

Vasileios Georgiou

Dr. med.

Geboren am 27.04.1978 in Serrai/Griechenland

Examen am 26. April 2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr. Prof. Dr. med. M. Haass

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss einer  $\beta$ -adrenergen Stimulation auf die durch myokardiale Ischämie und Reperfusion induzierte Apoptose in isoliert perfundierten Mausherzen zu untersuchen. Unter normoxischen Bedingungen hatte Isoproterenol (1 nM bis 300  $\mu$ M) keinen Einfluss auf die basale Apoptoserate (Kontrolle:  $0,20 \pm 0,06\%$  TUNEL-positive Kardiomyozyten,  $n=23$ ; Isoproterenol 10 nM:  $0,27 \pm 0,11\%$ ,  $n=6$ ; 100  $\mu$ M:  $0,37 \pm 0,15\%$ ,  $n=7$ ; nicht signifikant im Vergleich zur Kontrolle). Unter alleiniger Ischämie/Reperfusion konnte ab 30-min Ischämie/4 Stunden Reperfusion in Abwesenheit von Isoproterenol eine signifikante Steigung der Apoptoserate ( $1,91 \pm 0,42\%$ ,  $n=6$ ;  $p < 0,05$  im Vergleich zur Kontrolle) beobachtet werden. Bei Vorperfusion von Isoproterenol erhöhte sich die Apoptoserate von Kardiomyozyten auf  $4,62 \pm 0,91\%$  ( $n=7$ ;  $p < 0,05$ ). In Anwesenheit von Isoproterenol wurde ein signifikanter Anstieg der Kardiomyozytenapoptose bereits nach kürzeren Ischämieperioden, welche selbst keine Apoptose induzierten, beobachtet (15 min Ischämie:  $1,21 \pm 0,33\%$ ,  $n=26$ ;  $p < 0,05$  im Vergleich zur 15 min Ischämie ohne Isoproterenol). Des Weiteren wurde nach kombiniert Isoproterenol und 15-min Ischämie/Reperfusion eine Aktivierung der Caspase-3 in Kardiomyozyten immunhistochemisch nachgewiesen. Als Antikörper wurde ein monoklonaler gegen das 17-21 kDa Fragment der aktiven Caspase-3 selektiver Antikörper verwendet. Zudem konnte gezeigt werden, dass die TUNEL-Reaktivität sowohl durch den Caspase-Inhibitor zVAD.fmk, als auch durch transgene Überexpression von Bcl-2 signifikant gehemmt wurde, wodurch der Nachweis eines Caspase-abhängigen und Bcl-2-regulierbaren Apoptose erbracht wurde. Da das Bcl-2-Transgen nur in Kardiomyozyten exprimiert wurde, konnte damit gleichzeitig gezeigt werden, dass die TUNEL-Reaktivität größtenteils eine

Myozytenapoptose widerspiegelt. Der Schwellenwert der Konzentration für den pro-apoptotischen Effekt von Isoproterenol (10 nM) korrelierte mit dem Schwellenwert für den positiv inotropen Effekt im isoliert perfundierten Mausherzen. Da eine adrenerge Stimulation zu einer schnelleren Depletion des ATP-Gehalts während der Ischämie führt, weist dies auf eine mögliche Beziehung zwischen Energiemetabolismus während der Ischämie und der pro-apoptotischen Sensibilisierung durch Isoproterenol hin.