

Branislav Kollár
Dr. med.

Über die Rolle von Zyxin bei der Phänotypregulation glatter Gefäßmuskelzellen

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. Markus Hecker

Die kardiovaskulären Erkrankungen führen die Statistiken zur Morbidität und Mortalität in westlichen Ländern an. Die Atherosklerose mit ihren zahlreichen Risikofaktoren wird als der wichtigste ätiopathologische Faktor dieser Krankheiten betrachtet. Obwohl viel zu dem klinischen Bild bekannt ist und verschiedene Therapieansätze zur Verfügung stehen, wurden die ursächlichen Pathomechanismen, auch der Risikofaktoren erster Ordnung wie z.B. der arteriellen Hypertonie nicht genügend aufgeklärt. In dieser Arbeit steht Zyxin als ein potentieller Faktor beim bluthochdruckinduzierten Gefäßremodelling im Vordergrund.

Wir kultivierten und dehnten isolierte glatte Muskelzellen aus der Aorta Zyxin-defizienter bzw. Wildtyp-Mäuse, um die supraphysiologischen Druckbedingungen einer arteriellen Hypertonie zu simulieren. Zyxin als ein dehnungssensitives Protein transloziert in den Zellkern, wo es die Genexpression moduliert. Die dehnungsregulierte Genexpression wurde mithilfe eines genomweiten DNA-Microarrays analysiert. Es wurden dabei die Genexpressionsprofile der glatten Muskelzellen aus Zyxin-defizienten und Wildtyp-Mäusen unter statischen Bedingungen und nach zyklischer Dehnung verglichen, um mehr über die Rolle von Zyxin bei der dehnungsinduzierten Genexpression in diesen Zellen zu erfahren. Aus den etwa 420 als differentiell und Zyxin-abhängig reguliert erkannten Genen wurden fünf ausgesucht, um ihre Expressionsänderung mithilfe der Real-Time-PCR zu validieren. Dabei wurde bestätigt, dass u.a. Cyclin D1 und Cyclin E2 differenziell in Zyxin-defizienten bzw. Wildtyp-Zellen reguliert sind. Auch auf der Proteinebene mithilfe der Immunfluoreszenzanalyse konnte dieser Befund verifiziert werden. Um die funktionelle Bedeutung dieser Genexpressionsänderungen zu untersuchen, wurde zunächst das Proliferationsverhalten der Zellen analysiert. Dabei zeigte sich eine beschleunigte Proliferation der glatten Muskelzellen aus den Zyxin-defizienten Tieren, sowohl unter statischen Bedingungen wie nach zyklischer Dehnung. Nach der Herunterregulation der Cyclin D1 bzw. E2-Proteinmenge mittels siRNA war die Proliferationsaktivität der Zyxin-defizienten glatten Muskelzellen deutlich herabgesetzt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden Experimente durchgeführt, die den Phänotyp der Zyxin-defizienten glatten Muskelzellen weiter charakterisieren sollten. Es wurden die Migration, Zytoskelettorganisation und die Kontraktilität untersucht. Die Zellen aus den Zyxin-defizienten Mäusen migrierten schneller, hatten ein desorganisiertes Zytoskelett und waren in ihrer Fähigkeit mechanische Zugkräfte auf ein Kollagengel auszuüben eingeschränkt. Die daraus ableitbare mangelnde Kontraktilität der glatten Muskelzellen konnte in unabhängigen Versuchen mit isoliert perfundierten Femoralarteriensegmenten der Zyxin-KO- bzw. Wildtyp-Mäuse bestätigt werden. All diese Befunde sprechen dafür, dass Zyxin zumindest teilweise den kontraktilen Phänotyp der glatten Muskelzellen bei übermäßiger biomechanischer Belastung (bluthochdruckinduzierte supraphysiologische Dehnung bzw. Erhöhung der Wandspannung) stabilisiert.

Unsere Ergebnisse und Hinweise aus der Literatur sprechen dafür, dass Zyxin eine wichtige protektive Rolle in der Pathophysiologie maladaptiver Gefäßumbauprozesse wie dem bluthochdruckinduzierten arteriellen Remodelling oder der Atherosklerose spielen könnte. Aktuell werden umfangreiche *in vivo*-Experimente durchgeführt, die diesen Zusammenhang belegen sollen. Dabei zeigt sich, dass der Verlust von Zyxin nicht nur die Ausprägung eines

vaskulären sondern auch eines kardialen Phänotyps zur Folge hat. Dies könnte einen ersten Schritt in der Entwicklung einer ursächlichen Therapie für die vorgenannten kardiovaskulären Erkrankungen darstellen.