

2. Literaturübersicht

2.1 Koronare Herzerkrankung

Im Jahr 2001 starben weltweit 7,2 Millionen Menschen an den Folgen der koronaren Herzerkrankung (KHK), und in Europa ist die KHK die häufigste Todesursache noch vor Krebserkrankungen (WHO World Health Report, 2002). Jedes Jahr fallen ihr 2 Millionen Menschen zum Opfer, womit sie zu mehr als einem Fünftel der Todesfälle gleichwohl bei Männern als auch bei Frauen beiträgt.

Die koronare Herzerkrankung ist die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien (Dietz et al., 2003). Die klinische Erstmanifestation dieser Erkrankung verläuft nicht einheitlich, sondern tritt in verschiedenen Formen auf.

So ist die erste klinische Manifestationsform der KHK in 40 % der Fälle die Angina pectoris, also der Brustschmerz, in 40 % der Herzininfarkt und in weiteren 20 % der Fälle der plötzliche Herztod. Pathogenetisch liegt ihr jedoch zumeist derselbe Prozess zugrunde, nämlich die Atherosklerose an den Herzkranzgefäßen mit all ihren Folgen.

2.1.1 Die Atherosklerose

Die Atherosklerose ist Gegenstand intensiver Forschung, und über die letzten Jahre konnte die Erkenntnis gewonnen werden, dass Atherosklerose Folge eines chronischen Entzündungsprozesses ist (Geisler et al., 2004). Zu Beginn findet sich eine gestörte Endothelfunktion der erkrankten Gefäße, die definiert ist als ungenügende Vasorelaxation auf acetylcholinerge Stimulation. Eine gestörte Endothelfunktion kann beispielsweise nach Einleitung einer atherogenen Diät gefunden werden oder auch in Gefäßabschnitten, welche einer gestörten Blutströmung ausgesetzt sind (Libby et al., 2002).

Es kommt in der Folge zu einer Einwanderung von Blutleukozyten, welche sich in Gewebsmakrophagen umdifferenzieren. Diese in gesunden Gefäßen kaum stattfindende Einwanderung wird zum einen damit erklärt, dass übermäßig vorliegende LDL-Moleküle (bei gestörtem Fettstoffwechsel) in der Intima zurückgehalten und im Anschluss einer oxidativen Modifikation unterworfen werden, woraufhin sie als chemotaktischer Stimulus die Leukozytenadhäsion begünstigen und zur Einleitung einer Entzündungsreaktion beitragen (Williams et al., 1998). Auf Grund studentischer Ungenauigkeiten konnte diese Hypothese allerdings noch nicht vollständig belegt

werden. Derselbe Mechanismus wird für β -VLDL und Lipoprotein (a) angenommen, während HDL durch einen reversen Cholesterintransport sowie durch Bindung antioxidativer Enzyme einen protektiven Effekt aufweist (Libby et al., 2002).

Zum anderen wird die Einwanderung von Blutleukozyten damit erklärt, dass in Gefäßabschnitten mit gestörtem Blutfluss und turbulenter Strömung weniger Stickstoffmonoxid (NO) gebildet wird, welches neben gefäÙdilatierenden auch anti-entzündliche Effekte hat, wobei es ebenfalls zur vermehrten Expression des vaskulären Zelladhäsionsmoleküls 1 (VCAM-1) kommt. (Libby et al., 2002). Über dieses Molekül binden Blutmonozyten an das Endothel, welche in der Folge in die Gefäßwand einwandern und sich in Makrophagen umdifferenzieren.



Abb. 1: Endoluminale Fotografie der Atherosklerose; aus G-Netz, Gesundheitsnetzwerk, 2005

Die eingewanderten Makrophagen phagozytieren Lipoproteine, wodurch die so genannten Schaumzellen entstehen. In letzter Zeit konnte ebenfalls die Beteiligung aktivierter T-Lymphozyten (Jianglin et al., 2003) an dem Entzündungsprozess nachgewiesen werden. Bedeutend in diesem Zusammenhang ist auch, dass bei Patienten mit KHK im Serum erhöhte Spiegel an oxidierten LDL's (oxLDL) gefunden wurden (Tsimikas et al., 2003). Zudem konnten Autoantikörper gegen oxidiertes LDL (anti-oxLDL) im Serum von KHK-Patienten nachgewiesen werden (Monaco et al., 2001, Fernandes et al., 2004).

2.1.2 Angina pectoris

Die KHK als eine der Folgen der Atherosklerose äußert sich typischerweise entweder als stabile Angina pectoris (AP), als instabile Angina pectoris oder als akuter Myokardinfarkt (Dietz et al, 2003). Zudem kann es bei Vorliegen einer KHK zu Herzrhythmusstörungen kommen. Neben diesen klassischen Manifestationsarten kennt man als weitere, seltenere klinische Formen der KHK die vasospastische AP oder so genannte Prinz-metal-Angina, die Walking-through Angina, die unter anhaltender Belastung verschwindet, die Angina decubitus, welche aus dem Schlaf heraus auftritt, die stumme Myokardischämie sowie das Syndrom X (Harrison Innere Medizin, 16. Auflage, 2005).

Bei der Angina decubitus führt der vermehrte venöse Blutrückstrom im Liegen zu einer Erhöhung der Vorlast mit konsekutivem Anstieg der linksventrikulären Wandspannung. Bei eingeschränkter linksventrikulärer Funktion kann es dann zum Auftreten von Angina pectoris kommen. Das Syndrom X bezeichnet eine typische Angina pectoris bei koronarangiographisch unauffälligem Befund, also ohne das Vorliegen von nachweisbaren Koronarstenosen. Oftmals ist das Belastungs-EKG positiv im Sinne AP-typischer Veränderungen, weist also horizontale, deszendierende oder träge ascendierende ST-Senkungen auf (Harrison Innere Medizin, 16. Auflage, 2005).

Die stabile Angina pectoris entspricht dem Vorliegen einer stabilen Plaque, welche zu einer progredienten Stenosierung des Herzkranzgefäßes führt (Dietz et al., 2003). Zu einer klinischen Symptomatik kommt es erst ab einem gewissen Stenosegrad, wenn in dem vom stenosierten Herzkranzgefäß abhängigen Herzmuskelgewebe zu wenig Blut und somit Sauerstoff ankommt. Es besteht dann ein Missverhältnis zwischen dem Sauerstoffbedarf des Herzmuskelgewebes und dem Sauerstoffangebot, dessen klinisch-symptomatische Entsprechung als Angina pectoris bezeichnet wird.

AP kann sehr unterschiedliche Qualität und Quantität aufweisen. Meist wird sie als retrosternales oder thorakal-ringförmiges Druckgefühl beschrieben oder als ein brennender Schmerz, der in den Arm, den Hals oder auch den Bauch ausstrahlen kann. Allerdings ist die Symptomatik sehr vielfältig, so kann Luftnot das einzige Symptom sein. Bei älteren Menschen oder Patienten mit Schädigungen des nervalen Systems, wie sie z.B. durch Diabetes verursacht werden können, kommt es oftmals zu keiner klinischen Symptomatik, und man spricht von einer stummen Myokardischämie. Solche Patienten erleiden somit Herzinfarkte, ohne das akute Geschehen zu bemerken, da

Schmerzen nicht auftreten. Bei stabiler Plaque tritt die Angina pectoris üblicherweise erst ab einem bestimmten Stenosegrad auf. Man beurteilt das Ausmaß der Koronarstenosen durch Einteilung in vier Schweregrade:

Grad I 25-49 %, Grad II 50-74 %, Grad III 75-99 % und Grad IV 100 % (Harrison Innere Medizin, 16. Auflage, 2005).

Die Stenose Grad IV entspricht einem kompletten Verschluss des Gefäßes.

Bei einer Stenose Grad III, also ab 75 % Lumeneinengung, spricht man von einer kritischen Stenose. Hinsichtlich des Auftretens von Angina pectoris ab einem bestimmten Stenosegrad spielt es ebenfalls eine Rolle, in welchem Ausmaß Kollateralgefäße ausgebildet wurden, die in kritischen Situationen eine Versorgung mittragen können. Begünstigend für eine Kollateralenbildung wirkt eine langsam progrediente Stenosierung über einen langen Zeitraum mit einer latenten regionalen Mangelversorgung des Herzmuskels, wie sie ab einem Stenosegrad II zu finden ist (Herold G, 2005).

