

### 4. Diskussion

Untersuchungen der letzten zwanzig Jahre haben gezeigt, dass es bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zu charakteristischen Veränderungen der autonomen Rezeptorsysteme kommt. Bristow et al. (1982) waren die ersten, die zeigen konnten, dass Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz eine signifikant erniedrigte Anzahl an myokardialen  $\beta$ -AR aufwiesen. Dieser Befund wurde in den darauf folgenden Jahren durch zahlreiche Arbeitsgruppen bestätigt und erweitert. So ist heute allgemein anerkannt, dass bei Patienten mit dilatativer und ischämischer Kardiomyopathie die kardiale  $\beta$ -1-AR-Dichte erniedrigt, die kardiale  $\beta$ -2-AR-Dichte zwar unverändert ist, aber diese Rezeptoren vom Effektor-System (Adenylatylase) entkoppelt sind. Darüber hinaus kommt es zu einer Erhöhung des inhibitorischen G-Proteins  $G_i$ . Diese Veränderungen führen dazu, dass im insuffizienten menschlichen Herzen alle Rezeptorsysteme, die ihre positiv inotropen Effekte durch cAMP-Erhöhung vermitteln ( $\beta$ -AR eingeschlossen), abgeschwächt sind (Übersichten siehe Bristow, 1993; Brodde et al., 1995; Kaumann u. Molenaar, 1997; Brodde u. Michel, 1999). Bei biventrikulärer Herzinsuffizienz wurden solche  $\beta$ -AR-Veränderungen für den rechten und linken Ventrikel gefunden. Auf der anderen Seite konnten Bristow et al. (1992) zeigen, dass es bei Patienten mit primärer pulmonaler Hypertonie und Rechtsherzversagen kammer-spezifisch nur zu Veränderungen von  $\beta$ -AR im rechten Ventrikel kommt, während im linken Ventrikel dieser Patienten das  $\beta$ -AR-System nahezu normal war.

Das Monocrotalin (MCT)-Ratten-Modell ist ein etabliertes tierexperimentelles Modell für Rechtsherzversagen auf Grund einer pulmonalen Hypertonie (Doggrell u. Brown, 1998; Hasenfuss, 1998). So führt eine einmalige Injektion des Pyrrolizidin-Alkaloides MCT, das in der Leber zu Dehydromonocrotalin metabolisiert wird, durch massive Zerstörung pulmonaler Endothelzellen ca. 14 Tage nach der Applikation zu einem „Remodelling“ der pulmonalen Gefäße und damit zu einer Erhöhung des Gefäßwiderstandes, die in einer rechtsventrikulären Hypertrophie endet (Ghodsi und Will, 1981; Meyrick et al., 1981).

Vier- bis sechs Wochen nach Applikation von MCT manifestiert sich die Symptomatik der Rechtsherzhypertrophie mit oder ohne Anzeichen einer

Rechtsherzinsuffizienz. Diese kardialen Veränderungen scheinen in erster Linie ihre Ursache im persistent hohen pulmonal-arteriellen Druck zu haben (Schultze und Roth, 1998). Somit scheint das MCT-Modell ein Modell für die primäre pulmonale Hypertonie des Menschen zu sein.

Veränderungen kardialer  $\beta$ -AR-Systeme sind im MCT-Modell der Ratte gut untersucht. Generell wurde gefunden, dass es bei diesen Ratten zu einer Abnahme der  $\beta$ -AR-Dichte kommt, wobei dieser Effekt im rechten Ventrikel mehr als im linken Ventrikel ausgeprägt ist (Ishikawa et al., 1991; Yoshi et al., 1994; Brown et al., 1998; Seyfarth et al., 2000). Interessanterweise waren die Ergebnisse etwas unterschiedlich, wenn das  $\beta$ -AR-System nicht in ventrikulären Membranen, sondern in isolierten rechts- und linksventrikulären Kardiomyozyten untersucht wurde. Dann kam es nämlich bei MCT-Ratten zu einer kammerspezifischen Abnahme der  $\beta$ -AR in Kardiomyozyten aus dem rechten Ventrikel, nicht aber – oder nur sehr geringfügig – in Kardiomyozyten aus dem linken Ventrikel (Leineweber et al., 2003). Ähnliche Befunde wurden auch für die durch  $\beta$ -AR-Stimulation hervorgerufenen positiv inotropen Effekte beschrieben. Diese waren in rechtsventrikulären Kardiomyozyten von MCT-Ratten signifikant erniedrigt, nicht aber in linksventrikulären Kardiomyozyten dieser Ratten (Vescovo et al., 1989).

