

1 Einleitung

In den Industrienationen sind Herz-Kreislauf-Erkrankungen die häufigste Todesursache im Erwachsenenalter (Waters, 2001; McGregor, 2006). Es sind vor allem die koronaren Herzkrankheiten, die durch einen vollständigen oder partiellen Verschluss eines oder mehrerer Herzkranzgefäße eine Mangel durchblutung des Herzmuskels verursachen. Als akute Komplikation spielt hier der Myokardinfarkt (MI) eine wichtige Rolle. Im Jahre 2003 ging in Deutschland jeder fünfte Todesfall auf eine koronare Herzkrankheit zurück (Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamtes, 2003), wobei über alle Altersgruppen hinweg mehr Männer als Frauen daran starben. Auffallend ist, dass es vor allem im jüngeren Alter eine deutlich höhere MI-Inzidenz und Sterblichkeitsrate bei den Männern gibt, während diese Unterschiede im höheren Alter zunehmend wegfallen (Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Robert-Koch-Institut und Statistisches Bundesamt, Heft 33). Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Hypercholesterolämie und Bluthochdruck scheinen bei den Frauen einen größeren Einfluss auf die Entstehung eines Herzinfarktes zu haben als bei Männern (Gerber, 2006).

Eine repräsentative Datenerhebung (MONICA/KORA-Herzinfarktregister Augsburg 2003-2005) ergab, dass die Herzinfarktinzidenz bei den Männern im Alter von 30-34 Jahren 12,6-mal höher lag als bei den gleichaltrigen Frauen. Im Alter von 35-39 Jahren erlitten noch 7,1-mal mehr Männer als Frauen einen Infarkt und im Alter von 60-64 Jahren immerhin noch 3,9-mal mehr.

Eine mögliche Erklärung für diese Geschlechterunterschiede (GU) ist der höhere Testosteron- bzw. niedrigere Östrogenspiegel bei Frauen nach den Wechseljahren. Ala-Fossi et al. beschrieben, dass die Ovarien postmenopausaler Frauen eine gesteigerte Testosteronsekretion aufwiesen, während die Östrogenproduktion bekanntlich verringert wird (Ala-Fossi, 1998). Es scheint, dass Östrogen in hohem Maße antiarteriosklerotisch wirkt und auf diesem Wege den Erkrankungen der Blutgefäße, die letztlich zum Verschluss und zum Infarkt führen, vorbeugt (Karim, 2007). Bei jungen Frauen mit normalen Serumöstrogen-Spiegeln konnte eine erhöhte Inzidenz von Arteriosklerose und koronaren Herzerkrankungen mit einem hohen Plasma-Testosteron und niedrigen Spiegeln des geschlechtshormonbindenden Globulins in Verbindung gebracht werden (Mohamad, 2006).

Generell ist festzustellen, dass diese auffälligen GU erst in den vergangenen Jahren sowohl in der Forschung als auch in der Therapie zunehmend Beachtung gefunden haben. Es gibt hier weiterhin dringenden Handlungsbedarf, um bestimmte Faktoren und Mechanismen besser zu verstehen und im Sinne des Patienten nutzen zu können. Im Fokus des allgemeinen Interesses stehen vorrangig jene Faktoren, die für das geringere Herzinfarktrisiko der Frauen bis ins höhere Alter verantwortlich sind. Es ist bekannt, dass körperliche Ausdauerbelastung sowohl bei Männern als auch bei Frauen eine Schutzfunktion bezüglich der Entstehung und Progression von kardiovaskulären Erkrankungen einschließlich der koronaren Herzkrankheit und dem akuten MI einnimmt (Tanasescu, 2002; Cortes, 2006).

Hierbei lassen die Ergebnisse großer epidemiologischer Studien vermuten, dass Ausdauertraining bei Frauen einen wichtigeren protektiven Faktor gegen einen ersten MI darstellt als bei Männern (Yusuf, 2004). Diese Ergebnisse sind jedoch unscharf und lassen zudem keinerlei Rückschlüsse auf die zugrunde liegenden Faktoren zu.

Das Ziel dieser Arbeit war es, neue mögliche Grundlagen für Therapieansätze und Präventionsmaßnahmen zu erarbeiten. Diese Studie soll als Grundlage für Ansätze dienen, in denen die protektive Rolle eines moderaten Sportprogrammes auf die kardialen Umbauprozesse nach einem Herzinfarkt zwischen den beiden Geschlechtern verglichen wird. Studien, die das Remodeling nach einem Herzinfarkt bei trainierten, männlichen Ratten untersucht haben, beobachteten eine verringerte Infarktgröße, eine ausgeprägtere Vaskularisierung und eine geringere Abnahme der Faserverkürzung während der Kontraktion (Freimann, 2005). Ob sich durch Training Veränderungen der nachteiligen Umbauprozesse

auf Basis der extrazellulären Matrix (EZM) erzielen lassen, wurde weder im Tiermodell noch in der Klinik bisher ausreichend untersucht.

Die EZM spielt eine wichtige Rolle hinsichtlich der kardialen Funktion und Morphologie. Im gesunden Zustand verbindet sie Myozyten, Blut- und Lymphgefäße flexibel miteinander und ermöglicht den Stoffaustausch. Im pathologischen Zustand kann eine erhöhte Matrixdeposition das Gewebe steifer machen, während der verstärkte Abbau eine Dilatation und sogar eine Herzruptur verursachen kann (Covell, 1990; Fang, 2007). GU diesbezüglich scheinen zumindest im Tiermodell für eine höhere Mortalität der Männchen mitverantwortlich zu sein. Es wird angenommen, dass eine ausgeprägtere Entzündungsantwort im Infarkt- und Infarkttrandbereich, verbunden mit einer umfangreicheren Kollagendegradation, die höhere Herzruptur-Rate der Männchen in den ersten Tagen verursacht (Cavasin, 2004; Fang, 2007). Hinsichtlich des Funktionsverlustes nach der Infarktinduktion spielt die Kollagenablagerung im nicht-infarzierten Myokard eine potentielle Rolle. Sie erhöht die Gewebesteifheit, stört den Stoffaustausch und kann Arrhythmien verursachen (Merx, 1977; Lamparter, 2000).