Im Allgemeinen kommt es ab Stenosegrad III zu AP, und zwar zunächst in Situationen, in denen der Sauerstoffbedarf des Herzens gesteigert und die Koronarreserve ausgeschöpft ist, wie es unter Belastung der Fall ist. Auch plötzliche Kälte kann die Symptomatik verstärken. Koronarreserve bezeichnet das Verhältnis zwischen maximalem Sauerstoffangebot durch das Blut der Koronararterien und der tatsächlichen aktuellen Sauerstoffaufnahme durch die Herzmuskulatur (Harrisons Innere Medizin, 16. Auflage, 2005). Schon in Ruhe ist die Sauerstoffausschöpfung des Herzens aus dem Koronarblut erheblich höher als die anderer Organe, von 20 ml O₂/dl Blut werden bereits 14 ml O₂/dl benötigt (Thews, 1997). Daher kann ein erhöhter Sauerstoffbedarf, wie er zum Beispiel unter Belastung auftritt, fast nur über eine Steigerung der Koronardurchblutung gedeckt werden.

Auf Grund der Stenose kann der myokardiale Blutfluss nun aber nicht mehr ausreichend gesteigert werden, es kommt zu einer Unterversorgung des Herzmuskels. Hierbei sinkt der Perfusionsdruck in dem der Stenose nachgeschalteten Gefäßabschnitt ab. Gleichzeitig kommt es auf Grund eingeschränkter Herzfunktion zu einem Anstieg des enddiastolischen Ventrikeldrucks. Der erhöhte Ventrikeldruck führt zu einer Kompression der Blutgefäße vor allem der Myokardinnenschicht. Dieses Zusammentreffen zweier pathologischer Faktoren, nämlich des reduzierten Perfusionsdrucks und der Kompression der Innenschichtgefäße, verstärkt die Ischämie. Gleichzeitig wird verständlich, warum die Innenschicht des Herzmuskels diejenige ist,

welche als erstes einer Infarzierung zum Opfer fällt. Die Mangelversorgung des Herzmuskels führt wiederum dazu, dass die ventrikuläre Pumpfunktion des Herzens in ihrer Leistung weiter gemindert wird.

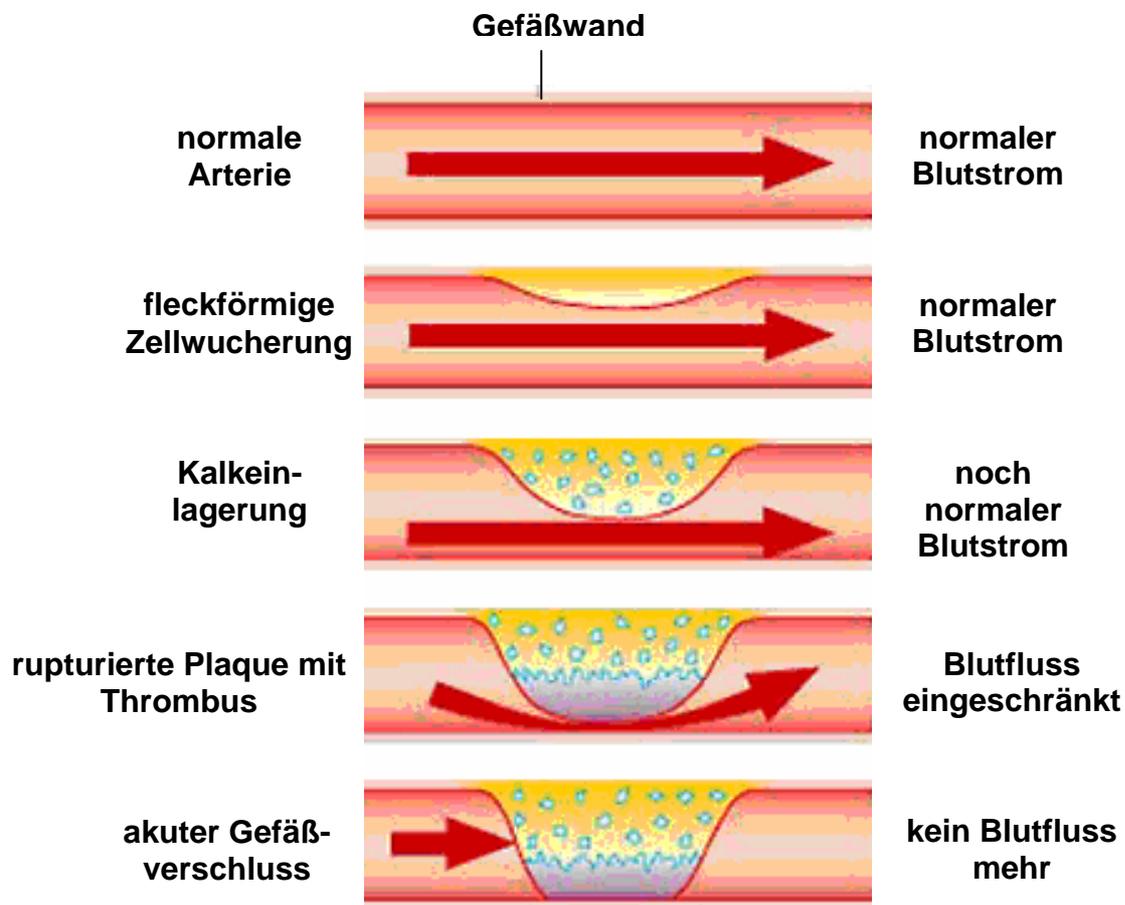


Abb. 2: Progression von Atherosklerose mit Endpunkt des totalen Gefäßverschlusses, aus Vitamet, 2005

Diese Form der Angina pectoris wird auch als stabile Angina pectoris bezeichnet, denn sie ist durch Belastung des Herzens, unter klinischen Bedingungen z.B. auf dem Fahrradergometer unter EKG-Kontrolle, reproduzierbar und provozierbar.

Die stabile Angina pectoris wird nach einem Entwurf der Canadian Cardiovascular Society (CCS) in vier Klassen eingeteilt, wobei in der ersten Klasse bei normaler körperlicher Belastung keine AP auftritt, sondern erst bei schwerer körperlicher Anstrengung. Klasse II und III bezeichnen geringe bzw. erhebliche Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch AP, bei Klasse IV besteht AP bei geringster körperlicher Belastung bzw. Ruhe-AP.

Als instabile AP bezeichnet man jede Angina pectoris, die zum ersten Mal auftritt, sowie Angina pectoris, die sich in Ruhe oder unter geringster Belastung manifestiert.

Zugrunde liegt ebenfalls eine atherosklerotische Plaque. Bei dieser jedoch kommt es zu einer Ruptur bzw. Erosion ihrer Oberfläche mit einem anschließenden Abgang thrombotischen Materials. In dem nachgeschalteten Stromgebiet des Gefäßes wird so eine ischämische Situation ausgelöst. Erfolgt die endogene Lyse des Thrombus, so wird ein vollständiger Verschluss des Gefäßes verhindert. Es kann jedoch auch nicht zu einer endgültigen Stabilisierung der Plaque kommen, das Geschehen wiederholt sich, ohne zur Ruhe zu kommen. Bleibt der thrombotische Verschluss bestehen, so tritt ein Herzinfarkt auf, der im Extremfall zum plötzlichen Herztod führt. Wegen der pathogenetischen und symptomatischen Verwandtschaft mit initial oft schwieriger Unterscheidbarkeit fasst man klinisch die instabile AP und den non-Q-wave-Infarkt unter dem Begriff des akuten Koronarsyndroms zusammen (Auer et al., 2001). Eine Verschlimmerung der KHK kann sowohl durch myokardiale Zusatzfaktoren wie Hypertonie als auch durch extrakoronare Zusatzfaktoren wie Klappenfehler oder Zustände mit erhöhtem Sauerstoffbedarf hervorgerufen werden.

Wenn es durch eine Plaqueruptur zu einem vollständigen Verschluss des Gefäßes kommt, so liegt ein Myokardinfarkt vor. Der akute Myokardinfarkt als Ausdruck der plötzlichen Ruptur eines Plaque ist laut der Framingham-Studie bei 50 % der männlichen KHK-Patienten und 35 % der weiblichen KHK-Patienten die klinische Erstmanifestation der KHK (Framingham Heart Study, 1948-2006). Diese Patienten haben also zuvor nicht unter einer Angina pectoris gelitten. Durch einen Myokardinfarkt tritt eine absolute Ischämie im nachgeschalteten Versorgungsgebiet des Herzmuskels ein, es kommt im Anschluss zur Ausbildung einer Infarkt Narbe mit insuffizienter Funktion sowie zum pathologischen Vorgang des Remodelings.

