

Dina-Susann Larsen

Dr.med.

## **Steigerung von Matrixmetalloproteinasen in humanen glatten Gefäßmuskelzellen durch Angiotensin II- eine mögliche Ursache der Ruptur arteriosklerotischer Plaques**

Geboren am 09.01.1975 in Mosbach

Staatsexamen am 30.04.02 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. R. Kranzhöfer

MMP sind proteolytische Enzyme mit der Fähigkeit zum Abbau von extrazellulärer Matrix. Sie können eine Degradation des bindegewebigen Anteils einer atheromatösen Plaque verursachen, mit der Folge einer Plaqueruptur und eines akuten Koronararterienverschlusses. Daneben gilt auch das Renin-Angiotensin-System, mit seinen vielfältigen Einflußmöglichkeiten als ein wichtiger proatherogener Faktor bei der Entwicklung der Arteriosklerose. Daher wurde untersucht, ob Angiotensin II als Stimulus eine Expression von MMP in humanen glatten Gefäßmuskelzellen induzieren kann.

Kultivierte glatte Gefäßmuskelzellen wurden mit Angiotensin II (100pM-1µM) 48 Stunden stimuliert, die Expression von MMP-1, -2, -3 und -9 wurde über das Immunoblot-Verfahren anhand der Zellkulturüberstände ermittelt. Angiotensin II erhöhte die Expression von MMP-1, -3 und -9. Dieser Effekt ließ sich mittels Losartan (10µM) und Candesartan (10nM, 1µM), beides Angiotensin II-Rezeptor Typ 1-Antagonisten aufheben. Daneben wurde keine gleichsinnig gesteigerte Expression der endogenen Inhibitoren der MMP, den TIMP, gefunden, so dass von einer erhöhten lokalen MMP-Wirkung auszugehen ist. Das basal schon hoch exprimierte MMP-2 konnte durch Angiotensin II nicht weiter gesteigert werden. Über die RT-PCR wurde ein Anstieg des basalen MMP-1-mRNA-Spiegels nach Stimulation mit Angiotensin II gezeigt. Dies läßt eine MMP-Regulation auch auf prätranslationalen Wege vermuten. Im Electrophoretic Mobility Shift Assay wurde dargestellt, dass die Signaltransduktionskaskade des AT<sub>1</sub>-Rezeptors über den proinflammatorischen Transkriptionsfaktor NF-κB verläuft. Anhand von Decoy-Oligodesoxynukleotiden mit den Konsensusbindungssequenzen für NF-κB und AP-1 wurden diese Transkriptionsfaktoren von ihren DNA-Promotorregionen geblockt. Dies führte zu einer signifikant reduzierten MMP-1 Expression, dargestellt im Immunoblot. Nach Zugabe der Antioxidantien PDTC und NAC, sowie des Flavonprotein-Inhibitors DPI in die Zellkultur wurde ebenfalls im Immunoblot eine

vermehrte MMP-1-Freisetzung gehemmt. Diese Hemmung könnte darauf hindeuten, dass der Angiotensin II-Effekt über freie Sauerstoffradikale, deren Ursprung vermutlich die aktive NADH/NADPH-Oxidase darstellt, erfolgt. Die funktionelle Aktivität des MMP-1 nach Angiotensin II-Stimulation wurde im Activity Assay nachgewiesen.

Angiotensin II zeigte sich in den Versuchen als potenter Stimulus einer gesteigerten MMP-1,-3 und -9-Expression humaner glatter Muskelzellen über die Transkriptionsfaktoren NF- $\kappa$ B und AP-1. Auf diese Weise könnte Angiotensin II zu einer Plaqueruptur beitragen. Die Erkenntnis, dass die pharmakologische Hemmung des RAS mittels ACE-Hemmer bzw. AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten zu einer Reduktion der Reinfarktraten von Postinfarktpatienten führt, ist möglicherweise über die verminderte Bildung an MMP in der Gefäßwand zu erklären.