Die extrazelluläre Matrix

Die EZM ist ein Sammelbegriff für alle Matrixkomponenten, die sich im extrazellulären Raum aller Grundgewebstypen finden lassen. Sie besteht aus Fasern und Grundsubstanz. Zu ersterem zählen die Kollagenfibrillen und die elastischen Fasern, die v.a. von Fibroblasten sezerniert werden und dem Gewebe Stabilität und Elastizität verleihen. Die Grundsubstanz besteht aus Glykosaminoglykanen, Proteoglykanen und Glykoproteinen (Adhäsionsproteinen), die von den Fibroblasten produziert werden, und der Gewebsflüssigkeit, deren Bestandteile (Wasser, Aminosäuren, Ionen, Vitamine, Hormone, Glukose und andere) hauptsächlich aus dem Blutplasma stammen.

Alle Zellen, außer Erythrozyten, treten aktiv in Beziehung zur umgebenden EZM. Die Zell-Matrix-Verbindungen dienen der mechanischen Verankerung der Zellen. Sie haben darüber hinaus Einfluss auf zahlreiche Zellfunktionen wie Ernährung, Abwehr und Reparatur. Die Stützfunktion wird hauptsächlich von den Fasern des Kollagennetzwerkes übernommen. Auch die Basalmembran ist eine Matrixstruktur mit wichtiger stützender Funktion, die zudem als Filtrationsbarriere und für die Ernährung und Reparatur von großer Bedeutung ist.

Kollagen-Netzwerk des Myokards

Das fibrilläre Kollagennetzwerk kann in drei Untereinheiten aufgeteilt werden: das Epimysium, das Perimysium und das Endomysium. Die Fasern gehen kontinuierlich in die Chordae tendinae und die Klappenblätter über (Robinson, 1988).

Das Epimysium befindet sich entlang der epi- und endokardialen Myokard-Oberflächen. Aus ihm entspringen die perimysialen Kollagenfasern, die sich zu einem Netz verweben, um Muskelfasern zu Bündeln zusammenzufassen und diese mit benachbarten Bündeln flexibel zu verbinden. Das Endomysium wiederum geht aus dem Perimysium hervor und umgibt die einzelnen Kardiomyozyten. Es verbindet sie miteinander und mit den benachbarten Kapillaren (Weber, 1987).

Die vorherrschenden Kollagenvarianten sind sowohl im gesunden als auch im kranken Myokard Typ I und III (Medugorac, 1980; Weber, 1988; Chapman, 1990).

Kollagen Typ I und III bilden Fasern mit typischer Tripelhelixstruktur, deren dichte Wicklung ausschlaggebend für die hohe Zugfestigkeit von Kollagenfasern ist.

Kollagen Typ I erzeugt typische dicke, dicht gepackte Bündel und findet sich vor allem in Haut, Faserknorpel, Fasziern und Sehnen. Es ist im gesamten Körper wie auch im Myokard, die vorherrschende Kollagen-Art und hauptsächlich für die mechanische Gewebebelastbarkeit verantwortlich. Kollagen Typ III bildet ein lockeres Netzwerk aus dünnen Fasern und kommt unter anderem in glatter Muskulatur, Arterien, Leber und Lunge vor. Es besitzt deutlich weniger mechanische Stabilität und bestimmt die Gewebeelastizität (Lamparter,

2000). Zusätzlich zu den Typ I und III Kollagenen sind kleine Mengen Kollagen V an der Zellmembran und der Basalmembran der Gefäße verankert (Maisch, 1995).

Die Funktionen des Kollagen-Netzwerkes sind vielseitig. In erster Linie dient es der stabilen Anordnung von Myozyten, Blut- und Lymphgefäßen und deren Verbindung untereinander. Es ist die Voraussetzung für die Erhaltung der Gewebearchitektur und der Funktionsfähigkeit des Myokards. Weiterhin determiniert es die Dehnbarkeit und Steifheit des Myokards. Es ermöglicht während der Systole die Kraftübertragung von den einzelnen Myozyten auf die gesamte Herzkammer und verhindert während der Diastole die Überdehnung der Zellen und das „Ausleihen“ der Muskelfasern durch Überdehnung der Sarkomerstrukturen. Im physiologischen Zustand verhindert diese Gewebefestigkeit eine Dilatation und eine Ruptur der Herzwände (Weber, 1994; Cleutjens 2002).

Das Kollagen-Netzwerk unterliegt einem dynamischen Gleichgewicht zwischen der Synthese durch Fibroblasten und Myofibroblasten und der Degradation mittels sog. Matrix Metalloproteinasen (Sternlicht, 2001). Dieses Gleichgewicht erhält die Funktionsfähigkeit und Gewebestruktur des Myokards. Kommt es zu einer Verschiebung dieses Gleichgewichtes, also einer unverhältnismäßigen Akkumulation von Kollagen bzw. zu einer verstärkten Kollagenolyse, ist das Herz schnell in seiner Funktionsfähigkeit eingeschränkt (Weber, 1993; Weber 1996). Eine unproportionale Abnahme des Kollagenanteils im Herzgewebe führt zu einer Überdehnung, einer Dilatation mit Reduktion der Wanddicken und sogar Rupturgefahr (Ducharme, 2000; Hayashidani, 2003; Deschamps, 2005). Eine Akkumulation von Kollagen, in Form einer reaktiven oder reparativen Fibrose, erhöht hingegen die Gewebesteifheit und verhindert letztlich die Dehnung des Myokards in der Diastole (Weber, 1993; Cleutjens, 2002). Während die natürliche Verschiebung der Myozyten gegeneinander immer schwieriger wird (Covell, 1990; Cavin, 2004), sind auch die Diffusion von Sauerstoff und die Erregungsleitung im Zuge der Systole gestört (Weber, 1992; Blangy, 2007).

