

## 1. Einleitung

### 1.1. Epidemiologie und Pathogenese der Herzhypertrophie und -insuffizienz

Die Inzidenz der chronischen Herzinsuffizienz hat in den sog. Industriestaaten zugenommen und ist hier eine der häufigsten internistischen Diagnosen. Ursächlich kann u.a. die steigende Lebenserwartung, sowie die zunehmende Verbesserung der medizinischen Behandlung akuter Koronarsyndrome angesehen werden.

Unter dem Begriff der Herzinsuffizienz versteht man ein klinisches Syndrom unterschiedlicher Ätiologie. Es definiert das Unvermögen des Herzens, das für zirkulatorische und metabolische Anforderungen des Organismus benötigte Herzzeitvolumen bei normalem enddiastolischen Ventrikeldruck zu fördern.

Die Definition der Herzinsuffizienz der WHO lautet: Verminderte körperliche Belastbarkeit aufgrund einer ventrikulären Funktionsstörung.

In der Klinik hat sich die Stadieneinteilung der New York Heart Association [NYHA], modifiziert nach Roskamm u. Reindell (1982) durchgesetzt:

- I. Normale körperliche Leistungsfähigkeit; in Ruhe und unter Belastung keine Symptome oder Beschwerden, Füllungsdruck und/oder enddiastolisches Volumen bei erheblicher Belastung erhöht.
- II. Leichte Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit; Beschwerden erst bei stärkeren Anstrengungen, Herzminutenvolumen in Ruhe und bei Belastung normal, enddiastolisches Volumen und/oder Füllungsdruck bereits in Ruhe erhöht.
- III. Erhebliche Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit; nur noch leichte berufliche Tätigkeit bzw. Hausarbeit möglich. Herzminutenvolumen bei Belastung unzureichend.
- IV. Beschwerden und Symptome in Ruhe; Herzminutenvolumen in Ruhe unzureichend (Ruheinsuffizienz).

Eine Herzinsuffizienz kann durch eine primäre Erkrankung des Herzens wie Kardiomyopathien, koronare Herzkrankheit, Anomalien der Herzklappen oder

Herzrhythmusstörungen hervorgerufen werden. Darüber hinaus können extrakardiale Faktoren wie arterielle Hypertonie, endokrinologische Erkrankungen (z.B. Hyper-, Hypothyreose), chronische Volumenbelastung (z.B. AV-Fistel, Niereninsuffizienz) zu einer Herzinsuffizienz führen.

Je nach der bevorzugt betroffenen Kammer unterscheidet man:

1. Linksherzinsuffizienz
2. Rechtsherzinsuffizienz
3. Globalherzinsuffizienz

Nach dem zeitlichen Verlauf teilt man ein in:

1. Akute Links-/Rechtsherzinsuffizienz (z.B. Myokardinfarkt/ Lungenembolie)
2. Chronische Herzinsuffizienz (kompensiert/ dekomensiert)

Die Pumpleistung des Herzens ist abhängig von:

1. Kontraktilität
2. Nachlast
3. Herzfrequenz

Die Kontraktilität kann über drei wesentliche Mechanismen gesteigert werden:

1. Frank-Starling-Mechanismus (Kraft-Wandspannungs-Beziehung, Starling u. Visscher 1926)

Über eine zunehmende Vorlast (enddiastolisches Ventrikelvolumen) erhöht sich die diastolische Vordehnung, woraus (in physiologischen Grenzen) das Schlagvolumen zunimmt .

2. Bowditch-Effekt (Kraft-Frequenz-Beziehung, Bowditch 1871)

Am gesunden Herzen kommt es mit zunehmender Frequenz auch zu einer Zunahme der Kontraktionskraft.

3. Sympatho-adrenerge Aktivierung

Vermehrte Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin führt über eine Stimulierung kardialer  $\beta$ -1-Adrenozeptoren zu einer Kontraktilitätssteigerung.

Bei sinkendem renalen Perfusionsdruck, verminderter Erregung von Vorhof- und arteriellen Pressorezeptoren erfolgt außerdem die Aktivierung des humoralen Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) (Guyton et al. 1975): Über Reninfreisetzung

erfolgt die Bildung von Angiotensin I aus Angiotensinogen. Durch die Wirkung von Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) entsteht Angiotensin II, was über AT-1-Rezeptoren unter anderem eine Vasokonstriktion, gesteigerte renale Na<sup>+</sup>- und Wasser-Rückresorption und Stimulierung der Aldosteronfreisetzung bewirkt und so einen weiteren Kompensationsmechanismus bei nachlassender Herzleistung darstellt.

