

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Heidelberg

Innere Medizin III

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. W. Kübler

**Differentielle Regulation der Aktivierung der Proteinkinase C im akuten
Myokardinfarkt im ischämischen und nicht-ischämischen Myokard: Rolle des Renin-
Angiotensin-Systems**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des medizinischen Doktorgrades

der

Fakultät für Klinische Medizin

der

Medizinischen Gesamtfakultät

der

Ruprecht-Karls-Universität

zu Heidelberg

vorgelegt

von

Marcus Heinrich Martin Dahlem

aus

Bad Kreuznach

1998

Herz-Kreislauf-Erkrankungen gehören in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen. Das Überleben des Herzinfarkts wird unter anderem durch die Restfunktion des linken Ventrikels bestimmt. Diese wird durch die Spätfolgen des Infarktes (Myokardhypertrophie, Remodeling) stark beeinträchtigt. Beiden Vorgängen ist gemein, so daß sie sich nicht nur im ischämischen Areal, sondern vor allem auch im nicht-ischämischen Areal abspielen und durch ACE-Blockade zu verhindern sind. Der molekulare Mechanismus beider Vorgänge ist bisher ungeklärt. Zur Zeit werden unter anderem intrazelluläre Veränderungen bei der Signaltransduktion und der Genexpression in Herzmuskel- und glatten Gefäßmuskelzellen als potentielle Hauptfaktoren für das kardiovaskuläre Wachstum diskutiert. Zu den meistuntersuchten intrazellulären Signaltransduktionswegen gehört unter anderem das Phosphatidylinositol-System des Kardiomyozyten mit seinem Effektorenzym, der PKC. Inzwischen konnte eine Aktivierung der PKC in Form einer Translokation vom Zytosol an die Plasmamembran im ischämischen Areal der akuten Myokardischämie nachgewiesen werden. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher zu untersuchen, ob eine Translokation der PKC auch im nicht-ischämischen Areal eines infarzierten Herzens zu finden ist. Ein weiterer Focus dieser Arbeit lag auf der Untersuchung der Beeinflussbarkeit der PKC durch ACE-Hemmer. Beide Untersuchungen stellen eine wesentliche Ergänzung zu der Erforschung des molekularen Mechanismus von Myokardhypertrophie und Remodeling des infarzierten Herzens dar.

Zunächst wurde die in der Literatur mehrfach beschriebene Translokation der PKC in der akuten Ischämie des isoliert-perfundierten Rattenherzen am In-Situ-Modell des Ratten- und auch Schweineherzen nachvollzogen. Sowohl in-vitro wie auch in-situ findet sich im ischämischen Areal eine im Ausmaß vergleichbare Translokation. Eine Aktivierung der PKC im akut-ischämischen Areal konnte weiterhin mit einer Translokation-unabhängigen Methode, der FIM-Färbung, histochemisch nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen am In-Situ-Ratten- bzw. Schweinemodell zeigten eine Translokation der PKC im ischämischen und nicht-ischämischen Areal des mittels LAD-Ligatur akut infarzierten (2,5 Min.) Herzens. Im Gegensatz zu den Befunden in situ, bewirkte eine 2,5-minütige LAD-Ligatur im isoliert-perfundierten Herzen lediglich eine Aktivierung der PKC im ischämischen Areal. Diese Daten, lassen erstmals zwei unterschiedliche Aktivierungsmechanismen der PKC im akuten Myokardinfarkt differenzieren. Als eine mögliche Erklärung der PKC-Translokation im nicht-ischämischen Myokard wurde der PKC eine Aktivierbarkeit durch Wandspannung unterstellt und dieser Frage nachgegangen. Es zeigte dabei sich eine deutliche Aktivierung der PKC bei der Erhöhung der Wandspannung des linken Ventrikels. Weiterhin wurde die Regulation der PKC-Isoenzyme am In-Situ-Rattenmodell mittels Westernblotanalyse untersucht. Alle 4 im Rattenherzen

vornehmlich exponierten PKC-Isoformen (α , δ , ϵ , ζ) translozieren im akuten Infarkt sowohl im ischämischen als auch im nicht-ischämischen Areal.

Um die Rolle des Renin-Angiotensin-Systems, als ein wichtiges Signaltransduktionssystem, bei der Entwicklung von Herzhypertrophie und postischämischen Remodeling zu charakterisieren, wurde der Einfluß einer Vorbehandlung bzw. Vorperfusion mit verschiedenen ACE-Hemmern, dem Bradykininantagonisten HOE 140 und dem A II-Antagonisten Candesartan auf die ischämiebedingten Regulationsmechanismen der PKC untersucht. Als Modell fanden wiederum das isoliert-perfundierte und das In-Situ-Rattenherz Verwendung. In ischämischen, mit Tyrode perfundierten Rattenherzen stieg die PKC-Aktivität in den Plasmamembranen an. Sie wird begleitet von einem spiegelbildlichen Abfall im Zytosol. Bei Vorperfusion für 20 Minuten mit zwei verschiedenen ACE-Hemmern (Enalaprilat, 2×10^{-7} M, Ramiprilat 2×10^{-7} M und 10^{-8} M) gefolgt von einer kurzzeitigen Ischämie (2,5 Min.) konnte die zuvorbeschriebene, Ischämie-induzierte Translokation PKC vollständig aufgehoben werden. Am In-Situ-Rattenmodell blieb nach Vorbehandlung mit Ramiprilat (50 mg/kg i.p., 8 Tage) die PKC in der Ischämie sowohl in der partikulären als auch in der zytosolischen Fraktion vollständig unverändert. Mit zwei weiteren Versuchsserien wurde der Frage nachgegangen, ob die Wirkung der ACE-Inhibitoren über einen Bradykinin- bzw. A II-abhängigen Mechanismus erfolgt. Zunächst wurden isoliert-perfundierte Rattenherzen mit Ramiprilat (10^{-8} M, 20 Min.) oder mit dem Bradykinin-antagonisten HOE 140 (10^{-8} M, 20 Min.) bzw. mit beiden Substanzen behandelt. In den unbehandelten Kontrollen stieg die PKC-Aktivität nach Myokardischämie in der partikulären Fraktion signifikant an. Im Zytosol fand sich ein spiegelbildlicher Abfall. Diese Translokation der PKC wurde durch eine Vorbehandlung mit Ramiprilat vollständig verhindert, während die Vorperfusion mit HOE 140 die Translokation nicht blockierte. Mit einer Vorperfusion mit dem A II-Antagonisten Candesartan konnten die vorausgegangenen Ergebnisse erhärtet werden. A II-Blockade verhindert die ischämie-bedingte Translokation der PKC. Diese Daten belegen erstmals, daß die Aktivierung der PKC in der akuten Myokardischämie durch ACE-Inhibitoren verhindert werden kann. Die Aktivierung der Bradykininrezeptoren spielt dabei keine Rolle. Es handelt sich dabei um einen A II-abhängigen Mechanismus.