

Aus dem
Institut für Klinische Physiologie
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Wirkung von Prostaglandin-F-2- α auf die Kontraktilität des
Trabekelmaschenwerkes im Auge**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Christin Schimmat
aus Neuruppin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. M. Fromm
2. Prof. Dr. med. W.M. Kübler
3. Priv.-Doz. Dr. med. H. Thieme

Datum der Promotion: 23.03.2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Glaukom	6
1.1.1	Definition	6
1.1.2	Epidemiologie	7
1.1.3	Einteilung	8
1.1.4	Untersuchungsmethoden	10
1.1.5	Therapie des Glaukoms	13
1.2	Intraokularer Druck (IOD)	15
1.3	Kammerwasserabfluss	16
1.4	Am Kammerwasserabfluss beteiligte Gewebe	17
1.4.1	Ziliarmuskel (CM)	17
1.4.2	Trabekelmaschenwerk (TM)	18
1.4.3	Antagonismus zwischen TM und CM	20
1.4.4	Endothelin (ET)-induzierte Kontraktion am TM	22
1.5	Neue Glaukompharmaka: Prostaglandinanaloga	24
1.5.1	Prostaglandine (PG)	24
1.5.2	Synthese der PG	25
1.5.3	PG-Rezeptoren	26
1.5.4	Bedeutung der PG bezüglich der Glaukombehandlung	27
1.6	Ziel der Arbeit	29
2	Material und Methoden	30
2.1	Kontraktionsmessungen	30
2.1.1	Präparation	30
2.1.2	Messvorrichtung	31
2.1.3	Versuchsablauf	33

2.1.4	Verwendete Lösungen	34
2.2	Zellkulturen	35
2.3	Messung der freien Calciumkonzentration mit der Fura-Messmethode	36
2.3.1	Grundlagen der Methode	36
2.3.2	Versuchsaufbau	37
2.3.3	Versuchsdurchführung	38
2.3.4	Kalibrierung	39
2.3.5	Grundlagen der Berechnung der intrazellulären Calciumkonzentration	39
2.3.6	Errechnung von $[Ca^{2+}]_i$ durch Bildung des Quotienten	40
2.3.7	Statistik	43
2.3.8	Verwendete Lösungen und Chemikalien	43
3	Ergebnisse	44
3.1	Kontraktionsmessungen	44
3.1.1	Wirkung von PGF-2- α auf die ET-1-induzierte Kontraktion des TM	44
3.1.2	Wirkung der FP-Rezeptor-Antagonisten PGF-2- α -Amin/Amid auf die PGF-2- α -induzierte Hemmung der ET-1-Kontraktion	45
3.1.3	Wirkung von PGF-2- α auf die Carbachol-induzierte Kontraktion	46
3.1.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	48
3.2	Messung der intrazellulären Calciumkonzentration	49
3.2.1	Wirkung von ET-1 auf die intrazelluläre Calciumkonzentration an bovinen Trabekelwerkzellen (BTM-Zellen)	49
3.2.2	Effekt von PGF-2- α auf die ET-1-induzierte Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration an BTM-Zellen	51
3.2.3	Wirkung von ET-1 auf die intrazelluläre Calciumkonzentration an humanen Trabekelwerkzellen (HTM-Zellen)	52
3.2.4	Effekt von PGF-2- α auf die ET-1-induzierte Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration an HTM-Zellen	53
3.2.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	54

