
Aus der Aventis Pharma Deutschland GmbH
Indikationsgruppe Herz-Kreislauf

Eingereicht über das Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Hämodynamische Untersuchungen an Typ 2-
diabetischen Ratten – Einfluss des ACE-
Inhibitors Ramipril**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
MARKUS VINÇON

Gießen 2004

Aus der Aventis Pharma Deutschland GmbH
Indikationsgruppe Herz-Kreislauf
Betreuer: PD Dr. W. Linz

Eingereicht über das Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Im Fachbereich vertreten durch: **Prof. Dr. E. Petzinger**

**Hämodynamische Untersuchungen an Typ 2-
diabetischen Ratten – Einfluss des ACE-
Inhibitors Ramipril**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
MARKUS VINÇON
Tierarzt aus Kleinvillars

Gießen 2004

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Bernd Hoffmann

1. Berichterstatter: PD Dr. Wolfgang Linz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Ernst Petzinger

Tag der mündlichen Prüfung: 16.02.2004

Bianca

**„Knowledge is of two kinds: we know a subject ourselves,
or we know where we can find information upon it.“
*Samuel Johnson, 1709–1784***

	Abkürzungen	1
I	Einleitung	12
I.1	Diabetes mellitus	12
I.1.1	<i>Prävalenz des Diabetes mellitus</i>	12
I.1.2	<i>Definition des Diabetes mellitus</i>	14
I.1.3	<i>Klassifikation des Diabetes mellitus</i>	14
I.1.4	<i>Der Typ 2-Diabetes mellitus</i>	15
I.1.5	<i>Komplikationen und Spätfolgen des Diabetes</i>	16
I.2	Diabetische Kardiomyopathie	17
I.2.1	<i>Die Herzfunktion</i>	18
I.2.2	<i>Diastolische Dysfunktion des linken Ventrikels (LVDD)</i>	20
I.2.3	<i>LVDD und Diabetische Kardiomyopathie</i>	22
I.3	Ziel der Arbeit	24
II	Material und Methoden	26
II.1	Tiere	26
II.2	Haltung und Fütterung	29
II.3	Verwendete Substanzen	30
II.3.1	<i>Ramipril</i>	30
II.4	Allgemeiner Versuchsablauf	33
II.5	Gruppenzusammensetzung	34
II.6	Untersuchungen und Messungen	35
II.6.1	<i>Körpergewicht, Nahrungs- und Wasseraufnahme</i>	35
II.6.2	<i>Blutentnahmen aus der Schwanzvene</i>	35
II.6.3	<i>Retrobulbäre Blutentnahmen</i>	36
II.6.4	<i>Diurese</i>	37
II.6.5	<i>Das Modell des Herzkatheters</i>	40
II.6.6	<i>Die Ermittlung der Parallelen Conductance (G^P)</i>	42
II.6.7	<i>Okklusion der Vena cava (inferior)</i>	45

<i>II.6.8</i>	<i>Parameter aus dem Druck-Volumen-Diagramm</i>	<i>46</i>
<i>II.7</i>	<i>Präparation und Versuchsablauf</i>	<i>51</i>
<i>II.8</i>	<i>Datenerfassung und -verarbeitung</i>	<i>53</i>
<i>II.9</i>	<i>Endsektion und weiterführende Untersuchungen</i>	<i>53</i>
<i>II.9.1</i>	<i>Hydroxyprolin/Arginin-Bestimmung</i>	<i>53</i>
<i>II.9.2</i>	<i>Die Vasoreaktivität am Modell der isolierten Aorta</i>	<i>54</i>
<i>II.10</i>	<i>Geräte</i>	<i>56</i>
<i>II.11</i>	<i>Chemikalien und Substanzen</i>	<i>57</i>
<i>II.12</i>	<i>Statistische Methoden</i>	<i>58</i>
<i>II.12.1</i>	<i>Statistik der Stoffwechsel-, „Vorversuche“</i>	<i>58</i>
<i>II.12.2</i>	<i>Statistik der Herzkathetermessungen</i>	<i>58</i>
III	Ergebnisse	61
<i>III.1</i>	<i>Ergebnisse der Behandlungsphase</i>	<i>61</i>
<i>III.1.1</i>	<i>Körpergewicht, Nahrungs- und Wasseraufnahme</i>	<i>61</i>
<i>III.1.2</i>	<i>Blutglukose, Insulin und HbA_{1c}</i>	<i>63</i>
<i>III.1.3</i>	<i>Gesamtcholesterin, HDL-/LDL-Fraktion und Triglyzeride</i>	<i>66</i>
<i>III.1.4</i>	<i>Albumin</i>	<i>70</i>
<i>III.1.5</i>	<i>Kreatinin-, Harnstoff-, Kalium- und Natriumclearance</i>	<i>71</i>
<i>III.1.6</i>	<i>Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchung</i>	<i>73</i>
<i>III.1.7</i>	<i>Statistische Analyse</i>	<i>80</i>
<i>III.1.8</i>	<i>Beschreibende Statistik</i>	<i>82</i>
<i>III.2</i>	<i>Sektionsergebnisse und weiterführende Untersuchungen</i>	<i>83</i>
<i>III.2.1</i>	<i>Organgewichte</i>	<i>83</i>
<i>III.2.2</i>	<i>Das Hydroxyprolin/Arginin-Verhältnis</i>	<i>84</i>
<i>III.2.3</i>	<i>Aortenrelaxation (Isolierte Aorta)</i>	<i>84</i>
IV	Diskussion	88
<i>IV.1</i>	<i>Modell der diabetischen ZDF-Ratte</i>	<i>88</i>
<i>IV.2</i>	<i>Diabetes und Herzfunktion</i>	<i>93</i>
<i>IV.2.1</i>	<i>Linksventrikuläre Diastolische Dysfunktion, LVDD</i>	<i>93</i>

Inhaltsverzeichnis

<i>IV.2.2</i>	<i>Diabetische Kardiomyopathie</i>	<i>95</i>
<i>IV.2.3</i>	<i>Intervention mittels ACE-Inhibitoren</i>	<i>96</i>
<i>IV.2.4</i>	<i>Weitere Untersuchungen</i>	<i>98</i>
<i>IV.2.5</i>	<i>Fazit</i>	<i>100</i>
IV.3	Prävention des Typ 2-Diabetes durch Lifestyle-Änderung	101
IV.4	Kritik und Limitationen	103
<i>IV.4.1</i>	<i>Volumenmessung</i>	<i>103</i>
IV.5	Weitere Interventionsmöglichkeiten in der LVDD	104
V	Zusammenfassung	106
VI	Summary	108
VII	Literaturverzeichnis	110
VIII	Danksagung	117

Abkürzungen

A.	Arterie („Arteria“)
Abb.	Abbildung
ACE	„Angiotensin converting enzyme“
ACh	Acetylcholin
ADA	„American Diabetes Association“
Aqua bidest.	Aqua bidestillata, doppelt destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
BP	Blutdruck („blood pressure“)
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
CO	Herzminutenvolumen („cardiac output“)
DDG	Deutsche Diabetische Gesellschaft
dLVP/dt _{max}	maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit des linken Ventrikels
dLVP/dt _{min}	maximale Druckabfallsgeschwindigkeit des linken Ventrikels
e	Euler'sche Zahl (2,718)
E _{es}	„endsystolic elastance“
e/nNOS	endotheliale/neuronale Stickoxid-Synthase, (endothelial/ n euronal n itric o xide s ynthase)
et al.	„et alii“
<i>f_a</i>	Bezeichnung für eine autosomal-rezessive Mutation bei der ZDF-Ratte (Fettleibigkeit)
Fa.	Firma

Abkürzungen

French	Maßeinheit für die Dicke von Kathetern. 1 French (Fr.) = 1 Charrière (Charr = Ch.) entspricht einem äußeren Durchmesser von 1/3 mm.
g	Gramm
GLUT 1 (4)	Glukosetransporter 1 (4)
Gmi TM	Genetic Models, Inc., Indianapolis, USA
G ^P	Parallele Conductance (Leitwert)
h	Stunde
HDL	„high density lipoprotein“
Hg	Quecksilber
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HP	Herzleistung („heart power“)
HR	Herzfrequenz („heart rate“)
IDDM	Insulin-abhängiger Diabetes mellitus („insulin(e) dependent diabetes mellitus“)
I.E.	internationale Einheit
IGT	gestörte Glukosetoleranz („impaired glucose tolerance“)
i.m.	„intramuskulär“
i.p.	„intraperitoneal“
i.v.	„intravenös“
J	Joule
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KSL	Kochsalzlösung
l	Liter

Abkürzungen

LDL	„low density lipoprotein“
LV	Linker Ventrikel, linksventrikulär
LVV	Linksventrikuläres Volumen
LW	Lebenswoche
m	Masse
min	Minute
mg	Milligramm (10^{-3} Gramm)
ml	Milliliter (10^{-3} Liter)
mm	Millimeter (10^{-3} Meter)
mmol	Millimol (10^{-3} Mol)
ms	Millisekunden (10^{-3} Sekunden)
μg	Mikrogramm (10^{-6} Gramm)
μmol	Mikromol (10^{-6} Mol)
n	Anzahl der in einem Versuch verwendeten Tiere
NIDDM	Insulin-unabhängiger Diabetes mellitus, („non-insulin-dependent diabetes mellitus“)
ng	Nanogramm (10^{-9} Gramm)
nmol	Nanomol (10^{-9} Mol)
nNOS	neurale Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid („nitric oxide“)
NOS	Stickoxid Synthase („nitric oxide Synthase“)
n.s.	nicht signifikant (bedeutsam)
O ₂	Sauerstoff
P	(Blut)Druck („pressure“)
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
P _{ed}	(linksventrikulärer) enddiastolischer Druck

Abkürzungen

P_{es}	(linksventrikulärer) endsystolischer Druck
p.i.	„post infectionem“
pmol	Picomol (10^{-12} Mol)
p.o.	„per os“
pO_2	Sauerstoffpartialdruck
ρ	Dichte
PRSW	„preload recruitable stroke work“
s	Sekunde
SEM	mittlere Standardabweichung („standard error of the m ean“)
SNP	Nitroprussid-Natrium („sodium n itro p russide“)
SV	Schlagvolumen („stroke volume“)
SW	Schlagarbeit („stroke work“)
Tab.	Tabelle
V	Volumen
V.	Vene („vena“)
V_{ed}	(linksventrikuläres) enddiastolisches Volumen
V_{es}	(linksventrikuläres) endsystolisches Volumen
vs.	„versus“
WHO	Weltgesundheitsorganisation („World Health Organisation“)
ZDF Ratte	diabetische Ratte nach <i>Zucker</i> , „ Z ucker d iabetic f atty r at“ (Drt- <i>f_a</i>)

I Einleitung

I.1 Diabetes mellitus

Der Begriff Diabetes mellitus leitet sich vom griechischen „diabainein“ (= hindurchfließen) und dem lateinischen mellitus (= honigsüß) ab. Das Krankheitsbild wurde erstmals vor etwa 3500 Jahren in Ägypten beschrieben. Im Jahre 1889 fanden von Mering und Minowski heraus, dass es sich bei Diabetes um eine Erkrankung der Bauchspeicheldrüse handelt. Es dauerte dann weitere 32 Jahre bis 1921 Banting und Best die Blutzucker senkende Substanz des Pankreas, das Insulin, entdeckten. Vor dem ersten Einsatz dieses Peptidhormons im Jahre 1922 führte der Insulinmangel-Diabetes unweigerlich zum Tode.

Etwa zeitgleich wurden die ersten Medikamente mit Blutzucker senkenden Eigenschaften identifiziert. Die kontinuierliche Weiterentwicklung dieser oralen Antidiabetika sowie der Insulintherapie bis zur heutigen Zeit führte schließlich dazu, dass die Lebensqualität der Patienten gestiegen ist und die Entstehung der diabetischen Folgeerkrankungen verhindert bzw. verlangsamt werden kann.

I.1.1 Prävalenz des Diabetes mellitus

In den letzten Jahren hat sich der Diabetes mellitus immer mehr zur Volkskrankheit in den so genannten Industrieländern entwickelt. Mit dem Bundesgesundheitsurvey 1998 [Bellach, 1998] liegen repräsentative Daten über die Verbreitung des Diabetes in der 18- bis 79jährigen Bevölkerung in Deutschland vor. Daraus ergibt sich eine Diabetesprävalenz von 4,7 % für Männer und 5,6 % für Frauen (insgesamt mehr als 4 Millionen Diabetiker).

Aus den Daten lässt sich auch abschätzen, dass ein Anteil von etwa 1 % unerkannter Diabetiker in der untersuchten Population zu erwarten ist [Thefeld, 1999].

Von der WHO gibt es Häufigkeitsangaben aus vielen Ländern der Erde; nach diesen Angaben kann man abschätzen, wie häufig Diabetes global vorkommt. In Europa schwanken die Prävalenzraten von 3,5 % (Polen) bis 9,7 % (Malta).

Den größten Anteil der Diabetiker machen die Typ 2-Diabetiker mit über 90 % aus. Dies ist unter anderem auf die geänderten Lebensgewohnheiten zurückzuführen, mit einer daraus resultierenden Überernährung bei gleichzeitiger mangelnder körperlicher Bewegung. Beides sind Hoch-Risikofaktoren für den Typ 2-Diabetes. Da mit den Fortschritten in der Medizin die Lebenserwartung gleichzeitig zunimmt, ist die Inzidenz für Diabetes ungebremsst am Steigen (siehe Abb. I-1).

Geschätzte Zunahme der Diabetiker in den nächsten Jahrzehnten

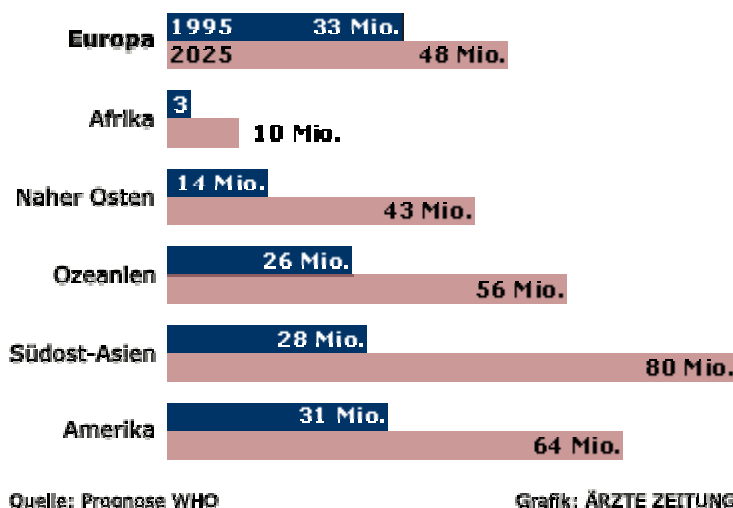


Abb. I-1: Nach Prognosen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wird der Typ 2-Diabetes in den nächsten Jahrzehnten drastisch zunehmen. Im Jahr 2025 werden es 300 Millionen Diabetiker sein.

I.1.2 Definition des Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist (in unbehandeltem Zustand) definiert als eine durch den Leitbefund chronische Hyperglykämie charakterisierte Regulationsstörung des Stoffwechsels. Es liegt entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine gestörte Insulinwirkung oder auch beides zugrunde. Die chronische Hyperglykämie führt über die diabetesspezifische Mikroangiopathie zu Folgeerkrankungen, vorwiegend an Augen, Nieren und Nervensystem und über die diabetesassoziierte Makroangiopathie zu Folgeerkrankungen vorwiegend an Herz, Gehirn und den peripheren Arterien.

I.1.3 Klassifikation des Diabetes mellitus

Bereits 1967 wurden von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) Empfehlungen zur Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus gegeben. Die Amerikanische Diabetes Gesellschaft (ADA) revidierte 1997 die Kriterien zur Diagnose des Diabetes mellitus und gab neue Empfehlungen zu seiner Klassifikation heraus. Diese wurden von der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) 1999 im Konsens bestätigt und übernommen.

In der neuen Klassifikation des Expertenkomitees der ADA wird ausdrücklich auf die Begriffe IDDM (= Insulin dependent diabetes mellitus) und NIDDM (= Non insulin dependent diabetes mellitus) verzichtet, da diese nur die Pharmakotherapie des Diabetes widerspiegeln und nicht die zugrunde liegenden pathogenetischen Mechanismen [Kuzuya und Matsuda, 1997]. Tab. I–1 fasst die neue, nosologische Klassifikation des Diabetes mellitus zusammen.

Klassifikation des Diabetes mellitus

I. Typ 1-Diabetes (β -Zell Destruktion, welche üblicherweise zum absoluten Insulinmangel führt)
A. Immunologisch vermittelt
B. Idiopathisch
II. Typ 2-Diabetes (kann sich erstrecken von einer vorwiegenden Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einem vorwiegend sekretorischen Defekt mit Insulinresistenz)
III. Andere spezifische Diabetes-Typen
A. Genetische Defekte der β -Zell-Funktion
B. Genetische Defekte der Insulinwirkung
C. Erkrankungen des exokrinen Pankreas
E. Drogen- oder chemikalieninduziert
F. Infektionen
G. Seltene Formen eines immun vermittelten Diabetes
H. Andere genetische Syndrome, die gelegentlich mit Diabetes vergesellschaftet sind
IV. Gestationsdiabetes (GDM)

Tab. I-1: Die Tabelle zeigt die neue nosologische Klassifikation des Diabetes mellitus. Anstatt wie bisher nach pharmakotherapeutischen Gesichtspunkten, erfolgt die neue Einteilung nach der Ätiologie (= nosologisch) [nach ADA, 1997]

I.1.4 Der Typ 2-Diabetes mellitus

Der Typ 2-Diabetes stellt die häufigste Form des Diabetes mellitus dar. Es besteht eine deutliche phänotypische Variabilität mit unterschiedlich schwer ausgeprägten Störungen der Insulinwirkung und der Insulinsekretion bei den meist übergewichtigen Patienten. Auch für den Typ 2-Diabetes besteht eine genetische Determinierung. Die zugrunde liegenden genetischen Faktoren sind im Detail noch unbekannt. In Untersuchungen an eineiigen Zwillingen wurde

beobachtet, dass zu ca. 90 % beide Geschwister an einem Typ 2-Diabetes erkranken [Barnett et al., 1981; Newman et al., 1987]. Die genetische Penetranz ist also sehr hoch. Der Pathomechanismus für die Entstehung des Typ 2-Diabetes beruht auf einer

1. gestörten Insulinsekretion [Lindstrom et al., 1992; Martin et al., 1992; Polonsky et al., 1996]
2. einer Insulinresistenz [Martin et al., 1992; Rett et al., 1994; Zhang et al., 1996]

Beim Typ 2-Diabetes besteht keine autoimmune Zerstörung der β -Zellen. Die Patienten mit Typ 2-Diabetes benötigen (zumindest zu Beginn der Erkrankung und häufig auch zeitlebens) keine Insulintherapie, sondern sind in der Regel mit Diät und oralen Antidiabetika gut therapierbar. Neben der genetischen Disposition spielen als Realisationsfaktoren das Übergewicht, eine falsche Ernährung sowie eine mangelnde körperliche Aktivität und auch das Lebensalter eine ausschlaggebende Rolle. Die Stammfettsucht gilt als unabhängiger Risikofaktor für eine Typ 2-Diabetes-Manifestation [Carey et al., 1997; Reaven, 1993; Standl, 1995].

Im Gegensatz zum Typ 1-Diabetes, der sich zwar grundsätzlich in jedem Alter manifestieren kann, aber fast ausschließlich im Kindes- und Jugendalter auftritt, dominiert der Typ 2-Diabetes etwa ab dem 40. Lebensjahr [Amos et al., 1997].

I.1.5 Komplikationen und Spätfolgen des Diabetes

Während früher beim Diabetes mellitus das Endstadium das hyperglykämische Koma (Coma diabeticum) war, sind seit der Entdeckung des Insulins und der Herstellung wirksamer Medikamente im Laufe der Zeit ganz andere Spätkomplikationen in den Vordergrund gerückt.

Die meisten Spätfolgen des Diabetes sind auf Veränderungen der Blutgefäße, so genannte Angiopathien, zurückzuführen.

Man unterscheidet bei Diabetikern zwei Formen von Angiopathien:

1. Makroangiopathie: Schäden an den großen Blutgefäßen wie zum Beispiel an den Herzkranzarterien, den Hirnarterien oder den Beinarterien. Eine diabetische Makroangiopathie entspricht einer Arteriosklerose. Von Arteriosklerose sind im Alter fast alle Menschen betroffen. Bei Diabetikern mit schlecht eingestellter Stoffwechsellage beginnt die Erkrankung allerdings viel früher als normal und verläuft schwerer.
2. Mikroangiopathie: Veränderungen an den kleinsten Blutgefäßen, den Kapillaren. Die Mikroangiopathie kommt überwiegend bei Diabetikern vor und betrifft vor allem die Augen und die Nieren. Hinzu kommen Schädigungen des Nervensystems. Diese sind teilweise die Folge von Mikroangiopathien der Kapillaren, welche die Nerven versorgen.

I.2 Diabetische Kardiomyopathie

Epidemiologische Daten belegen die Aussage, dass Diabetiker einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind, an kardiovaskulären Krankheiten, insbesondere der Herzinsuffizienz (CHF = congestive heart failure), zu erkranken [Kannel et al, 1974]. Die Inzidenz einer CHF ist besonders bei Diabetikern am Steigen. Klinische, epidemiologische und pathologische Studien führen diesen Anstieg auf die so genannte Diabetische Kardiomyopathie zurück, die in Form diastolischer und/oder systolischer Dysfunktion im linken Ventrikel des Herzens auftritt. Diese Kardiomyopathie kann als

eigenständige diabetische Erkrankung angesehen werden [Zarich et al., 1989 und Raev, 1994].

I.2.1 Die Herzfunktion

Für ein weiteres Verständnis ist eine genaue Kenntnis der systolischen und vor allem der diastolischen Funktion des linken Ventrikels von Bedeutung. Darum soll vorweg erst auf deren Physiologie mit dem Schwerpunkt auf die Parameter Druck und Volumen eingegangen werden. Trägt man für die Dauer eines Herzzyklus den linksventrikulären Druck gegen das Volumen im linken Ventrikel auf, erhält man so genannte Druck-Volumen-Kurven (Druck-Volumen-Diagramme), mit dem Aussehen einer geschlossenen Schleife (engl. loop). Abbildung I-2 zeigt einen solchen Loop.

Aktionsphasen eines Herzzyklus

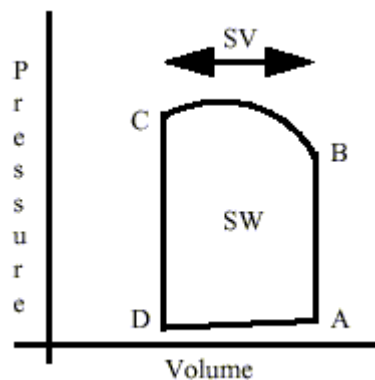


Abb. I-2: Die 4 Phasen des Herzzyklus: (1) Anspannungsphase (A-B), (2) Austreibungsphase (B-C), (3) Isovolumetrische Entspannungsphase (C-D), (4) Füllungsphase (D-A)

Die Kurve stellt einen kompletten Herzzyklus dar und lässt sich in die vier Aktionsphasen des Herzens bzw. des Ventrikels einteilen.

- (1) A→B: Anspannungsphase (Isovolumic contraction): Dies ist der Beginn der Kammersystole, die A-V-Klappe schließt sich sofort aufgrund des einsetzenden Druckanstieges, die Herzkammer

beginnt sich zu kontrahieren, die Aortenklappe ist aber noch geschlossen.

- (2) B→C: Austreibungsphase (Ejection): Der Druck in der Kammer übersteigt den diastolischen Aortendruck, woraufhin sich die Aortenklappe öffnet, das Blut wird in den großen Kreislauf „getrieben“. Da sich in dieser Phase der Herzmuskel aber weiter kontrahiert, kommt es trotz des abfallenden Volumens zu einem anhaltenden Druckanstieg. Man spricht dabei auch von einem auxochtonen Druckanstieg. Der Druck steigt zunächst bis zu einem Maximalwert an und fällt dann gegen Ende der Systole wieder ab. Der Ventrikel wirft dabei unter Ruhebedingungen nur etwa die Hälfte seines Inhaltes als Schlagvolumen (Stroke Volume, SV) in die Aorta aus. Den Anteil des Schlagvolumens am enddiastolischen Füllungsvolumen bezeichnet man als Auswurffraktion (Ejection Fraction, EF). Der anschließende Verschluss der Aortenklappe markiert das Ende der Systole.
- (3) C→D: Isovolumetrische Entspannungsphase (Isovolumic Relaxation): Zu Beginn der Diastole sind alle Klappen geschlossen. Der intraventrikuläre Druck fällt rasch auf nahezu null ab. Das Unterschreiten des Vorhofdruckes bewirkt ein Öffnen der AV-Klappen.
- (4) D→A: Füllungsphase (Diastolic Filling): Man kann eine rasche Füllungsperiode, bedingt durch den Ventilebenen-Mechanismus und daran anschließend eine langsamere Periode (Diastase) unterscheiden. Die rasche Füllung zu Beginn der Füllungsphase wird zusätzlich durch die diastolische Erschlaffung der Ventrikel selbst aufgrund eines passiven elastischen Ausgleiches von Verformungen aus der Systole ergänzt. Die dadurch entstehende Saugwirkung verstärkt die Wirkungen des Ventilebenen-

Mechanismus. Bei normaler Herzfrequenz trägt die Vorhofkontraktion nur noch ganz wenig zur Volumenzunahme bei (ca. 8 %) und ist für den letzten Teil der Füllung verantwortlich.

I.2.2 Diastolische Dysfunktion des linken Ventrikels (LVDD)

In den letzten Jahren ist klar geworden, dass eine klinisch manifeste CHF auch bei erhaltenem Herzminutenvolumen, also erhaltener systolischer Funktion des Herzens auftreten kann. Man spricht von einer Linksventrikulären Diastolischen Dysfunktion des Herzens (LVDD). Während die Letalität der Patienten mit systolischer Dysfunktion mit 19 % angegeben wird, ist auch die der Patienten mit isolierter Diastolischer Dysfunktion mit 8 % noch deutlich gegenüber der Normalbevölkerung erhöht [Vasan et al., 1995]. Hämodynamisch gesehen lässt sich die Diastolische Dysfunktion folgendermaßen beschreiben [nach Tschöpe und Schultheiss, 2002]: Der linke Ventrikel ist nicht mehr in der Lage, ein adäquates Blutvolumen aufzunehmen, um bei normalen diastolischen Drücken ein ausreichendes Schlagvolumen aufzubauen.

Eine wichtige Rolle bei der Diastolischen Funktion, bzw. Dysfunktion spielen das Zytoskelett der Myozyten und die extrazelluläre Matrix des Herzens, des Perikards, des Endokards und des Endothels. Untersuchungen an Tiermodellen haben entscheidend dazu beigetragen, die Rolle der extrazellulären Matrix und des interstitiellen Kollagens bei kardialen Erkrankungen zu klären. Das Myokard besteht aus Myozyten, die vom kardialen Interstitium umgeben sind, Komplexen fibrillären Kollagens und elastischen Fasern im Netzwerkverbund. Zu den nichtmyozytären Zellen gehören Fibroblasten, glatte Muskelzellen, Endothelzellen und die Zellen der

Blut- und Lymphbahnen. Während die Myozyten etwa 75 % der räumlichen Struktur des Myokards ausfüllen, sind gleichzeitig jedoch nach der Zellzahl etwa zwei Drittel aller Zellen im Herzen nichtmyozytäre Zellen. Dies macht deutlich, welchen bedeutenden Anteil das myokardiale Interstitium ausmacht. Schon deshalb bedarf das Konzept der Herzinsuffizienz, das sich bisher überwiegend auf das systolische Pumpversagen konzentrierte, einer entscheidenden Erweiterung auf den oft gleichbedeutenden diastolischen Aspekt. Unter extremen Bedingungen eines exzessiv vermehrten kardialen Interstitiums können Matrix und Interstitium sogar für das spätere systolische Pumpversagen primär verantwortlich sein [Maisch, 1995].

Wie bereits erwähnt, unterteilt sich die Diastole in eine frühe Phase der Relaxation und in eine Füllungsphase (siehe I.2.1). Dabei kann bei der Linksventrikulären Diastolischen Dysfunktion eine früh diastolische Relaxationsstörung und/oder eine zunehmende spät diastolische Dehnbarkeitsstörung (= Compliancestörung) vorliegen, sodass die Diastole verlängert, verlangsamt oder inkomplett abläuft. Eine Einschränkung einer dieser Phasen kann zu einer Herzinsuffizienz (CHF) führen. Bei der isolierten Relaxationsstörung kommt es in der Druck-Volumen-Kurve aufgrund der verlangsamt Ventrikelerschaffung zu einer verspäteten Ventrikelfüllung bei erhöhten Druckwerten. Dagegen kommt es bei einer Compliancestörung zu einem initialen früh diastolischen Druckabfall, dem nach schnellem Wiederanstieg hohe enddiastolische Druckwerte folgen (Abb. I-3).

Druck-Volumen-Schleifen bei diastolischen Funktionsstörungen

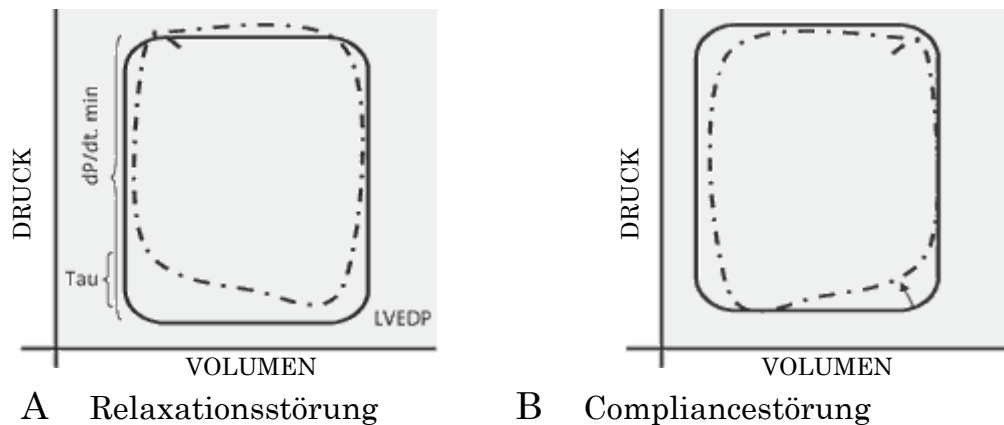


Abb. I-3: Relaxationsstörung (A): Es kommt zur Verlangsamung der frühen diastolischen Erschlaffung. Druckabfalls- (dp/dt_{min}), isovolumetrische Relaxations- (τ) und schnelle Füllungsgeschwindigkeit haben abgenommen.