Es existieren viele Risikofaktoren, die die Wahrscheinlichkeit für das Entstehen einer KHK erhöhen. Sie werden in Risikofaktoren 1. Ordnung und 2. Ordnung eingeteilt (Herold G, 2005). Zu den Risikofaktoren 1. Ordnung gehören Fettstoffwechselstörungen, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, das so genannte metabolische Syndrom („Wohlstandssyndrom“ mit Hyperinsulinämie bei Insulinresistenz, Glukoseintoleranz, erhöhten VLDL-Triglyceriden, erniedrigtem HDL-Cholesterin und art. Hypertonus) und der Nikotinabusus durch Zigarettenrauchen. Als Risikofaktoren 2. Ordnung gelten erhöhtes Lipoprotein(a), Hyperfibrinogenämie (>300 mg/dl), Hyperhomocysteinämie (>12 µmol/l), Antiphospholipid-Ak, genetisch bedingte t-PA-Defekte sowie Bewegungsmangel und negativer Stress (auch niedriger sozialer Status).

Gemäß Berechnungen der WHO werden im Jahr 2020 weltweit 11,1 Millionen Todesfälle durch KHK verursacht werden (Chockalingam et al., 1999).

2.2 Extrazelluläre Matrix

2.2.1 Funktion und Aufbau

Die extrazelluläre Matrix (EZM) ist eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung multizellulärer Organismen. Jedes Organ besitzt eine in ihrer Zusammensetzung charakteristische extrazelluläre Matrix, welche u.a. die strukturelle Integrität des Organs bewahrt. Die Produktion der EZM des Herzens wird zum großen Teil von Fibroblasten und so genannten fibroblast-like cells (Myofibroblasten) vorgenommen, welche die einzelnen Bestandteile der EZM in den extrazellulären Raum sezernieren (Manabe et al., 2002; Moriguchi et al., 1999). Im Verlauf der letzten Jahre hat man erkannt, welche Vielzahl von Funktionen die EZM wahrnimmt. Dies brachte eine Änderung der Sichtweise auf die EZM mit sich. Sie wird nicht mehr als statische Substanz angesehen, die lediglich dazu dient, den in sie eingebetteten Zellen Halt zu verleihen. Vielmehr konnte gezeigt werden, dass die EZM sowohl in die Proliferation von Zellen involviert ist als auch in die Zell-Zell-Interaktion eingebunden ist. Darüber hinaus kann sie die Migration bestimmter Zellen, wie beispielsweise gewebsständiger Makrophagen, beeinflussen und lenken (Heenemann et al, 2003; Hein et al., 1996).

Die EZM des Herzens weist einen komplex strukturierten Aufbau auf, an dem viele verschiedene Komponenten beteiligt sind. Sie unterliegt einer ständigen Regulation und genauen Kontrolle, die durch die Synthese ihrer Bestandteile einerseits und die Degradation derselben andererseits erreicht wird. Auf diese Weise wird ein Gleichgewicht eingestellt, dessen Regelgröße das physiologische Verhältnis darstellt (Spinale, 2002). Die Synthese ist hierbei auf zellulärer Ebene reguliert. Die normale Rate der EZM-Synthese im Herzen ist sehr niedrig; so ist Kollagen Typ I z.B. durch einen langsamen Umsatz mit einer Halbwertszeit von ca. 100 Tagen gekennzeichnet. Erst in pathologischen Situationen wie einem ischämischen Ereignis kommt es zu einer gesteigerten Synthese-Aktivität. Für die Degradation der EZM und speziell von Kollagen sind eine Reihe von Proteasen verantwortlich, die normalerweise in ihrer latenten, weitestgehend inaktiven Form vorliegen. Zu den wichtigsten EZM-abbauenden, also degradierenden Proteasen zählt man die Matrix-Metalloproteinasen (MMPs). Sie gehören zu der Gruppe der Zink-abhängigen Enzyme. Außerdem spielen Kollagenasen

und weitere Proteasen wie z.B. Plasmin, tissue Plasminogen-Aktivator (tPA) und Thrombin eine Rolle. Die MMPs werden in der Hauptsache von Entzündungszellen, v.a. einwandernden Makrophagen produziert, aber auch von fibroblast-like cells und Kardiomyozyten (Heenemann et al., 2003; Coker et al., 1998), also kardial ortsständigen Zellen. Durch zahlreiche pathologische Ereignisse, wie z.B. einer latenten oder akuten totalen Ischämie des Herzmuskelgewebes im Rahmen einer KHK, können sie in die aktive Form überführt werden.

Man unterscheidet zwischen membranständigen MMPs und solchen, die zunächst in den extrazellulären Raum sezerniert werden müssen, um dort ihre Aktivität zu entfalten (Li et al., 2000). Letztere machen den Großteil der im Herzen vorhandenen MMPs aus, da die Sekretion hauptsächlich aus eingewanderten oder ortsständigen Entzündungszellen geschieht (Pauschinger et al., 2002). Die Enzyme haben potenziell die Fähigkeit, die gesamte EZM zu degradieren. Eine übermäßige und unkontrollierte Aktivität hätte für das Organ und in der Folge für den gesamten Organismus verheerende Auswirkungen. Daher wird mittels mehrerer Mechanismen auf verschiedenen Ebenen eine Kontrolle über die Proteasen ausgeübt. Zum einen wird die Transkriptionsaktivität der entsprechenden Genabschnitte kontrolliert und so eine übermäßige oder unangemessene Transkription verhindert (Dollery et al., 1995). Zum anderen wird das Aktivitäts-Level der bereits synthetisierten Proteinase sowohl intrazellulär als auch extrazellulär durch verschiedene Inhibitoren kontrolliert (Heenemann et al., 2003; Denhardt et al., 1993). Wichtig für die Kontrolle der MMPs sind dabei vor allem ihre Gegenspieler, die so genannten Gewebe-Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinase (Heenemann et al., 2003) (tissue inhibitors of matrix metalloproteinase, TIMP). Man konnte vier verschiedene Subtypen (Spinale, 2002) von TIMPs differenzieren, welche durch Gemeinsamkeiten des molekularen Aufbaus gekennzeichnet sind. Die Interaktion mit den MMPs findet bei allen Subtypen über eine Domäne statt, welche am N-terminalen Ende lokalisiert ist und die mit der Zink-bindenden Region der MMPs interagiert. Hierdurch kommt es zu einer Hemmung der MMPs, sodass ihre kollagenolytische Aktivität neutralisiert wird.

2.2.2 Komponenten der Extrazellulären Matrix

Die Bestandteile der EZM, welche durch dieses ausgewogene Modell der Regulation und Gegenregulation in einem Gleichgewicht gehalten werden, lassen sich nach funktionellen Kriterien und nach strukturellen Eigenschaften unterscheiden.

Man unterscheidet die am Aufbau des Interstitiums beteiligten Bestandteile und die zu Zelloberflächen und fibrillären EZM-Komponenten assoziierten Proteine.

Die Unterscheidung nach strukturellen Eigenschaften differenziert in Vertreter der Gruppen von Kollagenen, Proteoglykanen und Glykoproteinen.

Der Hauptbestandteil der EZM des Herzens wird durch Kollagen gebildet. Es sind fünf verschiedene Typen von Kollagen vertreten, nämlich Kollagen Typ I und Kollagen Typ III-VI. Hierbei werden annähernd 85 % des Gesamtkollagens des Herzens von Kollagen Typ I gebildet, weitere 10 % bestehen aus Kollagen Typ III (Weber et al., 1994). Kollagen Typ I ist im gesamten Körper weit verbreitet als der häufigste Kollagentyp, welcher vor allem eine hohe Zugfestigkeit aufweist. Kollagen Typ III besteht aus retikulären Fasern, welche ein fein verzweigtes Netzwerk bilden.

Produziert wird die kollagene Matrix unter anderem durch die Fibroblasten. Es sind viele Faktoren bekannt, welche zu einer Induktion der Kollagensynthese führen (Pauschinger et al., 2002). Hierzu zählen Wachstumsfaktoren, zu denen auch Transforming Growth Factor β (TGF- β) gehört, Aldosteron, Angiotensin II sowie mechanische Beanspruchung in Form von Überdehnung des Myokards (Pauschinger et al., 2002). Die Funktion der kollagenen EZM des Herzens ist mannigfaltig. Sie dient als dreidimensionales Verbindungsnetz, das die durch einzelne Myozyten erzeugten Kräfte summiert und in eine organisierte ventrikuläre Kontraktion überträgt. Hierbei verbindet sie Myozyten untereinander und mit den sie umgebenden Gefäßen und verhindert so auch eine Verschiebung der Myozyten gegeneinander. Außerdem trägt sie zur myokardialen Relaxation während der Diastole bei und begünstigt die Wiederausdehnung der kontrahierten Myozyten (Weber et al., 1994). Durch den Erhalt der strukturellen Integrität wirkt sie einer Überdehnung sowie einer interstitiellen Ödembildung entgegen.

