

4. Diskussion

Die Wirkung der natriuretischen Peptide ist bei der chronischen Herzinsuffizienz (CHI) trotz erhöhter Plasmakonzentrationen vermindert und drückt sich in einer verminderten Bildung des second messengers zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) aus ^{29,86,97}. Effektororgan der natriuretischen Peptide ist nicht nur die Niere, sondern auch das Herz. Neben vasodilatativen und natriuretischen Wirkungen wurden unter anderem eine verminderte Proliferation kardialer Fibroblasten sowie eine verminderte kardiale Kollagensynthese beschrieben. Hierdurch können die natriuretischen Peptide positive Wirkungen in Bezug auf Hämodynamik und kardiales Remodeling entfalten ^{7,96,22,21,12}. Als Erklärung für die zunehmende Resistenz gegenüber der Wirkung der natriuretischen Peptide muss unter anderem die erhöhte Expression des Hauptabbauenzym, der neutralen Endopeptidase (NEP), in Betracht gezogen werden. Die Untersuchung von kardialer Expression und Enzymaktivität der NEP in verschiedenen Modellen der experimentellen Herzinsuffizienz zeigt in der vorliegenden Arbeit jedoch eine Abnahme beider Parameter. In Abhängigkeit vom untersuchten Modell liegt eine unterschiedlich starke Modifikation der NEP vor. In einer Untersuchung der renalen NEP in verschiedenen Modellen der CHI konnte eine erhöhte NEP- Protein- und mRNA- Expression demonstriert werden, die eine abgeschwächte renale Wirkung der natriuretischen Peptide erklären kann. Im Vergleich der evaluierten Modelle bestanden wie in der vorliegenden Untersuchung Unterschiede hinsichtlich der Stärke der Regulation ^{82}. Die ausgeprägteste Veränderung der NEP konnte für die renale und kardiale Regulation im Infarktmodell nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurden in der zitierten wie auch in der vorliegenden Untersuchung die höchsten ANP- Plasmakonzentrationen im Infarktmodell gemessen. Dies könnte auf eine unterschiedlich starke Ausprägung der CHI sowie eine unterschiedlich starke Aktivierung des natriuretischen Peptidsystems in den untersuchten Modellen hindeuten und somit die unterschiedlich starke NEP- Regulation erklären. Neben dem natriuretischen Peptidsystem können auch andere neurohumorale Systeme wie das RAAS, das Endothelinsystem und das Kininsystem in den verschiedenen Modellen der CHI in unterschiedlichem Ausmaß aktiviert werden, die ihrerseits einen Einfluss auf die NEP- Regulation haben ^{98,85,99,100}.

4.1 Hämodynamische Charakterisierung der Modelle der CHI

Bei den untersuchten Modellen handelt es sich um etablierte Modelle der Herzinsuffizienz. Die Versuchstiere der drei untersuchten Modelle der experimentellen CHI wiesen eine kardiale Hypertrophie auf. Es konnte eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion in Form eines verminderten Quotienten dp/dt_{\max} als Parameter einer verminderten Kontraktilität nachgewiesen werden. In Banding- und Shuntmodell konnten darüber hinaus verminderte arterielle Blutdruckwerte gemessen werden. Die Versuchstiere wiesen einen erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) auf, wobei in der vorliegenden Arbeit kein Unterschied zwischen Kontroll- und Herzinsuffizienzgruppe nachgewiesen werden konnte. Für Tiere der untersuchten Modelle der Herzinsuffizienz konnten in anderen Versuchreihen vergleichbare hämodynamische Daten sowie im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte LVEDP-Messwerte erhoben werden ^{27,82}.