Compliancestörung (B): Es kommt zu erhöhten linksventrikulären Drücken und zur Zunahme der Steifigkeitskonstante. Normal: durchgezogene Linie [modifiziert nach Tschöpe und Schultheiss]

I.2.3 LVDD und Diabetische Kardiomyopathie

Klinisch gesehen stellt die isolierte diastolische Funktionsstörung ein Syndrom dar, das durch typische Zeichen und Symptome einer Herzinsuffizienz bei noch erhaltener systolischer aber abnormer diastolischer Funktion charakterisiert ist [Tschöpe und Schultheiss]. Das typische Beispiel für eine isolierte Diastolische Dysfunktion stellt der ältere Patient dar, charakterisiert durch eine relative Myokardhypertrophie und eine vermehrte Einlagerung von interstitiellem Bindegewebe. Aber gerade auch bei Diabetikern ist der Anteil an dieser speziellen Art der Herzinsuffizienz sehr hoch. Nach Raev, 1994, könnte die LVDD die erste Stufe der Diabetischen Kardiomyopathie darstellen. Daher betont er die Wichtigkeit einer frühen Untersuchung der LVDD bei Diabetikern. Einige Studien

zeigten eine Korrelation zwischen der Kontrolle des Blutzuckers und der LVDD [Hiramatsu et al., 1992; Hirai et al., 1992; Uusitupa et al., 1983 und Astorri et al., 1997]. Aber andere Studien fanden keine solche Korrelation [Tarumi et al., 1993; Gough et al., 1995; Beljic et al., 1994 und Lo et al., 1995].

Poirier et al., 2001, haben festgestellt, dass die LVDD bei Patienten mit Typ 2-Diabetes, die frei von erkennbaren klinischen Symptomen einer Herzerkrankung sind, viel mehr prävalent ist, als bisher angenommen. Bei ihren Studien mittels Herz-Ultraschall fanden sie eine signifikante Anzahl von Personen mit pseudonormalen Mustern bei der diastolischen Füllung. Diese Fälle hinzugerechnet kommen sie auf eine Prävalenz der LVDD bei Typ 2-Diabetikern von über 50 %.

Das Erkennen der pseudonormalen Füllungsphase ist um so wichtiger, weil dieser Zustand als ein intermediäres Stadium zwischen beeinträchtigter Relaxation und restriktiver Füllung angesehen wird, was wiederum einem fortgeschrittenen Stadium in der LVDD gleichkommt. Die Pseudonormalisierung des diastolischen Füllmusters ist bedingt durch einen höheren Füllungsdruck, der dadurch entsteht, dass die Vorhofkontraktion verstärkt wird, um eine ausreichende Füllung des linken Ventrikels zu erreichen. Durch eine plötzliche Vorlastsenkung kann die beeinträchtigte Diastolische Funktion erkannt werden (siehe II.6.7 und II.6.8).

Da bekannt ist, dass regelmäßige sportliche Betätigung einen positiven Einfluss auf die Diastolische Funktion hat, könnte die frühe und genaue Erkennung der LVDD von therapeutischer Bedeutung sein [Forman et al., 1992].

I.3 Ziel der Arbeit

Bisherige Studien haben sich meistens isoliert entweder mit der Herz-Kreislauf-Erkrankung CHF oder der Stoffwechselkrankheit Diabetes beschäftigt. Bei Studien mit einer großen Patientenzahl war es jedoch möglich, die Ergebnisse einer bestimmten Unterpopulation mit der Gesamtpatientenzahl zu vergleichen. So konnten Einflüsse von Stoffwechselerkrankungen auf das ursprüngliche Untersuchungsziel, welches z.B. im Bereich der Herz-Kreislauf-Erkrankungen angesiedelt war, dargestellt werden. Heute geht man von ursächlichen Zusammenhängen aus und versucht die einzelnen Krankheitsbilder nicht mehr als isolierte Vorgänge zu sehen. Der Ansatz der vorliegenden Studie ist diesbezüglich neu. Hier interessierten die frühen Veränderungen hinsichtlich Herz-Kreislauf-Erkrankungen und speziell der Diabetischen Kardiomyopathie im Modell des Typ 2-Diabetes. Es sollte der Nachweis erbracht werden, dass es bei der Stoffwechselkrankheit Diabetes schon sehr früh zu gravierenden Veränderungen in scheinbar nicht unmittelbar betroffenen Organsystemen, wie z.B. dem Herzen, kommt. Bisher wurde der Diabetiker erst im fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung dem Kardiologen vorgestellt, ein oft folgenschweres Versäumnis. Dies wird auch in den Ergebnissen einer Studie von Haffner et al., 1998 deutlich. Ein Vergleich von Diabetikern und Nicht-Diabetikern über einen Zeitraum von 7 Jahren ergab, dass die Wahrscheinlichkeit für einen Diabetiker einen erstmaligen Herzinfarkt zu bekommen, genau so hoch ist, wie das bekanntlich große Risiko eines Herzinfarktpatienten ein zweites Geschehen zu bekommen. Abbildung I-4 zeigt die Ergebnisse dieser Studie.

Diabetes und das Auftreten eines Herzinfarktes

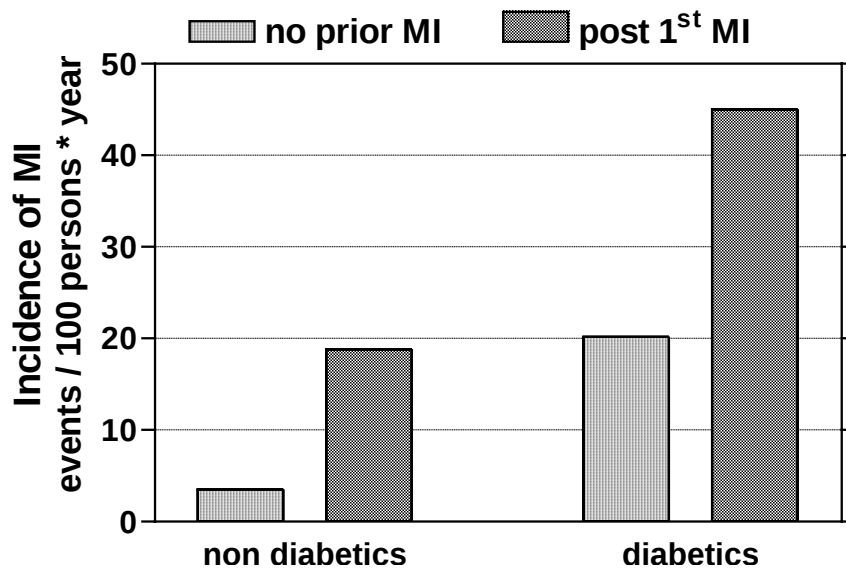


Abb. I-4: Der Diabetiker hat ein weit größeres Risiko einen Herzinfarkt zu bekommen als der Nicht-Diabetiker [Haffner et al., 1998].

In der vorliegenden Studie sollten in Ratten mit Typ 2-Diabetes in einer relativ frühen Phase der Erkrankung in vivo Messungen mit einem Miniatur-Herzkatheter (Conductance-Katheter) durchgeführt werden. Mithilfe der gemessenen Parameter sollten Aussagen getroffen werden, inwieweit es Unterschiede in der Herzfunktion früh diabetischer Tiere im Vergleich zu gesunden Tieren gibt. Weiterhin sollten die Auswirkungen einer frühzeitigen Behandlung mit dem ACE-Hemmer Ramipril auf die Ausbildung diabetesbedingter Herz-Kreislauf Veränderungen untersucht werden.

II Material und Methoden

II.1 Tiere

Für die Durchführung der Studie wurden ZDF-Ratten eingesetzt. Die allesamt männlichen Tiere stammten aus der Zucht von GmiTM aus Indianapolis, USA (jetzt Charles River, Wilmington, USA). Die Tiere waren bei Versuchsbeginn 6 Wochen alt und hatten ein Körpergewicht zwischen 140 und 200 g.

Die männliche ZDF-Ratte (Zucker diabetic fatty rat, Drt- f_a), ist ein etabliertes Modell des Typ 2-Diabetes des Menschen [Peterson et al., 1990; Tokuyama et al., 1995 und Slieker et al., 1992]. Nach der Säugeperiode (bis zur 4. Lebenswoche) schreiten die Tiere schnell von einem prädiabetischen Stadium der Hyperinsulinämie mit Euglykämie über zu einem hyperglykämischen Insulinmangelstadium mit einem offenen Diabetes (~12. Lebenswoche).

Die ZDF-Ratte wurde durch eine partielle Inzucht aus dem Stamm der Zucker (f_a/f_a) Ratten herausgezüchtet. Die f_a -Mutation trat um 1960 bei Kreuzungstieren des Merck-Stamms M mit einem Sherman-Rattenstamm am Laboratory of Comparative Pathology in Massachusetts spontan auf. Das Ehepaar Zucker beschrieb diese Tiere 1961 und züchtete aus dem ursprünglichen Hybridstamm einen Rattenstamm, der Träger des f_a -Gens war [Zucker, 1965]. Dieser Tierstamm wird heute nach den Erstbeschreibern als Zucker-Ratte oder 13M bezeichnet. Die Mutation beruht auf einer Veränderung am Leptin-Rezeptor (f_a), die autosomal rezessiv vererbt wird und bei den homozygoten Tieren zur Ausbildung einer Fettleibigkeit führt. Dabei findet eine Hypertrophie und eine Hyperplasie des Fettgewebes statt, denn im Gegensatz zu anderen Tieren, sind diese

Ratten in der Lage, die Zahl ihrer Fettzellen im fortgeschrittenen Alter noch zu vermehren.

Bei den Zucker (f_a/f_a) Ratten war es aber auch immer wieder zu einer phänotypischen Ausprägung von stark übergewichtigen männlichen Ratten mit hohem Fettanteil, sehr hohem Glukosespiegel und einer gestörten Glukosetoleranz gekommen. Diese, ausschließlich nur männliche Tiere betreffende Spontanmutation, wurden mit normalgewichtigen Zucker Ratten ($+/f_a$) gepaart, die ein hohes diabetisches Potenzial in sich trugen. Es handelte sich dabei fast ausschließlich um Bruder x Schwester Inzucht. Schon ab der 2. Generation konnte ein konstanter Phänotyp herausgezüchtet werden. Der Diabetes ist bei diesem Rattenstamm (ZDF-Ratte) monogenetisch determiniert und wird autosomal nur an die männlichen Nachkommen vererbt. Die weiblichen Nachkommen bilden trotz Fettleibigkeit und Insulinresistenz keinen Diabetes aus [Peterson, 1990].

Den ZDF-Ratten und den Zucker (f_a/f_a) Ratten ist eine Insulinresistenz und eine daraus resultierende Hyperinsulinämie gemeinsam, die sich schon mit dem Ende der Säugezeit (~4. Lebenswoche) manifestieren. Im Gegensatz zur Zucker-Ratte, deren pankreatische β -Zellen sehr stabil sind, kommt es jedoch bei der ZDF-Ratte zwischen der 7. und 8. Lebenswoche zu einem geringfügigen, aber hoch signifikanten Abfall des Insulinspiegels, welcher auch die darauf folgenden Wochen anhält. Als Folge findet kein ausreichender Glukosetransport in die Zellen des peripheren Gewebes (Skelettmuskulatur) statt, da dort zu diesem Zeitpunkt schon größtenteils eine Insulinresistenz vorliegt. Ebenso bleibt die insulinbedingte Unterdrückung der Glukoseproduktion in der Leber aus. Dadurch kommt es bei den ZDF-Ratten zu einer Hyperglykämie

[Kava et al., 1990]. Das Versagen der pankreatischen β -Zellen ab der 8. Lebenswoche wird der exzessiven Anhäufung von Triglyzeriden im Pankreas zugeschrieben [Shimabukuro et al., 1989 und Zhou et al., 1989]. Diese so genannte Lipid-Toxizitäts-Hypothese konnte von Etgen und Oldham, 2000, bestätigt werden. Sie fanden signifikant erhöhte Triglycerid-Spiegel im Plasma und zeigten eine negative Korrelation zwischen Triglycerid- und Insulinspiegel. Griffen et al, 2001 demonstrierten in ihren Untersuchungen an Föten von ZDF-Ratten, dass bei homozygoten Tieren ein genetischer Defekt auf Transkriptionsebene der β -Zellen vorhanden ist, der unabhängig von der Leptin-Rezeptor-Mutation und der Insulin-Resistenz vererbt wird. Diese Reduktion in der Gen-Transkription des Insulins in β -Zellen verursacht möglicherweise das Entstehen eines Diabetes in Zusammenspiel mit einer Insulinresistenz.

Tabelle II–1 zeigt verschiedene Rattenstämme, die in der Stoffwechselforschung Verwendung finden. Dabei ist ganz klar zu erkennen, dass sich die ZDF-Ratte sehr gut für das Modell des Typ 2-Diabetes eignet.

Die obese ZDF-Ratte im Vergleich

STAMM	ZDF OBESE MALE	ZDF OBESE FEMALE	SHHF OBESE MALE	ZS OBESE MALE	SHROB (Koletsky) MALE	ZUCKER OBESE MALE
KENNZEICHEN						
Insulin-Resistenz	++	+++	+++	+++	+++	++
Hyperinsulinämie	-/+	-/++	+++++	++++	++++	+++
NIDDM	+++++	-/+++++	-/+++	-/++++	-	-
Frühe Hyperglykämie	+++++	-/+++++	-	-	-	-
Bluthochdruck	+	-/+++	+++++	++++	++++	-
Fettsucht	+	++	+++	+++++	++++	++++
Chronisches Herzversagen	-	-	+++++	+++	-	-
Hypertriglyzeridämie	++	+++	+++	+++++	++	++
Hypercholesterinämie	++	+++	+++	+++++	++	+
Nierenversagen	-/+++	-/+	+++	+++++	-	-

Tab. II-1: Vergleich einiger „Obesitas“-Modelle mit verschiedenen Krankheitssymptomen. Das „+/-“-Zeichen bedeutet, dass die Reaktion abhängig vom Alter und der Ernährung variiert, während das „-“-Zeichen für keine signifikante Reaktion steht.

ZDF = Zucker diabetic fatty rat;

SHHF = Rückkreuzung einer Koletsky-Fettsucht- zu einer SHR/N-Ratte (alle Genotypen entwickeln einen CHF mit 10-20 Monaten);

ZS(F₁) = Hybrid-Kreuzung zwischen einer weiblichen ZDF- und einer männlichen SHHF-Ratte;

SHROB oder Koletsky-Ratte = Mutation einer fettsüchtigen spontan hypertensiven Ratte, entwickelt aus der Kreuzung einer hypertensiven weiblichen Ratte und einer normotensiven männlichen Sprague-Dawley-Ratte

In der vorliegenden Studie dienten als Kontrolltiere männliche heterozygote ZDF-Ratten, die keine Fettleibigkeit und keinen Diabetes ausbilden (Lean Zucker diabetic fatty rats, f_a/+ oder +/+).

II.2 Haltung und Fütterung

Die Haltung erfolgte mit je 2 Tieren auf Standardeinstreu für Labortiere in Makrolonkäfigen des Typ 4 mit Hochdeckeln. Die Stallungen unterlagen einem Lichtregime mit je zwölf Stunden Licht ab 6:00 Uhr morgens und Dunkelheit ab 18:00 Uhr abends. Die Raumtemperatur betrug 20 °C (± 1 °C) bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 (± 5) %. Futter und Wasser wurden ad libitum zur Verfügung gestellt. Bei dem pelletierten Futter

handelte es sich um ein standardisiertes Ratten- und Mäuse-Alleinfuttermittel, das die Firma Altromin unter der Artikelnummer 1324 vertreibt.

Alle Untersuchungen wurden unter der Beachtung des deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt.

II.3 Verwendete Substanzen

II.3.1 *Ramipril*

Ramipril ist ein Produkt der Firma Aventis Pharma Deutschland GmbH. Die chemische Bezeichnung nach der WHO lautet (2S,3aS,6aS)-1-[(S)-N-[(S)-1-Carboxy-3-phenylpropyl]alanyl]-octahydrocyclopenta[b]pyrrole-2-carboxylic acid, 1-ethyl ester.

Ramipril gehört zur Wirkstoffklasse der ACE-Hemmer. Die eigentliche Wirksubstanz Ramiprilat entsteht durch Hydrolyse in der Leber und ist ein Hemmstoff des Angiotensin Converting Enzyms (ACE), welches das inaktive Angiotensin I in das biologisch aktive Angiotensin II umwandelt. Wie alle ACE-Hemmer wirkt Ramipril über diesen Mechanismus blutdrucksenkend.

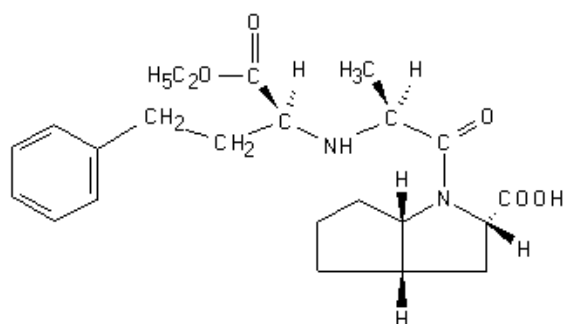
Eine klinische Studie mit Ramipril (HOPE-Studie) hat überraschenderweise gezeigt, dass unabhängig von der Anwesenheit einer arteriellen Hypertonie oder einer Herzinsuffizienz ein breites Spektrum an herzkranken Patienten von dem Einsatz der ACE-Hemmer profitiert. Die Inzidenz von Myokardinfarkt, Apoplex und Tod kardialer Ursache war in der Patientengruppe, die mit dem ACE-Hemmer Ramipril behandelt wurde, hoch signifikant unter dem Wert der Kontrollgruppe (13,9 % vs. 17,5 %, $p = 0,000002$). Zudem war bei den Patienten mit ACE-Hemmern eine Revaskularisierung

signifikant seltener notwendig (16,0 % vs. 18,4 %, $p = 0,0013$) [Ferguson et al., 1999].

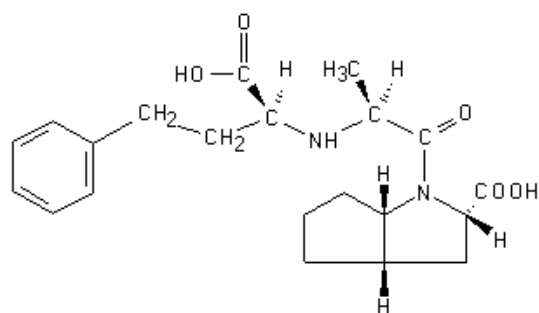
Der klinische Erfolg bei diabetischen Patienten konnte in einer „Subgroup analyse“ in der HOPE-Studie bestätigt werden. Die Wirkung der ACE-Hemmer beruht auf der Senkung des Blutdruckes, vorwiegend durch Verhinderung der Bildung des gefäßkonstriktori-schen Angiotensin-II, aber auch durch eine Hemmung des Abbaus gefäßdilatierender Kinine [Linz et al., 1995]. Da sich die Differenz der systolischen und diastolischen Blutdruckwerte in der HOPE-Studie bei beiden Patientengruppen lediglich als gering herausgestellt hat (3,0 mmHg bzw. 1,5 mmHg), wird vermutet, dass die Wirkung der ACE-Hemmer zu einem großen Teil auf einem protektiven vaskulären Effekt beruhen könnte. Ein wesentlicher Vorteil der ACE-Hemmer bei diabetischen Patienten ist ihr zusätzlicher nephroprotektiver Effekt. ACE-Hemmer haben einen positiven Einfluss auf die Progression einer Proteinurie, unabhängig von der Senkung des Blutdruckes, der Behandlungsdauer oder des Stadiums einer bereits bestehenden Nephropathie. So konnte die HOPE-Studie bei diabetischen Patienten unter Ramiprilgabe eine Risikoreduzierung bezüglich einer Nephropathie um 24 % ($p = 0,027$) aufweisen.

Während der 3,5-monatigen Behandlung erhielten die Ratten in dieser Studie eine tägliche Dosis von 1 mg/kg KGW Ramipril über das Trinkwasser.

Die Strukturformel von Ramipril bzw. Ramiprilat



Ramipril



Ramiprilat

Abb. II-1: Die Strukturformel von Ramipril und seines aktiven Metaboliten Ramiprilat

II.4 Allgemeiner Versuchsablauf

Die Studie war in zwei Abschnitte unterteilt. Die Tiere kamen im Alter von 6 Wochen in den Versuch. Es erfolgte eine viermonatige Behandlung über das Futter bzw. Trinkwasser. Während dieser Zeit wurden durch retrobulbäre Blutentnahmen, Blutentnahmen aus der Schwanzvene, Harnuntersuchungen, Messungen des Körpergewichts, sowie der Futter- und Wasseraufnahme Parameter eines sich eventuell manifestierenden Diabetes gemessen. Im Anschluss daran erfolgte die Enduntersuchung der Tiere. Dort wurden in Narkose die Messungen mit dem Conductance-Katheter gemacht und anschließend Blutproben entnommen. Die Sektion mit der Entnahme von Organproben bildete den Schlusspunkt. Mit der entnommenen Aorta wurden anschließend Versuche bezüglich der Aortenrelaxation durchgeführt. Abbildung II-2 zeigt ein Schema des zeitlichen Versuchsablaufs.

Allgemeiner zeitlicher Versuchsablauf

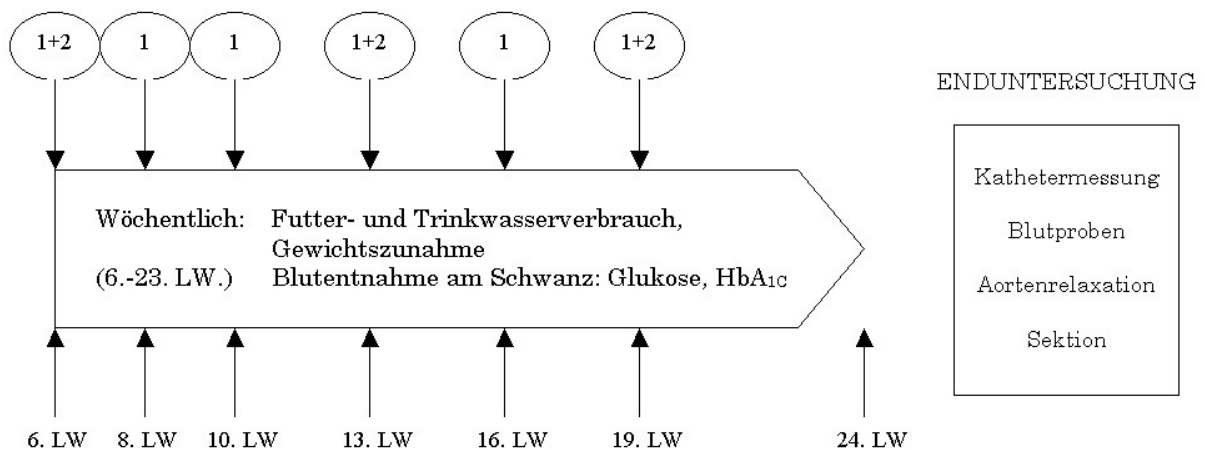


Abb. II-2: Die Abbildung zeigt ein Schema des zeitlichen Versuchsablaufs. Die Tiere wurden vier Monate lang behandelt. In verschiedenen Abständen erfolgten retrobulbäre Blutentnahmen (1) und Messungen des 24-Stunden-Harns (2). Schließlich erfolgten die Enduntersuchungen. (LW = Lebenswoche)

II.5 Gruppenzusammensetzung

Die Studie setzte sich aus drei Gruppen zu je 8 Tieren zusammen. Dies waren im Einzelnen:

- 8 Ratten, männlich („male“) lean *Zucker Diabetic Fatty Rats* (ZDF/Gmi, fa/+ oder +/+) unbehandelt (im Folgenden „Control lean“ genannt).
- 8 Ratten, männlich („male“) obese *Zucker Diabetic Fatty Rats* (ZDF/Gmi, fa/fa), unbehandelt (im Folgenden „Control ZDF“ genannt).
- 8 Ratten, männlich („male“) obese *Zucker Diabetic Fatty Rats* (ZDF/Gmi, fa/fa), behandelt mit 1 mg/kg Ramipril oral über das Trinkwasser (im Folgenden „Ramipril“ genannt)

Die „Control lean“ ZDF-Ratten bilden keinen Diabetes aus und stellen somit eine Kontrolle des diabetischen Modells per se dar.

II.6 Untersuchungen und Messungen

II.6.1 Körpergewicht, Nahrungs- und Wasseraufnahme

Begleitend zur Bestimmung der Blutparameter wurden die Gewichtszunahmen und das sich verändernde Fress- und Trinkverhalten der Tiere festgehalten. Diese Werte wurden wöchentlich gemessen. Bei den behandelten Tieren dienten diese Messungen gleichzeitig als Kontrolle über die aufgenommenen Behandlungsdosen. Zur Bestimmung des Körpergewichtes wurden die Tiere wöchentlich gewogen. Die Nahrungsaufnahme wurde gemessen, indem das Futter pro Käfig (also für je 2 Tiere) eingewogen und drei Tage später wieder ausgewogen wurde. Anschließend wurde rechnerisch der Verbrauch pro Tier und 24 h bestimmt. Beim Trinkwasser ging man entsprechend vor; diese Berechnungen dienten bei den Ramipril-Tieren gleichzeitig als Kontrolle über die aufgenommene Substanz und einer eventuellen Korrektur der Ramiprilkonzentration im Wasser.

II.6.2 Blutentnahmen aus der Schwanzvene

Während der viermonatigen Behandlung wurde den Tieren wöchentlich an der Schwanzvene Blut zur Untersuchung auf Glukose und HbA_{1C} entnommen.

Blut-Glukose:

Die Bestimmung erfolgte enzymatisch.

HbA_{1C}:

Der rote Blutfarbstoff Hämoglobin (Hb), ist aus verschiedenen Bestandteilen zusammengesetzt. Es sind dies HbA₁, HbA₂ und HbF. Den Hauptanteil macht mit 98 Prozent das HbA₁ aus. HbA₁ entsteht, wenn sich Glukose an Hämoglobin bindet. Dabei entstehen

verschiedene Formen, die nicht alle stabil sind. Die Form, die längerfristig stabil bleibt und in einem Test nachgewiesen werden kann, ist das HbA_{1c}. Das geschieht aber nur mit Glukose, die vom Körper nicht verwertet wird. Das bedeutet: Je höher der Blutzuckerspiegel ist, desto höher ist der prozentuale Anteil von HbA_{1c} am Gesamthämoglobin. Die Vorgänge, die zur Bildung von HbA_{1c} führen, laufen nur langsam ab. Deshalb wird der Test vor allem zur Therapiekontrolle bei Diabetikern durchgeführt. Mit dem HbA_{1c}-Wert kann die Stoffwechsellaage der letzten 4–6 Wochen beurteilt werden. Als Richtschnur bei der Berechnung der Blutzuckerwerte der vorangegangenen Monate kann davon ausgegangen werden, dass eine einprozentige Erhöhung des HbA_{1c} mit einem durchschnittlich erhöhten Blutzuckerwert von 1,66 mmol/l (30 mg/dl) einhergeht.

Für die Bewertung der HbA_{1c} Werte gilt:

- unter 6 Prozent: kein Diabetes, oder sehr gut eingestellter Diabetiker
- 6 bis 8 Prozent: gut eingestellter Diabetiker
- 8 bis 10 Prozent: mäßig bis schlecht eingestellter Diabetiker
- über 10 Prozent: sehr schlecht eingestellter Diabetiker

II.6.3 Retrobulbäre Blutentnahmen

Zusätzlich zu den wöchentlichen Blutentnahmen aus der Schwanzvene wurden noch drei retrobulbäre Blutentnahmen vorgenommen, und zwar zu Behandlungsbeginn, dann 7 Wochen später (13. LW) und wiederum 6 Wochen später (19. LW). Für diese Blutentnahmen wurden die Tiere mit einem Isofluran-Sauerstoff-Gemisch (5 Vol. %), Fa. Messer, Griesheim, in einem Gefäß betäubt

und die Narkose über eine Atemmaske mit 2 Vol. % Isofluran aufrechterhalten. Anschließend wurde eine Einmal-Mikropipette über den medialen Augenwinkel am Augapfel entlang zum Augenhintergrund eingeführt. Mit einer drehenden Bewegung wurde der retrobulbäre Venenplexus eröffnet, das Blut über die Mikropipette entnommen und unter EDTA-Zusatz (1,6 mg/ml Kalium-EDTA Blut) bei 3000 Umdrehungen pro Minute für eine Dauer von 10 Minuten zentrifugiert.

Mit dieser Blutentnahme wurden folgende Parameter bestimmt: Triglyzeride, Gesamtcholesterin, HDL-, LDL-Cholesterol, Insulin, Kreatinin, Harnstoff, K^+ und Na^+ .

II.6.3.1 Die Bestimmung von Gesamtcholesterin, HDL-/LDL-Fraktionen und Triglyzeriden

Die quantitative Bestimmung dieser Parameter erfolgte mithilfe eines klinisch-chemischen Analyseautomaten (Hitachi Typ 912 Automatic Analyzer, Roche Diagnostics Mannheim), unter Verwendung unterschiedlicher enzymatischer Tests (Roche Diagnostics, Mannheim) wurde das Plasma im Automaten photometrisch untersucht.