Als weitere Bestandteile der EZM des Herzens finden sich neben den von uns untersuchten Kollagenen kleinere Mengen an Elastin, des Weiteren die ebenfalls im Fokus dieser Arbeit stehenden Proteine Laminin, Fibronectin sowie Osteopontin.

Laminin (LAM) ist das extrazelluläre Matrixprotein, welches vor allem in der Basalmembran vorkommt. Man nimmt nach neueren Studien an, dass es das Wachstum von Zellen, ihre Differenzierung sowie auch die Migration bestimmter Zellen beeinflusst (Grimm et al., 1998).

Osteopontin (OPN) ist ein Phosphoprotein mit extrazellulärer und zytokiner Aktivität, das die Zellproliferation sowie die Adhäsion und Migration (Ashizawa et al., 1996) von

Zellen beeinflusst und das in vielen Gewebstypen exprimiert wird. Des Weiteren ist OPN ein wichtiger Mediator der profibrotischen Eigenschaften von Ang II (Rothermund et al., 2002) und gilt als bedeutender Mediator des kardialen EZM Remodelings. Es beinhaltet die Peptid-Sequenz Arginin-Glycin-Aspartat (RGD), welche durch verschiedene Integrine erkannt wird (Rothermund et al., 2002). Integrine sind transmembranöse Rezeptoren, die viele der durch Osteopontin oder andere Faktoren induzierten Zellfunktionen vermitteln. Ang II führt zu einer Hochregulation der β 1-Integrin-Rezeptor-mRNA-Expression und zu einem gesteigerten β 1-Integrin-Protein-Gehalt in kardialen Fibroblasten (Kawano et al., 2000) sowie zu einer Hochregulation von Osteopontin (Collins et al., 2003). Die Bindung von Osteopontin über Integrine führt zu einer fokalen Adhäsion von EZMP im Zusammenspiel mit Fibronektin. Die Osteopontin-Expression im Herzen bei Hypertrophie und Herzinsuffizienz ist gesteigert (Xie et al., 2004). In früheren Untersuchungen haben wir gezeigt, dass kardiale Fibroblasten, die aus Herzgewebe von Ratten mit chronischer Druckbelastung isoliert wurden, mehr extrazelluläre Matrixproteine produzierten als Kontroll-Fibroblasten (Grimm et al., 2001). Außerdem tragen vielfältige pathologische Vorgänge wie Infektionen oder Krebserkrankungen zu einer gesteigerten Expression von Osteopontin bei (Denhardt et Guo, 1993). Die kovalente Bindung dieses Proteins an die restliche EZM wird über einen intermolekularen Crosslink in Form einer N,N-bis-(gamma-glutamyl)-Polyamin-Verbindung zwischen OPN und Fibronektin erreicht (Beninati et al., 1994). Dieser nichtreduzierbare Crosslink kommt unter katalytischer Beteiligung der Transglutaminase TG zustande. TG ist ein in vielen Gewebetypen verbreitetes intra- und extrazelluläres Kalzium-abhängiges Enzym.

Fibronektin (FIB) ist ein Vertreter der Glykoproteine. Es verbindet wie beschrieben OPN kovalent mit der restlichen EZM und verkoppelt kardiale Myozyten mit der Basalmembran. Darüber hinaus bildet es vor allem mit Myofibroblasten (fibroblast-like cells) eine Verbindungsstruktur, die Fibronexus genannt wird und aus einer transmembranösen Verbindung zwischen Fibronektinfasern und Aktin-Mikrofilamenten besteht. Des Weiteren ist es in die Hypertrophie kardialer Myozyten involviert und trägt über Expressionssteigerung von profibrotischen Faktoren wie Connective tissue growth factor (CTGF) zu vermehrter Fibrose bei (Chen et al., 2004).

2.2.3 Extrazelluläre Matrix und Herzinfarkt

Die zellulären und molekularen Mechanismen zu erforschen, welche das so genannte Remodeling von kardialem Gewebe nach Herzinfarkt vermitteln, ist äußerst wichtig, da die verstärkte Ansammlung von extrazellulärem Matrixmaterial im Interstitium (Fibrose) mit der Entwicklung einer pathologischen Hypertrophie des Myokards in Verbindung gebracht werden konnte. Diese strukturellen Abweichungen induzieren Veränderungen der linksventrikulären Funktion sowie kardiale Fehlfunktion (Weber et al., 1991 u. 1993). Der komplexe Prozess des Remodelings nach einem Herzinfarkt führt zu vielfältigen Veränderungen der Eigenschaften des Herzens. Diese Veränderungen erstrecken sich auf biochemische, strukturelle und auch makroskopisch-geometrische Eigenschaften. Hierbei ist zu beachten, dass nicht nur die Myozyten, sondern vor allem auch die Fibroblasten des Herzens maßgeblich an dem Remodeling beteiligt sind. Im Rahmen des Remodelings kommt es zu einem Ersatz des nekrotischen Muskelgewebes durch ein Narbengewebe mit resultierendem Funktionsverlust des betroffenen Gebietes. Das Remodeling lässt sich in einen phasenhaften Verlauf einteilen. Nach einem ersten Schub von Kollagendegradation kommt zu einer gesteigerten Biosynthese von EZM-Proteinen (EZMP), vor allem von Kollagenen, durch die eine weitere Dehnung der Ventrikelwand mit drohender Ruptur im Infarktgebiet verhindert werden soll (Takino et al., 1999; St. John-Sutton et al., 2000).

Im Anschluss kommt es zu einem Wachstum von Kardiomyozyten und kardialen Fibroblasten sowie zu einer Ansammlung von EZMP sowohl in der Infarktregion als auch in der nicht-infarzierten Region (Lee et al., 2002). Die übermäßige Ablagerung von EZMP findet jedoch auch in den nicht-infarzierten Gebieten des Herzens statt. Es kommt zu einer Unelastizität des Gewebes, das Auftreten von Arrhythmien wird begünstigt, und letztlich führen die Veränderungen so zu einer systolischen und diastolischen Dysfunktion (Cleutjens et al., 2002). Diese schwerwiegenden morphologischen Veränderungen des linken Ventrikels (Remodeling) führen häufig zu einer Zunahme des linksventrikulären Kammervolumens, welche als ein Indikator für eine schlechte Prognose angesehen wird.

Bei diesen Veränderungen im Anschluss an einen Myokardinfarkt spielen die MMPs eine entscheidende Rolle. Diese werden u.a. durch Freiwerden von geschädigtem Kollagen aktiviert, wobei die gesteigerte Aktivierung wohl schon innerhalb einiger Stunden nach dem Infarkt ereignis stattfindet (Li et al., 2000). Fibroblasten und die in Reaktion auf Ischämie vermehrt entstehenden, phänotypisch veränderten fibroblast-like

cells oder Myofibroblasten fungieren neben Entzündungszellen als die Hauptproduzenten von MMPs. Hierbei werden sie durch vielfältige Faktoren wie vermehrt freigesetzte Zytokine, übermäßige mechanische Dehnung und oxidativen Stress zu vermehrter Sekretion von MMPs angeregt, sodass das oben geschilderte Gleichgewicht zwischen MMPs und TIMPs aus den Fugen gerät (Pauschinger et al., 2002). Für Angiotensin II (Ang II) konnte in diesem Zusammenhang eine stimulierende Wirkung nachgewiesen werden, indem es über Bindung an den AT1-Rezeptor Fibroblasten und fibroblast-like cells zu einer vermehrten Produktion von EZM anregt. Das neu entstandene Narbengewebe wird durch ein Gefäßnetzwerk versorgt, welches durch zahlreiche Vorgänge entsteht (Sun et al., 2002). So spielt die Angiogenese durch aus Nachbargeschäften einsprossende Endothelzellen ebenso eine Rolle wie die Vaskulogenese, bei der es zu einer Transdifferenzierung von Knochenmarkvorläuferzellen zu Endothelzellen kommt.

Der Vorgang des Remodelings ist maßgeblich durch die Vor- und Nachlast sowie durch neurohumorale Stimulation beeinflusst. Beide Faktoren beeinflussen das Remodeling auf verschiedene Arten (Grimm et al., 2001). Der spezifische Effekt von Ischämie und anschließender Reperfusion kann an dem *ex vivo*-Modell des isolierten arbeitenden Vierkammer-Schweineherzens studiert werden, welches ursprünglich von Nogueira et al. (2003) als schlagendes Herz beschrieben worden ist und durch unser Labor zu einem arbeitenden *ex vivo*-Herzen weiterentwickelt worden ist (Kossmehl et al., 2005). Der initiale Prozess des Remodelings wird unterteilt in eine frühe Phase (innerhalb der ersten 72 h) und eine späte Phase (nach 72 h), welche den gesamten linken Ventrikel betrifft und mit zeitabhängiger Dilatation, Veränderungen der ventrikulären Ausdehnung und linksventrikulärer Hypertrophie assoziiert ist.

Zunehmender Stress auf die Ventrikelwand resultiert durch die fortschreitende Dilatation sowie durch die Einbeziehung von Grenzzonenmyokard (St. John-Sutton et al., 2000) in die entstehende Narbe. Es ist gezeigt worden, dass Ischämie und Reperfusion in Kollagenschädigung resultieren kann, wobei der Beginn dieser Schädigung in schweren Fällen von Ischämie als früh und ausgedehnt betrachtet wird (Whittacker 1995, Takahashi et al., 1990).

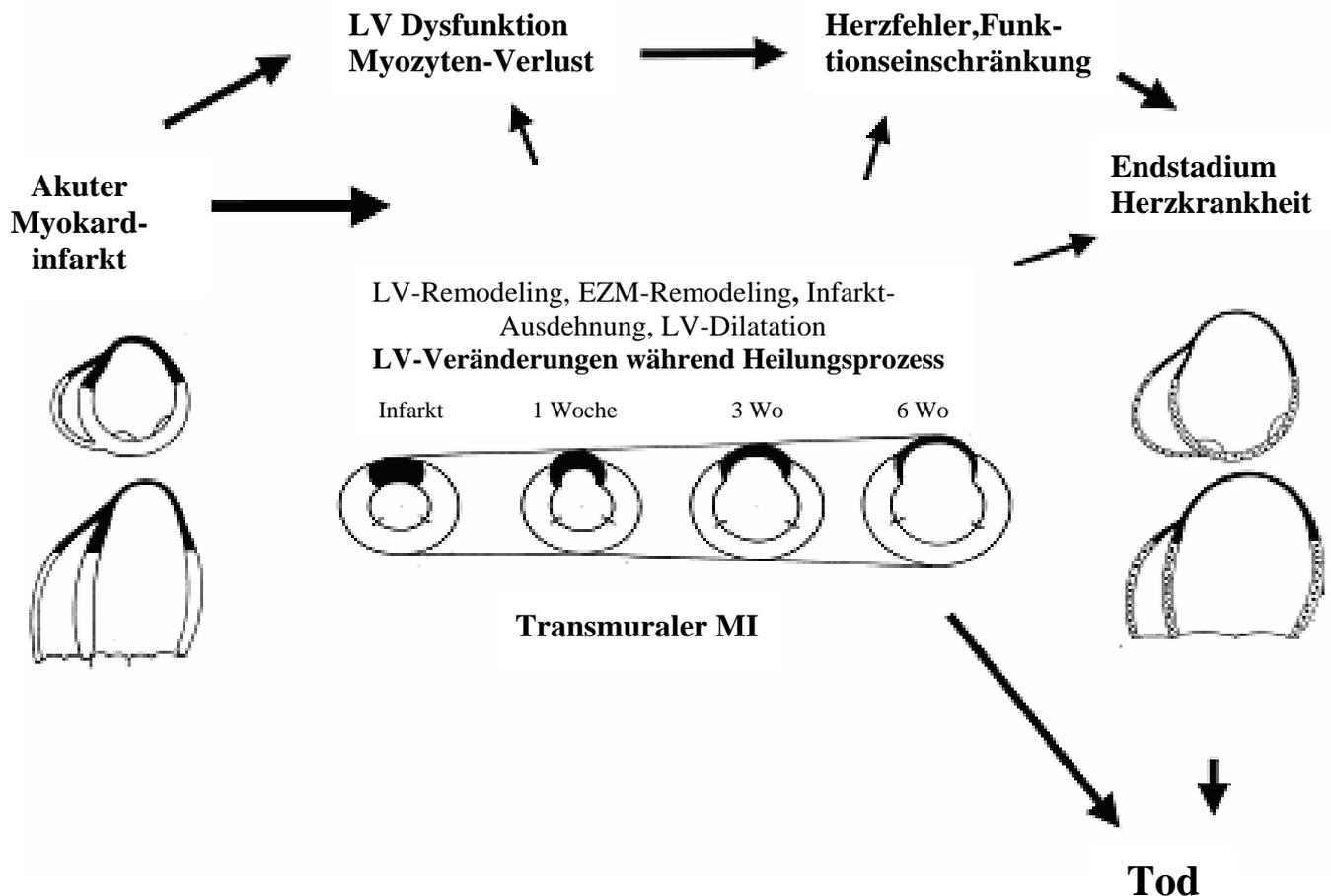


Abb. 3: Folgen des akuten Myokardinfarkts, Remodeling; abgeändert von Jugdutt, Circulation, 2003

Demgegenüber ist über die Expression von Fibronectin und anderer EZMP nach durch Ischämie und Reperfusion verursachter kardialer Schädigung nur wenig bekannt. Durch immunhistochemische Methoden zeigten Casscells et al. (1990), dass 4 h nach einer Koronararterienligation bei Ratten in dem Gebiet der ligierten Arterie Fibronectin im Zytoplasma und im interstitiellen Raum einiger der Myozyten vorkam. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Plasma-Fibronectin 25 min nach einem akuten Myokardinfarkt deutlich erhöht ist (Serebruany et al., 1998).

Eine frühe Reperfusion begünstigt eine effektivere Gewebsreparatur und vermindert die ventrikuläre Dilatation; allerdings konnte auch gezeigt werden, dass eine mit der Reperfusion ebenfalls einhergehende intensive Entzündungsreaktion zu der Schädigung des Myokards beiträgt (St. John-Sutton, 2000).

Osteopontin (OPN) ist wie oben beschrieben ein weiteres Protein der EZM. OPN-1 mRNA wurde erhöht festgestellt nach einer 1-stündigen Okklusion und 5-stündiger Reperfusion am Ischämie- und Reperfusions-Modell des Kaninchenherzens. OPN wird

u.a. durch Makrophagen, glatte Muskelzellen und Endothelzellen, aber auch durch kardiale Fibroblasten und Kardiomyozyten bei verschiedenen Herzkrankheiten gebildet (Singh et al., 1995; Ashizawa et al., 1996). Demgegenüber ist wenig bekannt über seine Rolle in der frühen Phase der Ischämie. Die früh hochregulierte Genexpression ist wahrscheinlich von Bedeutung für den postinfarziellen Remodelingprozess, denn OPN wird als ein wichtiger Mediator der profibrotischen Effekte von Ang II im Herzen angesehen (Schnee et al., 2000). Die genaue Bedeutung von OPN für den frühen Remodelingprozess ist bislang noch nicht bekannt und verstanden.

2.3 Fibroblasten, Myofibroblasten und Transforming Growth Factor- β 1

Im gesunden Herz wird lediglich 1/3 der Zellpopulation durch Myozyten gebildet, während die Mehrzahl der anderen Zellen aus Fibroblasten besteht (Maisch, 1995). Fibroblasten spielen eine wichtige Rolle hinsichtlich der Zusammensetzung der EZM, indem sie für die Produktion der EZM-Proteine ebenso verantwortlich sind wie auch für ihre Regulation durch Produktion von MMPs (s.o.). Des Weiteren sind sie in die Signaltransduktion zwischen benachbarten Zellen integriert, wobei der genaue Mechanismus noch nicht geklärt werden konnte.

Durch äußere Stressfaktoren können die Fibroblasten zu einer Änderung ihres Phänotyps veranlasst werden. Zu diesen Stressfaktoren gehört eine mechanische Dehnung im Rahmen einer hypertensiven Herzerkrankung ebenso wie eine Ischämie im Rahmen eines Myokardinfarkts. Darüber hinaus wird eine Beteiligung von TGF- β ₁ diskutiert (Walker et al., 2004). Die umdifferenzierten, phänotypisch unterschiedlichen Zellen werden fibroblast-like cells (FLC) oder auch Myofibroblasten (myoFB) genannt, da sie α -smooth muscle actin positiv sind (Weber et al., 1997). Im gesunden Herzen sind FLC mit Ausnahme der Herzklappen nicht vorhanden (Sun et al., 2000).

FLC unterscheiden sich nicht nur in ihrem Phänotyp von Fibroblasten, sondern auch in ihrem Verhalten. Sie zeichnen verantwortlich für die Umstrukturierung des Myokards und Bildung der Infarktnarbe im Anschluss an einen Herzinfarkt (kardiales Remodeling), indem sie Kollagen Typ I und Typ III produzieren (Hsueh et al., 1998). Darüber hinaus produzieren sie auch Fibronectin und Laminin als weitere Bestandteile der EZM. Es scheint, dass sie durch Produktion von Faktoren wie Ang II und TGF- β ₁ ihre Regulation selbst übernehmen (Weber, 1997). FLC können im Anschluss an einen Infarkt nach 3-4

Tagen im Herzgewebe nachgewiesen werden (Sun et al., 1997), und sie persistieren in diesem bis lange nach Abschluss der Remodeling-Vorgänge.