Um das Herzzeitvolumen unter den pathologischen Bedingungen konstant zu halten, reagiert das Herz mit einer kompensatorischen Hypertrophie. Es werden grundsätzlich zwei Formen der Myokardhypertrophie unterschieden:

1. Die exzentrische Hypertrophie: Sie ist Folge einer chronischen Volumenbelastung des Herzens und geht mit einer Dilatation der Herzhöhlen einher (z.B. Aortenklappeninsuffizienz).
2. Die konzentrische Hypertrophie: Durch eine chronische Druckbelastung nimmt die Wandstärke der Ventrikel ohne Dilatation der Ventrikel zu (z.B. Aortenklappenstenose). Hierbei bleibt die systolische Pumpfunktion zunächst erhalten. Diese Form der Hypertrophie findet man auch als physiologischen Anpassungsprozess bei dauerhaft gesteigerter Herzleistung (Sportlerherz), wobei diese Veränderungen nach Wegfallen der Belastung reversibel sind.

Der Kardiomyozyt reagiert auf die erhöhten Anforderungen mit einer reinen Hypertrophie. Die Fähigkeit zur Zellteilung, und damit auch zur Regenerierung entstandener Schäden am Herzmuskel besitzen Kardiomyozyten als terminal differenzierte Zellen nicht mehr.

### **1.2. Adrenerge Rezeptorsysteme des Herzens**

Es existieren am menschlichen Herzen eine Reihe von Rezeptoren, welche über verschiedene Signaltransduktionsmechanismen physiologische Wirkungen im Kardiomyozyten vermitteln.

Genauere Untersuchungen existieren über adrenerge Rezeptoren des Herzens (Brodde 1991, Brodde und Michel 1999). Sie gehören zu der Familie der G-Protein (Guanin-nukleotid-bindende Proteine) gekoppelten Rezeptoren. Alle G-Protein gekoppelten Rezeptoren bestehen aus einer einzigen Peptidkette, welche siebenmal durch die Zellmembran verläuft und durch ihre sterische Anordnung eine Tasche bildet. Durch

Bindung eines Liganden wird der Rezeptor aktiviert. Die G-Proteine sind Heterotrimer aus  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten. Man kennt 21 verschiedene  $\alpha$ -, 5 verschiedene  $\beta$ - und 7 verschiedene  $\gamma$ -Untereinheiten. Je nach dem Verwandtschaftsgrad der  $\alpha$ -Untereinheiten unterteilt man die G-Proteine in Familien:  $G_s$ ,  $G_i$  und  $G_q$ . Ein Agonist-aktivierter-Rezeptor aktiviert das G-Protein dadurch, dass er den Austausch des GDP an der  $\alpha$ -Untereinheit gegen GTP katalysiert. Die Bindung an einen aktivierten Rezeptor führt danach zur Dissoziation in die GTP-tragende  $\alpha$ -Untereinheit und den  $\beta\gamma$ -Komplex.  $\alpha$ -GTP oder der  $\beta\gamma$ -Komplex nehmen jetzt Kontakt mit dem Effektor auf. Die wichtigsten Effektoren sind: die Adenylatzyklase (AZ), die Phosphatidylinositol-spezifische Phospholipase C (PI-PLC), spannungsabhängige  $K^+$ -Kanäle und spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle.

Der Aktivierung folgt die Inaktivierung: GTP wird über die als GTPase fungierende  $\alpha$ -Untereinheit zu GDP hydrolysiert und reassoziert mit dem  $\beta\gamma$ -Komplex zum inaktiven Trimer. Gleichzeitig kann eine funktionelle Entkopplung des Rezeptors über eine Phosphorylierung erfolgen, welche über die cAMP-abhängige Proteinkinase A und über G-Protein-gekoppelte Rezeptorkinasen (GRK, im Herzen GRK 2,3,5) geschieht (Lohse 1995).

### 1.3. Adrenerge Rezeptorsysteme im insuffizienten Herz

Bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz werden als Ausdruck des erhöhten Sympathikotonus erhöhte Plasma-Katecholaminspiegel gemessen (Bugaisky et al. 1992, Morgan und Baker 1991).

Bristow et al. (1982) konnten erstmals an menschlichen kardialen Gewebestreifen von herzinsuffizienten Patienten eine verminderte Dichte und Sensitivität von  $\beta$ -AR nachweisen. Dies hat sich in nachfolgenden Arbeiten bestätigt (Fowler et al. 1986, Feldman et al. 1987, Brodde et al. 1995).