Matrixmetalloproteinasen

Wie das Kollagen-Netzwerk, unterliegt auch die gesamte EZM einem ständigen Umbau (Laurent, 1987; Kukacka, 2005). Zuständig für den Abbau sind v.a. die 1962 erstmalig von Gross und Lapiere beschriebenen Matrixmetalloproteinasen (MMP). Die MMP bilden eine Familie zinkabhängiger Endoproteasen, die strukturelle Domänen teilen, sich aber in ihrer Substratspezifität und ihrer Induzierbarkeit unterscheiden (Gross, 1962). Derzeit sind mindestens 25 verschiedene MMP-Typen identifiziert worden, die nicht nur die Kollagene abbauen können, sondern zudem die Fähigkeit besitzen, Zelloberflächenmoleküle und andere Nichtmatrixproteine zu spalten (Gunasinghe, 2001). Die MMP lassen sich in fünf Gruppen unterteilen (Sternlicht, 2001).

Hierzu gehören:

1. die Kollagenasen
2. die Gelatinasen
3. die Stromelysine
4. die Membran-gebundenen MMP
5. die anderen MMP.

Zur Gruppe der Kollagenasen gehören MMP-1 (interstitielle Kollagenase), MMP-8 (neutrophile Kollagenase), MMP-13 (Kollagenase 3) und MMP-18. Sie alle besitzen die Fähigkeit, die fibrillären Kollagene (Typ I, II, III) zu spalten, die aufgrund ihrer engen und stark quervernetzten Helix-Struktur extrem resistent gegen die Spaltung durch die meisten Proteasen sind (Lampartner, 2000). Die nach dem Zerschneiden der Helixstruktur entstehende Gelatine wird durch die Gelatinasen der 2. Gruppe weiter abgebaut, wobei vermutet wird, dass sie zusätzlich die Fähigkeit besitzen, eigenständig die Spaltung fibrillären Kollagens zu initiieren und fortzuführen (Aimes, 1995; Okada, 1995). Zu dieser Gruppe zählen MMP-2 (Gelatinase A) und MMP-9 (Gelatinase B). Gruppe 3 enthält die Stromelysine (MMP-3, MMP-10, MMP-

11) die sehr unterschiedliche EZM-Komponenten, unter anderem Proteoglykane, Laminin und Fibronectin abbauen können. Die Vertreter der 4. Gruppe sind die Membran-gebundenen MMP (MT-MMP), die sowohl unterschiedliche EZM-Komponenten degradieren, als auch andere MMP aktivieren können. Gruppe 5 ist noch wenig erforscht (Creemers, 2001).

Alle im Myokard vorhandenen Zellen sind in der Lage, ein oder mehrere MMP herzustellen. Im Zuge des ständigen EZM-Umbaus sind es die Myozyten, Fibroblasten und Endothelzellen und als Antwort auf einen entzündlichen Reiz besonders die neutrophilen Granulozyten und die Makrophagen (Vanhoutte, 2006).

Alle MMP werden als inaktive Präproenzyme, so genannte Zymogene, synthetisiert (Nagase, 1999) und entweder an die Zellmembran gebunden oder extrazellulär ausgeschieden, wo sie an ihre Substrate gebunden für eine Aktivierung bereit vorliegen (Spinale, 2002). Diese Proenzyme werden unter anderem von kardialen Fibroblasten, Kardiomyozyten und Entzündungszellen synthetisiert, können aber ausschließlich von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen gespeichert und bei Bedarf abgegeben werden (Lamparter, 2000). MMP-9 wird z.B. von sich differenzierenden Granulozyten im Knochenmark gebildet, in den Granula zirkulierender neutrophiler Granulozyten gespeichert und nach Aktivierung durch Entzündungsmediatoren freigesetzt (Hasty, 1990). Der im Myokard stets vorliegende Proenzym-pool kann in kürzester Zeit aktiviert und mobilisiert werden (Cleutjens, 1995; Li, 2000). Die Aktivierung der MMP erfolgt über den sog. „Cystein-switch“-Mechanismus, bei dem durch Abspaltung von Zystein das zinkhaltige, aktive Zentrum des Enzyms demaskiert wird (Springmann, 1990). Dieser Vorgang kann auf drei unterschiedlichen Wegen stattfinden. Hierzu zählen die schrittweise Aktivierung, die Aktivierung an der Zelloberfläche durch MT-MMP und die intrazelluläre Aktivierung (Nagase, 1997). Die Aktivierung an der Zelloberfläche wird als wesentliche Form während des perizellulären EZM-Abbaus im Zuge der Zellmigration gesehen (Pei, 1995; Sato, 1996).

Aktivierte MMP durchlaufen, wenn nicht anderweitig gehemmt, eine Autokatalyse, die sie letztlich zu inaktiven Proteinfragmenten umbaut (Murphy, 1997; Woessner, 2000). Wichtige Regulatoren der MMP-Aktivität sind die endogenen „Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases“ (TIMP) (Baker, 1998; Woessner, 2001).

Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases

Es wurden bis heute vier verschiedene TIMP-Typen identifiziert (TIMP-1 bis -4), die sowohl von Myozyten als auch anderen Zellen sezerniert werden (Li, 1998). Sie binden im Verhältnis 1:1 an aktive MMP und bilden mit diesen inaktive Komplexe. Die MMP-Hemmung geschieht, indem das aktive Zentrum durch ein TIMP-Molekül blockiert wird und damit keine Bindung zu anderen Matrixkomponenten mehr möglich ist (Vanhoutte, 2006). Nach Lamparter et al. hemmen alle TIMP alle MMP, nur mit einer jeweils unterschiedlichen Affinität (Lamparter, 2000). Einer anderen Studie nach zeigen sie eine gewisse Spezifität. So hemmt TIMP-1 zwar die meisten MMP, nicht aber MMP-2 und MT1-MMP. Bei TIMP-2 ist es MMP-9 welches nicht gebunden wird und TIMP-3 hemmt nur MMP-1, -2, -3, -9 und -13 (Creemers, 2001). TIMP-4, welches v.a. in adultem humanen Myokardium eine starke Expression zeigt und daher auch „Cardiac Inhibitor of Metalloproteinases“ genannt wird, hemmt die Aktivität von MMP-1, -3, -7 und -9 (Greene, 1996; Liu, 1997; Li, 1999). Die TIMP, insbesondere TIMP-1, sind in der Lage durch die Stimulation der Fibroblasten die Kollagenablagerung zu fördern (Visse, 2003; Lambert, 2004).

Umbauprozesse nach einem Myokardinfarkt

Die kardialen Adaptationen nach einem Herzinfarkt werden unter dem Begriff Remodeling zusammengefasst. Es handelt sich um einen Prozess zahlreicher, sich überlappender Ereignisse, in dem es zur Rekrutierung von Entzündungszellen, zur Degradation der vorliegenden Matrix, zum Aufbau einer neuen EZM und letztlich zur Formation einer reifen

Infarkt Narbe kommt. Im Zuge des Remodelings kommt es zu einer funktionellen Adaptation mit mehr oder weniger ausgeprägter Herzinsuffizienz.

Durch den Verschluss eines Koronargefäßes kommt es im Versorgungsgebiet zu einem Absterben der Kardiomyozyten. Mit dem Ziel, den Entzündungszellen die Migration in das Infarktgebiet zu ermöglichen, degradieren die im Myokard bereits vorhandenen und nun aktivierten MMP die vorliegende EZM (Cleutjens, 1999; Frangogiannis, 2002). Die bereits anwesenden Zellen sowie die eingewanderten Makrophagen und neutrophilen Granulozyten setzen weitere MMP, Zytokine und Wachstumsfaktoren frei, die eine proteolytische Kaskade in Gang setzen (Cleutjens, 1995; Li, 2000). Es wurde gezeigt, dass die Aktivierung der MMP, besonders von MMP-9, zeitlich eng mit der Akkumulation der Neutrophilen im Infarkt-Randgebiet korreliert (Lindsey, 2001; Tao, 2004). Dies bedeutet bei einer stärkeren Entzündungsantwort und einem Mehr an Neutrophilen und MMP, eine reduzierte Qualität und Quantität der EZM mit Zunahme der Infarktexpansion (Tao, 2004; Cavin, 2006). Die Folge ist eine rasche Dilatation mit steigendem LV-Volumen und zunehmender kardialer Dysfunktion. Die Ejektionsfraktion und das kardiale Output verringern sich nach einem MI i.d.R. signifikant (Cavin, 2003; Cavin, 2006). Das Ausmaß der Dilatation ist abhängig von der initialen Infarktgröße, dem Umfang der Entzündungsantwort und dem ventrikulären Wandstress. Patienten mit einer ausgeprägten Dilatation haben eine höhere Wahrscheinlichkeit, Komplikationen wie eine kongestive Herzinsuffizienz, ein Aneurysma und Ventrikelrupturen zu erleiden (Pfeffer, 1990). Die Ruptur ist bei der Maus eine häufige Todesursache, die sich stets innerhalb der ersten 2-5 Tage nach dem MI zuträgt (Tao, 2004). Die Herzruptur ist das Resultat der zunehmenden Infarktexpansion, bedingt durch kontinuierlichen Wandstress bei gleichzeitiger Verdünnung und Schwächung des Myokards (Cavin, 2006). Vieles deutet darauf hin, dass die Migration der Entzündungszellen in den Infarkt und Infarkt-randbereich, einhergehend mit einer massiven Sekretion von MMP, zu dieser frühen und tödlichen Komplikation führt (Lindsey, 2001; Cavin, 2004; Cavin, 2006). Nicht unerheblich für diese Entwicklung scheint das nicht mehr ausgeglichene Verhältnis zwischen der Degradation der EZM durch die MMP und deren Hemmung durch die TIMP (Creemers, 2001).

