

2 Problemstellung

Die pAVK ist durch atherosklerotische Schädigungen der großen Gefäße sowie durch eine gestörte Mikrozirkulation charakterisiert. In der Therapie werden seit vielen Jahren vasoaktive Prostaglandine verwendet. Zahlreiche prospektive randomisierte Studien gegen Placebo oder andere vasoaktive Substanzen dokumentieren die Überlegenheit von PGE₁ bei der inoperablen pAVK im Stadium III und IV (Gruß et al. 2001). Der Wirkmechanismus von Prostaglandinen ist komplex und nicht auf eine gefäßerweiternde Wirkung beschränkt. Zusätzlich zu den bekannten Wirkungen auf Blutfluss, Blutviskosität, Fibrinolyse, Plättchenaggregation und der antiinflammatorischen Neutrophilenhemmung (Schrör et al. 2004) wurden für PGE₁ in verschiedenen Studien direkte cytoprotektive Eigenschaften nachgewiesen. In Untersuchungen am isolierten Schweineherz konnte eine kardioprotektive Wirkung gezeigt werden (Mentz et al. 1988). Ebenso wurden solche Effekte auch in anderen Organen wie der Niere (Sketch et al. 2001) oder der Leber (Sugawara et al. 1998) beschrieben. Weiterhin verbesserte eine Infusion mit Alprostadil die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit systemischer Sklerose (Giannattasio et al. 2007). Aufgrund dieser gewebeschützenden Eigenschaften, seiner Zulassung zur Behandlung der pAVK und der günstigeren pharmakokinetischen Eigenschaften gegenüber Iloprost wurde das Hauptaugenmerk in dieser Arbeit auf PGE₁ gerichtet.

Die beobachteten protektiven Eigenschaften lassen eine mögliche Beteiligung antioxidativer Proteine vermuten. Dies wird durch verschiedene Studien bekräftigt, die für das Prostaglandinderivat d-PGJ₂ einen Einfluss auf die HO-1-Expression zeigen konnten (Koizumi et al. 1995; Zhuang et al. 2003; Kim et al. 2004). Während die Effekte von d-PGJ₂ auf das antioxidativ wirksame HO-1-Protein gut untersucht sind, gibt es für andere Prostaglandinderivate bisher nur sehr wenige Studien, die zum Teil noch widersprüchliche Ergebnisse liefern. So wird PGE₂ von Chen und Mitarbeitern als potentieller Induktor der HO-1 beschrieben wird (Chen et al. 2002a), jedoch zeigte es in anderen Untersuchungen keinen Effekt auf die HO-1-Expression (Koizumi et al. 1995). Auch für die klinisch verwendeten Prostaglandine Alprostadil und Iloprost fehlen in dieser Hinsicht aussagekräftige Daten.

Da die bisherigen Studien keine eindeutigen Aussagen erlauben, sollten in der vorliegenden Arbeit die Effekte von therapeutisch genutzten Prostaglandinderivaten, vor allem von PGE₁, auf die Expression der HO-1 in verschiedenen Zellsystemen untersucht werden.

Folgende Fragestellungen sollten bearbeitet werden:

Induzieren Prostaglandinderivate das antioxidative HO-1/Ferritin-System?

Zunächst sollte die Frage geklärt werden, ob PGE₁ und andere Prostaglandinderivate die Expression des HO-1-Proteins in Endothelzellen steigern können. Diese Untersuchungen sollten darüber Aufschluss geben, ob es sich um einen Gruppeneffekt verschiedener Prostaglandine handelt oder ob nur bestimmte Derivate zu einer Induktion der HO-1 führen. Um eine zellspezifische Reaktion auszuschließen, wurde das Experiment in verschiedenen Zelltypen durchgeführt.

Mit Hilfe von Genreporter-Assays und der Northern-Blot-Analyse wurden die Effekte auf die HO-1 ebenso auf transkriptioneller Ebene analysiert.

Gekoppelt an die Freisetzung des Häm-Eisens durch die HO-1 ist die Expression von Ferritin. Es sollte daher auch der Effekt von PGE₁ auf die Ferritinsynthese untersucht werden.

Welche funktionellen Auswirkungen hat die Induktion des HO-1/Ferritin-Systems?

Eine Messung der HO-Aktivität sollte aufzeigen, ob es sich bei dem gebildeten Protein um ein katalytisch aktives Enzym handelt. In einem Modell für oxidativen Stress sollte die antioxidative Wirkung von PGE₁ untersucht und mit den Effekten des HO-1-Produkts Bilirubin verglichen werden.

Über welche molekularen Mechanismen wird die HO-1-Expression vermittelt?

Am Beispiel von PGE₁ sollte der Mechanismus der HO-1-Genregulation untersucht werden. PGE₁ wird in der Literatur als potenter Aktivator der Adenylatcyclase beschrieben (Stein et al. 1983; Kirtland 1988). Daher sollte zunächst der intrazelluläre cAMP-Spiegel nach Inkubation mit den verwendeten Substanzen gemessen werden.

In früheren Studien konnte für den *second messenger* cAMP eine Beteiligung an der HO-1-Induktion gezeigt werden (Durante et al. 1997; Immenschuh et al. 1998b; Polte et al. 1998). Außerdem wurden in den HO-1-Promotorsequenzen verschiedenster Spezies CRE identifiziert (Muller et al. 1987; Kronke et al. 2003). Es sollte deshalb die Beteiligung eines cAMP-abhängigen Signalweges an der HO-1-Induktion durch PGE₁ mit Hilfe von unterschiedlichen Inhibitoren auf translationaler und transkriptioneller Ebene untersucht werden. Darüber hinaus sollte im Genreporter-Assay mit Hilfe von Deletionskonstrukten eine Abhängigkeit der HO-1-Induktion vom CRE nachgeprüft werden.