Im Vergleich zu Tieren des Infarktversuchs, die eine Hypertrophie von linkem Vorhof und Myokard des linken Ventrikels aufweisen, zeigen Tiere aus Banding- und Shuntgruppe eine Hypertrophie aller Herzkammern. Die ausgeprägte Hypertrophie des linken Vorhofs in der Infarktgruppe kann als adaptiver Prozess auf die hämodynamische Belastung gewertet werden, die durch die verminderte linksventrikuläre Kontraktilität bedingt ist. Die vergleichbaren Lungengewichte und zentralvenösen Drücke von Tieren aus Kontroll- und Infarktgruppe können als Zeichen einer Kompensation der durch den Myokardinfarkt ausgelösten Herzinsuffizienz angesehen werden. In Banding- und Shuntgruppe kann aufgrund der erhöhten Lungengewichte und des erhöhten zentralen Venendrucks ein Rückwärtsversagen sowie der Zustand einer dekompensierten Herzinsuffizienz postuliert werden. BNP als etablierter Parameter zur Abschätzung der Schwere einer Herzinsuffizienz wird von Tieren mit großem Shunt stärker exprimiert als von Tieren mit kleinem Shunt ^{27,34}. Im Vergleich von Tieren mit großem und kleinem Shunt findet die zunehmende Schwere der induzierten Herzinsuffizienz ihr Korrelat in Form des weiteren Anstiegs von Herz- und Lungengewicht sowie einer Zunahme des zentralen Venendrucks.

In den drei untersuchten Modellen der CHI konnte eine verminderte Kontraktilität des linken Ventrikels nachgewiesen werden. Sie kann durch ein pathologisches Remodeling bedingt sein, das teilweise durch die verminderte Wirksamkeit von ANP und BNP erklärt werden kann ^{21,22}. Ein Parameter der Resistenz gegenüber dem aktivierten natriuretischen Peptidsystem ist ein verminderter plasmatischer cGMP/ ANP- Quotient, wie er für das untersuchte Bandingmodell gemessen wurde ^{97}. Durch *in vitro* Untersuchungen des NPR- A mit dem Nachweis einer ANP-

abhängigen Abnahme der cGMP- Bildung bei chronischer Ligandenstimulation kann dies erklärt werden ^{101}.

4.2 Die kardiale NEP- Regulation in den untersuchten Modellen der CHI

4.2.1 Experimenteller Myokardinfarkt

4.2.1.1 NEP- Regulation im vitalen Myokardgewebe

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass im Modell des experimentellen Myokardinfarkts sowohl mRNA- und Proteinexpression als auch Enzymaktivität der kardialen NEP im linken Ventrikel vermindert sind. Die relative Verminderung war darüber hinaus in allen drei untersuchten Parametern gleich groß. Diese Ergebnisse deuten auf eine Regulation der NEP auf Transkriptionsebene hin. In der Literatur werden vergleichbare Ergebnisse für die renale Ischämie und die Isoproterenol- induzierte myokardiale Nekrose beschrieben ^{102,103}. Als Angriffspunkte einer transkriptionellen Regulation konnten in verschiedenen Arbeiten Enhancer-Sequenzen, Bindungselemente in der Promoterregion oder eine Methylierung im Promoterbereich aufgezeigt werden ^{70,104,105}. Alterationen von NEP- Expression und Enzymaktivität lassen sich hingegen nicht im rechten Ventrikel nachweisen. Walther et al. konnten am Modell des experimentellen Myokardinfarkts ebenfalls eine unveränderte NEP- Enzymaktivität im rechten Ventrikel und Septum nachweisen. Jedoch bestand auch im vitalen Gewebe des linken Ventrikels in der Infarktgruppe keine Veränderung ^{85}. Auf Ebene der Vorhöfe sind in der vorliegenden Arbeit NEP- Expression und Enzymaktivität unverändert, sodass von einer lokalen, auf den linken Ventrikel begrenzten Regulation ausgegangen werden muss.

Untersuchungen zur NEP- Inhibition nach experimentellem Myokardinfarkt unterstützen das Vorliegen einer verminderten kardialen NEP- Expression insofern, dass die Enzymblockade keinen Einfluss auf Remodeling und Infarktgröße hat ^{106,107}. Die Wirksamkeit von kombinierten NEP- und ACE- Inhibitoren bezüglich kardialem Remodeling und Hämodynamik nach myokardialer Ischämie kann deshalb durch die ACE- Blockade erklärt werden, wie es für die CHI am Shuntmodell demonstriert werden konnte ^{103,108}.

Als möglichen Mechanismus einer Herabregulation der NEP konnten Erdös et al. eine PKC- abhängige Inaktivierung aufzeigen. Phorbol- behandelte Granulozyten wiesen eine erhöhte

NEP- Aktivität in der Zytosolfraktion auf, weshalb auf eine Internalisierung des membrangebundenen Enzyms geschlossen wurde ^{76}. In Anwendung auf die eigenen Versuche konnte in der Zytosolfraktion des Infarktversuchs keine erhöhte Enzymaktivität nachgewiesen werden. Dies kann die Vermutung der Arbeitsgruppe um Erdös insofern bestätigen, dass der lysosomale Abbau unmittelbar nach Internalisierung erfolgt. Ferner besteht die Möglichkeit des Vorliegens anderer Regulationsmechanismen im Herzmuskel.

