

Arp Sebastian Krempien
Dr. med.

Wirkung verschiedener Bruchstücke von Parathormon (PTH) und Parathormone-related protein (PTHrP) auf zytosolische Kalziumkonzentrationen in der Osteoblasten-ähnlichen Zell-Linie UMR 106.01

Geboren am 02.11.1964 in Essen

Reifeprüfung am 08.06.1984

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1987 bis WS 1994

Physikum am 14.03.1989 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 18.05.1994 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. F. Raue

Das in den Epithelkörperchen der Schilddrüse gebildete Parathormon, ein einkettiges Polypeptid aus 84 Aminosäuren, ist gemeinsam mit dem in den C-Zellen der Thyreoidea gebildeten Calcitonin und dem in der Niere zum Cholecalciferol hydroxylierten Vitamin-D₃ an der Kalziumhomöostase beteiligt.

Das dem Parathormon in Struktur und biologischer Wirkung verwandte Parathormone-related Peptide, dessen physiologische Bedeutung bisher nicht völlig geklärt ist, wurde zuerst bei Patienten mit einem HHM-Syndrom (Humoral Hypercalcemia of Malignancy) isoliert und charakterisiert. Dieses, mit einer dem primären Hyperparathyreoidismus ähnlichen Symptomatik einhergehende paraneoplastische Syndrom ist eine relativ häufige Komplikation bei bestimmten Karzinomen, vor allem der Lunge, der Mamma, der Niere, der Blase und des Ovars. Als physiologische Funktion wird dem PTHrP eine Rolle in der Mobilisierung von Kalzium während und nach der Schwangerschaft zugeschrieben.

Wirkung und Wirkungsvermittlung von Parathormon und Parathormone-related Peptide an der Knochenzelle werden kontrovers diskutiert. Ausführlich untersucht ist die Rolle des zyklischen AMP und der Proteinkinase-A als Second Messenger bei der Signalübertragung der beiden Hormone. In der letzten Zeit fanden sich jedoch mehr und mehr Anhaltspunkte, daß ein Teil der Hormonwirkung über die Proteinkinase-C und kurzzeitige Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration $[Ca^{2+}]_i$ vermittelt wird. Ziel dieser Arbeit war daher, Aussagen über die

Bedeutung intrazellulärer Kalzium-Transienten für die Signalübertragung der beiden Peptide zu ermöglichen, die Herkunft des freigesetzten Kalziums aus dem Extrazellulärraum oder dem Intrazellulärraum zu ermitteln, sowie Anhaltspunkte für das Vorliegen eines gemeinsamen Rezeptors oder getrennter Rezeptoren zu finden. Um dies zu ermöglichen, wurden verschiedene N- und C-Terminale sowie mittenständige Bruchstücke der beiden Hormone auf ihre Wirkung bezüglich der Konzentration von intrazellulärem Kalzium an einer Osteosarkomzelllinie der Ratte untersucht.

Die Untersuchungen zeigten, daß sowohl für die Wirkung von Parathormon als auch für die von PTHrP auf die Freisetzung von Kalzium die N-Terminale Anteile der Peptide von Bedeutung sind. Im Gegensatz zur Signalübertragung auf das cAMP/PKA-System sind jedoch die ersten Aminosäuren nicht unbedingt notwendig. Die N-Terminale drei Aminosäuren und die Sequenz bis zur Position 34 sind für die Aktivierung des cAMP/PKA-Signalweges sowohl für Parathormon als auch für Parathormone-related Peptide unabdingbar. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse aus der Aktivierung des Ca/PKC-Systems. Hier ergeben sich für die beiden Peptide unterschiedlich lange Sequenzen, um einen Kalzium-Transienten zu erzeugen. Die funktionale Domäne des Parathormons für die Signalübertragung auf die Proteinkinase-C und $[Ca^{2+}]_i$ ist die Sektion 3 bis 7 beziehungsweise 3 bis 34. Für das Parathormone-related Peptide findet sich als minimal notwendige Sequenz zur Erzeugung eines Kalzium-Transienten die Domäne 7 bis 16 beziehungsweise 7 bis 34. Im Gegensatz zum cAMP/PKA-System ist eine Aktivierung der Proteinkinase-C bei den beiden Peptiden mit unterschiedlichen Bruchstücken möglich. Mittenständige und C-Terminale Fragmente der beiden Hormone zeigten weder eine Wirkung auf zyklisches AMP noch auf intrazelluläres Kalzium. Die Blockade der Kalzium-Kanäle durch Kalzium-Antagonisten sowie die Entfernung des Kalziums aus der Extrazellulärflüssigkeit durch den Komplexbildner EGTA führten nicht zur Unterdrückung des Kalzium-Signals.