Im Gegensatz zum  $\beta$ -AR-System ist nur relativ wenig bekannt über Veränderungen kardialer  $\alpha$ -1-AR bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz.  $\alpha$ -1-AR-Stimulation führt im menschlichen Herzen über ein G-Protein (vermutlich  $G_{q/11}$ ) zu einer Aktivierung einer Phospholipase C, welche die second messenger Diacylglycerol (DAG) und Inositol Triphosphat ( $IP_3$ ) generiert (Michel et al., 1995). Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz scheint die Anzahl der ventrikulären  $\alpha$ -1-AR eher erhöht zu sein (Übersicht s. Brodde und Michel, 1999), während der immunologisch nachweisbare Gehalt an  $G_{q/11}$  unverändert ist (Pönicke et al., 1997), wie auch die durch  $\alpha$ -1-AR-Stimulation hervorgerufene IP-Bildung unverändert zu sein scheint (Bristow et al., 1988).

In der vorliegenden Arbeit wurde in Kardiomyozyten aus dem rechten und linken Ventrikel von MCT-behandelten Ratten untersucht, wie sich  $\alpha$ -1-AR bei diesem tierexperimentellen Modell der pulmonalen Hypertonie verhalten. Wir fanden – im Gegensatz zu den Befunden am menschlichen Herzen (wobei allerdings angemerkt werden

sollte, dass es keine  $\alpha$ -AR-Daten für Patienten mit pulmonaler Hypertonie gibt) – dass in den MCT-behandelten Ratten kammerspezifisch die  $\alpha$ -1-AR-Dichte in den Kardiomyozyten aus dem rechten Ventrikel erniedrigt waren, während die des linken Ventrikels nahezu unverändert waren. Dies ging einher mit einer signifikanten Erniedrigung der durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation hervorgerufenen IP-Bildung in rechtsventrikulären Kardiomyozyten, während in linksventrikulären Kardiomyozyten die  $\alpha$ -1-AR-vermittelte IP-Bildung nicht signifikant unterschiedlich zwischen MCT-behandelten- und Kontroll-Ratten war.

Es ist nicht bekannt, warum es zu diesen Unterschieden in  $\alpha$ -1-AR Veränderungen im kranken Menschen- vs. Rattenherzen kommt. Eine Erklärungsmöglichkeit wäre, dass die im MCT-Modell der Ratte beobachteten Veränderungen spezifisch für die pulmonale Hypertonie sind (und damit mit den Veränderungen beim Menschen, die bei biventrikulärer Insuffizienz beobachtet wurden, nicht vergleichbar sind).

$\alpha$ - und  $\beta$ -AR im Rattenherzen unterscheiden sich sehr von denen im Menschenherzen: das Rattenherz hat ca. 8 mal mehr  $\alpha$ -AR als der Mensch, und nur ca. 25 % der  $\beta$ -AR des menschlichen Herzens (Übersicht s. Brodde und Michel, 1999). Im menschlichen Herzen scheint der  $\alpha$ -1A Subtyp zu überwiegen (Brodde und Michel, 1999), während im Rattenherzen der  $\alpha$ -1B Subtyp überwiegt. Dieser Subtyp ist besonders anfällig gegenüber Agonist-induzierter Down Regulation (Yang et al., 1999). Dementsprechend wäre denkbar, dass in unserem MCT-Modell, bei dem die Plasmanoradrenalin Spiegel erhöht waren (s. Abb.2, was auf eine erhöhte Sympathikus-Aktivität schließen lässt, Goldstein, 1988), diese erhöhte Sympathikus-Aktivität zu einer gesteigerten Down-Regulation der rechtsventrikulären  $\alpha$ -1B-AR geführt hat. Eine solche Down-Regulation der  $\alpha$ -1B AR wäre auch im Einklang mit der Tatsache, dass in den Kardiomyozyten des rechten Ventrikels die durch Noradrenalin-hervorgerufene IP-Bildung erniedrigt war. Pönicke et al. (2001) hatten zeigen können, dass in ventrikulären Kardiomyozyten der adulten Ratte die durch Noradrenalin-hervorgerufene IP-Bildung zum größten Teil über Stimulation von  $\alpha$ -1B-AR vermittelt wird.