II.6.4 Diurese

Parallel zu den retroorbitalen Blutentnahmen wurden Harnuntersuchungen bei den Tieren vorgenommen. Dazu kamen die Tiere während der Versuchszeit insgesamt dreimal über 24 h in so genannte Stoffwechselboxen, um den Harn in diesem Zeitraum aufzufangen. Neben den täglich ausgeschiedenen Gesamtmengen interessierte v.a. der Gehalt des Harns an Glukose und Albumin. Des Weiteren wurden die Konzentrationen an Kalium, Natrium,

Kreatinin und Harnstoff bestimmt, um deren renale Clearance zu berechnen. Der qualitative und quantitative Nachweis erfolgt u.a. durch Farbreaktionen, indirekt durch Abspaltung und Bestimmung von Stickstoff, von CO₂ oder NH₃.

Hohe Blutglukosespiegel haben mit dem Erreichen der so genannten Nierenschwelle eine hohe Ausscheidung von Glukose über den Harn zur Folge. Die Niere wird aber auch direkt durch den Diabetes geschädigt. Eine schwerwiegende Komplikation ist dabei die Niereninsuffizienz. Es kommt zu einer Einschränkung des Glomerulumfiltrats mit der Zunahme von harnpflichtigen Substanzen im Serum. Die Messung dieser Substanzen in Serum und Harn kann schon im Frühstadium eines sich manifestierenden Diabetes wichtige Aussagen über die Stoffwechsellaage und bereits eingetretene Schädigungen machen. Neben den Messungen von absoluten Konzentrationen, hat sich die Berechnung der Nierenleistung in Form der renalen Clearance als wichtiger Faktor zur Einschätzung des Nierenstatus etabliert. Dabei wird der Klärwert für eine bestimmte Substanz bestimmt, nämlich dasjenige Blutplasma-Volumen, das pro Minute durch die Nierenfunktion von einer bestimmten harnfähigen Substanz vollständig befreit wird.

Die Clearance wird nach folgender Formel berechnet:

$$C = \frac{U \cdot V}{P}$$

U = Harnkonzentration
 V = Harnminutenvolumen
 P = Plasmakonzentration

Kreatinin ist ein Endprodukt des Muskelstoffwechsels. Die Menge des Kreatinins ist einerseits von der Muskelmasse des Individuums abhängig und andererseits von der Ausscheidungsfähigkeit der Nieren. Darum schwanken die Kreatininwerte nicht sehr stark; erst, wenn die Filterfähigkeit der Nieren um mehr als 50 Prozent abgenommen hat, ist ein deutlicher Anstieg der Werte zu erwarten.

Albumin, ein Serumeiweißstoff, gehört bei der Nierendiagnostik zu den wesentlichen Bausteinen. Die Messung von Albumin ist ein sehr empfindlicher Fühler für eine Veränderung der Nieren und eine sich manifestierende diabetische Nephropathie. Dabei ist Albumin der Kreatininmessung überlegen, da erhöhte Kreatininwerte eine Niereninsuffizienz erst sehr spät anzeigen. Eine Albuminausscheidung bis 20 µg pro Minute ist als normal anzusehen. Dies entspricht ungefähr 28,8 mg am Tag. Von einer Mikroalbuminurie spricht man bei Werten zwischen 30 und 300 mg/24 h. Liegen die Werte über 300 mg/24 h wird dieser Zustand als Makroalbuminurie bezeichnet.

Harnstoff ist das Endprodukt des Eiweißstoffwechsels bei den Säugetieren. Die Ausscheidung erfolgt durch die Niere (Mensch: 12,6 bis 28,6 g/24 h). Dabei findet eine vollständige Filtration in den Glomeruli und teilweise Rückresorption in den Tubuli statt.

II.6.5 Das Modell des Herzkatheters

Die In-Vivo-Messungen am Herzen fanden mithilfe eines neu entwickelten Miniatur-Herzkatheters statt. Diese Technik ist zwar schon seit den frühen Achtzigern bekannt und wird auch beim Menschen routinemäßig angewandt, bei kleinen Labortieren, wie der Ratte und der Maus ist sie aber neu und erst durch die rasante Weiterentwicklung der Technik möglich geworden.

Die Funktionsanalyse des linken Ventrikels mithilfe des Herzkatheters erfolgte mittels den bereits in Kapitel I.2 erwähnten Druck-Volumen-Diagrammen. Dies erfordert eine simultane Druck- und Volumenmessung und wurde in der vorliegenden Studie mit einem kombinierten Miniaturkatheter durchgeführt, der neben einer Druckeinheit ein Messsystem für das Volumen integriert hat, dem so genannten Conductance-Katheter. Diese Technik wurde 1982 entwickelt [Baan et al., 1982] und 1984, modifiziert als „Impedance Catheter“, vorgestellt [McKay et al., 1984]. Die Conductance Technik liefert ein kontinuierliches elektrisches Signal, das dem wahren linksventrikulären Kammervolumen proportional ist [Burkhoff et al., 1985].

Bei der Studie wurde ein 1,4-French großer Druck-Volumen-Miniaturkatheter (Model SPR-774) von Millar Instruments, Houston, Texas verwendet. Zur Messung des Volumens hat der Katheter an seinem distalen Ende vier Platinelektroden von jeweils 0,25 mm Länge. Die Elektroden sind in bestimmten Abständen zueinander angeordnet. Zwischen der ersten (proximalen) und der zweiten Elektrode beträgt der Abstand 0,5 mm. Die nächste Elektrode folgt mit 9 mm Abstand. Zwischen der dritten und vierten (distalen) Elektrode sind es dann wieder 0,5 mm.

Der Druck wird kontinuierlich über ein elektronisches Miniaturmanometer gemessen, das zwischen den beiden inneren Elektroden platziert ist (siehe Abb. II-3).

Der Miniaturkatheter

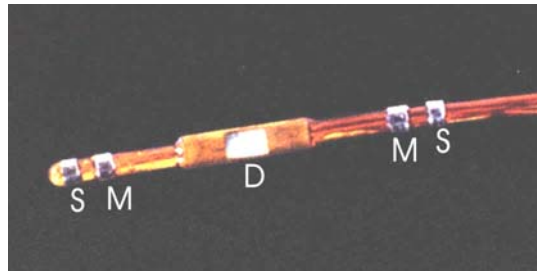


Abb. II-3: *Das distale Ende des Miniaturkatheters mit den Sendeelektroden (S), den Messelektroden (M) und der Druckeinheit (D).*

Zur Messung wird der Katheter retrograd zum Blutfluss über die A. carotis in den linken Ventrikel vorgeschoben und so positioniert, dass die distale Elektrode kurz vor der Herzspitze und die proximale direkt unter der Aortenklappe zu liegen kommt. Der interne Oszillator einer an den Katheter angeschlossenen Conductance-Einheit generiert ein elektrisches Feld von 20 kHz und 40 Mikroampere Stromstärke mit dem Ventrikel, dabei wirken die beiden äußeren Elektroden als Sende-Elektroden. Das durch den Ventrikel hindurchfließende Blut, mit seinen elektrisch geladenen Teilchen, verändert dieses elektrische Feld. Die Einwirkungen werden kontinuierlich von den inneren Elektroden, den Messelektroden, gemessen. Dabei werden Änderungen des Leitwertes registriert und anschließend wird das so erhaltene Signal in ein Volumensignal konvertiert, unter der Annahme, dass das Herz einem idealisierten Zylinder entspricht. In diese Berechnungen fließen die spezifische Leitfähigkeit des Blutes und der Abstand der Messelektroden mit ein.

Das zeitabhängige Volumen wird folgendermaßen berechnet:

$$V_{\text{cath}} = (1/\alpha \cdot L^2/\sigma_b)[G(t) - G^P],$$

wobei σ_b die spezifische Leitfähigkeit des Blutes, L der Abstand der Katheterelektroden ist, $G(t)$ für den Gesamtleitwert zu der Zeit t und G^P für die so genannte Parallele Conductance steht (siehe II.6.6). Die Konstante α ist ein dimensionsloser Faktor, der aus folgendem Grund eingeführt worden ist: Nach der Korrektur mit dem Wert der Parallelen Conductance ist das Signal, welches mit dem Conductance-Katheter gemessen wird, direkt proportional zum absoluten Volumen, doch im Allgemeinen wird das wahre Volumen um einen von vorneherein bestimmten Prozentsatz unterschätzt. Um diese Abweichung zu korrigieren, führte man die Variable α ein. In der Praxis wird α bestimmt, indem man das mit der Conductance-Methode bestimmte Volumen (oder das Schlagvolumen, SV) mit einer unabhängigen Messmethode, wie z.B. der Angiografie oder der Thermodilution, vergleicht (Referenzmessmethoden). Bei Tieren, wie z.B. dem Schaf oder dem Hund, ist α typischerweise 0,8 [Baan et al.; 1984], bei kleineren Versuchstieren, wie der Ratte und der Maus, nähert sich α aber 1,0. Da in dieser Studie die Versuche an Ratten durchgeführt wurden, verzichtete man auf eine genaue Bestimmung von α und wies der Konstanten stattdessen den Wert 1,0 zu.

II.6.6 Die Ermittlung der Parallelen Conductance (G^P)

Das Blut im linken Ventrikel ist nicht die einzige Komponente, die auf das in der Kammer generierte elektrische Feld einwirkt. Da ein Stromfluss nicht vor den Grenzen des Ventrikels halt macht, wirken praktisch alle leitfähigen Elemente in unmittelbarer

Umgebung des linken Ventrikels auf das elektrische Feld ein. Dazu gehören im engeren Sinn die Ventrikelwände, das Blut im rechten Ventrikel, Gewebe der Lunge und eventuell vorhandene Flüssigkeiten im Brustraum. Der gemessene Gesamtleitwert, also das Roh-Signal, muss deshalb korrigiert werden. Man fasst alle, zusätzlich zum Blut des linken Ventrikels auf das elektrische Feld einwirkenden Strukturen zu einem gemeinsamen Leitwert (engl. Conductance) unter dem Begriff Parallele Conductance zusammen. Sie kann 40–70 % des gesamten gemessenen Leitwertes ausmachen.

Baan et al. stellten 1984 eine Methode vor, bei der sie die Parallele Conductance direkt aus der Kathetermessung bestimmten. Sie injizierten einen kleinen Bolus hypertoner NaCl (10%ig) über einen speziellen Katheter direkt in die Pulmonalarterie. Sie nannten die Methode „Dilution method“ oder „Saline calibration“. Die Methode beruht auf folgenden Überlegungen: Könnte man die Leitfähigkeit des Blutes auf null „verdünnen“ (engl. dilution), würden nur noch die oben erwähnten Strukturen auf das elektrische Feld einwirken, was somit der Parallelen Conductance entsprechen würde. Da dies im lebenden Organismus aber unmöglich ist, ging man einen anderen Weg. Die Leitfähigkeit des Blutes wurde vorübergehend geändert, und zwar durch die Injektion eines Bolus mit hypertoner Kochsalzlösung (engl. saline). Während der Phase in der der Bolus den linken Ventrikel passierte, wurde der sich verändernde Leitwert jeweils in der Enddiastole (G_{ED}) und der Endsystole (G_{ES}) Schlag für Schlag gemessen. Gleichzeitig konnte die Volumenänderung vernachlässigt werden, da man aufgrund der stark hypertonen Lösung nur eine verschwindend geringe Menge injizieren musste.

Nun wurden die Werte von G_{ED} und G_{ES} (bzw. V_{ED} und V_{ES}) gegeneinander aufgetragen und eine lineare Regressionsgerade

gebildet. Um nun den Punkt zu finden, an dem das hindurchfließende Blut keine Rolle mehr spielt, machte man sich folgende Tatsache zunutze: Es gibt unter physiologischen Gesichtspunkten nur eine Situation, bei der $V_{ED} = V_{ES}$ während ein und desselben Herzzyklus ist, nämlich dann, wenn beide null sind, also das Herz blutleer ist und somit nur noch die Parallele Conductance den Gesamtleitwert ausmacht. Diese Situation spiegelt die so genannte Identitätslinie wider, auf der die Werte von V_{ED} denen von V_{ES} entsprechen.

Der Schnittpunkt der durch die Saline-Kalibration erhaltenen Regressionsgerade mit der Identitätslinie ergibt somit den Wert der Parallelen Conductance oder des abzuziehenden Volumenwertes.

Für eine optimale Saline-Prozedur sind folgende Punkte zu beachten: Die Injektion der hypertonen KSL (ca. 10–20 μ l, 10%ig) sollte zügig mit einer körperwarmen Lösung erfolgen. Zur Bildung der Regressionsgeraden bedarf es mindestens 8 Punkte (8 Herzzyklen), wobei der Korrelationskoeffizient über 0,85 liegen sollte. Die Leitwertänderung sollte mindestens 15 % betragen und die Prozedur sollte 3- bis 4-mal wiederholt werden, um einen aussagekräftigen Mittelwert für die Parallele Conductance zu erhalten. Die Atmung wirkt als Störfaktor, deshalb sollte die mechanische Beatmung kurzzeitig ausgesetzt werden. Durch eine gut eingestellte Beatmung reicht die Zeit bis zum Einsetzen der Spontanatmung jedoch aus, um genügend Loops aufzuzeichnen.

Die Abbildung II–4 zeigt eine solche Berechnung und die dazugehörigen Werte bei einer Ratte.

Berechnung der Parallelen Conductance

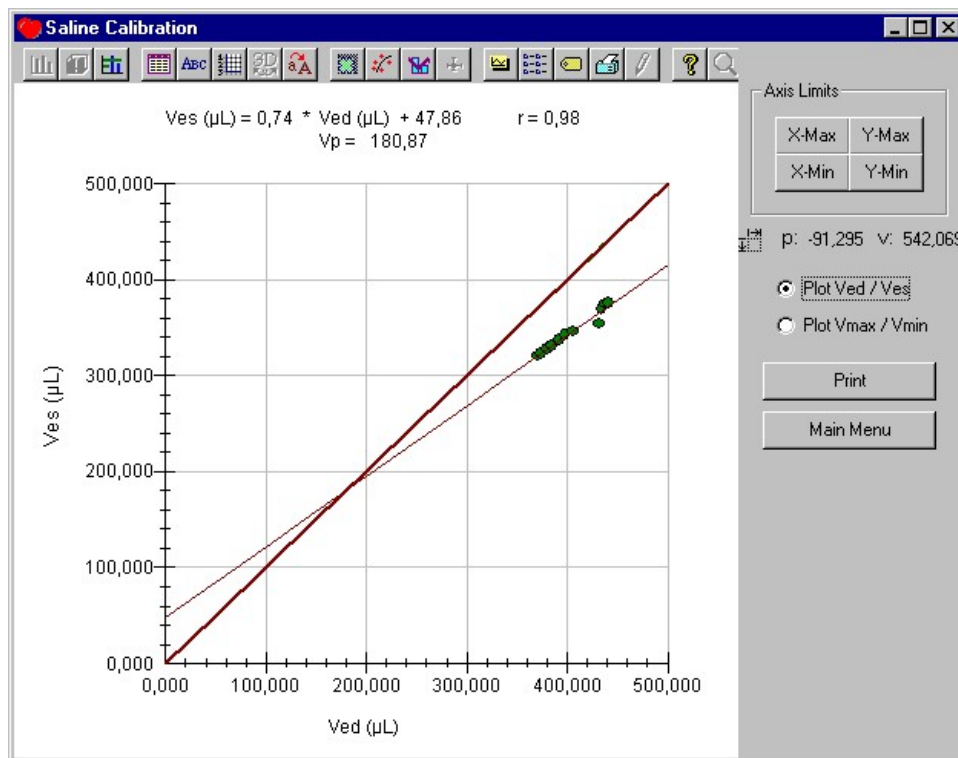


Abb. II-4: Die Parallele Conductance wird berechnet, indem man eine Regressionsgerade mit den Werten von V_{ED} und V_{ES} bildet und diese mit der Identitätslinie schneidet. In diesem Fall müssen 180,87 μL vom Volumen abgezogen werden, um das „wahre“ Volumen zu erhalten.

II.6.7 Okklusion der Vena cava (inferior)

Schnelle Laständerungen, wie sie für die Bestimmung von einigen Parametern notwendig sind, können entweder pharmakologisch, also mit Gabe von Vasokonstriktoren bzw. Vasodilatoren durchgeführt werden, oder mittels temporärer Okklusion der Vena cava (inferior) [Bashore et al., 1985; Kass et al., 1986 und Kass et al., 1992]. Diese Methode der schnellen Laständerung (optimal: 15 s) hat den Vorteil, störende Reflexaktivierungen (Herzfrequenzerhöhung) zu vermeiden und eine einfach reproduzierbare Bestimmung der Laständerung zu ermöglichen.

II.6.8 Parameter aus dem Druck-Volumen-Diagramm

Aus den Schleifen lassen sich Parameter direkt ableiten oder können berechnet werden. Zur Verdeutlichung ist in Abb. II–5a/b noch einmal ein Beispiel für eine Messung mit einer Laständerung dargestellt.

Schleifenwanderung

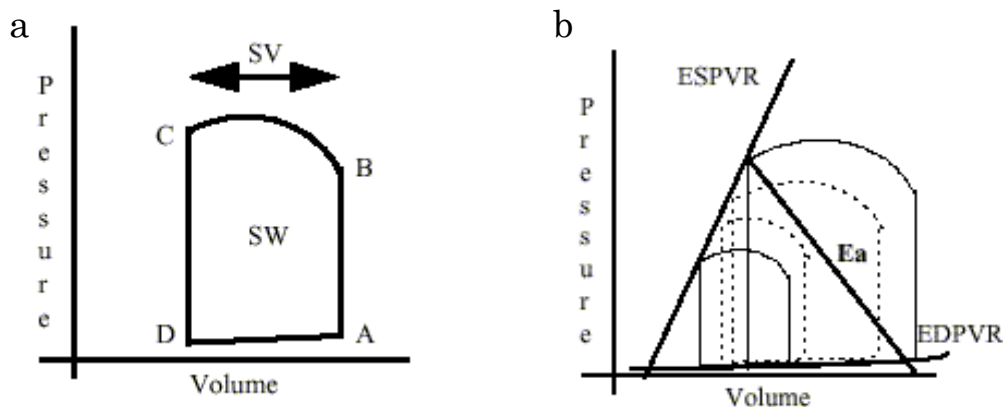


Abb. II-5a/b: Durch die Vorlastsenkung fallen Druck und Volumen ab. Die Schleifen „wandern“ nach links unten (b). Die Gerade durch die Punkte der Endsystole ist ein Maß für die Kontraktilität. Aus der Verbindung der enddiastolischen Punkte lässt sich die Steifigkeit berechnen, ein Maß für die Compliance (siehe auch I.2.2.).

Ein wichtiges Maß für die Kontraktilität im linken Ventrikel ist die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $dP/dt_{\max}$. Dies ist der Punkt mit dem schnellsten (steilsten) Druckanstieg pro Zeiteinheit während eines Herzzyklus. Das für einige Berechnungen benötigte Schlagvolumen (engl. stroke volume, SV) wird durch den horizontalen Abstand von B nach C repräsentiert (Abbildung II–5a). Die Fläche, die das Druck-Volumen-Diagramm einschließt, wird als Schlagarbeit (engl. stroke work, SW) des linken Ventrikels bezeichnet, oder anders formuliert als die Energie, die während der Kontraktion mit dem Blut weitergegeben wird.

Viele Parameter sind abhängig von den Ladebedingungen am Herzen, also von Vorlast und Nachlast. Als Vorlast (engl. preload) bezeichnet man die Kraft, welche die entspannte Ventrikelwand in der enddiastolischen Herzzyklusphase (Füllungsphase) dehnt und damit die Sarkomerlänge der Herzmuskelfasern vor der Kontraktion bestimmt. Im engeren Sinne also das enddiastolische Volumen. Unter der Nachlast (engl. afterload) versteht man die (gegen den Gefäßwiderstand) bei der Herzkammerentleerung (Austreibungsperiode) von der Ventrikelwand zu erbringende Kraft, deren Ausmaß v.a. vom diastolischen Druck in der Aorta bzw. im Truncus pulmonalis abhängt, somit also vom peripheren Widerstand des großen bzw. kleinen Kreislaufes.

Durch eine Änderung der Vorlast oder Nachlast erhält man eine zeitliche Abfolge sich verändernder Druck-Volumen-Diagramme. Eine plötzliche Vorlastsenkung induziert eine Schleifenwanderung der initialen Zyklen und legt damit den Verlauf der isometrischen Maximallinie für den betreffenden jeweiligen Interventionszustand fest. Wenn man davon ausgeht, dass der kontraktile Zustand des Herzens während dieser Phase konstant bleibt, so fallen z.B. die endsystolischen Druck-Volumenpunkte (Punkt C in Abb. II-5a) alle entlang einer Linie. Diese Linie entspricht im physiologischen Bereich einer Geraden (Abb. II-5b). Im Bereich der Endsystole wird diese Gerade als die Endsystolische Druck-Volumen-Beziehung (engl. endsystolic pressure-volume relationship, ESPVR) bezeichnet. Die Steigung dieser Geraden nennt man die endsystolische Elastizität (engl. endsystolic elastance, Ees). Dieser Anstieg gilt wegen seiner weitgehenden Lastunabhängigkeit als sehr sensibler Index für linksventrikuläre Kontraktilität [Kass et al., 1988 und Sagawa, 1984]. Während sich die linksventrikuläre Funktion durch die

Erfassung der Auswurffraktion (engl. ejection fraction, EF) relativ leicht bestimmen lässt, ist dies bei der Bestimmung einer abnormalen linksventrikulären isovolumetrischen Relaxation, gestörter Füllung und/oder verminderter Dehnungsfähigkeit viel schwieriger. Durch die invasive Methode mithilfe des Conductance-Katheters lässt sich eine eventuell vorhandene Diastolische Dysfunktion hämodynamisch beweisen: Es kann zu einer Erhöhung des enddiastolischen Druckes und/oder einer verminderten Druckabfallsgeschwindigkeit $dPdt_{\min}$ und/oder einer verminderten Relaxationsgeschwindigkeit τ und/oder einer myokardialen Steifigkeitszunahme kommen. Dabei kann die Steifigkeitskonstante ebenso wie die Endsystolische Elastance direkt aus einer Vorlastsenkung (z.B. Vena-Cava-Okklusion) bestimmt werden. Siehe Abb. II-6 (oder auch Abb. II-5b).

Druck-Volumenschleife bei der Vena-Cava-Okklusion

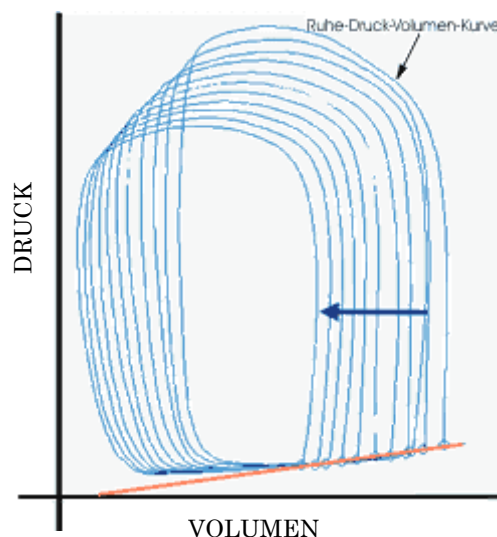


Abb. II-6: Druck-Volumen-Schleife in Ruhe (kleinerer Pfeil) und deren Änderung während einer kurzzeitigen Vena-Cava-Okklusion. Während der Vorlastsenkung kommt es zu einer Linksverschiebung der Kurve (größerer Pfeil). Der Winkel der Tangente, die Verbindung der gemessenen Veränderungen der linksventrikulären enddiastolischen Drücke, ist ein Maß für die linksventrikuläre Steifigkeit (Steifigkeitskonstante b).

Ein weiterer lastunabhängiger Index für die Kontraktilität ist die PRSW („preload recruitable stroke work“) des Ventrikels. Glower et al., 1985 demonstrierten in ihren Versuchen, dass Schlagarbeit und Kammervolumen (Muskel-Segmentlänge) in einer linearen Beziehung zueinander stehen. Dabei setzten sie auf Gesetzmäßigkeiten des Frank-Starling-Mechanismus, der besagt, dass mit zunehmender diastolischer Herzkammerfüllung die Arbeit pro Schlag bis zu einem Maximum zunimmt, um bei weiterer Dehnung wieder abzufallen. Mithilfe einer linearen Regression konnte gezeigt werden, dass es sich dabei um einen lastunabhängigen Index für die Kontraktilität handelt.

Die folgenden Tabellen zeigen die verwendeten Parameter bei der Herzkathetermessung. Dabei erfolgte eine Unterteilung in messbare und berechnete Parameter.

Übersicht messbare Parameter

Bezeichnung	Formelzeichen	Einheit
Linksventrikulärer Minimaler Druck	$P_{\min}$	mmHg
Linksventrikulärer Enddiastolischer Druck	P_{ed}	mmHg
Linksventrikulärer Maximaler Druck	$P_{\max}$	mmHg
Linksventrikulärer Endsystolischer Druck	P_{es}	mmHg
Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit des li. Ventrikels	$dPdt_{\max}$	mmHg/s
Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit des li. Ventrikels	$dPdt_{\min}$	mmHg/s
Herzfrequenz (Schläge pro Minute)	HR	bpm
Linksventrikuläres Enddiastolisches Volumen	V_{ed}	μl
Linksventrikuläres Endsystolisches Volumen	V_{es}	μl

Tab. II-2: Die Tabelle zeigt die messbaren Parameter.

Übersicht berechnete Parameter

Bezeichnung	Formelzeichen	Einheit
Herzminutenvolumen (Cardiac output)	CO	$\mu\text{l}/\text{min}$
Endsystolische Elastance (Maß für die Kontraktilität)	E_{es}	–
Schlagvolumen (Stroke Volume)	SV	mmHg/s
Tau -Weiss (Relaxationszeit)	tau-Weiss, τ_w	msec
Tau -Glantz (Relaxationszeit)	tau-Glantz, τ_g	msec
Schlagarbeit (Stroke Work)	SW	mmHg· μl
Preload Recrutable Stroke Work	PRSW	–

Tab. II-3: Die Tabelle zeigt die berechneten Parameter.

II.7 Präparation und Versuchsaufbau

Zur Messung mit dem Herzkatheter wurden die Tiere mit 0,11 mg/kg KGW Thiopental narkotisiert (Trapanal®, Byk Gulden, Konstanz). Anschließend wurden die Tiere im Bereich des Kehlgangs und der Brust bis knapp vor den Bauchnabel rasiert und in Rückenlage auf einer Wärmeplatte fixiert. Um Wärmeverluste zu vermeiden, wurden die Tiere mit einem Vlies abgedeckt. Dann wurde die Trachea freipräpariert, inzidiert und ein Tubus eingebunden. Der Tubus wurde an einen Respirator angeschlossen und die Tiere je nach Körpergewicht mit einem Gemisch aus Raumluft und reinem Sauerstoff beatmet. Dann bekamen die Tiere eine i.m.-Injektion von 2 mg Pancuroniumbromid (Pancuronium-Organon®, Organon Teknika Medizinische Produkte GmbH, Eppelheim) zur Muskelrelaxation. Nun wurde ein venöser Zugang für die Injektion der hypertonen Kochsalzlösung gelegt. Die Vena jugularis wurde freipräpariert und kopfwärts abgebunden. In die inzidierte Vene wurde dann ein dünner Katheter bis kurz vor den rechten Vorhof vorgeschoben und in dieser Lage fixiert. Jetzt wurde die Arteria carotis unter Schonung des N. vagus frei präpariert. Mithilfe einer Mini-Klemme unterband man den arteriellen Blutfluss. Zur Erleichterung der folgenden Arbeit, wurde darauf geachtet, dass die Klemme so weit wie möglich herzwärts am Gefäß angesetzt wurde. Nun wurde das Gefäß kopfwärts ligiert, anschließend die Arteria carotis unmittelbar neben der kopfseitigen Ligatur inzidiert und der Conductance-Katheter in Richtung Herz bis zur Mini-Klemme vorgeschoben. Idealerweise sollten sich nun alle Messeinheiten des Katheters innerhalb des Gefäßabschnittes von der Inzision bis zur Mini-Klemme befinden. Dann setzte man eine Ligatur um das Gefäß mit dem darin befindlichen Katheter, möglichst nah an der Inzision.

Die Ligatur wurde nur so fest angezogen, dass sich der Katheter nach dem Lösen der Klemme gerade noch so weiterschieben ließ. Nach dem Entfernen der Klemme wurde der Conductance-Katheter retrograd zum Blutfluss über die Aortenklappe in den linken Ventrikel vorgeschoben. Dabei diente der diastolische Blutdruck als Kontrolle. Um optimale Messergebnisse zu erhalten, wurde die Lage des Katheters im Ventrikel so lange verändert, bis man von der Form her ideale Loops erhalten hat. In dieser Lage wurde der Katheter dann fixiert, indem man die 2. Ligatur an der Arteria carotis fester zuzog. Nun folgte die Ermittlung der Parallelen Conductance über eine Injektion von 10 bis 20 μ l hypertonischer Kochsalzlösung (ca. 10%ig) über den Katheter in der Vena jugularis. Um Irritationen durch die Beatmung zu vermeiden, wurde der Respirator während der Injektion für 6 bis 8 Sekunden in endexpiratorischer Stellung ausgeschaltet. Diese Prozedur wurde 2- bis 3-mal wiederholt, um sicher zu gehen, dass man einen optimalen Verlauf der Änderung in der Blutleitfähigkeit bekommen hat. Direkt im Anschluss daran wurde die Bauchhöhle eröffnet und die Vena cava caudalis zwischen Leber und Zwerchfell frei präpariert. Der Blutdruck fiel dabei mehr oder weniger stark ab, erholte sich aber wieder nach kurzer Zeit. Nach dieser Erholungsphase wurde die Vena cava caudalis mithilfe einer Pinzette kurzzeitig okkludiert, um eine Laständerung hervorzurufen. Dies geschah wiederum unter Aussetzung der Beatmung in endexpiratorischer Stellung und wurde ebenfalls 2- bis 3-mal wiederholt. Zum Schluss wurden die Blutgase gemessen und das Tier durch schnellen Blutentzug getötet.

