



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Einfluss einer transienten Ischämie auf die Genexpression des Endothelinsystems in zerebralen Arterien: Untersuchungen am Endothel *in situ*

Autor: Benedikt Brosch
Institut / Klinik: Neurochirurgische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. L. Schilling

Das Endothelinsystem spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung eines sekundären ischämischen Hirnschadens nach einem ischämischen oder hämorrhagischen Schlaganfall. Dabei könnte eine verstärkte Kontraktion zerebraler Arterien durch Endothelin-1 eine wichtige Rolle spielen. *In vitro* konnte jedoch auch nachgewiesen werden, dass Sarafotoxin 6c, ein selektiver Endothelin-B-Rezeptoragonist nach zerebraler Ischämie über die Aktivierung endothelialer Endothelin-B-Rezeptoren zu einer verstärkten Gefäßrelaxation führen kann.

Bisher wurde die mRNA-Expression des Endothelinsystems nur am Gesamtgefäß oder an deendothelialisierten Gefäßen untersucht, wobei eine vermehrte Endothelin-B-Rezeptor-mRNA-Expression nachgewiesen werden konnte.

Es stellt sich nun die Frage, wie sich die mRNA-Expression der Komponenten des Endothelinsystems nach zerebralem Ischämie-Reperfusionsschaden selektiv im Endothel *in situ* verhält und ob im Endothel eine vermehrte ETB-mRNA-Expression nachgewiesen werden kann, die die vermehrte Relaxation durch Sarafotoxin 6c zerebraler Arterien nach zerebraler Ischämie erklären könnte.

Die zerebrale Ischämie wurde an männlichen Sprague Dawley Ratten durch eine intraarterielle Fadenokklusion der Arteria cerebri media induziert. Der Okklusionsfaden wurde zwei Stunden später zur Reperfusion entfernt. Nach 22 bzw. 46 Stunden wurden die Ratten getötet und das Gehirn entnommen.

In dieser Arbeit wurde eine neue Methode entwickelt, die es ermöglicht, mRNA selektiv von Endothelzellen zu gewinnen. Dazu wurde die Arteria cerebri media mit verdünntem RLT-Puffer zur Lyse der Endothelzellen perfundiert. Aus dem Perfusat und dem Restgefäß wurde die gesamte RNA extrahiert, transkribiert und durch eine real-time-PCR mit Auswertung durch die $2^{-\Delta\Delta C_t}$ -Methode auf die Expression von Markergenen für Endothel- und Gefäßmuskelzellen sowie der Komponenten des Endothelinsystems untersucht. Als Kontrollen dienten Ratten ohne Ischämieinduktion.

Im Perfusat zeigte sich eine mRNA-Expression von Tie2 und PECAM als Markergene für Endothelzellen, wohingegen α SMA als Markergen für Gefäßmuskelzellen so gut wie nicht nachweisbar war. In Folge dessen kann davon ausgegangen werden, dass das Perfusat selektiv die mRNA von Endothelzellen enthält.

Die mRNA-Expression des Restgefäßes war hingegen wegen des Nachweises von Tie2- und PECAM-mRNA nicht spezifisch für die mRNA-Expression von Gefäßmuskelzellen.

Im Perfusat konnte nach transienter Ischämie und einer Reperusionsdauer von 22 Stunden eine signifikant vermehrte Expression der mRNA des Endothelin-B-Rezeptors, des *Endothelin converting enzymes* und von Endothelin-1 nachgewiesen werden. Nach einer Reperusionsdauer von 46 Stunden zeigte sich eine vermehrte mRNA-Expression des *Endothelin converting enzymes* und von Endothelin-1.

Im Gegensatz dazu war keine Änderung der mRNA-Expression des Endothelin-A-Rezeptors im Restgefäß nachweisbar.

Die Ergebnisse dieser Arbeit können einerseits die vermehrte Vasorelaxation der Arteria cerebri media auf Sarafotoxin 6c nach Ischämie-Reperfusionsschaden *in vitro* und andererseits die Abnahme des zerebralen Blutflusses sowie die Zunahme des Hirnschadens nach zerebraler Ischämie und intraventrikulärer Injektion von BQ 788, einem selektivem ETB-Rezeptor-Antagonisten erklären. Sie sprechen auch dafür, dass für eine Therapie mit Rezeptorantagonisten nach einem Schlaganfall am ehesten ein selektiver ETA-Rezeptorantagonist in Frage kommt.