Die funktionelle Rolle von  $\alpha$ -1-AR im Herzen ist nicht ganz geklärt.  $\alpha$ -1-AR-Stimulation kann zu positiv inotropen Effekten führen (Übersicht siehe Terzic et al., 1993). Darüber hinaus kann  $\alpha$ -1-AR-Stimulation in ventrikulären Kardiomyozyten der Ratte zu

einer gesteigerten Proteinsynthese führen (Übersicht s. Sudgen u. Clerk, 1998; Schlüter u. Piper, 1999).

Unsere Arbeitsgruppe hat kürzlich zeigen können, dass - in Kardiomyozyten adulter Ratten – der körpereigene Transmitter Noradrenalin zu einer Steigerung der Proteinsynthese (gemessen als Inkorporation von [<sup>3</sup>H]-Phenylalanin in die Kardiomyozyten) über  $\alpha$ -1-AR führt, da dieser Effekt durch den  $\alpha$ -1-AR Antagonisten Prazosin gehemmt werden kann (Schäfer et al., 2001; Pönicke et al., 2001).

Weitergehende Untersuchungen haben gezeigt, dass dieser Proteinsynthese-steigernde Effekt von Noradrenalin über Stimulation des  $\alpha$ -1A-AR Subtyps vermittelt wird. Nachgeschaltete Prozesse sind die Aktivierung einer Protein Kinase C, der PI-3-Kinase und p70<sup>S6</sup>-Kinase (Pönicke et al., 2001).

Die durch Noradrenalin hervorgerufene Zunahme der Proteinsynthese konnte durch  $\beta$ -AR Antagonisten wie Propanolol, CGP 20712 A (Schäfer et al., 2001), Bisoprolol, Carvedilol und Bucindolol (Pönicke et al., 2002) gesteigert werden, und durch  $\beta$ -AR Agonisten wie Isoprenalin oder Dobutamin verringert werden (Schäfer et al., 2001; Brodde et al., 2001). Diese Befunde lassen den Schluss zu, dass – in Kardiomyozyten der Ratte – Noradrenalin einen dualen Effekt auf die Proteinsynthese ausübt. Es steigert die Proteinsynthese via  $\alpha$ -1-AR-Stimulation und hemmt sie gleichzeitig via  $\beta$ -1-AR-Stimulation.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen diese Befunde. Sie zeigen, dass Noradrenalin sowohl in Kardiomyozyten aus dem rechten als auch aus dem linken Ventrikel die Proteinsynthese (hier gemessen als [<sup>3</sup>H]-Phenylalanin-Inkorporation) steigert. In beiden Präparaten konnte der Noradrenalin-Effekt durch Prazosin gehemmt werden und durch den hochselektiven  $\beta$ -1-AR Antagonisten CGP 20712 A gesteigert werden.

Die Effekte von Noradrenalin, in Gegenwart und Abwesenheit von CGP 20712 A, waren in Kardiomyozyten des linken Ventrikels signifikant stärker als in Kardiomyozyten des rechten Ventrikels.

In den MCT-behandelten Ratten waren die Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die durch Noradrenalin hervorgerufene Proteinsynthese sowohl in Kardiomyozyten des rechten Ventrikels als auch in Kardiomyozyten des linken Ventrikels leicht nach rechts in den Bereich höherer Konzentrationen verschoben.

Auch die maximale [<sup>3</sup>H]-Phenylalanin-Inkorporation war leicht, aber nicht signifikant gegenüber den nicht-MCT-behandelten Ratten erniedrigt. Interessanterweise war jedoch in den Kardiomyozyten MCT-behandelter Ratten in Gegenwart von CGP 20712 A sowohl im rechten wie im linken Ventrikel das Ausmaß der durch Noradrenalin-induzierten Proteinsynthese nicht mehr von dem in Kontroll-Ratten unterschiedlich.