Eine Herabregulation der NEP auf mRNA-, Protein- und Aktivitätsebene, wie sie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, ist für die renale Ischämie bekannt ^{102}. Die relative Reduktion der renalen NEP- Expression und NEP- Enzymaktivität war mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung vergleichbar. Im Gegensatz hierzu konnte für verschiedene Modelle der CHI eine erhöhte renale NEP- Expression nachgewiesen werden ^{82}. Untersuchungen am spontan hypertensiven Hamster zeigten ebenfalls eine erhöhte renale NEP- Enzymaktivität bei gleichzeitig erniedrigter kardialer Aktivität ^{83}. Die Ischämie des untersuchten Organs könnte von Bedeutung für die Herabregulation der NEP sein. Für die myokardiale Ischämie ist eine Aktivierung von PKC- Signalwegen bekannt, die ihrerseits mit einer verminderten NEP- Expression assoziiert sind ^{109,77,76}.

4.2.1.2 NEP- Regulation in der Infarktnarbe

Im Narbenareal des linken Ventrikels konnte in der vorliegenden Arbeit eine verminderte NEP- Proteinexpression nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis wird durch publizierte Ergebnisse zur NEP- Enzymaktivität bestätigt ^{85}. Eine spezifische Regulation der NEP im vitalen Myokardgewebe und Narbenareal kann deshalb postuliert werden. Die unterschiedliche Zellzusammensetzung von vitalem Myokard und Narbenareal aus Cardiomyocyten einerseits, vorwiegend Fibroblasten und Fibrozyten andererseits kann eine mögliche Erklärung für die gegensätzliche NEP- Regulation sein. Somit können teilweise konträre Resultate von Untersuchungen der NEP- Expression *in vivo* und *in vitro* durch die Heterogenität der Gewebeprobe bedingt sein. Immunhistochemische Untersuchungen von Gewebeproben insuffizienter Herzen belegen, dass Cardiomyocyten im Vergleich zu anderen vorhandenen Zellarten die höchste NEP- Expression im Myokard aufweisen ^{84,110}. Die NEP- Regulation von Cardiomyocyten sollte demzufolge entscheidend für die kardiale NEP- Regulation sein. Publikationen zur Untersuchung von Cardiomyocytenkulturen auf ihre NEP- Regulation liegen derzeit nicht vor, sodass Folgerungen auf die verantwortlichen Regulationsmechanismen in den

untersuchten Modellen nur eingeschränkt möglich sind. Die Beteiligung des RAAS an der kardialen NEP- Regulation konnte durch Walther und Mitarbeiter demonstriert werden ^{85}.

4.2.2 Aortales Banding

Die starke linksventrikuläre Nachlasterhöhung beim Bandingmodell spiegelt sich in einer ausgeprägten Hypertrophie des linken Ventrikels wider, wie sie auch von Imamaru bei der hämodynamischen Evaluation des Modells beschrieben wurde ^{89}. Auf molekularer Ebene konnte eine gegenüber der Kontrollgruppe verminderte NEP- Enzymaktivität im linken Ventrikel nachgewiesen werden. Die lokale Bioverfügbarkeit von ANP und BNP sollte aufgrund der verminderten Aktivität des Hauptabbauenzym erhöht sein. Die Assoziation der natriuretischen Peptide mit antihypertrophen und antifibrotischen Eigenschaften legt deshalb die Folgerung nahe, dass die nachgewiesene Herabregulation der NEP ein wichtiger Bestandteil bei der Gegenregulation zur Entwicklung der CHI ist ^{22,21,19}. Die Entwicklung der kardialen Hypertrophie und der Nachweis einer verminderten Kontraktilität im Bandingmodell trotz erhöhter ANP- und BNP- Plasmakonzentrationen sowie einer verminderten kardialen NEP- Enzymaktivität deutet auf den Einfluss weiterer Faktoren hin. Eine verminderte Wirksamkeit der erhöhten ANP- und BNP- Konzentrationen kann durch eine Desensitivierung des NPR- A bedingt sein ^{101}. Die verminderte Expression von Corin, der Pro- ANP spaltenden Serinprotease, muss als ein wichtiger Mechanismus der verminderten ANP- Wirkung bei der CHI ebenfalls in Betracht gezogen werden ^{111,11}. Transmittersubstanzen wie Noradrenalin und Endothelin 1, die bei der CHI erhöhte Plasmakonzentrationen aufweisen, sind neben vasokonstriktorisches auch mit mitogenen Eigenschaften und der Entwicklung einer kardialen Hypertrophie assoziiert. Sie können gegenüber antihypertrophen Wirkungen der natriuretischen Peptide überwiegen ^{4}. Der alleinige Nachweis einer verminderten NEP- Enzymaktivität im linken Ventrikel kann im Zusammenhang mit der im Vergleich zum rechten Ventrikel stärkeren hämodynamischen Belastung stehen.

