

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von Alprostadil (PGE_1) und anderer Prostaglandinderivate auf die Expression von Genen mit zellprotektiver Funktion (HO-1, Ferritin) untersucht.

Das Prostaglandinderivat PGE_1 konnte die HO-1 auf Proteinebene in verschiedenen Endothelzelllinien und in Makrophagen induzieren. Diese Effekte waren sowohl konzentrations- als auch zeitabhängig.

Das Prostacyclinanalogon Iloprost und das Prostaglandinderivat d-PGJ₂ zeigten ebenso eine konzentrationsabhängige Induktion des HO-1-Proteins. Dagegen wurden für das Prostaglandinderivat PGF_{2 α} keine Effekte auf die HO-1-Proteinexpression gefunden, so dass nicht von einem Gruppeneffekt der Prostaglandine gesprochen werden kann.

Gekoppelt an die Freisetzung des Häm-Eisens durch die HO-1 ist die Expression eines zweiten antioxidativ wirksamen Stressproteins, des Eisenspeicherproteins Ferritin. In verschiedenen Zelllinien führte eine Vorbehandlung mit PGE_1 auch zu einer Zunahme der Ferritinproteinexpression.

Mit Hilfe von Promotorstudien konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte transkriptionelle Aktivität die Grundlage für die vermehrte HO-1-Proteinsynthese ist. Während PGE_1 , PGI₂ und d-PGJ₂ die Transkription des HO-1-Gens erhöhten, konnten für PGF_{2 α} wie schon auf translationaler Ebene keine stimulierenden Effekte nachgewiesen werden. Für PGE_1 wurden die Ergebnisse sowohl mit Hilfe einer *in vivo*-Biolumineszenzmessung der Promotoraktivität als auch auf mRNA-Ebene bestätigt.

Durch die Bestimmung der HO-Aktivität konnte gezeigt werden, dass eine 24stündige Inkubation mit PGE_1 zur Bildung eines katalytisch aktiven Enzyms in Endothelzellen führt.

Inwieweit sich die PGE_1 -vermittelte HO-1-Induktion funktionell als antioxidative Schutzwirkung manifestiert, wurde in einem Zellkulturmodell für oxidativen Stress untersucht. Eine direkte Zugabe von PGE_1 zeigte keinen Einfluss auf die ROS-Spiegel. Im Gegensatz dazu reduzierte eine 24stündige PGE_1 -Vorinkubation mit anschließendem Auswaschen die NADPH-induzierte Superoxidradikalbildung signifikant. Für das HO-1-Produkt Bilirubin konnte im gleichen Modell ebenfalls konzentrationsabhängige, antioxidative Effekte gezeigt werden, was darauf schließen lässt, dass Bilirubin als Mediator der antioxidativen PGE_1 -Effekte fungieren kann.

Das cyclische Nukleotid cAMP ist ein wichtiger Botenstoff für Prostaglandinvermittelte Effekte. Es wurden daher die intrazellulären cAMP-Spiegel nach Behandlung mit den entsprechenden Prostaglandinderivaten bestimmt. Für PGE_1 und Iloprost konnte in den verwendeten Zelllinien eine konzentrationsabhängige Erhöhung der intrazellulären cAMP-Spiegel gezeigt werden. Dagegen erhöhten d-PGJ₂ und PGF_{2 α} in den eingesetzten Konzentrationen die cAMP-Konzentrationen nicht.

Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Botenstoff cAMP und der Induktion der HO-1 durch PGE₁ konnte in abschließenden Untersuchungen dargestellt werden. Zunächst konnte gezeigt werden, dass ein membrangängiges Analogon des cyclischen Nukleotids cAMP sowohl die HO-1-Proteinexpression als auch die HO-1-Promotoraktivität erhöht. Unter Verwendung von spezifischen Inhibitoren der Adenylatcyclase (DDA) und der Proteinkinase A (KT5723) konnte die PGE₁-vermittelte HO-1-Induktion nahezu vollständig aufgehoben werden. Dies spricht für eine Beteiligung der cAMP-abhängigen Proteinkinase A an der HO-1-Genregulation durch PGE₁. Mit Hilfe von Deletionsmutanten konnte die Beteiligung eines CRE bei der PGE₁-induzierten Aktivierung des HO-1-Promotors festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass PGE₁ ein potenter Aktivator des HO-1/Ferritin-Systems ist. Während sich auch die Derivate d-PGJ₂ und PGI₂ als potente Induktoren erwiesen, zeigte PGF_{2α} keine Effekte. Die Induktion der HO-1 über eine cAMP-abhängige Kaskade durch PGE₁ ist ein hier erstmalig beschriebener Signalweg. Neben den bekannten vaskulären Effekten stellt die hier beschriebene HO-1-Induktion eine neuartige Wirkqualität cAMP-stimulierender Prostaglandine dar. Die zellprotektiven und antioxidativen Eigenschaften der HO-1 könnten einen zusätzlichen therapeutischen Nutzen bei der Therapie der arteriellen Verschlusskrankheit, aber auch bei anderen inflammatorischen Prozessen wie Atherosklerose bedeuten.