Am menschlichen Herzen ist die Koexistenz von  $\beta$ -1- und  $\beta$ -2-AR gesichert (Brodde 1991, Bristow 1993). Das Verhältnis von  $\beta$ -1- :  $\beta$ -2-AR beträgt in den Vorhöfen 60-70%: 40-30% und in den Kammern 70-80%:30-20% (Brodde 1991). Im Stadium der Herzinsuffizienz wurde eine selektive Abnahme der  $\beta$ -1-AR-Dichte und eine funktionelle Entkopplung der  $\beta$ -2-AR festgestellt. (Bristow 1993, Brodde et al. 1995, Ferrara et al.

1997). Dabei spielt es keine Rolle, ob es sich um eine Rechts- oder Linksherzinsuffizienz handelt. Die meisten Daten existieren jedoch über Gewebe aus linken Ventrikeln.

Bristow et al. (1992) konnten an Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie und Zeichen der Rechtsherzinsuffizienz eine kammer-spezifische Abnahme der  $\beta$ -1-AR-Dichte im rechten Ventrikel und verminderte Sensitivität, gemessen an der Agonist-induzierten AZ-Aktivität, nachweisen.

Neben  $\beta$ -AR existieren auch  $\alpha$ -AR im menschlichen Herzen (Bristow et al. 1988, Böhm et al. 1988). Es gibt drei Subtypen von  $\alpha$ -1-AR:  $\alpha$ -1A-AR,  $\alpha$ -1B-AR und  $\alpha$ -1D-AR (Michel et al. 1995). Am menschlichen Myokard scheint dabei der  $\alpha$ -1A-AR den größten Anteil (Weinberg et al. 1994) zu haben. Dies gilt nicht für alle Spezies: so konnte für die Ratte eine Prädominanz des Subtyps  $\alpha$ -1B ( $\alpha$ -1A :  $\alpha$ -1B  $\cong$  20:80%) festgestellt werden (Michel et al. 1994, Wolff et al. 1998, Brodde und Michel 1999). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die  $\alpha$ -1-AR-Dichte im Rattenherzen um den Faktor 5 bis 8 höher liegt als im Menschenherzen. Hierin unterscheiden sich die Rattenherzen nicht nur vom Menschen, sondern auch von anderen Säugetieren wie Maus, Meerschweinchen, Schwein oder Schaf, welche eine ähnliche Dichte an  $\alpha$ -1-AR wie beim Menschen aufweisen (Steinfath et al. 1992a).

Es gibt bislang unterschiedliche Daten zu Veränderungen der  $\alpha$ -AR in insuffizienten menschlichen Herzen. Eine Studie von Limas et al. (1989) konnte eine reduzierte Anzahl der  $\alpha$ -1-AR aufzeigen. Dagegen konnten Böhm et al. (1988), Bristow et al. (1988) und Hwang et al. (1996) keine signifikante Veränderung der Rezeptoranzahl feststellen. In vier anderen Studien (Vago et al. 1989, Steinfath et al. 1992, Hwang et al. 1996, Yoshikawa et al., 1996) fand man hingegen eine Verdoppelung der  $\alpha$ -AR-Dichte. In der Studie von Hwang et al. (1996) scheinen die Veränderungen der  $\alpha$ -AR von der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz abzuhängen. So fanden diese Autoren eine erhöhte Rezeptordichte bei Patienten mit einer ischämischen Kardiomyopathie, dagegen eine unveränderte Rezeptordichte bei der dilatativen Kardiomyopathie. Die Beobachtung, dass im Stadium der Herzinsuffizienz es zu einer Down-Regulation und verminderten Sensitivität der  $\beta$ -AR kommt, legte die Vermutung nahe, dass die unveränderte oder erhöhte Anzahl der  $\alpha$ -AR einen Kompensationsmechanismus darstellt. Dieses konnte jedoch durch Arbeiten widerlegt werden in denen kein Zuwachs an inotropem Effekt

(Böhm et al. 1988) oder sogar ein verringerter inotroper Effekt (Steinfath et al. 1992b) nach  $\alpha$ -1-AR-Stimulierung im Stadium der Herzinsuffizienz nachgewiesen wurde.