Für das untersuchte Bandingmodell wurde eine erhöhte NEP- Enzymaktivität in renalen Homogenatproben beschrieben ^{82}. Die im Rahmen der CHI abgeschwächte natriuretische und diuretische Wirkung erhöhter ANP- Plasmakonzentrationen kann dadurch erklärt werden. Von einer Bedeutung für die im Myokard verfügbaren natriuretischen Peptide und von ihnen ausgehenden parakrinen Wirkungen ist aufgrund der Lokalisation der renalen NEP im proximalen Tubulus nicht auszugehen ^{66}. Eine gegensätzliche Regulation von kardialer und

renaler NEP wurde bereits für ein anderes Modell der CHI beschrieben ^{83}. Die zitierte Untersuchung der renalen NEP am Bandingmodell ist in Bezug auf die eigenen Ergebnisse und einen zugrunde liegenden Regulationsmechanismus interessant. Bei erhöhter Enzymaktivität waren sowohl mRNA- Expression als auch Proteinexpression im Vergleich zur Kontrollgruppe unverändert ^{82}. Eine verminderte NEP- Enzymaktivität im linken Ventrikel der Bandinggruppe geht auch in der vorliegenden Untersuchung nicht mit einer signifikanten Veränderung der Proteinexpression einher. Eine Modifikation der Enzymaktivität könnte deshalb vermutet werden. In der Literatur ist jedoch bisher keine Regulation der NEP- Enzymaktivität ohne Änderung der Proteinexpression an der Plasmamembran beschrieben. Eine Modulation der NEP- Aktivität durch kovalente Modifikation ist nicht bekannt. Andere Arbeiten zur Regulation der NEP berichten einheitlich über eine Modifikation von Expression und Aktivität in gleichgerichteter Art, sodass auch für dieses Modell der CHI von einer Regulation auf Transkriptionsebene auszugehen ist ^{81,100,103}. Unter methodischen Gesichtspunkten kann eine geringere Sensitivität des Western Blot im Vergleich zum Enzymaktivitätsassay vermutet werden, der von Florentin und Mitarbeitern als sehr sensitiv beschrieben wurde ^{92}.

Unter hämodynamischen Gesichtspunkten erscheinen Ergebnisse einer Evaluation der kardialen NEP bei Patienten mit Aortenklappenstenose im Vergleich mit dem Bandingmodell interessant ^{84}. Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen konnte eine erhöhte NEP- Enzymaktivität und mRNA- Expression in Biopsien des humanen linken Ventrikels nachgewiesen werden. Von Bedeutung könnte die medikamentöse Therapie der untersuchten Patienten sein, die unter anderem in der ACE- Inhibition bestand. In den zitierten tierexperimentellen und *in vitro* Untersuchungen zur NEP- Regulation wurden keine Pharmaka appliziert. Aufgrund von publizierten Untersuchungen ist jedoch von einem Einfluss der Angiotensin II- Rezeptor 1 (AT 1- R)- Blockade und der ACE- Gewebeexpression auf die NEP- Expression auszugehen. Für eine genetisch determinierte geringe ACE- Aktivität und für ein Modell der arteriellen Hypertonie mit geringer ACE- Aktivität ist eine erhöhte NEP- Aktivität beschrieben, die auf eine konsekutiv erniedrigte Angiotensin II- Konzentration zurückgeführt wird ^{74,100}. Im Gegensatz hierzu war eine AT1- R- Blockade bei Untersuchungen des experimentellen Myokardinfarktes mit einer verminderten NEP- Aktivität assoziiert ^{85}. Eine Untersuchung von Patienten mit arterieller Hypertonie kann den *in vitro* nachweisbaren Einfluss der AT1- R- Blockade auf die NEP- Expression unterstützen ^{99}. Von wesentlicher Bedeutung für die NEP- Regulation sind demzufolge AT II und Bradykinin, die jeweils mit einer Herabregulation der NEP verbunden sind. Beide Transmittersubstanzen benutzen den PKC- Signalweg, der in mehreren *in vitro* Untersuchungen zu einer verminderten NEP- Expression führte ^{112,109,77,76}.

4.2.3 Aortocavaler Shunt

Die Untersuchung der NEP- Regulation am Modell des aortocavalen Shunts wies eine verminderte enzymatische Aktivität im linken Vorhof und beiden Ventrikeln der Tiere mit großem Shunt nach. Im rechten Ventrikel war die Enzymaktivität bereits bei Tieren mit kleinem Shunt im Vergleich zu Kontrolltieren vermindert. In der Proteinexpressionsanalyse konnte in keiner Herzkammer eine signifikante Veränderung gemessen werden. Der induzierte arteriovenöse Shunt könnte folglich primär eine Belastung des rechten Ventrikels mit konsekutiver Herabregulation der dort lokalisierten NEP zur Folge haben. Eine weitere Eskalation des Shuntvolumens kann im Rahmen der Entwicklung einer CHI zur Nachlasterrhöhung und Beteiligung von linkem Vorhof und linkem Ventrikel mit entsprechenden Auswirkungen auf die NEP- Regulation führen. Eine regionenspezifische kardiale NEP- Expression wurde für Ratten unterschiedlichen Alters beschrieben und könnte im Zusammenhang mit strukturellen und funktionellen Veränderungen stehen ^{113}. Die Ergebnisse von Infarkt- und Bandingmodell können in diesem Zusammenhang auch dahingehend interpretiert werden, dass in der Herzkammer mit der stärksten hämodynamischen Belastung eine Herabregulation der NEP zuerst auftritt.

Die chronische NEP- Inhibition ist beim Shuntmodell mit einer verminderten kardialen Hypertrophie assoziiert, im Modell des Myokardinfarkts jedoch ohne Einfluss auf das kardiale Remodeling ^{96,106,114}. In Anbetracht einer erhöhten renalen und einer verminderten kardialen NEP- Expression bei der experimentellen CHI sowohl im Shunt- als auch im Infarktmodell muss eine unterschiedliche funktionelle Bedeutung der NEP in den einzelnen Modellen in Betracht gezogen werden ^{82}. Die Inhibition der renalen NEP kann durch die Zunahme von Natriurese und Diurese mit den resultierenden hämodynamischen Auswirkungen zu einer Abschwächung der kardialen Hypertrophie führen ^{96}. Eine fehlende Wirksamkeit der Enzymhemmung in Bezug auf das Remodeling im Infarktmodell kann durch eine im Vergleich höhere Endothelinbildung und eine verminderte Inaktivierung von Endothelin 1 durch die NEP bei bereits verminderter kardialer Enzymaktivität bedingt sein ^{73}. Interessanterweise kann eine chronische kombinierte Hemmung von NEP und Endothelin- Konversionsenzym (ECE) das kardiale Remodeling im Infarktmodell abschwächen ^{115}. Eine vergleichbare Untersuchung am Shuntmodell zeigte äquivalente Ergebnisse von kombinierter NEP- ACE- Inhibition und singularer ACE- Hemmung ^{108}.

In einer Arbeit zum untersuchten Shuntmodell der CHI konnte eine zunehmende mRNA- Expression von ANP und BNP in Abhängigkeit von der Shuntgröße demonstriert werden ^{27}. Es

ist bekannt, dass der second messenger cGMP in humanen Mesangium- und Endothelzellen mit einer zunehmenden NEP- Expression assoziiert ist ^{75}. Die renale NEP- Proteinexpression und NEP- Enzymaktivität ist bei diesem Modell der CHI erhöht und geht mit erhöhten ANP- Plasmakonzentrationen einher ^{82}. Der Einfluss der natriuretischen Peptide auf die kardiale NEP- Regulation war bisher nicht untersucht worden. Um eine mögliche Interaktion zwischen kardialer NEP- Enzymaktivität und der Plasmakonzentration von ANP zu eruieren, wurde der ANP- Infusionsversuch durchgeführt.

4.2.4 ANP- Infusionsversuch

Nach dem verwendeten Protokoll von Garcia und Mitarbeitern ist für die infundierte ANP- Menge bei normotensiven Ratten nicht von einer Beeinflussung des Blutdrucks auszugehen ^{94}. Die signifikante Zunahme der NEP- Enzymaktivität im linken und rechten Ventrikel der ANP- Infusionsgruppe deutet auf eine ANP- abhängige Induktion im Sinne eines feed- back- Mechanismus hin, die durch die vermehrte Bildung von cGMP bedingt sein kann. Eine cGMP- abhängige NEP- Induktion ist in der Literatur beschrieben ^{75}. Die gemessene erhöhte kardiale NEP- Enzymaktivität ist mit dem bekannten Wirkverlust des exogen applizierten ANP bei der CHI trotz erhöhter ANP- Plasmakonzentrationen vereinbar. Eine vermehrte enzymatische Aktivität des Hauptabbauenzym der natriuretischen Peptide, kann zu deren verminderter Verfügbarkeit führen ^{47,45}.

Mit dem Infusionsversuch konnte der Einfluss von ANP auf die kardiale NEP- Regulation demonstriert werden. Die verminderte kardiale NEP- Expression bzw. Enzymaktivität in den untersuchten Modellen kann als Folge der CHI angesehen und nicht als ANP- abhängiger Effekt erklärt werden. Der Einfluss verschiedener Signalwege auf die kardiale NEP- Regulation bei der CHI soll in einem eigenen Abschnitt diskutiert werden.

4.2.5 Zusammenfassende Betrachtung der Versuchsergebnisse

In einer vergleichenden Betrachtung der Ergebnisse von Shunt-, Infarkt- und Bandingmodell fällt die unterschiedlich starke Veränderung der NEP- Parameter auf. Ist die Modifikation im Infarkt- und Bandingversuch auf den linken Ventrikels beschränkt, so lassen sich veränderte NEP- Parameter im Shuntversuch in mehreren Herzkammern nachweisen.

Mit zunehmender Belastung einer Herzkammer kann eine Abnahme der kardialen NEP- Enzymaktivität nachgewiesen werden. In allen drei Herzinsuffizienzmodellen wurde eine

verminderten NEP- Aktivität im linken Ventrikel nachgewiesen. Ursächlich könnte hierfür die bei der CHI auftretende Nachlasterrhöhung durch die Aktivierung vasokonstriktorischer Systeme, wie dem sympathischen Nervensystem, RAAS und Endothelinsystem sein. Untersuchungen der kardialen NEP- Enzymaktivität am Modell des spontan hypertensiven Hamsters, der unter anderem durch hohe Plasma- Reninkonzentrationen charakterisiert ist, wiesen eine verminderte kardiale NEP- Aktivität nach ^{83}. Die Korrelation einer hohen ACE- Gewebeexpression mit einer niedrigen NEP- Expression im Rattenmodell unterstützt diese Vermutung ebenfalls ^{74}. Bei einer Belastung des rechten Ventrikels konnte auch dort eine Herabregulation der NEP nachgewiesen werden. Als Indikator einer Rechtsherzbelastung kann der zentrale Venendruck herangezogen werden. Der zentrale Venendruck ist im Modell des aortocavalen Shunts erhöht und geht mit einer verminderten rechtsventrikulären NEP- Enzymaktivität einher. Die natriuretischen Peptide werden bei der CHI vermehrt exprimiert ^{82,28}. Die eigenen Versuchsergebnisse wie auch publizierte Daten bringen sie mit einer NEP- induzierenden Wirkung in Verbindung ^{75}. Die kardiale NEP- Regulation in den untersuchten Modellen der Herzinsuffizienz kann demzufolge auf die Entwicklung der CHI und die Aktivierung verschiedener neurohumoraler Systeme zurückgeführt werden.

Tiere mit experimenteller CHI wiesen vor allem beim Banding- und Shuntmodell eine ausgeprägte kardiale Hypertrophie auf. Die antihypertrophe Wirkung von ANP, die durch eine verminderte kardiale NEP- Enzymaktivität gestützt werden sollte, ist deshalb nicht ausreichend, um eine Hypertrophie zu verhindern ^{22}. *In vivo* Untersuchungen zur chronischen NEP- Inhibition zeigten, dass die Entwicklung einer kardialen Hypertrophie im Shuntmodell abgeschwächt wurde, im Infarktmodell hingegen unbeeinflusst blieb ^{96,106}. Eine unterschiedliche funktionelle Bedeutung der NEP kann deshalb vermutet werden. Neurohumorale Systeme wie das Endothelinsystem und RAAS, die kardial mit proliferativen und hypertrophen Eigenschaften assoziiert werden, scheinen hinsichtlich des kardialen Remodelings zu dominieren. Dieser Effekt könnte neben den wachstumsregulierenden auch durch hämodynamische Wirkungen bedingt sein. Adaptive antiproliferative Mechanismen, wie zum Beispiel die Herabregulation der kardialen NEP mit einer erhöhten Verfügbarkeit von ANP, können diese Effekte nicht ausreichend antagonisieren.

4.3 Einfluss verschiedener Signalwege auf die NEP- Regulation

Mit dem ANP- Infusionsversuch konnte der Einfluss des natriuretischen Peptidsystems auf die kardiale NEP- Regulation demonstriert werden. Im Gegensatz zu den untersuchten CHI- Modellen konnte eine erhöhte kardiale NEP- Enzymaktivität nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis geht konform mit *in vitro* Untersuchungen, die eine cGMP- abhängige Induktion der NEP- Expression nachwiesen ^{75}. Ursächlich für die erhöhte NEP- Enzymaktivität im Infusionsversuch könnten höhere als mit der Infusion erreichte ANP- Plasmakonzentrationen in den Herzinsuffizienzmodellen sein, die im Sinne einer ligandenassoziierten Rezeptor- Desensitivierung zur gestörten Signaltransmission führen. Als Folge kommt es zur verminderten intrazellulären cGMP- Bildung ^{101}.

Im Unterschied zum Infusionsversuch kommt es bei den Tieren mit experimenteller CHI neben der Aktivierung des natriuretischen Peptidsystems zur Aktivierung weiterer neuroendokriner Systeme ^{4}. Der Einfluss dieser auf die kardiale NEP- Regulation könnte die cGMP- abhängige Regulation überwiegen. Der Einfluss des PKC- Signalweges auf die NEP- Regulation ist in diesem Zusammenhang von zentraler Bedeutung, weil viele Mediatoren der aktivierten neurohumoralen Systeme diesen Signalweg benutzen. Hierzu zählen unter anderem Noradrenalin und AT II bei ihrer Signaltransmission über den α_2 - oder β - adrenergen Rezeptor bzw. AT1- Rezeptor ^{116,117}. Bradykinin, dessen Gewebskonzentrationen im Herzmuskel vor allem unter ischämischen Zuständen erhöht sind, vermittelt seine Effekte ebenfalls durch Aktivierung der PKC bei Transmission über den B2- Rezeptor ^{109,112}. Für das Infarktmodell ist eine geringere funktionelle Bedeutung des natriuretischen Peptidsystems im Vergleich zum Bradykinin bekannt ^{118}. Eine verstärkte Aktivierung der PKC durch AT II, ADH und Endothelin 1, wie sie für die Desensitivierung der NPR postuliert wurde, könnte zur Herabregulation der NEP führen ^{116}. Mehrere Arbeitsgruppen konnten eine verminderte NEP- Enzymaktivität *in vitro* nach einer Stimulation der PKC nachweisen ^{77,76,75}. Eine erhöhte NEP- Enzymaktivität nach Aktivierung des PKC- Signalweges wurde für humane Endothelzellen beschrieben ^{78}. Die unterschiedliche NEP- Regulation kann im Zusammenhang mit der Aktivierung verschiedener PKC- Isoformen in den einzelnen *in vitro* Untersuchungen stehen ^{109}.

Eine Interaktion des Guanylatcyclase- Signalweges mit dem PKC- Signalweg wurde für die Inhibition der endogenen NO- Synthese beschrieben. Eine verminderte Aktivierung der zytosolischen Guanylatcyclase- Aktivität infolge einer verminderten NO- Bildung war mit der Heraufregulation des vaskulären RAAS und Endothelinsystems sowie einer Herabregulation der endothelialen NEP assoziiert ^{98}. In Bezug auf die untersuchten Modelle der experimentellen

Herzinsuffizienz könnte dies bedeuten, dass es infolge erhöhter ANP- Plasmakonzentrationen zur verminderten cGMP- Bildung kommt, die ein Überwiegen der PKC- Signalwege mit konsekutiver Herabregulation der kardialen NEP zur Folge hat. Eine isolierte Aktivierung der Guanylatcyclase- Aktivität durch infundiertes ANP führt hingegen zur Heraufregulation der kardialen NEP.

4.4 Zusammenfassung

Die Wirksamkeit der natriuretischen Peptide ist bei der CHI vermindert. Die Hypothese einer verstärkten enzymatischen Degradierung der natriuretischen Peptide durch das Hauptabbauenzym, die NEP, konnte durch die durchgeführte Untersuchung nicht bestätigt werden. Die Untersuchung der kardialen NEP an drei verschiedenen Modellen der Herzinsuffizienz zeigte eine unterschiedlich stark ausgeprägte Abnahme von Expression und Enzymaktivität. Tiere mit Myokardinfarkt wiesen im linken Ventrikel eine im Vergleich zur Kontrollgruppe verminderte Protein- und mRNA- Expression sowie geringere Enzymaktivität auf. Im Shuntversuch konnte eine reduzierte Enzymaktivität im rechten und linken Ventrikel, im Bandingversuch im hämodynamisch am stärksten belasteten linken Ventrikel nachgewiesen werden. Vor allem die Daten des Infarktversuchs demonstrieren mit einer nahezu gleich großen NEP- Reduktion auf Transkriptions-, Protein- und Funktionsebene die Regulation auf Transkriptionsebene sehr eindrücklich. Die ursprünglich postulierte Zunahme der kardialen NEP- Expression und NEP- Enzymaktivität wurde in keinem der untersuchten Modelle nachgewiesen. Besonders interessant ist die erhöhte NEP- Expression in der Infarktnarbe, die als Hinweis auf eine gewebspezifische NEP- Regulation interpretiert werden kann.

Die reduzierte kardiale NEP- Enzymaktivität kann die verminderte biologische Wirksamkeit der natriuretischen Peptide am Herzmuskel bei der CHI nicht erklären. Die Entwicklung von kardialer Hypertrophie und kardialer Fibrose im Verlauf der CHI, die als kardiales Remodeling subsummiert werden, kann nicht auf eine verminderte lokale Verfügbarkeit von ANP und BNP aufgrund einer erhöhten enzymatischen Degradierung durch die kardiale NEP zurückgeführt werden. Andere Mechanismen wie die ligandenassoziierte Desensitivierung des NPR- A, eine verminderte Corin- Expression oder eine verstärkte Expression des Clearancerezeptors NPR- C müssen in Betracht gezogen werden. Darüber hinaus ist die kardiale NEP auch im Metabolismus anderer Peptide involviert. Durch eine verminderte kardiale NEP- Enzymaktivität kann eine

verminderte Degradierung des mit mitogenen und vasokonstriktorisches Eigenschaften assoziierten Endothelin 1 zum Fortschreiten der Herzinsuffizienz beitragen.

Der zugrundeliegende Mechanismus einer verminderten kardialen NEP- Expression und Enzymaktivität ist bisher nicht bekannt. Von zentraler Bedeutung könnte die PKC sein, die Bestandteil der Signaltransmission mehrerer bei der CHI aktivierter neurohumoraler Systeme ist. Die PKC- Aktivierung wird mit einer Herabregulation der NEP in Verbindung gebracht. Der Einfluss des cGMP- Signalwegs auf die kardiale NEP wurde in einem separaten ANP- Infusionsversuch untersucht, der eine erhöhte Enzymaktivität im linken und rechten Ventrikel zur Folge hatte. Auf Grundlage der Ergebnisse bisheriger Untersuchungen zur NEP- Regulation muss von einer zellspezifischen Regulation ausgegangen werden, die durch die Rezeptorexpression und Aktivierbarkeit intrazellulärer Signalwege bedingt sein kann. Zum Ausdruck kommt die zellspezifische NEP- Regulation zum einen beim Vergleich von renaler und kardialer Expression bei der experimentellen CHI. Zum anderen deuten auch die vorliegenden Ergebnisse für vitales Myokardgewebe und Narbengewebe nach einem Myokardinfarkt darauf hin. Die Untersuchung der jeweils aktivierten intrazellulären Signalwege sowie der exprimierten Rezeptoren sollte daher Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.