

Johannes Backs

Dr. med.

Posttranskriptionelle Down-Regulation des neuronalen Noradrenalintransporters bei experimenteller Herzinsuffizienz der Ratte

Geboren am 13.04.1971

Reifeprüfung am 28.05.1990

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis WS 1997/98

Physikum am 07.04.1993 an der Universität Giessen

Klinisches Studium in Giessen und Heidelberg

Praktisches Jahr in Karlsruhe (Universität Freiburg)

Staatsexamen am 05.05.1998 an der Universität Freiburg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. M. Haass

Bei der chronischen Herzinsuffizienz ist die "sympathische Überstimulation" insuffizienter Herzen mit prognostisch deletären Folgen wie rhythmogener "plötzlicher Herztod" oder progredientes kardiales Pumpversagen assoziiert. Der exakte Mechanismus der kardialen Sympathikusaktivierung bei chronischer Herzinsuffizienz ist bislang noch nicht vollständig geklärt. Eine verminderte Wiederaufnahme von Noradrenalin über den neuronalen Noradrenalintransporter könnte zu einer gesteigerten kardialen Netto-Sekretion von Noradrenalin aus den insuffizienten Herzen führen. In der vorliegenden Arbeit wurde in einem Modell der tierexperimentell induzierten Herzinsuffizienz der neuronale Noradrenalintransporter auf der Ebene der Funktion (Langendorff-Perfusion), der Proteinsynthese (Bindungsstudien) und der Transkription (in-situ Hybridisierung, kompetitive RT-PCR) untersucht.

Zur Untersuchung der Transkriptionsebene wurde ein Quantifizierungsverfahren von mRNAs aus dem Ganglion stellatum, dem Ort der Proteinbiosynthese der das Herz innervierenden postganglionären sympathischen Neurone, aufgebaut. Mittels kompetitiver RT-PCR für Noradrenalintransporter-mRNA und 18S-rRNA (als Referenzsystem) in Verbindung mit einer Analyse der PCR-Produkte durch Hochdruckflüssigkeitschromato-

graphie gelang es, ein sehr sensitives und zuverlässiges Quantifizierungsverfahren für die Genexpression des Noradrenalintransporters zu etablieren.

Als experimentelles Modell der druckinduzierten chronischen Herzinsuffizienz wurde die suprakoronare Aortenstenose der Ratte gewählt. Vier Wochen nach suprakoronarer Einengung der Aorta ascendens durch einen Tantalum-Clip entwickelten Ratten eine manifeste Herzinsuffizienz. Die Tiere mit suprakoronarer Aortenstenose waren gegenüber den scheinoperierten Tieren durch eine deutliche biventrikuläre Myokardhypertrophie, erhöhte linksventrikuläre enddiastolische Drucke und eine ausgeprägte Lungenstauung charakterisiert. Als Zeichen einer Sympathikusaktivierung wiesen die Tiere mit suprakoronarer Aortenstenose erhöhte Noradrenalin-Plasmaspiegel auf, während die Gewebekonzentrationen von Noradrenalin im Myokard des linken und rechten Ventrikels vermindert waren. In Langendorff-Perfusionen der isolierten Rattenherzen mit suprakoronarer Aortenstenose war die Aufnahme von exogen zugeführtem Tritium-markierten Noradrenalin über den neuronalen Noradrenalintransporter vermindert. Um auszuschließen, daß in diesem Versuchsansatz nicht die infolge der Myokardhypertrophie verlängerten Diffusionswege zu einer verminderten Aufnahme von Noradrenalin führten, wurde diese Beobachtung in einem weiteren Experiment bestätigt: Nach pharmakologischer Blockade des neuronalen Noradrenalintransporters mittels Desipramin wurde in den isoliert perfundierten Herzen der Ratten mit suprakoronarer Aortenstenose ein geringerer Anstieg der Freisetzung endogenen Noradrenalins während elektrischer Feldstimulation beobachtet als in scheinoperierten Herzen. Diese Befunde weisen auf eine verminderte Wiederaufnahme von Noradrenalin über den neuronalen Noradrenalintransporter bei Ratten mit suprakoronarer Aortenstenose hin. Entsprechend fanden sich in Plasmamembranpräparationen der insuffizienten Herzen eine verminderte Konzentration an Noradrenalintransporter-Bindungsstellen bei unveränderter Affinität für den Liganden [³H]-Desipramin. Mittels der in der vorliegenden Arbeit etablierten kompetitiven RT-PCR fand sich kein Unterschied auf der Ebene der Genexpression des Noradrenalintransporters in den Ganglia stellata. Da auch ein relativer Verlust adrenerger Nervenendigungen infolge der Myokardhypertrophie die erhobenen Befunde erklären könnte, wurde die Dichte der sympathischen Nerven im hypertrophierten Myokard mittels Glyoxylsäure-induzierter Histofluoreszenz quantifiziert. Hierbei fand sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Dichte der Nervenendigungen.

Schlußfolgernd läßt sich feststellen, daß die verminderte Wiederaufnahme von Noradrenalin in den insuffizienten Herzen auf eine posttranskriptionelle Verminderung der Anzahl von neuronalen Noradrenalintransportern auf einzelnen noradrenergen

Nervenendigungen zurückzuführen ist. In ersten Pilotversuchen konnte gezeigt werden, daß sich die Noradrenalin-Wiederaufnahme über den Noradrenalintransporter durch eine pharmakologische Aktivierung der Proteinkinase C und durch Endothelin-1, nicht aber durch Nikotin, Bradykinin, Angiotensin II oder Methoxamin, vermindern läßt. Zukünftige Untersuchungen müssen klären, ob sich durch Identifikation potentieller Modulatoren der kardialen Noradrenalin-Wiederaufnahme, wie Endothelin-1, neue medikamentöse Ansätze in der Therapie der Herzinsuffizienz ergeben.