Im nicht-infarzierten Myokard kommt es durch die Druck- und Volumenbelastung zu einer kompensatorischen Hypertrophie der intakten Kardiomyozyten (Bishop, 1990; Brilla, 1994). Durch die infarktbedingte Dilatation steigt der Wandstress stark an. Es kommt zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), welches unter anderem eine Vasodilatation bewirkt (Weber, 1996; Cohn, 2006). Vorübergehend wird durch eine Senkung des peripheren Widerstandes die Nachlast des Herzens vermindert. Zusätzlich bedingt die RAAS-Aktivierung eine Fibroblasten-Proliferation mit der Folge einer reaktiven Fibrose, zu der auch die TIMP beitragen (Brilla, 2000; Lu, 2004). Die Fibroblastenaktivierung wird sowohl von sekundären hämodynamischen Veränderungen als auch von hormonellen und Wachstums-Faktoren, Zytokinen und anderen regulatorisch wirkenden Proteinen beeinflusst (Burlaw, 2000; Husse, 2007). So führen auch Infarktareale unter 15 % mit geringen funktionellen Einschränkungen zu einer Kollagenakkumulation (Tsuda, 2003). Die Fibrosierung bedingt während der Depolarisation durch die verringerte Diffusionsgeschwindigkeit der Erregung die Gefahr des Auftretens von Arrhythmien und stört Transportprozesse im Gewebe (Anversa, 1986; Li, 2007). Die Fibrosierung erhöht die Gewebesteifheit und reduziert die Dehnbarkeit des Myokards in der Diastole (diastolische Dysfunktion). Die Folge ist eine verringerte Vorlast, die sich negativ auf die kardiale Pumpfunktion auswirkt. Entsprechend dem Frank-Starling-Mechanismus steigt das Schlagvolumen des Herzens bis zu einem gewissen Punkt mit der Vordehnung.

Es wurde bereits häufig gezeigt, dass die beim Remodeling nach einem MI ablaufenden Prozesse im Tiermodell mit denen des Menschen gut übereinstimmen. 1999 haben Litwin et al. als erste eine Studie hinsichtlich der GU nach einem MI bei Ratten durchgeführt und sich v.a. mit den echokardiographischen Veränderungen beschäftigt (Litwin, 1999). Sie be-

schrieben bei den Männchen eine stärkere Zunahme der Hinterwanddicke und auffälligere Abnormalitäten der diastolischen Ventrikelfüllung. Im Gegensatz dazu waren Dilatation und systolische Dysfunktion bei beiden Geschlechtern ähnlich ausgeprägt. Es wird angenommen, dass die Wanddicken-Zunahme den Wandstress reduziert. Dies geschieht allerdings auf Kosten der diastolischen Funktion bzw. Dehnbarkeit des Ventrikels. Die Fibrosierung des Restmyokards als Mitverursacher der diastolischen Dysfunktion wurde in dieser Studie nicht bestimmt.

GU im Mausmodell sind derzeit noch unzureichend untersucht. Zwei Studien beschäftigten sich bisher mit den kardialen Veränderungen in der frühen Remodeling-Phase von Wildtyp-Mäusen (Cavasin, 2004; Fang, 2007). Mit Hilfe von Ultraschall untersuchten sie die GU der morphologischen und funktionellen Herzparameter. Weiterhin erforschten sie die Entzündungsantwort, die MMP-Aktivierung, die Kollagen Degradation bzw. -akkumulation und das Rupturrisiko. Bei den Männchen wurde nach einer Woche eine höhere Mortalität durch Ruptur bei einem tendenziell größeren Infarktausdehnungsindex und einer höheren MMP-2 Aktivität beobachtet. Weiterhin waren die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Infarkt-Randgebiet, die Dilatation und der Funktionsverlust stärker ausgeprägt. Bei den Weibchen sank der Blutdruck. Damit blieben die kardiale Nachlast (peripherer Widerstand) und die Herzfunktion besser erhalten. Die Anzahl der Makrophagen überstieg bei den weiblichen Tieren in der ersten Woche die der Männchen. Die Autoren diskutieren die These, dass besonders Qualität und Quantität der Entzündungsreaktion das Remodeling nach einem MI beeinflussen. So führen mehr Neutrophile bei den Männchen zu einer höheren MMP-Aktivierung, Kollagenolyse, Infarktausdehnung und einem ausgeprägteren Rupturrisiko. Mehr Makrophagen bei den Weibchen fördern hingegen Abbau des nekrotischen Materials und Narbenbildung, indem sie die Fibroblasten aktivieren (Cavasin, 2004). Fang et al. unterstützen die These, dass die frühe Remodelingphase bei Männchen einen fataleren Einfluss hat als bei den Weibchen (Fang, 2007). Sie beschrieben eine höhere Anzahl Entzündungszellen, eine stärkere MMP-9 Aktivität und einen ausgeprägteren Kollagenabbau der Männchen in diesem Zeitraum.

Zwei weitere Studien untersuchten den Einfluss der Geschlechtshormone auf das Remodeling nach einem MI mittels Kastration und/oder Hormonsupplementierung (Cavasin, 2003; Cavasin, 2006). Schwerpunkte lagen auch hier auf den Ultraschalluntersuchungen, der Entzündungszellinfiltration des Infarktgebietes und dem Kollagengehalt. Die Autoren stellen die These auf, dass Testosteron für die kardiale Adaptation schädlicher ist als Östrogen protektiv. So erhöht die Supplementierung von Testosteron bei den kastrierten und nicht-kastrierten Weibchen die Mortalität und Rupturrate in der frühen Phase nach einem MI dramatisch. Bei den Männchen führt die Gabe von Östrogen alleine nur zu einer moderaten Verbesserung der Prognose, während dieser positive Effekt durch eine Kastration noch einmal erheblich verstärkt wird. Weiterhin vergrößert die Testosteronzufuhr bei den Weibchen das Ausmaß der Dilatation, während sich die kardiale Pumpfunktion drastisch verschlechtert. Einhergehend mit einer Zunahme der Neutrophilen-Migration in den Infarkt-Randbereich erhöht sich die Rupturrate, wohingegen sich keine Veränderungen des interstitiellen Kollagengehaltes feststellen lassen. Östrogen hat bei den Männchen den entgegengesetzten Effekt. So verringern sich die Entzündungszellinfiltration, die Dilatation, der Blutdruck und der Funktionsverlust (Cavasin, 2003; Cavasin, 2006).