II.8 Datenerfassung und -verarbeitung

Die Erfassung der Daten erfolgte mit dem ARIA™-1 Pressure-Volume Conductance System für Tiere von Millar Instruments. Die Daten von Druck und Volumen wurden mit der Software HEM 3.2 (Notocord Systems, Croissy sur Seine, Frankreich) aufgezeichnet und anschließend mit dem Programm PVAN 2.8 (Millar Instruments, Houston, Texas) ausgewertet. Zum Import der Daten von HEM in PVAN wurde aufgrund fehlender Kompatibilitäten ein spezielles Programm der Firma FMI (Föhr Medical Instruments, Seeheim) benutzt.

II.9 Endsektion und weiterführende Untersuchungen

Im Anschluss an die Blutentnahme fand die Sektion der Tiere statt. Die komplette Brustorta wurde frei präpariert und kam sofort ins Organbad (s.u.). Das Herz wurde entnommen und gewogen, danach in den linken und rechten Ventrikel aufgeteilt und diese ebenfalls gewogen. Der linke Ventrikel wurde zur späteren Bestimmung des Hydroxyprolin/Arginin-Verhältnisses bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren. Ferner wurden die Nieren entnommen und ebenfalls gewogen.

II.9.1 Hydroxyprolin/Arginin-Bestimmung

Der linke Ventrikel wurde auf das Verhältnis Hydroxyprolin/Arginin (mol/mol) untersucht. Dieses Verhältnis ist ein Marker für die Fibrosierung des Herzens. Die Proben wurden in 6 molarer Salzsäure hydrolysiert, die Aminosäuren mit Fluorenylmethyl-Chloroformat (FMOC-Cl) aufgetrennt und eine HPLC-Aminosäureanalyse durchgeführt (TNO Prevention and Health, Leiden, Niederlande).

II.9.2 Die Vasoreaktivität am Modell der isolierten Aorta

Direkt nach dem Töten der Tiere, also parallel zur Sektion, erfolgte die Präparation der Aorten für die Messungen im Organbad. Dabei wurde das Gefäß herznah im Aortenbogen abgetrennt. Ein zweiter Schnitt erfolgte am Hiatus aorticus des Zwerchfells. In einer Petrischale mit warmer *Tyrode*-Nährlösung (s.u.) wurde das restliche, anhaftende Bindegewebe mit Schere und Pinzette entfernt. Das durchschnittlich 4 bis 5 cm lange Gefäß wurde in 3 mm lange Ringe geschnitten und diese anschließend eröffnet, sodass ca. 1 cm lange Streifen entstanden. Vier gleich große Ringe wurden pro Tier für die Versuche ausgewählt. Die aufgeschnittenen Ringe wurden einzeln in zwei kleine Metallhaken aus V4A-Stahl eingehängt und in einer Apparatur auf zirkuläre Kraftentwicklung und Relaxation untersucht. Dafür wurde das Gefäß mit einer Vorlast von 500 mg gedehnt und 60 min im Organbad äquilibriert. Gegebenenfalls wurde in dieser Zeit die Vorlast nachreguliert. Das Organbad war mit einer *Tyrode*-Nährlösung gefüllt und wurde mit 0,4 bar Carbogen, einem Gasgemisch aus 95 % O₂ und 5 % CO₂, durchperlt, wodurch ein stabiler pH-Wert von 7,4 gewährleistet wurde. Die Temperatur im Organbad betrug 37 °C.

Die *Tyrode*-Nährlösung setzte sich aus folgenden Komponenten zusammen:

136,9 mmol/l NaCl	2,68 mmol/l KCl
0,49 mmol/l MgCl₂ · 6 (H₂O)	11,9 mmol/l NaHCO₃
0,44 mmol/l NaH₂PO₄	5,55 mmol/l Glukose
0,14 mmol/l CaCl₂ · 2 (H₂O)	

Nach der Äquilibration wurde eine Kontraktion durch Zugabe von Phenylephrin (PHE) in einer Konzentration von 10⁻⁷ mol/l

ausgelöst. Die in Aqua bidest. gelöste Substanz wurde in das Badgefäß pipettiert. Nach 10 bis 15 min Einwirkungszeit erreichte die Kontraktion ein stabiles Plateau. Durch eine kumulative Applikation des Parasympathomimetikums Acetylcholin (ACh) in das Organbad wurde eine endothelabhängige Relaxation erreicht. Nach einer Auswaschphase erfolgte eine erneute Kontraktion mit PHE. Dann wurden die Aortenstreifen mit Nitroprussid-Natrium (SNP) endothelunabhängig relaxiert. Die Konzentrationen betrugen jeweils 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} und 10^{-5} mol/l. Anschließend wurden die in Gramm gemessene Dehnung der Aortenstreifen in Prozent angegeben, nachdem das Verhältnis von erreichter Dehnung zu Vordehnung berechnet worden war.

Die Datenerfassung bzw. Auswertung erfolgte mit den EDV-Programmen BEMON 2.1 und AMON (Firma Ingenieurbüro Jäckel, Hanau).

II.10 Geräte

Analysenwaage, A 200 S

Analysenwaage, PM 1200

Aria-1 Conductance-Einheit

Biofuge A

Conductance-Katheter Model SPR-774

Kraftaufnehmer, Typ GM 2

Magnetventilsteuerung, MVS-800

Mikroprobengefäße zur Serumgewinnung

Miniküvetten, Glukose, LKM 141

Organbadanlage, 6 x 20 ml,

doppelwandige Glasbäder

Respirator, RUS 201

Varifuge 3.0 RS

Satorius

Mettler

Millar Instr., Houston, Texas

Heraeus Sepatech

Millar Instr., Houston, Texas

Scaime, Frankreich

Jahns

Sarstedt

Dr. Lange

Eigenbau, Aventis

IGT, Bad Homburg

Heraeus Sepatech

II.11 Chemikalien und Substanzen

Acetylcholinchlorid, p.a.	Sigma
Ascorbinsäure, krist. reinst	Merck
Calcium-EDTA, p.a.	Merck
Calciumchlorid • 2 H ₂ O, reinst	Merck
Carbogen-Gas	Linde
Citronensäure, kleinkrist. reinst	Merck
Dinatriumhydrogenphosphat, p.a.	Merck
Ethanol, 80%ig, vergällt	Sigma
Glukose, DAB	Merck
Kaliumchlorid, p.a.	Merck
Kaliumdihydrogenphosphat, krist. reinst	Merck
Magnesiumsulfat • 7 H ₂ O, reinst	Merck
Natriumchlorid, reinst	Merck
Natriumdihydrogenphosphat • 7 H ₂ O, p.a.	Merck
Natriumhydrogencarbonat, p.a.	Merck
Nitroprussid-Natrium, p.a.	Sigma
Paraformaldehyd, reinst	Sigma
Phenylephrin Hydrochlorid, reinst	Sigma
Salzsäure, rauchend, p.a.	Merck

II.12 Statistische Methoden

II.12.1 Statistik der Stoffwechsel-, Vorversuche

Die Ergebnisse wurden mithilfe des t-Tests nach Student und des Mann-Whitney Rank Sum Tests (bei fehlender Normalverteilung) auf Signifikanz überprüft, wobei das Signifikanzniveau auf $p < 0,05$ festgelegt wurde und in den Abbildungen und Tabellen teilweise durch * bzw. # gekennzeichnet ist. Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistik Programm von SigmaStat 2.0 (Jandel Scientific Software, San Rafael, CA, USA) durchgeführt. Für die Darstellung der Ergebnisse wurden Grafiken aus gemittelten Gruppenwerten ($\bar{x}$) und den entsprechenden mittleren Fehlern der Mittelwerte (SEM) erstellt.

II.12.2 Statistik der Herzkathetermessungen

Im ersten Schritt der statistischen Analyse wurde geprüft, ob mindestens einer der erhobenen Parameter als valider Indikator für den Gesundheitszustand der Tiere verwendet werden kann. Ein solcher Parameter sollte wenigstens einen statistischen gesicherten Unterschied zwischen den Ergebnissen der „Control lean“ Gruppe und denen der „Control ZDF“-Gruppe ermöglichen. Dabei sollten die Parameterwerte der „Control ZDF“-Tiere niedrigere Werte im Bereich der systolischen Herzfunktion bzw. höhere Werte im Bereich der diastolischen Herzfunktion im Vergleich zu den „Control lean“-Tieren aufweisen.

Parameter der Herzfunktion

Parameter	Bereich
Cardiac Output	Systolische Herzfunktion
$dPdt_{\max}$	Systolische Herzfunktion
E_{es}	Systolische Herzfunktion
$P_{\max}$	Systolische Herzfunktion
PRSW	Systolische Herzfunktion
$dPdt_{\min}$	Diastolische Herzfunktion
P_{ed}	Diastolische Herzfunktion
τ_g	Diastolische Herzfunktion
τ_w	Diastolische Herzfunktion
k_1	Diastolische Herzfunktion

Tab. II-4: Die Parameter zur Untersuchung der diastolischen, bzw. systolischen Herzfunktion.

Zur besseren Kontrolle der Fehlerrate für falsch positive Befunde wurde dieser Test zunächst für die beiden Parametergruppen (systolischer und diastolischer Bereich) insgesamt durchgeführt und bei einem positiven Testergebnis auf die einzelnen Parameter innerhalb der Parametergruppe verfeinert.

Sequenzielles Testschema

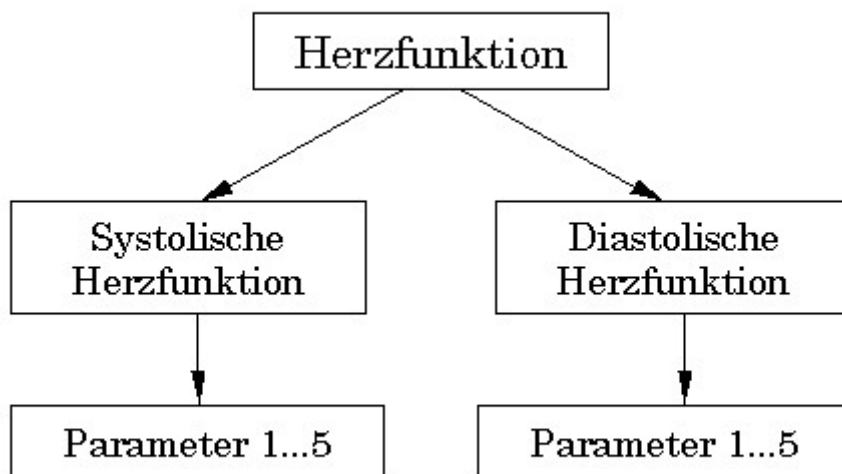


Abb. II-7: Das Testschema. Die Gesamtaussage „Herzfunktion“ folgt aus den Einzelergebnissen der 2. Teststufe.

Für beide Parametergruppen wurde zunächst ein einseitiger, multivarianter Rangsummentest nach O'Brien, 1984 durchgeführt, mit einer α -Adjustierung [Holm, 1979] der Signifikanzniveaus beider Tests. Eine positive Aussage zum Gesamtsystem folgt (wegen der α -Adjustierung), wenn mindestens einer der beiden Tests zu einem positiven Ergebnis führt. Einzelne Parameter wurden mit dem einseitigen, exakten Rangsummentest nach Wilcoxon [Hollander et al., 1973] geprüft, wobei wiederum eine α -Adjustierung [Holm, 1979] aller fünf Einzeltests vorgenommen wurde.

Im zweiten Schritt wurde dann die Effektivität der Ramipril-Behandlung untersucht, indem die Ergebnisse der Ramipril-Gruppe mit denen der „Control ZDF“ verglichen wurde. Die Analyse entspricht der zuvor beschriebenen Vorgehensweise, wobei die Ramipril-Gruppe im obigen Testschema die „Control lean“-Gruppe ersetzt. Die Untersuchung wurde zudem auf Parametergruppen mit statistisch signifikantem Unterschied zwischen „Control ZDF“ und „Control lean“ eingeschränkt, da der Nachweis eines therapeutischen Effekts ohne vorhergehende, krankhafte Beeinträchtigung wenig sinnvoll erscheint.

Zur explorativen Einschätzung der Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen wurden einseitige Konfidenzgrenzen gemäß Testrichtung zum Konfidenzniveau 99 % angegeben. Bezogen auf eine Parametergruppe entspricht dies einem simultanen Konfidenzniveau von 95 %. Die Konfidenzintervalle sowie zusätzliche multiple t-Tests wurden im Rahmen einer Varianzanalyse berechnet. Im Gegensatz zu den oben erläuterten nichtparametrischen Tests [Hollander et al., 1973 und O'Brien, 1984] erfordert die Interpretation die Annahme (ausreichend) normal verteilter Parameterwerte mit (annähernd) gleicher Varianz in allen Versuchsgruppen.

III Ergebnisse

III.1 Ergebnisse der Behandlungsphase

III.1.1 Körpergewicht, Nahrungs- und Wasseraufnahme

Zu Beginn der Behandlung hatten die Tiere der „Control lean“-Gruppe ein Gewicht zwischen 140 und 170 g ($\emptyset$ ca. 154 g), in der „Control ZDF“-Gruppe betrugen die Werte 184 bis 204 g ($\emptyset$ ca. 194 g). Die Ramipril-Gruppe war weit gestreut, dort lagen die Werte zwischen 160 und 208 g ($\emptyset$ ca. 180 g). In den ersten beiden Versuchswochen legten alle Tiere außergewöhnlich stark an Körpergewicht zu. Die Tiere der „Control lean“-Gruppe legten im Durchschnitt um 77 g pro Woche zu, die anderen beiden Gruppen hatten wöchentliche Zunahmen bis fast 100 g. Ab der dritten Versuchswoche, also einem Lebensalter von 8 Wochen, gab es fast durchweg kontinuierliche Zunahmen innerhalb der Gruppen. Die „Control lean“-Gruppe kam auf 14,7 g/Woche, die beiden anderen Gruppen legten durchschnittlich 23,6 bzw. 24,6 g /Woche zu. Mit der 15./16. Lebenswoche stellte sich dann aber ein Plateau bezüglich der Zunahmen ein; dieser Trend setzte sich sogar ins Negative fort, indem es zum Ende der Behandlungsphase zu kollektiven Abnahmen im Körpergewicht kam.

Die Wasseraufnahme verlief bei allen drei Gruppen bis zur 13./14. Lebenswoche fast auf gleich bleibendem Niveau. Bei den Tieren der „Control lean“-Gruppe waren dies ca. 22 bis 30 ml pro Tag, während sich die Werte bei den Ramipril-Tieren und der „Control ZDF“-Gruppe zwischen 30 und 43 ml bewegten. Mit dem Überschreiten der Nierenschwelle von Glukose (s.u.), stieg die Wasseraufnahme bei den Tieren der „Control ZDF“-Gruppe und der

Ramipril-Gruppe schlagartig an. Dabei erreichte die Ramipril-Gruppe bis zur 22. LW einen durchschnittlichen Wert von 134 ml pro Tier und Tag. Der Wasserverbrauch der „Control ZDF“-Gruppe stieg sogar bis auf Durchschnittswerte von 188 ml pro Tier und Tag an.

Die Futteraufnahme bewegte sich bei der „Control lean“-Gruppe während der gesamten Versuchsdauer zwischen 20 und 25 g pro Tier und Tag ($\bar{x}$ 22 g). Bei den beiden anderen Gruppen war die Bandbreite deutlich größer. Zu Anfang der Untersuchungen gab es Schwankungen, die sich zwischen 30 und 44 g bewegten, ab der 13. bis 14. Lebenswoche kam es zu einem Plateau und ab der 16. LW bis zum Versuchsende schließlich zu einem anhaltenden Anstieg auf Werte von 37 g bei der Ramipril-Gruppe und sogar 47 g bei den Tieren der „Control ZDF“-Gruppe.

Körpergewichte der ZDF-Ratten

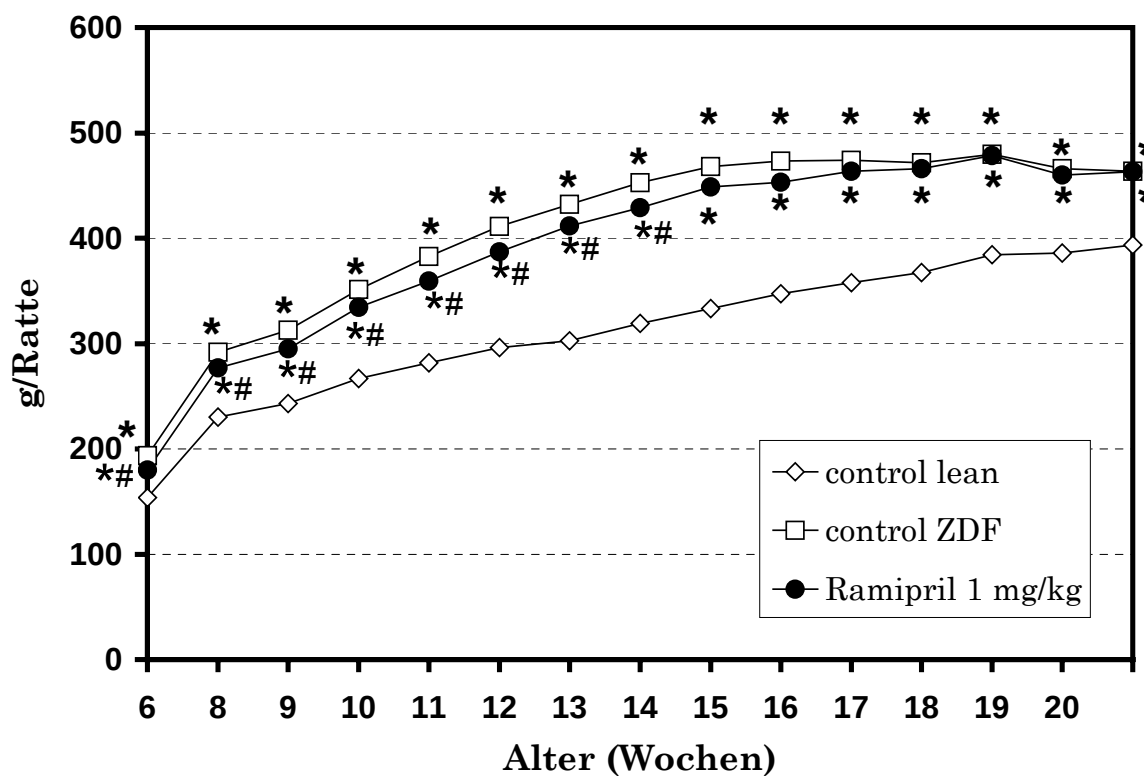


Abb. III-1: Die Entwicklung der Körpergewichte der Tiere über die Versuchsdauer von 14 Wochen (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.1.2 Blutglukose, Insulin und HbA_{1c}

Zu Anfang der Studie, also mit einem Alter von 6 Wochen, unterschieden sich die Glukose-Werte noch nicht signifikant. Während die „Control lean“-Gruppe bei 6,63 mmol Glukose pro Liter Blutplasma lag, waren die beiden „Obese“-Vertreter nur geringfügig höher, nämlich 7,23 bzw. 6,80 mmol/l. Ab der 11. Lebenswoche stieg die Glukosekonzentration dieser beiden Gruppen jedoch sehr rasch an, um schließlich – beginnend mit der 16. LW – in ein Plateau bei ungefähr 23–24 mmol/l Glukose zu münden. Der Glukosespiegel der „Control lean“-Gruppe pendelte während der gesamten Untersuchungszeit zwischen 5,1 und 6,4 mmol/l.

Bei den Insulin-Werten sah es dagegen anders aus. Die Tiere der „Control ZDF“- und der Ramipril-Gruppe hatten schon zu Beginn der Studie einen deutlich höheren Insulinspiegel als die der „Control lean“-Gruppe, nämlich 4,57 bzw. 3,61 ng/ml zu 0,33 ng/ml Insulin. Bei der „Control lean“-Gruppe lag die Insulinkonzentration während der gesamten Zeit im Normbereich (Mensch: 0,33 bis 1 ng/ml). Bei den beiden anderen Gruppen gab es eine leichte Erhöhung der Insulinkonzentration bis zur 13. LW, danach kam es zu einem kontinuierlichen Abfall. In der 19. LW lagen dann diese Werte mit 2,99 bzw. 2,96 ng/ml deutlich unter den Anfangswerten. In der 21. Woche fanden keine Messungen der Insulinwerte mehr statt, darum fehlen diese Werte auch in den Schaubildern.

Blutglukose und Insulin „Control lean“

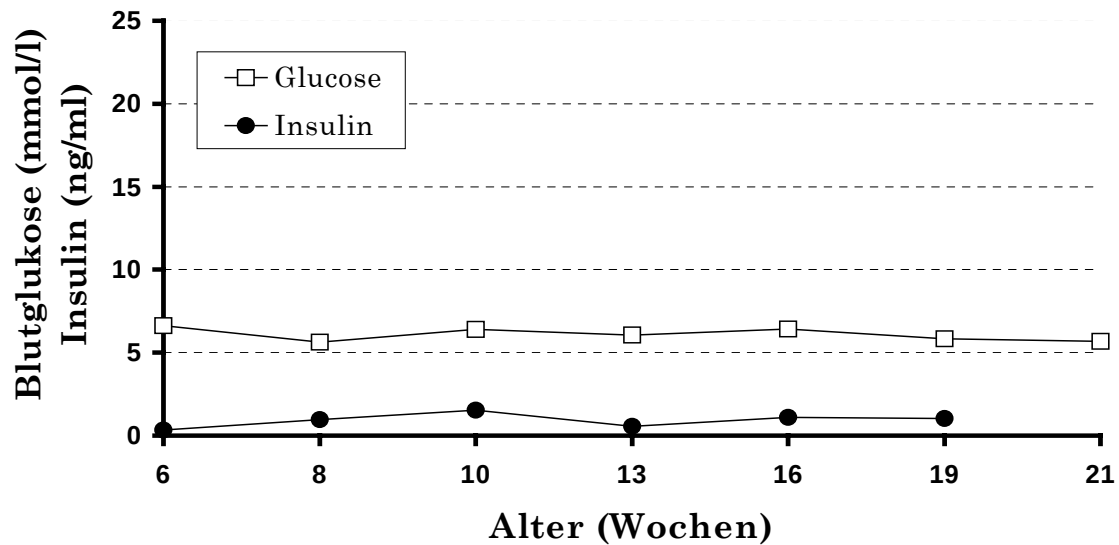


Abb. III-2: Die Glukose- und Insulin-Spiegel der „Control lean“-Gruppe. In der 21. LW fanden keine Messungen der Insulinwerte mehr statt.

Blutglukose und Insulin „Control ZDF“

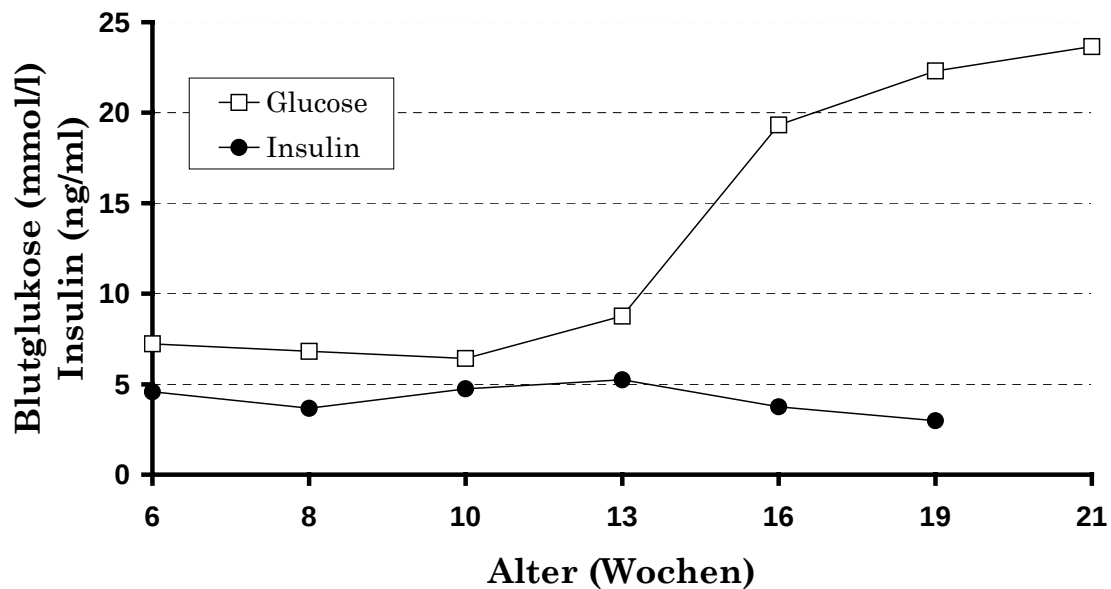


Abb. III-3: Die Glukose- und Insulin-Spiegel der „Control ZDF“-Gruppe. In der 21. LW fanden keine Messungen der Insulinwerte mehr statt.

Blutglukose im Vergleich

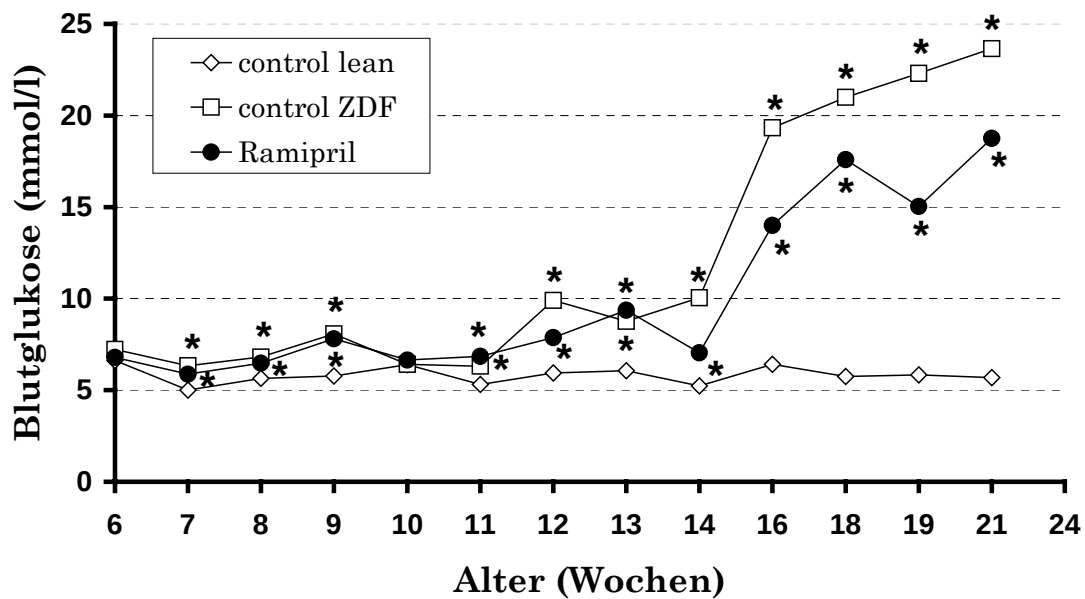


Abb. III-4: Die Glukosewerte (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“).

Insulin im Vergleich

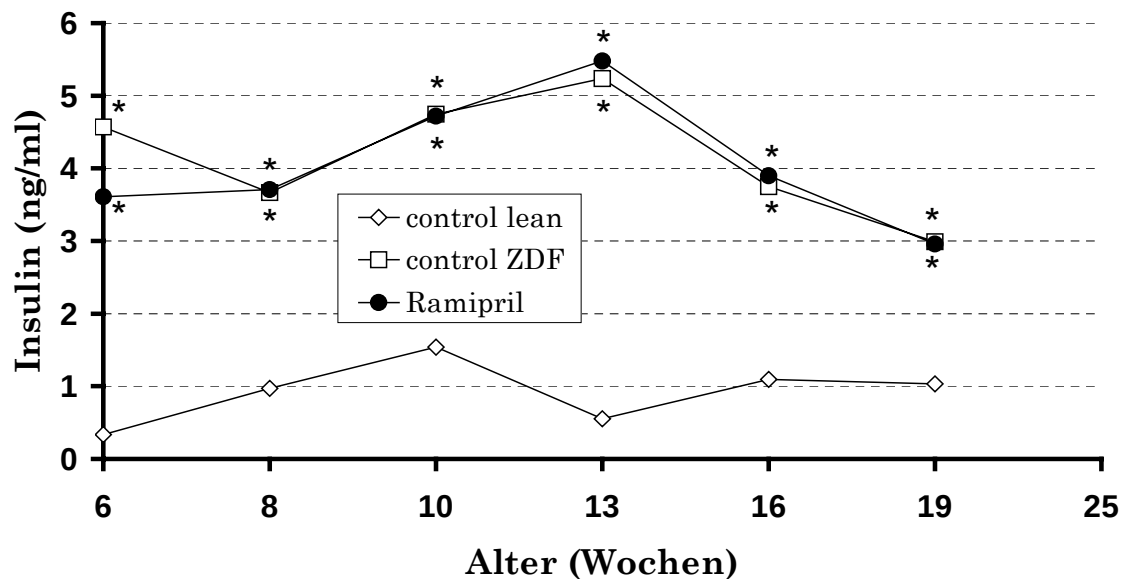


Abb. III-5: Die Insulinwerte (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“).

Die HbA_{1C}-Werte verhielten sich ähnlich den Glukosewerten. Bis zur 14. LW gab es nur geringe Schwankungen zwischen 4,5 und 4,9 %. Die Werte der „Control ZDF“- und der Ramipril-Gruppe stiegen ab diesem Zeitpunkt kontinuierlich an und erreichten mit der 23. LW Werte um 9,37 bzw. 8,17 %.

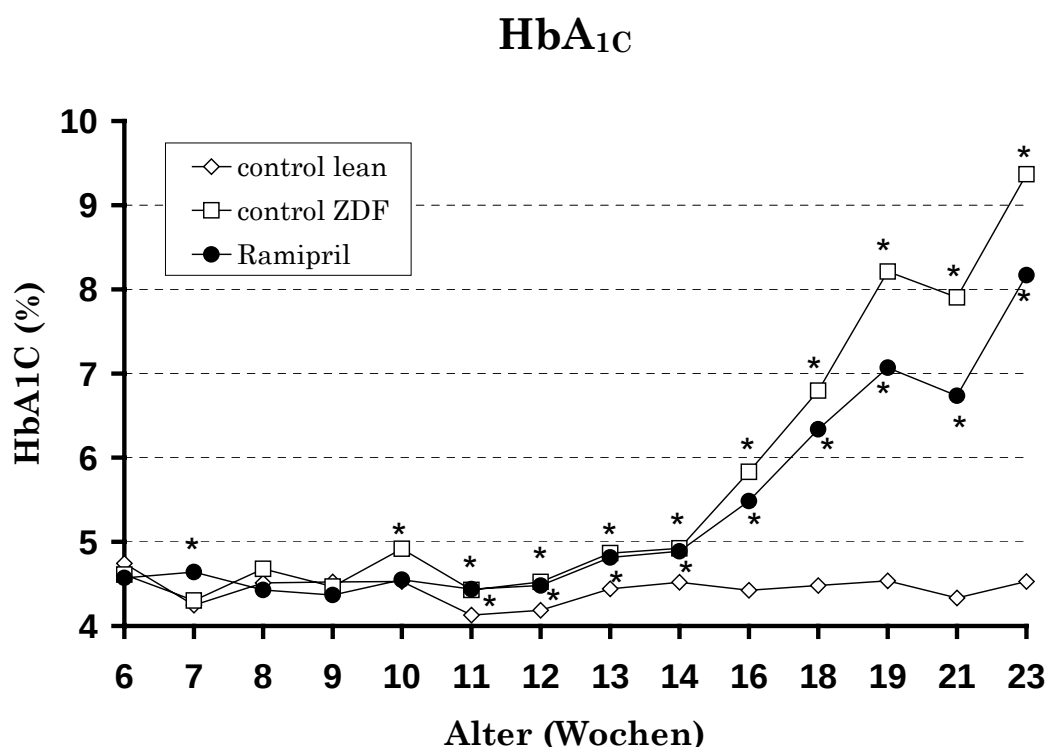


Abb. III-6: Die HbA_{1C}-Werte während der Behandlungsphase (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“).

III.1.3 Gesamtcholesterin, HDL-/LDL-Fraktion und Triglyzeride

Die Ergebnisse der Bestimmung des Gesamtcholesterins, der Triglyzeride und der HDL-/LDL-Fraktion können den Abbildungen III–7 bis III–10 entnommen werden.

Bei den Werten im Gesamtcholesterin (T-Cholesterol) lagen die beiden Gruppen „Control ZDF“ und Ramipril während der gesamten Messung auf gleicher Höhe, jedoch signifikant über den Werten der „Control lean“-Gruppe.

Gesamtcholesterin

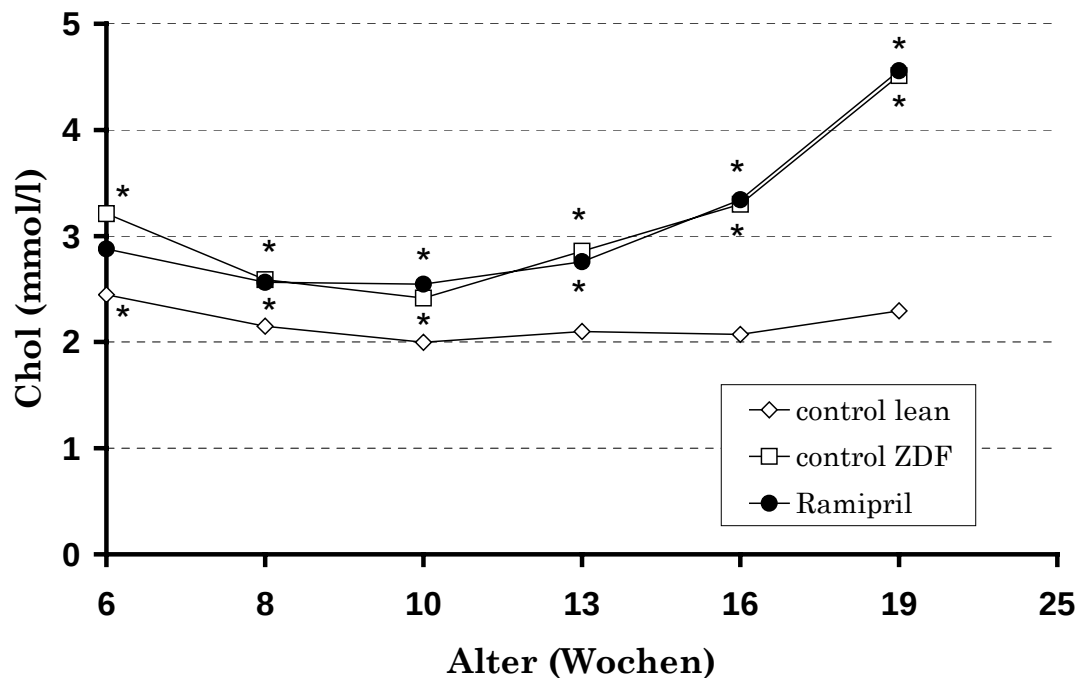


Abb. III-7: Cholesterinspiegel (Chol) der „Control ZDF“, der Ramipril- und der „Control lean“- Gruppe (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“).

Die HDL-Fraktion der Cholesterine zeigte im ganzen Versuch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Konzentrationen bewegten sich zwischen 1,6 und 2,5 mmol/l.

Bei der LDL-Fraktion gab es deutlichere Unterschiede. Den beiden Gruppen „Control ZDF“ und Ramipril stand eine „Control lean“-Gruppe gegenüber, deren Plasmakonzentration zu Versuchsbeginn signifikant über den beiden anderen Gruppen lag. Zum Schluss des Versuchs hin näherten sich die Gruppenwerte allerdings etwas an.

HDL-Cholesterol

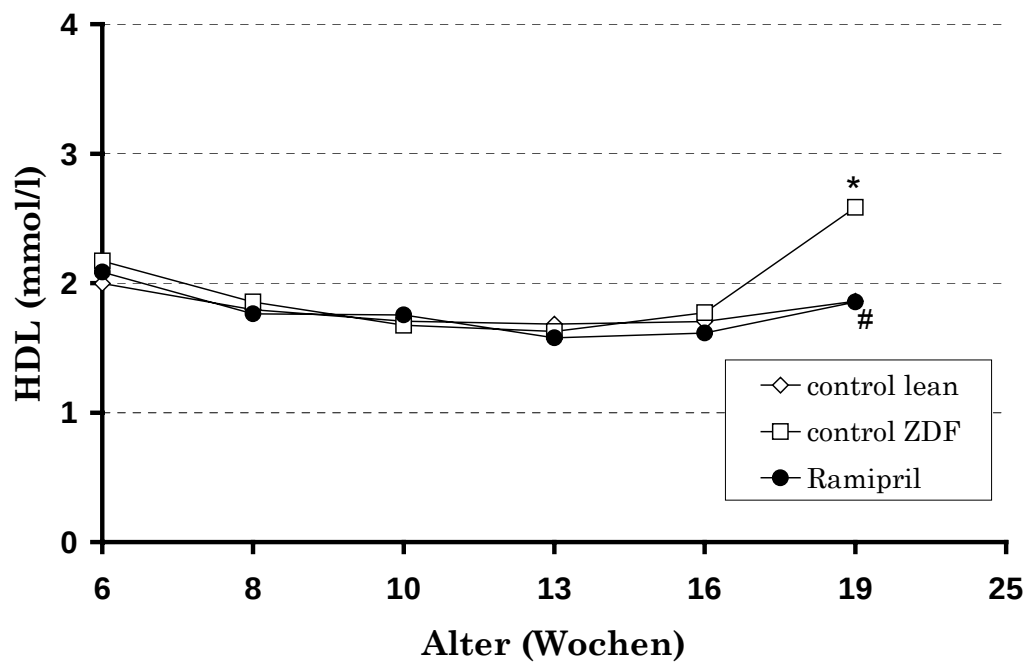


Abb. III-8: Plasmakonzentration der HDL-Fraktion (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

LDL-Cholesterol

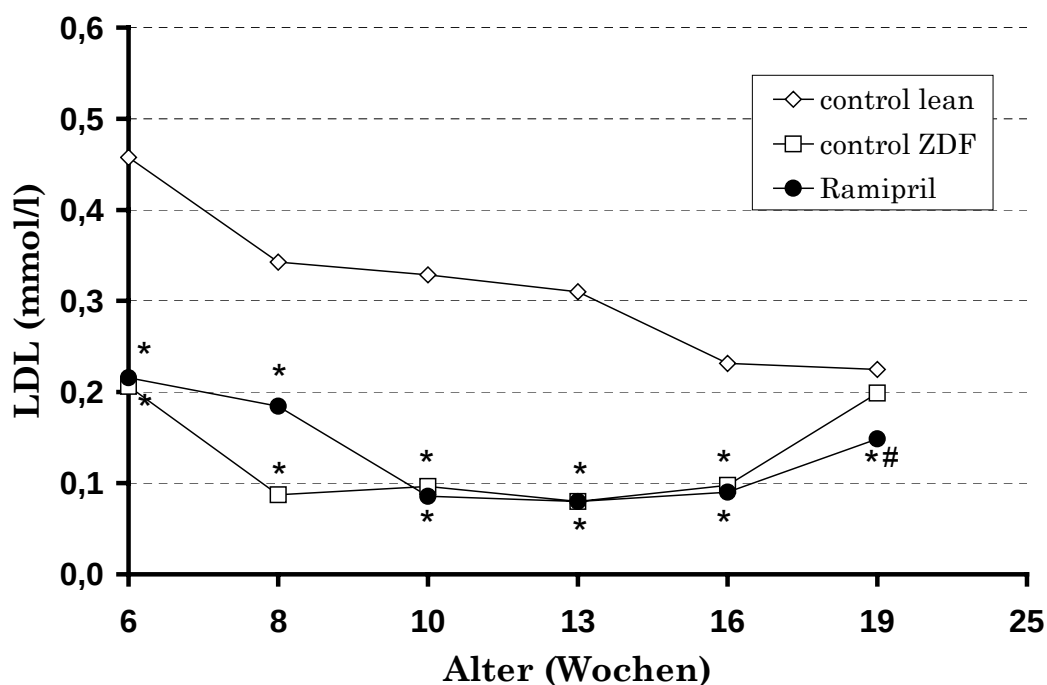


Abb. III-9: Die LDL-Fraktion zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen, die aber zum Schluss hin geringer werden (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

Besonders deutlich war der Unterschied bei den Triglyzeriden. Während sich die Plasmakonzentrationen der „Control lean“-Tiere konstant zwischen 0,48 und 0,93 mmol/l bewegten, gab es bei den beiden anderen Gruppen einen kontinuierlich ansteigenden Verlauf von anfangs 2 mmol/l bis 7 mmol/l in der 13. LW. Ab diesem Zeitpunkt verliefen die Kurven jedoch entgegengesetzt: Die Ramipril-Gruppe setzte den Anstieg bis zu einem Wert von 14,4 mmol/l fort, während bei der „Control ZDF“-Gruppe ein Abwärtstrend einsetzte und die Werte letztendlich auf ca. 5,4 mmol/l zurückgingen.

Triglyzeride

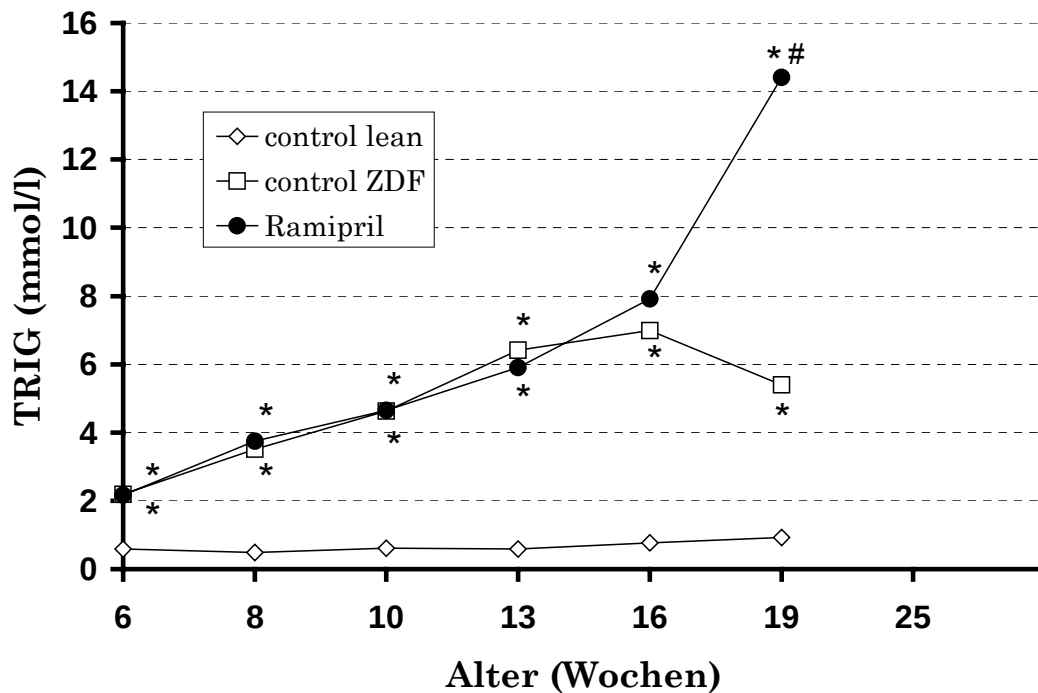


Abb. III-10: Triglyzeridspiegel (TRIG) der „Control lean“-, „Control ZDF“- und Ramipril-Gruppe (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.1.4 Albumin

Wie bei den Harnparametern fanden drei Messungen während der gesamten Versuchsdauer statt. Bei den ersten beiden Messungen in der 6. und der 13. LW lagen die Werte der einzelnen Gruppen relativ eng zusammen und zwar bei Albuminausscheidungsraten weit unter der Grenze zu einer Mikroalbuminurie. Dieses Verhältnis änderte sich jedoch deutlich bei der dritten Messung in der 19. Lebenswoche. Während sich die Albuminausscheidungswerte der „Control lean“-Gruppe weiterhin auf gleich bleibend niedrigem Niveau von ca. 1 mg/24 h bewegten, stiegen die Werte der „Control ZDF“-Gruppe auf über 55 mg/24 h an und die der Ramipril-Gruppe auf knapp 25 mg/24 h. Somit lagen die Werte der Ramipril-Gruppe signifikant unter denen der „Control ZDF“-Gruppe.

Albuminausscheidung

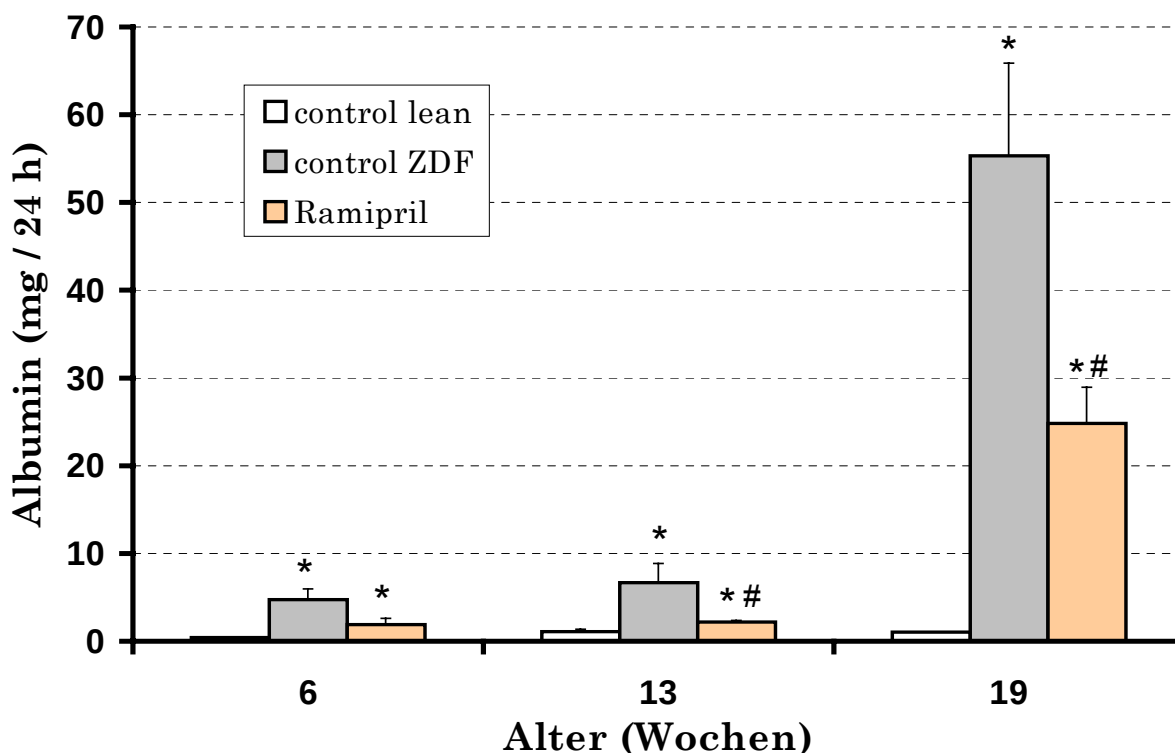


Abb. III-11: Die veränderte Albuminausscheidung über den Zeitraum der Versuchsdauer (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.1.5 Kreatinin-, Harnstoff-, Kalium- und Natriumclearance

Allein bei der Harnmenge gab es schon deutliche Unterschiede. Im Vergleich zur „Control lean“-Gruppe lag das 24-h-Harnvolumen von Beginn an bei den beiden anderen Gruppen deutlich höher. Bei der dritten Messung betrug der Unterschied schon das Zehnfache.

Die Harnvolumina im Vergleich

	6. LW	13. LW	19. LW
Control lean	5,43 ml	8,63 ml	10,81 ml
Control ZDF	9,58 ml *	14,88 ml *	110,50 ml *
Ramipril	8,96 ml *	19,14 ml *	95,43 ml *

Tab. III-1: Das Ansteigen der Harnvolumina während des Versuches (Mittelwerte $\bar{x}$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“).

Die Kreatininwerte im Blut unterschieden sich in den einzelnen Gruppen bei der ersten Messung kaum (6. LW). Die Werte lagen im Mittel bei 13,6 bis 14,9 $\mu\text{mol/l}$. Bis zur dritten Messung in der 19. LW stiegen die Werte auf 27 $\mu\text{mol/l}$ bei der „Control lean“-Gruppe und auf 18–20 $\mu\text{mol/l}$ bei den beiden anderen Gruppen. Die berechnete Clearance für Kreatinin zeigte bei dieser Messung jedoch deutliche Signifikanzen der diabetischen Gruppen zur „Control lean“-Gruppe, aber auch innerhalb der beiden diabetischen Gruppen.

Beim Harnstoff zeigte sich ein ähnliches Bild. Hier waren die Unterschiede in der Plasmakonzentration noch geringer. Zum Schluss hin kam es sogar noch zu einem Absinken der Konzentrationen. Die daraus resultierende Clearance zeigte auch signifikant bessere Werte für die „Control ZDF“- und Ramipril-Gruppe (siehe Tab. III–2).

Die Kalium- und Natrium-Clearance lagen in den einzelnen Gruppen zum größten Teil ebenfalls sehr eng beieinander. Bei der ersten und dritten Messung schnitten die Tiere der „Control ZDF“- und der Ramipril-Gruppe wiederum signifikant besser ab.

Die renale Clearance

	Kreatinin-Clearance (ml/min)	Harnstoff-Clearance (ml/min)	Kalium-Clearance (ml/min)	Natrium-Clearance (ml/min)
6. LW				
Control lean	1,82	0,82	0,51	0,005
Control ZDF	1,78	0,96	0,69 *	0,007 *
Ramipril	1,95	0,90	0,66 *	0,007 *
13. LW				
Control lean	2,74	0,86	0,52	0,012
Control ZDF	2,94	0,87	0,62	0,013
Ramipril	3,27	1,23	0,75 *	0,011
19 LW				
Control lean	2,59	1,22	0,43	0,012
Control ZDF	3,59 *	2,42 *	1,00 *	0,035 *
Ramipril	3,07 * #	2,10 *	0,84 *	0,032 *

Tab. III-2: Die renale Clearance der harnpflichtigen Substanzen Kreatinin, Harnstoff, Kalium und Natrium (Mittelwerte $\bar{x}$ in ml/min *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.1.6 Ergebnisse der Herzkatheteruntersuchung

Die Mittelwerte und mittleren Standardabweichungen der gemessenen bzw. berechneten Werte können aus der Tabelle III–3 entnommen werden. Grafisch abgebildet sind das Herzminutenvolumen, die maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit, die endsystolische Elastance, der maximale linksventrikuläre Druck, die Werte für die erreichbare Schlagarbeit in Abhängigkeit von der Vorlast (PRSW), die maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit, der enddiastolische linksventrikuläre Druck, die linksventrikuläre Relaxationszeit berechnet nach Glantz bzw. Weiss und die enddiastolische Steifheit (Steifigkeitskonstante) des linken Ventrikels k_1 -EDPVR (Abb. III–12 bis Abb. III–21).

Herzkatheter-Parameter

Parameter		Control lean	Control ZDF	Ramipril
HR	$\bar{x}$	341	284	295
	SEM	9	10	11
$P_{\min}$	$\bar{x}$	1,5	4,2	1,2
	SEM	0,8	2,8	0,5
P_{ed}	$\bar{x}$	5,3	10,2	5,8
	SEM	1,0	2,7	1,0
$P_{\max}$	$\bar{x}$	172,4	171,8	172,9
	SEM	7,0	8,2	5,4
$dPdt_{\max}$	$\bar{x}$	8754	7884	8448
	SEM	448	423	410
$dPdt_{\min}$	$\bar{x}$	-8994	-7048	-7657
	SEM	384	258	315
V_{ed}	$\bar{x}$	264	282	230
	SEM	16	26	16
V_{es}	$\bar{x}$	167	194	161
	SEM	12	15	12
CO	$\bar{x}$	40752	37198	32654
	SEM	3046	3686	1961
E_{es}	$\bar{x}$	1,3	1,7	0,8
	SEM	0,4	0,7	0,1
SV	$\bar{x}$	120	132	111
	SEM	10	14	7
τ_w	$\bar{x}$	11,46	15,85	13,69
	SEM	0,48	0,77	0,51
τ_g	$\bar{x}$	18,64	24,17	22,95
	SEM	1,25	1,59	1,96
SW	$\bar{x}$	14353	14655	13740
	SEM	1017	1577	615
PRSW	$\bar{x}$	120	107	121
	SEM	18	9	39
$k_1\text{-EDPVR}$	$\bar{x}$	0,0066	0,0085	0,0060
	SEM	0,0012	0,0016	0,0011

Tab. III-3: Die abgebildete Tabelle zeigt die Ergebnisse der Herzkathetermessungen. Es sind für alle gemessenen und berechneten Parameter jeweils die Mittelwerte ($\bar{x}$) und mittleren Standardabweichungen (SEM) dargestellt. HR = Herzfrequenz, $P_{\min}$ = minimaler Druck (in der Diastole), P_{ed} = enddiastolischer Druck, P_{es} = endsystolischer Druck, $dPdt_{\max}$ = maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit, $dPdt_{\min}$ = maximale linksventriku-

läre Druckabfallsgeschwindigkeit, V_{ed} = enddiastolisches Volumen, V_{es} = endsystolisches Volumen, CO = Herzminutenvolumen („cardiac output“), E_{es} = endsystolische Elastance, SV = Schlagvolumen, τ_w = Relaxationszeit nach Weiss, τ_g = Relaxationszeit nach Glantz, SW = Schlagarbeit („stroke work“), PRSW = die erreichbare Schlagarbeit in Abhängigkeit von der Vorlast („preload recruitable stroke work“), k_1 -EDPVR = Maß für die Steifheit des Herzens in der Enddiastole, die so genannte Steifigkeitskonstante („stiffness“).

Cardiac output

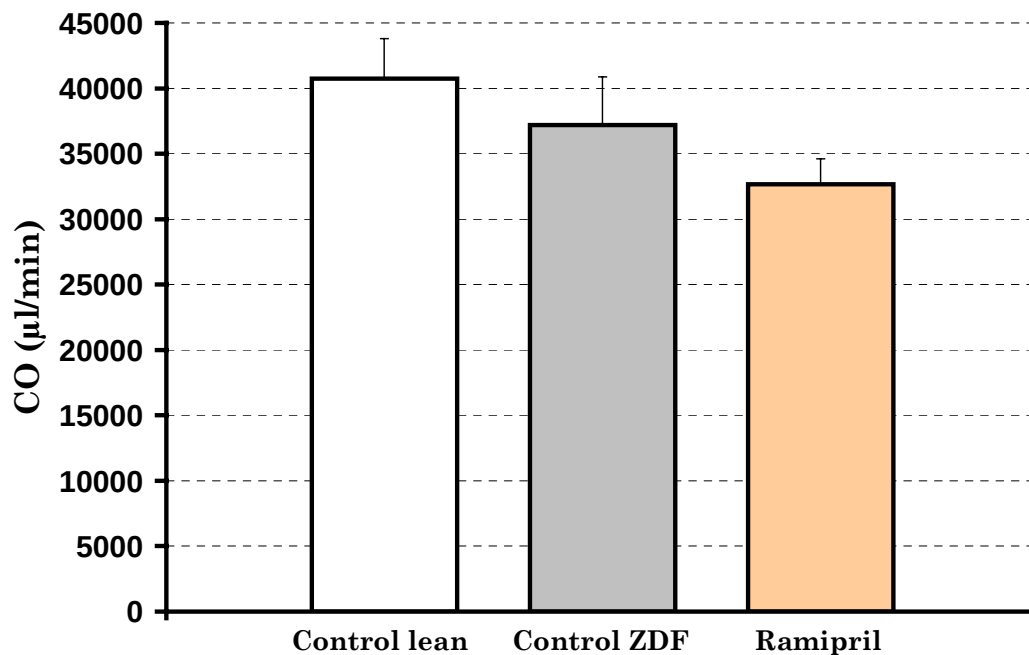


Abb. III-12: Das Herzminutenvolumen (CO) ($\mu\text{l}/\text{min}$; $\bar{x} \pm \text{SEM}$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

Maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit

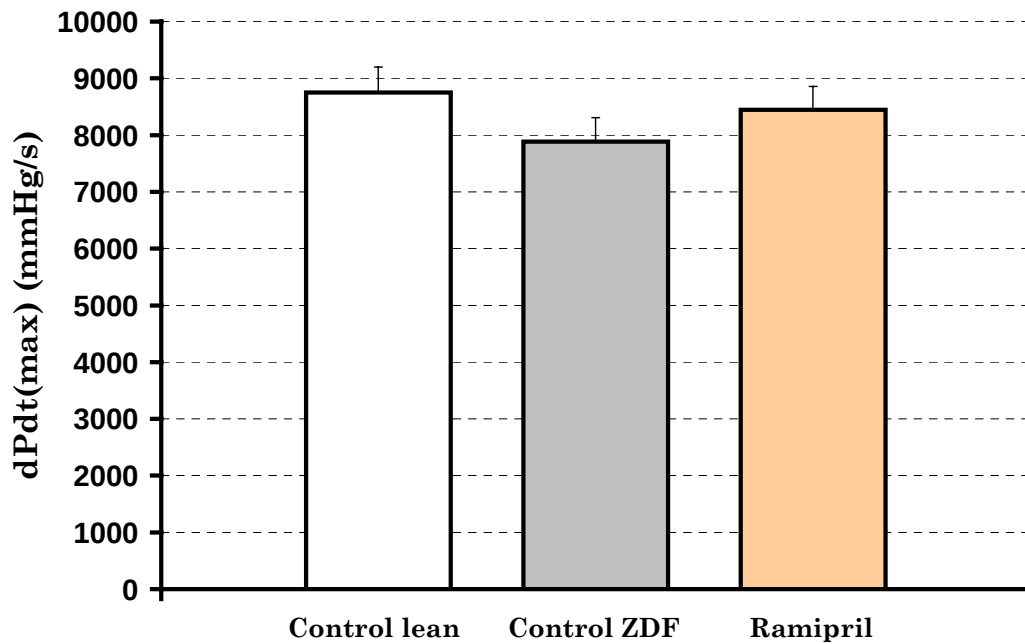


Abb. III-13: Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $dPdt_{max}$ (mmHg/s; $\bar{x} \pm SEM$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

Endsystolische Elastance

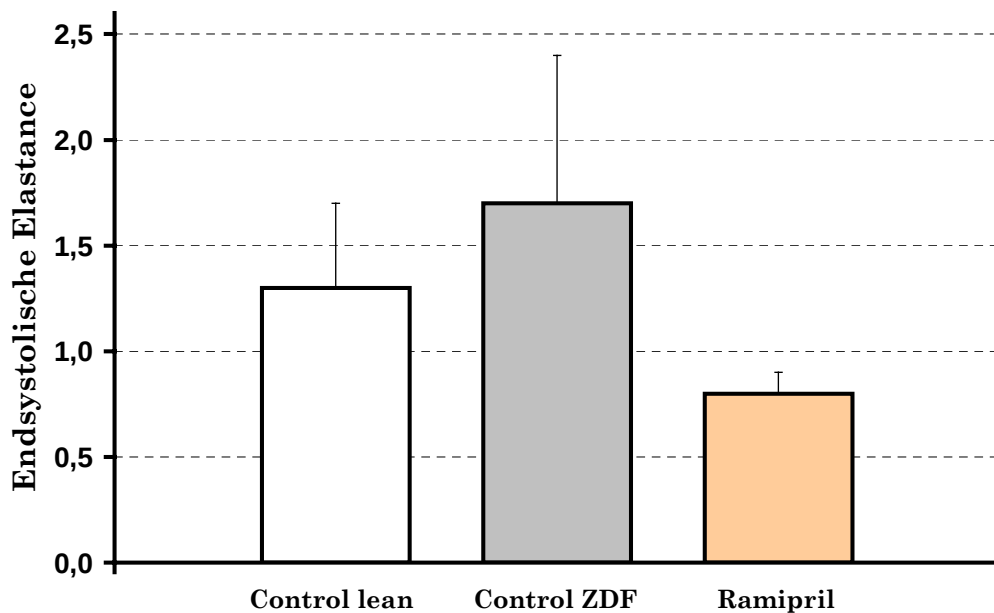


Abb. III-14: Die Endsystolische Elastance ($\bar{x} \pm SEM$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril. Messung mit dem Herzkatheter in der Okklusionsphase.

Maximaler linksventrikulärer Druck

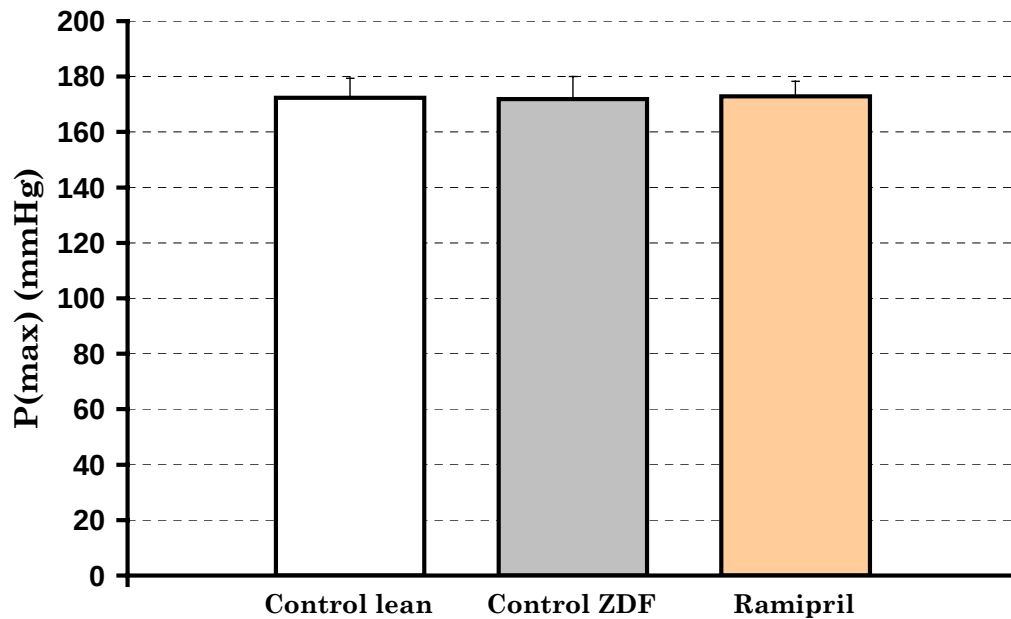


Abb. III-15: Der maximale linksventrikuläre Druck (mmHg; $\bar{x} \pm \text{SEM}$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

Preload recruitable stroke work

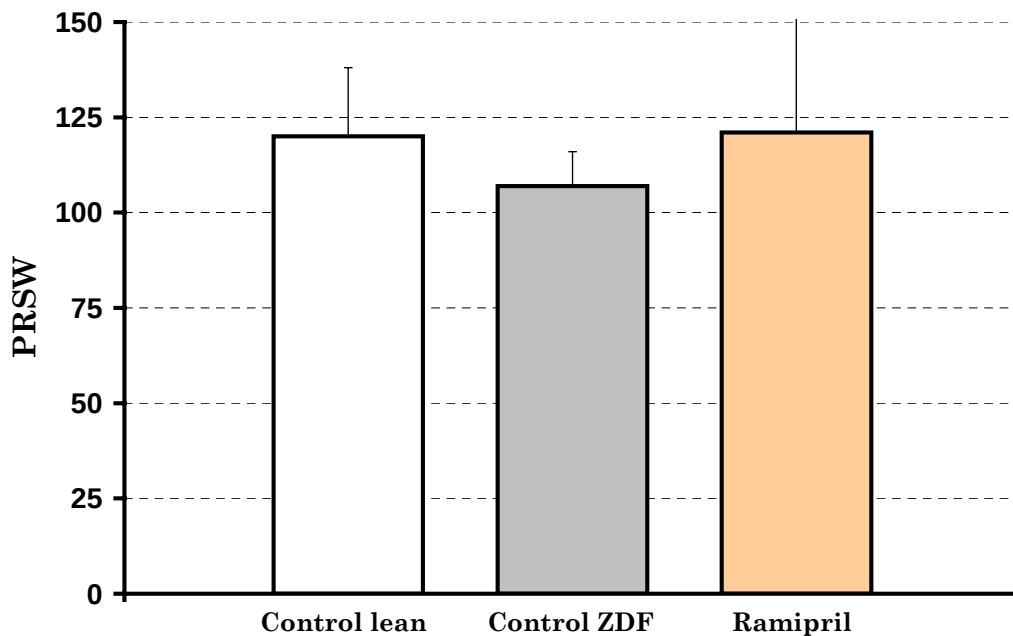


Abb. III-16: Die erreichbare Schlagarbeit in Abhängigkeit von der Vorlast PRSW ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril. Messung mit dem Herzkatheter in der Okklusionsphase.

Maximale Druckabfallsgeschwindigkeit

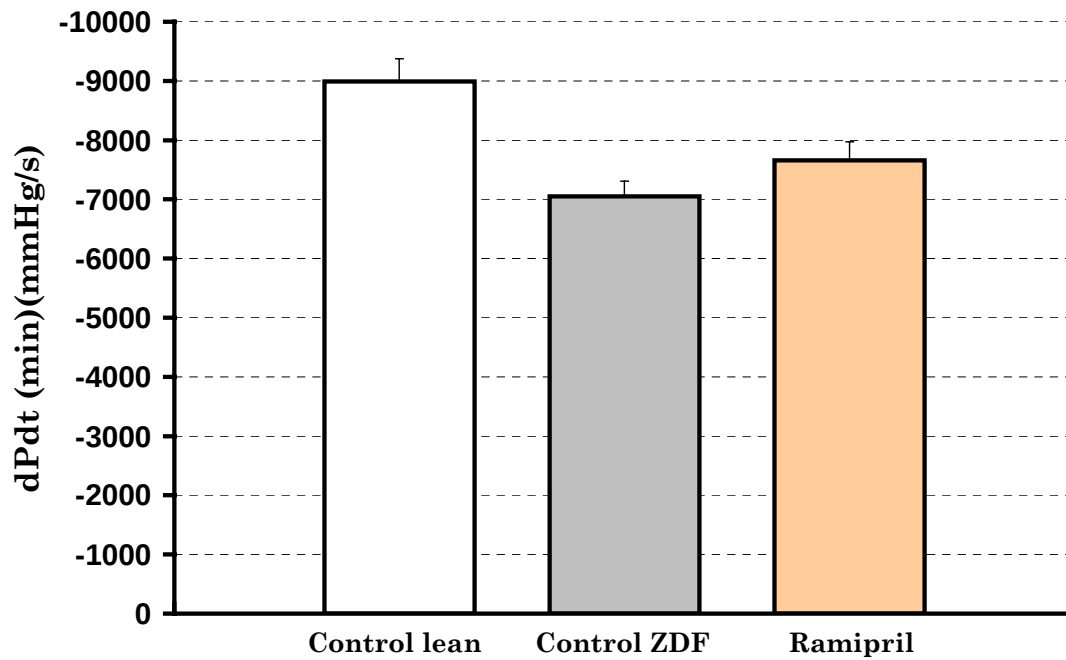


Abb. III-17: Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit $dPdt_{min}$ (mmHg; $\bar{x} \pm SEM$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

Linksventrikulärer Enddiastolischer Druck

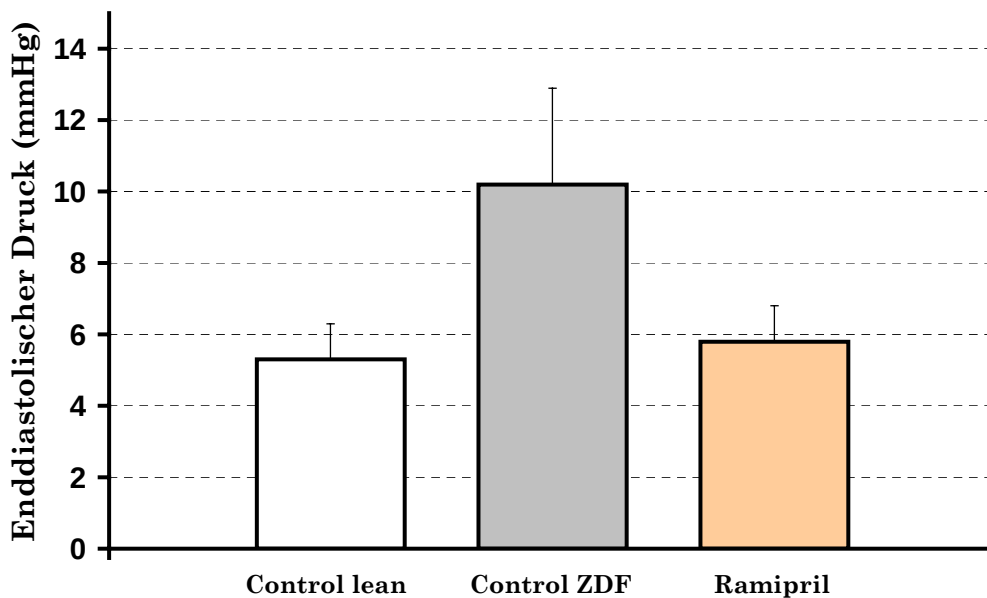


Abb. III-18: Der linksventrikuläre enddiastolische Druck P_{ed} (mmHg; $\bar{x} \pm SEM$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter

Relaxationszeit nach Glantz

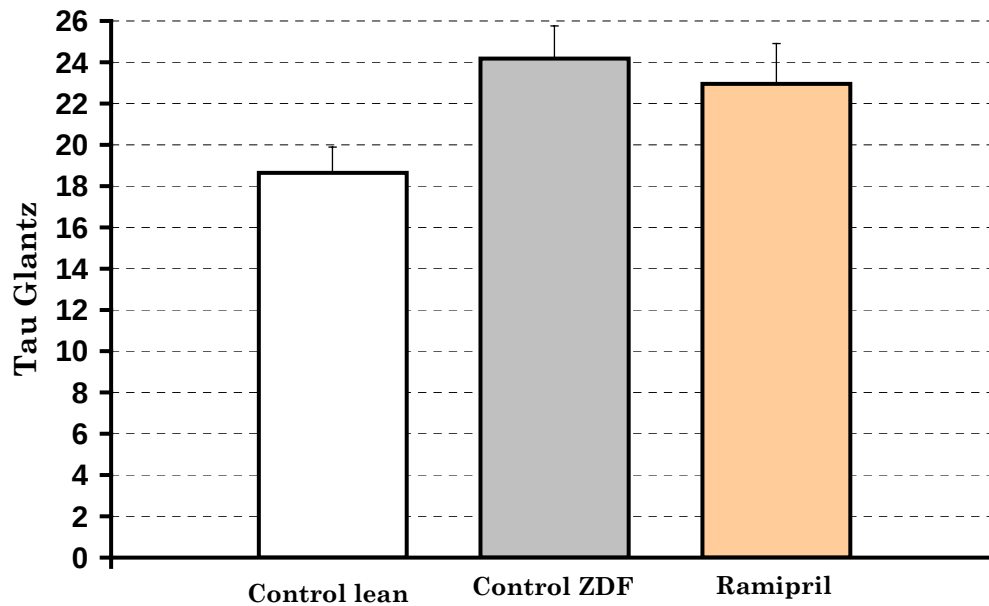


Abb. III-19: Die Relaxationszeit nach Glantz (ms; $\bar{x} \pm \text{SEM}$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

Relaxationszeit nach Weiss

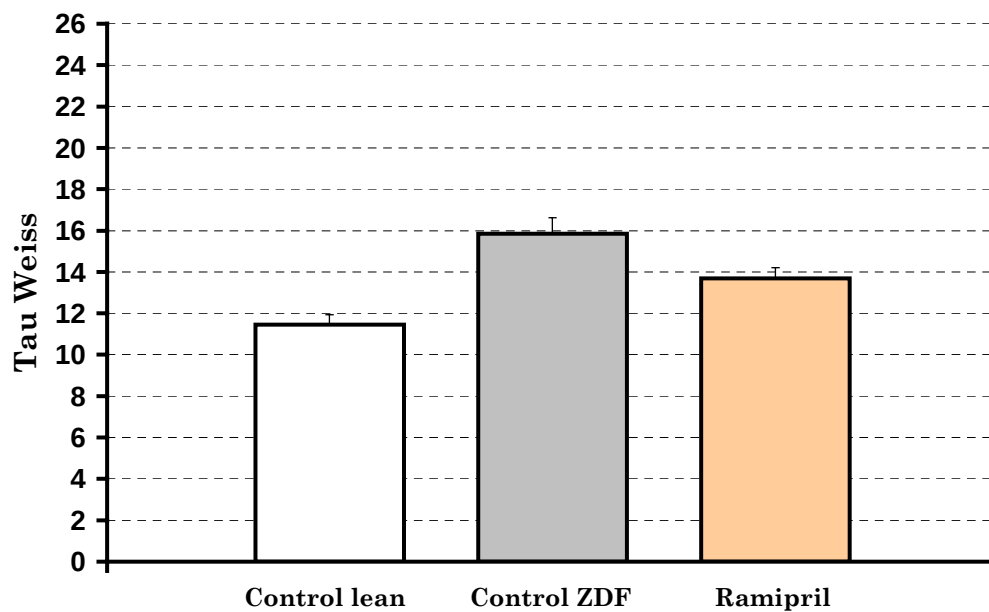


Abb. III-20: Die Relaxationszeit nach Weiss (ms; $\bar{x} \pm \text{SEM}$) der drei Gruppen „Control lean“, „Control ZDF“ und Ramipril bei der „Steady state“-Messung mit dem Herzkatheter.

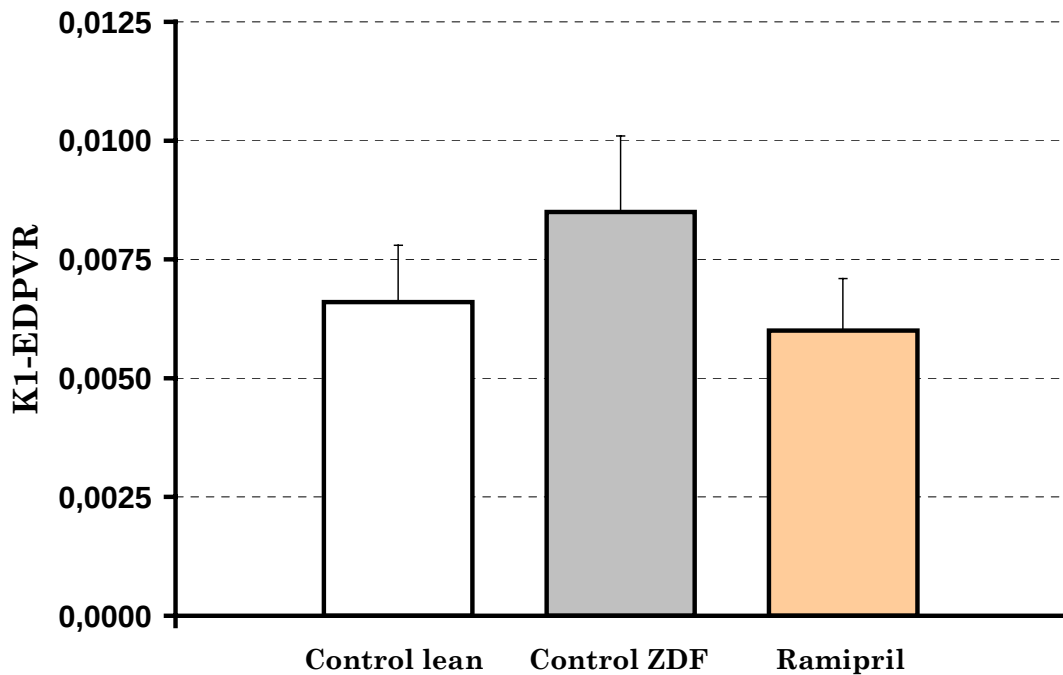
K₁-EDPVR

Abb. III-21: *K₁-EDPVR als Maß für die Steifheit des linken Ventrikels in der Diastole ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Messung mit dem Herzkatheter in der Okklusionsphase.*

III.1.7 Statistische Analyse

Die statistische Analyse zeigt eine Verschlechterung der diastolischen Herzfunktion insgesamt ($p \leq 0,17\%$) bei den „Control ZDF“-Tieren im Vergleich zu den Tieren der „Control lean“-Gruppe. Mit Ausnahme des Parameters k_1 (-EDPVR) ist dieser Unterschied auch in den einzelnen Parametern der diastolischen Herzfunktion erkennbar (Tab. III-4). Der Test zur systolischen Herzfunktion kann dagegen keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen bestätigen ($p \geq 31,87\%$), sodass hier gemäß Testschema alle weiteren Analyseschritte entfallen.

Diastolische Parameter „Control ZDF“ vs. „Control lean“

Parameter	Mittelwert	UG 99 %	t-Test	Wilcoxon
dPdt_{min}	-1946,50	-810,11	+	+
P_{ed}	-4,83	1,53	(+)	+
τ_g	-5,53	0,06	+	+
τ_w	-4,40	-2,25	+	+
k₁-EDPVR	-0,0019	0,0029	n.s.	n.s.

Tab. III-4: Validität der diastolischen Parameter („Control ZDF“ vs. „Control lean“).

+ : Statistischer Unterschied auf einem multiplen Signifikanzniveau von 5 %
(+): Statistischer Unterschied auf einem lokalen Signifikanzniveau von 5 %

Ein therapeutischer Effekt der Ramipril-Behandlung kann bei den diastolischen Parametern insgesamt ($p \leq 1,95\%$) bestätigt werden, lässt sich aber auf dem gewählten Signifikanzniveau nicht auf eine bestimmte Auswahl von diastolischen Parametern zurückführen (Tabelle III–5).

Diastolische Parameter „Control ZDF“ vs. „Ramipril“

Parameter	Mittelwert	UG 99 %	t-Test	Wilcoxon
dPdt_{min}	-608,96	567,31	n.s.	n.s.
P_{ed}	-4,38	2,20	n.s.	n.s.
τ_g	-1,22	4,56	n.s.	n.s.
τ_w	-2,17	0,05	(+)	(+)
k₁-EDPVR	-0,0024	0,0027	n.s.	n.s.

Tab. III-5: Ramiprileffekte in der diastolischen Funktion („Control ZDF“ vs. „Ramipril“).

+ : Statistischer Unterschied auf einem multiplen Signifikanzniveau von 5 %
(+): Statistischer Unterschied auf einem nicht adjustierten Signifikanzniveau von 5 %

III.1.8 Beschreibende Statistik

Systolische Herzfunktion

Parameter	Gruppe	N	Mittelwert	Std. Abw.	UG 99 %	OG 99 %	Median	1. Quartil	3. Quartil
CO	Lean	8	40751,88	8615,50	32209,70	49294,05	42083,50	34410,00	46795,00
	Obese	8	37198,38	10426,22	28656,20	45740,55	32334,50	29832,50	44054,00
	Ramipril	7	32654,57	5188,91	23522,60	41786,55	33546,00	30822,00	36680,00
dPdt _{max}	Lean	8	8754,63	1265,79	7558,15	9951,10	8769,50	7797,50	9431,50
	Obese	8	7884,13	1196,58	6687,65	9080,60	8010,50	6973,50	8864,50
	Ramipril	7	8447,86	1084,23	7168,78	9726,94	8613,00	7579,00	8883,00
E _{es}	Lean	8	1,34	1,01	0,23	2,44	1,05	0,70	1,70
	Obese	6	1,68	1,67	0,41	2,96	1,20	0,70	1,50
	Ramipril	7	0,80	0,17	-0,38	1,98	0,80	0,60	0,90
P _{max}	Lean	8	172,44	19,82	152,66	192,22	171,90	158,50	185,00
	Obese	8	171,79	23,20	152,01	191,57	183,85	155,50	187,25
	Ramipril	7	172,94	14,23	151,80	194,09	171,10	163,20	187,60
PRSW	Lean	8	120,00	49,75	50,94	189,06	107,50	76,00	166,00
	Obese	6	107,33	23,05	27,59	187,08	111,50	89,00	125,00
	Ramipril	7	121,00	102,40	47,17	194,83	95,00	59,00	131,00

Tab. III-6: Parameter zur Untersuchung der systolischen Herzfunktion

Diastolische Herzfunktion

Parameter	Gruppe	N	Mittelwert	Std. Abw.	UG 99 %	OG 99 %	Median	1. Quartil	3. Quartil
dPdt _{min}	Lean	8	-8994,25	1086,40	-9898,68	-8089,82	-8875,50	-9270,50	-8499,50
	Obese	8	-7047,75	730,49	-7952,18	-6143,32	-7061,00	-7511,00	-6528,50
	Ramipril	7	-7656,71	833,53	-8623,59	-6689,84	-7783,00	-8432,00	-6932,00
Ped	Lean	8	5,35	2,77	0,29	10,41	4,05	3,65	6,85
	Obese	8	10,18	7,68	5,12	15,23	7,35	6,25	11,10
	Ramipril	7	5,80	2,56	0,39	11,21	4,60	3,50	8,80
Tau _{glantz}	Lean	8	18,64	3,54	14,20	23,09	18,65	15,61	21,38
	Obese	8	24,17	4,48	19,73	28,62	23,03	20,14	27,49
	Ramipril	7	22,95	5,19	18,20	27,71	22,67	18,68	26,08
Tau _{weiss}	Lean	8	11,46	1,37	9,75	13,17	11,69	10,36	12,66
	Obese	8	15,86	2,19	14,15	17,56	15,59	14,68	16,58
	Ramipril	7	13,69	1,35	11,86	15,52	13,94	13,01	14,79
k ₁	Lean	8	0,0066	0,0035	0,0030	0,0101	0,0059	0,0041	0,0090
	Obese	6	0,0085	0,0040	0,0043	0,0126	0,0097	0,0077	0,0112
	Ramipril	6	0,0060	0,0028	0,0019	0,0101	0,0061	0,0042	0,0083

Tab. III-7: Parameter zur Untersuchung der diastolischen Herzfunktion

III.2 Sektionsergebnisse und weiterführende Untersuchungen

III.2.1 Organgewichte

In Tabelle III–8 sind die mittleren Organgewichte des Gesamtherzens, des linken und rechten Herzventrikels und der rechten Niere (g/kg KGW) dargestellt.

Die Gewichte der rechten Niere der „Control ZDF“-Gruppe und der Ramipril-Gruppe unterscheiden sich signifikant gegenüber der „Control lean“-Gruppe und auch untereinander. Beim Herzgesamtwicht gibt es ebenfalls Unterschiede, die vor allem im Gewicht des linken Ventrikels deutlich werden. Dort unterscheiden sich die „Control ZDF“- und die Ramipril-Gruppe wiederum signifikant gegenüber der „Control lean“-Gruppe. Untereinander ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Auch im Bereich des rechten Herzventrikels gibt es keine signifikanten Unterschiede.

Organgewichte

Organe	Control lean	Control ZDF	Ramipril
Herz gesamt	2,93 ± 0,03	2,78 ± 0,08	2,61 ± 0,08 *
Linker Ventrikel	2,16 ± 0,02	1,96 ± 0,04 *	1,93 ± 0,06 *
Rechter Ventrikel	0,46 ± 0,01	0,48 ± 0,04	0,41 ± 0,02 *
Rechte Niere	2,73 ± 0,04	3,94 ± 0,09 *	3,52 ± 0,17 * #

Tab. III-8: Die durchschnittlichen Gewichte einiger Organe der drei Gruppen (Angaben in g/kg KGW; $\bar{x} \pm SEM$; *: $p < 0,05$ vs. „Control lean“; #: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.2.2 Das Hydroxyprolin/Arginin-Verhältnis

Das Verhältnis Hydroxyprolin zu Arginin im Herzgewebe als Maß für die Fibrose ist in Tabelle III–9 dargestellt. Bei der „Control ZDF“-Gruppe ist die größte Fibrosierung festzustellen. Die Unterschiede zur „Control lean“-Gruppe sind jedoch nicht signifikant. Die Werte der Ramipril-Gruppe sind tendenziell die Besten, jedoch sind die Unterschiede nur im Vergleich zur „Control ZDF“-Gruppe signifikant.

Hydroxyprolin/Arginin

	Control lean	Control ZDF	Ramipril
Hydroxyprolin/Arginin	0,100 ± 0,004	0,110 ± 0,008	0,091 ± 0,005 #

Tab. III-9: Die durchschnittlichen Werte für das Hydroxyprolin/Arginin-Verhältnis der drei Gruppen (Angaben in mol/mol; $\bar{x} \pm SEM$). (#: $p < 0,05$ vs. „Control ZDF“).

III.2.3 Aortenrelaxation (Isolierte Aorta)

In den Abbildungen III–22 und III–23, bzw. in den Tabellen III–10 und III–11 sind die erhaltenen Mittelwerte und die dazugehörigen mittleren Standardabweichungen für die jeweiligen Aortenstreifen grafisch und tabellarisch dargestellt. Die Aortenstreifen wurden zuerst mit Phenylephrin (PHE) (10^{-7} mol/l) kontrahiert. Anschließend erfolgte durch Zugabe von Acetylcholin (ACh) endothelabhängig in aufsteigenden Konzentrationen eine Relaxation. Nach einer Auswaschphase wurde wieder mit PHE kontrahiert und mit Nitroprussid-Natrium (SNP) endothelunabhängig relaxiert.

Die Relaxation war in beiden Versuchsreihen (ACh und SNP) bei der „Control lean“-Gruppe besser; jedoch waren dies keine

signifikanten Unterschiede. Zwischen der „Control ZDF“- und der Ramipril-Gruppe gab es bezüglich der Relaxation keine Unterschiede.

Aortenrelaxation – Acetylcholin

ACh-Konzentration	Control lean g / % Relaxation	Control ZDF g / % Relaxation	Ramipril g / % Relaxation
PHE basal	1,02 ± 0,01	1,02 ± 0,01	1,02 ± 0,01
PHE peak	1,52 ± 0,06	1,32 ± 0,10	1,34 ± 0,04
10 ⁻⁸ mol/l	1,40 ± 0,06 / 8,20 %	1,25 ± 0,09 / 4,74 %	1,22 ± 0,03 / 8,93 %
10 ⁻⁷ mol/l	1,07 ± 0,02 / 29,65 %	1,05 ± 0,03 / 20,55 %	1,02 ± 0,01 / 24,06 %
10 ⁻⁶ mol/l	1,01 ± 0,01 / 33,41 %	1,00 ± 0,01 / 23,77 %	1,00 ± 0,01 / 25,63 %
10 ⁻⁵ mol/l	1,01 ± 0,01 / 33,47 %	1,00 ± 0,01 / 24,04 %	1,00 ± 0,01 / 25,88 %

Tab. III-10: Die Tabelle zeigt die Relaxation (in %) nach Gabe von ACh.

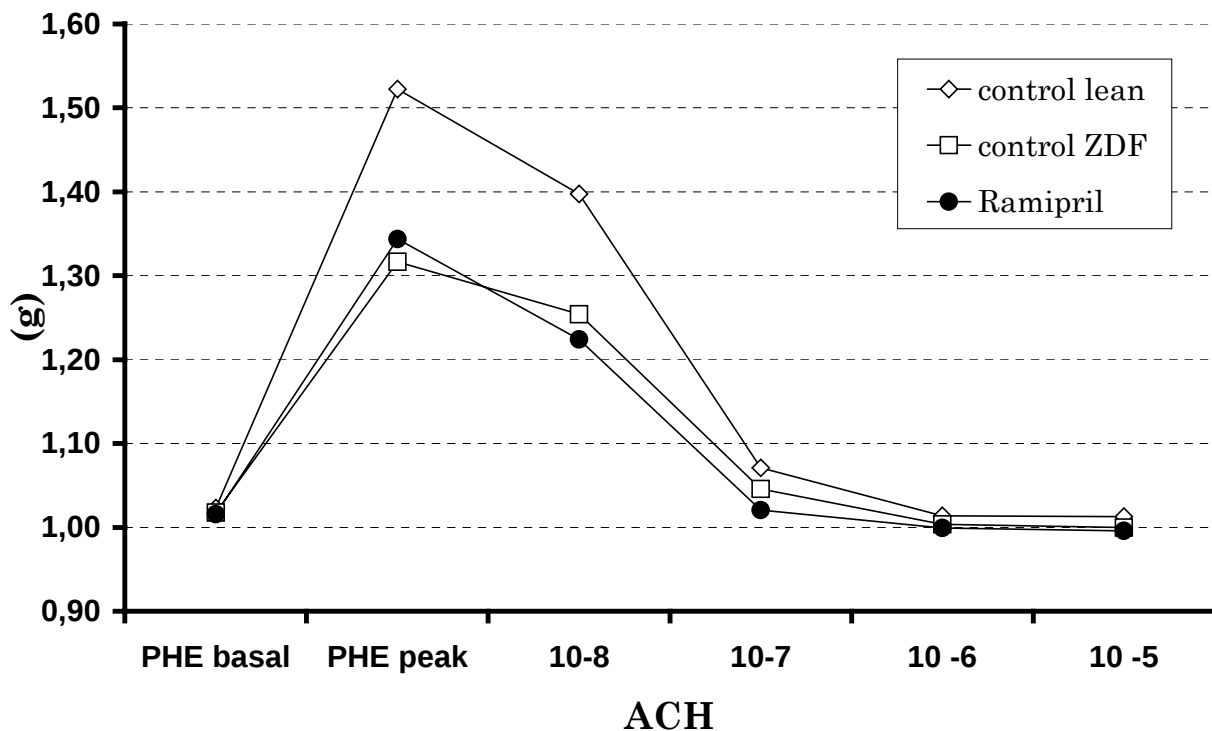


Abb. III-22: Durchschnittliche Relaxation der Aortenstreifen durch die Zugabe von Acetylcholin in vier steigenden Konzentrationen (10⁻⁸ mol/l, 10⁻⁷ mol/l, 10⁻⁶ mol/l und 10⁻⁵ mol/l) nach vorheriger Stimulation durch Phenylephrin (10⁻⁷ mol/l; siehe PHE basal und PHE peak) der drei Gruppen (Angabe in absoluten Werten bzw. in %; $\bar{x} \pm SEM$).

Aortenrelaxation – Nitroprussid-Natrium

SNP-Konzentration	Control lean g / % Relaxation	Control ZDF g / % Relaxation	Ramipril g / % Relaxation
PHE basal	1,03 ± 0,01	1,01 ± 0,01	1,02 ± 0,01
PHE peak	1,42 ± 0,06	1,29 ± 0,09	1,29 ± 0,04
10 ⁻⁸ mol/l	1,13 ± 0,02 / 19,98 %	1,06 ± 0,02 / 17,86 %	1,11 ± 0,02 / 13,92 %
10 ⁻⁷ mol/l	1,03 ± 0,01 / 27,20 %	1,00 ± 0,01 / 22,45 %	1,02 ± 0,00 / 21,43 %
10 ⁻⁶ mol/l	1,02 ± 0,01 / 28,41 %	1,00 ± 0,01 / 22,77 %	1,01 ± 0,00 / 22,21 %
10 ⁻⁵ mol/l	1,01 ± 0,03 / 28,54 %	1,00 ± 0,01 / 22,89 %	1,00 ± 0,01 / 22,63 %

Tab. III-11: Die Tabelle zeigt die Relaxation (in %) nach Gabe von SNP.

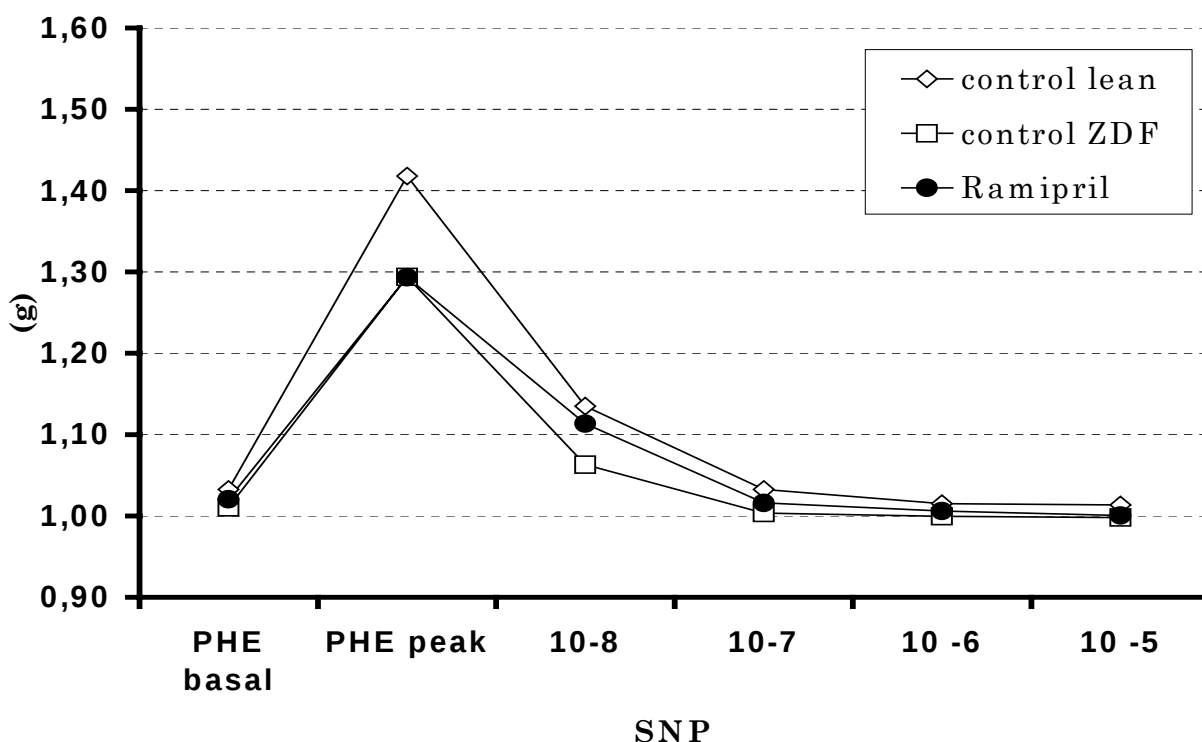


Abb. III-23: Durchschnittliche Relaxation der Aortenstreifen durch die Zugabe von Nitroprussid-Natrium (SNP) in vier steigenden Konzentrationen (10⁻⁸ mol/l, 10⁻⁷ mol/l, 10⁻⁶ mol/l und 10⁻⁵ mol/l) nach vorheriger Stimulation durch Phenylephrin (10⁻⁷ mol/l; siehe PHE basal und PHE peak) der drei Gruppen (Angabe in absoluten Werten bzw. in %; $\bar{x} \pm SEM$).

IV Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war, anhand eines diabetischen Tiermodells zu zeigen, dass sich bereits in der frühen Phase eines Diabetes mellitus deutliche Veränderungen im Bereich des Herz-Kreislaufsystems ergeben. Es sollte gezeigt werden, dass eine früh einsetzende Behandlung mit dem ACE-Inhibitor Ramipril einen positiven Einfluss auf die Ausbildung und den Verlauf einer diabetischen Kardiomyopathie hat. Für die Untersuchungen wurde auf ein etabliertes Tiermodell zurückgegriffen, die diabetische ZDF-Ratte.

IV.1 Modell der diabetischen ZDF-Ratte

Die Grundvoraussetzung für spätere Untersuchungen am diabetischen Tiermodell ist die volle Ausbildung eines Diabetes mellitus. Dabei spielen äußere Merkmale wie Gewichtsentwicklung, Harnvolumen, Futter- und Wasseraufnahme ebenso eine Rolle, wie die Entwicklung der Blut- und Urinspiegel relevanter Hormone sowie weiterer Marker für Diabetes.

Die Körpergewichte der Tiere nahmen besonders stark am Anfang des Versuches zu. Dabei waren die Gewichte der „Control ZDF“-Tiere und der Ramipril-Tiere signifikant höher als die der „Control lean“-Gruppe. Vergleicht man die beiden diabetischen Gruppen miteinander, so hatten die Ramipril-Tiere tendenziell niedrigere Gewichte als die „Control ZDF“-Tiere. Entsprechend verhielt es sich mit den Werten der Futter- und Wasseraufnahme.

Die ersten Anzeichen eines sich manifestierenden Diabetes zeigen sich bei der männlichen obesen ZDF-Ratte laut Literaturangaben im Verlauf der 4. bis 5. Lebenswoche. Das erste

Merkmal ist eine einsetzende Hyperinsulinämie. In der vorliegenden Studie wurden Tiere im Alter von 6 Wochen für die ersten Messungen eingesetzt. Bereits ab diesem Zeitpunkt waren die Insulinspiegel der „Control ZDF“-Ratten im Vergleich zu den „Control lean“-Tieren deutlich erhöht. Ein Abfall des Insulinspiegels ab der 7. bis 8. Lebenswoche, wie er in der Literatur für diabetische ZDF-Tiere, beschrieben wird, konnte bei den vorliegenden Untersuchungen nicht festgestellt werden. Stattdessen kam es in der Folgezeit sogar zu einem weiteren Anstieg des Insulinspiegels, bis dieser dann ab der 13. Lebenswoche schließlich deutlich abfiel. Ein möglicher Grund könnte in unterschiedlichen Zuchtlinien liegen. Den genetisch determinierten Veränderungen im Insulinstoffwechsel sind jedoch auch Änderungen anderer Genese gegenüberzustellen. So kann zum Beispiel eine verminderte Nahrungsaufnahme zu einer verbesserten Insulinfunktion bei der ZDF-Ratte und beim Menschen durch einen unbekannten Mechanismus führen [Hughes et al, 1984 und Ohmeda et al, 1995]. Dies könnte auch hier um den Zeitraum des Transports der Tiere der Fall gewesen sein, sodass eine vorübergehende Verbesserung der Insulinfunktion der Grund für ein verzögertes Einsetzen des Diabetes war.

Bei den Werten der Blutglukose und den HbA_{1C}-Werten ist ebenfalls eine Verzögerung im Vergleich zu den Literaturangaben feststellbar. Ab der 11. LW kommt es bei den beiden diabetischen Gruppen („Control ZDF“ und Ramipril) zu einem leichten Anstieg der Blutglukosewerte, der dann ab der 14. LW sehr steil wird. Die HbA_{1C}-Werte steigen entsprechend dem Muster der Blutglukose zeitversetzt um 2 bis 3 Wochen ebenfalls an. Die Ramipril-Tiere zeigen bei beiden Parametern im Vergleich zu den „Control ZDF“-Tieren eine Tendenz

zu etwas niedrigeren Werten. Die Tiere der „Control lean“-Gruppe blieben auf dem erwarteten niedrigen Niveau.

Im Gesamtcholesterin kam es ab der 10. LW bei den diabetischen Gruppen zu einem Anstieg, der schnell zur „Control lean“-Gruppe signifikant wurde. In den beiden Hauptfraktionen waren unterschiedliche Verteilungen zu sehen: Das HDL-Cholesterol war in allen drei Gruppen annähernd gleich. Das LDL-Cholesterol der „Control ZDF“-Tiere und der Ramipril-Tiere lag über die Versuchsdauer hinweg signifikant unterhalb dem der „Control lean“-Gruppe, jedoch kam es ab der 16. LW zu einer Annäherung an deren Werte, wobei die Ramipril-Gruppe die niedrigsten Werte hatte.

Dem deutlichen Abfall des Insulinspiegels der beiden diabetischen ZDF-Gruppen ab der 13. Lebenswoche steht ein von Anfang an steigender Triglyzeridspiegel gegenüber. Ab der 16. Lebenswoche wird dieser Anstieg bei den Ramipril Tieren sehr steil, während der Spiegel bei den „Control ZDF“-Tieren sogar etwas abfällt. Dieser Effekt scheint rattenspezifisch zu sein, da in klinischen Studien mit ACE-Hemmern gegenteilige Effekte auf die Triglyzeridspiegel der Patienten beobachtet wurden [Marques-Vidal et al., 2000]. Insofern sollte man den in dieser Studie beobachteten Anstieg der Triglyzeride unter Ramiprilbehandlung nicht überbewerten, besonders unter dem Gesichtspunkt, dass die ACE-Hemmung sich vor allem auf die Albuminausscheidung positiv auswirkt. Andererseits kommt es durch den kontinuierlichen Anstieg zu einer starken Anhäufung von Triglyzeriden im Pankreas und dadurch zu einer Schädigung der β -Zellen. Die Folge ist ein Absinken des Insulinspiegels (siehe II.1). Während die direkte Gefährdung des Herz-Kreislaufsystems durch erhöhte (LDL)-Cholesterinwerte aufgrund überzeugender Interventionsstudien klar bewiesen ist, zeigt sich die Sachlage bei der

Hypertriglyzeridämie jedoch wesentlich komplexer. Problematisch ist zunächst einmal, dass Triglyzeridkonzentrationen eine wesentlich größere Variabilität aufweisen als Cholesterinkonzentrationen. So haben z.B. Triglyzeridwerte zwischen 100 und 150 mg/dl (1,13-1,69 mmol/l) eine Variabilität von 27 %, während Werte > 250 mg/dl (2,8 mmol/l) eine Variabilität von 154 % zeigen [Jacobs et al, 1982]. Dies entspricht der klinischen Erfahrung: Die Triglyzeridkonzentrationen variieren viel stärker und sind durch diätetische Maßnahmen in wesentlich größerem Umfang beeinflussbar.

Bei den vorliegenden Messungen ist dieser Unterschied jedoch nicht zu sehen: Sowohl bei den niederen Triglyzeridwerten als auch den Werten über 250 mg/dl (2,8 mmol/l) sind jeweils Variabilitäten von ungefähr 30 % aufgetreten.

Die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos für Patienten mit erhöhtem Triglyzeridspiegel ergab in prospektiven epidemiologischen Studien in aller Regel ein erhöhtes Risiko für eine vorzeitige koronare Herzerkrankung. Bei den Studien kamen unterschiedliche Ergebnisse heraus, z.T. konnten Triglyzeride vor allem bei Frauen und Diabetikern als unabhängiger Risikofaktor nachgewiesen werden, während andere Untersuchungen dies nicht bestätigen konnten. Dafür spricht vor allem die PROCAM-Studie (Prospective Cardiovascular Münster). In der Multivarianzanalyse, über 8 Jahre hinweg, stellten sich die Triglyzeride als unabhängiger Risikofaktor dar, wobei im besonderen Maß Patienten mit erhöhten LDL- und erniedrigten HDL-Konzentrationen betroffen waren [Assmann et al, 1996]. Auch eine Metaanalyse anderer prospektiver Studien, die insgesamt 40 000 Männer und über 10 000 Frauen einschloss, kam zu dem Ergebnis, dass hohe Triglyzeridspiegel ein unabhängiger

Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen sind [Hokanson und Austin, 1996]. Die Untersuchungen besagen jedoch nicht, dass die Triglyzeride selbst das schädliche Agens sind. Ebenso könnten sie nur ein Marker für einen anderen, der vorzeitigen Arteriosklerose zugrunde liegenden Faktor darstellen.

Verteilt über den gesamten Messzeitraum fanden drei Messungen der Albuminausscheidung über den Urin statt. Während es bei den ersten beiden Messungen bei allen drei Gruppen kaum nennenswerte Veränderungen zu verzeichnen gab, änderte sich dies bei der dritten Messung. Im Gegensatz zur „Control lean“-Gruppe wurde bei den beiden anderen Gruppen ein deutlicher Anstieg der Ausscheidungsrate von Albumin über den Urin festgestellt. Während die Werte bei der „Control ZDF“-Gruppe dramatisch in die Höhe gingen und man eindeutig von einer Mikroalbuminurie sprechen konnte, war bei den Ramipril-Tieren ein deutlich signifikanter nephroprotektiver Effekt zu sehen: Es wurde weniger als die Hälfte der Menge an Albumin über die Nieren ausgeschieden als bei der „Control ZDF“-Gruppe, und die Werte lagen mit ca. 25 mg/24 h noch unterhalb der Schwelle zur Mikroalbuminurie.

Weitere Messungen zum Nierenstatus (Kreatinin-, Harnstoff- und Na^+/K^+ -Clearance) komplettierten die Ergebnisse der Stoffwechselmessungen, und somit konnte das Modell der ZDF-Ratte als diabetisches Tiermodell bestätigt werden. Vor diesem Hintergrund wurden die anschließenden kardiovaskulären Messungen mit dem Herzkatheter durchgeführt.

IV.2 Diabetes und Herzfunktion

IV.2.1 *Linksventrikuläre Diastolische Dysfunktion, LVDD*

Die physiologischen und pathophysiologischen Grundlagen der Diastolischen Funktion haben im Gegensatz zur Systolischen Funktion des Herzens über Jahrzehnte in Klinik und Forschung nur eine untergeordnete Rolle gespielt und wurden erst in den 90er Jahren als klinik- und forschungsrelevant wiederentdeckt [Maisch, 1995]. Die Relaxation und die Diastolische Funktion wurden so in den letzten Jahren durch eine Vielzahl von Indizes und Parametern mittels invasiver und nichtinvasiver Diagnostik charakterisiert.

Zur Entstehung der Linksventrikulären Diastolischen Dysfunktion (LVDD) im Diabetes wurde unter anderem der Vorschlag gemacht, dass sie sekundär aus der Mikroangiopathie hervorgeht, da ein Bezug zur Retinopathie beschrieben wurde [Hiramatsu et al., 1992 und Takenaka et al., 1988]. Dies konnte in anderen Studien jedoch nicht bestätigt werden [Di Bonito et al., 1996; Beljic et al., 1994 und Lo et al., 1995]. Die Diskrepanzen könnten darauf zurückzuführen sein, dass bei vielen Studien, die sich mit der Prävalenz der LVDD bei Diabetikern im mittleren Alter beschäftigt haben, zu wenig auf das Muster der Füllungsphase in der Diastole geachtet wurde [Tarumi et al., 1993; Nicolino et al., 1995; Gough et al., 1995].

Auch andere Studien haben schon darauf hingewiesen, dass eine LVDD bei Patienten mit gut eingestelltem Diabetes und ohne bekannte kardiovaskuläre Probleme dennoch vorhanden sein kann [Pozzoli et al., 1984]. Eine weitere Bestätigung erhält man aus Versuchen mit diabetischen Tiermodellen, bei denen gezeigt wurde,

dass die Diastolische Dysfunktion auf Calciumstörungen der Kardiomyozyten zurückzuführen ist und zwar unabhängig von einer Mikroangiopathie [Flarsheim et al., 1996 und Schaffer et al., 1989]. Letztendlich kommen Poirer et al., 2001 zu dem Schluss, dass sich eine LVDD beim Typ 2-Diabetes durchaus manifestieren kann, ohne dass eindeutige Anzeichen einer klinischen Erkrankung vorliegen. Nach Bella et al., 2000 ist die LVDD eindeutig ein Marker einer sich entwickelnden Herzerkrankung.

Ultraschalluntersuchungen haben gezeigt, dass qualitativ gleiche Muster von Diastolischer Dysfunktion ein frühes Merkmal des Diabetes sowohl im Tiermodell [Mizushige et al., 2000] als auch im Menschen sind [Ahmed et al, 1975 und Borow et al. 1990]. Bei Patienten mit Diabetes korreliert die Reduktion der Diastolischen Funktion positiv mit der Schwere und der Dauer der Diabeteserkrankung und negativ mit der Fähigkeit, größere Belastungstests zu absolvieren [Perez et al., 1992]. Die Verbindung dieser Art der Diastolischen Dysfunktion mit dem Diabetes an sich ist jedoch oft durch eine gleichzeitige Koexistenz mit einem Bluthochdruck überlagert. Die Erkenntnis, dass eine beeinträchtigte diastolische Füllung des linken Ventrikels sehr früh im Verlauf des monogenetischen Typ 2-Diabetes im Tiermodell demonstriert werden kann, und zwar noch vor dem Einsetzen eines eventuellen Bluthochdrucks, Vaskulopathien oder einer sich manifestierenden Hyperglykämie, legt nahe, dass die Diastolische Dysfunktion eine Auswirkung des Diabetes selbst ist [Mizushige et al., 2000]. Nach Taegtmeyer et al., 2002 kann die Verbindung des Diabetes mit der myokardialen Diastolischen Dysfunktion und einer verminderten Leistungsbereitschaft nicht mehr bestritten werden.

IV.2.2 Diabetische Kardiomyopathie

Langzeitstudien haben gezeigt, dass Patienten mit Diabetes ein deutlich erhöhtes Risiko zeigen, an einer Herzinsuffizienz (CHF) zu erkranken [Garcia et al., 1974], und dass Diabetiker in großen Datenbanken über CHF stark überrepräsentiert sind [Solang et al., 1999]. Die Frage, ob es eine diabetesspezifische Kardiomyopathie gibt, wird schon jahrzehntelang diskutiert und ist bis heute nicht ausreichend beantwortet [Solang et al., 1999 und Bell, 1995]. Indizienbeweise für eine Diabetische Kardiomyopathie des Menschen gehen auf eine Vielzahl von morphologischen, funktionellen und biologischen Beobachtungen zurück.

Schannwell et al., 1999 wiesen nach, dass sich diastolische Funktionsstörungen trotz kardiopulmonaler Belastbarkeit und normgerechter Parameter der systolischen Funktion bei allen untersuchten Typ 1-Diabetikern unabhängig von der Diabetesdauer manifestiert hatten. Dabei waren diese Funktionsparameter individuell einheitlich reduziert, ohne dass sich eine Beziehung zu Alter, Diabetesdauer und klinischer Belastbarkeit analysieren ließ. Sie schlossen daraus, dass diese schon sehr frühzeitig auftretenden funktionellen Störungen der Diastole als erste Zeichen einer „diabetischen Herzmuskelerkrankung“ gedeutet werden müssen. Eine gleichzeitig festgestellte eingeschränkte koronare Vasoregulation wurde als Konsequenz der diabetischen Mikroangiopathie gedeutet und einer damit verbundenen Prädisposition zur Myokardischämie aufgrund der funktionellen und strukturellen Veränderungen der Koronararterien bei Diabetikern. Zugleich schlossen Schannwell et al. aus ihren Ergebnissen, dass die diastolische Dysfunktion nicht nur als Marker einer diabetischen Kardiomyopathie, sondern auch als frühzeitiger Hinweis einer diabetischen Mikroangiopathie

interpretiert werden muss. Zu diesen Ausführungen passen die Ergebnisse von Nesto und Kowalchuck, 1987, nach deren Modell der „Ischämiekaskade“ zunächst die Diastolische Funktion und erst viel später die Systolische Funktion beeinflusst wird. Dies könnte durch eine diffuse Myokardischämie infolge einer Mikroangiopathie bedingt sein, in deren Verlauf es zum Untergang von Myozyten mit nachfolgender Fibrosierung kommt.

IV.2.3 Intervention mittels ACE-Inhibitoren

Zwischen Myozyten und extrazellulärer Matrix herrscht eine rege Interaktion durch autokrine und parakrine Mechanismen. Brilla et al., 1995 untersuchten die Möglichkeiten einer pharmakologischen Modulation der Synthese und Degradation der extrazellulären Matrix durch ACE-Inhibitoren in vivo und in vitro. Zusätzlich zu den gut bekannten vasodilatorischen Eigenschaften beeinflussen ACE-Hemmer die Mortalität von Patienten mit Herzinsuffizienz unterschiedlichster Ursache günstig. Neben der bereits zu Anfang erwähnten HOPE-Studie haben sich zahlreiche frühere Studien mit der Wirkung der ACE-Inhibitoren beim herzinsuffizienten Patienten befasst. Dies waren klinische Mega-Studien wie z.B. CONSENSUS, SAVE, SOLVED und GISSI 4. Untersuchungen an Zellkulturen und tierexperimentelle Untersuchungen weisen eindeutig auf eine zusätzliche Wirkung jenseits der hämodynamischen (blutdrucksenkenden) Effekte der ACE-Hemmer hin [Linz et al., 1995]. Dabei sind einerseits die Inhibition der Kollagensynthese, die über den Angiotensin II Typ I-Rezeptor vermittelt wird, und andererseits durch Angiotensin II stimulierte Schlüsselenzyme der interstitiellen Kollagendegradation (Metalloproteinase I) biochemische Ansatzpunkte für den therapeutischen Prozess. Der Name

Kardioreparation, der für die Umkehrung der strukturellen Pathogenese bei der diastolischen Herzinsuffizienz durch ACE-Inhibitoren geprägt wurde, beschreibt diese pharmakologische Intervention zutreffend. Ein ganz anderer Ansatzpunkt hingegen ist die Kardioprävention. Sie zielt auf die pharmakologische Intervention mit ACE-Inhibitoren und Aldosteronantagonisten, um eine derart exzessive interstitielle Fibrose von vornherein zu verhindern, ein Ansatzpunkt, dem die vorliegende Studie sehr nahe kommt. Die Fibrose und das strukturelle „Remodelling“ des kardialen Interstitiums gehen mit einer Änderung der diastolischen Steifheit einher. Dabei geht die Diastolische Dysfunktion nicht selten der systolischen Funktionsstörung voraus. Nimmt die Myozytendestruktion zu, dann wird auch die Systolische Funktion sichtbar eingeschränkt, und dies wird als globale Pumpleistungsstörung mit einer Verminderung der Ejektionsfraktion sichtbar.

In den vorliegenden Versuchen konnte noch kein Unterschied bei systolischen Parametern, wie der Ejektionsfraktion, sichtbar gemacht werden. Einerseits, weil man sich noch in einem sehr frühen Stadium der Kardiomyopathie befand, andererseits, weil das System der Kathetermessung an sich, bedingt durch die starken Schwankungen bei der Bestimmung der Parallelen Conductance, noch gewisse Schwächen hat und damit auch die absolute Ejektionsfraktion nur ungenau bestimmt werden kann (siehe auch IV.4.1).

Wie bereits unter III.1.7 in der statistischen Analyse erwähnt, sind zum Zeitpunkt der Messungen in den systolischen Parametern keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen zu finden. Die Werte der „Control ZDF“- und der Ramipril-Tiere sind jedoch tendenziell schlechter. Bei der Maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit

gibt es keine signifikanten Unterschiede. Im Gegensatz dazu, zeigt die Ramiprilgruppe im Herzminutenvolumen (Cardiac output) scheinbar eine deutliche Abweichung, welche aber nicht signifikant ist (siehe Tab. III–3 und Tab. III–6). Die Werte der Endsystolischen Elastance sind zu weit gestreut, um eindeutige Aussagen machen zu können, der maximale Druck $P_{\max}$ ist bei allen drei Gruppen nahezu gleich. Allein bei den PRSW-Werten ist ein deutlicher Trend zu erkennen: Während nämlich die „Control ZDF“-Gruppe deutlich schlechter als die „Control lean“-Gruppe abschneidet, stellt sich die Ramipril-Gruppe fast genauso gut dar wie die „Control lean“-Gruppe.

Anders als bei den systolischen Parametern verhielt es sich bei den diastolischen. Bei der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit zeigten sich im Vergleich der diabetischen zu den nichtdiabetischen Tieren deutlich signifikante Unterschiede. Die Ramipril-Behandlung hatte auch hier Vorteile. Diese Tiere schnitten in der Tendenz besser ab als die „Control ZDF“-Tiere. Beim enddiastolischen Druck war es noch deutlicher: Der Druck war bei den „Control ZDF“-Tieren signifikant erhöht, bei den Ramipril-Tieren jedoch nur leicht. Auch bei der Messung der Relaxationszeit nach Weiss zeigte sich eine signifikante Erhöhung bei den Tieren der „Control ZDF“-Gruppe, zugleich aber nur eine leichte Erhöhung bei den ebenfalls diabetischen Ramipril-Tieren. Die Werte der enddiastolischen Druck-Volumen-Beziehung waren ähnlich denen der Endsystolischen Elastance, jedoch zu weit gestreut, um eindeutige Aussagen anhand dieses Parameters machen zu können.

IV.2.4 Weitere Untersuchungen

Bei den Organgewichten fiel auf, dass die rechten Nieren der „Control ZDF“- und der Ramipril-Gruppe signifikant schwerer als

diejenigen der „Control lean“-Gruppe waren. Gleichzeitig unterschieden sich jedoch auch die beiden diabetischen Gruppen signifikant im Gewicht der Nieren: Die Organe der Ramipril-Gruppe waren immer noch deutlich leichter als die der „Control ZDF“-Gruppe. Das könnte sowohl an einem antihypertrophen als auch einem antifibrotischen Effekt liegen, der durch die Ramipril-Behandlung in Gang gesetzt wird [Linz et al., 1995].

Eine Behandlung mit ACE-Inhibitoren hat einen positiven Einfluss auf eine sich bildende sowie vorhandene Fibrose am Herzen [Linz et al., 1995]. Über das entsprechende Hydroxyprolin/Arginin-Verhältnis können gute Aussagen über den Fibrostatus gemacht werden. Das Verhältnis aus beiden Aminosäuren war bei der „Control ZDF“-Gruppe im Vergleich zur „Control lean“-Gruppe tendenziell erhöht. Die Ramipril-Tiere schnitten dabei besser ab: Gegenüber der „Control lean“-Gruppe war eine Verbesserung zu erkennen, die im Vergleich zur „Control ZDF“-Gruppe sogar signifikant war. Das zeigt, dass die Ramipril-Behandlung günstig in die Entwicklung einer Herzfibrose bei den ZDF-Tieren eingreift und somit zu einer verbesserten Herzleistung beiträgt.

Bei den Messungen im Organbad zeigte sich, dass die isolierten Aortenringe der „Control lean“-Tiere stärker kontrahierten als die entsprechenden Aortenringe der „Control ZDF“- und Ramipril-Tiere. Dies könnte auf eine erhöhte Alpha-Rezeptorendichte in der Aorta bei den „Control lean“-Tieren zurückzuführen sein. Die Aortenrelaxation mit Acetylcholin (endothelabhängige Relaxation) zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der „Control lean“-Gruppe und den diabetischen Gruppen. Dies bedeutet, dass das NO/Superoxidverhältnis in den Endothelzellen bei allen Tieren trotz Glukosebelastung bei den „Control ZDF“- und Ramipril-Tieren gleich

war. Bei der endothelunabhängigen Aortenrelaxation mithilfe von Natriumnitroprussid gab es keine Unterschiede, was dafür spricht, dass die Funktion der Media (keine Hypertrophie) und der glatten Muskelzellen innerhalb der verschiedenen Gruppen noch nicht beeinträchtigt war.

IV.2.5 Fazit

Insgesamt belegen die Daten, dass eine alleinige Untersuchung der systolischen linksventrikulären Funktion unzureichend bei der Erfassung einer diabetischen Kardiomyopathie bei Ratten mit Typ 2-Diabetes ist. Möglicherweise kommt der frühzeitigen Analyse der diastolischen Funktion eine Markerfunktion zur Detektion einer myokardialen Gefährdung des diabetischen Patienten zu. Selbst bei guter Stoffwechseleinstellung und vergleichsweise kurzer Diabetesdauer sind Funktionsuntersuchungen sinnvoll. Eindeutige therapeutische Konsequenzen lassen sich aus den vorliegenden Untersuchungen nur bedingt ziehen. Allerdings scheint eine frühzeitige Behandlung mit dem ACE-Inhibitor Ramipril einen positiven Verlauf auf eine sich entwickelnde diastolische Kardiomyopathie zu nehmen, was wiederum die Forderung nach einer rechtzeitigen und detaillierten kardialen Untersuchung mit simultaner Bestimmung der systolischen und diastolischen Funktionsparameter beim diabetischen Patienten dringend notwendig macht.

Ein neuer Ansatzpunkt ist die Verbesserung der Insulinresistenz. In einer halbjährigen Studie mit dem Insulinsensitizer Rosiglitazon (8 mg/d Avandia®) konnte die Insulinsensitivität um 25% gesteigert werden. Neben der Aktivierung des Kernrezeptors PPAR-gamma verbessert Rosiglitazon den

Insulingehalt im Pankreas. Die Insulinproduktion erholt sich wieder. Nachdem die HOPE-Studie als Zufallsbefund eine 31%ige Risikoreduktion für einen Diabetes unter dem ACE-Hemmer Ramipril gezeigt hat, vergleicht die DREAM-Studie (geht voraussichtlich bis Ende 2004) nun den protektiven Effekt von Ramipril, Rosiglitazon sowie deren Kombination bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz. Die Studie wird von den Autoren der HOPE-Studie durchgeführt. Dabei hat sich gezeigt, dass Ramipril zusätzlich auch als Insulin-Sensitizer wirkt. Die Autoren der DREAM-Studie führen dies auf folgende Ursachen zurück:

- Möglicherweise Verstärkung des Blutflusses in den Langerhans'schen Inseln
- Evtl. Reduktion der Insulinresistenz in
 - der Skelettmuskulatur,
 - der Leber und im Fettgewebe
(Bradykinin $\uparrow \rightarrow$ NO $\uparrow \rightarrow$ Blutfluss und Glukoseaufnahme $\uparrow$).

IV.3 Prävention des Typ 2-Diabetes durch Lifestyle-Änderung

Abschließend sollte noch einmal auf den wichtigen Zusammenhang zwischen dem so genannten „Lifestyle“ und der Entwicklung eines Diabetes eingegangen werden.

In der finnischen Diabetes-Präventionsstudie [Tuomilehto et al., 2001] war die Diabetesentwicklung um so geringer, je erfolgreicher die angestrebte Änderung des Lebensstils umgesetzt wurde (Gewichtsabnahme um mindestens 5 % + täglich mindestens 30 min Sport). Die Studie wurde sogar aus ethischen Gründen abgebrochen, da es bei der ersten Zwischenanalyse aller neu entwickelten Diabetesfälle in der Interventionsgruppe mit 11 % im Vergleich zur

Kontrollgruppe mit 23 % zu einer signifikanten Diabetesprävention um 58 % ($p = 0,001$) gekommen war.

IV.4 Kritik und Limitationen

IV.4.1 *Volumenmessung*

Die Volumenmessung mit der Conductance-Kathetertechnik korreliert ausreichend mit dem eigentlichen Schlagvolumen. Dem Anspruch auf absolute Volumenmessung steht aber das nicht genau quantifizierbare Volumen der „Parallelen Conductance“ entgegen, da Strukturen außerhalb des blutgefüllten Ventrikels von dem Conductance-Messvorgang automatisch miterfasst werden und daher den eigentlichen Ventrikelvolumen-Messwert verfälschen. Die entwickelten Korrekturmethode sind zudem wieder in Kritik geraten, da sie sich in Abhängigkeit von der aktuellen Volumengröße (also des Ventrikels) als zu variabel erwiesen haben [Boltwood et al., 1989]. Da die vorliegenden Untersuchungen an sehr kleinen Ventrikeln gemacht wurden und die Brauchbarkeit der Methode für die relative Volumenbestimmung von Boltwood et al. nicht in Frage gestellt wird, spielt diese methodische Einschränkung hier keine große Rolle, weshalb auch auf parallele Referenzmessmethoden verzichtet wurde. Unabhängig davon sind in neuester Zeit jedoch alternative Methoden erprobt worden, um die parallele Conductance einfacher zu bestimmen. Dabei wenden Steendijk et al., 2001 eine Methode an, bei der das parallele „Volumen“ mithilfe einer Dualfeldmessung bestimmt wird, während White et al., 2001 noch weiter gehen und die Parallele Conductance mittels komplizierter Berechnungen direkt aus der Vena cava-Okklusion ermitteln und so einen ganzen Schritt bei der Kathetermessung einsparen.

IV.5 Weitere Interventionsmöglichkeiten in der LVDD

In der vorliegenden Studie konnte nicht auf alle Ursachen einer LVDD eingegangen werden. Pathophysiologisch können Veränderungen in unterschiedlichen kardialen Kompartimenten zu einer Diastolischen Dysfunktion führen. Die folgende Auflistung, getrennt nach den unterschiedlichen Strukturen, soll einen Überblick über dieses Spektrum geben. Es gibt also noch mehrere Ansatzpunkte, die LVDD und damit die diabetische Kardiomyopathie näher zu erforschen, um brauchbare Ansätze für eine pharmakotherapeutische Intervention zu finden:

Myozyt: Die Relaxation bzw. Inaktivierung der Kontraktion ist ein aktiver Prozess, der auf zellulärer Ebene von der Wiederaufnahme von Kalzium durch eine Kalzium-ATPase (SERCA-2a) in das sarkoplasmatische Retikulum abhängt. Eine reduzierte SERCA-Aktivität und/oder Phospholamban-, Calmodulin- und Calsequestrinfunktionsstörungen führen zu einer verlangsamten früh diastolischen Relaxation. Auch Schädigungen des myozytären kontraktile Apparates, wie z.B. eine reduzierte ATP-Bereitstellung, Troponinveränderungen oder Änderungen des Zytoskeletts (Actin-, Desmin- und vor allem Titinveränderungen) stellen typische Veränderungen dar.

Matrix: Fibrotische Umbauprozesse der extrazellulären Matrix, charakterisiert durch eine quantitative Änderung des Kollagen-Typ-I-zu-Typ-III-Verhältnisses, metalloproteinasebedingte qualitative Änderung der Matrix oder eine vermehrte intrazelluläre Matrix führen zu einer Compliancestörung.

Endothel: Stickstoffmonoxid (NO) kann, auf die Systolische Funktion bezogen, negativ inotrop wirken, jedoch für die Diastolische

Funktion aber wünschenswerte Effekte haben. Es wurde gezeigt, dass durch NO-Applikationen der Beginn der Relaxation früher einsetzt („Relaxation-Hastening Effekt“) und die Ventrikeldehnungsfähigkeit zunimmt. Dies legt nahe, dass eine endotheliale Dysfunktion aufgrund mangelnder NO-Bereitstellung am Entstehen einer Diastolischen Dysfunktion ursächlich beteiligt ist.

V Zusammenfassung

Markus Vinçon:

Hämodynamische Untersuchungen an Typ 2-diabetischen Ratten – Einfluss des ACE-Inhibitors Ramipril

Der Diabetes mellitus hat sich in den letzten Jahren vor allem in den Industrieländern zu einer Volkskrankheit entwickelt. In Europa schwanken die Prävalenzraten zwischen 3,5 und 9,7 %, mit steigender Tendenz. In der heutigen Zeit sind es vor allem die Spätfolgen des Diabetes wie Mikro- und Makroangiopathien, die zu einem schweren Krankheitsverlauf führen. Es gab Vermutungen über einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Stoffwechselkrankheit auf der einen Seite und scheinbar isolierter kardiologischer Erkrankung auf der anderen Seite. Genau hier setzt die vorliegende Studie an. Uns interessierten die frühen Veränderungen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, im Besonderen der Diabetischen Kardiomyopathie am Modell der Typ 2-diabetischen ZDF-Ratte. Es sollte der Nachweis erbracht werden, dass es bei der Stoffwechselkrankheit Diabetes schon sehr früh zu gravierenden Veränderungen in scheinbar nicht unmittelbar betroffenen Organsystemen, wie z.B. dem Herzen kommt. Mithilfe eines neu entwickelten Miniaturkatheters für die Ratte sollte bewiesen werden, dass sich schon kurze Zeit nach der Manifestation eines Diabetes eine Diastolische Dysfunktion des linken Ventrikels ausbildet. Gleichzeitig war es von Interesse, wie sich der Einfluss einer früh einsetzenden Behandlung mit einem ACE-Inhibitor (Ramipril) auf die Ausbildung einer Dysfunktion bei diabetischen Tieren auswirkt. Als Kontrollgruppe fungierten ZDF-lean Ratten, die keinen Diabetes ausbildeten.

Nachdem mithilfe zahlreicher Stoffwechselfparameter sichergestellt wurde, dass sich ein Diabetes eingestellt hatte, konnte anhand der am Versuchende gemessenen Herzfunktionsparameter gezeigt werden, dass sich zwar keine Systolische Dysfunktion bei den Tieren einstellte, die diabetischen Tiere jedoch sehr wohl eine deutliche Diastolische Dysfunktion ausbildeten. Messungen im Organbad (Aortenrelaxation) und weiterführende Untersuchungen am Herzgewebe vervollständigten das Bild. Bei der Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen muss aber auf jeden Fall bedacht werden, dass der Lebensstil des „modernen“ Menschen, wie z.B. Bewegungsmangel, Übergewicht und zunehmender Stress im Alltag, ein nicht zu unterschätzender Risikofaktor für die Ausbildung eines Typ 2-Diabetes ist, wie in zahlreichen prospektiven Studien belegt werden konnte.

VI Summary

Markus Vinçon:

Hemodynamic investigations in type 2-diabetic rats – Influence of the ACE-inhibitor Ramiprile

In the industrialized countries diabetes mellitus is developing into a worldwide epidemic during the last years. In the European countries the prevalence rates vary between 3,5 and 9,7 %, with increasing tendency. Especially the delayed complications such as diabetic micro- and macro-angiopathy lead to a severe disease progression. There are possible causal relations between metabolic disease at one side and an isolated cardiac disease at the other side. Precise at this matter the present study is focused. We were interested at early alterations with regard to cardiovascular diseases and especially at the diabetic cardiomyopathy in the type 2-diabetic ZDF-rat model. The goal of the study was to show that the metabolic disease diabetes results in serious alterations which are not directly affect organ systems, for example the heart. With a recently developed rat miniature catheter it should be demonstrated that within a short time after manifestation of diabetes, a left ventricular diastolic dysfunction appears. In parallel we were interested if an early long term treatment with the ACE-inhibitor ramiprile would be beneficial effective in the development on myocardial dysfunction in diabetic rats. ZDF lean rats, having no diabetes were used as controls. Determinating numerous metabolic parameters, we could guarantee that the animals had developed a stable diabetes. At the end of the experiment we measured functional parameters of the heart and found that systolic function was not impaired, however there was observed a marked diastolic dysfunction. Measurements in

the isolated aorta and extended examinations in the heart tissue, e.g. markers for fibrosis completed this image. Transferring the results to human situation one should take into account, that lifestyle of the modern beings, e.g. insufficient motion, overweight and increasing daily stress, should not been underestimated as a risk factor for the development of a type 2-diabetes which was impressively demonstrated in numerous prospective studies.

VII Literaturverzeichnis

- Ahmed SS, Jaferi GA, Narang RM, et al (1975).** *Preclinical abnormality of left ventricular function in diabetes mellitus.* Am Heart J 89: 153–158
- American Diabetes Association (ADA) (1997).** *Clinical Practice Recommendations 1997.* Diabetes Care 20 Suppl 1: 1–70
- Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P (1997).** *The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010.* Diabet Med 14 Suppl 5: 1–85
- Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A (1996).** *Hypertriglyceridemia and elevated levels of lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men.* Am J Cardiol 77: 1179–1184
- Astorri E, Fiorina P, Gavaruzzi G, Astorri A, Magnati G (1997).** *Left ventricular function in insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetic patients: radionuclide assessment.* Cardiology 88: 152–155
- Baan J, Van der Velde ET, De Bruin H, Smeenk G, Koops J, Van Dijk AD, Temmerman D, Senden J, and Buis B (1984).** *Continuous measurement of left ventricular volume in animals and humans by conductance catheter.* Circulation 70: 812–823
- Baan J, Van der Velde ET, Koops J, Molhoek GP, Temmerman D, Buis B (1982).** *Continuous registration of relative left ventricular volume in man.* Circulation 66 Suppl II: II–277
- Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA (1981).** *Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs.* Diabetologia 20(2): 87–93
- Bashore TM, Walker S, Fossen DV, Fontana ME, Magorien RD (1985).** *Use of inferior vena caval occlusion to acutely alter preload in man.* Circulation 72 Suppl III: III–43
- Beljic T, Miric M (1994).** *Improved metabolic control does not reverse left ventricular filling abnormalities in newly diagnosed non-insulin-dependent diabetic patients.* Acta Diabetol 31: 147–150
- Bell DS (1995).** *Diabetic cardiomyopathy: a unique entity or a complication of coronary artery disease?* Diabetes Care 18: 708–714
- Bella JN, Palmieri V, Roman MJ, Liu JE, Welty TK, Lee ET, Fabsitz RR, Howard BV, Devereux RB (2000).** *Prognostic significance of abnormal peak early to late diastolic filling ratio in middle-aged to elderly adult*

- American Indians: the Strong Heart study (Abstract)*. Am Coll Cardiol 35 Suppl A: 293A
- Bellach BM, Knopf H, Thefeld W (1998).** *Der Bundes-Gesundheitssurvey 1997/98*. Gesundheitswesen 60 Sonderheft 2: 59–68
- Boltwood, CM, Appleyard RF, and Glantz SA (1989).** *Left ventricular volume measurement by conductance catheter in intact dogs. Parallel conductance volume depends on left ventricular size*. Circulation 80: 1360–1377
- Borow KM, Jaspan JB, Williams KA, et al (1990).** *Myocardial mechanics in young adult patients with diabetes mellitus: effects of altered load, inotropic state and dynamic exercise*. J Am Coll Cardiol 15: 1508–1517
- Brilla CG, Maisch B, Rupp H, Funck R, Zhou G, Weber KT (1999).** *Pharmakologische Modulation der Funktion kardialer Fibroblasten*. Herz 2: 127–134
- Burkhoff, D, Van Der Velde E, Kass D, Baan J, Maughan WL, and Sagawa K (1985).** *Accuracy of volume measurement by conductance catheter in isolated, ejecting canine hearts*. Circulation 72: 440–447
- Carey VJ, Walters EE, Colditz GA, Solomon CG, Willett WC, Rosner BA, et al (1997).** *Body fat distribution and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. The Nurses' Health Study*. Am J Epidemiol 145(7): 614–619
- Di Bonito P, Cuomo S, Moio N, Sibilio G, Sabatini D, Quattrin S, Capaldo B (1996).** *Diastolic dysfunction in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus of short duration*. Diabet Med 13: 321–324
- Etgen GJ, Oldham BA (2000).** *Profiling of Zucker diabetic fatty rats in their progression to overt diabetic state*. Metabolism 49: 684–693
- Ferguson JJ (1999).** *Meeting highlights. Highlights of the 48th scientific sessions of the American College of Cardiology*. Circulation 100(6): 570–575
- Flarsheim CE, Grupp IL, Matlib MA (1992).** *Mitochondrial dysfunction accompanies diastolic dysfunction in diabetic rat heart*. Am J Physiol 271: H192–H202
- Forman DE, Manning WJ, Hauser R, Gervino EV, Evans WJ, Wei JY (1992).** *Enhanced left ventricular diastolic filling associated with long-term endurance training*. J Gerontol 47: M56–M58
- Garcia MJ, McNamara PM, Gordon T, et al. (1974).** *Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population. Sixteen year follow-up study*. Diabetes 23: 105–111

- Glower DD, Spratt JA, Snow ND, Kabas JS, Davis JW, Olsen CO, Tyson GS, Sabiston Jr DC, Rankin JS (1985).** *Linearity of the Frank-Starling relationship in the intact heart: the concept of preload recruitable stroke work.* Circulation 71: 994–1009
- Gough SC, Smyllie J, Barker M, Berkin KE, Rice PJ, Grant PJ (1995).** *Diastolic dysfunction is not related to changes in glycemic control over six months in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: a cross-sectional study.* Acta Diabetol 32: 110–115
- Griffen SC, Wang J, German MS (2001).** *A genetic defect in beta-cell gene expression segregates independently from the fa locus in the ZDF rat.* Diabetes 50(1): 63–68
- Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M (1998).** *Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without myocardial infarction.* N Engl J Med 339: 229–234
- Hirai J, Ueda K, Takegoshi T, Mabuchi H (1992).** *Effects of metabolic control on ventricular function in type 2 diabetic patients.* Intern Med 31: 725–730
- Hiramatsu K, Ohara N, Shigematsu S, Aizawa T, Ishihara F, Niwa A, Yamada T, Naka M, Momose A, Yoshizawa K (1992).** *Left ventricular filling abnormalities in non-insulin-dependent diabetes mellitus and improvement by a short-term glycemic control.* Am J Cardiol 70: 1185–1189
- Hokanson JE, Austin MA (1996).** *Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies.* J Cardiovasc Risk 3: 213–219
- Hollander M, Wolfe DA (1973).** *Nonparametric statistical methods.* Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. John Wiley & Sons, Inc., New York
- Holm S (1979).** *A simple sequentially rejective multiple test procedure.* Scand J Statistics 6: 65–70
- Jacobs DR, Barrett-Conner E (1982).** *Retest reliability of plasma cholesterol and triglyceride. The lipid research Clinics Prevalence Study.* Am J Epidemiol 116: 878–885
- Kannel WB, Hjortland M, Castelli WP (1974).** *Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham Study.* Am J Cardiol 34: 29–34
- Kass DA (1992).** *Clinical evaluation of left heart function by conductance catheter technique.* Europ Heart J 13 Suppl E: 57–64

- Kass DA, Midei M, Graves W, Brinker JA, and Maughan WL (1988).** *Use of a conductance (volume) catheter and transient inferior vena caval occlusion for rapid determination of pressure-volume relationships in man.* Cathet Cardiovasc Diagn 15: 192–202
- Kass DA, Yamazaki T, Burkhoff D, Maughan WL, and Sagawa K (1986).** *Determination of left ventricular end-systolic pressure-volume relationships by the conductance catheter.* Circulation 73: 586–595
- Kava, R, Greenwood, MRC, Johnson, PR (1990).** *Zucker (fa/fa) Rat.* ILAR News 32(3): 4–8
- Kuzuya T, Matsuda A (1997).** *Classification of diabetes on the basis of etiologies versus degree of insulin deficiency.* Diabetes Care 20(2): 219–220
- Lindstrom TH, Arnqvist HJ, von Schenck HH (1992).** *Effect of conventional and intensified insulin therapy on free-insulin profiles and glycemic control in NIDDM.* Diabetes Care 15(1): 27–34
- Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Schölkens BA (1995).** *Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors.* Pharmacological Reviews 47(1): 25–49
- Lo SS, Leslie RD, Sutton, MS (1995).** *Effects of type 1 diabetes mellitus on cardiac function: a study of monozygotic twins.* Br Heart J 73: 450–455
- Maisch B (1995).** *Extrazelluläre Matrix und Interstitium des Herzens: "Restriktion ist häufiger als gedacht.* Herz 2: 75–80
- Marques-Vidal P, Montaye M, Haas B, Bingham A, Evans A, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Luc G, Amouyel P, Arveiler D, McMaster D, Ruidavets JB, Bard JM, Scarabin PY, Ducimetiere P (2000).** *Association of hypertensive status and its drug treatment with lipid and haemostatic factors in middle-aged men: the PRIME study.* J Hum Hypertens 14(8): 511–518
- Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR (1992).** *Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study.* Lancet 340(8825): 925–929
- McKay RG, Spears JR, Aroesty JM, Baim DS, Royal HD, Heller GV, Lincoln W, Salo RW, Braunwald E, Grossmann W (1984).** *Instantaneous measurement of left and right ventricular stroke volume and pressure-volume relationships with an impedance catheter.* Circulation 69: 703–710
- Mizushige K, Yao L, Noma T, et al (2000).** *Alteration in left ventricular diastolic filling and accumulation of myocardial collagen at insulin-*

- resistant prediabetic stage of a type II diabetic rat model.* Circulation 101: 899–907
- Nesto RW, Kowalchuck GJ (1987).** *The ischemic cascade: Temporal sequence of hemodynamic, electrocardiographic and symptomatic expressions of ischemia.* Am J Cardiol 57: 23C–27C
- Newman B, Selby JV, King MC, Slemenda C, Fabsitz R, Friedman GD (1987).** *Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins.* Diabetologia 30(10): 763–768
- Nicolino A, Longobardi G, Furgi G, Rossi M, Zoccolillo N, Ferrara N, Rengo F (1995).** *Left ventricular diastolic filling in diabetes mellitus with and without hypertension.* Am J Hypertens 8: 382–389
- O'Brien, PC (1984).** *Procedures of comparing samples with multiple endpoints.* Biometrics 40: 1079–1087
- Perez JE, McGill JB, Santiago JV, et al (1992).** *Abnormal myocardial acoustic properties in diabetic patients and their correlation with the severity of disease.* J Am Coll Cardiol 19: 1154–1162
- Peterson RG, Shaw WN, Neel MA, et al (1990).** *Zucker diabetic fatty rat as a model of non-insulin-dependent diabetes mellitus.* ILAR News 32: 16–19
- Poirer P, Bogaty P, Garneau C, Marois L, Dumesnil JG (2001).** *Diastolic dysfunction in normotensive men with well-controlled type 2 diabetes.* Diabetes Care 24: 5–10
- Polonsky KS, Sturis J, Bell GI (1996).** *Non-insulin-dependent diabetes mellitus – a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance.* N Engl J Med 334(12): 777–783
- Pozzoli G, Vitolo E, Collini P, De Maria R, Castelli MR, Colombo F (1984).** *Assessment of left ventricular function with M-mode echocardiography in a selected group of diabetic patients.* Acta Diabetol Lat 21: 71–84
- Raev DC (1994).** *Which left ventricular function is impaired earlier in the evolution of diabetic cardiomyopathy? An echocardiographic study of young type I diabetic patients.* Diabetes Care 17: 633–639
- Reaven G (1993).** *Role of insulin resistance in human disease (syndrome X): an expanded definition.* Annu Rev Med 44: 121–131
- Rett K, Wicklmayr M, Standl E (1994).** *The metabolic syndrome. Pathophysiologic causes, diagnosis, therapy.* Wien Klin Wochenschr 106(24): 750–757

- Sagawa K (1984).** *Endsystolic pressure-volume relationship in retrospect and prospect.* Fed Proc 43: 2399–2409
- Schaffer SW, Mozafarri MS, Artman M, Wilon GL (1989).** *Basis for myocardial mechanical defects associated with non-insulin-dependent diabetes.* Am J Physiol 256: E25–E30
- Schannwell CM, Schoebel FC, Heggen S, Marx R, Perings C, Leschke M, Strauer BE (1999).** *Frühzeitige Einschränkung der diastolischen Funktion bei jungen Typ-I-Diabetikern als Ermanifestation einer diabetischen Herzmuskelerkrankung.* Z Kardiol 88: 338–346
- Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, et al (1989).** *Fatty acid-induced beta cell apoptosis: A link between obesity and diabetes.* Proc Natl Acad Sci USA 95: 2489–2502
- Slieker Lj, Sundel KL, Heath WF, et al (1992).** *Glucose transporter levels in tissues of spontaneously diabetic Zucker fa/fa rat(ZDF/drt) and viable yellow mouse (Avy/a).* Diabetes 41: 187–193
- Solang L, Malmberg K, Ryden L (1999).** *Diabetes mellitus and congestive heart failure. Further knowledge needed.* Eur Heart J 20: 789–795
- Standl E (1995).** *Hyperinsulinemia and atherosclerosis.* Clin Invest Med 18(4): 261–266
- Steendijk P, Staal J, Jukema JW, Baan J (2001).** *Hypertonic saline method accurately determines parallel conductance for dual-field conductance catheter.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 281: H755–H763
- Taegtmeyer H, McNulty P, Young ME (2002).** *Adaptation and Maladaptation of the Heart in Diabetes: Part I: General Concepts.* Circulation 105 (14): 1727–1733
- Taegtmeyer H, McNulty P, Young ME (2002).** *Adaptation and Maladaptation of the Heart in Diabetes: Part II: Potential Mechanisms.* Circulation 105 (15): 1861–1870
- Takenaka K, Sakamoto T, amano K, Oku J, Fujinami K, murakami T, Toda I, Kawakubo K, Sugimoto T (1988).** *Left ventricular filling determined by Doppler echocardiography in diabetic mellitus.* Am J Cardiol 61: 1140–1143
- Tarumi N, Iwasaka T, Takahashi N, Sugiura T, Morita Y, Sumimoto T, Nishiue T, Inada M (1993).** *Left ventricular diastolic filling properties in diabetic patients during isometric exercise.* Cardiology 83: 316–323

- Tschöpe C, Schultheiss H-P (2002).** *Diastolische Dysfunktion: Was diagnostisch nötig und therapeutisch möglich ist.* Cardiovasc 2 (Sonderheft 1): 35–39
- Thefeld W, Stolzenberg H, Bellach BM (1999).** *Bundes-Gesund-heitssurvey: Response, Zusammensetzung der Teilnehmer und Non-Responder-Analyse.* Gesundheitswesen 61 Sonderheft 2: 57–61
- Tokuyama Y, Sturis J, DePaoli AM, et al (1995).** *Evolution of B-cell dysfunction in the male Zucker diabetic fatty rat.* Diabetes 44: 1447–1457
- Tuomilehto J et al (2001).** *Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subject with impaired glucose tolerance.* N Engl J Med 344: 1343–1350
- Uusitupa M, Siitonen O, Aro A, Korhonen T, Pyorala K (1983).** *Effect of correction of hyperglycemia on left ventricular function in non-insulin-dependent (type 2) diabetics.* Acta Med Scand 213: 363–368
- Vasan R S, Benjamin E J, Levy D (1995).** *Prevalence, clinical features and prognosis of diastolic heart failure: An epidemiologic perspective.* J Am Coll Cardiol 26: 1565–1574
- White PA, Brookes CI, Ravn H, Hjortdal V, Chaturvedi RR, and Redington AN (2001).** *Validation and utility of novel volume reduction technique for determination of parallel conductance.* Am J Physiol Heart Circ Physiol 280: H475–H482
- Zarich SW, Nesto RW (1989).** *Diabetic Cardiomyopathy.* Am Heart J 118: 1000–1012
- Zhang Y, Wat N, Stratton IM, Warren-Perry MG, Orho M, Groop L, et al (1996).** *UKPDS 19: heterogeneity in NIDDM: separate contributions of IRS-1 and beta 3-adrenergic-receptor mutations to insulin resistance and obesity respectively with no evidence for glycogen synthase gene mutations.* UK Prospective Diabetes Study. Diabetologia 39(12): 1505–1511
- Zhou YT, Shimabukuro M, Lee Y, et al (1989).** *Enhanced de novo lipogenesis in the leptin-unresponsive pancreatic islets of prediabetic Zucker diabetic fatty rats: Role in the pathogenesis of lipotoxic diabetes.* Diabetes 47: 1904–1908
- Zucker LM (1965).** *Hereditary obesity in the rat associated with hyperlipemia.* Ann NY Acad Sci 131: 447–458
- .

VIII Danksagung

Als Erstes möchte ich Herrn PD Dr. Wolfgang Linz (Aventis Pharma Deutschland GmbH) für die Überlassung des Themas und vor allem für seine unermüdliche und stets freundliche und hilfsbereite Betreuung während meiner Zeit bei Aventis und auch noch den Monaten danach danken.

Herrn Prof. Dr. Ernst Petzinger (Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Justus-Liebig-Universität Gießen) danke ich für die Vertretung der Arbeit am Fachbereich und für die freundliche Betreuung und die Begutachtung dieser Dissertation.

Beim Leiter der Indikationsgruppe Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Herrn Prof. Dr. Andreas Busch, bedanke ich mich für die Ermöglichung dieser Arbeit in den Einrichtungen der Firma Aventis Pharma Deutschland GmbH, ebenso bei Herrn PD Dr. Markus Bleich.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine ehemaligen Kollegen, den Mitarbeitern des Labors von Herrn PD Dr. Wolfgang Linz, nämlich Frau Dr. Daniela Leitzbach, Frau Dr. Nadine Weckler, Frau Dr. Gabi Itter, Frau Dr. Alexandra Hahn, Frau Silke Weber, Frau Petra Fritz, Frau Corinna Bartsch und Herrn Helmut Göbel. Des Weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Labors von Herrn Dr. Klaus Wirth, insbesondere Herrn Thomas Maier, Herrn Björn Rosenstein und Frau Jennifer Frenzel bedanken. Für die Zusammenarbeit mit dem Labor Dr. Stefan Schäfer, insbesondere Frau Evelyn Lilje und Herrn Gerald Fischer, möchte ich mich ebenso bedanken, wie bei Frau Doris Gehring, Mitarbeiterin des Labors Dr. Hartmut Rütten, die mir in zahllosen Gesprächen und Experimenten stets eine lehrreiche und hilfsbereite Kollegin war. Ihr

Erfahrungsschatz bei der Herzkatheterisierung war für mich ein entscheidender Schritt zum Gelingen meiner Dissertation.

Dem Labor PD Dr. Andreas Herling danke ich für die Überlassung der Tiere.

Ein weiterer Dank geht an das Labor Dr. Martin Gerl und das Labor Dr. Biemer-Daub für die analytische Bestimmung der Proben.

Herrn Rainer Uhl (ehemals Statistische Abteilung, Aventis Pharma Deutschland GmbH) gilt mein Dank für die wertvolle Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Schließlich möchte ich mich noch bei meinen Eltern bedanken und vor allem meiner Freundin Bianca, die mich während der ganzen Zeit meiner Dissertation unterstützt und immer wieder motiviert hat.