

1. ZUSAMMENFASSUNG

Die chronische Herzinsuffizienz gehört weltweit zu den Hauptursachen für Morbidität, Sterblichkeit und steigende Gesundheitskosten und wird in den kommenden Jahren durch die zunehmende Lebenserwartung und die Verbesserung von Diagnostik und Therapie weiter an Bedeutung gewinnen. Die Progression der Herzinsuffizienz wird durch die Aktivierung neurohormonaler Systeme (v.a. des RAAS und des sympathischen Systems) mitbestimmt. Sie findet ihr Korrelat in kardialen Remodelingprozessen, die zellulär durch eine Hypertrophiereaktion und interstitiell durch eine Fibroseinduktion gekennzeichnet sind.

TGF β_1 ist in verschiedenen Geweben wesentlich an Umbauprozessen beteiligt. Im Myokard wird TGF β_1 insbesondere beim Übergang zur manifesten Herzinsuffizienz vermehrt exprimiert. In Voruntersuchungen an Alb/TGF β_1 (Cys^{223,225}Ser)-transgenen Mäusen konnte dargelegt werden, dass TGF β_1 -Überexpression *in vivo* zu einer relevanten Myokardhypertrophie mit pathologischen morphologischen und funktionellen Veränderungen führt und in einer Übersterblichkeit resultiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand des Alb/TGF β_1 (Cys^{223,225}Ser)-transgenen Mausmodells untersucht, inwieweit die kardialen Veränderungen direkt durch TGF β_1 bzw. indirekt über andere Systeme verursacht werden. Hierzu wurden transgene Tiere gruppenweise entweder mit dem β_1 -selektiven Adrenozeptor-Antagonisten Metoprolol, dem AT $_1$ -Rezeptor-Antagonisten Telmisartan oder einem spezifischen TGF β_1 -Rezeptor-Antikörper (sTGF β_1 -R-Ab-Fc) behandelt und mit unbehandelten Kontrollen und Wildtypen bezüglich Hypertrophie und Fibrose im linksventrikulären Myokard verglichen. Im Einzelnen wurden Expressionsanalysen von MMPs und TIMPs auf Protein- und Nukleinsäureebene mittels Western Blot, Zymographie und quantitativer Real-Time-PCR durchgeführt. Die Evaluation von zellulärer Morphologie und interstitiellem Kollagengehalt erfolgte durch morphometrische Analysen immunhistochemisch gefärbter Paraffinschnitte sowie Expressionsanalysen von ANF- und Pro-Kollagen-mRNA mittels quantitativer Real-Time-PCR.

Die transgenen Tiere zeigten gegenüber den Wildtypen einerseits eine Zunahme des Herzgewichtes und der mikromorphometrischen Zelldimensionen sowie eine Heraufregulation der ANF-Expression als Ausdruck der Hypertrophiereaktion, andererseits eine erhöhte interstitielle Kollagendeposition sowie eine Herabregulation der MMP- und Heraufregulation der TIMP-Expression als Determinanten der Fibrosierung. β -Adrenozeptor- und TGF β_1 -Antagonismus bewirkten vorrangig antihypertrophe Effekte, welche unter Metoprolol stärker ausgeprägt waren als unter sTGF β_1 -R-Ab-Fc. AT $_1$ -Rezeptor-Antagonismus durch Telmisartan induzierte dagegen prädominant eine Regression der interstitiellen Fibrose. Insbesondere die antifibrotische Komponente des AT $_1$ -Rezeptor-Antagonismus eröffnet die Option eines spezifischeren und differentielleren Einsatzes der etablierten Basismedikamente in der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. Die Ergebnisse liefern zudem eine weitere pathophysiologische Erklärung für die häufig in klinischen Studien belegte synergistische Wirkung der Inhibition von RAAS und sympathischem System. Möglicherweise stellt die Verbindung zu TGF β_1 eine gemeinsame Endstrecke dieser Therapieansätze dar.

SUMMARY

Chronic heart failure represents one of leading causes of morbidity, mortality and rising economic health costs worldwide. Due to increasing life expectancy and continuing improvements in diagnostic and therapeutic procedures it will become even more important in the next decade. Activation of neurohormonal systems (in particular activation of the RAAS and the sympathetic system) enhances the progression of heart failure by modulating cellular hypertrophy and interstitial fibrosis and thus by inducing cardiac remodeling.

TGF β_1 is known to promote extracellular turnover as well as to interfere with signal transduction in many different tissue types. In the heart TGF β_1 -expression is elevated especially during the transition to manifest decompensating congestive failure. As shown in previous studies focussing on Alb/TGF β_1 (Cys^{223,225}Ser)-transgenic mice overexpression of TGF β_1 in vivo entailed myocardial hypertrophy characterised by morphological as well as functional alterations and resulted in excessive mortality rates.

By using the Alb/TGF β_1 (Cys^{223,225}Ser)-transgenic mice model this study aimed at differentiating direct effects of TGF β_1 from secondary effects following neurohormonal activation. Transgenic mice separated in groups were treated either with the β_1 -selective adrenoceptor-antagonist metoprolol, the AT $_1$ -receptor-antagonist telmisartan or a specific TGF β_1 -receptor-blocking antibody (sTGF β_1 -R-Ab-Fc) and compared with non-treated controls and wild type mice as to hypertrophy and fibrosis in left ventricular myocardium. Expression analyses of MMPs and TIMPs were performed by immunoblotting (Western blot), proteinase activity assays (zymography) and quantitative real-time PCR both at the level of protein and of nucleic acid. Cellular morphology and interstitial collagen content were studied by morphometric analysis of immunohistochemically stained paraffin cuts in addition to expression analyses of ANF- and pro-collagen-mRNA using quantitative real-time PCR.

In contrast to the wild type mice the transgenic mice showed a significant increase in heart weight and micromorphometric cellular dimensions as well as an up-regulation of ANF-expression reflecting the hypertrophic response. Moreover they displayed a significantly elevated interstitial collagen content and relevant changes in turnover regulation with down-regulation of MMP- and up-regulation of TIMP-expression resulting in enhanced interstitial fibrosis. β_1 - and TGF β_1 -antagonism mainly attenuated hypertrophy and in doing so metoprolol seemed to be more effective than sTGF β_1 -R-Ab-Fc. In contrast AT $_1$ -receptor-antagonism by telmisartan treatment predominantly abolished extracellular fibrosis. This antifibrotic effect of AT $_1$ -receptor-antagonism in particular may enable a more specific and differentiated use of established pharmacological strategies in the treatment of chronic heart failure. Furthermore these data lead to a better understanding of the pathophysiological interactions in cardiac remodeling and reflect the synergistic effects of inhibition of both, RAAS and sympathetic system, often mentioned in clinical studies. TGF β_1 seems to play a key role in this complex network promoting cross-talk mechanisms and thus linking the different pharmacological strategies.