4	Diskussion	56
4.1	Effekt von PGF-2- α auf die Kontraktilität von bovinem TM	56
4.1.1	Einfluss von PGF-2- α auf die TM-Kontraktilität.....	56
4.1.2	Einfluss von PGF-2- α auf die ET-1-induzierte Kontraktion	58
4.1.3	Effekt von PGF-2- α auf die Carbachol-induzierte Kontraktion	59
4.2	Signaltransduktionswege der Rezeptoren	60
4.3	Einfluss von PGF-2- α auf den ET-1-induzierten Calciumanstieg.....	62
4.3.1	Wirkung von PGF-2- α auf die intrazelluläre Calciumkonzentration.....	62
4.3.2	Effekt von ET-1 auf die intrazelluläre Calciumkonzentration.....	63
4.3.3	Beeinflussung der intrazellulären Calciumkonzentration bei Zugabe von PGF-2- α	64
4.4	Kontraktionsformen am TM.....	64
4.4.1	Signaltransduktion über Rho-A (Calcium-unabhängiger Weg)	65
4.4.2	Effekte der Proteinkinase C (PKC) am TM	66
4.5	Die Bedeutung von ET-1 beim Glaukom.....	67
4.5.1	Endotheline.....	67
4.5.2	Endothelinrezeptoren.....	68
4.5.3	Endothelin-1-Effekte im Auge	70
4.6	Wirkung der PG-Analoga beim Glaukom	71
5	Zusammenfassung	74
6	Literaturverzeichnis	76
7	Anhang	89
7.1	Abkürzungsverzeichnis	89
7.2	Danksagung.....	90
7.3	Veröffentlichung von Teilen der Arbeit.....	90
7.4	Lebenslauf	91

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BTM	bovines Trabekelmaschenwerk
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CM	Ziliarmuskel
DAG	Diacylglycerin
ECE	Endothelin-Converting-Enzyme
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ET	Endothelin
ET-1 (-2, -3)	Endothelin-1, (Endothelin-2, Endothelin-3)
FP	Prostaglandin F bindender Rezeptor
GDP	Guanindiphosphat
GTP	Guanintriphosphat
HTM	humanes Trabekelmaschenwerk
IOD	Intraokularer Druck
IP3	Inositol-1,4,5-triphosphat
MLCK	Myosin-Light-Chain-Kinase
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthetase
PG	Prostaglandin(e)
PGF-2- α	Prostaglandin-F-2- α
PKC	Proteinkinase C
TM	Trabekelmaschenwerk

7.2 Danksagung

Bedanken möchte ich mich beim gesamten Institut für Klinische Physiologie unter der Leitung von Herrn Professor Michael Fromm für die freundliche, engagierte und kompetente Unterstützung während meiner Dissertationsarbeit.

Ein großer Dank gilt meiner Betreuerin Dr. Rita Rosenthal, die mich in die Forschungsmethoden und das Forschungsgebiet einwies, mich bei der Versuchsplanung und -durchführung sowie der Erstellung meiner Arbeit begleitete und mir stets bei etwaigen Fragen zur Verfügung stand.

Herr Privatdozent Dr. Hagen Thieme führte mich in das Thema ein, welches ich untersuchte und hier präsentiere. Ich bin ihm dankbar, da ihm als Erstautor wesentliche Erkenntnisse zu dieser Thematik gelangen, auf die ich bei meiner Dissertationsarbeit zurückgreifen konnte.

Danken möchte ich auch Susann Meißner, die mir bei der Einarbeitung in die Messmethoden behilflich war.

Frau Marianne Boxberger danke ich für ihre Unterstützung durch zahlreiche Ratschläge und für die Bereitstellung von chemischen Reagenzien.

Zuletzt gilt ein herzlicher Dank meiner Familie und meinem Freund, die mich während der gesamten Arbeit in vieler Hinsicht unterstützten.

7.3 Veröffentlichung von Teilen der Arbeit

H. Thieme, C. Schimmat, G. Münzer, M. Boxberger, M. Fromm, N. Pfeiffer, and R. Rosenthal. Endothelin-antagonism: mechanisms of prostaglandin $F_{2\alpha}$ action on trabecular meshwork contractility. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006. **47**(3): p. 938-45.

7.4 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Erklärung:

„Ich, Christin Schimmat, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Wirkung von Prostaglandin-2- α auf die Kontraktilität des Trabekelmaschenwerkes im Auge“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift