

# Apoptose ved hjerte- og karsykdom

## Sammendrag

**Bakgrunn.** Apoptose er en naturlig del av normal vekstregulering, men er også assosiert med hjerte- og karsykdom.

**Materiale og metode.** Basert på tilgjengelige publikasjoner gis en oversikt over betydningen av apoptose ved hjerte- og karsykdom.

**Resultater.** Apoptose skiller seg fra onkotisk celledød ved at cellen dør med intakt cellemembran og uten påfølgende inflammasjon. Hjerte- og karsykdom er blant annet assosiert med patologisk celledød grunnet apoptose. Dette sees bl.a. ved hjertesvikt, etter hjerteinfarkt, i transplantater, ved myokarddifter, i arteriosklerotiske plakk og ved medfødte hjertesykdommer.

**Fortolkning.** Apoptose synes å være en medvirkende faktor ved utvikling av hjerte- og karsykdom. Tilgjengelige medikamenter som betablokkere, ACE-hemmere og angiotensin II-reseptorblokkere er blitt rapportert å kunne hemme apoptose. Spesifikk hemming av signalsystemet som utløser apoptose er under utvikling.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på [www.tidsskriftet.no](http://www.tidsskriftet.no)

## Harald Brunvand

[harald.brunvand@rikshospitalet.no](mailto:harald.brunvand@rikshospitalet.no)  
Hjertemedisinsk avdeling  
Rikshospitalet  
0027 Oslo

## Erik Øie

Medisinsk avdeling  
Diakonhjemmets sykehus  
og  
MSD Kardiovaskulært Forskningscenter/  
Institutt for kirurgisk forskning, Universitetet i Oslo  
Rikshospitalet

En celle kan dø ved apoptose eller onkose. Ved apoptose dør cellen med intakt cellemembran og forsvinner uten å etterlate spor. Onkose fører til destruksjon av cellemembranen og en sekundær inflammatorisk reaksjon.

James var den første som beskrev apoptose i hjertet da han publiserte elektronmikroskopiske bilder av apoptotiske celler i sinusknuten fra pasienter med lang QT-syndrom (1). Ved hjerte- og karsykdommer vil apoptoseinduserende stimuli kunne aktivere faktorer i mitokondriene eller membranbundne dødsreseptorer, som igjen aktiverer en enzymkaskade bestående av caspaseenzymer, som er spesifikke for apoptose (fig 1). Sluttresultatet er en aktiv dødsprosess som ender i apoptose (2). Videre finnes proteiner som enten kan hemme (Bcl-2, cFLIP og IAP) eller stimulere (Bax) apoptose. Apoptose i hjertet påvises ved ulike histokjemiske teknikker (TUNEL- og ISEL-teknikker, fig 2), ved elektroforese av DNA, ved måling av caspaseaktivitet og ved elektronmikroskopi. Siden en celle gjennomgår apoptose i løpet av kort tid uten å etterlate seg spor, bør apoptose påvises og kvantiteres med flere ulike metoder (2, 3).

## Apoptose ved medfødte hjertefeil

Apoptose ved medfødte hjertefeil ble først beskrevet hos unge mennesker som hadde dødd plutselig. Hos alle viste obduksjon helt eller delvis fravær av sinusknute, internodalt ledningsnett, atrioventrikulær knute og His-bunt, uten inflammasjon (4). I områder med fragmenter av sinus- og AV-knute ble det funnet celler som farget positivt ved TUNEL-teknikken, forenlig med forekomst av apoptose. I hjertet fra et prematurt født barn som døde grunnet svikt av høyre ventrikel og atrioventrikulært blokk, ble det funnet apoptotisk destruksjon av ventrikkel og His-bunt, med helt intakt venstre hjertehalvdel (4). Tilstanden er kjent som Uhls anomali. Andre har beskrevet apoptose i høyre ventrikel i hjerter fra pasienter med høyre ventrikel-dysplasi (5).

Ulike medfødte hjertefeil kan oppstå som følge av ubalanse mellom vekst og apoptose. Hypoplastisk venstre ventrikel forekommer i genmanipulerte mus som mangler caspase-8 og deler av dødsreseptorer, begge nødvendige faktorer for apoptose (6). På den annen side kan genmanipulering med gener assosiert med visse vekstfaktorer føre til atriale og ventrikulære septumdefekter samt defekter i store kar (6).

Basert på begrensede data ser apoptose ut til å kunne forklare enkelte medfødte hjertefeil, spesielt i ledningssystemet, mens andre hjertefeil, f.eks. septumdefekter, kan forklares av ubalanse mellom apoptose og vekst.

## Fakta

- Apoptose – programmert celledød – er en del av patofysiologisk mekanisme ved ulike hjerte- og karsykdommer
- Ved akutt hjerteinfarkt bidrar apoptose til den totale celledød
- Apoptose bidrar til utvikling av aterosklerose, medfødte hjertefeil og hjertesvikt
- Betablokkere og ACE-hemmere kan hemme apoptose og er god behandling ved hjerteinfarkt, hjertesvikt og koronarsykdom

## Apoptose ved iskemi og reperfusjon i hjertet

Celledød etter akutt iskemi og reperfusjon forårsakes sannsynligvis av både onkose og apoptose, der apoptose kan påvises blant annet med histokjemiske teknikker (fig 3). Iskemi kan utløse apoptose, men reperfusjon og reetablert energiproduksjon er nødvendig for komplett apoptose (7–10). Dersom akutt iskemi vedvarer uten reperfusjon, dominerer onkose som døds måte, mens iskemi fulgt av reperfusjon fører til celledød både ved onkose og apoptose. Ved global iskemi dominerer onkose selv etter reperfusjon (9). Mellom infarktområdet og levende vev er det funnet tydelige tegn til apoptose både hos dyr og mennesker (3, 9, 10).

Ved akutt iskemi øker det intracellulære nivået av kalsium og frie fettsyrer. Det produseres stressproteiner og oksidanter som kan fritt sette oksygenradikaler ved reperfusjon. Videre stimuleres produksjon av nevrohormoner og cytokiner. Disse faktorene kan føre til apoptose etter iskemi og reperfusjon både ved å aktivere dødsreseptorer og ved å påvirke mitokondriene (8–10). I tillegg er det vist at proteiner som beskytter mot apoptose inaktiveres ved iskemi og reperfusjon (9).

Etter akutt hjerteinfarkt kan omfanget av døde hjertemuskelceller være stort, men det er uklart i hvilken grad apoptose bidrar til celledød i hjertet etter akutt iskemi og reperfusjon. Eksperimentelle studier har vist økende apoptose fra seks timer til to dager etter et akutt hjerteinfarkt, deretter avtatt i løpet av de neste fire ukene (10). I ulike studier har forekomsten av apoptose variert mellom null og 35 % (11). Det er sannsynlig at metodologiske forhold bidrar til de spri-

kende resultatene, fordi kvantitering av apoptose skjer ved histokjemiske teknikker der muligheten for falskt positive resultater er til stede. Ved kronisk iskemi der det foreligger levende, svekket hjertemuskel (hibernerende hjerte), er det i noen studier påvist apoptose, i andre ikke (7, 8). Til tross for dissens når det gjelder grad av apoptose, foreligger det i dag dokumentasjon for at celledød etter akutt iskemi og reperfusjon er et resultat av både onkose og apoptose.

### Apoptose ved hjertesvikt

Hjertesvikt karakteriseres blant annet av progredierende celletap i hjertemuskulaturen, noe som kan skyldes apoptose (12). I flere studier er det vist at apoptose kan forekomme i sviktende hjerter og således forklare noe av celletapet man ser ved hjertesvikt (13–15). Det er videre rapportert en høyere forekomst av apoptose ved iskemisk betinget hjertesvikt sammenliknet med idiopatisk hjertesvikt (12). Enkelte cytostatika som adriamycin og doksorubicin er assosiert med utvikling av kardiomyopati. I hjerter som eksponeres for disse medikamentene, er det funnet aktiverte apoptosemekanismer og tegn til apoptose (16, 17).

Aktivering av inflammasjonsmediatorer og nevrohormoner ved hjertesvikt er assosiert med apoptose. Proinflammatoriske cytokiner, spesielt  $\text{TNF-}\alpha$ , er vist å kunne indusere apoptose i hjertemuskelceller, og plasmanivået av dette cytokinet er økt hos pasienter med hjertesvikt (12). I transgene mus med hjertespesifikk overekspressjon av  $\text{TNF-}\alpha$  induseres hjertesvikt, og apoptose er blitt påvist ved histokjemiske teknikker. Det er også kjent at hjertesvikt er assosiert med økte nivåer av angiotensin II og noradrenalin. Begge disse nevrohormonene er vist å kunne indusere apoptose av hjertemuskelceller både i cellekultur og i dyremodeller med hjertesvikt (12).

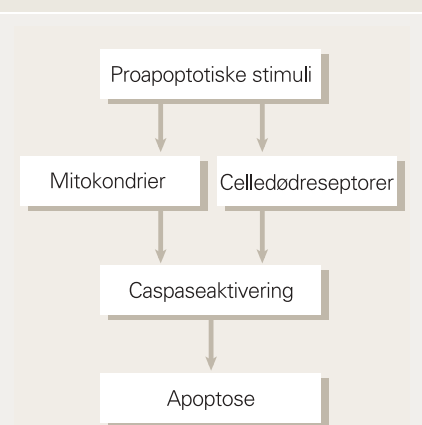
Ulike apoptosemekanismer er aktivert ved hjertesvikt. Både dødsreseptoren Fas og enzymet caspase-3 blir induisert i hjertemuskelceller som grenser til infarktområdet i sviktende hjerter (12). Også DNase I, en endonuklease som fragmenterer DNA ved apoptose, er oppregulert i sviktende humane hjerter (12). I levende hjertemuskulatur fra rotter med hjerteinfarkt og hjertesvikt er det påvist oppregulering av det apoptoseinduserende genet *BAX*, samt nedregulering av det apoptosehemmende genet *BCL-2* (12).

Apoptose ser ut til å være assosiert med celletap ved hjertesvikt, men data fra nyere studier tyder på at forekomsten er lav, sannsynligvis under 1 % (9).

### Apoptose ved arteriosklerose

Før utvikling av arteriosklerose sees raskere omsetning av endotel, noe som kan skyldes apoptose av endotelceller (18). Klassiske risikofaktorer for utvikling av arteriosklerose, som høye nivåer av blodglukose, oksidert LDL, økt oksidativt stress og økt angioten-

**Figur 1**



*Skjematisk modell for induksjon av apoptose. Proapoptotiske stimuli (iskemi, reaktive oksygenradikaler, toksiner, cytokiner, nevrohormoner) induserer apoptose ved å stimulere frisetting av ulike faktorer fra mitokondriene eller ved å aktivere membranbundne celledødreseptorer. Dette fører til aktivering av caspaser, som igjen fører til spaltning av celleskjelettproteiner og fragmentering av DNA*

sin II-nivå, er alle rapportert å stimulere apoptose av endotelceller (19).

Det er påvist apoptose i arteriosklerotiske plakk både fra koronarkar og fra vener brukt til aortokoronar bypass (11, 19). Apoptotiske celler er ofte lokalisert i grupper, og består av makrofager og glatte muskelceller. Den celledødt, lipidrike kjernen dannes sannsynligvis dels av onkose og dels av apoptose av skumceller derivert fra makrofager (11).

Apoptose av makrofager og glatte muskelceller forekommer også i den kollagenrike fibrøse kappen som omgir arteriosklerotiske plakk (19). Aktiverte makrofager produserer cytokinene  $\text{TNF-}\alpha$  og inter-

leukin- $1\beta$ , som begge er vist å stimulere apoptose av nærliggende glatte muskelceller og andre makrofager (19). Hvorvidt apoptose spiller en rolle ved plakkruptur, er derimot omdiskutert. Siden glatte muskelceller produserer kollagen, vil apoptose av glatte muskelceller føre til redusert produksjon og dermed fare for plakkruptur. På den annen side er apoptose av makrofager i denne sammenheng gunstig siden makrofagene fjerner kollagen. En hypotese kan være at plakkruptur skyldes cytokinmediert apoptose av glatte muskelceller i den fibrøse kappen, uten at makrofagene påvirkes.

### Apoptose ved andre hjertesykdommer

Ved myokarditt og ved reaksjon etter hjertetransplantasjon er immunapparatet aktivert. I mange undersøkelser er det påvist apoptose i transplanterte hjerter med reaksjon både hos dyr og mennesker (11). Det er imidlertid også rapportert fravær av apoptose i hjertemuskelceller i biopsier fra humane hjerter med reaksjon. Ved myokarditt oppreguleres  $\text{TNF-}\alpha$ , men det er ikke kjent i hvilken grad dette cytokinet bidrar til apoptose. Data tyder allikevel på at apoptose bidrar til celledød ved myokarditt og reaksjon etter transplantasjon.

### Mulige behandlingsstrategier

Ved hjertesvikt og etter hjerteinfarkt aktiveres både renin-angiotensin-systemet og det adrenerge systemet, med ugunstige effekter for pasientene. Det er i eksperimentelle studier vist at betablokkerne metoprolol og carvedilol, ACE-hemmeren enalapril og angiotensin II-reseptorblokkeren losartan reduserer apoptose ved hjertesvikt og hjerteinfarkt (9, 12). En slik beskyttelse mot apoptose kan forklare noe av medikamentenes gunstige effekt. Noe av ACE-hemmerens gunstige effekt ved arteriosklerose kan også skyldes reduksjon av angiotensin II-utløst apoptose i arteriosklero-



**Figur 2** Apoptose av en hjertemuskelcelle påvist med histokjemisk teknikk. Til venstre sees cellekjernen til en levende hjertemuskelcelle farget blå. Cellekjernen til høyre tilhører en apoptotisk hjertemuskelcelle med brun cellekjerner. Kondensering av kromatinet i cellekjernen kan sees og tyder på apoptose



**Figur 3** Apoptose av hjertemuskelceller fra en rotte med hjerteinfarkt. Cellekjernene til apoptotiske celler er farget brune (angitt med piler). Kondensering av kromatinet sees også, og dette støtter antakelsen om at cellene er apoptotiske

**Tabell 1** Oversikt over behandling som er vist å kunne hemme apoptose ved hjerte- og karsykdom. Slik hemming av apoptose er kun vist i eksperimentelle studier

| Behandling                      | Hemmer apoptose ved hjerte- og karsykdom      | Dokumentert klinisk effekt                                |
|---------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Betablokkere                    | Hjertesvikt og hjerteinfarkt                  | Hjertesvikt, hjerteinfarkt, angina pectoris, hypertensjon |
| ACE-hemmere                     | Hjertesvikt og hjerteinfarkt                  | Hjertesvikt, hypertensjon, koronarsykdom                  |
| Angiotensin II-reseptorblokkere | Hjertesvikt og hjerteinfarkt                  | Hjertesvikt, hypertensjon                                 |
| Statiner                        | Arteriosklerose                               | Hjerteinfarkt, hjertesvikt, koronarsykdom                 |
| Kalsiumblokkere                 | Hjerteinfarkt                                 | Angina pectoris, hypertensjon                             |
| Antioksidanter                  | Hjerteinfarkt, adriamycinindusert hjertesvikt | Ikke dokumentert klinisk effekt                           |
| Endotelin-1-blokkere            | Hjerteinfarkt                                 | Ikke dokumentert klinisk effekt                           |
| Vekstfaktorer                   | Hjerteinfarkt, iskemi                         | Ikke dokumentert klinisk effekt                           |
| Stressproteiner                 | Iskemi                                        | Ikke dokumentert klinisk effekt                           |
| Caspasehemmere                  | Iskemi, hjerteinfarkt                         | Ikke dokumentert klinisk effekt                           |

tiske plakk. Etter statinbehandling er det vist reduksjon av apoptose i arteriosklerotiske plakk, noe som kan forklare deler av statinens gunstige kliniske effekt (19). Det er rapportert at den fibrøse kappen i plakket blir mer solid etter statinbehandling.

Intracellulært nivå av kalsium og endotelin-1 øker ved hjerteinfarkt, og eksperimentelt er det vist at både kalsiumblokkeren nifedipin og hemming av endotelin reduserer apoptose i hjertet etter hjerteinfarkt (3, 9). Men det er ikke vist at hemming av kalsium og endotelin-1 har gunstige kliniske effekter ved hjertesvikt og hjerteinfarkt.

Antioksidanter har vært studert i betydelig omfang ved hjerte- og karsykdommer, uten at det er påvist klinisk effekt i større studier. Det er imidlertid vist at antioksidanten probucol kan hemme apoptose i hjertet ved adriamycinindusert aktivering av apoptose (9).

Etter iskemisk skade produseres stressproteiner som beskytter mot celleskade. Disse proteinene kan hemme apoptose ved å hemme frigjøring av cytokrom C fra mitokondriene og aktivering av caspase-3 (9). Gener som koder for slike stressproteiner, vil kunne overføres spesifikt til hjertemuskelceller ved genterapi. Overføring er vellykket utført i cellekultur.

Det er flere potensielle angrepspunkter for å hemme apoptose ved kardiovaskulær sykdom. Hemming eller blokkering av caspasekaskaden vil kunne redusere apoptose, slik det er vist i dyreeksperimentelle studier (9). Caspaseenzymene kan hemmes medikamentelt, ved å indusere endogene caspasehemmere (cFLIP, IAP og ARC) eller ved å tilføre stressproteiner. Videre kan behandling som øker nivået av antiapoptotiske proteiner i bcl-2-familien teoretisk redusere forekomsten av apoptose, slik det er sett ved iskemisk prekondisjonering (9). Det samme vil hemming av proapoptotiske proteiner i Bax-familien. Ulempen ved slik behandling er at hemming av apoptose som behandling av hjerte- og karsykdom kan være ugunstig ved å stimulere utvikling av andre sykdom-

mer der apoptose er ønskelig, for eksempel kreftsykdommer. I tabell 1 gis en oversikt over behandling som hemmer apoptose ved hjerte- og karsykdom.

## Konklusjon

Mye tyder på at apoptose bidrar til celledød ved hjerteinfarkt, hjertesvikt, myokarditt og transplantasjonsreaksjoner. Tap av vev ved medfødte hjertesykdommer kan også dels forklares av apoptose. Ved arteriosklerose er det holdepunkter for at apoptose bidrar til endotelskade, organisering av den lipidrike kjernen i et plakk og til plakkraktur. Både betablokkere og ACE-hemmere er vist å kunne hemme apoptose ved hjertesvikt og hjerteinfarkt. Fremtidig terapi kan rette seg spesifikt mot hemming av apoptosemekanismer, men hemmet apoptose kan forverre andre sykdommer der apoptose er ønskelig.

## Litteratur

Komplett litteraturliste finnes i artikkelen på [www.tidsskriftet.no](http://www.tidsskriftet.no)

- James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. From postnatal morphogenesis to paroxysmal arrhythmias. *Circulation* 1994; 90: 556–73.
- James TN. Apoptosis in congenital heart disease. *Coronary Artery Disease* 1997; 8: 599–616.
- van den Hoff MJB, van den Eijnde SF, Viragh S, Moorman AFM. Programmed cell death in the developing heart. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 603–20.
- Gill C, Mestril R, Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease – a novel therapeutic target? *FASEB J* 2002; 16: 135–46.
- Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 630–41.
- Haunstetter A, Izumo S. Apoptosis: basic mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Circ Res* 1998; 82: 1111–29.
- Sabbah HN. Apoptotic cell death in heart failure. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 704–12.
- Narula J, Haider N, Vimani R, DiSalvo TG, Kolodgie FD, Hajjar RJ et al. Apoptosis in end-stage heart failure. *N Engl J Med* 1996; 335: 1182–9.
- Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 1996; 336: 1131–41.
- Kockx MM, Herman AG. Apoptosis in atherosclerosis: beneficial or detrimental? *Cardiovasc Res* 2000; 45: 736–46.