Die Infarktgrößen sind in allen Studien mit ca. 40 % des LV bei beiden Geschlechtern ähnlich (Cavasin, 2003; Cavasin, 2004; Gao, 2005; Cavasin, 2006; Fang, 2007).

Die Fibrosierung als Einflussfaktor auf den kardialen Funktionsverlust wurde bereits häufig diskutiert. Während im Infarktgebiet Zelltrümmer phagozytiert und Kollagene degradiert werden, kommt es im nicht-infarzierten Myokard zu einer zunehmenden Migration und Aktivierung von Fibroblasten. Die Folge ist eine Zunahme des interstitiellen Kollagengehaltes, mit dem Ziel dem Gewebe eine höhere Stabilität zu verleihen. So wurde im Mausmodell von Yang et al. gezeigt, dass die Anzahl der Fibroblasten ab dem vierten Tag nach einem MI signifikant erhöht war und weiterhin zunahm. Gleichzeitig stieg der interstitielle Kollagengehalt und erreichte einen Höchststand im vierten Monat nach dem MI

(Yang, 2002). Auch bei der Ratte war ab dem siebten Tag eine Zunahme des Kollagengehaltes im nicht-infarzierten Myokard sichtbar (Sun, 1999). In Einklang mit den histologisch sichtbaren Ergebnissen wurde sowohl beim Mensch als auch bei Ratte und Maus eine Zunahme der Genexpression von Prokollagen I, III und V nachgewiesen (Cleutjens, 1995; Sun, 1999; Tsuda, 2003). Hinsichtlich der GU liegen bis zum heutigen Zeitpunkt allerdings keine Forschungsergebnisse vor. Der per Hydroxyprolinesay bestimmte Kollagengehalt war bei beiden Geschlechtern ähnlich (Cavasin, 2004), der interstitielle Kollagengehalt bestimmt per histologischer Färbung war bei den Männchen tendenziell höher (Cavasin, 2003; Cavasin, 2004). Weder eine Kastration noch eine Hormonmanipulation schienen hierauf Einfluss nehmen zu können (Cavasin, 2003).

Hinsichtlich der Enzymaktivität der für den Matrixumbau verantwortlichen MMP und TIMP gibt es bereits zahlreiche Veröffentlichungen (Cleutjens, 1995; Peterson, 2000; Lu, 2004; Li, 2007), während das Wissen über die entsprechende Genexpression deutlich geringer ist. Die Genexpression von MMP-2 und -9 wurde im MI-Modell bei Mäusen noch nicht auf mögliche GU untersucht. Auch die Expression der TIMP ist bei der Maus bislang kaum erforscht, einzig von Fang et al. die aber einen anderen Zeitraum und einen anderen Mäuse-Stamm (129sv) als die vorliegende Studie verwendeten (Fang, 2007). Dieser Stamm fiel in einer anderen Studie durch eine deutlich höhere Rupturrate als der C57BL/6J-Stamm auf (Gao, 2005). So liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Remodelingprozesse in ihrem Ausmaß voneinander abweichen, was wiederum die Vergleichbarkeit deutlich einschränkt.

Es wird davon ausgegangen, dass v.a. das frühe Remodeling und hier das unterschiedliche Ausmaß der Entzündungsreaktion bei den Geschlechtern einen entscheidenden prognostischen Faktor darstellt. Für diese Entwicklung sind MMP-2 und MMP-9 von besonderer Bedeutung, da Knock-out-Studien (KO) bereits nachgewiesen haben, dass ihr Ausfall das Remodeling abschwächt und prognostisch ungünstige Faktoren reduziert. Ein MMP-9-KO ist durch eine geringere Leukozyten-Migration, Dilatation und einem fast vollständigen Ausbleiben von Ventrikelrupturen gekennzeichnet. Der Heilungsprozess wird hingegen verzögert (Heymans, 1999; Ducharme, 2000). Auch die MMP-2-KO Tiere zeigten eine höhere Überlebensrate und weniger Rupturen. Die Dilatation und die Degradation von Matrixbestandteilen wurden verringert, aber auch die Phagozytose nekrotischen Materials (Hayashidani, 2003; Matsumura, 2005).

Ein KO der TIMP hat hingegen einen entgegengesetzten Effekt. Bei TIMP-1 und -3 kommt es unabhängig von einem Infarkt zu einer spontanen linksventrikulären Dilatation mit den entsprechenden Funktionseinschränkungen und einer kardiomyozytären Hypertrophie (Roten, 2000; Fedak, 2004). Nach einem MI wird durch den Ausfall dieser hemmenden Instanz der Remodeling Prozess verstärkt und sowohl das LV-Volumen als auch das LV-Gewicht und der Myozytendurchmesser steigen stärker an als bei Wildtyp-Tieren (Creemers, 2003).

Bisherige Forschungsergebnisse beweisen den erheblichen Einfluss der MMP und TIMP, so dass es möglich erscheint über weitere Forschung in dieser Richtung Therapiewege zu finden, die das Remodeling auf positive Weise beeinflussen können. Es wurden bereits zahlreiche Studien hinsichtlich der MMP-Hemmung durch spezifische Inhibitoren durchgeführt, die viel versprechende Ergebnisse zeigten (Heymans, 1999; Mukherjee, 2003). Es wird so verhindert, dass die Entzündungszellen in den Infarktbereich gelangen und das nekrotische Material abbauen. Der Nekrosebereich ist vergrößert, und es bleibt eine deutlich dickere Narbe zurück, die sich nicht durch ihren hohen, stabilen Kollagengehalt, sondern v.a. durch die Anwesenheit von Zelltrümmern auszeichnet (Cleutjens, 2002). Zudem wird die Neovaskularisation gestört, so dass eine ischämiebedingte, verringerte Kontraktilität und Arrhythmie letztlich zu Herzversagen führen können (Heymans, 1999). Folglich muss es, damit der Heilungsprozess nicht gestört wird, zum Einsatz einer nicht zuletzt zeitlich gesehen, selektiveren Hemmung der MMP kommen.

