

Rainer Bornholdt

## **Induktion von chemotaktischen Faktoren in Endothelzellen in Abhängigkeit von der extrazellulären Matrix**

Geboren am 09.10.1969 in Elmshorn

Reifeprüfung am 26.05.1989 in Quickborn

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis SS 1998

Physikum am 12.03.1993 an der Universität Hamburg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 15.05.1998 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. E. von Hodenberg

Endothelzellen (EC) stellen die Grenzschicht zwischen dem strömenden Blut und der Gefäßwand dar. Bei der Atherogenese kommt es zur Induktion von chemotaktischen Faktoren, so daß Monozyten durch diese Barriere in den Subendothelialraum wandern. Bei Untersuchungen von arteriosklerotischen Plaques wurde eine veränderte Zusammensetzung der extrazellulären Matrix (ECM) festgestellt. Es ließen sich bereits in frühen Stadien der Erkrankung die Proteine Fibronectin und Fibrinogen vermehrt nachweisen. In letzter Zeit wurde deutlich, daß die ECM neben ihrer Rolle als Strukturprotein, zu einer Geninduktion führen kann. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, den Effekt dieser Proteine auf die Induktion von chemotaktischen Faktoren in EC zu untersuchen. Aortale EC des Schweins wurden auf Gelatine, Fibronectin und Fibrinogen ausgesät. Nach Aussaat der EC auf Fibrinogen kam es zum Verlust des charakteristischen „Cobblestone-Musters“. Das serumfreie und von den EC konditionierte Medium wurde 22 und 48 Stunden gesammelt, in einer Chemotaxiskammer eingesetzt und die Migration von humanen Monozyten untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß die auf Fibrinogen kultivierten EC chemotaktisch aktive Substanzen synthetisierten, die  $94 \% \pm 3$  der Anzahl an Monozyten migrieren ließen, die durch die Positivkontrolle aktiviert wurden, während es in Überständen von EC auf Gelatine nur  $38 \% \pm 14$  waren. Es ist

bekannt, daß EC das Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) synthetisieren können und dieses für Monozyten chemotaktisch aktiv ist. Um zu untersuchen, ob in den Zellüberständen MCP-1 vorhanden war, wurde es daher mit Hilfe eines ELISA quantifiziert. Dabei zeigte sich, daß alle Zellen MCP-1 sezernierten, jedoch die Sekretion auf Fibrinogen am größten war. Da weiterhin bekannt ist, daß das MCP-1 über einen Protein Kinase C (PKC)-abhängigen Mechanismus reguliert wird, wurde der Einfluß der ECM auf die Induktion der PKC-Isoformen  $\alpha$ ,  $\delta$  und  $\epsilon$  untersucht. Mit Verwendung des Western-Blot-Verfahrens konnte gezeigt werden, daß alle drei Isoformen in EC vorkommen und daß PKC- $\delta$  in Zellen auf Fibrinogen signifikant stärker nachweisbar war. Um einen Zusammenhang zwischen PKC und Induktion von chemotaktischen Faktoren zu untersuchen, wurde der PKC-Inhibitor Bisindolylmaleimide II eingesetzt. Es zeigte sich, daß zwar die MCP-1 Sekretion von Zellen auf Gelatine und Fibrinogen signifikant reduziert werden konnte, aber die PKC-Hemmung auf die Induktion von chemotaktischen Faktoren nur einen geringen Einfluß hatte.

Die weitere Charakterisierung der chemotaktischen Faktoren in konditionierten Medien von Endothelzellen auf Fibrinogen könnte zum besseren Verständnis der Atherogenese beitragen.