FLC haben eine hohe metabolische Aktivität und exprimieren neben den oben genannten Faktoren Ang II- und TGF- β_1 -Rezeptoren sowie Angiotensin converting enzyme (ACE), Cyto- und Chemokine sowie Proteasen (Sun et al., 2002). Wie schon erwähnt, spielt TGF- β_1 eine entscheidende Rolle bei der Umdifferenzierung von Fibroblasten in Myofibroblasten und somit bei der Entstehung von kardialer Fibrose im Anschluss an einen Herzinfarkt. So zeigten Desmoulière et al. (1993) an kultivierten Fibroblasten der Haut sowie Garrett et al. (2004) an kultivierten kornealen Fibroblasten, dass diese Zellen nach TGF- β_1 -Behandlung in Myofibroblasten umdifferenzierten. Walker et al. (2004) konnten diesen transdifferenzierenden Effekt von TGF- β_1 an interstitiellen Zellen von Schweineaortenklappen zeigen. Ebenso konnte in anderen Studien gezeigt werden, dass nach subkutaner Applikation von TGF- β_1 im entstehenden Granulationsgewebe fibroblast-like cells erschienen (Frazier et al., 1996), jedoch nicht nach Behandlung mit TNF- α oder Platelet derived growth factor.

Die fibrotische Wirkung von TGF- β_1 wird durch klinische Studien wie von Li et al. (2002) belegt, welche bei Patienten mit idiopathischer hypertropher Kardiomyopathie eine Überexpression von TGF- β_1 -mRNA feststellen konnten. Einige andere *in vitro* Untersuchungen zeigen, dass TGF- β_1 die Expression von Fibronectin und Kollagen in kardialen Fibroblasten stimuliert (Petrov et al., 2002; Kupfahl et al., 2000; Agocha et al., 1997) und somit eine wichtige Rolle beim kardialen Remodeling und vor allem bei der kardialen Fibrose spielt.

2.4 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) stellt ein klassisches endokrines Hormonsystem dar. Seit den neunziger Jahren gesellen sich zunehmend Erkenntnisse über ein im Gewebe lokalisiertes parakrin/autokrin funktionierendes RAAS hinzu (Ostrom et al., 2003; Ruiz-Ortega et al., 2001). Das RAAS als eine koordinierte Hormonkaskade beeinflusst eine Vielzahl von Organsystemen, wobei das zirkulierende endokrine RAAS vor allem für akute Effekte wie zum Beispiel kurzfristige homeostatische Reaktionen verantwortlich sein soll, während das Gewebs-RAAS in eine langfristig wirkende Kontrolle von Blutdruck sowie auch von Organwachstum und –funktion eingebunden ist (Dzau 1988, Lavoie und Sigmund, 2003). Es reguliert somit die

Funktion des kardiovaskulären Systems, die Nierenfunktion sowie die Nebennierenfunktion.

2.4.1 Das zirkulierende endokrine Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Am Beginn der Enzymkaskade steht das Gewebshormon Renin, das in den Granulazellen der Niere synthetisiert und bei einem Absinken des arteriellen Drucks aus den juxtaglomerulären Zellen der Niere freigesetzt wird (Beevers et al., 2001). Ein solches Absinken kann durch Salz- und Volumenmangel sowie durch eine Perfusionsfluss-Verminderung ebenso wie durch ein Absinken des Blutdrucks hervorgerufen werden (Kaschina et Unger, 2003). Das freigesetzte Renin befindet sich im zirkulierenden Blutvolumen, wo es durch enzymatische Reaktion aus dem in der Leber gebildeten Vorläuferprotein Angiotensinogen Angiotensin I (Ang I) abspaltet. Das entstandene Ang I wird durch das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) rasch in Angiotensin II (Ang II) konvertiert, welches das eigentliche Effektorhormon darstellt. ACE wird unter physiologischen Bedingungen hauptsächlich im Gefäßendothel der Lunge exprimiert (Guyton et Hall, 1996). Das entstandene Ang II ist ein potenter Vasokonstriktor v.a. arterieller Gefäße, sodass seine Freisetzung in einem Ansteigen des totalen peripheren Widerstandes und somit des Blutdrucks resultiert. Zudem führt es zu einer Freisetzung von Aldosteron aus der Nebenniere, welches u.a. zu einer Natriumretention und somit zu einem Ansteigen des zirkulierenden Blutvolumens führt.

2.4.2 Das gewebsspezifische Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Während Ang II früher lediglich in der Rolle des in das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) eingebundenen Regulatorhormons betrachtet wurde, welches den Blutdruck sowie die Aldosteronfreisetzung regelt und somit auch auf den Salzhaushalt des Körpers Einfluss nimmt, so ist während der letzten Jahre klar geworden, dass vor allem lokal gebildetes Ang II darüber hinaus noch bedeutende andere Funktionen im Körper wahrnimmt und auch an pathologischen Prozessen beteiligt ist (Ostrom et al., 2003; Ruiz-Ortega et al., 2001).

Dieses lokal in verschiedenen Gewebstypen wie dem Herzen, der Niere und den Arterien vorkommende Ang II vermittelt nach der Sekretion autokrin und parakrin verschiedene Effekte (Dzau et al., 2001). Unter physiologischen Bedingungen trägt es hierbei v.a. zur Aufrechterhaltung des Gefäßtonus sowie der Gefäßstruktur bei. Es nimmt direkten Einfluss auf die Funktion des Endothels, wobei erhöhte Level von Ang II

im Endothel zu einer Induktion von oxidativem Stress führen (Griendling et al., 1994). Dieser resultiert in einer endothelialen Dysfunktion bis hin zu einer Entzündungsreaktion unter Einbeziehung von chemotaktisch angelockten Monozyten. So begünstigt es die Adhäsion von Blutmonozyten an die Oberfläche von Gefäßendothelien durch Induktion der Expression von Adhäsionsmolekülen wie auch dem VCAM-1, was im Hinblick auf die Entstehung der Atherosklerose eine wichtige Rolle spielt. Es ist mittlerweile eine Vielzahl an weiteren Mechanismen beschrieben worden, über die Ang II zur Pathogenese dieser Erkrankung beiträgt.

So führt es zur Freisetzung des hochpotenten Vasokonstriktors Endothelin-1 aus Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen (Imai et al., 1992; Griendling et al., 1997). Darüber hinaus induziert Ang II oxidativen Stress, welcher ebenfalls zu einer gestörten Endothelfunktion beiträgt.

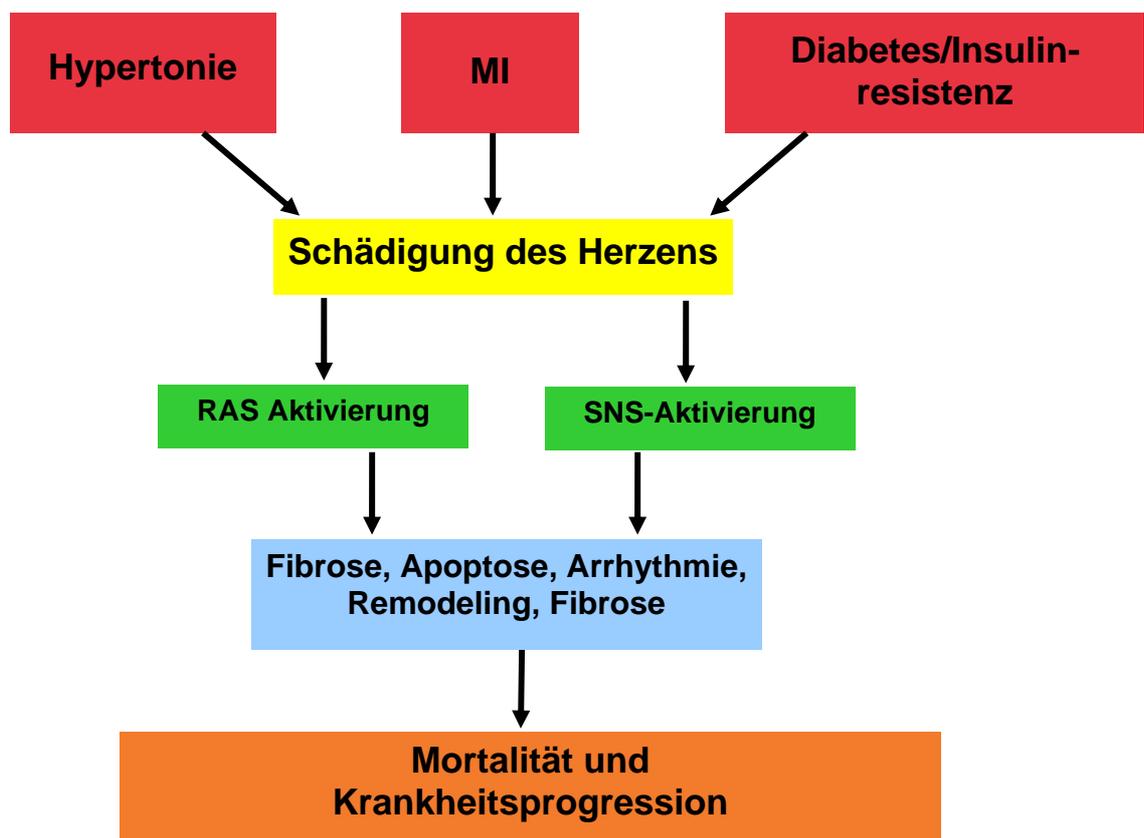


Abb. 4: Neurohumorale Pfade des Herzfehlers, abgeändert von Prof. G. Fonarow, University of California, Los Angeles