Peterson et al. untersuchten den zeitlichen Ablauf der MMP- und TIMP-Expression innerhalb von 16 Wochen nach der Infarktinduktion bei der männlichen Ratte. Interessanterweise konnten sie zeigen, dass die mRNA-Expression und die Protein-Aktivität keineswegs immer miteinander übereinstimmten. So traten zum Teil Erhöhungen des MMP-Protein-Levels ohne erhöhte mRNA-Expression und erhöhte TIMP-mRNA Level ohne die gleichzeitige erhöhte Enzymaktivität auf (Peterson, 2000).

MMP-9 ist, wie bereits bei zahlreichen Spezies bestätigt, während der ersten Tage nach einem MI, wenn die Rupturrate am höchsten ist, der vorherrschende MMP-Typ im Infarktgebiet (Inokubo, 2001; Lindsey, 2001; Romanic, 2002). Die MMP-9 Protein-Aktivität war bereits innerhalb von 24 Stunden nach einem MI erhöht, während hauptsächlich infiltrierende Neutrophile und Makrophagen für die Freisetzung verantwortlich waren (Lindsey, 2002; Tao, 2004). Auch der Plasma-Spiegel war in dieser Zeit erhöht und wies Peaks um den ersten und vierten Tag auf (Squire, 2004).

MMP-2-mRNA und Protein-Level zeigten bei Ratten einen parallelen Verlauf während der ersten acht Wochen. Die Genexpression war bereits innerhalb der ersten 24 Stunden deutlich erhöht und zeigte seinen Höchststand am 14. Tag nach dem MI (Peterson, 2000). Bei Mäusen wurde ab dem vierten Tag eine rapide Zunahme der MMP-2 Aktivität, freigesetzt durch Makrophagen, Fibroblasten und Kardiomyozyten, mit einem Höchststand nach einer Woche, beschrieben. Der Protein-Spiegel blieb hiernach auch weiterhin erhöht (Lindsey, 2002; Kawakami, 2004).

GU wurden im Mausmodell sowohl für MMP-2, als auch MMP-9 festgestellt. Die Männchen wiesen eine tendenziell höhere Enzym-Aktivität auf, die aber nur im Fall von MMP-2 nach einer Woche Signifikanz erreichte. Sie ging mit einer stärkeren Leukozytenmigration, Dilatation und einem ausgeprägteren Funktionsverlust einher (Cavasin, 2004). Zusätzlich scheint es, dass MMP-2 und MMP-9 durch Veränderungen an der Basalmembran, die entscheidend für die Gefäßpermeabilität und LV-Hydratation verantwortlich ist, zum Remodeling beitragen. Die Folge ist eine Reduktion der molekularen Transportprozesse zwischen den Zellen und der Sauerstoffversorgung im Gewebe (Anversa, 1986; Borg, 1993).

TIMP-1 stimuliert das Wachstum von Fibroblasten in vitro (Vanhoutte, 2006). Ein KO ist mit einem beschleunigten Remodeling verbunden und kann durch eine pharmakologische MMP-Inhibition kompensiert werden (Ikonomidis, 2005). Der TIMP-1 mRNA-Level war im Mausmodell in der ersten Woche bei beiden Geschlechtern deutlich erhöht und am vierten Tag bei den Männchen signifikant höher als bei den Weibchen (Fang, 2007). Im Ratten-Modell zeigte die Genexpression von TIMP-1 einen Peak am ersten Tag und blieb auch anschließend oberhalb des Basis-Levels (Sun, 1999; Peterson, 2000). Der Protein-Level hingegen, war erst ab der zweiten Woche erhöht und bereits in der dritten Woche wieder auf das normale Niveau gesunken (Peterson, 2000; Kawahami, 2004). Sowohl für TIMP-1 als auch für TIMP-2 weist alles darauf hin, dass sie in der frühen Remodeling-Phase einen weniger starken Einfluss ausüben als in der späteren.

Der Genexpressions-Level von TIMP-3 und TIMP-4 ist sowohl beim Herzversagen des Menschen als auch im Tierversuch nach einem MI verringert (Fedak, 2004; Fang, 2007). Diese Entwicklung wies aber zumindest im Mausmodell keinerlei GU auf (Fang, 2007).

Unabhängig von der Genexpression reduzierte sich die Proteinaktivität von TIMP-4 in der ersten und achten Woche um über 50 % (Peterson, 2000; Camp, 2004).

Das Laufrad-Modell

Im Tierversuch und speziell im Mausmodell wurden die kardiale Adaptationen bei Trainingsmodellen und potentielle GU bisher größtenteils vernachlässigt. Um ein moderates Sportprogramm zu simulieren und Einsicht in die vorteilhaften Effekte von Sport zu bringen, wurde das Modell des freiwilligen Laufradtrainings (LRT) gewählt.

