

Barbara Otto  
Dr. med.

## **Signaltransduktion im glatten Muskel: Welche Rolle spielt das kleine G-Protein RhoA?**

Geboren am 28.6.1972 in Neuwied  
Reifeprüfung am 10.6.1991 in Marburg/Lahn  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991/92 bis WS 1998/99  
Physikum am 22.8.1993 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg und Stockholm  
Praktisches Jahr in Heidelberg, New York und Toronto  
Staatsexamen am 10.11.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. Dr. J.-C. Rüegg

Für die Regulation des glatten Muskeltonus sind zwei Mechanismen verantwortlich: (1) die Änderung der freien cytoplasmatischen Calciumkonzentration und (2) die Änderung der Ansprechbarkeit der Myofilamente für Calcium. So ändern sich bei der Agonisten induzierten Kontraktion die cytoplasmatische Calciumkonzentration und die Calciumansprechbarkeit gleichzeitig. Am Modell des  $\beta$ -Escin permeabilisierten Muskels kann durch einen hohen Calciumpuffer die Calciumkonzentration auf einen bestimmten Wert geklemmt werden. Wird bei einer geringen Calciumkonzentration mit dem Agonisten Carbachol stimuliert, so steigt die Kraft an, da die Calciumansprechbarkeit zunimmt. Für die Zunahme dieser Kraft bzw. die Calciumansprechbarkeit ist das kleine G-Protein RhoA wesentlich.

Dafür sprechen folgende Befunde:

Durch Inkubation mit dem Bakterientoxin Botulinus C3 Toxin, das RhoA spezifisch inaktiviert, konnte die Agonisten induzierte Kontraktion vollständig gehemmt werden. Durch Inkubation mit einem rekombinanten Rhoprotein ließ sich die Kraft in diesen „vergifteten“ Fasern wieder rekonstituieren. Rekombinante Rhoproteine erhöhen in nicht vergifteten Fasern die Calciumansprechbarkeit bei Stimulation mit einem Agonisten.

Wurden intakte Präparate mit einem weiteren Bakterientoxin, Toxin B aus Clostridium difficile, inkubiert und anschließend permeabilisiert, so war die Carbachol induzierte Kontraktion ebenfalls vollständig gehemmt. Auch das Toxin B hemmt spezifisch das kleine G-Protein RhoA. Darüber hinaus wurde die Agonisten induzierte Kontraktion im intakten Präparat durch Toxin B fast vollständig gehemmt. Das bedeutet, RhoA greift an zentraler Stelle in die Regulation der Agonisten induzierten Kontraktion und der Calciumansprechbarkeit ein.

Im Gegensatz dazu wird die durch  $K^+$ -Depolarisation erzielte Kraft durch das Toxin B nicht gehemmt. Da die durch Depolarisation induzierte Kraft hauptsächlich auf einem Calcium-einstrom in die Zelle beruht und da sie ebenso wie die phasische Aktivität bei der Carbachol induzierten Kraft nicht gehemmt wird, wirkt des Toxin B offenbar nicht auf den Calcium-einstrom.

Die Mechanismen, über die RhoA den Tonus bzw. die Calciumansprechbarkeit beeinflusst, sind bislang nicht geklärt. Ganz allgemein wird angenommen, daß eine Erhöhung der Calciumansprechbarkeit über eine Hemmung der Myosinphosphatase vermittelt wird. Dadurch würde das Ausmaß der Myosinphosphorylierung und damit der Kraft erhöht. Ein solcher Mechanismus ist jedoch aufgrund unserer Untersuchungen unwahrscheinlich, da die Phosphorylierung der leichten Myosinketten bei Inkubation mit Carbachol nicht ansteigt. Da die verwendeten Toxine die Calcium induzierte Kraft in permeabilisierten Präparaten im Gegensatz zur Carbachol induzierten Kraft nicht beeinflussen, ist eine Wirkung auf das Myosinkinase/Myosinphosphatase-System auszuschließen. Zukünftige Forschung müßte zeigen, inwiefern andere regulatorische Proteine, z.B. Caldesmon oder Calponin, durch RhoA im Sinne einer Erhöhung der Calciumansprechbarkeit beeinflusst werden.