Wie in der Arbeit von Pönicke et al. (2001) gezeigt werden konnte, wird eine Noradrenalin-induzierte Hypertrophie von isolierten Kardiomyozyten adulter Ratten über den  $\alpha$ -1A-AR vermittelt. Der  $\alpha$ -1A-AR ist ein  $G_{q/11}$  gekoppelter Rezeptor. Nach Bindung eines Agonisten wird zunächst über das aktivierte  $G_{q/11}$ -Protein eine PI-PLC aktiviert. Diese spaltet das Membran-Phospholipid Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat ( $PIP_2$ ) in Diacylglycerin (DAG) und Inositol-1,4,5-triphosphat ( $IP_3$ ). DAG und  $IP_3$  dienen als second messenger: DAG verbleibt in der Membran und stimuliert die Proteinkinase C, während  $IP_3$  an den  $IP_3$ -Rezeptor des sarkoplasmatischen Retikulums (SR) bindet und so  $Ca^{2+}$  aus dem SR ins Cytoplasma freisetzt. Über diesen Vorgang werden Prozesse in Gang gesetzt, welche zu einer gesteigerten Proteinsynthese und damit zur Hypertrophie führen. Man findet eine erhöhte Expression an Strukturproteinen welche, v.a. während der Fetalzeit exprimiert werden, wie z.B.  $\beta$ -Myosin heavy chain (Decker et al. 1993), eine verstärkte Expression von Oncogenen, welche als Transskriptionsfaktoren dienen, wie z.B. c-myc (Starksen et al. 1986). Des weiteren kommt es zur Induktion von extrazellulären Signalfaktoren wie dem atrialen natriuretischen Peptid (ANP) (Clark et al. 1993) oder dem Zytokin TGF  $\beta$  (Parker et al. 1991).

Neben Vermittlung einer Hypertrophie wird ein positiver inotroper Effekt beobachtet (Terzic et al. 1993). Zum einem wird dies über die verstärkte Freisetzung von intrazellulärem  $Ca^{2+}$  aus dem SR vermittelt, zum anderen kommt es über die aktivierte PKC zu einer Aktivierung des  $Na^+/H^+$ -Austauschers, was zu einem Anstieg des intrazellulären pH-Wertes und somit zu einer Calcium-Sensibilisierung der kontraktilen Elemente führt (Noel und Pouyssegur 1995). Des weiteren konnte eine konsekutive Aktivierung des  $Na^+/Ca^{2+}$ -Austauschers beobachtet werden, was wiederum zu einem Anstieg des intrazellulären  $Ca^{2+}$  führt (Iwakura et al. 1990).

### 1.4. Tiermodell der Rechtsherzhypertrophie und -insuffizienz

Es existiert eine Vielzahl an Tiermodellen zur Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz (Smith und Nuttall 1985). Dabei muss zwischen den Modellen zur Induktion einer Linksherzhypertrophie/-insuffizienz und den Modellen der Rechtsherzhypertrophie/-insuffizienz unterschieden werden. Zum Beispiel dient eine operativ induzierte Aortenstenose mit konsekutiver Druckbelastung des linken Ventrikels als Modell für die Linksherzhypertrophie.

Zur Induktion einer Rechtsherzhypertrophie/-insuffizienz gibt es verschiedene Modelle: In einem sehr aufwendigen Tiermodell entwickelt sich über eine durch chronische Hypoxie ausgelöste pulmonale Vasokonstriktion eine sekundäre Rechtsherzhypertrophie (Dennis et al. 1982).

Eine andere Methode ist die Applikation von pneumotoxischen Substanzen, welche Veränderungen im Sinne einer Schocklunge (ARDS) hervorrufen und so den pulmonal-arteriellen Blutdruck erhöhen (Michel et al. 1984, Meyrick et al. 1986).

Eine weitere Möglichkeit besteht im operativen Induzieren einer Pulmonalarterienstenose (Shipley et al. 1937), was ebenfalls einen hohen technischen Aufwand erfordert.

Ein weiteres Modell bedient sich des Pyrrolizidin-Alkaloides Monocrotalin (MCT) der Pflanze *Crotalaria spectabilis*. Erstmals wurde 1961 von Lalich und Merkow bei Ratten eine Entzündung in den Pulmonalarterien nach Fütterung mit Samen von *Crotalaria spectabilis* beschrieben. Nachfolgend wurden die Effekte dieses Alkaloides auch bei anderen Säugetieren untersucht.

MCT wird zunächst in der Leber zu Monocrotalinpyrrol (MCTP) metabolisiert, welches als biologisch aktiver Hauptmetabolit gilt (Pan et al. 1991, Kashara et al. 1997).