In Gegenwart von CGP 20712 A ist die Noradrenalin-Wirkung eine (überwiegend) reine  $\alpha$ -1-AR stimulierende Wirkung. Somit zeigen diese Ergebnisse, dass in Kardiomyozyten von MCT-Ratten die über  $\alpha$ -1-AR Stimulation hervorgerufene Proteinsynthese nur unwesentlich beeinträchtigt ist, obwohl in den Kardiomyozyten aus dem rechten Ventrikel von MCT-Ratten die  $\alpha$ -1-AR-Dichte signifikant erniedrigt ist. Die Ursache für diese Diskrepanz zwischen  $\alpha$ -1-AR-Dichte und  $\alpha$ -1-AR-vermittelter Proteinsynthese ist nicht bekannt. Es sollte aber darauf hingewiesen werden, dass im Rattenherzen  $\alpha$ -1B-AR überwiegen und  $\alpha$ -1A-AR nur eine Minderheit darstellen (s. oben).

Wie oben erwähnt, vermitteln  $\alpha$ -1B-AR die Inositol-Phosphat-Bildung (Pönicke et al., 2001) und sind besonders anfällig gegenüber Agonist-induzierter Down-Regulation (Yang et al., 1999), während  $\alpha$ -1A-AR die Proteinsynthese vermitteln (Pönicke et al., 2001). Es wäre also denkbar, dass in den MCT-Ratten auf Grund der erhöhten Aktivität des sympathischen Nervensystems (s. oben) die rechtsventrikulären  $\alpha$ -1B-AR down-reguliert sind (was zu einer Abnahme der  $\alpha$ -1-AR-Dichte und der durch Noradrenalin-hervorgerufenen IP-Bildung führt), während die myokardialen  $\alpha$ -1A-AR unverändert sind und somit auch eine nahezu unveränderte Proteinsynthese vermitteln können.

Allerdings lässt sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht schließen, in wie weit diese Rezeptor-Veränderungen zur Ausbildung der rechtsventrikulären Hypertrophie bei den MCT-behandelten Ratten beitragen.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass es bei Monocrotalin-behandelten Ratten mit einer Rechtsherzhypertrophie zu einer kammerspezifischen Abnahme der  $\alpha$ -1-AR-Dichte in rechtsventrikulären Kardiomyozyten kommt, während sich die  $\alpha$ -1-AR-Dichte in linksventrikulären Kardiomyozyten nicht von der in unbehandelten Kontrolltieren unterscheidet. Auch die durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation hervorgerufene Zunahme der IP-Bildung war in rechtsventrikulären Kardiomyozyten

MCT-behandelter Ratten signifikant stärker reduziert, als in linksventrikulären Kardiomyozyten.

Im Gegensatz zur  $\alpha$ -1-AR-Dichte und der durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation hervorgerufenen Zunahme der IP-Bildung war die durch Noradrenalin hervorgerufene Zunahme der Proteinsynthese in den Kardiomyozyten (vermittelt durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation und gehemmt durch  $\beta$ -1-AR Stimulation) MCT-behandelter Ratten nicht kammerspezifisch sowohl in rechts- als auch in linksventrikulären Zellen leicht, aber nicht signifikant, erniedrigt. Blockade der  $\beta$ -1-AR durch CGP 20712 A führte in rechts- wie linksventrikulären Kardiomyozyten zu einer Steigerung der Noradrenalin-induzierten Proteinsynthese. Interessanterweise waren in Gegenwart von CGP 20712 A die Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die durch Noradrenalin hervorgerufene Zunahme der Proteinsynthese in rechts- und linksventrikulären Kardiomyozyten MCT-behandelter Ratten von denen in Kontroll-Ratten nicht mehr unterschiedlich.

Diese Befunde lassen den Schluss zu, dass in MCT-behandelten Ratten das kardiale  $\alpha$ -1-AR-System kammerspezifisch im rechten Ventrikel erniedrigt ist. Die Tatsache, dass dies zwar auch für die durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation IP-Bildung, nicht aber für die durch  $\alpha$ -1-AR Stimulation hervorgerufene Zunahme der Proteinsynthese gilt, deutet daraufhin, dass verschiedene  $\alpha$ -1-AR Subtypen an diesen Prozessen beteiligt sein könnten.