandelten Tiere deutlich zugenommen ($2,9 \pm 0,07$ vs. $3,3 \pm 0,1$ g/kg KG bzw. $4,55 \pm 0,09$ vs. $5,39 \pm 0,24$ g/kg KG, jeweils $p \leq 0,01$). In diesem Modell der ausgeprägten Myokardhypertrophie konnte eine vermehrte Expression der mRNA aller drei untersuchten PKC-Isoformen gezeigt werden. Die Expression der PKC- α nahm um 24% zu ($216 \pm 15,7$ vs. $269 \pm 17,4$ ag/ng Gesamt-RNA, $p \leq 0,05$), die der PKC- δ um 72% ($527 \pm 69,3$ vs. $911 \pm 119,5$ ag/ng Gesamt-RNA, $p \leq 0,05$) und die der PKC- ϵ um 41% (988 ± 112 vs. 1654 ± 144 ag/ng Gesamt-RNA, $p \leq 0,01$).

Mit Hilfe des im zweiten Teil dieser Arbeit verwendeten Modells der myokardialen Hypertrophie durch chronische β -adrenerge Stimulation mit Isoproterenol konnte somit eine vermehrte Expression aller drei untersuchten Isoenzyme der Proteinkinase C gezeigt werden. Dass v.a. die Ca^{2+} -unabhängigen PKC-Isoformen δ und ϵ betroffen sind und weniger die Ca^{2+} -abhängige Form PKC- α , läßt eine Beteiligung des Signaltransduktionsweges der Proteinkinase C sowie eine differentielle Regulation vermuten, sollte aber Gegenstand weiterer Experimente sein.