

Steffen Hans Peter Schön
Dr. med.

Die Regulation von messenger-Ribonucleinsäure der Proteinkinase C Isoformen in der Myokardischämie der Ratte

Geboren am 01.02.1971 in Bretten
Reifeprüfung am 16.05.1990 in Königsbach-Stein
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 91/92 bis WS 97/98
Physikum am 26.08.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg, New York (U.S.A.)
Staatsexamen am 23.04.1998 an der Universität Heidelberg

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

In der akuten Myokardischämie kommt es zu einer Aktivierung der Proteinkinase C, erkennbar an ihrer Translokation vom Zytosol an die partikuläre Fraktion. Diese Umverteilung der PKC charakterisiert als indirekter Parameter die Aktivierung des Enzyms. In isoliert perfundierten Rattenherzen tritt nach Induktion einer myokardialen Ischämie, wie vorangehende Untersuchungen gezeigt haben, eine Umverteilung der Enzymaktivität vom Zytosol an die Plasmamembran ab Ischämiezeiten von einer Minute Dauer auf. Western Blot Analysen ergaben eine Translokation aller dominanten Isoformen, im einzelnen PKC α , δ , ε und ζ . Diese schnelle und isoenzym-unspezifische Translokation ist unter persistierender Ischämie rasch reversibel. Im Gegensatz zur akuten Myokardischämie zeigt sich während der prolongierten Phase (Ischämie > 15 Minuten) ein Anstieg der PKC Aktivität im Zytosol, einhergehend mit der selektiven Expression der PKC Isoenzyme δ und ε . Mittels RT-PCR und Southern Blot Hybridisierungen konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, daß die mRNA-Spiegel der Isoformen δ und ε in der prolongierten Ischämie signifikant erhöht sind, während die Isoformen α und ζ auf Kontrollniveau sistieren. Die Regulation der PKC mRNA ist ab einer 30-minütigen Ischämie nachzuweisen und persistiert bis zu 60 Minuten nach Induktion des Perfusionsstopps. Dieser Reaktionsmechanismus charakterisiert erstmalig eine selektive Induktion von mRNA der PKC δ und ε in der Myokardischämie. Die pathophysiologische Bedeutung der subtypselektiven PKC Induktion ist bisher unbekannt. Diesen Ergebnissen ging die Ausarbeitung und Etablierung der reversen Transkription von Gesamt-RNA und der konsekutiven, subtypspezifischen Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) für die mRNA der dominanten kardialen Isoformen voraus. Zudem wurden cRNA-Standard für alle untersuchten PKC Isoformen synthetisiert, um mRNA subtypselektiv absolut zu quantifizieren. Weiterhin konnte im Rahmen dieser Arbeit durch Vorperfusion mit einem spezifischen PKC-Enzym-Inhibitor eine Blockade des ischämie-induzierten Anstiegs der PKC δ und ε mRNA erzielt werden. Diese Beobachtung legt eine autoregulative Beeinflussung der PKC mRNA Induktion durch die Isoenzyme der PKC im Sinne eines positiv rückgekoppelten Regelkreises nahe (Autoinduktion). In weiteren Untersuchungen wurde nach Perfusion des isolierten Herzens mit einem Phorbol ester ein Anstieg der mRNA für die Isoformen α , δ und ε beobachtet, während die mRNA für PKC ζ keine signifikanten Veränderungen aufwies. Der

tumorpromovierende Effekt der Phorbolester geht nach diesen Ergebnissen mit einer Regulation der PKC-mRNA einher.

Die etablierten Methoden und Ergebnisse der vorliegenden Arbeit schaffen die Basis zur Analyse der PKC-mRNA Regulationen beispielsweise bei den pathophysiologischen Prozessen der Myokardhypertrophie, der Präkonditionierung oder der Apoptose von Kardiomyozyten. Die zunehmende klinische Relevanz der subtypspezifischen Blockade und Stimulation von PKC Isoformen konnte in jüngster Zeit durch mehrere Experimente erbracht werden, so kann beispielsweise durch die Inhibition von PKC β ein antiproliferativer Effekt in diabetischen Versuchstieren erzielt werden. Weitere therapeutische Konsequenzen können sich aus der selektiven Beeinflussung von PKC Isoformen nach Erforschung ihrer Regulation und ihrer pathophysiologischen Bedeutung ergeben.