

Gregor Simonis
Dr. med.

Differentielle Regulation der Isoenzyme der Proteinkinase C in der akuten und prolongierten Myokardischämie

Geboren am 5.8.1968 in Wetzlar
Reifeprüfung am 21.5.1987 in Wetzlar
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 89 bis WS 95/96
Physikum am 19.3.1991 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 20.11.1995 an der Universität Heidelberg

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

Die akuten Myokardischämie führt zur Aktivierung des adrenergen Systems. Dabei kommt es neben der Aktivierung des Phosphoinositolsystems und der Adenylzyklase auch zur Aktivierung der Proteinkinase C über einen bisher ungeklärten Mechanismus.

Die Proteinkinase C (PKC) ist eine Gruppe von Isoenzymen, die sich in ihrer Primärstruktur und in ihrer Aktivierbarkeit durch Kalzium und Phospholipide unterscheiden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, welche Isoenzyme der PKC in der akuten (2,5 Min.) und prolongierten (15-60 Min.) Myokardischämie aktiviert werden und ob es in der Ischämie Hinweise für differentielle Regulationsmechanismen der Isoenzyme gibt.

Die Expression der PKC-Isoenzyme im Rattenherzen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Im Rahmen dieser Arbeit konnten mittels Westernblot-Analyse unter Verwendung von polyklonalen, isoenzymspezifischen Antikörpern die Isoenzyme α , δ , ϵ und ζ nachgewiesen werden, nicht jedoch PKC β und γ . Mittels Eichreihen der immunogenen Peptide konnte gezeigt werden, daß PKC α und ϵ die im Rattenherzen am stärksten exprimierten Isoenzyme sind. Von PKC δ ist etwa halb so viel nachweisbar. PKC ζ scheint eine untergeordnete Rolle im Herzen zu spielen. Die erst in jüngster Zeit entdeckten Isoenzyme PKC μ , ι , θ und λ wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht, da zum Zeitpunkt der Untersuchungen keine Antikörper gegen diese Isoenzyme erhältlich waren.

In der akuten Ischämie des Rattenherzen wird, basierend auf Experimenten an isolierten Zellen, die Translokation der PKC-Aktivität vom Zytosol an die Plasmamembran als Parameter für die Aktivierung des Enzyms gewertet. Untersucht wurde, welche der Isoenzyme nach 2,5 Minuten Ischämie transloziert werden. Es zeigte sich eine Translokation aller vier Isoenzyme. Eine selektive Translokation einzelner Isoenzyme findet also in der Ischämie nicht statt.

In der prolongierten Ischämie (15-60 Min. Ischämiezeit) wiesen Vorergebnisse auf eine Zunahme der PKC-Aktivität im Zytosol im Verlauf der Ischämie hin, während die Aktivität in der Plasmamembran nach 60 Minuten Kontrollwerten entsprach

Um zu bestimmen, ob die Zunahme der Aktivität durch eine vermehrte Enzymexpression begründet ist, wurde in Westernblotanalysen die Isoenzymmenge in Zytosol und Plasmamembran untersucht. Während die Menge von PKC α und PKC ζ nicht signifikant verändert war, war die Menge von PKC δ sowohl in der Plasmamembran ($154 \pm 28\%$) wie auch im Zytosol ($159 \pm 17\%$) deutlich vermehrt. PKC ϵ lag im Zytosol deutlich vermehrt vor ($198 \pm 26\%$), in der Plasmamembran kam es hingegen zu einer Abnahme auf $63 \pm 5\%$ der Kontrolle nach 60 Min.

Der Mechanismus für die ischämiebedingten Aktivierung der PKC ist bisher nicht geklärt. In der akuten Ischämie konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, daß eine Azidose (pH 7,0) zu einer Translokation der PKC führen kann.

Diese Daten belegen, daß die Isoenzyme der PKC in der Myokardischämie zwei verschiedenen Regulationsmechanismen unterliegen: In der Frühphase der Ischämie kommt es zu einer Translokation aller vier im Rattenherzen vorhandenen Isoenzyme. In der prolongierten Ischämie hingegen kommt durch einen bisher ungeklärten Mechanismus zu einer selektiven Aktivierung und Mengenvermehrung von nur zwei Isoenzymen, δ und ϵ , während die Isoenzymmenge von PKC α und ζ gleich bleibt. Die in der Frühphase der Ischämie beobachtete Translokation der PKC-Aktivität an die Plasmamembran kann durch die azidotische Perfusion imitiert werden. Ob dieser Mechanismus an der ischämiebedingten Translokation der PKC beteiligt ist, konnte bisher nicht geklärt werden. Diese Ergebnisse sind der erste Nachweis unterschiedlicher, differentieller Regulationsmechanismen der PKC-Isoenzyme in der Myokardischämie