Angriffspunkt für die akute toxische Wirkung des MCTP ist das Endothel der Pulmonalarterien (Wilson et al. 2000, Hoorn et al. 1993). Man konnte für das MCTP einen antiproliferativen, zytotoxischen Effekt über eine Bindung an DNA nachweisen (Wagner et al. 1993). Vier bis fünf Tage nach Applikation von MCT lässt sich eine signifikante Zellschwellung der Endothelzellen in vivo nachweisen. Man unterscheidet eine frühe exsudative Phase und eine folgende proliferative Phase. Initial wird ein Ödem um die perialveolären Kapillaren mit einem erhöhten Gehalt an hochmolekularen Proteinen beobachtet (Sugita et al. 1983). In den Alveolen kommt es zu einer typischen Megalozytose der Typ II-Pneumozyten (Wilson und Segall 1990). Auch andere

Makrophagen in den Alveolen weisen diese Megalozytose auf (Sugita et al 1983). In den größeren, peribronchialen Arterien wird ebenfalls ein Ödem der Adventitia mit Akkumulation von mononukleären Entzündungszellen beobachtet. Als typische Veränderung wird die Ausbildung einer glattmuskulären Zellschicht in den vorher nicht-muskularisierten Arteriolen (50-70 µm Durchmesser) (Wilson et al. 1989) beschrieben. Man beobachtet durch die dauerhafte Dysfunktion der Endothelzellen nach dem initialen toxischen Effekt einen verzögerten und progressiven Verlauf der Veränderungen in den arteriellen Lungengefäßen. Im weiteren Verlauf wird eine zunehmende Hypertrophie der Lamina media vor allem der präkapillären Arteriolen beobachtet. Hervorgerufen wird dies durch eine Hypertrophie und Hyperplasie der glatten Muskelzellen und einer Zunahme an extrazellulären Matrix-Glycoproteinen. Spätere, postexsudative Veränderungen in der Adventitia sind hauptsächlich die Zunahme an Kollagen, Infiltration von Leukozyten und Fibrinablagerungen (Reindel et al. 1990). Als Folge dieser gesamten Veränderungen kommt es zu einem Anstieg des Pulmonalarteriendrucks und dadurch zur Ausbildung einer Rechtsherzhypertrophie.

Appliziert man Ratten höhere Dosen von MCT so ist der hepatotoxische Effekt führend. Es kommt zu einer periazinären Nekrose von Hepatozyten und zu einem toxischen Leberversagen. Interessanterweise beobachtet man nach Verabreichen geringerer Dosen MCT diesen hepatotoxischen Effekt bei Ratten nicht. Erklärbar ist dies durch die Metabolisierung und Kinetik der aktiven Metabolite. Über eine Bindung an Erythrozyten erfolgt eine Stabilisierung des instabilen MCTP (in vitro HWZ im Serum: 5 Sekunden, Bruner et al. 1986). So gelangt MCTP in die Lunge, wo es als elektrophiles Molekül über eine kovalente Bindung seine Wirkung erzielt (Pan et al. 1991).

Die Vorteile des Monocrotalin-Modelles liegen in der einfachen Handhabung und den niedrigen Kosten. Nicht zuletzt weisen die gefundenen histologischen Veränderungen einen hohen Grad an Gemeinsamkeiten zu Patienten mit pulmonalarterieller Hypertonie auf. Daher eignet sich dieses Modell, um pathologische Veränderungen beim Menschen im Tiermodell zu simulieren.

### **1.5. Fragestellung**

Die vorliegende Arbeit sollte untersuchen, welche Veränderungen auf der Ebene der  $\alpha$ -AR in Kardiomyozyten unter dem anatomischen/morphologischen Bild der Rechtsherzhypertrophie stattfinden.

Unter Verwendung des Monocrotalin-Modelles, welches zur Induktion einer Rechtsherzhypertrophie bei den Versuchstieren verwendet wurde, untersuchten wir inwieweit sich  $\alpha$ -AR in Anzahl und Funktion bei gesunden und mit MCT behandelten Tieren unterscheiden. Es galt herauszufinden, ob kammer-spezifische Veränderungen auf Rezeptorebene in den Kardiomyozyten des linken und rechten, hypertrophierten Ventrikels von MCT-Rattenherzen stattfinden. Besonders die Proteinsynthese als morphologischer Ausdruck der Hypertrophie wurde diesbezüglich untersucht und mit gesunden Kontrolltieren verglichen.