Alternativ in der Forschung angewandte Modelle, um Sport zu simulieren, sind die des Laufband- (Schaible, 1979; Jin, 2000) und die des Schwimmtrainings (Kaplan, 1994; Evangelista, 2003). Beim Laufbandtraining werden die Tiere auf einem Laufband entweder mit Strom- oder mit Luftstößen zum Rennen gezwungen, beim Schwimmtraining werden sie für einen definierten Zeitraum in ein Wasserbecken gesetzt und haben so auch keine Alternative zu konstanter körperlicher Aktivität. Während beide Modelle zu einer deutlichen makroskopisch sichtbaren Hypertrophie mit Anstieg des Herz- und linken Ventrikel (LV)-Gewichtes führen, sind sie mit sehr viel Stress für die Tiere verbunden. Dies macht das Training zu einem unangenehmen Stimulus, der wiederum durch eine erhöhte Adrenalin-ausschüttung schon eine Hypertrophie der Kardiomyozyten auslösen kann (Singh, 2001). Da das erzwungene Laufen bzw. Schwimmen fernab jeglichem physiologischen Bewegungsmuster der Maus liegt, kann die Stressantwort zusätzlich verschlimmert werden. Die Maus hat ihre Hauptaktivitätszeit in der Nacht und bewegt sich auf freiwilliger Basis bevorzugt in relativ kurzen Perioden, mit dafür umso höherer Geschwindigkeit (De Bono, 2006). Die Wahrscheinlichkeit ist groß, dass diese Stress-Faktoren den kardialen Anpassungsprozess beeinflussen und die von diesen Tieren gewonnenen physiologischen und molekularen Daten verfälschen. Weiterhin ist die Vergleichbarkeit sowohl zum LRT-Modell, als auch der normalen sportlichen Betätigung des Menschen eingeschränkt. Es wurde von Lerman et al. bereits bestätigt, dass freiwillige und unfreiwillige Trainingsmodelle ein unterschiedliches Set von Genen aktivieren (Lerman, 2002).

Das Modell des LRT hat sich als stressfreie Alternative zum Laufband- oder Schwimmtraining erwiesen und wurde bereits häufig bei Ratten (Morimoto, 2000; Schweitzer, 2006) und Mäusen (Allen, 2001; Konhilas 2005) eingesetzt. Die meisten dieser Studien wurden jedoch nur am männlichen Geschlecht durchgeführt und untersuchten vorrangig die Adaptation der Skelettmuskeln und des Metabolismus (Allen, 2001; Konhilas, 2005). Im Schwimm-Modell kommt es bei Ratten zu einer Zunahme der linksventrikulären Wanddicken und der Kontraktilität (Nguyen, 2007). Während die Masse des linken Ventrikels (LV) und der Kapillarierungsgrad zunehmen und sich die diastolische Relaxation verbessert, konnte eine Verringerung der Herzfrequenz im Ruhezustand beobachtet werden (Flaim, 1979; Greene, 1988). Auch das Training auf dem Laufband führt über eine Zunahme des diastolischen Durchmessers zu einer verbesserten Vorlast. Weiterhin nahmen das systolische Volumen und das kardiale Output zu (Fenning, 2003). Die Dicke der links-ventrikulären Hinterwand nahm in einigen Studien zu (Kemi, 2002) und in einigen nicht (Jin, 2000; Fenning, 2003).

Die GU hinsichtlich der funktionellen Anpassung des Herzens an das LRT wurden bei Mäusen bislang nur auf die Trainingsaktivität, das Hypertrophieausmaß sowie die Signalwege und deren genetische Regulation untersucht (Konhilas, 2004). Um den Kenntnisstand hinsichtlich der trainingsbedingten kardialen Adaptation und ihrer GU zu vergrößern, wurden in der vorliegenden Arbeit die Gene, die zum Umbau der EZM und damit dem Stützgerüst für zelluläre und funktionelle Anpassungen führen, untersucht. Ein Folgemodell der Arbeitsgruppe wird auf Basis dieser Ergebnisse erstmalig im Mausmodell die protektiven Effekte eines moderaten Sportprogrammes auf das Remodeling nach einem MI untersuchen und zwischen den Geschlechtern vergleichen.

2 Fragestellung und Ziele der Arbeit

In dieser Studie sollen die Geschlechterunterschiede (GU) bei der morphologischen und funktionellen Adaptation des Herzmuskels an den physiologischen Stimulus des freiwilligen Laufradtrainings (LRT) und den pathologischen Stimulus des Myokardinfarktes (MI) untersucht werden. Die Schwerpunkte liegen auf den Ergebnissen der echokardiographischen Untersuchungen und den Umbauprozessen der extrazellulären Matrix (EZM).

Hinsichtlich des MI stehen die Veränderungen im Ultraschall und die der EZM auf histologischer und molekularbiologischer Ebene im Vordergrund.

- Gibt es GU in der Infarktgröße und in der Mortalität?
- Gibt es echokardiographisch nachweisbare morphologische und funktionelle Veränderungen nach einem Herzinfarkt? Gibt es hierbei GU?
- Gibt es hinsichtlich des EZM-Remodelings Änderungen in der relativen Genexpression von Prokollagen I, III und V, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-3 und TIMP-4 durch den Infarkt? Gibt es hierbei GU?
- Gibt es histologisch nachweisbare GU der reaktiven Fibrosierung im Randgebiet und im nicht-infarzierten Myokard?

Hinsichtlich des LRT war es das Ziel herauszufinden, ob es geschlechterspezifische Unterschiede in der freiwilligen Trainingsaktivität und der kardialen Anpassung auf funktioneller, morphologischer und molekularbiologischer Ebene in Bezug auf die Entwicklung einer kardialen Hypertrophie gibt.

- Nehmen beide Geschlechter das Laufrad gleichermaßen an oder gibt es Unterschiede in der Aktivität?
- Wie verhalten sich die echokardiographischen Parameter vor Beginn der Trainingsphase und am Ende zueinander? Gibt es hierbei GU?
- Gibt es hinsichtlich des EZM-Remodelings Änderungen in der Genexpression von Prokollagen I, III und V, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-3 und TIMP-4 durch das Training? Gibt es hierbei GU?
- Kommt es durch das Training zu einer Zunahme des interstitiellen Kollagengehaltes und gibt es hierbei GU?