

Christian Plathow
Dr. med.

Calciumsensitivität eines Skelettmuskels nach Rekonstitution mit cardialem Troponin I und Troponin C – Behandlung mit Proteinkinase A und dem Calciumsensitizer EMD53998.

Geboren am 01.05.1972 in Heidelberg.

Reifeprüfung am 22.05.1992 in Heidelberg.

Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1993/ 94 bis WS 1999/ 00.

Physikum am 07.09.1995 an der Universität Heidelberg.

Klinisches Studium in Heidelberg.

Praktisches Jahr in Winterthur/ Schweiz und Heidelberg.

Staatsexamen am 22.05.2000 an der Universität Heidelberg.

Promotionsfach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. phil. J.C. Rüegg

Innerhalb des Kontraktionszyklus kommt dem Muskelprotein Troponin die Rolle eines Ca^{2+} -empfindlichen Schalters zu. Bei einem Anstieg der Calciumkonzentration lagern sich Calciumionen an die calciumbindende Untereinheit von Troponin (Troponin C), welche darauf, als Grundlage für das Entstehen einer Muskelkontraktion, die Freigabe der Myosin-Aktin-Bindungsstelle durch Troponin I induziert. Unterschiedliche Troponin-Isoformen verschiedener Muskelgewebe führen hierbei zu einem unterschiedlichen Ansprechen der Muskelfaser auf Ca^{2+} -Ionen – es resultiert eine unterschiedliche Calciumsensitivität verschiedener Muskelgewebe. Dies konnte in dieser Arbeit erneut bestätigt werden.

Eine Modifikation der sogenannten Vanadatmethode nach Strauss et al. [FEBS Lett. 310:229 – 234, 1992] zur selektiven Extraktion von Troponin I und Troponin C ermöglichte es in dieser Arbeit erstmals, bei einem permeabilisierten (skinned) Skelettmuskel (Kaninchensoleusmuskel) diese beiden Troponinuntereinheiten zu extrahieren und nachfolgend mit cardialem phosphorylierbarem Troponin I und Troponin C auszutauschen (rekonstituieren). Bisher war dies lediglich am Herzmuskel möglich. Es konnte in dieser Arbeit nachgewiesen werden, daß die nach Extraktion von Troponin I und Troponin C verlorene calciumabhängige Kraftentwicklung am Kaninchensoleusmuskel nach Rekonstitution mit der cardialen Isoform voll reversibel war. Der Kaninchensoleusmuskel, welcher bereits im nativen Zustand die cardiale Isoform des Troponin C besitzt, zeigte nach Rekonstitution eine signifikante 'herzähnliche' Verschiebung der Calciumsensitivität im Sinne einer Calciumdesensitivierung, während der ebenfalls mit cardialem Troponin I und Troponin C rekonstituierte Herzmuskel vom Schwein keine signifikante Veränderung der Calciumsensitivität zeigte. Diese Beobachtung unterstreicht die große Bedeutung der cardialen Isoform des Troponin I.

Eine erfolgreiche Phosphorylierung des in den Soleusmuskel rekonstituierten cardialen Troponin I und des C-Protein durch die katalytische Untereinheit der cAMP-abhängigen Proteinkinase (Proteinkinase A) konnte unter Verwendung von $^{32}\text{P}\gamma\text{ATP}$ autoradiographisch, wie ebenfalls beim rekonstituierten und nativen Herzmuskel, nachgewiesen werden. Eine Phosphatinkorporation des Troponin I ließ sich am nativen Soleusmuskel nicht nachweisen.

Cardiales Troponin I induziert nach Phosphorylierung eine Calciumdesensitivierung des Herzmuskels. Erstaunlicherweise zeigte der rekonstituierte Soleusmuskel, im Gegensatz zum nativen und rekonstituierten Herzmuskel, keinerlei Phosphorylierungseffekte. Dies legte den Schluß nahe, daß nicht allein die phosphorylierbare cardiale Isoform des Troponin I

entscheidend für Effekte der Calciumdesensitivierung ist, sondern vielmehr auch gewisse Interaktionsmuster mit anderen cardialen Proteinen und Strukturen bei der Entstehung der genannten Effekte von Bedeutung sind.

Unter Verwendung des Calciumsensitizers EMD53998, also einer Substanz, welche das Ansprechen der Muskelfaser auf dieselbe Ca^{2+} -Ionenkonzentration zu erhöhen vermag und somit einen stärkeren Anstieg der Kraft bei niedrigen Calciumkonzentrationen ermöglicht und die Maximalkraft erhöht, zeigte sich bereits beim nativen Soleusmuskel eine hochsignifikante Calciumsensitivierung. Bisher konnte von keiner Wirkung eines Calciumsensitizers auf Skelettmuskulatur bei Säugetieren berichtet werden. Wir führten diese Beobachtung auf die bereits beim nativen Soleusmuskel vorhandene cardiale Isoform des Troponin C zurück. Beim rekonstituierten Soleusmuskel konnten noch bedeutendere Wirkungen durch EMD53998 hervorgerufen werden – jedoch nicht in dem bedeutenden Maße, wie es sich am Herzmuskel zeigte. Die durch EMD53998 gesteigerte Calciumsensitivität zeigte sich somit stark abhängig von den unterschiedlichen Isoformen des Troponin I und Troponin C. In der vorliegenden Arbeit scheint cardiales Troponin I in Synergismus mit der cardialen Isoform des Troponin C für die beim rekonstituierten Soleusmuskel, im Vergleich zum nativen Soleusmuskel, gesteigerte ebenfalls 'herzähnliche' Steigerung der Calciumsensitivität verantwortlich zu sein.