Es ist bekannt, dass Ang II eine wichtige Rolle für den Remodeling-Prozess nach einem Myokardinfarkt sowie beim Bluthochdruck spielt (Weber et al., 1994). Ang II hat

Eigenschaften eines Wachstumsfaktors, indem es die Proliferation isolierter kardialer Fibroblasten der Ratte induziert (Osrom et al., 2003), die Expression von Vascular Endothelial Derived Growth Factor (VEGF) in Endothelzellen des Rattenherzens induziert (Chua et al., 1998) sowie Myofibroblasten aus dem Infarktgebiet von Rattenherzen zur Expression von VEGF sowie des VEGF-Rezeptors fms-like tyrosine kinase (Flt-1) anregt (Chintalgattu et al., 2002).

Weiterhin verstärkt es die Synthese von Kollagen und Fibronectin (Kim et al., 1999; Villarreal et al., 1993). Darüber hinaus haben Crabos et al. (1994) ebenso wie Zhou et al. (1996) gezeigt, dass kardiale Fibroblasten adulter Ratten auf die Zugabe von Ang II direkt mit einer Steigerung ihrer Kollagenproduktion reagieren. Ferner beschrieben andere Gruppen wie Lee et al., 1995, Campbell et al., 1997, Ju et al., 1996 oder Gray et al., 1998, dass Ang II indirekt die Produktion von extrazellulären Matrixproteinen steigert, indem es die Expression von Faktoren wie zum Beispiel TGF- β_1 mittels para- oder autokriner Schleifen induziert. Im Rattenherz führt Ang II zu einer Hochregulation der Produktion von TGF- β_1 sowie gleichzeitig zu einer vermehrten Expression des TGF- β_1 -Rezeptors (Rezeptor I und II) auf der Oberfläche von Zellen glatter Gefäßmuskulatur (Lee et al., 1995; Siegert et al., 1999). Es gibt starke Hinweise darauf, dass diese Effekte über eine Aktivierung von Wachstumsfaktor-Rezeptoren wie Epidermal Growth Factor-Rezeptor (EGF-R) und Aktivierung einer Signalkaskade (Moriguchi et al., 1999; Eguchi et al., 2003) induziert werden.

Auch Osteopontin wird von kardialen Fibroblasten der Ratte nach Ang II vermehrt exprimiert (Iwami et al., 1996).

Des Weiteren hat Ang II Einfluss auf das Apoptose-Verhalten von Zellen. So konnten Dimmeler et al. (2004) zeigen, dass es in Endothelzellen Apoptose induziert. Weiterhin ist Ang II ein wichtiger proinflammatorischer Stoff (Ruiz-Ortega et al., 2001), der zur Freisetzung zahlreicher proinflammatorischer Mediatoren führt.

Es wird deutlich, dass Ang II in eine große Vielfalt von Prozessen und Mechanismen eingebunden ist, weshalb es nach wie vor Gegenstand intensiver Forschung ist.

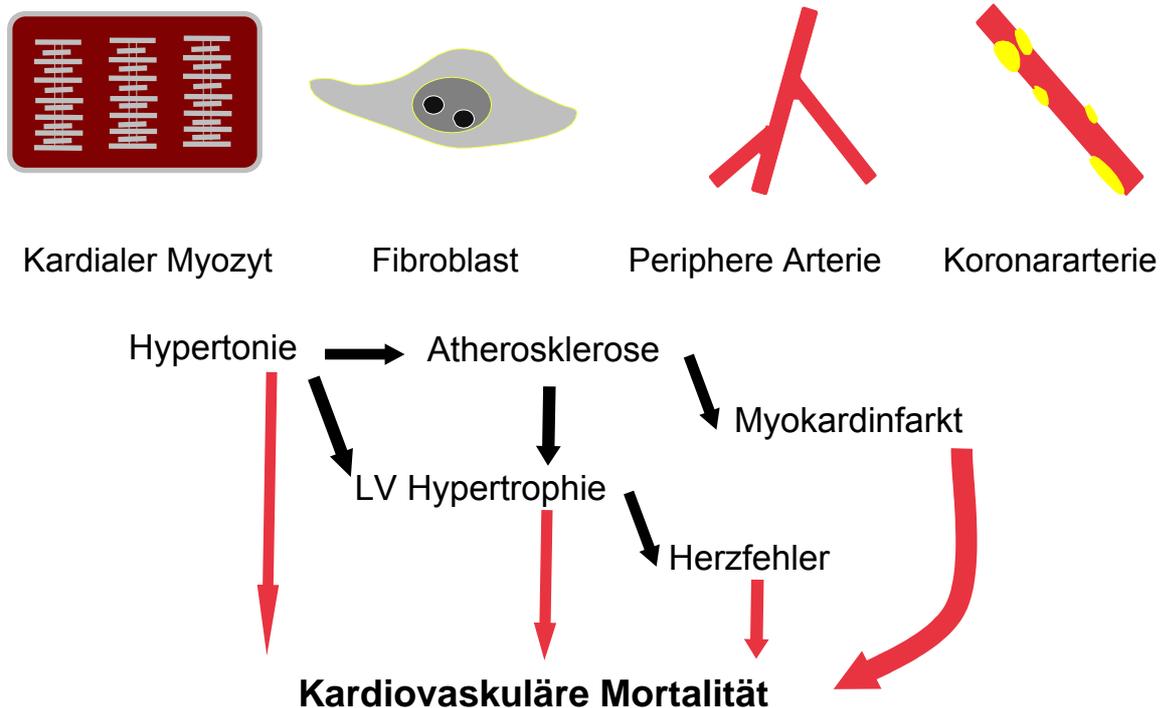


Abb. 5: Effekte neuroendokriner Aktivierung, abgeändert von Prof. G. C. Fonarow, University of California, Los Angeles

2.5 VEGF, Flt-1 und Flk-1

Das kardiovaskuläre System ist das erste Organsystem, welches in der embryonalen Entwicklung einen funktionsfähigen Zustand entwickelt und erreicht (Hamilton et al., 1962), wobei die initialen Schritte aus der Entstehung von Gefäßen, der Vaskulogenese bestehen (Risau et al., 1995). Aber nicht nur für die Entwicklung des Embryos, sondern auch für Gewebsreparaturen und die Fortpflanzungsfunktionen des erwachsenen Organismus ist die Vaskulogenese von essentieller Bedeutung (Folkman 1995). Darüber hinaus ist sie an der Pathogenese einer Vielzahl von Krankheiten beteiligt (Folkman 1995, Garner 1994).

Einen der wichtigsten proangiogenetischen Faktoren stellt der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dar (Ferrara 2004). Er wirkt mitogen, angiogen und steigert die Permeabilität von Blutgefäßen. VEGF ist ein Heparin-bindendes homodimeres Glykoprotein (Ferrara et al., 1989). Die Familie der VEGF umfasst bis dato sieben Mitglieder, nämlich VEGF-A bis VEGF-F sowie PlGF, von denen alle eine gemeinsame

VEGF-homologe Domäne aufweisen. Die Gen-Expression von VEGF wird über mehrere Faktoren reguliert. Eine Induktion der Gen-Expression erfolgt u.a. durch Hypoxie (Dachs et Tozer, 2000; Tsuzuki et al., 2000), durch Hypoglykämie, durch unterschiedliche Zytokine und Wachstumsfaktoren wie TGF- β_1 und Fibroblast Growth Factor (FGF) (Esch et al. 1985; Gospodarowicz et al., 1987) sowie auch durch Ang II (Chua et al., 1998; Chintalgattu et al., 2002) und durch Hormone wie z.B. Östrogene und Testosteron (Shweiki et al., 1993; Ruohola et al., 1999). Es konnte kürzlich gezeigt werden, dass kardiale Myofibroblasten aus infarzierten Herzen VEGF und den Rezeptor Flt-1 exprimieren und dass die Expression durch Behandlung mit Ang II gesteigert wird.

