

Jochen Röthele

Dr. med.

### **Ischämische Präkonditionierung und myokardiale Azidose: Einfluß auf das $\beta$ -adrenerge Signaltransduktionssystem**

Geboren am 27.8.1971 in Heidelberg

Reifeprüfung am 19.6.1991 in Heidelberg

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991 bis WS 1998

Physikum am 18.8.1993 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg und Monterrey, Mexiko

Staatsexamen am 20.11.1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Betreuerin: Frau Prof. Dr. med. Ruth H. Strasser

Im akuten Myokardinfarkt kommt es zu einer paradoxen Aktivierung des adrenergen Systems auf verschiedenen Ebenen. Diese erhöhte Empfindlichkeit sowohl der  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren als auch der Adenylylzyklase könnte zum Auftreten von letalen Herzrhythmusstörungen beitragen. Die molekularen Mechanismen, welche diese Veränderungen der Adenylylzyklase induzieren, sind bisher nicht bekannt. Im Rahmen einer ischämischen Präkonditionierung kann das Herz durch kurze repetitive Ischämien partiell vor einem Infarkt und dessen Folgen, einschließlich des Auftretens maligner Rhythmusstörungen, geschützt werden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten zwei wesentliche Themenkomplexe beantwortet werden:

- 1) Sind einzelne Komponenten der Ischämie, wie Azidose bzw. die Ischämiebedingte Freisetzung von Adenosin, für die Regulation des adrenergen Systems verantwortlich?
- 2) Hat eine ischämische Präkonditionierung Einfluß auf die Regulation der Adenylylzyklaseaktivität in der Ischämie?

Am Modell isoliert perfundierter Rattenherzen wurde gezeigt, daß eine Azidose (pH 7,0) zu einer signifikanten Sensibilisierung der Forskolin-stimulierten Adenylylzyklase führt ( $452 \pm 45$  auf  $535 \pm 14$  pmol/mg Protein/Min.). Das Ausmaß dieser Aktivierung entspricht der Sensibilisierung in der Ischämie.

Als weiteres konnte belegt werden, daß auch Adenosin eine Sensibilisierung induzieren kann ( $351 \pm 45$  auf  $461 \pm 43$  pmol/mg Protein/Min.), wobei eine zusätzliche Ischämie keinen additiven Effekt auf die Enzymaktivität hat. Außerdem konnte eine Ischämie-vermittelte Sensibilisierung durch  $A_1$ -Rezeptor Antagonisten verhindert werden.

Somit kann sowohl eine Azidose als auch Adenosin eine Aktivierung der Adenylylzyklase auslösen. Beide Faktoren kommen als mögliche Vermittler der Sensibilisierung in der frühen Ischämie in Frage. Die Azidose-induzierte Sensibilisierung kann nicht durch Inhibition der Adenosin  $A_1$ -Rezeptoren verhindert werden. Dies zeigt, daß es sich bei Azidose und Adenosin um zwei verschiedene Mechanismen handelt.

Bekannt ist, daß die Sensibilisierung der Adenylylzyklase mit einer Aktivierung der Proteinkinase C koinzidiert, bzw. daß die pharmakologische Blockade der Proteinkinase C-Aktivierung die Sensibilisierung der Adenylylzyklase in der Ischämie verhindert. Die Proteinkinase C kann sowohl durch Azidose aber auch durch Adenosin auf getrennten Wegen stimuliert werden. Beide könnten somit letztlich über Aktivierung der Proteinkinase C die Sensibilisierung der Adenylylzyklase bewirken.

Die Aktivierung des adrenergen Systems in der Ischämie kann zur Entstehung maligner Arrhythmien im Rahmen eines Herzinfarktes beitragen, während das Herz durch ischämische Präkonditionierung vor den Infarktfolgen geschützt wird. Denkbar wäre, daß die ischämische Präkonditionierung dadurch protektiv wirkt, daß die Aktivierung des sympathoadrenergen Systems abgeschwächt bzw. verhindert wird. Deshalb wurde untersucht, welchen Effekt eine ischämische Präkonditionierung auf den Verlauf der Adenylylzyklaseaktivität hat.

In den durch repetitiven kurzen Ischämien präkonditionierten Herzen findet sich ein signifikanter Anstieg der Adenylylzyklaseaktivität in der frühen Ischämie. Sowohl die Basalwerte ohne Stimulation ( $61 \pm 3,4$  auf  $80 \pm 6,1$  pmol/mg Protein/Min.) als auch die Aktivität nach Stimulation durch  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren mit Isoproterenol ( $99 \pm 5,5$  auf  $124 \pm 6,9$  pmol/mg Protein/Min.), durch G-Proteine mit Natriumfluorid ( $146 \pm 15$  auf  $171 \pm 11$  pmol/mg Protein/Min.) oder nach direkter Stimulation mit Forskolin ( $452 \pm 18$  auf  $579 \pm 33$  pmol/mg Protein/Min.) ist signifikant erhöht. Diese Aktivierung ist nach 15 Minuten rückläufig und fällt nach 30 Minuten unter Kontrollwerte vor Ischämie. Im direkten Vergleich zwischen präkonditionierten und unbehandelten Herzen befinden sich die Kontrollwerte vor Ischämie im selben Bereich (Unbeh.  $347 \pm 13$ , Pc.  $363 \pm 8$  pmol/mg Protein/Min.). Das Ausmaß der Ischämie-induzierten Sensibilisierung der Adenylylzyklase ist in präkonditionierten und in unpräkonditionierten Herzen ebenfalls vergleichbar.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die ischämische Präkonditionierung den Abfall der Adenylylzyklaseaktivität in der prolongierten Ischämie verzögert. So ist nach 30 Minuten Ischämie die Adenylylzyklaseaktivität in den präkonditionierten Herzen noch signifikant höher als in den unbehandelten Herzen ( $285 \pm 14$  versus  $326 \pm 8,5$  pmol/mg Protein/Min.). Diese zögerte Inaktivierung der Adenylylzyklase in späten Ischämie kann als Zeichen des Schutzes vor Proteolyse durch ischämischen Präkonditionierung interpretiert werden.

In der vorliegenden Arbeit ist nachgewiesen worden, daß im präkonditionierten Rattenherzen die Sensibilisierung der Adenylylzyklaseaktivität weiterhin stattfindet. Der Wirkmechanismus der ischämischen Präkonditionierung scheint somit nicht über eine Beeinflussung der Sensibilisierung der Adenylylzyklase vermittelt zu werden.

Außerdem ist belegt worden, daß Azidose sowie Adenosin zwei bislang unbekannte, differentielle Regulationsmechanismen zur Sensibilisierung der Adenylylzyklase darstellen. Beide Kandidaten kommen als mögliches Bindeglied zwischen Ischämie und Proteinkinase C-Aktivierung in Betracht, die dann letztlich über Phosphorylierung die Sensibilisierung der Adenylylzyklase auslöst.

Auf die Dichte der  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren hingegen hat weder Azidose noch Adenosin einen Einfluß. Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, daß Adenylylzyklase und  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren unabhängig voneinander reguliert werden und daß die Aktivierung des adrenergen Systems in der Ischämie auf den verschiedenen Ebenen durch unterschiedliche Mechanismen vermittelt wird.

