

5. Zusammenfassung

Die Funktion von HMWK als Cystein-Proteasen-Inhibitor ist schon seit längerem bekannt, jedoch wurden Interaktionen im Gewebe- bzw. Zellsystem als auch die Involvierung in pathophysiologische Vorgänge bisher nicht untersucht.

Die Apoptose von VSMC nimmt eine zentrale Stellung in der Pathogenese von vaskulären Pathologien, wie z.B. des AAA ein. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob HMWK eine inhibitorische Wirkung auf Cystein-Proteasen in VSMC ausübt und dies somit zu einer verringerten Aktivität der Cystein-Proteasen und Inhibierung der Apoptose in VSMC führt.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass HMWK konzentrationsabhängig die Apoptose, gemessen über die Aktivierung von Caspase-3 als auch die Gesamtapoptoserate, gleichermaßen in VSMC von BN und BN/Ka beeinflusste. Es erfolgte in dem verwendeten Apoptoseinduktions-Modell sowohl eine Inhibierung der extrinsischen apoptotischen Kaskade als auch der intrinsischen apoptotischen Kaskade durch HMWK durch eine Hemmung der Aktivierung der jeweiligen Initiator-Caspasen und der Freisetzung von lysosomalen und mitochondriellen Proteinen. Darüberhinaus stimulierte HMWK, abgesehen von der Cystein-Proteasen-inhibitorischen Eigenschaft, zugleich anti-apoptotische Mechanismen, wie Bcl-X_L und phospho-42/44 MAPK. Die beobachteten Effekte waren unabhängig von Bradykinin. Der Vergleich von BN und den defizienten BN/Ka zeigte für letztere erhöhte basalen mRNA-Expressionslevel für apoptotischen Proteine sowie reduzierte Level für das anti-apoptotische Proteine. Expressionsuntersuchungen ergaben keine HMWK mRNA Produktion in VSMC. In einem Rettungs-Experiment konnte gezeigt werden, dass ebenfalls durch endogene HMWK-Produktion die Apoptoserate gesenkt wird. Verschiedene Aufnahmestudien mit fluoreszenzmarkiertem HMWK ergaben eine zeitabhängige und irreversible Aufnahme von HMWK in das Zytosol von VSMC, die nicht durch einen Endozytose-Inhibitor blockierbar war. Zudem wurde eine hohe Kolo-kalisation von HMWK mit aktiven apoptotischen Proteasen festgestellt und somit ein erster mechanistischer Ansatz für die inhibitorische Wirkung von HMWK auf Cystein-Proteasen aufgezeigt.

Daraus ergeben sich fortführende Hypothesen, in denen sowohl die spezifischen inhibitorischen Eigenschaften der einzelnen HMWK-Domänen und der zelluläre

Aufnahmemechanismus durch VSMC als auch die Übertragung der gefundenen Ergebnisse auf das BN/Ka-Versuchsmodell weiter zu definieren sind. Desweiteren bieten erste pharmakologisch-interventive Ansätze, mit z.B. ACE-Hemmern, AT1-Rezeptor-Blockern, Fibraten und Tetracyclinen, die Möglichkeit der Untersuchung der Beeinflussung des pathologischen HMWK-Mangels.