2.5.1 VEGF-A

Im Hinblick auf kardiovaskuläre Ischämie z.B. im Rahmen einer KHK spielt vor allem VEGF-A eine wichtige Rolle. Es ist ein dimeres, Disulfid-gebundenes Glykoprotein von 34-42 kDa, welches in weitere Isoformen unterteilt werden kann (Hoeben et al., 2004). Von diesen besitzen einige Formen eine heparinbindende Domäne, welche eine feste Bindung zu Proteoglykanen der EZM vermittelt, während die Formen ohne diese Domäne in löslicher Form vorliegen (Hoeben et al., 2004).

Bei der KHK kommt es zu einem Verschluss von Koronargefäßen mit einer Ischämie im nachfolgenden Stromgebiet. Die im Rahmen einer progredienten kardialen Ischämie neu gebildeten Kollateralgefäße sind ein unter Klinikern bestens bekanntes Phänomen und verbessern die kardiale Situation des Patienten oftmals entscheidend. Die Vermittlung dieser Neovaskularisation erfolgt über myokardiales VEGF-A, und der maßgebliche Induktor stellt der verminderte Sauerstoffpartialdruck dar (Dor et al., 2001; Semanza 2003). Vermittelt wird die gesteigerte VEGF-A-Gen-Expression über den Transkriptionsfaktor Hypoxia-inducible protein complex (HIF-1), der ein Heterodimer darstellt und aus HIF-1 α und HIF-1 β besteht (Hoeben et al., 2004). Während HIF-1 β kontinuierlich exprimiert wird und stabil ist, wird HIF-1 α unter normoxischen Konditionen hydrolysiert (Iyer et al., 1998) und ist nur unter hypoxischen Konditionen stabil. In solchen bilden die beiden Untereinheiten den funktionsfähigen Transkriptionsfaktor, der an die Enhancer Sequenz des VEGF-A-Gens bindet und die Transkription induziert.

Für den exprimierten VEGF stehen mehrere Tyrosin-Kinase-Rezeptoren zur Verfügung, nämlich der Rezeptor fms-like tyrosine kinase (Flt-1 oder VEGFR-1) und der Rezeptor fetal liver kinase (Flk-1 oder VEGFR-2). Darüber hinaus ist noch ein weiterer Rezeptor

bekannt, der fms-like tyrosine kinase 4 (FLT-4 oder VEGFR-3). Diese Rezeptoren sind bislang auf der Zelloberfläche von Gefäßendothelzellen (Jakeman et al., 1992; Jakeman et al., 1993) sowie auf Zellen aus dem Knochenmark wie z.B. Monozyten gefunden worden (Shen et al., 1993). Des Weiteren konnte kürzlich auf kardialen Myofibroblasten des infarzierten Herzens die Expression von Flt-1 und Flk-1 nachgewiesen werden (Chintalgattu et al., 2002). FLT-4 ist weitestgehend auf Endothelzellen lymphatischer Gewebe beschränkt.

2.5.2 Rezeptoren Flt-1 und Flk-1

Beide Rezeptoren sind eng miteinander verwandte Tyrosin-Kinasen, die aus sieben Ig-ähnlichen Domänen im extrazellulären Anteil, einer einzelnen transmembranösen Region und einer Tyrosin-Kinase-Sequenz bestehen. Sowohl Flt-1 als auch Flk-1 werden auf der Oberfläche der meisten Blutgefäß-Endothelzellen exprimiert und konnten auch an kultivierten kardialen Myofibroblasten des infarzierten Rattenherzens nachgewiesen werden (Chintalgattu et al., 2002). VEGF-A bindet an beide Rezeptoren. Die Expression des Flt-1, aber nicht des Flk-1 wird von VEGF mit Hilfe eines HIF-1-abhängigen Mechanismus durch Hypoxie gesteigert (Gerber et al., 1997). Die Bindung von VEGF-A an Flt-1 bewirkt eine Autophosphorylierung des Tyrosins (de Vries et al., 1992). Der genaue Effekt der Rezeptorbindung ist noch immer Gegenstand von Untersuchungen und wahrscheinlich auch abhängig vom Entwicklungsstadium und dem Zelltyp (z.B. Endothelzelle oder Monozyt). Zeng et al. (2001) haben postuliert, dass Flt-1-Aktivierung in einer aktiven Inhibition der Flk-1-abhängigen Zellproliferation resultiert. Jüngere Untersuchungen von Adini et al. (2002) legen nahe, dass Flt-1 unter bestimmten Umständen auch antiapoptotische Effekte vermitteln kann. Unabhängig von dieser noch unklaren Situation hat eine Studie von Fong et al. (1995) gezeigt, dass Flt-1 in der embryonalen Entwicklung eine essentielle Rolle spielt und ein gentechnisch bei Mäusen erwirktes Fehlen des Flt-1 in einem Absterben der Embryos nach wenigen Tagen resultiert.

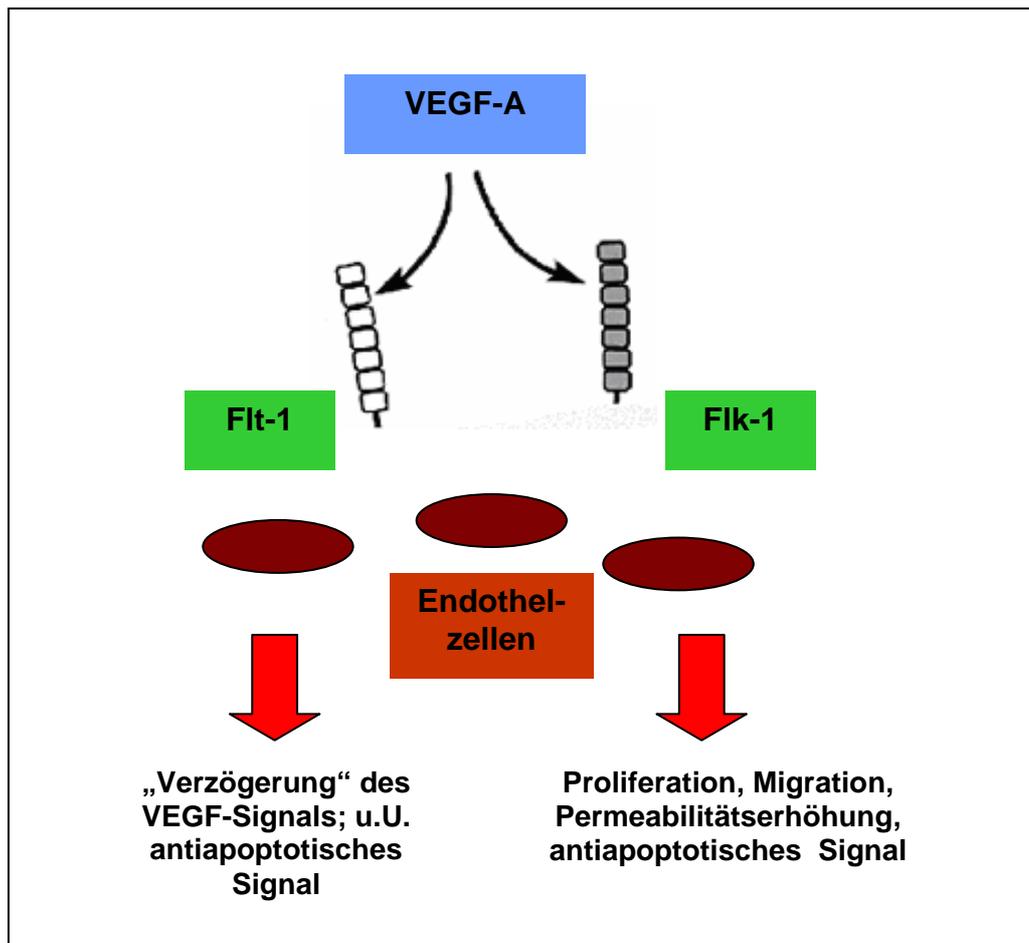


Abb. 6: Schema der wichtigsten Effekte von VEGF an Flt-1 und Flk-1, abgeändert nach Ferrara 2004

Der Flk-1-Rezeptor ist für die Vermittlung der wichtigsten Effekte von VEGF verantwortlich. Seine Aktivierung hat mitogene und angiogene Effekte und bewirkt eine Erhöhung der Permeabilität von Blutgefäßen. Darüber hinaus vermittelt der Flk-1-Rezeptor antiapoptotische Effekte, was u.a. Gerber et al. (1998) an Endothelzellen der menschlichen Nabelschnurvene belegen konnten.