



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Untersuchungen zur Expression und Funktion des
Guaninnukleotidaustauschfaktors p63RhoGEF in Kardiomyozyten
der neonatalen Ratte**

Autor: Thomas Michael Hartmann
Institut / Klinik: Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und
Toxikologie
Doktorvater: Prof. Dr. T. Wieland

Rho-GTPasen stehen als molekulare Schalter im Mittelpunkt zahlreicher Signaltransduktionswege und regulieren unterschiedliche zelluläre Prozesse. Dazu gehört neben der Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts auch die Regulation der Zellproliferation, der Zelldifferenzierung und der Genexpression in unterschiedlichsten Geweben. Untersuchungen an transgenen Tieren und isolierten Kardiomyozyten zeigen, dass RhoA an der Ausbildung der kardialen Hypertrophie beteiligt ist. Die Aktivierung der Rho-GTPasen wird dabei durch Interaktionen mit entsprechenden Guaninnukleotid-Austauschfaktoren der Dbl-Familie (RhoGEFs) initiiert. Eine Subgruppe dieser RhoGEFs vermittelt Signale von Rezeptoren, die mit heterotrimeren G-Proteinen interagieren. Das vor kurzem neu entdeckte p63RhoGEF katalysiert die Aktivierung von RhoA und wird spezifisch durch heterotrimeren G-Proteine der Subfamilie $G_{q/11}$ reguliert. Da Agonisten an $G_{\alpha_{q/11}}$ -gekoppelten Rezeptoren klassische Induktoren einer kardialen Hypertrophie sind und Herzgewebe einen hohen Gehalt an mRNA für p63RhoGEF aufweist, sollte im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss von p63RhoGEF auf die RhoA-Aktivierung in neonatalen Rattenkardiomyozyten untersucht werden.

Mittels RT-PCR gelang der Nachweis der mRNA von p63RhoGEF in diesen Zellen. Die adenovirale Überexpression von p63RhoGEF induzierte eine geringe, basale Aktivierung von RhoA, die durch die Zunahme der Menge an RhoA-GTP quantifiziert werden konnte. Durch Stimulation der $G_{q/11}$ -gekoppelten α_1 -Adrenozeptoren bzw. Endothelin-1-Rezeptoren wurde die RhoA-Aktivierung in p63RhoGEF-überexprimierenden Zellen deutlich verstärkt. Die Auswirkungen der p63RhoGEF-vermittelten RhoA-Aktivierung konnten durch Veränderungen im Aktin-Zytoskelett verifiziert werden. Sowohl Stimulation mit Endothelin-1 als auch die Überexpression von p63RhoGEF induzierte in neonatalen Rattenkardiomyozyten die Ausbildung von Aktin-Stressfasern. Die Stimulation mit Endothelin-1 verstärkte die p63RhoGEF-induzierte Stressfaser-Bildung massiv, während die Überexpression einer trunkierten Mutante (p63- Δ N), welche zwar aktiviertes $G_{\alpha_{q/11}}$ bindet aber katalytisch inaktiv ist, dagegen zur vollständigen Unterdrückung der durch Endothelin-1 induzierten Stressfaserbildung führte.

Diese Daten belegen, dass p63RhoGEF als Mediator der $G_{\alpha_{q/11}}$ -abhängigen RhoA-Aktivierung in neonatalen Rattenkardiomyozyten fungieren kann und somit ein wichtiger neuer Faktor für die $G_{q/11}$ -induzierte Hypertrophie-Entwicklung im Herzen sein könnte.