

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Untersuchungen war es zum einen, mittels kompetitiver RT-PCR die mRNA-Expression von rCAR1 und rCAR2 in verschiedenen Organen während der peripartalen Phase sowie bei juvenilen und adulten Ratten zu untersuchen. Um weitere Informationen über die Regulation von CAR im kardialen System zu erhalten, sollte die rCAR1- und rCAR2-mRNA-Expression in neonatalen Rattenkardiomyozytenkulturen in Abhängigkeit von der Zelldichte und der Kulturdauer untersucht werden. Weiterhin erfolgten mit Hilfe eines hCAR-exprimierenden adenoviralen Vektors Untersuchungen zur Bedeutung der CAR-Expression für den adenoviralen Gentransfer in Rattenkardiomyozytenkulturen.

Es zeigte sich, dass die mRNA beider rCAR-Isoformen (rCAR1 und rCAR2) in allen untersuchten Organen exprimiert wird, die rCAR2-mRNA-Expression jedoch nur etwa ein Zehntel der rCAR1-mRNA-Expression betrug. Unabhängig von der Expressionshöhe zeigten beide Isoformen in allen untersuchten Organen, mit Ausnahme des Gehirns, einen tendenziell vergleichbaren Expressionsverlauf während der Entwicklung. Die für das Gehirn ermittelten unterschiedlichen Expressionsverläufe zwischen rCAR1- und rCAR2-mRNA deuten darauf hin, dass rCAR2 während der frühembryonalen Gehirnentwicklung von Bedeutung sein könnte. Weiterführende Untersuchungen in dieser Entwicklungsphase könnten dies konkretisieren.

Der mittels kompetitiver RT-PCR ermittelte Verlauf der mRNA-Expression von rCAR1 und rCAR2 während der Organentwicklung zeigte vor allem im Gehirn und in der Skelettmuskulatur, aber auch im Herzen und in der Niere während der Embryonalentwicklung eine höhere CAR-mRNA-Expression, die mit zunehmendem Alter im Zuge der Organreifung abnahm. Dieser Rückgang war im Gehirn und in der Skelettmuskulatur besonders drastisch. Dagegen konnte in der Lunge und der Leber keine derartige Beziehung gefunden werden.

Untersuchungen an neonatalen Rattenkardiomyozyten demonstrierten, dass die rCAR-mRNA-Expression in Kulturen mit einer geringen Zelldichte 24 h nach der Isolierung deutlich höher war als in Kulturen mit einer höheren Zelldichte (rCAR1 bis 9,1 mal höher; rCAR2 bis 2,1 mal höher) und die Expression mit zunehmender Zelldichte annähernd linear abnahm. Eine Verlängerung der Kulturdauer über 48 und 72 Stunden hatte keinen weiteren Einfluß auf die CAR1-mRNA-Expression.

Die im Gehirn, in der Skelettmuskulatur, im Herzen und bedingt in der Niere während der embryonalen und neonatalen Entwicklung sowie in Rattenkardiomyozyten mit geringer Zelldichte und entsprechend geringen Zellkontakten ermittelte höhere rCAR-mRNA-Expression ist ein wichtiger Hinweis dafür, dass CAR eine Bedeutung bei der Organentwicklung hat, in deren Rahmen CAR wahrscheinlich als Zelladhäsionsmolekül fungiert und am Aufbau von Zellkontakten („Pfadfinder“-Funktion) beteiligt ist.

Die unter Verwendung eines hCAR-exprimierenden Vektors durchgeführten Untersuchungen an neonatalen Rattenkardiomyozytenkulturen konnten deutlich machen, dass die CAR-Expression auch in Kardiomyozyten die Effizienz der AdV-Aufnahme und somit die Gentransfereffizienz entscheidend beeinflusst. So führte die Expression von rekombinantem hCAR auf der Zelloberfläche sowohl zu einer erhöhten AdV-Bindung als auch zu einer erhöhten AdV-Aufnahme und Transgenexpression.